

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-530229

(P2014-530229A)

(43) 公表日 平成26年11月17日(2014.11.17)

| (51) Int. Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|--------------------------------|---------------|-------------|
| A 6 1 K 35/74 (2006.01) | A 6 1 K 35/74 | A 4 B 0 6 5 |
| A 6 1 P 1/12 (2006.01) | A 6 1 P 1/12 | 4 C 0 7 6 |
| A 6 1 P 1/04 (2006.01) | A 6 1 P 1/04 | 4 C 0 8 7 |
| A 6 1 K 9/48 (2006.01) | A 6 1 K 9/48 | |
| A 6 1 K 9/02 (2006.01) | A 6 1 K 9/02 | |

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 23 頁) 最終頁に続く

| | | | |
|---------------|------------------------------|----------|--------------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2014-535079 (P2014-535079) | (71) 出願人 | 514091987 |
| (86) (22) 出願日 | 平成24年10月11日 (2012.10.11) | | エイキム・バイオセラピューティクス・エイビー |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成26年4月11日 (2014.4.11) | | ACHIM BIOTHERAPEUTICS AB |
| (86) 国際出願番号 | PCT/EP2012/070177 | | スウェーデン エス-162 44 ヴァ |
| (87) 国際公開番号 | W02013/053836 | | リングバイ ビョルンボダヴァーゲン 6 |
| (87) 国際公開日 | 平成25年4月18日 (2013.4.18) | | 5 |
| (31) 優先権主張番号 | 1150940-3 | | BJORNBODAVAGEN 65, |
| (32) 優先日 | 平成23年10月11日 (2011.10.11) | | S-162 44 VALLINGBY, |
| (33) 優先権主張国 | スウェーデン (SE) | | SWEDEN |
| (31) 優先権主張番号 | 1250011-2 | (74) 代理人 | 110001818 |
| (32) 優先日 | 平成24年1月11日 (2012.1.11) | | 特許業務法人R&C |
| (33) 優先権主張国 | スウェーデン (SE) | | |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 嫌気的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む組成物

(57) 【要約】

本発明は、嫌気性マイクロ生態系、疾患の治療または予防のための嫌気的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む組成物に関し、組成物中の微生物叢は、1995年以降に使用された抗生物質にさらされていない。本発明はさらに、疾患の予防および治療のための組成物の使用および組成物を調製するための方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

嫌気的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む嫌気性マイクロ生態系。

【請求項 2】

単一のドナー由来のサンプルから入手した嫌気性マイクロ生態系を含む請求項 1 記載の嫌気性マイクロ生態系。

【請求項 3】

疾患の治療または予防のための請求項 1 記載の嫌気性マイクロ生態系を含む組成物。

【請求項 4】

広域スペクトル - およびメタロ - ベータ - ラクタマーゼ、医薬物質の代謝産物、または生体異物がない請求項 3 記載の組成物。 10

【請求項 5】

組成物中の微生物叢が、1995 年以降、臨床に用いられた抗生物質にさらされていない、請求項 3 又は 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

以下の 4 つの門：バクテロイデス門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門および放線菌門のうちの少なくとも 3 つの嫌気性細菌を含有することを特徴とする、請求項 3 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 7】

以下の微生物：A、B および C 型肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、カリシウイルスおよびロタウイルス、サルモネラ、赤痢菌、カンピロバクター、エルシニア、および原生動物嚢子がないことを特徴とする、請求項 3 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。 20

【請求項 8】

以下の細菌種：

真性細菌；「放線菌門 (Actinobacteria)」；放線菌 (Actinobacteria)；コリオバクター亜綱 (Coriobacteriidae)；コリオバクター目 (Coriobacteriales)；「コリオバクター亜目 (Coriobacterineae)」；コリオバクター科 (Coriobacteriaceae)；コリンゼラ属 (Collinsella)、 30

真性細菌；「放線菌門」；放線菌；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；エガセラ属 (Eggerthella)、

真性細菌；「放線菌門」；放線菌；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；オルセネラ属 (Olsenella)、

真性細菌；「バクテロイデス門 (Bacteroidetes)」；「バクテロイデス綱 (Bacteroidia)」；「バクテロイデス目 (Bacteroidales)」；「ポルフィロモナス科 (Porphyromonadaceae)」；パラバクテロイデス属 (Parabacteroides)、

真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「プレボテラ科 (Prevotellaceae)」；プレボテラ属 (Prevotella) 40

真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「リケネラ科 (Rikenellaceae)」；アリストイペス属 (Alistipes)

真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；バクテロイデス科；バクテロイデス属 (Bacteroides)、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「バシラス綱 (Bacilli)」；「ラクトバチルス目 (Lactobacillales)」；「エンテロコッカス科 (Enterococcaceae)」；エンテロコッカス属 (Enterococcus)、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱 (Clostridia) 50

」；クロストリジウム目 (Clostridiales)；「ユーバクテリウム科 (Eubacteriaceae)」；ユーバクテリウム属 (Eubacterium)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ユーバクテリウム科」；未分類「ユーバクテリウム科」、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ラクノスピラ科 (Lachnospiraceae)」；アナエロステイペス属 (Anaerostipes)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ラクノスピラ科」；ドレア属 (Dorea)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 10
 「ラクノスピラ科」；ロゼブリア属 (Roseburia)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ラクノスピラ科」；未分類「ラクノスピラ科」、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ペプトストレプトコッカス科 (Peptostreptococcaceae)」；ス
 ポラセチゲニウム属 (Sporacetigenium)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ペプトストレプトコッカス科」；未分類「ペプトストレプトコッカス科」、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ルミノコッカス科」；アナエロフィルム属 (Anaerofilum)、 20
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ルミノコッカス科」；アナエロツルンカス属 (Anaerotruncus)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ルミノコッカス科」；オシリバクター属 (Oscillibacter)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 「ルミノコッカス科」；未分類「ルミノコッカス科」、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；クロストリジウム属 (Clostridium)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 30
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；サルシナ属 (Sarcina)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；未分類「クロストリジウム科1」、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 Incertae Sedis XI；アナエロコッカス属 (Anaerococcus)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 Incertae Sedis XI；フィネゴルディア属 (Finegoldia)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 Incertae Sedis XI；ペプトニフィラス (Peptoniphilus)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 40
 Incertae Sedis XI；未分類 Incertae Sedis XI、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 Incertae Sedis XII；アナエロボラックス (Anaerovorax)
 、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 Incertae Sedis XIII；モギバクテリウム属 (Mogibacterium)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 Incertae Sedis XIV；ブラウティア属 (Blautia)、
 真性細菌；「ファームキ्यूテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 50

