

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2020年9月3日 (03.09.2020)

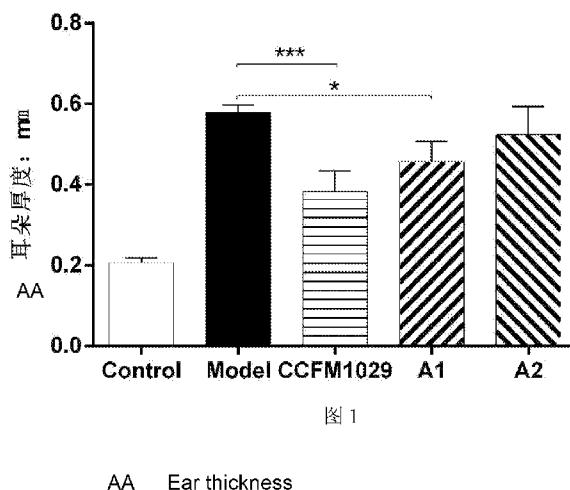


(10) 国际公布号  
**WO 2020/173210 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
*A61K 35/745* (2015.01) *C12R 1/01* (2006.01)  
*A61P 17/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2019/128526
- (22) 国际申请日: 2019年12月26日 (26.12.2019)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
201910137571.2 2019年2月25日 (25.02.2019) CN
- (71) 申请人: 江南大学(JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。
- (72) 发明人: 赵建新(ZHAO, Jianxin); 中国江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 陆文伟(LU, Wenwei); 中国江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。
- (74) 代理人: 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司(HARBIN SHINEIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国黑龙江省哈尔滨市松北区科技一街99号18栋E区501张勇, Heilongjiang 150028 (CN)。
- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

(54) Title: BIFIDOBACTERIUM LONGUM CAPABLE OF RELIEVING ATOPIC DERMATITIS AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一株能够缓解特应性皮炎的长双歧杆菌及其应用



(57) Abstract: Provided are a Bifidobacterium longum strain capable of relieving atopic dermatitis and the use thereof, wherein same belongs to the technical fields of microorganisms and medicine. The Bifidobacterium longum has the effect of relieving atopic dermatitis, which is specifically embodied in: (1) significantly improving the degree of ear swelling of a mouse with atopic dermatitis; (2) significantly improving dermal pathological symptoms of the mouse with atopic dermatitis and inflammatory cell infiltration; (3) significantly decreasing the serum IgE of the mouse with atopic dermatitis; (4) significantly decreasing the levels of IL-4 and IL-13 in skin tissues of the mouse with atopic dermatitis; and (5) significantly decreasing the level of histamine in skin tissues of the mouse with atopic dermatitis. Therefore, the Bifidobacterium longum has enormous application prospects in the preparation of a product for preventing and/or treating atopic dermatitis.



WO 2020/173210 A1

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括按细则13之二规定在说明书以外提交的关于生物材料保藏的说明(细则13之二. 4(d)(i)和48. 2(a)(viii))。
- 包括说明书序列表部分(细则5. 2(a))。

(57) 摘要: 一株能够缓解特应性皮炎的长双歧杆菌及其应用, 属于微生物技术领域以及医药技术领域。该长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)具有缓解特应性皮炎的作用, 具体体现在: (1)显著改善特应性皮炎小鼠的耳朵肿胀程度; (2)显著改善特应性皮炎小鼠皮肤病理症状以及炎症细胞浸润的作用; (3)显著降低特应性皮炎小鼠血清IgE的作用; (4)显著降低特应性皮炎小鼠皮肤组织中IL-4、IL-13水平的作用; (5)显著降低特应性皮炎小鼠皮肤组织中组胺水平的作用, 因此, 长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品中, 具有巨大的应用前景。

## 一株能够缓解特应性皮炎的长双歧杆菌及其应用

### 技术领域

本发明涉及一株能够缓解特应性皮炎的长双歧杆菌及其应用，属于微生物技术领域以及医药技术领域。

### 背景技术

特应性皮炎（Atopic Dermatitis, AD）是一种慢性、复发性、炎症性的皮肤病，病发时往往伴有剧烈瘙痒，同时伴有其他过敏性疾病的皮肤病。同时，AD 是一种常见的非传染性皮肤疾病，在全球大多数国家影响高达 20%的儿童以及 2-8%的成年人（Wollenberg A 等，2018），其临床表现形式多样化，依据其发生、发展以及分布特点，可分为婴儿期、儿童期、青少年与成人期三个阶段，其中，大多数 AD 患者在婴儿期发生，病情严重者甚至可持续至成年期，由于其反复性严重影响患者的生活质量，是世界性的公共卫生问题之一。

AD 的表现和哮喘和过敏性鼻炎类似，主要与分泌白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-13(IL-13)等的 T 淋巴细胞的局部浸润有关，而 IL-4、IL-13 与调节辅助性 T 细胞 2(Th2)的表型的发展相关，会导致免疫球蛋白(Ig)超量产生以及嗜酸性粒细胞增多；同时，总 IgE 和过敏原特异性 IgE 水平增高也是 AD 的一个特征，至少 50%以上的 AD 患者都具备这一特征，而且这种 IgE 主要是针对外界环境致敏原。

因此，AD 的发生和发展过程中存在多个异常免疫反应环节，如：朗格汉斯细胞和皮肤树突细胞对变应原的提呈、Th2 为主的异常免疫反应、调节性 T 细胞功能障碍、IgE 过度产生和嗜酸性粒细胞升高等。

AD 的发病则与遗传和环境等因素关系密切，但真正导致 AD 的发病机制尚不清楚。大约 60%的 AD 的患者，可能会出特应性过敏家族史，如果父母一方具有特应性过敏的体质，那么存在 60%的可能性子女将具有特应性过敏症；除却遗传因素，AD 的病因中需要考虑的免疫因素是：对食物过敏、接触过敏原和刺激物而诱发的过敏、气源性致敏原诱发的过敏以及免疫调节异常。

现阶段，尚不存在针对 AD 的具有明确疗效的治疗药物，因此，目前主要是通过外用药物如糖皮质激素类药物，钙调神经磷酸酶抑制剂，外用抗微生物制剂，抗组胺药和抗炎症介质药物，免疫抑制剂等缓解 AD 的症状。

但是，上述药物存在较大的不良反应，并且，多数患者对激素类药物存在顾虑，这些不仅给 AD 治疗带来了极大的困难，同时，也给患者的生活带来了极大的困扰，此外，这些药

物对于个别患者来说存在较差的耐受性。

因此，仍然需要一种药物或治疗方式，既不会给患者带来副作用，同时，也能够用于对抗过敏的发作和皮肤炎症的发展，缓解患者皮肤瘙痒、湿疹等症状，并且，还能够应用于各类别的患者，对患者具有良好的耐受性。

## 发明内容

### [技术问题]

本发明要解决的技术问题是提供一种可缓解特应性皮炎且无副作用的长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*)。

### [技术方案]

为解决上述问题，本发明提供了一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029，所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 已于 2018 年 10 月 11 日保藏于广东省微生物菌种保藏中心，保藏编号为 GDMCC No.60461，保藏地址为广州市先烈中路 100 号大院 59 号楼 5 楼。

所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 是从来源于浙江杭州地区的健康人体粪便样本中分离得到的，该菌株经测序分析，其 16S rRNA 序列如 SEQ ID NO.1 所示，将测序得到的序列在 NCBI 中进行核酸序列比对，结果显示菌株为长双歧杆菌，命名为长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029。

所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 在 MRS 培养基上的菌落凸面至垫状，边缘完整，柔软，湿润，白色有光泽。

