

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7558170号
(P7558170)

(45)発行日 令和6年9月30日(2024.9.30)

(24)登録日 令和6年9月19日(2024.9.19)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	35/742 (2015.01)	A 6 1 K	35/742
A 6 1 K	35/741 (2015.01)	A 6 1 K	35/741
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 P	1/14 (2006.01)	A 6 1 P	1/14
請求項の数 26 (全216頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-532282(P2021-532282)	(73)特許権者	518444875
(86)(22)出願日	令和1年8月16日(2019.8.16)		ヴェダント バイオサイエンス イン
(65)公表番号	特表2022-500489(P2022-500489		コーポレーテッド
	A)		VEDANTA BIOSCIENCE
(43)公表日	令和4年1月4日(2022.1.4)		S, INC.
(86)国際出願番号	PCT/US2019/046926		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(87)国際公開番号	WO2020/037271		2139、ケンブリッジ、ブラックスト
(87)国際公開日	令和2年2月20日(2020.2.20)		ーン ストリート 19
審査請求日	令和4年8月16日(2022.8.16)		19 Blackstone Stree
(31)優先権主張番号	62/724,185		t, Cambridge, MA 02
(32)優先日	平成30年8月29日(2018.8.29)		139, U. S. A.
(33)優先権主張国・地域又は機関		(74)代理人	110003971
	米国(US)		弁理士法人葛和国際特許事務所
(31)優先権主張番号	62/815,395	(72)発明者	ノーマン, ジェイソン
(32)優先日	平成31年3月8日(2019.3.8)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
最終頁に続く			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 腸内毒素症を減少させ、微生物叢を復元する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

医薬組成物の1つ以上の細菌株を対象の微生物叢に定着させるための、ならびに対象において一次胆汁酸のレベルを低下させるおよび／または二次胆汁酸のレベルを増加させるための方法における使用のための医薬組成物であって、方法は：

対象にバンコマイシンを投与した後、治療有効量の医薬組成物を対象に投与することを含み、

ここで、医薬組成物は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、および配列番号8として示される核酸配列に対して少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む細菌株を含む精製された細菌混合物を含み；

ここで、バンコマイシンは、医薬組成物を投与する前に複数回用量で投与され；および

ここで医薬組成物は、複数日にわたって複数回用量で投与され、ここで、少なくとも 4.0×10^{10} CFU（コロニー形成単位）または 1.1×10^{11} CFUの総細菌が対象に投与される、

前記組成物。

【請求項2】

医薬組成物の複数回用量が、医薬組成物を対象に少なくとも4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、または14回投与することを含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

医薬組成物の複数回用量が、一定の間隔で投与される、請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

医薬組成物の複数回用量が、少なくとも 4.0×10^{10} CFU の総細菌を含み、かつ医薬組成物が 5 回用量として投与される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

医薬組成物の複数回用量が、少なくとも 1.1×10^{11} CFU の総細菌を含み、かつ医薬組成物が 14 回用量として投与される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 6】

バンコマイシンの複数回用量の各々が、連続した日に投与される、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

医薬組成物の複数回用量の各々が、医薬組成物を含む 10 個のカプセルで投与される、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

精製された細菌混合物が、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、および配列番号 8 として示される核酸配列に対して少なくとも 97% の配列同一性を有する 16S rDNA 配列を含む細菌株からなる、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【請求項 9】

バンコマイシンが、1 日あたり 500 mg で投与される、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

バンコマイシンが、1 日あたり 125 mg の 4 回用量で投与される、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

バンコマイシンが、1 日あたり 250 mg で、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

30

【請求項 12】

バンコマイシンが、1 日あたり 125 mg の 2 回用量で投与される、請求項 11 項に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

バンコマイシンが、医薬組成物の投与日の 2 日前まで 5 日連続で投与され、および方法が、医薬組成物の投与の前に休薬日を含む、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

細菌株のうちの 1 つ以上が、凍結乾燥されているか、または噴霧乾燥されている、請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

40

【請求項 15】

細菌株のうちの 1 つ以上が、孢子型である、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

1 つ以上の細菌株の各々が、孢子型である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

細菌株のうちの 1 つ以上が栄養型である、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 18】

50

細菌株の各々が栄養型である、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

医薬組成物が、1 つ以上の腸溶性ポリマーをさらに含む、請求項 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

(i) 医薬組成物の投与が経口投与である；および／または

(i i) 医薬組成物が経口送達または直腸送達のために製剤化されている；および／または

(i i i) 医薬組成物が腸への送達のために製剤化されている、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

医薬組成物が結腸への送達のために製剤化されている、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

医薬組成物の 1 つ以上の細菌株が、医薬組成物の最初の投与の少なくとも 4 週間後、少なくとも 6 週間後、少なくとも 1 2 週間後、少なくとも 6 か月後、または少なくとも 1 2 か月後に微生物叢中に存在する、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

請求項 1 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の組成物であって、方法が、対象の微生物叢における医薬組成物の 1 つ以上の細菌株の定着を評価することをさらに含み、評価することが、以下：

(i) 核酸を対象の微生物叢の試料から単離すること；

単離された核酸を配列決定して、単離された核酸の複数のヌクレオチド配列を取得すること；および

医薬組成物の少なくとも 1 つの細菌株の存在を、複数のヌクレオチド配列を医薬組成物の各細菌株に対する複数のゲノムマーカーと比較することによって決定すること；

ここで細菌株に対するゲノムマーカーが複数のヌクレオチド配列に存在する場合、微生物叢に細菌株が定着している；または

(i i) 核酸を対象の微生物叢の試料から単離すること；および

医薬組成物の少なくとも 1 つの細菌株の存在を、単離された核酸中の少なくとも 1 つの細菌株に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定すること；

ここで細菌株に対するゲノムマーカーが増幅されたヌクレオチド配列に存在する場合、微生物叢に細菌株が定着している、を含む、前記医薬組成物。

【請求項 2 4】

細菌株に対するゲノムマーカーが、複数のヌクレオチド配列または増幅されたヌクレオチド配列に存在しない場合、方法が、医薬組成物の 1 回以上の追加用量を対象に投与することをさらに含む、請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 5】

微生物叢に定着することが、対象における *Clostridium difficile* 感染症の治療または防止に効果的であり、*C. difficile* 感染が、一次 *C. difficile* 感染または再発性 *C. difficile* 感染である、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 6】

微生物叢に定着することが、対象において、腸内毒素症を減少させること、微生物叢を復元すること、微生物叢を保護すること、食物アレルギーを治療すること、移植片対宿主病 (G v H D) を治療すること、または短鎖脂肪酸のレベルを増加させることに効果的である、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2018年8月17日に出願された米国仮出願第62/765,165号、2018年8月29日に出願された米国仮出願第62/724,185号、2019年3月8日に出願された米国仮出願第62/815,395号、2019年4月4日に出願された米国仮出願第62/829,513号、及び2019年4月5日に出願された米国仮出願第62/829,959号の米国特許法第119条(e)に基づく利益を主張する。これらの参照出願の各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

本開示は、対象に医薬組成物を投与することによって、腸内毒素症を減少させる、微生物叢を復元する、及び／または微生物叢の回復を増加させる（例えば、腸内毒素症誘発事象後）ための方法に関する。また、医薬組成物を対象に投与することによって、対象の微生物叢を保護する、及び／または対象の微生物叢に定着させるための方法も提供される。

【背景技術】

【0003】

ヒト腸内微生物叢は、1000を超える特定されている種からの数十兆の細菌で構成される。個人の微生物叢の構成は指紋と同じように特有であり、近親者の間であっても多種多様なものが存在する。ヒト微生物叢に存在する種の大部分は片利共生生物であり、宿主を害することも傷つけることもない。分類群 *Lactobacillus*、*Firmicutes*、及び *Bacteroidetes* のメンバーを含む、ヒト腸管に生息する多数の細菌種は、食物副産物の吸収可能な栄養素への代謝など、ヒトに利益をもたらす機能を実行する共生体である。しかしながら、*Escherichia coli* の株などの病原性細菌種も、ヒト腸管に生息することがあり、ヒト微生物叢での過剰集中が許容されると疾患を引き起こし得る。このため、ヒトの健康全般を維持するためには、ヒト微生物叢内の細菌種のバランスが重要である。

【0004】

ヒト微生物叢内の細菌種の存在量の攪乱、細菌多様性の低下、及び細菌の機能的能力の変化は、感染症、抗生物質による再発性の及び不適切な治療、ならびに炎症などの事象から生じ得る微生物叢腸内毒素症の兆候である。腸内毒素症は、片利共生 (*commensal*) 細菌種または共生 (*symbiotic*) 細菌種がヒト微生物叢中に少数しか存在しなくなること、日和見の病原性種が多数存在するようになるときに生じる。腸内毒素症を逆転させ、微生物叢を回復させるための従来の療法には、糞便物質移植 (*FMT*) が含まれる。*FMT* は、腸内毒素症の治療に効果的であり得るものの、治療を施すための標準化された方法を欠いており、病原体を誤って移植 (*in transplanting pathogens*) したり回復が生じる前に病原体の異常増殖が許容されたりするリスクの可能性をもたらし得る。

【発明の概要】

【0005】

本開示の態様は、対象の腸内毒素症を減少させるための方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、対象の腸内毒素症を減少させることを含む。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、本医薬組成物を投与する前の *Bacteroides* の存在量と比べた *Bacteroides* の存在量の増加を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は *Bacteroides* を含まない。

【0006】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、本医薬組成物を投与する前の *Firmicutes* の存在量と比べた *Firmicutes* の存在量の増加を含む。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、本医薬組成物を投与する前の *Clostridium* クラスター *IV* 及び／または *XIVa* に属する細菌株の存在量と比べた *Clostridi*

10

20

30

40

50

*di um*クラスターⅠⅤ及び／またはⅩⅠⅤaに属する細菌株の存在量の増加を含む。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、本医薬組成物を投与する前の*Clostridium*クラスターⅩⅤⅠⅠに属する細菌株の存在量と比べて*Clostridium*クラスターⅩⅤⅠⅠに属する細菌株の存在量の増加を含む。

【0007】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、本医薬組成物を投与する前の炎症と関連付けられる微生物の存在量と比べた炎症と関連付けられる微生物の存在量の減少を含む。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、本医薬組成物を投与する前の*Proteobacteria*の存在量と比べた*Proteobacteria*の存在量の減少を含む。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、対象の微生物叢多様性の比例的増加と相関しない。

10

【0008】

本開示の態様は、対象において微生物叢を復元するための方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、対象において微生物叢を復元することを含む。いくつかの実施形態では、対象は、腸内毒素症誘発事象を受けていない。いくつかの実施形態では、対象は、感染症を有していない。いくつかの実施形態では、対象は、*Clostridium difficile*感染を有していない。いくつかの実施形態では、対象は、抗生物質で治療されていない。

【0009】

本開示の態様は、腸内毒素症誘発事象後に対象において健康な微生物叢の回復を増加させるための方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、健康な微生物叢の回復を増加させることを含む。

20

【0010】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、1つ以上の抗生物質による治療である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、手術に関係する1つ以上の抗生物質による治療である。いくつかの実施形態では、抗生物質はバンコマイシンである。

【0011】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は感染症である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、*Clostridium difficile*による感染である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、*Clostridium difficile*による一次感染である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、*Clostridium difficile*による二次または再発性感染である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、旅行者下痢である。

30

【0012】

いくつかの実施形態では、対象における微生物叢の回復は、本医薬組成物の細菌株の検出可能な定着なしに生じる。いくつかの実施形態では、微生物叢の回復は、本医薬組成物の投与の非存在下での健康な微生物叢の回復と比べて増加する。いくつかの実施形態では、微生物叢の回復は、糞便物質移植を受けた対象における微生物叢の回復と比べて増加する。

【0013】

40

本開示の態様は、対象において微生物叢を保護するための方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、微生物叢を保護することを含む。いくつかの実施形態では、微生物叢は、抗生物質治療から保護される。いくつかの実施形態では、微生物叢は、感染因子による攻撃から保護される。いくつかの実施形態では、微生物叢は、*Clostridium difficile*感染から保護される。いくつかの実施形態では、微生物叢は、二次または再発性*Clostridium difficile*感染から保護される。

【0014】

本開示の態様は、対象の微生物叢に定着させるための方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、微生物叢に定

50

着させることを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の少なくとも25%が、対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の少なくとも50%が、対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の100%が、対象の微生物叢に定着する。

【0015】

いくつかの実施形態では、投与後に、対象の微生物叢中の細菌株の少なくとも25%が本医薬組成物の細菌株である。いくつかの実施形態では、投与後に、対象の微生物叢中の細菌株の少なくとも50%が本医薬組成物の細菌株である。

【0016】

いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は、本医薬組成物の最初の投与から少なくとも4週間後に微生物叢中で検出される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は、本医薬組成物の最初の投与から少なくとも6週間後に微生物叢中で検出される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は、本医薬組成物の最初の投与から少なくとも12週間後に微生物叢中で検出される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は、本医薬組成物の最初の投与から少なくとも6か月後に微生物叢中で検出される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は、本医薬組成物の最初の投与から少なくとも12か月後に微生物叢中で検出される。

【0017】

本開示の態様は、対象の微生物叢に定着させるための方法を提供し、本方法は、対象に抗生物質を投与した後、1つ以上の細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、微生物叢に定着させることを含む。いくつかの実施形態では、細菌組成物の細菌株の各々が微生物叢に定着する。

【0018】

本開示の態様は、対象においてC. difficile感染を治療するための方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、C. difficile感染を治療することを含む。いくつかの実施形態では、C. difficile感染は、一次C. difficile感染または再発性C. difficile感染である。

【0019】

本開示の態様は、対象における食物アレルギーを治療する方法を提供し、本方法は、対象に、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与して、食物アレルギーを治療することを含む。いくつかの実施形態では、本組成物は、IgE抗体の産生を抑制する。いくつかの実施形態では、本組成物は、1つの以上のTh2免疫応答を抑制する。いくつかの実施形態では、組成物は、1つ以上のマスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒を抑制する。いくつかの実施形態では、組成物は、食物アレルギーに関連付けられる免疫応答を調節する。

【0020】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株は、長期間にわたって微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、抗生物質はバンコマイシンである。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、複数回用量で投与される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は、1つ以上のClostridium difficile抑制株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、移植片対宿主病(GvHD)を治療するために、微生物叢に定着するように1つ以上の細菌株を含む治療有効量で対象に投与される。

【0021】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、ClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、ClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVIIの各々に属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は細菌株Dorea longicatenaを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、細

10

20

30

40

50

菌株 *Dorea longicatena* からなる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号 6 として示される核酸配列に対して少なくとも 97% の配列同一性の 16S rDNA 配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号 6 として示される核酸配列に対して少なくとも 97% の配列同一性の 16S rDNA 配列を含む単一の細菌株からなる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 50% の *Clostridium* クラスター XIVa に属する細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 75% の *Clostridium* クラスター IV 及び／または XIVa に属する細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus colihominis*、*Eubacterium fissicatena*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Dorea longicatena*、*Clostridium innocuum*、及び *Flavinofractor plautii* を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus colihominis*、*Eubacterium fissicatena*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Dorea longicatena*、*Clostridium innocuum*、及び *Flavinofractor plautii* からなる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、及び配列番号 8 として示される配列に対して少なくとも 97% の配列同一性の 16S rDNA 配列を含む細菌株からなる精製された細菌混合物を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、及び配列番号 8 として示される核酸配列に対して少なくとも 97% の配列同一性の 16S rDNA 配列を含む細菌株からなる精製された細菌混合物を含む。

【0022】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus colihominis*、*Eubacterium fissicatena*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*、及び *Flavinofractor plautii* を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus colihominis*、*Eubacterium fissicatena*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*、及び *Flavinofractor plautii* からなる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 7、及び配列番号 8 として示される核酸配列に対して少なくとも 97% の配列同一性の 16S rDNA 配列を含む細菌株からなる精製された細菌混合物を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 7、及び配列番号 8 として示される核酸配列に対して少なくとも 97% の配列同一性の 16S rDNA 配列を含む細菌株からなる精製された細菌混合物からなる。

【0023】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、*Clostridium saccharogumia* (*Clostridium ramosum* JCM 1298)、*Flavinofractor plautii* (*Pseudoflavonifractor capillosus* ATCC 29799)、*Clostridium hathewayi* (*Clostridium saccharolyticum* WM1)、*Blautia coecoides* (*Lachnospiraceae bacterium* 6_1_63 FAA)、*Clostridium* 属 (*Clostridium boltea*e ATCC BAA-613)、cf. *Clostridium* 属 MLG055 (*Erys*

10

20

30

40

50

ipelotrichaceae bacterium 2_2_44A)、Clostridium indolis (Anaerostipes caccae DSM 14662)、Anaerotruncus coli hominis (Anaerotruncus coli hominis DSM 17241)、Ruminococcus 属 ID8 (Lachnospiraceae bacterium 2_1_46FAA)、Clostridium lavalense (Clostridium asparagi forme DSM 15981)、Clostridium symbiosum (Clostridium symbiosum WAL-14163)、Clostridium ramosum、Eubacterium contortum (Clostridium 属 D5)、Clostridium scindens (Lachnospiraceae bacterium 5_1_57FAA)、Lachnospiraceae bacterium A4 (Lachnospiraceae bacterium 3_1_57FAA_CT1)、Clostridium 属 316002/08 (Clostriales bacterium 1_7_47FAA)、Lachnospiraceae bacterium A4 (Lachnospiraceae bacterium 3_1_57FAA_CT1) を含む精製された細菌混合物を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、Clostridium saccharogumia (Clostridium ramosum JCM 1298)、Flavonifractor plautii (Pseudoflavonifractor capillosus ATCC 29799)、Clostridium hathewayi (Clostridium saccharolyticum WM1)、Blautia coccoide s (Lachnospiraceae bacterium 6_1_63FAA)、Clostridium 属 (Clostridium bolteae ATCC BAA-613)、cf. Clostridium 属 MLG055 (Erysipelotrichaceae bacterium 2_2_44A)、Clostridium indolis (Anaerostipes caccae DSM 14662)、Anaerotruncus coli hominis (Anaerotruncus coli hominis DSM 17241)、Ruminococcus 属 ID8 (Lachnospiraceae bacterium 2_1_46FAA)、Clostridium lavalense (Clostridium asparagi forme DSM 15981)、Clostridium symbiosum (Clostridium symbiosum WAL-14163)、Clostridium ramosum、Eubacterium contortum (Clostridium 属 D5)、Clostridium scindens (Lachnospiraceae bacterium 5_1_57FAA)、Lachnospiraceae bacterium A4 (Lachnospiraceae bacterium 3_1_57FAA_CT1)、Clostridium 属 316002/08 (Clostriales bacterium 1_7_47FAA)、Lachnospiraceae bacterium A4 (Lachnospiraceae bacterium 3_1_57FAA_CT1) を含む精製された細菌混合物からなる。

【0024】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.6×10^9 CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^9 CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 8.0×10^9 CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{11} CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{17} CFU (コロニー形成単位) を含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1回用量として投与される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、複数回投与として投与される。いくつかの実施形態では、各用量は、複数のカプセルの投与を含む。いくつかの実施形態では、各カプセルは、少なくとも 8.0×10^8 CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、各カプセルは、少なくとも 1.6×10^9 CFU (コロニー形成単位) を含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.6×10^9 CFU (コロニー形成単位) を含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 8.0×10^9 CFU (コロニー形成単位) を含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、複数回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、5回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、複数回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、7回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、複数回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含み、14回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{11} CFU (コロニー形成単位) を含み、複数回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{11} CFU (コロニー形成単位) を含み、14回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{17} CFU (コロニー形成単位) を含み、複数回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{17} CFU (コロニー形成単位) を含み、14回用量として投与される。

【0027】

いくつかの実施形態では、複数回用量は連日投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の1回以上の追加投与を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の1回以上の追加投与は、本医薬組成物の初回投与と比較してより少ないCFU (コロニー形成単位) を含む。

【0028】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物の1回以上の追加投与は、本医薬組成物の初回投与に続いて連日行われる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の1回以上の追加投与は、本医薬組成物の初回投与の少なくとも6週後に行われる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の1回以上の追加投与は、本医薬組成物の初回投与の少なくとも12週後に行われる。

【0029】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.1×10^{10} CFU (コロニー形成単位) を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、複数回用量で投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、5回用量で投与される。

【0030】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、5日連続で投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、2回の高用量、続く3回の低用量として投与される。いくつかの実施形態では、高用量は、 8.0×10^9 CFU (コロニー形成単位) である。いくつかの実施形態では、低用量は、 1.6×10^9 CFU (コロニー形成単位) である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、 8.0×10^9 CFU (コロニー形成単位) の2回用量、続く 1.6×10^9 CFU (コロニー形成単位) の3回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の投与の前に抗生物質の投与が行われない。いく

つかの実施形態では、本医薬組成物の投与の前にバンコマイシンの投与が行われない。

【0031】

いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前に抗生物質を対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、抗生物質は、バンコマイシン、メトロニダゾール、フィダキソマイシン、またはリジニラゾールである。いくつかの実施形態では、抗生物質はバンコマイシンである。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日あたり500mgで投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日あたり125mgの4回用量で投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日あたり250mgで投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日あたり125mgの2回用量で投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日あたり125mgで投与される。

10

【0032】

いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、5日連続で投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、3日連続で投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、本医薬組成物の投与の直前の日に投与される。

【0033】

いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、本医薬組成物の投与日の2日前に投与され、本方法は、本医薬組成物の投与日の前に休薬日を含む。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、本医薬組成物の投与日の直前に3日連続で投与される。

20

【0034】

いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、本医薬組成物の投与日の直前に5日連続して投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンが、本医薬組成物の投与日の2日前までに5日連続で投与され、本方法が、医薬組成物の投与日の1日前に休薬日を含む。

【0035】

いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は凍結乾燥される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は噴霧乾燥される。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は孢子型である。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株の各々が孢子型である。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株は栄養型である。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株の各々が栄養型である。

30

【0036】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1つ以上の腸溶性ポリマーをさらに含む。いくつかの実施形態では、投与は経口投与である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、経口送達のための製剤である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、直腸送達のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、腸への送達のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、結腸への送達のために製剤化される。

【0037】

本開示の態様は、一次胆汁酸のレベルを低下させるための方法を提供し、本方法は、それを必要とする対象に、治療有効量の本明細書に記載の医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、一次胆汁酸は、グリコケノデオキシコール酸、グリココール酸、またはタウロコール酸である。いくつかの実施形態では、一次胆汁酸のレベルは、10分の1～100、000分の1に低下する。いくつかの実施形態では、対象は、*Clostridium difficile* 感染を有し、任意選択で、*Clostridium difficile* 感染は再発性である。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の方法のうちのいずれかによる本医薬組成物の投与の前に、抗生物質を対象に投与することをさらに含む。

40

【0038】

50

本開示の態様は、二次胆汁酸のレベルを上昇させるための方法を提供し、本方法は、それを必要とする対象に、治療有効量の本明細書に記載の医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、二次胆汁酸は、デオキシコール酸、リトコール酸、またはウルソデオキシコール酸である。いくつかの実施形態では、二次胆汁酸のレベルは、10倍～1,000倍に上昇する。いくつかの実施形態では、対象は*Clostridium difficile*感染を有し、任意選択で、*Clostridium difficile*感染は再発性である。いくつかの実施形態では、対象は、一次胆汁酸のレベルの上昇または二次胆汁酸のレベルの低下を特徴とする疾患を有する。いくつかの実施形態では、一次胆汁酸のレベルの上昇または二次胆汁酸のレベルの低下を特徴とする疾患は、IBD、IBS、病原体による感染、食物アレルギー、代謝性疾患、及び心血管疾患からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の方法のうちのいずれかによる本医薬組成物の投与の前に、抗生物質を対象に投与することをさらに含む。

10

【0039】

本開示の態様は、短鎖脂肪酸のレベルを上昇させるための方法を提供し、本方法は、それを必要とする対象に、治療有効量の本明細書に記載の医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、短鎖脂肪酸は、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、または吉草酸塩である。いくつかの実施形態では、短鎖脂肪酸のレベルは、2倍～500倍に上昇する。いくつかの実施形態では、対象は*Clostridium difficile*感染を有し、任意選択で、*Clostridium difficile*感染が再発性である。いくつかの実施形態では、対象は、短鎖脂肪酸アミノ酸レベルの低下を特徴とする疾患を有する。いくつかの実施形態では、短鎖脂肪酸アミノ酸のレベルの低下を特徴とする疾患は、IBD、IBS、病原体による感染、食物アレルギー、代謝性疾患、及び心血管疾患からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の方法のうちのいずれかによる本医薬組成物の投与の前に、抗生物質を対象に投与することをさらに含む。

20

【0040】

本開示の態様は、対象の微生物叢における細菌組成物の1つ以上の細菌株の定着を評価するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、本方法は、核酸を対象の微生物叢の試料から単離することと、単離された核酸を配列決定して、単離された核酸の複数のヌクレオチド配列を取得することと、複数のヌクレオチド配列を細菌組成物の各細菌株に対する複数のゲノムマーカーと比較することと、を含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーが複数のヌクレオチド配列に存在する場合、微生物叢に細菌株が定着する。いくつかの実施形態では、細菌組成物の細菌株のうちの1つ以上が複数のヌクレオチド配列に存在しない場合、本方法は、細菌組成物の1回以上の追加用量を対象に投与することをさらに含む。

30

【0041】

いくつかの実施形態では、対象は、細菌組成物の1回以上の用量を以前に投与された。いくつかの実施形態では、微生物叢の試料は、対象から取得した糞便試料である。いくつかの実施形態では、配列決定はDNA配列決定である。

【0042】

いくつかの実施形態では、複数のゲノムマーカーは、細菌組成物の各細菌株について200～1000個の間のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、複数のゲノムマーカーは、約50ヌクレオチドを含む。

40

【0043】

いくつかの実施形態では、細菌組成物は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8として示される核酸配列に対して少なくとも97%の配列同一性の16S rDNA配列を含む細菌株からなる精製された細菌混合物を含む。いくつかの実施形態では、細菌組成物は、*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus colihominis*、*Eubacterium fissicatena*、*Clostridium symbiosu*

50

m、*Blautia producta*、*Dorea longicatena*、*Clostridium innocuum*、及び*Flavinofractor plautii*を含む。

【0044】

いくつかの実施形態では、細菌株に対するゲノムマーカーが複数の核酸配列に存在しない場合、本方法は、細菌組成物の1回以上の追加用量を対象に投与することを含む。

【0045】

本開示の態様は、対象の微生物叢における細菌組成物の1つ以上の細菌株の定着を評価するための方法を提供し、本方法は、核酸を対象の微生物叢の試料から単離することと、細菌組成物の少なくとも1つの細菌株の存在を、単離された核酸中の少なくとも1つの細菌株に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定することと、を含む。いくつかの実施形態では、細菌株に対するゲノムマーカーが増幅されたヌクレオチド配列に存在する場合、微生物叢に細菌株が定着している。

【0046】

いくつかの実施形態では、増幅することは、1つ以上の定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）を実行することを含む。いくつかの実施形態では、qPCRは、プライマーの1つ以上の対を使用して実行され、プライマーの各対は、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するための順方向プライマー及び逆方向プライマーを含む。

【0047】

いくつかの実施形態では、本方法は、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するための順方向プライマー及び逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号9に示される順方向プライマー及び配列番号10に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号12に示される順方向プライマー及び配列番号13に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号15に示される順方向プライマー及び配列番号16に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号18に示される順方向プライマー及び配列番号19に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号21に示される順方向プライマー及び配列番号22に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号24に示される順方向プライマー及び配列番号25に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号27に示される順方向プライマー及び配列番号28に示される逆方向プライマーを含む。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマーの対は、配列番号30に示される順方向プライマー及び配列番号31に示される逆方向プライマーを含む。

【0048】

いくつかの実施形態では、qPCR反応はDNAプローブをさらに含む。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、フルオロフォアと少なくとも1つのクエンチャーとを含む。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号11、配列番号14、配列番号17、配列番号20、配列番号23、配列番号26、配列番号29、及び／または配列番号32に示される配列を含む。

【0049】

いくつかの実施形態では、細菌株に対するゲノムマーカーが増幅されたヌクレオチド配列に存在しない場合、本方法は、細菌組成物の1回以上の追加用量を対象に投与することをさらに含む。

【0050】

本発明の制限の各々は、本発明のさまざまな実施形態を包含し得る。したがって、いずれか1つの要素または要素の組み合わせを伴う本発明の制限が本発明の各態様に含まれ得ることが予期される。本発明は、その適用において、以下の説明に示されるかまたは図面に図示される構成要素の構造及び配置の詳細に制限されない。本発明は、他の実施形態が可能であり、さまざまな方法で実践または遂行することができる。

【0051】

添付の図面は、原寸に比例した描写を意図したものではない。これらの図は例示にすぎず、本開示を可能にするために必須なものではない。明瞭にするため、すべての構成要素がすべての図面で標識付けられているわけではない。

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1】本開示のさまざまな治療コホートを図示する図表を提示する。

【図2A】*Clostridium* クラスターIV及びXIVaに属する細菌株の存在量を示すデータを示す。糞便物質移植（FMT）移入後の*Clostridium* クラスターIV及びXIVaに属する細菌分類群の存在量を示す（van Nood, et al., N. Engl. J. Med. (2013) 368:407-415を参照）。「rCDI-前」は、FMT移入前の再発性*C. difficile* 感染を指し、「rCDI-後」は、FMT移入後の再発性*C. difficile* 感染を指す。

【図2B】*Clostridium* クラスターIV及びXIVaに属する細菌株の存在量を示すデータを示す。組成物VE303の投与後の*Clostridium* クラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する細菌株の存在量を示す。各時点について、左から右に、バンコマイシン（「Vanco」）、指標／コホート1、コホート2、コホート3、コホート4、及びコホート5で、データが提示される。

【図3A】バンコマイシンによる治療後の対象における微生物叢の回復を示すグラフを提示する。FMT移入の前後の細菌門の相対的存在量を示す（Smillie, et al., Cell Host Microbe (2018) 23(2):229-240を参照）。

【図3B】バンコマイシンによる治療後の対象における微生物叢の回復を示すグラフを提示する。バンコマイシンの投与前（ベースライン）、投与後、及び組成物VE303の投与後の細菌門の相対的存在量を示す。

【図3C】バンコマイシンによる治療後の対象における微生物叢の回復を示すグラフを提示する。組成物VE303の投与後1週間未満または組成物VE303の投与後1週間超のいずれかでの、各コホート（「Coh」）またはバンコマイシン対照（「Vanco」）における*Bacteroidetes*の存在量を示す。

【図3D】バンコマイシンによる治療後の対象における微生物叢の回復を示すグラフを提示する。組成物VE303の投与後1週間未満または組成物VE303の投与後1週間超のいずれかでの、各コホート（「Coh」）またはバンコマイシン対照（「Vanco」）における*Proteobacteria*（図3D）の存在量を示す。

【図4A】バンコマイシンの投与後及び組成物VE303の投与後の微生物叢の動態を例解する。ベースライン時、バンコマイシンの投与後、組成物VE303の投与後1週間未満（回復）、及び組成物VE303の投与後1週間超での、すべてのコホートの微生物群集を示す。

【図4B】バンコマイシンの投与後及び組成物VE303の投与後の微生物叢の動態を例解する。ベースライン時、バンコマイシンの投与後、組成物VE303の投与後1週間未満（回復）、及び組成物VE303の投与後1週間超での、コホート5の微生物群集を示す。

【図4C】バンコマイシンの投与後及び組成物VE303の投与後の微生物叢の動態を例解する。ベースライン時、バンコマイシンの投与後、組成物VE303の投与後1週間未満（回復）、及び組成物VE303の投与後1週間超（回復）での、微生物叢に存在する細菌種の変化を示す。

10

20

30

40

50

【図5】バンコマイシン投与直後の *Proteobacteria* 及び他の病原体の存在を強調する詳細な種分析である。

【図6-1】全対象集団の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。ND：データ収集せず。Vanco：0 CFU、コホート1： 1.6×10^9 CFU（1日）、コホート2： 4.0×10^9 CFU（1日）、コホート3： 8.0×10^9 CFU（1日）、コホート4： 4.0×10^{10} CFU（5日）、コホート5： 1.1×10^{11} CFU（14日）。

【図6-2】全対象集団の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。ND：データ収集せず。Vanco：0 CFU、コホート1： 1.6×10^9 CFU（1日）、コホート2： 4.0×10^9 CFU（1日）、コホート3： 8.0×10^9 CFU（1日）、コホート4： 4.0×10^{10} CFU（5日）、コホート5： 1.1×10^{11} CFU（14日）。

【図6-3】全対象集団の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。ND：データ収集せず。Vanco：0 CFU、コホート1： 1.6×10^9 CFU（1日）、コホート2： 4.0×10^9 CFU（1日）、コホート3： 8.0×10^9 CFU（1日）、コホート4： 4.0×10^{10} CFU（5日）、コホート5： 1.1×10^{11} CFU（14日）。

【図6-4】全対象集団の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。ND：データ収集せず。Vanco：0 CFU、コホート1： 1.6×10^9 CFU（1日）、コホート2： 4.0×10^9 CFU（1日）、コホート3： 8.0×10^9 CFU（1日）、コホート4： 4.0×10^{10} CFU（5日）、コホート5： 1.1×10^{11} CFU（14日）。

【図7A-1】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート4及びコホート5の対象（A～N）の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。

【図7A-2】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート4及びコホート5の対象（A～N）の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。

【図7B】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。バンコマイシンを受けなかった対照コホートの対象（O～S）の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。各時点について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、VE303-8が示される。「*」で示される網掛け領域は、バンコマイシン投与の時間を示す。「#」で示される領域は、組成物VE303投与の時間を示す。

【図8】組成物VE303の投与から1週間後に対象の総数の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株を要約する（例えば、コホート3では、3人中2人の対象においてVE303-01株が見出された）。アスタリスク（*）は、各対象で検出された株がバックグラウンドレベルを差し引いた後のものであることを示す。

【図9A】各コホートの個々の対象各々の微生物叢における組成物VE303の細菌株の生着の相対的存在量及び耐久性を示す。各コホートの個々の対象各々における組成物VE303の細菌株の各々の全体的な存在量を示す。各対象について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、VE303-8が示される。

【図9B-1】各コホートの個々の対象各々の微生物叢における組成物VE303の細菌株の生着の相対的存在量及び耐久性を示す。コホートあたりの経時的な組成物VE303の細菌株の総存在量及び要約表を示す。

【図9B-2】各コホートの個々の対象各々の微生物叢における組成物VE303の細菌株の生着の相対的存在量及び耐久性を示す。コホートあたりの経時的な組成物VE303の細菌株の総存在量及び要約表を示す。

【図9C】各コホートの個々の対象各々の微生物叢における組成物VE303の細菌株の生着の相対的存在量及び耐久性を示す。耐久性のある生着を示す（図6も参照）。

【図10-1】経時的な各コホート内の微生物叢における組成物VE303の各細菌株の相対的存在量を示す。

【図10-2】経時的な各コホート内の微生物叢における組成物VE303の各細菌株の相対的存在量を示す。

【図11A】コホート4及びコホート5の対象における組成物VE303株の細菌株の相対的存在量を示す。経時的なコホート4及びコホート5における組成物VE303の細菌株の相対的存在量を示すプロットを提示する。

【図11B】コホート4及びコホート5の対象における組成物VE303株の細菌株の相対的存在量を示す。約4週での組成物VE303の細菌株の相対的存在量の要約表を示す。

【図12】ベースライン時、バンコマイシンの投与後（「Vanco後」）、組成物VE303の投与後1週間未満、及び組成物VE303の投与後1週間超での、経時的な微生物叢の多様性を示す。各治療日について、データを、左から右に、バンコマイシンのみ（「Vanco」）、コホート4、及びコホート5で示す。

【図13A】rCDIのヒト細菌株の合理的に定義されたコンソーシアムを示す。図13Aは、糞便微生物叢移植（FMT）後の再発性*Clostridium difficile*（rCDI）回復と関連付けられる上位細菌属のクラスター化されたヒートマップを示す。健康なドナー及びrCDI患者の便を、Leiden University Medical Center（LUMC）及びNetherlands Donor Feces Bank（NDFB）と協力して収集した。FMTへの応答は、*Clostridium*クラスターIV及びXIVaの移入と関連付けられる。

【図13B】rCDIのヒト細菌株の合理的に定義されたコンソーシアムを示す。VE303組成物、ヒトFMT、またはバンコマイシンを投与したマウスの生存を示す Kaplan-Meier プロットを示す。比較のため、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）または陰性の生きた生物学的製剤（陰性LBP）を投与したマウスは、*Clostridium difficile* 感染で死亡した。

【図14-1】正常で健康な有志における治験第1a/b相用量漸増試験を示す。さまざまなコホートを図1の図表に従って治療した。糞便試料を、各対象について示される時間で長期にわたって収集し、Illumina ショットガンメタゲノミクス配列決定によって分析した。第1の網掛け領域（左）は、バンコマイシンの毎日の投与を示す。第2の網掛け領域（右）は、VE303の毎日の投与を示す。各データ点は糞便収集を表す。

【図14-2】正常で健康な有志における治験第1a/b相用量漸増試験を示す。さまざまなコホートを図1の図表に従って治療した。糞便試料を、各対象について示される時間で長期にわたって収集し、Illumina ショットガンメタゲノミクス配列決定によって分析した。第1の網掛け領域（左）は、バンコマイシンの毎日の投与を示す。第2の網掛け領域（右）は、VE303の毎日の投与を示す。各データ点は糞便収集を表す。

【図15】正常で健康な有志におけるVE303の薬力学を示す。各細菌門の絶対的存在量の変化は、抽出された便の質量及びDNA収量に基づく。すべてのデータ点が上部パネルに表示され、データ点のサブセットが下部パネルに表示される。バンコマイシンを用いた治療により、細菌バイオマスは大幅に減少したものの、*Proteobacteria* DNAが一部の対象において増加した。

【図16】選択された時点でのFirmicutes、Bacteroidetes、及び*Proteobacteria*の絶対的存在量の変化を示す。矢印は、バンコマイシン治療後1週間以内のVE303関連性の回復傾向を示す。

【図17A】正常で健康な有志におけるVE303の薬物動態（PK）を示す。正常で健康な各有志対象で経時的に検出されたVE303株の数を示す。

【図17B】正常で健康な有志におけるVE303の薬物動態（PK）を示す。各株が定着した対象のパーセントを示し、中央値より大きい値が強調表示されている。8つすべてのVE303株が、ほぼすべてのコホート4及びコホート5の対象で検出された。

10

20

30

40

50

【図17C】正常で健康な有志におけるVE303の薬物動態(PK)を示す。すべてのデータ点(上部パネル)及びデータ点のサブセット(下部パネル)について、経時的な各対象におけるVE303コンソーシアムの総存在量を示す。

【図17D】正常で健康な有志におけるVE303の薬物動態(PK)を示す。VE303株あたりの存在量の中央値を示し、中央値より大きい値が強調表示されている。

【図18-1】正常で健康な有志におけるVE303の薬力学(PD)を示す。バンコマイシン後(バンコマイシン後)、回復から最大1週間(回復1週間未満)、または回復から1週間超(回復1週間超)の、最も存在量が高いFirmicutes、Bacteroidetes、及びProteobacteriaの対象あたりの総相対的存在量における変化。バンコマイシン単独後の自然回復が、VE303の存在下での回復と比較される(コホート4及びコホート5)。アスタリスク(*)は、BH補正済みの $p < 0.05$ のKruskal-Wallisを示す。

10

【図18-2】正常で健康な有志におけるVE303の薬力学(PD)を示す。バンコマイシン後(バンコマイシン後)、回復から最大1週間(回復1週間未満)、または回復から1週間超(回復1週間超)の、最も存在量が高いFirmicutes、Bacteroidetes、及びProteobacteriaの対象あたりの総相対的存在量における変化。バンコマイシン単独後の自然回復が、VE303の存在下での回復と比較される(コホート4及びコホート5)。アスタリスク(*)は、BH補正済みの $p < 0.05$ のKruskal-Wallisを示す。

【図18-3】正常で健康な有志におけるVE303の薬力学(PD)を示す。バンコマイシン後(バンコマイシン後)、回復から最大1週間(回復1週間未満)、または回復から1週間超(回復1週間超)の、最も存在量が高いFirmicutes、Bacteroidetes、及びProteobacteriaの対象あたりの総相対的存在量における変化。バンコマイシン単独後の自然回復が、VE303の存在下での回復と比較される(コホート4及びコホート5)。アスタリスク(*)は、BH補正済みの $p < 0.05$ のKruskal-Wallisを示す。

20

【図19A】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数及び株存在量を示す。図19Aは、バンコマイシン(vanco)のみで治療された対象及びバンコマイシンに続いてVE303で治療された対象の微生物叢で検出されたVE303株の数を示す。

30

【図19B】図19Bは、バンコマイシンのみで治療された対象及びバンコマイシンに続いてVE303で治療された対象の微生物叢で検出された各VE303株の存在量パーセントを示す。各時点について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、VE303-8が示される。「*」で示される網掛け領域は、バンコマイシン投与の時間を示す。「#」で示される領域は、組成物VE303投与の時間を示す。

【図20】本開示の追加のさまざまな治療コホートを図示する図表を提示する。

【図21-1】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。これらのグラフは、コホート1~6及び8の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。各時点について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、及びVE303-8が示される。「B」はベースライン時に検出されたVE303組成物株の数を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出されたVE303組成物株の数を示す。

40

【図21-2】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。これらのグラフは、コホート1~6及び8の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。各時点について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、及びVE303-8が示される。「B」はベースライン時に検出されたVE303組成物株の数を示し、「V」はバンコマイシン

50

治療中に検出されたV E 3 0 3 組成物株の数を示す。

【図22-1】コホート1～6及びコホート8の全対象集団の微生物叢で検出された組成物V E 3 0 3の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。試料は、24週までの示された時点で採取された。

【図22-2】コホート1～6及びコホート8の全対象集団の微生物叢で検出された組成物V E 3 0 3の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。試料は、24週までの示された時点で採取された。

【図22-3】コホート1～6及びコホート8の全対象集団の微生物叢で検出された組成物V E 3 0 3の細菌株の数として示した定着データを示すグラフを提示する。試料は、24週までの示された時点で採取された。

【図23】各コホートの個々の対象各々の微生物叢における組成物V E 3 0 3の各細菌株の生着の全体的な存在量及び耐久性を示す。各対象について、上から下に、組成物V E 3 0 3の細菌株V E 3 0 3-1、V E 3 0 3-2、V E 3 0 3-3、V E 3 0 3-4、V E 3 0 3-5、V E 3 0 3-6、V E 3 0 3-7、V E 3 0 3-8が示される。

【図24-1】経時的なコホート1～6及びコホート8の各々のなかの微生物叢における組成物V E 3 0 3の各細菌株の相対的存在量を示す。

【図24-2】経時的なコホート1～6及びコホート8の各々のなかの微生物叢における組成物V E 3 0 3の各細菌株の相対的存在量を示す。

【図24-3】経時的なコホート1～6及びコホート8の各々のなかの微生物叢における組成物V E 3 0 3の各細菌株の相対的存在量を示す。

【図24-4】経時的なコホート1～6及びコホート8の各々のなかの微生物叢における組成物V E 3 0 3の各細菌株の相対的存在量を示す。

【図25】バンコマイシンの投与前（ベースライン）、投与後、及び組成物V E 3 0 3の投与後の細菌門の相対的存在量を示す。「B」はベースライン時に検出されたV E 3 0 3組成物株の数を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出されたV E 3 0 3組成物株の数を示す。

【図26-1】バンコマイシンの投与前（ベースライン）、投与後、及び組成物V E 3 0 3の投与後の細菌門の定量化を示す。「B」はベースライン時に検出された各細菌門の量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各細菌門の量を示し、「R」は、バンコマイシン治療からの回復中に検出された各細菌門の量を示す。

【図26-2】バンコマイシンの投与前（ベースライン）、投与後、及び組成物V E 3 0 3の投与後の細菌門の定量化を示す。「B」はベースライン時に検出された各細菌門の量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各細菌門の量を示し、「R」は、バンコマイシン治療からの回復中に検出された各細菌門の量を示す。

【図27】経時的なコホート4、コホート5、及びコホート8におけるバンコマイシンによる治療後のC l o s t r i d i u mクラスターIV及びX I V a細菌の存在量を示す。K r u s k a l - W a l l i s検定で計算して、「n s」は0.05超のp値を示し、「*」は約0.05のp値を示し、「**」は0.001未満のp値を示す。

【図28】抗生物質で乱された腸がV E 3 0 3で治療することによってどのように健康に戻ることができるのかを例解する。

【図29】短鎖脂肪酸（S C F A）及び二次胆汁酸の回復がC l o s t r i d i u m d i f f i c i l e感染（C D I）患者の回復と関連付けられることを示す（S e e k a t z e t a l . , A n a e r o b e 2018, Oct, 53:64-73より）。

【図30-1】V E 3 0 3による治療後の一次共役胆汁酸（B A）の減少を示す。コホート1～5の対象からのさまざまな一次胆汁酸（グリコヘノデオキシコール酸、グリコホル（g l y c o h o l i c）酸、タウロケノデオキシコール酸、及びタウロコール酸）を、示される時点で採取された試料から定量化した。「B」はベースライン時に検出された各一次共役B Aの量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各一次共役B Aの量を示し、「R」はバンコマイシン治療からの回復中に検出された各一次共役B Aの量を示す。「*」は、V E 3 0 3投与が一次B Aの迅速な枯渇と関連付けられる興味深い傾

10

20

30

40

50

向を示す。

【図30-2】VE303による治療後の一次共役胆汁酸(BA)の減少を示す。コホート1~5の対象からのさまざまな一次胆汁酸(グリコヘノデオキシコール酸、グリコホル酸、グリコヘノデオキシコール酸、及びタウロコール酸)を、示される時点で採取された試料から定量化した。「B」はベースライン時に検出された各一次共役BAの量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各一次共役BAの量を示し、「R」はバンコマイシン治療からの回復中に検出された各一次共役BAの量を示す。「*」は、VE303投与が一次BAの迅速な枯渇と関連付けられる興味深い傾向を示す。

【図31】VE303による治療後の二次脱共役胆汁酸(BA)の回復を示す。コホート1~5の対象からのさまざまな二次胆汁酸(デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸)を、示される時点で採取された試料から定量化した。「B」はベースライン時に検出された各二次脱共役BAの量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各二次脱共役BAの量を示し、「R」はバンコマイシン治療からの回復中に検出された各二次脱共役BAの量を示す。「*」は、VE303投与が二次BAの迅速な回復と関連付けられる興味深い傾向を示す。

【図32】VE303による治療後の一次共役BAの減少及び二次脱共役BAの回復を示す。コホート4及びコホート5の対象からのさまざまな一次及び二次BA(グリコヘノデオキシコール酸、グリコホル酸、及びタウロコール酸；デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸)を、示される時点で採取された試料から定量化した。

「B」はベースライン時に検出された各一次または二次BAの量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各一次または二次BAの量を示し、「R」はバンコマイシン治療からの回復中に検出された各一次または二次BAの量を示す。「*」は、VE303投与が一次BAの迅速な枯渇または二次BAの回復と関連付けられる興味深い傾向を示す。

【図33-1】抗生物質による治療及びVE303の投与後のBAの減少及び回復を示す。コホート4及びコホート5の対象からのさまざまな一次及び二次BA(ケノデオキシコール酸、コール酸、グリコケノデオキシコール酸、グリココール酸、タウロコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸)を、示される時点で採取された試料から定量化した。

【図33-2】抗生物質による治療及びVE303の投与後のBAの減少及び回復を示す。コホート4及びコホート5の対象からのさまざまな一次及び二次BA(ケノデオキシコール酸、コール酸、グリコケノデオキシコール酸、グリココール酸、タウロコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸)を、示される時点で採取された試料から定量化した。

【図34A】VE303治療と胆汁酸産生との関連についての線形混合効果モデル分析の結果を示す。VE303は、二次胆汁酸の回復及び一次胆汁酸の減少と深く関連付けられる。

【図34B】VE303治療と胆汁酸産生との関連についての線形混合効果モデル分析の結果を示す。VE303は、二次胆汁酸の回復及び一次胆汁酸の減少と深く関連付けられる。

【図35-1】一次胆汁酸及び二次胆汁酸の代謝に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株は、一次胆汁酸及び二次胆汁酸両方の代謝に重要である。

【図35-2】一次胆汁酸及び二次胆汁酸の代謝に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株は、一次胆汁酸及び二次胆汁酸両方の代謝に重要である。

【図35-3】一次胆汁酸及び二次胆汁酸の代謝に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株は、一次胆汁酸及び二次胆汁酸両方の代謝に重要である。

【図35-4】一次胆汁酸及び二次胆汁酸の代謝に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株は、一次胆汁酸及び二次胆汁酸両方の代謝に重要である。

【図36A-1】胆汁酸(BA)回復に重要なVE303種及び常在微生物を示す。VE303グループA(VE303-01、VE303-02、VE303-03、VE303-04、VE303-05、VE303-06、VE303-07、VE303-08、VE303-09、VE303-10、VE303-11、VE303-12、VE303-13、VE303-14、VE303-15、VE303-16、VE303-17、VE303-18、VE303-19、VE303-20、VE303-21、VE303-22、VE303-23、VE303-24、VE303-25、VE303-26、VE303-27、VE303-28、VE303-29、VE303-30、VE303-31、VE303-32、VE303-33、VE303-34、VE303-35、VE303-36、VE303-37、VE303-38、VE303-39、VE303-40、VE303-41、VE303-42、VE303-43、VE303-44、VE303-45、VE303-46、VE303-47、VE303-48、VE303-49、VE303-50、VE303-51、VE303-52、VE303-53、VE303-54、VE303-55、VE303-56、VE303-57、VE303-58、VE303-59、VE303-60、VE303-61、VE303-62、VE303-63、VE303-64、VE303-65、VE303-66、VE303-67、VE303-68、VE303-69、VE303-70、VE303-71、VE303-72、VE303-73、VE303-74、VE303-75、VE303-76、VE303-77、VE303-78、VE303-79、VE303-80、VE303-81、VE303-82、VE303-83、VE303-84、VE303-85、VE303-86、VE303-87、VE303-88、VE303-89、VE303-90、VE303-91、VE303-92、VE303-93、VE303-94、VE303-95、VE303-96、VE303-97、VE303-98、VE303-99、VE303-100)

10

20

30

40

50

3-05、VE303-07、VE303-8)株は、一次BA回復と負の関連があり、二次BA回復と正の関連がある。VE303グループB株(VE303-04、VE303-06)は、二次BA回復と正の関連がある。

【図36A-2】胆汁酸(BA)回復に重要なVE303種及び常在微生物を示す。VE303グループA(VE303-01、VE303-02、VE303-03、VE303-05、VE303-07、VE303-8)株は、一次BA回復と負の関連があり、二次BA回復と正の関連がある。VE303グループB株(VE303-04、VE303-06)は、二次BA回復と正の関連がある。

【図36B】胆汁酸(BA)回復に重要なVE303種及び常在微生物を示す。VE303グループA(VE303-01、VE303-02、VE303-03、VE303-05、VE303-07、VE303-8)株は、一次BA回復と負の関連があり、二次BA回復と正の関連がある。VE303グループB株(VE303-04、VE303-06)は、二次BA回復と正の関連がある。

【図37】抗生物質による治療及びVE303の投与後の短鎖脂肪酸(SCFA)の回復を示す。コホート1~5の対象からのさまざまなSCFA(酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、及び吉草酸塩)を、示される時点で採取された試料から定量化した。「B」はベスライン時に検出された各SCFAの量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各SCFAの量を示し、「R」はバンコマイシン治療からの回復中に検出された各SCFAの量を示す。「*」は、VE303投与がSCFAの迅速な回復と関連付けられる興味深い傾向を示す。

【図38】抗生物質による治療及びVE303の投与後の短鎖脂肪酸(SCFA)の回復を示す。コホート4及びコホート5の対象からのさまざまなSCFA(酢酸塩、プロピオン酸塩、及び酪酸塩)を、示される時点で採取された試料から定量化した。「B」はベスライン時に検出された各SCFAの量を示し、「V」はバンコマイシン治療中に検出された各SCFAの量を示し、「R」はバンコマイシン治療からの回復中に検出された各SCFAの量を示す。「*」は、VE303投与がSCFAの迅速な回復と関連付けられる興味深い傾向を示す。

【図39A】VE303治療と短鎖脂肪酸(SCFA)回復との関連についての線形混合効果モデル分析の結果を示す。VE303は、酢酸塩、酪酸塩、及びプロピオン酸塩の回復と深く関連付けられる。

【図39B】VE303治療と短鎖脂肪酸(SCFA)回復との関連についての線形混合効果モデル分析の結果を示す。VE303は、酢酸塩、酪酸塩、及びプロピオン酸塩の回復と深く関連付けられる。

【図40-1】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸(SCFA)の回復に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株はSCFAの回復に重要である。

【図40-2】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸(SCFA)の回復に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株はSCFAの回復に重要である。

【図40-3】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸(SCFA)の回復に重要な上位20個の細菌株の素性を示す。VE303細菌株はSCFAの回復に重要である。

【図41A-1】短鎖脂肪酸(SCFA)回復に重要なVE303種及び常在微生物を示す。VE303グループA株(VE303-01、VE303-02、VE303-06、VE303-07)は、ヘキサン酸塩回復と正の関連があり、VE303グループB株(VE303-03、VE303-04、VE303-08)は、プロピオン酸塩と正の関連がある。

【図41A-2】短鎖脂肪酸(SCFA)回復に重要なVE303種及び常在微生物を示す。VE303グループA株(VE303-01、VE303-02、VE303-06、VE303-07)は、ヘキサン酸塩回復と正の関連があり、VE303グループB株(VE303-03、VE303-04、VE303-08)は、プロピオン酸塩と正の関連がある。

【図41B】短鎖脂肪酸(SCFA)回復に重要なVE303種及び常在微生物を示す。

10

20

30

40

50

VE303グループA株 (VE303-01、VE303-02、VE303-06、VE303-07) は、ヘキサン酸塩回復と正の関連があり、VE303グループB株 (VE303-03、VE303-04、VE303-08) は、プロピオン酸塩と正の関連がある。

【図42】VE303がバンコマイシン後の微生物叢の早期回復を促進することを示す。バンコマイシンのみ (5日間、毎日投与) (「Vanco」) またはVE303を14日間投与した健康な有志 (HV) (「コホート5」) の *Bacteroidetes* (左パネル) 及び *Proteobacteria* (右パネル) の平均相対的存在量 (+/-SEM)。「Vanco」の時点には、バンコマイシン投与+24時間の間に収集された試料が含まれる。「早期回復」の時点には、回復の最初の7日以内に収集された試料が含まれる。「晚期回復」の時点には、回復の最初の7日より後に収集された試料が含まれる。

10

【図43】VE303コンソーシアム及び株6 (*Dorea longicatena*) により、*in vitro*競合実験において *Clostridium difficile* (*C. difficile*) 増殖が減少したことを示す。*Dorea longicatena* を含まないVE303は、VE303増殖の抑制においてそれほど効果的ではなかった。*C. difficile* の培養物を、*Clostridium bifermens* (陽性対照)、VE303、*Dorea longicatena*、*Dorea longicatena* を含まないVE303の存在下、または競合株 (単数または複数) の非存在下 (*C. difficile* のみ) で培養した。*C. difficile* の量は、対照 (*C. difficile* のみ) のパーセンテージとして提示される。

20

【図44】本開示のためのさまざまな治療コホートを例解する図表を提示する。

【図45A】VE303定着を示す。対象集団の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の総数を示す。

【図45B】VE303定着を示す。図45Bの上の行はすべてのデータ点を含み、下の行は上の行の破線の下点を拡大している。バンコマイシン (「Vanco」): 0 CFU、コホート1: 1.6×10^9 CFU (1日)、コホート2: 4.0×10^9 CFU (1日)、コホート3: 8.0×10^9 CFU (1日)、コホート4: 4.0×10^{10} CFU (5日)、コホート5: 1.1×10^{11} CFU (14日)、コホート6: 1.7×10^{11} CFU (21日)。D6はVE303治療の6日目であり、D6~D11は6~11日目であり、D0~D20は0~20日目である。中央値 (+/-四分位範囲及び95%信頼区間) が各コホートについてプロットされる。VE303投与日は、矢印で各コホートについて示される。

30

【図46A】VE303投与の微生物叢薬力学を示す。ベースライン時 (破線のボックスの左側)、バンコマイシンの投与後 (破線のボックス)、及びバンコマイシン投与後の回復中 (破線のボックスの右側) の細菌門の相対的存在量を示す。各棒は、1人の対象における単一の時点での細菌の相対的存在量に対応し、時間によって増加する順になっている。D6はVE303治療の6日目であり、D6~D11は6~11日目であり、D0~D20は0~20日目である。

【図46B】VE303投与の微生物叢薬力学を示す。治療の時点による微生物叢指数 (MI) を示す (実施例11の式4を参照)。「ベースライン」は開始時の群集に対応し、「Vanco」は4~6日目に対応し、「早期回復」は試験の7~13日目 (またはVE303を伴うもしくは伴わないバンコマイシン治療後1週間) に対応し、「晚期回復」は14日以上の日数に対応し、「早期、vancoなし」は1~7日目 (またはコホート6のみについてはVE303後1週間) に対応し、「晚期、vancoなし」は、コホート6のみについて8日以上の日数に対応する。MIは $\log_{10}$ スケールでプロットされる。

40

【図46C】VE303投与の微生物叢薬力学を示す。各コホートの「早期回復」時点での各コホートまたはバンコマイシン対照における *Bacteroidetes* (左パネル) 及び *Proteobacteria* (右パネル) の存在量 (%) を示す。図46Dは、「早期回復」時点でのVE303漸増用量に対する微生物叢の応答 (MIで測定) を示す。

【図46D】VE303投与の微生物叢薬力学を示す。「早期回復」時点でのVE303

50

漸増用量に対する微生物叢の応答（M Iで測定）を示す。

【図46E】VE303投与の微生物叢薬力学を示す。「早期回復」及び「晩期回復」時点でのVE303漸増用量に対する微生物叢の応答（M Iによって測定）を示す。平均＋／－標準誤差が示される。

【図47A】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。ベースライン時、バンコマイシン投与後（破線のボックス内）、またはバンコマイシン投与後の回復期間中に健康な有志の便で測定された胆汁酸の相対的存在量を示す。各棒は、1人の対象における単一の時点での相対的胆汁酸存在量に対応する。「Vanco」はバンコマイシンであり、「BA」は胆汁酸であり、D6はVE303治療の6日目であり、D6～D11は6～11日目であり、D0～20は0～20日目である。

【図47B】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。胆汁酸指数（BAI）（実施例11の式35を参照）。「ベースライン」は開始時の群集であり、「Vanco」は4～6日目であり、「早期回復」は試験の7～13日目（またはVE303投与を伴うまたは伴わないバンコマイシン治療後1週間）に対応し、「晩期回復」は14日以上の日数に対応し、「早期、Vancoなし」は試験1～7日目（または、コホート6のみについてはVE303後1週間）に対応し、「晩期、Vancoなし」はコホート6のみについて8日以上試験日数に対応する。各コホートで試料が収集された最近日が各パネルの右下隅に示される。

【図47C-1】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。ベースライン時ならびに抗生物質による治療及びVE303の投与後の示されるBAの減少及び回復を示す。各時点について、左から右に、「Vanco」コホート、コホート4、及びコホート5の対象からのさまざまな一次BA及び二次BA（ケノデオキシコール酸、コール酸、グリコケノデオキシコール酸、グリココール酸、タウロコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸）を、示される時点で採取された試料から定量化した。

【図47C-2】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。ベースライン時ならびに抗生物質による治療及びVE303の投与後の示されるBAの減少及び回復を示す。各時点について、左から右に、「Vanco」コホート、コホート4、及びコホート5の対象からのさまざまな一次BA及び二次BA（ケノデオキシコール酸、コール酸、グリコケノデオキシコール酸、グリココール酸、タウロコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸）を、示される時点で採取された試料から定量化した。

【図47D-1】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。ランダムフォレスト回帰によって予測された、測定された微生物存在量の関数としての予測された測定された胆汁酸存在量を示す。患者ごとに1つの試料をランダムに選択することにより、100の異なるランダムフォレスト回帰を作成した。このプロセスを、さまざまなランダムシード初期化に対応して30回繰り返した。並べ替えた重要度p値が30×100回の反復の少なくとも50%において0.05以下である微生物を、累積局所効果（ALE）分析により評価する。線形モデルを結果として得られたALEプロットに適合させて、測定された各胆汁酸に対する各微生物の正／負の寄与を定性的に決定した。

【図47D-2】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。ランダムフォレスト回帰によって予測された、測定された微生物存在量の関数としての予測された測定された胆汁酸存在量を示す。患者ごとに1つの試料をランダムに選択することにより、100の異なるランダムフォレスト回帰を作成した。このプロセスを、さまざまなランダムシード初期化に対応して30回繰り返した。並べ替えた重要度p値が30×100回の反復の少なくとも50%において0.05以下である微生物を、累積局所効果（ALE）分析により評価する。線形モデルを結果として得られたALEプロットに適合させて、測定された各胆汁酸に対する各微生物の正／負の寄与を定性的に決定した。

【図47E】VE303投与の胆汁酸薬力学を示す。ランダムフォレスト回帰によって予測された、測定された微生物存在量の関数としての予測された測定された胆汁酸存在量を示す。患者ごとに1つの試料をランダムに選択することにより、100の異なるランダムフォレスト回帰を作成した。このプロセスを、さまざまなランダムシード初期化に対応し

10

20

30

40

50

て30回繰り返した。並べ替えた重要度p値が 30×100 回の反復の少なくとも50%において0.05以下である微生物を、累積局所効果(ALE)分析により評価する。線形モデルを結果として得られたALEプロットに適合させて、測定された各胆汁酸に対する各微生物の正／負の寄与を定性的に決定した。

【図48A】VE303投与の短鎖脂肪酸(SCFA)薬力学を示す。ベースライン時、バンコマイシン投与後、及びバンコマイシン投与後の回復中に健康な有志の便で測定された短鎖脂肪酸(SCFA)の濃度を示す。「B」はベースラインであり、「V」はバンコマイシンであり、「R」は回復である。

【図48B】VE303投与の短鎖脂肪酸(SCFA)薬力学を示す。VE303の複数回用量を受けた対象(コホート4及びコホート5)と比較した、バンコマイシンのみを受けた対象の経時的な便試料中の示されるSCFAの濃度(平均+/-sem)を示す。

10

【図48C】VE303投与の短鎖脂肪酸(SCFA)薬力学を示す。測定された微生物存在量の関数としての予測された測定されたSCFA存在量を示す。患者ごとに1つの試料をランダムに選択することにより、100の異なるランダムフォレスト回帰を作成した。このプロセスを、さまざまなランダムシード初期化に対応して30回繰り返した。並べ替えた重要度p値が 30×100 回の反復の少なくとも50%において0.05以下である微生物を、累積局所効果(ALE)分析により評価する。線形モデルを結果として得られたALEプロットに適合させて、測定されたSCFAに対する各微生物の正／負の寄与を定性的に決定した。

【図48D-1】VE303投与の短鎖脂肪酸(SCFA)薬力学を示す。測定された微生物存在量の関数としての予測された測定されたSCFA存在量を示す。患者ごとに1つの試料をランダムに選択することにより、100の異なるランダムフォレスト回帰を作成した。このプロセスを、さまざまなランダムシード初期化に対応して30回繰り返した。並べ替えた重要度p値が 30×100 回の反復の少なくとも50%において0.05以下である微生物を、累積局所効果(ALE)分析により評価する。線形モデルを結果として得られたALEプロットに適合させて、測定されたSCFAに対する各微生物の正／負の寄与を定性的に決定した。

20

【図48D-2】VE303投与の短鎖脂肪酸(SCFA)薬力学を示す。測定された微生物存在量の関数としての予測された測定されたSCFA存在量を示す。患者ごとに1つの試料をランダムに選択することにより、100の異なるランダムフォレスト回帰を作成した。このプロセスを、さまざまなランダムシード初期化に対応して30回繰り返した。並べ替えた重要度p値が 30×100 回の反復の少なくとも50%において0.05以下である微生物を、累積局所効果(ALE)分析により評価する。線形モデルを結果として得られたALEプロットに適合させて、測定されたSCFAに対する各微生物の正／負の寄与を定性的に決定した。

30

【図49-1】有志における治験第1a／b相用量漸増試験を示す。さまざまなコホートを図44の図表に従って治療した。糞便試料を、各対象について示される時間で収集し、Illuminaショットガンメタゲノミクス配列決定によって分析した。第1の網掛け領域(左)は、バンコマイシンの毎日の投与を示す。第2の網掛け領域(右)は、VE303の毎日の投与を示す。各データ点は糞便収集を表す。「Vanco」はバンコマイシンである。

40

【図49-2】有志における治験第1a／b相用量漸増試験を示す。さまざまなコホートを図44の図表に従って治療した。糞便試料を、各対象について示される時間で収集し、Illuminaショットガンメタゲノミクス配列決定によって分析した。第1の網掛け領域(左)は、バンコマイシンの毎日の投与を示す。第2の網掛け領域(右)は、VE303の毎日の投与を示す。各データ点は糞便収集を表す。「Vanco」はバンコマイシンである。

【図50A】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。バンコマイシンのみを受けたコホート(「Vanco」)の示される対象の微生物叢で検出された組成VE303の細菌株の数を示す。

50

【図50B-1】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート1～3の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。

【図50B-2】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート1～3の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。

【図50C-1】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート4及びコホート5の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。

【図50C-2】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート4及びコホート5の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。

10

【図50D】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示すグラフを提示する。コホート6の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の数を示す。各時点の各列について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、及びVE303-8が示される。

【図51A】実施例11に記載の検出方法を使用したVE303マーカーパネルの深度及びカバレッジを示す。図51Aは、各コホートの平均VE303マーカー深度を示す。

【図51B】図51Bは、各コホートのVE303マーカーのカバレッジ（検出されたVE303マーカーの割合）を示す。各データ点は、すべての時点にわたって対象の糞便試料メタゲノムで検出されたVE303株の平均深度またはカバレッジを表す。検出された菌株の最大数は8である。

20

【図52A】個々の対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示すグラフを提示する。図52Aは、バンコマイシンのみを受けたコホート（「Vanco」）の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示す。

【図52B-1】図52Bは、コホート1～3の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示す。

【図52B-2】図52Bは、コホート1～3の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示す。

30

【図52C】図52Cは、コホート4の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示す。

【図52D】図52Dは、コホート5の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示す。

【図52E】図52Eは、コホート6の示される対象の微生物叢で検出された組成物VE303の細菌株の存在量を示す。各時点の各列について、上から下に、組成物VE303の細菌株VE303-1、VE303-2、VE303-3、VE303-4、VE303-5、VE303-6、VE303-7、及びVE303-8が示される。図52C～52Eでは、上の行はすべてのデータ点を含み、下の行は上の行の破線の下点を拡大している。

40

【図53A】対象の便微生物叢における種の豊富度及び多様性を示す。各コホートの微生物叢で検出された細菌種の数によって評価した種の豊富度を示す。

【図53B】対象の便微生物叢における種の豊富度及び多様性を示す。各コホートの微生物叢における細菌種多様性指数（Shannon）を示す。

【図53C】対象の便微生物叢における種の豊富度及び多様性を示す。各コホートの微生物叢における細菌種多様性（Inv Simpson）を示す。「Shannon」はShannon多様性指数であり、「Inv Simpson」はSimpson多様性指数の逆数である。

【図54A】絶対的細菌存在量を示す。バンコマイシン投与前（ベースライン）、バンコマイシン投与後、及び組成物VE303の投与後の示される細菌門の各々についての細菌

50

DNAの定量化を示す。上の行はすべてのデータ点を含み、下の行は上の行の破線の下
点を拡大している。「B」はベースライン時に検出された各細菌門の量を示し、「V」は
バンコマイシン治療中に検出された各細菌門の量を示し、「R」はバンコマイシン治療
からの回復中に検出された各細菌門の量を示す。

【図54B】絶対的細菌存在量を示す。示されるコホートの糞便試料における総VE303
株存在量を示す。上の行はすべてのデータ点を含み、下の行は上の行の破線の下
点を拡大している。「B」はベースライン時に検出された各細菌門の量を示し、「V」は
バンコマイシン治療中に検出された各細菌門の量を示し、「R」はバンコマイシン治療
からの回復中に検出された各細菌門の量を示す。

【図55-1】示されたコホートの各々における時間ごとの個々の試料に基づく、示され
る細菌クラスの各々の相対的存在量を示す。

10

【図55-2】示されたコホートの各々における時間ごとの個々の試料に基づく、示され
る細菌クラスの各々の相対的存在量を示す。

【図56】コホートの各々における微生物叢の薬力学(PD)を示す。最も存在量が高い
Firmicutes(上の行)、Bacteroidetes(中央の行)、及びProteobacteria(下の行)の各々の相対的存在量を、ベースライン時、バンコ
マイシン投与後(「Vanco」)、回復から最大1週間(「早期回復」)、または回復
から1週間超(「晚期回復」)で示す。各時点について、コホートは、左から右に、バン
コマイシンのみ(「Vanco」)、コホート4、及びコホート5である。バンコマイシ
ン単独の後の自然回復をVE303の存在下(コホート4及びコホート5)での回復と比
較する。アスタリスク(*)は、BH補正済みの $p < 0.05$ のKruskal-Wallisを示す。

20

【図57A-1】示される共役一次胆汁酸(「共役1°BA」：グリココール酸、タウロ
コール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸)、非共役一次胆
汁酸(「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸)、二次胆汁酸(「二次B
A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸)、及び共役二次胆
汁酸(「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸)の回
復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、
並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少な
くとも1回の反復で有意(並べ替えたp値が0.05未満)であることが分かった細菌が
示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に
有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によ
って特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もあ
る。

30

【図57A-2】示される共役一次胆汁酸(「共役1°BA」：グリココール酸、タウロ
コール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸)、非共役一次胆
汁酸(「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸)、二次胆汁酸(「二次B
A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸)、及び共役二次胆
汁酸(「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸)の回
復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、
並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少な
くとも1回の反復で有意(並べ替えたp値が0.05未満)であることが分かった細菌が
示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に
有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によ
って特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もあ
る。

40

【図57A-3】示される共役一次胆汁酸(「共役1°BA」：グリココール酸、タウロ
コール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸)、非共役一次胆
汁酸(「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸)、二次胆汁酸(「二次B
A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸)、及び共役二次胆

50

酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図 5 7 A - 4】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図 5 7 A - 5】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図 5 7 A - 6】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図 5 7 A - 7】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、

並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図57A-8】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

10

【図57A-9】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

20

【図57A-10】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

30

40

【図57B-1】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が

50

示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図 5 7 B - 2】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

10

【図 5 7 B - 3】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

20

【図 5 7 B - 4】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

30

【図 5 7 B - 5】示される共役一次胆汁酸（「共役 1 ° B A」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役 1 ° B A」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次 B A」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役 2 ° B A」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも 1 回の反復で有意（並べ替えた p 値が 0.05 未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各 V E 3 0 3 株の各々を矢印で示す。この分析によ

40

50

って特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図57B-6】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

10

【図57B-7】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

20

【図57B-8】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

30

【図57B-9】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

40

50

【図57B-10】示される共役一次胆汁酸（「共役1°BA」：グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、タウロケノデオキシコール酸）、非共役一次胆汁酸（「非共役1°BA」：コール酸、ケノデオキシコール酸）、二次胆汁酸（「二次BA」：デオキシコール酸、リトコール酸、ウルソデオキシコール酸）、及び共役二次胆汁酸（「共役2°BA」：グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、胆汁酸存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

10

【図58A-1】既知の胆汁酸脱共役、エピマー化、及びジヒドロキシル化遺伝子に対するVE303細菌株オープンリーディングフレーム（ORF）（または対照参照ゲノムORF）の同一性パーセントを示すヒートマップである。

【図58A-2】既知の胆汁酸脱共役、エピマー化、及びジヒドロキシル化遺伝子に対するVE303細菌株オープンリーディングフレーム（ORF）（または対照参照ゲノムORF）の同一性パーセントを示すヒートマップである。

【図58B-1】既知の胆汁酸脱共役、エピマー化、及びジヒドロキシル化遺伝子に対するVE303細菌株オープンリーディングフレーム（ORF）（または対照参照ゲノムORF）の同一性パーセントを示すヒートマップである。

20

【図58B-2】既知の胆汁酸脱共役、エピマー化、及びジヒドロキシル化遺伝子に対するVE303細菌株オープンリーディングフレーム（ORF）（または対照参照ゲノムORF）の同一性パーセントを示すヒートマップである。

【図59A-1】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサ酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

30

【図59A-2】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサ酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

40

【図59A-3】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサ酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響す

50

る場合もある。

【図59A-4】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

10

【図59A-5】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図59A-6】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

20

【図59A-7】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

30

【図59A-8】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

40

【図59B-1】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには

50

、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図59B-2】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

10

【図59B-3】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

20

【図59B-4】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

30

【図59B-5】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

40

【図59B-6】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

50

【図59B-7】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図59B-8】抗生物質による治療後の短鎖脂肪酸（SCFA：酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、イソ酪酸塩、イソ吉草酸塩、吉草酸塩、及び2メチル酪酸塩）の回復と関連付けられる細菌株を示す。細菌株は、並べ替えた重要度分析に基づいて特定し、並べ替えたときの平均二乗予測誤差の増加に応じてランク付けした。各パネルには、少なくとも1回の反復で有意（並べ替えたp値が0.05未満）であることが分かった細菌が示される。点の網掛けは、ランダムフォレスト反復の総数に対して計算された、統計的に有意である頻度を示す。重要とみなす各VE303株の各々を矢印で示す。この分析によって特定された種は、SCFAの存在量に対して、正に影響する場合も負に影響する場合もある。

【図60】生きた生物学的製剤（LBP）の薬物動態（PK）及び薬力学（PD）を定義するための本明細書に記載の例示的な方法の要約を示す。各LBPコンソーシアムメンバーのゲノム配列及び各々に固有のマーカー配列が特定され、細菌株が対象に定着するために使用され、対象の共生微生物叢に対するLBPの影響がLBP開発中に行われてもよい。糞便中の短鎖脂肪酸（SCFA）及び胆汁酸（BA）は、特定の適応症の治療用に設計されたLBPのPDを特徴付ける上で有用であってもよい。

【図61】微生物叢及び代謝産物とVE303投与との関連性のモデルを示す。健康なヒトの腸（左のパネル）、*Clostridium difficile*感染の状況下（中央のパネル）、ならびに微生物叢、胆汁酸、及びSCFA恒常性の復元をもたらすVE303の投与後の健康なヒトの腸（右のパネル）における、共生微生物、BA、SCFA、及び腸上皮の間の相互作用の簡素化モデル。

【図62】対象の微生物叢における細菌組成物の細菌株の存在を検出するためのアッセイの開発の概略図を示す。上の概略図は、細菌組成物の各細菌株に固有のゲノムマーカーの特定を示す。下の概略図は、対象の微生物叢における細菌株の存在を決定するための、対象の微生物叢試料から得られたDNA配列における固有のゲノムマーカーの検出を示す。

【図63】対象の微生物叢における細菌組成物の細菌株の存在を検出するためのアッセイの最適化を示す。

【図64】VE303株1細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図65】VE303株2細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図66】VE303株3細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図67】VE303株4細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量で

10

20

30

40

50

ある。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図68】VE303株5細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図69】VE303株6細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図70】VE303株7細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

