(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107847530 A
(43)申请公布日 2018.03.27

(21)申请号 201680031836.5

(22)申请日 2016.06.01

(30)优先权数据
62/169,112 2015.06.01 US
62/248,741 2015.10.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.11.30

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/035228 2016.06.01

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/196605 EN 2016.12.08

(71)申请人 芝加哥大学
地址 美国伊利诺伊州

(72)发明人 T·F·加耶夫斯基 A·斯万 L·科拉莱斯

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 35/741(2015.01)
A61K 35/742(2015.01)
A61K 35/745(2015.01)
A61K 35/747(2015.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61K 39/00(2006.01)
A61K 39/39(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

权利要求书9页 说明书35页 附图47页

(54)发明名称

通过控制共生微生物丛来治疗癌症

(57)摘要

本文中提供了通过控制共生微生物丛来治疗和/或预防癌症的方法。具体来说,控制受试者体内的微生物丛(例如,肠微生物丛)的量、同一性、存在和/或比率以有助于一种或多种共治疗。

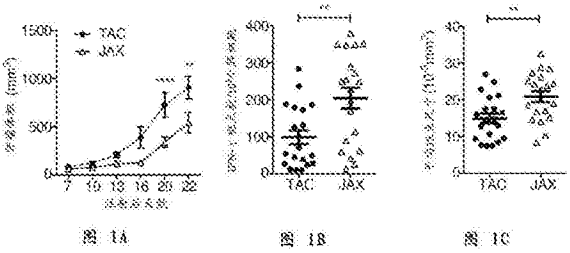


图 1A 图 1B 图 1C

CN 107847530 A

1.一种治疗或预防受试者的癌症的方法，其包括调节所述受试者内的一种或多种共生微生物的水平，以便：(A)增强所述受试者的免疫反应；(B)抑制所述癌症的生长或扩散；(C)抑制所述癌症的免疫逃避；和/或(D)增强治疗剂的效力。

2.如权利要求1所述的方法，其中调节所述受试者的肠内的一种或多种共生微生物的所述水平。

3.如权利要求1所述的方法，其中调节一种或多种共生微生物的水平包括增加和/或降低一种或多种选自以下项的细菌的水平：阿德勒氏菌属、颤螺旋菌属、柔膜菌属、丁酸弧菌属、拟杆菌属、梭菌属、梭杆菌属、真杆菌属、瘤胃球菌属、消化球菌属、消化链球菌属、双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属、厌氧棒状菌属、埃希氏杆菌属和/或乳杆菌属。

4.如权利要求1所述的方法，其中调节一种或多种共生微生物的水平包括向所述受试者施用有益的微生物。

5.如权利要求4所述的方法，其中所述有益的微生物是细菌。

6.如权利要求5所述的方法，其中所述细菌是选自阿德勒氏菌属、颤螺旋菌属、柔膜菌属、丁酸弧菌属、拟杆菌属、梭菌属、梭杆菌属、真杆菌属、瘤胃球菌属、消化球菌属、消化链球菌属、双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属、厌氧棒状菌属、埃希氏杆菌属和/或乳杆菌属。

7.如权利要求6所述的方法，其中所述细菌是双歧杆菌属。

8.如权利要求7所述的方法，其中所述双歧杆菌属包括选自由以下项组成的组的细菌：乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌和角形双歧杆菌。

9.如权利要求4所述的方法，其中所述有益的微生物是作为益生组合物或经由从供体进行微生物丛移植来施用。

10.如权利要求1所述的方法，其中调节一种或多种共生微生物的水平包括施用一种或多种抗微生物剂。

11.如权利要求10所述的方法，其中所述抗微生物剂杀死不利的微生物。

12.如权利要求11所述的方法，其中所述抗微生物剂是抗生素。

13.如权利要求12所述的方法，其还包括向所述受试者施用有益的微生物。

14.如权利要求1所述的方法，其还包括向所述受试者施用癌症疗法。

15.如权利要求14所述的方法，其中所述调节所述受试者内的一种或多种共生微生物的水平增强了所述受试者的免疫反应和/或抑制了所述癌症的免疫逃避，并且所述癌症疗法是免疫疗法。

16.如权利要求15所述的方法，其中所述免疫疗法包括施用抗CTLA-4抗体和/或抗PD-L1或抗PD-1抗体。

17.如权利要求14所述的方法，其中所述调节所述受试者内的一种或多种共生微生物的水平增强了治疗剂的效力，并且所述癌症疗法是所述治疗剂。

18.如权利要求17所述的方法，其中所述治疗剂包括化学治疗剂。

19.如权利要求1所述的方法，其还包括对所述受试者测试所述癌症的免疫逃避。

20.如权利要求1所述的方法，其还包括手术、辐射和/或化学治疗剂癌症干预。

21.一种试剂盒或组合物，其包括有益共生微生物和癌症治疗剂，所述组合物或所述试

剂盒的组分经过配制以便对受试者进行治疗剂递送。

22.一种有益共生微生物，其用作用于治疗癌症和/或抑制免疫逃避的药物。

23.一种治疗或预防受试者的癌症的方法，其包括向所述受试者施用包括双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属的细菌的细菌制剂。

24.如权利要求23所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少50％属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属。

25.如权利要求23所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少90％属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属。

26.如权利要求23所述的方法，其中所述细菌制剂包括双歧杆菌属细菌。

27.如权利要求26所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少50％属于双歧杆菌属。

28.如权利要求26所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少90％属于双歧杆菌属。

29.如权利要求26至28中任一项所述的方法，其中所述双歧杆菌属细菌是选自由以下项组成的组：乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌、星状双歧杆菌、牛双歧杆菌、豚双歧杆菌、棒状双歧杆菌、兔双歧杆菌、齲齿双歧杆菌、齿双歧杆菌、没食子双歧杆菌、鸡双歧杆菌、印度双歧杆菌、奇异双歧杆菌、大双歧杆菌、瘤胃双歧杆菌、最小双歧杆菌、假长双岐杆菌、小鸡双歧杆菌、嗜冷双岐杆菌、反刍双歧杆菌、波伦亚双岐杆菌、斯氏双岐杆菌、猿双岐杆菌、纤细双歧杆菌、嗜酸嗜热双岐杆菌、嗜热双岐杆菌、鹤见双歧杆菌、膀胱双岐杆菌和双歧杆菌属某种。

30.如权利要求23至29中任一项所述的方法，其中所述癌症是选自由以下项组成的组的癌症：急性非淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、急性粒细胞性白血病、慢性粒细胞性白血病、急性早幼粒细胞性白血病、成人T细胞白血病、非白血性白血病、白血性白血病、嗜碱细胞性白血病、胚细胞白血病、牛白血病、慢性髓细胞性白血病、皮肤白血病、胚细胞性白血病、嗜酸细胞性白血病、格罗斯氏白血病、里德尔细胞白血病、希林氏白血病、干细胞性白血病、亚白血性白血病、未分化细胞性白血病、毛细胞性白血病、成血细胞性白血病、血胚细胞性白血病、组织细胞性白血病、干细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、白细胞减少性白血病、淋巴性白血病、成淋巴细胞性白血病、淋巴细胞性白血病、淋巴原性白血病、淋巴样白血病、淋巴肉瘤细胞性白血病、肥大细胞性白血病、巨核细胞性白血病、小原粒细胞性白血病、单核细胞性白血病、成髓细胞性白血病、髓细胞性白血病、骨髓粒细胞性白血病、骨髓单核细胞性白血病、内格利白血病、浆细胞白血病、浆细胞性白血病、早幼粒细胞性白血病、腺泡癌、腺泡状癌、囊性腺样癌、腺样囊性癌、腺癌、肾上腺皮质癌、肺泡癌、肺泡细胞癌、基底细胞癌、基质细胞癌、基底细胞样癌、基底鳞状细胞癌、细支气管肺泡癌、细支气管癌、支气管癌、髓样癌、胆管细胞癌、绒毛膜癌、胶样癌、粉刺状癌、子宫体癌、筛状癌、铠甲状癌、皮肤癌、柱状癌、柱状细胞癌、导管癌、硬癌、胚胎癌、类脑癌、类上皮癌、腺状上皮癌、外植体癌、溃疡性癌、纤维癌、胶样癌、胶状癌、巨细胞癌、印戒细胞癌、单纯癌、小细胞癌、马铃薯状癌、球状细胞癌、梭形细胞癌、海绵样癌、鳞状癌、鳞状细胞癌、绳捆癌、毛细管扩张癌、毛细管扩张性癌、移行细胞癌、结节癌、结节性癌、疣状癌、绒毛状癌、巨细胞癌、腺癌、粒

层细胞癌、毛发基质癌、血样癌、肝细胞癌、许特耳细胞癌、透明癌、肾上腺样癌、幼稚型胚胎性癌、原位癌、表皮内癌、上皮内癌、克龙派切尔氏癌、库尔契茨基细胞癌、大细胞癌、豆样癌、豆状癌、脂瘤样癌、淋巴上皮癌、髓样癌、髓质癌、黑色素癌、软癌、粘蛋白样癌、粘蛋白癌、粘液细胞癌、粘液表皮样癌、粘液癌、粘液样癌、粘液瘤样癌、鼻咽癌、燕麦细胞癌、骨化性癌、骨样癌、乳头状癌、门静脉周癌、侵袭前癌、棘细胞癌、软糊状癌、肾脏的肾细胞癌、储备细胞癌、肉瘤样癌、施奈德癌、硬化性癌、阴囊癌、软骨肉瘤、纤维肉瘤、淋巴肉瘤、黑色素肉瘤、粘液肉瘤、骨肉瘤、子宫内膜肉瘤、基质肉瘤、尤因氏肉瘤、筋膜肉瘤、成纤维细胞肉瘤、巨细胞肉瘤、阿贝美西氏肉瘤、脂肉瘤、脂质肉瘤、肺泡软部肉瘤、成釉细胞肉瘤、葡萄样肉瘤、绿色肉瘤、绒毛膜癌、胚胎性肉瘤、韦尔姆斯氏肿瘤肉瘤、粒细胞肉瘤、霍奇金氏肉瘤、特发性多发性色素性出血性肉瘤、B细胞免疫胚细胞肉瘤、淋巴瘤、T细胞免疫胚细胞肉瘤、詹逊氏肉瘤、卡波西氏肉瘤、库弗氏细胞肉瘤、血管肉瘤、白血病性肉瘤、恶性间叶瘤肉瘤、骨膜外肉瘤、网状红细胞性肉瘤、劳斯氏肉瘤、浆液囊性肉瘤、滑膜肉瘤、毛细血管扩张性肉瘤、霍奇金氏病、非霍奇金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、成神经细胞瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、横纹肌肉瘤、原发性血小板增多症、原发性巨球蛋白血病、小细胞肺肿瘤、原发性脑肿瘤、胃癌、结肠癌、恶性胰脏胰岛素瘤、恶性类癌瘤、癌前皮肤病变、睾丸癌、淋巴瘤、甲状腺癌、成神经细胞瘤、食道癌、泌尿生殖道癌、恶性血钙过多症、宫颈癌、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、哈-帕二氏黑色素瘤、青少年型黑色素瘤、雀斑样痣恶性黑色素瘤、恶性黑色素瘤、肢端痣样黑色素瘤、无黑色素性黑色素瘤、良性青少年型黑色素瘤、克劳德曼黑色素瘤、S91黑色素瘤、结节性黑色素瘤、甲下黑色素瘤和浅表性扩散性黑色素瘤。

31.如权利要求23至30中任一项所述的方法，其中所述受试者是人。

32.如权利要求23至31中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用、直肠施用、局部施用、吸入或注射来施用。

33.如权利要求26所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用来施用。

34.如权利要求27所述的方法，其中所述细菌制剂是食品。

35.如权利要求23至34中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂包括至少约5×10^{6}CFU的细菌。

36.如权利要求23至35中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂是以两个或更多个剂量施用至所述受试者。

37.如权利要求36所述的方法，其中所述两个或更多个剂量中的至少两个的所述施用相隔至少1天。

38.如权利要求37所述的方法，其中所述两个或更多个剂量中的至少两个的所述施用相隔至少1周。

39.如权利要求23至38中任一项所述的方法，其还包括向所述受试者施用抗生素。

40.如权利要求39所述的方法，其中所述抗生素是在所述细菌制剂之前施用至所述受试者。

41.如权利要求40所述的方法，其中所述抗生素是在所述细菌制剂施用至所述受试者之前至少1天施用至所述受试者。

42.如权利要求23至42中任一项所述的方法，其还包括向所述受试者施用免疫检查点抑制剂。

43.如权利要求42所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是特异性结合免疫检查点蛋白的蛋白质或多肽。

44.如权利要求43所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是选自由以下项组成的组：CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。

45.如权利要求43或44所述的方法，其中所述多肽或蛋白质是抗体或其抗原结合片段。

46.如权利要求42所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是干扰核酸分子。

47.如权利要求46所述的方法，其中所述干扰核酸分子是siRNA分子、shRNA分子或反义RNA分子。

48.如权利要求42所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是选自由以下项组成的组：尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT O1 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。

49.如权利要求42至48中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前施用。

50.如权利要求49所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前至少一天施用。

51.如权利要求42至48中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂大约同时施用。

52.如权利要求51所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂在同一天施用。

53.如权利要求42至48中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后施用。

54.如权利要求49所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后至少一天施用。

55.如权利要求42至54中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是通过注射施用。

56.如权利要求55所述的方法，其中所述注射是静脉内、肌肉内、肿瘤内或皮下注射。

57.一种治疗人受试者的癌症的方法，其包括向所述受试者施用免疫检查点抑制剂和包括双歧杆菌属细菌的细菌制剂。

58.如权利要求57所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少50％属于双歧杆菌属。

59.如权利要求57所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少90％属于双歧杆菌属。

60.如权利要求57所述的方法，其中所述双歧杆菌属细菌包括属于以下菌种的细菌：乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌、星状双歧杆菌、牛双歧杆菌、豚双歧杆菌、棒状双歧杆菌、兔双歧杆菌、齲齿双歧杆菌、齿双歧杆菌、没食子双歧杆菌、鸡双歧杆菌、印度双歧杆菌、奇异双歧杆菌、大双歧杆菌、瘤胃双歧杆菌、最小双歧杆菌、假长双岐杆菌、小鸡双歧杆菌、嗜冷双岐杆菌、反刍双歧杆菌、波伦亚双岐杆菌、斯氏双岐杆菌、猿

双岐杆菌、纤细双歧杆菌、嗜酸嗜热双岐杆菌、嗜热双岐杆菌、鹤见双歧杆菌、膀胱双岐杆菌或双歧杆菌属某种。

61.如权利要求57所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用或直肠施用来施用。

62.如权利要求61所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用来施用。

63.如权利要求57所述的方法，其中所述细菌制剂包括至少5×10^{6}CFU的双歧杆菌属细菌。

64.如权利要求1所述的方法，其中所述细菌制剂是以两个或更多个剂量施用至所述受试者。

65.如权利要求64所述的方法，其中所述两个或更多个剂量的所述施用相隔至少1周。

66.如权利要求57所述的方法，其还包括在施用所述细菌制剂之前向所述受试者施用抗生素。

67.如权利要求66所述的方法，其中所述抗生素是在所述细菌制剂施用至所述受试者之前至少1天施用至所述受试者。

68.如权利要求57所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是结合免疫检查点蛋白的蛋白质或多肽。

69.如权利要求68所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。

70.如权利要求69所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是PD-1或PD-L1。

71.如权利要求57所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是结合免疫检查点蛋白的抗体或其抗原结合片段。

72.如权利要求71所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。

73.如权利要求72所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是PD-1或PD-L1。

74.如权利要求57所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT O1 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。

75.如权利要求57所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是通过静脉内注射、肌肉内注射、肿瘤内注射或皮下注射而施用。

76.一种治疗人受试者的癌症的方法，其包括向所述受试者施用包括至少5×10^{6}CFU的双歧杆菌属细菌的细菌制剂，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少50％属于双歧杆菌属。

77.如权利要求76所述的方法，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少90％属于双歧杆菌属。

78.如权利要求76所述的方法，其中所述双歧杆菌属细菌包括属于以下菌种的细菌：乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌、星状双歧杆菌、牛双歧杆菌、豚双歧杆菌、棒状双歧杆菌、兔双歧杆菌、齲齿双歧杆菌、齿双歧杆菌、没食子双歧杆菌、鸡双歧杆菌、印度双歧杆菌、奇异双歧杆菌、大双歧杆菌、瘤胃双歧杆菌、最小双歧杆菌、假长双岐杆菌、小鸡双歧杆菌、嗜冷双岐杆菌、反刍双歧杆菌、波伦亚双岐杆菌、斯氏双岐杆菌、猿

双岐杆菌、纤细双歧杆菌、嗜酸嗜热双岐杆菌、嗜热双岐杆菌、鹤见双歧杆菌、膀胱双岐杆菌或双歧杆菌属某种。

79.如权利要求76所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用或直肠施用来施用。

80.如权利要求79所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用来施用。

81.如权利要求76所述的方法，其中所述细菌制剂是以两个或更多个剂量施用至所述受试者。

82.如权利要求76所述的方法，其还包括在所述细菌制剂施用至所述受试者之前向所述受试者施用抗生素。

83.如权利要求76所述的方法，其还包括向所述受试者施用免疫检查点抑制剂。

84.如权利要求83所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是结合CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA的抗体或其抗原结合片段。

85.如权利要求83所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是结合PD-1或PD-L1的抗体或其抗原结合片段。

86.如权利要求83所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT O1 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。

87.一种治疗或预防受体受试者的癌症的方法，所述方法包括向所述受体受试者施用包括获自供体受试者的微生物丛的细菌制剂，其中所述供体受试者包括有助于通过免疫检查点抑制剂免疫疗法来治疗癌症的微生物丛。

88.如权利要求87所述的方法，其还包括向所述受体受试者施用免疫检查点抑制剂。

89.如权利要求88所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是特异性结合免疫检查点蛋白的蛋白质或多肽。

90.如权利要求88所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是选自由以下项组成的组：CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。

91.如权利要求89或90所述的方法，其中所述多肽或蛋白质是抗体或其抗原结合片段。

92.如权利要求88所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是干扰核酸分子。

93.如权利要求92所述的方法，其中所述干扰核酸分子是siRNA分子、shRNA分子或反义RNA分子。

94.如权利要求88所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是选自由以下项组成的组：尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT O1 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。

95.如权利要求88至94中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前施用。

96.如权利要求95所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前至少一天施用。

97.如权利要求88至94中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂大约同时施用。

98.如权利要求97所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂在同一

天施用。

99.如权利要求88至94中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后施用。

100.如权利要求88至94中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后至少一天施用。

101.如权利要求88至100中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是通过注射施用。

102.如权利要求101所述的方法，其中所述注射是静脉内、肌肉内、肿瘤内或皮下注射。

103.如权利要求87至102中任一项所述的方法，其中获自所述供体受试者的所述微生物丛是粪便材料。

104.如权利要求87至102中任一项所述的方法，其中在施用至所述受体受试者之前从所述微生物丛除去一种或多种寄生的或不利的微生物。

105.如权利要求87至102中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用或通过直肠施用而施用至所述受体受试者。

106.如权利要求87至105中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂是以两个或更多个剂量施用至所述受试者。

107.如权利要求106所述的方法，其中所述两个或更多个剂量的所述施用相隔至少1周。

108.如权利要求87至107中任一项所述的方法，其还包括在施用所述细菌制剂之前向所述受试者施用抗生素。

109.如权利要求108所述的方法，其中所述抗生素是在所述细菌制剂施用至所述受试者之前至少1天施用至所述受试者。

110.如权利要求87至109中任一项所述的方法，其还包括从所述供体受试者获得所述微生物丛的步骤。

111.一种细菌制剂，其包括获自供体受试者的微生物丛，其中所述供体受试者包括有助于通过免疫检查点抑制剂免疫疗法来治疗癌症的微生物丛。

112.如权利要求111所述的细菌制剂，其包括所述供体受试者的粪便材料。

113.如权利要求111或112所述的细菌制剂，其中所述微生物丛中最初存在的一种或多种不利的微生物已经被除去或杀死。

114.如权利要求111至113中任一项所述的细菌制剂，其中所述微生物丛富含一种或多种微生物。

115.如权利要求114所述的细菌制剂，其中所述微生物丛富含属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属的细菌。

116.如权利要求115所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂包括至少5×10^{6}CFU的属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属的细菌。

117.如权利要求114所述的细菌制剂，其中所述微生物丛富含双歧杆菌属细菌。

118.如权利要求117所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂包括至少5×10^{6}CFU的双歧杆菌属细菌。

119.如权利要求111至118中任一项所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂包括至少5×

10^6CFU的细菌。

120.如权利要求111至119中任一项所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂还包括药学上可接受的载体。

121.如权利要求120所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂是固体制剂。

122.如权利要求121项所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂被配制为粉剂、片剂、丸剂、胶囊剂、扁囊剂、栓剂或可分散颗粒剂。

123.如权利要求120所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂是液体制剂。

124.如权利要求123所述的细菌制剂，其中所述细菌制剂被配制为乳液、糖浆、酏剂、水性溶液或水性悬浮液。

125.如权利要求111至124中任一项所述的细菌制剂，其经过配制以供口服递送。

126.如权利要求111至124中任一项所述的细菌制剂，其经过配制以供经直肠递送。

127.一种治疗或预防受体受试者的癌症的方法，所述方法包括向所述受体受试者施用如权利要求111至126中任一项所述的细菌制剂。

128.如权利要求127所述的方法，其还包括向所述受体受试者施用免疫检查点抑制剂。

129.如权利要求128所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是特异性结合免疫检查点蛋白的蛋白质或多肽。

130.如权利要求128所述的方法，其中所述免疫检查点蛋白是选自由以下项组成的组：CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。

131.如权利要求129或130所述的方法，其中所述多肽或蛋白质是抗体或其抗原结合片段。

132.如权利要求128所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是干扰核酸分子。

133.如权利要求132所述的方法，其中所述干扰核酸分子是siRNA分子、shRNA分子或反义RNA分子。

134.如权利要求128所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是选自由以下项组成的组：尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT 01 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。

135.如权利要求128至134中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前施用。

136.如权利要求135所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前至少一天施用。

137.如权利要求128至134中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂大约同时施用。

138.如权利要求137所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂在同一天施用。

139.如权利要求128至134中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后施用。

140.如权利要求128至134中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后至少一天施用。

141.如权利要求128至140中任一项所述的方法，其中所述免疫检查点抑制剂是通过注射施用。

142.如权利要求141所述的方法，其中所述注射是静脉内、肌肉内、肿瘤内或皮下注射。

143.如权利要求127至142中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂是通过口服施用或通过直肠施用而施用至所述受体受试者。

144.如权利要求127至143中任一项所述的方法，其中所述细菌制剂是以两个或更多个剂量施用至所述受试者。

145.如权利要求144所述的方法，其中所述两个或更多个剂量的所述施用相隔至少1周。

146.如权利要求127至145中任一项所述的方法，其还包括在所述细菌制剂的所述施用之前向所述受试者施用抗生素。

147.如权利要求146所述的方法，其中所述抗生素是在所述细菌制剂施用至所述受试者之前至少1天施用至所述受试者。

148.如权利要求127至147中任一项所述的方法，其还包括从所述供体受试者获得所述微生物丛的步骤。

149.如权利要求127至148中任一项所述的方法，其中所述供体受试者是基于对检查点抑制剂免疫疗法的反应和/或所述供体受试者癌症类型而加以选择。

150.如权利要求111至126中任一项所述的细菌制剂，其中所述供体是基于所述供体对检查点抑制剂免疫疗法的反应和/或所述供体受试者癌症类型而加以选择。

通过控制共生微生物丛来治疗癌症

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年6月1日提交的美国临时专利公布62/169,112和2015年10月30日提交的美国临时专利申请62/248,741的优先权权益,各案以全文引用的方式并入。

[0003] 领域

[0004] 本文中提供了通过控制共生微生物丛来治疗和/或预防癌症的方法。具体来说,控制受试者体内的微生物丛(例如,肠微生物丛)的量、同一性、存在和/或比率以有助于一种或多种共治疗。