本发明提供了上述一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品中的应用。

本发明的一种实施方式中，所述产品中，长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的活菌数为不低于  $1 \times 10^6$  CFU/mL 或  $1 \times 10^6$  CFU/g。

本发明的一种实施方式中，所述产品包含食品、药品或保健品。

本发明的一种实施方式中，所述药品含有长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029、药物载体和/或药用辅料。

本发明的一种实施方式中，所述食品包含使用含有长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的发酵剂生产得到的乳制品、豆制品或果蔬制品；或所述食品包含含有长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的固体饮料

本发明提供了一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，所述产品含有上述长双歧杆菌

(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029。

本发明的一种实施方式中，所述产品中，长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的活菌数为不低于  $1 \times 10^6$  CFU/mL 或  $1 \times 10^6$  CFU/g。

本发明的一种实施方式中，所述产品包含食品、药品或保健品。

本发明的一种实施方式中，所述药品含有长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029、药物载体和/或药用辅料。

本发明的一种实施方式中，所述食品包含使用含有长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的发酵剂生产得到的乳制品、豆制品或果蔬制品；或所述食品包含含有长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的固体饮料。

在本发明的一种实施方式中，所述发酵剂的制备方法为将长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 按照占培养基总质量 2~4% 的接种量接种到培养基中，于 37°C 下培养 18 h，得到培养液；将培养液离心，得到菌体；将菌体用 pH 为 7.2~7.4 的磷酸盐缓冲液清洗 3 次后用冻干保护剂重悬，得到重悬液；将重悬液采用真空冷冻法进行冻干，得到发酵剂。

在本发明的一种实施方式中，所述冻干保护剂和菌体的质量比为 2:1。

在本发明的一种实施方式中，所述培养基包含占培养基总质量 87.7% 的水、10% 的脱脂乳、0.5% 的葡萄糖、1.5% 的胰蛋白胨以及 0.3% 的酵母浸膏溶解。

在本发明的一种实施方式中，所述培养基的 pH 为 6.8。

在本发明的一种实施方式中，所述保护剂包含 100 g/L 的脱脂奶粉、150 g/L 的海藻糖以及 10 g/L 的 L-谷氨酸钠。

有益效果：

1、本发明筛选出了一株长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029，此长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 具有缓解特应性皮炎的作用，具体体现在：

- (1) 显著改善特应性皮炎小鼠的耳朵肿胀程度；
- (2) 显著改善特应性皮炎小鼠皮肤病理症状以及炎症细胞浸润的作用；
- (3) 通过调节小鼠体内免疫系统进而显著降低特应性皮炎小鼠血清中总 IgE 水平；
- (4) 有利于降低小鼠体内肥大细胞脱颗粒现象进而显著改善特应性皮炎小鼠皮炎炎症；
- (5) 显著降低小鼠局部组织中与 Th2 细胞相关的细胞因子 (IL-4、IL-13) 水平进而恢复特应性皮炎小鼠局部组织中 Th1/Th2 之间的免疫平衡；

(6) 显著降低小鼠局部组织中组胺的释放，减轻特应性皮炎小鼠皮肤瘙痒症状，从而缓解特应性皮炎小鼠皮炎炎症，

因此，长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品（如食品、药品或保健品等）中，具有巨大的应用前景；

2、长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 是益生菌的一种，目前已被纳入卫生部下发的《可用于食品的菌种名单》，具有调节肠道健康的功效，因此，本发明筛选得到的长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 对人体而言，相对健康，无副作用。

### 生物材料保藏

一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029，分类学命名为 *Bifidobacterium longum*，已于 2018 年 10 月 11 日保藏于广东省微生物菌种保藏中心，保藏编号为 GDMCC No.60461，保藏地址为广州市先烈中路 100 号大院 59 号楼 5 楼。

### 附图说明

图 1：不同组别降低特应性皮炎小鼠耳朵厚度的效果对比；

图 2：不同组别缓解特应性皮炎小鼠皮肤病理学症状的效果对比；

图 3：不同组别降低特应性皮炎小鼠皮肤嗜酸粒细胞浸润的效果对比；

图 4：不同组别降低特应性皮炎小鼠血清总 IgE 水平的效果对比；

图 5：不同组别降低特应性皮炎小鼠皮肤组织中 IL-4 水平的效果对比；

图 6：不同组别降低特应性皮炎小鼠皮肤组织中 IL-13 水平的效果对比；

图 7：不同组别降低特应性皮炎小鼠皮肤组织中组胺水平的效果对比；

其中，“\*”表示与 Model 组具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )，“\*\*”表示与 Model 组具有极其显著的差异 ( $P < 0.01$ )。

### 具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明进行进一步的阐述。

下述实施例中涉及的脱脂乳购自光明乳业股份有限公司，葡萄糖与酵母浸膏购自国药集团化学试剂有限公司，胰蛋白胨购自英国 OXOID 公司，酶联免疫吸附测定试剂盒均购自南京森贝伽生物技术有限公司。

#### 下述实施例中涉及的培养基如下：

MRS 固体培养基 (g/L)：蛋白胨 10 g/L、牛肉膏 10 g/L、葡萄糖 20 g/L、乙酸钠 2 g/L、酵母粉 5 g/L、柠檬酸氢二铵 2 g/L、 $K_2PO_4 \cdot 3H_2O$  2.6 g/L、 $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  0.1 g/L、 $MnSO_4$  0.05 g/L、吐温 80 1 mL/L、琼脂 20 g/L、半胱氨酸氨基酸盐 0.5 g/L。

MRS 液体培养基 (g/L)：蛋白胨 10 g/L、牛肉膏 10 g/L、葡萄糖 20 g/L、乙酸钠 2 g/L、酵母粉 5 g/L、柠檬酸氢二铵 2 g/L、 $K_2PO_4 \cdot 3H_2O$  2.6 g/L、 $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  0.1 g/L、 $MnSO_4$  0.05 g/L、

吐温 80 1 mL/L、半胱氨酸氨基酸盐 0.5 g/L。

### 实施例 1：长双歧杆菌的筛选及菌种鉴定

#### 1、筛选

以来源于浙江杭州地区的健康人体粪便为样本，将样本经预处理后，在 20%左右甘油中保存于-80℃冰箱，取出解冻后，混匀样本吸取 0.5 mL 样本加到 4.5 mL，以含有 0.05%半胱氨酸的 0.9%生理盐水进行梯度稀释，选择合适的梯度稀释液涂布在加了 0.05%半胱氨酸的 MRS 固体培养基上，于 37℃培养 48 h，挑取典型菌落至 MRS 固体培养基上划线纯化，挑取单菌落转接至 MRS 液体培养基（含 0.05%半胱氨酸）增菌，30%甘油保藏，得到菌株 CCFM1029、菌株 A1 和菌株 A2。

#### 2、鉴定

提取 CCFM1029、A1、A2 的基因组，将 CCFM1029、A1、A2 的 16S rDNA 进行扩增和测序（由英潍捷基（上海）贸易有限公司进行，CCFM1029、A1、A2 的 16S rDNA 扩增的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3 所示，菌种鉴定的上游引物 27F 序列如 SEQ ID NO.4 所示：5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'、下游引物 1492R 序列如 SEQ ID NO.5 所示：5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'），将该序列在 NCBI 中进行核酸序列比对，结果显示菌株为长双歧杆菌，命名为长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）CCFM1029、长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）A1 和长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）A2。

### 实施例 2：长双歧杆菌的培养

将长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）CCFM1029 接入 MRS 固体培养基（含 0.05%半胱氨酸）中于 37℃培养 48 h 后，观察其菌落，发现其菌落凸面至垫状，边缘完整，柔软，湿润，白色有光泽。