未分類クロストリジウム目、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 ベイヨネラ科 (Veillonellaceae)；ベイヨネラ属 (Veillonella)、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「エリシペロトリクス綱 (Erysipelotrichi)」；「エリシペロトリクス目 (Erysipelotrichales)」
 ；エリシペロトリクス科 (Erysipelotrichaceae)；ホールデマニア
 属 (Holdemania)、および

真性細菌；「プロテオバクテリア門」；ベータプロテオバクテリア；バークホルデルリア目
 (Burkholderiales)；アルカリゲネス科 (Alcaligenaceae)
 ；パラステラ属 (Parasutterella)

があわせて、本発明の総細菌内容物の1%超を構成することを特徴とする、請求項3~7
 のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項9】

組成物の細菌内容物が、請求項8に記載される1以上の細菌種を含むことを特徴とする
 、請求項3~7のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項10】

疾患に対して活性化他の微生物因子またはシグナル伝達物質をさらに含有することを特
 徴とする、請求項3~9のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項11】

投与を容易にする、または本発明の効果を支持する他の物質および成分をさらに含有す
 ることを特徴とする、請求項3~10のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項12】

薬剤として使用するための請求項3~11のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項13】

胃腸管系に位置する疾患、例えば過敏性腸症候群 (IBS)、セリアック病および炎症
 性腸疾患、例えば潰瘍性大腸炎、クローン病、顕微鏡的大腸炎および回腸嚢炎、ならびに
 放射線療法、化学療法、移植に関連する医原性障害/腸内毒素症または、特にクロストリ
 ジウム・ディフィシルに関連する抗生物質関連下痢症 (クロストリジウム・ディフィシル
 関連下痢症および再発性クロストリジウム・ディフィシル感染症)の治療で使用するた
 めの、請求項3~12のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項14】

神経障害、例えばパーキンソン病、アルツハイマー病、ルー・ゲーリック病ALS-筋
 萎縮性側索硬化症および多発性硬化症の治療で用いられる、請求項3~12のいずれか1
 項に記載の組成物。

【請求項15】

行動/精神障害、たとえば自閉症、アスペルガー症候群、注意欠陥多動性障害 (ADHD)
)および鬱病の治療で使用される、請求項3~12のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項16】

リウマチ性疾患、例えば関節リウマチの治療で使用される、請求項3~12のいずれか
 1項に記載の組成物。

【請求項17】

全身性/代謝性疾患、たとえば肥満、高血圧および2型糖尿病の治療で用いられる、請
 求項3~12のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項18】

胃腸管の新生物形成/腫瘍性疾患の治療で使用される、請求項3~12のいずれか1項
 に記載の組成物。

【請求項19】

慢性疲労症候群の治療で使用される、請求項3~12のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項20】

10

20

30

40

50

尋常性挫創等の皮膚疾患の治療で使用される、請求項 3 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 1】

経鼻十二指腸チューブ、胃カメラ、腔鏡 / S 字結腸鏡、および浣腸から選択される装置による、または、例えば胃酸耐性カプセル、ナノカプセル化もしくは坐剤などの好適なガレヌス製剤の凍結乾燥形態によって、ヒトへの投与で使用するための、請求項 3 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 2】

嫌気性ヒト腸内微生物叢を含む嫌気性マイクロ生態系を含む組成物を調製するための方法であって、以下の 4 つの門：バクテロイデス門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門および放線菌門のうち少なくとも 3 つの嫌気性細菌の増殖を促進する培養培地中での糞便サンプルの嫌気性培養によって特徴づけられる、方法。

10

【請求項 2 3】

好気性細菌が培養の間抑制されることを特徴とする、請求項 2 2 記載の方法。

【請求項 2 4】

疾患の治療または予防のための嫌気性ヒト腸内微生物叢を含む嫌気性マイクロ生態系を含む組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む嫌気性マイクロ生態系 (anaerobic micro ecological system) に関する。本発明はまた、かく乱されたヒト微生物叢および消化管機能の正常性の回復のための機能的播種培養 (seeding culture) を構成する嫌氣的に培養された微生物叢の組成物に関する。

20

【0002】

本発明はさらに、疾患の予防および治療のための組成物の使用ならびに組成物を調製するための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

胃腸管微生物叢は、個々の微生物菌株間の相互作用や微生物叢と宿主との相互作用が生じるいくつかの複雑なマイクロ生態系からなる。宿主との相互作用は、粘膜壁との直接的接触により、また、例えば代謝産物やシグナル伝達物質を介して間接的に生じる。

30

【0004】

この腸管の生態学的バランスは、外部および内部の物理的、化学的および生物学的因子または作用物質によってかく乱される可能性があり、その結果、局所的、たとえば代謝障害、胃腸管運動変化、変化した機能 / クロストーク (応答) である可能性がある、および / または他の臓器系を含む全身的作用に至る可能性がある。

【0005】

クロストリジウム・ディフィシル (Clostridium Difficile) 関連下痢症 CDAD は約 1 / 3 世紀前に最初に記載された。しかしながら、発病、疫学、臨床診断およびさまざまな治療的アプローチの Pub Med における数千もの刊行物にもかかわらず、CDAD は今なお感染性医療関連胃腸病の費用のかかる主な原因であり、この問題は世界的に増大すると推定される。欧州、米国およびカナダで CDAD が 10 倍増加したことが、最近示された。メトロニダゾールやバンコマイシン治療の治療不全の増加が報告され、フィダキソマイシン、オリタバンシン、ニタゾキサニド、REP 3123、および NVB 303 のような新規抗生物質は市販の途上にある。しかしながら、これらの薬物が使用される前でも、一定数のクロストリジウム・ディフィシル株はこれらの新規薬物に対して感受性の低下を発現することを認めなければならない。さらに、それらの臨床効果がどのようなものであるか判明しても、確実に使用するのに高価である。