10

【図71】VE303株8細菌から単離したDNAのqPCR増幅を示す。CTは、増幅されたDNAの量がバックグラウンドを超えて検出可能であるqPCRサイクルの数である。ng/rxnは、各qPCR反応の開始時に存在するナノグラム単位のDNAの量である。直線の傾きは、qPCR増幅の効率と相関する。

【図72A】細菌組成物の投与後の示される時点でコホート内の個体からの糞便試料で検出されたVE303株の数を示す。25回のPCRサイクルを使用した結果を示す。

【図72B】細菌組成物の投与後の示される時点でコホート内の個体からの糞便試料で検出されたVE303株の数を示す。30回のPCRサイクルを使用した結果を示す。

20

【図72C】細菌組成物の投与後の示される時点でコホート内の個体からの糞便試料で検出されたVE303株の数を示す。35回のPCRサイクルを使用した結果を示す。

【図73A】細菌組成物の投与後の示される時点でコホート内の個体からの糞便試料で検出された組成物VE303株中の各株についてのqPCR陽性試料の数を示す。25回のPCRサイクルを使用した結果を示す。

【図73B】細菌組成物の投与後の示される時点でコホート内の個体からの糞便試料で検出された組成物VE303株中の各株についてのqPCR陽性試料の数を示す。30回のPCRサイクルを使用した結果を示す。

【図73C】細菌組成物の投与後の示される時点でコホート内の個体からの糞便試料で検出された組成物VE303株中の各株についてのqPCR陽性試料の数を示す。35回のPCRサイクルを使用した結果を示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0053】

1つ以上の精製された細菌株を含む医薬組成物の投与を伴う対象において腸内毒素症を減少させるための方法が、本明細書に提供される。1つ以上の精製された細菌株を含む医薬組成物の投与を伴う対象において微生物叢を復元するための方法が、本明細書に提供される。また、1つ以上の精製された細菌株を含む医薬組成物の対象への投与を伴う対象における微生物叢の回復を増加させるための方法が、本明細書に提供される。また、1つ以上の精製された細菌株を含む医薬組成物の対象への投与を伴う対象の微生物叢を保護するための方法が本明細書に提供される。また、1つ以上の精製された細菌株を含む医薬組成物の対象への投与を伴う対象の微生物叢に定着させるための方法が本明細書に提供される。

40

【0054】

本発明は、その適用において、以下の説明に示されるかまたは図面に図示される構成要素の構造及び配置の詳細に制限されない。本発明は、他の実施形態が可能であり、さまざまな方法で実践または遂行することができる。また、本明細書で使用される表現及び用語は、説明を目的とするものであり、限定的なものと見なされるべきではない。本明細書における「含む(including)」、「含む(comprising)」、または「有する」、「含有する(containing)」、「伴う(involveing)」、及びそれらの変形の使用は、その後列記される項目及びその同等物、ならびに追加の項

50

目を包含することを意味する。

【0055】

本開示の態様は、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を対象に投与することを含む、対象において腸内毒素症を減少させるための方法に関する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、対象の腸内微生物叢の腸内毒素症を減少させるために投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加用量または量を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することをさらに含む。

【0056】

本明細書で使用される場合、「腸内毒素症」は、対象内または対象の表面上の微生物叢の不均衡を指す。微生物叢は、例えば哺乳動物対象では、皮膚上、胃腸管（すなわち、腸）内、口腔内、及び雌対象の膣管内に存在し、細菌、古細菌、原生生物、真菌、及びウイルスを含む。いくつかの場合には、微生物叢に存在する種は、対象の腸管における食物の消化を助け、病原性微生物の侵入から身体を保護し、免疫進行を促進するなど、有用または必要な機能を実行することによって、対象に利益をもたらす。これらの機能を実行する微生物叢内の生物は、害を与えることなく対象中に存在し、場合によっては実に宿主に利益をもたらすので、共生生物または片利共生生物と称されることがある。腸内毒素症では、対象の正常な微生物叢が攪乱されるかまたは損傷することで、さまざまな疾患及び／または障害がもたらされ得る。腸内毒素症により、例えば、有益種の喪失、微生物多様性の喪失、病原性生物（単数または複数）の増加、及び／または代謝能力の変化が生じ得る。いくつかの実施形態では、通常は微生物叢で優位を占める種が少数しか存在しなくなり（例えば、片利共生または共生種）、通常は少数しか存在しない種（例えば、日和見種）が優位を占めるようになる。Petersen et al., "Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease." *Cell Microbiol* 2014, July 16 (7), 1024-1033も参照されたい。本開示の組成物及び方法は、いくつかの実施形態では、さまざまな面で腸内毒素症を減少させ得ることを理解されたい。このため、例えば、いくつかの実施形態では、本組成物及び方法により、微生物叢に有益な細菌種の存在量の増加がもたらされる。いくつかの実施形態では、本組成物及び方法により、病原性細菌種の存在量の減少がもたらされる。しかしながら、本明細書で提供される組成物及び方法は、必ずしも腸内毒素症のすべての特徴を減少させなくてもよいことも理解されたい。例えば、いくつかの実施形態では、本組成物及び方法により、微生物叢に有益な細菌種の存在量の増加がもたらされるが、同時に微生物叢の多様性が増加しない。本開示の態様は、対象において腸内毒素症を減少させる方法に関する。本明細書で使用される場合、「腸内毒素症の減少」は、微生物群集の組成及び恒常性を回復することを指す。

【0057】

微生物叢の混乱により、微生物叢内または他のソースからの病原体が、対象中で定着し、過密になり、及び／または疾患を引き起こすことが許容され得る。腸内毒素症は、*Clostridium difficile* 感染、がん、炎症性腸疾患（IBD）、肥満、大腸炎、慢性疲労症候群、歯周炎、及び細菌性膣炎を含む、多くの疾患及び／または障害に関連している。

【0058】

腸内毒素症は、検便（例えば、微生物集団の特定及び／または定量化、酵素アッセイ、代謝物アッセイ、免疫機能）、水素／メタン呼気検査などのさまざまな方法の多くによって、検出及び／または監視され得る。

【0059】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少には、1つ以上の細菌集団の存在量の変化（増加または減少）が伴う。細菌の特定の種または株の存在量及び細菌の集団の存在量を含む細菌の存在量（例えば、特定の門に属する細菌）は、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して評価され得る。一般に、細菌の存在量は、直接的に評価されても間接的に評

10

20

30

40

50

価されてもよい。試料（例えば、微生物叢またはその試料）中の細菌の存在量を直接的に評価するための方法の例には、対象からの糞便試料中の細菌株を特定及び定量化することが含まれる。試料（例えば、微生物叢またはその試料）中の細菌の存在量を間接的に評価するための方法の例には、核酸試料（例えば、糞便または生検試料から取得された所与の細菌種または他の細菌遺伝子の16S rRNA遺伝子）の配列決定、ならびに対象からの糞便試料中の特定の細菌に関連付けられる代謝物の検出及び定量化（例えば、リン脂質脂肪酸代謝、微生物バイオマス炭素分析）が含まれる。

【0060】

対象からの試料中の1つ以上の細菌集団の存在量を、別の時に取得された（例えば、以前または以後に取得された）同じ対象からの試料中の細菌集団の存在量と比較してもよい。あるいは、対象からの試料中の1つ以上の細菌集団の存在量を、異なる対象（例えば、参照対象）からの試料中の細菌集団の存在量と比較してもよい。

10

【0061】

いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の（例えば、胃腸微生物叢）の腸内毒素症は、炎症及び／または疾患と関連付けられる微生物の存在量の増加を特徴とする。いくつかの実施形態では、腸内毒素症は、*Proteobacteria*の存在量の増加を特徴とする。いくつかの実施形態では、炎症及び／または疾患と関連付けられる微生物の存在量の増加は、本明細書に記載されるように、腸内毒素症誘発事象と称される事象に曝露する前の炎症と関連付けられる微生物の存在量と比べたものである。

【0062】

20

いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の（例えば、胃腸微生物叢の）腸内毒素症は、1つ以上の有益な効果を対象に提供すると考えられている微生物の存在量の減少を特徴とする。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の（例えば、胃腸内微生物叢の）腸内毒素症は、*Bacteroidetes*門の細菌の存在量の減少を特徴とする。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の（例えば、胃腸内微生物叢の）腸内毒素症は、*Firmicutes*門の細菌の存在量の減少を特徴とする。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の（例えば、胃腸微生物叢の）腸内毒素症は、*Clostridium*クラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌の存在量の減少を特徴とする。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の（例えば、胃腸微生物叢の）腸内毒素症は、*Clostridium*クラスターXVIIに属する細菌の存在量の減少を特徴とする。いくつかの実施形態では、有益な微生物の存在量の減少は、本明細書に記載されるように、腸内毒素症誘発事象と称される事象に曝露する前の炎症と関連付けられる微生物の存在量と比べたものである。

30

【0063】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Bacteroidetes*門の細菌（例えば、*Bacteroides*属の細菌）の存在量が、本医薬組成物の投与前の対象（またはその微生物叢）における*Bacteroides*の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Bacteroidetes*門の細菌（例えば、*Bacteroides*属の細菌）の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における*Bacteroides*の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Bacteroides*属に属する1つ以上の細菌種の存在量が増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Bacteroides*属に属する細菌種全体の存在量が増加する。

40

【0064】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法により、*Bacteroides*の存在量が増加する。興味深いことに、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は*Bacteroides*種を含まない。いずれの特定の理論にも束縛されることを望むものではないが、いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、例えば*Bacteroides*種が生着及び／または増殖するのに有利な環境を提供することによって、*Bact*

50

*eroides*種の定着及び／または増殖を促進し得る。

【0065】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量が、本医薬組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、参照対象における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

10

【0066】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における*Bacteroides*の存在量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における*Bacteroides*の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における*Bacteroides*の存在量が、本医薬組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における*Bacteroides*の存在量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、参照対象における*Bacteroides*の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

20

30

【0067】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における*Bacteroidetes*門の細菌の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における*Bacteroides*の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%

40

50

、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、参照対象における *Bacteroidetes* 門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

【0068】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Bacteroides* の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Bacteroides* の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Bacteroides* の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Bacteroides* の存在量が、本組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Bacteroides* の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、参照対象における *Bacteroides* の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

【0069】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Firmicutes* の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Firmicutes* の存在量と比べて、増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Firmicutes* の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Firmicutes* の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Firmicutes* 門に属する1つ以上の細菌種の存在量が増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Firmicutes* 門に属する細菌種全体の存在量が増加する。本医薬組成物が *Firmicutes* 門に属するいずれの細菌種も含まない場合であっても、*Firmicutes* 門に属する細菌種の存在量の増加が生じてよいことを理解されたい。本医薬組成物が *Firmicutes* 門に属する細菌種を含む場合、存在量の増加は、本細菌組成物中に存在した *Firmicutes* 門に属する細菌種と、本組成物に存在しなかった *Firmicutes* 門に属する細菌種との両方を含んでもよい。

【0070】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Firmicutes* の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Firmicutes* の存在量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Firmicutes* 門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Firmicutes* の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Firmicutes* の存在量と比較して、1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、

1. 5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、参照対象におけるFirmicutes門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

【0071】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）におけるFirmicutesの存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）におけるFirmicutesの存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象におけるFirmicutes門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）におけるFirmicutesの存在量が、本組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）におけるFirmicutesの存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、参照対象におけるFirmicutes門の細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

【0072】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法にしたがうと、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、Firmicutes門の細菌種の存在量が増加し、Bacteroidetes門の細菌種が増加する。

【0073】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、ClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）におけるClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、ClostridiumクラスターIV、XIVa、及び／またはXVIIに属する細菌の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）におけるClostridiumクラスターIV、XIVa、及び／またはXVIIに属する細菌の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、クラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）におけるクラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、ClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌の1つ以上の細菌種の存在量が増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、ClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌種全体の存在量が増加する。いくつかの実施形態では、投与前の対象におけるClostridiumクラスターIV、XIVa、及び／またはXVIIに属する細菌の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。

【0074】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）におけるClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する細菌株の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）におけ

る *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量と比較して、少なくとも 1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、100 倍、1000 倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量が、本医薬組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量と比較して、少なくとも 1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、100 倍、1000 倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。

【0075】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量と比較して、少なくとも 5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、100 %、125 %、150 %、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量が、本組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター I V 及び／または X I V a の存在量と比較して、少なくとも 5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、100 %、125 %、150 %、またはそれ以上増加する。

【0076】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌の存在量と比べて増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Clostridium* クラスター X V I I に属する 1 つ以上の細菌種の存在量が増加する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌種全体の存在量が増加する。

【0077】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌株の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量と比較して、少なくとも 1.1 倍、1.2 倍、1.

3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、100 倍、1000 倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I に属する細菌株の存在量が、本医薬組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量と比較して、少なくとも 1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、100 倍、1000 倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上増加する。

10

【0078】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量と比較して、少なくとも 5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、100 %、125 %、150 %、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より低かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量が、本組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Clostridium* クラスター X V I I の存在量と比較して、少なくとも 5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、100 %、125 %、150 %、またはそれ以上増加する。

20

30

【0079】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、炎症と関連付けられる微生物の存在量が減少する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、炎症と関連付けられる 1 つ以上の微生物の存在量が減少する。本明細書で使用される場合、「炎症と関連付けられる微生物」という用語は、対象の定着または感染時に炎症性応答を誘発する微生物を指す。炎症と関連付けられる微生物は、例えば、Zechner: "Inflammatory disease caused by intestinal pathobionts," *Current Opinion in Microbiology* (2017) 35: 64-69、及び IBD における微生物の役割を説明している多数の刊行物（例えば、Hoffmann et al., *ISME J.* 2016 Feb; 10 (2): 460-477 を参照されたい）に記載されている。いくつかの実施形態では、炎症と関連付けられる微生物は、例えば、炎症性サイトカインの存在及び／または定着もしくは感染の部位への炎症免疫細胞の浸潤を特徴とする急性炎症を誘発する。いくつかの実施形態では、炎症と関連付けられる微生物は、慢性炎症を誘発する。いくつかの実施形態では、炎症と関連付けられる微生物は *Proteobacteria* である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、炎症と関連付けられる 1 つ以上の細菌種の存在量が減少する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、炎症と関連付けられる細菌種全体の存在量が減少する。いくつかの実施形態では、投与前の対象における炎症と関連付けられる細菌種（例えば、*Proteobacter*

40

50

i a) の存在量が、抗生物質による治療を理由に増加した。

【0080】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上減少する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における炎症と関連付けられる微生物の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より高かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量が、本医薬組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量と比較して、少なくとも1.1分の1、1.2分の1、1.3分の1、1.4分の1、1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、 10^4 分の1、 10^5 分の1、またはそれ以下に減少する。

10

【0081】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%減少する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における炎症と関連付けられる微生物の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より高かった。

20

【0082】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物の投与により対象（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在量が、本医薬組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における炎症と関連付けられる微生物の存在と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上減少する。

30

【0083】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、*Proteobacteria*の存在量が減少する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、*Proteobacteria*門に属する1つ以上の細菌株の存在量が減少する。*Proteobacteria*は、*Escherichia coli*、*Salmonella*属、*Campylobacter*属、及び*Pseudomonas*属など多くの病原菌を含むグラム陰性菌の門である。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Proteobacteria*門に属する1つ以上の細菌種の存在量が減少する。いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少により、*Proteobacteria*門に属する細菌種全体の存在量が減少する。

40

【0084】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における*Proteobacteria*の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における*Proteobacteria*の存在量と比

50

較して、少なくとも1.1分の1、1.2分の1、1.3分の1、1.4分の1、1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、 10^4 分の1、 10^5 分の1、またはそれ以下に減少する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Proteobacteria* の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より高かった。いくつかの実施形態では、本医薬組成物を投与する前の対象における *Proteobacteria* の存在量は、抗生物質による治療を理由に、より高かった。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Proteobacteria* の存在量が、本医薬組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Proteobacteria* の存在量と比較して、少なくとも1.1分の1、1.2分の1、1.3分の1、1.4分の1、1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、 10^4 分の1、 10^5 分の1、またはそれ以下に減少する。

【0085】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Proteobacteria* の存在量が、本医薬組成物を投与する前の対象（またはその微生物叢）における *Proteobacteria* の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%減少する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象（またはその微生物叢）における *Proteobacteria* の存在量が、本組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）（またはその微生物叢）における *Proteobacteria* の存在量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上減少する。

【0086】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法にしたがうと、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、*Firmicutes* 門の細菌種の存在量が増加し、*Bacteroidetes* 門の細菌種が増加し、*Proteobacteria* 門の細菌種の存在量が減少する。

【0087】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法にしたがうと、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、*Firmicutes* 門の細菌種の存在量が増加し、*Bacteroidetes* 門の細菌種が増加する。

【0088】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法にしたがうと、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、*Firmicutes* 門の細菌種の存在量が増加し、*Proteobacteria* 門の細菌種の存在量が減少する。

【0089】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法にしたがうと、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、*Bacteroidetes* 門の細菌種の存在量が増加し、*Proteobacteria* 門の細菌種の存在量が減少する。

【0090】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、腸内毒素症の減少は、対象の微生物叢多様性の比例的増加と相関しない。一般に微生物叢の多様性は健康な微生物叢と関連付けられるが、本明細書に提供される組成物及び方法により、多様性を復元することなく微生物叢の強度が復元されることが本明細書で意外にも見出された。特定の機序に限定されるものではないが、微生物叢は、本明細書に提供される医薬組成物の構成によって復元されると考えられる。このため、例えば、組成物中の限られた数の *Clostridium* クラスター XIVa の細菌株は、未処理の健康な微生物叢に見られる *Clostridium* クラスター XIVa 株のより大きな群の役割を代わって担うことができる。よって、本明細書に提供される組成物を用いて、かつ本明細書に提供される方法に従って処理した微生物叢は、健康な微生物叢のすべての特質を示し得るが、健康な微生物叢と関連付けられることがある高い多様性を有しない場合がある。

10

【0091】

本開示の態様は、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与することを含む、対象の微生物叢を復元するための方法に関する。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加の投与を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前に抗生物質を対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することをさらに含む。

【0092】

本明細書で使用される場合、対象の「微生物叢の復元」は、対象の胃腸微生物叢の細菌集団の相対的な存在量及び／または微生物多様性を再確立または回復することを指す。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢は、健康な対象の微生物叢（健康な微生物叢）に復元される。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢は、以前の同じ対象の微生物叢に復元される。いくつかの実施形態では、微生物叢が復元されている対象は、過敏性腸症候群、潰瘍性大腸炎、またはクローン病などの炎症状態を有してもよい。いくつかの実施形態では、微生物叢が回復されている対象は、アレルギー（例えば、食物アレルギー）を有してもよい。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢は、炎症状態の前に同じ対象の微生物叢に回復される。このため、復元が必要な微生物叢は腸内毒素症誘発事象を受けていない場合があることを理解されたい。本明細書に提供される方法にしたがうと、いくつかの実施形態では、微生物叢の復元が必要な対象は、腸内毒素症誘発事象を受けていない場合がある。いくつかの実施形態では、微生物叢の復元が必要な対象は、*Clostridium difficile* 感染を有していない。いくつかの実施形態では、微生物叢の復元が必要な対象は、抗生物質により治療されていない。

20

30

【0093】

復元が必要な微生物叢は、例えば、損傷した微生物叢と関連付けられる識別特性の存在を特徴とする。一般に、微生物叢は、細菌または特定の細菌種の集団の存在または非存在に基づいて特徴付けることができる。例えば、損傷した微生物叢では、病原体が過密になり、及び／または片利共生細菌の存在が減少していることがある。損傷微生物叢は、その生物学的機能によっても特徴付けることができる。例えば、損傷した微生物叢は、粘膜関門及び健康な免疫機能を維持できない場合があり、及び／または損傷した微生物叢は、感染及び健康な微生物叢と戦うことができない場合がある。

40

【0094】

いくつかの実施形態では、対象の微生物叢を復元することで、健康な微生物叢（例えば、健康な対象の微生物叢）に実質的に類似する微生物叢が生じる。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢を復元することで、損傷した微生物叢よりも健康な微生物叢により類似する微生物叢が生じる。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢を復元することで、細菌または特定の細菌種の1つ以上の集団の復元または存在の増加が生じる。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢を復元することで、細菌または特定の細菌種の1つ以上の集団の回復または存在の減少が生じる。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢を復元することで、微生物叢の1つ以上の機能の向上が生じる。いくつかの実施形態では、対象

50

の微生物叢を復元することで、微生物叢の1つ以上の機能の低下が生じる。

【0095】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物により、微生物叢の完全な多様性を復元することなく、微生物叢が復元され得る。一般的に微生物叢の多様性は健康な微生物叢と関連付けられるが、本明細書に提供される組成物及び方法により、多様性を復元することなく微生物叢の強度が復元されることが本明細書で意外にも見出された（例えば、シャノン指数によって定義されるとおり）。特定の理論に限定されることを望むものではないが、微生物叢は、組成物中の投与される特定の細菌株の構成ならびに本明細書に提供される治療の方法及び投薬レジメンによって復元される。このため、例えば、組成物中の限られた数の *Clostridium* クラスター XIVa に属する細菌株は、未処理の健康な微生物叢に見られる XIVa 株のより大きな群の役割を担うことができる。よって、本明細書に記載の組成物を用いて処理した微生物叢は、健康な微生物叢の識別特性（*Bacteroidetes* 及び *Firmicutes* の存在ならびに *Proteobacteria* の非存在を含む）を示し得るが、健康な微生物叢と典型的に関連付けられ得る高い多様性を有しない場合がある。

10

【0096】

本明細書で使用される場合、「健康な微生物叢」は、顕性疾患を有しない対象（例えば、健康な対象）からの微生物叢を指す。健康な微生物叢の微生物組成は大きく異なり得るものの、健康な微生物叢を特徴付けるいくつかの傾向が明らかになっている。例えば、胃腸微生物叢は、特定の種の組成に関係なく、健康な微生物叢によって行われる、炭水化物、脂質、及び他の栄養素の代謝を含む、ある数の代謝及び／または他の分子機能を行ってもよい。ある場合には、健康な微生物叢によって実行される代謝及び分子機能は、宿主対象が行えるものではなく、その結果、共生する宿主－微生物関係が生じる。加えて、健康な微生物叢は、対象における外部（例えば、食事または医薬品）及び／または内部（例えば、年齢、疾患状態、ストレス、炎症）の変化に対して回復力がある傾向にある。健康な微生物叢の回復力はまた、攪乱が生じた後に健康な状態が復元される能力及び速度によって特徴付けることができる。あるいは、または加えて、健康な微生物叢は、*Proteobacteria* 門からの種と比べて、*Firmicutes* 門及び *Bacteroides* 属からの細菌種の相対的存在量が高い（例えば、75%超）ことによって特徴付けられてもよい。

20

【0097】

いくつかの実施形態では、微生物叢が復元されたまたは微生物叢が健康である対象は、*Proteobacteria* 門からの細菌と比較して、*Firmicutes* 門及び／または *Bacteroides* 属からの細菌の存在量が増加する。

【0098】

いくつかの実施形態では、微生物叢が復元されたまたは微生物叢が健康である対象は、*Proteobacteria* 門からの細菌と比較して、*Firmicutes* 及び／または *Bacteroidetes* 門からの細菌の存在量が増加する。

【0099】

いくつかの実施形態では、対象は、腸内毒素症誘発事象を受けていないか、または経験していない。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物の投与の1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、12週、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上前に、腸内毒素症を受けていないか、または腸内毒素症誘発事象を経験していない。いくつかの実施形態では、対象は、感染症を有していない。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物の投与の1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、12週、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上前に、感染症を有していない。いくつかの実施形態では、対象は、*Clostridium difficile* 感染を有していない。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物の投与の1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週

40

50

、9週、10週、12週、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上前に、*Clostridium difficile*感染を有していない。いくつかの実施形態では、対象は、抗生物質で治療されていない。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物の投与前の1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、12週、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上前に、抗生物質で治療されていない。いくつかの実施形態では、対象は、バンコマイシンで治療されていない。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物の投与の1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、12週、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上前に、バンコマイシンで治療されていない。

10

【0100】

本開示の態様は、腸内毒素症誘発事象後の対象における健康な微生物叢の回復を増加させるための方法に関し、本方法は、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加用量を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前に抗生物質を対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することをさらに含む。

【0101】

本明細書で使用される場合、健康な微生物叢の「回復を増加させること」という用語は、回復の速度または回復の全体的な程度の増加を指す（例えば、対象の微生物叢は、本医薬組成物の投与後に、健康な微生物叢により類似している）。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復を増加させることは、回復の速度の増加を指す。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復は、回復の全体的な程度の増加を指す（例えば、対象の微生物叢は、本医薬組成物の投与後に、健康な微生物叢により類似している）。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の「回復を増加させること」は、回復の速度の増加及び回復の全体的な程度の増加を指す。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物のいずれかの投与後、本医薬組成物を投与されなかった対象における健康な微生物叢の回復と比較して、より迅速に対象において健康な微生物叢が回復される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物のいずれかの投与後、糞便物質移植を受けた対象における健康な微生物叢回復と比較して、より迅速に対象において健康な微生物叢が回復される。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復の増加は、本医薬組成物を投与されなかった対象における健康な微生物叢の回復よりも、少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、5週、または6週早く生じる。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復の増加は、糞便物質移植を受けなかった対象における健康な微生物叢の回復よりも、少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、5週、または6週早く生じる。

20

30

【0102】

いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復を増加させることは、回復率の増加を指す。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復は、本明細書に記載の医薬組成物の投与から1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、5週、または6週の内に生じる。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復は、本明細書に提供される方法にしたがい本医薬組成物により治療されなかった対象と比較して、2倍速く、3倍速く、4倍速く、5倍速く、6倍速く、7倍速く、8倍速く、9倍速く、10倍速く、20倍速く、100倍速く、またはそれ以上早く生じる。

40

【0103】

いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復を増加させることは、回復の全体的な程度の増加を指す。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復は、本明細書に提供される方法にしたがい本医薬組成物により治療されなかった対象と比較して、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17

50

%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上良好である。

【0104】

いくつかの実施形態では、回復は、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の検出可能な定着なく生じる。いくつかの実施形態では、健康な微生物叢の回復は、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の定着と関連付けられる。

【0105】

本明細書に提供される方法のいくつかの実施形態では、対象は、腸内毒素症誘発事象を経験している。本明細書に提供される方法のいくつかの実施形態では、対象は、本明細書に提供される医薬組成物の単回用量または複数回用量の投与前に、腸内毒素症誘発事象を経験している。本明細書で使用される場合、「腸内毒素症誘発事象」という用語は、対象の微生物叢を混乱させる事象（単数または複数）を指す。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象を経験した対象は、本明細書に記載の医薬組成物のいずれかの投与を必要としている。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象を経験した対象は、微生物叢を健康な微生物叢に回復または復元するために、本明細書に記載の医薬組成物のいずれかを投与される。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢は、腸内毒素症誘発事象後に、損傷した微生物叢の1つ以上の特徴（識別特性）を有する。腸内毒素症誘発事象の例には、抗生物質への曝露（例えば、バンコマイシンによる治療）、感染症、*Clostridium difficile* 感染、アルコールの誤用、手術、化学療法剤による治療、免疫抑制剤による治療、旅行者下痢、不適切な食事が挙げられる。

【0106】

加えて、さまざまなクラスの治療薬のいずれかへの曝露により微生物叢が調節され得ること、及び腸内微生物叢のメンバーが構造的に多様な薬物分子を代謝することが認識されている（Zimmermann et al. Nature (2019) 570:462–471を参照されたい）。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象には、対象が微生物叢によって代謝され得る1つ以上の治療薬に曝露することが伴う。

【0107】

微生物叢によって代謝され得る薬物分子のクラスの例には、ステロイド及びホルモン作動薬（例えば、酢酸ノルエチンドロン、レボノルゲストレル、酢酸メゲストロール、酢酸ベタメタゾン、デキサメタゾン、ドロスピレノン、ノルゲスチメート、フィナステリド）、ホルモン拮抗薬（例えば、酢酸シプロテロン、メシル酸プロモクリプチン、ナロキシオン、ミフェプリストン、ピカルタミド）、抗鬱剤及び精神的健康と関連付けられる薬物（例えば、ピラゾドン、フルオキセチン、オランザピン、チオチキセン、マレイン酸フルボキサミン、パロキセチン、スルピリド、マレイン酸メチテピン、プロピオン、メシル酸ジプラシドン、ピモジド、フルオキセチン、ペリシアジン、パリペリドン）、抗ウイルス剤（例えば、ファムシクロビル、リトナビル、ジドブジン（azt）、ネビラピン、アマンタジン）、抗アレルギー／抗ヒスタミン薬（例えば、酢酸ロキサチジン、フマル酸クレマスチン、セチリジン、ニザチジン、ジフェニルピラリン、トラニラスト）、止瀉薬（例えば、ラセカドトリル、マレイン酸トリメブチン、ロペラミド）、免疫抑制剤（例えば、ミコフェノール酸モフェチル、デフラザコート、タクロリムス）、降圧薬（例えば、オルメサトラン（olmesartan）メドキシミル、ジルチアゼムフルフェナジン、テルミサラタン（telmisartan）、キナプリル、トランドラプリル、ベナゼプリル、イルベサルタン、ロサルタン、バルサルタン、マレイン酸エナラプリル、ベンズチアジド、メシル酸ドキサゾシン、パパベリン、ロフェキシジン、ベランピミル、硫酸ペンブトロール、ラミプリル、カルベジロール、ニトレンジピン）、糖尿病薬剤（例えば、リナグリプチン、トラザミド、ナテグリニド、グリビド、グリクラジド、レパグリニド）、かゆみ止め剤（例えば、二酢酸ジフロラゾン、吉草酸ベタメタゾン）、コレステロール薬剤（例えば、フェノフィブラート、ベザフィブラート、エゼチミブ、メバスタチン、ロバス

10

20

30

40

50

タチン)、非ステロイド性抗炎症薬(例えば、ファンプロファゾン、プラノプロフェン、オキサプロジン、エトドラク、ケトロラクトロメタミン、コルヒチン、ナプロキセン、セレコキシブ、ジアセタマート(diacetamate))、筋弛緩薬(例えば、カリソプロドール、塩化オキシブチニン、メタキサロン、ナフトピジル、コハク酸スマトリプタン、クエン酸オルフェナドリン、クレミゾール、トリヘキシフニジル(trihexyphnydyl)、アルフゾシン、アルプレノロール、カミロフィン、クロルメザノン、クエン酸カルバペンタン、フェナゾピリジン)、抗真菌剤(例えば、グリセオウルビン(griseoulin)、メベンダゾール、ポリコナゾール、フルコナゾール、イトラコナゾール)、鎮静剤(例えば、ラメルテオン、ザレプロン、クロニジン、エスゾピクロン)、中枢神経系薬(例えば、リルゾール、ガランタミン、酒石酸エルゴタミン、ニセルゴリン、エトプロパジン、メチルフェニデート、メトシキシミド(methsiximide)、オクスカルバゼピン、メマンチン、ビペリデン、マレイン酸メチセルジド、エトゾラミド、フェニトインナトリウム、イデベノン、エンタカポン)、抗凝血剤(例えば、硫酸クロピドログレル(clopidrogrel sulfate)、スルフィンピラゾン、ワルファリン、ジピリダモール、アナグレリド、トリメタジジン、シュウ酸ナフロニル)、血圧上昇薬、(例えば、ジギトキシン、ジゴキシン、ソタロール、アセカイニド)、呼吸器疾患薬(例えば、フェンスピリド)、抗寄生虫薬(例えば、リン酸プリマキン、メフロキン、レバミゾール、アルテミシニン)、化学療法剤(例えば、ダサチニブ、プロカルバイン、シクロホスファミド、アナストロゾール、イミアチニブ、パクリタキセル、カペシタビン、メルファラン)、筋肉強壮剤/強化剤(例えば、マレイン酸エルゴノビン、臭化ネオスチグミン)、胃/粘膜防御に関連付けられる薬剤(例えば、レバミピド、酒石酸メトプロロール、ラニチジン、パントプラゾール、テナトプラゾール)、腸障害薬剤(例えば、ブデソニド、ジシクロミン、スルファサラジン、ビスコジル)、尿酸抑制剤(例えば、フェブキソステート、インドメタシン)、抗酸剤(例えば、シメチジン、ベンズブロマロン、オメプラゾール)、勃起不全薬(例えば、タダラフィル、クエン酸シルデナフィル)、鎮痛剤(例えば、ノスカピン、安息香酸リザトリプタン)、天然物産物(例えば、ピンボセチン)、皮膚病治療薬(例えば、メトキサリン(methoxsaline))、免疫刺激剤(例えば、ピドチモド)、抗生物質、生殖障害治療薬(例えば、ダナゾール)が挙げられる。

【0108】

いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物の投与の1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、12週、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上前に、腸内毒素症誘発事象を経験している(experienced)か、または受けている(undergone)。

【0109】

抗生物質の投与は、共生及び/または片利共生細菌の死滅により、日和見細菌が過密になって疾患を引き起こし得るため、胃腸内毒素症と関連付けられる。いくつかの実施形態では、抗生物質は、細菌感染または疑わしい細菌感染を治療または予防するために投与される。いくつかの実施形態では、抗生物質は、対象の手術との関連で投与される。いくつかの実施形態では、抗生物質は、外科手術の前に(予防的に)または後に対象に投与される。

【0110】

腸内毒素症を誘発し得る抗生物質の非限定的な例には、セファロスポリン抗生物質、セファレキシン、セフロキシム、セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン、セファクロル、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、セフトピプロール、クリンダマイシン、セフトリアキソン、セフォタキシム、セファゾリン、セフォペラゾン、セフロキシム、セフメタゾール、フルオロキノロン、シプロフロキサシン、レバキン、フロキシシン、テキン、アベロックス、ノルフロックス、テトラサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、アモキシシリン、アンピシリン、ペニシリンV、ジクロキサシリン、ベンジルペニシリン、カルベニシリン、バンコマイシン、及びメ

10

20

30

40

50

チシリン)、エルタペネム、ドリペネム、イミペネム／シラスタチン、メロペネム、クラブラン酸、タゾバクタム、ピペラシリン、セフトリアキソン、セフォタキシム、セファゾリン、フルオロキノロン、イミペネム、メロペネム、メトロニダゾール、フィダキソマイシン、リジニラゾール、トリメトプリム／スルファメキストキサゾール、セフトビオプロール、セフトアロリン、ダルババンシン、ダブトマイシン、フシジン酸、リネゾリド、ムピロシン、オマダサイクリン、オリタババンシン、テジゾリド、テラバンシン、チゲサイクリン、セフトジジム、セフェピム、セフトロザン／タゾバクタム、ピペラシリン／タゾバクタム、チカルシリン／クラブラン酸、ストレプトグラミン、ダブトマイシン、アミカシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチリマイシン、トブラマイシン、パロマイシン、スペクチノマイシン、ゲルダナマイシン、ヘルビマイシン、リファミキシン、ロラカルベフ、セフロドキシム、セファルジン、セファドリン、セファピリン、セファレキシン、セフォテタン、セフメタゾール、セフォニシド、セフプロジル、セフロキシム、セフィキシミン、セフジニル、セフジトレン、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフポドキシム、セフトジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、モキサラクタム、セフトリアキソン、セフェピム、セフトアロリンフォサミル、テイコプラニン、テルバンシン、ダルババンシン、オリタババンシン、リンコマイシン、ダブトマイシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、テリスロマイシン、スピラマイシン、フィダキソマイシン、アゼトレノマ (azetrenoma)、フラゾリドン、ニトロフラントイン、ポシゾリド、ラデゾリド、トレゾリド、アズロシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ピペラシリン、テモシリン、チカルシリン、バシトラシン、コリスチン、ポリミキシンB、エノキサシン、ガチフロキサシン、ゲミフロキサシン、ゲミフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、ナジフロキサシン、ナルジキシン (naldixic) 酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン、グレバフロキサシン、スパルフロキサシン、テマフロキサシン、マフェニド、スルファセタミド、スルファジアジン、スルファジアジン銀、スルファジメトキシム、スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルファニルアミド、スルファサラジン、スルフィソキサゾール、スルホアミンドクリソイジン (sulfoamindochrysoidine)、デメクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、クロファジミン、ダブソン、カブレオマイシン、シクロセリン、エタンブトール、エチオナミド、イソニアジド、ピラジニアミド、リファンピシン、リフブチン、リファペンチン、アルスフェナミン、ホスホマイシン、フシジン酸、ムピロシン、プラテンシマイシン、キヌプリスチン／ダルホプリスチン、チアンフェニコール、チゲサイクリン、及びチニダゾールが挙げられる。

【0111】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、抗生物質による治療である。

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、手術に関連する抗生物質による治療である。いくつかの実施形態では、抗生物質はバンコマイシンである。

【0112】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、ウイルス、細菌、真菌、酵母、寄生虫、またはそれらの組み合わせによって引き起こされる感染症などの感染症である。いくつかの実施形態では、対象は、感染症を治療するために、1つ以上の治療薬（例えば、抗ウイルス剤、抗生物質、抗真菌剤、抗寄生虫剤など）を投与される。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、*Clostridium difficile* 感染である。*Clostridium difficile* 感染の治療に典型的に使用される抗生物質には、メトロニダゾール、バンコマイシン、及びフィダキソマイシンが挙げられる。

【0113】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、胃腸感染である。いくつかの実施形態では、対象は、例えば、*Clostridium perfringens*、*Staphylococcus*、*Enterococcus faecium*、*Roseburia hominis*、*Raecalibacterium prausnitzii*、*Clo*

10

20

30

40

50

stridiioides difficile、*Escherichia coli*、*Salmonella typhi*、*Vibrio cholerae*、*Shigella flexneri*、*Campylobacter*、*Peptostreptococcus*、*Yersinia*、または*Proteobacteria*による胃腸感染を経験している。いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、旅行者下痢である。概して、旅行者下痢は、旅行中に感染性病原体に曝露する（例えば、典型的には、汚染された食物を食べる、汚染された水を飲む）ことにより引き起こされる、下痢、腹部疼痛、悪心、嘔吐、及び／または発熱を特徴とする胃腸障害である。

【0114】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されているとおり、感染症、*C. difficile* 感染、または旅行者下痢を治療するための1つ以上の治療薬の投与は、胃腸内毒素症の一因となり得る。

【0115】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、抗真菌剤への曝露である。いくつかの実施形態では、対象は、例えば真菌感染を治療するために、1つ以上の抗真菌剤を投与される。抗真菌剤の例には、限定されないが、クロトリマゾール、エコナゾール、ミクロナゾール、フルコナゾール、テルビナフィン、ケトコナゾール、アムホテリシン、チオコナゾール、イトラコナゾール、ボサコナゾール、ポリコナゾール、イザブコナゾニウム、カソプファンギン (*casopfungin*)、アニデュラファンギン、ミカファンギン、グリセオフルビン、フルシトシン、テルビナフィン、ニャスチン (*nyastin*)、アムホテリシンB、カンジジシン、フィリピン、ハマイシン、ナタマイシン、リモシジン、ビホナゾール、ブトコナゾール、フェンチコナゾール、イソコナゾール、ルシロコナゾール (*luciloconazole*)、オモコナゾール、オキシコナゾール (*oxiconazole*)、セルタコナゾール、スルコナゾール、アルバコナゾール、エフィナコナゾール、エポキシコナゾール、イサブコナゾール、プロピコナゾール、ラブコナゾール、テルコナゾール、及びポリコナゾールが挙げられる。

【0116】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、抗寄生虫剤への曝露である。いくつかの実施形態では、対象は、例えば、寄生虫感染を治療するために、1つ以上の抗寄生虫剤を投与される。抗寄生虫剤の例には、限定されないが、ニタゾンキサニド、メラルソプロール、エフロルニチン、メトロニダゾール、チニダゾール、メルテフォシン、メベンザオール (*mebenzazole*)、パモ酸ピランテル、チアベンダゾール、ジエチルカルバムジン、イベルメクチン、ニクロサミド、ブラジカンテル、アルベンザオール、ブラジカンテル、アルベンザオール (*albenzazole*)、ブラジカンテル、リファンピン、アンホテリシンB、フマギリン、ベフェニウム、ジエチルカルバマジン、ニクロスアミド、ピペラジン、ピアンテル (*pyantel*)、ピルビニウム、フルベナゾール、安息香酸ベンジル／ジスルフィラム、リンデン、マラチオン、ペルメトリン、ベンジルアルコール、ピペロニルブトキシド／ピレトリン、スピノサド、及びクロタミトンが挙げられる。

【0117】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、1つ以上の免疫抑制剤への曝露である。免疫抑制剤の例には、限定されないが、プレドニゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メトトレキサート、アザチプリン、メカプトプリン (*me captopurine*)、フルオロウラシル、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、ブレオマイシン、ミトラマイシン、シクロスポリン、タクロリムス、エバロリムス、シロリムス、ラパマイシン、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダルミナブ (*adalumina b*)、ミコフェノール酸、フィンゴリモンド、ミリオシン、ヒドロキシクロロキン、ペキシダラチニブ、ダロルタミド、第二鉄マルトール、グルカゴン、リロナセプト、ベンラリズマブ、カナキヌマブ、プロダルマブ、アナキンラ、レスリズマブ、ウステキヌマブ、メポリズマブ、トシリズマブ、デュピルマブ、イクセキズマブ、グセルクマブ、セクキヌマブ、スリルマブ、チルドラキズマブ、バシリキシマブ、リサンキズマブ、シルツ

10

20

30

40

50

キシマブ、ダクリズマブ、サリドマイドが挙げられる。

【0118】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は、1つ以上の化学療法剤への曝露である。化学療法剤の例には、限定されないが、シクロホスファミド、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、ピノレルビン、ドキシソルピシン、ドセタキセル、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ダカルバジン、ムスチン、ビンクリスチン、プロカルバジン、ブレドニゾロン、エトポシド、シスプラチン、エピルビシン、シスプラチン、カペシタビン、フォリン酸、オキサリプラチン、メルファラン、クロランブシル、イホスファミド、ブスルファン、N-ニトロソ-N-メチル尿素、カルムスチン、ロムスチン、セムスチン、ホテムスチン、ストレプトゾトシン、ダカルバジン、ミトゾロミド、テモゾロミド、チオテパ、マイトマイシン、ジアジクオン、プロカルバジン、ヘキサメチルメラミン、ペメトレキセド、カペシタビン、シタラビン、ゲムシタビン、デシタビン、アザシチジン、フルダラビン、ネララビン、クラドリビン、クロファビン、ペントスタチン、チオグアニン、メカプトプリン (m e c a p t o p u r i n e)、ビンブラスチン、ピノレルビン、ビンデシン、ビンフルニン、パクリタキセル、ドセタキセル、ポドフィロトキシン、テニポシド、カンプトテシン、ノボビオシン、メルバロン、アクラルピシン、ダウノルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ピラルビシン、及びミトキサントロンが挙げられる。

10

【0119】

いくつかの実施形態では、腸内毒素症誘発事象は腸洗浄である。

【0120】

本開示の態様は、対象の微生物叢を保護するための方法に関し、本方法は、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加用量を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前に抗生物質を対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することをさらに含む。

20

【0121】

ある数の要因が胃腸内微生物叢の組成（例えば、多様性、特定の集団の存在量）に影響を与え得る。本明細書に記載の組成物は、そのような要因から微生物叢を保護するために使用されてもよい。本明細書で使用される場合、「微生物叢を保護すること」という用語は、対象の微生物叢の混乱を防止または最小化することを指す。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、対象の正常な胃腸内微生物叢を維持するのを助ける。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、健康な胃腸内微生物叢を維持するのを助ける。いくつかの実施形態では、微生物叢を保護することにより、抗生物質誘発性有害作用、Clostridium difficile 感染、潰瘍性大腸炎、クローン病、及び過敏性腸症候群などの微生物叢媒介性障害が治療または予防されてもよい。

30

【0122】

いくつかの実施形態では、事象の後に胃腸内微生物叢の組成（例えば、多様性、特定の集団の存在量）が実質的に変化しない場合、微生物叢が保護されるとみなされる。いくつかの実施形態では、事象の後に胃腸内微生物叢の組成（例えば、多様性、特定の集団の存在量）が検出可能に変化しない場合、微生物叢が保護されるとみなされる。いくつかの実施形態では、胃腸内微生物叢の組成（例えば、多様性、特定の集団の存在量）は、事象の後に、10%以下（9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下）変化する。いくつかの実施形態では、微生物叢の組成に影響し得る事象は、抗生物質治療、感染因子による攻撃（例えば、感染症）、及び／またはC. difficile 感染である。

40

【0123】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与は、対象の微生物叢を抗生物質治療から保護する。このため、例えば、本明細書に提供される方法にしたがい、対象は、感染に対してまたは感染を防止するために抗生物質を投与されてもよく、この抗生

50

物質（例えば、バンコマイシン）の投与は、深刻な腸内毒素症をもたらさないものである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象の微生物叢が感染因子による攻撃（例えば、感染症）から保護される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の投与により、対象の微生物叢が *C. difficile* 感染から保護される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物により、*C. difficile* 感染を治療するために抗生物質を投与した後の微生物叢の回復率を増加させることで、対象の微生物叢が *C. difficile* から保護される。いずれの特定の理論にも束縛されることを望むものではないが、抗生物質を投与した後の微生物叢の回復率が増加することで、胃腸管の優先陥凹部での *C. difficile* 定着（移植）が防止されると考えられる。いくつかの実施形態では、胃腸管の *C. difficile* 優先陥凹部に本医薬組成物の1つ以上の細菌株または本医薬組成物の細菌株と関連付けられる細菌株が定着することで、*C. difficile* の定着を防止する。

10

【0124】

本開示の態様は、対象の微生物叢に定着させるための方法に関し、本方法は、1つ以上の精製された細菌株を含む治療有効量の医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加の用量または量を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物を投与する前に抗生物質を対象に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することをさらに含む。

【0125】

20

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される医薬組成物の細菌株のうちの1つ以上は、対象の胃腸管またはその一部（例えば、結腸または盲腸）に定着または再定着する。このような定着は、移植または生着とも称され得る。いくつかの実施形態では、本組成物の細菌株のうちの1つ以上は、天然に存在する微生物叢が、例えば腸内毒素症誘発事象を原因として部分的にまたは完全に除去された後で、対象の胃腸管（例えば、結腸または盲腸）に定着する。いくつかの実施形態では、本組成物の細菌株のうちの1つ以上は、天然に存在する微生物叢が、抗生物質（例えば、バンコマイシン）治療によって部分的にまたは完全に除去された後で、対象の胃腸管（例えば、結腸または盲腸）に定着する。いくつかの実施形態では、本組成物の細菌株のうちの1つ以上は、腸内菌共生バランス失調の胃腸管（例えば、抗生物質治療を受けた胃腸管）に定着する。いくつかの実施形態では、本組成物の細菌株のすべてが胃腸管に定着する。いくつかの実施形態では、本組成物の細菌株のすべてが腸内菌共生バランス失調の胃腸管に定着する。いくつかの実施形態では、本細菌組成物の複数の用量が投与されて、本組成物の細菌株のすべてが胃腸管に定着することを可能にする。いくつかの実施形態では、本細菌組成物の複数の用量が投与されて、本組成物の細菌株のすべてが腸内菌共生バランス失調の胃腸管に定着することを可能にする。

30

【0126】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物の1つ以上の細菌株は、他の細菌株（例えば、病原体）より大きく増殖することができるため、微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、対象は抗生物質で治療されており、その結果、微生物叢の大部分が除去されて、組成物の1つ以上の細菌株と任意の他の細菌株（例えば、病原体）との両方について「白紙状態」の環境がもたらされる。このため、特定の機序に限定されるものではないが、病原体と本明細書に提供される組成物の1つ以上の細菌株とが両方とも腸管（例えば、結腸または盲腸）に存在する場合、本明細書に提供される組成物の1つ以上の細菌株が病原体よりも速く増殖する（例えば、より短い倍加時間を有する）ことで、病原体の腸管（例えば、結腸または盲腸）への蓄積が防止され、本組成物の1つ以上の細菌株の定着が可能になる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の1つ以上の細菌株は腸管（例えば、結腸または盲腸）での移植に優れているため、より速い増殖が生じる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の1つ以上の細菌株は腸管（例えば、結腸または盲腸）に存在する栄養素の代謝に優れているため、より速い増殖が生じる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される細菌株の組成物は、感染因子による細菌毒素

40

50

の産生を防止もしくは阻害するか、またはそのような毒素の細胞変性または細胞毒性効果を防止もしくは阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株は、細菌株間の相乗効果に起因して、病原性感染を治療することができる。このため、限定するものではないが、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせは相乗的に作用し、これは、株の組み合わせが、腸管（例えば、結腸または盲腸）における栄養素の使用に（例えば代謝的相互作用をとおした場合）特に適している、及び／または組み合わせが移植に秀でている（例えば、好ましい微小環境を提供することにより）ためである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の1つ以上の細菌株は、腸管（例えば、結腸または盲腸）の特定の陥凹部に定着することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の1つ以上の細菌株は、抗生物質治療後に利用可能になった腸管（例えば、結腸または盲腸）の特定の陥凹部に定着することができる。

10

【0127】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は7つの細菌株を含み、少なくとも2つ細菌株が対照の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は7つの細菌株を含み、少なくとも4つの細菌株が対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は7つの細菌株を含み、7つの細菌株の各々が対象の微生物叢に定着する。

【0128】

細菌株のうちの1つ以上の定着の程度は、例えば、1つ以上の細菌株の存在を検出することによって、及び／または1つ以上の細菌株の存在量を定量化することによって決定されてもよい。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の少なくとも10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%が、対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の少なくとも25%が、対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の少なくとも50%が、対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株の100%が、対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢に定着する本医薬組成物の細菌株のパーセンテージは、本医薬組成物の追加用量を投与することによって増加する。一態様では、本明細書に提供される方法は、異なる方法に従って投与された同じ医薬組成物の定着と比較した場合、本医薬組成物の細菌株のより良好な定着（例えば、より高い数／パーセンテージの生着及び／またはより高い存在量）を提供することを理解されたい。このため、一態様では、本明細書に提供される特定の投薬レジメン、量、及び／または抗生物質治療レジメンに従って本医薬組成物が投与されるため、コロニー形成はより良好である。

20

30

40

【0129】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は8つの細菌株を含み、少なくとも2つの細菌株が対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は8つの細菌株を含み、少なくとも4つの細菌株が対象の微生物叢に定着する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は8つの細菌株を含み、8つの細菌株の各々が対象の微生物叢に定着する。

【0130】

本明細書に記載の医薬組成物の1つ以上の細菌株による微生物叢の定着の程度は、微生物叢中の本医薬組成物の細菌株の相対的存在量を基準としてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、対象の微生物叢の細菌株の少なくとも10%、11%、12%、13%、

50

14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%が、本医薬組成物の細菌株である。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢で検出される細菌株の少なくとも25%が本医薬組成物の細菌株である。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢で検出される細菌株の少なくとも50%が本医薬組成物の細菌株である。いくつかの実施形態では、対象の微生物叢中の細菌組成物の細菌株のパーセンテージは、追加の用量の医薬組成物を投与することによって増加する。

10

【0131】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、本組成物中の1つ以上の細菌株による耐久性の定着をもたらす。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の1つ以上の細菌株は、対象の微生物叢中で長期間検出される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の1つ以上の細菌株は、対象の微生物叢に長期間定着する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の1つ以上の細菌株は、対象の微生物叢中で、本医薬組成物の投与後、少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、3か月間、4か月間、5か月間、6か月間、7か月間、8か月間、9か月間、10か月間、11か月間、または1年間検出される。

20

【0132】

一態様では、本明細書に提供される方法は、異なる方法に従って投与された同じ医薬組成物の定着と比較した場合、本医薬組成物の細菌株のより良好な定着（例えば、より高い数／パーセンテージの生着及び／またはより高い存在量）及びより耐久性の定着を提供することを理解されたい。このため、一態様では、本明細書に提供される特定の投薬レジメン、量、及び／または抗生物質治療レジメンに従って本医薬組成物が投与されるため、定着は、より良好かつより耐久性である。

30

【0133】

一態様では、本明細書に提供される方法は、異なる方法に従って投与された同じ医薬組成物の定着と比較した場合、本医薬組成物の細菌株のより耐久性の定着を提供することを理解されたい。このため、一態様では、本明細書に提供される特定の投薬レジメン、量、及び／または抗生物質治療レジメンに従って本医薬組成物が投与されるため、定着はより耐久性である。

【0134】

本明細書に記載の方法には、本明細書に記載の医薬組成物のいずれかを、それを必要とする対象に投与することが伴う。本明細書で使用される場合、「対象」、「個体」、及び「患者」は、交換可能に使用され、脊椎動物、好ましくは、ヒトなどの哺乳動物を指す。哺乳動物には、ヒト霊長類、非ヒト霊長類、またはネズミ、ウシ、ウマ、イヌ、もしくはネコの種が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、対象はヒト対象である。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、新生児対象、小児対象、青年対象、成人対象、または老年対象である。いくつかの実施形態では、対象は、腸内毒素症を有するもしくは有するリスクがあるか、または腸内毒素症誘発事象を受けたもしくは受けるリスクがある。いくつかの実施形態では、対象は、腸内毒素症と関連付けられるリスク因子を有する。いくつかの実施形態では、対象は、微生物叢の攪乱と関連付けられるリスク因子を有する。

40

【0135】

50

本明細書に記載の組成物のいずれも、治療有効量で、または治療有効量の用量で、対象に投与され得る。いくつかの実施形態では、治療有効量は、疾患または障害を治療または予防するのに十分な量である。「治療する」または「治療する」という用語は、疾患または障害（例えば、腸内毒素症）と関連付けられる症状のうちの1つ以上を軽減または緩和することを指す。

【0136】

いくつかの実施形態では、治療有効量の本明細書に記載の組成物のいずれかを投与して、疾患または障害（例えば、腸内毒素症）を防止し、微生物叢の攪乱を防止し、及び／または病原体による定着を予防してもよい「防止する」または「予防」という用語は、予防的投与を包含し、例えば、疾患または障害の発生率または発生の可能性を低下させ得る。いくつかの実施形態では、本組成物により、微生物叢の攪乱の発生率または発生の可能性が低下する。いくつかの実施形態では、本組成物により、病原体による定着の防止の発生率または発生の可能性が低下する。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、健康な微生物叢が得られ、これが、疾患または障害の発生率または可能性を低下させる対象における効果を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、疾患または障害と関連付けられる1つ以上の症状の軽減または緩和が得られる。

【0137】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」という用語は、「有効量」という用語と交換可能に使用されてもよい。本明細書に記載の医薬組成物などの組成物の治療有効量または有効量は、本明細書に記載のものなどの対象における所望の応答または転帰をもたらす任意の量であり、これには、発現の遅延、進行の停止、疾患もしくは障害（例えば、腸内毒素症）の少なくとも1つの症状、微生物叢の攪乱、及び／または病原体による微生物叢の定着の軽減または緩和が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、治療有効量は、微生物叢を復元し、腸内毒素症誘発事象後の微生物叢の回復を増加させ、微生物叢を保護し、かつ／または対象の微生物叢に定着するのに十分な量である。いくつかの実施形態では、治療有効量は、一次及び／または二次（再発性）*Clostridium difficile* 感染を治療するのに十分な量である。いくつかの実施形態では、治療有効量は、食物アレルギーを治療または抑制するのに十分な量である。

【0138】

細菌株を含む組成物に関する「有効量」という用語は、投与される細菌またはCFUの数として表されてもよいことを理解されたい。細菌は、投与されると増殖し得ることをさらに理解されたい。このため、比較的少量の細菌の投与であっても、治療効果があり得る。

【0139】

また、対象が、腸内毒素症、*Clostridium difficile* 感染、もしくは食物アレルギーを有するもしくは有するリスクがあるかどうか、または本明細書に記載の医薬組成物のいずれかの投与を必要とするかどうかを決定することを伴う方法も、本開示の範囲内である。

【0140】

本開示の態様は、本明細書に記載の細菌株または種の配列うちのいずれか1つの核酸配列に対して配列同一性を有する16S rDNA配列を有する細菌株に関する。当業者には理解されるように、16S rDNA配列は、16S rRNA配列に対応するDNA配列を表す。2つ以上の核酸またはアミノ酸配列という背景における「同一」または「同一性」パーセントという用語は、同じである2つ以上の配列または部分配列を指す。2つの配列は、後続の配列比較アルゴリズムのうちの1つを使用してまたは手動のアラインメント及び目視検査によって測定した、比較ウィンドウにわたる最大対応、または指定された領域について、比較及びアラインメントしたときに、2つの配列が、核酸もしくはアミノ酸配列の指定された領域にわたって、または配列全体にわたって、同じであるアミノ酸残基またはヌクレオチドの指定されたパーセンテージ（例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.6%、99.

10

20

30

40

50

7 %、99.8 %、または99.9 %の配列同一性)を有する場合、「実質的に同一」である。任意選択で、同一性は、少なくとも約50ヌクレオチド長である領域にわたって、またはより好ましくは100~500または1000ヌクレオチド以上長である領域にわたって、存在する。いくつかの実施形態では、同一性は、16S rRNAまたは16S rDNA配列の長さにわたって存在する。

【0141】

いくつかの実施形態では、細菌株は、指定された領域にわたってまたは配列全体にわたって、本明細書に記載の株または細菌種のうちのいずれかと比べて、少なくとも60 %、少なくとも70 %、少なくとも80 %、少なくとも81 %、少なくとも82 %、少なくとも83 %、少なくとも84 %、少なくとも85 %、少なくとも86 %、少なくとも87 %、少なくとも88 %、少なくとも89 %、少なくとも90 %、少なくとも91 %、少なくとも92 %、少なくとも93 %、少なくとも94 %、少なくとも95 %、少なくとも96 %、少なくとも97 %、少なくとも98 %、少なくとも99 %、少なくとも99.5 %、少なくとも99.6 %、少なくとも99.7 %、少なくとも99.8 %、少なくとも99.9 %、または最大100 %の配列同一性を有する。「配列同一性」または「配列同一性パーセント」という用語は、2つ以上の核酸配列またはアミノ酸配列という背景において、2つ以上の配列またはその一部(単数または複数)の間の類似性の尺度を指すことが、当業者には理解される。

【0142】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1つ以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、1つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97 %の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、2つ以上(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、2つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97 %の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、3つ以上(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、3つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97 %の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、4つ以上(例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、4つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97 %の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、5つ以上(例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、5つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97 %の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、6つ以上(例えば、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、6つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97 %の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、7つ以上(例えば、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、7つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2

10

20

30

40

50

、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、8つ以上（例えば、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個）の細菌株を含み、8つ以上の細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8から選択される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。

【0143】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、8つの細菌株を含み、細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、8つ以上の細菌株からなり、細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。

【0144】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、7つの細菌株を含み、細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、7つの細菌株からなり、細菌株は、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して97%での同一性を有する16S rRNA配列を有する細菌株を含む組成物は、「組成物VE416」または「VE416」と称されてもよい。配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して97%での同一性を有する16S rRNA配列を有する細菌株を含む組成物の追加の態様は、PCT公開第WO2019/094837に記載されている。

【0145】

配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して97%での同一性を有する16S rRNA配列を有する細菌株を含む組成物は、「組成物VE303」または「VE303」と称されてもよい。配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、及び配列番号8によって示される核酸配列に対して97%での同一性を有する16S rRNA配列を有する細菌株を含む組成物の追加の態様は、PCT公開第WO2017/218680号、同第WO2018/081550号、及び同第WO2018/112371号に記載されている。

【0146】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1つ以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個）の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、2つ以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個）の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、3つ以上（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または2

0個)の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、4つ以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、5つ以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、6つ以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、7つ以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、8つ以上(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個)の細菌株を含み、細菌株のうちの少なくとも1つは、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む。

10

20

【0147】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む細菌株からなる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、配列番号6によって提供される核酸配列と少なくとも97%の配列同一性を有する16S rDNA配列を含む単一の細菌株からなる。

【0148】

加えて、またはあるいは、2つ以上の配列が、配列間のアラインメントについて評価されてもよい。2つ以上の核酸またはアミノ酸配列という背景における「アラインメント」または「アラインメント」パーセントという用語は、同じである2つ以上の配列または部分配列を指す。

30

【0149】

後続の配列比較アルゴリズムのうちの1つを使用してまたは手動のアラインメント及び目視検査によって測定した、比較ウィンドウにわたる最大対応、または指定された領域について、比較及びアラインメントしたときに、2つの配列が、指定された領域にわたって、または配列全体にわたって、同じであるアミノ酸残基またはヌクレオチドの指定されたパーセンテージ(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、または99.9%同一)を有する場合、「実質的にアラインメント」される。任意選択で、アラインメントは、少なくとも約50ヌクレオチド長である領域にわたって、またはより好ましくは100~500または1000ヌクレオチド以上長である領域にわたって、存在する。いくつかの実施形態では、同一性は、16S rRNAまたは16S rDNA配列の長さにならわたって存在する。

40

【0150】

配列比較の場合、典型的には、1つの配列が参照配列として機能し、これに対して試験配列を比較する。比較のための配列のアラインメントの方法は、当該技術分野で周知である。例えば、それぞれ、Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482cの局所相同性アルゴリズムによるもの、Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970の相同性アラ

50

インメントアルゴリズムによるもの、Pearson and Lipman. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444, 1988の類似性法の検索によるもの、これらのアルゴリズムのコンピュータ化された実装によるもの (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group. Madison. WI中のGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA)、または手動のアラインメント及び目視検査 (例えば、Brent et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (Ringbrou ed., 2003) 参照) を参照されたい。配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに好適なアルゴリズムの2つの例は、BLASTアルゴリズム及びBLAST 2.0アルゴリズムであり、これらは、Altschul et al., Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 1977、及びAltschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990に記載されている。

10

【0151】

本明細書で使用される「細菌」及び「最近株」という用語は、交換可能であることを理解されたい。複数の精製された細菌株を含む本明細書に記載の組成物は、「生細菌産物」とも称され得る。

【0152】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、Clostridium綱に属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、Clostridium科に属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、Clostridium属に属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、ClostridiumクラスターIV、XIVa、及び／またはXVIIに属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ClostridiumクラスターXVIIに属する1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する1つ以上の細菌株を含む。

20

【0153】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、少なくとも10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%のClostridiumクラスターXIVa、IV、及び／またはXVIIに属する細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する少なくとも50%の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ClostridiumクラスターIV及び／またはXIVaに属する少なくとも75%の細菌株を含む。

30

40

【0154】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上を含む：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatena、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Dorea longicatena、Clostridium innocuum、及びFlavin

50

ofractor plautii。いくつかの実施形態では、本組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、または8つ）を含む：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatena、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Dorea longicatena、Clostridium innocuum、及びFlavinofractor plautii。

【0155】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上を含む：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatenaまたはDracourtella massiliensisまたはSellimonas intestinalis、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Dorea longicatena、Clostridium innocuumまたはErysipelotrichaceae bacterium、及びFlavinofractor plautiiまたはSubdolinogranulum種。いくつかの実施形態では、本組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、または8つ）を含む：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatenaまたはDracourtella massiliensisまたはSellimonas intestinalis、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Dorea longicatena、Clostridium innocuumまたはErysipelotrichaceae bacterium、及びFlavinofractor plautiiまたはSubdolinogranulum種。

【0156】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、以下の8つの細菌株からなる：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatena、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Dorea longicatena、Clostridium innocuum、及びFlavinofractor plautii。

【0157】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、以下の8つの細菌株からなる：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatenaまたはDracourtella massiliensisまたはSellimonas intestinalis、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Dorea longicatena、Clostridium innocuumまたはErysipelotrichaceae bacterium、及びFlavinofractor plautiiまたはSubdolinogranulum種。

【0158】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は「VE303」である。

【0159】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上を含む：Clostridium bolteaе、Anaerotruncus colihominis、Eubacterium fissicatena、Clostridium symbiosum、Blautia producta、Clostridium innocuum、及びFlavinofractor plautii。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上を

10

20

30

40

50

含む：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*aまたは*Dracourtella massiliensis*または*Sellimonas intestinalis*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*または*Erysipelotrichaceae bacterium*、及び*Flavinofractor plautii*または*Subdoligranulum*種。いくつかの実施形態では、本組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、または7つ）を含む：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*a、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*、及び*Flavinofractor plautii*。いくつかの実施形態では、本組成物は、以下の細菌株のうちの1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、または7つ）を含む：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*aまたは*Dracourtella massiliensis*または*Sellimonas intestinalis*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*または*Erysipelotrichaceae bacterium*、及び*Flavinofractor plautii*または*Subdoligranulum*種。

【0160】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、以下の細菌株のうちの2つ以上を含む：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*a、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*、及び*Flavinofractor plautii*。かつ、本組成物は*Dorea longicaten*aを含まない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、以下の細菌株のうちの2つ以上を含む：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*aまたは*Dracourtella massiliensis*または*Sellimonas intestinalis*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*または*Erysipelotrichaceae bacterium*、及び*Flavinofractor plautii*または*Subdoligranulum*種。かつ、本組成物は*Dorea longicaten*aを含まない。

【0161】

いくつかの実施形態では、本組成物は7つの細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本組成物は、以下の細菌株からなる：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*a、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*、及び*Flavinofractor plautii*。いくつかの実施形態では、本組成物は、以下の細菌株からなる：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicaten*aまたは*Dracourtella massiliensis*または*Sellimonas intestinalis*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Clostridium innocuum*または*Erysipelotrichaceae bacterium*、及び*Flavinofractor plautii*または*Subdoligranulum*。

【0162】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は「VE416」である。

【0163】

いくつかの実施形態では、本組成物は、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の細菌株を含み、細菌株の少なくとも1つは*Dorea longicatena*である。いくつかの実施形態では、本組成物は、*Dorea longicatena*からなる。いくつかの実施形態では、本組成物は、*Dorea longicatena*である単一の細菌株からなる。

【0164】

一態様では、精製された細菌株の16S rDNA配列を、細菌ゲノムデータベース内の既知の細菌種／株の16S rDNA配列と比較して、本明細書に開示の細菌株に最も近い既知の関連する細菌種を特定した。本明細書に開示される組成物の複数の細菌株は、同じ最も近い関連する細菌種を有してもよいことを理解されたい。

【0165】

一態様では、本明細書で（例えば、実施例において）示されるように、本明細書に記載の組成物及び方法は、以下の細菌、*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Eubacterium fissicatena*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Dorea longicatena*、*Clostridium innocuum*、及び*Flavinofractor plautii*を含む。本明細書に開示の組成物の例示的な細菌株はまた、それらの16S rRNA配列（配列番号1～8）によって特定され得る。それらの配列によって細菌を特定することで、例示される細菌と同一または非常に類似している追加の細菌株の特定がさらに可能となる。例えば、細菌株の16S rRNA配列を使用して、全ゲノム配列決定をとおして及びこれらの配列と16Sデータベースとの比較により、最も近い近縁種（同一性パーセントに基づく）を特定した（表1）。加えて、全ゲノム配列決定及び全ゲノムと全ゲノムデータベースとの比較に基づく、配列番号1～8によって提供される16S rRNA配列を持つ細菌株は、以下の細菌種と最も密接に関連している：*Clostridium boltea*e 90A9、*Anaerotruncus coli*hominis DSM 17241、*Dracourtella massiliensis* GD1、*Clostridium symbiosum* WAL-14163、*Clostridium bacterium* UC5.1-1D4、*Dorea longicatena* CAG:42、*Erysipelotrichaceae bacterium* 21_3、及び*Clostridium orbiscindens* 1_3_50AFAA（例えば、表1を参照）。このため、一態様では、表1の各横列で、細菌株が非常に類似しており、及び／または同一であることを理解されたい。いくつかの実施形態では、本開示の背景において、表1の横列内の細菌株の名称は、交換可能に使用され得る。

【0166】

よって、例えば、いくつかの実施形態では、本開示は、「組成物VE303」と称されてもよい以下の細菌を含む方法及び組成物を提供する：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Sellimonas intestinalis*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Dorea longicatena*、*Erysipelotrichaceae bacterium*、及び*Subdoligranulum*種。PCT公開第WO2017/218680号も参照されたい。

【0167】

いくつかの実施形態では、本開示は、以下の細菌からなる方法及び組成物を提供する：*Clostridium boltea*e、*Anaerotruncus coli*hominis、*Sellimonas intestinalis*、*Clostridium symbiosum*、*Blautia producta*、*Dorea longicatena*、*Erysipelotrichaceae bacterium*、及び*Subd*

olidinogranulum種。

【0168】

全ゲノム解析に基づく相同性を表1に示す。

表1：細菌株

【表1】

株番号	配列番号	16S領域のサンガー配列決定に基づく最も近い種	16Sデータベースと比較した16S領域のコンセンサス配列番号に基づく最も近い種	WGデータベースに対して比較したWG Sに基づく最も近い種	追加の密接に関連する配列	Clostridium クラスター
1	1	<i>Clostridium bolteae</i>	<i>Clostridium bolteae</i>	<i>Clostridium bolteae</i> 90A9		XIVa
2	2	<i>Anaerotruncus colihominis</i>	<i>Anaerotruncus colihominis</i>	<i>Anaerotruncus colihominis</i> DSM 17241		IV
3	3	<i>Eubacterium fissicatena</i>	<i>Dracourtella massiliensis</i>	<i>Dracourtella massiliensis</i> GDI	<i>Ruminococcus torques</i> ; <i>Sellimonas intestinalis</i>	XIVa
4	4	<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Clostridium symbiosum</i> WAL-14163		XIVa
5	5	<i>Blautia producta</i>	<i>Blautia producta</i>	<i>Clostridium bacterium</i> UC5.1-1D4	<i>Blautia product</i> ATCC 27340	XIVa
6	6	<i>Dorea longicatena</i>	<i>Dorea longicatena</i>	<i>Dorea longicatena</i> CAG:42		XIVa
7	7	<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Erysipelotrichaceae bacterium</i> 21_3		XVII
8	8	<i>Flavinofractor plautii</i>	<i>Flavinofractor plautii</i>	<i>Clostridium orbiscindens</i> 1_3_50AFAA	<i>Subdoligranulum</i>	IV

【0169】

いくつかの実施形態では、本開示は、「組成物VE202」と称されてもよい以下の細菌株を含む方法及び組成物を提供する：*Clostridium saccharogumia* (*Clostridium ramosum* JCM 1298)、*Flavonifractor plautii* (*Pseudoflavonifractor capillosus* ATCC 29799)、*Clostridium hathewayi* (*Clostridium saccharolyticum* WM1)、*Blautia coccooides* (*Lachnospiraceae bacterium* 6_1_63FAA)、*Clostridium*種 (*Clostridium bolteae* ATCC BAA-613)、cf. *Clostridium*種MLG055 (*Erysipelotrichaceae bacterium* 2_2_44A)、*Clostridium indolis* (*Anaerostipes caccae* DSM 14662)、*Anaerotruncus colihominis* (*Anaerotruncus colihominis* DSM 17241)、*Ruminococcus*種ID8 (*Lachnospiraceae bacterium* 2_1_46FAA)、*Clostridium lavalense* (*Clostridium asparagiforme* DSM 15981)、*Clostridium symbiosum* (*Clostridium symbiosum* WAL-14163)、*Clostridium ramosum*、*Eubacterium contortum* (*Clostridium*種D5)、*Clostridium scindens* (*Lachnospiraceae bacterium* 5_1_57FAA)、*Lachnospiraceae bacterium* A4 (*Lachnospiraceae bacterium* 3_1_57FAA_CT1)、*Clostridium*種316002/08 (*Clostriales bacterium* 1_7_47FAA)、及び*Lachnospiraceae bacterium* A4 (*Lachnospiraceae bacterium* 3_1_57FAA_CT1)。そのような細菌株は、例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれるPCT公開第WO2013/080561号に記載されている。例えば、OTU及び16S sRNA配列も提供する表4を参照されたい。そのような細菌組成物も

、例えば、Atarashi et al. Science (2011) 331 (6015) : 337-341及びAtarashi et al. Nature (2013) 500 (7361) : 232-236。VE202の細菌株の配列も、PCT公開第WO2013/080561号に掲載されている。細菌株の別名が使用されてもよいことを理解されたい。

【0170】

いくつかの実施形態では、本開示は、Clostridium saccharogumia (Clostridium ramosum JCM 1298)、Flavonifractor plautii (Pseudoflavonifractor capillosus ATCC 29799)、Clostridium hathewayi (Clostridium saccharolyticum WM1)、Blautia coccooides (Lachnospiraceae bacterium 6_1_63FAA)、Clostridium種 (Clostridium bolteaе ATCC BAA-613)、cf. Clostridium種MLG055 (Erysipelotrichaceae bacterium 2_2_44A)、Clostridium indolis (Anaerostipes caccae DSM 14662)、Anaerotruncus colihominis (Anaerotruncus colihominis DSM 17241)、Ruminococcus種ID8 (Lachnospiraceae bacterium 2_1_46FAA)、Clostridium lavalense (Clostridium asparagiforme DSM 15981)、Clostridium symbiosum (Clostridium symbiosum WAL-14163)、Clostridium ramosum、Eubacterium contortum (Clostridium種D5)、Clostridium scindens (Lachnospiraceae bacterium 5_1_57FAA)、Lachnospiraceae bacterium A4 (Lachnospiraceae bacterium 3_1_57FAA_CT1)、Clostridium種316002/08 (Clostriales bacterium 1_7_47FAA)、及びLachnospiraceae bacterium A4 (Lachnospiraceae bacterium 3_1_57FAA_CT1)を含む精製された細菌混合物からなる組成物を提供する。

【0171】

一態様では、本開示は、感染性病原体の治療のための組成物及び方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、Clostridium difficile感染の治療のための組成物及び方法を提供する。Clostridium difficileは、Clostridioides difficileと改称された（例えば、Lawson et al., Anaerobe. 2016 Aug; 40:95-9. doi:10.1016/j.anaerobe.2016.06.008. Epub 2016 Jun 28）。Clostridium difficileとClostridioides difficileとは、本明細書では交換可能に使用される。いくつかの実施形態では、本開示は、一次Clostridium difficile感染の治療のための組成物及び方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、再発性Clostridium difficile感染の治療のための組成物及び方法を提供する。本明細書に記載の医薬組成物のいずれも、1つ以上のClostridium difficile抑制株を含み得る。本明細書で使用される場合、「Clostridium difficile抑制株」または「C. difficileを抑制することができる」株は、対象の微生物叢におけるC. difficileの存在及び／または量を抑制する（直接的または間接的に）細菌株を指す。いくつかの実施形態では、Clostridium difficile抑制株は、対象の微生物叢におけるC. difficileの存在及び／または量を直接的に抑制する。いくつかの実施形態では、Clostridium difficile抑制株は、対象の微生物叢におけるC. difficileの存在及

び／または量を間接的に抑制する。C. difficile 抑制株は、さまざまな機序のうちのいずれかによって対象の微生物叢における C. difficile の存在及び／または量を抑制し得る例えば、C. difficile 抑制株は、C. difficile を殺滅し、C. difficile の増殖／複製を阻害し、及び／または C. difficile による定着を防止し得る。Clostridium difficile 抑制株の例、及びそのような株を含む組成物は、例えば、PCT 公開第 WO 2017/218680 号に提供されている。

【0172】

いくつかの実施形態では、対象の微生物叢における C. difficile の存在及び／または量は、C. difficile 抑制株（単数または複数）の非存在下での対象の微生物叢における C. difficile の存在及び／または量と比較して、C. difficile 抑制株（単数または複数）の存在下で、少なくとも 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または 100% 減少する。