将长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）CCFM1029 接入 MRS 液体培养基（含 0.05%半胱氨酸）中于 37℃厌氧培养 24 h 后，转入新鲜的 MRS 液体培养基（含 0.05%半胱氨酸）中，同样条件培养 24 h，6000 g 离心菌体 15 min，0.9%生理盐水洗涤菌体后 6000 g 再次离心 10 min，得到菌体，用 30%蔗糖溶液重悬，冻存在-80℃待用。

### 实施例 3：不同长双歧杆菌对特异性皮炎小鼠耳朵厚度的影响

取体重在 18-20 g 的健康雌性 C57BL/6 小鼠 50 只，随机分为 5 组，每组 10 只，5 组分别为：空白组（Control）、给药 2, 4-二硝基氟苯（2, 4-dinitrofluorobenzene, DNFB）的模型组（Model）、给药长双歧杆菌 CCFM1029 的 CCFM1029 组、给药长双歧杆菌 A1 的 A1 组、给药长双歧杆菌 A2 的 A2 组，其中，CCFM1029 组、A1 组、A2 组均为治疗组。

实验共四周：第一周为小鼠适应期；第二周开始灌胃直至实验结束，治疗组分别灌胃长双歧杆菌 CCFM1029、A1、A2 菌液，以 0.2 mL 菌液（单次灌胃活菌总量为  $1 \times 10^9$  CFU）/只/次的剂量进行灌胃，空白组与模型组不进行菌液干预，仅灌胃等量生理盐水作为对照；第三周到第四周为造模期，造模第 1 天，利用 50  $\mu$ L 浓度为 0.5% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠右耳处进行皮损致敏与激发，第 5 天、第 8 天、第 11 天、第 14 天利用 20  $\mu$ L 浓度为 0.2% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠右耳处，空白组小鼠右耳仅涂等量搽丙酮/橄榄油基质溶液作为对照；所有分组均为自由饮水和摄食。

造模开始前（即第 0 天）利用数显螺旋测微尺测定 5 组小鼠的耳朵厚度，造模结束后（即第 15 天）取血并处死小鼠，然后立刻测定小鼠耳朵厚度，检测结果如图 1。

由图 1 可知，长双歧杆菌 CCFM1029 和长双歧杆菌 A1 均可显著降低特异性皮炎小鼠耳朵的厚度，缓解小鼠耳朵的肿胀程度；而长双歧杆菌 A2 则无明显缓解作用。

以上实验结果说明，长双歧杆菌 CCFM1029 具有缓解特异性皮炎小鼠耳朵的厚度及肿胀程度的作用。

#### **实施例 4：不同长双歧杆菌对特异性皮炎小鼠皮肤病理症状的影响**

取体重在 18-20 g 的健康雌性 C57BL/6 小鼠 50 只，随机分为 5 组，每组 10 只，5 组分别为：空白组（Control）、给药 2, 4-二硝基氟苯（2, 4-dinitrofluorobenzene, DNFB）的模型组（Model）、给药长双歧杆菌 CCFM1029 的 CCFM1029 组、给药长双歧杆菌 A1 的 A1 组、给药长双歧杆菌 A2 的 A2 组，其中，CCFM1029 组、A1 组、A2 组均为治疗组。

实验共四周：第一周为小鼠适应期；第二周开始灌胃直至实验结束，治疗组分别灌胃长双歧杆菌 CCFM1029、A1、A2 菌液，以 0.2 mL 菌液（单次灌胃活菌总量为  $1 \times 10^9$  CFU）/只/次的剂量进行灌胃，空白组与模型组不进行菌液干预，仅灌胃等量生理盐水作为对照；第三周到第四周为造模期，造模第 1 天，对 5 组小鼠背部皮肤进行脱毛处理，面积大约为 2.5 cm $\times$ 2.5 cm，并用 50  $\mu$ L 浓度为 0.5% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区进行皮损致敏与激发，第 5 天、第 8 天、第 11 天、第 14 天利用 20  $\mu$ L 浓度为 0.2% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区，空白组小鼠背部脱毛区仅涂等量搽丙酮/橄榄油基质溶液作为对照；所有分组均为自由饮水和摄食。

造模结束后（即第 15 天）取血并处死小鼠，取小鼠背部脱毛区皮肤进行组织病理学分析，通过对小鼠背部皮肤组织病理学切片进行苏木精-伊红染色，然后通过职业技术人员进行组织病理评分（结果如图 2）。

由图 2 可知，空白组（Control）小鼠背部皮肤表皮细胞结构正常，表皮各层未见炎症反

应；模型组（Model）小鼠背部皮损病理学呈明显炎症增生性改变，淋巴细胞和浆细胞浸润，同时背部皮肤糜烂，存在纤维组织增生；长双歧杆菌 CCFM1029 组治疗组小鼠背部皮肤表皮细胞结构近乎正常，表皮各层无较为严重的炎症反应；而长双歧杆菌 A1、长双歧杆菌 A2 两组长双歧杆菌治疗组纤维组织增生明显，存在较为少量的炎症，缓解了小鼠皮肤特应性皮炎的病理学症状，剩余其他各组表皮细胞结构显然不完整，推测皮肤有破溃、结痂，存在严重的炎症反应。

以上实验表明，长双歧杆菌 CCFM1029 可显著改善特应性皮炎小鼠皮肤炎症。

#### **实施例 5：不同长双歧杆菌对特应性皮炎小鼠嗜酸粒细胞浸润的影响**

取体重在 18-20 g 的健康雌性 C57BL/6 小鼠 50 只，随机分为 5 组，每组 10 只，5 组分别为：空白组（Control）、给药 2, 4-二硝基氟苯（2, 4-dinitrofluorobenzene, DNFB）的模型组（Model）、给药长双歧杆菌 CCFM1029 的 CCFM1029 组、给药长双歧杆菌 A1 的 A1 组、给药长双歧杆菌 A2 的 A2 组，其中，CCFM1029 组、A1 组、A2 组均为治疗组。

实验共四周：第一周为小鼠适应期；第二周开始灌胃直至实验结束，治疗组分别灌胃长双歧杆菌 CCFM1029、A1、A2 菌液，以 0.2 mL 菌液（单次灌胃活菌总量为  $1 \times 10^9$  CFU）/只/次的剂量进行灌胃，空白组与模型组不进行菌液干预，仅灌胃等量生理盐水作为对照；第三周到第四周为造模期，造模第 1 天，对 5 组小鼠背部皮肤进行脱毛处理，面积大约为  $2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ ，并用 50  $\mu\text{L}$  浓度为 0.5% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区进行皮损致敏与激发，第 5 天、第 8 天、第 11 天、第 14 天利用 20  $\mu\text{L}$  浓度为 0.2% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区，空白组小鼠背部脱毛区仅涂等量搽丙酮/橄榄油基质溶液作为对照；所有分组均为自由饮水和摄食。

造模结束后（即第 15 天）取血并处死小鼠，取小鼠背部脱毛区皮肤进行组织病理学分析，通过对小鼠背部皮肤组织病理学切片进行苏木精-伊红染色，然后通过职业技术人员进行嗜酸粒细胞计数分析（结果如图 3）。

由图 3 可知，长双歧杆菌 CCFM1029 显著降低了皮肤组织中嗜酸粒细胞的数目，降低了嗜酸粒细胞产生的炎症浸润，从而抑制了皮肤组织炎症；而长双歧杆菌 A1、长双歧杆菌 A2 两组则不能抑制组织中嗜酸粒细胞的数目，对组织炎症浸润无显著影响，不能缓解小鼠的皮肤炎症。