40

50

【 0 0 0 6 】

一部の患者は新規薬物での治療が完了した後も再発性下痢が続き、したがって他の方策は、たとえば様々な細菌の混合物を含む近親または合成組成物からの糞便移植に集中してきた。

【 0 0 0 7 】

特許文献 1 (国際公開第 0 2 / 0 7 7 4 1 号) は、胃腸管障害の治療のための所定の細菌叢の調製を含む合成組成物を記載する。特許文献 2 (国際公開第 2 0 1 1 / 0 3 3 3 1 0 号) は、胃腸管障害の治療で使用するための、糞便から抽出された細菌叢を含むカプセル型剤形を記載する。

【 0 0 0 8 】

糞便移植は公知の方法であるが、危険性がないわけではない。今まで、近親者のドナー由来の糞便材料が使用されてきた。この手順に関する主な問題は、ある抗生物質に対して抵抗性の遺伝子の伝播の危険性である。そのような遺伝子の伝播は、抗生物質治療が将来必要になった際、患者にとって深刻な結果を招く可能性がある。この療法に関する別の主な問題は、ドナーの糞便中に存在する潜在的に伝染性の作用物質の伝播の危険性であり、投与される糞便の慎重なスクリーニングが主張される。このスクリーニングは時間がかかり、高価である。さらに、この種の治療は多くの人々が非常に気持ち悪いと考える。

【 0 0 0 9 】

糞便移植に言及する以前の刊行物：

非特許文献 1 : Johan S. Bakken Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection *Anaerobe* 15 (2009) 285-289. 20

非特許文献 2 : C Jorup-Ronstrom, A Hakansson, A-K Person, T Midtvedt, E Norin. Feceskultur framgangsrik terapi vid *Clostridium difficile*-diarre. *Lakartidningen* nr 46 2006 volym 103, 3603-3605 .

非特許文献 3 : A. Gustafsson, A. Berstad, S. Lund-Tonnesen, T. Midtvedt, e. Norin. The Effect of Faecal Enema on Five Microflora-Associated Characteristics in Patients with Antibiotic-Associated Diarrhoea. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:580-586 .

非特許文献 4 : A. Gustavsson, S. Lund-Tonnesen, A. Berstad, T. Midtvedt & E. Norin Faecal Short-Chain Fatty Acids in Patients with Antibiotic-Associated Diarrhoea, before and after Faecal Enema Treatment . *Scand J Gastroenterol* 1998;33:721-727 . 30

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 1 0 】

【 特許文献 1 】 国際公開第 0 2 / 0 7 7 4 1 号

【 特許文献 2 】 国際公開第 2 0 1 1 / 0 3 3 3 1 0 号

【 非特許文献 】

【 0 0 1 1 】

【 非特許文献 1 】 Johan S. Bakken Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection *Anaerobe* 15 (2009) 285-289. 40

【 非特許文献 2 】 C Jorup-Ronstrom, A Hakansson, A-K Person, T Midtvedt, E Norin. Feceskultur framgangsrik terapi vid *Clostridium difficile*-diarre. *Lakartidningen* nr 46 2006 volym 103, 3603-3605 .

【 非特許文献 3 】 A. Gustafsson, A. Berstad, S. Lund-Tonnesen, T. Midtvedt, e. Norin. The Effect of Faecal Enema on Five Microflora-Associated Characteristics in Patients with Antibiotic-Associated Diarrhoea. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:580-586 .

【 非特許文献 4 】 A. Gustavsson, S. Lund-Tonnesen, A. Berstad, T. Midtvedt & E. Norin Faecal Short-Chain Fatty Acids in Patients with Antibiotic-Associated Diarrh 50

oea, before and after Faecal Enema Treatment . Scand J Gastroenterol 1998;33:721-727 .

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

疾患の薬学的治療および予防を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明は、嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む嫌氣的に培養されたマイクロ生態系に関する。

10

【0014】

本発明はさらに、疾患の薬学的治療および予防のための前記微生物叢を含む組成物ならびにそのような組成物を調製するための方法に関する。本発明は、治療量または予防量の本発明をヒトに投与することをさらに含む。

【0015】

本発明はまた、かく乱されたヒト微生物叢および消化管機能の正常性を回復するための機能的播種培養を構成する嫌氣的に培養された腸管微生物叢を含む組成物ならびに疾患の予防および治療のためのそのような組成物の使用に関する。

【0016】

本発明はまた、機能障害または機能不全の胃腸管生態系を起源とする胃腸管および/または全身性/代謝障害の薬学的治療のための嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢に関する。

20

【0017】

本発明はまた、疾患の薬学的治療または予防のための、そのような嫌氣的に培養されたヒト微生物叢の使用に関する。組成物はさらに、疾患に対して活性な他の微生物因子（たとえばバクテリオファージ）またはシグナル物質も含有してよい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

発明の詳細な説明

本発明の第一の態様は、嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む嫌気性マイクロ生態系である。

30

【0019】

本発明の別の態様は、嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む組成物である。

【0020】

本出願では、「微生物叢」という用語は、微生物フローラ（flora）、すなわち典型的には胃腸管系に生息する微生物に使用される。

【0021】

本発明による化合物は、かく乱されたヒト微生物叢や消化管機能の正常性を回復するための機能的培養を構成する。この組成物は、驚いたことに疾患の治療または予防に有用であることが示されている。

40

【0022】

本発明による化合物は、損傷を受けた腸内微生物叢と相乗的方法で相互作用し、その生理的および代謝機能を回復する。本発明は、第1に、腸内微生物叢のかく乱を回避する予防として使用することもできる。