[0005] 背景

[0006] 驾驭宿主免疫系统构成了有望治疗癌症的方法,这是因为它有可能特异性地靶向肿瘤细胞,同时限制对正常组织的损害,从而持久地获得与免疫记忆相关的效益。近来的临床成就,具体来说,能阻断免疫抑制途径(具体来说,CTLA-4和PD-1/PD-L1轴)的抗体已经点燃了我们的热情(Hodi等,The New England journal of medicine 363,711-723(2010);Hamid等,The New England journal of medicine 369,134-144(2013);以全文引用的方式并入本文中)。早期数据已经表明,对这些免疫疗法的临床反应更频繁见于表现出肿瘤微环境中正在进行基线内源T细胞反应的证据的患者中(Tumeh等,Nature 515,568-571(2014);Spranger等,Science translational medicine 5,200ra116(2013);Ji等,Cancer immunology,immunotherapy:CII 61,1019-1031(2012);Gajewski等,Cancer journal 16,399-403(2010);以全文引用的方式并入本文中)。尽管这种T细胞发炎的肿瘤微环境具有功能和临床重要性,但尚未充分理解控制存在或不存在这种表型的机制。患者间异质性的理论根源包括宿主水平的生殖系基因差异、肿瘤细胞中体细胞变化模式的变异性和可能影响系统免疫性的环境差异。

[0007] 概要

[0008] 本文中提供了通过控制共生微生物丛来治疗和/或预防癌症的方法。具体来说,控制受试者体内的微生物丛(例如,肠微生物丛)的量、同一性、存在和/或比率以有助于一种或多种共治疗。

[0009] 在一些实施方案中,本文中提供了治疗或预防受试者的癌症的方法,所述方法包括调节所述受试者内的一种或多种共生微生物的水平,以便:(A)增强所述受试者的免疫反应;(B)抑制所述癌症的生长或扩散;(C)抑制所述癌症的免疫逃避;和/或(D)增强治疗剂的效力。在一些实施方案中,在所述受试者的肠内调节一种或多种共生微生物的水平。在一些实施方案中,调节一种或多种共生微生物的水平包括增加和/或降低一种或多种选自以下项的细菌的水平:阿德勒氏菌属(Adlercreutzia)、颤螺旋菌属(Oscillopira)、柔膜菌属(Mollicutes)、丁酸弧菌属(Butyrivibrio)、拟杆菌属(Bacteroides)、梭菌属(Clostridium)、梭杆菌属(Fusobacterium)、真杆菌属(Eubacterium)、瘤胃球菌属(Ruminococcus)、消化球菌属(Peptococcus)、消化链球菌属(Peptostreptococcus)、双歧杆菌属(Bifidobacterium)、理研菌属(Rikenella)、别样杆菌属(Alistipes)、海滑菌属(Marinilabilia)、厌氧棒状菌属(Anaerostipes)、埃希氏杆菌属(Escherichia)和/或乳杆

菌属(Lactobacillus)。

[0010] 在一些实施方案中,调节一种或多种共生微生物的水平包括向所述受试者施用有益的微生物。在一些实施方案中,所述有益的微生物是细菌。在一些实施方案中,所述细菌是选自阿德勒氏菌属、颤螺旋菌属、柔膜菌属、丁酸弧菌属、拟杆菌属、梭菌属、梭杆菌属、真杆菌属、瘤胃球菌属、消化球菌属、消化链球菌属、双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属、厌氧棒状菌属、埃希氏杆菌属和/或乳杆菌属。在一些实施方案中,所述细菌是双歧杆菌属。在一些实施方案中,所述双歧杆菌属包括选自由以下项组成的组的细菌:乳酸双歧杆菌(Bifidobacterium lactis)、两叉双歧杆菌(Bifidobacterium bifidium)、长双歧杆菌(Bifidobacterium longum)、动物双歧杆菌(Bifidobacterium animalis)、短双歧杆菌(Bifidobacterium breve)、婴儿双歧杆菌(Bifidobacterium infantis)、链状双歧杆菌(Bifidobacterium catenulatum)、假链状双歧杆菌(Bifidobacterium pseudocatenulatum)、青春双歧杆菌(Bifidobacterium adolescentis)和角形双歧杆菌(Bifidobacterium angulatum)。在一些实施方案中,所述有益的微生物是作为益生组合物或经由从供体进行微生物丛移植来施用。

[0011] 在一些实施方案中,调节一种或多种共生微生物的水平包括施用一种或多种抗微生物剂。在一些实施方案中,所述抗微生物剂杀死不利的微生物。在一些实施方案中,所述抗微生物剂是抗生素。在一些实施方案中,诸多方法还包括向所述受试者施用有益的微生物。

[0012] 在一些实施方案中,诸多方法还包括向所述受试者施用癌症疗法。在一些实施方案中,其中调节所述受试者内的一种或多种共生微生物的水平增强了所述受试者的免疫反应和/或抑制了所述癌症的免疫逃避,并且所述癌症疗法是免疫疗法。在一些实施方案中,所述免疫疗法包括施用抗CTLA-4抗体和/或抗PD-L1或抗PD-1抗体。在一些实施方案中,其中调节所述受试者内的一种或多种共生微生物的水平增强了治疗剂的效力,并且所述癌症疗法是所述治疗剂。在一些实施方案中,所述治疗剂包括化学治疗剂。在一些实施方案中,诸多方法还包括对所述受试者测试所述癌症的免疫逃避。在一些实施方案中,诸多方法还包括手术、辐射和/或化学治疗剂癌症干预。

[0013] 在一些实施方案中,本文中提供了包括有益的共生微生物和癌症治疗剂的试剂盒或组合物,所述组合物或所述试剂盒的组分经过配制以便对受试者进行治疗剂递送。

[0014] 在一些实施方案中,本文中提供了有益的共生微生物,所述共生微生物用作用于治疗癌症和/或抑制免疫逃避的药物。

[0015] 在一些实施方案中,本文中提供了治疗或预防受试者的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用包括属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属的细菌的细菌制剂。在一些实施方案中,所述细菌制剂中的所述细菌的至少50%属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属。在一些实施方案中,所述细菌制剂中的所述细菌的至少90%属于双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属或厌氧棒状菌属。在一些实施方案中,所述细菌制剂包括双歧杆菌属细菌。在一些实施方案中,所述细菌制剂中的所述细菌的至少50%属于双歧杆菌属。在一些实施方案中,所述细菌制剂中的所述细菌的至少90%属于双歧杆菌属。

[0016] 在一些实施方案中,所述双歧杆菌属细菌是选自由以下项组成的组:乳酸双歧杆

菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌、星状双歧杆菌(Bifidobacterium asteroides)、牛双歧杆菌(Bifidobacterium boum)、豚双歧杆菌(Bifidobacterium choerinum)、棒状双歧杆菌(Bifidobacterium coryneforme)、兔双歧杆菌(Bifidobacterium cuniculi)、龋齿双歧杆菌(Bifidobacterium denticolens)、齿双歧杆菌(Bifidobacterium dentium)、没食子双歧杆菌(Bifidobacterium gallicum)、鸡双歧杆菌(Bifidobacterium gallinarum)、印度双歧杆菌(Bifidobacterium indicum)、奇异双歧杆菌(Bifidobacterium inopinatum)、大双歧杆菌(Bifidobacterium magnum)、瘤胃双歧杆菌(Bifidobacterium merycicum)、最小双歧杆菌(Bifidobacterium minimum)、假长双岐杆菌(Bifidobacterium pseudolongum)、小鸡双歧杆菌(Bifidobacterium pullorum)、嗜冷双岐杆菌(Bifidobacterium psychraerophilum)、反刍双歧杆菌(Bifidobacterium ruminantium)、波伦亚双岐杆菌(Bifidobacterium saeculare)、斯氏双岐杆菌(Bifidobacterium scardovii)、猿双岐杆菌(Bifidobacterium simiae)、纤细双歧杆菌(Bifidobacterium subtile)、嗜酸嗜热双岐杆菌(Bifidobacterium therammcidophilum)、嗜热双岐杆菌(Bifidobacterium thermophilum)、鹤见双歧杆菌(Bifidobacterium tsurumiense)、膀胱双岐杆菌(Bifidobacterium urinalis)、双歧杆菌属某种(Bifidobacterium sp)。

[0017] 在一些实施方案中,所述癌症是选自由以下项组成的组的癌症:急性非淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、急性粒细胞性白血病、慢性粒细胞性白血病、急性早幼粒细胞性白血病、成人T细胞白血病、非白血性白血病、白血性白血病(leukocythemic leukemia)、嗜碱细胞性白血病、胚细胞白血病、牛白血病、慢性髓细胞性白血病、皮肤白血病、胚细胞性白血病、嗜酸细胞性白血病、格罗斯氏白血病(Gross'leukemia)、里德尔细胞白血病(Rieder cell leukemia)、希林氏白血病(Schilling's leukemia)、干细胞性白血病、亚白血性白血病、未分化细胞性白血病、毛细胞性白血病、成血细胞性白血病、血胚细胞性白血病、组织细胞性白血病、干细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、白细胞减少性白血病、淋巴性白血病、成淋巴细胞性白血病、淋巴细胞性白血病、淋巴原性白血病、淋巴样白血病、淋巴肉瘤细胞性白血病、肥大细胞性白血病、巨核细胞性白血病、小原粒细胞性白血病、单核细胞性白血病、成髓细胞性白血病、髓细胞性白血病、骨髓粒细胞性白血病、骨髓单核细胞性白血病、内格利白血病(Naegeli leukemia)、浆细胞白血病、浆细胞性白血病、早幼粒细胞性白血病、腺泡癌、腺泡状癌、囊性腺样癌、腺样囊性癌、腺癌、肾上腺皮质癌、肺泡癌、肺泡细胞癌、基底细胞癌(basal cell carcinoma)、基质细胞癌(carcinoma basocellulare)、基底细胞样癌、基底鳞状细胞癌、细支气管肺泡癌、细支气管癌、支气管癌、髓样癌、胆管细胞癌、绒毛膜癌、胶样癌、粉刺状癌、子宫体癌、筛状癌、铠甲状癌、皮肤癌、柱状癌、柱状细胞癌、导管癌、硬癌、胚胎癌、类脑癌、类上皮癌、腺状上皮癌、外植体癌、溃疡性癌、纤维癌、胶样癌、胶状癌、巨细胞癌、印戒细胞癌、单纯癌、小细胞癌、马铃薯状癌、球状细胞癌、梭形细胞癌、海绵样癌、鳞状癌、鳞状细胞癌、绳捆癌、毛细管扩张癌(carcinoma telangiectaticum)、毛细管扩张性癌(carcinoma telangiectodes)、移行细胞癌、结节癌(carcinoma tuberosum)、结节性癌(tuberous carcinoma)、疣状癌、绒毛状癌、巨细胞癌、腺癌、粒层细胞癌、毛发基质癌、血样癌、肝细胞癌、许特耳细胞癌(Hurthle

cell carcinoma)、透明癌、肾上腺样癌、幼稚型胚胎性癌、原位癌、表皮内癌、上皮内癌、克龙派切尔氏癌(Krompecher's carcinoma)、库尔契茨基细胞癌(Kulchitzky-cell carcinoma)、大细胞癌、豆样癌(lenticular carcinoma)、豆状癌(carcinoma lenticulare)、脂瘤样癌、淋巴上皮癌、髓样癌(carcinoma medullare)、髓质癌(medullary carcinoma)、黑色素癌、软癌、粘蛋白样癌(mucinous carcinoma)、粘蛋白癌(carcinoma muciparum)、粘液细胞癌、粘液表皮样癌、粘液癌(carcinoma mucosum)、粘液样癌(mucous carcinoma)、粘液瘤样癌、鼻咽癌、燕麦细胞癌、骨化性癌、骨样癌、乳头状癌、门静脉周癌、侵袭前癌、棘细胞癌、软糊状癌、肾脏的肾细胞癌、储备细胞癌、肉瘤样癌、施奈德癌(schneiderian carcinoma)、硬化性癌、阴囊癌、软骨肉瘤、纤维肉瘤、淋巴肉瘤、黑色素肉瘤、粘液肉瘤、骨肉瘤、子宫内膜肉瘤、基质肉瘤、尤因氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、筋膜肉瘤、成纤维细胞肉瘤、巨细胞肉瘤、阿贝美西氏肉瘤(Abemethy's sarcoma)、脂肉瘤、脂质肉瘤、肺泡软部肉瘤、成釉细胞肉瘤、葡萄样肉瘤、绿色肉瘤、绒毛膜癌、胚胎性肉瘤、韦尔姆斯氏肿瘤肉瘤(Wilms'tumor sarcoma)、粒细胞肉瘤、霍奇金氏肉瘤(Hodgkin's sarcoma)、特发性多发性色素性出血性肉瘤、B细胞免疫胚细胞肉瘤、淋巴瘤、T细胞免疫胚细胞肉瘤、詹逊氏肉瘤(Jensen's sarcoma)、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、库弗氏细胞肉瘤(Kupffer cell sarcoma)、血管肉瘤、白血病性肉瘤、恶性间叶瘤肉瘤、骨膜外肉瘤、网状红细胞性肉瘤、劳斯氏肉瘤(Rous sarcoma)、浆液囊性肉瘤、滑膜肉瘤、毛细血管扩张性肉瘤、霍奇金氏病、非霍奇金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、成神经细胞瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、横纹肌肉瘤、原发性血小板增多症、原发性巨球蛋白血病、小细胞肺肿瘤、原发性脑肿瘤、胃癌、结肠癌、恶性胰脏胰岛素瘤、恶性类癌瘤、癌前皮肤病变、睾丸癌、淋巴瘤、甲状腺癌、成神经细胞瘤、食道癌、泌尿生殖道癌、恶性血钙过多症、宫颈癌、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、哈-帕二氏黑色素瘤(Harding-Passey melanoma)、青少年型黑色素瘤、雀斑样痣恶性黑色素瘤、恶性黑色素瘤、肢端痣样黑色素瘤、无黑色素性黑色素瘤、良性青少年型黑色素瘤、克劳德曼黑色素瘤(Cloudman's melanoma)、S91黑色素瘤、结节性黑色素瘤、甲下黑色素瘤和浅表性扩散性黑色素瘤。

[0018] 在一些实施方案中,所述受试者是人。在一些实施方案中,所述细菌制剂是通过口服施用、直肠施用、局部施用、吸入或注射来施用。在一些实施方案中,所述细菌制剂是食品。在一些实施方案中,所述细菌制剂包括至少约5×10^{6}CFU的细菌。在一些实施方案中,所述细菌制剂是以两个或更多个剂量施用至所述受试者。在一些实施方案中,所述两个或更多个剂量中的至少两个的施用相隔至少1天。在一些实施方案中,所述两个或更多个剂量中的至少两个的施用相隔至少1周。

[0019] 在一些实施方案中,诸多方法还包括向所述受试者施用抗生素。在一些实施方案中,所述抗生素是在所述细菌制剂之前施用至所述受试者。在一些实施方案中,所述抗生素是在所述细菌制剂施用至所述受试者之前至少1天施用至所述受试者。

[0020] 在一些实施方案中,诸多方法还包括向所述受试者施用免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,所述免疫检查点抑制剂是特异性结合免疫检查点蛋白的蛋白质或多肽。在一些实施方案中,所述免疫检查点蛋白质是选自由以下项组成的组:CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。在一些实施方案中,所述多肽或蛋白质是抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述免疫检查点抑制剂是干扰核酸

分子。在一些实施方案中，所述干扰核酸分子是siRNA分子、shRNA分子或反义RNA分子。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是选自由以下项组成的组：尼鲁单抗(nivolumab)、喷罗珠单抗(pembrolizumab)、皮地珠单抗(pidilizumab)、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT Ol l、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前施用。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之前至少一天施用。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂大约同时施用。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是与所述细菌制剂在同一天施用。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后施用。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是在所述细菌制剂之后至少一天施用。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是通过注射来施用。在一些实施方案中，该注射是静脉内、肌肉内、肿瘤内或皮下注射。

[0021] 在一些实施方案中，本文中提供了治疗人受试者的癌症的方法，其包括向所述受试者施用免疫检查点抑制剂和包括双歧杆菌属细菌的细菌制剂。在一些实施方案中，所述细菌制剂中的所述细菌的至少50％(例如，50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或更多，或介于其之间的范围)属于双歧杆菌属。在一些实施方案中，所述细菌制剂中的所述细菌的至少90％(例如，90％、95％、99％、99.9％、99.99％或更多，或介于其之间的范围)属于双歧杆菌属。在一些实施方案中，所述双歧杆菌属细菌包括属于以下菌种的细菌：乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌、星状双歧杆菌、牛双歧杆菌、豚双歧杆菌、棒状双歧杆菌、兔双歧杆菌、龋齿双歧杆菌、齿双歧杆菌、没食子双歧杆菌、鸡双歧杆菌、印度双歧杆菌、奇异双歧杆菌、大双歧杆菌、瘤胃双歧杆菌、最小双歧杆菌、假长双岐杆菌、小鸡双歧杆菌、嗜冷双岐杆菌、反刍双歧杆菌、波伦亚双岐杆菌、斯氏双岐杆菌、猿双岐杆菌、纤细双歧杆菌、嗜酸嗜热双岐杆菌、嗜热双岐杆菌、鹤见双歧杆菌、膀胱双岐杆菌或双歧杆菌属某种。在一些实施方案中，所述细菌制剂是通过口服施用或直肠施用来施用。在一些实施方案中，所述细菌制剂是通过口服施用来施用。在一些实施方案中，所述细菌制剂包括至少5×10^{6}CFU(例如5×10^{6}CFU、1×10^{7}CFU、2×10^{7}CFU、5×10^{7}CFU、1×10^{8}CFU、2×10^{8}CFU、5×10^{8}CFU、1×10^{9}CFU、2×10^{9}CFU、5×10^{9}CFU、1×10^{10}CFU、2×10^{10}CFU、5×10^{10}CFU、1×10^{11}CFU、2×10^{11}CFU、5×10^{11}CFU、1×10^{12}CFU、2×10^{12}CFU、5×10^{12}CFU或更多，或介于其之间的范围)的双歧杆菌属细菌。在一些实施方案中，所述细菌制剂是以两个或更多个剂量(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个，或介于其之间的范围)施用至所述受试者。在一些实施方案中，剂量的施用相隔至少1周。在一些实施方案中，诸多方法还包括在施用所述细菌制剂之前向所述受试者施用抗生素。在一些实施方案中，所述抗生素是在所述细菌制剂施用至所述受试者之前至少1天施用至所述受试者。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是结合免疫检查点蛋白的蛋白质或多肽。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是结合免疫检查点蛋白的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述免疫检查点蛋白是CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。在一些实施方案中，所述免疫检查点蛋白是PD-1或PD-L1。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-

A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT 01 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是通过静脉内注射、肌肉内注射、肿瘤内注射或皮下注射而施用。

[0022] 在一些实施方案中，本文中提供了治疗人受试者的癌症的方法，所述方法包括向所述受试者施用细菌制剂，所述细菌制剂包括至少5×10^{6}CFU(例如5×10^{6}CFU、1×10^{7}CFU、2×10^{7}CFU、5×10^{7}CFU、1×10^{8}CFU、2×10^{8}CFU、5×10^{8}CFU、1×10^{9}CFU、2×10^{9}CFU、5×10^{9}CFU、1×10^{10}CFU、2×10^{10}CFU、5×10^{10}CFU、1×10^{11}CFU、2×10^{11}CFU、5×10^{11}CFU、1×10^{12}CFU、2×10^{12}CFU、5×10^{12}CFU或更多，或介于其之间的范围)的双歧杆菌属细菌，其中所述细菌制剂中的所述细菌的至少50％(例如，50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或更多，或介于其之间的范围)属于双歧杆菌属。在一些实施方案中，所述细菌制剂中的所述细菌的至少90％(例如，90％、95％、99％、99.9％、99.99％或更多，或介于其之间的范围)属于双歧杆菌属。在一些实施方案中，所述双歧杆菌属细菌包括属于以下菌种的细菌：乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌、星状双歧杆菌、牛双歧杆菌、豚双歧杆菌、棒状双歧杆菌、兔双歧杆菌、齲齿双歧杆菌、齿双歧杆菌、没食子双歧杆菌、鸡双歧杆菌、印度双歧杆菌、奇异双歧杆菌、大双歧杆菌、瘤胃双歧杆菌、最小双歧杆菌、假长双岐杆菌、小鸡双歧杆菌、嗜冷双岐杆菌、反刍双歧杆菌、波伦亚双岐杆菌、斯氏双岐杆菌、猿双岐杆菌、纤细双歧杆菌、嗜酸嗜热双岐杆菌、嗜热双岐杆菌、鹤见双歧杆菌、膀胱双岐杆菌或双歧杆菌属某种。在一些实施方案中，所述细菌制剂是通过口服施用或直肠施用来施用。在一些实施方案中，所述细菌制剂是通过口服施用来施用。在一些实施方案中，所述细菌制剂是以两个或更多个剂量(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个，或介于其之间的范围)施用至所述受试者。在一些实施方案中，诸多方法还包括在所述细菌制剂施用至所述受试者之前向所述受试者施用抗生素。在一些实施方案中，诸多方法还包括向所述受试者施用免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是结合CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是结合PD-1或PD-L1的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述免疫检查点抑制剂是尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT 01 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。

[0023] 附图简述

[0024] 图1A至图1H.C57BL/6JAX与TAC小鼠之间在黑色素瘤长出和肿瘤特异性免疫反应方面的差异在共同圈养后被消除。(A)新到的JAX和TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(B)肿瘤接种后7天携带肿瘤的JAX和TAC小鼠中的IFN-γELISPOT。(C)IFN-γ斑点的平均尺寸($10^{-3}mm^{2}$)。(D)肿瘤接种后21天，如通过流式细胞术测定的JAX和TAC小鼠的肿瘤内的SIY^{+}T细胞占总$CD8^{+}$T细胞的百分比。代表图(左)、定量(右)。(E)肿瘤接种之前共同圈养3周的JAX和TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(F)肿瘤接种前共同圈养3周的携带肿瘤的JAX和TAC小鼠的IFN-γ斑点数/10^{6}个脾细胞。(G)IFN-γ斑点的平均尺寸($10^{-3}mm^{2}$)。(H)肿瘤接种前共同圈养3周的JAX和TAC小鼠的肿瘤内的SIY^{+}T细胞占总$CD8^{+}$T细胞的百分比。

[0025] 图2A至图2G.向TAC小鼠口服施用JAX粪便材料可以增强自发抗肿瘤免疫性和对α

PD-L1 mAb疗法的反应。(A)新到的TAC小鼠、在肿瘤植入前口服管饲PBS、TAC或JAX粪便材料的TAC和JAX小鼠体内的B16.SIY肿瘤生长。(B)肿瘤接种后7天通过ELISPOT测定的IFN-γ斑点数×平均斑点尺寸($10^{-3}mm^2$)。(C)肿瘤接种后21天,如(A)中那样处理过的TAC和JAX小鼠的肿瘤内的SIY^+CD8^+T细胞的百分比。代表图(左)、定量(右)。(D)未处理或在肿瘤植入后7天和14天用JAX粪便材料处理、在肿瘤植入后7天、10天、13天和16天用αPD-L1 mAb处理或者用该两种方案处理的TAC小鼠中的B16.SIY肿瘤生长。(E)开始处理后5天评价的IFN-γ ELISPOT。(F)开始处理后14天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+CD8^+T细胞的百分比。(G)未处理或在肿瘤植入后7天、10天、13天和16天用αPD-L1 mAb处理过的TAC和JAX小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。

[0026] 图3A至图3G.向具有确定肿瘤的TAC受体直接施用双歧杆菌可以改善肿瘤特异性免疫性和对αPD-L1 mAb疗法的反应。(A-C)获自JAX、TAC、饲喂TAC的TAC和饲喂JAX的TAC小鼠的粪便材料中的细菌菌种多样性(A)、细菌β-多样性的主坐标分析图(B)和顶部双歧杆菌分类群的操作分类单位(OTU)水平(C)。使用得自于每一个供应商的9至10个重复和得自于每一种处理的4至5个重复进行A至C中的比较。(D)未处理或在肿瘤植入后7天和14天用双歧杆菌处理(白色箭头)、在肿瘤植入后7天、10天、13天和16天用αPD-L1 mAb处理(黑色箭头)或用该两种方案处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(E)在开始处理后5天评价的IFN-γ ELISPOT。(F)在开始处理后14天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+CD8^+T细胞的百分比。代表图(左)、对由2个独立实验合并的数据的定量(右)。(G)如D中的同种型处理组(左)或CD8消耗组(右)的B16.SIY肿瘤生长。