【0173】

一態様では、本開示は、食物アレルギーの治療または抑制のための組成物及び方法を提供する。

【0174】

いくつかの実施形態では、細菌株のうちの 1 つ以上はヒト由来細菌であり、これは、1 つ以上の細菌株が、ヒトまたはヒト由来の試料（例えば、ヒトドナー）から得られたか、またはそれらから特定されたことを意味する。いくつかの実施形態では、細菌株のすべてがヒト由来の細菌である。いくつかの実施形態では、細菌株は、2 人以上のヒトドナーに由来する。

【0175】

本明細書に提供される医薬組成物で使用される細菌株は、概して、健康な個体の微生物叢から単離される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、単一の個体を起源とする株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、複数の個体を起源とする株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、複数の個体から取得し、単離し、個々に増殖させる。個々に増殖させた細菌組成物をその後組み合わせ、本開示の医薬組成物を提供してもよい。本明細書で提供される医薬組成物の細菌株の起源は、健康な個体からのヒト微生物叢に限定されないことを理解されたい。いくつかの実施形態では、細菌株は、腸内毒素症の微生物叢を有するヒトを起源とする。いくつかの実施形態では、細菌株は、非ヒト動物または環境（例えば、土壌または地表水）を起源とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される細菌株の組み合わせは、複数の供給源（例えば、ヒト及び非ヒト動物）を起源とする。

【0176】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1 つ以上の嫌気性細菌を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、嫌気性細菌のみを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1 つ以上の通性嫌気性細菌を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、通性嫌気性細菌のみを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1 つ以上の偏性嫌気性細菌を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、偏性嫌気性細菌のみを含む。

【0177】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物中の細菌株のうちの少なくとも 1 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、またはそれ以上）は、孢子形成細菌である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物中の細菌株のうちの少なくとも 1 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、またはそれ以上）は、孢子型である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物中の細菌株のうちの少なくとも 1 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、またはそれ以上）は、非孢子型である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物中の細菌株のうちの少なくとも 1 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、またはそれ以上）は、栄養

型である。上で考察したように、孢子形成細菌は、栄養型でもあり得る。いくつかの実施形態では、本医薬組成物中の細菌株のうちの少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、またはそれ以上）は孢子型であり、本医薬組成物中の細菌株のうちの少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、またはそれ以上）は栄養型である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの細菌株は、孢子を形成することができる（すなわち、孢子形成細菌）とみなされるが、栄養型で本組成物中に存在する。いくつかの実施形態では、孢子を形成できるとみなされる少なくとも1つの細菌株は、孢子型と栄養型との両方で本医薬組成物中に存在する。いくつかの実施形態では、細菌株の各々は、栄養型である。

【0178】

本明細書に提供される医薬組成物の細菌株は、生きており、それらが標的領域（例えば、腸）に到達するときに生きていることが想定される。この点で、細菌の孢子は生きてるとみなされる。いくつかの実施形態では、孢子として投与される細菌は、標的領域（例えば、腸）で成長してもよい。細菌のすべてが生きているわけではなく、本組成物は、生きていないパーセンテージ（例えば、重量による）を含み得ることをさらに理解されたい。加えて、いくつかの実施形態では、本組成物は、投与されたときまたは組成物が標的領域（例えば、腸）に到達するときに生きていない細菌株を含む。生きていない細菌は、組成物中の他の細菌株になんらかの栄養素及び代謝物を提供することによって、依然として有用であってもよいことが想定される。

【0179】

本明細書に提供される生細菌産物のうちのいずれにおいても、いくつかの実施形態では、細菌株は精製される。本明細書に提供される生細菌産物のうちのいずれにおいても、いくつかの実施形態では、細菌株は単離される。本明細書に記載の細菌株のうちのいずれも、例えば、培養物または微生物叢試料（例えば、糞便物質）などの供給源から、単離及び／または精製され得る。本明細書に提供される組成物で使用される細菌株は、概して、健康な個体の微生物叢から単離される。しかしながら、細菌株は、健康でないとみなされる個体から単離することもできる。いくつかの実施形態では、本組成物は、複数の個体を起源とする株を含む。本明細書で使用される場合、細菌における「単離された」という用語は、別の細菌または細菌株などの1つ以上の望ましくない成分、成長培地の1つ以上の成分、及び／または糞便試料などの試料の1つ以上の成分から分離された細菌を指す。いくつかの実施形態では、細菌は、供給源の他の成分が検出されない（例えば、検出レベル未満）ように、供給源から実質的に単離される。同様に本明細書で使用される場合、「精製された」という用語は、汚染物質などの1つ以上の成分から分離されたそのようなものを含む細菌株または組成物を指す。いくつかの実施形態では、細菌株は、実質的に汚染物質を含まない。いくつかの実施形態では、組成物の1つ以上の細菌株は、細菌株を含む培養物または試料中で産生された及び／またはその中に存在する1つ以上の他の細菌から独立して精製されてもよい。いくつかの実施形態では、細菌株は、試料から単離または精製され、次に、細菌の複製に適した条件下、例えば、嫌気性培養条件下で培養される。細菌の複製に適した条件下で増殖した細菌は、その後、中で増殖した培養物から単離／精製され得る。

【0180】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の1つ以上の細菌株の特定の組み合わせにより、腸内毒素症の減少、微生物叢の復元、腸内毒素症誘発事象後の健康な微生物叢の回復、微生物叢の保護、及び／または対象の微生物叢への定着を促進する相乗効果がもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが特定の栄養素を代謝する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが特定の代謝産物を環境に提供する能力によってもたらされる。このような特定の代謝物は、病原体の増殖を抑制し、及び／または非病原体の増殖を刺激してもよい。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが短鎖脂肪酸を環境に提供する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが特定の短鎖

10

20

30

40

50

脂肪酸を環境に提供する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酪酸塩を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酢酸塩を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが乳酸塩を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせがプロピオン酸塩を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせがコハク酸塩を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが複数の代謝物を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが複数の短鎖脂肪酸を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酪酸塩と酢酸塩との両方を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酪酸塩及び乳酸塩の両方を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酪酸塩とプロピオン酸塩との両方を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酪酸塩とコハク酸塩との両方を生成する能力によってもたらされる。いくつかの実施形態では、相乗効果は、この組み合わせが酪酸塩、酢酸塩、及び追加の短鎖脂肪酸を生成する能力によってもたらされる。

10

【0181】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の1つ以上の細菌株の特定の組み合わせは、他の株（例えば、病原体）と比較した場合、栄養素の使用及び移植において秀でているため、例えば病原体の増殖を抑制することにより、微生物叢を保護及び／または復元する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の1つ以上の細菌株の特定の組み合わせにより、対象において、腸内毒素症の減少、微生物叢の復元、腸内毒素症誘発事象後の健康な微生物叢の回復、微生物叢の保護、及び／または本医薬組成物の細菌株のうちのまたはのうちの1つの対象の微生物叢への定着を促進する免疫応答が誘導される。

20

【0182】

組成物、例えば、医薬組成物などの対象に投与するための組成物も、本開示の範囲内である。いくつかの実施形態では、本組成物は、本明細書に記載の細菌株のうちのいずれかを含む。

30

【0183】

一態様では、本開示は、本明細書に記載の細菌株のうちのいずれかを含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、経口投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、直腸投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、腸への送達のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、結腸への送達のために製剤化される。

【0184】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物は、1つ以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、凍結乾燥されていてもよい。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、カプセルの形態である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、1つ以上の腸溶性ポリマーを含むpH感应性組成物をさらに含む。

40

【0185】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物の細菌株のうちの1つ以上は、噴霧乾燥されている。噴霧乾燥のプロセスは、細菌組成物を含む液体から乾燥粉末を作成することを指す。（例えば、Ledet et al., "Spray-Drying of Pharmaceuticals in Lyophilized Biologics and Vaccines" 273~194頁, Springerを参照されたい）。概して、本プロセスには、細菌組成物を高温ガスで急速に乾燥させることが伴う。

【0186】

50

細菌株を含む医薬組成物及び食品を含む、本明細書に記載の組成物のいずれか、この細菌株は、任意の形態、例えば、溶液または懸濁液などの水性形態、半固体形態に包埋されたもの、粉末形態、または凍結乾燥形態にある。いくつかの実施形態では、本組成物または細菌株は凍結乾燥される。いくつかの実施形態では、細菌株のサブセットが凍結乾燥される。組成物、特に細菌を含む組成物を凍結乾燥する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第3,261,761号、同第4,205,132号、PCT公開第WO2014/029578号、及び同第WO2012/098358号を参照されたい。細菌は組み合わせとして凍結乾燥されてもよく、及び／または細菌は別々に凍結乾燥され、投与前に組み合わせられてもよい。細菌株を、他の細菌株と組み合わせる前に医薬品賦形剤と組み合わせてもよく、または複数の凍結乾燥した細菌を、凍結乾燥形態にあるあいだに組み合わせてもよく、この細菌の混合物を、組み合わせた時点で、続いて医薬品賦形剤と組み合わせてもよい。いくつかの実施形態では、細菌株は、凍結乾燥ケーキである。いくつかの実施形態では、1つ以上の細菌株を含む組成物は、凍結乾燥ケーキである。

【0187】

いくつかの実施形態では、医薬組成物及び食品を含む本組成物の細菌株のうちの1つ以上は、噴霧乾燥されている。いくつかの実施形態では、細菌株のサブセットが噴霧乾燥される。噴霧乾燥のプロセスは、細菌組成物を含む液体から乾燥粉末を作成することを指す（例えば、Ledet, et al., *Spray Drying of Pharmaceuticals in Lyophilized Biologics and Vaccines* 273～294頁, Springerを参照されたい）。概して、本プロセスには、細菌組成物を高温ガスで急速に乾燥させることが伴う。細菌株を、他の細菌株と組み合わせる前に医薬品賦形剤と組み合わせてもよく、または複数の噴霧乾燥した細菌を、噴霧乾燥形態にあるあいだに組み合わせてもよく、この細菌の混合物を、組み合わせた時点で、続いて医薬品賦形剤と組み合わせてもよい。

【0188】

細菌株は、当該技術分野で周知の発酵技法を使用して製造することができる。いくつかの実施形態では、細菌は、嫌気性細菌種の急速な増殖を支援することができる嫌気性発酵槽を使用して増殖させるかまたは製造する。嫌気性発酵槽は、例えば、攪拌槽型反応器または使い捨て波動バイオリアクターであってもよい。BL培地及びEG培地などの培養培地、または動物成分を含まないこれらの培地の類似版を使用して、細菌種の増殖を支援することができる。細菌産物は、遠心分離及び濾過などの従来の技法によって発酵プロセスから精製及び濃縮することができ、任意選択で、当該技術分野で周知の技法によって乾燥及び凍結乾燥することができる。

【0189】

いくつかの実施形態では、生細菌産物は、医薬組成物として投与するために製剤化されてもよい。本明細書で使用される「医薬組成物」という用語は、本明細書に記載の細菌株のうちのいずれかなどの少なくとも1つの活性成分と、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含んでもよい1つ以上の不活性成分との混合または組み合わせから生じる産物を意味する。

【0190】

「許容される」賦形剤は、有効成分と適合性でなければならず、かつそれが投与される対象にとって有害であってはならない賦形剤を指す。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される賦形剤は、組成物の意図される投与経路に基づいて選択され、例えば、経口または経鼻投与のための組成物は、直腸投与のための組成物とは異なる薬学的に許容される賦形剤を含み得る。賦形剤の例には、滅菌水、生理食塩水、溶剤、基材、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定剤、香料、芳香剤、賦形剤、ビヒクル、防腐剤、結合剤、希釈剤、等張性調整剤、緩和剤、増量剤、崩壊剤、緩衝剤、コーティング剤、潤滑剤、着色剤、甘味料、増粘剤、及び可溶化剤が挙げられる。

【0191】

本発明の医薬組成物は、当該技術分野で周知であり日常的に実施されている方法に従って調製することができる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co. 20th ed. 2000を参照）。本明細書に記載の医薬組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態にある任意の担体または安定剤をさらに含んでもよい。許容される賦形剤、担体、または安定剤には、例えば、緩衝液、抗酸化剤、防腐剤、ポリマー、キレート試薬、及び／または界面活性剤が含まれてもよい。医薬組成物は、好ましくは、GMP条件下で製造される。本医薬組成物は、例えば、カプセル剤、錠剤、丸薬、サシェ剤、液剤、粉末剤、顆粒剤、細顆粒剤、フィルムコーティング製剤、ペレット剤、トローチ剤、舌下製剤、チュアブル剤、口腔製剤、ペースト剤、シロップ剤、懸濁液、エリキシル剤、乳濁液、塗布剤、軟膏、プラスター剤、パップ剤、経皮吸収システム、ローション剤、吸入剤、エアロゾル剤、注射剤、坐剤などの形態で、経口、経鼻または非経口的に使用することができる。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、静脈内、筋肉内、皮下、または皮内投与などによる注射によって使用することができる。

【0192】

いくつかの実施形態では、細菌株を含む本組成物は、経口送達のために製剤化される。いくつかの実施形態では、細菌株を含む本組成物は、腸（例えば、小腸及び／または結腸）への送達のために製剤化される。いくつかの実施形態では、細菌株を含む本組成物は、胃内の過酷な環境での細菌の生存を増加させる腸溶性コーティングを用いて製剤化されてもよい。腸溶性コーティングは、胃内の胃液の作用に抵抗して、その中の組成物の細菌が胃を通過して腸に入るようにするコーティングである。腸溶性コーティングは、腸液と接触すると、コーティングに封入された細菌が腸管に放出されるように容易に溶解してもよい。腸溶性コーティングは、市販のEUDRAGIT (Evonik Industries) などの当該技術分野で周知のポリマー及びコポリマーからなってもよい。（例えば、Zhang, AAPS PharmSciTech, 2016, 17(1), 56-67を参照）。

【0193】

細菌株を含む本組成物はまた、腸（例えば、結腸）への直腸送達のために製剤化されてもよい。このため、いくつかの実施形態では、細菌株を含む組成物は、坐剤、結腸内視鏡検査、内視鏡検査、S状結腸鏡検査、または浣腸による送達のために製剤化されてもよい。医薬調製物または製剤、及び特に経口投与用医薬調製物は、本開示の組成物の腸（例えば、結腸）への効率的な送達を可能にする追加の成分を含んでもよい。本組成物の腸（例えば、結腸）への送達を許容するさまざまな医薬調製物を使用することができる。その例には、pH感応性組成物、より具体的には、腸溶性ポリマーが胃を通過した後にpHがアルカリ性になるとそれらの内容物を放出する緩衝サシェ製剤または腸溶性ポリマーが挙げられる。pH感応性組成物が医薬調製物の製剤化に使用される場合、pH感受性組成物は、好ましくは、組成物の分解のpH閾値が約6.8～約7.5であるポリマーである。このような数値範囲は、胃の遠位部分でpHがアルカリ側にシフトする範囲であり、したがって、結腸への送達に使用するのに好適な範囲である。さらに、腸の各部分（例えば、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、及び直腸）は、異なる生化学的及び化学的環境を有することを理解されたい。例えば、腸の一部は異なるpHを有しているため、特定のpH感応性を有する組成物による標的化された送達が可能となる。したがって、本明細書に提供される組成物は、適切なpH感応性を有する製剤を提供することにより、腸または腸の特定の部分（例えば、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、及び直腸）への送達のために製剤化されてもよい。（例えば、Villena et al., Int J Pharm 2015, 487(1-2): 314-9を参照されたい）。

【0194】

追加または代替経路による投与のための医薬組成物も、本開示の範囲内である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、舌下投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、注射による投与のために製剤化される。

【0195】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、本開示の組成物を胃腸管（例えば、結腸）などの所望の部位に効率的に送達することを可能にする追加の成分を含んでもよい。

【0196】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、アレルギーの治療における利益の提供に関連付けられるアジュバントを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、経口免疫療法薬、経皮免疫療法薬、または舌下免疫療法薬の1つ以上の成分を含む。

【0197】

腸（例えば、結腸）への組成物の送達に有用な医薬調製物の別の実施形態は、内容物（例えば、細菌株）の放出を小腸通過時間に対応するおよそ3～5時間遅延させることによって、結腸への送達を確実にするものである。遅延放出のための医薬調製物の一実施形態では、ヒドロゲルがシェルとして使用される。ヒドロゲルは、胃腸液と接触すると水和して膨潤し、その結果、内容物が効果的に放出される（主に結腸で放出される）。遅延放出剤形は、投与される薬物または活性成分をコーティングまたは選択的にコーティングする材料を有する薬物含有組成物を含む。そのような選択的コーティング材料の例には、*in vivo* 分解性ポリマー、漸次加水分解性ポリマー、漸次水溶性ポリマー、及び／または酵素分解性ポリマーが挙げられる。放出を効率的に遅延させるための多種多様なコーティング材料が利用可能であり、これらには、例えば、ヒドロキシプロピルセルロースなどのセルロース系ポリマー、メタクリル酸ポリマー及びコポリマーなどのアクリル酸ポリマー及びコポリマー、ならびにポリビニルピロリドンなどのビニルポリマー及びコポリマーが含まれる。

【0198】

腸（例えば、結腸）への送達を許容する医薬組成物の追加の例には、結腸粘膜に特異的に付着する生体接着性組成物、（例えば、米国特許第6,368,586号の明細書に記載されているポリマー）、及び特に胃腸管内の生物医薬調製物をプロテアーゼの活性に起因する分解分解から保護するために中にプロテアーゼ阻害剤が組み込まれている組成物が挙げられる。

【0199】

腸（例えば、結腸）への送達を可能にするシステムの別の例は、胃の遠位部分での細菌発酵におけるガスの発生によって引き起こされる圧力変化を利用することによって内容物を放出させるような圧力変化によって、組成物を結腸に送達するシステムである。このようなシステムは特に限定されるものではなく、そのより具体的な例は、内容物が坐剤ベースに分散しており、疎水性ポリマー（例えば、エチルセルロース）でコーティングされたカプセルである。

【0200】

腸（例えば、結腸）への組成物の送達を可能にするシステムのさらなる例は、例えば炭水化物加水分解酵素または炭水化物還元酵素などの胃腸（例えば、結腸）に存在する酵素によって除去され得るコーティングを含む組成物である。このようなシステムは特に限定されるものではなく、そのより具体的な例には、非デンプン性多糖類、アミロース、キサンタンガム、及びアゾポリマーなどの食品成分を使用するシステムが含まれる。

【0201】

本明細書に提供される組成物はまた、開口部（例えば、鼻腔チューブ）を介したまたは手術を介した送達によって、腸などの特定の標的領域に送達することができる。加えて、特定の領域（例えば、盲腸または結腸）への送達のために製剤化される本明細書に提供される組成物は、チューブ（例えば、直接小腸に入れる）によって投与してもよい。チューブなどの機械的送達方法を、pH特異的コーティングなどの化学的送達方法と組み合わせると、本明細書に提供される組成物を所望の標的領域（例えば、盲腸または結腸）に送達することが可能になる。

【0202】

細菌を含む組成物は、当業者に既知である従来の方法によって、薬学的に許容される剤

10

20

30

40

50

形に製剤化される。投薬レジメンは、最適な所望の応答（例えば、予防的または治療的効果）を提供するように調整される。いくつかの実施形態では、組成物の剤形は、錠剤、丸薬、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、または坐剤である。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、経口投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、細菌株を含み、細菌またはその一部が対象の胃を通過した後も生存し続けるように製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、例えば坐剤として、直腸投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、適切なコーティング（例えば、pH特異的コーティング、標的領域特異的酵素によって分解され得るコーティング、または標的領域に存在する受容体に結合することができるコーティング）を提供することによって、腸または腸の特定の領域（例えば、結腸）への送達のために製剤化される。

10

【0203】

本発明の医薬組成物中の活性成分の投薬量は、対象に対して毒性であるまたは有害作用を有することなく、特定の対象、組成物、及び投与様式について所望の薬学的応答を達成するのに有効な活性成分の量を得るように変化させることができる。選択される投薬量レベルは、用いられる本発明の特定の組成物の活性、投与経路、投与時間、治療期間、用いられる特定の組成物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物、及び／または材料、治療される対象の年齢、性別、体重、状態、一般的な健康、及び以前の病歴、ならびに同様の要因を含む、さまざまな要因に基づく。

【0204】

20

医師、獣医、または他の訓練を受けた施術者は、所望の治療効果の達成に必要なレベルよりも低いレベルで本医薬組成物の投薬を開始し、所望の効果（例えば、Clostridium difficile感染の治療、アレルギーの治療、アレルギーと関連付けられる1つ以上の免疫応答の調節）が達成されるまで、投薬量を徐々に増加させることができる。概して、本明細書に記載のような人々の群を予防的に治療するための本発明の組成物の有効用量は、投与経路、対象の生理学的状態、対象がヒトであるか動物であるか、投与される他の薬剤、及び所望の治療効果を含む多くの異なる要因に応じて変化する。安全性及び有効性を最適化するために、投薬量を滴定する必要がある。いくつかの実施形態では、投薬レジメンは、本明細書に記載される組成物のうちのいずれかの用量の経口投与を必要とする。いくつかの実施形態では、投薬レジメンは、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの複数回投与の経口投与を必要とする。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかは、対象に、1回、2回、3回、4回、5回、5回、6回、7回、8回、9回、少なくとも10回、少なくとも11回、少なくとも12回、少なくとも13回、少なくとも14回、またはそれ以上、投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかは、対象に、毎日、2日ごと、3日ごと、4日ごと、5日ごと、6日ごと、毎週、2週間ごと、毎月、2か月ごと、3か月ごと、4か月ごと、5か月ごと、6か月ごと、またはそれ以上など、一定の間隔で、複数回用量で投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの1用量が投与され、本組成物の第2の用量が翌日（例えば、連続する日）に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの1用量が投与され、本組成物の追加用量の各々が連続する日に投与される（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。

30

40

【0205】

一態様では、本開示は、本医薬組成物の複数回用量の投与を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、抗生物質（例えば、バンコマイシン）、それに続く本医薬組成物の複数回用量の投与を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の定着（生着）が増強される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回投与の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の回復が増強される。いくつかの実

50

施形態では、本医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の存在量が増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてが定着した対象の数が増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の耐久性の定着（例えば、最大6か月）がもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべての耐久性の定着（例えば、6か月）がもたらされる。さらに、複数回用量の投与により、記載の結果の組み合わせが生じてよいことを理解されたい。このため、例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の定着（生着）が増加し、かつその回復速度が増加する。

10

【0206】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の単回用量の投与と比較して、本医薬組成物の1つ以上の細菌株の定着（生着）が増強される。図6及び図7に示されるように、本医薬組成物の複数回用量の投与により、本医薬組成物の細菌株の各々の定着（生着）が増強され、その存在量が増加する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物の単回用量の投与により、本医薬組成物の複数回用量の投与と同じまたは同様のレベルの生着（例えば、全細菌）がもたらされるが、生着は、本医薬組成物の1つの細菌株または細菌株のサブセットのみによって占められ得る。

20

【0207】

本明細書に記載の方法のうちのいずれも、本明細書に記載の医薬組成物を投与する前に、対象に抗生物質を投与することをさらに含んでもよい。いくつかの実施形態では、抗生物質は、バンコマイシン、フィダキソマイシン、またはリジニラゾールである。本明細書で提供される方法のうちのいずれかで使用され得る抗生物質の非限定的な例には、セファロスポリン抗生物質セファロキシン、セフロキシム、セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン、セファクロル、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、セフトピプロール、クリンダマイシン、セフトリアキソン、セフォタキシム、セファゾリン、セフォペラゾン、セフロキシム、セフメタゾール、フルオロキノロン、シプロフロキサシン、Levaquin、フロキシム、テクイン、アベロックス、ノルフロックス、テトラサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、アモキシシリン、アンピシリン、ペニシリンV、ジクロキサシリン、ベンジルペニシリン、カルペニシリン、バンコマイシン、及びメチシリン）、エルタペネム、ドリペネム、イミペネム／シラスタチン、メロペネム、クラブラン酸塩、タゾバクタム、ピペラシリン、セフトリアキソン、セフォタキシム、セファゾリン、フルオロキノロン、イミペネム、メロペネム、メトロニダゾール、フィダキソミキシン（fidaxomyin）、またはリジニラゾールが含まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法のうちのいずれかは、対象に、本明細書に記載の医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することをさらに含んでもよい。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の投与前にバンコマイシンを対象に投与することを含まない。バンコマイシンの投与は、ヒトの腸内微生物叢の組成を改変することがわかっている。例えば、Reijnders et al. Cell Metabolism (2016) 24 (1) : 63–72を参照されたい。いずれの特定の理論にも束縛されることを望むものではないが、バンコマイシンの投与により、例えば胃腸管に存在する他の微生物を除去することで、本明細書に記載の医薬組成物の細菌株（単数または複数）の生着が助けられ得ると考えられる。

30

40

【0208】

いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、単回用量として、対象に1回投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、複数回用量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、少なくとも2回、3回、4回、5回、6回、7回

50

、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量で対象に投与される。バンコマイシンの複数回用量は、本明細書に記載の医薬組成物うちのいずれかを投与する前に、一定の間隔で対象に投与されてもよい。いくつかの実施形態では、バンコマイシンの複数回用量の各々は、連続した日に投与される（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、またはそれ以上の間連続して、対象に投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、3日間連続して各日対象に投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、5日間連続して各日対象に投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、1日間対象に投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、7日間連続して各日対象に投与される。本明細書に記載の実施形態のうちのいずれにおいても、対象は、第1の抗生物質の1回以上の用量、続いて第2の抗生物質の1回以上の用量を投与されてもよい。

【0209】

いくつかの実施形態では、単回用量、または複数回用量の治療レジメンにおける第1の投与は、バンコマイシンの最終用量の投与と同じ日に投与される。いくつかの実施形態では、単回用量、または複数回用量の治療レジメンにおける第1の投与は、バンコマイシンの最終用量の投与の翌日に投与される。いくつかの実施形態では、単回用量、または複数回用量の治療レジメンにおける第1の投与は、バンコマイシンの最終用量の投与の2日後に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法は、バンコマイシンの最終用量と本医薬組成物の第1の用量との間に休薬日を見越す。いくつかの実施形態では、単回用量、または複数回用量の治療レジメンにおける第1の用量は、バンコマイシンの最終用量の投与の3日、4日、5日、6日、10日、またはそれ以上の後に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法は、バンコマイシンの最終用量と本医薬組成物の第1の用量との間に複数の休薬日を見越す。

【0210】

バンコマイシンの各用量は、同量のバンコマイシンであっても、異なる量のバンコマイシンであってもよい。いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、本明細書に記載の医薬組成物の細菌株のうちの1つ以上の定着を可能にするのに十分な量で投与される。いくつかの実施形態では、対象は、1日あたり約50mg～1g、100mg～750mg、100mg～500mg、200mg～750mg、200mg～500mg、300mg～750mg、300mg～500mg、100mg～400mg、100mg～300mg、100mg～200mg、200mg～400mg、200mg～300mg、または450mg～550mgのバンコマイシンを投与される。当業者には理解されるように、1日あたりの対象に投与されるバンコマイシンの総量は、単回用量で投与されても、合計すると1日あたりのバンコマイシンの総量となる複数回用量にわたって投与されてもよい。

【0211】

いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの投与前に、1日あたり約500mgのバンコマイシンを投与される。いくつかの実施形態では、1日あたり500mgのバンコマイシンが単回用量（例えば、500mg）で投与される。いくつかの実施形態では、1日あたり500mgのバンコマイシンは、合計すると1日あたり500mgのバンコマイシンとなる複数回用量（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）で投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、1日あたり125mgのバンコマイシンの4回用量で投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に1日間投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に2日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に3日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に4日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に5日間毎日投与される。いく

つかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に6日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に7日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に8日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に9日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、500mgのバンコマイシンは、対象に10日間毎日投与される。

【0212】

いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの投与前に、1日あたり約250mgのバンコマイシンを投与される。いくつかの実施形態では、1日あたり250mgのバンコマイシンは、単回用量（例えば、250mg）で投与される。いくつかの実施形態では、1日あたり250mgのバンコマイシンは、合計すると1日あたり250mgのバンコマイシンとなる複数回用量（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）で投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、1日あたり125mgのバンコマイシンの2回用量で投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に1日間投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に2日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に3日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に4日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に5日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に6日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に7日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に8日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に9日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、250mgのバンコマイシンは、対象に10日間毎日投与される。

【0213】

いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの投与前に、1日あたり約125mgのバンコマイシンを投与される。いくつかの実施形態では、この1日あたり125mgのバンコマイシンは、単回用量（例えば、125mg）で投与される。いくつかの実施形態では、この1日あたり125mgのバンコマイシンは、合計すると1日あたり125mgのバンコマイシンとなる複数回用量（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）で投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に1日間投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に2日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に3日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に4日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に5日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に6日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に7日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に8日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に9日間毎日投与される。いくつかの実施形態では、125mgのバンコマイシンは、対象に10日間毎日投与される。

【0214】

いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、漸減パルスレジームに従って投与される。例えば、Sirbu et al., Clinical Infectious Diseases (2017) 65:1396–1399を参照されたい。

【0215】

いくつかの実施形態では、バンコマイシンは、本明細書に記載の医薬組成物の投与の1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、またはそれ以上前に、対象に投与される。いくつかの実施形態では、バンコマイシンの投与は、本明細書に記載の医薬組成物のうちの

いずれかの投与の少なくとも1日（例えば、1日、2日、3日、4日、5日、またはそれ以上）前に終了される。

【0216】

いくつかの実施形態では、追加の抗生物質が、本明細書に提供されるバンコマイシンレジームと組み合わせて投与される。

【0217】

いくつかの実施形態では、バンコマイシン用量または投与レジメンのいずれかを、本明細書に提供される医薬組成物用量または投与レジメンのいずれかと組み合わせてもよいことを理解されたい。

【0218】

いくつかの実施形態では、本開示は、1つ以上の抗生物質を対象に投与し、続いて本細菌組成物のうちのいずれかを1回、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、または少なくとも10回以上対象に投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、1つ以上の抗生物質を対象に投与し、続いて本明細書に記載の細菌組成物のうちのいずれかを、複数回用量で、2週間ごと、毎月、2か月ごと、3か月ごと、4か月ごと、5か月ごと、6か月ごと、またはそれ以上など一定の間隔で、対象に投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの1回用量が投与され、本組成物の第2の用量が翌日（例えば、連続した日）に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの1用量が投与され、本組成物の追加用量の各々が、連続した日（例えば、1日目に第1の用量、2日目に第2の用量、3日目に第3の用量など）に投与される。

【0219】

一態様では、本開示は、1つ以上の抗生物質を対象に投与し、続いて細菌組成物のうちのいずれかを本医薬組成物の複数の日用量として投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、またはそれ以上の間、毎日投与される。

【0220】

一態様では、本開示は、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本明細書に提供される医薬組成物を投与することを含む方法を提供し、ここでは、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与した後で、本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与する。いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに医薬組成物を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量（生着）が増加する。いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに医薬組成物を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の定着の期間が増加する（例えば、最高6か月）。

【0221】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに医薬組成物を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の初期量の生着速度が10～100倍（例えば、最初の48時間以内）増加する。

【0222】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに医薬組成物を投与した場合と比較して比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてが微生物叢に存在する対象の数（量）がより大きくなる。

【0223】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量（生着）が増加する。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の対象の微生物叢における細菌株の存在量（生着）が増加する。

【0224】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の初期量の生着速度が増加する。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の初期量の生着速度が増加する。

10

【0225】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量がより多くなる。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量がより多くなる。

20

【0226】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてが微生物叢に存在する対象の数（量）がより大きくなる。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてを微生物叢に有する対象の数（量）がより大きくなる。

30

【0227】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、微生物叢の回復が加速する（例えば、Bacteroidetes及び／またはFirmicutesの細菌種が増加し、及び／またはProteobacteriaが減少する）。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬品の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、微生物叢の回復が加速する（例えば、Bacteroidetes及び／またはFirmicutesの細菌種が増加し、及び／またはProteobacteriaが減少する）。

40

【0228】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、医薬組成物を投与せずに抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与した場合と比較して、微生物叢の回復が加速する（例えば、Bacteroidetes及び／またはFirmicutesの細菌種が増加し、及び／またはProteobacteriaが減少する）。

【0229】

本明細書に開示される医薬組成物を含む組成物には、選択された細菌株を含む組成物が

50

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、各カプセルは、カプセルあたり、 $10 \sim 10^{13}$ 、 $10^2 \sim 10^{13}$ 、 $10^3 \sim 10^{13}$ 、 $10^4 \sim 10^{13}$ 、 $10^5 \sim 10^{13}$ 、 $10^6 \sim 10^{13}$ 、 $10^7 \sim 10^{13}$ 、 $10^8 \sim 10^{13}$ 、 $10^9 \sim 10^{13}$ 、 $10^{10} \sim 10^{13}$ 、 $10^{11} \sim 10^{13}$ 、 $10^{12} \sim 10^{13}$ 、 $10 \sim 10^{12}$ 、 $10^2 \sim 10^{12}$ 、 $10^3 \sim 10^{12}$ 、 $10^4 \sim 10^{12}$ 、 $10^5 \sim 10^{12}$ 、 $10^6 \sim 10^{12}$ 、 $10^7 \sim 10^{12}$ 、 $10^8 \sim 10^{12}$ 、 $10^9 \sim 10^{12}$ 、 $10^{10} \sim 10^{12}$ 、 $10^{11} \sim 10^{12}$ 、 $10 \sim 10^{11}$ 、 $10^2 \sim 10^{11}$ 、 $10^3 \sim 10^{11}$ 、 $10^4 \sim 10^{11}$ 、 $10^5 \sim 10^{11}$ 、 $10^6 \sim 10^{11}$ 、 $10^7 \sim 10^{11}$ 、 $10^8 \sim 10^{11}$ 、 $10^9 \sim 10^{11}$ 、 $10^{10} \sim 10^{11}$ 、 $10 \sim 10^{10}$ 、 $10^2 \sim 10^{10}$ 、 $10^3 \sim 10^{10}$ 、 $10^4 \sim 10^{10}$ 、 $10^5 \sim 10^{10}$ 、 $10^6 \sim 10^{10}$ 、 $10^7 \sim 10^{10}$ 、 $10^8 \sim 10^{10}$ 、 $10^9 \sim 10^{10}$ 、 $10 \sim 10^9$ 、 $10^2 \sim 10^9$ 、 $10^3 \sim 10^9$ 、 $10^4 \sim 10^9$ 、 $10^5 \sim 10^9$ 、 $10^6 \sim 10^9$ 、 $10^7 \sim 10^9$ 、 $10^8 \sim 10^9$ 、 $10 \sim 10^8$ 、 $10^2 \sim 10^8$ 、 $10^3 \sim 10^8$ 、 $10^4 \sim 10^8$ 、 $10^5 \sim 10^8$ 、 $10^6 \sim 10^8$ 、 $10^7 \sim 10^8$ 、 $10^8 \sim 10^8$ 。

【 0 2 3 3 】

【 0 2 3 4 】

いくつかの実施形態では、各カプセルは、カプセルあたり、 $10 \sim 10^{13}$ 、 $10^2 \sim 10^{13}$ 、 $10^3 \sim 10^{13}$ 、 $10^4 \sim 10^{13}$ 、 $10^5 \sim 10^{13}$ 、 $10^6 \sim 10^{13}$ 、 $10^7 \sim 10^{13}$ 、 $10^8 \sim 10^{13}$ 、 $10^9 \sim 10^{13}$ 、 $10^{10} \sim 10^{13}$ 、 $10^{11} \sim 10^{13}$ 、 $10^{12} \sim 10^{13}$ 、 $10 \sim 10^{12}$ 、 $10^2 \sim 10^{12}$ 、 $10^3 \sim 10^{12}$ 、 $10^4 \sim 10^{12}$ 、 $10^5 \sim 10^{12}$ 、 $10^6 \sim 10^{12}$ 、 $10^7 \sim 10^{12}$ 、 $10^8 \sim 10^{12}$ 、 $10^9 \sim 10^{12}$ 、 $10^{10} \sim 10^{12}$ 、 $10^{11} \sim 10^{12}$ 、 $10 \sim 10^{11}$ 、 $10^2 \sim 10^{11}$ 、 $10^3 \sim 10^{11}$ 、 $10^4 \sim 10^{11}$ 、 $10^5 \sim 10^{11}$ 、 $10^6 \sim 10^{11}$ 、 $10^7 \sim 10^{11}$ 、 $10^8 \sim 10^{11}$ 、 $10^9 \sim 10^{11}$ 、 $10^{10} \sim 10^{11}$ 、 $10 \sim 10^{10}$ 、 $10^2 \sim 10^{10}$ 、 $10^3 \sim 10^{10}$ 、 $10^4 \sim 10^{10}$ 、 $10^5 \sim 10^{10}$ 、 $10^6 \sim 10^{10}$

【 0 2 3 5 】

【 0 2 3 6 】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも約 1.0×10^8 、 1.1×10^8 、 1.2×10^8 、 1.3×10^8 、 1.4×10^8 、 1.5×10^8 、 1.6×10^8 、 1.7×10^8 、 1.8×10^8 、 1.9×10^8 、 2.0×10^8 、 2.1×10^8 、 2.2×10^8 、 2.3×10^8 、 2.4×10^8 、 2.5×10^8 、 2.6×10^8 、 2.7×10^8 、 2.8×10^8 、 2.9×10^8 、 3.0×10^8 、 3.1×10^8 、 3.2×10^8 、 3.3×10^8 、 3.4×10^8 、 3.5×10^8 、 3.6×10^8 、 $3.$

50

1.0×10^{11} 、 1.3×10^{11} 、 1.4×10^{11} 、 1.5×10^{11} 、 1.6×10^{11} 、 1.7×10^{11} 、 1.8×10^{11} 、 1.9×10^{11} 、 2.0×10^{11} 、 2.1×10^{11} 、 2.2×10^{11} 、 2.3×10^{11} 、 2.4×10^{11} 、 2.5×10^{11} 、 2.6×10^{11} 、 2.7×10^{11} 、 2.8×10^{11} 、 2.9×10^{11} 、 3.0×10^{11} 、 3.1×10^{11} 、 3.2×10^{11} 、 3.3×10^{11} 、 3.4×10^{11} 、 3.5×10^{11} 、 3.6×10^{11} 、 3.7×10^{11} 、 3.8×10^{11} 、 3.9×10^{11} 、 4.0×10^{11} 、 4.1×10^{11} 、 4.2×10^{11} 、 4.3×10^{11} 、 4.4×10^{11} 、 4.5×10^{11} 、 4.6×10^{11} 、 4.7×10^{11} 、 4.8×10^{11} 、 4.9×10^{11} 、 5.0×10^{11} 、 5.1×10^{11} 、 5.2×10^{11} 、 5.3×10^{11} 、 5.4×10^{11} 、 5.5×10^{11} 、 5.6×10^{11} 、 5.7×10^{11} 、 5.8×10^{11} 、 5.9×10^{11} 、 6.0×10^{11} 、 6.1×10^{11} 、 6.2×10^{11} 、 6.3×10^{11} 、 6.4×10^{11} 、 6.5×10^{11} 、 6.6×10^{11} 、 6.7×10^{11} 、 6.8×10^{11} 、 6.9×10^{11} 、 7.0×10^{11} 、 7.1×10^{11} 、 7.2×10^{11} 、 7.3×10^{11} 、 7.4×10^{11} 、 7.5×10^{11} 、 7.6×10^{11} 、 7.7×10^{11} 、 7.8×10^{11} 、 7.9×10^{11} 、 8.0×10^{11} 、 8.1×10^{11} 、 8.2×10^{11} 、 8.3×10^{11} 、 8.4×10^{11} 、 8.5×10^{11} 、 8.6×10^{11} 、 8.7×10^{11} 、 8.8×10^{11} 、 8.9×10^{11} 、 9.0×10^{11} 、 9.1×10^{11} 、 9.2×10^{11} 、 9.3×10^{11} 、 9.4×10^{11} 、 9.5×10^{11} 、 9.6×10^{11} 、 9.7×10^{11} 、 9.8×10^{11} 、 9.9×10^{11} 、または 1.0×10^{12} の総CFUを含む。

【0237】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.6×10^9 の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.6×10^9 の総CFUを含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.6×10^9 の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.6×10^9 の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。

【0238】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^9 の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^9 の総CFUを含み、単回投与として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^9 の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。

【0239】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 8.0×10^9 の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 8.0×10^9 の総CFUを含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 8.0×10^9 の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 8.0×10^9 の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投

与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。

【0240】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} の総CFUを含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2.8×10^{10} の総CFUを含み、7回用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。

10

【0241】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含み、単回投与として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含み、5回用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 4.0×10^{10} の総CFUを含み、5回用量として投与され、その各々は5日連続して投与される。

20

30

【0242】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} の総CFUを含み、単回投与として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} の総CFUを含み、14回用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる（例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など）。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 5.6×10^{10} の総CFUを含み、14回用量として投与され、その各々は14日連続して投与される。

40

【0243】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{11} の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{11} の総CFUを含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1.1×10^{11} の総CFUを含み、複数回（例えば、2回、3回、4回、5回、

50

またはそれ以上)の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1×10^{11} の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1×10^{11} の総CFUを含み、14回用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる(例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など)。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 1×10^{11} の総CFUを含み、14回用量として投与され、その各々は14日連続して投与される。

10

【0244】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2×10^{10} の総CFUを含む。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2×10^{10} の総CFUを含み、単回用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2×10^{10} の総CFUを含み、複数回(例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上)の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2×10^{10} の総CFUを含み、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量として投与される。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2×10^{10} の総CFUを含み、5回用量として投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、一定の間隔で投与される。いくつかの実施形態では、複数回用量の各々は、連続した日に行われる(例えば、1日目に第1の用量、2日目の第2の用量、3日目に第3の用量など)。いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、少なくとも 2×10^{10} の総CFUを含み、5回用量として投与され、その各々は5日連続して投与される。

20

【0245】

本明細書に記載されるように、本明細書に記載の医薬組成物のいずれも、1回用量でまたは複数回用量で(例えば、初期投与)で対象に投与されてもよく、その後に、本明細書に記載の任意の医薬組成物のうちのいずれかの1回以上の追加用量が続いてもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物のいずれも、初期投与において1回用量でまたは複数回用量で対象に投与され、その後、初期投与の医薬組成物と同じ1つ以上の細菌株を含む医薬組成物の1回以上の追加用量が続いてもよい。

30

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物のいずれも、初期投与において1回用量でまたは複数回用量で対象に投与され、その後、本医薬組成物の初期投与に比べてより多くの総細菌(コロニー形成単位)を含む医薬組成物の1回以上の追加用量を続けてもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物のいずれも、初期投与において1回用量でまたは複数回用量で対象に投与され、その後、本医薬組成物の初期投与と比べてより少数の総細菌(コロニー形成単位)を含む医薬組成物の1回以上の追加用量が続いてもよい。いくつかの実施形態では、初期投与は、少なくとも1回、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量の本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかを含む。いくつかの実施形態では、追加投与は、少なくとも1回、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回、15回、またはそれ以上の用量の本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかを含む。いくつかの実施形態では、初期投与は、本医薬組成物のいずれかの2回用量を含み、追加投与は、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの3回用量を含む。

40

【0246】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物のいずれも、初期投与において1回用量でまたは複数回用量で対象に投与され、その後、本医薬組成物の初期投与と比べてより少数の総細菌(コロニー形成単位)を含む医薬組成物の1回以上の追加用量が続いてもよい。そのような実施形態では、初期投与の用量(単数または複数)は「高用量」と

50

称されてもよく、追加投与の用量（単数または複数）は「低用量」と称されてもよい。いくつかの実施形態では、高用量は、低用量よりも、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、またはそれ以上高い。いくつかの実施形態では、高用量は 8.0×10^9 CFUである。いくつかの実施形態では、低用量は 1.6×10^9 CFUである。いくつかの実施形態では、初期投与は、 8.0×10^9 CFUの複数回用量（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）を含み、追加投与は、 1.6×10^9 CFUの複数回用量（例えば、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）を含む。いくつかの実施形態では、低用量は 1.6×10^9 CFUである。いくつかの実施形態では、初期投与は、 8.0×10^9 CFUの2回用量を含み、追加投与は、 1.6×10^9 CFUの3回用量を含む。

10

【0247】

いくつかの実施形態では、1回以上の追加投与は、初期投与の翌日（例えば、連続した日）に行われる。いくつかの実施形態では、1回以上の追加投与は、初期投与の少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、11週、12週、13週、14週、15週、16週、17週、18週、19週、20週、またはそれ以上後に行われる。いくつかの実施形態では、1回以上の追加投与は、初期投与の少なくとも6週後に行われる。いくつかの実施形態では、1回以上の追加投与は、初期投与の少なくとも12週後に行われる。

【0248】

20

いくつかの実施形態では、医薬組成物を含む組成物は、本組成物中の細菌株の各々の細菌を、投薬量あたり、 $10^{-7} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-3} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-2} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-3} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-4}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-4}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-4}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-5}$ 、または $10^{-7} \sim 10^{-6}$ グラムで含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される医薬組成物を含む本組成物は、投薬量あたり、 $10^{-7} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-3} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-2} \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-3} \sim 10^{-2}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-3}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-4}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-4}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-4}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-5}$ 、または $10^{-7} \sim 10^{-6}$ グラムの組み合わせた細菌のすべて（合計）を含む。

30

【0249】

一態様では、本開示は、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、その後、本明細書に提供される医薬組成物を投与することを含む方法を提供し、ここでは、抗生物質（例えば、バンコマイシン）の投与後に、本医薬組成物の単回用量または複数回用量が投与される。いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量及び複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに本医薬組成物を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量（生着）が増加する。いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せず本医薬組成物を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の定着の期間が増加する（例えば、最大6か月）。

40

【0250】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに本医薬組成物を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の初期量の生着速度が10～100倍（例えば、最初の48時間以内）増加する。

50

【0251】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、抗生物質を投与せずに医薬組成物を投与した場合と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてが微生物叢に存在する対象の数（量）がより大きくなる。

【0252】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量（生着）が増加する。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の対象の微生物叢における細菌株の存在量（生着）が増加する。

10

【0253】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与すると、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における医薬組成物の細菌株の初期量の生着速度が増加する。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の初期量の生着速度が増加する。

20

【0254】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量がより多くなる。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、対象の微生物叢における本医薬組成物の細菌株の存在量がより多くなる。

【0255】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてが微生物叢に存在する対象の数（量）がより大きくなる。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬品の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、本医薬組成物の細菌株のすべてが微生物叢に有する対象の数（量）がより大きくなる。

30

【0256】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、微生物叢の回復が加速する（例えば、Bacteroidetes及び／またはFirmicutesの細菌種が増加し、及び／またはProteobacteriaが減少する）。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に提供される医薬組成物の投与を含む方法を提供し、ここでは、本医薬品の複数回用量を投与することで、本医薬組成物の単回用量を投与した場合と比較して、微生物叢の回復が加速する（例えば、Bacteroidetes及び／またはFirmicutesの細菌種が増加し、及び／またはProteobacteriaが減少する）。

40

【0257】

いくつかの実施形態では、抗生物質（例えば、バンコマイシン）を投与し、続いて本医薬組成物の単回用量または複数回用量を投与することで、医薬組成物を投与せずに抗生物

50

物質（例えば、バンコマイシン）を投与した場合と比較して、微生物叢の回復が加速する（例えば、*Bacteroidetes*及び／または*Firmicutes*の細菌種が増加し、及び／または*Proteobacteria*が減少する）。

【0258】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法には、本明細書に記載の組成物を投与する前に、対象を腸洗浄（腸灌注、全腸灌注、胃腸洗浄、胃洗浄）に供することが伴ってもよい。いくつかの実施形態では、腸洗浄は、対象の胃腸管から微生物叢を除去するかまたは除去するのを助け、本明細書に記載の組成物の細菌株のために陥凹部を創出してもよい。いくつかの実施形態では、腸洗浄は、経口腸洗浄であっても経直腸腸洗浄であってもよい。

10

【0259】

腸洗浄を行う方法は当該技術分野で既知であり、これには、概して、ポリエチレングリコールまたは平衡電解質溶液などの大量の溶液の急速な投与が伴う。経直腸腸洗浄には、本医薬組成物を含む溶液または坐剤の投与が伴い得る。腸洗浄は、医師の監督下で、入院中に、または自宅で行われ得る。

【0260】

本開示の態様は、本明細書に記載の方法のうちのいずれかに従って本医薬組成物のうちのいずれかを投与することを含む、病原体による感染を治療する方法に関する。

【0261】

本開示の態様は、本明細書に記載の方法のうちのいずれかに従って本医薬組成物のうちのいずれかを投与することを含む、*C. difficile*感染を治療する方法に関する。いくつかの実施形態では、*C. difficile*感染は、一次*C. difficile*感染である。いくつかの実施形態では、*C. difficile*感染は、再発性*C. difficile*感染である。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの単回用量または複数回用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加の用量または量を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物を投与する前に抗生物質（例えば、バンコマイシン）を対象に投与することをさらに含む。

20

【0262】

本明細書に記載の組成物及び方法は、*C. difficile*感染の治療に有効である。本明細書に記載の方法は、*C. difficile*感染の病原効果を抑制するのに有効である可能性がある。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、感染後の*C. difficile*の量が減少し、それにより、*C. difficile*を身体（例えば、腸）から排除するための効果的な方法がもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、例えば対象に投与されると、調節性T細胞（*Treg*）の増殖及び／または蓄積が誘導される。いくつかの実施形態では、開示の組成物の投与により、*C. difficile*毒素Bの産生または活性が低減または阻害され、それにより、*C. difficile*感染の治療または防止のための効果的な組成物が示される。本明細書に開示される組成物はまた、*C. difficile*の増殖及び／または生存を阻害することが見出されている。

30

40

【0263】

本開示は、感染を治療するために、病原性感染を経験しているまたは経験した対象に本医薬組成物を投与する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本組成物は、病原性感染のリスクがあり得る対象に投与されてもよい。そのような対象には、以前に病原性感染を有した対象、抗生物質で治療された対象、及び病原性感染のリスクを高めることになる処置（例えば、手術及び／または入院）を受ける予定の対象が含まれる。いくつかの実施形態では、病原性感染は、主に消化管または腸に存在する病原体による感染である。いくつかの実施形態では、主に消化管または腸に存在する病原体は、*Clostridium difficile*である。

【0264】

50

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせが、*C. difficile*などの病原体と比較して栄養素の使用において秀でていることにより、*C. difficile*などの病原体の増殖を抑制するので、*C. difficile*などの病原性感染が治療される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせが、*C. difficile*などの病原体と比較して移植において秀でていることにより、*C. difficile*などの病原体の増殖を抑制するので、*C. difficile*などの病原性感染が治療される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせが、*C. difficile*などの病原体と比較したときに栄養素の使用及び移植において秀でていることにより、*C. difficile*などの病原体の増殖を抑制するので、病原性感染が治療される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせが、*C. difficile*などの病原体の増殖及び／または生存を阻害するので、*C. difficile*などの病原性感染が治療される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせが、*C. difficile*などの病原体の低減または排除を生じさせる対象における調節性T細胞（Treg）を誘導するので、*C. difficile*などの病原性感染が治療される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の細菌株の組み合わせが、病原体の増殖及び／または生存を阻害し、*C. difficile*などの病原体の低減または排除を生じさせる対象における調節性T細胞（Treg）を誘導するので、*C. difficile*などの病原性感染が治療される。

【0265】

いくつかの実施形態では、対象は、病原菌の保菌者であり、感染の影響（例えば、*C. difficile*毒素によって引き起こされる下痢）に罹患している。いくつかの実施形態では、対象は、病原体の無症候性保菌者である。いくつかの実施形態では、対象は、*C. difficile*の保菌者である。いくつかの実施形態では、対象は、無症候性*C. difficile*保菌者である。いくつかの実施形態では、対象は、再発性または慢性的病原性感染を経験している。いくつかの実施形態では、対象は、特定の病原性感染の最初の発症に罹患している。いくつかの実施形態では、対象は抗生物質で治療されており、その結果、病原性感染の再発が生じている。いくつかの実施形態では、対象は、抗生物質で治療されており、その結果、病原性感染の最初の発症が生じている。いくつかの実施形態では、対象は、対象の感染のリスクを高める手順を受けることになっている。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物は、病原体に感染するリスクを低下させるために対象に投与される。

【0266】

本明細書に記載の組成物のいずれも、病原性感染（例えば、1つ以上の病原性感染）を治療または防止するために、治療有効量または治療有効量の用量で対象に投与されてもよい。「治療する」または「治療」という用語は、病原性感染と関連付けられる症状のうちの1つ以上の症状を減少させるもしくは緩和すること、病原性感染によって産生される細菌毒素の量を減少させること、及び／または病原性感染の細菌負荷を減少させることを指す。「防止する」または「防止」という用語は、予防的投与を包含し、病原性感染または再発性もしくは慢性的病原性感染の発生率または可能性を低下させてもよい。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、病原性感染に抵抗性である健康な微生物叢がもたらされ、それによって病原性感染が防止される。

【0267】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のいずれかの治療有効量は、対象の生存率を増強し、対象における病原性感染の細菌負荷を低下させ、及び／または病原性感染による毒素産生を低下させるもしくは阻害するのに十分な量である。いくつかの実施形態では、治療有効量は、対象からの糞便試料における病原性感染の細菌負荷を、本明細書に記載の組成物のいずれも受けていない病原性感染を有する対象における細菌負荷と比較して、または本組成物のいずれかの投与の前に収集された同じ対象からの糞便試料と比較して、少なくとも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍

、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、 10^4 倍、 10^5 倍、またはそれ以上低下させるのに十分な量である。

【0268】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物により、細菌毒素、例えば、C. difficile 毒素Bの産生が阻害される。いくつかの実施形態では、治療有効量は、対象からの糞便試料における病原性感染によって産生された細菌毒素（例えば、C. difficile 毒素B）の量を、本明細書に記載の組成物のいずれも受けていない病原性感染を有する対象における細菌毒素の量と比較して、または本組成物のいずれかの投与の前に収集された同じ対象からの糞便試料と比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、150分の1、200分の1、500分の1、またはそれ以上に減少させるまたは阻害するのに十分な量である。

10

【0269】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物は、対象において調節性T細胞の増殖及び／または蓄積を誘導する。当業者には明らかとなるように、「Treg」とも称される調節性T細胞は、一般に、異常なまたは過剰な免疫応答を抑制し、免疫寛容において役割を果たすと考えられているTリンパ球のサブセットである。調節性T細胞は、マーカーであるFoxp3及びCD4（Foxp3+CD4+）の発現に基づいて特定され得る。調節性T細胞という用語には、IL-10を産生するCD4陽性T細胞であるFoxp3陰性調節性T細胞も含まれ得る。

20

【0270】

いくつかの実施形態では、治療有効量は、対象（または対象から得られた試料）におけるTregの増殖及び／または蓄積を、本明細書に記載の組成物のいずれも受けていない対象（例えば、病原性感染を有する対象）におけるTregの量と比較して、または本組成物のいずれかの投与の前に収集された同じ対象からの糞便試料と比較して、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、150倍、200倍、500倍、またはそれ以上誘導するのに十分な量である。

【0271】

本明細書で使用される場合、「調節性T細胞の増殖及び／または蓄積を誘導する」という句は、調節性T細胞の増殖及び／または蓄積を導く未成熟T細胞の調節性T細胞への分化を誘導する効果を指す。さらに、「調節性T細胞の増殖及び／または蓄積を誘導する」の意味には、in vivo効果、in vitro効果、及びエキスピボ効果が含まれる。いくつかの実施形態では、調節性T細胞の増殖及び／または蓄積は、調節性T細胞（例えば、Foxp3及びCD4）のマーカーを発現する細胞の数を、例えばフローサイトメトリーによって、検出及び／または定量化することによって評価されてもよいいくつかの実施形態では、調節性T細胞の増殖及び／または蓄積は、サイトカイン（例えば、IL-10）の産生などの調節性T細胞の活性を決定することによって評価されてもよい。

30

【0272】

本開示の態様は、対象における食物アレルギーを治療するための組成物及び方法に関する。食物アレルギーと関連付けられる免疫応答の調節、及び／または食物アレルギーに対する免疫寛容及び脱感作の誘導を行うための組成物ならびに方法も提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物のうちのいずれかの単回用量または複数回用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本明細書に記載の医薬組成物の1回以上の追加の用量または量を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、本医薬組成物を投与する前に抗生物質（例えば、バンコマイシン）を対象に投与することをさらに含む。

40

【0273】

アレルギーは、アレルゲンと称される、典型的には無害とみなされる（非自己）物質へ

50

の接触または曝露時の望ましくない免疫応答を特徴とする。一般集団においては、アレルゲンへの接触または曝露は実質的な免疫応答を励起せず、個々人はアレルゲンに対して耐性または感受性であるとみなされる。したがって、アレルギーは、アレルゲンに対する過敏反応と称されてもよい。本明細書で使用される場合、「食物アレルギー」という用語は、食物、または具体的には、食物中に存在するアレルゲンに対する望ましくないアレルギー性免疫応答を指す。いくつかの実施形態では、食物アレルギーと関連付けられるアレルギー反応は、同じまたは類似したアレルゲンを含有する食物（単数または複数）の、例えば摂取を介した接触の後に誘導される。当業者には明らかとなるように、食物アレルギーと関連付けられる症状は、例えばアレルゲンを含有する食物を摂取した後に、対象の胃腸管に現れ得るが、アレルギー反応は、気道または皮膚などの他の部位を侵してもよい。

10

【0274】

食物アレルギーは、概して、IgE媒介性免疫反応とみなされるが、非IgE媒介性食物アレルギー、ならびにIgE媒介性／非IgE媒介性混合型食物アレルギー。例えば、Fiocchi et al. "Food Allergy" World Allergy Organization: March 2017を参照されたい。IgE媒介性食物アレルギーは、アレルゲンとの接触後すぐに、または約2時間以内に発生する傾向があり、これには、じんましん（急性じんましん）、血管性浮腫、腫脹、アナフィラキシー、食物関連性運動誘発アナフィラキシー、口腔アレルギー症候群、及び／または嘔吐及び疼痛を伴う即時型胃腸過敏症が含まれる。細胞媒介性応答とも称される、食物アレルギーに関与する非IgE媒介性免疫応答は、遅延型過敏反応であり、食物タンパク質誘発性腸炎症候群、食物タンパク質誘発性アレルギー性直腸結腸炎、アレルギー性接触皮膚炎、及びハイナ症候群を伴ってもよい。食物アレルギーに関与するIgE媒介性／非IgE媒介性混合型または複合型免疫応答は、IgE媒介効果とT細胞媒介効果との両方と関連付けられ、これには、アトピー性皮膚炎、好酸球性食道炎、及び／または好酸球性胃腸炎が含まれてもよい。

20

【0275】

食物アレルギーとは対照的に、食物不耐性は、一般的には免疫系によって媒介されるものとは考えられておらず、発症は、曝露後約30分～曝露後48時間に生じる。

【0276】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、IgE媒介性食物アレルギーを治療するために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、IgE媒介性食物アレルギーと関連付けられる免疫応答を調節するために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、IgE媒介性食物アレルギーに対する免疫寛容または脱感作を誘発するために使用される。本明細書に記載の組成物及び方法はまた、非IgE媒介性食物アレルギー及び／またはIgE媒介性／非IgE媒介性混合型もしくは複合型食物アレルギーの状況において使用されてもよい。

30

【0277】

食物アレルギーの例には、ピーナッツアレルギー、木の実アレルギー、卵アレルギー、トウモロコシアレルギー、果物アレルギー、牛乳アレルギー、ニンニクアレルギー、大豆アレルギー、小麦アレルギー、魚介類アレルギー、魚アレルギー（例えば、甲殻類アレルギー）、種子アレルギー（例えば、ゴマ種子アレルギー）が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0278】

食物アレルギーを生じさせ得るアレルゲンを含有する食品の非限定的な例には、アワビ（abalone）（アワビ（perlemoen））、アセロラ、スケトウダラ、アーモンド、アニス、リンゴ、アンズ、アボカド、バナナ、大麦、ピーマン、ブラジルナッツ、ソバ、キャベツ、コイ、ニンジン、カシュー、トウゴマ種子、セロリ、根セロリ、サクラランボ、クリ、ひよこ豆（ガルバンゾ、チャナ豆）、ココア、ココナッツ、タラ、綿実、クルジェット（ズッキーニ）、カニ、ナツメヤシの実、卵、イチジク、魚、アマニ（リンシード）、カエル、ガーデンプラム、ニンニク、ブドウ、ヘーゼルナッツ、キウイフルー

50

ツ（チャイニーズグースベリー）、レンズ豆、レタス、ロブスター、ルピン（*lupin*）（ルピン（*lupine*））、ライチ、サバ、トウモロコシ（コーン）、マンゴー、メロン、牛乳、マスタード、オート麦、カキ、モモ、ピーナッツ（ピーナッツ（*ground nut*））、モンキーナッツ）、ナシ、ピーカン、柿、松の実、パイナップル、ザクロ、ケシの実、ジャガイモ、カボチャ、コメ、ライ麦、サケ、ゴマ、ゴマ種子、エビ（ウシエビ、ブラウンエビ、ヨシエビ、インドエビ、ネプチューン、ローズエビ、ホワイトエビ）、カタツムリ、大豆（*soybean*）（大豆（*soya*））、イカ、イチゴ、ヒマワリ種子、トマト、マグロ、カブ、クルミ、及び小麦（製パン用小麦、パスタ小麦、カムート、スペルト）が挙げられる。

【0279】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、食物アレルギーと関連付けられるアレルゲンに対する免疫寛容の誘導、または食物アレルギーと関連付けられるアレルゲンに対する免疫応答の脱感作を行うために使用される。本明細書で使用される場合、アレルギーの背景における「寛容」及び「免疫寛容」という用語は、アレルギーと関連付けられるアレルゲンなどの1つ以上の刺激に対する免疫応答の低下した応答性または非応答性を指す。特に、寛容または免疫寛容は、持続した時間または長期間にわたる1つ以上の刺激に対する免疫応答の低下した応答性のまたは非応答性を指す。対照的に、アレルギーの背景における「脱感化」という用語は、例えば、脱感作療法の過程で、1つ以上の刺激に対する免疫応答の低下した応答性または非応答性の可逆的状态を指す。

【0280】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、食物アレルギーと関連付けられる免疫応答を調節するために使用される。当業者には明らかとなるように、本明細書に記載の組成物及び方法は、アレルギーと関連付けられる1つ以上の免疫応答（単数または複数）を増強し、アレルギーと関連付けられる1つ以上の他の免疫応答（単数または複数）を低減または抑制し得る。

【0281】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルゲン特異的Treg）の増殖及び／または蓄積が、本組成物を投与する前の対象（または対象の特定の部位）における調節性T細胞の量と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、104倍、105倍、またはそれ以上、増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルゲン特異的Treg）の増殖及び／または蓄積が、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）における調節性T細胞の量と比較して、少なくとも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、104倍、105倍、またはそれ以上、増加する。

【0282】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルゲン特異的Treg）の増殖及び／または蓄積が、本組成物を投与する前の対象（または対象の特定の部位）における調節性T細胞の量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上、増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルゲン特異的Treg）の増殖及び／または蓄積が、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）における調節性T細胞の量と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%

10

20

30

40

50

%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上、増加する。

【0283】

Treg細胞の誘導とそれに対応するアレルギー治療とは複雑に関連している。いくつかの実施形態では、1つ以上のアレルギーの治療において、もう1つのアレルギーの有効性と関連付けられる範囲であるTreg誘導を有することが望ましい。いくつかの実施形態では、特定のアレルギー治療レジメンについて、所望のアレルギー治療効果を誘導するために極めて強いが、望ましくない免疫学的事象をもたらすほど強くはないTreg応答を有することが望ましい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の増殖及び／または蓄積が、本組成物を投与する前の対象（または対象の特定の部位）における調節性T細胞の量と比較して、1%～20%、2%～19%、3%～17%、4%～16%、4%～15%、5%～15%、6%～14%、7%～13%、8%～12%、5%～10%、5%～15%、10%～15%、または8%～15%、増加する。いくつかの実施形態では、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の増殖及び／または蓄積が、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）における調節性T細胞の量と比較して、1%～20%、2%～19%、3%～17%、4%～16%、4%～15%、5%～15%、6%～14%、7%～13%、8%～12%、5%～10%、5%～15%、10%～15%、または8%～15%、増加する。

【0284】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、対象の特定の部位（例えば、胃腸管）での調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の活性が増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の活性が、本組成物を投与する前の対象（例えば、対象の特定の部位）における調節性T細胞の活性と比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、104倍、105倍、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の活性が、組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）における調節性T細胞の活性と比較して、少なくとも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、1000倍、104倍、105倍、またはそれ以上、増加する。

【0285】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の活性が、本組成物を投与する前の対象（または対象の特定の部位）における調節性T細胞の活性と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、またはそれ以上増加する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルギー特異的Treg）の活性が、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）における調節性T細胞の活性と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、9

5 %、100 %、125 %、150 %、またはそれ以上増加する。

【0286】

調節性T細胞（例えば、総Tregまたはアレルゲン特異的Treg）の存在量は、例えば、調節性T細胞（例えば、FoxP3）を示す細胞マーカーを検出すること、調節性T細胞の直接的または間接的な活性を評価すること、及び／または調節性T細胞（例えば、IL-10）によって産生される1つ以上のサイトカインの産生を測定することによって、当該技術分野で既知の任意の方法によって評価することができる。

【0287】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物により、IgE抗体の産生が抑制される。いくつかの実施形態では、本組成物により、対象における総IgE抗体の産生が抑制される。いくつかの実施形態では、本組成物により、アレルギーと関連付けられるアレルゲン、例えば、食物アレルギーと関連付けられる食物アレルゲンに特異的であるIgE抗体（例えば、アレルゲン特異的IgE抗体）の産生が抑制される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルと比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、104分の1、105分の1、またはそれ以下に減少したIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルがもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）におけるIgE抗体のレベルと比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、104分の1、105分の1、またはそれ以下に減少したIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルがもたらされる。

【0288】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルと比較して、少なくとも5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または100 %減少したIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルがもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）におけるIgE抗体のレベルと比較して、少なくとも5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または100 %減少したIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルがもたらされる。

【0289】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルと比較して、30 %～50 %、30 %～45 %、35 %～45 %、30 %～40 %、35 %～40 %、40 %～50 %、40 %～45 %、45 %～50 %減少したIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルがもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）におけるIgE抗体のレベル

と比較して、30%～50%、30%～45%、35%～45%、30%～40%、35%～40%、40%～50%、40%～45%、45%～50%減少したIgE抗体（例えば、総IgE抗体またはアレルゲン特異的IgE抗体）のレベルがもたらされる。

【0290】

アレルゲン特異的IgE抗体の存在及び／または量を含む対象におけるIgE抗体の存在及び／または量は、当該技術分野で既知の方法によって評価することができる。例えば、血液または血漿試料などの試料を対象から得て、例えば、免疫測定法（例えば、放射性アレルゲン吸着試験（RAST）、蛍光アレルゲン吸着剤試験（FAST）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA））による分析に供してもよい（例えば、Fall et al. Methods Mol Biol (2009) 509:107-122を参照されたい）。アレルゲン特異的IgE抗体の存在は、追加的にまたは代替的に、皮膚テスト（例えば、皮膚プリックテスト）を使用して評価してもよい。

【0291】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物により、1つ以上のTh2免疫応答が抑制される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物により、Th2細胞（2型ヘルパーT細胞とも称される）の発生または分化が抑制される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物により、Th2細胞の活性が抑制される。当業者には明らかとなるように、Th2細胞は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、及び／またはIL-13を産生するCD4+細胞の対象であり、IgE抗体応答及び／または好酸球活性の促進に関与し得る。CD4+細胞のTh2細胞への分化は、IL-4及び／またはIL-12の存在と、転写因子であるSTAT6及びGATA3の活性化とによって促進される（例えば、Wan Trends Immunol. (2014) 35(6):233-242、Zhuet al. J. Immunol. (2001) 166:7276-7281を参照されたい）。いくつかの実施形態では、IgE抗体の量は、対象におけるTh2免疫応答のマーカーとして評価されてもよい。

【0292】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるTh2免疫応答と比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、104分の1、105分の1、またはそれ以下に減少したTh2免疫応答のレベルがもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）におけるTh2免疫応答と比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、104分の1、105倍分の1、またはそれ以下に減少したTh2免疫応答がもたらされる。

【0293】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるTh2免疫応答と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%減少したTh2免疫応答のレベルがもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった対象（例えば、参照対象）におけるTh2免疫応答と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%

%、または100%減少したTh2免疫応答のレベルがもたらされる。

【0294】

Th2免疫応答の存在またはレベルは、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して評価され得る。Th2免疫応答の存在またはレベルは、例えば、Th2細胞を示す細胞マーカーを検出することによってなど、対象から得られた試料中のTh2細胞の数を検出及び／もしくは定量化することによって、Th2細胞と関連付けられる転写プロファイルを評価すること、Th2細胞の直接的もしくは間接的な活性を評価すること、及び／またはTh2細胞によって産生される1つ以上のサイトカイン（例えば、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13）の産生を測定することによって、評価されてもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、対象におけるアレルギー（例えば、食物アレルギー）と関連付けられる免疫応答を調節する健康な微生物叢がもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、対象におけるアレルギー（例えば、食物アレルギー）と関連付けられる免疫応答を調節する健康な微生物叢がもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、対象における調節性T細胞の蓄積及び／または増殖を誘導する健康な微生物叢がもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、対象におけるIgE抗体の産生を抑制する健康な微生物叢がもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物の投与により、対象におけるTh2免疫応答を抑制する健康な微生物叢がもたらされる。

【0295】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、1つ以上のマスト細胞機能を抑制する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、マスト細胞の脱顆粒を抑制する。当業者には明らかとなるように、マスト細胞は、細胞の細胞質中にヒスタミン、ヘパリン、サイトカイン、コンドロイチン硫酸、及び中性プロテアーゼを含有する顆粒の存在を特徴とする。マスト細胞は、血管拡張、血管恒常性、自然免疫応答及び獲得免疫応答、血管新生、ならびに毒物解毒などのさまざまな生理学的機能の調節に関与し、また多くの疾患の病態生理学において役割を果たすと考えられる（例えば、Krystel-Whittemore et al. Front. Immunol. (2015) 6:620を参照されたい）。いくつかの実施形態では、マスト細胞は粘膜マスト細胞である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるマスト細胞機能のレベル及び／またはマスト細胞脱顆粒と比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、10⁴分の1、10⁵分の1、またはそれ以下に減少したマスト細胞機能のレベル及び／またはマスト細胞脱顆粒のレベルがもたらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）におけるマスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒と比較して、少なくとも1.5分の1、2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1、20分の1、30分の1、40分の1、50分の1、100分の1、1000分の1、10⁴分の1、10⁵分の1、またはそれ以下に減少したマスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒がもたらされる。

【0296】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を投与する前の対象（またはその試料）におけるマスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%減少した、マスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒のレベルがも

たらされる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物の投与により、本組成物を受けなかった別の対象（例えば、参照対象）におけるマスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒と比較して、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%減少した、マスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒がもたらされる。

【0297】

マスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒の存在またはレベルは、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して評価され得る。マスト細胞機能及び／またはマスト細胞脱顆粒の存在またはレベルは、例えば、マスト細胞を示す細胞マーカを検出することによってなど、対象から得られた試料中のマスト細胞の数を検出及び／または定量化すること、マスト細胞の脱顆粒（例えば、ヒスタミン、ヘパリンなどの放出）、マスト細胞の活性化（例えば、抗原／IgE／FcεRI架橋を介した）を評価することによって、評価され得る。

【0298】

本開示の態様はまた、本明細書に提供される組成物のうちのいずれかと栄養素を含む食品を提供する。また、本明細書に記載の細菌株のうちのいずれかと栄養素を含む食品も、本開示の範囲内である。食品は、概して、ヒトまたは動物の消費を意図する。本明細書に記載の組成物のうちのいずれも、食品として配合され得る。いくつかの実施形態では、本細菌株は、孢子型の食品として配合される。いくつかの実施形態では、本細菌株は、栄養型の食品として配合される。いくつかの実施形態では、食品は、栄養型細菌と孢子型細菌との両方を含む。本明細書に開示の組成物は、健康食品もしくは飲料、乳児用の食品もしくは飲料、妊婦、運動選手、高齢者、もしくは他の特定集団用の食品もしくは飲料、機能性食品、飲料、特定保健用の食品もしくは飲料、栄養補助食品、患者用の食品もしくは飲料、または動物飼料などの食品または飲料に使用することができる。

【0299】

食品及び飲料の非限定的な例には、ジュース、清涼飲料、茶飲料、飲料調製物、ゼリー飲料、及び機能性飲料などのさまざまな飲料、ビールなどのアルコール飲料、米食品、麺類、パン、及びパスタなどの炭水化物含有食品、魚肉ハム、ソーセージ、海産物練製品などの練製品、カレー、濃厚なデンプン質のソースがかかった食べ物、スープなどのレトルトパウチ製品、牛乳、乳飲料、アイスクリーム、チーズ、及びヨーグルトなどの乳製品、発酵大豆ペースト、ヨーグルト、発酵飲料、及び漬物などの発酵製品、豆製品、ビスケット、クッキーなどを含む洋菓子製品、餡饅頭、水羊羹などを含む和菓子製品、キャンディー、チューインガム、グミ、ゼリー、プリン、冷凍菓子を含む冷菓などのさまざまな菓子製品、インスタントスープ及びインスタント味噌汁などのインスタント食品、電子レンジで調理可能な食品、ならびに同様のものが挙げられる。さらに、例には、粉末、顆粒、錠剤、カプセル、液体、ペースト、及びゼリーの形態で調製された健康食品及び飲料も含まれる。

【0300】

本明細書に記載の細菌株を含む食品は、当該技術分野で既知の方法を使用して製造されてもよく、本明細書に提供される医薬組成物と同じ量の細菌（例えば、重量、量、またはCFUによる）を含んでもよい。食品中の細菌の適切な量の選択は、さまざまな要因に依存してもよく、これらの要因には、例えば、食品の1食分量、食品の消費頻度、食品に含まれる特定の細菌株、食品中の水分量、及び／または食品中で細菌が生存するための追加の条件が含まれる。

【0301】

本明細書に記載の細菌株のうちのいずれかを含むように配合されてもよい食品の例には、飲料（beverage）、飲み物（drink）、バー、スナック、乳製品、菓子製

10

20

30

40

50

品、シリアル製品、すぐに食べられる製品、栄養補助製剤、食品または飲料添加物などの栄養調配合が含まれるが、これらに限定されない。

【0302】

本開示の態様は、本明細書に記載の方法のうちのいずれかに従って本医薬組成物のうちのいずれかを投与することを含む、一次胆汁酸のレベルの増加及び／または二次胆汁酸のレベルの減少を特徴とする疾患を治療する方法に関する。

【0303】

本開示の態様はまた、本明細書に記載の細菌株または医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、一次胆汁酸を減少させるための方法を提供する。本開示のいくつかの態様はまた、本明細書に記載の細菌株または医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、二次胆汁酸を増加させるための方法を提供する。本開示のいくつかの態様はまた、本明細書に記載の細菌株または医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、短鎖脂肪酸を増加させるための方法を提供する。いくつかの実施形態では、対象は、*Clostridium difficile* 感染 (CDI) を有する。いくつかの実施形態では、CDI は再発性 (rCDI) である。rCDI は、同じ対象で 1 回超発生する CDI であり、対象の胃腸内微生物叢における短鎖脂肪酸 (SCFA) の減少、一次胆汁酸の増加、及び二次胆汁酸の減少と関連付けられる。