【0023】

一実施形態によると、組成物は以下の4つの門：バクテロイデス門（Bacteroidetes）、ファーミキューテス門（Firmicutes）、プロテオバクテリア門（Proteobacteria）および放線菌門（Actinobacteria）のうち少なくとも3つの嫌気性細菌を含有する。

【0024】

50

別の実施形態によると、組成物は以下の微生物を含有していない：A、BおよびC型肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、カリシウイルスおよびロタウイルス、サルモネラ、赤痢菌、カンピロバクター、エルシニア、および原生動物嚢子。好ましくは、広域スペクトル - およびメタロ - ベータ - ラクタマーゼ、医薬物質の代謝産物、および生体異物から選択される物質も含有していない。

【0025】

好ましくは、本発明による化合物中の微生物叢は、1995年以降に、臨床で使用されるようになった抗生物質にさらされていない。

【0026】

本発明は、機能不全胃腸管生態系をその起源とする胃腸管および/または全身性/代謝障害の薬学的治療のための嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む。

【0027】

本発明による化合物の利点は、15年の培養の間、安定かつ均一である機能的マイクロ生態系からなることである。他の菌種は培養中、系に侵入しない。マイクロ生態系中の微生物菌株は、相互作用し、連通する。マイクロ生態系は均一である。

【0028】

本発明による機能的生態系は、腸内微生物叢および/または正常な腸機能を回復および/または安定化させる能力を有する。

【0029】

本発明の別の態様は、疾患の治療または予防のための嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含むマイクロ生態系を含む組成物である。

【0030】

好ましくは、組成物の細菌量は、培地1mlあたり 10^6 超であり、さらに好ましくは培地1mlあたり 10^9 超である。

【0031】

本発明の一実施形態では、組成物は、単一のドナーの糞便から得られる嫌氣性マイクロ生態系を含む。健常な単一ドナーの糞便の培養は、経時的に安定な機能的マイクロ生態系を得るために必要である。

【0032】

好ましくは、ドナーは十分に機能的な胃腸管系を有する健常な個体である。

【0033】

好ましくは、糞便は単一糞便サンプルから得られる。さらに、好ましくは糞便は1995年より以前に得られた。

【0034】

本発明の好ましい実施形態において、組成物は、最終投与まで厳密な嫌氣性条件下に保持される。さらに、好ましくは組成物を最終投与の間、嫌氣性条件下に保持する。

【0035】

本発明の別の態様は、嫌氣的に培養されたヒト腸内微生物叢を含む嫌氣性マイクロ生態系を含む組成物を調製するための方法である。

【0036】

本発明による化合物は厳密な嫌氣性条件下で培養される。嫌氣性培養によって、嫌氣性細菌の増殖が促進され、好氣性細菌のさらなる増殖が抑制される。

【0037】

本発明の好ましい実施形態において、組成物は、健常な個体から得られた糞便サンプルを培養することによって調製される。好ましくは、健常な個体は、コプロスタノール、ウロピリン、ムチン、糞便トリプシン活性、短鎖脂肪酸およびベータ - アスパルチルグリシンの正常な機能値を有する。さらに、好ましくはサンプルは1995年以前に得たものでなければならない。さらに好ましくは、糞便サンプルは、調査ではA、BおよびC型肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルス

10

20

30

40

50

(HIV)、カリシウイルスおよびロタウイルスを含有しないことが判明している。さらに、糞便サンプルは、サルモネラ、赤痢菌、カンピロバクター、エルシニア、クロストリジウム・ディフィシルおよび原生動物嚢子の存在がないことがスクリーニングされている。

【0038】

好ましくは、本発明による方法で用いられる培養培地は、以下の4つの門：バクテロイデス門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門および放線菌門のうち少なくとも3つの嫌気性細菌の増殖を促進する。

【0039】

一実施形態において、培養培地は酵母ベースの培地であり、好ましくは細菌学的ペプトン酵母ベースの培地である。培養培地は、添加されたコレステロール、好ましくは動物起源のコレステロールを含む。なお一層好ましくは、培地は添加された凍結乾燥鶏卵卵黄を、好ましくは0.5～5%、さらに好ましくは1.25% w/v (質量/体積)の量で含む。

【0040】

好ましくは、培養は嫌気度指示薬、好ましくはレサズリンを含有する。

【0041】

本発明による方法で使用される培養培地は、まったく同一のサンプルで、以下の4つの門：バクテロイデス門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門および放線菌門のうち少なくとも3つの嫌気性細菌の増殖を促進する。さらに、好ましい培養条件は好気性細菌の増殖を抑制する。

【0042】

好ましい実施形態では、組成物を厳密な嫌気性条件下で、好ましくは窒素流下で2週間ごとに再培養する。

【0043】

好ましくは、糞便サンプルを少なくとも15年間嫌氣的に培養する。

【0044】

糞便サンプルを長時間本発明にしたがって培養することによって、好気性細菌を抑制しつつ、所望の細菌の増殖が促進される。

【0045】

本発明による方法に関連する利点は、同一のサンプル中の所望の細菌すべての増殖を可能にすることである。したがって、異なる培養の混合は必要ない。このことは、得られる組成物が、腸内微生物叢に対して安定化効果を有し、宿主と腸との連絡を回復することができるマイクロ生態系を含むという利点がある。さらに、1つのサンプルにおいて本発明にしたがって微生物叢を嫌氣的に培養することによって、同じマイクロ生態系が各組成物中で再生され、同時に生理的および/または薬剤効果が長時間にわたって、たとえば少なくとも15年にわたって維持される。

【0046】

さらに、本発明によるマイクロ生態系を厳密な嫌気性条件下で培養する。

【0047】

ヒト腸内細菌叢は、その大部分が厳密に嫌気性である数百の異なる微生物からなる。

【0048】

本発明の一実施形態において、以下の細菌種をあわせて、組成物の総細菌量の1%超、好ましくは20%超、さらに好ましくは50%超を構成する；
真性細菌；「放線菌門」；放線菌門；コリオバクター亜綱 (Coriobacteriidae)；コリオバクター目 (Coriobacteriales)；「コリオバクター亜目 (Coriobacterineae)」；コリオバクター科 (Coriobacteriaceae)；コリンゼラ属 (Collinsella)、
真性細菌；「放線菌門」；放線菌；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；エガセラ属 (Eggerthella)、