[0027] 图4A至图4E.从JAX和饲喂双歧杆菌的TAC小鼠分离出来的树突状细胞表现出与抗肿瘤免疫性相关的基因的表达增加并且T细胞活化能力增高。(A)在继承性转移后第7天,TAC、JAX、饲喂双歧杆菌的TAC小鼠的肿瘤引流淋巴结(左)和脾脏(右)中的2C $CD8^+$T细胞的IFN-γ MFI(平均荧光强度)的定量。(B)如通过流式细胞术评价的在肿瘤植入后40小时从TAC、JAX和饲喂双歧杆菌的TAC小鼠分离出来的肿瘤中的MHC IIhi类DC的百分比。(C)如通过DAVID途径分析所评价,相对于在肿瘤接种后40小时从肿瘤分离出来的未处理TAC DC,在JAX和双歧杆菌处理过的TAC衍生的DC中的升高基因子组内发现的富集生物学途径和功能。条形指示在从JAX和饲喂双歧杆菌的TAC小鼠分离出来的DC中有所上调的途径中的基因的百分比。线表示通过费雪精确检验(Fisher's exact test)计算的p值。(D)从JAX、双歧杆菌处理过的TAC或未处理的TAC小鼠分离出来的DC中的关键抗肿瘤免疫性基因的热图。每一种基因转录物的平均倍数变化于右侧示出。(E)在体外在不同浓度的SIY肽存在下受到从天然TAC、JAX和双歧杆菌处理过的TAC小鼠的周围淋巴组织纯化而来的DC刺激过的IFN-γ^+2C TCR Tg $CD8^+$T细胞的定量。

[0028] 图5A至图5D.(A)预防性粪便转移的示意图:从JAX和TAC小鼠收集的粪便球粒在抵达我们的实验室后被再悬浮于PBS中,均质化,并且在B16.SIY肿瘤接种前每周一次如图所示将上清液通过口服管饲引入至JAX或TAC受体中持续两周。(B)在肿瘤植入前每周一次口服管饲TAC或JAX粪便材料持续两周的JAX小鼠体内的B16.SIY肿瘤生长。(C)如在肿瘤接种后7天通过流式细胞术所测定,如图2A中的诸组的肿瘤内的SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比。(D)如在肿瘤接种后21天通过流式细胞术所测定,未处理或经αPD-L1 mAb处理过的JAX和TAC小鼠的肿瘤内SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比。

[0029] 图6A至图6H.(A)获自TAC、JAX、饲喂TAC的TAC和饲喂JAX的TAC小鼠的粪便材料中属于双歧杆菌属的组合的所有分类群的相对丰度。使用得自于每一个供应商的9至10个重复和得自于每一种处理的4至5个重复进行比较。(B)接种在RCM琼脂中随后连续稀释在还原PBS中并且在厌氧室中培育72小时的活的和热灭活的双歧杆菌的菌落形成单位(CFU)数。(C)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经活的双歧杆菌、热灭活的双歧杆菌或JAX粪便材料处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(D)如C中的处理组在开始处理后14天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比。C至D显示由2至4个独立实验(每组5只小鼠)合并的数据。(E)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的B16.F10肿瘤生长动力学。(F)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的MB49肿瘤生长动力学。(G)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经鼠乳杆菌或JAX粪便材料处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(H)如G中的处理组在开始处理后18天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比。

[0030] 图7A至图7D.(A)体内2C增殖测定的示意图。从天然2C TCR Tg CD45.1+/.2+小鼠的脾脏和淋巴结分离出CD8+ T细胞,用CFSE加以标记并且经静脉内注射至来源于TAC、JAX或经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的CD45.2+C57BL/6小鼠中。24小时后,对小鼠经皮下接种1×106个B16.SIY黑色素瘤细胞。收集脾脏和肿瘤引流淋巴结,并且用SIY肽进行离体再刺激。在闸选的CD45.1+/.2+2C T细胞中通过流式细胞术评价细胞内IFN-γ产生和CFSE稀释;TDLN=肿瘤引流淋巴结。(B)通过流式细胞术(左)和定量(右)在闸选的CD45.1+/.2+2C T细胞中评价代表性CFSE稀释。

[0031] 图8A至图8G.向具有确定肿瘤的TAC受体直接施用双歧杆菌可以改善肿瘤特异性免疫性和对αPD-L1 mAb疗法的反应。(A)如图2A中那样处理过的组中的细菌β-多样性随时间变化的主坐标分析图。(B)新到的JAX相对于TAC小鼠中具有显著不同的丰度的分类群的谱系分析FDR<0.05(非参数t检验);条形表示经过对数变换的倍数变化,内环=log10(10);中环=log10(100);外环=log10(1000)。(C)说明饲喂JAX的TAC小鼠中显著变化的菌属水平分类群的相对丰度随时间变化的热图FDR<0.05(非参数t检验);柱形描绘个别小鼠;每一个时间点示出了来自于两个单独的笼子的小鼠,每个笼子3至4只小鼠。(D)在抵达后14天获自如(A)中的诸组的粪便材料中的双歧杆菌OTU_681370的相对丰度与肿瘤中的SIY^+CD8^+T细胞频率的关系图;p=1.4×10-5,FDR=0.0002,R2=0.86(单变数回归)。(E)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经双歧杆菌处理、在肿瘤植入后7天、10天、13天和16天经αPD-L1 mAb处理或经该两种方案处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(F)在开始处理后5天评价的IFN-γ ELISPOT。(G)在开始处理后14天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+CD8^+T细胞的百分比。

[0032] 图9A至图9E.(A)接种市售双歧杆菌菌种后7天获自TAC小鼠的粪便材料中的双歧杆菌OTU_681370的相对丰度。(B)通过qPCR使用菌属特异性引物来评价获自如所示的诸组的粪便材料中的双歧杆菌水平。(C)示出了如在开始处理后14天通过流式细胞术所评价的未处理和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的肿瘤内SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比的代表图。(D)通过qPCR评价的双歧杆菌施用后3周TAC小鼠中的双歧杆菌水平。(E)未处理或在肿瘤植入前6周接种双歧杆菌的TAC小鼠体内的B16.SIY肿瘤生长。

[0033] 图10A至图10D.(A)如图3E中的同种型处理组(左)或CD8消耗组(右)的B16.SIY肿

瘤生长。(B)接种在RCM琼脂中随后连续稀释在还原PBS中并且在厌氧室中培育72小时的活的和热灭活的双歧杆菌的菌落形成单位(CFU)数。条形表示每一个稀释度的2次重复接种。(C)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经活的双歧杆菌、热灭活的双歧杆菌或JAX粪便材料处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(D)如(C)中的处理组在开始处理后14天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比。

[0034] 图11A至图11E.(A)未处理或经ATCC来源短双歧杆菌或长双歧杆菌处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(B)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的B16.F10肿瘤生长动力学。(C)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的MB49肿瘤生长动力学。(D)未处理或在肿瘤植入后7天和14天经鼠乳杆菌或JAX粪便材料处理过的TAC小鼠的B16.SIY肿瘤生长动力学。(E)如(D)中的处理组在开始处理后18天通过流式细胞术测定的肿瘤浸润SIY^+T细胞占总$CD8^+$T细胞的百分比。

[0035] 图12A至图12C.(A)说明饲喂双歧杆菌的TAC小鼠中显著变化的菌属水平分类群的相对丰度的热图FDR<0.05(非参数t检验);柱形描绘个别小鼠;n=4至8只小鼠/组。(B)通过流式细胞术评价的在肿瘤接种后21天从JAX和TAC小鼠分离出来的肿瘤中的CD4+ FOXP3+ T细胞的频率;代表图(上)、定量(下)。(C)通过qPCR评价的对双歧杆菌向TAC、JAX和接种双歧杆菌的小鼠的肠系膜淋巴结(mLN)、脾脏和肿瘤中易位的评估。

[0036] 图13A至图13C.(A)描绘从JAX、TAC和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠中的肿瘤分离出DC的策略的代表图:如所示出那样分选活的CD45+CD3-CD19-MHCIIhiCD11c+树突状细胞。(B)如通过DAVID途径分析所评价,相对于在接种后40小时从肿瘤分离出来的未处理TAC DC,在JAX和经双歧杆菌处理过的TAC衍生的DC中的升高基因(倍数变化≥1.5)子组内发现的所有富集生物学途径和功能。(C)通过如(B)中的微阵列基因表达分析鉴别的基因的qPCR验证。

[0037] 图14A至图14B.(A)如图所示在体外在不同浓度的SIY肽存在下受到从天然TAC、JAX和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠纯化而来的DC刺激过的2C CD8+ T细胞中的CFSE稀释和IFN-γ产生的代表性流式图。(B)具有未稀释的CFSE并且如图所示在体外在不同浓度的SIY肽存在下受到从天然TAC、JAX和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠纯化而来的DC刺激过的2C CD8+ T细胞的百分比。

[0038] 图15.未处理或经ATCC 15700短双歧杆菌、ATCC BAA-999长双歧杆菌、ATCC 27536乳酸双歧杆菌或ATCC 15696两叉双歧杆菌单独处理或经所有四个菌株组合处理过的TAC小鼠中的B16.SIY肿瘤生长。

[0039] 定义

[0040] 如本文中所使用,术语“微生物”是指包括细菌、真菌和古细菌的细胞微生物,并且涵盖个别生物体和包括许多生物体的群体。

[0041] 如本文中所使用,术语“微生物丛”是指位于独特环境的微生物的群集。微生物丛可以包括例如栖息于特定环境中的各种细菌、真菌和/或古细菌的群体。举例来说,“肠微生物丛”、“阴道微生物丛”和“口腔微生物丛”分别是位于或见于肠、阴道或口腔中的属于一个或多个菌种的微生物的群集。“正常微生物丛”是指位于呈正常非病理学状态的特定环境中的微生物群体(例如,得自于未患癌症的受试者的肠微生物丛样品)。“病理学微生物丛”是指位于呈病理学状态的特定环境中并且在各种微生物的同一性、绝对量或相对量方面不同

于正常微生物丛的各种微生物的群体。

[0042] 如本文中所使用，术语“共生微生物”是指对宿主不具致病性并且是所述宿主的正常微生物丛的一部分的微生物。

[0043] 如本文中所使用，术语“共同施用”是指向受试者施用至少两种药剂(例如，共生微生物丛和癌症疗法)或疗法。在一些实施方案中，共同施用两种或更多种药剂/疗法是同时的。在其它实施方案中，共同施用两种或更多种药剂/疗法是按顺序的(例如，施用第一药剂/疗法，然后施用第二药剂/疗法)。

[0044] 如本文中所使用，术语“有益的微生物”是指抑制癌症/肿瘤细胞生长和/或有助于处理癌症/肿瘤细胞(例如抑制免疫逃避)的微生物(例如细菌)菌株或菌种。有益的微生物可以通过例如建立抗癌/抗肿瘤环境、微环境和/或代谢组和/或通过建立能抑制免疫逃避或癌细胞借以抵抗治疗的其它机制的环境、微环境和/或代谢组而发挥功能。

[0045] 如本文中所使用，术语“不利的微生物”是指促进癌症/肿瘤细胞生长和/或防止或降低处理癌症/肿瘤细胞治疗(例如抑制免疫逃避)的有效性的微生物(例如细菌)菌株或菌种。不利的微生物可以通过例如建立有助于免疫逃避或癌细胞借以抵抗治疗和/或增强癌症/肿瘤生长的其它机制的环境、微环境和/或代谢组而发挥功能。

[0046] 如本文中所使用，术语“药物剂”是指施用至受试者以引发所期望的生物学反应的化合物、大分子或其它化学/非生物学实体。药物剂可以是“药物”或者在人或其它哺乳动物中具有局部和/或全身生物活性的另一实体。Merck Index和Physicians Desk Reference中公开了药物的实例，所述文献的全部公开内容出于所有目的以引用的方式并入本文中。

[0047] 如本文中所使用，术语“微生物剂”、“共生微生物剂”和“益生剂”是指用于施用至受试者的包括一种微生物或多种不同的微生物的群体的组合物。

[0048] 如本文中所使用，术语“抗微生物剂”用于描述治疗微生物感染，例如，由细菌、病毒、原生动物或真菌引起的感染的治疗化合物或生物活性剂。抗微生物剂可以是抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂或抗原生动物剂或抗寄生物剂(其还可以用于治疗多细胞寄生物)。

[0049] 如本文中所使用，术语“抗生素”和“抗细菌剂”是指对细菌具有活性的化学试剂。在常见用法中，抗生素是杀死细菌或抑制细菌生长的物质或化合物(也称为化学治疗剂)。抗细菌抗生素可以基于其靶标特异性而进行分类：“窄谱”抗生素靶向特定类型的细菌，诸如革兰氏阴性或革兰氏阳性细菌，而广谱抗生素影响着大范围的细菌。靶向细菌细胞壁的抗生素(例如青霉素、头孢菌素、头孢烯)或靶向细胞膜的抗生素(例如多粘菌素)或干扰必需细菌酶的抗生素(例如喹啉酮、磺酰胺)在本质上通常是灭菌剂。靶向蛋白质合成的那些抗生素，诸如氨基糖苷、大环内酯和四环素，通常是抑菌剂。三种较新类别的抗生素包括：环状脂肽类(例如，达托霉素)、甘胺四环素类(例如，替加四环素)和噁唑烷酮类(例如，利奈唑胺)。替加四环素是一种广谱抗生素，而其它两种可用于格兰氏阳性感染。

[0050] 如本文中所使用，术语“抗病毒剂”是指用于治疗病毒感染的化学药剂。抗病毒药物是特用于治疗病毒感染的一类药物，特定的抗病毒剂可用于治疗由特定病毒所致的感染。抗病毒剂通常只抑制病毒发育。

[0051] 如本文中所使用，术语“抗真菌剂”是指可以用于治疗患者的真菌感染的治疗化合物或生物活性剂。抗真菌药物是用于治疗诸如足癣、钱癣、念珠菌病(鹅口疮)、严重全身感染(诸如隐球菌脑膜炎)和相关真菌感染之类的真菌感染的药物。抗真菌剂包括例如多烯抗

真菌剂、咪唑、三唑和噻唑抗真菌剂、烯丙胺类、棘白菌素类、灰黄霉素、氟胞嘧啶、十一碳烯酸等。

[0052] 如本文中所使用，术语“抗寄生物剂”是指用于治疗寄生物病(包括线虫、绦虫、吸虫、感染性原生动物和变形虫属)的治疗化合物或生物活性剂。示例性抗寄生物剂包括：抗线虫剂(例如甲苯咪唑(mebendazole)、双羟萘酸噻嘧啶(pyrantel pamoate)、噻苯哒唑(thiabendazole)、二乙基卡巴嗪(diethycarbazine))、抗绦虫剂(例如氯硝柳胺(niclosamide)、吡喹酮(praziquantel))、抗吸虫剂(例如吡喹酮)、抗变形虫剂(例如利福平(rifampin)和两性霉素B)、抗原生动物剂(例如米拉索普(melarsoprol)、依氟鸟氨酸(eflornithine)、甲硝哒唑(metronidazole)和磺甲硝咪唑(tinidazole))等。

[0053] 如本文中所使用，术语“药物制剂”是指至少一种药物剂和/或微生物剂与一种或多种有助于致使药剂适合于在施用至受试者后实现所期望的效果的附加组分的组合。药物制剂可以包括一种或多种添加剂，例如药学上可接受的赋形剂、载体、渗透增强剂、包衣剂、稳定剂、缓冲剂或与药物/微生物剂物理缔合以增强剂型的施用、释放(例如释放时程)、可递送性、生物利用率、有效性等的其它材料。所述制剂可以是例如液体、悬浮液、固体、纳米颗粒、乳液、胶束、软膏、凝胶、乳液、包衣等。药物制剂可以含有单种药剂或多种药剂(例如微生物剂和药物剂)。

[0054] 如本文中所使用，术语“受试者”泛指任何动物，包括但不限于人和非人动物(例如，狗、猫、牛、马、绵羊、家禽、鱼、甲壳动物等)。如本文中所使用，术语“患者”通常是指正在治疗疾病或病状(例如癌症、实体肿瘤癌症、非T细胞浸润肿瘤癌症等)的受试者。

[0055] 如本文中所使用，“免疫反应”是指免疫系统细胞(例如T淋巴细胞、B淋巴细胞、天然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜酸性细胞、肥大细胞、树突状细胞、嗜中性白细胞等)和由这些细胞中的任一种或肝脏产生的可溶性大分子(包括Ab、细胞因子和补体)从受试者体内选择性地靶向、结合、损坏、破坏和/或消除侵袭的病原体、感染病原体的细胞或组织或者癌细胞或其它异常细胞的作用。

[0056] 如本文中所使用，术语“免疫调控剂”是指调控免疫反应的药剂或信号传递途径(或其组分)。“调控”、“修饰”或“调节”免疫反应是指免疫系统或此类细胞的活性的任何变化。此类调控包括刺激或抑制免疫系统，这可以体现为各种细胞类型的数目的增加或减少、这些细胞的活性的增加或降低或者免疫系统内可能发生的任何其它变化。已经鉴定了抑制性免疫调控剂和刺激性免疫调控剂二者，其中一些在癌症微环境中可能具有增强的功能。

[0057] 如本文中所使用，术语“免疫逃避”是指癌症或肿瘤细胞抑制受试者的免疫系统或其组分(例如内源T细胞反应)以便最大化癌症/肿瘤的生长或扩散或允许其继续。

[0058] 如本文中所使用，术语“免疫疗法”是指通过包括诱导、增强、抑制或以其它方式修饰免疫反应的方法来治疗或预防疾病或病状(例如癌症)。

[0059] 如本文中所使用，“增强内源免疫反应”意指增加受试者的现存免疫反应的有效性或效力。有效性和效力的这种增加可以例如通过克服能抑制内源宿主免疫反应的机制或通过刺激能增强内源宿主免疫反应的机制来实现。

[0060] 如本文中所使用，术语“抗体”是指完整抗体分子或其片段(例如，诸如Fab、Fab’和F(ab’)2之类的片段)，它可以是多克隆或单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体等。

[0061] 天然抗体通常具有四聚体结构。四聚体通常包括两个同一的多肽链对，每一对具

有一个轻链(在某些实施方案中,约25kDa)和一个重链(在某些实施方案中,约50-70kDa)。在天然抗体中,重链包括可变区、VH以及三个恒定区CH1、CH2和CH3。VH结构域在重链的氨基末端,而CH3结构域在羧基末端。在天然抗体中,轻链包括可变区、VL和恒定区CL。轻链的可变区在轻链的氨基末端。在天然抗体中,每一对轻链/重链对的可变区通常形成抗原结合位点。恒定区通常负责效应功能。

[0062] 在天然抗体中,可变区通常表现出相同的一般结构,其中相对保守的框架区(FR)由三个高变区(也称为互补性决定区(CDR))接合。通常通过框架区使每一对的两个链的CDR对准,这可以使得能够结合特定的表位。从N末端至C末端,轻链可变区和重链可变区通常都包括结构域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。重链上的CDR被称为H1、H2和H3,而轻链上的CDR被称为L1、L2和L3。通常,CDR3是抗原结合位点内的分子多样性的最大来源。举例来说,在某些情况下,H3可以短达两个氨基酸残基或超过26个。氨基酸分配至每一个结构域通常是根据以下定义来进行:Kabat等,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,公布号91-3242,第1-3卷,Bethesda,Md.);Chothia,C.和Lesk,A.M.(1987)J.Mol.Biol.196:901-917;或Chothia,C.等,Nature 342:878-883(1989)。在本申请中,除非另外规定,否则术语"CDR"是指来自于轻链或重链的CDR。

[0063] 如本文中所使用,术语"重链"是指包含单独或在与轻链组合时足以赋予抗原特异性的重链可变区序列的多肽。

[0064] 如本文中所使用,术语"轻链"是指包含单独或在与重链组合时足以赋予抗原特异性的轻链可变区序列的多肽。

[0065] 如本文中所使用,当抗体或其它实体"特异性识别"或"特异性结合"抗原或表位时,它优先识别在蛋白质和/或大分子的复杂混合物中的所述抗原,并且以实质上高于未呈现所述抗原或表位的其它实体的亲和力结合所述抗原或表位。在这方面,"实质上较高的亲和力"意指高到足以能够使用所期望的测定或测量装置来检测不同于诸多实体的抗原或表位的亲和力。通常,它意指具有至少$10^{7}M^{-1}$(例如$>10^{7}M^{-1}$、$>10^{8}M^{-1}$、$>10^{9}M^{-1}$、$>10^{10}M^{-1}$、$>10^{11}M^{-1}$、$>10^{12}M^{-1}$、$>10^{13}M^{-1}$等)的结合常数(Ka)的结合亲和力。在某些此类实施方案中,抗体能够结合不同的抗原,只要所述不同的抗原包括该特定表位即可。在某些情况下,举例来说,来自于不同的物种的同源蛋白质可能包含相同的表位。

[0066] 如本文中所使用,术语"单克隆抗体"是指作为特异性结合相同表位的抗体的实质上均质群体的成员的抗体。在某些实施方案中,单克隆抗体是由杂交瘤分泌。在某些此类实施方案中,根据本领域技术人员已知的某些方法来产生杂交瘤。参见例如Kohler和Milstein(1975)Nature 256:495-499;以全文引用的方式并入本文中。在某些实施方案中,单克隆抗体是使用重组DNA方法产生(参见例如美国专利号4,816,567)。在某些实施方案中,单克隆抗体是指从噬菌体呈现库分离出来的抗体片段。参见例如Clackson等,(1991)Nature 352:624-628;和Marks等,(1991)J.Mol.Biol.222:581-597;以全文引用的方式并入本文中。修饰词"单克隆"指出了获自实质上均质的抗体群体的抗体的性质,而不是将产生抗体的方法限制于特定方法。关于各种其它单克隆抗体产生技术,参见例如Harlow和Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.);以全文引用的方式并入本文中。

[0067] 如本文中所使用,术语"抗体片段"是指全长抗体的一部分,包括抗原结合区或可

变区的至少一部分。抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、scFv、Fd、双功能抗体和保留完整抗体的可变区的至少一部分的其它抗体片段。参见例如Hudson等,(2003)Nat.Med.9:129-134;以全文引用的方式并入本文中。在某些实施方案中,抗体片段是通过对由重组DNA技术产生的完整抗体进行酶催或化学切割(例如抗体的木瓜蛋白酶消化和胃蛋白酶消化)或化学多肽合成而产生。

[0068] 举例来说,"Fab"片段包括一个轻链,以及一个重链的CH1和可变区。Fab分子的重链不能与另一重链分子形成二硫键。"Fab'"片段包括一个轻链和一个包含在CH1与CH2结构域之间延伸的附加恒定区的重链。Fab'片段的两个重链之间可以形成链间二硫键,从而形成"F(ab')2"分子。

[0069] "Fv"片段包含重链和轻链两者的可变区,但缺乏恒定区。单链Fv(scFv)片段包含由可挠性连接子连接从而形成具有抗原结合区的单多肽链的重链和轻链可变区。示例性单链抗体详细论述于WO 88/01649以及美国专利号4,946,778和5,260,203中;以全文引用的方式并入本文中。在某些情况下,单个可变区(例如重链可变区或轻链可变区)可能具有识别和结合抗原的能力。

[0070] 本领域技术人员应当理解其它抗体片段。

[0071] 如本文中所使用,术语"嵌合抗体"是指由来自于至少两个不同的来源的组分组成的抗体。在某些实施方案中,嵌合抗体包含来源于第一物种的抗体的一部分与另一分子(例如,来源于第二物种的抗体的一部分)的融合物。在某些此类实施方案中,嵌合抗体包含来源于非人动物的抗体的一部分与来源于人的抗体的一部分的融合物。在某些此类实施方案中,嵌合抗体包含来源于非人动物的抗体的恒定区的全部或一部分与来源于人的抗体的恒定区的融合物。

[0072] "人源化"抗体是指已经进行过修饰以使其更严密匹配(在氨基酸序列中)人抗体的非人抗体。人源化抗体因此是嵌合抗体的一种类型。在某些实施方案中,非人抗体的可变区的抗原结合残基外的氨基酸残基被修饰。在某些实施方案中,通过将人抗体的所有或一部分互补性决定区(CDR)置换为来自于另一抗体(诸如非人抗体)的具有所期望的抗原结合特异性的所有或一部分CDR来构建人源化抗体。在某些实施方案中,人源化抗体包含可变区,其中所有或基本上所有CDR都对应于非人抗体的CDR,并且所有或实质上所有框架区(FR)都对应于人抗体的FR。在某些此类实施方案中,人源化抗体还包含人抗体的恒定区(Fc)。

[0073] 术语"有效剂量"或"有效量"是指可以减轻患者的症状或产生所期望的生物学结果的药剂(例如,抗体)的量。在某些实施方案中,有效剂量或有效量足以治疗或减轻疾病或病状的症状。

[0074] 详细描述

[0075] 本文中提供了通过控制共生微生物丛来治疗和/或预防癌症的方法。具体来说,控制受试者体内的微生物丛(例如,肠微生物丛)的量、同一性、存在和/或比率以有助于一种或多种共治疗。