【0304】

胆汁酸は、油脂をミセルに変える界面活性剤として作用することにより、食物油脂の消化を可能にするステロイド酸である。胆汁酸は、ファルネソイド X 受容体及び GBRAR1 を利用するホルモンとしても作用する。一次胆汁酸は、肝臓でコレステロールから合成され、分泌前にタウリンまたはグリシンのいずれかと複合体化する。一次胆汁酸が腸管腔に分泌されると、細菌は部分的に脱ヒドロキシル化してグリシンまたはタウリン基を除去し、二次胆汁酸を形成する。

【0305】

一次胆汁酸の非限定的な例は、コール酸 (CA)、ケノデオキシコール酸 (CDCA)、グリココール酸 (GCA)、グリコケノデオキシコール酸 (GCDCA)、グリコデオキシコール酸 (GDCa)、タウロコール酸 (TCA)、及びツロケノデオキシコール酸 (TCDCA) である。二次胆汁酸の非限定的な例は、デオキシコール酸 (DCA)、リトコール酸 (LCA)、ウルソデオキシコール酸 (UDCA)、タウロデオキシコール酸 (TDCA)、タウロリトコール酸 (TLCA)、及びタウロウルソデオキシコール酸 (TUDCA) である。

【0306】

二次胆汁酸の非限定的な例には、リトコール酸 (LCA)、デオキシコール酸 (DCA)、ウルソデオキシコール酸、グリコリトコール酸、グリコデオキシコール酸、グリコウルソデオキシコール酸、12-デヒドロコール酸、7-ケートデオキシコール酸、7-デヒドロケノデオキシコール酸、3-デヒドロコール酸、3-デヒドロケノデオキシコール酸、イソコール酸、イソケノデオキシコール酸、アロリトコール酸、アロデオキシコール酸、ウルソコール酸、ヒオデオキシコール酸、イソケノデオキシコール酸、ビトコール酸、タウロリトコール酸、タウロデオキシコール酸、タウロウルソデオキシコール酸、及びタウロコール酸が挙げられる。

【0307】

Clostridium difficile 感染及び rCDI は、一次胆汁酸の増加及び二次胆汁酸の減少と関連付けられる。糞便物質移植 (FMT) 後は、一次胆汁酸が減少し、二次胆汁酸が増加する (Seekatz, et al., 2018)。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の細菌株または医薬組成物の投与により、一次胆汁酸が減少し、及び／または二次胆汁酸が増加する。

【0308】

いくつかの実施形態では、一次胆汁酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、10 分の 1 ~ 100,000 分の 1 に低下する。いくつかの実施形態では、一次胆汁

10

20

30

40

50

酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、10分の1～1,000分の1に低下する。いくつかの実施形態では、一次胆汁酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、2分の1～10,000分の1に低下する。いくつかの実施形態では、一次胆汁酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、2分の1、5分の1、10分の1、100分の1、200分の1、300分の1、400分の1、500分の1、600分の1、700分の1、800分の1、900分の1、1,000分の1、10,000分の1、20,000分の1、30,000分の1、40,000分の1、50,000分の1、60,000分の1、70,000分の1、80,000分の1、90,000分の1、または100,000分の1に低下する。

【0309】

いくつかの実施形態では、二次胆汁酸塩のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、10倍～10,000倍に上昇する。いくつかの実施形態では、二次胆汁酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、10倍～1,000倍に上昇する。いくつかの実施形態では、二次胆汁酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、2倍～100倍に上昇する。いくつかの実施形態では、二次胆汁酸のレベルは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、2倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1,000倍、2,000倍、3,000倍、4,000倍、5,000倍、6,000倍、7,000倍、8,000倍、9,000倍、または1,000倍に上昇する。

【0310】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、一次胆汁酸のレベルの上昇及び／または二次胆汁酸のレベルの低下を特徴とする、またはそれと関連付けられる疾患の治療のためのものである。いくつかの実施形態では、一次胆汁酸のレベルの上昇及び／または二次胆汁酸のレベルの低下と関連付けられる疾患は、一次胆汁酸のレベルを低下させること、及び／または二次胆汁酸のレベルを上昇させることによって治療されてもよい。いくつかの実施形態では、疾患は、心血管疾患、代謝性疾患、自己免疫疾患、消化器疾患、肝疾患、がん、感染症、中枢神経系の疾患、または骨疾患である。このような疾患の例には、高コレステロール血症、糖尿病性脂質異常症、高血圧症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞症、急性冠症候群、狭心症、鬱血性心不全、大動脈瘤、大動脈解離、腸骨または大腿動脈瘤、肺塞栓症、原発性高血圧症、心房細動、脳卒中、一過性脳虚血発作、収縮機能障害、拡張機能障害、心筋炎、心房性頻脈、心室細動、心内膜炎、動脈症、血管炎、アテローム動脈硬化性プラーク、1不安定プラーク、急性冠症候群、急性虚血性発作、心臓突然死、末梢血管疾患、冠状動脈疾患（C a d）、末梢動脈疾患（P a d）、脳血管疾患、糖尿病（1型、2型糖尿病及び若年発症成人型糖尿病（M O D Y）を含む）、肥満、体重増加、胆石、高トリグリセリド血症、高脂肪酸血症、高インスリン血症、多発性硬化症、実験的自己免疫性脳脊髄炎（E A E）、炎症性腸疾患（I B D）、過敏性腸症候群関連の便秘、過敏性腸症候群関連の下痢、肝硬変、非アルコール性脂肪性肝炎（N A S H）、進行性家族性肝内胆汁鬱滞症2型（P F I C 2）、非アルコール性脂肪性肝疾患（N A F L D）、胆汁鬱滞、胃腸癌、肝細胞癌、結腸癌、バンコマイシン耐性腸球菌（V R E）感染またはコロニー形成、サルモネラ感染、シトロバクター感染、アルツハイマー病、パーキンソン病、骨減少症、及び骨粗鬆症が挙げられるが、これらに限定されない。

【0311】

本明細書に記載のいくつかの態様の組成物及び方法により、短鎖脂肪酸の産生（例えば、対象の胃腸管におけるもの）が増加する。いくつかの実施形態では、本方法には、短鎖脂肪酸を産生する細菌株を含む1つ以上の組成物を対象に投与することが伴う。S C F Aは、健康な対象（例えば、病原性微生物感染を有しない対象）に豊富に存在し、病原性微生物感染（例えば、C l o s t r i d i u m d i f f i c i l e感染及びr C D I）を有する対象において減少する。糞便物質移植（F M T）により、r C D I後のS C F Aが増加することが示されている（S e e k a t z , e t a l . , 2 0 1 8）。

【0312】

消化管で産生されるSCFAは、腸内微生物叢と宿主生物との間のシグナル伝達分子として機能すると考えられており、このSCFAは、宿主の局所代謝、中間代謝、及び末梢代謝において役割を果たす。例えば、Morrisson, et al. Gut Microbes (2016) 7 (3) : 189-200を参照されたい。いくつかの実施形態では、損傷した腸内粘膜バリアは、SCFAをもたらすことによって修復することができる。

【0313】

短鎖脂肪酸 (SCFA) は、6個以下の炭素原子を含有する脂肪酸である。これらは、食物繊維が腸で発酵されるときに産生される。これらは、脂質消化後に門脈において主に吸収される。SCFAは、脂質、エネルギー、及びビタミンの産生に影響を与えるだけでなく、Clostridium difficile感染を防止するために腸上皮細胞膜の完全性を維持することにおいて重要な役割を果たし得る。

【0314】

SCFAの例には、ギ酸、酢酸、酪酸、イソ酪酸、吉草酸、またはイソ吉草酸が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、SCFAは酪酸 (酪酸塩) である。

【0315】

SCFAは、健康な対象 (例えば、Clostridium difficile感染を有しない対象) に豊富に存在し、Clostridium difficile感染及びrCDIを有する対象において減少する。糞便物質移植 (FMT) により、rCDI後のSCFAが増加する (Seekatz, et al., 2018)。

【0316】

いくつかの実施形態では、SCFAは、本明細書に記載の細菌株または医薬組成物の投与後に、10倍〜500倍増加する。いくつかの実施形態では、SCFAは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、2倍〜250倍増加する。いくつかの実施形態では、SCFAは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、100倍〜500倍増加する。いくつかの実施形態では、SCFAは、本細菌株または医薬組成物の投与後に、2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、200倍、300倍、400倍、または500倍増加する。

【0317】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、SCFAのレベルの低下を特徴とする、またはそれと関連付けられる疾患の治療のためのものである。いくつかの実施形態では、SCFAのレベルの低下と関連付けられる疾患は、SCFAのレベルを上昇させることにより、例えば、対象の胃腸管におけるSCFAの産生を増加させることにより、治療されてもよい。いくつかの実施形態では、疾患は、心血管疾患、代謝性疾患、高血圧、肥満、1型糖尿病、2型糖尿病、過敏性腸疾患、過敏性腸症候群、結腸癌、アレルギー性喘息、大腸炎、関節炎、気管支炎、慢性腎臓疾患、末期腎疾患、前立腺肥大症、老化、鬱病、不安神経症、移植片対宿主病、食物アレルギー、結腸直腸癌である。

【0318】

本開示の態様は、移植片対宿主病 (GVHD) を治療するための組成物及び方法を提供し、本方法は、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかを、例えば、GVHDを有する、有することが疑われる、または有するリスクがある対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法には、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの治療有効量を投与して、対象の微生物叢に定着させることを伴う。

【0319】

一般に、対象は、移植、例えば、骨髄移植、幹細胞移植を受けた後に、GVHDを経験するか、または経験するリスクがあり得る。GVHDは、ドナーからの細胞が移植レシピエントの組織適合性抗原を異物として認識することで、対象の組織を標的としたT細胞活性化及びサイトカイン産生を含む炎症応答が生じ、多臓器不全及び破壊を引き起こし得る場合に生じ得る。

【0320】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のうちのいずれかの治療有効量は、GvHDの1つ以上の症状が改善されるように（例えば、投与前の1つ以上の症状と比較して）、GvHDを有するまたは有すると疑われる対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物のいずれかの治療有効量は、対象が1つ以上GvHDの症状を経験しない、または対象が1つ以上GvHDの症状をより軽度を経験する（例えば、本組成物を受けない対象と比較して）ように、GvHDを有するリスクのある対象（例えば、最近移植を受けた、またはこれから移植を受ける対象）に投与される。

【0321】

また、対象の微生物叢における細菌組成物の1つ以上の細菌株の定着を評価するための方法が本明細書に提供され、本方法は、核酸を対象の微生物叢の試料から単離することと、本細菌組成物の各少なくとも1つの細菌株の存在を、本医薬組成物の細菌株に対するゲノムマーカを検出することにより決定することと、を含む。いくつかの実施形態では、例えば腸内毒素症誘発事象後の、対象の微生物叢の回復または復元を評価するための方法が、本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、細菌株に対するゲノムマーカが存在する場合、微生物叢に細菌株が定着している。いくつかの実施形態では、細菌株に対するゲノムマーカが存在しない場合、微生物叢に細菌株が定着していない。いくつかの実施形態では、存在しない細菌株に対するゲノムマーカは、対象が細菌組成物の1回以上のさらなる用量を投与されるべきであることを示す。

【0322】

いくつかの実施形態では、1つの細菌株のゲノムマーカの検出は、本細菌組成物の細菌株の各々の存在の代用として使用される。

【0323】

対象の微生物叢における細菌組成物の1つ以上の細菌株の定着を評価するための方法が本明細書に提供され、本方法は、核酸を対象の微生物叢の試料から単離することと、単離された核酸を配列決定して、単離された核酸の複数のヌクレオチド配列を取得することと、複数のヌクレオチド配列を細菌組成物の各細菌株に対する複数のゲノムマーカと比較することにより、本細菌組成物の各細菌株の存在を決定することと、を含み、細菌株に対するゲノムマーカが複数のヌクレオチド配列に存在する場合、微生物叢に細菌株が定着している。

【0324】

対象の微生物叢における細菌組成物の1つ以上の細菌株の定着を評価するための方法が本明細書に提供され、本方法は、核酸を対象の微生物叢の試料から単離することと、単離された核酸中の細菌株の1つ以上のヌクレオチド配列を増幅することと、細菌組成物の各細菌株の存在を、単離された核酸中の細菌株に対するゲノムマーカのヌクレオチド配列を増幅することによって決定することと、を含み、細菌株に対するゲノムマーカが複数のヌクレオチド配列に存在する場合、微生物叢に細菌株が定着している。

【0325】

いくつかの実施形態では、本細菌組成物の細菌株のうちの1つ以上は、対象の胃腸管またはその一部（例えば、結腸または盲腸）の微生物叢に定着する。このような定着はまた、移植または生着と称されてもよい。本明細書に記載の方法により、微生物叢内の本細菌組成物の各細菌株の存在を決定できるようになり、これにより、本細菌株が微生物叢に定着したかどうかを示される。

【0326】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、細菌株の混合物を含む細菌組成物と共に使用するための併用診断法として使用されてもよい。例えば、本明細書に記載のものは、細菌組成物の1回以上（例えば、1回、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上）の追加用量を必要とする対象を特定するために使用されてもよい。いくつかの実施形態では、本細菌組成物のうちの1つ以上の細菌株が複数のヌクレオチド配列に存在する場合、本方法は、本細菌組成物の1回以上の追加用量を対象に投与することをさらに含む。

【0327】

いくつかの実施形態では、対象は、細菌組成物の1回以上の用量を以前に投与されており、本方法には、対象が本細菌組成物の1回以上の追加用量を必要としているかどうかを決定することが伴う。

【0328】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、以前に細菌組成物の1回以上の用量の細菌組成物を投与された対象からの微生物叢を含む試料を収集することを含む。試料は、本細菌組成物からの細菌株を含み得るいずれの生物学的試料であってもよい。いくつかの実施形態では、試料は、糞便試料、尿試料、血液試料、血清試料、血漿試料、リンパ試料、スワブ試料、喀痰試料、吸引試料、唾液試料、洗浄試料、擦過試料、及び生検試料である。いくつかの実施形態では、試料は糞便試料である。

10

【0329】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の細菌組成物は、細菌株が対象の胃腸管に生着し得るように、対象に投与される。したがって、いくつかの実施形態では、対象の胃腸管の生物学的試料を収集及び分析することにより、本組成物の細菌株のうちの1つ以上が胃腸管に生着したかどうかを示されてもよい。いくつかの実施形態では、試料は、対象の胃腸管またはその領域（例えば、小腸、結腸）を表す試料である。いくつかの実施形態では、試料の微生物叢は、対象の胃腸管またはその領域（例えば、小腸、結腸）の微生物叢を表す。

【0330】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、対象から収集された試料からの対象の微生物及び／または細胞（例えば、宿主細胞）の除去を含む。微生物には、細菌、酵母、原生動物、及びウイルスが含まれる。微生物は、選択的溶解、遠心分離、サイズに基づく排除、ならびに対象の微生物または細胞（例えば、宿主細胞）の特異的な結合及び除去を含むがこれらに限定されない、当該技術分野で既知の任意の方法によって除去されてもよい。

20

【0331】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、核酸を試料から単離する前に試料中の細胞を溶解することを含む。細胞を溶解する方法は、当業者には明らかとなり、試料中に存在する細胞のタイプまたは溶解が所望される細胞のタイプに依存してもよい。細胞溶解の例には、細胞を、陰イオン洗剤、陽イオン洗剤、非イオン洗剤、塩化グアニジニウム（guanadinium）、尿素、アルコール、エーテル、クロロホルムと接触させること、超音波処理、凍結解凍サイクル、電気泳動、加圧型細胞破壊装置、手による粉碎、及び押出が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0332】

いくつかの実施形態では、特定の核酸または核酸のタイプは、DNA配列決定または選択的増幅の前に、溶解された細胞から除去される。いくつかの実施形態では、RNAは、試料から選択的に除去される。RNAは、RNAse（RNAse A、RNAse Hなど）の添加、遠心分離、及び沈降を含むがこれらに限定されない、当該技術分野で既知の任意の方法によって、溶解された細胞から除去されてもよい。いくつかの実施形態では、DNAが試料から選択的に除去される。DNAは、DNAseの添加、遠心分離、及び沈降を含むがこれらに限定されない、当該技術分野で既知の任意の方法によって溶解された細胞から除去されてもよい。

40

【0333】

いくつかの実施形態では、微生物叢の試料から単離された核酸の配列決定には、DNA配列決定が含まれる。DNA配列決定の方法は当業者には明らかとなる。いくつかの実施形態では、DNA配列決定は、ハイスループットDNA配列決定を使用して行われる。いくつかの実施形態では、DNA配列決定は、例えば、表面（例えば、フローセル）に固定化されたDNAと蛍光標識された可逆的ヌクレオチドターミネーターとを使用する合成による配列決定によって行われる。いくつかの実施形態では、DNA配列決定は、Illumina

50

mina（登録商標）のMiSeq、iSeq、MiniSeq、NextSeq、またはHiSeqプラットフォームを使用して行われる。いくつかの実施形態では、DNA配列決定は、ナノ細孔を通してDNAを移行させ、「ナノ細孔配列決定」と称されるナノ細孔を通るイオン流を検出することによって行われる。いくつかの実施形態では、DNA配列決定は、Oxford Nanopore TechnologiesのSmidgION、Flongle、PromethION、GridIONx5、またはMinIONプラットフォームを使用して行われる。

【0334】

いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーが試料から配列決定された複数のヌクレオチド配列において検出される場合、細菌株の1つ以上のゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、細菌株と関連付けられる1つ以上のゲノムマーカーが試料から配列決定された複数のヌクレオチド配列において検出される場合、細菌株が試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、細菌株と関連付けられるゲノムマーカーの存在量が、試料から配列決定された複数のヌクレオチド配列の特定のパーセンテージよりも大きい場合、細菌株の1つ以上のゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、細菌株と関連付けられるゲノムマーカーの存在量が、試料から配列決定された複数のヌクレオチド配列の0.0001%、0.0005%、0.001%、0.005%、0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、1.0%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4.0%、4.5%、または5%よりも大きい場合、細菌株の1つ以上のゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。

【0335】

本明細書で使用される場合、「ゲノムマーカー」という用語は、標的細菌株と関連付けられ、それによりゲノムマーカーの検出が標的細菌株の存在を示す配列を指す。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、所与のゲノムに固有である（例えば、標的細菌株のゲノムには存在するが、他の非標的細菌株または宿主ゲノムのゲノムには存在しない）。標的ゲノムマーカーは、所与のゲノム（例えば、細菌株16S rDNA）に対するゲノムマーカーである。

【0336】

いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、約50ヌクレオチド～約900ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、標的増幅されたDNA片は、約500ヌクレオチド～約1000ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、標的増幅されたDNA片は、約50ヌクレオチド、100ヌクレオチド、150ヌクレオチド、200ヌクレオチド、250ヌクレオチド、300ヌクレオチド、350ヌクレオチド、400ヌクレオチド、450ヌクレオチド、500ヌクレオチド、550ヌクレオチド、600ヌクレオチド、650ヌクレオチド、700ヌクレオチド、750ヌクレオチド、800ヌクレオチド、850ヌクレオチド、900ヌクレオチド、1000ヌクレオチド、1050ヌクレオチド、1100ヌクレオチド、1150ヌクレオチド、または1200ヌクレオチドである。

【0337】

いくつかの実施形態では、細菌株の複数のゲノムマーカーのうちの1つ以上のゲノムマーカーの存在により、細菌株が微生物叢に定着したことが示される。いくつかの実施形態では、複数のゲノムマーカーは、細菌組成物の各細菌株について、200～1000個のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーの各々は、健康な微生物叢には概して存在しないヌクレオチド配列である。いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーの各々は、細菌組成物の他の細菌株を含む他の微生物のゲノムには存在しないヌクレオチド配列である。したがって、いくつかの実施形態では、細菌株のゲノムマーカーの存在により、特定の細菌株の存在が一意に識別される。いくつかの実施形態では、複数のゲノムマーカーの各ゲノムマーカーは、25～75個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、複数のゲノムマーカーの各ゲノムマーカーは、約25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、4

0、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、72、73、74、または75個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、複数のゲノムマーカーの各ゲノムマーカーは、約50個のヌクレオチドを含む。

【0338】

いくつかの実施形態では、本細菌組成物からの1つ以上の細菌株の定着は、本細菌株のうちの1つ以上に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を選択的に増幅することによって、対象において評価される。本明細書で使用される場合、「選択的に増幅させる」という用語は、単離された核酸中の細菌株のうちの少なくとも1つに対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することを指す。いくつかの実施形態では、選択的増幅には、標的細菌株と関連付けられる単離された核酸の領域にハイブリダイズ（結合）する1つ以上のDNAプライマー（例えば、DNAプライマーの対）を提供することが伴う。いくつかの実施形態では、DNAプライマーの対は、単離された核酸中の1つ以上の細菌株からのゲノムマーカーを増幅するために使用される。選択的増幅は、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）、及びポリメラーゼ連鎖反応（PCR）が含まれるがこれらに限定されない当該技術分野で既知のいずれの方法によってもよい。

【0339】

いくつかの実施形態では、単離された核酸中の細菌株の1つ以上のヌクレオチド配列を選択的に増幅することには、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）を行うことが伴う。いくつかの実施形態では、qPCRは、細菌組成物の細菌株に対するゲノムマーカーに特異的にハイブリダイズし、それによってゲノムマーカーまたはその一部を増幅するDNAプライマーの対を含む。いくつかの実施形態では、本方法には、細菌株のゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅するためのプライマー（例えば、qPCRプライマー）の対を選択することがさらに伴う。

【0340】

いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、qPCR反応を行うために必要なすべての成分を含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、単離されたDNA、順方向プライマー及び逆方向プライマーの対、DNAプローブ、酵素（例えば、ポリメラーゼ）、デオキシリボヌクレオチド三リン酸の混合物（例えば、dCTP、dATP、dTTP、dGTP）、1つ以上の緩衝液、ならびに水を含有する。

【0341】

いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、約10%の単離されたDNAを含有する。「単離されたDNA」及び「抽出されたDNA」という用語は、本明細書では交換可能であることを理解されたい。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、少なくとも5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、49%、または50%の単離されたDNAを含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、10%の単離されたDNAを含有する。

【0342】

qPCR反応は、標的細菌株に対するゲノムマーカーにハイブリダイズ（結合）してそれを選択的に増幅する順方向プライマー及び逆方向プライマーを含有する。順方向プライマー及び逆方向プライマーの配列は、所与の細菌株（例えば、本細菌組成物のもの）に対するゲノムマーカーを特異的に認識するように設計されてもよい。順方向プライマーの配列及び逆方向プライマーの配列は、所与の細菌株（例えば、本細菌組成物のもの）に対するゲノムマーカーを優先的に（例えば、プライマー対が1つ以上の他の配列を認識するよりも良好に）認識するように設計されてもよい。順方向プライマー及び逆方向プライマー

10

20

30

40

50

の配列の組成及び長さは、標的ゲノムマーカに結合してそれを選択的に増幅するように設計される。いくつかの実施形態では、qPCR反応は、2つ以上対のプライマーを含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応は、少なくとも1対、少なくとも2対、少なくとも3対、少なくとも4対、少なくとも5対、少なくとも6対、少なくとも7対、または少なくとも8対のqPCRプライマーを含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応は、少なくとも8対のqPCRプライマーを含有する。

【0343】

特定の理論に束縛されることを望むものではないが、概して、より長いqPCRプライマー（例えば、25ヌクレオチド超）は、短いqPCRプライマー（例えば、25ヌクレオチド未満）と比較して、標的ゲノムマーカに対してより優れた結合特異性を有し得ると考えられる。しかしながら、より長いqPCRプライマー（例えば、25ヌクレオチド超）は、二次構造の形成に起因して、より短いqPCRプライマーと比較して標的ゲノムマーカの増幅が少ないことがある。

【0344】

いくつかの実施形態では、順方向プライマーは、25～45ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、順方向プライマーは、10～35ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、順方向プライマーは、15～40ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、順方向プライマーは、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、逆方向プライマーは、25～45ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、逆方向プライマーは、10～35ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、逆方向プライマーは、15～40ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、逆方向プライマーは、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50ヌクレオチド長である。順方向プライマーと逆方向プライマーとは、同じ長さである必要はない。いくつかの実施形態では、順方向プライマーと逆方向プライマーとは、同じ長さである。

【0345】

概して、プライマー対のプライマーは、単離された核酸中の標的ゲノムマーカにハイブリダイズし、それらを選択的に増幅するために、標的ゲノムマーカに対して100%相補的ではないことがある。いくつかの実施形態では、順方向プライマーは、標的ゲノムマーカの領域に対して100%相補的である。いくつかの実施形態では、逆方向プライマーは、標的ゲノムマーカの領域に対して100%相補的である。いくつかの実施形態では、順方向プライマーは、標的ゲノムマーカの領域に対して、少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または99.9%相補的である。いくつかの実施形態では、逆方向プライマーは、標的ゲノムマーカの領域に対して、少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または99.9%相補的である。いくつかの実施形態では、順方向プライマー及び逆方向プライマーは、ゲノムマーカがqPCR反応において増幅されるように、標的ゲノムマーカの領域に十分に相補的である。

【0346】

いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、約3%のプライマーDNAを含有する。プライマーDNAは、順方向プライマー及び／または逆方向プライマーを含んでもよ

10

20

30

40

50

い。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、少なくとも2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、または20%のプライマーDNAを含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、3%のプライマーDNAを含有する。

【0347】

いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、DNAプローブを含有する。DNAプローブは、標的ゲノムマーカー上の配列に相補的である一本鎖DNA分子である。qPCR反応において増幅されたゲノムマーカーにDNAプローブが結合すると、qPCR反応に存在する細菌ゲノムマーカーを定量するために使用することができる測定可能なシグナルが生成される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは蛍光分子（例えば、フルオロフォア）を含有し、測定可能なシグナルは蛍光である。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、約2%のDNAプローブを含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、または20%のDNAプローブを含有する。いくつかの実施形態では、qPCR反応混合物は、2%のDNAプローブを含有する。

【0348】

いくつかの実施形態では、DNAプローブは、標的ゲノムマーカーの領域に対して100%相補的である。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、標的ゲノムマーカーの領域に対して、少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または99.9%相補的である。

【0349】

いくつかの実施形態では、DNAプローブは、フルオロフォア及びクエンチャーを含有し、フルオロフォアは、特定の波長の光で検出され得る蛍光シグナルを産生し、クエンチャーは、この蛍光シグナルを減退させる。いくつかの実施形態では、クエンチャーは、フルオロフォアによって産生されたエネルギー（例えば、蛍光）を吸収し、エネルギーを別の形態（例えば、熱）に変換することによって蛍光シグナルを減退させる。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、2つ以上クエンチャーを含有する。DNAプローブに2つ以上クエンチャーが存在すると、蛍光シグナルが非標的の増幅されたDNAで検出される可能性が低下するため、qPCR反応での偽陽性の数が減少し得る。

【0350】

いくつかの実施形態では、DNAプローブは、1つのフルオロフォア及び1つのクエンチャーを含有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、1つのフルオロフォア及び2つのクエンチャーを含有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、1つのフルオロフォア、及び2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10個のクエンチャーを含有する。

【0351】

いくつかの実施形態では、フルオロフォアはDNAプローブの5'末端に存在し、1つのクエンチャーはDNAプローブの3'末端に存在する。いくつかの実施形態では、フルオロフォアはDNAプローブの3'末端に存在し、1つのクエンチャーはDNAプローブの5'末端に存在する。いくつかの実施形態では、フルオロフォアはDNAプローブの5'末端に存在し、1つのクエンチャーはDNAプローブの3'末端に存在し、少なくとも1つのクエンチャーはDNAプローブの内部（例えば、5'末端でも3'末端でもないところ）にある。いくつかの実施形態では、フルオロフォアはDNAプローブの3'末端に存在し、1つのクエンチャーは、DNAプローブの5'末端に存在し、少なくとも1つのクエンチャーはDNAプローブの内部（例えば、5'末端でも3'末端でもないところ）にある。

【0352】

フルオロフォアは、当該技術分野で既知のいずれのフルオロフォアであってもよい。フ

フルオロフォアの選択は、例えば、フルオロフォアの励起及び発光波長、ならびにフルオロフォアをDNAプローブに組み込むために必要な化学修飾に基づいてもよい。本開示のDNAプローブに存在し得るフルオロフォアの非限定的な例には、フルオレセイン (FAM)、フルオレセイン dT、シアニン3 (Cy3 (商標))、TAMRA (商標)、6-カルボキシ-4', 5'-ジクロロ-2', 7'-ジメトキシフルオレセイン、JOE、シアニン5 (Cy5 (商標))、MAX、テトラクロロフルオレセイン (TET (商標))、シアニン5.5 (Cy5.5 (商標))、カルボキシ-X-ローダミン (ROX)、TYE (商標) 563、Yakima Yellow (登録商標)、ヘキサクロロフルオレセイン (HEX)、TEX 615、TYE (商標) 665、TYE 705、Alexa Fluor (登録商標) 488、Alexa Fluor (登録商標) 532、Alexa Fluor (登録商標) 546、Alexa Fluor (登録商標) 594、Alexa Fluor (登録商標) 647、Alexa Fluor (登録商標) 660、Alexa Fluor (登録商標) 750、IRDye (登録商標) 700、IRDye (登録商標) 800、IRDye (登録商標) 800 CW、ATTO (商標) 488、ATTO (商標) 532、ATTO (商標) 550、ATTO (商標) 565、ATTO (商標) Rhod101、ATTO (商標) 590、ATTO (商標) 633、ATTO (商標) 674N、Rhodamine Green (商標)-X、Rhodamine Red (商標)-X、WellRED D4、WellRED D3、WellRED D2、Texas Red (登録商標)-X、Lightcycler (登録商標) 640、及びDy750が挙げられる。いくつかの実施形態では、フルオロフォアはFAMである。

【0353】

クエンチャー (単数または複数) は、当該技術分野で既知のいずれのクエンチャー (単数または複数) であってもよい。1つ以上のクエンチャーの選択は、例えば、クエンチャーがクエンチしているフルオロフォアの励起及び発光波長、ならびにクエンチャーをDNAプローブに組み込むために必要な化学修飾に基づいてもよい。いくつかの実施形態では、2つ以上クエンチャーがDNAプローブに存在する場合、クエンチャーは異なる。いくつかの実施形態では、2つ以上クエンチャーがDNAプローブに存在する場合、クエンチャーは同じである本開示のDNAプローブに存在し得るクエンチャーの非限定的な例には、ZEN (商標)、TAO (商標)、Iowa Black (商標)、Iowa Black FQ (商標) (IABKFQ)、Eclipse Dark Quencher、IQ4、Black Hole Quencher 1、Black Hole Quencher 2、及びBlack Hole Quencher 3が挙げられる。いくつかの実施形態では、3' クエンチャーはIowa Black FQ (商標) である。いくつかの実施形態では、内部クエンチャーはZEN (商標) である。いくつかの実施形態では、3' クエンチャーはIowa Black FQ (商標) であり、内部クエンチャーはZEN (商標) である。

【0354】

概して、qPCR反応には、変性ステップ、順方向プライマー及び逆方向プライマーが標的ゲノムマーカの領域にハイブリダイズ (結合) することを可能にするアニーリングステップ、それに続く酵素 (例えば、ポリメラーゼ) がDNAの相補鎖を合成することを可能にする増幅/伸長ステップを含んでもよいサイクルが伴う。いくつかの実施形態では、アニーリングステップ及び増幅/伸長ステップは、単一のステップとして (例えば、1つの温度で) 行われる。アニーリングステップの長さ及び温度は、例えば、プライマー対及び標的ゲノムマーカの長さ及び配列組成によって決定される。いくつかの実施形態では、60塩基対を超えるプライマー配列及び/またはアデニン-チミン塩基対の濃度が高い (例えば、50%超) を有するプライマー配列は、60塩基対未満のプライマー配列及び/またはアデニン-チミン塩基対の濃度が低い (例えば、50%未満の) プライマー配列と比較して、より長いアニーリングステップ及び/またはより高いアニーリング温度を必要とし得る。

【0355】

いくつかの実施形態では、qPCRサイクル（単数または複数）は、変性ステップを含む。当業者に明らかとなるように、変性ステップには、DNAが融解する（例えば、二本鎖DNAを一本鎖DNAに分離する）ように、qPCR反応の温度を十分な温度に上昇させることが伴う。いくつかの実施形態では、変性ステップの温度は、75℃～115℃である。いくつかの実施形態では、変性ステップ温度は、約75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃、101℃、102℃、103℃、104℃、105℃、106℃、107℃、108℃、109℃、110℃、111℃、112℃、113℃、114℃、または115℃である。いくつかの実施形態では、変性ステップの温度は、約95℃である。

10

【0356】

いくつかの実施形態では、変性ステップの時間の長さは、0.5秒～9.0秒である。いくつかの実施形態では、変性ステップの時間の長さは、約0.5秒、1.0秒、1.5秒、2.0秒、2.5秒、3.0秒、3.5秒、4.0秒、4.5秒、5.0秒、5.5秒、6.0秒、6.5秒、7.0秒、7.5秒、8.0秒、8.5秒、または9.0秒である。いくつかの実施形態では、変性ステップの長さは3秒である。

【0357】

qPCR反応サイクルの増幅／伸長ステップの長さ及び温度は、例えば、標的ゲノムマーカの長さ及び／または酵素の活性に依存し得る。

20

【0358】

いくつかの実施形態では、増幅ステップは、45℃～75℃の温度で行われる。いくつかの実施形態では、増幅ステップは、約45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、または75℃の温度で行われる。いくつかの実施形態では、増幅ステップは、約60℃で行われる。

【0359】

いくつかの実施形態では、増幅ステップの時間の長さは、15秒から1分である。いくつかの実施形態では、増幅ステップの時間の長さは、約15秒、16秒、17秒、18秒、19秒、20秒、21秒、22秒、23秒、24秒、25秒、26秒、27秒、28秒、29秒、30秒、31秒、32秒、33秒、34秒、35秒、36秒、37秒、38秒、39秒、40秒、41秒、42秒、43秒、44秒、または45秒である。いくつかの実施形態では、増幅ステップの時間の長さは約30秒である。

30

【0360】

サイクル数（例えば、変性、アニーリング、増幅／伸長）は、例えば、標的増幅されたDNA片の検出（例えば、DNAプローブの蛍光による）に基づいて変化してもよい。いくつかの実施形態では、サイクル数は、陽性試料のロバストな検出のために選択される。いくつかの実施形態では、サイクル数は、偽陽性の数を最小限にするように選択される。

【0361】

いくつかの実施形態では、qPCR反応は、20サイクル、21サイクル、22サイクル、23サイクル、24サイクル、25サイクル、26サイクル、27サイクル、28サイクル、29サイクル、30サイクル、31サイクル、32サイクル、33サイクル、34サイクル、35サイクル、36サイクル、37サイクル、38サイクル、39サイクル、または40サイクル、41サイクル、42サイクル、43サイクル、44サイクル、45サイクル、46サイクル、47サイクル、48サイクル、49サイクル、または50サイクルを含む。いくつかの実施形態では、qPCR反応は40サイクルを含む。

40

【0362】

増幅されたDNA片は、プライマーのセットが標的ゲノムマーカに結合した後、qPCR反応中に生成され、酵素（例えば、ポリメラーゼ）によって伸長される。qPCR反

50

応のサイクル数がDNAの増幅につながる。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーの増幅されたヌクレオチド配列は、約50ヌクレオチド～約1200ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーの増幅されたヌクレオチド配列は、約50ヌクレオチド～約900ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、標的増幅されたDNA片は、約500ヌクレオチド～約1000ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーの増幅されたヌクレオチド配列は、約50ヌクレオチド、100ヌクレオチド、150ヌクレオチド、200ヌクレオチド、250ヌクレオチド、300ヌクレオチド、350ヌクレオチド、400ヌクレオチド、450ヌクレオチド、500ヌクレオチド、550ヌクレオチド、600ヌクレオチド、650ヌクレオチド、700ヌクレオチド、750ヌクレオチド、800ヌクレオチド、850ヌクレオチド、900ヌクレオチド、1000ヌクレオチド、1050ヌクレオチド、1100ヌクレオチド、1150ヌクレオチド、または1200ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは約150ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、約100ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、約200ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、約100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、または200ヌクレオチド長である。

【0363】

いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、qPCR反応中の特定の時点において評価される。いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、qPCR反応中の特定のサイクル数において評価される。いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、例えば増幅プロットの分析により、qPCR反応中の特定のサイクル数において評価される。いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、サイクル25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、または35において評価される。いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、サイクル25において評価される。いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、サイクル30において評価される。いくつかの実施形態では、標的ゲノムマーカーが存在するかどうかの決定は、サイクル35において評価される。

【0364】

いくつかの実施形態では、株に対するゲノムマーカーに対応する検出可能な量の増幅産物がqPCR反応中の特定の時点において検出された場合、標的ゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、増幅産物の量に対応する蛍光シグナルがqPCR反応中の特定の時点において検出された場合、標的ゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、qPCR反応の増幅ピークがqPCR反応中の特定の時点の閾値を超える場合、標的ゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、閾値サイクルはサイクル25であり、qPCR反応の増幅ピークがサイクル25において閾値を超える場合に、標的ゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。いくつかの実施形態では、閾値サイクルはサイクル30であり、qPCR反応の増幅ピークがサイクル35において閾値を超える場合に、標的ゲノムマーカーが試料中に存在すると決定される。

【0365】

当業者には明らかとなるように、ゲノムマーカーが増幅されたかどうかを決定し、その結果、対応する細菌株が試料中に存在することを示す閾値サイクルの選択は、1つ以上の因子のバランスをとることに依存する。例えば、より高いサイクル数を閾値サイクルに使用すると、qPCRのサイクルが増加することにより、非特異的（標的外）増幅の可能性が高まるため、偽陽性率が高くなり得る。あるいは、より高いサイクル数を閾値サイクルに使用すると、qPCRのサイクルが減少することにより、存在量が少ないながら存在するゲノムマーカーを十分に増幅できないことがあるため、偽陰性率が高くなり得る。

【0366】

いくつかの実施形態では、ゲノムマーカー配列はタンパク質コード配列である。

いくつかの実施形態では、ゲノムマーカー配列は非タンパク質コード配列である。

【0367】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は*Clostridium boltea*eである。ヌクレオチド配列を*Clostridium Boltea*eに属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは*Clostridium boltea*e 16S rDNA配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは*Clostridium boltea*eに固有である。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eを特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eを特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eを特定するゲノムマーカーは、膜貫通タンパク質をコードするヌクレオチド配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eを特定するゲノムマーカーは、グルタコニル-CoAデカルボキシラーゼサブユニットベータ (gcdB) をコードするヌクレオチド配列またはその一部である。

10

【0368】

いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eの存在は、*Clostridium boltea*eに対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eに対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*e gcdBまたはその一部の存在を決定するためのゲノムマーカー。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eの存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号9によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eの存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号10によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eの存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号9によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号10によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

20

30

【0369】

いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eの存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号9によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium Boltea*eの存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号10によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eの存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号9によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号10によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

40

【0370】

いくつかの実施形態では、*Clostridium boltea*eゲノムマーカーG CDBまたはその一部の増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号

50

11によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号11によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する。

【0371】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は*Anaerotruncus colihominis*である。ヌクレオチド配列を*Anaerotruncus colihominis*に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Anaerotruncus colihominis* 16S rDNA配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Anaerotruncus colihominis*に固有である。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。

【0372】

いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在は、*Anaerotruncus colihominis*に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号12によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号13によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号12によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号13によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0373】

いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号12によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号13によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号12によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号13によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0374】

いくつかの実施形態では、*Anaerotruncus colihominis*ゲノムマーカーの増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号14によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号14によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同

一である配列を有する。

【0375】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は *Eubacterium fissicatena* である。ヌクレオチド配列を *Eubacterium fissicatena* に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Eubacterium fissicatena* 16S rDNA 配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Eubacterium fissicatena* に固有である。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* を特定するゲノムマーカーは、グリコシルトランスフェラーゼ遺伝子またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* sp J またはその一部を特定するゲノムマーカー。

【0376】

いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在は、*Eubacterium fissicatena* に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCR によって増幅される。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号15によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号16によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号15によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号16によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0377】

いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号15によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号16によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号15によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号16によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0378】

いくつかの実施形態では、*Eubacterium fissicatena* ゲノムマーカーの増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR 反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号17によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号17によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一で

ある配列を有する。

【0379】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は*Clostridium symbiosum*である。ヌクレオチド配列を*Clostridium symbiosum*に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Clostridium symbiosum* 16S rDNA配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Clostridium symbiosum*に固有である。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum* rimCDまたはその一部を特定するゲノムマーカー。

10

【0380】

いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*の存在は、*Clostridium symbiosum*に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号18によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号19によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号18によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号19によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

20

【0381】

いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号18によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。*Clostridium symbiosum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号19によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号18によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号19によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

30

40

【0382】

いくつかの実施形態では、*Clostridium symbiosum*ゲノムマーカーの増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号20によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号20によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する。

【0383】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は*Blautia producta*である。ヌ

50

クレオチド配列を *Blautia producta* に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Blautia producta* 16S rDNA 配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Blautia producta* に固有である。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。

【0384】

いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在は、*Blautia producta* に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号21によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号22によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号21によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号22によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0385】

いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号21によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号22によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Blautia producta* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号21によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号22によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0386】

いくつかの実施形態では、*Blautia producta* ゲノムマーカーの増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号23によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号23によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する。

【0387】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は *Dorea longicatena* である。ヌクレオチド配列を *Dorea longicatena* に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Dorea longicatena* 16S rDNA 配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Dorea longicatena* に固有である。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena* を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いく

つかの実施形態では、*Dorea longicatena*を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。

【0388】

いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在は、*Dorea longicatena*に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号24によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号25によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号24によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号25によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0389】

いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号24によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号25によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号24によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号25によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0390】

いくつかの実施形態では、*Dorea longicatena*ゲノムマーカーの増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号26によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号26によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する。

【0391】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は*Clostridium innocuum*である。ヌクレオチド配列を*Clostridium innocuum*に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Clostridium innocuum* 16S rDNA配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは*Clostridium innocuum*に固有である。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。

【0392】

いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在は、*Clostridium innocuum*に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Clostridium i*

*nnocuum*に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号27によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号28によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号27によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号28によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

10

【0393】

いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号27によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号28によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号27によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号28によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

20

【0394】

いくつかの実施形態では、*Clostridium innocuum*ゲノムマーカーの増幅は、DNAプローブ、例えば、qPCR反応に含まれるDNAプローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号29によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNAプローブは、配列番号29によって提供される配列と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である配列を有する。

30

【0395】

いくつかの実施形態では、標的細菌株は*Flavinofractor plautii*である。ヌクレオチド配列を*Flavinofractor plautii*に属するものとして特定することができるいずれのヌクレオチド配列も、本明細書に記載の方法で使用され得る。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Flavinofractor plautii* 16S rDNA配列である。いくつかの実施形態では、ゲノムマーカーは、*Flavinofractor plautii*に固有である。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii*を特定するゲノムマーカーは、タンパク質コード配列またはその一部である。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii*を特定するゲノムマーカーは、非コード配列である。

40

【0396】

いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii*の存在は、*Flavinofractor plautii*に対するゲノムマーカーのヌクレオチド配列を増幅することによって決定される。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii*に対する1つ以上のゲノムマーカーは、qPCRによって増幅される。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii*の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号30によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Fla*

50

vinofractor plautii の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号 31 によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号 30 によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号 31 によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0397】

いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号 30 によって提供される配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一であるヌクレオチド配列を有する順方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号 31 によって提供される配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一であるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii* の存在を決定するためのゲノムマーカーは、配列番号 30 によって提供されるヌクレオチド配列を有する順方向プライマー及び配列番号 31 によって提供されるヌクレオチド配列を有する逆方向プライマーを使用して増幅される。

【0398】

いくつかの実施形態では、*Flavinofractor plautii* ゲノムマーカーの増幅は、DNA プローブ、例えば、qPCR 反応に含まれる DNA プローブによって検出される。いくつかの実施形態では、DNA プローブは、配列番号 32 によって提供される配列を有する。いくつかの実施形態では、DNA プローブは、配列番号 32 によって提供される配列と少なくとも 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 同一である配列を有する。

【0399】

本発明は、その適用において、以下の説明に示されるかまたは図面に図示される構成要素の構造及び配置の詳細に制限されない。本発明は、他の実施形態が可能であり、さまざまな方法で実践または遂行することができる。また、本明細書で使用される表現及び用語は、説明を目的とするものであり、限定的なものと見なされるべきではない。本明細書における「含む (including)」、「含む (comprising)」、または「有する」、「含有する (containing)」、「伴う (involving)」、及びそれらの変形の使用は、その後列記される項目及びその同等物、ならびに追加の項目を包含することを意味する。

【0400】

本書で別段の定義がされない限り、本開示と関連して使用される科学的及び技術的用語は、当業者によって一般に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈上別段の必要がない限り、単数形には複数形が含まれ、複数形の用語には単数形が含まれるものとする。本開示の方法及び技法は、概して、当該技術分野で周知の従来の方法に従って行われる。概して、本明細書に記載の生化学、酵素学、分子及び細胞生物学、微生物学、ウイルス学、細胞または組織培養、遺伝学、ならびにタンパク質及び核酸化学と関連して使用される命名法ならびにそれらの技法は、当該技術分野で周知であり、一般的に使用されているものである。本開示の方法及び技法は、概して、別段に示されない限り、当該技術分野で周知の従来の方法に従って、本明細書にわたって引用及び考察されているさまざまな一般的及びより具体的な参照文献に記載されているように行われる。

【0401】

配列番号 1 株 1 16S リボソーム RNA *Clostridium boltea*

ATGAGAGTTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGGCG
TGCCTAACACATGCAAGTCGAACGAAGC AATTAAAATGA
AGTTTTTCGGATGGATTTTTTGTATTGACTGAGTGGCGGGACGG
GTGAGTAACGCGTGGAT AACCTGCCTCACACTGGGGGGAT
AACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAAGCGCACAG
TACCGCATGGTACGGTGTGAAAAACTCCGGTGGTGTGAGA
TGGATCCGCGTCTGATTAGCCAGTTGGCGGGGGTAACGGGCC
CACCAAAGCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGACC
GGCCACATTGGGGA CTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGG
AGGCAGCAGTGGGGAATATTGACACAATGGGCGAAAGCCTG
ATGCAGCGACGCCGCGTGTGAGTGAAGAAGTATTTTCGGTATG
TAAAGCTCTATCAGCAGGGGAAGAAAAATGACGGGTACCTGAC
TAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGGTAA
TACGTAGGGGGGCAAGCGTTATCCGGATT TACTGGGGTGTAA
AGGGAGCGTAGACGGCGAAGCAAGTCTGAAGTGA AAAACCC
AGGGCTCAACCCTGGGACTGCTTTTGGAAACTGTTTTTGCTA
GAGTGTGCGGAGAGGTAAAGTGGAAATTCCTAGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCTTACTGGACGATAACTGACGTTTGAGGCTCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAATGCTAGGTGTTGGGGGGCAAAGCCCTTCGG
TGCCGTCGCAAACGCAAGTAAGCATTCCACCTGGGGAGTAC
GTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGACCCG
CACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCG
AAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCTCTTGACCGGCGTG
TAACGGCGCCTTCCCTTCGGGGGCAAAGAGAGACAGGTGGTG
CATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAA
GTCCCGCAAACGAGCGCAACCCTTATCCTTAGTAGCCAGCA
GGTAAAGCTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCAGGGGATAACC
TGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT
ATGATTTTGGGCTACACACGCTGCTACAATGGCGTTAAACAAA
GGGAAGCAAGACAGTGATGTGGAGCAAATCCCAAAAATAA
CGTCCCAGTTTCGGACTGTAGTCTGCAACCCGACTACACGA
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGT
GAATACGTTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCAACCC
ATGGGAGTCAAGCAACGCCCGAAGTCAAGTACCCAACTCGC
AAGAGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGGCAGGTAACTGGGGT
GAAGTCGTAAACAAGGTAGCCGTTATCGGAAGGTGCGGCTGG
ATCACCTCCTTT

【0402】

配列番号2 株2 16SリボソームRNA *Anaerotruncus colihominis*

TCAAAGAGTTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGGC
GCGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGAGCTTACGTTTTTGA
AGTTTTTCGGATGGATGAATGTAAGCTTAGTGGCGGGACGGG
TGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCTTTTCAGAGGGGGGATAA
CAGCCGGAAACGGGCTGCTAATACCGCATGATGTTGCGGGG
GCACATGCCCTGCAACCAAAGGAGCAATCCGCTGAAAGA
TGGGCTCGCGTCCGATTAGCCAGTTGGCGGGGGTAACGGCC
CACCAAAGCGACGATCGGTAGCCGGACTGAGAGGGTTGAAC

GGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAGACTCCTACGGG
AGGCAGCAGTGGGGGATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTG
ATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGAAAGACGGTCTTCGGATTG
TAAACCTCTGTCTTTGGGGAAAGAAAATGACGGGTACCCAAA
GAGGAAGCTCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGGAGCAAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGGTGTA
AGGGAGCGTAGGCGGGATGGCAAGTAGAATGTTAAATCCA
TCGGCTCAACCG GTGGCTGCGTTCTAAACTGCCGTTCTT
GAGTGAAGTAGAGGCAGGCGGAATTCCCTAGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCCTGCTGGGGCTTTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGATTACTAGGTGTGGGGGGACTGACCCCTTCCG
TGCCGCGAGTTAACACAATAAGTAATCCACCTGGGGGAGTAC
GGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCG
CACAAAGCAGTGGAGTATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCG
AAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCGGATGCATAGCCTAG
AGATAGGTGAAGCCCTTCGGGGGCATCCAGACAGGTGGTG
ATGGTTGTGTCGTGAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAG
TCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATTAGTTGCTACGCA
AGAGCACTCTAATGAGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAA
GGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTACTACAATGGCACTAAAACAGAGGGCGG
CGACACCGCGGAGGTGAAGCGAATCCCGAAAAAGTGTCTCA
GTTTCAGATTGTCAGGCTGCAACC CGCCTGCATGAAGTCGGA
ATTGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACG
TTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCAACCATGGGAG
TCGGTAACACCCGAAGCCAGTAGCCTAACCGCAAGGGGGG
CGCTGTCGAAGGTGGGATTGATGACTGGGGTGAAAGTCGTA
ACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC
TTT

10

20

30

【0403】

配列番号3 株3 16SリボソームRNA *Ruminococcus torques*
TACGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGC
GTGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGAAG CGCTGTTTTCA
GAATCTTCGGAGGAAGAGGACAGTGAAGTGAAGCGGCGGACG
GGTGAGTAACGCGTGGGCAACCTGCCCTCATACAGGGGGAT
AACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAAGCGCACAG
GACCGCATGGTGTAAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATGAGA
TGGACCCGCGTCTGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAAAGGCC
TACCAAGCCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACC
GGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAAACTCCTACGGG
AGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTG
ATGCAGCGACGCCGCGTGAAAGGAAGAAGTATTTTCGGTATG
TAAACTTCTATCAGCAGGGAAAGAAAATGACGGGTACCTGAG
TAAGAAGCACCGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTATGGTGCAAGCGTTATCCGGATTACTGGGGTGTA
AGGGAGCGTAGACGGATAGGCAAGTCTGGAGTGAAAAACC
AGGGCTCAACCCTGGGACTGCTTTTGGAAACTGCAGATCTG
GAGTGCCGGAGAGGTAAGCGGAATTCCCTAGTGTAGCGGTG

40

50

AAATGCGTAGATATTAGGAGGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCTTACTGGACGGTGACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGACTACTAGGTGTCTGGTGTGCAAAGCACATCGG
TGCCGCGAGCAAACGCAATAAGTAGTCCACCTGGGGAGTAC
GTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGACCCG
CACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCG
AAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATCCGGATGACGGGCGAG
TAATGTCTGCCGTCCCTTCGGGGCGTCCGAGACAGGTGGTG
CATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAA
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCTTCAGTAGCCAGCA
TATAAGGTGGGCACTCTGGAGAGACTGCCAGGGAGAACCT
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTA
TGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAG
GGAAGCGAGAGGGTGACCTGGAGCGAATCCCAAAAATAAC
GTCTCAGTTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAA
GCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTG
AATACGTTCCCGGGTCTTGTAACACCCGCCCGTCACACCA
TGGGAGTCAAGTAACGCCCGAAGCCAGTGACCCAACCTTAG
AGGAGGGAGCTGTCGAAGGCGGGACGGATAACTGGGGTGA
AGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGGCTGGAT
CACCTCCTTT

【0404】

配列番号4 株4 16SリボソームRNA *Lostridium symbiosum*

ATGAGAGTTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGGCG
TGCCTAACACATGCAAGTCGAACGAAGCGATTTAACGGAA
GTTTTTCGGATGGAAGTTGAATTGACTGAGTGGCGGACGGG
TGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTTGTA CTGGGGGACAA
CAGTTAGAAATGACTGCTAATAACCGCATAAGCGGCACAGTA
TCGCATGATACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTACAAGATG
GACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAACGGCTTA
CCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGG
CCACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTGGGGAAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGAT
GCAGCGACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTATTTTCGGGTATGTA
AAGCTCTATCAGCAGGGGAAGAAATGACGGTACCTGACTA
AGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATA
CGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAG
GGAGCGTAGACGGTAAAGCAAGTCTGAAGTGAAAGCCCGC
GGCTCAACTGCGGGACTGCTTTGGAAACTGTTTAACTGGA
GTGTCGGAGAGGTAAGTGGAAATTCCTAGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGATATTAGGAGGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TTACTGGACGATAACTGACGTTTGAGGCTCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTG
CCGTCTGCAAACGCAAGTAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGT
TCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGACCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCGATCCGACGGGGGAGTA
ACGTCCCCCTTCCCTTCGGGGCGGAGAAAGACAGGTGGTGCA

10

20

30

40

50

TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGGTTAAGT
CCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTCTAAGTAGCCAGCGGT
TCGGCCGGGAACCTCTTGGGAGACTGCCAGGGATAACCTGG
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATG
ATCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGAG
AAGCAAGACC GCGAGGTGGAGCAAATCTCAAAAATAACGT
CTCAGTTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGC
TGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAA
TACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCAACCATG
GGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCCAACCGCAAGG
AGGGAGCTGCCGAAGGCGGGACCGATAACTGGGGGTGAAGT
CGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCAC
CTCCTTT

10

【0405】

配列番号5 株5 16SリボソームRNA *Blautia producta*

ATCAGAGAGTTTGTATCCTGGGCTCAGGATGAACGCTGGCGG
CGTGCTTAAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCACTTAAGTGG
ATCTCTTTCGGATTGAAGCTTATTTGACTGAGCGGCGGACG
GGTGAGTAACGCGTGGGTAAACCTGCCTCATACAGGGGGAT
AACAGTTAGAAATGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAG
GACCGCATGGTCTGGTGTGAAAACTCCGGTGGTATGAGA
TGGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGAGGGGTAAACGGCC
CACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCCTGAGAGGGGTGAAC
GGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAGACTCCTACGGG
AGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTG
ATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATG
TAAACTTTCTATCAGCAGGGAAGAAAAATGACGGTACCTGAC
TAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAA
AGGGAGCGTAGACGGAAGAGCAAGTCTGATGTGAAAGGCT
GGGGCTTAAACCCAGGACTGCATTGGAAACTGTTTTTTCTA
GAGTGCCGGAGAGGTAAGCGGAATTCTCTAGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCTTACTGGACGGTAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAATACTAGGTGTCGGGTGGCAAAGCCATTTCGG
TGCCGCGAGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGTAC
GTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCG
AAGAACCCTTACCAAGTCTTGACATCCCTCTGACCGGCCCG
TAACGGGGCCTTCCCTTCGGGGCAGAGGAGACAGGTGGTG
CATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGGTTAA
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTAGCCAGCA
GGTGAAGCTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGGGGATAACC
CGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTT
ATGATTTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAA
GGGAAGCGAGACAGCGATGTTGAGCAAATCCCAAAAATAA
CGTCCCAAGTTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGA
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGT
GAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCAACCC

20

30

40

50

ATGGGAGTCAAGTAACGCCCGAAGTCAAGTGACCCCAACCTTA
CAGGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGACCGATAACTGGGGTG
AAGTCGTAAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGA
TCACCTCCTTT

【0406】

配列番号6 株6 16SリボソームRNA *Dorea longicatena*

AACGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGC
GTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCACTTAAGTTTG
ATTCTTCGGATGAAGACTTTTGTGACTGAGCGGCGGACGG
GTGAGTAACGCGTGGGTAAACCTGCCTCATACAGGGGGGATA
ACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAAGACCACGGT
ACCGCATGGTACAGTGGTAAAAACTCCGGTGGTATGAGAT
GGACCCGCGTCTGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAACGGCCT
ACCAAGCCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGACCG
GCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAGACTCCTACGGGA
GGCAGCAGTGGGGGAATATTGCACAATGGAGGAAACTCTGA
TGCAGCGACGCCGCGTGAAGGATGAAGTATTTTCGGTATGT
AAACTTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACT
AAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAAT
ACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAA
GGGAGCGTAGACGGCACGGCAAGCCAGATGTGAAAGCCCG
GGGCTCAACCCCCGGGACTGCATTTTGGAACTGCTGAGCTAG
AGTGTCTGGAGAGGGCAAGTGGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGATATTAGGAGGGAACACCAGTGGCGAAGGCGG
CTTGCTGGACGATGACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AACGATGACTGCTAGGTGTCTGGGTGGCAAAGCCATTTCGGT
GCCGCGAGCTAACGCAATAAGCAGTCCACCCTGGGGGAGTACG
TTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGACCCGC
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGATCTTGACATCCCGATGACCGCTTCGT
AATGGAAGCTTTTCTTCGGAAACATCGGTGACAGGTGGTGC
ATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGGTTAAG
TCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTTCAGTAGCCAGCAG
GTTAAGCTGGGGCACTCTGGAGAGACTGCCAGGGGATAACCT
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTA
TGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAG
AGAAGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCTCAAAAATAAC
GTCTCAGTTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAA
GCTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGAATGCTGCGGTG
AATACGTTCCCCGGGTCTTGTAACACACCGCCCGTCAACCA
TGGGAGTCAAGTAACGCCCGAAGTCAAGTGACCCCAACCGTAA
GGAGGGAGCTGCCGAAGGTGGGACCGATAACTGGGGGTGAA
GTCGTAAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATC
ACCTCCTTT

【0407】

配列番号7 株7 16SリボソームRNA *Erysipelotrichaceae bacterium*

ATGGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGC
ATGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAAGTTTCGAGGGAAGC

10

20

30

40

50

TTGCTTCCAAAGAGACTTAGTGCGCGAACGGGTGAGTAACA
CGTAGGTAACCTGCCCATGTGTCCGGGATAACTGCTGGAA
ACGGTAGCTAAAACCGGATAGGTATACAGAGCGCATGCTC
AGTATATTAAAGCGCCCATCAAGGCGTGAACATGGATGGA
CCTGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCCCACC
AAGGCGATGATGCGTAGCCGGCCTGAGAGGGTAAACGGCC
ACATTGGGACTGAGACACGGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGC
AGCAGTAGGGAATTTTCGTCAATGGGGGAAACCCTGAACG
AGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTCTTCGGATCGTAAA
GCTCTGTTGTAAGTGAAGAACGGCTCATAGAGGAAATGCT
ATGGGAGTGACGGTAGCTTACCAGAAAGCCACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCGTT
ATCCGGAATCATTGGGCGTAAAGGGTGCGTAGGTGGCGTA
CTAAGTCTGTAGTAAAAGGCAATGGCTCAACCATTTGTAAG
CTATGGAAACTGGTATGCTGGAGTGCAGAAGAGGGCGATG
GAATTCCATGTGTAGCGGTAAAATGCGTAGATATATGGAG
GAACACCAGTGGCGAAGGCGGTGCGCCTGGTCTGTAACTGA
CACTGAGGCAACGAAGCGTGGGGAGCAAAATAGGATTAGAT
ACCCTAGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGAACTAAGTGT
TGGAGGAATTCAGTGCTGCAGTTAACGCAATAAGTTCTCC
GCCTGGGGAGTATGCACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAAT
TGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAAAT
TCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATGGA
AACAAATACCCTAGAGATAGGGGGGATAATTATGGATCACA
CAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCGCATG
TTACCAGCATCAAGTTGGGGACTCATGCGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCAT
GCCCCCTTATGGCCTGGGCTACACACGTA CTACAATGGCGG
CCACAAAGAGCAGCGACACAGTGATGTGAAGCGAATCTCA
TAAAGGTCGTCTCAGTTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGAC
TTCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATG
CTGCGGTGAATACGTTCTCGGGCCTTGTAACACACCGCCCG
TCAAACCATGGGAGTCAGTAATACCCGA AGCCGGGTGGCA
TAACCGTAAGGAGTGAGCCGTCGAAGGTAGGACCGATGAC
TGGGGTTAAGTCGTAAC AAGGTATCCCTACGGGAACGTG
GGGATGGATCACCTCCTTT

【0408】

配列番号8 株8 16SリボソームRNA Subdoligranulum種

TATTGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGG
CGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGGGTGCTCATGACG
GAGGATTCGTCCAACGGATTGAGTTACCTAGTGGCGGACG
GGTGAGTAACGCGTGAGGAACCTGCTTGGAGAGGGGAAT
AACACTCCGAAAGGAGTGCTAATACCGCATGATGCAGTTG
GGTCGCATGGCTCTGACTGCCAAAGATTTATCGCTCTGAG
ATGGCCTCGCGTCTGATTAGCTAGTAGGCGGGGTAAACGGC
CCACCTAGGCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGAC
CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGGGCAATGGGCGCAAGCCT
GACCCAGCAACGCCGCGTGAAAGGAAGAAGGCTTTTCGGGTT

10

20

30

40

50

G T A A A C T T C T T T T G T C G G G G A C G A A A C A A A T G A C G G T A C C
C G A C G A A T A A G C C A C G G C T A A C T A C G T G C C A G C A G C C G C G
G T A A T A C G T A G G T G G C A A G C G T T A T C C G G A T T T A C T G G G T
G T A A A G G G C G T G T A G G C G G G A T T G C A A G T C A G A T G T G A A A
A C T G G G G G C T C A A C C T C C A G C C T G C A T T T G A A A C T G T A G T
T C T T G A G T G C T G G A G A G G C A A T C G G A A T T C C G T G T G T A G C
G G T G A A A T G C G T A G A T A T A C G G A G G A A C A C C A G T G G C G A A
G G C G G A T T G C T G G A C A G T A A C T G A C G C T G A G G C G C G A A A G
C G T G G G G A G C A A A C A G G A T T A G A T A C C C T G G T A G T C C A C G
C C G T A A A C G A T G G A T A C T A G G T G T G G G G G G T C T G A C C C C C
T C C G T G C C G C A G T T A A C A C A A T A A G T A T C C C A C C T G G G G A
G T A C G A T C G C A A G G T T G A A A C T C A A A G G A A T T G A C G G G G G
C C C G C A C A A G C G G T G G A G T A T G T G G T T T A A T T C G A A G C A A
C G C G A A G A A C C T T A C C A G G G C T T G A C A T C C C A C T A A C G A A
G C A G A G A T G C A T T A G G T G C C C T T C G G G G A A A G T G G A G A C A
G G T G G T G C A T G G T T G T C G T C A G C T C G T G T C G T G A G A T G T T
G G G T T A A G T C C C G C A A C G A G C G C A A C C C T T A T T G T T A G T T
G C T A C G C A A G A G C A C T C T A G C G A G A C T G C C G T T G A C A A A A
C G G A G G A A G G T G G G G A C G A C G T C A A A T C A T C A T G C C C C T T
A T G T C C T G G G C C A C A C A C G T A C T A C A A T G G T G G T T A A C A G
A G G G A G G C A A T A C C G C G A G G T G G A G C A A A T C C C T A A A A G C
C A T C C C A G T T C G G A T T G C A G G C T G A A A C C C G C C T G T A T G A
A G T T G G A A T C G C T A G T A A T C G C G G A T C A G C A T G C C G C G G T
G A A T A C G T T C C C G G G C C T T G T A C A C A C C G C C C G T C A C A C C
A T G A G A G T C G G G A A C A C C C G A A G T C C G T A G C C T A A C C G C A
A G G A G G G C G C G G C C G A A G G T G G G T T C G A T A A T T G G G G T G A
A G T C G T A A C A A G G T A G C C G T A T C G G A A G G T G C G G C T G G A T
C A C C T C C T T T

【0409】

本発明は、以下の実施例によってさらに例解され、この実施例は、決してさらなる限定として解釈されるべきではない。本出願にわたって引用されているすべての参照（文献参照、発行された特許、公開された特許出願、及び同時係属中特許出願を含む）のすべての全内容は、特に上記で参照された教示について、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。ただし、いずれの参照の引用も、その参照が先行技術であることを認めることを意図したものではない。

【実施例】

【0410】

実施例1A：健康な有志における組成物VE303の第1相用量漸増試験

C. difficile 感染は、胃腸内微生物叢の改変と関連付けられる。糞便微生物叢移植（FMT）などのC. difficile 感染に頻繁に利用される治療法は、再発性C. difficile 感染（rCDI）を防止し得るが、日常的な使用には制限があり、予期しないリスクがある。

【0411】

組成物VE303は、表1に示す細菌株を含む合理的に定義された細菌組成物であり、in vitroでC. difficileの増殖を抑制し、C. difficile 感染（CDI）モデルの生存率を改善することが分かっている。

【0412】

方法

バンコマイシン誘発性腸内毒素症後の健康な有志（HV）における組成物VE303の安全性及び忍容性を評価するために、第1相用量漸増試験を実施した。

【0413】

図1及び図20に示すように、HVを7つのコホートとバンコマイシン対照群とに分けた。株の定着及び耐久性を含む薬物動態ならびに薬力学（例えば、常在微生物叢の復元）を、長期にわたって収集した糞便細菌のメタゲノミクス配列決定によって評価した。

【0414】

健康な有志（N=48、7コホート）に、経口バンコマイシン（毎日125mg×4回）を、1日2回、5日間または3日間、続いて組成物VE303カプセルを、漸増する単回用量または複数回用量（用量範囲 $1.6 \times 10^9 \sim 1.1 \times 10^{11}$ の総CFU）で、経口投与した。健康な有志の対照群にはバンコマイシンを投与しなかったが、組成物VE303（ 1.7×10^{11} の合計CFU）を21日間投与した。

10

【0415】

糞便試料を、バンコマイシンのみ（vanco）、コホート1（ 1.6×10^9 コロニー形成単位（CFU）のVE303の単回用量）、コホート2（ 4.0×10^9 CFUの単回用量）、コホート3（ 8.0×10^9 CFUの単回用量）、コホート4（ 4.0×10^{10} CFUの複数回用量）、コホート5（ 1.1×10^{11} CFUの複数回用量）、コホート6（ 1.7×10^{11} CFUの複数回用量、バンコマイシンの事前投薬なし）、またはコホート8（ 2.1×10^{10} CFUの複数回用量、3日間のバンコマイシン事前投薬）（図1、図14、及び図20）に分けた、正常かつ健康な有志から収集した。糞便試料を収集し、Illuminaショットガン配列決定によって分析した。

20

【0416】

結果

組成物VE303と関連付けられる有害事象（AE）が健康な有志の16%で観察されたが、すべての有害事象は、グレード1（1～5段階で「軽度の有害事象」）かつ一過性のものであった。有害事象のうち、大部分は胃腸系（腹部膨満または腹痛、軟便または硬便、悪心、鼓腸、及び下痢）であった。最も一般的なグレード2～3の検査所見異常は、コレステロールの増加、血尿、ならびにリパーゼ及びアミラーゼの増加であった。関連するグレード3～4の有害事象も深刻な有害事象もなかった。

【0417】

単回用量コホート及び複数回用量コホートで、耐久性があり、豊富かつ用量依存的な定着が観察された。組成物VE303の各細菌株は糞便中で検出可能であり、組成物VE303の細菌株は投薬後2日以内に10～100倍に拡大した。多くの健康な有志において、組成物VE303の細菌株が12週目に豊富に検出され、バンコマイシン投与後の対象の微生物叢の回復を強化するように見受けられた。バンコマイシンのみを受けた対照コホートと比較した場合、組成物VE303を受けた健康な有志は、有益である可能性がある分類群（例えば、*Bacteroides Firmicutes*）の早期かつより完全な回復、及び炎症性である可能性がある分類群（例えば、*Proteobacteria*）の減少を有した。

30

【0418】

*Clostridium*クラスターIV及びXIVaに属する細菌株の存在は、rCDIにおけるFMTへの応答と関連付けられることが以前に見出されている（図2A、Van Nood et al. 2013）。バンコマイシンの投与により、*Clostridium*クラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する細菌株がほぼ完全に消失した。組成物VE303のその後の投与により、各コホートからの対照の微生物叢における*Clostridium*クラスターIV、XIVa、及びXVIIの存在量が増加したことが見出された。興味深いことに、対象の微生物叢における*Clostridium*クラスターIV及びXIVaに属する細菌株の存在量は、組成物VE303の投与後にベースラインに類似したレベルまで回復した（図2B）。

40

【0419】

加えて、Smilie et al. 2018によって以前に報告されているように、FMT移植で治療されたrCDIを有する対象は、FMT治療前の*Bacterioidet*

50

es及びProteobacteriaレベルと比較して、Bacterioidetesのレベルが増加し、Proteobacteriaのレベルが減少したことが見出された（図3A）。バンコマイシンの投与により胃腸内微生物叢が改変され、これはその後、FMT転移前のC. difficile感染中の微生物叢（例えば、高レベルのProteobacteria、低レベルのBacterioidetes）に類似する。バンコマイシン治療を施した後で組成物VE303を投与した対象からの試料を、バンコマイシンの投与後、及び組成物VE303の投与後、ベースラインにて、微生物叢の回復について分析した。バンコマイシンにより、細菌バイオマスは大幅に減少したものの、Proteobacteria DNAが一部の対象において増加した（図15）。興味深いことに、組成物VE303の投与により、より速い微生物叢の回復（例えば、Bacterioidetes及びProteobacteriaの正常なレベルへの回帰）が促進された。組成物VE303の複数回用量を受けたコホートについては、回復はさらに速かった（VE303投与開始から1週間未満（図3B～図3D、図15、図16、図25）。

10

【0420】

主成分分析（PCA）を各試料の微生物叢群集組成に対して実施して、バンコマイシンの投与後及び回復中の微生物叢の動態を調査した（例えば、Zinkernagel, et al., 2017, Scientific Reportsを参照）。PCA分析により、3つの微生物叢群集状態が明らかになった（図4A）。状態1はベースラインの微生物叢群集に対応し、状態2はバンコマイシン投与後の群集に対応し、状態3は組成物VE303投与後の群集に対応する。バンコマイシン単独対照群と比較した場合、VE303の投与により、微生物叢の回復がより速くなった。例えば、コホート5は、組成物VE303の投与から1週間以内に迅速に回復状態に戻ることが見出されたが、バンコマイシン単独対照群は回復の遅延を示した（図4B）。状態1は、Firmicutes及びBacterioidetesのベースラインレベルを特徴とし、状態2は、比較的高いレベルのProteobacteriaを有し、状態3は、状態2と比較してBacterioidetes及びFirmicutes（組成物VE303の細菌株の富化を含む）レベルの強化されたレベル（存在量）を有した（図4C）。Proteobacteria種を含む病原性共生生物種は、バンコマイシンの投与によって富化されることが見出された（例えば、Klebsiella、Salmonella、及びEscherichia）（図5）。

20

30

【0421】

VE303の単回用量と複数回用量との間の相対的有効性を決定するために、バンコマイシン単独群（対照）及びコホート1～5の各々の対象から試料を取得した。コホート1～3の対象には、組成物VE303の単回用量を投与し、コホート4～5の対象には、組成物VE303の複数回用量を投与した。要約すると、複数回用量（5日間または14日間にわたる）により、観察された組成物VE303の細菌株の数で表して、より良好な全体的生着（定着）が生じることが見出された（図6、8、及び22）。単回用量コホートと比較した場合、複数回用量コホート4、5、及び8における生着した組成物VE303から細菌株の数はより多かった。さらに、組成物VE303からの細菌株の生着は、コホート4、5、及び8のほとんどの対象で、組成物の投与後に安定していた（図7A及び図22）。対照的に、バンコマイシンを投与されなかった対照群では、生着が観察されたのみであった（図7B）。

40

【0422】

複数回用量の結果として組成物VE303の細菌株の全体的な生着（定着）が良好となったにもかかわらず、単回用量を受けたコホートと複数回用量を受けたコホートとの両方で耐久性のある生着が観察された（図9A～図9C及び図23）。バンコマイシン単独群は、組成物の投与の3～7週後、組成物VE303からの細菌株の存在量が低かった。組成物VE303の単回用量を受けたコホートは、組成物VE303の細菌株の存在量がさまざまであり、低用量／中用量で存在量がより高かったことが示された。組成物VE303の複数回用量を受けたコホートは、微生物叢の60%を超える最大存在量を示した（す

50

なわち、組成物 V E 3 0 3 の細菌株は微生物叢の 6 0 % を超えていた)。この存在量は、後の時点で減少した。

【 0 4 2 3 】

組成物 V E 3 0 3 の細菌株は、用量に基づく本組成物の投与後 2 日以内に、1 0 ~ 1 0 0 倍に拡大したと推定された。図 1 0 及び図 2 4 は、各コホートにわたる組成物 V E 3 0 3 の細菌株の存在量の全体的な傾向を示す。特に、コホート 5 では、組成物 V E 3 0 3 の細菌株の存在量は、投与の約 4 週後に増加した (図 1 1 A 及び図 1 1 B)。微生物叢に存在する細菌種の多様性も、図 1 2 及び図 2 5 でコホート 4、5、及び 8 について示すように、生着効果及び全体的な回復の尺度となり得る。

【 0 4 2 4 】

バンコマイシン治療により、対象の微生物叢内の細菌の絶対存在量が大幅に減少する (図 2 6)。C l o s t r i d i u m クラスター I V 及び X I V a の細菌種レベルは、バンコマイシン投与 B I D (コホート 8) の 3 日と比較して、バンコマイシン投与 Q I D (コホート 4 及びコホート 5) の 5 日でさらに減少する (図 2 7)。バンコマイシンが投与されなくなると、V E 3 0 3 の投与の有無にかかわらず、細菌の存在量は回復することになる (図 2 6 及び図 2 7)。

【 0 4 2 5 】

結論

要約すると、組成物 V E 3 0 3 は忍容性が良好であり、すべての用量で安全であった。

組成物 V E 3 0 3 の投与により、バンコマイシンの投与後の正常な微生物叢の早期回復 (回復の増大) を伴う、早期の堅牢な耐久性のある定着がもたらされた。さらに、生着の堅牢性は、治療期間とともに改善された。

【 0 4 2 6 】

実施例 1 B : 健康な有志における組成物 V E 3 0 3 の第 1 相試験 : コホート 7 ~ 9

バンコマイシン誘発性腸内毒素症後の健康な有志 (H V) における組成物 V E 3 0 3 の安全性及び忍容性を評価するために、追加の第 1 相試験を実施した。表 1 B に示すように、H V を、同じ用量の V E 3 0 3 を受ける前に、異なる用量のバンコマイシンを受けた 3 つのコホートに分けた。株の定着及び耐久性を含む薬物動態ならびに薬力学 (例えば、常在微生物叢の復元) を、長期にわたって収集した糞便細菌のメタゲノミクス配列決定によって評価した。