10

20

30

40

50

- 真性細菌；「放線菌門」；放線菌；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；オルセネラ属 (*Olsenella*)、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱 (*Bacteroidia*)」；「バクテロイデス目 (*Bacteroidales*)」；「ポルフィロモナス科 (*Porphyromonadaceae*)」；パラバクテロイデス属 (*Parabacteroides*)、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「プレボテラ科 (*Prevotellaceae*)」；プレボテラ属 (*Prevotella*)、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「リケネラ科 (*Rikenellaceae*)」；アリストイペス属 (*Alistipes*)、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；バクテロイデス科 (*Bacteroidaceae*)；バクテロイデス属 (*Bacteroides*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門 (*Firmicutes*)」；「バシラス綱 (*Bacilli*)」；「ラクトバチルス目 (*Lactobacillales*)」；「エンテロコッカス科 (*Enterococcaceae*)」；エンテロコッカス属 (*Enterococcus*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱 (*Clostridia*)」；クロストリジウム目 (*Clostridiales*)；「ユーバクテリウム科 (*Eubacteriaceae*)」；ユーバクテリウム属 (*Eubacterium*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ユーバクテリウム科」；未分類「ユーバクテリウム科」、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科 (*Lachnospiraceae*)」；アナエロスティペス属 (*Anaerostipes*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；ドレア属 (*Dorea*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；ロゼブリア属 (*Roseburia*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；未分類「ラクノスピラ科」、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ペプトストレプトコッカス科 (*Peptostreptococcaceae*)」；スポラセチゲニウム属 (*Sporacetigenium*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ペプトストレプトコッカス科」；未分類「ペプトストレプトコッカス科」、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科 (*Ruminococcaceae*)」；アナエロフィルム属 (*Anaerofilum*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；アナエロツルンカス属 (*Anaerotruncus*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；オシリバクター属 (*Oscillibacter*)、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；未分類「ルミノコッカス科」、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；クロストリジウム科 (；「クロストリジウム科1」；クロストリジウム属 (*Clostridium*)、

10

20

30

40

50

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；サルシナ属 (*Sarcina*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；未分類「クロストリジウム科1」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；アナエロコッカス属 (*Anaerococcus*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；フィネゴルディア属 (*Finegoldia*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；ペプトニフィラス属 (*Peptoniphilus*)

10

、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；未分類 *Incertae Sedis XI*、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XII；アナエロボラックス (*Anaerovorax*)

、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XII；モギバクテリウム属 (*Mogibacterium*)、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XIV；ブラウティア属 (*Blautia*)、

20

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 未分類クロストリジウム目、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 ベイヨネラ科 (*Veillonellaceae*)；ベイヨネラ属 (*Veillonella*)、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「エリシペロトリクス綱 (*Erysipelotrichi*)」；
 「エリシペロトリクス目 (*Erysipelotrichales*)」；
 エリシペロトリクス科 (*Erysipelotrichaceae*)；ホールデマニア
 属 (*Holdemania*)、

30

真性細菌；「プロテオバクテリア門 (*Proteobacteria*)」；ベータプロテ
 オバクテリア；バークホルデリア目 (*Burkholderiales*)；アルカリゲネ
 ス科 (*Alcaligenaceae*)；パラステラ属 (*Parasutterella*)。

【0049】

本発明の一実施形態によると、細菌内容物は前記細菌の1以上を含む。

【0050】

本発明によって治療または予防することができる疾患は、例えば抗生物質治療後の下痢
 、特にクロストリジウム・ディフィシルに起因する下痢であって、これは非常に長期にわ
 たり、従来法による治療が困難であり、まれに死に至る可能性がある。他の治療領域は、
 過敏性腸症候群 (*IBS*)、セリアック病および炎症性腸疾患、例えば潰瘍性大腸炎、ク
 ローン病、顕微鏡的大腸炎、および回腸嚢炎 (*pauchitis*) である。別の治療領
 域は、例えば放射線治療後、化学療法後および移植と関連した腸管微生物叢の医原性障害
 /腸内毒素症である。本発明で治療または予防することができる他の疾患の例は：神経疾
 患、例えばパーキンソン病、アルツハイマー病、ルー・ゲーリック病 *ALS* - 筋萎縮性側
 索硬化症、多発性硬化症；行動/精神障害、例えば自閉症、アスペルガー症候群、注意欠
 陥多動性障害 (*ADHD*) および鬱病；リウマチ性疾患、例えば関節リウマチ；および全
 身性/代謝障害、例えば：高血圧、肥満および2型糖尿病、ならびに胃腸管の新生物形成
 /腫瘍性疾患である。本発明は、慢性疲労症候群の治療でも用いることができる。本発明
 はさらに、尋常性挫創などの皮膚疾患の治療でも用いることができる。

40

50

【 0 0 5 1 】

本発明はまた、疾患の薬学的治療または予防（剤）の製造のためのそのような嫌氣的に培養されたヒト微生物叢の使用にも関する。

【 0 0 5 2 】

本発明による化合物は、経鼻十二指腸チューブ、胃カメラ、腔鏡 / S 字結腸鏡、および浣腸から選択される装置により、または例えば胃酸耐性カプセル、ナノカプセル化もしくは坐剤などの好適なガレヌス製剤（galenic preparation）の凍結乾燥形態によりヒトに投与することができる。

【 0 0 5 3 】

一実施形態において、組成物は、疾患に対して活性な他の微生物因子（例えばバクテリオファージ）またはシグナル伝達物質も含有してよい。

【 0 0 5 4 】

製剤の形態

組成物は、以下の製剤の形態で提供することができる：

- 1．凍結溶液から新しく解凍
- 2．凍結乾燥した培養生成物
- 3．培養からの新鮮なもの
- 4．生マイクロカプセル化培養物。

【 0 0 5 5 】

投薬量

本発明を、問題の性質、原因および重篤度に応じて、数日、例えば 1 ~ 30 日にわたって 1 日あたり少なくとも 1 回、ヒト胃腸管に適用する。投与あたり 1 ~ 100 ml の生成物、好ましくは 20 ~ 40 ml、または凍結乾燥形態での同等量で投与する。