[0076] 实体肿瘤的T细胞浸润与良好患者结果相关,却没有充分理解因受试者而异的内源免疫反应的基础机制。在开发本文中所描述的实施方案期间进行了诸多实验以研究微生物组合物对自发抗肿瘤免疫性的潜在影响。在具有独特的共生微生物丛的C57BL/6小鼠中

比较B16黑色素瘤生长。两个小鼠群体表现出强自发抗肿瘤免疫性对比弱自发抗肿瘤免疫性。这种表型差异在共同圈养后或在粪便转移后被消除。16S rRNA测序鉴定了与抗肿瘤作用相关的双歧杆菌。对携带肿瘤的小鼠口服施用单独或与系统性αPD-L1组合的双歧杆菌以$CD8^+$T细胞依赖性方式显著改善了肿瘤控制。在机制上，所述作用是由树突状细胞功能增加，从而在肿瘤微环境中导致更强的抗原特异性$CD8^+$T细胞促发和显著增加的活化T细胞积聚所介导。举例来说，这些数据说明了控制作为癌症治疗剂的共生微生物的优势。

[0077] 在一些实施方案中，内源免疫反应、免疫疗法、化学治疗剂或其它治疗(例如手术、辐射等)在治疗或预防癌症和/或肿瘤复发方面的有效性取决于受试者体内的状况(例如肿瘤微环境)。具体来说，受试者体内的微生物丛的同一性或特征(例如浓度或水平)影响着癌症治疗(例如，一般或特定治疗)的有效性和/或受试者自身对癌症的免疫反应的有效性。

[0078] 在一些实施方案中，受试者体内的一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的存在或水平增加可以增强癌症/肿瘤生长、扩散(例如恶性病)和/或逃避治疗/免疫反应。在一些实施方案中，受试者体内的一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的存在或水平增加可以抑制治疗(例如，免疫疗法、化学疗法等)和/或所述受试者对癌症和/或肿瘤细胞的内源免疫反应。在一些实施方案中，受试者体内一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的不存在和/或水平降低可以增进癌症/肿瘤生长、扩散和/或逃避治疗/免疫反应。在一些实施方案中，受试者体内一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的不存在或水平降低可以抑制治疗(例如，免疫疗法、化学疗法等)和/或所述受试者对癌症和/或肿瘤细胞的内源免疫反应。

[0079] 在一些实施方案中，受试者体内一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的存在或水平增加可以阻碍癌症/肿瘤生长、扩散和/或逃避治疗/免疫反应。在一些实施方案中，受试者体内一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的存在或水平增加可以促进治疗(例如，免疫疗法、化学疗法等)和/或所述受试者对癌症和/或肿瘤细胞的内源免疫反应。在一些实施方案中，受试者体内一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的不存在和/或水平降低可以阻碍癌症/肿瘤生长、扩散和/或逃避治疗/免疫反应。在一些实施方案中，受试者体内一种或多种微生物(例如，一种或多种类型的细菌)的不存在或水平降低可以促进治疗(例如，免疫疗法、化学疗法等)和/或所述受试者对癌症和/或肿瘤细胞的内源免疫反应。

[0080] 在一些实施方案中，受试者体内的有益微生物(例如，促进癌症治疗的微生物)的存在可以建立有助于治疗癌症和/或抑制癌症/肿瘤生长的环境或微环境(例如，代谢组)。在一些实施方案中，受试者体内的不利微生物(例如，促进癌症/肿瘤生长和/或妨碍治疗的微生物)的存在可以建立有助于治疗癌症和/或抑制癌症/肿瘤生长的环境或微环境(例如，代谢组)。

[0081] 在开发本文中所描述的实施方案期间进行的实验说明了调节受试者体内的微生物丛水平和/或同一性有助于治疗所述受试者内的癌症/肿瘤，增强内源免疫反应，减少对内源免疫反应治疗的免疫逃避或其它抑制机制，和/或改善受试者的癌症结果。调节微生物丛水平和/或同一性可以包括激励或促进一种或多种类型的有益微生物(例如，促进癌症治疗的微生物)的生长，阻碍或抑制一种或多种类型的不利微生物(例如，促进癌症/肿瘤生长和/或妨碍治疗的微生物)的生长，向所述受试者施用一种或多种类型的有益微生物(例如，

促进癌症治疗的微生物)，和/或其组合。本文范围内的实施方案不受引入一种或多种微生物(例如，粪便移植、益生剂施用等)、激励有益微生物生长(例如，施用使受试者内环境偏向于有益微生物的生长条件的药剂)、阻碍或抑制不利微生物生长(例如，施用使受试者内环境偏离不利微生物的生长条件的药剂、施用抗微生物剂等)以及其组合的机制限制。

[0082] 在一些实施方案中，提供了通过控制共生微生物丛(例如，肠微生物丛)的存在、量或相对比率来治疗或预防癌症的方法。在一些实施方案中，控制受试者内的特定细菌、真菌和/或古细菌的存在、量或相对比率。举例来说，在一些实施方案中，控制厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和/或变形菌门的一种或多种细菌的存在、量或相对比率。在一些实施方案中，控制属于拟杆菌属、梭菌属、梭杆菌属、真杆菌属、瘤胃球菌属、消化球菌属、消化链球菌属、双歧杆菌属、理研菌属、别样杆菌属、海滑菌属、厌氧棒状菌属、埃希氏杆菌属和/或乳杆菌属的一种或多种细菌的存在、量或相对比率。在一些实施方案中，控制属于念珠菌属、酵母菌属、曲霉菌属和/或青霉菌属的一种或多种真菌的存在、量或相对比率。

[0083] 在一些实施方案中，控制罹患癌症、处在癌症的增高风险下和/或接受癌症治疗的受试者体内的一种或多种共生微生物的存在和/或水平。示例性共生微生物包括乳球菌属(例如，乳脂乳球菌(Lactococcus cremoris)和乳酸乳球菌(Lactococcus lactis))、乳杆菌属(例如，嗜酸乳杆菌(Lactobacillus acidophilus)、干酪乳杆菌(Lactobacillus casei)、高加索乳杆菌(Lactobacillus kefiri)、双歧乳杆菌(Lactobacillus bifidus)、短乳杆菌(Lactobacillus brevis)、瑞士乳杆菌(Lactobacillus helveticus)、副干酪乳杆菌(Lactobacillus paracasei)、鼠李糖乳杆菌(Lactobacillus rhamnosus)、唾液乳杆菌(Lactobacillus salivarius)、弯曲乳杆菌(Lactobacillus curvatus)、保加利亚乳杆菌(Lactobacillus bulgaricus)、清酒乳杆菌(Lactobacillus sakei)、罗伊氏乳杆菌(Lactobacillus reuteri)、醭酵乳杆菌(Lactobacillus fermentum)、香肠乳杆菌(Lactobacillus farciminis)、乳酸乳杆菌(Lactobacillus lactis)、德氏乳杆菌(Lactobacillus delbrueckii)、植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)、副植物乳杆菌(Lactobacillus paraplantarum)、卷曲乳杆菌(Lactobacillus crispatus)、加氏乳杆菌(Lactobacillus gasseri)、约氏乳杆菌(Lactobacillus johnsonii)和詹氏乳杆菌(Lactobacillus jensenii))、明串珠菌属(Leuconostoc)、肉食杆菌属(Carnobacterium)、肠球菌属(Enterococcus)、丙酸杆菌属(Propionibacteium)、小球菌属(Pediococcus)、双歧杆菌属(例如，乳酸双歧杆菌、两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、链状双歧杆菌、假链状双歧杆菌、青春双歧杆菌、角形双歧杆菌等)、链球菌属(例如，嗜热链球菌(Streptococcus thermophiles)、唾液链球菌(Streptococcus salivarius)、口腔链球菌(Streptococcus oralis)、乳房链球菌(Streptococcus uberis)、大鼠链球菌(Streptococcus rattus)等)；大肠杆菌、凝结芽孢杆菌(Bacillus coagulans)、兰氏杆菌(Bacillus lansii)、酵母(例如，酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)、布拉迪酵母(Saccharomyces boulardii)等)；以及其组合。

[0084] 在一些实施方案中，施用一个或多个种、属和/或类型的微生物和/或促进其生长。在一些实施方案中，抑制一个或多个种、属和/或类型的微生物的生长。在一些实施方案中，施用一个或多个种、属和/或类型的微生物和/或促进其生长；并且抑制一个或多个种、属和/或类型的微生物的生长。

[0085] 在一些实施方案中，一种或多种有益微生物(例如，抑制癌症/肿瘤生长或扩散、增强癌症/肿瘤治疗等的微生物)的水平或存在是通过向受试者施用此类微生物进行调节。

[0086] 在一些实施方案中，微生物从调节利用所制备的益生组合物以供向/由受试者施用。益生组合物包括一种或多种有益的微生物(例如细菌)，所述一种或多种有益的微生物经过配制以使得施用益生剂(例如，口服、经直肠、通过吸入等)在受试者体内产生有益微生物的群体。

[0087] 在一些实施方案中，益生组合物包括经过组合和/或配制以便施用至受试者的培养微生物。在一些实施方案中，益生剂含有已知属、种等和/或已知浓度(cfu)的微生物。益生组合物可以呈药物型组合物(例如，胶囊、片剂、液体、气雾剂等)形式或呈食品补充剂形式。

[0088] 在一些实施方案中，益生微生物(例如细菌)经过配制而呈药学上可接受的组合物形式以便递送至受试者。在一些实施方案中，益生剂与适用于固体或半固体制剂的药学上可接受的载体一起进行配制。在一些实施方案中，益生微生物与适用于液体或凝胶制剂的药学上可接受的载体一起进行配制。益生制剂可以经过配制以用于经肠递送，例如口服递送，或作为栓剂递送，但还可以经过配制以用于肠胃外递送，例如阴道递送、吸入递送(例如口服递送、经鼻递送和肺内递送)等等。

[0089] 得以用于本文中所描述的实施方案中的益生组合物可以与一种或多种药学上可接受的载体一起进行配制而呈多种口服施用剂型。药学上可接受的载体可以是固体或液体。固体形式制剂包括粉剂、片剂、丸剂、胶囊剂、扁囊剂、栓剂和可分散颗粒剂。固体载体可以是一种或多种还可以充当稀释剂、调味剂、增溶剂、润滑剂、悬浮剂、粘合剂、防腐剂、片剂崩解剂或囊封材料的物质。在粉剂中，载体可以是呈与益生微生物的混合物形式的细粉状固体。在片剂中，微生物与具有必需结合能力的载体以适合的比例混合，并且经过压制而呈所期望的形状和尺寸。适合的载体是碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、糖、乳糖、果胶、糊精、淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点蜡、可可脂等等。适用于口服施用的其它形式包括液体形式制剂，诸如乳液、糖浆、酏剂、水性溶液、水性悬浮液，或打算在使用前不久转化至液体形式制剂的固体形式制剂。可以通过将益生微生物与诸如天然或合成树胶、树脂、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和其它众所周知的悬浮剂之类的粘性材料一起分散在水中来制备水性悬浮液。

[0090] 益生组合物(例如，微生物(例如，细菌))可以经过配制以作为栓剂施用。首先将诸如脂肪酸甘油酯混合物或可可脂之类的低熔点蜡熔融并且使益生微生物均匀分散，例如通过搅拌。然后将熔融的均质混合物倾倒至适宜尺寸的模具中，允许冷却和固化。

[0091] 益生组合物(例如，微生物(例如，细菌))可以经过配制以用于阴道施用。子宫托、棉塞、乳膏、凝胶、糊剂、泡沫剂或喷雾剂可以含有除细菌以外的药剂，诸如本领域中已知的适当的载体。

[0092] 在一些实施方案中，益生组合物(例如，微生物(例如，细菌))可以经过配制以用于通过吸入递送。如本文中所使用，术语“气雾剂”在其常规意义上用于指非常精细的液体或固体颗粒在压力下被推进气体输送至治疗应用位点。如本文中所使用的术语“用于递送至呼吸组织的液体制剂”等等描述了包含益生微生物与药学上可接受的载体的呈可流动液体形式的组合物。此类制剂当用于递送至呼吸组织时一般是溶液，例如水溶液、乙醇溶液、水/

乙醇溶液、生理盐水溶液和胶体悬浮液。

[0093] 益生组合物可以配制为食品添加剂和/或食品并且并入到多种食品和饮料中，而非药物型制剂。适合的食品和饮料包括但不限于酸酪乳、冰淇淋、干酪、烘焙产品(诸如面包、饼干和饼)、牛奶和牛奶代食品、豆类食品、谷物类食品、淀粉类食品、甜品、食用油组合物、涂抹食品、早餐谷类食品、婴儿配方奶粉、果汁、功能饮料等等。

[0094] 在一些实施方案中，益生组合物在给药时间段(例如，<1分钟、<1小时、<2小时、<4小时、<6小时、<12小时、<24小时等)内以足以提供所期望的治疗效益的量(例如，作为单个剂量、与其它剂量组合、与共同施用的治疗剂组合等)施用。在一些实施方案中，在给药时间段内施用的益生组合物的剂量是约10至约1×10^{14}个菌落形成单位(cfu)的共生微生物剂的浓度(例如，10cfu、100cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu或其中任何合适的范围(例如，约10^{2}cfu至约10^{13}cfu、约1×10^{4}至约1×10^{11}cfu、约1×10^{6}至约1×10^{9}cfu、约1×10^{10}至约1×10^{12}cf等)等)。

[0095] 在一些实施方案中，益生组合物的微生物组成由或基本上由一种或多种有益的微生物(例如，细菌)组成。在一些实施方案中，益生组合物的微生物组成由或基本上由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100种或其中的任何范围(例如，1-4、5-10、8-20等)的微生物菌株或菌种组成。在一些实施方案中，少于50种微生物菌株(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50或其中的任何范围(例如，1-4、5-10、8-20等)占益生组合物的微生物群体的至少50％(例如，50％、60％、70％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％.99.9％、99.99％)(例如，以质量计、以cfu计等)。举例来说，在一些实施方案中，双歧杆菌属的单个菌种或菌株占特定益生组合物的微生物群体的至少95％，如利用菌落形成单位所度量。再举例来说，在一些实施方案中，双歧杆菌属的单个菌种或菌株占特定益生组合物的微生物群体的至少40％，并且乳杆菌属细菌占至少50％，如利用质量所度量。这些实例不具限制性。

[0096] 在一些实施方案中，受试者(例如，罹患癌症的受试者、具有促进癌症生长的微生物丛的受试者、具有促进癌症治疗(例如免疫疗法)逃避的微生物丛的受试者等)中的微生物丛是通过将来自于具有良好特征的受试者(例如，未患癌症的受试者、具有抑制癌症生长的微生物丛的受试者、具有促进癌症治疗(例如免疫疗法)的微生物丛的受试者等)的微生物丛移植至受体受试者中而进行调节。

[0097] 在一些实施方案中，供体微生物丛是获自供体受试者体内所期望的区域(例如，结肠、口腔、阴道等)的取样微生物丛。在特定实施方案中，从供体获得粪便材料(例如，100g-500g)。所述材料可以在有或无后续制备步骤(例如稀释、混合、氧合、过滤、补充(例如，益生剂、生长培养基等)、测试(例如，针对病原体或不利的微生物)等)的情况下施用至受体受试者。供体微生物丛(例如，粪便材料)可以在不加保存的情况下施用(例如，在12小时内(例如<6小时、<4小时、<2小时、<1小时等)施用)，或者可以经过保存(例如，冷冻、冻干等)，例如，以允许在递送至受试者之前有所延迟(例如，1天、2天、1周、1个月或更久)。

[0098] 在一些实施方案中，供体微生物丛进行除去一种或多种组分。举例来说，可以除去或杀死不利微生物的寄生物。可以除去供体样品内的污染物。在一些实施方案中，针对一种或多种特定微生物对供体微生物丛进行富集(例如，2倍、3倍、4倍、10倍、20倍或更多倍富

集)。在一些实施方案中,对供体微生物丛进行富集,使得群体中至少1%的微生物是所期望的有益微生物(例如,1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多)。在一些实施方案中,供体微生物丛掺杂有一种或多种培养的有益微生物。

[0099] 在特定实施方案中,移植的微生物丛可以通过任何合适的递送机构施用至受体受试者,包括但不限于灌肠剂、结肠镜、鼻胃管或鼻十二指肠管、灌洗或注洗或口服(例如,呈胶囊形式)。

[0100] 在一些实施方案中,共生微生物剂或微生物剂群体是在给药时间段(例如,<1分钟、<1小时、<2小时、<4小时、<6小时、<12小时、<24小时等)内以足以提供所期望的治疗效益的量(例如,作为单个剂量、与其它剂量组合、与共同施用的治疗剂组合等)施用(例如,经由益生组合物或微生物丛移植)。在一些实施方案中,在给药时间段内施用的共生微生物剂的剂量是约10至约1×10^{14}个菌落形成单位(cfu)的共生微生物剂浓度(例如,10cfu、100cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu、10^{13}cfu或其中的任何合适的范围(例如,约10^{2}cfu至约10^{13}cfu、约1×10^{4}至约1×10^{11}cfu,约1×10^{6}至约1×10^{9}cfu,约1×10^{10}至约1×10^{12}cf等)等)。

[0101] 剂量可以呈在一天内的任何时间施用的单个单位剂量的形式施用。或者,负载剂量可以呈在一天内的单个时间或在一天内的两个或更多个独立的时间施用的两个或更多个剂量的形式施用。

[0102] 在多次给药的过程中,剂量可以按预定时程或由受试者和/或临床医师基于治疗结果而从初始剂量逐渐降至较高剂量(或从初始剂量增至较高剂量)。适当的剂量用量将根据例如个别受试者的年龄、体重、病状或疾病、疾病严重程度等而变化。

[0103] 作为非限制性实例(就微生物的鉴别以及剂量而言),在一些实施方案中,经由每天3个胶囊来施用一个或多个双歧杆菌属菌株,每一个胶囊含有1×10^{9}cfu的双歧杆菌。或者,在其它实施方案中,以每天一个含有1×10^{12}cfu细菌的胶囊的剂量施用一个或多个双歧杆菌属菌株。微生物(例如,在本文中所描述的范围内)的任何其它剂量(例如cfu)、给药(例如,每天、每周等的次数)和同一性在本文中的范围内。

[0104] 在一些实施方案中,益生组合物的微生物是获自培养物。在一些实施方案中,有益的微生物菌株经过基因工程改造以增强微生物的产生(例如按比例)、配制、递送或生物效应。在一些实施方案中,微生物经过工程改造以表达可检测标记,从而允许在受试者内追踪微生物或证实微生物已经被整合至受试者的微生物丛中。在一些实施方案中,微生物经过工程改造以表达癌症治疗剂(例如,化学治疗剂、免疫治疗剂、抗体等)、消炎剂或其它药物。

[0105] 在一些实施方案中,一种或多种益生剂作为独立治疗(例如,以增加有益的微生物的水平)或连同本文中所描述的其它治疗一起施用至受试者。益生剂是增加共生微生物的体内生长速率或活性的药剂,诸如乳杆菌属和/或双歧杆菌属。在一些实施方案中,益生剂是可溶性纤维来源。在一些实施方案中,当益生剂被施用(例如,饲喂)至受试者时,其未被或未完全被受试者的消化酶消化,而是支持受试者的肠道健康并且为有益的微生物提供能量来源并增强其生长。益生剂包括例如天然存在的卵磷脂和/或油酸,并且描述于例如美国专利号8,449,878中,该专利以全文引用的方式并入本文中。

[0106] 在一些实施方案中,一种或多种不利的微生物(例如,促进癌症/肿瘤生长或扩散、

抑制癌症/肿瘤治疗等的微生物)的水平或存在是例如通过向受试者施用一种或多种抗微生物剂或将受试者内的条件调节至不利于不利微生物生长而进行调节。在一些实施方案中,施用抗微生物剂。

[0107] 在一些实施方案中,抗微生物剂是抗生素。可用于一些实施方案中的示例性抗生素包括但不限于:阿米卡星(amikacin)、正大霉素(gentamicin)、卡那霉素(kanamycin)、新霉素(neomycin)、立克菌星(netilmicin)、链霉素(streptomycin)、托普霉素(tobramycin)、巴龙霉素(paromycin)、格尔德霉素(geldanamycin)、除莠霉素(herbimycin)、氯碳头孢(loracarbef)、厄他培南(ertapenem)、多尼培南(doripenem)、亚胺培南(imipenem)、美罗培南(meropenem)、氯头孢菌素(cefaclor)、头孢羟唑(cefamandole)、头孢西丁(cefotoxin)、头孢罗齐(cefprozil)、头孢呋辛(cefuroxime)、头孢克肟(cefixime)、头孢地尼(cefdinir)、头孢托仑(cefditoren)、头孢泊肟(cefpodoxime)、头孢他啶(ceftazidime)、头孢布烯(ceftibuten)、头孢唑肟(ceftizoxime)、头孢曲松(ceftriaxone)、头孢吡肟(cefepime)、头孢托罗(ceftobirprole)、万古霉素(vancomycin)、阿奇霉素(azithromycin)、克拉霉素(clarithromycin)、地红霉素(dirithromycin)、红霉素(erythromycin)、罗红霉素(roxithromycin)、桃徽素(troleandomycin)、特利霉素(telithromycin)、状观霉素(spectinomycin)、氨曲南(aztreonam)、安莫西林(amoxicillin)、安比西林(ampicillin)、阿唑西林(azociling)、卡苯尼西林(carbenicillin)、氯唑西林(cloxacillin)、双氯西林(dicloxacillin)、氟氯西林(flucloxacillin)、美洛西林(mezlocillin)、甲氧西林(meticillin)、萘夫西林(nafcillin)、苯唑西林(oxacillin)、哌拉西林(peperacillin)、替卡西林(ticarcillin)、杆菌肽(bacitracin)、粘杆菌素(colistin)、多粘菌素B、赛普沙辛(ciprofloxacin)、克拉维酸(clavulanic acid)、依诺沙星(enoxacin)、加替沙星(gatifloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、洛美沙星(lomefloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)、诺氟沙星(nonfloxacin)、氧氟沙星(ofloxacin)、曲发沙星(trovafloxacin)、格里沙星(grepafloxacin)、司帕沙星(sparfloxacin)、AL-15469A、AL-38905、OP-145、艾费奈德(afenide)、普隆托西(prontosil)、磺胺醋酰(sulfacetamide)、磺胺甲基硫噻唑(sulfamethiazole)、磺酰胺(sulfanamide)、柳氮磺吡啶(sulfasalazine)、磺胺异噁唑(sulfisoxazole)、甲氧苄胺嘧啶(trimethoprim)、复方新诺明(cotrimoxazole)、地美环素(demeclocycline)、强力霉素(doxycycline)、米诺环素(minocycline)、氧四环素(oxytetracycline)、四环素(tetraycline)、利奈唑胺(linezolid)、阿塞班布(arsogebanubem)氯霉素(chloramphenicol)、克林霉素(clindamycin)、林可霉素(lincomycin)、乙胺丁醇、磷霉素(fosfomycin)、梭链孢酸(fusidic acid)、呋喃唑酮(furazolidone)、异烟肼(isoniazid)、利奈唑胺(linezolid)、甲硝哒唑、莫匹罗星(mupirocin)、呋喃妥因(nitrofurantoin)、利福平(rifampicin)、甲砜霉素(thamphenicol)、替硝唑(tinidazole)、阿莫西林+克拉维酸、蟾蜍素H5、皮离蛋白(Dermcidin)、蛾血素(Cecropins)、雄抗菌肽(andropin)、家蚕抗菌肽(moricin)、角毒素(ceratotoxin)、蜂毒素(melittin)、滑爪蟾素(Magainin)、皮抑菌肽(dermaseptin)、铃蟾抗菌肽(bombinin)、蛙抗菌肽(brevinin)-1、蛙皮多肽(esculentin)和蟾蜍抗菌肽(buforin)II、CAP 18、LL37、蜜蜂抗菌肽(abaecin)、蜜蜂抗菌肽(apidaecin)、猪抗菌肽