表 1 B : 第 1 相コホート 7 ~ 9 の投薬レジメン

【表 2】

群	バンコマイシン	用量	総投与用量
コホート 7	1 2 5 m g B I D / 1 日	2 日間 1 日あたり 1 0 カプセル、 続いて 3 日間 2 カプセル	2 . 1 × 1 0 ¹⁰ C F U
コホート 8	1 2 5 m g B I D / 3 日	2 日間 1 日あたり 1 0 カプセル、 続いて 3 日間 2 カプセル	2 . 1 × 1 0 ¹⁰ C F U
コホート 9	1 2 5 m g Q I D / 5 日	2 日間 1 日あたり 1 0 カプセル、 続いて 3 日間 2 カプセル	2 . 1 × 1 0 ¹⁰ C F U

【 0 4 2 7 】

実施例 1 C : r C D I のヒト細菌株の合理的に定義されたコンソーシアム

糞便試料を、L e i d e n U n i v e r s i t y M e d i c a l C e n t e r 及び N e t h e r l a n d s D o n o r F e c e s B a n k (N D F B) と協力して、健康なドナー有志及び再発性 C l o s t r i d i o i d e s d i f f i c i l e 感染 (r C D I) を有する患者から収集した。r C D I からの回復と関連付けられる上位の細菌属の便試料における存在量を、糞便微生物移植の前後に分析した (F M T 前、F M T 後) (図 1 3 A)。r C D I 患者の糞便微生物移植 (F M T) に対する応答は、C l o s t r i d i u m クラスター I V 及び X I V a 細菌の移入と関連付けられる。

【0428】

マウスを*Clostridium difficile* (CDI) に感染させ、VE303またはヒトFMTを投与した。

【0429】

VE303で治療したマウスのおよそ85%及びヒトFMTで治療したマウスのおよそ80%が、少なくともCDIの7日後まで生存した。対照的に、PBSで治療したマウスのおよそ30%及び陰性の生きた生物学的製剤 (LBP) で治療したマウスのおよそ20%が、少なくともCDIの7日後まで生存した (図13B)。したがって、VE303は、ヒトFMTに匹敵するCDI感染モデルにおいてマウスの生存率を比類なく促進する。

【0430】

実施例2：成人対象における再発性*Clostridium difficile* (rCDI) 感染を防止するためのVE303の第2相アダプティブ用量設定試験

本試験の目的は、成人対象のrCDIの防止におけるVE303の有効な治療用量を決定することである。VE303は、合理的に定義された細菌組成物であり、FMTにおける応答と関連付けられ、*in vitro*での*C. difficile*の増殖を抑制し、*C. difficile*感染 (CDI) モデルにおいて生存を改善する、共生、非病原性、無毒性、クローン性の細菌の8つの異なる種を含む (表1)。

【0431】

方法

rCDIの再発を軽減するまたはrCDIを予防するためのVE303の有効な治療用量を決定するために、rCDIの発病が少なくとも2回ある成人有志に対して第2相用量設定分析を実施する。投薬レジメンは、表2 (下記) に概説するとおりである。VE303用量またはプラセボを投与する前に、対象にバンコマイシンを本明細書に記載のいずれかの用量またはrCDIに対する標準治療用量で投与した。便試料を、*C. difficile*試験 (例えば、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、毒素タンパク質、*C. difficile* PCR、リボタイピング及び毒素アッセイのための*C. difficile*培養)、微生物叢組成、VE303株検出、抗生物質濃度、メタボロミクス、培養、及び*C. difficile*以外の抗生物質耐性細菌 (例えば、カルバペネム耐性腸内細菌 [CRE]、拡張β-ラクタマーゼ産生腸内細菌 [ESBL]、またはバンコマイシン耐性腸球菌 [VRE]) について、対象から収集した。

表2：第2相試験の投薬レジメン

【表3】

群	用量	総投与用量
プラセボ	1日あたり10カプセル/14日	該当なし
VE303低用量	1日あたり5カプセル/7日	2.8×10^{10} CFU
VE303中用量	1日あたり5カプセル/14日	5.6×10^{10} CFU
VE303高用量	1日あたり10カプセル/14日	1.1×10^{11} CFU
VE303超低用量	1日あたり2カプセル/14日	2.2×10^{10} CFU

【0432】

実施例3：共生細菌分離株の定義されたコンソーシアムを投与した健康な有志の株定着及び微生物叢動態。

背景

ヒトの腸内微生物叢の改変は、*Clostridium difficile* (*C. difficile*) のような日和見病原体による感染と関連付けられる。*C. difficile*感染の再発率の低下は、糞便微生物叢移植 (FMT) により示されているが、FMTには特有のリスク及び変動性がある。生きた生物学的製剤 (LBP) であるVE303が、再発性*C. difficile*感染 (rCDI) の予防のために開発されている。

VE303は、ClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する8つの精製されたクローン性株からなる合理的に定義された細菌コンソーシアムである。本株は、健康な有志の糞便物質から単離し、純粋培養物として保管し、cGMP条件下で製造したものである。VE303の安全性、忍容性、薬物動態(PK)、及び薬力学(PD)を、健康な有志(N=33)において評価した。漸増用量のVE303を、5日間にわたる経口バンコマイシンと併せてまたは併せずに投与した。糞便試料を最大12週間長期にわたって収集し、Illuminaプラットフォームでメタゲノム配列決定を行って、経時的なVE303株の定着(PK)及びバンコマイシン曝露後の常在微生物叢の回復(PD)に対するその影響を定量化した。LBPのメンバーを常在株から区別することによってPKを正確に定義するために、各VE303株に固有のマーカー配列を利用する拡張性バイオインフォマティクス法を開発した。VE303株の存在量が急速に増加した投薬条件を特定し、コンソーシアムの投与から少なくとも12週後に検出した。VE303により、バンコマイシン後の腸内微生物叢の回復も強化され、このことは、常在Clostridium及びBacteroidetes種の増加が加速し、Proteobacteriaが減少したことによって示された。まとめると、これらのデータにより、合理的に定義された細菌コンソーシアムに基づくLBPが、腸に耐久的に定着し、ヒトレシピエントの微生物叢を調節し得ることが初めて示される。

10

【0433】

正常で健康な有志におけるVE303の薬物動態

正常で健康な有志対象で検出されたVE303株の総数を、便試料の収集及びIllumina配列決定の後で評価して、固有の50塩基対(bp)マーカー配列を使用して各VE303株を特定した(図17A~図17B)。VE303コンソーシアムの8株すべてが、ほぼすべてのコホート4及びコホート5の対象で検出された。

20

【0434】

経時的な各対象におけるVE303コンソーシアムの総存在量を測定した(図17B)。VE303コンソーシアムは、投与後最初の48時間以内に約10~100倍に急速に拡大し、その後、微生物叢の5~10%に安定する。VE303コンソーシアムは、VE303による投薬の停止後12週まで、微生物叢のかなりの割合を占める。低い存在量のVE303関連種が、バンコマイシン(Vanco)単独コホートの対象において検出された(図17C~図17D)。

30

【0435】

正常で健康な有志におけるVE303の薬力学

最も存在量が高いFirmicutes、Bacteroidetes、及びProteobacteriaの対象あたりの総相対存在量を、バンコマイシン投与後、バンコマイシン投与からの回復後1週間まで、及びバンコマイシン投与からの回復後1週間超で測定した。VE303の投与により、バンコマイシン治療後1週間以内にバンコマイシン誘発性腸内毒素症からの回復が強化される(図18)。具体的には、VE303の投与により、Firmicutes科(ClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVII)が増加し、Bacteroides種及びParabacteroides種が増加し、Escherichia種及びEscherichia種が減少する。

40

【0436】

概要

VE303は、マウスのCDI治療に効果的である健康なヒトドナーから単離した8つのClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVII株の合理的に設計されたコンソーシアムである。VE303は、正常で健康な有志(NHV)において安全であり、忍容性が良好である。VE303株は、NHVに堅牢に定着し、約10~100倍に拡大し、最大12週間持続する。高用量のVE303は、Bacteroidetes及びClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVII種の拡大を促進し、Proteobacteria種を減少させることによるバンコマイシン誘発性腸内毒素症の迅速な回復と関連付けられる。

50

【0437】

実施例4：バンコマイシン後の経口VE303の第1相非盲検健康有志試験の予備段階結果背景

腸内微生物叢の改変は、*Clostridioides difficile*感染（CDI）と関連付けられる。再発性CDI（rCDI）の減少が糞便微生物叢移植（FMT）により示されているが、FMTには、日常的な使用に対する制限があり、予期しないリスクがある。VE303は、rCDIの防止のために開発されているGMP条件下で製造される、合理的に定義された細菌コンソーシアムからなる画期的医薬品である。VE303は、FMTにおける臨床応答と関連付けられ、*in vitro*での*C. difficile*の増殖を抑制し、CDIモデルにおいて生存を改善する、共生、非病原性、無毒性、クローン性の細菌である*Clostridium*クラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する8つの異なる種を含む。

10

【0438】

方法

ヒト初回第1相用量漸増試験では、バンコマイシン（vanco）誘発性腸内毒素症後の健康な成人有志（HV）におけるVE303の安全性及び忍容性を評価した。薬物動態（PK）（株の定着及び耐久性）及び薬力学（PD）（常在微生物叢の抗生物質後の復元）を、長期にわたって収集した便試料に基づく糞便細菌のメタゲノミクス配列決定によって評価した。

【0439】

結果

HV（N=23、5コホート）は、図1の図表に従って、経口バンコマイシン（4日間毎日125mg、続いて漸増する単回用量、その後複数回用量のVE303カプセル）を受けた。VE303関連の有害事象（AE）はすべてグレード1かつ一過性であり、HVの30%で観察された。VE303関連の高グレードのAEまたは重度のAE（SAE）はなかった。VE303関連のAEの大部分は、胃腸系（腹部膨満、下痢、軟便、及びALT／AST増加、各8.7%；変色便または硬便、便秘、腹部不快感または腹痛、味覚障害、悪心、鼓腸、各4.3%）であった。最も一般的なグレード2～3の検査所見異常は、コレステロールの増加、血尿、ならびにリパーゼ及びアミラーゼの増加であった。

20

【0440】

単回用量コホート及び複数回用量コホートで、耐久性があり、豊富かつ用量依存的な定着が観察された。各VE303成分株は便中で検出可能であり、VE303は投薬後2日以内に10～100倍に拡大した。多くのHVにおいて、VE303細菌が12週で豊富に検出された（図19A、図19B）。VE303細菌富化対象；バンコマイシン処理後の微生物叢の回復。バンコマイシン単独対照コホートと比較した場合、VE303で治療されたHVは、有益である可能性がある分類群（例えば、*Bacteroidetes*、*Firmicutes*）の早期かつより完全な回復、及び炎症性である可能性がある分類群（例えば、*Proteobacteria*）の減少を有した。

30

【0441】

結論

VE303は、すべての用量で忍容性良好かつ安全であり、バンコマイシン治療後の正常な微生物叢の早期回復を伴う、早期、堅牢、かつ耐久性のある定着を示した。定着の堅牢性は、治療期間とともに改善された。rCDIの防止のためのVE303の第2相試験が進行中である。

40

【0442】

実施例5：VE303投与により抗生物質治療後の胆汁酸の回復が促進される背景

抗生物質（例えば、バンコマイシン）を用いた治療により、宿主微生物叢及び胆汁酸代謝物のプールが破壊される（図28）。これらの胆汁酸は、一次胆汁酸または二次胆汁酸のいずれであってもよい。具体的には、抗生物質は、例えば、有益な微生物の数を減少さ

50

せることにより、二次胆汁酸にかわって一次胆汁酸の産生を刺激する。再発性 *Clostridium difficile* 感染 (rCDI) は、一次胆汁酸の増加及び二次胆汁酸の減少と関連付けられる。糞便物質移植 (FMT) により、これらの胆汁酸欠乏が救済される。二次胆汁酸は、FMT後の *Firmicutes* の存在量と正の相関関係にあり、*Proteobacteria* OTUと負の相関関係にあることにより、rCDIが阻害される (図29)。

【0443】

方法

対象からの糞便試料を分析前に凍結乾燥させて粉碎し、均質な試料を得る。各試料を約8~12mg秤量し、正確な重量を記録した。次に、試料を酸性メタノールで抽出した。遠心分離後、試料を分割し、透明な上清の一部分を希釈せずに取っておき、もう一方の試料を100倍に希釈した。未希釈試料抽出物及び希釈試料抽出物のアリコート、を、標識した内部標準の溶液でスパイクし、穏やかな窒素流中で蒸発乾固させた。乾燥させた抽出物を再構成し、負イオンモードで取得するC18逆相HPLCカラムを備えたAgilent 1290/Sciex QTrip 6500 LC-MS/MSシステムに注入した。

【0444】

各胆汁酸親 (疑似MRMモード) またはプロダクトイオンのピーク面積を、それぞれの標識した内部標準親 (疑似MRMモード) またはプロダクトイオンのピーク面積に対して測定した。各分析の直前に準備した強化校正標準から生成した加重線形最小二乗回帰分析を使用して定量を行った。結果を、試料重量 (乾燥させた凍結乾燥糞便試料) に対して補正し、胆汁酸 ng/凍結乾燥糞便 mg として出した。

【0445】

結果

一次胆汁酸は健康な有志では低く、バンコマイシンによる治療の際に最大3~4 log増加したが (図31、図33、図34)、量はコホート1~5の間でばらつきがあった。具体的には、一次共役胆汁酸 (BA) であるグリコケノデオキシコール酸、グリココール酸、タウロケノデオキシコール酸、及びタウロコール酸が増加した (図30、図32~図34)。これらの一次胆汁酸は、コホート1~5の間でのばらつきを伴って、VE303の投与時に減少した。興味深いことに、VE303の投与は、いくつかの一次胆汁酸の迅速な枯渇と関連付けられた (図31、アスタリスクで示される)。VE303治療と一次胆汁酸の減少との関連は、線形混合効果モデリング (図34) 及びランダムフォレスト分析 (図36) によって有意であることが確認された。VE303株は、一次胆汁酸のベースラインレベルへの回復にとって最も重要な上位20個の特徴の1つであることも見出された (図35)。

【0446】

二次胆汁酸は健康な有志において高く、バンコマイシン治療で最大1~2 log減少し、VE303の投与で増加したが (図32~図34)、量はコホート1~5の間でばらつきがあった。具体的には、二次脱共役BAであるデオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸 (図32~図34) が減少した。これらの二次胆汁酸は、コホート1~5の間でのばらつきを伴って、VE303の投与時に増加した。興味深いことに、VE303の投与は、いくつかの二次胆汁酸の迅速な回復と関連付けられた (図32、アスタリスクで示される)。VE303治療と二次胆汁酸の増加との関連は、線形混合効果モデリング (LME) (図34) 及びランダムフォレスト分析 (RFA) (図36) によって有意であることが確認された。LMEについて、以下の式を利用して、VE303投与と一次胆汁酸の減少及び二次胆汁酸の増加との関連の有意性を計算した。

【数1】

10

20

30

40

50

$$BA = 1 + V_{anco} + Ve303(t) + (\text{コホート} | ID)$$

With:

V_{anco} あり = 前、最中、後

$$Ve303(t) = \sum_i Ve303_i(t)$$

式 1

RFAの、上位20個の重要な特徴の部分依存性分析+線形モデルを構築した。VE303群A株(VE303-01、VE303-02、VE303-3、VE303-05、VE303-07、VE303-8; 本明細書では「VE303群A株-胆汁酸」とも記載)は、一次胆汁酸(BA)存在量と負の関連があり、二次胆汁酸(BA)ウルソデオキシコール酸の存在量と正の関連があった。VE303群B株(VE303-04、VE303-06; 本明細書では「VE303群B株-胆汁酸」とも記載)は、二次BAのリトコール酸及びウルソデオキシコール酸の存在量と正の関連があった。加えて、常在Bacteroidetes及びClostridiumクラスターIV及びXIVa種は、二次BAデオキシコール酸と正の関連があった。VE303株は、二次胆汁酸のベースラインレベルへの回復にとって最も重要な上位20個の特徴の1つであることも見出された(図35)。

【0447】

結論

一次胆汁酸と二次胆汁酸とのバランスは、バンコマイシン治療によって改変される。二次胆汁酸は、Clostridium difficile感染(CDI)において減少し、C. difficile 孢子の発芽を制限するために重要である。VE303株は、直接的及び間接的ともに、二次胆汁酸の回復に重要である。二次胆汁酸であるデオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸はすべて、CDI患者においてFMT治療後に増加する。

【0448】

実施例6: VE303投与により抗生物質治療後の短鎖脂肪酸の回復が促進される

背景

抗生物質(例えば、バンコマイシン)を用いた治療により、宿主微生物叢及び短鎖脂肪酸(SCFA)代謝物のプールが破壊される(図28)。具体的には、抗生物質により、SCFAのレベルが低下し得る。再発性Clostridium difficile感染(rCDI)は、SCFAである酪酸塩、プロピオン酸塩、及び酢酸塩のレベルの低下と関連付けられる(図29)。糞便微生物移植(FMT)により、これらのSCFA欠乏が救済される。SCFAは、FMT後のFirmicutesの存在量と正の相関関係にある(図29)。

【0449】

方法

各試料を100mg秤量し、正確な重量を記録した。次に、試料を安定な標識した内部標準の溶液でスパイクし、均質化し、メタノールで抽出した。遠心分離後、上清のアリコート誘導体化し、対応する短鎖脂肪酸アリールヒドラジドを形成させた。反応混合物を希釈し、アリコートを、C18逆相UHPLCカラムを備えたAgilent 1290/AB Sciex Trip Quad 5500 LC-MS/MSシステムに注入した。質量分析計を、エレクトロスプレーイオン化(ESI)を使用してネガティブモードで操作した。

【0450】

個々の分析物プロダクトイオンのピーク面積を、対応する内部標準のプロダクトイオンのピーク面積に対して測定した。各分析の直前に準備した強化校正標準から生成した加重線形最小二乗回帰分析を使用して定量を行った。結果を、試料重量(乾燥させた凍結乾燥糞便試料)に対して補正し、SCFA μg /新鮮な糞便gとして出した。

【0451】

結果

SCFAは健康な有志において高く、バンコマイシン治療で最大1～1.5 log 減少し、VE303の投与で増加したが（図37～図38）、量はコホート1～5の間でばらつきがあった。具体的には、SCFAである酢酸塩、プロピオン酸塩、及び酪酸塩、吉草酸塩（図37及び図38）が減少する。これらの二次胆汁酸は、コホート1～5の間でのばらつきを伴って、VE303の投与時に増加する。興味深いことに、VE303の投与は、いくつかのSCFAの迅速な回復と関連付けられた（図37、アスタリスクで示される）。VE303治療とSCFAの増加との関連は、線形混合効果（LME）モデリング（図39）及びランダムフォレスト分析（図41）によって有意であることが確認された。LMEについて、以下の式を利用して、VE303投与とSCFAの回復との関連の有意性を計算した。

【数2】

$$SCFA = 1 + Vanco + Ve303(t) + (\text{コホート} | ID)$$

With:

Vanco あり = 前、最中、後

$$Ve303(t) = \sum_i Ve303_i(t)$$

式2

【0452】

RFAの、上位20個の重要な特徴の部分依存性分析＋線形モデルを構築した。すべてのVE303株は、酢酸塩及び酪酸塩SCFAの回復と正の関連があった。VE303群A及び群B株を、それらのSCFA回復との関連に従ってクラスター化した。VE303群A（V303-01、VE303-02、VE303-06、VE303-07；本明細書では「VE303群A株-SCFA」とも記載）は、ヘキサン酸塩SCFAレベルと正の関連があり、VE303群B（V303-03、VE303-04、VE303-08；本明細書では「VE303群B株-SCFA」とも記載）は、プロピオン酸塩SCFAレベルと正の関連がある。VE303株は、SCFAである酢酸塩、プロピオン酸塩、及び酪酸塩のベースラインレベルへの回復にとって最も重要な上位20個の特徴の1つであることも見出された（図40）。

【0453】

結論

SCFAのレベルは、バンコマイシン治療により減少する。酢酸塩、プロピオン酸塩、及び酪酸塩のレベルは、バンコマイシンの投与によって有意に減少する。これは、酪酸塩レベルが減少するCDIの対象において一貫している。VE303の投与及びVE303株の存在量は、SCFAレベルの回復と関連付けられる。これらのSCFAレベルも、CDIの患者においてFMT治療後に増加する。

【0454】

実施例7：定義された細菌コンソーシアムの株定着及び健康な有志の微生物叢及び代謝産物プールの復元

ヒトの腸内微生物叢の改変は、*Clostridium difficile* (C. difficile) のような日和見病原体による感染と関連付けられる。C. difficile 感染の再発率の低下は、糞便微生物叢移植（FMT）により示されているが、FMTには特有のリスク及び変動性がある。再発性C. difficile 感染（rCDI）の予防のための生きた生物学的製剤（LBP）であるVE303。VE303は、*Clostridium* クラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する8つの精製されたクローン性株からなる合理的に定義された細菌コンソーシアムである。本株は、健康な有志の糞便物質から単離し、純粋培養物として保管し、cGMP条件下で製造したものである。VE303の安全性、忍容性、薬物動態（PK）、及び薬力学（PD）を、健康な有

10

20

30

40

50

志（ $N=33$ ）において評価した。漸増用量のVE303を、5日間にわたる経口バンコマイシンと併せてまたは併せずに投与した。糞便試料を最大6か月間長期にわたって収集し、Illuminaプラットフォームでメタゲノム配列決定を行って、経時的なVE303株の定着（薬物動態、PK）と、バンコマイシン曝露後の常在微生物叢の回復ならびに短鎖脂肪酸（SCFA）及び胆汁酸（BA）のレベル（薬力学、PD）とに対するその影響を定量化した。LBPのメンバーを常在株から区別することによってPKを正確に定義するために、各VE303株に固有のマーカー配列を利用する拡張性バイオインフォマティクス法を開発した。バンコマイシン後のVE303投与は、すべての用量レベルで、安全であり、忍容性が良好であった。VE303株の存在量が急速に増加した投薬条件を特定し、コンソーシアムの投与から少なくとも6か月後に検出した。VE303により、バンコマイシン後の腸内微生物叢の回復も強化され、このことは、Clostridium及びBacteroidetes種の増加が加速し、Proteobacteriaが減少したことによって示される。VE303株の定着は、バンコマイシン投与後の便で測定されたSCFA及び二次BAの迅速な回復とも関連付けられた。まとめると、これらのデータにより、合理的に定義された細菌コンソーシアムに基づくLBPが、安全であり、腸に耐久的に定着することができ、ヒトレシピエントの腸恒常性を促進することが可能であることが、初めて示される。

【0455】

実施例8：VE303により、成人の健康な有志（HV）においてバンコマイシン誘発性腸内毒素症後に腸内微生物叢が安定して回復する

腸内微生物叢の改変、ならびに胆汁酸（BA）及び短鎖脂肪酸（SCFA）を含む定着耐性及び宿主応答に関与する代謝産物における結果としての変化は、C. difficile感染（CDI）の特質である。再発性CDI（rCDI）の減少が糞便微生物叢移植（FMT）で観察されているが、FMTには、日常的な使用に対する制限があり、予期しないリスクがある。VE303は、rCDIの防止のために開発されている画期的医薬品であり、適正製造基準（GMP）条件下で製造される合理的に定義された細菌コンソーシアムからなる。VE303は、FMTの臨床反応と関連付けられる共生細菌であるClostridiumクラスターIV、XIVa、及びXVIIに属する8つの異なる種で構成される。VE303は、in vitroでC. difficileの増殖を抑制し、in vivoで生存率を改善する。

【0456】

ヒト初回第1相用量漸増試験では、バンコマイシン（vanco）誘発性腸内毒素症後の健康な有志（HV）におけるVE303の安全性及び忍容性を評価した。細菌株の定着及び耐久性を含むVE303薬物動態（PK）、ならびに常在微生物叢、SCFAプール、及びBAプールの回復を含む薬力学（PD）を、糞便材料のメタゲノミクス配列決定及びメタボロミクス分析によって評価した。

【0457】

23人の健康な有志が、5日間毎日125mgの経口バンコマイシン、続いて漸増する単回用量、その後複数回用量のVE303カプセルを受けた（総用量範囲 1.6×10^9 コロニー形成単位（CFU）～ 1.1×10^{11} CFU）。VE303関連の有害事象（AE）は、HVの35%で観察され、ほとんどが胃腸系であり、すべてグレード1かつ一過性であった。VE303株による定着は、豊富で、耐久性があり（24週目に検出）、用量依存的であった。VE303は10～100倍に急速に拡大し、各株は投薬後2日以内に検出可能であった。VE303により、バンコマイシン治療後の対象の微生物叢及び代謝回復が強化された。バンコマイシン単独コホート（ $N=5$ ）と比較した場合、VE303により、有益な分類群（例えば、Bacteroidetes、Firmicutes）の早期かつより完全な回復、炎症性分類群（例えば、Proteobacteria）の減少、ならびに二次BA及びSCFAプールの回復が生じた（例えば、図42を参照されたい）。

【0458】

合理的に設計された微生物コンソーシアムである V E 3 0 3 は、安全で忍容性が良好であり、用量依存的な様式で、抗生物質誘発性腸内毒素症後の微生物叢組成を効率的に回復した。V E 3 0 3 は、微生物叢の組成、胆汁酸、及び S C F A プールを含む、応答の主要な P D マーカーの早期回復と関連付けられる。r C D I の防止のための V E 3 0 3 の第 2 相試験が進行中である (N C T 0 3 7 8 8 4 3 4) 。

【 0 4 5 9 】

実施例 9：定義された細菌コンソーシアムの株定着及び抗生物質曝露後の健康な有志の微生物叢の回復の評価

ヒトの腸内微生物叢の改変は、*Clostridium difficile* (*Clostridium difficile*、*C. difficile*) のような日和見病原体による感染と関連付けられる。*C. difficile* 感染の再発率の低下は、糞便微生物叢移植 (FMT) により示されているが、FMT には特有のリスク及び変動性がある。*C. difficile* 再発 (rCDI) の予防のための生きた生物学的製剤 (LBP) である V E 3 0 3 は、*Clostridium* クラスター I V、X I V a、及び X V I I に属する 8 つの精製されたクローン性株からなる合理的に定義された細菌コンソーシアムである。本株は、健康な有志の糞便物質から単離し、純粋培養物として保管し、c G M P 条件下で製造したものである。第 1 a / 1 b 相試験を健康な有志 (H V、N = 3 8) において実施し、その一次転帰は、V E 3 0 3 の安全性及び忍容性の評価、ならびに第 2 相試験で再発性 C D I (r C D I) に対する有効性を試験するための用量を決定することであった。二次転帰は、V E 3 0 3 の薬物動態 (P K) 及び薬力学 (P D) を定義すること

【 0 4 6 0 】

漸増用量の V E 3 0 3 を、5 日間にわたる経口バンコマイシンと併せてまたは併せずに、33 人の健康な有志 (H V) に投与した。5 日間にわたる単独経口バンコマイシン (*vanco*) を 5 人の H V に投与した。糞便試料を最大 1 年間長期にわたって収集し、I l l u m i n a プラットフォームでメタゲノム配列決定を行って、経時的な V E 3 0 3 株の定着 (薬物動態、P K) 及びバンコマイシン曝露後の常在腸内微生物叢の回復 (薬力学、P D) に対するその影響を定量化した。生きた生物学的製剤 (LBP) V E 3 0 3 のメンバーに関連する内生微生物から区別することによって V E 3 0 3 の P K を正確に特徴付けるために、各 V E 3 0 3 株に固有のマーカー配列を利用する拡張性バイオインフォマティクス法を開発した。このツールにより、V E 3 0 3 投与後のヒト便試料中の P K 及び P D の正確な定量化が可能となった。バンコマイシン後の V E 3 0 3 投与は、すべての用量レベルで、安全であり、忍容性が良好であった。V E 3 0 3 株の存在量が急速に増加した投薬条件を特定し、投与から最大 12 か月後に検出した。V E 3 0 3 により、バンコマイシン後の腸内微生物叢の回復も強化され、このことは、*Clostridium* 及び *Bacteroidetes* 種の増加が加速し、*Proteobacteria* が減少したことによって示された。

【 0 4 6 1 】

まとめると、これらのデータにより、合理的に定義された細菌コンソーシアムに基づく LBP が、安全であり、腸に耐久的に定着することができ、抗生物質曝露後の常在微生物叢の回復を円滑にすることが、初めて示される。r C D I 患者における V E 3 0 3 の有効性を評価するための第 2 相試験が進行中である。

【 0 4 6 2 】

実施例 10：V E 3 0 3 と *C. difficile* との *in vitro* 競合

細菌組成物を、*Clostridium difficile* 増殖を抑制するそれらの能力について、*in vitro* 混合培養競合アッセイによって評価した。*Dorea longicatena* 株 6、V E 3 0 3 コンソーシアム、及び *Dorea longicatena* を含まない V E 3 0 3 を、各々評価した。*Clostridium bifermentans* を陽性対照として使用した。

【 0 4 6 3 】

馬の血液を含む Eggerth-Gagnon 寒天プレート (EG+HB) を標準的な手順に従って調製し、使用前に少なくとも 6~8 時間嫌気性環境で還元した。液体 BHI 培地は、BD Biosciences (カタログ番号 211059、San Jose、CA) から入手し、製造業者の指示に従って調製し、使用前に少なくとも 18~24 時間嫌気性環境で還元した。タウロコール酸-サイクロセリン-セフォキシチン-フルクトース寒天 (TCCFA) プレートを、標準的な手順に従って調製し、使用前に少なくとも 6~8 時間嫌気性環境で還元した。

【0464】

実験で使用した *Clostridium difficile* 株は、American Type Culture Collection (ATCC)、ATCC 43255 株からのものである。

【0465】

細菌株の各々を、嫌気性チャンバ内で 48~72 時間、冷凍グリセロールストックから EG+HB 寒天プレート上に打ち出した。単一コロニーを 10 mL の BHI 培地に接種し、嫌気性チャンバ内 37℃ で 24~48 時間増殖させた。次に、混濁した培養物を 0.1 の OD に希釈し、嫌気性チャンバ内 37℃ で 2~3 時間増殖させた。指数増殖期培養物を希釈し、同等の OD で組み合わせた。

【0466】

競合アッセイのために、VE303 の株または *Dorea longicatena* を含まない VE303 の株の各々を OD600 に基づいて等量で混合して、0.1 の最終コンソーシアム OD600 に到達させた。単一株の *C. bif fermentans* 及び *Dorea longicatena* を、0.1 の OD600 で個々に *C. difficile* と直接競合するように調製した。*C. difficile* の OD600 は、混合培養競合実験の各々において、0.1 であった。組み合わせた後、培養物を嫌気性チャンバにおいて 37℃ で 2~3 時間インキュベートし、次に *C. difficile* 増殖に選択的なプレート (TCCFA プレート) での *C. difficile* 計数のために準備した。嫌気性チャンバの内部で、各競技培養物の 100 µL 試料を収集し、1:10 で連続希釈して、 1×10^{-6} の最終希釈に到達させた。コロニー形成単位 (CFU) 計数用プレートを、 1×10^{-4} から 1×10^{-6} の希釈物の各々を 100 µL、無菌展開ループを使用して TCCFA プレート上に展開させることによって調製した。TCCFA プレートを嫌気性チャンバにおいて 37℃ で 48~72 時間インキュベートした。

【0467】

CFU の計数は、*C. difficile* 単独対照及び競合実験の各々についてコロニーを手でカウントすることによって完了した。競合の効果を判断するために、*C. difficile* のみと比較した場合の競合試料の CFU の比率を計算し、*C. difficile* のみのパーセンテージとして表して、これを 100% に設定した。結果を図 43 に示す。*Dorea longicatena* (VE303 株 6) 及び VE303 は、*C. difficile* の増殖を有意に抑制した。*Dorea longicatena* を含まない VE303 は、*C. difficile* の増殖を抑制する効果が低かった。

【0468】

実施例 11: 正常で健康な有志における生きた生物学的製剤 VE303 の薬物動態及び薬力学

共生微生物の多様性の低下及び存在量の低下など、ヒトの腸における最近微生物叢の改変は、*Clostridioides difficile* (先に *C. difficile* と称されている) のような日和見病原体による感染と関連付けられる。糞便微生物叢移植 (FMT) などの多様な微生物叢を復元することを目的とした現在の微生物叢ベースの治療は、*C. difficile* 再発率の低下を示している。しかしながら、ドナーからのほとんど特徴付けられていない糞便物質の大部分を移入することが必要となる FMT 及び類似のアプローチは、性質として本質的に不定であり、定義が不十分であり、感染性病原体を伝染させる可能性がある。FMT の結果としての微生物叢の全体的な変化が報告さ

10

20

30

40

50

れているが、投与された糞便微生物叢と結果として生じる微生物叢の変化との関連を測定することは実用的ではない。C. difficile再発（rCDI）の防止のためにVE303と呼ばれる生きた生物学的製剤（LBP）を開発した。VE303コンソーシアムは、Clostridiumの8つのクローン性株からなる合理的に設計された治療薬である。これらの株は、健康な有志の糞便物質から単離し、十分に特徴付け、GMP条件下で個々に増殖させたものである。健康な有志におけるVE303の安全性、忍容性、及び定着を評価するために、第1a／1b相用量漸増試験を開始し、進行中である。

【0469】

また、生きた生物学的製剤（LBP）の薬物動態（PK）及び薬力学（PD）を決定するための新規のバイオインフォマティクス法が本明細書に記載され、株が耐久的及び堅牢にヒトの腸に定着する条件が示される。VE303株は、投与後に存在量が急速に増加し、コンソーシアムの投与の少なくとも12週後に容易に検出される。株の定着には、抗生物質による事前治療及び14日以上にわたるコンソーシアムの毎日の投与をとおした、関連する共生微生物の置換えが必要とされ、これはFMTでは達成できないプロトコルである。抗生物質投与後の微生物叢回復の評価により、VE303投与がBacteroidetes種の回復を促進し、Proteobacteriaの存在を減少させたことが示された。加えて、VE303の投与は、多くの短鎖脂肪酸（SCFA）の回復、及び抗生物質後の一次胆汁酸のサブセットの二次胆汁酸への生体内変換を大幅に強化することが見出された。まとめると、これらのデータにより、LBPがFMTの安全な代替手段であり、腸に耐久的に定着し、ヒトレシピエントの微生物叢を調節できることが初めて示される。

【0470】

本明細書に記載の方法により、生きた微生物コンソーシアムに基づく療法のためのPK及びPDの決定が可能になる。微生物コンソーシアムの安全性を確立し、PK及びPD法を定義するために、正常で健康な有志（NHV）における治験新薬（IND）の一部として第1相試験を実施した。VE303薬物製品は、医薬品適正製造基準（GMP）の規制に準拠した標準化された拡張性のプロセスを使用して製造し、凍結乾燥形態で供給した。VE303は、本明細書に記載されるように、Clostridiaの8つの十分に特徴付けられた、遺伝子操作されていない、クローン由来の、非病原性、毒素非産生性の共生株からなるLBPである。VE303コンソーシアムは、CDIの再発を防止するために開発された。VE303コンソーシアムのPK及びPDは、VE303株を内在近縁種から判別するために特別に設計された新規のバイオインフォマティクスアルゴリズムを使用して広範囲に調査した。さらに、VE303投薬レジメンは、健康な有志において最適化されているため、1年を通して持続するヒトの腸内でのVE303株の安全で耐久性のある堅牢な定着を示す。VE303には、常在微生物群集の回復、ならびに抗生物質誘発性腸内毒素症後のNHVにおける胆汁酸（BA）及び短鎖脂肪酸（SCFA）を含む代謝産物の部分的な回復を円滑にする能力もある。

【0471】

再発性C. difficile感染は、ClostridiumクラスターIV及びXIVaに属する細菌の存在の減少と関連付けられ、FMTはこの欠乏を復元すると報告されている。生きた生物学的製剤（LBP）VE303は、ClostridiumクラスターXIVaからの5株、Clostridium IVからの2株、及びClostridium XVIIからの1株を含む、8つの十分に特徴付けられた、クローン由来の、非病原性、毒素非産生性のClostridiaの共生株のコンソーシアムである。これらの株は、元は健康なヒトドナーの便に由来した。VE303 LBPは、VE303が酢酸塩及び酪酸を含むSCFAを産生し、in vitro及びin vivo両方のマウスモデルにおいてC. difficileの増殖を抑制するので、50個超の株を含むコンソーシアムを含む共生Clostridiaの他のLBPと比較して、優れた再現性の保護を示す。VE303コンソーシアムを、適正製造基準を使用して製造し、8つの株の凍結乾燥混合物を含むカプセルに製剤化した。VE303コンソーシアム内の個々の菌株は、ヒト腸内の本来の状態と比べて、いかようにも操作も修正もしていない。

【0472】

バンコマイシン（v a n c o）誘発性腸内毒素症後の正常で健康な成人有志（N H V）におけるV E 3 0 3の安全性及び忍容性を評価するために、ヒト初回第1相用量漸増試験を設計した。主要目的は、身体検査、バイタルサインの評価、及び臨床検査測定値の変化に基づいて、G I症状を含む有害事象（A E）を評価することにより、V E 3 0 3の最も安全で忍容性の良好な投薬レジメンを特徴付けることであった。副次的目的には、V E 3 0 3成分細菌による腸内微生物叢の定着、V E 3 0 3投薬の結果としての腸内微生物叢の変化、及び便のメタボロミクス変化の評価を含めた。

【0473】

健康な有志（N = 33）を試験に登録し（ベースライン特性は表4）、経口バンコマイシン（5日間毎日（Q I D）125mg）もしくはバンコマイシン及び続いての漸増用量のV E 3 0 3のいずれか、またはバンコマイシン前治療なしの最高用量のV E 3 0 3（総用量範囲 $1.6 \times 10^9 \sim 1.1 \times 10^{11}$ C F U）を与えた（図44）。対象の素因を表4に示す。本試験では、対象の85%で有害事象が観察された（詳細については表5A及び表5Bを参照）。バンコマイシンまたはV E 3 0 3のいずれかに起因する有害事象（A E）が、バンコマイシン治療を受けた対象の50%、V E 3 0 3治療を受けた対象の35%で観察された。V E 3 0 3関連のA Eはすべてグレード1で一過性のものであった。これらのA Eのほとんどは性質として胃腸系であり、腹部膨満、下痢、軟便、アラニンアミノトランスフェラーゼ／アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（A L T／A S T）の増加、変色した便または硬便、便秘、腹部不快感または腹痛、味覚障害、悪心、及び鼓腸が含まれた（詳細については表6を参照）。最も一般的なグレード2～3の検査所見異常は、コレステロールの増加、血尿、ならびにリパーゼ及びアミラーゼの増加であった。

【0474】

V E 3 0 3薬物製品中の未修飾株を検出すること、及びそれらを便中の関連する内在株と区別することは、特に8つすべての株がそれらの最近縁種と98%超の平均ヌクレオチド同一性（A N I）を共有することから、ヒト腸内のV E 3 0 3薬物動態（P K）を正確に決定する上で大きな障害となった（表3）。それを理由に、V E 3 0 3コンソーシアムメンバー株に関連性の高い内在分類群から区別することを可能にする新規のバイオインフォマティクス法を開発した（「方法」に記載）。簡潔に言うと、便メタゲノムにおけるV E 3 0 3株の検出には、固有の50塩基対（b p）ゲノムマーカー、マーカー回復の深度の評価（任意のマーカーに一致する配列リードの数を各株に対するマーカーの総数で割ったもの）、及びマーカー回復のカバレッジ（一致するリードが1以上であるマーカーの数を各株に対するマーカーの総数で割ったもの）を利用した。平均マーカー深度が $0.1 \times$ を超え、検出されたマーカーのカバレッジが、多項分布から予想される平均を2標準偏差下回る最小閾値（マーカーのドロップアウトを見越して25%のゼロインフレーションにて）を超えた場合に、株が「検出」されたとみなした。 $0.1 \times$ の平均マーカー深度閾値は8つすべての株で標準であったが、V E 3 0 3を投与した対象と投与しなかった対象とを比較することにより株検出事象を事後的に評価して、信頼性を高めた。株を、信頼性の低いマーカーカバレッジまたは深度閾値に基づいて、「可能性あり」、「データ不十分」、または「検出せず」と決定した（「方法」を参照）。各株の存在量及び常在細菌分類群の存在量を、One Codexソフトウェア（onecodex.com）と、健康なヒトの便試料からの細菌分離株に対応する細菌ゲノムと組み合わせたOne Codexによって組み立てられたゲノムの独自データベースとを使用して決定した。

表3：V E 3 0 3コンソーシアムメンバー

10

20

30

40

50

【表 4】

株	Clostridium クラスター	最近縁種 (学名)	最近縁種 (NCBI TaxID)	FastANI 同一性 (%)	ゲノム長 (bp)
VE303-01	XIVa	Clostridium bolteae 90A9	997894	99.7576	6071159
VE303-02	IV	Anaerotruncus colihominis DSM 17241	445972	99.155	3538351
VE303-03	XIVa	Sellimonas intestinalis	1653434	99.4586	3195208
VE303-04	XIVa	[Clostridium] symbiosum WAL-14163	742740	99.0591	5600243
VE303-05	XIVa	Clostridia bacterium UC5.1-1D4	1697784	98.6518	5944559
VE303-06	XIVa	Dorea longicatena CAG:42	1263074	98.4309	3439497
VE303-07	XVII	Erysipelotrichaceae bacterium 21_3	658657	99.4812	4386760
VE303-08	IV	Flavonifractor plautii 1_3_50AFAA	742738	98.1231	4771756

【0475】

便試料を健康な有志各々について長期にわたって収集して、ベースラインの微生物叢組成、バンコマイシン投与後の微生物叢、ならびにLBP投与後のVE303コンソーシアムメンバーの普及率及び存在量をメタゲノミクス配列決定により決定した(図49)。各便試料を、Illumina NextSeqプラットフォームにおいて4ギガベースを超える標的深度で配列決定し、VE303株のPKを決定した。VE303株は、ベースライン時点の一部の対象と、8週目及び12週目のバンコマイシンコホートとにおいて、低い存在量で検出された(図50)。バンコマイシンコホート及びVE303コホートにおける「検出」株の平均マーカー深度及びマーカーの割合の比較により、バンコマイシンコホートで検出された株は、ゲノムカバレッジが低下し、VE303株の近縁種である可能性が高いことが示された(図51)。VE303を投与した対象で検出された株は、検出されたマーカーの割合が有意に高く、より深度が大きかった。

【0476】

バンコマイシンの投与は、一次胆汁酸から二次胆汁酸への生体内変換、及び短鎖脂肪酸(SCFA)産生に不可欠な細菌を排除または減少させることが知られている。したがって、健康な微生物群集の回復を促進するVE303の能力及びその代謝状態を検査した。バンコマイシンの投与により、ClostridiumクラスターIV及びXIVa種の存在量が検出不能レベルに減少した。これらの際立った特徴により、検出された株がLBPコンソーシアムメンバーであり近縁種ではない可能性が高いことに起因して、VE303を投与した対象におけるコンソーシアムメンバー株のPKを決定することが可能になった。バンコマイシン投与後にVE303を投与した対象(コホート1~5)では、VE303の細菌株がVE303投与後最初の24~48時間以内に迅速に検出され、その後、存在量を増加させて、ClostridiumクラスターIV及びXIVa陥凹部を占有した(図45B)。バンコマイシン及びVE303の単回用量(コホート1~3)の後、10日目(VE303の開始から4日後)に株の37.5%~75%の中央値が検出された(図45A)。VE303の単回用量を受けた個人間でかなりのばらつきがあったものの、LBP成分株がすべての対象においてVE303投与の直後に検出された。とりわけ、コホート1の対象059で8つすべての株が検出され、好ましい微生物叢条件下では単回の低用量のVE303でも堅牢な定着が達成可能であることが示唆された(図50)。

単回の漸増用量コホート（コホート1～3）の間で検出されたV E 3 0 3株の数に用量応答はなかったが、微生物叢の状態はコホート1の対象において最も好ましいようであり、これは、これらの対象における総V E 3 0 3株存在量がコホート2及びコホート3と比較してより大きかったことによって示される。

【0477】

単回用量コホートと比較して、バンコマイシン治療後の複数日のV E 3 0 3投与（コホート4～5）により、より堅牢で一貫した株検出がもたらされた。10日目に検出されたV E 3 0 3株の比率の中央値は、80～100%であり（図45A）、コホート4の6人の対象のうち5人、及びコホート5の8人の対象のうち7人において、2時点以上でV E 3 0 3コンソーシアムの全メンバーが定着した（図50）。V E 3 0 3株の総存在量は、コホート5において初期（急性）と後期との両方の時点で最も高く、複数日のL B P投与により、最も堅牢で耐久性のあるP Kが達成されたことが示された。このデータにより、複数日のV E 3 0 3投与にもかかわらず、バンコマイシン投与がV E 3 0 3株による健康な有志への定着を可能にしたことが示され（図45、コホート6）、常在C l o s t r i d i u m株がV E 3 0 3株定着を制限したことが示唆された。

【0478】

重要なことに、バンコマイシンを使用して細菌の多様性を減少させ、V E 3 0 3を複数日にわたって投与した場合、L B P株は、少なくとも12週間、迅速、堅牢、かつ耐久的に、対象に定着することができた。定着が最大であったコホート（コホート1、4、及び5）では、V E 3 0 3の投薬開始から最初の数日以内に、V E 3 0 3株の相対的存在量が全微生物叢の約5～10%に拡大し（図45B）、1人の対象においては全微生物叢の60%以上に達した（図51）。この最初の拡大後、V E 3 0 3株の相対的存在量は微生物叢の1～5%に減少したが、少なくとも12週間は安定したままであった。臨床観察と併せたこれらのデータにより、最適な微生物叢及び投薬条件下で、V E 3 0 3コンソーシアム株が安全であり、ヒトの腸に堅牢かつ耐久的に定着できることが明確に示される。

【0479】

ベースライン時、バンコマイシン投与後、及びV E 3 0 3株の存在下と非存在下との両方での回復期中に収集したショットガンメタゲノミクスデータを使用して、健康な有志における便微生物叢の動態、及び抗生物質誘発性腸内毒素症からの回復におけるV E 3 0 3の役割を評価した。予想通り、ベースラインの微生物叢は多様性が高く（図52）、すべての対象でB a c t e r o i d e t e s及びF i r m i c u t e s種が優勢であった。バンコマイシン投与により、細菌バイオマス（図54）及び多様性（図53）が大幅に減少し、微生物叢の組成に転換がもたらされ、これは、B a c t e r o i d e t e s及びF i r m i c u t e sの減少、ならびにP r o t e o b a c t e r i aの拡大によって示される（図46A）。とりわけ、健康な有志のバンコマイシン後の微生物群集は、r C D I対象の群集²（及び未公開の観察）に似ていた。バンコマイシンのみを与えた健康な有志の微生物群集は、抗生物質を与えてから1か月以内にB a c t e r o i d e t e s及びF i r m i c u t e s種のベースラインレベルに回復し（図46A）、微生物叢の多様性は12週間以内に部分的に回復した（図53）。これらの群集レベルの観察は、臨床的安全性の観察と一貫している。B a c t e r o i d e t e s種のベースラインレベルへの回復は、高用量のV E 3 0 3を与えた対象において1週間以内に生じた（図46A及び図46C）。バンコマイシンの非存在下では、有意な微生物群集の変化は観察されなかった（図46A、コホート6）。

【0480】

全体的な微生物叢の健康を定量化するために、ベースラインで優勢であった細菌クラス（B a c t e r o i d i a、C l o s t r i d i a、A c t i n o b a c t e r i a、及びC o r i o b a c t e r i a）と、バンコマイシン後に優勢であり、疾患と関連付けられる場合が多い細菌クラス（B a c i l l i、G a m m a p r o t e o b a c t e r i a、及びN e g a t i v i c u t e s）との比率を計算した（図54）（rebioti.com/scientific-evidence/microbiota-res

10

20

30

40

50

toration-therapy-posters/microbiome-rehabilitation-biomarkers-clostridium-difficile-infections-prototype-microbiome-health-index/）。この「微生物叢指数」(MI)は、ベースラインで高く、バンコマイシン投与によって有意に減少し、バンコマイシンのみを受けた対象において1か月以内にベースラインレベルに回復した(図46B)。しかしながら、VE303を受けた対象では、MIはLBP投与を開始してから1週間以内に増加し、このMIの増加は、用量依存的であった(図46D)。バンコマイシン事前治療の非存在下でVE303を受けた対象ではMIの変化は観察されず(図46B)、これは臨床的安全性の結果と一致する。これらのデータにより、VE303が、腸に迅速に定着するだけでなく、微生物群集の部分的な回復を促進できることが示唆され、これにより、抗生物質療法後、C. difficileのような病原体に対する耐性が増強され得ることが示唆される。

10

【0481】

バンコマイシンが胆汁酸濃度に与える影響を決定し、VE303の薬力学を測定するために、一次及び二次胆汁酸濃度を、ベースライン時、バンコマイシン投与中、及びVE303を投与した場合としなかった場合とのバンコマイシン後の回復期における対象の便中で測定した(表6)。試料収集の困難により、代謝産物プロファイリングは、すべてのコホートでバンコマイシン後の急性(初期)回復期間に限定された。胆汁酸は伝統的に脂肪の消化に重要であると考えられているが、二次胆汁酸が腸の健康を促進し、CDIを阻害する上で幅広い役割を担っている証拠が増えている。一次胆汁酸(コール酸及びケノデオキシコール酸)ならびにグリシン及びタウリン共役型(グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、及びタウロケノデオキシコール酸)は、ベースライン時に低濃度で検出され、便中の総胆汁酸プールのごく一部を構成する(図47A及び図57)。ベースライン時の胆汁酸プールの大部分は、脱共役した二次胆汁酸(デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸)からなった。二次胆汁酸のグリシン及びタウリン共役型(グリコデオキシコール酸、タウロデオキシコール酸、グリコリトコール酸、タウロリトコール酸、グリコウルソデオキシコール酸、及びタウロウルソデオキシコール酸)のベースラインレベルは低かった。バンコマイシン治療により、一次胆汁酸の割合の増加、及び脱共役した二次胆汁酸の減少が生じた。この観察結果は、一次胆汁酸の脱共役及び生体内変換を促進することができる細菌種のバンコマイシンを介した減少と一致する。バンコマイシン治療後、及び微生物群集が回復するにつれて、バンコマイシンのみを受けた対象の胆汁酸プールにおける回復の極めて初期の兆候が観察される。この回復は、最終試料を収集した9日目には不完全であった。

20

30

【0482】

胆汁酸の全体的な変化を定量化するために、脱共役した二次胆汁酸(ベースライン時に優勢)と一次胆汁酸(バンコマイシンによって上昇)との比率を計算した。この「胆汁酸指数」(BAI)は、ベースライン時に高く、その後バンコマイシン投与によって劇的に減少し、バンコマイシンのみを受けた対象における回復の極めて早期の兆候を示した(図47B)。しかしながら、VE303の複数回用量を受けた対象(コホート4及びコホート5)では、VE303投与の1~2週間以内にBAIが増加した(図47B)。全体的な胆汁酸プロファイル(図47A)またはBAI(図47B)の変化は、VE303のみを受けた対象では観察されなかった。これらのデータは、より高い用量のVE303が胆汁酸プールの早期回復を促進できることを示唆する。

40

【0483】

胆汁酸の存在量がバンコマイシンによって改変されたかどうか、及び総VE303存在量がそれらの抗生物質後の動態に著しく影響したかどうかを試験するために、線形混合効果モデリングを開発した。各個々の一次胆汁酸を見ると、抗生物質の投与により、その存在量が抗生物質前と比較して有意に増加し、一方で、VE303の総存在量は、大部分の一次胆汁酸(タウロコール酸及びタウロデオキシコール酸以外すべて)のレベルの有意な減少を予見することが見出された(表7A及び表7B)。対照的に、バンコマイシン治療

50

により、B A I 依存性 7 a 脱ヒドロキシ化二次胆汁酸、リトコール酸、及びデオキシコール酸のレベルが有意に減少したことが見出され、一方で、総 V E 3 0 3 存在量により、バンコマイシン投与後のその回復が強化されることが見出された。加えて、バンコマイシンはウルソデオキシコール酸に著しく影響しないようではあったが、V E 3 0 3 は、抗生物質治療後のその存在量を大幅に強化することが見出された。

【0484】

個々の V E 3 0 3 コンソーシアムメンバー及び在細菌種がバンコマイシン投与後の胆汁酸動態に与える影響を、ランダムフォレスト回帰 (R F R) によって切り離した。R F R を選択したのは、これがいずれの基礎となるモデル構造も想定しておらず、かつ陰的特徴選択を行うため、可能性のある予測因子の大型プールから各代謝産物の存在量に対する最良の寄与因子を検出することを可能にすることに起因する (図 4 7 C)。R F R により、V E 3 0 3 株のいくつかは、胆汁酸動態に影響を与える上位 2 0 個の最も重要な種に入ることが特定された (図 4 7 D)。具体的には、一次胆汁酸 (共役型と非共役型との両方) は、バンコマイシン離脱後、時間の経過とともに徐々に存在量が減少し、R F R により、V E 3 0 3 種が、この衰退と関連付けられる上位 2 0 個の重要な種のうちの 1 つであることが示された (図 4 7 D、図 5 5)。さらに、R F R により、V E 3 0 3 種が、観察された二次胆汁酸の増加と関連付けられることが示された (図 4 7 D、図 5 5)。V E 3 0 3 の役割は、ケノデオキシコール酸のエピマー化反応の副産物であるウルソデオキシコール酸 (ウルソジオールとも称される) の回復においてより一貫していた。

【0485】

微生物叢産生短鎖脂肪酸 (S C F A) は、腸バリア機能を促進することにより腸において、及び抗炎症、抗腫瘍形成、及び抗菌機能を提供することにより末梢組織において、宿主の生理学にプラスの影響を与えることが知られている。S C F A レベル及び S C F A 産生細菌の存在量の減少は、代謝性疾患、心血管疾患 (例えば、Chambers et al., Current Nutrition Reports (2018) 7 (4), 198-206 参照)、NAFLD (例えば、Rau et al., United European Gastroenterology Journal (2018) Dec 6 (10), 1496 参照)、IBD (例えば、Venegas et al., Front Immunology 11 March 2019 参照)、GvHD (Matthewson et al., Nat Immunology (2016) May 17 (5) 505-513)、及び食物アレルギー (例えば、Roduit et al., Allergy (2019), April 74 (4) 799 参照) を含む多数の疾患のリスク増加と関連付けられている。

【0486】

バンコマイシン及び V E 3 0 3 が S C F A 濃度に与える効果を決定するために、S C F A を、ベースライン時、バンコマイシン投与中、及び V E 3 0 3 ありの場合となしの場合とのバンコマイシン後の回復期中の対象の便において測定した (表 6、図 4 8 A)。線形混合効果モデリングを行って、S C F A がバンコマイシンによって改変されたかどうか、及び総 V E 3 0 3 存在量がそれらの抗生物質後の動態に著しく影響したかどうかを試験した (図 8 A 及び図 8 B)。測定したすべての S C F A レベル (ヘキサン酸塩を除く) は、バンコマイシン治療によって低下し、V E 3 0 3 の非存在下で抗生物質投与前のレベルを下回ったままであった。さらに重要なことに、バンコマイシンの影響を受けたすべての S C F A レベルが V E 3 0 3 投与に応答して有意に増加することも見出され、これにより、S C F A 回復における V E 3 0 3 の有益な効果が示唆される。

【0487】

V E 3 0 3 の効果を、S C F A の抗生物質後動態に対する回復中の微生物叢の効果から切り離すために、ランダムフォレスト回帰 (R F R) を再度行った。予想通り、R F R により、V E 3 0 3 株のうちのいくつかは、S C F A レベル動態と関連付けられる上位 2 0 個の最も重要な種に入ることが特定され、さまざまな V E 3 0 3 株が、酢酸塩、酪酸塩、プロピオン酸塩、イソ酪酸塩、メチル酪酸塩、及びイソ吉草酸塩のレベルの増加と関連付

けられることが予測された（図48C、図56）。これらのデータを総合すると、VE303は抗生物質による攪乱の後のSCFAの回復に影響を与えるだけでなく、観察された回復の主要な要因であることが示唆される。

【0488】

VE303は、CDIの再発を防止するために開発したものであり、その株の安全で堅牢かつ耐久的な定着を示した。特定の理論に制限されるものではないが、VE303が治療効果を達成する予測される機序を図61に例解する。VE303の最高安全用量を含む最適な投薬レジメンも決定した。抗生物質を介した宿主微生物叢の攪乱がVE303による定着に必要であることをさらに確立した。

【0489】

加えて、LBP株の定着及び耐久性、ならびに宿主微生物群集の変化をモニタリングするために、薬物動態（PK）及び薬力学（PD）法を開発した。これらの画期的方法は、今後のLBPをモニタリングするために利用され得る（図60）。さらに、抗生物質（例えば、バンコマイシン）の投与後の、短鎖脂肪酸及び胆汁酸を含む微生物群集及び代謝産物プールの回復をモニタリングすることを可能にする方法を開発した。

【0490】

参考文献

1. Minot, S. S., Krumm, N. & Greenfield, N. B. One Codex: A Sensitive and Accurate Data Platform for Genomic Microbial Identification. *BioRxiv* (2015). doi:10.1101/027607
2. Smillie, C. S. et al. Strain tracking reveals the determinants of bacterial engraftment in the human gut following fecal microbiota transplantation. *Cell Host Microbe* 23, 229–240. e5 (2018).
3. Berlin, K. et al. Assembling large genomes with single-molecule sequencing and locality-sensitive hashing. *Nat. Biotechnol.* 33, 623–630 (2015).
4. Cock, P. J. A. et al. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics* 25, 1422–1423 (2009).
5. Lessa, F. C. et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N. Engl. J. Med.* 372, 825–834 (2015).
6. Leffler, D. A. & Lamont, J. T. *Clostridium difficile* infection. *N. Engl. J. Med.* 372, 1539–1548 (2015).
7. Cohen, S. H. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 31, 431–455 (2010).
8. Kyne, L. & Kelly, C. P. Recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Gut* 49, 152–153 (2001).

10

20

30

40

50

9. Pothoulakis, C. Effects of *Clostridium difficile* toxins on epithelial cell barrier. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 915, 347–356 (2000).

10. Tonna, I. & Welsby, P. D. Pathogenesis and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Postgrad. Med. J.* 81, 367–369 (2005).

11. Gough, E., Shaikh, H. & Manges, A. R. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin. Infect. Dis.* 53, 994–1002 (2011).

【0491】

方法

株ゲノム及び便メタゲノム配列決定

VE303細菌gDNAを、IlluminaプラットフォームとPacific Biosciencesプラットフォームとの両方で配列決定した。Illuminaライブラリは、TruSeq DNA PCR-Free Library Prepを使用して構築し、MiSeqシーケンサーで配列決定した。VE303株の各々のPacific Biosciences (PacBio) ライブラリは、SMRTbell Template Preparationキットを使用して調製し、University of Maryland Institute for Genome Sciences (Baltimore, MD, USA) において、RS II (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA) で配列決定した。VE303ゲノムアセンブリは、HGAP Assembler (SMRTAnalysis 2.3.0) 及びCera Assembler v. 8.2³を使用するPacBio配列を使用して生成し、University of Maryland Institute for Genome Sciencesのバイオインフォマティクスコアによって品質が評価された。便試料を新鮮な状態で収集し、およそ250mgをOMNIgene-GUTチューブ (DNAgenotek, Ottawa, CAN) に移し、製造業者の指示に従って保存緩衝液に再懸濁した。次に、保存した便懸濁液を抽出し、標準的な操作手順を使用してDNAgenotekにてIllumina NextSeqプラットフォームで配列決定した。

【0492】

株検出アルゴリズムの確立

VE303生物の各々に固有のゲノム領域を、1) One Codex微生物ゲノムデータベースに存在しない各VE303株ゲノムについて重複するk-mer (k=31bp) の候補セットを特定し、2) One Codexデータベース中のいずれの他の参照ゲノムにも見られず、いずれの他のVE303株ゲノムにも見られず、かつ他の候補ゲノム領域を有する17bpの部分配列を共有しなかった、固有のゲノム領域(50塩基対(bp)ウィンドウ)の最終セットを特定することによって、特定した。VE303株あたり1,539~10,847の範囲で、合計43,955個のゲノム領域がこれらの基準を満たした。この最初のゲノム領域のセットを、249個の健康なヒト便メタゲノム配列決定データセットで検出された領域、及びVE303株の純粋培養物からの全ゲノムショットガン配列データセットにおいて低率で回収されたいずれの領域も除外することによって、さらに精緻化した。この排他性試験ステップに続いて、VE303株あたり260~7,282の範囲で、14,319個のゲノムマーカーの最終セットを特定した(図63)。Illumina全ゲノムメタゲノム配列決定データセットからのVE303株の検出は、固有のゲノムマーカー領域に依存した。50bpのゲノム領域の各々は、全ゲノムメタゲノム配列決定プロセスをとって生成された配列断片(「リード」)よりも短い。したがって、固有のゲノム領域は、メタゲノムリードのうちのいずれかのなかの部分配列

として検出された。1) 配列断片が標的ゲノム領域に対して17bp以上の少なくとも1つの完全なアラインメントを含んだ場合、及び2) 50bpのゲノム領域全体が3つ以下のミスマッチで配列断片に対してアラインメントした場合、固有のゲノム領域が検出されたとみなした。正確な17bpのアラインメントの検出を、k-merアラインメントアプローチを使用して実行した。50bpゲノム配列全体の高感度アラインメントを、BioPython⁴に実装した一対アラインメントモジュールを使用して実施した。これらの基準を満たすリードが入力データセットに少なくとも1つある場合に、標的ゲノム領域の各々が存在するとみなした。

【0493】

各患者試料における各VE303株の有無を、検出された固有のゲノムマーカーの数、及び各マーカーの相対的存在量を分析することによって決定した(図62)。各VE303株を検出するために、2つの主要なメトリック、1) マーカー回復の深度：いずれかのマーカーに一致する配列断片の数をマーカーの総数で割ったものと、2) マーカー回復のカバレッジ：一致する配列断片が1つ以上あるマーカーの数をマーカーの総数で割ったものを使用した。各VE303株の検出は以下のように決定した。

●平均マーカー深度が0.1×を超え、多項分布から予想される平均を2標準偏差下回る最小閾値(マーカーのドロップアウトを見越して25%のゼロインフレーションにて)を超えた場合、「検出」。

●平均マーカー深度が0.1×を超え、検出されたマーカーのカバレッジが平均を2～4標準偏差下回る場合、「可能性あり」。

●平均マーカー深度が0.01×～0.1×にある場合、「データ不十分」。

●平均マーカー深度が0.01×を超えなかった場合、またはマーカーの数が予想平均を4標準偏差未満下回る場合、「検出せず」。

これらの方法は、1) DNA抽出及びメタゲノム配列分析の前に漸増するコロニー形成単位(CFU)の各VE303株でスパイクしたヒト便試料、及び2) VE303株ゲノムを、元の宿主ドナーの便において検出し、無関係の対照便試料では検出しない能力という2つのアプローチを使用して、各VE303株を堅牢かつ特異的に検出するために決定したものである。

【0494】

細菌群集の存在量及び微生物叢指数

微生物群集(VE303株を含む)における細菌種の推定相対的存在量を、ヒト宿主にマッピングされるリードを除去した後、質でフィルタリングしたメタゲノム配列リードから、標準的なOneCodexアルゴリズムを使用して決定した。より高い分類レベル(例えば、門または綱レベル)で、相対的存在量を、所望の分類レベルで割り当てられた配列リード(加えて、以下で割り当てられたすべてのリード)と割り当てられたリードの総数との割合として、各試料について計算した。次に、微生物群集の各種のDNAの絶対的存在量を、以下の式(3)に従って計算した。

【数3】

$$\text{存在量} = RA \times \frac{DNA_{ug}}{\text{便}_{mg}} \times \frac{V_B}{V_S}$$

式(3)

【0495】

この式では、RAは、細菌分類群の推定相対的存在量に等しい。DNA_{ug}は、総DNA収量である。便_{mg}は、収集した便の質量である(Omnigene腸チューブの最終質量-Omnigene腸チューブの平均重量)。V_Bは、Omnigene腸チューブ内の緩衝液の量である。V_Sは、DNA抽出物中の試料の量である。

【0496】

微生物叢指数を、前述のように、各メタゲノム試料における配列の綱レベルの相対的存

在量を使用して、式（４）に従って計算した（`rebiotix.com/scientific-evidence/microbiota-restoration-the-rapy-posters/microbiome-rehabilitation-biomarkers-clostridium-difficile-infections-prototype-microbiome-health-index/`）。

【０４９７】

【数４】

$$MI = \frac{(RA_{Bacteroidia} + RA_{Clostridia} + RA_{Actinobacteria} + RA_{Coriobacteriia})}{(RA_{Bacilli} + RA_{\gamma Proteobacteria} + RA_{Negativicutes})}$$

10

式（４）

【数５】

$$BAI_{便} = \frac{(RA_{二次脱共役})}{(RA_{非共役} + RA_{一次} + RA_{二次共役})}$$

式（５）

【０４９８】

20

総VE303存在量によって大きく影響を受ける分析物を決定するための線形混合効果モデリング

式（６）に従い、さまざまな分析物（胆汁酸及び短鎖脂肪酸）がどのようにVE303投与の影響を受けるのかを特定するために、線形混合効果モデリングを実施した。

【数６】

$$\text{分析物} \sim \text{治療} + ve303 + \left(\frac{PID}{\text{コホートID}} \right).$$

式（６）

30

ここで、分析物は、ある特定の時点（日）のある特定の個人におけるSCFAまたはBAで測定した密度に対応し、治療は、測定値が、バンコマイシン治療前、バンコマイシン治療中、またはバンコマイシン治療後に取得されるのかを説明するためのカテゴリ変数であり、ve303は、バンコマイシン投与後のある特定の試料におけるVE303の総存在量（DNA μg／便mg）に対応する。治療には、バンコマイシン前試料をベースラインとして使用する。データはさまざまなコホートに細分されたさまざまな患者からの繰り返しの試料であるため、患者ID（PID）／コホートIDをネスト変量効果として使用する。治療：バンコマイシン中と関連付けられたp値が0.05未満である代謝産物は、バンコマイシン治療の影響が大きいとみなされる。治療：バンコマイシン後と関連付けられたp値が0.05未満である代謝産物は、治療後及びVE303の非存在下（例えば、バンコマイシン単独コホート）でバンコマイシンの影響が大きいとみなされる。ve303と関連付けられたp値が0.05未満である代謝産物は、治療後の総VE303存在量の影響が大きい。

40

【０４９９】

VE303投与後の代謝産物動態に対するVE303及び回復中の微生物叢の効果を切り離すためのランダムフォレスト回帰

SCFA及びBAのバンコマイシン後の動態へのさまざまなVE303株の寄与を決定するため、ならびにVE303株のこれらの代謝産物への効果を、回復中の常在微生物の効果から切り離すために、ランダムフォレスト回帰（RFR）を実施して、各代謝産物の存

50

在量を、常在細菌の存在量及びVE303存在量の関数として予測した（図58及び図59）。データの反復サンプリング性質に対処するために、以前に検証されているアプローチを採用し（Haran JP, Bhattarai SK, Foley SE, Dutta P, Ward DV, Buccì V, McCormick BA. (2019) Alzheimer's disease microbiome is associated with dysregulation of the anti-inflammatory P-glycoprotein pathway. mBio 10:e00632-19 参照）、ここでは、ランダムに選択された試料の100個の異なるサブセットに対してRFRを実行し（個人あたり1つの試料を選択した後）、30個の異なる乱数シードから開始して繰り返す。微生物（常在細菌とVE303との両方）を、30×100のRFR実現にわたって並べ替えた重要度変数値に基づいてランク付けした。すべての上位の重要性上位の予測因子について、累積局所効果（ALE）プロットを生成して、各代謝産物が微生物の特徴量の変化によってどのように影響を受けるかを決定した。回帰直線を両対数変換したALEプロットに適合させ、結果をこれらの推定係数のクラスター化したヒートマップとして要約する。

【0500】

一次胆汁酸を生体内変換する能力を有する細菌を特定するための相互BLAST分析

一次BAから二次BAへの生体内変換は、胃腸（GI）内微生物叢の複数のメンバーによる協調的な努力を必要とする「群集任務」であることが最近特定された。ゲノムデータセットを使用して、リトコール酸（LCA）及びデオキシコール（DCA）誘導物質として特定された共生常在細菌の二次胆汁酸遺伝子と、ウルソデオキシコール酸（UDCA）誘導物質として特定されたVE303株とを特定し、回復した微生物叢の代謝能力をさらに調査した。共生生物については、OneCodeデータベースまたはNCBI Taxonomyデータベースから代表的なゲノムをダウンロードした。BLAST Reciprocal Best Hits (doi.org/10.1186/s13742-015-0080-7) を使用して、共生ゲノム、VE303ゲノム、及び胆汁酸（BA）変換を実行することが知られている細菌のゲノム（陽性対照）（Heinken et al. Microbiome (2019) 7(1):75) を、二次胆汁酸生合成タンパク質の参照データベースに対してマッピングした。このデータベースは、Heinkenらが述べたパラメータを使用してUNIPROTから社内でも構築した。構築したデータベースに対するこれらのゲノムからのヒットを類似性ヒートマップとして示す（図58）。

表4：定着した対象の率

【表5】

	10日目		4週目		12週目	
	コホート4	コホート5	コホート4	コホート4	コホート5	コホート5
VE303-01	83.3	87.5	66.7	87.5	100	87.5
VE303-02	66.7	75	66.7	87.5	66.7	75
VE303-03	100	87.5	66.7	100	83.3	62.5
VE303-04	100	75	83.3	100	83.3	37.5
VE303-05	83.3	75	50	75	66.7	62.5
VE303-06	66.7	62.5	83.3	75	83.3	75
VE303-07	66.7	87.5	66.7	75	83.3	50
VE303-08	66.7	75	66.7	87.5	50	62.5

表5A：VE303株存在量の中央値

【表 6 - 1】

	1 0 日目		4 週目		1 2 週目	
	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 5
VE303-01	1.43%	1.17%	0.26%	0.78%	0.11%	0.02%
VE303-02	0.10%	0.08%	0.07%	0.31%	0.04%	0.11%
VE303-03	0.62%	0.62%	0.11%	0.48%	0.56%	0.19%
VE303-04	0.58%	0.24%	0.29%	0.52%	0.58%	0.00%

10

【表 6 - 2】

VE303-05	0.51%	0.35%	0.13%	1.60%	0.05%	0.00%
VE303-06	0.61%	0.10%	0.26%	2.02%	1.55%	1.28%
VE303-07	1.19%	3.16%	0.18%	1.12%	0.48%	0.20%
VE303-08	2.37%	1.37%	0.67%	0.48%	0.51%	0.89%

20

表 5 B : V E 3 0 3 株存在量の中央値

【表 7】

	1 0 日目		4 週目		1 2 週目	
	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 4	コホート 5	コホート 4
VE303-01	1.70%	2.98%	0.48%	0.12%	0.11%	0.02%
VE303-02	0.26%	0.34%	0.16%	0.34%	0.02%	0.11%
VE303-03	0.62%	0.97%	0.77%	1.01%	0.60%	0.19%
VE303-04	0.58%	0.45%	0.45%	0.12%	0.62%	0.00%
VE303-05	0.74%	1.32%	0.34%	0.92%	0.20%	0.00%
VE303-06	1.59%	0.36%	0.31%	1.19%	1.86%	1.28%
VE303-07	1.43%	4.31%	0.68%	1.81%	0.47%	0.20%
VE303-08	2.59%	3.53%	1.24%	0.95%	1.72%	0.89%

30

表 6 : S C F A 及び B A について分析した便試料 (N)

40

50

【表 8】

コホート ID	ベース ライン	2 日 目	4 日 目	5 日 目	6 日 目	7 日 目	8 日 目	9 日 目	1 0 日目	1 3 日目	1 4 日目	1 5 日目	1 9 日目	2 0 日目	2 3 日目
Vanco	8	-*	3*	5*	5@	2	4	1	-	-	-	-	-	-	-
コホート 1	5	-*	1*	3*	2@	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-
コホート 2	5	-*	2*	3*	2@	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-
コホート 3	5	-*	3*	2*	2@	-	3	1	1	-	-	-	-	-	-
コホート 4	10	-*	-*	6*	6@	-@	5@	1@	6@	-	6	-	-	-	-
コホート 5	15	-*	-*	8*	8@	-@	8@	-@	8@	-@	7@	1@	8@	-	8
コホート 6	10	5@	-@	-@	5@	-@	-@	-@	-@	5@	-@	-@	-@	5@	-
- = 試料収集せず * = バンコマイシン投与中またはウォッシュアウト中の試料 @ = V E 3 0 3 投与中の試料（コホート 1 ～ 5 は 6 日目に開始、0 日目に開始がコホート 6）															

表 7 A：胆汁酸 L M E の結果
【表 9－1】

	バンコマイシン中		バンコマイシン後 (VE 3 0 3 なし)		バンコマイシン後 (VE 3 0 3 あり)	
	δ	p	δ	p	β	p
一次胆汁酸						
コール酸	5.592E+02	1.921E-01	1.941E+03	2.165E-06	-4.168E+02	2.090E-05
グリコケノデオキシ コール酸	7.492E+02	7.932E-03	2.750E+02	3.351E-01	-3.882E+02	2.165E-06
グリココール酸	1.398E+03	1.390E-04	2.856E+02	4.089E-01	-3.943E+02	2.093E-05
ケノデオキシコール 酸	2.603E+02	1.095E-01	4.154E+02	5.100E-03	-1.419E+02	6.668E-05
タウロコール酸	9.505E+01	9.122E-03	9.505E+01	1.884E-01	-2.837E+01	1.884E-01
タウロケノデオキシ コール酸	2.347E+01	3.462E-02	2.347E+01	6.347E-01	-1.280E+01	3.785E-01
二次胆汁酸－胆汁酸 誘発性 7 α 脱ヒドロキ シル化						
リトコール酸	- 6.865E+02	5.096E-05	- 1.206E+03	5.527E-13	1.611E+02	2.093E-05
タウロリトコール酸	-	該当なし	-	該当なし	-3.606E-01	4.519E-02

【表 9 - 2】

グリコリトコール酸	-6.194E- 01	1.884E-01	-7.816E-01	2.465E-01	-7.799E-04	9.944E-01
デオキシコール酸	- 9.983E+0 2	3.786E-05	- 1.677E+03	6.951E-12	2.044E+02	3.108E-04
グリコデオキシコー ル酸	6.748E+0 1	6.403E-03	6.748E+01	5.447E-01	-1.160E+02	7.080E-05
タウロデオキシコー ル酸	1.036E+0 2	1.884E-01	- 3.010E+01	7.110E-01	-1.054E+01	6.347E-01
二次胆汁酸 ーエピマー化						
ウルソデオキシコー ル酸	4.705E+0 0	9.295E-01	4.539E+01	3.470E-01	2.240E+01	4.519E-02
グリコウルソデオキ シコール酸	3.919E+0 1	1.574E-01	7.391E+00	7.547E-01	-1.126E+01	4.519E-02
タウロウルソデオキ シコール酸	3.929E+0 0	9.946E-02	- 2.082E+00	3.785E-01	1.115E+00	7.085E-02
δ -ベースラインからの距離 (バンコマイシン前) β -回帰係数 p -p 値						