以上实验表明，长双歧杆菌 CCFM1029 可显著抑制特应性皮炎小鼠皮肤嗜酸粒细胞产生的炎症浸润。

#### **实施例 6：不同长双歧杆菌对特应性皮炎小鼠血清总 IgE 水平的影响**

取体重在 18-20 g 的健康雌性 C57BL/6 小鼠 50 只，随机分为 5 组，每组 10 只，5 组分别为：空白组（Control）、给药 2, 4-二硝基氟苯（2, 4-dinitrofluorobenzene, DNFB）的模型组（Model）、给药长双歧杆菌 CCFM1029 的 CCFM1029 组、给药长双歧杆菌 A1 的 A1 组、给药长双歧杆菌 A2 的 A2 组，其中，CCFM1029 组、A1 组、A2 组均为治疗组。

实验共四周：第一周为小鼠适应期；第二周开始灌胃直至实验结束，治疗组分别灌胃长双歧杆菌 CCFM1029、A1、A2 菌液，以 0.2 mL 菌液（单次灌胃活菌总量为  $1 \times 10^9$  CFU）/只/次的剂量进行灌胃，空白组与模型组不进行菌液干预，仅灌胃等量生理盐水作为对照；第三周到第四周为造模期，造模第 1 天，对 5 组小鼠背部皮肤进行脱毛处理，面积大约为  $2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ ，并用 50  $\mu\text{L}$  浓度为 0.5% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区进行皮损致敏与激发，第 5 天、第 8 天、第 11 天、第 14 天利用 20  $\mu\text{L}$  浓度为 0.2% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区，空白组小鼠背部脱毛区仅涂等量搽丙酮/橄榄油基质溶液作为对照；所有分组均为自由饮水和摄食。

造模结束后（即第 15 天）取血并处死小鼠，取小鼠血清，通过酶联免疫吸附测定试剂盒测定血清总 IgE 水平（结果如图 4）。

由图 4 可知，与模型组（Model）相比，长双歧杆菌 CCFM1029 显著降低了小鼠血清总 IgE 水平，有利于抑制 Th2 型免疫反应，从而有助于缓解特应性皮炎的病理炎症；而长双歧杆菌 A1、长双歧杆菌 A2 两组则不能抑制血清 IgE 合成，故长双歧杆菌 A1、A2 干预对特应性皮炎的病理炎症无显著影响。

以上实验表明，长双歧杆菌 CCFM1029 可显著降低了小鼠血清总 IgE 水平，有利于缓解特应性皮炎的病理炎症。

#### **实施例 7：不同长双歧杆菌对特应性皮炎小鼠皮肤组织中 IL-4、IL-13 水平的影响**

取体重在 18-20 g 的健康雌性 C57BL/6 小鼠 50 只，随机分为 5 组，每组 10 只，5 组分别为：空白组（Control）、给药 2, 4-二硝基氟苯（2, 4-dinitrofluorobenzene, DNFB）的模型组（Model）、给药长双歧杆菌 CCFM1029 的 CCFM1029 组、给药长双歧杆菌 A1 的 A1 组、给药长双歧杆菌 A2 的 A2 组，其中，CCFM1029 组、A1 组、A2 组均为治疗组。

实验共四周：第一周为小鼠适应期；第二周开始灌胃直至实验结束，治疗组分别灌胃长双歧杆菌 CCFM1029、A1、A2 菌液，以 0.2 mL 菌液（单次灌胃活菌总量为  $1 \times 10^9$  CFU）/只/次的剂量进行灌胃，空白组与模型组不进行菌液干预，仅灌胃等量生理盐水作为对照；第三周到第四周为造模期，造模第 1 天，对 5 组小鼠背部皮肤进行脱毛处理，面积大约为  $2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ ，并用 50  $\mu\text{L}$  浓度为 0.5% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区进行皮损致敏

与激发，第 5 天、第 8 天、第 11 天、第 14 天利用 20  $\mu\text{L}$  浓度为 0.2% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区，空白组小鼠背部脱毛区仅涂等量搽丙酮/橄榄油基质溶液作为对照；所有分组均为自由饮水和摄食。

造模结束后（即第 15 天）取血并处死小鼠，然后取小鼠背部脱毛区皮肤组织，通过酶联免疫吸附测定试剂盒测定 Th2 型免疫反应细胞因子 IL-4、IL-13 的水平（结果如图 5-6）。

由图 5-6 可知，与模型组（Model）相比，长双歧杆菌 CCFM1029 显著降低了小鼠皮肤组织 IL-4，IL-13 水平，显著地抑制了 Th2 型免疫反应，从而有助于缓解由 Th2 型异常免疫反应引起的病理炎症状态；而长双歧杆菌 A1、长双歧杆菌 A2 两组则不能降低皮肤组织 IL-4，IL-13 水平，故长双歧杆菌 A1、A2 干预对特异性皮炎的病理炎症无显著影响。

以上实验表明，长双歧杆菌 CCFM1029 可显著降低 Th2 型免疫反应相关细胞因子 IL-4，IL-13 的水平，有助于缓解由 Th2 型异常免疫反应引起的病理炎症状态。

#### **实施例 8：不同长双歧杆菌对特异性皮炎小鼠皮肤组织中组胺水平的影响**

取体重在 18-20 g 的健康雌性 C57BL/6 小鼠 50 只，随机分为 5 组，每组 10 只，5 组分别为：空白组（Control）、给药 2，4-二硝基氟苯（2，4-dinitrofluorobenzene，DNFB）的模型组（Model）、给药长双歧杆菌 CCFM1029 的 CCFM1029 组、给药长双歧杆菌 A1 的 A1 组、给药长双歧杆菌 A2 的 A2 组，其中，CCFM1029 组、A1 组、A2 组均为治疗组。

实验共四周：第一周为小鼠适应期；第二周开始灌胃直至实验结束，治疗组分别灌胃长双歧杆菌 CCFM1029、A1、A2 菌液，以 0.2 mL 菌液（单次灌胃活菌总量为  $1 \times 10^9$  CFU）/只/次的剂量进行灌胃，空白组与模型组不进行菌液干预，仅灌胃等量生理盐水作为对照；第三周到第四周为造模期，造模第 1 天，对 5 组小鼠背部皮肤进行脱毛处理，面积大约为  $2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ ，并用 50  $\mu\text{L}$  浓度为 0.5% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区进行皮损致敏与激发，第 5 天、第 8 天、第 11 天、第 14 天利用 20  $\mu\text{L}$  浓度为 0.2% 的 DNFB 溶液涂搽模型组与治疗组小鼠背部脱毛区，空白组小鼠背部脱毛区仅涂等量搽丙酮/橄榄油基质溶液作为对照；所有分组均为自由饮水和摄食。

造模结束后（即第 15 天）取血并处死小鼠，然后取小鼠背部脱毛区皮肤组织，通过酶联免疫吸附测定试剂盒测定与肥大细胞脱颗粒情况相关的炎症因子：组胺（结果如图 7）。

由图 7 可知，与模型组（Model）相比，长双歧杆菌 CCFM1029 显著降低了小鼠皮肤组织组胺的水平，从而可推断出长双歧杆菌 CCFM1029 显著地降低了肥大细胞的脱颗粒情况，阻止了皮肤损伤组织中组胺的释放，缓解小鼠的皮肤瘙痒情况；而长双歧杆菌 A1、长双歧杆菌 A2 两组不能降低皮肤组织中组胺的水平，甚至促进了组胺的释放，故长双歧杆菌 A1、A2