(prophenin)、吲哚西定(indolicidin)、蛙抗菌肽、猪抗菌肽(protegrin)、速普肽(tachyplesin)、防卫素(defensin)、果蝇霉素(drosomycin)、阿拉霉素(alamethicin)、培西加南(pexiganan)或MSI-78、MSI-843、MSI-594、马蹄蟹抗菌肽(polyphemusin)、大肠杆菌素(colicin)、脓菌素(pyocin)、克莱比星(klebicin)、枯草菌素(subtilin)、表皮菌素(epidermin)、荷比克莱星(herbicolacin)、布来维星(brevicin)、嗜卤菌素(halocin)、土壤杆菌素(agrocin)、阿维星(alveicin)、明串珠菌素(carnocin)、克伐提星(curvaticin)、德沃星(divercin)、伏尔加霉素(enterocin)、恩特莱森(enterolysin)、儿文尼星(erwiniocin)、大豆球蛋白(glycinecin)、乳酸菌素(lactococin)、乳球菌素(lacticin)、利尤可星(leucoccin)、白联珠菌素(mesentericin)、片球菌素(pediocin)、植物乳杆菌素(plantaricin)、清酒乳杆菌素(sakacin)、硫叶菌素(sulfolobicin)、弧菌素(vibriocin)、瓦而瑞南(warnerinand)、乳链菌肽(nisin)、或其盐或共晶体、或其前药或溶剂合物或其组合。

[0108] 在一些实施方案中,抗微生物剂是抗真菌剂。可用于一些实施方案中的示例性抗真菌剂包括但不限于:阿莫罗芬(amrolfine)、布替萘芬(butenafine)、萘替芬(naftifine)、特比萘芬(terbinafine)、氟胞嘧啶(flucytosine)、氟康唑(fluconazole)、伊曲康唑(itraconazole)、酮康唑(ketoconazole)、泼康唑(posaconazole)、雷夫康唑(ravuconazole)、伏立康唑(voriconazole)、克霉唑(clotrimazole)、益康唑(econazole)、咪康唑(miconazole)、奥昔康唑(oxiconazole)、硫康唑(sulconazole)、特康唑(terconazole)、噻康唑(tioconazole)、尼可霉素Z(nikkomycin Z)、卡泊芬净(caspofungin)、咪克芬净(micafungin)、阿尼芬净(anidulafungin)、两性霉素B(amphotericinB)、脂质体制霉菌素(liposomal nystastin)、匹马菌素(pimaricin)、灰黄霉素(griseofulvin)、环吡酮胺(ciclopirox olamine)、卤普罗近(haloprogin)、托萘酯(tolnaftate)、十一烯酸盐、氯碘羟喹(clioquinol)以及其组合。

[0109] 在一些实施方案中,抗微生物剂是抗寄生物剂。可用于一些实施方案中的示例性抗寄生物剂包括但不限于阿米曲士(amitraz)、硝硫氰胺(amoscanate)、阿佛菌素(avermectin)、卡巴多司(carbadox)、乙胺嗪(diethylcarbamizine)、二甲硝唑(dimetridazole)、二脒那嗪(diminazene)、伊维菌素(ivermectin)、强力杀丝虫剂(macrofilaricide)、马拉硫磷(malathion)、双甲脒(mitaban)、奥沙尼喹(oxamniquine)、扑灭司林(permethrin)、吡喹酮、双羟酸嘧啶(prantel pamoate)、司拉克丁(selamectin)、葡萄糖酸锑钠、噻苯哒唑以及其组合。

[0110] 在一些实施方案中,用于降低不利微生物的水平的方法和组合物是与用于增加有益微生物的水平的方法和组合物一起共同施用(例如,连续、同时等)。在一些实施方案中,通过降低总体微生物水平或通过降低特定微生物(例如,不利的微生物、密集群体微生物等)的水平,可以更有效地调节(例如,增加)有益的微生物群体。

[0111] 在一些实施方案中,为了在受试者内发展促进癌症治疗或抑制癌症生长/扩散的微生物丛群体,首先施用抗微生物剂以消除或减少所述受试者内的微生物丛,随后使用本文中所描述的方法和组合物(例如,施用有益的微生物)来重建微生物丛群体。在一些实施方案中,采用一般减少微生物(例如,细菌)群体的抗微生物剂(例如,抗生素)。在一些实施方案中,采用优先靶向不利微生物的抗微生物剂。

[0112] 在一些实施方案中，调节微生物丛组合物本身便足以允许受试者的内源性免疫系统响应于癌细胞的存在和或肿瘤生长。然而，在其它实施方案中，控制微生物丛组合物伴随着一种或多种其它癌症疗法。在一些实施方案中，控制微生物丛组成(例如同一性和/或水平)通过不依赖于一种或多种附加癌症治疗的机制来治疗癌症。在其它实施方案中，调节微生物丛组成促进了癌症治疗(例如增加其有效性)。在一些实施方案中，一种或多种癌症治疗增强了调节微生物丛组成的有效性。除非特定指出，否则本文中的实施方案不受癌症治疗的类型(例如，手术、辐射、免疫疗法、化学治疗剂等)限制。

[0113] 在一些实施方案中，免疫疗法癌症治疗涵盖阻断免疫抑制受体，例如使用针对CTLA-4和PD-1/PD-L1的单克隆抗体(mAb)(Wolchok,J.D.等,The New England Journal of Medicine 369,122-133(2013);Topalian,S.L.等,Journal of clinical oncology 32,1020-1030(2014);Topalian,S.L.等,The New England journal of medicine 366,2443-2454(2012);Hodi,F.S.等,The New England journal of medicine 363,711-723(2010);以全文引用的方式并入本文中)。

[0114] 在一些实施方案中，免疫疗法包括施用免疫检查点抑制剂。免疫检查点抑制泛指抑制癌细胞可能产生的检查点从而预防或下调免疫反应。免疫检查点蛋白质的实例包括但不限于CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。免疫检查点抑制剂可以是结合并且抑制免疫检查点蛋白的抗体或其抗原结合片段。免疫检查点抑制剂的实例包括但不限于尼鲁单抗、喷罗珠单抗、皮地珠单抗、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、BMS-936558、MK-3475、CT O1 1、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012和STI-A1010。在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂可以经由注射(例如，静脉内、肿瘤内、皮下或至淋巴结中)施用，但还可以口服、经局部或经由气雾剂施用。

[0115] 在一些实施方案中，调节受试者体内的微生物丛的组合物和/或方法克服了癌细胞、肿瘤、肿瘤微环境等的免疫侵袭。在一些实施方案中，采用一种或多种附加癌症免疫疗法(例如，同时或连续)以利用诱导免疫反应性处理的细胞/肿瘤。合适的免疫疗法可以包括但不限于：基于细胞的疗法(例如树突状细胞或T细胞疗法等)、单克隆抗体(mAb)疗法(例如，裸mAb、结合mAb)、细胞因子疗法(例如，干扰素、白介素等)、辅助疗法(例如聚糖-K)等。

[0116] 可用于本文中所公开的组合物和方法中，具体来说用于免疫疗法(但不限于此)中的抗体的实例包括但不限于抗体，诸如曲妥珠单抗(抗HER2/neu抗体)；帕妥珠单抗(抗HER2 mAb)；西妥昔单抗(针对表皮生长因子受体EGFR的嵌合单克隆抗体)；帕尼单抗(抗EGFR抗体)；尼妥珠单抗(抗EGFR抗体)；扎鲁木单抗(抗EGFR mAb)；奈昔木单抗(Necitumumab)(抗EGFR mAb)；MDX-210(人源化抗HER-2双特异性抗体)；MDX-210(人源化抗HER-2双特异性抗体)；MDX-447(人源化抗EGF受体双特异性抗体)；利妥昔单抗(嵌合鼠类/人抗CD20 mAb)；奥妥珠单抗(抗CD20 mAb)；奥法木单抗(Ofatumumab)(抗CD20 mAb)；托西莫单抗-1131(抗CD20mAb)；替伊莫单抗(抗CD20 mAb)；贝伐珠单抗(抗VEGF mAb)；雷莫芦单抗(抗VEGFR2 mAb)；雷珠单抗(抗VEGF mAb)；阿柏西普(Aflibercept)(与IgG1Fc融合的VEGFR1和VEGFR2细胞外域)；AMG386(与IgG1Fc融合的血管生成素-1和血管生成素-2结合肽)；达洛珠单抗(抗IGF-1R mAb)；吉妥单抗奥佐米星(抗CD33 mAb)；阿仑单抗(抗Campath-1/CD52 mAb)；贝伦妥单抗维多汀(抗CD30 mAb)；卡妥索单抗(靶向上皮细胞粘附分子和CD3的双特异性

mAb)；那妥莫单抗(抗5T4 mAb)；吉瑞昔单抗(Girentuximab)(抗碳酸酐酶ix)；或法妥珠单抗(Farletuzumab)(抗叶酸受体)。其它实例包括抗体，诸如Panorex™(17-1A)(鼠类单克隆抗体)；Panorex(@(17-1A))(嵌合鼠类单克隆抗体)；BEC2(抗受试者基因型mAb，GD表位的模拟物)(与BCG)；Oncolym(Lym-1单克隆抗体)；SMART M195 Ab，人源化13'1LYM-1(Oncolym)。Ovarex(B43.13，抗受试者基因型小鼠mAb)；3622W94 mAb，其结合腺癌上的EGP40(17-1A)全癌抗原；Zenapax(SMART Anti-Tac(IL-2受体)；SMART M195 Ab，人源化Ab，人源化)；NovoMAb-G2(全癌特异性Ab)；TNT(针对组蛋白抗原的嵌合mAb)；TNT(针对组蛋白抗原的嵌合mAb)；Gliomab-H(单克隆人源化Ab)；GNI-250 Mab；EMD-72000(嵌合EGF拮抗剂)；LymphoCide(人源化IL.L.2抗体)；以及MDX-260双特异性，靶标GD-2、ANA Ab、SMART IDIO Ab、SMART ABL 364 Ab或ImmuRAIT-CEA。

[0117] 在一些实施方案中，作为共同疗法与本文中所描述的微生物丛调节一起使用的免疫疗法直接或间接地靶向以下项中的一项或多项：调控T细胞、骨髓抑制细胞或树突状细胞。在另一方面，免疫疗法特异性地靶向以下分子之一：CD4；CD25(IL-2α受体；IL-2αR)；细胞毒性T淋巴细胞抗原4(CTLA-4；CD152)；白介素10(IL-10)；转化生长因子β受体(TGF-βR)；转化生长因子β(TGF-β)；程序化死亡因子1(PD-1)；程序化死亡因子1配体(PD-L1或PD-L2)；核因子κB受体活化因子(RANK)；核因子κB受体活化因子(RANK)配体(RANKL)；LAG-3；糖皮质激素诱导肿瘤坏死因子受体家族相关基因(GITR；TNFRSF18)；或白介素4受体(IL-4R)。在一些实施方案中，免疫疗法充当增加所靶向的分子的功能的激动剂。在其它实施方案中，免疫疗法是抑制所靶向的分子的功能的拮抗剂。

[0118] 在一些实施方案中，作为共同疗法与本文中所描述的微生物丛调节一起使用的免疫疗法直接或间接地靶向以下项中的一项或多项：特定细胞因子、细胞因子受体、共刺激分子、共抑制分子或调节免疫系统的免疫调节受体。在另一方面，通过与微生物丛调节一起共同治疗来靶向以下分子之一：肿瘤坏死因子(TNF)超家族；肿瘤坏死因子α(TNF-α)；肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族；白介素12(IL-12)；IL-12受体；4-1BB(CD137)；4-1BB配体(4-1BBL；CD137L)；OX40(CD134；TNR4)；OX40配体(OX40L)；CD40；CD40配体(CD40L)；CTLA-4；程序化死亡因子1(PD-1)；PD-1配体I(PD-L1；B7-H1)；或PD-1配体2(PD-L2；B7-DC)；B7家族；B7-1(CD80)；B7-2(CD86)；B7-H3；B7-H4；GITR/AITR；GITRL/AITRL；BTLA；CD70；CD27；LIGHT；HVEM:Toll样受体(TLR)(TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10)。

[0119] 在一些实施方案中，调节受试者体内的微生物丛的组合物和/或方法使癌细胞和/或肿瘤对一种或多种化学治疗剂的治疗敏感。在一些实施方案中，使用一种或多种化学疗法加上微生物丛调节(例如同时或连续)以利用所诱导的化学治疗剂敏感性。在其它实施方案中，提供了一种或多种化学治疗剂作为与微生物丛调节一起的共同疗法，其中在微生物丛调节与该化学疗法之间有或无(已知)协同作用。

[0120] 在一些实施方案中，适用于本文中所描述的组合物和方法中(例如，与β-连锁蛋白抑制剂一起共同施用)的示例性抗癌剂包括但不限于：1)生物碱，包括微管抑制剂(例如长春新碱、长春花碱和长春地辛等)、微管稳定剂(例如，太平洋紫杉醇(Taxol)和多烯紫杉醇等)和染色质功能抑制剂，包括拓扑异构酶抑制剂，诸如表鬼臼毒素(例如依托泊苷(VP-16)和替尼泊苷(VM-26)等)以及靶向拓扑异构酶I的药剂(例如喜树碱和伊立替康(CPT-11)等)；2)共价DNA结合剂(烷基化剂)，包括氮芥类(例如，甲二氯二乙胺、苯丁酸氮芥、环磷酰

胺、异环磷酰胺和白消安(MYLERAN)等)、亚硝基脲(例如,卡莫司汀、洛莫司汀和司莫司汀等)以及其它烷基化剂(例如达卡巴嗪、羟甲基三聚氰胺、噻替派和丝裂霉素等);3)非共价DNA结合剂(抗肿瘤抗生素),包括核酸抑制剂(例如,更生霉素(放线菌素D)等)、蒽环类(例如,道诺霉素(道诺霉素和司比定)、多柔比星(阿霉素)和伊达比星(伊达米星)等)、蒽二酮(例如,蒽环类似物,诸如米托蒽醌等)、博莱霉素(BLENOXANE)等和普卡霉素(光神霉素)等;4)抗代谢物,包括抗叶酸剂(例如,氨甲蝶呤、FOLEX和MEXATE等)、嘌呤抗代谢剂(例如,6-巯基嘌呤(6-MP、PURINETHOL)、6-硫鸟嘌呤(6-TG)、咪唑硫嘌呤、阿昔洛韦、更昔洛韦、氯脱氧腺苷、2-氯脱氧腺苷(CdA)和2'-脱氧柯福霉素(喷司他丁)等)、嘧啶拮抗剂(例如,氟嘧啶(例如,5-氟尿嘧啶(ADRUCIL)、5-氟脱氧尿嘧啶(FdUrd)(氟尿苷))等)和胞嘧啶阿糖苷(例如,CYTOSAR(ara-C)和氟达拉滨等);5)酶,包括L-天冬酰胺酶和羟基脲等;6)激素,包括糖皮质激素、抗雌激素(例如他莫西芬等)、非类固醇类抗雄激素(例如,氟他胺等)和芳香酶抑制剂(例如,阿那曲唑(ARIMIDEX)等);7)铂化合物(例如,顺铂和卡铂等);8)单克隆抗体(例如,与抗癌药、毒素和/或放射性核素等缀合;中和抗体;等);9)生物反应调节剂(例如,干扰素(例如IFN-α等)和白介素(例如,IL-2等)等);10)过继性免疫疗法;11)造血生长因子;12)诱导肿瘤细胞分化的药剂(例如,全反式视黄酸等);13)基因疗法技术;14)反义疗法技术;15)肿瘤疫苗;16)针对肿瘤转移的疗法(例如巴马司他等);17)血管生成抑制剂;18)蛋白体抑制剂(例如VELCADE);19)乙酰化和/或甲基化抑制剂(例如HDAC抑制剂);20)NFκB调节剂;21)细胞周期调控抑制剂(例如CDK抑制剂);和22)p53蛋白质功能调节剂。

[0121] 在一些实施方案中,本文中的组合物和方法包括多种癌症治疗和/或预防模式。在一些实施方案中,有益微生物与益生剂和/或促进有益微生物生长的其它药剂一起提供/施用(例如,通过益生组合物、粪便移植等)。在一些实施方案中,有益微生物与旨在杀死不利微生物或抑制其生长的抗微生物剂(例如,抗生素)一起提供/施用(例如,通过益生组合物、粪便移植等)。在一些实施方案中,益生剂和/或促进有益微生物生长的其它药剂与旨在杀死不利微生物或抑制其生长的抗微生物剂(例如,抗生素)一起提供/施用。在一些实施方案中,有益微生物、益生剂和/或促进有益微生物生长其它药剂与旨在杀死不利微生物或抑制其生长的抗微生物剂(例如,抗生素)一起共同施用。

[0122] 在一些实施方案中,共同施用的药剂被配制至单个剂量和/或组合物中。在一些实施方案中,共同施用的药剂处于独立的剂量和/或组合物中。在施用独立的剂量和/或组合物的一些实施方案中,所述剂量和/或组合物是同时、连续或间隔一定时间跨度(例如,<30分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周或更久或介于其之间的任何合适的范围)施用。

[0123] 在一些实施方案中,有益微生物、益生剂和/或促进有益微生物生长的其它药剂、旨在杀死不利微生物或抑制其生长的抗微生物剂(例如,抗生素)或以上所提到的其组合中的任一种与癌症疗法一起施用。在调节微生物丛本身提供了癌症治疗的实施方案中,合适的共同疗法包括免疫疗法、化学疗法、手术(例如,肿瘤去除)、辐射等。在调节微生物丛使受试者或肿瘤微环境对特定癌症疗法(例如,免疫疗法、化学疗法等)敏感的其它实施方案中,施用特定癌症疗法(例如,视情况加上一种或多种不直接通过所述调节使受试者敏感的其它癌症疗法)。

[0124] 在一些实施方案中,微生物丛调节作为共同疗法(例如,化学疗法、免疫疗法等)与

一种或多种靶向和/或结合特定癌症或肿瘤细胞标记物的附加疗法一起提供。此类标记可以选自包括但不限于表皮生长因子受体(EGFR、EGFR1、ErbB-1、HER1)的组。ErbB-2(HER2/neu)、ErbB-3/HER3、ErbB-4/HER4、EGFR配体家族;胰岛素样生长因子受体(IGFR)家族、IGF结合蛋白(IGFBP)、IGFR配体家族(IGF-1R);血小板衍生生长因子受体(PDGFR)家族、PDGFR配体家族;成纤维细胞生长因子受体(FGFR)家族、FGFR配体家族、血管内皮生长因子受体(VEGFR)家族、VEGF家族;HGF受体家族;TRK受体家族;肝配蛋白(EPH)受体家族;AXL受体家族;白细胞酪氨酸激酶(LTK)受体家族;TIE受体家族血管生成素1、血管生成素2;受体酪氨酸激酶样孤儿受体(ROR)受体家族;盘状结构域受体(DDR)家族;RET受体家族;KLG受体家族;RYK受体家族;MuSK受体家族;转化生长因子α(TGF-α)、TGF-α受体;转化生长因子β(TGF-β)、TGF-β受体;白介素β受体α2链(IL13Rα2)、白介素6(IL-6)、IL-6受体、白介素4、IL-4受体、细胞因子受体、I类(造血素家族)和II类(干扰素/IL-10家族)受体、肿瘤坏死因子(TNF)家族、TNF-α、肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族(TNTRSF)、死亡受体家族、TRAIL受体;睾丸癌(CT)抗原、谱系特异性抗原、分化抗原、α-肌动蛋白4、ARTC1、断裂点丛集区-艾贝尔逊(Bcr-abl)融合产物、B-RAF、凋亡蛋白酶5(CASP-5)、凋亡蛋白酶8(CASP-8)、β连锁蛋白(CTNNB1)、细胞分裂周期27(CDC27)、周期素依赖性激酶4(CDK4)、CDKN2A、COA-1、dek-can融合蛋白、EFTUD-2、延长因子2(ELF2)、Ets变异基因6/急性髓细胞性白血病1基因ETS(ETC6-AML1)融合蛋白、纤连蛋白(FN)、GPNMB、低密度脂质受体/GDP-L岩藻糖;β-D-半乳糖2-α-L-岩藻糖基转移酶(LDLR/FUT)融合蛋白、HLA-A2、MLA-A11、热休克蛋白70-2突变(HSP70-2M)、KIAA0205、MART2、黑色素瘤泛在突变蛋白1、2、3(MUM-1、MUM-2、MUM-3)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)、neo-PAP、1类肌球蛋白、NFYC、OGT、OS-9、pml-RARα融合蛋白、PRDX5、PTPRK、K-ras(KRAS2)、N-ras(NRAS)、HRAS、RBAF600、SIRT12、SNRPD1、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、磷酸丙糖异构酶、BAGE、BAGE-1、BAGE-2、BAGE-3、BAGE-4、BAGE-5、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GnT-V(异常N-乙酰基葡糖氨基转移酶V、MGAT5)、HERV-K MEL、KK-LC、KM-HN-1、LAGE、LAGE-1、黑色素瘤上的CTL识别抗原(CAMEL)、MAGE-A1(MAGE-1)。MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-AS、MAGE-A6、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10。MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-3、MAGE-B1、MAGE-B2、MAGE-B5。MAGE-B6、MAGE-C1、MAGE-C2、粘蛋白1(MUC1)、MART-1/Melan-A(MLANA)、gp100、gp100/Pme117(S1LV)、酪氨酸酶(TYR)、TRP-1、HAGE、NA-88、NY-ESO-1、NY-ESO-1/LAGE-2、SAGE、Sp17。SSX-1、SSX-2、SSX-3、SSX-4、TRP2-1NT2、癌胚抗原(CEA)、激肽释放酶4、乳房球蛋白-A、OA1、前列腺特异性抗原(PSA)、前列腺特异性膜抗原、TRP-1/,75。TRP-2亲脂素、黑色素瘤中不存在的干扰素诱导蛋白2(AIM-2)。BING-4、CPSF、周期素D1、上皮细胞粘附分子(Ep-CAM)、EpbA3、成纤维细胞生长因子5(FGF-5)、糖蛋白250(gp250)、肠羧基酯酶(iCE)、α-甲胎蛋白(AFP)、M-CSF、mdm-2、MUCI、p53(TP53)、PBF、PRAME、PSMA、RAGE-1、RNF43、RU2AS、SOX10、STEAP1、存活素(BIRCS)、人端粒酶逆转录酶(hTERT)、端粒酶、韦尔姆斯氏肿瘤基因(WT1)、SYCP1、BRDT、SPANX、XAGE、ADAM2、PAGE-5、LIP1、CTAGE-1、CSAGE、MMA1、CAGE、BORIS、HOM-TES-85、AF15q14、HCA66I、LDHC、MORC、SGY-1、SPO11、TPX1、NY-SAR-35、FTHLI7、NXF2TDRD1、TEX 15、FATE、TPTE、免疫球蛋白独特型、本琼氏蛋白、雌激素受体(ER)、雄激素受体(AR)、CD40、CD30、CD20、CD19、CD33、CD4、CD25、CD3、癌症抗原72-4(CA 72-4)、癌症抗原15-3(CA 15-3)、癌症抗原27-29(CA 27-29)、癌症抗原125(CA 125)、癌症抗原19-9(CA 19-9)、β-人绒毛膜促性腺激素、1-2微球蛋白、鳞

状细胞癌抗原、神经元特异性烯醇酶、热休克蛋白gp96。GM2、沙格司亭、CTLA-4、707丙氨酸脯氨酸(707-AP)、T细胞识别的腺癌抗原4(ART-4)、癌胚抗原肽1(CAP-1)、钙激活的氯离子通道2(CLCA2)、亲环素B(Cyp-B)、人印戒细胞肿瘤2(HST-2)等。