表 7 B : 胆汁酸 L M E の結果

10

20

30

40

50

【表 10-1】

	バンコマイシン中		バンコマイシン後 (VE.303なし)		VE.303	
	δ	p	δ	p	β	p
一次胆汁酸						
コール酸	6.453E+02	1.476E-01	1.914E+03	1.875E-06	-3.833E+02	1.109E-04
グリコケノデオキシコ ール酸	8.523E+02	1.054E-02	4.011E+02	2.007E-01	-3.546E+02	1.497E-05
グリココール酸	1.357E+03	7.775E-04	2.973E+02	4.135E-01	-3.848E+02	4.340E-05
ケノデオキシコール酸	2.716E+02	9.926E-02	3.935E+02	6.567E-03	-1.308E+02	3.992E-04
タウロコール酸	1.587E+02	1.374E-01	6.966E+01	4.343E-01	-3.328E+01	1.824E-01
タウロケノデオキシコ ール酸	7.431E+01	2.878E-01	2.219E+01	7.271E-01	-2.177E+01	1.904E-01
二次胆汁酸-胆汁酸誘発性脱ヒドロキシ化						
グリコデオキシコ ール酸	3.268E+02	5.980E-03	1.355E+02	2.419E-01	-1.156E+02	1.109E-04
リトコール酸	-6.119E+02	3.512E-04	-1.150E+03	1.326E-11	1.739E+02	1.795E-05
デオキシコ ール酸	-9.509E+02	2.344E-04	-1.578E+03	1.815E-10	2.015E+02	7.540E-04

10

20

【表 10-2】

二次胆汁酸-エピマー化						
グリコウルソデオキシ コ ール酸	5.441E+01	8.691E-02	2.687E+01	3.385E-01	-9.978E+00	1.033E-01
ウルソデオキシコ ール酸	8.403E+00	9.413E-01	8.975E+01	2.700E-01	2.276E+01	2.127E-01
二次胆汁酸-その他						
タウロリトコール酸	2.117E-01	7.969E-01	該当なし	該当なし	-2.085E-01	2.878E-01
グリコリトコール酸	-6.368E-01	1.930E-01	-6.477E-01	4.135E-01	-1.316E-02	9.413E-01
タウロウルソデオキシ コ ール酸	2.059E+00	4.205E-01	2.171E-01	9.413E-01	2.147E-01	8.197E-01
タウロデオキシコ ール酸	4.977E+01	5.894E-01	-2.120E+01	8.696E-01	-3.956E+01	1.476E-01

30

40

 δ -ベースラインからの距離 (バンコマイシン前) β -回帰係数

表 8A: SCFA LME の結果

50

【表 1 1】

	バンコマイシン中		バンコマイシン後 (VE 3 0 3 なし)		バンコマイシン後 (VE 3 0 3 あり)	
SCFA	δ	p	δ	p	β	p
酪酸塩	6.620E+02	3.769E-04	1.158E+03	6.806E-10	1.480E+02	5.432E-04
酢酸塩	1.080E+03	1.413E-03	9.804E+02	2.300E-03	4.588E+02	3.254E-08
イソ酪酸エステル	3.131E+01	1.095E-01	7.973E+01	1.397E-05	1.860E+01	2.232E-05
メチル酪酸エステル	2.186E+01	1.914E-01	6.892E+01	1.637E-05	1.631E+01	2.389E-05
イソ吉草酸塩	2.728E+01	1.921E-01	8.555E+01	2.093E-05	1.942E+01	6.518E-05
プロピオン酸塩	5.686E+02	4.512E-05	5.178E+02	8.156E-05	1.285E+02	1.006E-04
吉草酸塩	2.236E+01	6.449E-01	1.637E+02	3.682E-04	2.233E+01	1.038E-01
ヘキサン酸塩	1.566E+01	2.963E-01	2.844E+01	6.275E-02	6.297E+00	1.884E-01
δ - ベースラインからの距離 (バンコマイシン前) β - 回帰係数 p - p 値						

表 8 B : S C F A L M E の結果

10

20

30

40

50

【表 1 2】

SCFAs	バンコマイシン中		バンコマイシン後 (VE303なし)			VE303
	δ	p	δ	p	β	p
酪酸塩	-8.035E+02	2.328E-05	-1.185E+03	5.238E-11	1.274E+02	2.540E-03
酢酸塩	-1.104E+03	9.789E-04	-8.988E+02	3.314E-03	4.186E+02	3.283E-07
イソ酪酸エステル	-4.929E+01	3.314E-03	-8.278E+01	3.283E-07	1.531E+01	1.109E-04
メチル酪酸エステル	-4.088E+01	6.913E-03	-7.183E+01	7.473E-07	1.305E+01	2.359E-04
イソ吉草酸塩	-5.583E+01	3.314E-03	-8.838E+01	9.983E-07	1.392E+01	1.392E-03
プロピオン酸塩	-5.768E+02	3.349E-05	-4.661E+02	2.320E-04	1.094E+02	7.006E-04
吉草酸塩	-7.774E+01	6.220E-02	-1.588E+02	3.349E-05	9.636E+00	3.953E-01
酪酸塩	-5.165E-01	9.722E-01	-4.137E+01	6.702E-03	6.148E+00	1.730E-01

【0501】

実施例 12：正常で健康な有志における生きた微生物コンソーシアムの生着を評価するための新しい方法

多様性の減少及び共生生物の存在量の低下などのヒト腸内の細菌微生物叢の改変は、*Clostridium difficile*のような日和見病原体による感染と関連付けられる。糞便微生物叢移植 (FMT) などの多様な微生物叢を復元することを目的とした現在の微生物叢ベースの治療は、*C. difficile* 再発率の低下に成功していることが示されている。しかしながら、ドナーからのほとんど特徴付けられていない糞便物質の大部分の移入を必要とする FMT 及び類似のアプローチは、感染性病原体を伝染させる可能性がある。生きた生物学的製剤 (VE303 と呼ばれる) が、再発性 *C. difficile* 感染 (rCDI) の治療のために開発されている。VE303 コンソーシアムは、精製されたクローン性細菌株からなる合理的に設計された治療薬であるこれらの株は、健康な有志の糞便物質から単離し、十分に特徴付け、GMP 条件下で個々に増殖させたものである。健康な有志における VE303 の安全性、忍容性、及び定着を評価するために、第 1a / 1b 相用量漸増試験が開始されている。試験の一次転帰は、VE303 の安全性及び忍容性の評価、ならびに第 2 相試験で rCDI 有効性を試験するための用量を決定することである。二次転帰には、VE303 中の細菌株による腸内定着の動態、及びバンコマイシン誘発性腸内毒素症後の常在微生物叢の復元が含まれる。ここでは、VE303 中の細菌株による定着を評価するための最新の知見及び新しい方法論を提示する。VE303 を関連する内在微生物と区別するために、新規のバイオインフォマティクスツールを開発した。これらのツールにより、VE303 投与後のヒト便試料中の薬物動態及び薬力学の正確な定量化が可能となった。

【0502】

実施例 13：VE303 株を検出するためのオリゴヌクレオチド DNA プライマー及びプロトコルパラメータの選択

オリゴヌクレオチド DNA プライマーは、VE303 の株 1 ~ 8 の各々の 150 未満の塩基対の特定の配列を標的とするように設計した (表 1)。5' - / 56 - FAM 蛍光色素ならびに ZEN 部分及び 3' IABkFQ / - 3' クエンチャーを有するオリゴヌクレオチド DNA プローブを、VE303 コンソーシアムにおいて特定の細菌種を選択的に特定するように設計した。プライマー及び DNA プローブの配列を表 9 に列記する。

表 9：qPCR オリゴヌクレオチドプライマー及びプローブ配列

10

20

30

40

50

【表 13-1】

株番号	プライマー
1	順方向プライマー: 5' -TGCAGCCGGTATTCTGATTT-3' (配列番号9) 逆方向プライマー: 5' -GCGAATGGTAGTCCGGTATAAT-3' (配列番号10) プローブ: 5' -/56-FAM/TGGGCTGAT/ZEN/CCCGTTCCGTTT/3 IABkFQ/-3' (配列番号11) 順方向プライマー: 5' -GAAATCTTACACACCTATTCCAGACC-3' (配列番号33) 逆方向プライマー: 5' -ATCATCCATCTGCTGTTCCAGGCTC-3' (配列番号34) プローブ: 5' -/56-FAM/CATAATTAT/ZEN/CCGCGTGGCC/3 IABkFQ/-3' (配列番号35) 順方向プライマー: 5' -GGCTTGTGAGCCCTGATTA-3' (配列番号36) 逆方向プライマー: 5' -GCTATTTGGGAGAATGTCCTTTG-3' (配列番号37) プローブ: 5' -/56-FAM/AATCTCCAC/ZEN/ACTTTCGCAGGTCA/3 IABkFQ/-3' (配列番号38) 順方向プライマー: 5' -TTTAATCCATGGGCCTCCTTAG-3' (配列番号39) 逆方向プライマー: 5' -ATGAGGCAGAGACGGAAATG-3' (配列番号40) プローブ: 5' -/56-FAM/CCCTTTCTG/ZEN/GCCTGTTCTATTGCCT/3 IABkFQ/-3' (配列番号41)
2	順方向プライマー: 5' -TTGTACTGTTCCCAATGAGTATCAA-3' (配列番号12) 逆方向プライマー: 5' -GAATATAATCAAGATCCTCCAGCGG-3' (配列番号13) 番号14)
3	順方向プライマー: 5' -CGAACCCTTAAACCTCTTCCTT-3' (配列番号15) 逆方向プライマー: 5' -TCCGGCTTGTGATGTCTTGT-3' (配列番号16)

10

20

【表 13-2】

	プローブ: 5' -/56-FAM/CCCTCCTTC/ZEN/TTGATATTCGGTTGTTCCA/3 IABkFQ/-3' (配列番号17) 順方向プライマー: 5' -CTGATAGACGAAGAAGGCGCATACT-3' (配列番号42) 逆方向プライマー: 5' -TTCTCCATTTTCCATCATCCTTTCA-3' (配列番号43) プローブ: 5' -/56-FAM/CTGTATGGA/ZEN/AGGGCTGTT/3 IABkFQ/3' (配列番号44) 順方向プライマー: 5' CTGATAGACGAAGAAGGCGCATACT-3' (配列番号45) 逆方向プライマー: 5' -TTCTCCATTTTCCATCATCCTTTCA-3' (配列番号46) プローブ: 5' -FAM/CTGTATGGA/ZEN/AGGGCTGTT/3 IABkFQ/-3' (配列番号47) 順方向プライマー: 5' -CCAAAGCAAATGTTAACGGAAC TA-3' (配列番号48) 逆方向プライマー: 5' -TACAGCAGGAGTTTGTGTGATT-3' (配列番号49) プローブ: 5' -/56-FAM/ACTGCCAAT/ZEN/CTCCAATCAATGCCA/3 IABkFQ/-3' (配列番号50) 順方向プライマー: 5' -GTTAACGGAAC TACAA TGCTAGAAA-3' (配列番号51) 逆方向プライマー: 5' -TGTGGAATCTCAGACCATTAACT-3' (配列番号52) プローブ: 5' /56-FAM/ACTGCCAAT/ZEN/CTCCAATCAATGCCA/3 IABkFQ/-3' (配
--	--

30

40

50

【表 13-3】

	列番号53) 順方向プライマー: 5' -ATCAATCCCATGACTCTCTCCC-3' (配列番号54) 逆方向プライマー: 5' -CCTACTGATGAAATAATAGAAGGAAGCTC-3' (配列番号55) プローブ: 5' -/56-FAM/TCCTCCACG/ZEN/TAAGTCATGACTAAGAAGCT/3 IABkFQ/-3' (配列番号56)
4	順方向プライマー: 5' -CCCGAAACCCCTTTGATTTACTG-3' (配列番号18) 逆方向プライマー: 5' -CTTGGCCGGTGGATATGTT-3' (配列番号19) プローブ: 5' -/56-FAM/AGCAACACC/ZEN/ACCGTTTCAACATGC/3 IABkFQ/-3' (配列番号20) 順方向プライマー: 5' -ATCATCCGCTACTCCAAACCCGATT-3' (配列番号57) 逆方向プライマー: 5' -GTGCGATGGGGAGGACGATTATGCC-3' (配列番号58) プローブ: 5' -/56-FAM/CCCGCATAA/ZEN/TTGC/3 IABkFQ/-3' (配列番号59) 順方向プライマー: 5' -CTACCTTCTTTCCGCCTATTGT-3' (配列番号60) 逆方向プライマー: 5' -TTGAGGCGGTTCTCGTAAATAA-3' (配列番号61) プローブ: 5' -/56-FAM/TCTGATTTCG/ZEN/GAATAACGGCTGGCC/3 IABkFQ/-3' (配列番号62) 順方向プライマー: 5' -CTGGTTCCGTGGGCATTTA-3' (配列番号63) 逆方向プライマー: 5' -CGATGCCTACCATATCACATCC-3' (配列番号64) プローブ: 5' -/56-FAM/CGGCATCGT/ZEN/TCATCGCAAATTCCA/3 IABkFQ/-3' (配列番号65) 順方向プライマー: 5' -CTGCGTTCTGGGTCAGATAAA-3' (配列番号66) 逆方向プライマー: 5' -CCAAAGCAGTAAGAGGAGGATAAA-3' (配列番号67) プローブ: 5' -/56-FAM/TGTTTGGCC/ZEN/AGGCTGTTCTGTACT/3 IABkFQ/-3' (配列番号68)
5	順方向プライマー: 5' -ACACGCATATCGTTTGACACTGTT-3' (配列番号21) 逆方向プライマー: 5' -CAATTATGATTGCCGTTCT-3' (配列番号22) プローブ: 5' -/56-FAM/ACGGAACCT/ZEN/ATGAACCC/3 IABkFQ/-3' (配列番号23)
6	順方向プライマー: 5' -TATTCAGATCGTATTGGATGTACC-3' (配列番号24) 逆方向プライマー: 5' -CCCTTGCAAGCTCTGTCTGTCATAAG-3' (配列番号25) プローブ: 5' -/56-FAM/ACTGCTCGC/ZEN/TTCAAG/3 IABkFQ/-3' (配列番号26)
7	順方向プライマー: 5' -AATGCCAGAAAGCATGTGATCCGTC-3' (配列番号27) 逆方向プライマー: 5' -TCCTGCCATTCCGTGATGTAAGGT-3' (配列番号28) プローブ: 5' -/56-FAM/CATTGAAAG/ZEN/ATATCCGGAAGT/3 IABkFQ/-3' (配列番号29)
8	順方向プライマー: 5' -CTCTGTAACCAGACAGGAGTTG-3' (配列番号30)

【表 13-4】

	逆方向プライマー: 5' -CCGGTGATACCCAAAGAAGAA-3' (配列番号31) プローブ: 5' -/56-FAM/CGTCGTGCT/ZEN/GGATCGGTTGAATCT/3 IABkFQ/-3' (配列番号32) 順方向プライマー: 5' -AGGGTGAAGTCCAATGAAGATCTCC-3' (配列番号69) 逆方向プライマー: 5' -ATACCTCCAGAAGCACACAAGGGCC-3' (配列番号70) プローブ: 5' -/56-FAM/ATCATGGCT/ZEN/CTGCTACC/3 IABkFQ/-3' (配列番号71) 順方向プライマー: 5' -CCGAATATTGCGTCCGTAGTT-3' (配列番号72) 逆方向プライマー: 5' -TAGGTATATCACAGCCGTCTCTC-3' (配列番号73) プローブ: 5' -/56-FAM/TGTTAATCA/ZEN/CTCTTGCCTCGGCT/3 IABkFQ/-3' (配列番号74)
--	--

DNAを、単一細菌株を含む細菌ペレットから単離して(VE303株1~8)、表9に列記するプライマーの特異性を試験した。単離したDNAの濃度を、蛍光光度計(例えば、Qubit 3.0、ThermoFisher)を使用して定量した。単離したD

NAを使用して、表9に列記するプライマーを使用したqPCRによって標準曲線を生成した。これらの標準曲線を、反応の線形性を決定し、反応効率を決定し、検出限界を調査するために使用した。これらのqPCRアッセイの結果を図64～71に示す。

【0503】

qPCR反応におけるCTは、標的DNA（例えば、VE303株1～8）のための信号がバックグラウンドを超えて区別可能であるサイクルの数である。8つすべてのVE303株が、qPCR反応で250ngのDNAによる18回のqPCRサイクルの終了時までに検出可能であった（図64～図71）。 2.5×10^{-7} ngのDNAを含むqPCR反応では、VE303株1～8のいずれも、バックグラウンドを超えて検出されなかった（図64～図71）。

【0504】

VE303株1～8の各々のqPCRアッセイの増幅効率も計算した。標的配列分子（例えば、VE303株1～8）の数が各複製サイクル中に2倍になる場合、qPCR増幅効率が100%となる。効率が100%未満の場合、標的配列分子の数は各複製サイクル中に2倍にならず、効率が100%を超える場合、標的配列分子の数は各複製サイクル中に2倍超となる。VE303株1～8のqPCRの平均増幅効率を以下で表10に示す。すべてのqPCRアッセイの効率は少なくとも94%であった。

表10：qPCR増幅効率

【表14】

VE303株	効率プレート1	効率プレート2	平均効率
1	98.34%	-	98.34%
2	105.60%	120.67%	113.13%
3	97.35%	-	97.35%
4	101.50%	-	101.50%
5	96.38%	92.93%	94.65%
6	100.68%	103.39%	102.03%
7	100.23%	91.27%	95.75%
8	94.32%	-	94.32%

【0505】

VE303株1～8の各々のqPCRアッセイの検出限界も計算した。qPCR検出限界は、最終増幅サイクル（この場合は40サイクル）後にバックグラウンドシグナルを超えて検出できるDNAの最低濃度である。VE303株1～8の検出限界は、 2.5×10^{-4} ng／反応～ 2.5×10^{-6} ng／反応であった。

【0506】

表9のプライマーの交差反応性を、非標的VE303株（例えば、プライマーが標的とするように設計された細菌株ではないもの）に対して評価した。プライマーが標的とするように設計された株を除くVE303細菌株のコンソーシアムを、表9のプライマーを使用して増幅した。CTを評価することによって交差反応性を決定し、qPCR反応の終了（例えば、40サイクル）までにバックグラウンドを超えて検出可能なシグナルがあった場合に、プライマーを非標的VE303株と交差反応するものと見なした。交差反応性実験の結果を以下で表11に示す。VE303株1～4及び7を増幅するように設計したプライマーは、少なくとも1つの他のVE303種と交差反応性であったが、増幅したDNAは、最短でqPCRサイクル34まで検出されなかった。

表11：交差反応性

10

20

30

40

50

【表 15】

VE303株に 対するプライマー	VE303株との 交差反応性	DNA (ng/rxn)	CT1	CT2
1	4	2.5	36.43	-
2	1	2.5E-3	36.75	-
3	6	2.5E-3	35.86	-
3	7	2.5	34.59	-
4	1	2.5	37.12	-
4	7	2.5E-3	35.59	-
7	2	2.5	39.52	-
7	6	2.5	34.48	34.92

10

【0507】

実施例14：糞便試料中のVE303株の検出

実施例13で選択されたオリゴヌクレオチドプライマーを、糞便試料中のVE303組成物の細菌株を検出する際の有効性について試験した。簡潔に言うと、両時点ともVE303組成物の投与前であったベースライン及び0日目の試料を決定するために、糞便試料をヒト対象から取得して、偽陽性のレベルを評価した。個々人にバンコマイシンを投与し、5日目に糞便試料を収集した。追加の糞便試料を、14日目、3週目、8週目、及び12週目にVE303組成物を投与した後で収集した。

20

【0508】

改良したQIAamp PowerFecal DNA Isolation Protocol for Stool Extraction Kit (Qiagen) を使用して、DNAを糞便試料から抽出した。Qubit 3.0 Fluorometerを使用して、二本鎖DNAを定量化した。1ウェルあたり2マイクロリットルの抽出したDNAを加え、各プライマー／プローブセットについて、qPCRにより2連で試験した。

各反応についてのPCR反応成分：

10 μ lのTaqman Fast Universal PCR Master Mix (×2)

30

0.3 μ lの20 μ M順方向プライマー

0.3 μ lの20 μ M逆方向プライマー

0.4 μ lの20 μ Mプローブ

7 μ lのヌクレアーゼフリーウォーターヌクレアーゼ不含水

2 μ lの抽出したDNA

ウェルあたりの総量20 μ l。

以下のPCR反応パラメータを使用した：50℃で2分間保持

95℃で20秒間

以下を40サイクル：

95℃で3秒間

40

60℃で30秒間（＊この段階で取得）実行全体にわたって2.63℃／秒のランプ速度を使用した。

【0509】

すべての実行が完了し、CT値（蛍光シグナルが閾値を超えるのに必要なPCRサイクルの数）を取得したら、ウェルあたりのDNAの量（反応あたりのng）を、標準曲線を使用するGraphPad Prismソフトウェアを使用して補間した。次に、これらの補間されたDNA量を、（補間されたDNA [ng] / （（総量子ビット濃度 [ng / μ l] × 2 μ l）） × 100の式を使用して標的DNAで表される総DNAのパーセントを導くことによって、DNA濃度に正規化した。

【0510】

50

個体あたりの検出されたVE303株の数を、PCRサイクル25、30、及び35の各々にて評価した。図72A～図72C。VE303株の各々について陽性であったqPCR試料の数も、各時点にて、またPCRサイクル25、30、及び35の各々にて決定した。図73A～図73C。検出のレベル及び偽陽性率の低さに基づき、サイクル30での検出を分析用を選択した。

【0511】

実施例15：正常で健康な有志におけるVE303の薬物動態及び薬力学

多様性の減少及び共生生物の存在量の低下など、ヒト腸内の細菌微生物叢の改変は、*Clostridioides difficile* (*C. difficile*) のような日和見病原体による感染と関連付けられる。糞便微生物叢移植 (FMT) などの多様な微生物叢を復元することを目的とした現在の微生物叢ベースの治療は、*C. difficile* 再発率の低下を示している。しかしながら、ドナーからのほとんど特徴付けられていない糞便物質の大部分の移入を必要とするFMT及び類似のアプローチは、性質として本質的に不定であり、定義が不十分であり、感染性病原体を伝染させる可能性がある。FMTの結果としての微生物叢の全体的な変化が報告されているが、投与された糞便微生物叢と結果として生じる微生物叢の変化との関連を測定することは実用的ではない。

【0512】

VE303と呼ばれる生きた生物学的製剤 (LBP) が、*C. difficile* 再発 (rCDI) の予防のために開発されている。VE303コンソーシアムは、*Clostridium* の8つのクローン性株からなる合理的に設計された治療薬である。これらの株は、健康な有志の糞便物質から単離し、十分に特徴付け、GMP条件下で個々に増殖させたものである。健康な有志におけるVE303の安全性、忍容性、及び定着を評価するために、第1a/1b相用量漸増試験が開始されている。生きた生物学的製剤 (LBP) の薬物動態及び薬力学を決定するための新規のバイオインフォマティクス法が記載され、株が耐久的及び堅牢にヒトの腸に定着する条件が示される。VE303株は、投与後に存在量が急速に増加し、コンソーシアムの投与の少なくとも1年後に容易に検出される。株の定着には、抗生物質による事前治療及び14日以上にわたるコンソーシアムの毎日の投与をとおした、関連する共生微生物の置換えが必要とされ、これはFMTでは達成できないプロトコルである。抗生物質投与後の微生物叢回復の評価により、VE303投与が *Bacteroidetes* 種の回復を促進し、*Proteobacteria* を減少させたことが示された。加えて、VE303の投与は、多くの短鎖脂肪酸の回復、及び抗生物質後の一次胆汁酸のサブセットの二次胆汁酸への生体内変換を大幅に強化することが見出された。まとめると、これらのデータにより、LBPがFMTの安全な代替手段であり、腸に耐久的に定着し、ヒトレシピエントの微生物叢を調節できることが初めて示される。

【0513】

健康の維持におけるその複雑性及び包括的な役割を考えると、ヒト微生物叢は、腸の恒常性の改変と関連付けられる病変または感染症の防止または治療のための無数の微生物叢ベースの治療法を提供してきた。それにもかかわらず、薬物動態 (PK) 及び薬力学 (PD) を定義する調査研究をとおしたこれらの治療法の薬理学的評価は、未だに見られない。微生物叢ベースの治療法には、糞便微生物叢移植 (FMT) が含まれ、これには、単一または多くの生きた微生物株の投与を伴う、経鼻十二指腸チューブまたは直腸浣腸、栄養補助プロバイオティクス、及び生きた生物学的製剤 (LBP) による糞便物質の移入が付随する。近年ますます人気が高まっている一方で、栄養補助プロバイオティクスの有効性、あるいは組成的もしくは機能的な微生物叢の調節におけるまたは再発性 *Clostridioides difficile* 感染 (CDI; 以前の *Clostridium difficile*) の治療におけるそれらの役割を支持する証拠はわずかしかない。FMTの臨床経験により、この手順がrCDIの治療に対して有効であり得ることが示される。しかしながら、FMTは、健康なドナーを伝染性物質についてスクリーニングする必要性によって制限され、またFMTによる多剤耐性菌 (MDRO) の送達と関連付けられる最近の死亡によって証明されるように、この手順には標準化が欠けている。逆に、LBPの使

10

20

30

40

50

用は、抗菌剤耐性遺伝子または毒性因子を含まない微生物株の標準化された拡張性の産生を含むいくつかの利点を提供し得る。加えて、安定した生着により、生理学的濃度の代謝産物を微生物叢または宿主の他のメンバーに直接送達する長期的な治療選択肢が提供され得るか、または常在微生物分類群の回復が促進され得る。治療法に関係なく、それらの安全性、最適な投薬戦略を十分に確立し、微生物群集及び宿主の健康に対する転帰を予測するために、微生物叢ベースの療法の精査及び厳格な評価を強める必要がある。

【0514】

ここでは、生きた微生物コンソーシアムベースの療法のPK及びPDを決定するための「ロードマップ」を提供する。微生物コンソーシアムの安全性を確立し、PK及びPD法を定義するために、正常で健康な有志（NHV）における治験新薬（IND）の一部として第1相試験を実施する。VE303薬物製品は、医薬品適正製造基準（GMP）の規制に準拠した標準化された拡張性のプロセスを使用して製造し、凍結乾燥形態で供給した。VE303は、Clostridiaの8つの十分に特徴付けられた、遺伝子操作されていない、クローン由来の、非病原性、毒素非産生性の共生株からなるLBPである。これは、CDIの再発を防止するために開発された。VE303コンソーシアムのPK及びPDは、VE303株を内在近縁種から判別するために特別に設計された新規のバイオインフォマティクスアルゴリズムを使用して全面的に調査した。VE303の投薬及びレジメンは、健康な有志において最適化されているため、1年を通して持続するヒトの腸内でのVE303株の安全で耐久性のある堅牢な定着を示す。VE303には、常在微生物群集の回復、ならびに抗生物質誘発性腸内毒素症後のNHVにおける胆汁酸（BA）及び短鎖脂肪酸（SCFA）を含む代謝産物の部分的な回復を円滑にする能力もある。

【0515】

腸内恒常性のバンコマイシン（vanco）誘発性転換後の正常で健康な成人有志（NHV）におけるVE303の安全性及び忍容性を評価するために、ヒト初回第1相用量漸増試験を設計した。主要目的は、CDI再発の防止のための第2相試験における後続投与のために、VE303の最も安全で忍容性の良好な投薬レジメンを特徴付けることであった。このために、身体検査、バイタルサインの評価、及び臨床検査測定値の変化に基づいて、GI症状を含む有害事象（AE）を評価した。副次的目的には、VE303成分細菌による腸内微生物叢の定着、VE303投薬の結果としての腸内微生物叢の変化、及び便のメタボロミクス変化の評価を含めた。

【0516】

健康な有志（N=33）を試験に登録し、経口バンコマイシン（5日間毎日125mg）もしくはバンコマイシン及び続いての漸増用量のVE303のいずれか、またはバンコマイシン前治療なしの最高用量のVE303（総用量範囲 $1.6 \times 10^9 \sim 1.1 \times 10^{11}$ CFU）を与えた（図44）。バンコマイシンは、CDIの第一選択治療として日常的に投与されることを理由に選択した。バンコマイシン治療単位の終了後、1人の有志が、試験咀嚼せずにカプセルを飲み込むことができなかったため、研究から離脱した。有害事象は、試験中の対象の85%で観察された。バンコマイシンまたはVE303のいずれかに起因する有害事象（AE）が、バンコマイシン治療を受けた対象の50%、VE303治療を受けた対象の35%で観察された。VE303関連のAEはすべてグレード1で一過性のものであった。これらのAEのほとんどは性質として胃腸系であり、腹部膨満、下痢、軟便、アラニンアミノトランスフェラーゼ／アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ALT／AST）の増加、変色した便または硬便、便秘、腹部不快感または腹痛、味覚障害、悪心、及び鼓腸が含まれた。最も一般的なグレード2～3の検査所見異常は、コレステロールの増加、血尿、ならびに便リパーゼ及びアミラーゼの増加であった。

【0517】

VE303コンソーシアムメンバー株を関連性の高い内在分類群から区別することを可能にする新規のバイオインフォマティクス法を開発した（「方法」に記載）。これらの株を検出すること、及びそれらを便中の関連する内在株と区別することは、特に8つすべての株がそれらの最近縁種と98%超の平均ヌクレオチド同一性（ANI）を共有すること

から、ヒト腸内の V E 3 0 3 の P K を正確に決定する上で大きな障害となった。便メタゲノムにおける V E 3 0 3 株の検出には、固有の 5 0 塩基対 (b p) ゲノムマーカー、及びマーカー回復の深度の評価 (任意のマーカーに一致する配列リードの数を各株に対するマーカーの総数で割ったもの)、及びマーカー回復のカバレッジ (一致するリードが 1 以上であるマーカーの数を各株に対するマーカーの総数で割ったもの) を利用した。平均マーカー深度が 0 . 1 × を超え、検出されたマーカーのカバレッジが、多項分布から予想される平均を 2 標準偏差下回る最小閾値 (マーカーのドロップアウトを見越して 2 5 % のゼロインフレーションにて) を超えた場合に、株が「検出」されたとみなした (図 5 1) 。 0 . 1 × の平均マーカー深度閾値は 8 つすべての株で標準であったが、V E 3 0 3 を投与した対象と投与しなかった対象とを比較することにより株検出事象を事後的に評価して、信頼性を高めた。株を、信頼性の低いマーカーカバレッジまたは深度閾値に基づいて、「可能性あり」、「データ不十分」、または「検出せず」と決定した (「方法」を参照)。各株の存在量及び常在細菌分類群の存在量を、One Codex ソフトウェア (onecodex.com) を使用して決定し、健康なヒトの便試料からの細菌分離株に対応する細菌ゲノムと組み合わせた One Codex によって組み立てられたゲノムの独自データベースを生成した。これらの方法は、補足情報に記載されているように検証された。

【0518】

便試料を健康な有志各々について長期にわたって収集して、ベースラインの微生物叢組成、バンコマイシン投与後の微生物叢、ならびに L B P 投与後の V E 3 0 3 コンソーシアムメンバーの普及率及び存在量をメタゲノミクス配列決定により決定した (図 4 9) 。各便試料を、Illumina NextSeq プラットフォームにおいて 4 ギガベースを超える標的深度で配列決定し (平均 $4.4 \times 10^7 + / - 1.1 \times 10^7$ リード)、V E 3 0 3 株の P K を決定した。V E 3 0 3 株は、ベースライン時点の一部の対象と、バンコマイシンコホートとにおいて、極めて低い存在量で検出された (図 5 0) 。バンコマイシンコホート及び V E 3 0 3 コホートにおける「検出」株の平均マーカー深度及びマーカーの割合の比較により、バンコマイシンコホートに分類された株は、ゲノムカバレッジが低下し、V E 3 0 3 株の近縁種であるか、低い存在量で検出されるかのいずれかであることが示された (図 5 1) 。V E 3 0 3 投与対象に分類された株は、検出されたマーカーの割合が大幅に高く、より深度が大きかった。

【0519】

これらの際立った特徴により、検出された株が L B P コンソーシアムメンバーであり近縁種ではない可能性が極めて高いことの信頼性が増したことで、V E 3 0 3 を投与した対象におけるコンソーシアムメンバー株の P K を決定することが可能になった。バンコマイシン投与後に V E 3 0 3 を投与した対象 (コホート 1 ~ 5) では、V E 3 0 3 成分株が V E 3 0 3 投与後最初の 2 4 ~ 4 8 時間以内に迅速に検出され、それらの存在量が大幅に拡大した (図 4 5) 。バンコマイシン及び V E 3 0 3 の単回用量 (コホート 1 ~ 3) の後、8 日目 (V E 3 0 3 の開始から 2 日後) に株の 3 3 . 3 % ~ 6 6 . 6 % の中央値が検出された (図 4 5 A) 。V E 3 0 3 の単回用量を受けた個人間でかなりのばらつきがあったものの、L B P 成分株がすべての対象において V E 3 0 3 投与の直後に検出された。とりわけ、コホート 1 の対象 0 5 9 で 8 つすべての株が検出され、好ましい微生物叢条件下では単回の低用量の V E 3 0 3 でも堅牢な定着が達成可能であることが示唆された (図 5 0) 。単回の漸増用量コホート (コホート 1 ~ 3) の間で検出された V E 3 0 3 株の数に用量応答はなかったが、微生物叢の状態はコホート 1 の対象において最も好ましいようであり、これは、これらの対象における総 V E 3 0 3 株存在量がコホート 2 及びコホート 3 と比較してより大きかったことによって示される (図 4 5 B) 。

【0520】

単回用量コホートと比較して、バンコマイシン後の複数日の V E 3 0 3 投与 (コホート 4 ~ 5) により、より堅牢で一貫した株検出がもたらされた。1 4 日目に検出された対象あたりの V E 3 0 3 株の比率の中央値は、9 1 . 6 ~ 1 0 0 % であり (図 4 5 A) 、コホート 4 の 6 人の対象のうち 3 人、及びコホート 5 の 8 人すべての対象において、2 時点以

10

20

30

40

50

上でVE303コンソーシアムの全メンバーが定着した(図50C)。VE303株の総存在量は、コホート5において急性と後期との両方の時点で最も高く、最も堅牢で耐久性のあるPKを達成するためには、複数日のLBP投与が必要であることが示された(図45A)。このデータにより、複数日のVE303投与にもかかわらず、VE303株が健康な有志に定着するにはバンコマイシン投与が必要であることが示され(図45、コホート6)、常在Clostridium株がVE303株定着を制限したことが示唆された。重要なことに、バンコマイシンを使用して細菌の多様性を減少させ、VE303を複数日にわたって投与した場合、LBP株は、少なくとも1年間、迅速、堅牢、かつ耐久的に、対象に定着することができた。定着が最大であったコホート(コホート1、4、及び5)では、VE303の投薬開始から最初の数日以内に、VE303株の相対的存在量が全微生物叢の約9.5~19.5%に拡大し(図45B)、1人の対象においては全微生物叢の60%以上に達した(図51)。この最初の拡大後、VE303株の相対的存在量は、1年で全微生物叢の1.6~4.6%に減少した。臨床観察と併せたこれらのデータにより、最適な微生物叢及び投薬条件下で、少なくとも1年間、VE303コンソーシアム株が安全であり、ヒトの腸に堅牢かつ耐久的に定着できることが明確に示される。

【0521】

ベースライン時、バンコマイシン投与後、及びVE303株の存在下と非存在下との両方での回復期中に収集したメタゲノミクスデータを使用して、健康な有志における便微生物叢の動態、及び抗生物質誘発性の恒常性転換からの回復におけるVE303の役割を評価した。予想通り、ベースラインの微生物叢は多様性が高く(図52)、すべての対象でBacteroidetes及びFirmicutes種が優勢であった(図46A)。バンコマイシン投与により、細菌バイオマス(図54)及び多様性(図53)が大幅に減少し、微生物叢の組成に転換がもたらされ、これは、Bacteroidetes及びFirmicutesの減少、ならびにProteobacteriaの拡大によって示される(図46A)。とりわけ、健康な有志のバンコマイシン後の微生物群集は、rCDI対象の群集²(及び未公開の観察)に似ていた。バンコマイシンのみを与えた健康な有志の微生物群集は、抗生物質を与えてから1か月以内にBacteroidetes及びFirmicutes種のベースラインレベルに回復したことが観察された(図53)。微生物叢の多様性は、コホート1~3において12週間以内にベースラインレベルに回復し、コホート4~5において部分的に回復した(図53)。これらの群集レベルの観察は、臨床的安全性の観察と一貫している。Bacteroidetes及びProteobacteria種のベースラインレベルへの回復は、高用量のVE303を与えた対象において1週間以内に生じた(図46A及び図46C)。バンコマイシンの非存在下では、有意な微生物群集の変化は観察されなかった(図46A、コホート6)。

【0522】

全体的な微生物叢の健康を定量化するために、ベースラインで優勢であった細菌クラス(Bacteroidia、Clostridia、Actinobacteria、及びCoriobacteria)と、バンコマイシン後に優勢であり、疾患と関連付けられる場合が多い細菌クラス(Bacilli、Gammaproteobacteria、及びNegativicutes)との比率を計算した(図54)(rebiotix.com/scientific-evidence/microbiota-restoration-therapy-posters/microbiome-rehabilitation-biomarkers-clostridium-difficile-infections-prototype-microbiome-health-index/)。この「微生物叢指数」(MI)は、ベースラインで高く、バンコマイシン投与によって有意に減少し、バンコマイシンのみを受けた対象において1か月以内にベースラインレベルに回復した(図46B)。しかしながら、複数回用量のVE303を受けた対象では、MIはLBP投与の1週間以内に増加し(図46B)、このMIの増加は、用量依存的であった(図46D)。同様の傾向が回復後期に観察され、VE303を受けた対象は効果的にベースラインレベルに回復した(図46D)。

【0523】

バンコマイシン事前治療の非存在下でVE303を受けた対象ではMIの変化は観察されず（図46B）、これは臨床的安全性の結果と一致する。これらのデータにより、VE303が、腸に迅速に定着するだけでなく、微生物群集の部分的な回復を促進できることが示唆され、これにより、抗生物質療法後、C. difficileのような病原体に対する耐性が増強され得ることが示唆される。

【0524】

バンコマイシンが胆汁酸濃度に与える影響を決定し、VE303のPDを測定するために、一次及び二次胆汁酸濃度を、ベースライン時、バンコマイシン投与中、及びVE303を投与した場合としなかった場合とのバンコマイシン後の回復期における対象の便中で測定した（表6）。試料収集の困難により、代謝産物プロファイリングは、すべてのコホートでバンコマイシン後の急性回復期間に限定された。胆汁酸は伝統的に脂肪の消化に重要であると考えられているが、二次BAが腸の健康を促進し、CDIを阻害する上で幅広い役割を担っている証拠が増えている。一次胆汁酸（コール酸及びケノデオキシコール酸）ならびにグリシン及びタウリン共役型（グリココール酸、タウロコール酸、グリコケノデオキシコール酸、及びタウロケノデオキシコール酸）は、ベースライン時に低濃度で検出され、便中の総BA酸プールのごく一部を構成する（図47A）。ベースライン時のBAプールの大部分は、デオキシコール酸、リトコール酸、及びウルソデオキシコール酸を含む、脱共役した二次BAからなった。バンコマイシン治療により、一次BAの割合の増加、及び脱共役した二次BAの減少が生じた。この観察結果は、一次BAの脱共役及び生体内変換を促進することができる細菌種のバンコマイシンを介した排除または減少と一致する。バンコマイシン治療後、及び微生物群集が回復するにつれて、バンコマイシンのみを受けた対象のBAプールではわずかな回復しか観察されなかった。この回復は、最終試料を収集した9日目には不完全であった。限られたサンプリングにもかかわらず、複数回用量のVE303を受けた対象（コホート4及びコホート5）では、一部の対象で脱共役型二次BAのレベルが0.5～2 log増加することが観察された（図47C）。

【0525】

BAの全体的な変化を定量化するために、脱共役した二次BA（ベースライン時に優勢）と一次BA（バンコマイシンによって上昇）との比率を計算した。この「胆汁酸指数」（BAI）は、ベースライン時に高く、その後バンコマイシン投与によって劇的に減少し、サンプリング中にバンコマイシンのみを受けた対象における回復のいくつかの兆候を示した（図47B）。しかしながら、VE303の複数回用量を受けた対象（コホート4及びコホート5）では、VE303投与の1～2週間以内にBAIが増加したことを観察した（図47B）。全体的なBAプロファイル（図47A）またはBAI（図47B）の変化は、VE303のみを受けた対象では観察されなかった。これらのデータは、より高い用量のVE303がBAプールの早期回復を促進できることを示唆する。

【0526】

BAの存在量がバンコマイシンによって改変されたかどうか、及びVE303存在量がそれらの抗生物質後の回復に著しく影響したかどうかを決定するために、線形混合効果モデリングを開発した。抗生物質投与は、ベースラインレベルと比較した場合、各一次BAの存在量の有意な増加ならびにリトコール酸及びデオキシコール酸を含む二次BAの存在量の有意な減少と関連付けられた。逆に、VE303の総存在量は、ほとんどの一次BA（タウロコール酸及びタウロデオキシコール酸を除く）の存在量の有意な減少と関連付けられた。VE303の存在量は、リトコール酸、デオキシコール酸、及びウルソデオキシコール酸のバンコマイシン後の回復とも関連付けられた。

【0527】

また、バンコマイシン治療及び／またはVE303投与に応答した二次BAコード遺伝子の相対的存在量の変化を予測するために、線形混合効果モデリングを行った（図56）。これらの変化は、配列リードをカスタムの二次BA生合成酵素データベースにマッピングした後に測定した。バンコマイシン治療により、胆汁塩加水分解酵素（BSH）、BA

10

20

30

40

50

誘導性 (b a i) オペロンの遺伝子、及び 3 / 7 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ (H S D H) を含むいくつかの B A 代謝遺伝子の存在量が減少した。これらの二次 B A 生合成遺伝子は、相対的存在量がバンコマイシン治療によって同じく悪影響を受けた C l o s t r i d i a 及び E g g e r t h e l l a などの嫌気性菌で広く観察される。バンコマイシン治療中に、E . c o l i 及び K l e b s i e l l a などの P r o t e o b a c t e r i a によってコードされる 7 - H S D H 遺伝子の増加が観察され、これは、それらの拡大とも一致する観察結果であった。逆に、V E 3 0 3 の投与は、B S H 遺伝子、b a i オペロン遺伝子、及び 3 / 7 - H S D H 遺伝子の回復の強化と正の関連があり、P r o t e o b a c t e r i a によってコードされる 7 - H S D H 遺伝子の減少と負の関連がある。

【0528】

10

個々の V E 3 0 3 コンソーシアムメンバー及び在細菌種がバンコマイシン投与後の B A 回復に与える影響を切り離すために、ランダムフォレスト回帰 (R F R) を選択した。バンコマイシン投与後の B A 回復に関する V E 3 0 3 コンソーシアムメンバー及び常在細菌種。R F R を選択したのは、これがいずれの基礎となるモデル構造も想定しておらず、かつ陰的特徴選択を行うため、可能性のある予測因子の大型プールから各代謝産物の存在量に対する最良の寄与因子を決定することを可能にするためであった。R F R により、いくつかの V E 3 0 3 株が、B A 回復に影響を与える上位 2 0 個の最も重要な分類群のうちの 1 つであることが特定された (図 4 7 D)。具体的には、一次 B A (共役型と非共役型との両方) は、バンコマイシン離脱後、時間の経過とともに存在量が徐々に減少し、R F R により、V E 3 0 3 株が、この衰退と関連付けられる上位 2 0 個の最も重要な分類群のうちの 1 つであることが示された (図 4 7 D、図 5 5)。また、R F R により、V E 3 0 3 株が、観察された二次 B A の増加と関連付けられたことが示された (図 7 6 D、図 5 5)。V E 3 0 3 の役割は、ケノデオキシコール酸のエピマー化反応の副産物であるウルソデオキシコール酸の回復においてより一貫していた。

20

【0529】

バンコマイシン及び V E 3 0 3 が S C F A 濃度と与える効果を決定するために、S C F A を、ベースライン時、バンコマイシン投与中、及び V E 3 0 3 ありの場合となしの場合とのバンコマイシン後の回復期中の対象の便において測定した (図 4 8 A)。微生物叢産生 S C F A は、腸バリア機能を促進することにより腸において、及び抗炎症、抗腫瘍形成、及び抗菌機能を提供することにより末梢組織において、宿主の生理学にプラスの影響を与えることが知られている。S C F A レベル及び S C F A 産生細菌の存在量の減少は、いくつかの自己免疫疾患、アレルギー性疾患、及び代謝性疾患と関連付けられている。S C F A がバンコマイシンによって改変されたかどうか、及び総 V E 3 0 3 存在量がそれらの抗生物質後の動態に著しく影響したかどうかを決定するために、線形混合効果モデリングを行った。測定したすべての S C F A レベル (ヘキサノ酸塩を除く) は、バンコマイシン治療によって低下し、V E 3 0 3 の非存在下でベースラインレベルを下回ったままであった (図 4 8 B)。さらに重要なことに、バンコマイシンの影響を受けたすべての S C F A レベルが V E 3 0 3 投与に応答して増加することも見出され、これにより、S C F A 回復における V E 3 0 3 の有益な効果が示唆される。

30

【0530】

40

V E 3 0 3 株の効果を、S C F A の抗生物質後動態に対する回復中の微生物叢の効果から切り離すために、R F R を再度行った。この分析により、いくつかの V E 3 0 3 株が、S C F A レベル動態と関連付けられる上位 2 0 個の最も重要な分類群に入ることが特定された。V E 3 0 3 株は、酢酸塩、酪酸塩、イソ酪酸塩、メチル酪酸塩、及びイソ吉草酸塩のレベルの増加と関連付けられた (図 4 8 C、図 5 6)。これらのデータにより、共生 B a c t e r o i d e t e s 種が観察されたプロピオン酸塩の増加と関連付けられたことも示された。

これらのデータを総合すると、V E 3 0 3 は抗生物質による攪乱の後の S C F A の回復に影響を与え、観察された回復の主要な要因であることが示唆される。

【0531】

50

VE303は、CDIの再発を防止するために開発したものであり、まる1年持続したその株の安全で堅牢かつ耐久的な定着を示した。VE303の用量及びレジメンを最適化し、最高安全用量を決定した。抗生物質を介した微生物叢の攪乱がVE303株による堅牢な定着に必要であるとも決定した。VE303株のPK及びPD、ならびに宿主微生物群集で発生する変化をそれぞれ評価するために、新規のバイオインフォマティクスアプローチも開発した。微生物群集ならびにBA及びSCFAを含む代謝プールの回復も、すべてのコホートにわたってベースラインレベルまでモニタリングした。VE303株の最初の用量依存的拡大、それに続く投与後1年での全微生物叢のおよそ3%への着実な低下が観察された。VE303株は、バンコマイシン治療後1週間以内の*Bacteroides*及び*Proteobacteria*のベースラインレベルへの迅速な回復と関連付けられた。VE303株により、二次BA及びSCFAの早期回復も促進された。

【0532】

本明細書では、LBPの薬物動態(PK)を、各成分株の普及率及び存在量の動態として定義する。伝統的に、PKは、薬物の吸収、分布、生物学的利用能、代謝、及び排泄の経時変化の研究として定義されている。小分子薬とは異なり、LBP用量の投与及び投薬量は、これらの従来のPK原理に従わないため、その定義に新たな課題が生じる。1つの難題には、胃腸管にも存在する関連性の高い内在分類群からのLBP成分株の区別が含まれる。定量PCR(qPCR)及びハイスループット配列決定技術などの分子技術における最近の改善により、複雑な微生物生態系内のLBP成分株の信頼性の高い検出が可能となった。定量PCRは、さまざまなマトリックス内の標的DNAを検出及び定量するための、十分に確立され、高速かつハイスループットであり、費用効果が高い可能性がある分子技術である。この技法の他の利点には高感度が含まれ、これは、この技法がいくつかの標的の増幅を単一の反応に定量化及び多重化するための広いダイナミックレンジを提供するためである。大部分は有益であるが、LBP成分株を関連性の高い内在分類群から区別することは相当な困難をもたらし、その結果、特異性が不良となる。さらに、より多くの株及びそのゲノムDNAが公的に利用可能なデータベースに登録されるにつれて、開発されたアッセイはもはやその標的に特異的ではなくなることがある。アッセイの設計はqPCR結果の解釈の重要な要素であるため、適切な制御を含めるために特別な注意を払う必要がある。株検出のためのメタゲノム配列決定アプローチは、ゲノムの長さにもたがる数百のマーカー配列で構成される検出パネルを採用しているため、qPCRに比べていくつかの利点があり、それにより特異性が改善したアッセイが得られる。また、微生物の多様性または組成に関する事前の知識が不要である。数百から数千のマーカーで構成される検出パネルは、非特異的なマーカーを除去するために、すべての公的に利用可能な細菌ゲノム及び健康なヒト腸メタゲノムに対して系統的に試験することができる。公開データセットの新しいバージョンが利用可能になると、アッセイの繰返し及び検証を必要とせずに、アッセイの特異性を繰返し改善することができる。いずれの方法も生菌細胞と死菌細胞を区別できないことに言及しておくべきである。これに対処するために、LBP投与後最大1年にわたる複数の時点が含まれて、VE303株の堅牢な生着を示す。

【0533】

PKと同様に、LBPの薬力学(PD)を、宿主の微生物群集及び代謝産物へのその影響として定義した。伝統的に、PDは、薬物が身体に与える生化学的、生理学的、分子的な影響の研究である。VE303薬物製品はCDI再発を防止するために設計したため、腸内微生物叢の変化率と、腸内細菌叢ならびにBA及びSCFAを含む要となる有益な代謝産物のバンコマイシン媒介性攪乱及び／またはVE303投与後のベースラインへの回復率とを測定した。バンコマイシンはCDI患者に日常的に投与され、宿主の有益な細菌を枯渇させて多様性を低下させ、それにより代謝状態を改変することで、CDI患者の微生物叢を模倣することが知られていることに留意されたい。食物アレルギーまたはがん免疫療法への応答などの微生物叢を介した他の臨床的適応については、その適応に適合するようにPDの読み出し値をカスタマイズすることが重要である。PKとは異なり、LBPのPDを評価するには、微生物群集全体の分析が必要とされる。PKの読み出しに加えて

、メタゲノム配列により、微生物群集全体の分類学的組成及び機能的可能性に関する洞察も得られる。重要なことに、これにより、バンコマイシン投与及び／またはVE303投与後に生じ得る、重要な経路及び遺伝子、例えば、抗菌薬耐性遺伝子、毒性因子、及び胆汁酸転換遺伝子の相対的存在量の変化を調査することが可能になる。16Sアンプリコン配列決定は、細菌群集全体を調査するための代替アプローチである。16Sアンプリコン配列決定は、費用効果が高く、分析が簡単であるが、分類学的分解能が制限され、微生物叢の機能的可能性の評価には適していない。

【0534】

PDの一部として、宿主微生物群集の回復も測定し、ベースラインレベルと比較した。これを行うために、*Proteobacteria*及び*Bacteroidetes*を含む主要な細菌門の相対的存在量、ならびに「微生物叢指数」を調査した。「微生物叢指数」は、回復したまたは復元された微生物叢を、疾患または抗生物質治療によって攪乱された微生物叢と効果的に区別するために提案された、半定量的な一次元のプロトタイプバイオマーカーである。これは、LBP活性、及び疾患を介した攪乱状態の修復におけるその有効性の明確な解釈を簡素化し、本分野に提供するように設計した。100.0に近いスコアは、ベースラインレベルへの完全な回復または修復を示す。

【0535】

最後に、BA及びSCFAを含む重要で有益な代謝産物の用量依存的な回復の初期の兆候が、バンコマイシン及びVE303の投与後に観察された。二次BAを含む代謝プールと一緒にになった微生物群集の回復は、CDI再発の防止のための重要な機序を表す。最近の調査により、*C. difficile* 孢子の発芽を阻害する上で、リトコール酸、デオキシコール酸、及びウルソデオキシコール酸を含む二次BAの中心的な役割について説得力のある事例が詳細に構築された。VE303株は、二次BA産生遺伝子、ならびに*Clostridia*及び*Eggerthella*のメンバーを含む関連分類群の回復とも関連付けられた。SCFA回復の初期の兆候が観察されたことにも言及しておくべきである。SCFAは、腸バリアの完全性を促進するその役割で知られており、この腸バリアの完全性の維持は、今度は「健康な」微生物叢を維持するために必要な嫌気性環境の維持に不可欠なものである。これらの代謝物は、炎症を低下させ、それによりCDIの症状を緩和することにおいても重要な役割を果たす。

【0536】

Clostridiodes difficile 感染 (CDI; 以前の*Clostridium difficile*) は、依然として先進国で最も頻繁に報告されている院内及び市中感染であり、2011年の米国での推定発生率は453,000例、死亡はおよそ29,000件である。すべての感染者において疾患が発症するための要件は、*C. difficile* 株に対する自然の定着耐性を提供する正常な胃腸 (GI) 内微生物叢の崩壊である。ここでは、新規のPK及びPD方法を使用した安全で忍容性が良好なLBPの開発について記載する。少なくとも1年間のVE303株の堅牢な定着を生じさせる投薬レジメンも確立する。BA及びSCFA回復の初期の兆候は、微生物叢のベースラインレベルへの回復と一緒になって観察されるため、FMT手順にも当てはまる観察結果を反映する。有効性を決定するための第2相試験が進行中である (NCT03788434)。

【0537】

参考文献

1. Minot, S. S., Krumm, N. & Greenfield, N. B. One Codex: A Sensitive and Accurate Data Platform for Genomic Microbial Identification. *BioRxiv* (2015). doi:10.1101/027607
2. Smillie, C. S. et al. Strain tracking reveals the determinants of bacterial engraftment in the human gut following fecal micr

obiota transplantation. *Cell Host Microbe* 23, 229–240. e5 (2018).

3. Berlin, K. et al. Assembling large genomes with single-molecule sequencing and locality-sensitive hashing. *Nat. Biotechnol.* 33, 623–630 (2015).

4. Cock, P. J. A. et al. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics* 25, 1422–1423 (2009).

5. Lessa, F. C. et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N. Engl. J. Med.* 372, 825–834 (2015).

6. Leffler, D. A. & Lamont J.T. *Clostridium difficile* infection. *N. Engl. J. Med.* 372, 1539–1548 (2015).

7. Cohen, S. H. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 31, 431–455 (2010).

8. Kyne, L. & Kelly, C. P. Recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Gut* 49, 152–153 (2001).

9. Pothoulakis, C. Effects of *Clostridium difficile* toxins on epithelial cell barrier. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 915, 347–356 (2000).

10. Tonna, I. & Welsby, P. D. Pathogenesis and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Postgrad. Med. J.* 81, 367–369 (2005).

11. Gough, E., Shaikh, H. & Manges, A. R. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin. Infect. Dis.* 53, 994–1002 (2011).

【0538】

方法

株ゲノム及び便メタゲノムの配列決定

VE303細菌gDNAを、IlluminaプラットフォームとPacific Biosciencesプラットフォームとの両方で配列決定した。Illuminaライブラリは、TruSeq DNA PCR-Free Library Prepを使用し、MiSeqシーケンサーで配列決定した。VE303株の各々のPacific Biosciences (PacBio) ライブラリは、SMRTbell Template Preparationキットを使用して調製し、University of Maryland Institute for Genome Sciences (Baltimore, MD, USA) において、RS II (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA) で配列決定した。VE303ゲノムアセンブリは、HGAP Assembler (SMRTAnalysis 2.3.0) 及びCel

10

20

30

40

50

era Assembler v. 8. 2³を使用するPacBio配列を使用して生成し、University of Maryland Institute for Genome Sciencesのバイオインフォマティクスコアによって品質が評価された。便試料を新鮮な状態で収集し、およそ250mgをOMNIgene-GUTチューブ（DNAgenotek, Ottawa, CAN）に移し、製造業者の指示に従って保存緩衝液に再懸濁した。次に、保存した便懸濁液を抽出し、標準的な操作手順を使用してDNAgenotekにてIllumina NextSeqプラットフォームで配列決定した。

【0539】

株検出アルゴリズムの確立

VE303生物の各々に固有のゲノム領域を、1) One Codex微生物ゲノムデータベースに存在しない各VE303株ゲノムについて重複するk-mer (k=31bp) の候補セットを特定し、2) One Codexデータベース中のいずれの他の参照ゲノムにも見られず、いずれの他のVE303株ゲノムにも見られず、かつ他の候補ゲノム領域を有する17bpの部分配列を共有しなかった、固有のゲノム領域(50塩基対(bp) ウィンドウ) の最終セットを特定することによって、特定した。VE303株あたり1, 539~10, 847の範囲で、合計43, 955個のゲノム領域がこれらの基準を満たした。この最初のゲノム領域のセットを、249個の健康なヒト便メタゲノム配列決定データセットで検出された領域、及びVE303株の純粋培養物からの全ゲノムショットガン配列データセットにおいて低率で回収されたいずれの領域も除外することによって、さらに精緻化した。この排他性試験ステップに続いて、VE303株あたり260~7, 282の範囲で、14, 319個のゲノムマーカーの最終セットを特定した(図63)。Illumina全ゲノムメタゲノム配列決定データセットからのVE303株の検出は、固有のゲノムマーカー領域に依存した。50bpのゲノム領域の各々は、全ゲノムメタゲノム配列決定プロセスをとおして生成された配列断片(「リード」) よりも短い。したがって、固有のゲノム領域は、メタゲノムリードのうちのいずれかのなかの部分配列として検出された。1) 配列断片が標的ゲノム領域に対して17bp以上の少なくとも1つの完全なアラインメントを含んだ場合、及び2) 50bpのゲノム領域全体が3つ以下のミスマッチで配列断片に対してアラインメントした場合、固有のゲノム領域が検出されたとみなした。正確な17bpのアラインメントの検出を、k-merアラインメントアプローチを使用して実行した。50bpゲノム配列全体の高感度アラインメントを、BioPython⁴に実装した一対アラインメントモジュールを使用して実施した。これらの基準を満たすリードが入力データセットに少なくとも1つある場合に、標的ゲノム領域の各々が存在するとみなした。

【0540】

各患者試料における各VE303株の有無を、検出された固有のゲノムマーカーの数、及び各マーカーの相対的存在量を分析することによって決定した(図62)。各VE303株を検出するために、2つの主要なメトリック、1) マーカー回復の深度：いずれかのマーカーに一致する配列断片の数をマーカーの総数で割ったものと、2) マーカー回復のカバレッジ：一致する配列断片が1つ以上あるマーカーの数をマーカーの総数で割ったものを使用した。各VE303株の検出は以下のように決定した。

●平均マーカー深度が0.1×を超え、多項分布から予想される平均を2標準偏差下回る最小閾値(マーカーのドロップアウトを見越して25%のゼロインフレーションにて)を超えた場合、「検出」。

●平均マーカー深度が0.1×を超え、検出されたマーカーのカバレッジが平均を2~4標準偏差下回る場合、「可能性あり」。

●平均マーカー深度が0.01×~0.1×にある場合、「データ不十分」。

●平均マーカー深度が0.01×を超えなかった場合、またはマーカーの数が予想平均を4標準偏差未満下回る場合、「検出せず」。これらの方法は、1) DNA抽出及びメタゲノム配列分析の前に漸増するコロニー形成単位(CFU)の各VE303株でスパイク

10

20

30

40

50

したヒト便試料、及び2) V E 3 0 3 株ゲノムを、元の宿主ドナーの便において検出し、無関係の対照便試料では検出しない能力という2つのアプローチを使用して、各 V E 3 0 3 株を堅牢かつ特異的に検出するために決定したものである。

【0541】

細菌群集の存在量及び微生物叢指数

微生物群集（V E 3 0 3 株を含む）における細菌種の推定相対的存在量を、ヒト宿主にマッピングされるリードを除去した後、質でフィルタリングしたメタゲノム配列リードから、標準的な One C o d e x アルゴリズムを使用して決定した。より高い分類レベル（例えば、門または綱レベル）で、相対的存在量を、所望の分類レベルで割り当てられた配列リード（加えて、以下で割り当てられたすべてのリード）と割り当てられたリードの総数との割合として、各試料について計算した。次に、微生物群集の各種の DNA の絶対的存在量を、以下の式（3）に従って計算した。

【数7】

$$\text{存在量} = RA \times \frac{DNA_{\mu g}}{\text{便}_{mg}} \times \frac{V_B}{V_S}$$

式（3）

【0542】

この式では、RA は、細菌分類群の推定相対的存在量に等しい。DNA_{ug} は、総 DNA 収量である。便_{mg} は、収集した便の質量である（Omni gene 腸チューブの最終質量－Omni gene 腸チューブの平均重量）。V_B は、Omni gene 腸チューブ内の緩衝液の量である。V_S は、DNA 抽出物中の試料の量である。

【0543】

微生物叢指数を、前述のように、各メタゲノム試料における配列の綱レベルの相対的存在量を使用して、式（4）に従って計算した（rebiotix.com/scientific-evidence/microbiota-restoration-therapy-posters/microbiome-rehabilitation-biomarkers-clostridium-difficile-infections-prototype-microbiome-health-index/）。

【数8】

$$MI = \frac{(RA_{Bacteroidia} + RA_{Clostridia} + RA_{Actinobacteria} + RA_{Coriobacteriia})}{(RA_{Bacilli} + RA_{Proteobacteria} + RA_{Negativicutes})}$$

式（4）

【数9】

$$BAI_{便} = \frac{(RA_{二次共役})}{(RA_{非共役} + RA_{一次} + RA_{二次共役})}$$

式（5）

【0544】

総 V E 3 0 3 存在量によって大きく影響を受ける分析物を決定するための線形混合効果モデリング

式（6）に従い、さまざまな分析物（胆汁酸及び短鎖脂肪酸）がどのように V E 3 0 3 投与の影響を受けるのかを特定するために、線形混合効果モデリングを実施した。

【数10】

10

20

30

40

50

$$\text{分析物} \sim \text{治療} + \text{ve303} + \left(\frac{\text{PID}}{\text{コホートID}} \right).$$

式(6)

ここで、分析物は、ある特定の時点（日）のある特定の個人におけるSCFAまたはBAで測定した密度に対応し、治療は、測定値が、バンコマイシン治療前、バンコマイシン治療中、またはバンコマイシン治療後に取得されるのかを説明するためのカテゴリ変数であり、ve303は、バンコマイシン投与後のある特定の試料におけるVE303の総存在量（DNA μg / 便mg）に対応する。治療には、バンコマイシン前試料をベースラインとして使用する。データはさまざまなコホートに細分されたさまざまな患者からの繰り返しの試料であるため、患者ID（PID）／コホートIDをネスト変量効果として使用する。治療：バンコマイシン中と関連付けられたp値が0.05未満である代謝産物は、バンコマイシン治療の影響が大きいとみなされる。治療：バンコマイシン後と関連付けられたp値が0.05未満である代謝産物は、治療後及びVE303の非存在下（例えば、バンコマイシン単独コホート）でバンコマイシンの影響が大きいとみなされる。ve303と関連付けられたp値が0.05未満である代謝産物は、治療後の総VE303存在量の影響が大きい。

【0545】

VE303投与後の代謝産物動態に対するVE303及び回復中の微生物叢の効果を切り離すためのランダムフォレスト回帰

SCFA及びBAのバンコマイシン後の動態へのさまざまなVE303株の寄与を決定するため、ならびにVE303株のこれらの代謝産物への効果を、回復中の常在微生物の効果から切り離すために、ランダムフォレスト回帰（RFR）を実施して、各代謝産物の存在量を、常在細菌の存在量及びVE303存在量の関数として予測した（図58及び図59）。データの反復サンプリング性質に対処するために、以前に検証されているアプローチを採用し（Haran JP, Bhattarai SK, Foley SE, Dutta P, Ward DV, Bucci V, McCormick BA. (2019) Alzheimer's disease microbiome is associated with dysregulation of the anti-inflammatory P-glycoprotein pathway. mBio 10:e00632-19参照）、ここでは、ランダムに選択された試料の100個の異なるサブセットに対してRFRを実行し（個人あたり1つの試料を選択した後）、30個の異なる乱数シードから開始して繰り返す。微生物（常在細菌とVE303との両方）を、 30×100 のRFR実現にわたって並べ替えた重要度変数値に基づいてランク付けした。すべての上位の重要性上位の予測因子について、累積局所効果（ALE）プロットを生成して、各代謝産物が微生物の特徴量の変化によってどのように影響を受けるかを決定した。回帰直線を両対数変換したALEプロットに適合させ、結果をこれらの推定係数のクラスター化したヒートマップとして要約する。

10

20

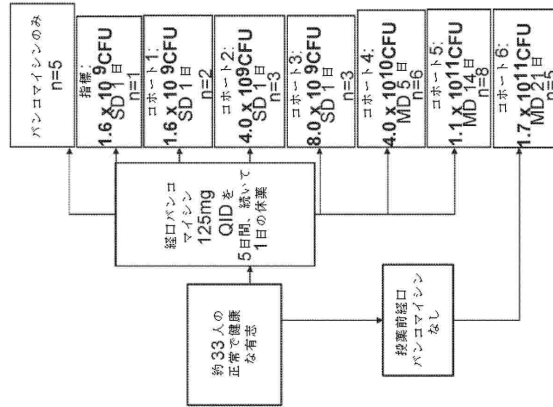
30

40

50

【図面】

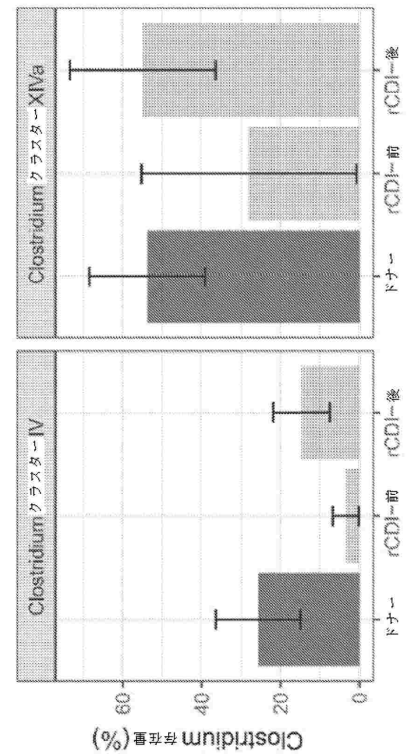
【図 1】



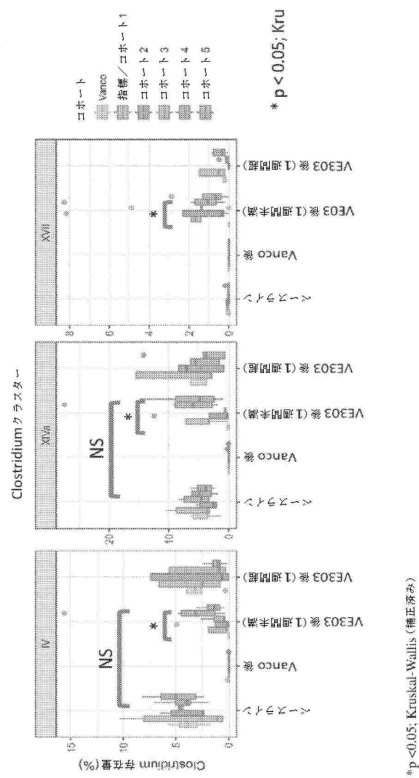
【図 2 A】

FMT

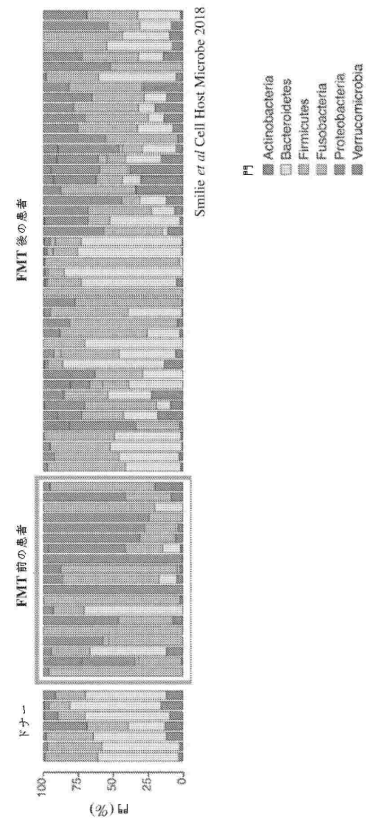
van Nood ら、2013 において公開



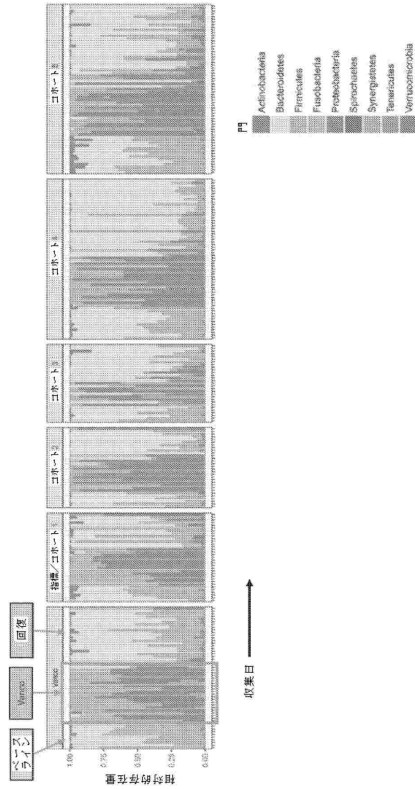
【図 2 B】



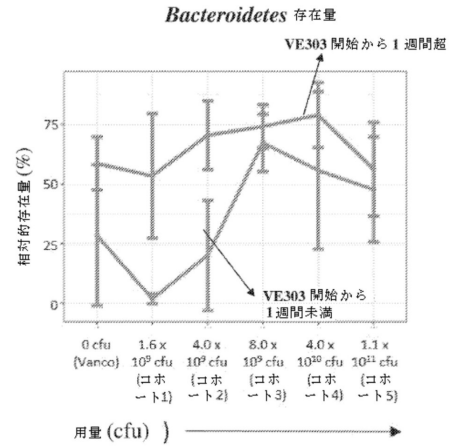
【図 3 A】



【図 3 B】



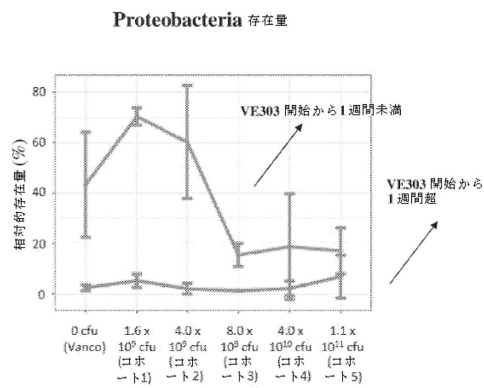
【図 3 C】



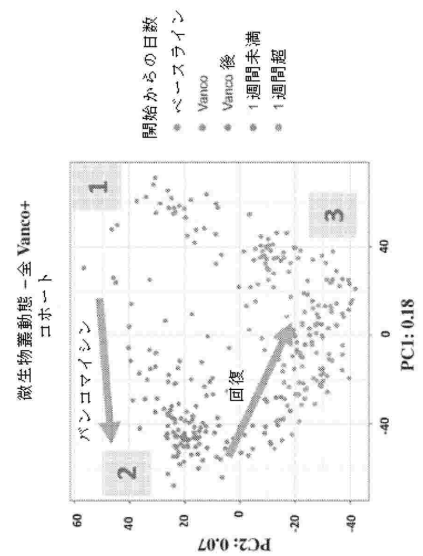
10

20

【図 3 D】



【図 4 A】



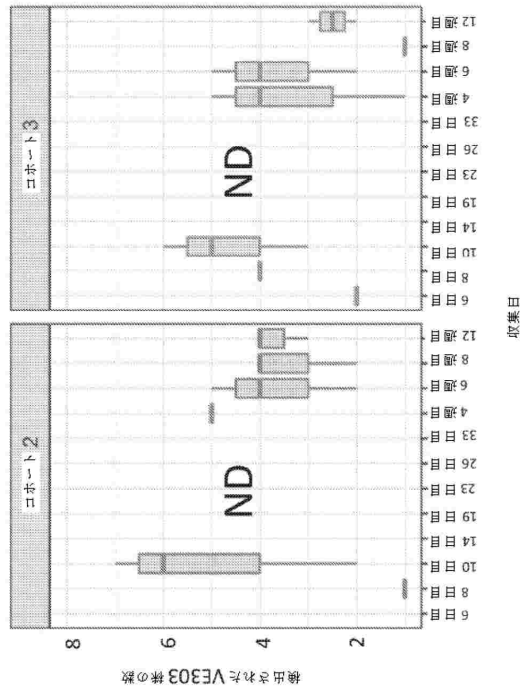
30

40

50

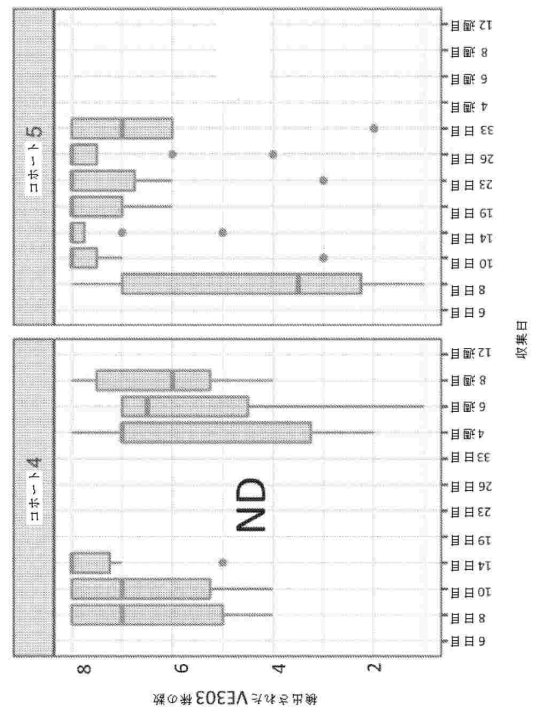
【図 6 - 2】

(続き)



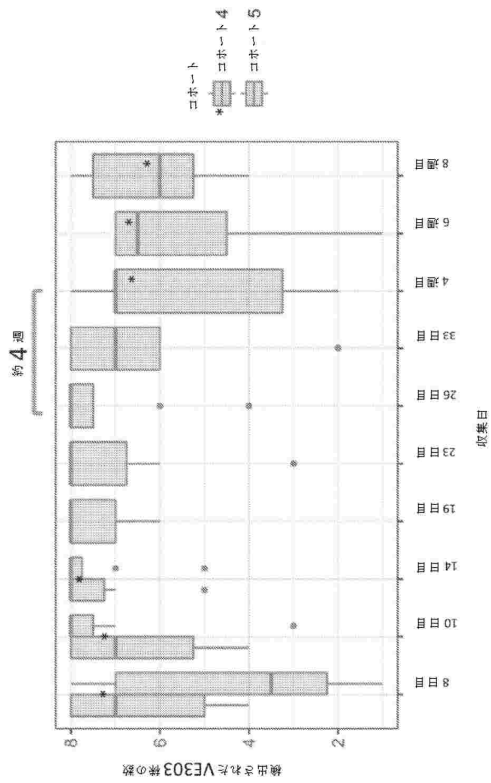
【図 6 - 3】

(続き)