干预无法抑制组织中肥大细胞的脱颗粒情况，从而阻止组胺的释放，故无法缓解小鼠皮肤的瘙痒。

以上实验表明，长双歧杆菌 CCFM1029 可显著降低皮肤组织中组胺的水平，抑制了皮肤组织中肥大细胞的脱颗粒情况，从而缓解了小鼠皮肤的瘙痒，阻止了特应性皮炎的进一步发展。

### **实施例 9：含有长双歧杆菌 CCFM1029 固体饮料的制备**

将长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 按照占培养基总质量 3% 的接种量接种到培养基中，于 37°C 下培养 18 h，得到培养液；将培养液离心，得到菌体；将菌体用 pH 为 7.2~7.4 的磷酸盐缓冲液清洗 3 次后用海藻糖浓度为 100 g/L 的海藻糖冻干保护剂重悬（冻干保护剂和菌体的质量比为 2:1），得到重悬液；将重悬液采用真空冷冻法进行冻干，得到长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 菌粉；其中，所述培养基包含占培养基总质量 87.7% 的水、10% 的酶水解脱脂乳、0.5% 的葡萄糖、1.5% 的胰蛋白胨以及 0.3% 的酵母浸膏溶解；所述培养基的 pH 为 6.8；

将含有  $1 \times 10^{10}$  CFU 的长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 菌粉同麦芽糊精进行混合，菌粉和麦芽糊精总质量为 1 克，得到富含长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的固体饮料。

取 10 克上述含有长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) CCFM1029 的固体饮料，用生理盐水复溶，定容到 20 mL，每只小鼠每天灌胃 0.2 mL，连续三周，可有效缓解小鼠特应性皮炎的症状，在预防和/或治疗特应性皮炎有极好的效果。

虽然本发明已以较佳实施例公开如上，但其并非用以限定本发明，任何熟悉此技术的人，在不脱离本发明的精神和范围内，都可做各种的改动与修饰，因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

## 权 利 要 求 书

1. 一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*)，其特征在于，所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 已于 2018 年 10 月 11 日保藏于广东省微生物菌种保藏中心，保藏编号为 GDMCC No.60461，保藏地址为广州市先烈中路 100 号大院 59 号楼 5 楼。

2. 如权利要求 1 所述的一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品中的应用。

3. 如权利要求 2 所述的一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品中的应用，其特征在于，所述产品中，长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 的活菌数为不低于  $1 \times 10^6$  CFU/mL 或  $1 \times 10^6$  CFU/g。

4. 如权利要求 2 或 3 所述的一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品中的应用，其特征在于，所述产品包含食品、药品或保健品。

5. 如权利要求 2-4 任一所述的一株长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 在制备预防和/或治疗特应性皮炎的产品中的应用，其特征在于，所述药品含有长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*)、药物载体和/或药用辅料。

6. 一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述产品含有如权利要求 1 所述的长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*)。

7. 如权利要求 6 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述产品中，权利要求 1 所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 的活菌数为不低于  $1 \times 10^6$  CFU/mL 或  $1 \times 10^6$  CFU/g。

8. 如权利要求 6 或 7 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述产品包含食品、药品或保健品。

9. 如权利要求 8 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述药品含有权利要求 1 所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*)、药物载体和/或药用辅料。

10. 如权利要求 8 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述食品包含使用含有权利要求 1 所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 的发酵剂生产得到的乳制品、豆制品或果蔬制品；或所述食品包含含有权利要求 1 所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 的固体饮料。

11. 如权利要求 10 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述发酵剂的制备方法为将权利要求 1 所述长双歧杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 按照占培养基总质量 2~4% 的接种量接种到培养基中，于 37°C 下培养 18 h，得到培养液；将培养液离心，得到菌体；将菌体用 pH 为 7.2~7.4 的磷酸盐缓冲液清洗 3 次后用冻干保护剂重悬，得到重悬液；将重悬液采用真空冷冻法进行冻干，得到发酵剂。

12.如权利要求 11 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述冻干保护剂和菌体的质量比为 2:1。

13.如权利要求 11 或 12 所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述培养基包含占培养基总质量 87.7%的水、10%的脱脂乳、0.5%的葡萄糖、1.5%的胰蛋白酶以及 0.3%的酵母浸膏溶解。

14.如权利要求 11-13 任一所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述培养基的 pH 为 6.8。

15.如权利要求 11-14 任一所述的一种用于预防和/或治疗特应性皮炎的产品，其特征在于，所述冻干保护剂包含 100 g/L 的脱脂奶粉、150 g/L 的海藻糖以及 10 g/L 的 L-谷氨酸钠。