【 0 0 5 6 】

投与手段

生成物は、好ましくは以下の非限定的例にしたがって投与することができる：例えば、経鼻十二指腸チューブ、胃カメラ、腔鏡 / S 字結腸鏡、浣腸を通して溶液の形態、または例えば胃酸耐性カプセル、ナノカプセル化もしくは坐剤などの好適なガレヌス製剤における凍結乾燥形態。

【 0 0 5 7 】

他の成分（ビヒクル）

投与を容易にする、または本発明の効果を支持する他の物質や成分を組成物に添加してもよい。

【 0 0 5 8 】

抗生物質治療および / または運動性軽減物質が本発明での治療に先行しても、先行しなくてもよい。

【実施例】

【 0 0 5 9 】

本発明を以下の非限定的例によって説明する。

【 0 0 6 0 】

実施例 1

本発明による微生物叢を 1995 年以前の健常な単一ドナー由来の糞便サンプルから入手した。ドナーと糞便とはどちらも十分に検査した。ドナーの腸内微生物叢の機能状態は、コプロスタノール、ウロピリン、ムチン、糞便トリブシン活性、短鎖脂肪酸およびベータ - アスパルチルグリシンの正常な機能値を有することが判明した。A、B および C 型肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、カリシウイルスおよびロタウイルスについての試験はすべて陰性であった。さらに、糞便をサルモネラ、赤痢菌、カンピロバクター、エルシニア、クロストリジウム・ディフィシルおよび原生動物嚢子の存在についてスクリーニングし、これらの調査はすべて陰性であった。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 1 】

糞便サンプル（ブリストルスケールタイプ2）の内部からの糞便サンプルを上述の健常ドナーから採取し、直ちに1.25%（w/v）の凍結乾燥した鶏卵卵黄（Fresenius-Kabi（スウェーデン））と嫌気度指示薬としてのレサズリンを添加した前還元滅菌細菌学的ペプトン酵母ベースの培地（Difco（米国））30ml中に懸濁させた。この組成物を窒素流下で隔週に再培養した。培養生成物の細菌量は培地1mlあたり $> 10^9$ であることが判明した。

【 0 0 6 2 】

生成物は以下の種を含んでいた：

- 真性細菌；「放線菌門」；放線菌門；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；コリンゼラ属、 10
- 真性細菌；「放線菌門」；放線菌門；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；エガセラ属、
- 真性細菌；「放線菌門」；放線菌門；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；オルセネラ属、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「ポルフィロモナス科」；パラバクテロイデス属、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「プレボテラ科」；プレボテラ属、
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「リケネラ科」；アリスティペス属、 20
- 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；バクテロイデス科；バクテロイデス属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「バシラス綱」；「ラクトバチルス目」；「エンテロコッカス科」；エンテロコッカス属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ユーバクテリウム科」；ユーバクテリウム属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ユーバクテリウム科」；未分類「ユーバクテリウム科」、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；アナエロスティペス属、 30
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；ドレア属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；ロゼブリア属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；未分類「ラクノスピラ科」、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ペプトストレプトコッカス科」；スポラセチゲニウム属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ペプトストレプトコッカス科」；未分類「ペプトストレプトコッカス科」、 40
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；ルミノコッカス科；アナエロフィルム属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；アナエロツルンカス、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；オシリバクター属、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；未分類ルミノコッカス科、
- 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 50

クロストリジウム科；「クロストリジウム科 1」；クロストリジウム属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科 1」；サルシナ属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科 1」；未分類「クロストリジウム科 1」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；アナエロコッカス属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；フィネゴルディア属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 10
Incertae Sedis XI；ペプトニフィラス属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；未分類 *Incertae Sedis XI*、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI II；アナエロボラックス属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI II；モギバクテリウム属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI V；ブラウティア属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目； 20
 未分類クロストリジウム目、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 ベイヨネラ科；ベイヨネラ属、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「エリシペロトリクス綱」；「エリシペロトリク
 ス目」；エリシペロトリクス科；ホールデマニア属、および
 真性細菌；「プロテオバクテリア門」；ベータプロテオバクテリア；パークホルデリア目
 ；アルカリゲネス科；パラステレラ属。

【0063】

10%のグリセロールを添加した後、組成物を -70 で貯蔵することができる。

【0064】

実施例 2

例えば細菌感染によって抗生物質または抗生物質抵抗性遺伝子にさらされていない個体からの新鮮な糞便サンプルまたは凍結された糞便サンプルを、嫌気性条件で、動物起源のコレステロール（たとえば 1.25%の凍結乾燥させた鶏卵卵黄（*Fresenius-Kabi*（スウェーデン）））を、嫌気度指示薬としてのレサズリンとともに含有する 30ml のペプトン - 酵母培地（*Difco*（米国））に接種する。この組成物を 2 週間毎に再培養する。培養生成物の細菌量は、培地 1ml あたり $> 10^6$ 、好ましくは $> 10^9$ でなければならない。10%のグリセロールを添加した後、組成物を -70 で貯蔵することができる。

【0065】

実施例 3

27~94 才の患者 32 人（女性 20 人、年齢の中央値 78 才、男性 12 人、年齢の中央値 75 才）を本発明による組成物で治療した。これらの患者のうち、22 人はがん（乳がん、結腸がん、前立腺がん）や心臓血管または肺疾患等の慢性基礎疾患にかかっていた。11 人にはセファロスポリンを投与し、9 人にはクリンダマイシンを投与し、4 人にはシプロフロキサシンを投与し、2 人にはイソキサゾリルペニシリンを投与し、別の 3 人にはいくつかの他の抗生物質を投与し、そして 1 人には再発性クロストリジウム・ディフィシル感染症（*RCDI*）がまず診断された際、アジトロマイシンを投与した。2 人は本発明の組成物を受ける前に特定の抗生物質前治療を受けなかった。