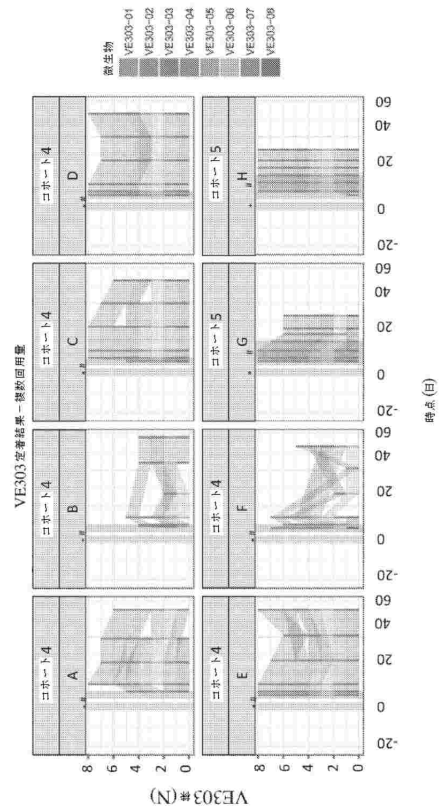


【図 6 - 4】

(続き)



【図 7 A - 1】



10

20

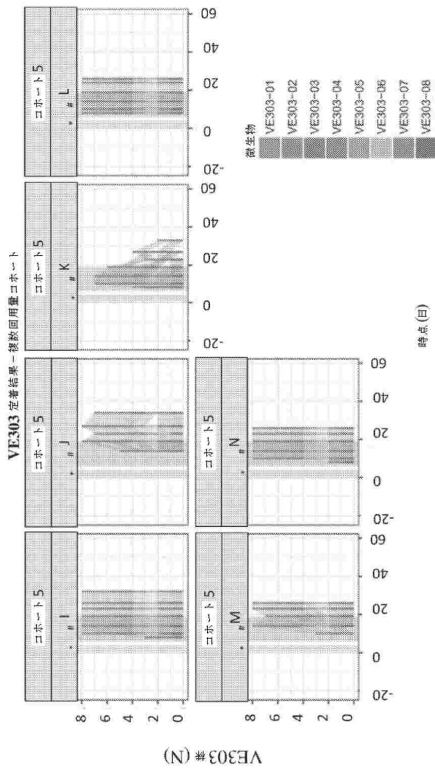
30

40

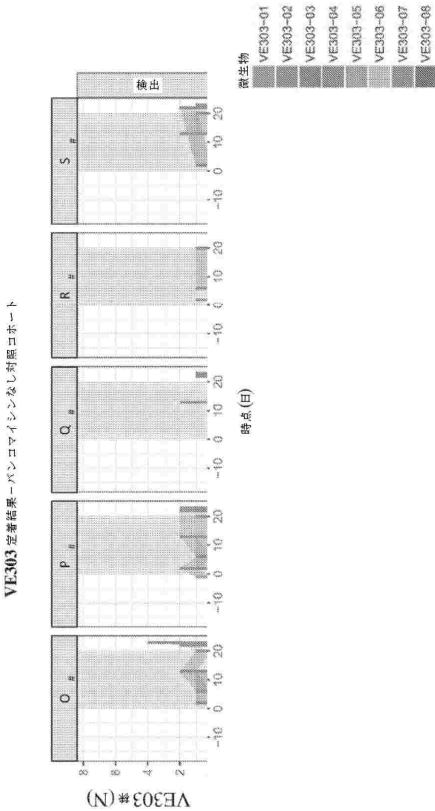
50

【図 7 A - 2】

(続き)



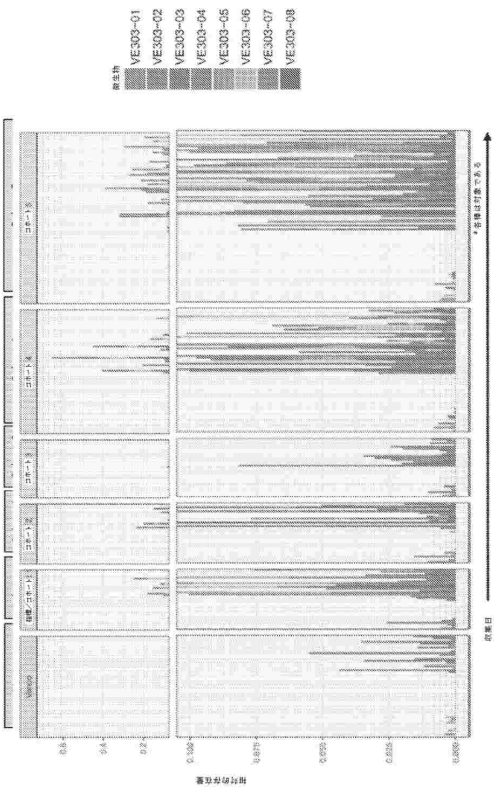
【図 7 B】



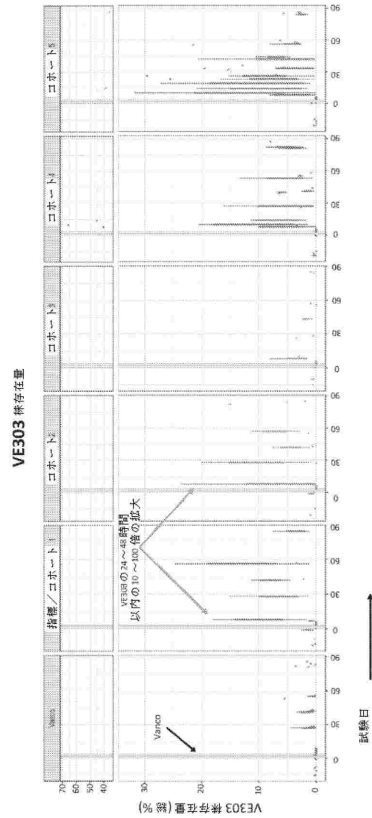
【図 8】

株 ID	パンコマイレン	指標/コポート 1	コポート 2	コポート 3	コポート 4	コポート 5
VE303-01	5人#0人	3人#2人	3人#1人	3人#2人	6人#6人*	8人#8人*
VE303-02	5人#0人	3人#1人	3人#1人	3人#0人	6人#6人*	8人#8人*
VE303-03	5人#0人	3人#1人	3人#3人*	3人#3人*	6人#6人*	8人#8人*
VE303-04	5人#0人	3人#2人	3人#1人	3人#2人	6人#6人*	8人#8人*
VE303-05	5人#0人	3人#1人	3人#2人	3人#2人	6人#6人*	8人#8人*
VE303-06	5人#0人	3人#1人	3人#1人	3人#0人	6人#6人*	8人#7人
VE303-07	5人#0人	3人#1人	3人#2人	3人#2人	6人#5人	8人#8人*
VE303-08	5人#0人	3人#1人	3人#3人*	3人#3人*	6人#5人	8人#8人*

【図 9 A】



【図 9 B - 1】



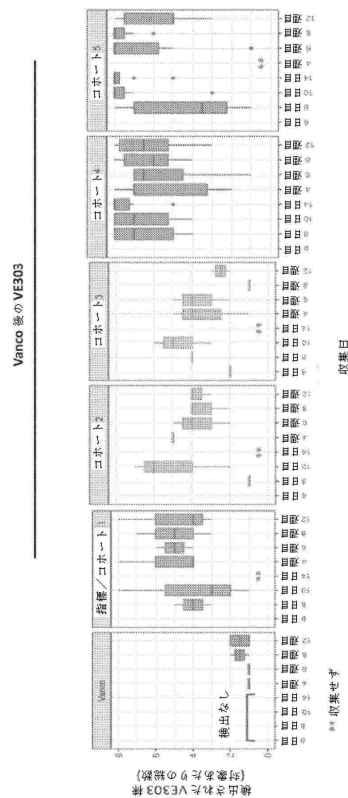
【図 9 B - 2】

(続き)

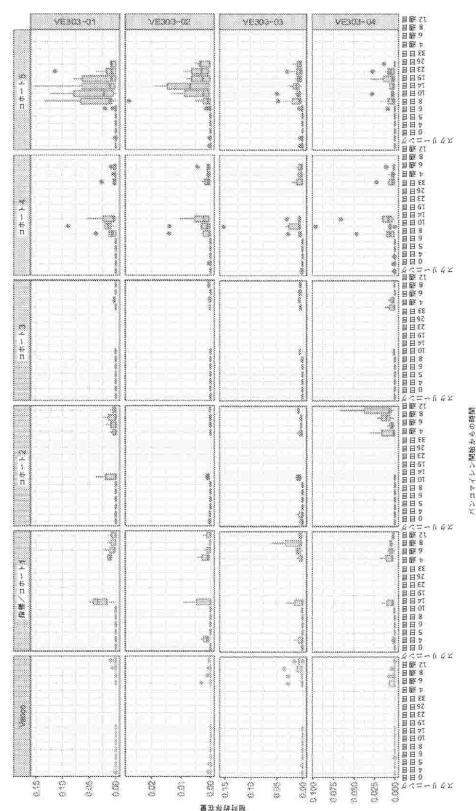
平均 VE303 残存量 (%)

コホート	スクリーニング	6週目	8週目	12週目
Vanco	0.14	1.19	1.49	1.50
指標/コホート1	0.34	6.04	9.75	3.84
コホート2	0.44	3.14	5.24	7.36
コホート3	0.58	1.68	0.51	0.62
コホート4	0.29	3.68	4.08	5.37
コホート5	0.25	6.72	6.93	7.86

【図 9 C】



【図 10 - 1】



10

20

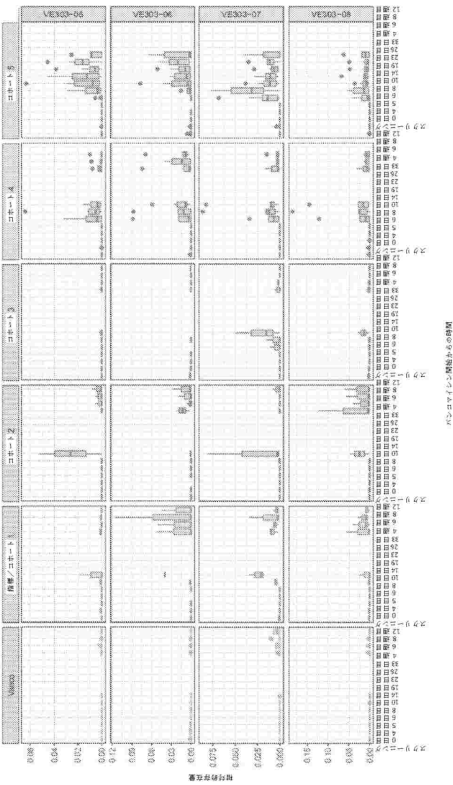
30

40

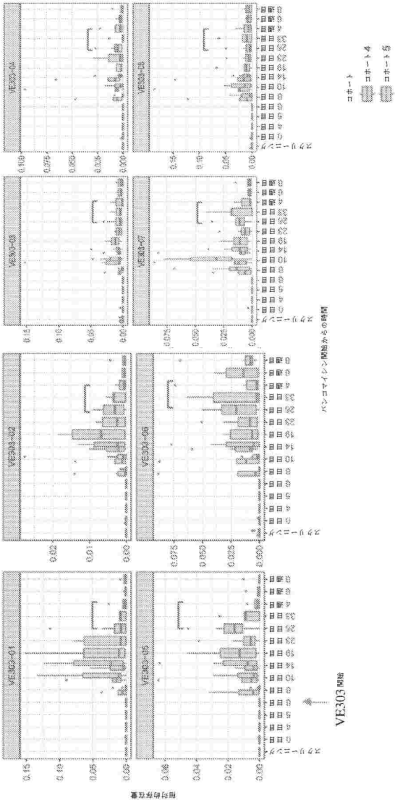
50

【図 1 0 - 2】

(続き)



【図 1 1 A】



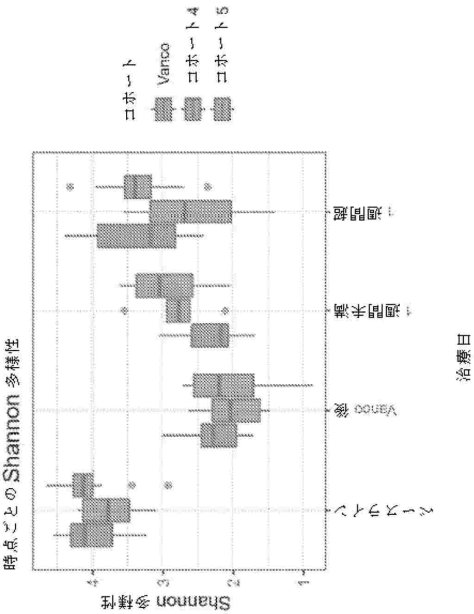
10

20

【図 1 1 B】

約 4 週での平均 VE303 存在量 (%)											
	合計	VE303-01	VE303-02	VE303-03	VE303-04	VE303-05	VE303-06	VE303-07	VE303-08		
コホート 4 (4 週目)	5.37	0.61	0.11	0.62	0.63	0.23	1.57	0.54	1.05		
コホート 5 (26 日目)	10.38	2.23	0.37	0.93	0.71	1.75	2.08	1.19	1.12		
Diff.	5.01	1.62	0.25	0.31	0.09	1.52	0.51	0.65	0.07		

【図 1 2】

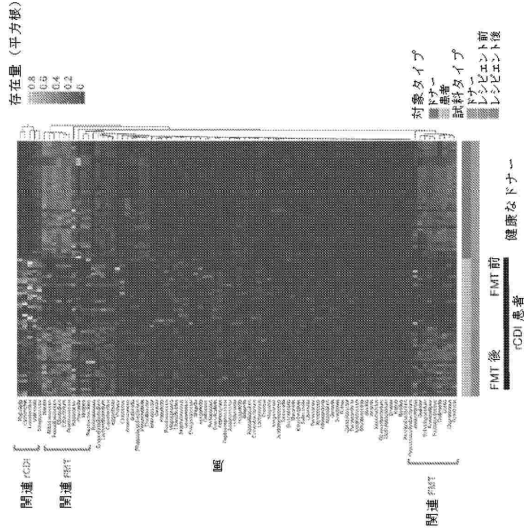


30

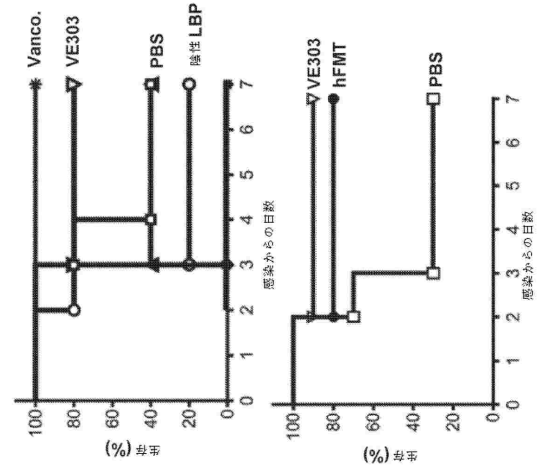
40

50

【図 1 3 A】

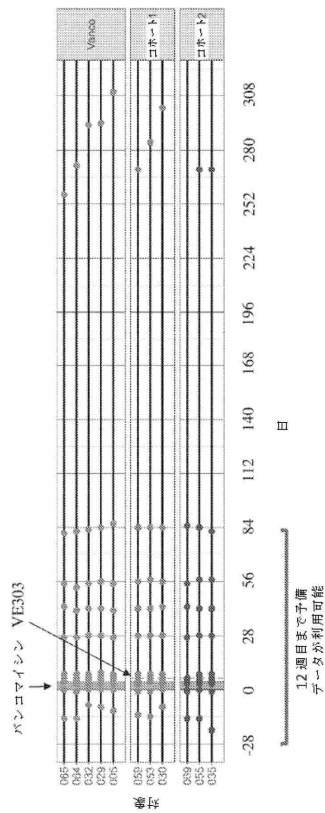


【図 1 3 B】



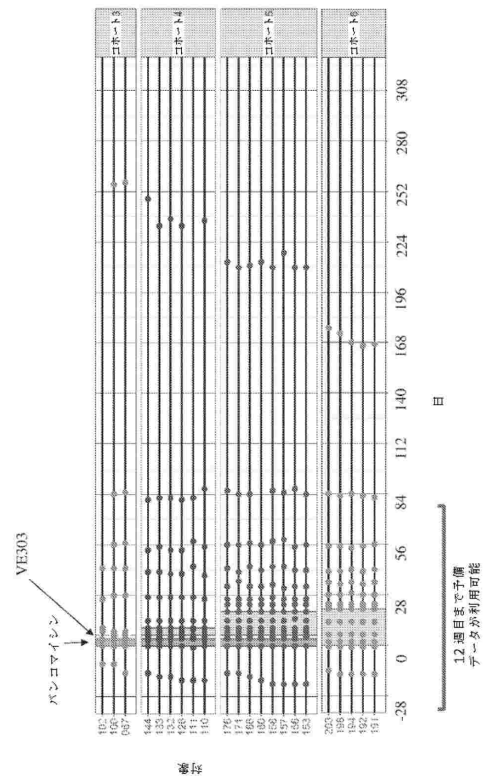
10

【図 1 4 - 1】



【図 1 4 - 2】

(続き)



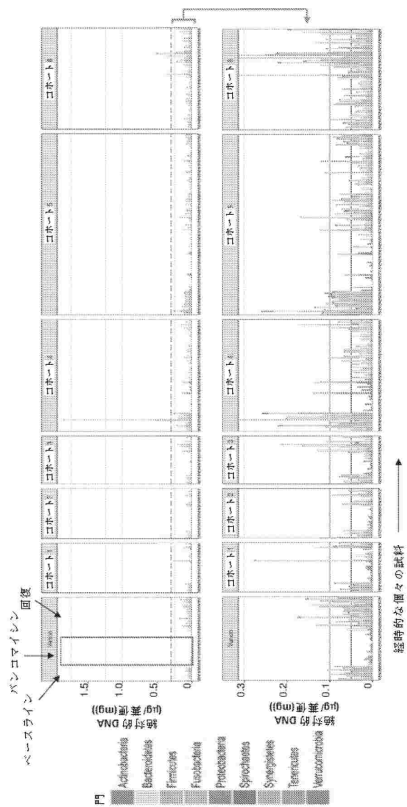
20

30

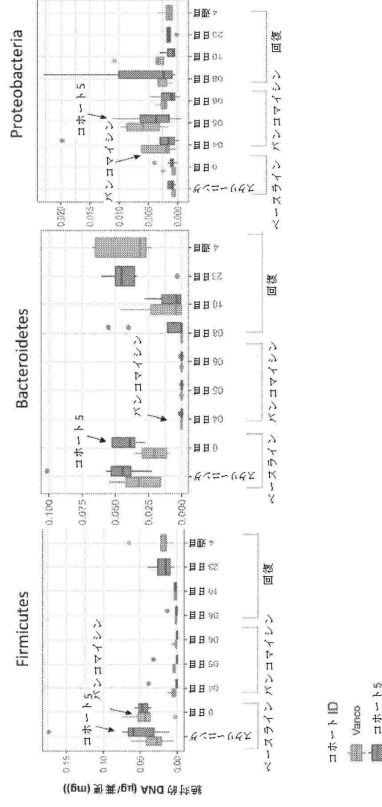
40

50

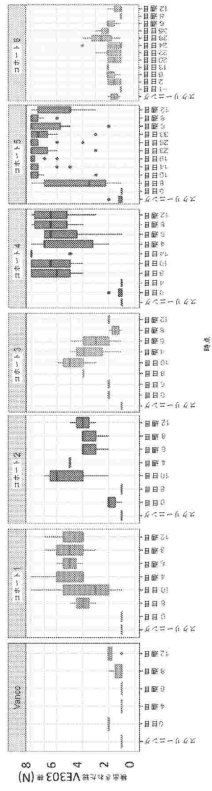
【図 1 5】



【図 1 6】



【図 1 7 A】



【図 1 7 B】

株 ID	10 日目		4 週目		12 週目	
	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 5
VE303-01	83.3	87.5	66.7	87.5	100	87.5
VE303-02	66.7	75	66.7	87.5	66.7	75
VE303-03	100	87.5	66.7	100	83.3	62.5
VE303-04	100	75	83.3	100	83.3	37.5
VE303-05	83.3	75	50	75	66.7	62.5
VE303-06	66.7	62.5	83.3	75	83.3	75
VE303-07	66.7	87.5	66.7	75	83.3	50
VE303-08	66.7	75	66.7	87.5	50	62.5

10

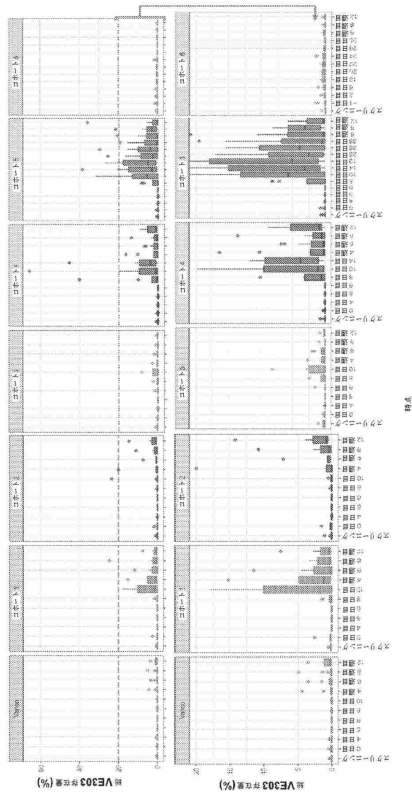
20

30

40

50

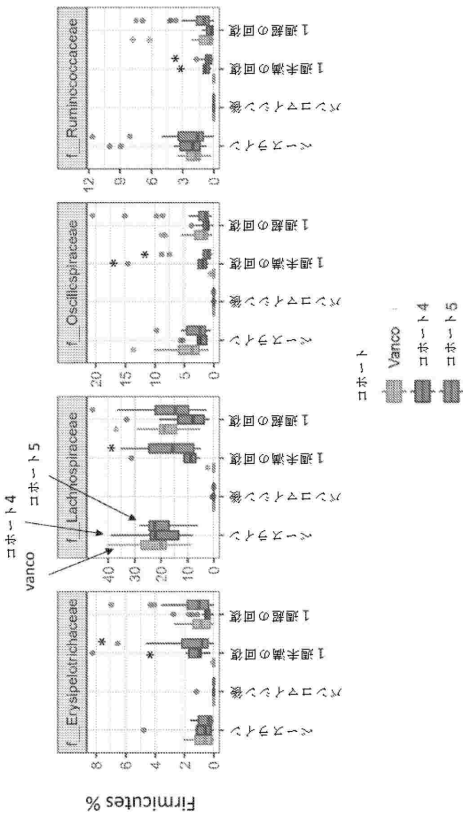
【図 1 7 C】



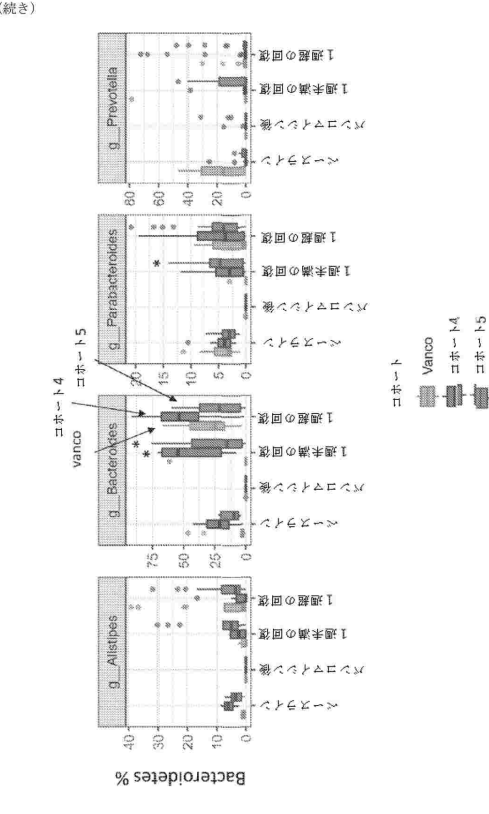
【図 1 7 D】

株 ID	10 日目		4 日目		12 日目	
	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 5	コホート 4	コホート 5
VE303-01	1.43%	1.17%	0.26%	0.78%	0.11%	0.02%
VE303-02	0.10%	0.08%	0.07%	0.31%	0.04%	0.11%
VE303-03	0.62%	0.62%	0.11%	0.48%	0.56%	0.19%
VE303-04	0.58%	0.24%	0.29%	0.52%	0.58%	0.00%
VE303-05	0.51%	0.35%	0.13%	1.60%	0.05%	0.00%
VE303-06	0.61%	0.10%	0.26%	2.02%	1.55%	1.28%
VE303-07	1.19%	3.16%	0.18%	1.12%	0.48%	0.20%
VE303-08	2.37%	1.37%	0.67%	0.48%	0.51%	0.89%

【図 1 8 - 1】



【図 1 8 - 2】



10

20

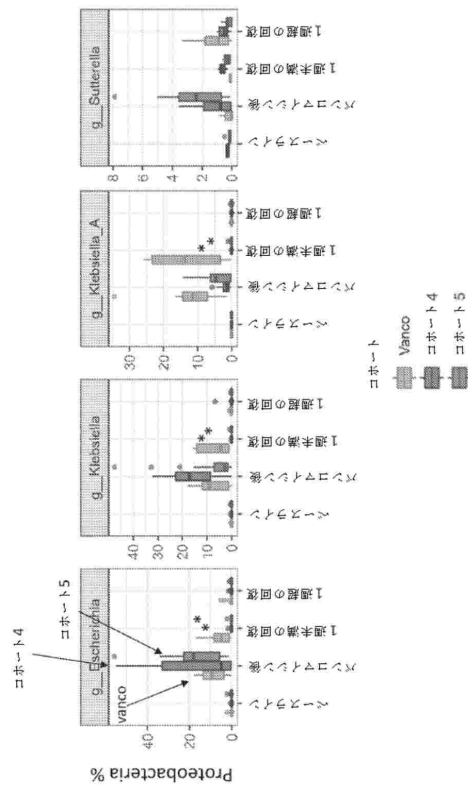
30

40

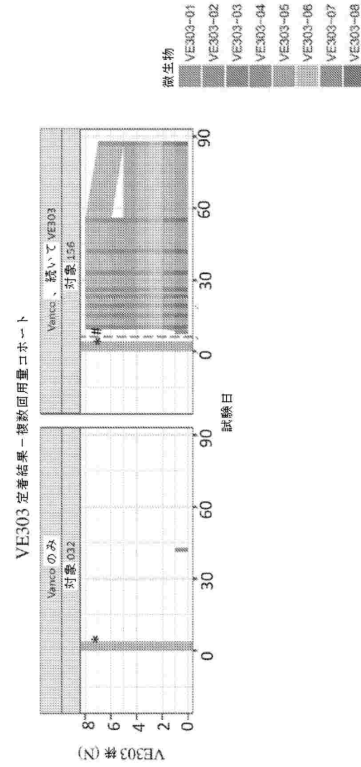
50

【図 18-3】

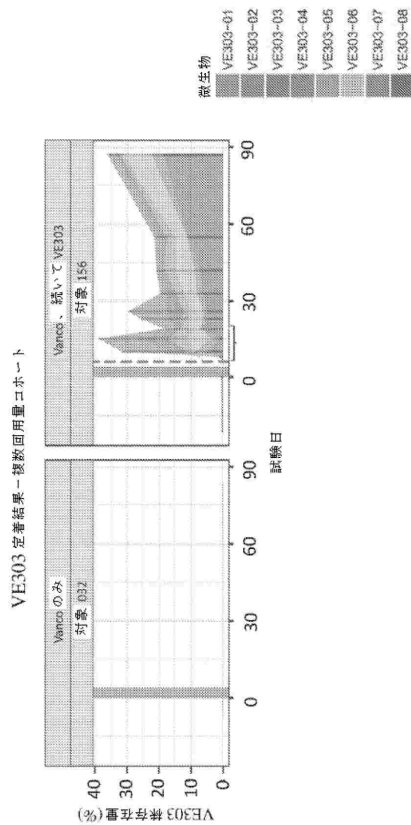
(続き)



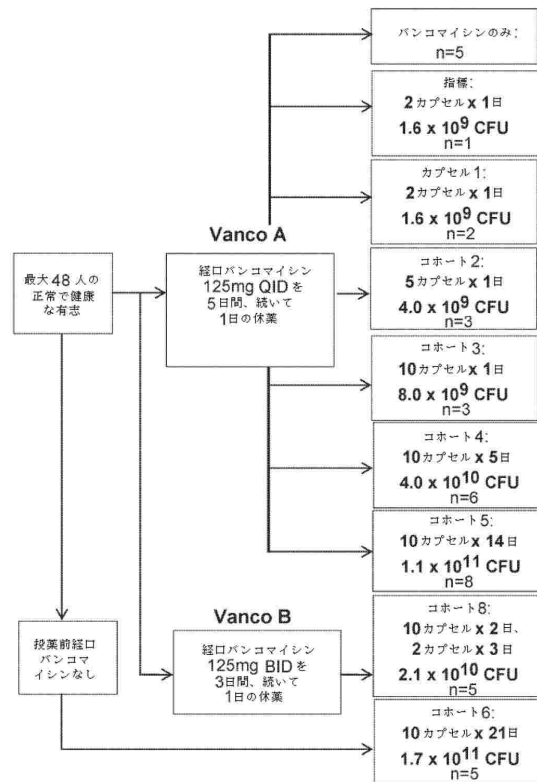
【図 19 A】



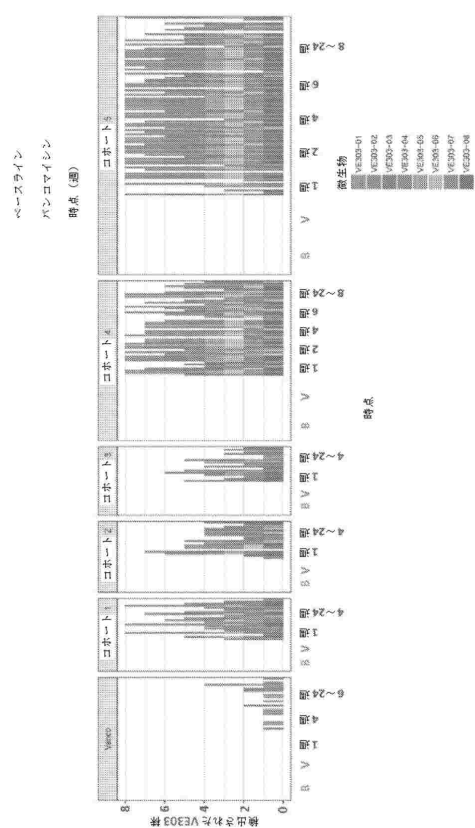
【図 19 B】



【図 20】



【図 2 1 - 1】

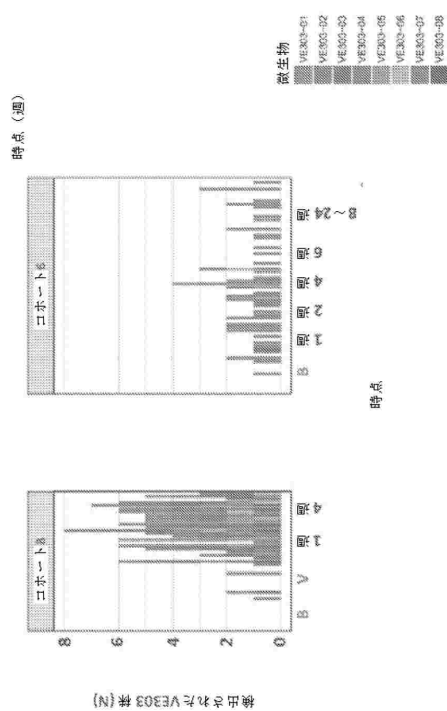


【圖 2 1 - 2】

(続き)

ひ
ひ
ひ

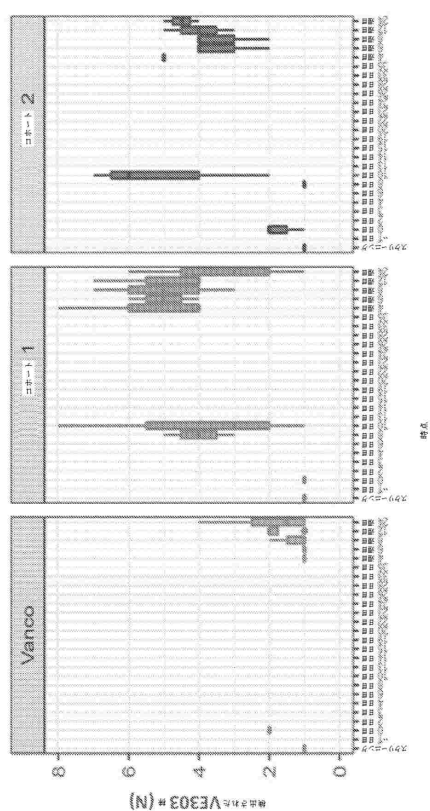
ひ
ひ
ひ



10

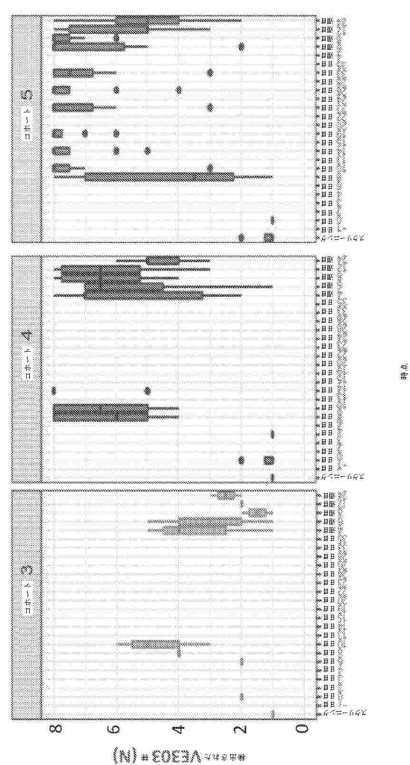
20

【図 22-1】



【圖 2 2 - 2】

(続き)



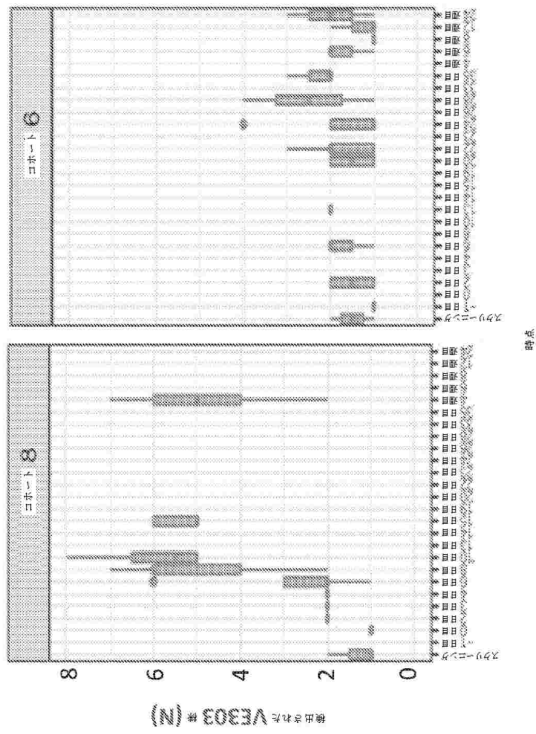
30

40

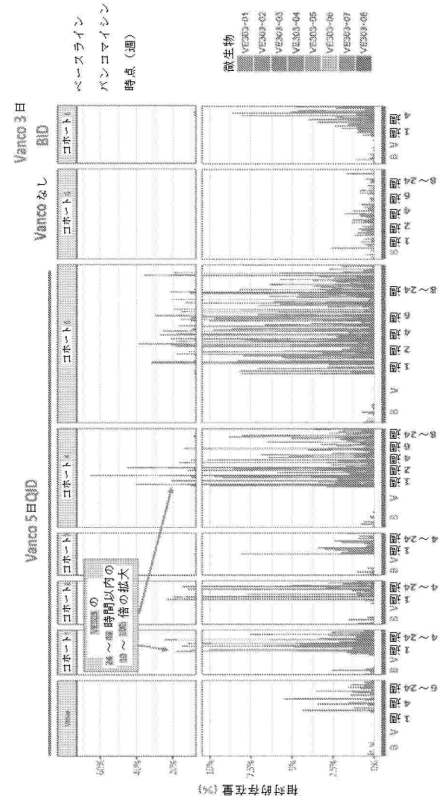
50

【図 2 2 - 3】

(続き)



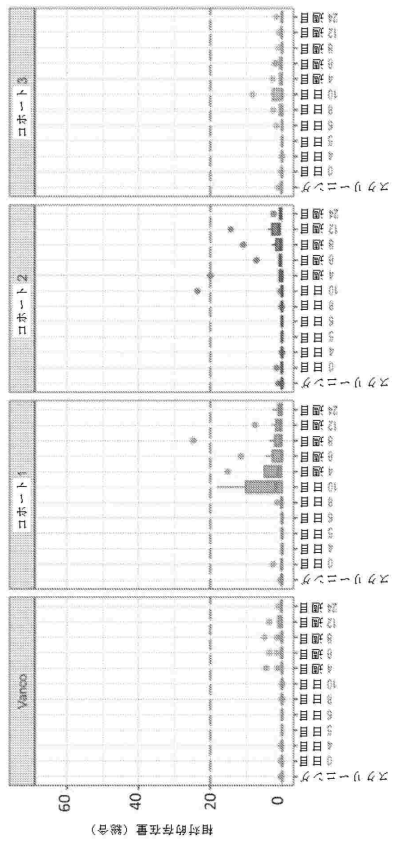
【図 2 3】



10

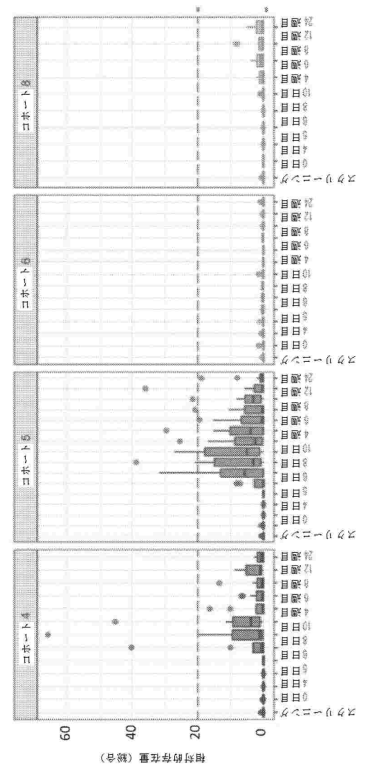
20

【図 2 4 - 1】



【図 2 4 - 2】

(続き)



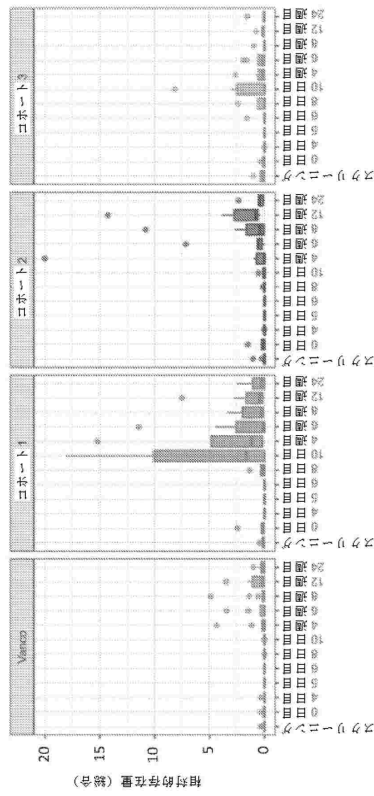
30

40

50

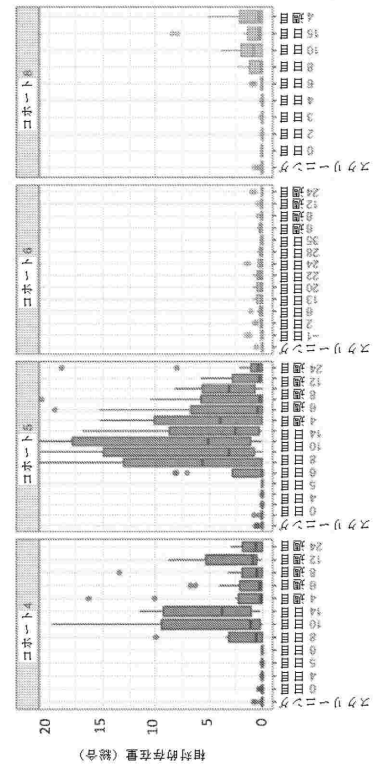
【図 2 4 - 3】

(続き)

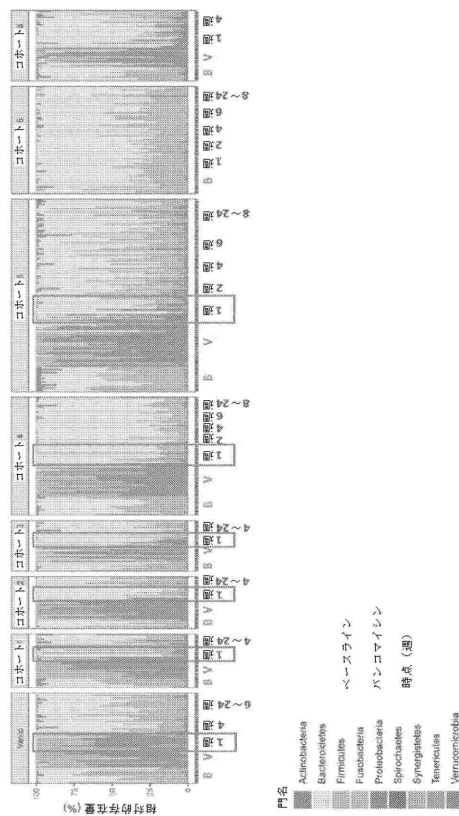


【図 2 4 - 4】

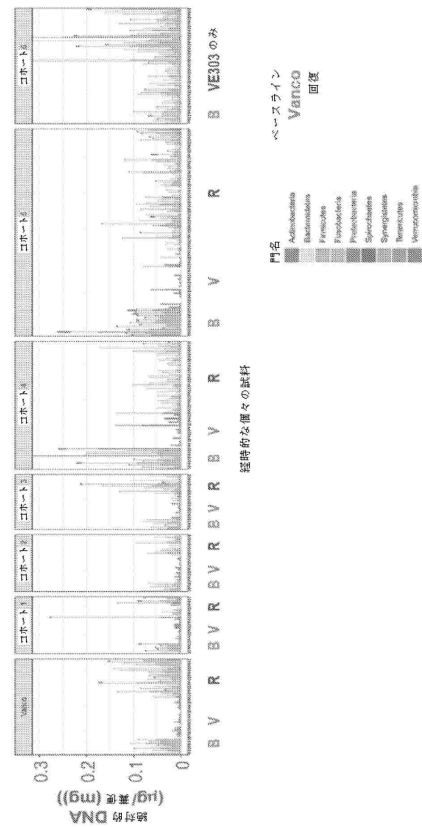
(続き)



【図 2 5】



【図 2 6 - 1】



10

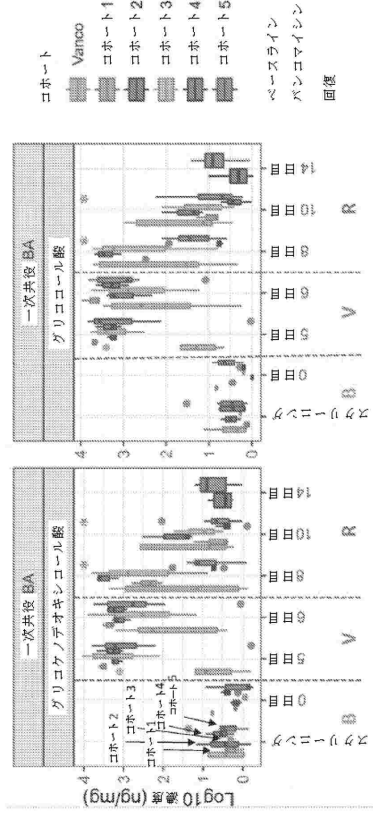
20

30

40

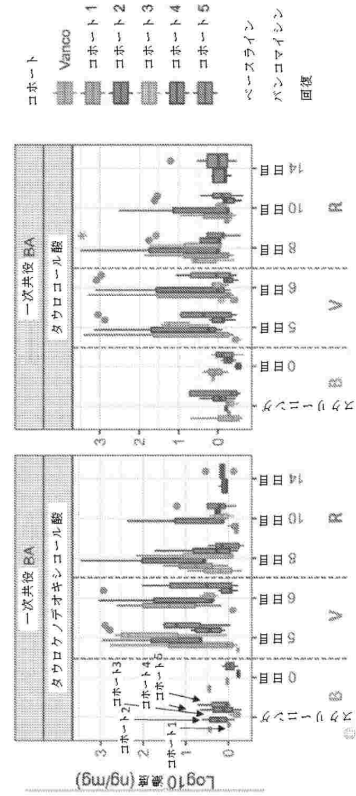
50

【図 30-1】

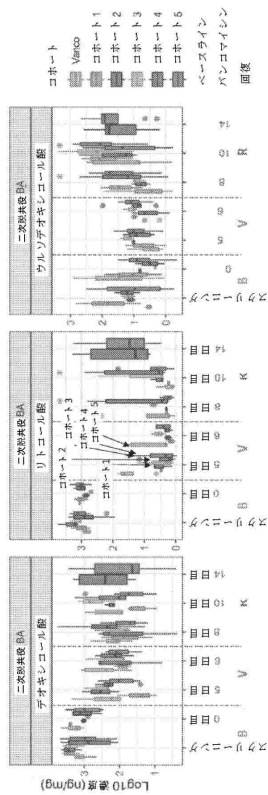


【図 30-2】

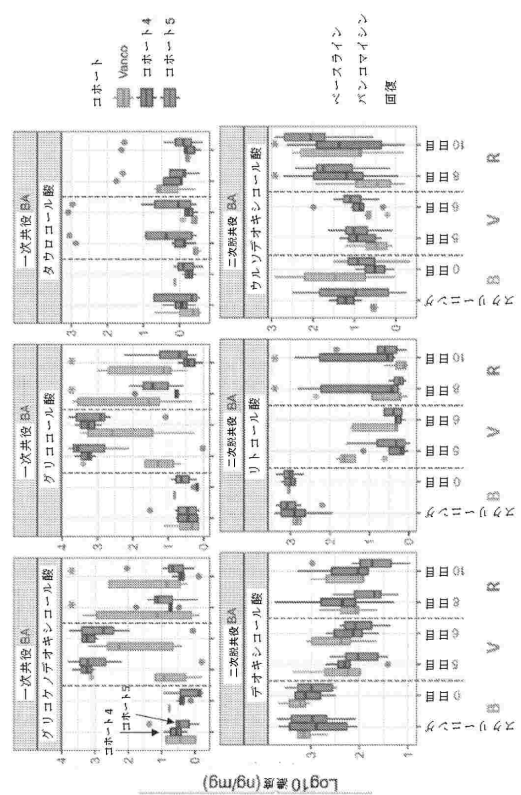
(続き)



【図 31】



【図 32】



10

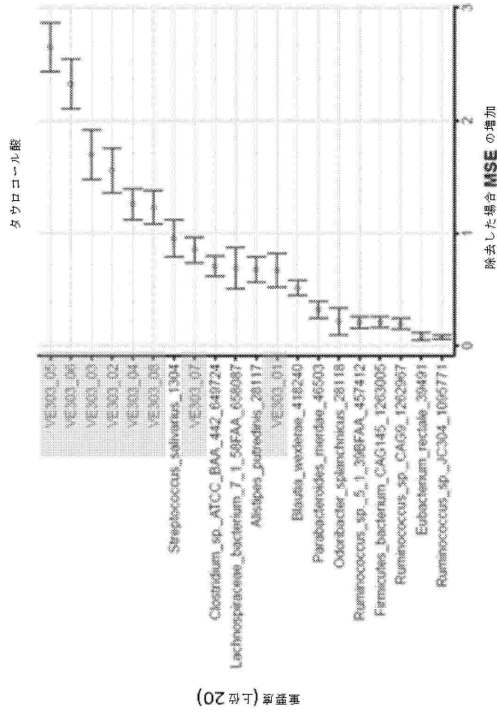
20

30

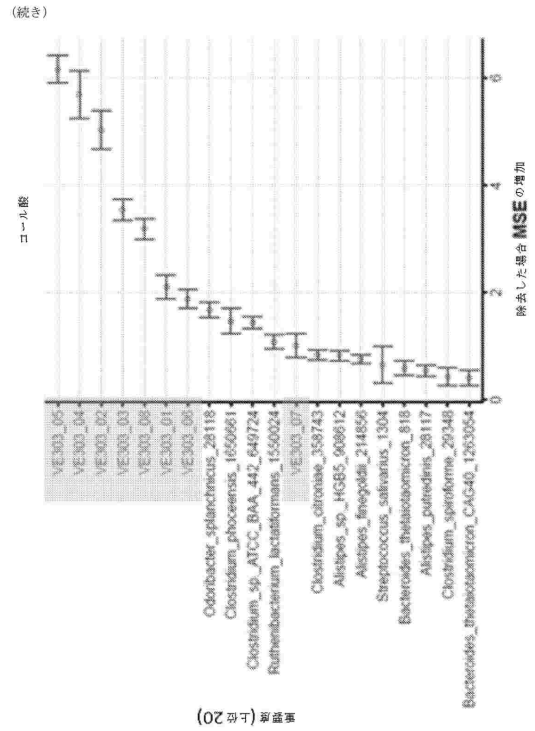
40

50

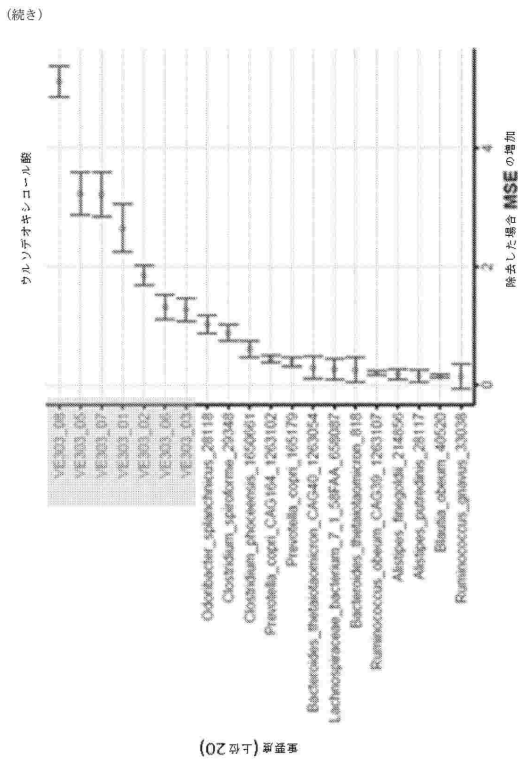
【図 3 5 - 1】



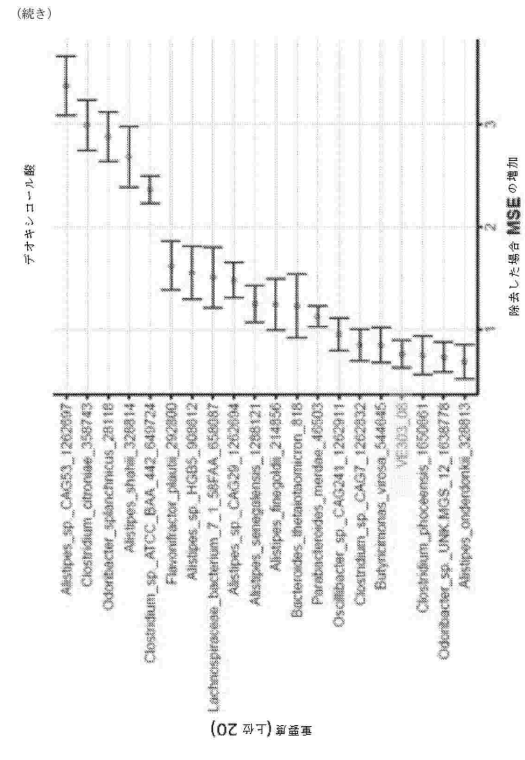
【図 3 5 - 2】



【図 3 5 - 3】



【図 3 5 - 4】



10

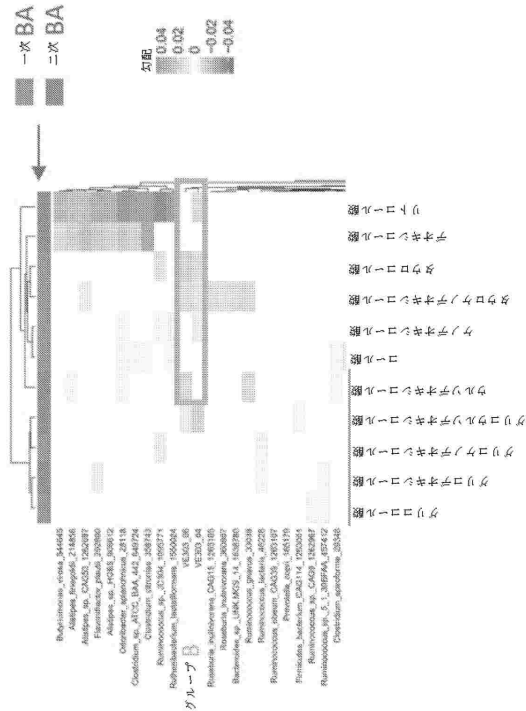
20

30

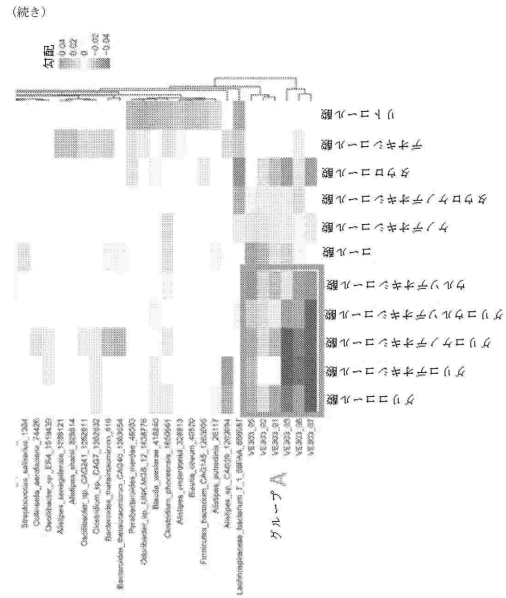
40

50

【図 3 6 A - 1】



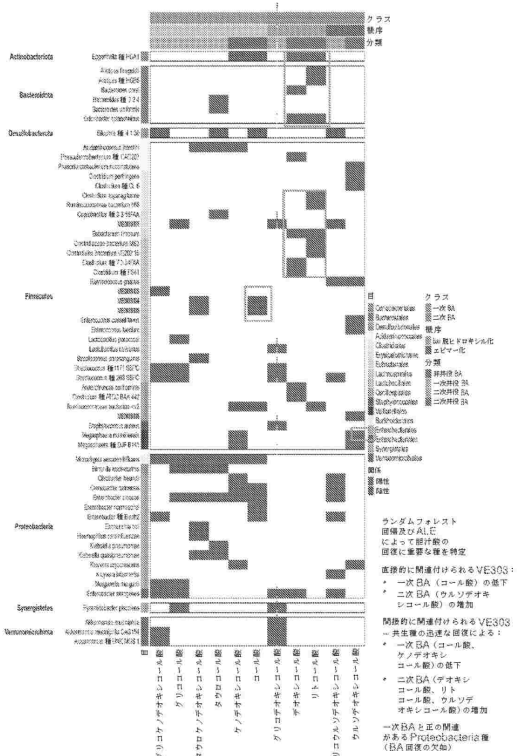
【図 3 6 A - 2】



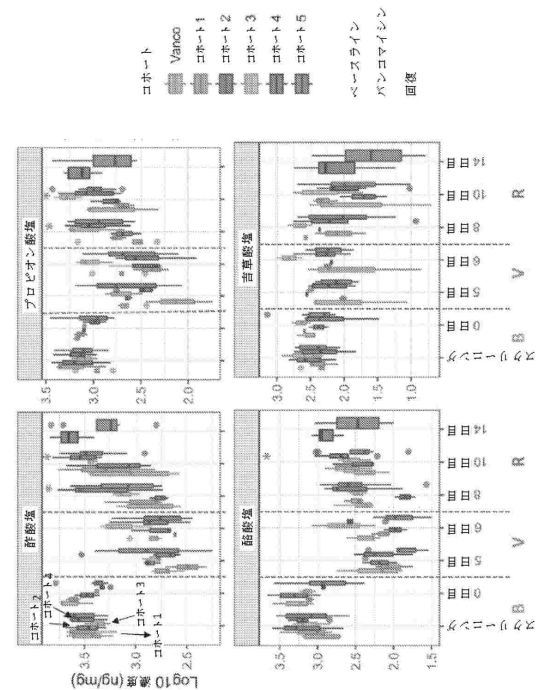
10

20

【図 3 6 B】



【図 3 7】

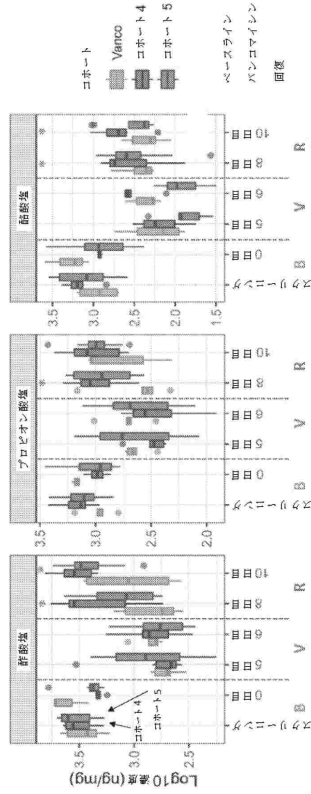


30

40

50

【図 3 8】



【図 3 9 A】

	P 値			関連		
	a	b	c	a	b	c
	vanco 中	vanco 後 (ベースライン)	VE303	vanco 中-vanco 前	vanco 後 (ベースライン)-vanco 前	VE303
肝臓値	2.28E-03	2.48E-03	6.60E-03	-502.81	-586.2	497.4
胆臓値	4.88E-04	8.04E-08	8.22E-04	435.38	-1018.73	161.73
イン胆臓値	1.88E-01	1.08E-05	7.89E-05	-23.42	-78.22	19.25
プロピオン酸値	1.21E-04	4.68E-05	1.18E-05	-486.46	-520.33	152.61
2-メチル酪酸	2.54E-01	1.25E-05	4.68E-05	-17.49	-65.08	16.14
イソ吉草酸値	2.94E-01	3.04E-05	1.53E-04	-20.09	-79.16	19.17

a Vanco 治療時ベースライン
b VE303 なしの Vanco 後
c VE303 ありの Vanco 後

肝臓値、胆臓値、及びプロピオン酸値と深く関連付けられるVE303

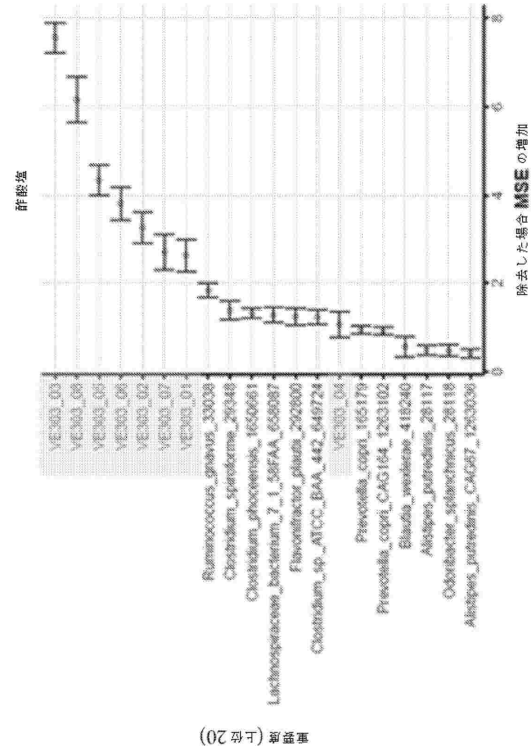
【図 3 9 B】

SCFA ~ 治療 + ve303_{int} + コホートID
PID
治療=ベースライン、バンコマイシン中、またはバンコマイシン後

SCFA	バンコマイシン中		バンコマイシン後 (VE303なし)		バンコマイシン後 (VE303あり)	
	d	p	d	p	d	p
肝臓値	-4.03E-02	* 2.33E-05	-1.18E-03	* 5.28E-03	1.124E-02	* 2.54E-03
胆臓値	-1.104E-03	* 9.72E-04	-8.98E-03	* 3.14E-03	4.18E-02	* 3.53E-02
プロピオン酸値	-5.78E-03	* 3.39E-05	-4.66E-02	* 3.20E-04	1.094E-02	* 7.62E-04
イン胆臓値	-4.92E-01	* 3.31E-03	-8.27E-02	* 3.28E-02	1.531E-01	* 1.03E-04
メチル酪酸	-4.08E-01	* 6.91E-03	-7.18E-01	* 7.42E-02	1.305E-01	* 2.35E-04
イソ吉草酸値	-6.58E-01	* 3.31E-03	-8.83E-01	* 9.98E-02	1.392E-01	* 1.59E-04
ヘキサン酸値	-2.774E+01	9.22E-02	-1.59E-02	* 3.94E-05	9.63E-00	3.95E-01
ヘキサン酸値	-5.16E-01	9.72E-01	-4.13E-01	* 6.70E-03	6.14E-00	1.73E-01

d=ベースラインからの距離
p=両側検定
*p<0.05
+増加
-減少

【図 4 0 - 1】



10

20

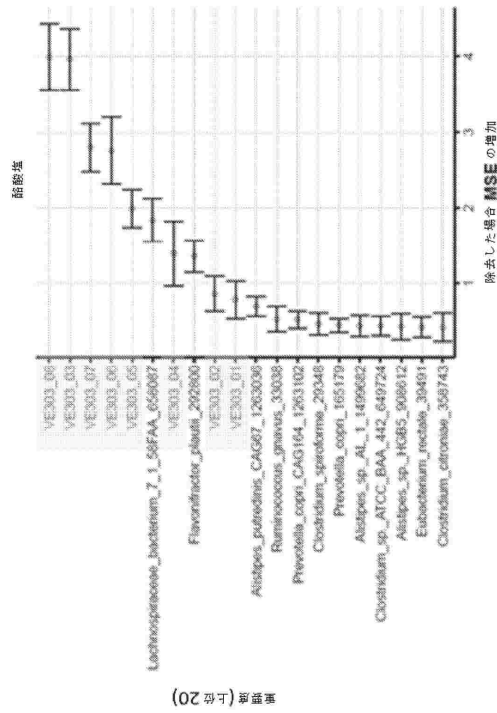
30

40

50

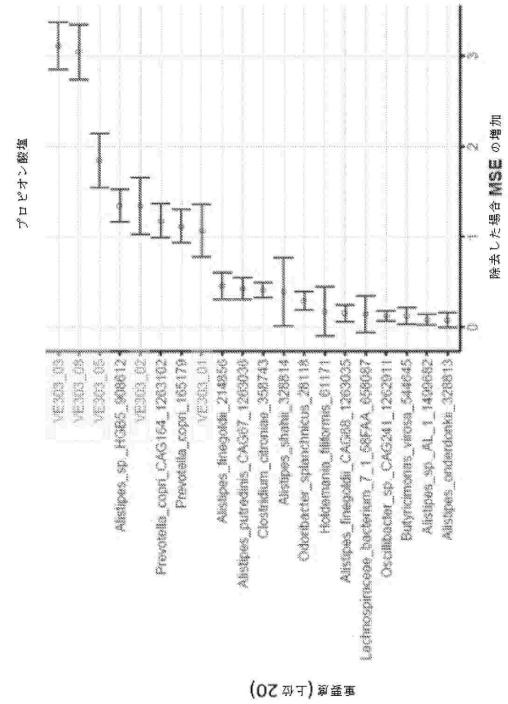
【図 40-2】

(続き)

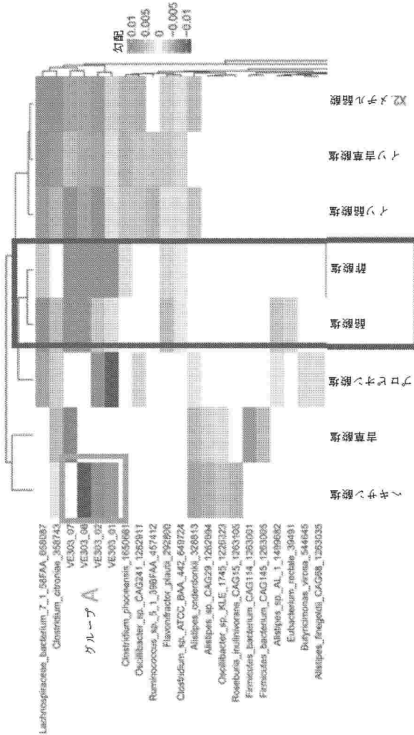


【図 40-3】

(続き)

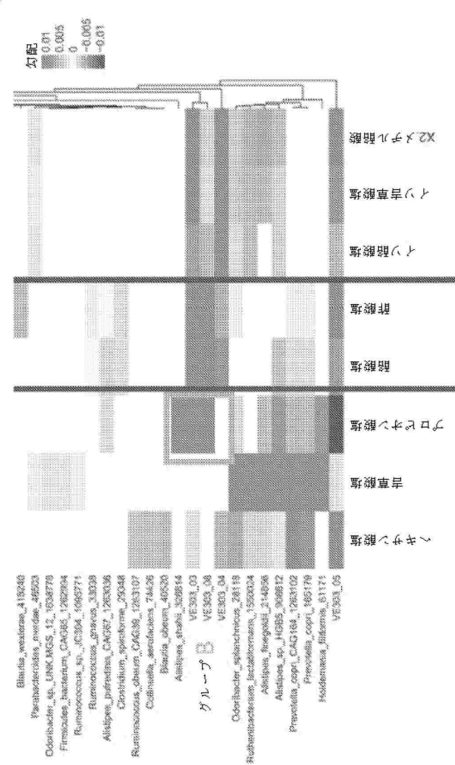


【図 41A-1】



【図 41A-2】

(続き)



10

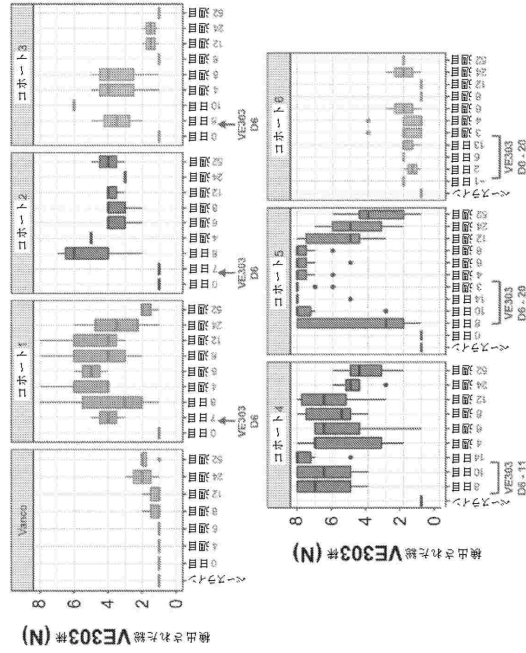
20

30

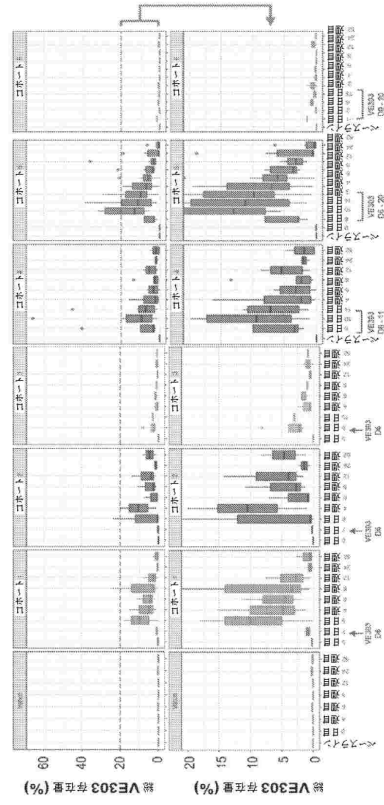
40

50

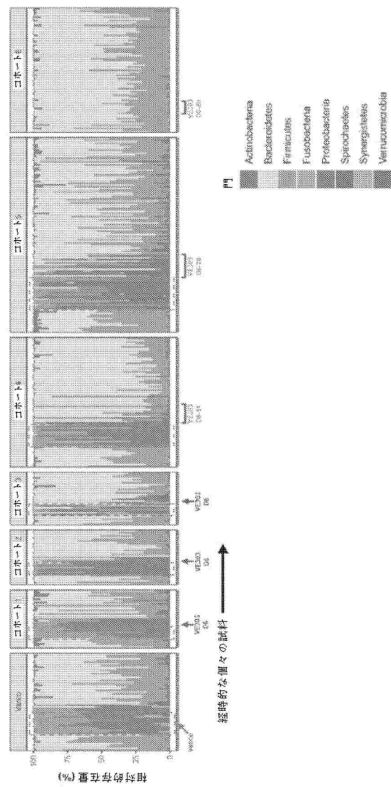
【図 4 5 A】



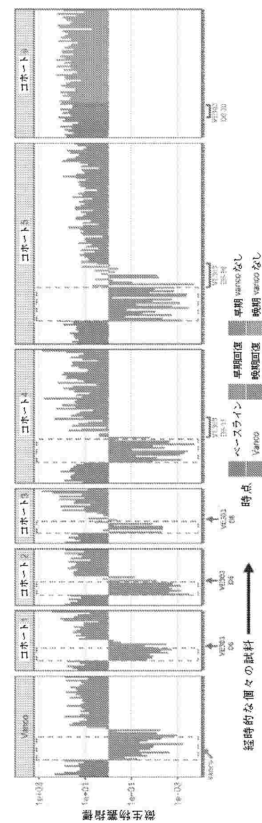
【図 4 5 B】



【図 4 6 A】



【図 4 6 B】



10

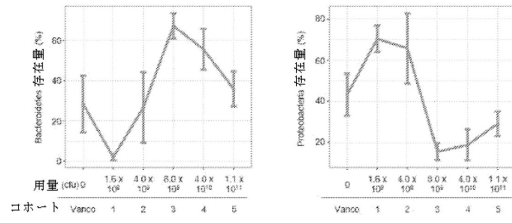
20

30

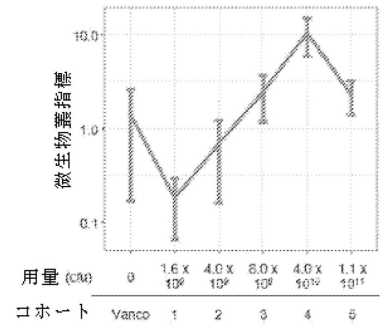
40

50

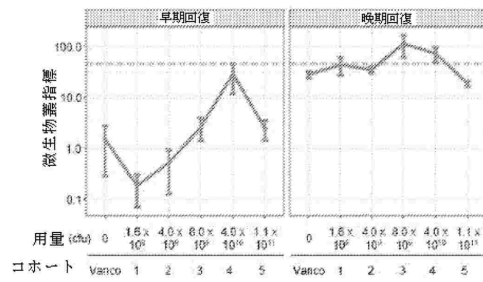
【図 4 6 C】



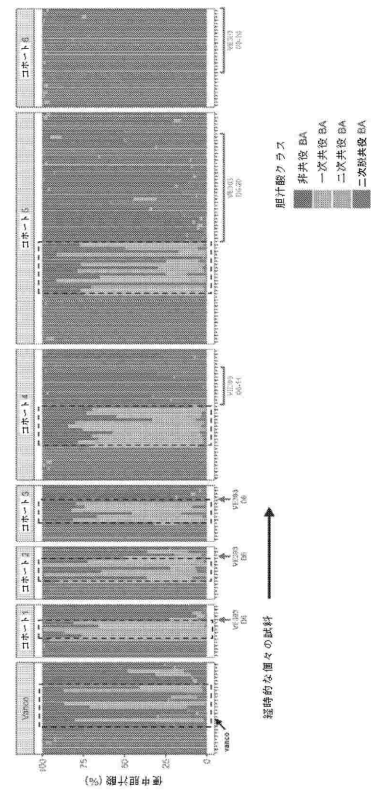
【図 4 6 D】



【図 4 6 E】



【図 4 7 A】



10

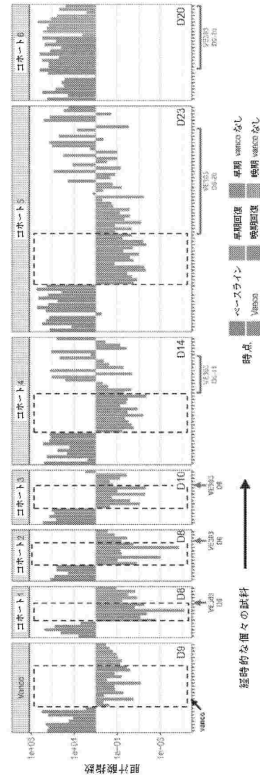
20

30

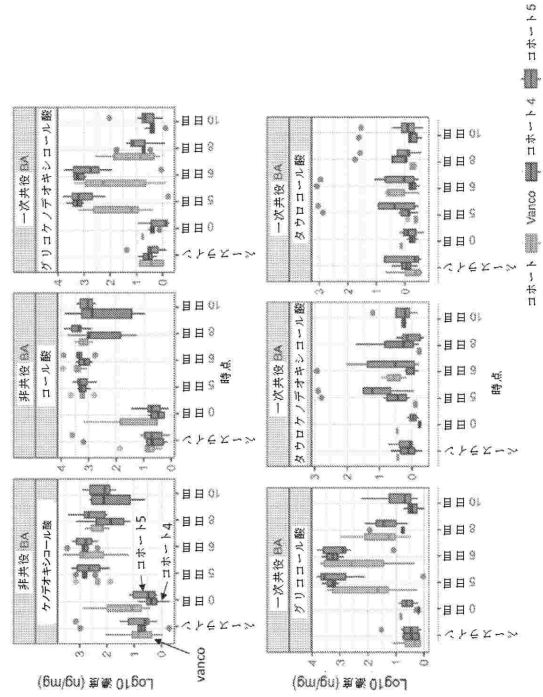
40

50

【図 4 7 B】

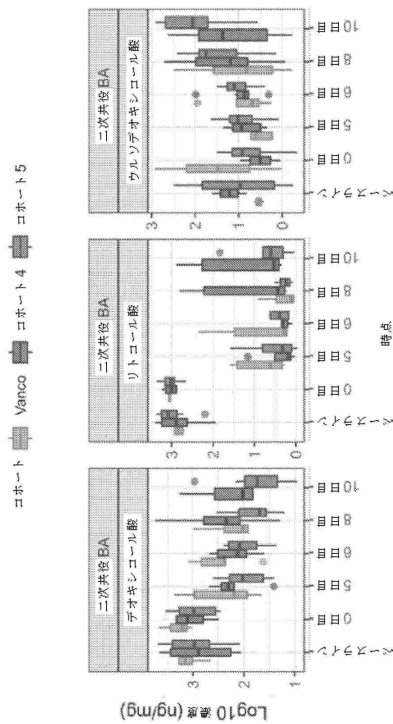


【図 4 7 C - 1】

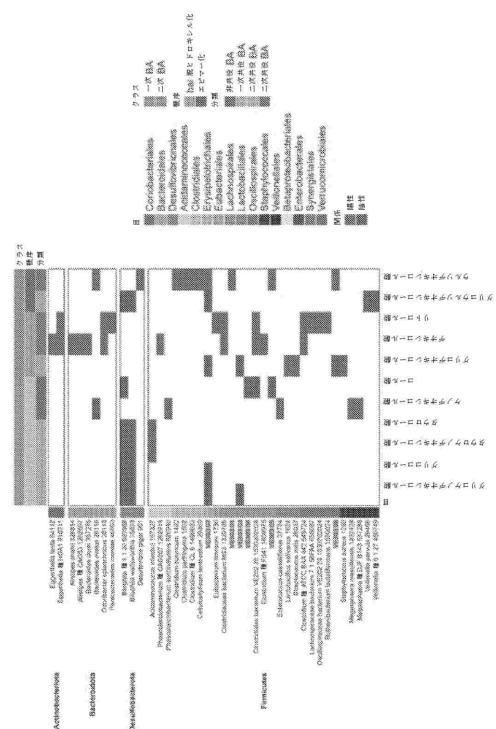


【図 4 7 C - 2】

(続き)