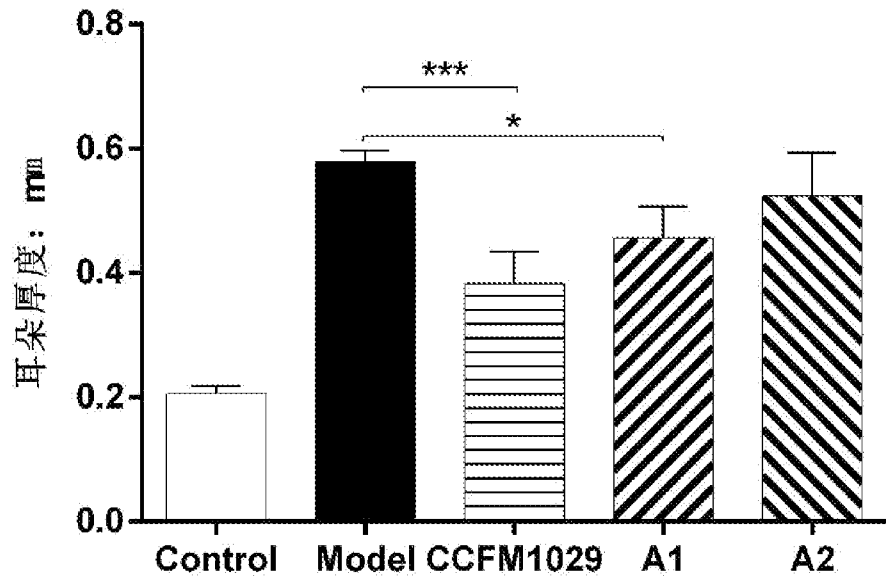


图 1

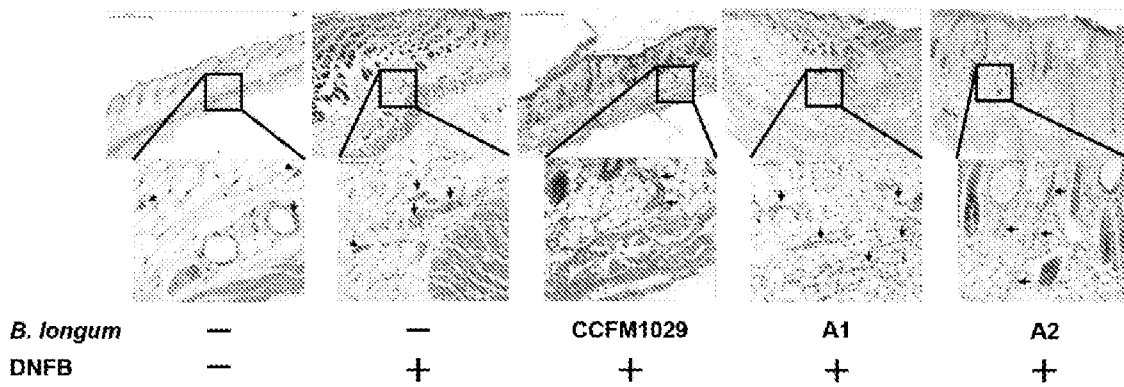


图 2

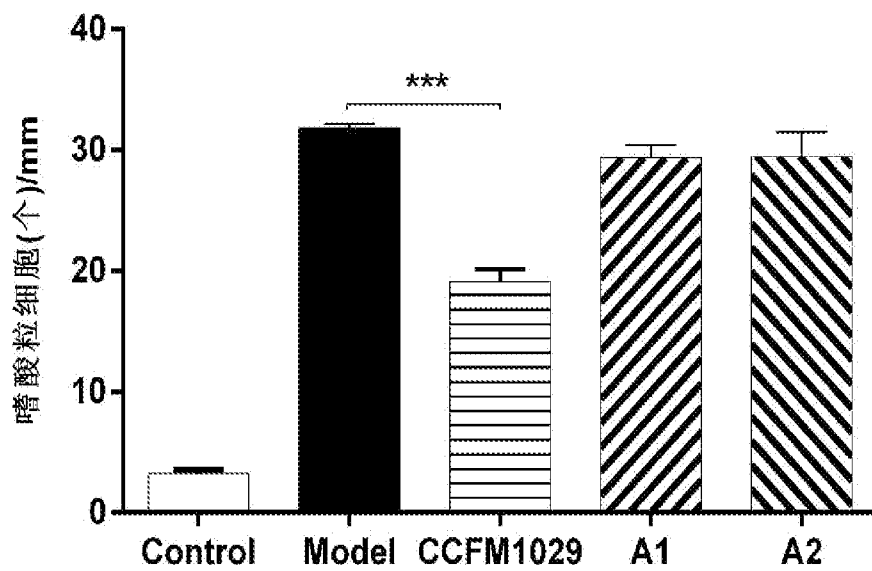


图 3

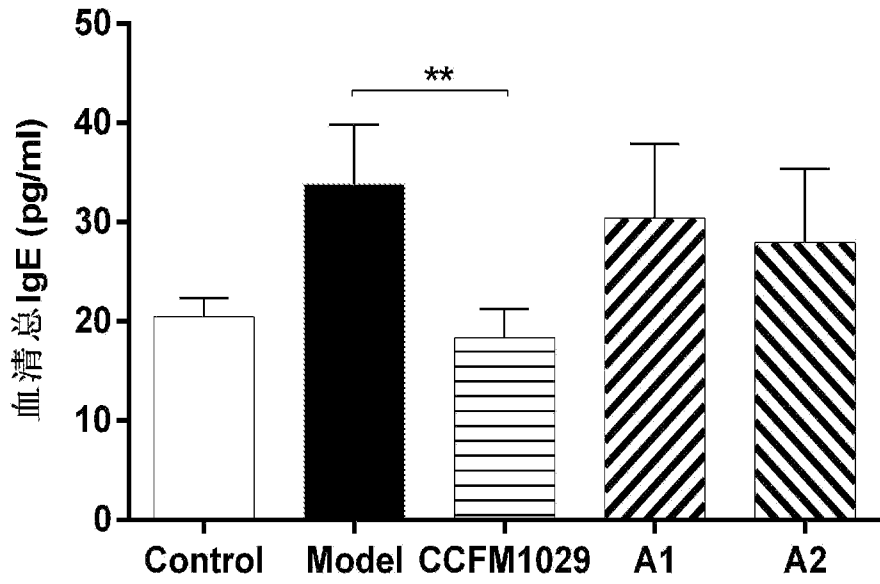


图 4

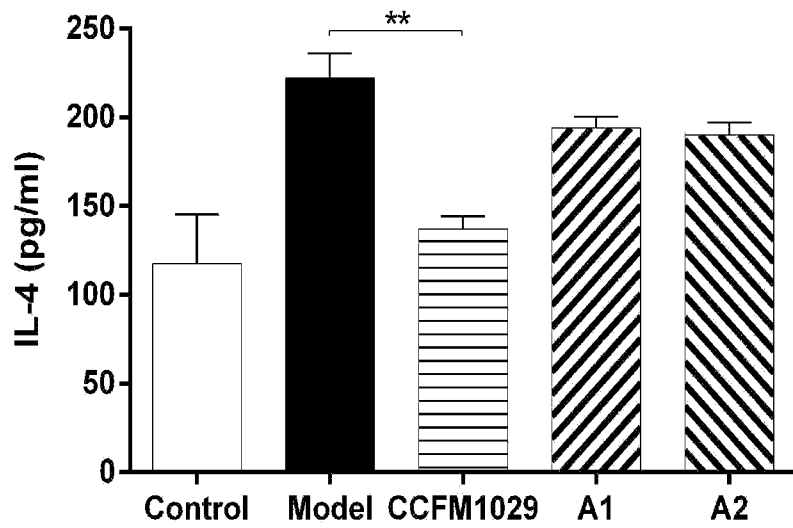


图 5

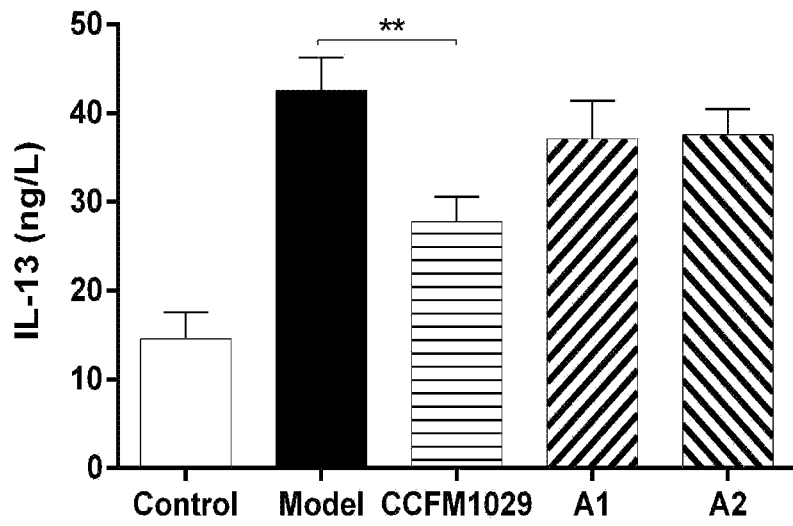


图 6

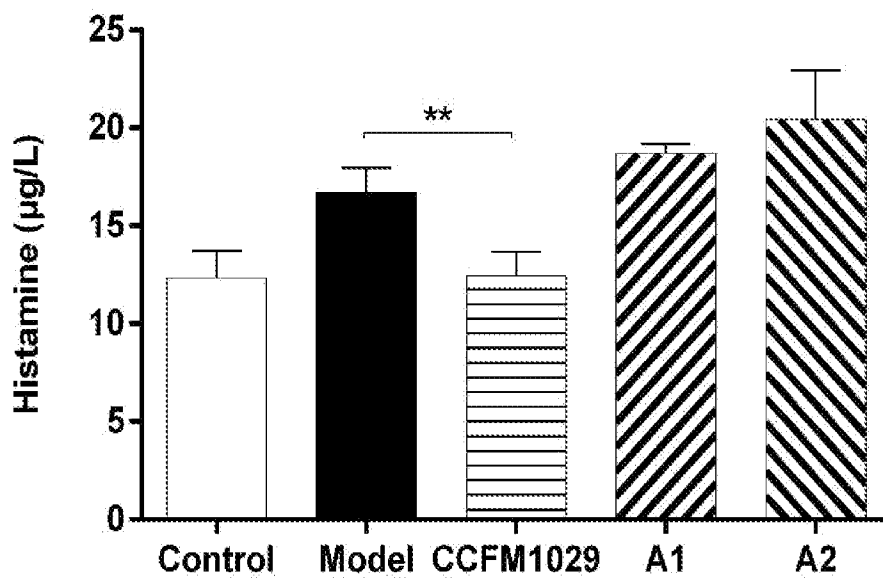


图 7

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/128526

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
A61K 35/745(2015.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; C12R 1/01(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K; A61P; C12R		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, VEN, DWPI, CNKI, CNTXT, USTXT, PUBMED, BAIDU, CNKI, ISI Web of Knowledge, EMBL, Patents, 特异性皮炎, 异位性皮炎, 特异性湿疹, 遗传过敏性湿疹, Besnier体质性痒疹, 长双歧杆菌, 两歧杆菌, 组胺, 浸润, CCFM1029, No.60461, IgE, Bifidobacterium longum, B.longum, Atopic Dermatitis, AD, IL-4, IL-13, BLM, BL, histamine, infiltrate, immersion.		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 109652349 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 19 April 2019 (2019-04-19) claims 1-10, and description, paragraphs [0015]-[0029]	1-15
PX	FANG, Z. F. et al. "Strain-specific ameliorating effect of Bifidobacterium longum on atopic dermatitis in mice" <i>JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS</i> , Vol. 60, 21 June 2019 (2019-06-21), document no. 103426, abstract	1-15
X	KR 20180089324 A (UNIV. KYUNGHEE IND. COOP. et al.) 08 August 2018 (2018-08-08) claims 1-18, description, paragraphs [0041]-[0048] and [0082]-[0083], and embodiments 3-8	1-15
X	CN 102159086 A (MEAD JOHNSON NUTRITION CO., LTD) 17 August 2011 (2011-08-17) claims 12-15, and description, paragraphs [0019] and [0052]-[0058]	1-15
A	CN 108495560 A (NESTEC LTD.) 04 September 2018 (2018-09-04) entire document	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>09 March 2020</b>		Date of mailing of the international search report <b>26 March 2020</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088 China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer  Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/128526

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 108473944 A (INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION KYUNGHEE UNIVERSITY et al.) 31 August 2018 (2018-08-31) entire document	1-15
A	CN 107567333 A (BIOIMMUNIZER SAGL) 09 January 2018 (2018-01-09) entire document	1-15
A	CN 102089422 A (CHR HANSEN A/S) 08 June 2011 (2011-06-08) entire document	1-15
A	WO 2010003916 (CHR. HANSEN A/S) 14 January 2010 (2010-01-14) entire document	1-15
A	WO 2016149687 A1 (WHOLE BIOME, INC.) 22 September 2016 (2016-09-22) entire document	1-15
A	YANG, J. et al. "Bifidobacterium longum BBMN68-specific modulated dendritic cells alleviate allergic responses to bovine $\beta$ -lactoglobulin in mice" <i>Journal of Applied Microbiology</i> , Vol. 119, No. 4, 06 August 2015 (2015-08-06), pages 1127-1137	1-15

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2019/128526**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	109652349	A	19 April 2019	None			
KR	20180089324	A	08 August 2018	CA	3052134	A1	09 August 2018
				KR	101999259	B1	11 July 2019
				MX	2019009079	A	26 September 2019
				SG	11201907043V	A	27 August 2019