[0125] 可以用本文中所描述的组合物和方法治疗的癌症的非限制性实例包括但不限于：来自于膀胱、血液、骨、骨髓、脑、乳房、结肠、食道、胃肠、齿龈、头、肾脏、肝脏、肺、鼻咽、颈、卵巢、前列腺、皮肤、胃、睾丸、舌或子宫的癌细胞。另外，具体来说，癌症可以属于以下组织学类型，但不限于这些：恶性赘生物；癌瘤；未分化癌瘤；巨细胞癌和梭形细胞癌；小细胞癌；乳头状癌；鳞状细胞癌；淋巴上皮癌；基底细胞癌；毛发基质癌；移行细胞癌；乳头状移行细胞癌；腺癌；恶性胃泌素瘤；肝胆管型肝癌；肝细胞癌；组合型肝细胞癌和肝胆管癌；梁索型腺癌；腺样囊性癌；腺瘤性息肉腺癌；家族性结肠息肉腺癌；实体癌；恶性类癌肿瘤；细支气管肺泡腺癌；乳头状腺癌；嫌色细胞癌；嗜酸细胞癌；嗜酸性腺癌；嗜碱性细胞癌；透明细胞腺癌；颗粒细胞癌；滤泡状腺癌；乳头状和滤泡状腺癌；非包囊性硬化性癌；肾上腺皮层癌；卵巢内膜样癌；皮肤附属器癌；顶泌腺癌；脂肪腺癌；耵聍腺癌；粘液表皮样癌；囊腺癌；乳头状囊腺癌；乳头状浆液性囊腺癌；粘液性囊腺癌；粘液性腺癌；印戒细胞癌；浸润导管癌；髓样癌；小叶癌；炎性癌；乳腺柏哲德氏病；腺泡细胞癌；腺鳞癌；腺癌w/鳞状化生；恶性胸腺瘤；恶性卵巢基质肿瘤；恶性卵泡膜细胞瘤；恶性粒层细胞瘤；和恶性成神经细胞瘤；足细胞癌；恶性莱氏细胞瘤；恶性脂质细胞肿瘤；恶性副神经节瘤；恶性乳腺外副神经节瘤；嗜铬细胞瘤；血管球肉瘤；恶性黑色素瘤；无黑色素性黑色素瘤；浅表扩散性黑色素瘤；巨大色素痣内恶性黑色素瘤；上皮样细胞黑色素瘤；恶性蓝痣；肉瘤；纤维肉瘤；恶性纤维组织细胞瘤；粘液肉瘤；脂肪肉瘤；平滑肌肉瘤；横纹肌肉瘤；胚胎性横纹肌肉瘤；腺泡状横纹肌肉瘤；基质肉瘤；恶性混合瘤；缪勒氏管混合瘤；肾胚细胞瘤；肝胚细胞瘤；癌肉瘤；恶性间充质瘤；恶性布伦纳氏肿瘤；恶性叶状肿瘤；滑膜肉瘤；恶性间皮瘤；无性细胞瘤；胚胎癌；恶性畸胎瘤；恶性卵巢甲状腺瘤；绒毛膜癌；恶性中肾瘤；血管肉瘤；恶性血管内皮瘤；卡波西氏肉瘤；恶性血管外皮瘤；淋巴管肉瘤；骨肉瘤；近皮质骨肉瘤；软骨肉瘤；恶性软骨胚细胞瘤；间胚叶性软骨肉瘤；骨巨细胞瘤；尤因氏肉瘤；恶性牙原性肿瘤；成釉细胞性牙肉瘤；恶性成釉细胞瘤；成釉细胞性纤维肉瘤；恶性松果体瘤；脊索瘤；恶性神经胶质瘤；室管膜瘤；星形细胞瘤；原浆性星形细胞瘤；纤维型星形细胞瘤；星形胚细胞瘤；成胶质细胞瘤；寡枝神经胶质瘤；寡突成胶质细胞瘤；原始神经外胚层肿瘤；小脑肉瘤；节细胞成神经细胞瘤；成神经细胞瘤；成视网膜细胞瘤；嗅神经源性肿瘤；恶性脑膜瘤；神经纤维肉瘤；恶性神经鞘瘤；恶性颗粒细胞肿瘤；恶性淋巴瘤；霍奇金氏病；霍奇金氏淋巴瘤；类肉芽肿；小淋巴细胞恶性淋巴瘤；扩散性大细胞恶性淋巴瘤；滤泡性恶性淋巴瘤；蕈样真菌病；其它指定非霍奇金氏淋巴瘤；恶性组织细胞病；多发性骨髓瘤；肥大细胞肉瘤；免疫增生性小肠病；白血病；淋巴样白血病；浆细胞性白血病；红白血病；淋巴肉瘤细胞性白血病；髓细胞性白血病；嗜碱细胞性白血病；嗜酸细胞性白血病；单核细胞性白血病；肥大细胞白血病；巨核胚细胞性白血病；骨髓肉瘤；以及毛细胞白血病。在一些实施方案中，所述癌症是黑色素瘤(例如转移性恶性黑色素瘤)、肾癌(例如透明细胞癌)、前列腺癌(例如激素难治性前列腺腺癌)、胰腺癌(例如腺癌)、乳腺癌、结肠癌、胆囊癌、肺癌(例如非小细胞肺癌)、食道癌、头颈鳞状细胞癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、甲状腺癌、成胶质细胞瘤、神经胶质瘤、白血病、淋巴瘤以及其它赘生性恶性病。在一些实施方案中，所述癌症是实体肿瘤癌。

[0126] 在一些实施方案中，本文中所提供的方法涉及白血病的治疗和/或预防。术语“白血病”在广义上意指造血器官/系统的进行性恶性疾病，而且一般以血液和骨髓中的白细胞和其前体细胞的畸态增殖和发育为特征。白血病的非限制性实例包括急性非淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、急性粒细胞性白血病、慢性粒细胞性白血病、急性早幼粒细胞性白血病、成人T细胞白血病、非白血性白血病、白血性白血病、嗜碱细胞性白血病、胚细胞白血病、牛白血病、慢性髓细胞性白血病、皮肤白血病、胚细胞性白血病、嗜酸细胞性白血病、格罗斯氏白血病、里德尔细胞白血病、希林氏白血病、干细胞性白血病、亚白血性白血病、未分化细胞性白血病、毛细胞性白血病、成血细胞性白血病、血胚细胞性白血病、组织细胞性白血病、干细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、白细胞减少性白血病、淋巴性白血病、成淋巴细胞性白血病、淋巴细胞性白血病、淋巴原性白血病、淋巴样白血病、淋巴肉瘤细胞性白血病、肥大细胞性白血病、巨核细胞性白血病、小原粒细胞性白血病、单核细胞性白血病、成髓细胞性白血病、髓细胞性白血病、骨髓粒细胞性白血病、骨髓单核细胞性白血病、内格利氏白血病、浆细胞白血病、浆细胞性白血病和早幼粒细胞性白血病。

[0127] 在一些实施方案中，本文中所提供的方法涉及癌瘤的治疗和/或预防。术语“癌瘤”是指由倾向于浸润周围组织和/或抵抗生理和非生理细胞死亡信号并且引起转移的上皮细胞组成的恶性生长。非限制性示例性癌瘤类型包括腺泡癌、腺泡状癌、囊性腺样癌、腺样囊性癌、腺癌、肾上腺皮质癌、肺泡癌、肺泡细胞癌、基底细胞癌、基质细胞癌、基底细胞样癌、基底鳞状细胞癌、细支气管肺泡癌、细支气管癌、支气管癌、髓样癌、胆管细胞癌、绒毛膜癌、胶样癌、粉刺状癌、子宫体癌、筛状癌、铠甲状癌、皮肤癌、柱状癌、柱状细胞癌、导管癌、硬癌、胚胎癌、类脑癌、类上皮癌、腺状上皮癌、外植体癌、溃疡性癌、纤维癌、胶样癌、胶状癌、巨细胞癌、印戒细胞癌、单纯癌、小细胞癌、马铃薯状癌、球状细胞癌、梭形细胞癌、海绵样癌、鳞状癌、鳞状细胞癌、绳捆癌、毛细管扩张癌、毛细管扩张性癌、移行细胞癌、结节癌、结节性癌、疣状癌、绒毛状癌、巨细胞癌、腺癌、粒层细胞癌、毛发基质癌、血样癌、肝细胞癌、许特耳细胞癌、透明癌、肾上腺样癌、幼稚型胚胎性癌、原位癌、表皮内癌、上皮内癌、克龙派切尔氏癌、库尔契茨基细胞癌、大细胞癌、豆样癌、豆状癌、脂瘤样癌、淋巴上皮癌、髓样癌、髓质癌、黑色素癌、软癌、粘蛋白样癌、粘蛋白癌、粘液细胞癌、粘液表皮样癌、粘液癌、粘液样癌、粘液瘤样癌、鼻咽癌、燕麦细胞癌、骨化性癌、骨样癌、乳头状癌、门静脉周癌、侵袭前癌、棘细胞癌、软糊状癌、肾脏的肾细胞癌、储备细胞癌、肉瘤样癌、施奈德癌、硬化性癌和阴囊癌。

[0128] 在一些实施方案中，本文中所提供的方法涉及肉瘤的治疗和/或预防。术语“肉瘤”一般是指由胚性结缔组织样物质组成的肿瘤，而且一般由嵌入纤丝状非均质或均质物质中的紧密堆积细胞构成。肉瘤包括但不限于软骨肉瘤、纤维肉瘤、淋巴肉瘤、黑色素肉瘤、粘液肉瘤、骨肉瘤、子宫内膜肉瘤、基质肉瘤、尤因氏肉瘤、筋膜肉瘤、成纤维细胞肉瘤、巨细胞肉瘤、阿贝美西氏肉瘤、脂肉瘤、脂质肉瘤、肺泡软部肉瘤、成釉细胞肉瘤、葡萄样肉瘤、绿色肉瘤、绒毛膜癌、胚胎性肉瘤、韦尔姆斯氏肿瘤肉瘤、粒细胞肉瘤、霍奇金氏肉瘤、特发性多发性色素性出血性肉瘤、B细胞免疫胚细胞肉瘤、淋巴瘤、T细胞免疫胚细胞肉瘤、詹逊氏肉瘤、卡波西氏肉瘤、库弗氏细胞肉瘤、血管肉瘤、白血病性肉瘤、恶性间叶瘤肉瘤、骨膜外肉瘤、网状红细胞性肉瘤、劳斯氏肉瘤、浆液囊性肉瘤、滑膜肉瘤和毛细血管扩张性肉瘤。

[0129] 可使用本文中所描述的方法治疗和/或预防的附加示例性瘤形成包括霍奇金氏

病、非霍奇金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、成神经细胞瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、横纹肌肉瘤、原发性血小板增多症、原发性巨球蛋白血病、小细胞肺肿瘤、原发性脑肿瘤、胃癌、结肠癌、恶性胰脏胰岛素瘤、恶性类癌瘤、癌前皮肤病变、睾丸癌、淋巴瘤、甲状腺癌、成神经细胞瘤、食道癌、泌尿生殖道癌、恶性血钙过多症、宫颈癌、子宫内膜癌和肾上腺皮质癌。

[0130] 在一些实施方案中，所治疗和/或预防的癌症是黑色素瘤。术语“黑色素瘤”被视为意指由皮肤和其它器官的黑色素细胞系统产生的肿瘤。黑色素瘤的非限制性实例是哈-帕二氏黑色素瘤(Harding-Passey melanoma)、青少年型黑色素瘤、雀斑样痣恶性黑色素瘤、恶性黑色素瘤、肢端痣样黑色素瘤、无黑色素性黑色素瘤、良性青少年型黑色素瘤、克劳德曼黑色素瘤、S91黑色素瘤、结节性黑色素瘤、甲下黑色素瘤和浅表性扩散性黑色素瘤。

[0131] 可使用本文中所描述的方法加以治疗和/或预防的特定肿瘤类别包括淋巴组织增生病症、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌、骨癌、肝癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、头颈癌、中枢神经系统癌、周围神经系统癌、皮肤癌、肾癌以及所有以上各项的转移。特定类型的肿瘤包括肝细胞癌、肝瘤、肝胚细胞瘤、横纹肌肉瘤、食道癌、甲状腺癌、成神经节细胞瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨原性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、尤因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹上皮内肉瘤、侵袭性导管癌、乳头状腺癌、黑色素瘤、肺鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌(高度分化、中度分化、不良分化或未分化)、细支气管肺泡癌、肾细胞癌、肾上腺样瘤、肾上腺样腺癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、韦尔姆斯氏瘤、睾丸肿瘤、肺癌(包括小细胞、非小细胞和大细胞肺癌)、膀胱癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成髓细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成视网膜细胞瘤、成神经细胞瘤、结肠癌、直肠癌、造血恶性病，包括所有类型的白血病和淋巴瘤，包括：急性髓细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、肥大细胞白血病、多发性骨髓瘤、髓细胞性淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤。

[0132] 在某些实施方案中，所预防和/或治疗的癌症还包括癌前病变，例如光化性角化病(日光性角化病)、胎块(发育不良痣)、光化性唇炎(农夫唇)、皮角、巴瑞特氏食道症、萎缩性胃炎、先天性角化不良、缺铁性吞咽困难、扁平苔癣、口腔粘膜下纤维化、光化性(日光性)弹性组织变性和宫颈非典型增生。

[0133] 在一些实施方案中，所预防和/或治疗的癌症包括非癌性或良性肿瘤，例如内胚层、外胚层或间质源肿瘤，包括但不限于胆管瘤、结肠息肉、腺瘤、乳头状瘤、囊腺瘤、肝细胞腺瘤、葡萄胎、肾小管腺瘤、鳞状细胞乳头状瘤、胃息肉、血管瘤、骨瘤、软骨瘤、脂肪瘤、纤维瘤、淋巴管瘤、平滑肌瘤、横纹肌瘤、星形细胞瘤、痣、脑膜瘤和节细胞神经瘤。

[0134] 本文中所描述的一些实施方案对治疗原本不响应于免疫治疗方法的肿瘤特别有用。在一些实施方案中，此类肿瘤对T细胞(例如，预防一种或多种T细胞类型(例如$CD8^+$T细胞)或抗原呈现细胞(例如，树突状细胞(例如$CD103^+$DC等)等的浸润)无反应(或具有减弱的反应)。在一些实施方案中，本文中所描述的组合物和方法得以用于治疗T细胞未针对肿瘤相关抗原进行适当预致敏的癌症。

[0135] 在一些实施方案中，提供了针对癌症、免疫逃避、癌症促进性微环境、恶性病促进性微环境等的一种或多种生物标记而测试来自于受试者的样品(例如，细胞、组织、细胞群体、肿瘤、血液、尿液、唾液等)的方法。此类生物标记可以包括核酸、小分子、蛋白质、肽等，

并且可以使用任何合适的测定技术加以检测。在一些实施方案中，本文中提供了直接或间接地检测癌细胞或肿瘤逃避免疫反应或免疫疗法的生物标记的基于DNA、RNA、小分子和/或蛋白质的诊断方法。本发明还提供了用于此类诊断目的的组合物、试剂和试剂盒。

[0136] 在一些实施方案中，在核酸(例如RNA)水平上检测生物标记。举例来说，测定样品中生物标记核酸(例如，mRNA)的存在或量(例如，以测定生物标记表达的存在或水平)。可以使用本领域技术人员已知的多种核酸技术对生物标记核酸(例如，RNA、扩增cDNA等)进行检测/定量，包括但不限于核酸测序、核酸杂交、核酸扩增(例如，通过PCR、RT-PCR、qPCR等)、微阵列、南方印迹(Southern blotting)和北方印迹(Northern blotting)、测序等。可以通过任何常规手段来检测未扩增或扩增的核酸。举例来说，在一些实施方案中，通过与经过可检测标记的探针杂交并且测量所产生的杂交物来检测核酸。核酸检测试剂可能经标过记(例如，荧光)或未经过标记，并且可以游离在溶液中或经过固定(例如，在珠粒、孔、表面、芯片等上)。

[0137] 在一些实施方案中，在蛋白质水平上检测生物标记。举例来说，测定样品中的生物标记蛋白的存在或量(例如，以测定生物标记表达的存在或水平或定位)。在一些实施方案中，提供了用于检测和/或定量生物标记蛋白的试剂。合适的试剂包括一级抗体(例如，结合生物标记者)、二级抗体(例如，结合一级抗体者)、抗体片段、适体等。蛋白质检测试剂可能经过标记(例如，荧光)或未经过标记，并且可以游离在溶液中或经过固定(例如，在珠粒、孔、表面、芯片等上)。

[0138] 在一些实施方案中，提供了包含例如本文中所描述的益生组合物或微生物丛移植组合物的试剂盒。试剂盒还可以包括说明书、癌症治疗、其它益生剂、用于增强微生物向受试者微生物丛中整合的药剂等。

[0139] 实验

[0140] 实施例1

[0141] 材料和方法：

[0142] 动物和肿瘤模型：从Jackson Laboratory或Taconic Farms获得C57BL/6小鼠。使用6至8周龄雌性小鼠。生成了C57BL/6衍生黑色素瘤细胞系B16.F10.SIY(在本文中称为B16.SIY)(Blank等，Cancer research 64，1140-1145(2004)；以全文引用的方式并入本文中)。对于肿瘤生长实验，对小鼠经皮下注射1×10^6个B16.SIY肿瘤细胞。每周两次测量肿瘤尺寸直至终点，并且将肿瘤体积测定为长度×宽度$^2\times0.5$。对于B16亲本肿瘤模型实验，对小鼠经皮下注射1×10^6个B16.F10肿瘤细胞。对于膀胱癌模型实验，对小鼠经皮下注射2×10^6个MB49细胞。所有实验动物程序都被芝加哥大学动物照护和使用委员会(University of Chicago Animal Care and Use Committee，IACUC)批准。

[0143] IFN-γ ELISPOT和SIY五聚体分析：在4℃下用经过纯化的αIFN-γ (BD)涂布Elispot培养盘(Millipore，MAIP S4510)过夜。在室温下用含10％FBS的DMEM将培养盘阻断2小时。以10^6个细胞/孔接种完整脾细胞，并且在37℃下用SIY肽刺激过夜。使用BD小鼠IFN-γ试剂盒(目录号552569)显现斑点，并且使用Immunospot Series 3分析器测量斑点数目并使用ImmunoSpot软件(Cellular Technology)进行分析。对于五聚体染色，用由鼠类H-$2K^b$与SIYRYYGL(SIY)肽或对照SIINFEKL肽的复合物组成的PE-MHC I类五聚体(Proimmune)标记细胞，并且用CD3-AX700(Ebioscience，17A2)、CD8-PacBlue(Biolegend，53-6.7)、CD4-

APC(Pharmingen,RM4-5)、CD62L-PECy7(Ebioscience,MEL-14)、CD44-FITC(BD,IM7)和Fixable Viability-ef780(Ebioscience)进行染色。使用LSR II细胞计数器与FACSDiva软件(BD)分析被染色的细胞。利用FlowJo软件(Tree Star)进行数据分析。

[0144] 粪便转移和αPD-L1 mAb免疫疗法:在抵达我们的实验室后从JAX和TAC来源的小鼠收集粪粒,并且使每一个粪粒再悬浮于1ml磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)中。将得自于每一个粪粒的上清液用于对两只受体小鼠进行口服管饲,每次管饲100μl。对于预防性粪便转移实验,每周一次对小鼠管饲JAX或TAC粪便悬浮液,持续两周,随后进行肿瘤接种。对于治疗性粪便转移实验,在肿瘤植入后第7天和第14天对小鼠进行管饲。对于组合疗法实验,在肿瘤植入后第7天、第10天、第13天和第16天另外经腹膜内对小鼠注射含100μgαPD-L1mAb(BioXCell)的100μl PBS。

[0145] 微生物DNA分析:使用PowerSoil®-htp 96孔Soil DNA分离试剂盒(MoBio目录号12955-4)从鼠类粪粒中提取细菌DNA。扩增16S rRNA编码基因的V4-V5区(earthmicrobiome.org/emp-standard-protoco ls/;Earth Microbiome Project,2011),并且在阿尔贡国立实验室的高通量基因组分析中心进行测序。使用微生物生态学定量洞察(Quant itative Insights Into Microbial Ecology,QIIME)对序列进行裁剪和分类(Caporaso等,Bioinformatics 26,266-267(2010);以全文引用的方式并入本文中);具体来说,针对Greengenes数据库(05/13发布)以97%序列同一性使用开放参考OTU拣选方案(McDonald等,The ISME journal 6,610-618(2012);以全文引用的方式并入本文中)。使用P YNAST来比对序列(Caporaso等,Nat Meth 7,335-336(2010);以全文引用的方式并入本文中),并且使用RDP分类器进行分类群分配(W ang等,Appl Environ Microbiol 73,5261-5267(2007);以全文引用的方式并入本文中)。使用加权和未加权的UniFrac距离来比较群落结构(Lozupone等,Appl Environ Microbiol 71,8228-8235(2005);以全文引用的方式并入本文中)。进行G检验以测定粪便群落之间的细菌分类群发生的差异。生成了主坐标分析(PCoA)排序以直观比较β多样性,并且进行检验统计相似性分析(ANOSIM)以便对QIIME组内与组间相似性进行统计比较。

[0146] 细菌施用和热灭活:使冻干的双歧杆菌菌种(两叉双歧杆菌、长双歧杆菌、乳酸双歧杆菌和短双歧杆菌,Seeking Health)的混合液以5×10^9CFU/ml再悬浮于PBS中。在肿瘤接种后7天和14天通过口服管饲给与每一只小鼠200μl双歧杆菌(1×10^9CFU/小鼠)。通过使再水合的双歧杆菌在100℃下沸腾2小时来进行热灭活。将经过热处理的活的双歧杆菌连续稀释于还原PBS中,并且在缺氧条件下接种在还原的梭菌培养基(RCM)琼脂上。随后在缺氧室中将培养盘培育三天以测试杀死效力。在MRS肉汤中将鼠乳杆菌培养过夜,然后洗涤,并且以5×10^{10}CFU/ml再悬浮于PBS中。在肿瘤接种后7天和14天对每一只小鼠口服管饲100μl细菌悬浮液(5×10^9CFU/小鼠)。

[0147] 经过CFSE标记的2C $CD8^+$T细胞继承性转移:使用MACS CD8T细胞分离试剂盒(Miltenyi,目录号130-095-236)从天然CD45.1/.2^+2C TCR Tg小鼠的脾脏和淋巴结中分离出$CD8^+$T细胞,用2.5mM CFSE进行标记,并且经静脉内注射至来源于JAX或TAC的CD45.2^+C57BL/6小鼠中。24小时后,对小鼠经皮下接种1×10^6个B16.SIY黑色素瘤细胞。在继承性T细胞转移后七天,收集脾脏和肿瘤引流淋巴结,并且在布雷菲尔德菌素A存在下用SIY肽进行离体再刺激。用Fixable Viability-ef780(Ebioscience)、CD45.1-PerCPCy5.5

(Ebioscience,E20)、CD45.2-APC(Ebioscience,104)、CD3-AX700(Ebioscience,17A2)、CD8-BV711(Biolegend,53-6.7)、CD4-BV605(Biolegend,RM4-5)和IFN-γ-PE(BD,XMG1.2)对样品进行染色。在闸选过的CD45.1/.2^{+}2C CD8^{+}T细胞中通过流式细胞术评估细胞内IFN-γ产生和CFSE稀释。

[0148] 树突状细胞分选和基因表达剖析:每周一次对TAC小鼠管饲双歧杆菌,持续两周。对饲喂双歧杆菌的小鼠、新到的JAX小鼠和新到的TAC小鼠在两侧腹胁部经皮下接种5×10^{6}个经DRAQ5标记过的B16.SIY肿瘤细胞。肿瘤植入后40小时,在胶原蛋白酶(Worthington)中消化整个肿瘤(包括浸润免疫细胞),并且过滤至单种细胞悬浮液中。汇集来自于各组中的5只小鼠的样品,然后用Fixable Viability-ef506(Ebioscience)、CD45-AF488(Bioloegend,30-F11)、CD3-ef450(Ebioscience,145-2C11)、CD19-PB(Ebioscience,1D3)、I-A/I-E-PECy7(Biolegend,M5/114.15.2)、CD11c-PE(Ebioscience,N418)和CD11b-PerCpCy5.5(BD,M1/70)进行染色。使用FACSAriaIII(BD)将活的CD45^{+}CD3^{-}CD19^{-}MHCII^{hi}CD11c^{+}树突状细胞直接分选至RLT缓冲液(Qiagen)中,并且立即储存在干冰上。使用RNeasy®Micro试剂盒(Qiagen)分离出总RNA。将RNA提交至芝加哥大学的功能基因组学研究室以进行基因表达剖析。使用Agilent Bioanalyzer 2100评估RNA完整性和浓度,而且用于微阵列分析的所有RNA样品都具有RNA完整性数>9.0。使用Epicentre TargetAmp™ 2轮生物素-aRNA扩增试剂盒3.0(TAB2R71024)将总RNA处理成生物素化cRNA。使用Illumina提供的方案使cRNA与Illumina MouseRef8v2阵列杂交,并且使用Illumina HiScan进行扫描。然后使用R分析分位数正规化值和背景减除值。从分析中除去表达值低于10的基因。计算JAX样品相对于TAC和BIF样品相对于TAC之间的基因转录物水平的平均倍数变化,并且将两个比较中的倍数变化都超过1.5的基因(761个基因转录物)输入注解、可视化和整合发现(The Database for Annotation,Visualization and Integrated Discovery,DAVID)数据库v6.7中以用于途径分析。然后使用R软件将发现就免疫功能而言被显著富集($p<0.05$)的基因绘制在热图中。