【図 4 7 D - 1】



10

20

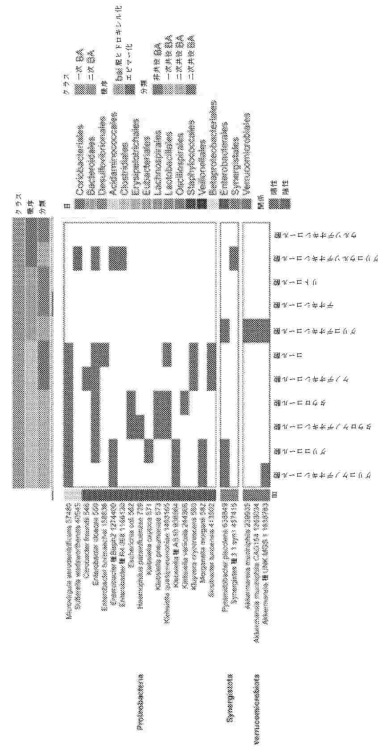
30

40

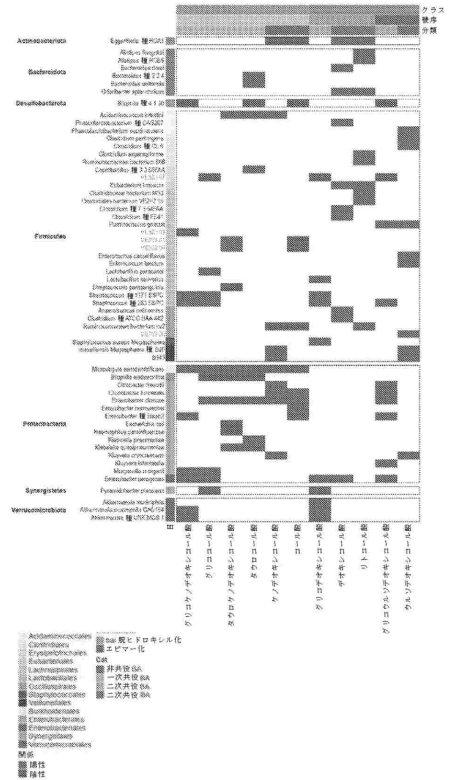
50

【図 4 7 D - 2】

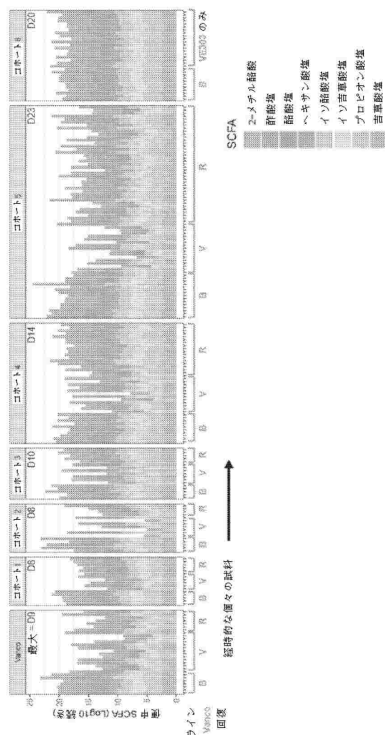
(続き)



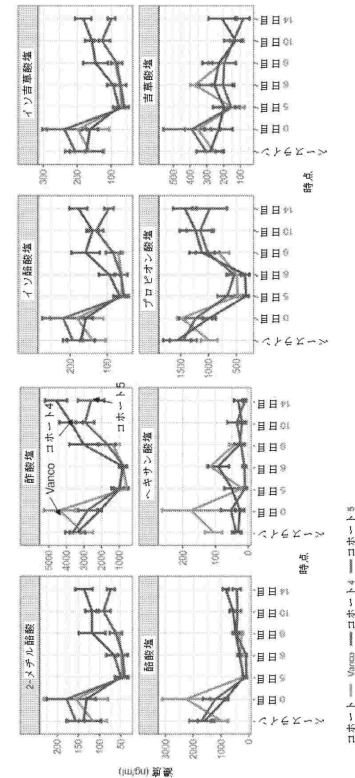
【図 4 7 E】



【図 4 8 A】



【図 4 8 B】



10

20

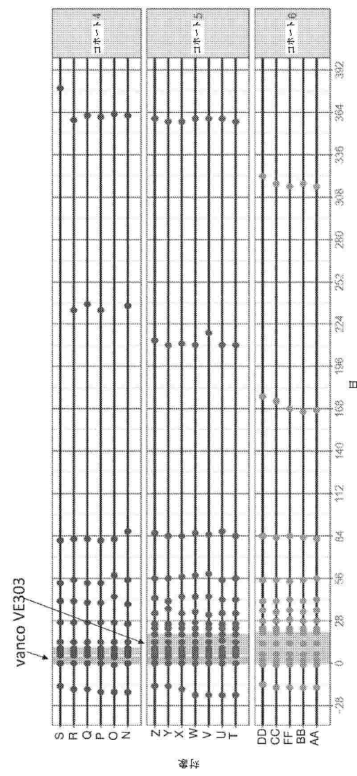
30

40

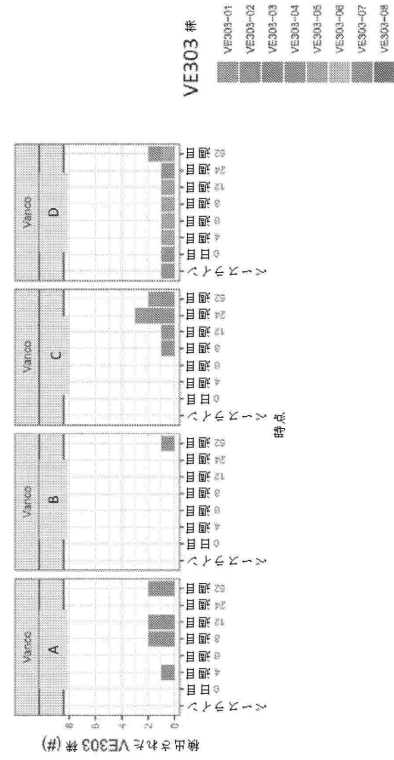
50

【図 49-2】

(続き)



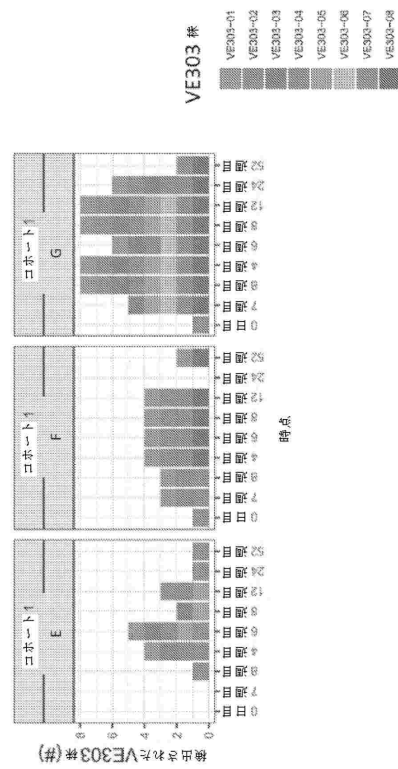
【図 50A】



10

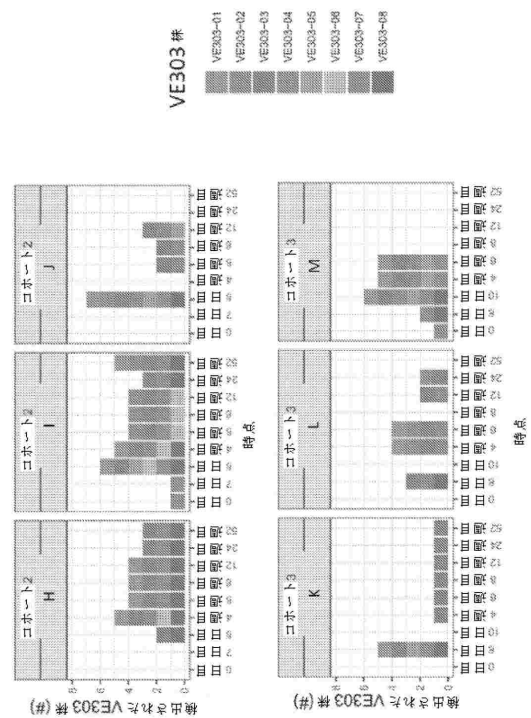
20

【図 50B-1】



【図 50B-2】

(続き)

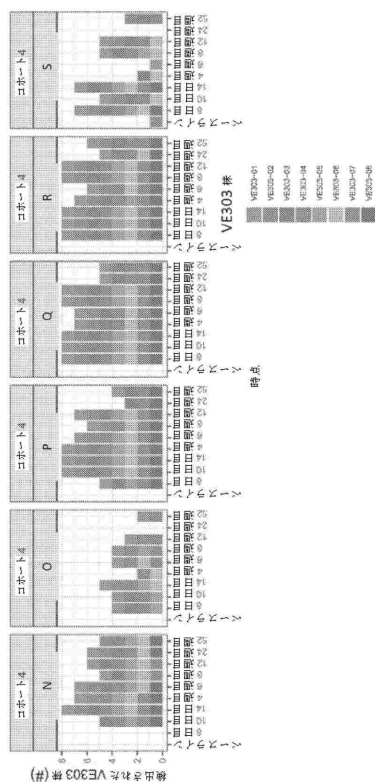


30

40

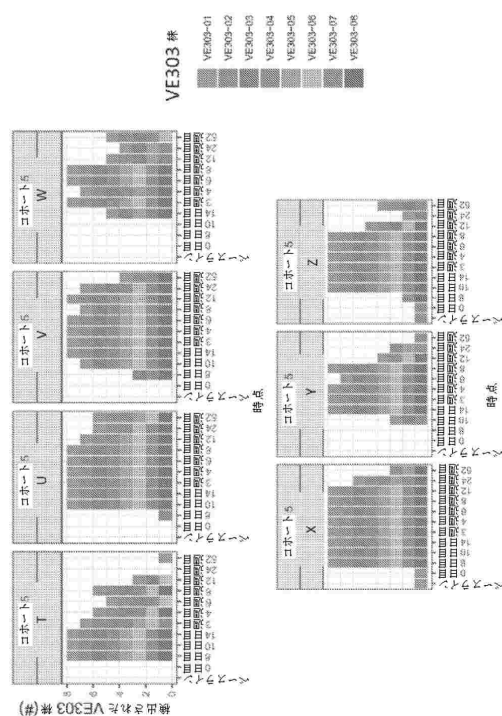
50

【図 50C-1】



【図 50C-2】

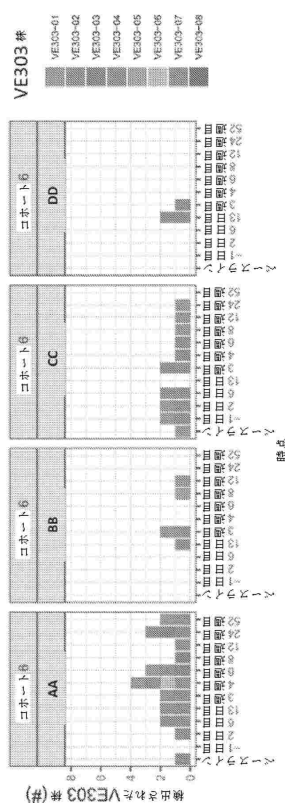
(続き)



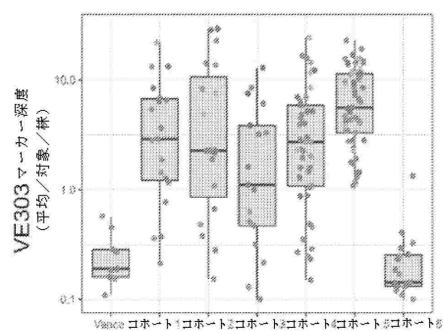
10

20

【図 50 D】



【図 5 1 A】

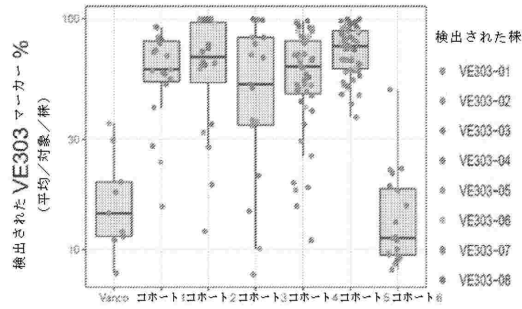


30

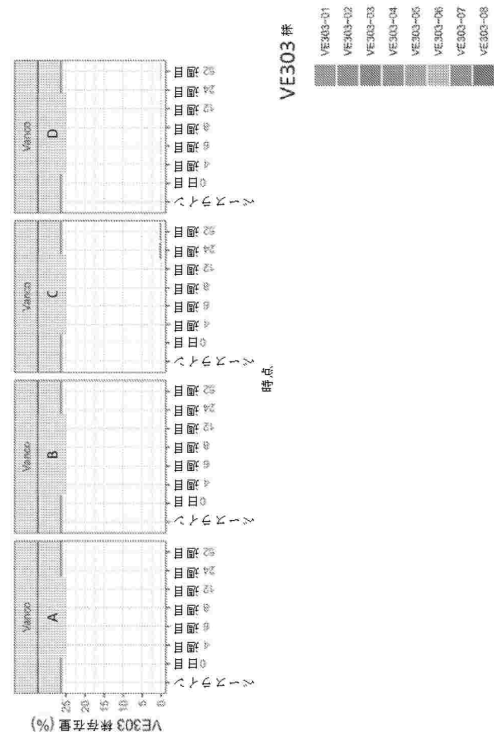
40

50

【図 5 1 B】



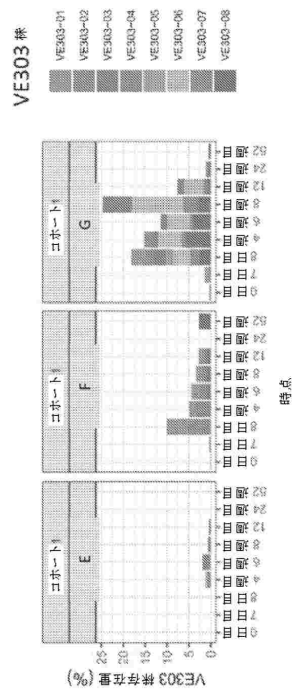
【図 5 2 A】



10

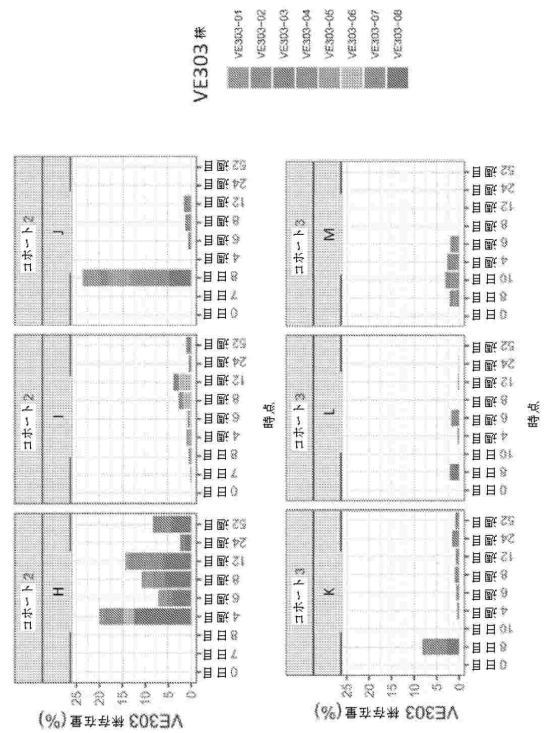
20

【図 5 2 B - 1】



【図 5 2 B - 2】

(続き)

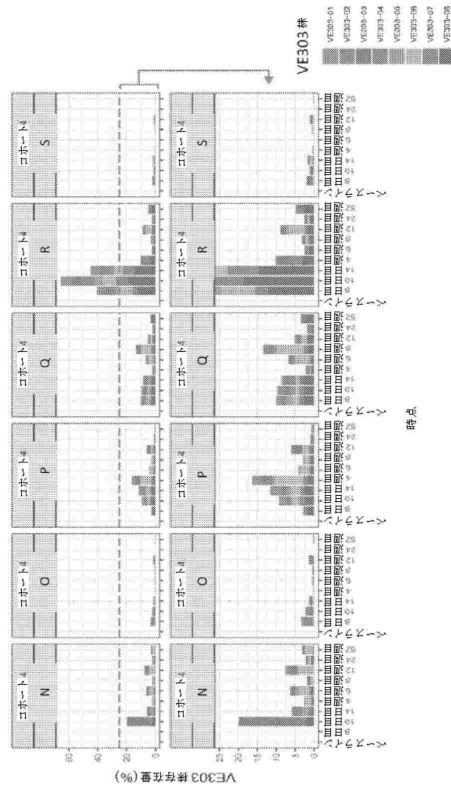


30

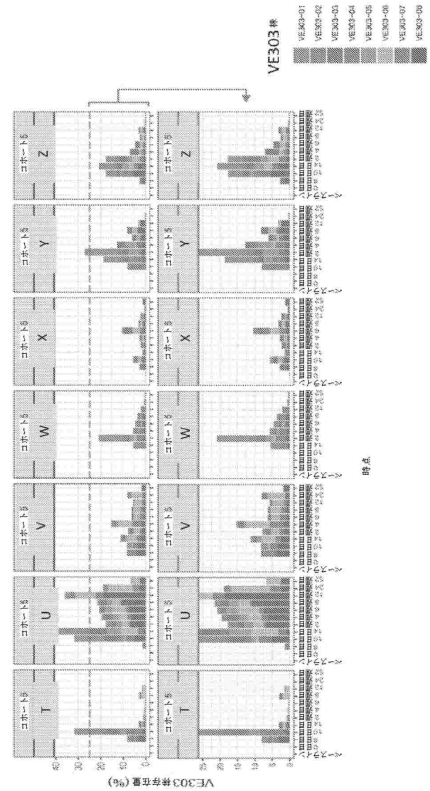
40

50

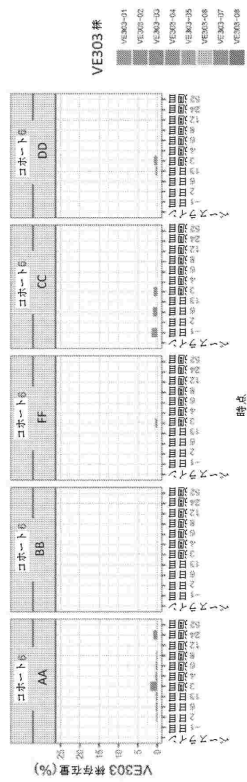
【図 5 2 C】



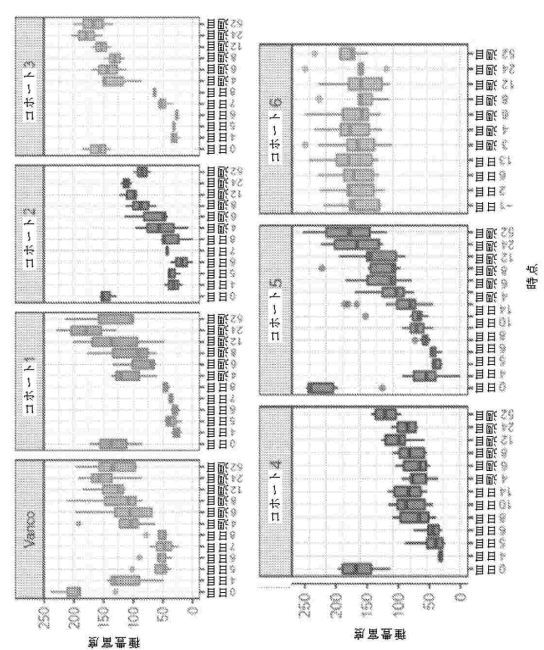
【図 5 2 D】



【図 5 2 E】



【図 5 3 A】



10

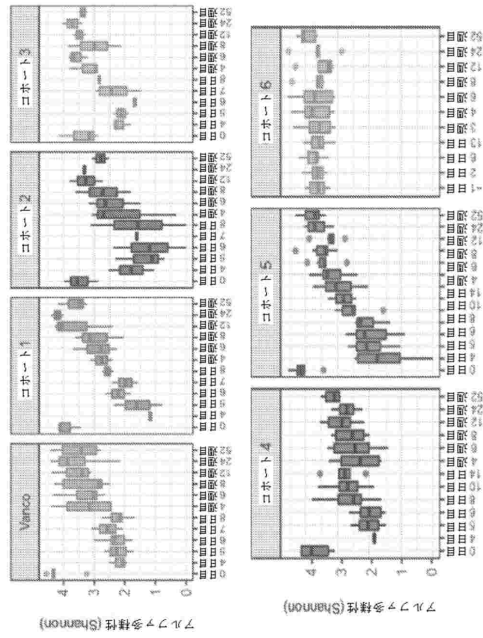
20

30

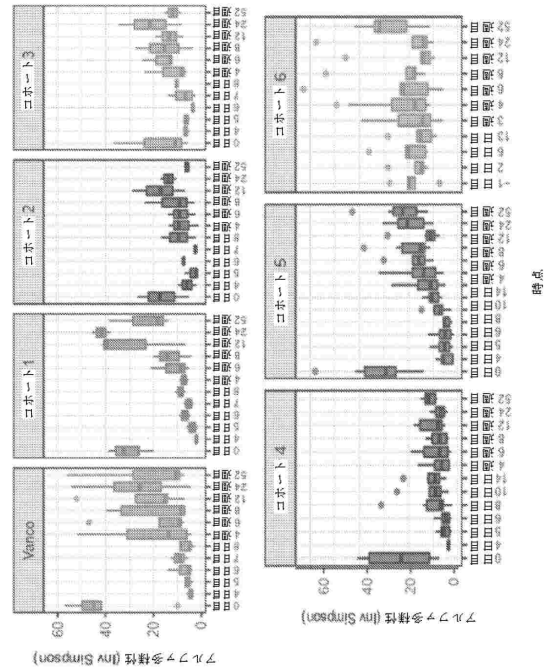
40

50

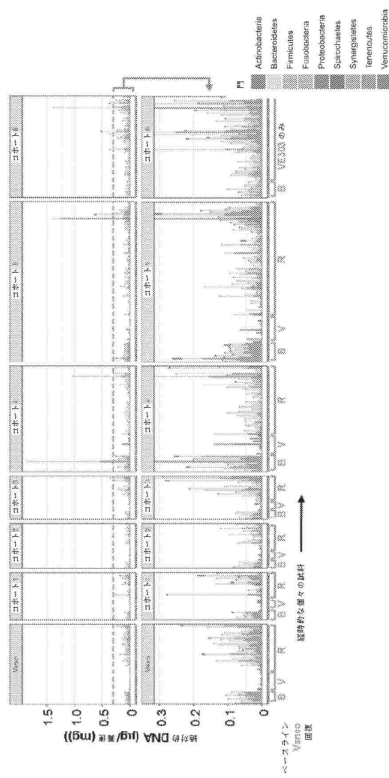
【図 5 3 B】



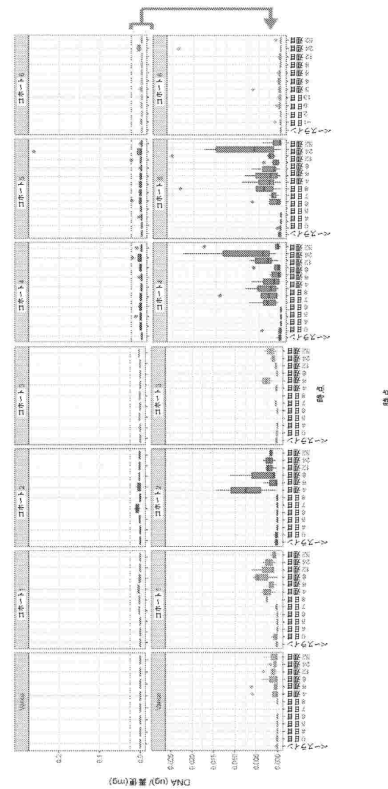
【図 5 3 C】



【図 5 4 A】



【図 5 4 B】



10

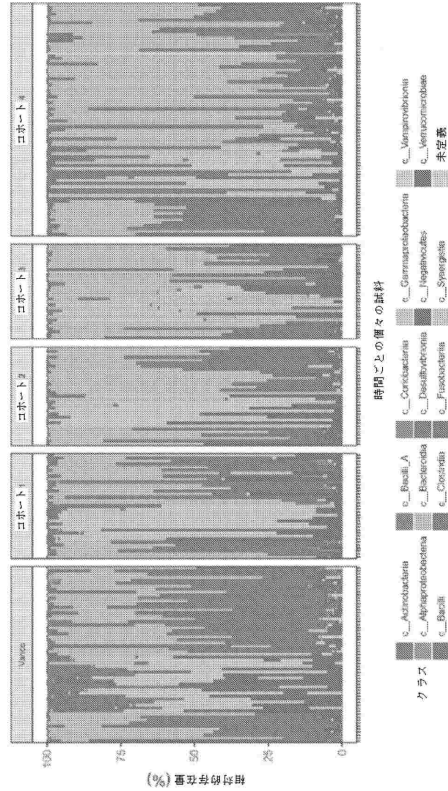
20

30

40

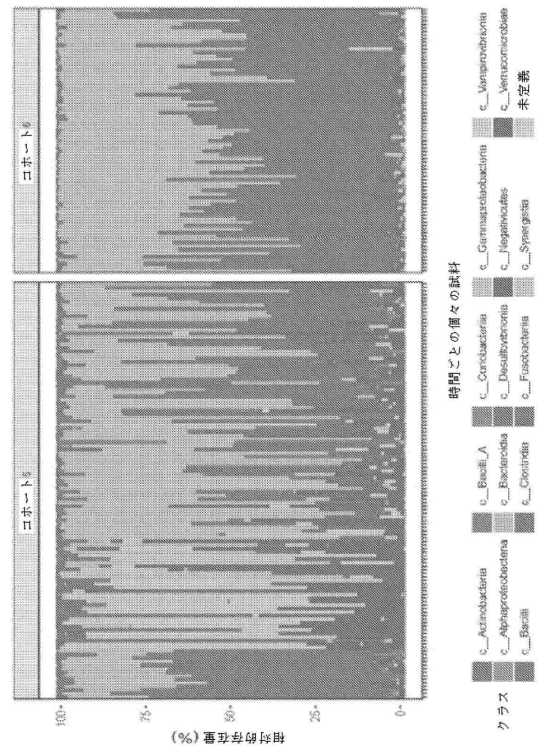
50

【図 5 5 - 1】

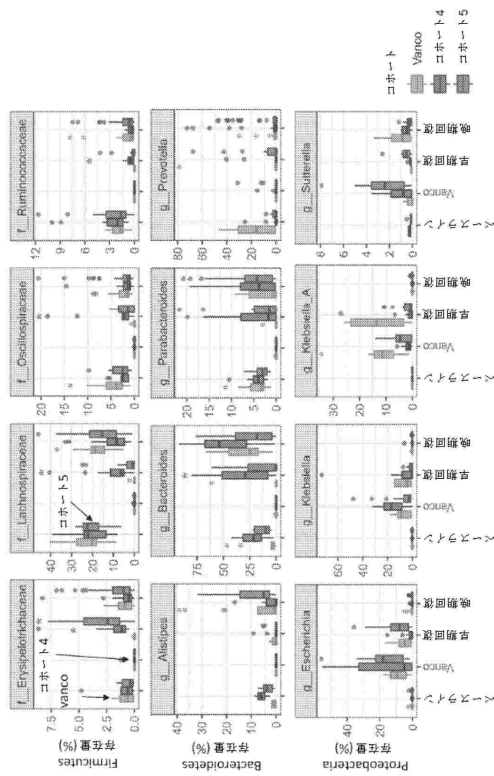


【図 5 5 - 2】

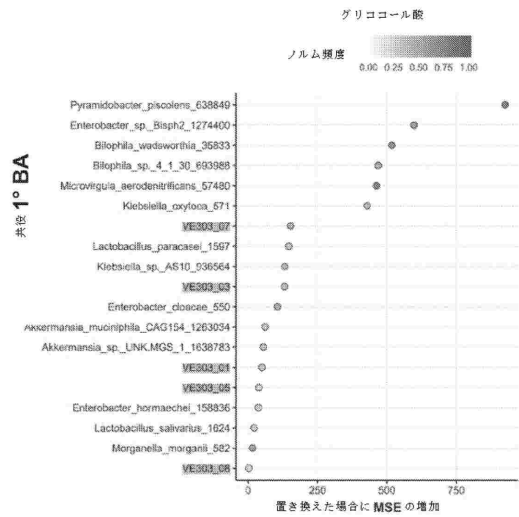
(続き)



【図 5 6】



【図 5 7 A - 1】



10

20

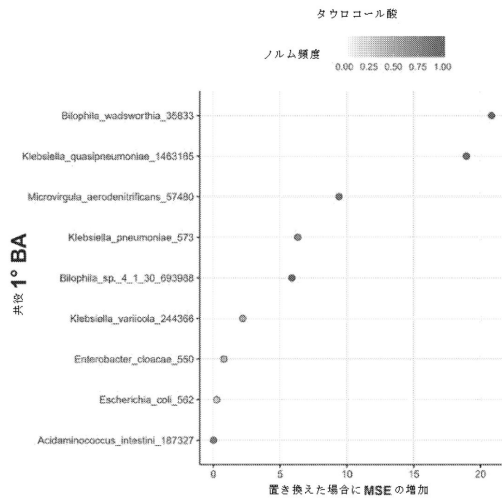
30

40

50

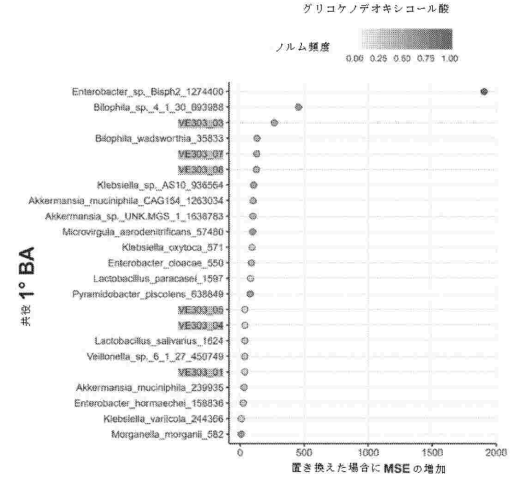
【図 5 7 A - 2】

(続き)



【図 5 7 A - 3】

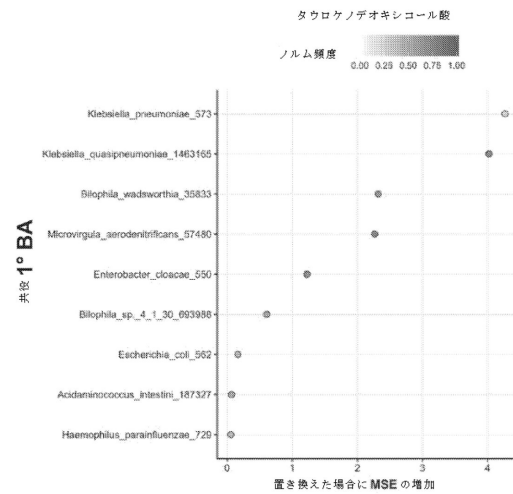
(続き)



10

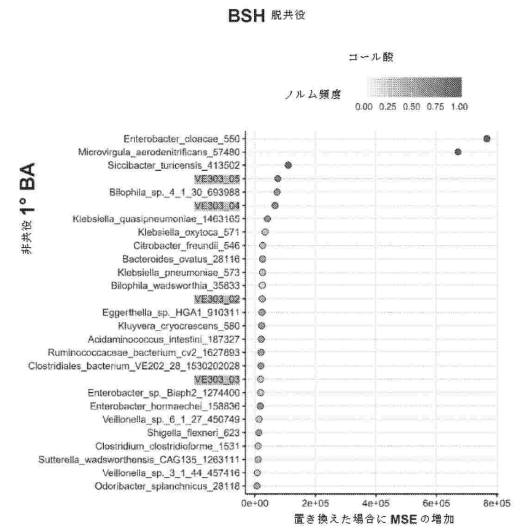
【図 5 7 A - 4】

(続き)



【図 5 7 A - 5】

(続き)



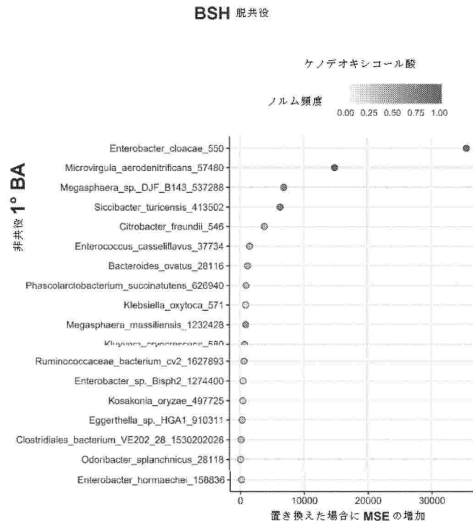
30

40

50

【図 5 7 A - 6】

(続き)



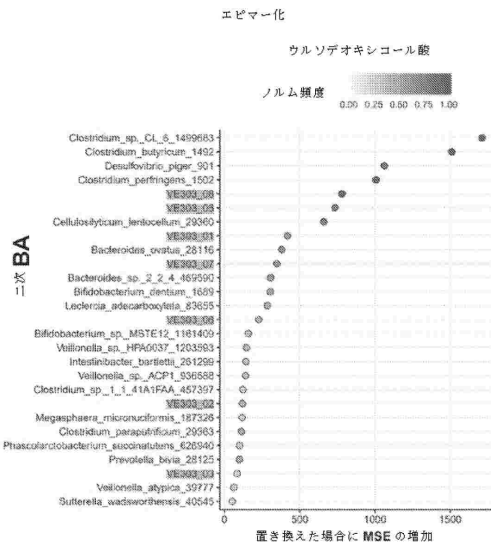
【図 5 7 A - 7】

(続き)



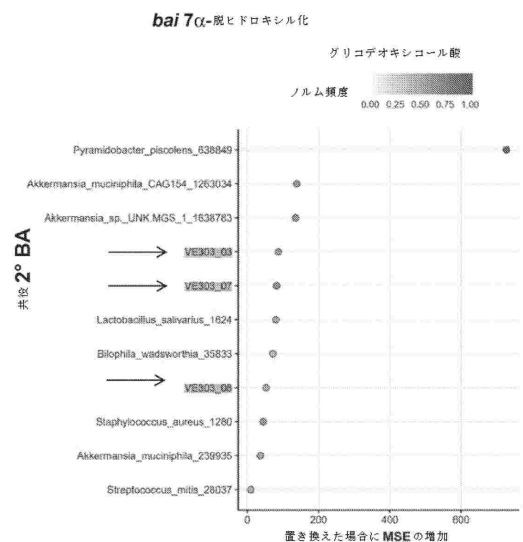
【図 5 7 A - 8】

(続き)



【図 5 7 A - 9】

(続き)



10

20

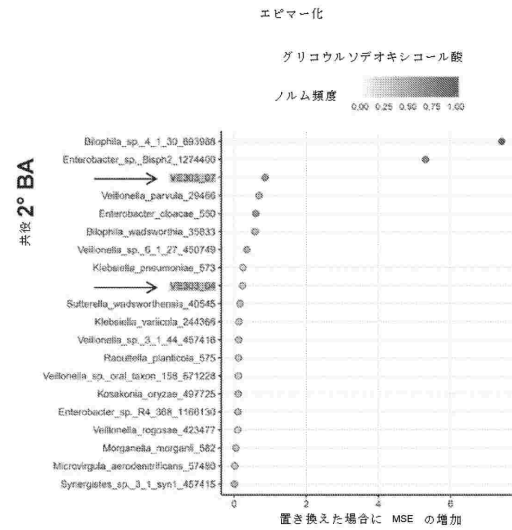
30

40

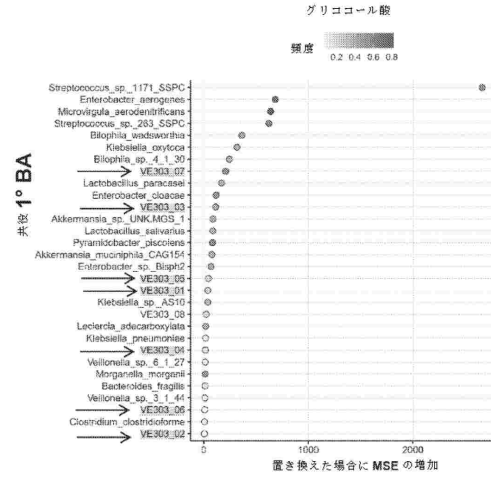
50

【図 5 7 A - 1 0】

(続き)



【図 5 7 B - 1】

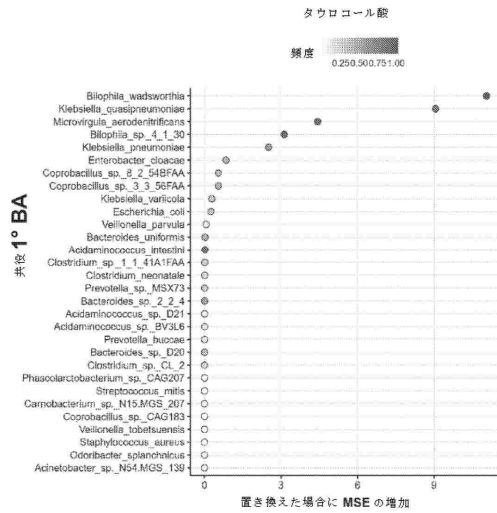


10

20

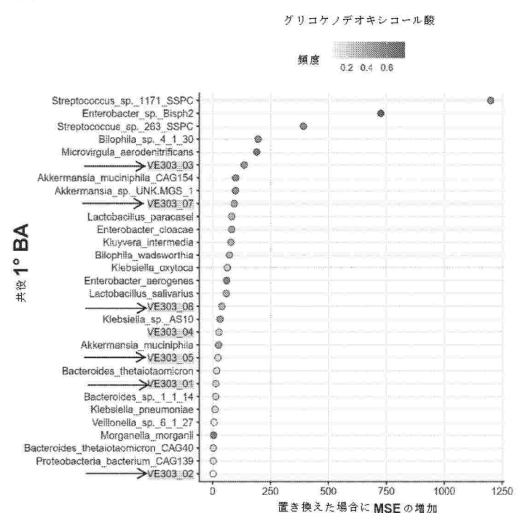
【図 5 7 B - 2】

(続き)



【図 5 7 B - 3】

(続き)



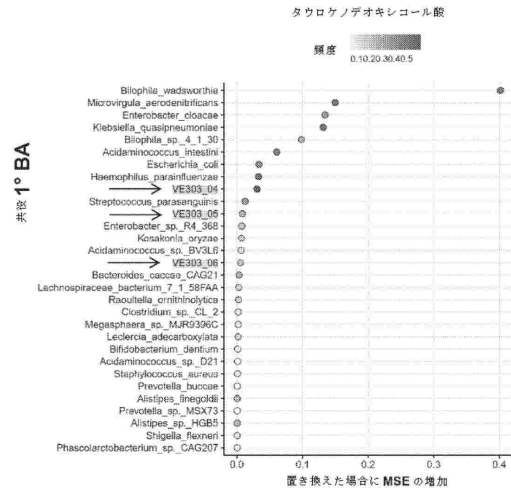
30

40

50

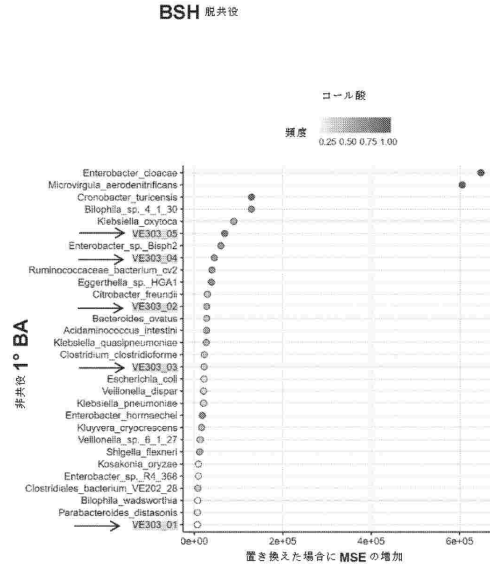
【図 5 7 B - 4】

(続き)



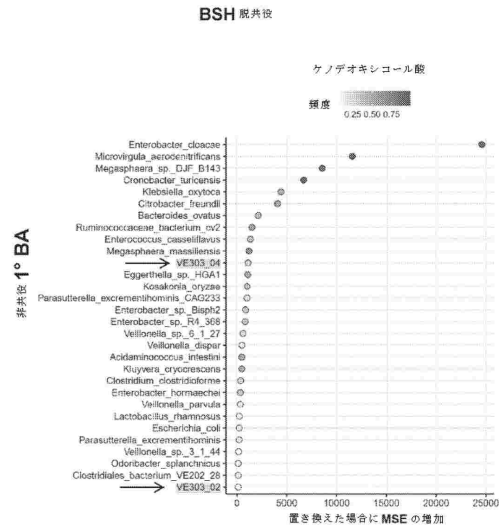
【図 5 7 B - 5】

(続き)



【図 5 7 B - 6】

(続き)



【図 5 7 B - 7】

(続き)



10

20

30

40

50

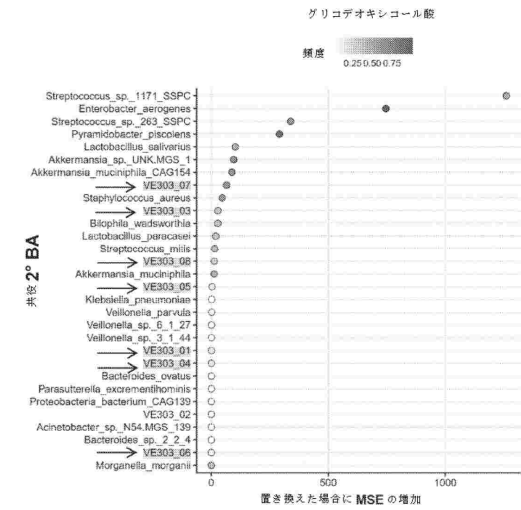
【図 5 7 B - 8】

(続き)



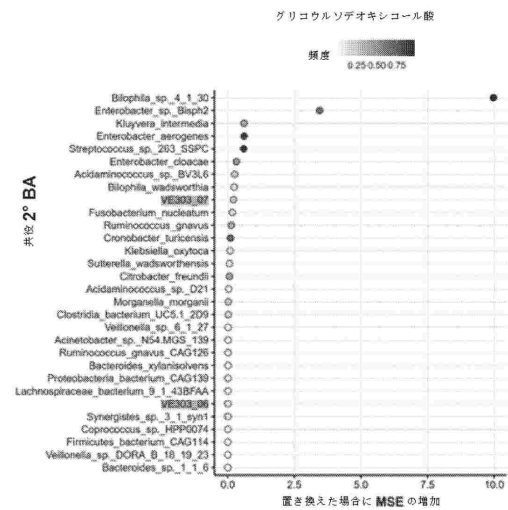
【図 5 7 B - 9】

(続き)

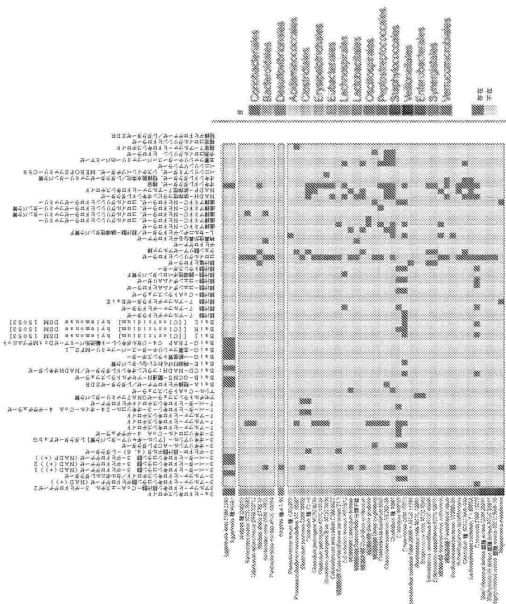


【図 5 7 B - 10】

(続き)



【図 5 8 A - 1】



10

20

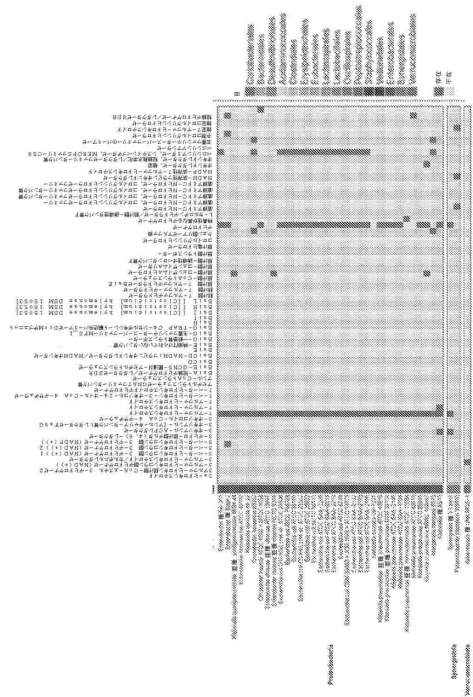
30

40

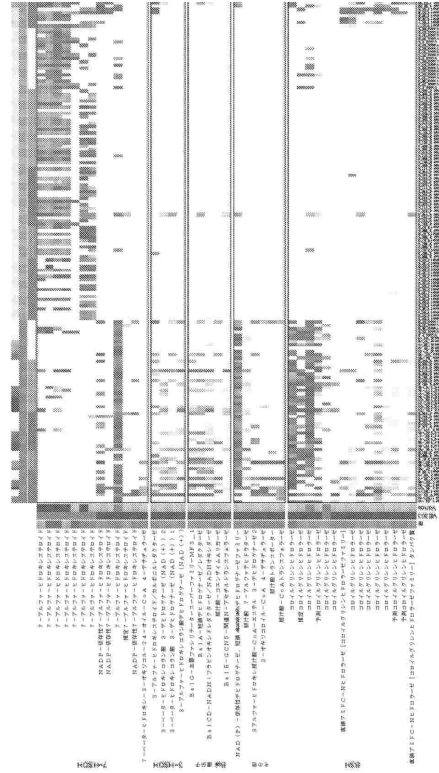
50

【図 5 8 A - 2】

(続き)

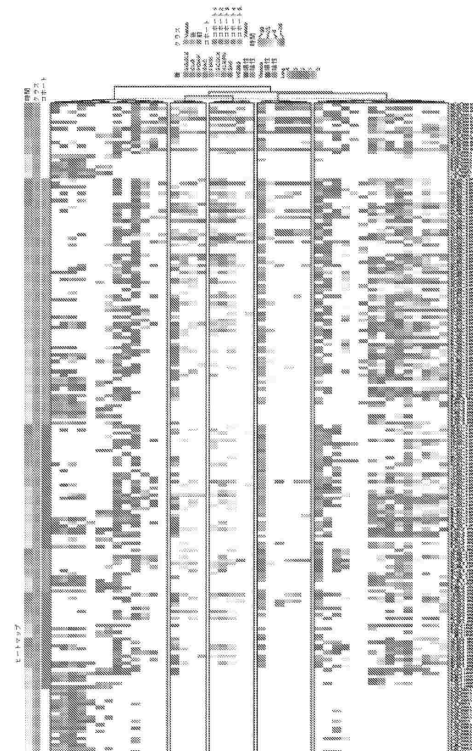


【図 5 8 B - 1】



【図 5 8 B - 2】

(続き)



【図 5 9 A - 1】



10

20

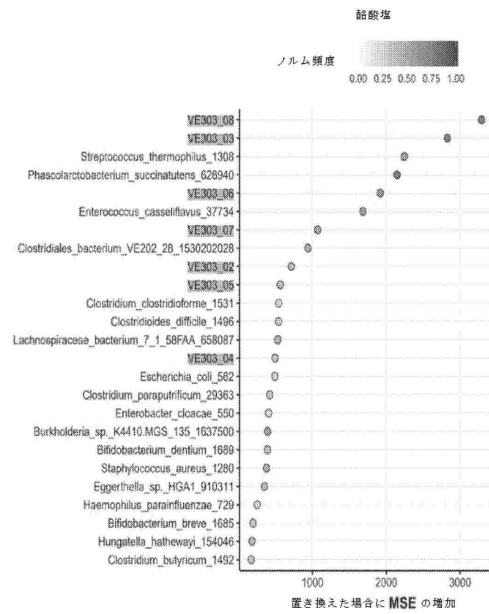
30

40

50

【図 5 9 A - 2】

(続き)



【図 5 9 A - 3】

(続き)

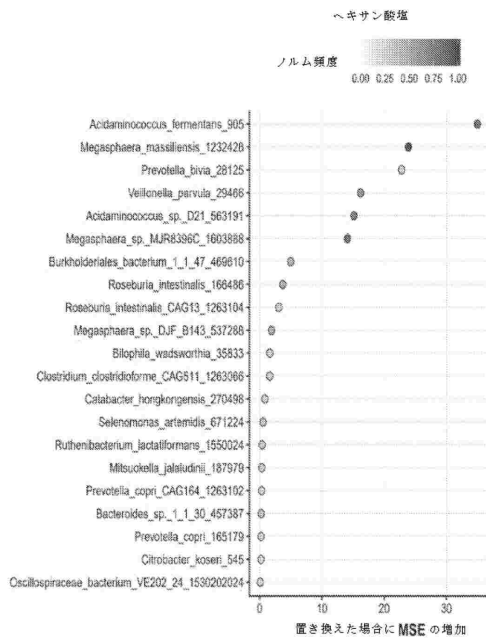


10

20

【図 5 9 A - 4】

(続き)



【図 5 9 A - 5】

(続き)



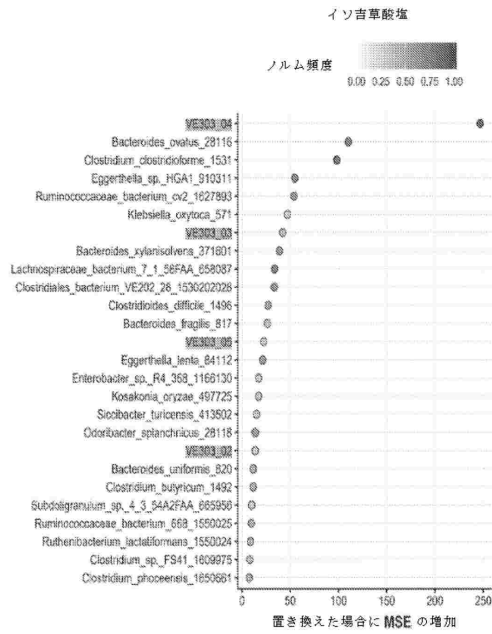
30

40

50

【図 5 9 A - 6】

(続き)



【図 5 9 A - 7】

(続き)



【図 5 9 A - 8】

(続き)



【図 5 9 B - 1】



10

20

30

40

50

【図 5 9 B - 2】

(続き)



【図 5 9 B - 3】

(続き)



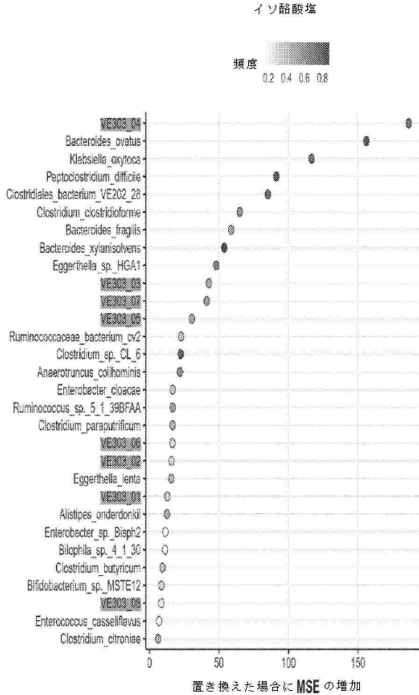
【図 5 9 B - 4】

(続き)



【図 5 9 B - 5】

(続き)



10

20

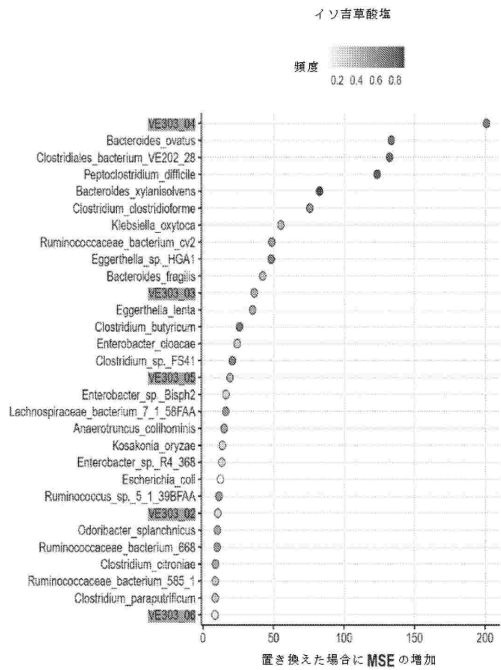
30

40

50

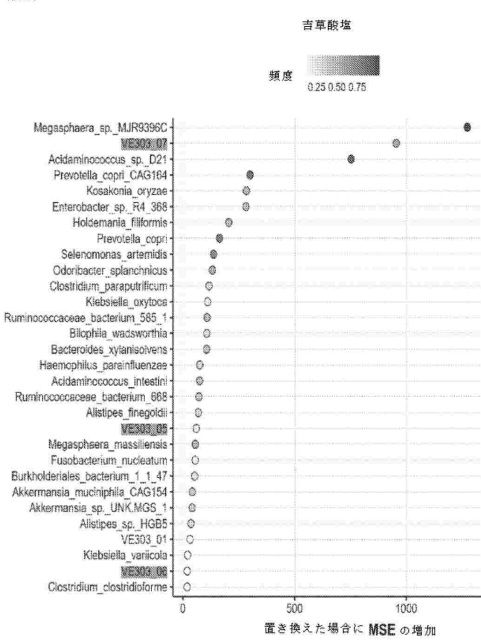
【図 5 9 B - 6】

(続き)



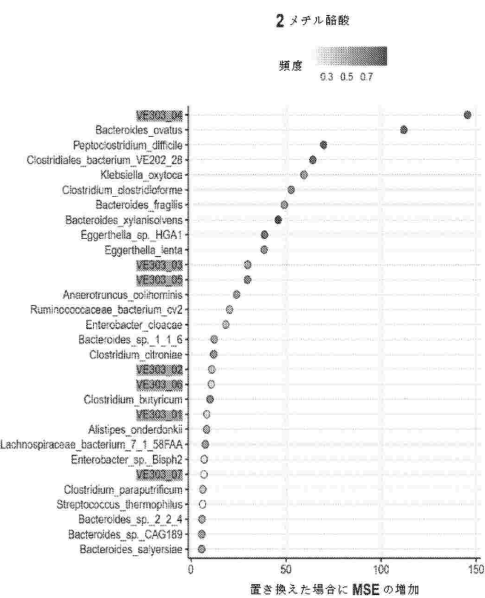
【図 5 9 B - 7】

(続き)



【図 5 9 B - 8】

(続き)



【図 6 0】

系統一特定	CDI [M] 通 PD	薬使中短腸菌前駆	薬使中短腸菌
	重力学 (PD)	メタゲノミクスに基づく微生物種動態	
共通	重力学 (PK)	メタゲノミクスに基づく種動態	
	LBP	ゲノム	固有マーカー配列

10

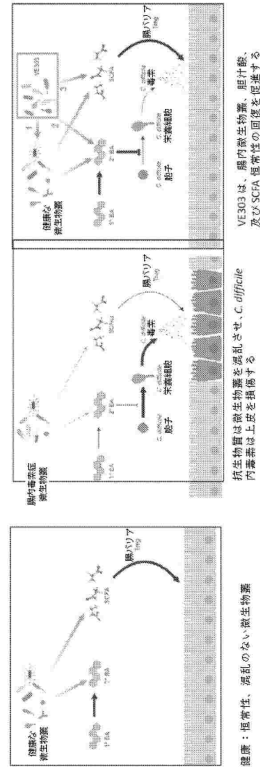
20

30

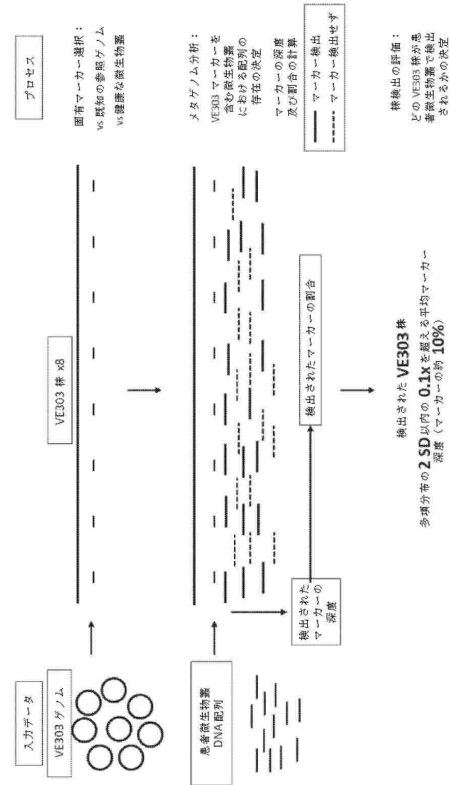
40

50

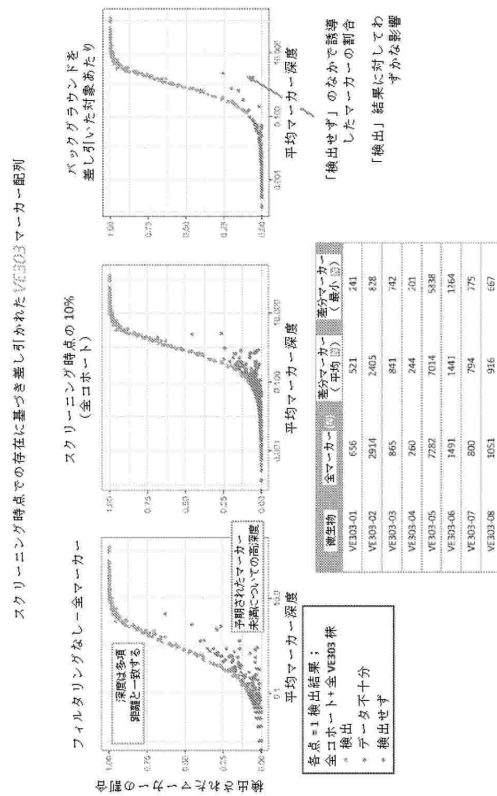
【図 6 1】



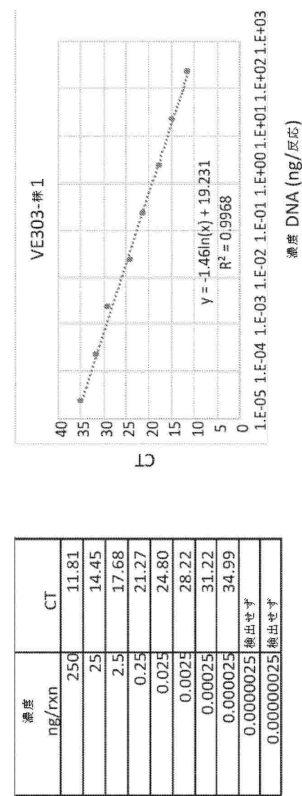
【図 6 2】



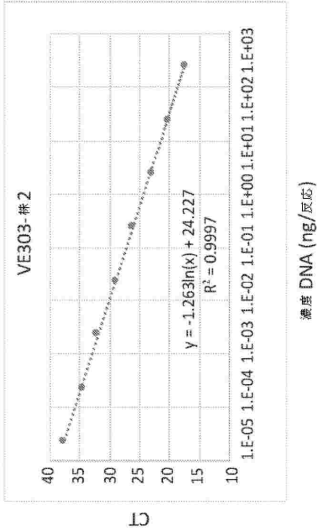
【圖 6 3】



【図 6 4】

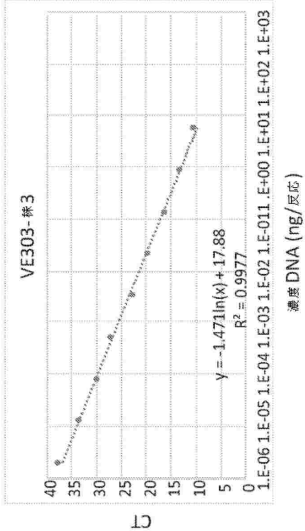


【図 6 5】



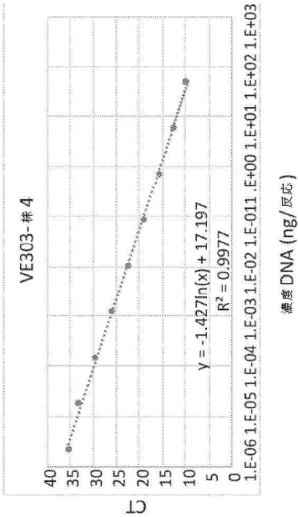
濃度 ng/μl	CT
250	17.30
25	20.17
2.5	22.94
0.25	26.00
0.025	28.87
0.0025	32.02
0.00025	34.50
0.000025	37.67
0.00000025	検出せず

【図 6 6】



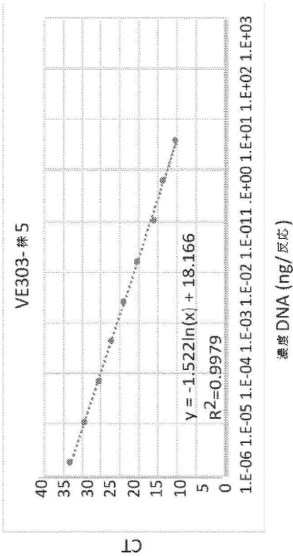
濃度 ng/μl	CT
250	10.39
25	13.18
2.5	16.30
0.25	19.67
0.025	22.62
0.0025	26.99
0.00025	29.76
0.000025	33.37
0.00000025	検出せず

【図 6 7】



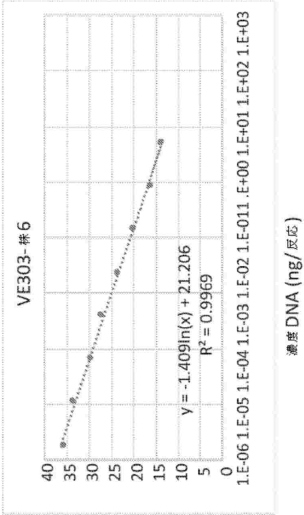
濃度 ng/μl	CT
250	9.86
25	12.44
2.5	15.58
0.25	18.73
0.025	22.27
0.0025	25.89
0.00025	29.32
0.000025	32.98
0.00000025	35.08
0.000000025	検出せず

【図 6 8】



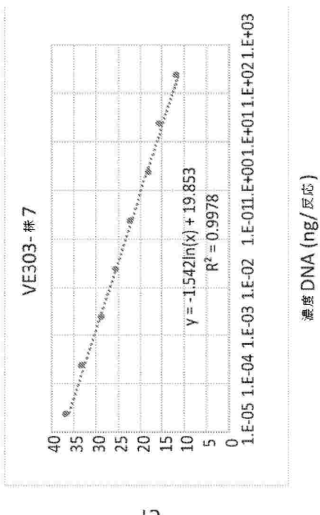
濃度 ng/μl	CT
250	10.33
25	13.53
2.5	15.87
0.25	20.22
0.025	23.84
0.0025	27.15
0.00025	30.55
0.000025	34.24
0.00000025	38.28
0.000000025	検出せず

【図 6 9】



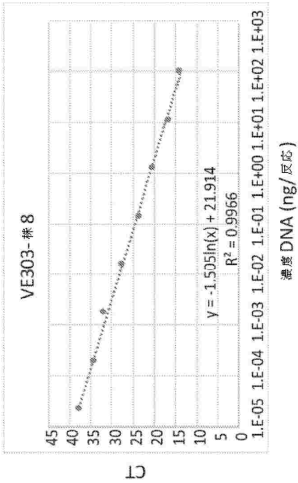
濃度 ng/rxn	CT
250	13.59
25	16.09
2.5	19.87
0.25	23.27
0.025	27.05
0.0025	29.56
0.00025	33.30
0.000025	35.52
0.0000025	検出せず
0.00000025	検出せず

【図 7 0】



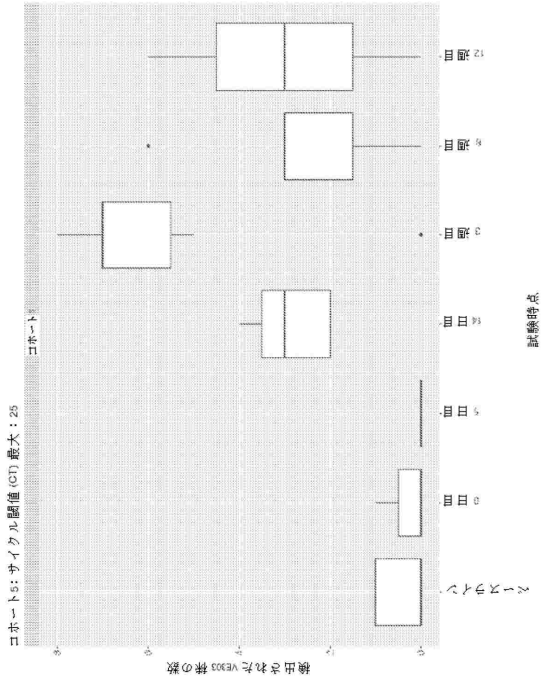
濃度 ng/rxn	CT
250	11.66
25	15.31
2.5	17.88
0.25	21.90
0.025	25.20
0.0025	28.64
0.00025	32.87
0.000025	36.65
0.0000025	検出せず
0.00000025	検出せず

【図 7 1】



濃度 ng/rxn	CT
250	14.09
25	16.58
2.5	20.46
0.25	23.55
0.025	27.45
0.0025	31.90
0.00025	34.25
0.000025	37.60
0.0000025*	39.38
0.00000025	検出せず
*検出された検量の単一サンプル	

【図 7 2 A】



10

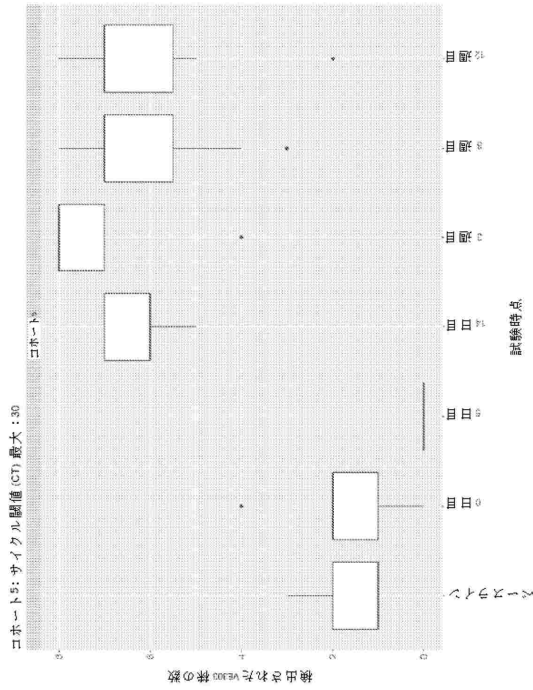
20

30

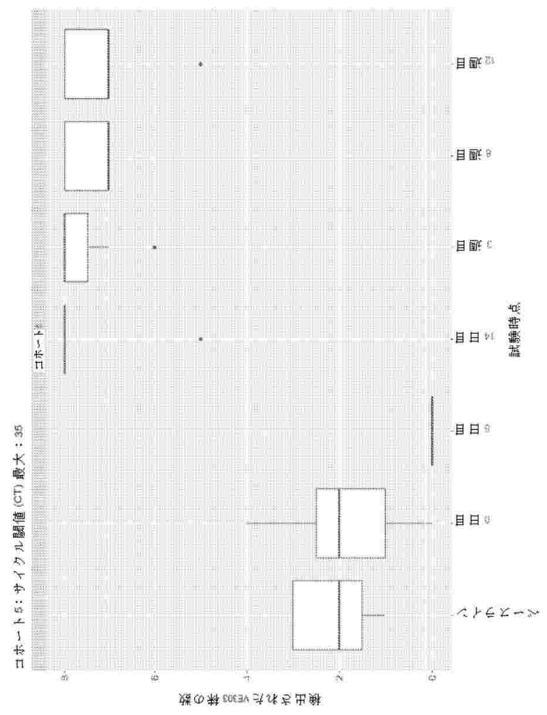
40

50

【図 7 2 B】



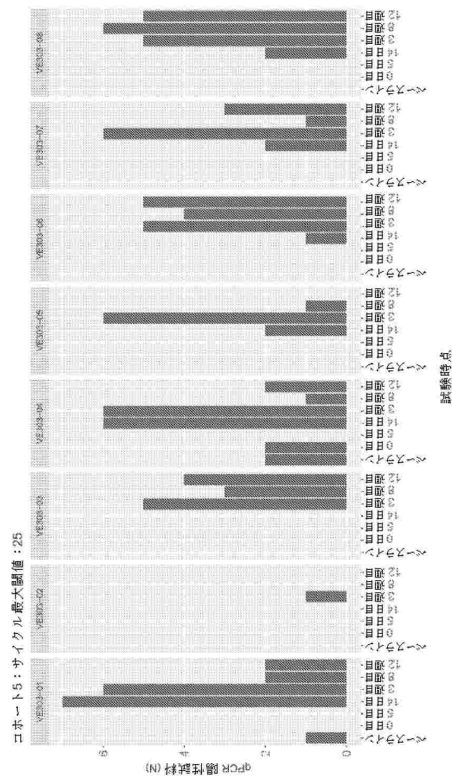
【図 7 2 C】



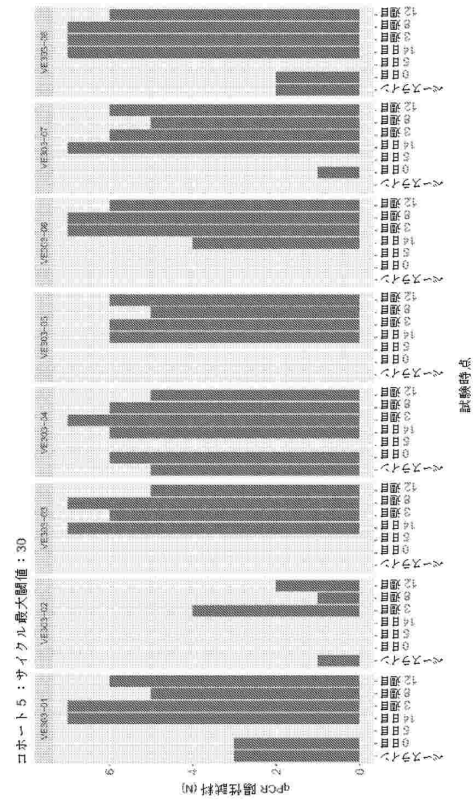
10

20

【図 7 3 A】



【図 7 3 B】

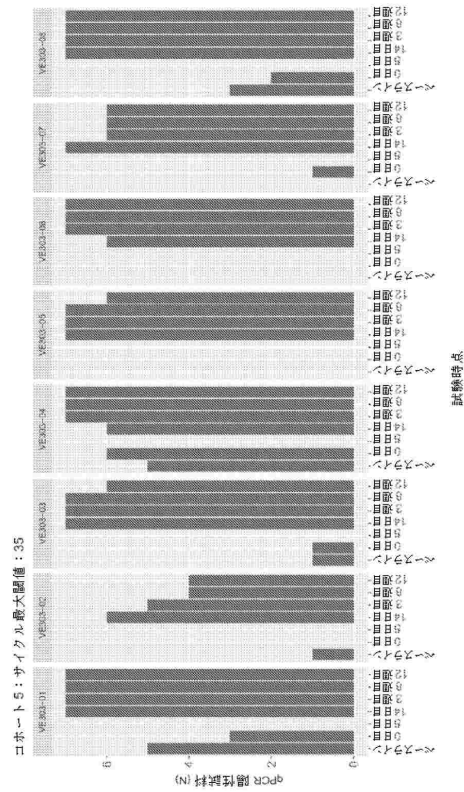


30

40

50

【図 7 3 C】



【配列表】

0007558170000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	3/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	45/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 K	31/7048	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
C 1 2 Q	1/04	(2006.01)	A 6 1 K	45/06	
C 1 2 Q	1/6869	(2018.01)	A 6 1 K	31/7048	
C 1 2 Q	1/6851	(2018.01)	C 1 2 Q	1/04	
C 1 2 Q	1/686	(2018.01)	C 1 2 Q	1/6869	Z
A 6 1 K	38/08	(2019.01)	C 1 2 Q	1/6851	Z
C 1 2 N	15/11	(2006.01)	C 1 2 Q	1/686	Z
C 1 2 Q	1/6876	(2018.01)	A 6 1 K	38/08	
			C 1 2 N	15/11	Z Z N A
			C 1 2 Q	1/6876	Z

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/765,165

(32)優先日 平成30年8月17日(2018.8.17)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/829,959

(32)優先日 平成31年4月5日(2019.4.5)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/829,513

(32)優先日 平成31年4月4日(2019.4.4)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

2 1 9 1、ノース ウェーマス、ノートン ストリート 1 7 9

(72)発明者 オレ, ベルナー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9、ケンブリッジ、ブルックリン ストリート 6
8、アパートメント 1 0 4

(72)発明者 ロバーツ, ブルース

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 0 1、フレミングハム、ベルクナップ ロード 6 2 2

(72)発明者 メノン, ラジータ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 5、ブライトン、コモンウェルス アベニュー 2
0 0 3、アパートメント 1 4

審査官 長部 喜幸

(56)参考文献 国際公開第2017/218680 (WO, A1)

国際公開第2018/080477 (WO, A1)

米国特許出願公開第2018/0169153 (US, A1)

米国特許出願公開第2017/0290889 (US, A1)

特表2015-500792 (JP, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 5/00-3 5/7 6 8

A 6 1 K 4 5/00

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