				CN	110494551	A	22 November 2019
				AU	2018216532	A1	15 August 2019
				KR	102036841	B1	25 October 2019
				WO	2018143678	A1	09 August 2018
				KR	20190082739	A	10 July 2019
CN	102159086	A	17 August 2011	CZ	2011139	A3	07 September 2011
				EP	2323493	A4	21 September 2011
				TW	201016145	A	01 May 2010
				NO	20110170	A1	30 March 2011
				EP	2323493	B8	26 December 2012
				CA	2737805	A1	25 March 2010
				CZ	20110139	A3	07 September 2011
				EP	2323493	A1	25 May 2011
				CN	102159086	B	06 March 2013
				RU	2520085	C2	20 June 2014
				HK	1158025	A1	22 March 2013
				WO	2010033775	A1	25 March 2010
				HK	1160730	A1	06 December 2013
				ES	2398189	T3	14 March 2013
				RU	2011115228	A	27 October 2012
				BR	PI0919173	A2	24 September 2019
				PE	20110933	A1	29 January 2012
				EP	2323493	B1	24 October 2012
				PE	09332011	A1	29 January 2012
				NO	20110170	A	30 March 2011
				US	2010074870	A1	25 March 2010
				MX	2011002238	A	05 April 2011
				PL	2323493	T3	29 March 2013
CN	108495560	A	04 September 2018	WO	2017129642	A1	03 August 2017
				EP	3407739	A1	05 December 2018
				US	2019029306	A1	31 January 2019
CN	108473944	A	31 August 2018	CA	2998877	A1	23 March 2017
				AU	2016322617	B2	16 January 2020
				KR	101851196	B1	25 April 2018
				RU	2018113245	A	22 October 2019
				SG	11201802145S	A	27 April 2018
				PH	12018500566	A1	01 October 2018
				KR	20170032845	A	23 March 2017
				CN	108603162	A	28 September 2018
				US	2018355445	A1	13 December 2018
				KR	101937365	B1	11 January 2019
				MX	2018003230	A	01 August 2018
				NZ	741028	A	30 August 2019
				EP	3351617	A4	08 May 2019
				AU	2016324846	A1	19 April 2018

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2019/128526**

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		AU 2016322617 A1	19 April 2018
		KR 101889281 B1	21 August 2018
		EP 3351616 A4	01 May 2019
		RU 2018113245 A3	22 October 2019
		KR 20170032816 A	23 March 2017
		BR 112018005195 A2	16 October 2018
		JP 2018536385 A	13 December 2018
		EP 3351617 A1	25 July 2018
		SG 11201802144T A	27 April 2018
		EP 3351616 A1	25 July 2018
		US 10471111 B2	12 November 2019
		JP 2018531595 A	01 November 2018
		CA 2998841 A1	23 March 2017
		KR 20180091802 A	16 August 2018
		JP 6626569 B2	25 December 2019
		US 2019030097 A1	31 January 2019
		JP 6608047 B2	20 November 2019
		KR 20170032848 A	23 March 2017
		KR 20170032815 A	23 March 2017
CN 107567333 A	09 January 2018	JP 2018507872 A	22 March 2018
		KR 20180030459 A	23 March 2018
		BR 112017018876 A2	17 April 2018
		CA 2977901 A1	15 September 2016
		RU 2017133256 A	09 April 2019
		US 2018050071 A1	22 February 2018
		EP 3268017 A1	17 January 2018
		WO 2016142767 A1	15 September 2016
CN 102089422 A	08 June 2011	EP 2318513 A1	11 May 2011
		CN 102089422 B	17 July 2013
		HK 1152968 A1	14 February 2014
		US 2011177034 A1	21 July 2011
		WO 2010003916 A1	14 January 2010
		EP 2318513 B1	19 September 2012
		US 2016129055 A1	12 May 2016
		DK 2318513 T3	22 October 2012
WO 2016149687 A1	22 September 2016	GB 201716169 D0	15 November 2017
		EP 3270938 A1	24 January 2018
		SG 11201707657U A	30 October 2017
		US 2016271189 A1	22 September 2016
		CA 2976956 A1	22 September 2016
		GB 2553701 A	14 March 2018
		EP 3270938 A4	19 December 2018