【0066】

10

20

30

40

50

ルーチン的に、実施例 1 による本発明の 30 ml を、S 字結腸中の直腸で導入されたカテーテルによって直腸から、または結腸内視術によって投与した。クロストリジウム毒素の分析をカロリンスカ (Karolinska) 病院 (スウェーデン国フッディング) での一般慣行にしたがって実施した。本発明を受容した患者 32 人のうち 22 人が治癒した。これらの患者 22 人は、数か月間下痢をとまなう生活から数日以内に正常な排便習慣の生活まで、生活の質の劇的な改善を経験した。うち 15 人は、本発明を 1 回だけ受容し、残りは本発明をさらに 1 ~ 2 回受容した。さらに 4 人は相当な改善を経験し、残りの 4 人には反復抗生物質療法を施さなければならなかった。別の 2 人 (原因不明の下痢) も治癒した。経過観察時間は 5 ~ 68 か月であり、中央値は 26 か月であった。処置による副作用は観察されなかった。

10

【0067】

実施例 4

ランブル鞭毛虫に関連する感染後胃腸炎の 10 人の患者は IBS 様の問題に悩まされていた。従来 of IBS 治療は有効ではなかった。これらの患者に本発明の組成物を投与すべきであると判断された。30 ml の単回投与を、胃・空腸チューブを使用して 3 日連続して投与した。意外にも、全ての患者は本発明の投与直後に回復し、長期間無症状のままであった。

【手続補正書】

【提出日】平成 25 年 12 月 11 日 (2013.12.11)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の 4 つの門：バクテロイデス門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門および放線菌門のうち少なくとも 3 つの嫌気性細菌の増殖を促進する培養培地中での糞便サンプルの嫌気性培養によって得られた厳密に嫌氣的に再培養されたヒト腸内微生物叢のマイクロ生態系。

【請求項 2】

単一のドナー由来のサンプルから入手したマイクロ生態系を含む請求項 1 記載の嫌気性マイクロ生態系。

【請求項 3】

疾患の治療または予防のための請求項 1 記載の嫌気性マイクロ生態系を含む組成物。

【請求項 4】

広域スペクトル - およびメタロ - ベータ - ラクタマーゼ、医薬物質の代謝産物、または生体異物がない請求項 3 記載の組成物。

【請求項 5】

以下の微生物：A、B および C 型肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、カリシウイルスおよびロタウイルス、サルモネラ、赤痢菌、カンピロバクター、エルシニア、ならびに原生動物嚢子がないことを特徴とする、請求項 3 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

以下の細菌種：

真性細菌；「放線菌門 (Actinobacteria)」；放線菌門 (Actinobacteria)；コリオバクター亜綱 (Coriobacteridae)；コリオバクター目 (Coriobacteriales)；「コリオバクター亜目 (Coriobacterineae)」；コリオバクター科 (Coriobacteriaceae)；コリンゼラ属 (Collinsella)、

真性細菌；「放線菌門」；放線菌門；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；エガセラ属（*Eggerthella*）、
 真性細菌；「放線菌門」；放線菌門；コリオバクター亜綱；コリオバクター目；「コリオバクター亜目」；コリオバクター科；オルセネラ属（*Olsenella*）、
 真性細菌；「バクテロイデス門（*Bacteroidetes*）」；「バクテロイデス綱（*Bacteroidia*）」；「バクテロイデス目（*Bacteroidales*）」；「ポルフィロモナス科（*Porphyromonadaceae*）」；パラバクテロイデス属（*Parabacteroides*）、
 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「プレボテラ科（*Prevotellaceae*）」；プレボテラ属（*Prevotella*）、
 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；「リケネラ科（*Rikenellaceae*）」；アリストイペス属（*Alistipes*）、
 真性細菌；「バクテロイデス門」；「バクテロイデス綱」；「バクテロイデス目」；バクテロイデス科；バクテロイデス属（*Bacteroides*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「バシラス綱（*Bacilli*）」；「ラクトバチルス目（*Lactobacillales*）」；「エンテロコッカス科（*Enterococcaceae*）」；エンテロコッカス属（*Enterococcus*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱（*Clostridia*）」；クロストリジウム目（*Clostridiales*）；「ユーバクテリウム科（*Eubacteriaceae*）」；ユーバクテリウム属（*Eubacterium*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ユーバクテリウム科」；未分類「ユーバクテリウム科」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科（*Lachnospiraceae*）」；アナエロスティペス属（*Anaerostipes*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；ドレア属（*Dorea*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科」；ロゼブリア属（*Roseburia*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ラクノスピラ科（*Lachnospiraceae*）」；未分類「ラクノスピラ科」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ペプトストレプトコッカス科（*Peptostreptococcaceae*）」；スポラセチゲニウム属（*Sporacetigenium*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ペプトストレプトコッカス科」；未分類「ペプトストレプトコッカス科」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科（*Ruminococcaceae*）」；アナエロフィルム属（*Anaerofilum*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；アナエロツルンカス属（*Anaerotruncus*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；オシリバクター属（*Oscillibacter*）、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；「ルミノコッカス科」；未分類「ルミノコッカス科」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；クロストリジウム属（*Clostridium*）、

真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；サルシナ属 (*Sarcina*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 クロストリジウム科；「クロストリジウム科1」；未分類「クロストリジウム科1」、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；アナエロコッカス属 (*Anaerococcus*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；フィネゴルディア属 (*Fingoldia*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；ペプトニフィラス (*Peptoniphilus*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XI；未分類 *Incertae Sedis XI*、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XII；アナエロボラックス属 (*Anaerovorax*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XIII；モギバクテリウム属 (*Mogibacterium*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
Incertae Sedis XIV；ブラウティア属 (*Blautia*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 未分類クロストリジウム目、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「クロストリジウム綱」；クロストリジウム目；
 ベイヨネラ科 (*Veillonellaceae*)；ベイヨネラ属 (*Veillonella*)、
 真性細菌；「ファーミキューテス門」；「エリシペロトリクス綱 (*Erysipelotrichi*)」；
 「エリシペロトリクス目 (*Erysipelotrichales*)」；
 エリシペロトリクス科 (*Erysipelotrichaceae*)；ホールデマニア
 属 (*Holdemania*)、および
 真性細菌；「プロテオバクテリア門」；ベータプロテオバクテリア；パークホルデリア目
 (*Burkholderiales*)；アルカリゲネス科 (*Alcaligenaceae*)；パラステラ属 (*Parasutterella*)
 があわせて、本発明の総細菌内容物の1%超を構成することを特徴とする、請求項3～5
 のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項7】