[0149] 统计分析:使用双向ANOVA,利用用于比较两个组的Sidak氏测试后多重比较或用于比较超过两个组的Tukey氏测试后多重比较来分析肿瘤生长曲线。对于除肿瘤生长以外的比较,当比较两个组时使用Mann Whitney氏非参数T检验,而当比较超过两个组时使用单向ANOVA与Tukey氏测试后多重比较。$P<0.05$被视为统计上显著的,并且表示如下:$^{*}p<0.05$,$^{**}p<0.01$,$^{***}p<0.001$,$^{****}p<0.0001$。使用GraphPad PRISM进行统计分析。

[0150] 实施例2

[0151] 结果

[0152] 在开发本发明的实施方案期间进行了诸多实验,以检验正常微生物丛的菌种组成差异是否影响对体内正在生长的肿瘤的免疫反应。在来源于两个不同的小鼠研究室,即Jackson Laboratory(JAX)和Taconic Farms(TAC)并且已经被证明在其共生微生物方面有所不同的基因类似的C57BL/6小鼠中观察皮下B16.SIY黑色素瘤生长(Ivanov等,Cell 139,485-498(2009);以全文引用的方式并入本文中)。发现JAX和TAC小鼠表现出B16.SIY黑色素瘤生长速率存在显著差异,其中肿瘤生长在TAC小鼠中更具侵袭性(图1A)。为了评估这个差异是否是免疫介导的,评估肿瘤微环境中的肿瘤抗原特异性T细胞反应以及T细胞积聚。事实上,肿瘤特异性T细胞反应在JAX小鼠中显著较高(图1B和图1C),而且观察到肿瘤浸润T细

胞数目显著增加(图1D)。为了开始解决这个差异是否可能由共生微生物丛介导,将JAX和TAC小鼠共同圈养3周,然后进行肿瘤植入。发现共同圈养消除了两个小鼠群体之间在肿瘤生长(图1E)和免疫反应(图1F至图1H)方面的差异,从而支持环境影响。值得注意的是,TAC小鼠看似在共同圈养后获得了JAX表型,表明JAX小鼠可能移殖了主要有助于改善抗肿瘤免疫性的共生微生物。

[0153] 为了直接检验共生细菌在调节抗肿瘤免疫性方面的作用,在肿瘤植入前通过口服管饲将JAX粪便悬浮液或对照TAC粪便悬浮液转移至TAC受体中(图5A)。令人吃惊的是,发现将JAX粪便材料预防性转移至TAC受体中足以延迟肿瘤生长(图2A)并且增强了肿瘤特异性$CD8^+$T细胞的诱导和浸润(图2B至图2C和图5B),从而支持来源于微生物或微生物产物的作用。TAC粪便材料反转移至JAX受体中仅在肿瘤生长速率方面产生极小程度的增加,而且不显著改变抗肿瘤T细胞反应(图2A至图2C和图5B)。

[0154] 为了测试控制微生物群落作为疗法是否有效,我们向携带确定肿瘤的TAC小鼠施用了单独或与靶向PD-L1的抗体(αPD-L1)组合的JAX粪便材料。单独转移JAX粪便材料显著减缓了肿瘤生长(图2D),伴随着增加的肿瘤特异性T细胞反应(图2E)和抗原特异性T细胞向肿瘤中浸润(图2F),其程度与利用系统性αPD-L1 mAb的治疗相同。利用JAX粪便转移和αPDL1 mAb的组合治疗改善了肿瘤控制(图2D)和循环肿瘤抗原特异性T细胞反应(图2E),而对肿瘤微环境内的已激活的T细胞具有极小程度的附加效应(图2F)。与这些结果一致,与TAC小鼠相比,单独αPD-L1疗法在JAX小鼠中明显更有效(图2G),这个结果同时改善了抗肿瘤T细胞反应(图5C)。这些数据表明,共生微生物组合物可以影响自发抗肿瘤免疫性以及对利用αPD-L1 mAb的免疫疗法的反应。

[0155] 为了鉴别与保护性抗肿瘤免疫反应相关的特定细菌,我们使用16S核糖体RNA(rRNA)miSeq Illumina平台来比较获自TAC小鼠、JAX小鼠以及饲喂JAX的TAC小鼠和饲喂TAC的TAC小鼠的小鼠粪便细菌含量。总体来说,在TAC小鼠中鉴定了933.9±55.2个分类群,而在JAX小鼠中鉴定了653.4±60个分类群,说明获自JAX的小鼠中的菌种多样性减小。口服施用JAX粪便材料的TAC小鼠显示了与JAX小鼠类似的分类群多样性减小(706.6±117.9,p=0.006),而施用TAC粪便材料的TAC小鼠没有显示出多样性改变(895.7±118,p=1,图3A)。主坐标分析显示,所分析的得自于接受JAX粪便材料的TAC小鼠的粪便样品与得自于对照TAC小鼠的样品分开地共同聚类,并且更类似于获自JAX小鼠的样品(图3B)而且类似于获自假接种组和接种JAX粪便的JAX小鼠的样品(图8A)。相反,接种TAC的TAC小鼠相对于假接种TAC小鼠在菌落多样性方面没有变化(p=0.4,ANOSIM)。类似性分析证实,与给与TAC粪便材料的TAC小鼠(p=0.008)或获自TAC的小鼠(p=0.002)相比,饲喂JAX粪便材料的TAC小鼠彼此更类似。TAC粪便材料反转移至JAX宿主中导致统计上显著的菌落多样性变化(p=0.003,ANOSIM),但微生物位移距离却较小(图8A)。

[0156] 特定细菌分类群的比较分析显示,97个分类群在JAX小鼠中相对于TAC小鼠明显更丰富(FDR<0.05)(图8B),而且51个分类群在饲喂JAX的TAC小鼠中相对于饲喂TAC的TAC小鼠显著增加(p<0.05)。这两种比较之间只有32个分类群重迭,从而它们在JAX小鼠和饲喂JAX的TAC小鼠中具有更大丰度。观察到双歧杆菌具有显著相关性,其表明与抗肿瘤T细胞反应正相关而且在饲喂JAX的TAC小鼠中在相对丰度方面增加了超过400倍(图8C)。属于这些组中的若干组的成员相对于假接种或接种TAC的TAC小鼠在饲喂JAX的TAC小鼠中发生类似变

化(图8C)。这些包括来自于拟杆菌目S24-7科的若干个未鉴定的分类群、一个未指定的分类群和已鉴定菌属水平的四个分类群,都是厌氧革兰氏阳性细菌。其中,两个丰度差异最显著的分类群属于双歧杆菌属,其中JAX中的顶部双歧杆菌属分类群丰度相对于TAC高出200倍($p=0.001$),而且在饲喂JAX的小鼠中具有类似丰度,但在饲喂TAC的TAC小鼠中完全没有检测到($p=0.01$)(图3C)。组合属于双歧杆菌属的所有分类群的相对丰度的比较产生了类似结果(图6A)。鉴于先前已经描述了双歧杆菌与宿主免疫系统之间的相互作用(Lopez等,International journal of food microbiology 138,157-165(2010);Ménard等,Applied and Environmental Microbiology 74,660-666(2008);Dong等,Early human development 86,51-58(2010);以全文引用的方式并入本文中),预期这个菌属的成员代表JAX小鼠中观测到的有益抗肿瘤免疫作用的一个来源。

[0157] 在序列水平上,双歧杆菌操作分类单位OTU_681370证明了饲喂JAX的TAC小鼠中的相对丰度增加程度最大而且在所有排列中与抗肿瘤T细胞反应的相关性最强(图8D)。这个细菌还被鉴定为最类似于短双歧杆菌、长双歧杆菌和青春双歧杆菌(99%同一性)。为了测试双歧杆菌属某种(Bifidobacterium spp.)是否足以增加针对肿瘤的保护性免疫性,获得了双歧杆菌菌种的市售混合液(其包括短双歧杆菌和长双歧杆菌)并且通过口服管饲将这个单独或与αPD-L1组合施用至携带确定肿瘤的7个TAC受体。对粪便细菌含量的分析表明响应于双歧杆菌接种的最显著变化发生在双歧杆菌属中($p=0.0009$,FDR=0.015,非参数t检验),其中OTU_681370增加了120倍(图9A),表明市售接种物含有与JAX和饲喂JAX的TAC小鼠中所鉴定的分类群具有至少97%同一性的细菌。还可以通过定量PCR来检测双歧杆菌的增加(图9B)。

[0158] 经双歧杆菌处理过的小鼠与未经过双歧杆菌处理的对应物相比表现出明显改善的肿瘤控制(图8E),伴随着外周中的肿瘤特异性T细胞的强诱导(图8F)和肿瘤内的抗原特异性CD8+ T细胞的积累增加(图8G和图9C)。这些反应持续了若干周(图9D至图9E)。

[0159] 双歧杆菌饲喂的治疗效应在CD8消耗小鼠中被消除(图10A),表明该机制不是直接的,而是经由宿主抗肿瘤T细胞反应。口服施用前对细菌进行热灭活还消除了对肿瘤生长的治疗作用,而且将肿瘤特异性T细胞反应降至基线(图10B至图10D),表明抗肿瘤效应需要活的细菌。作为一种替代策略,测试获自ATCC的短双歧杆菌和长双歧杆菌菌株的治疗效果,这还表现出了明显改善的肿瘤控制(图11A)。向接种B16亲本肿瘤细胞或MB49膀胱癌细胞的TAC小鼠施用双歧杆菌还延迟了肿瘤长出(分别图11B和图11C)。向TAC小鼠口服施用鼠乳杆菌(其不属于饲喂JAX的小鼠中的过度呈现分类群)对肿瘤生长(图11D)或对肿瘤特异性T细胞反应(图11E)没有效果,表明抗肿瘤免疫性的调节取决于所施用的特定细菌。总的来说,这些数据表明了双歧杆菌是体内抗肿瘤免疫性的正调控剂。

[0160] 在接种双歧杆菌后,一个菌种小组与双歧杆菌同时被改变(ANOSIM,$p=0.003$,图12A),然而,其在很大程度上不类似于在JAX粪便施用下所观察到的变化。尽管观察到梭菌目以及丁酸酯产生菌种的成员在双歧杆菌接种后有所减少(约2至10倍),这可能表明对调控T细胞隔室的抑制作用,但在从JAX和TAC小鼠分离出来的肿瘤中的$CD4^+Foxp3^+$T细胞频率方面没有观测到差异(图12B)。因此,双歧杆菌不可能主要经由调节其它细菌的丰度而起作用。

[0161] 接下来评估是否发生双歧杆菌易位至肠系膜淋巴结、脾脏或肿瘤中,然而,在从管

饲双歧杆菌的携带肿瘤的小鼠分离出来的任何器官中都没有检测到双歧杆菌(图12C)。因此推断所观测的系统性免疫学影响的发生与细菌易位无关。

[0162] 为了测试双歧杆菌属某种是否足以增加针对肿瘤的保护性免疫性,我们通过口服管饲向携带7天确定肿瘤的TAC受体施用单独或与αPD-L1组合的四种双歧杆菌菌种的组合。经过双歧杆菌处理的小鼠与未经过双歧杆菌处理的对应物相比表现出明显改善的肿瘤控制(图3D),伴随着外周中的肿瘤特异性T细胞的强诱导(图3E)和肿瘤内的抗原特异性$CD8^+$T细胞的积累显著增加(图3F)。这种治疗效果在CD8消耗小鼠中被完全消除(图3G),表明该机制不是直接的,而是经由宿主抗肿瘤T细胞反应。口服施用前对细菌进行热灭活还消除了对肿瘤生长的治疗效果并且将肿瘤特异性T细胞反应降至基线(图6B至图6D),表明抗肿瘤效应需要活的细菌。向接种B16亲本肿瘤细胞或MB49膀胱癌细胞的TAC小鼠施用双歧杆菌还延迟了肿瘤长出(图6E至图6F)。向TAC小鼠口服施用鼠乳杆菌(其不属于JAX或饲喂JAX的小鼠中的过度呈现分类群)对肿瘤生长(图6G)或对肿瘤特异性T细胞反应(图6H)都没有效果,表明经由引入新细菌来调节共生细菌群落本身不诱导对肿瘤的免疫性,相反,免疫性取决于所施用的特定细菌。总的来说,数据将双歧杆菌鉴定为体内抗肿瘤免疫性的正调控剂。

[0163] 为了查询在JAX与TAC小鼠之间所观测的T细胞反应差异的基础机制,我们将经过CFSE标记的SIY特异性2C TCR Tg T细胞转移至携带肿瘤的小鼠中,并且测试其增殖并离体获取IFN-γ产生(图7A)。JAX小鼠中暴露于肿瘤的$CD8^+$SIY特异性2C TCR Tg T细胞与其在TAC小鼠中的对应物相比在肿瘤引流淋巴结中表现出类似的肿胀(图7B)。然而,其在携带肿瘤的JAX小鼠的肿瘤引流淋巴结和脾脏中产生了明显更多的IFN-γ(图4A和图4B),表明JAX环境中的T细胞上游信号增强了T细胞效应功能的获取。这些数据表明宿主树突状细胞(DC)水平上的T细胞上游免疫反应的改善。采用从JAX、TAC和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠分离出来的早期肿瘤浸润DC的基因组范围转录剖析(图13A)。总的来说,来源于JAX和经双歧杆菌处理过的TAC的DC中相对于来自于未处理的TAC小鼠的DC有761种基因转录产物上调≥1.5倍(图4C)。途径分析确定了细胞因子-细胞因子受体相互作用、T细胞活化和单核细胞增殖正调控是上调基因中的显著富集途径(图4C和图13B)。这些基因中有许多已经被证明对抗肿瘤反应非常重要,包括涉及以下项的那些基因:$CD8^+$T细胞活化和共刺激(H2-m2(MHC-I)、Cd40、Cd70、Icam1)(Mackey等,Journal of immunology(Baltimore,Md.:1950)161,2094-2098(1998);Scholer等,Immunity 28,258-270(2008);Bak等,Journal of immunology(Baltimore,Md.:1950)189,1708-1716(2012);以全文引用的方式并入本文中)、DC成熟(Relb、Ifngr2)(Pan等,Immunology letters 94,141-151(2004);Pettit等,Journal of immunology(Baltimore,Md.:1950)159,3681-3691(1997);以全文引用的方式并入本文中)、抗原处理和交叉呈现(Tapbp、Rab27a、Slc11a1)(Compeer等,Frontiers in Immunology 3,(2012);Jancic等,Nature cell biology 9,367-378(2007);Stober等,Infection and Immunity 75,5059-5067(2007);以全文引用的方式并入本文中)、趋化因子介导的免疫细胞募集至肿瘤微环境(Cxcl9、Cx3cl1、Cxcr4)(Kabashima等,The American Journal of Pathology 171,1249-1257(2007);Nukiwa等,European journal of immunology 36,1019-1027(2006);Zhang等,New England Journal of Medicine 348,203-213(2003);以全文引用的方式并入本文中)和I型干扰素信号传递(Irf1、Ifnar2、Oas2、Ifi35、Ifitm1)(Fuertes等,The Journal of experimental medicine 208,2005-

2016(2011);Woo等,Immunity 41,830-842 10;以全文引用的方式并入本文中)(图4D)。在体外经双歧杆菌刺激的来源于鼠类骨髓的DC中也强烈诱导了这些基因的表达。总的来说,这些数据表明来源于共生细菌(例如,来源于双歧杆菌)的信号调节先天抗原呈现细胞的活化,这又支持改善肿瘤抗原特异性$CD8^+$T细胞的激活。

[0164] 为了测试从TAC、JAX和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠分离出来的DC的功能差异是否可能足以解释体内观测的T细胞预致敏差异,从天然TAC、JAX和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠的淋巴组织中纯化出DC,并且检验其诱导经CFSE标记的$CD8^+SIY^-$特异性2C TCR Tg T细胞增殖和体外获取IFN-γ产生的能力。与从天然TAC小鼠中纯化出来的DC相比,从JAX和经双歧杆菌处理过的TAC小鼠纯化出来的DC在较低抗原浓度下诱导了2C T细胞增殖(图14A和图14B)。此外,在所有抗原浓度下,来源于JAX的DC都引发了升高水平的T细胞IFN-γ产生(图4E和图14A)。在向TAC小鼠口服施用双歧杆菌后观测到类似效应,然后进行DC分离(图4E和图14A)。总的来说,这些数据表明来源于共生双歧杆菌的信号调节稳态DC的激活,这又支持改善肿瘤抗原特异性$CD8^+$T细胞的效应功能。

[0165] 在开发本文中的实施方案期间进行的实验说明了共生微生物丛(例如双歧杆菌属)在增强抗肿瘤免疫性方面有出乎意料的作用。这些数据支持在靶向PD-1/PD-L1轴的抗体的自发性抗肿瘤免疫性和治疗效果方面的受试者间异质性的一个原因可能是肠微生物的特定组成,可以对所述组成加以控制以实现治疗效益。

[0166] 参考文献

[0167] 以下参考文献是以全文引用的方式并入本文中,其中一些已经在上文加以引用。

[0168] 1.Hodi et al.The New England journal of medicine 363,711-723(2010).

[0169] 2.Hamid et al.The New England journal of medicine 369,134-144(2013).

[0170] 3.Tumeh et al.Nature 515,568-571(2014).

[0171] 4.Spranger et al.Science translational medicine 5,200ra116(2013).

[0172] 5.Ji et al.Cancer immunology,immunotherapy:CII 61,1019-1031(2012).

[0173] 6.Gajewski et al.Cancerjoumal 16,399-403(2010).

[0174] 7.Mazmanian et al.Cell 122,107-118(2005).

[0175] 8.Round et al.Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107,12204-12209(2010).

[0176] 9.Ivanov et al.Cell 139,485-498(2009).

[0177] 10.Wu et al.Immunity 32,815-827(2010).

[0178] 11.Goto et al.Immunity 40,594-607(2014).

[0179] 12.Ganal et al.Immunity 37,171-186(2012).

[0180] 13.Abt et al.Immunity 37,158-170(2012).

[0181] 14.Iida et al.Science(New York.N.Y.)342,967-970(2013).

[0182] 15.Viaud et al.Science(New York,N.Y.)342,971-976(2013).

[0183] 16.Lopez et al.International journal of food microbiology 138,157-165(2010).

[0184] 17.Ménard et al.Applied and Environmental Microbiology 74,660-666(2008).

[0185] 18.Dong et al.Early human development 86,51-58(2010).

[0186] 19.Mackey et al.Journal of immunology(Baltimore,Md.:1950)161,2094-2098(1998).

[0187] 20.Scholer et al.Immunity 28,258-270(2008).

[0188] 21.Bak et al.Journal of immunology(Baltimore,Md.:1950)189,1708-1716(2012).

[0189] 22.Pan et al.Immunology letters 94,141-151(2004).

[0190] 23.Pettit et al.Journal of immunology(Baltimore,Md.:1950)159,3681-3691(1997).

[0191] 24.Compeer et al.Frontiers in Immunology 3,(2012).

[0192] 25.Jancic et al.Nature cell biology 9,367-378(2007).

[0193] 26.Stober et al.Infection and Immunity 75,5059-5067(2007).

[0194] 27.Kabashima et al.The American Joumal of Pathology 171,1249-1257(2007).

[0195] 28.Nukiwa et al.European journal of immunology 36,1019-1027(2006).

[0196] 29.Zhang et al.New England Journal of Medicine 348,203-213(2003).

[0197] 30.Fuertes et al.The Journal of experimental medicine 208,2005-2016(2011).

[0198] 31.Woo et al.Immunity 41,830-842 10.

[0199] 32.Blank et al.Cancer research 64,1140-1145(2004).

[0200] 33.Caporaso et al.Bioinformatics 26,266-267(2010).

[0201] 34.McDonald et al.The ISME journal 6,610-618(2012).

[0202] 35.Caporaso et al.Nat Meth 7,335-336(2010).

[0203] 36.Wang et al.Appl Environ Microbiol 7,5261-5267(2007).

[0204] 37.Lozupone et al.Appl Environ Microbiol 71,8228-8235(2005).

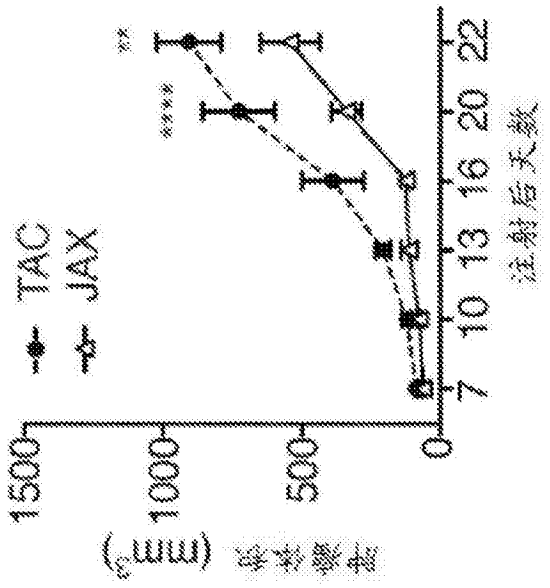

TAC
JAX
1500
1000
500
0
7
10
13
16
20
22
注射后天数

图1A

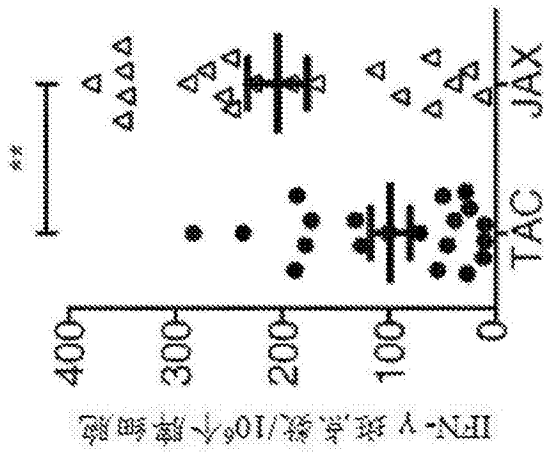

TAC
JAX
400
300
200
100
0

图1B

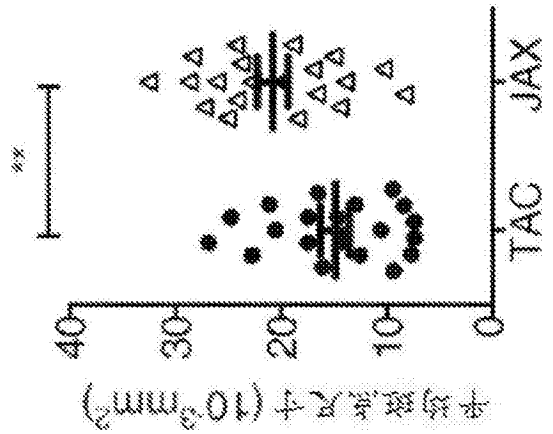
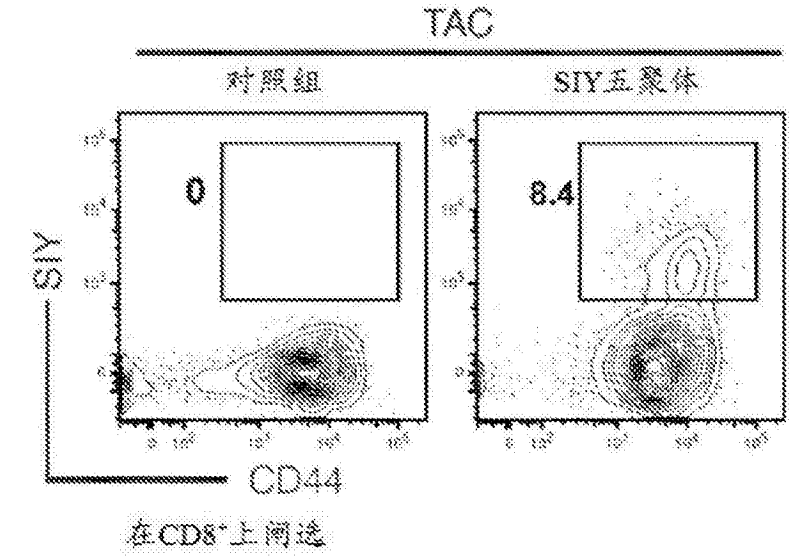
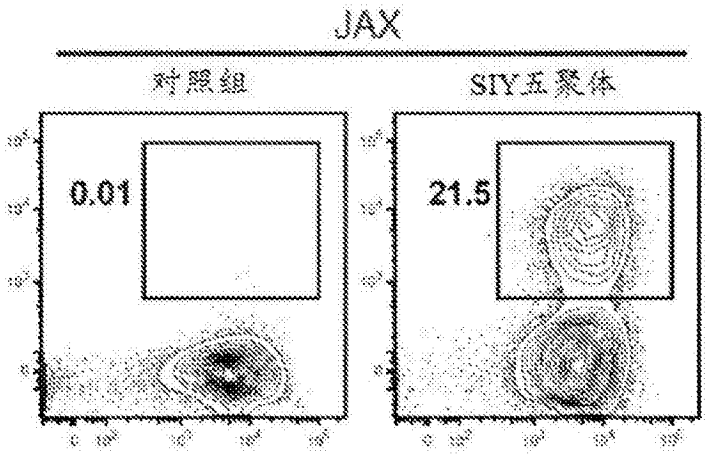