<b>A. 主题的分类</b>		
A61K 35/745(2015.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; C12R 1/01(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
<b>B. 检索领域</b>		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
A61K; A61P; C12R		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNABS, VEN, DWPI, CNKI, CNTXT, USTXT, PUBMED, BAIDU, CNKI, ISI Web of Knowledge, EMBL, Patentics, 特异性皮炎, 异位性皮炎, 特异性湿疹, 遗传过敏性湿疹, Besnier体质性痒疹, 长双歧杆菌, 两歧杆菌, 组胺, 浸润, CCFM1029, No.60461, IgE, Bifidobacterium longum, B. longum, Atopic Dermatitis, AD, IL-4, IL-13, BLM, BL, histamine, infiltrate, immersion.		
<b>C. 相关文件</b>		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 109652349 A (江南大学) 2019年 4月 19日 (2019 - 04 - 19) 权利要求第1-10项, 说明书第[0015]-[0029]段	1-15
PX	FANG, Z.F.等. "Strain-specific ameliorating effect of Bifidobacterium longum on atopic dermatitis in mice" JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS, 第60卷, 2019年 6月 21日 (2019 - 06 - 21), 文献编号103426 摘要	1-15
X	KR 20180089324 A (UNIV. KYUNGHEE IND. COOP. 等) 2018年 8月 8日 (2018 - 08 - 08) 权利要求第1-18项, 说明书第[0041]-[0048]和[0082]-[0083]段, 实施例3-8	1-15
X	CN 102159086 A (美赞臣营养品公司) 2011年 8月 17日 (2011 - 08 - 17) 权利要求第12-15项, 说明书第[0019]和[0052]-[0058]段	1-15
A	CN 108495560 A (雀巢产品技术援助有限公司) 2018年 9月 4日 (2018 - 09 - 04) 全文	1-15
A	CN 108473944 A (庆熙大学校产学协力团 等) 2018年 8月 31日 (2018 - 08 - 31) 全文	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2020年 3月 9日		2020年 3月 26日
ISA/CN的名称和邮寄地址		授权官员
中国知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		彭海航
传真号 (86-10)62019451		电话号码 86-(10)-53961949

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 107567333 A (生物免疫SAGL公司) 2018年 1月 9日 (2018 - 01 - 09) 全文	1-15
A	CN 102089422 A (科. 汉森有限公司) 2011年 6月 8日 (2011 - 06 - 08) 全文	1-15
A	WO 2010003916 (CHR. HANSEN A/S) 2010年 1月 14日 (2010 - 01 - 14) 全文	1-15
A	WO 2016149687 A1 (WHOLE BIOME, INC.) 2016年 9月 22日 (2016 - 09 - 22) 全文	1-15
A	YANG, J. 等. "Bifidobacterium longum BBMN68-specific modulated dendritic cells alleviate allergic responses to bovine $\beta$ -lactoglobulin in mice" JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, 第119卷, 第4期, 2015年 8月 6日 (2015 - 08 - 06), 第1127-1137页	1-15

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/128526

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	109652349	A	2019年 4月 19日	无			
KR	20180089324	A	2018年 8月 8日	CA	3052134	A1	2018年 8月 9日
				KR	101999259	B1	2019年 7月 11日
				MX	2019009079	A	2019年 9月 26日
				SG	11201907043V	A	2019年 8月 27日
				CN	110494551	A	2019年 11月 22日
				AU	2018216532	A1	2019年 8月 15日
				KR	102036841	B1	2019年 10月 25日
				WO	2018143678	A1	2018年 8月 9日
				KR	20190082739	A	2019年 7月 10日
CN	102159086	A	2011年 8月 17日	CZ	20111139	A3	2011年 9月 7日
				EP	2323493	A4	2011年 9月 21日
				TW	201016145	A	2010年 5月 1日
				NO	20110170	A1	2011年 3月 30日
				EP	2323493	B8	2012年 12月 26日
				CA	2737805	A1	2010年 3月 25日
				CZ	20110139	A3	2011年 9月 7日
				EP	2323493	A1	2011年 5月 25日
				CN	102159086	B	2013年 3月 6日
				RU	2520085	C2	2014年 6月 20日
				HK	1158025	A1	2013年 3月 22日
				WO	2010033775	A1	2010年 3月 25日
				HK	1160730	A1	2013年 12月 6日
				ES	2398189	T3	2013年 3月 14日
				RU	2011115228	A	2012年 10月 27日
				BR	PI0919173	A2	2019年 9月 24日
				PE	20110933	A1	2012年 1月 29日
				EP	2323493	B1	2012年 10月 24日
				PE	09332011	A1	2012年 1月 29日
				NO	20110170	A	2011年 3月 30日
				US	2010074870	A1	2010年 3月 25日
				MX	2011002238	A	2011年 4月 5日
				PL	2323493	T3	2013年 3月 29日
CN	108495560	A	2018年 9月 4日	WO	2017129642	A1	2017年 8月 3日
				EP	3407739	A1	2018年 12月 5日
				US	2019029306	A1	2019年 1月 31日
CN	108473944	A	2018年 8月 31日	CA	2998877	A1	2017年 3月 23日
				AU	2016322617	B2	2020年 1月 16日
				KR	101851196	B1	2018年 4月 25日
				RU	2018113245	A	2019年 10月 22日
				SG	11201802145S	A	2018年 4月 27日
				PH	12018500566	A1	2018年 10月 1日
				KR	20170032845	A	2017年 3月 23日
				CN	108603162	A	2018年 9月 28日
				US	2018355445	A1	2018年 12月 13日
				KR	101937365	B1	2019年 1月 11日
				MX	2018003230	A	2018年 8月 1日
				NZ	741028	A	2019年 8月 30日
				EP	3351617	A4	2019年 5月 8日

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/128526

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		AU 2016324846 A1	2018年 4月 19日
		AU 2016322617 A1	2018年 4月 19日
		KR 101889281 B1	2018年 8月 21日
		EP 3351616 A4	2019年 5月 1日
		RU 2018113245 A3	2019年 10月 22日
		KR 20170032816 A	2017年 3月 23日
		BR 112018005195 A2	2018年 10月 16日
		JP 2018536385 A	2018年 12月 13日
		EP 3351617 A1	2018年 7月 25日
		SG 11201802144T A	2018年 4月 27日
		EP 3351616 A1	2018年 7月 25日
		US 10471111 B2	2019年 11月 12日
		JP 2018531595 A	2018年 11月 1日
		CA 2998841 A1	2017年 3月 23日
		KR 20180091802 A	2018年 8月 16日
		JP 6626569 B2	2019年 12月 25日
		US 2019030097 A1	2019年 1月 31日
		JP 6608047 B2	2019年 11月 20日
		KR 20170032848 A	2017年 3月 23日
		KR 20170032815 A	2017年 3月 23日
CN 107567333 A	2018年 1月 9日	JP 2018507872 A	2018年 3月 22日
		KR 20180030459 A	2018年 3月 23日
		BR 112017018876 A2	2018年 4月 17日
		CA 2977901 A1	2016年 9月 15日
		RU 2017133256 A	2019年 4月 9日
		US 2018050071 A1	2018年 2月 22日
		EP 3268017 A1	2018年 1月 17日
		WO 2016142767 A1	2016年 9月 15日
CN 102089422 A	2011年 6月 8日	EP 2318513 A1	2011年 5月 11日
		CN 102089422 B	2013年 7月 17日
		HK 1152968 A1	2014年 2月 14日
		US 2011177034 A1	2011年 7月 21日
		WO 2010003916 A1	2010年 1月 14日
		EP 2318513 B1	2012年 9月 19日
		US 2016129055 A1	2016年 5月 12日
		DK 2318513 T3	2012年 10月 22日
WO 2016149687 A1	2016年 9月 22日	GB 201716169 D0	2017年 11月 15日
		EP 3270938 A1	2018年 1月 24日
		SG 11201707657U A	2017年 10月 30日
		US 2016271189 A1	2016年 9月 22日
		CA 2976956 A1	2016年 9月 22日
		GB 2553701 A	2018年 3月 14日
		EP 3270938 A4	2018年 12月 19日