組成物の細菌内容物が、請求項6に記載される1以上の細菌種を含む、請求項3～5の
 いずれか1項に記載の組成物。

【請求項8】

薬剤として使用するための請求項3～7のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項9】

下痢、例えば過敏性腸症候群 (*IBS*)、または、特にクロストリジウム・ディフィシル
 に関連する抗生物質関連下痢症 (*AAD*)、クロストリジウム・ディフィシル関連下痢
 症 (*CDAD*) および再発性クロストリジウム・ディフィシル感染症 (*RCDI*) の治療
 で使用するための、請求項3～7のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項10】

経鼻十二指腸チューブ、胃カメラ、腔鏡 / S字結腸鏡、および浣腸から選択される装置
 による、または、例えば胃酸耐性カプセル、ナノカプセル化もしくは坐剤などの好適なガ
 レヌス製剤の凍結乾燥形態によって、ヒトへの投与で使用するための、請求項3～9のい
 ずれか1項に記載の組成物。

【請求項11】

嫌気性ヒト腸内微生物叢を含む嫌気性マイクロ生態系を含む組成物を調製するための方法であって、以下の4つの門：バクテロイデス門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門および放線菌門のうち少なくとも3つの嫌気性細菌の増殖を促進する培養培地中の糞便サンプルの嫌気性培養によって特徴づけられる、方法。

【請求項12】

好気性細菌が培養の間抑制されることを特徴とする、請求項11記載の方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/070177

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|------------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | <p>BAKKEN JOHAN S: "Fecal bacteriotherapy for recurrent Clostridium difficile infection", ANAEROBE,, vol. 15, no. 6, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 285-289, XP009161367, ISSN: 1095-8274 the whole document</p> | 1-4, 6-13, 21-24 |
| X | <p>JOHANNES AAS ET AL: "Recurrent Clostridium difficile Colitis: Case Series Involving 18 Patients Treated with Donor Stool Administered via a Nasogastric Tube", CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, vol. 36, no. 5, 1 March 2003 (2003-03-01), pages 580-585, XP55043539, ISSN: 1058-4838, DOI: 10.1086/367657 the whole document see esp. p. 581, left column, last paragraph, "patients".</p> | 1-13, 21-24 |
| X | <p>BORODY T J ET AL: "Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy", JOURNAL OF CLINICAL GASTROENTEROLOGY, RAVEN PRESS LTD., NEW YORK, NY, US, vol. 37, no. 1, 1 January 2003 (2003-01-01), pages 42-47, XP008093566, ISSN: 0192-0790, DOI: 10.1097/00004836-200307000-00012 the whole document</p> | 1-13, 21-24 |
| X | <p>Sebastian Amaral Anders: "Mit Fäkalien heilen", Frankfurter Rundschau 2 May 2011 (2011-05-02), 2 May 2011 (2011-05-02), XP002686975, Retrieved from the Internet: URL:http://www.fr-online.de/wissenschaft/bakterientherapie-mit-faekalien-heilen,1472788,8400888.html [retrieved on 2012-11-08]</p> | 1,3,12, 13,24 |
| Y | <p>the whole document</p> | 5-8,10, 11 |
| | ----- -/-- | |

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| |
|---|
| International application No PCT/EP2012/070177 |
|---|

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| Y | <p>SERINO M ET AL: "Intestinal microflora and metabolic diseases", DIABETES & METABOLISM, PARIS, AMSTERDAM, NL, vol. 35, no. 4, 1 September 2009 (2009-09-01), pages 262-272, XP026642909, ISSN: 1262-3636, DOI: 10.1016/J.DIABET.2009.03.003 [retrieved on 2009-05-05] the whole document -----</p> | 6,8 |

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2012/070177

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|-----------------------------|
| WO 2011033310 | A1 | 24-03-2011 | NONE |
| ----- | | | |
| WO 0207741 | A1 | 31-01-2002 | US 2004028689 A1 12-02-2004 |
| | | | WO 0207741 A1 31-01-2002 |
| ----- | | | |

フロントページの続き

| (51) Int.Cl. | | | F I | | | テーマコード (参考) |
|----------------|-------------|------------------|---------|------|---|-------------|
| A 6 1 K | 9/19 | (2006.01) | A 6 1 K | 9/19 | | |
| C 1 2 N | 1/20 | (2006.01) | C 1 2 N | 1/20 | A | |

(81) 指定国 AP (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72) 発明者 ベルスタッド, アーノルド
ノルウェー エヌ 0 7 8 3 オスロ クラークストウッペン 1 9

(72) 発明者 ミットフェット, トーレ
スウェーデン エス 1 6 9 6 4 ソルナ ハガルンズガタン 4 2 1 3 ティアール

(72) 発明者 ノリン, エリザベス
スウェーデン エス 1 6 2 4 4 ヴァリングバイ ビヨルンボダヴァーゲン 6 5

(72) 発明者 ベンノ, ペーター
スウェーデン エス 1 8 1 3 3 リディング クロックヴァーゲン 1 2

(72) 発明者 ダールグレン, アッティ ラ
スイス ツェーハー 2 0 0 0 ノイハテル アヴェニュー・ジャン ジャック・ルソー 5

F ターム (参考) 4B065 AA01X AA23X AC20 BA22 BB34 CA44
4C076 AA01 AA29 AA53 AA99 CC16
4C087 AA01 AA02 BC15 BC56 BC61 BC68 MA31 MA37 MA44 MA55
MA70 NA14 ZA66