图1C


TAC
对照组
SIY五聚体
0
8.4
SIY
CD44
在CD8+上门选


JAX
对照组
SIY五聚体
0.01
21.5

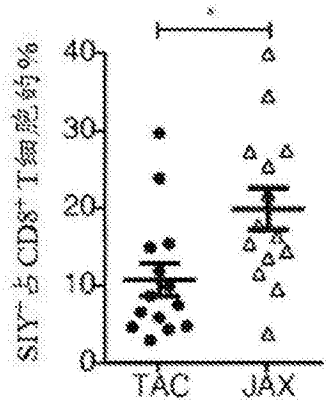

SIY 占 CD8+ T 细胞的%
40
30
20
10
0
TAC
JAX

图1D

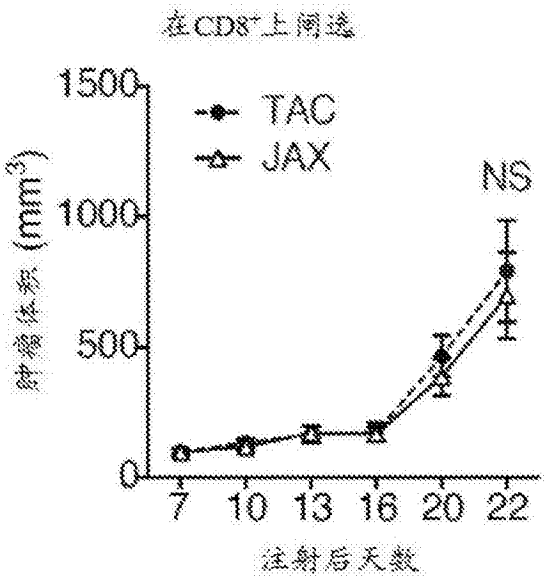

在CD8+上阐述
1500
1000
500
0
TAC
JAX
NS
肿瘤体积 (mm3)
7 10 13 16 20 22
注射后天数

图1E

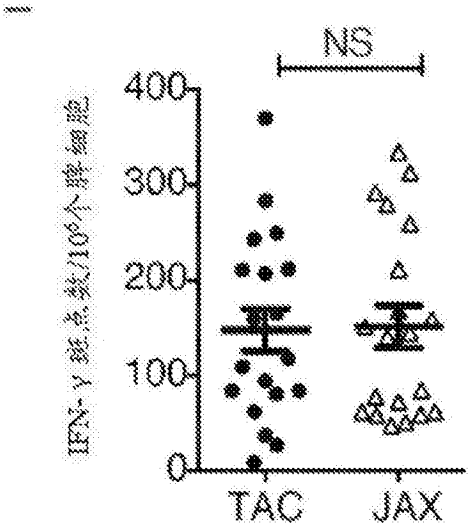

NS
400
300
200
100
0
IFN-γ斑点数/10^6个脾细胞
TAC
JAX

图1F

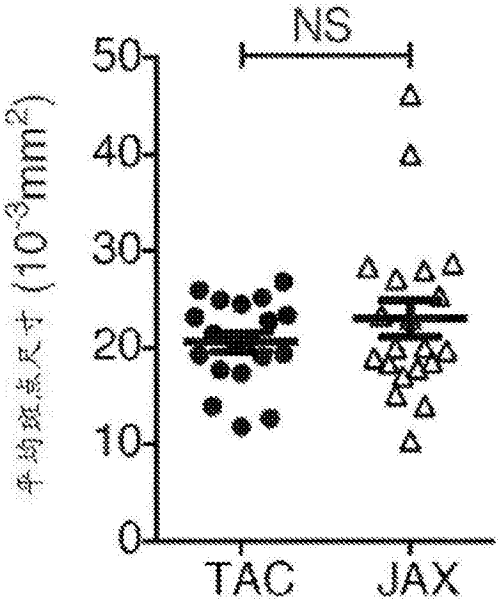

NS
50
40
30
20
10
0
平均斑点尺寸 ($10^{-3}mm^2$)
TAC
JAX

图1G

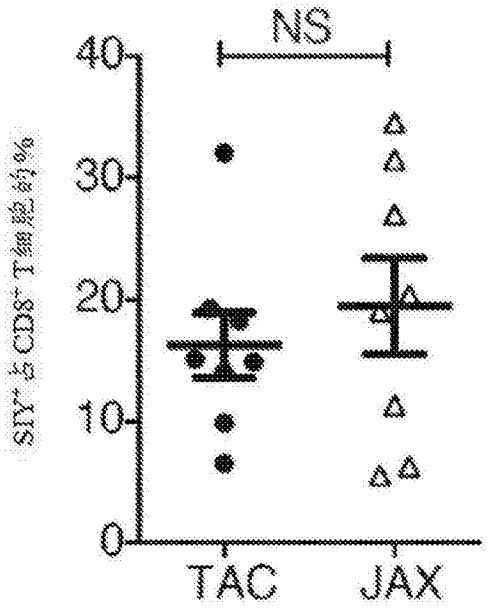

NS
40
30
20
10
0
SIV$^+$占CD8$^+$T细胞的%
TAC
JAX

图1H

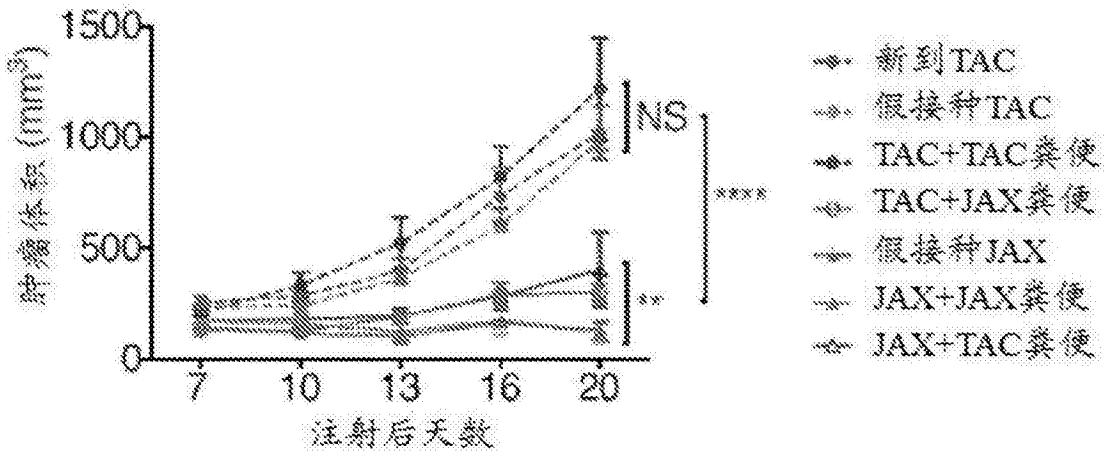

1500
1000
500
0
肿瘤体积 (mm³)
7
10
13
16
20
注射后天数
NS
****
**
新到TAC
假接种TAC
TAC+TAC粪便
TAC+JAX粪便
假接种JAX
JAX+JAX粪便
JAX+TAC粪便

图2A

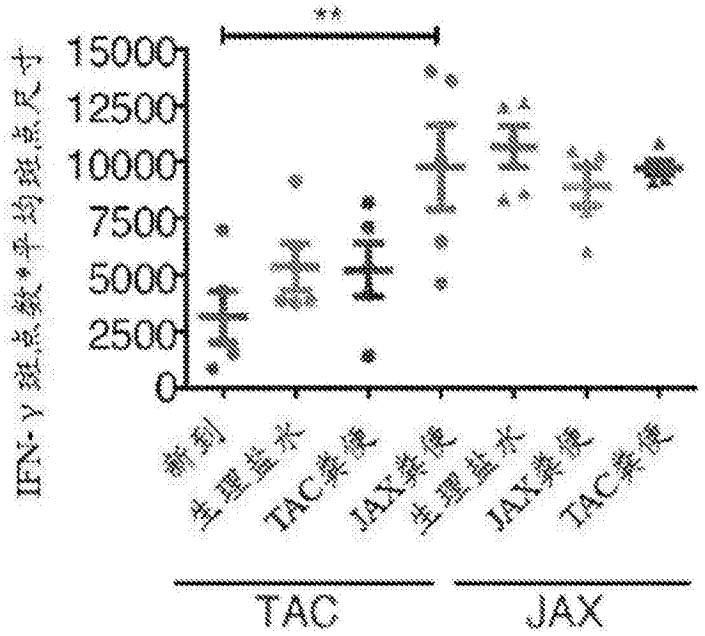
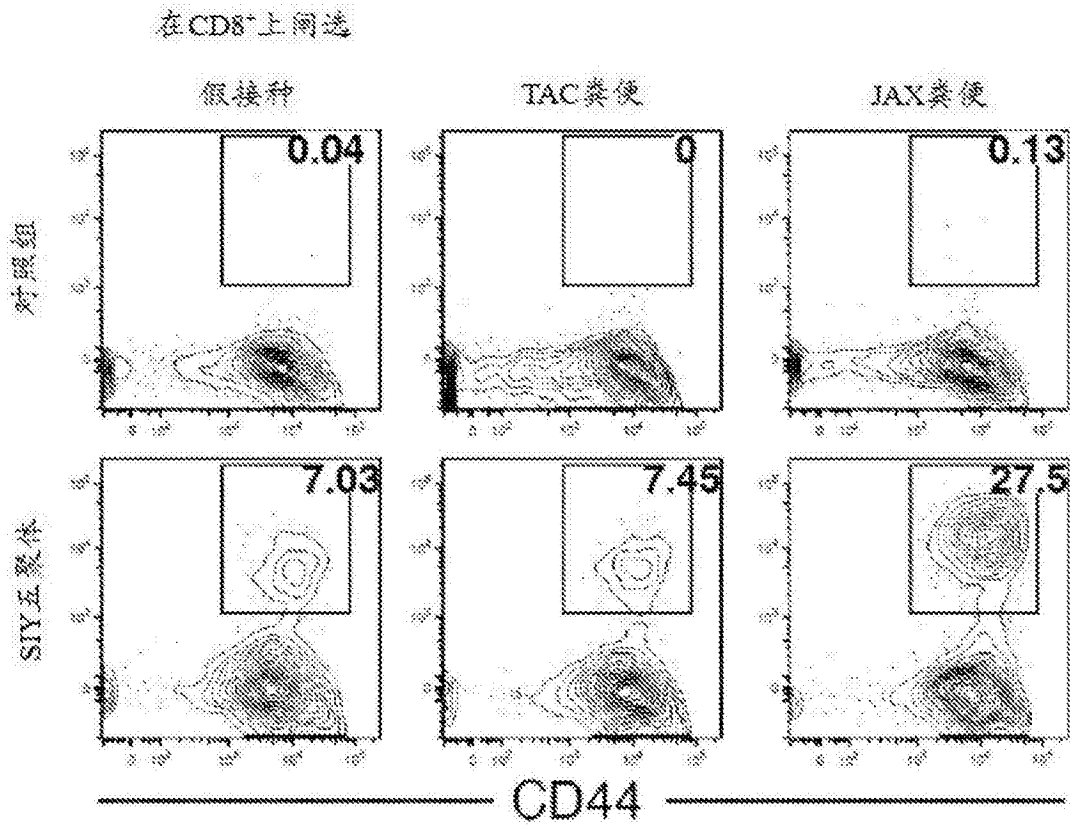

**
15000
12500
10000
7500
5000
2500
0
IFN-γ斑点数*平均斑点尺寸
新到
生理盐水
TAC粪便
JAX粪便
生理盐水
JAX粪便
TAC粪便
TAC
JAX

图2B


在CD8+上闸选
假接种
TAC粪便
JAX粪便
对照组
SIY五聚体
0.04
0
0.13
7.03
7.45
27.5
CD44

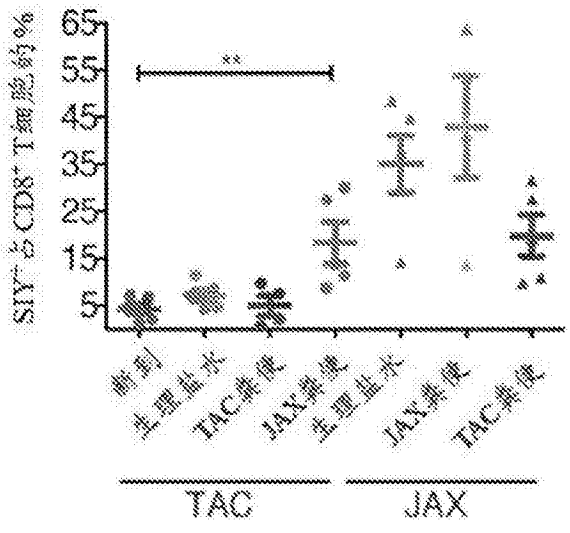

SIY-与CD8+T细胞的%
65
55
45
35
25
15
5
**
前列
生理盐水
TAC粪便
JAX粪便
生理盐水
JAX粪便
TAC粪便
TAC
JAX

图2C

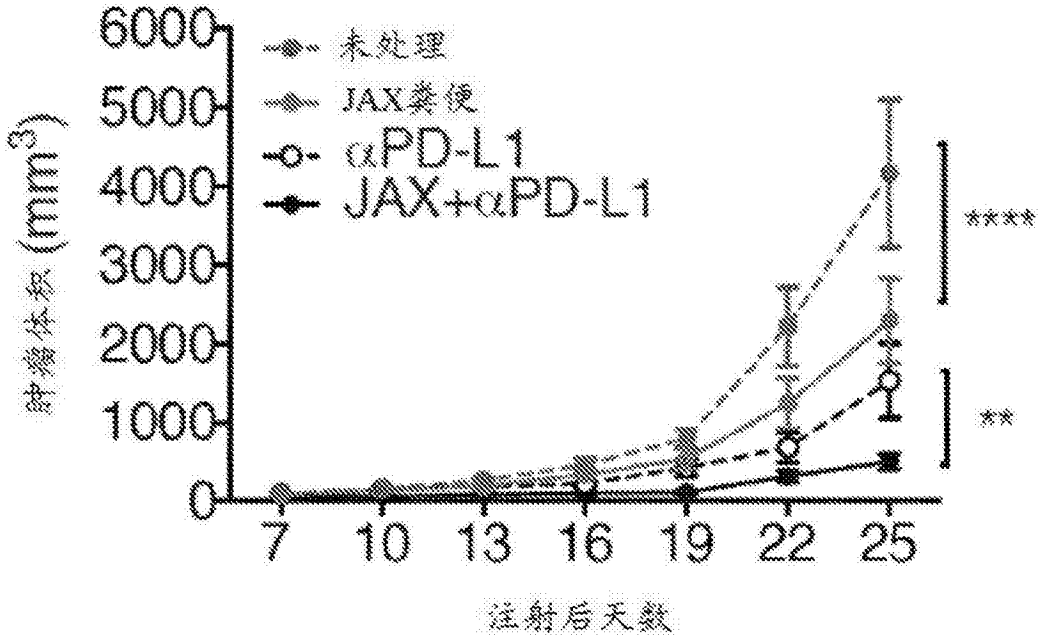

6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm3)
未处理
JAX粪便
αPD-L1
JAX+αPD-L1
****
**
7
10
13
16
19
22
25
注射后天数

图2D

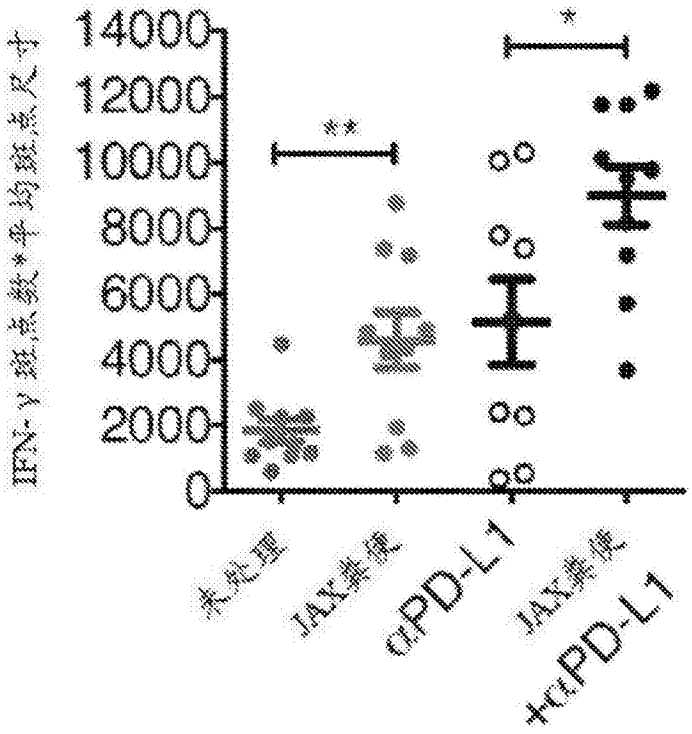

14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
IFN-γ斑点数*平均斑点尺寸
**
*
未处理
JAX粪便
αPD-L1
JAX粪便
+αPD-L1

图2E

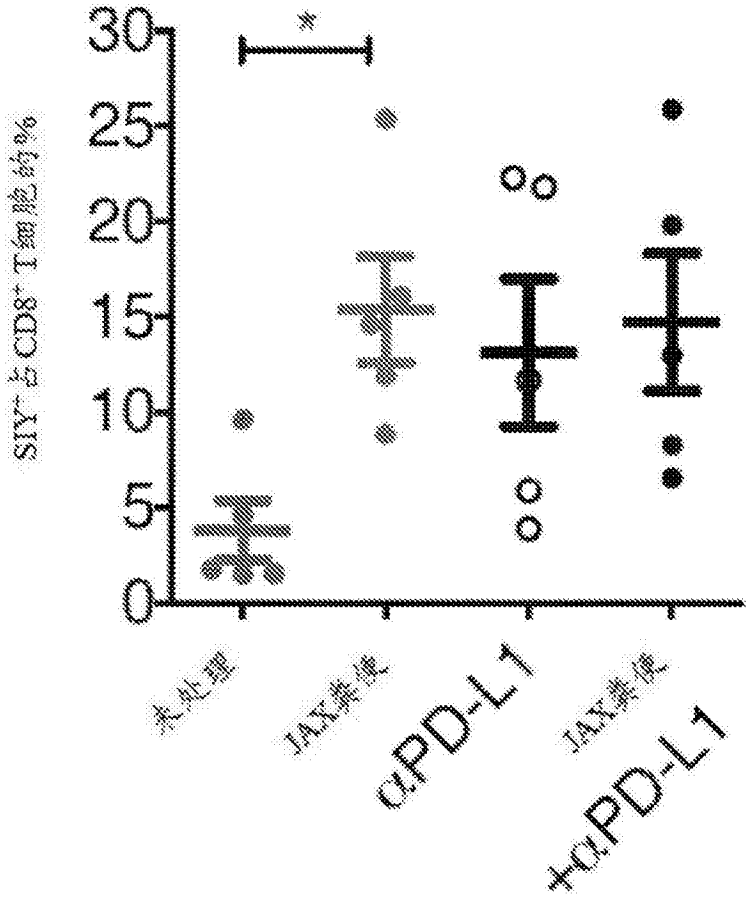

SIY-与CD8+T细胞的%
30
25
20
15
10
5
0
*
未处理
JAX集体
αPD-L1
JAX集体
+αPD-L1

图2F

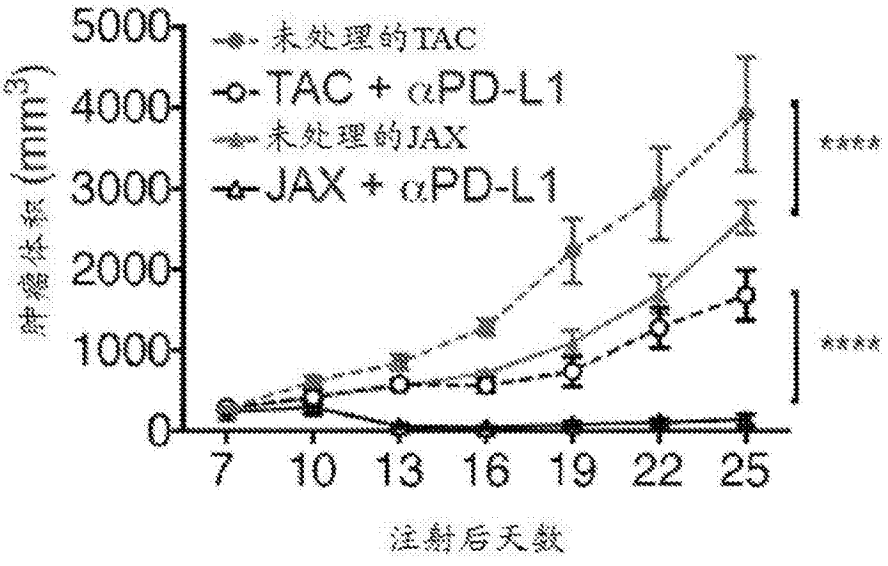

肿瘤体积 (mm3)
5000
4000
3000
2000
1000
0
未处理的TAC
TAC + αPD-L1
未处理的JAX
JAX + αPD-L1
****
****
7
10
13
16
19
22
25
注射后天数

图2G

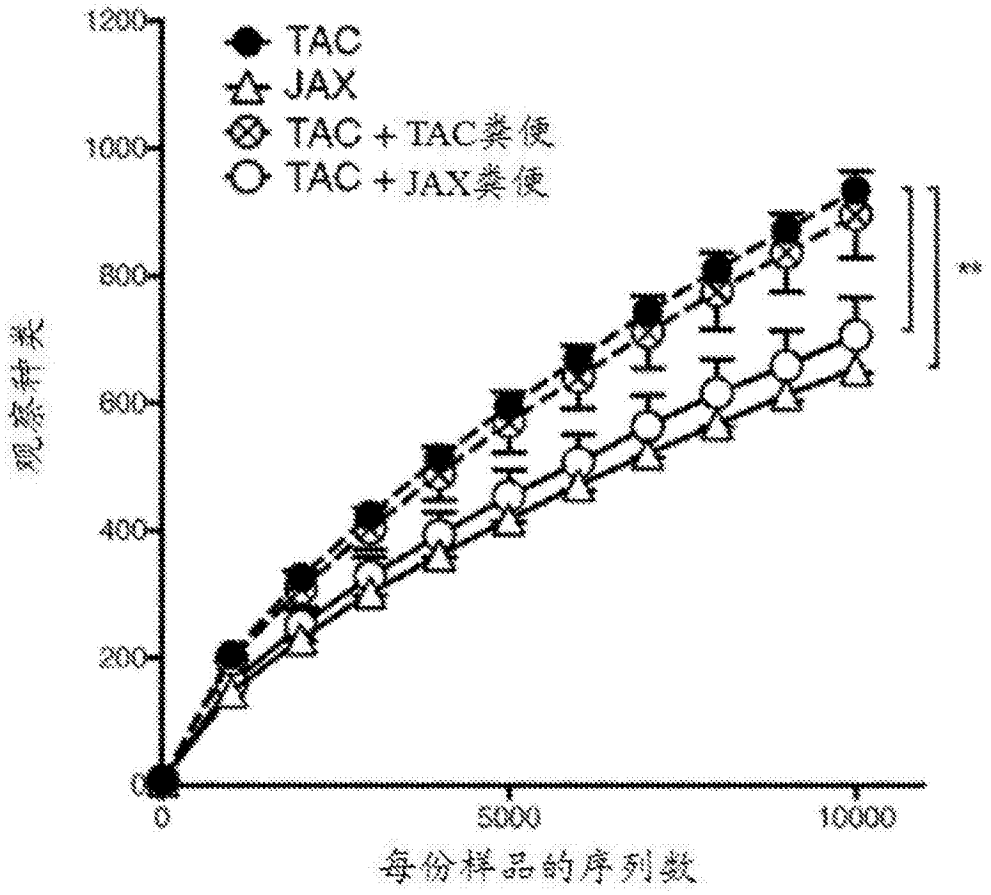

TAC
JAX
TAC + TAC粪便
TAC + JAX粪便
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5000
10000
**
每份样品的序列数

图3A

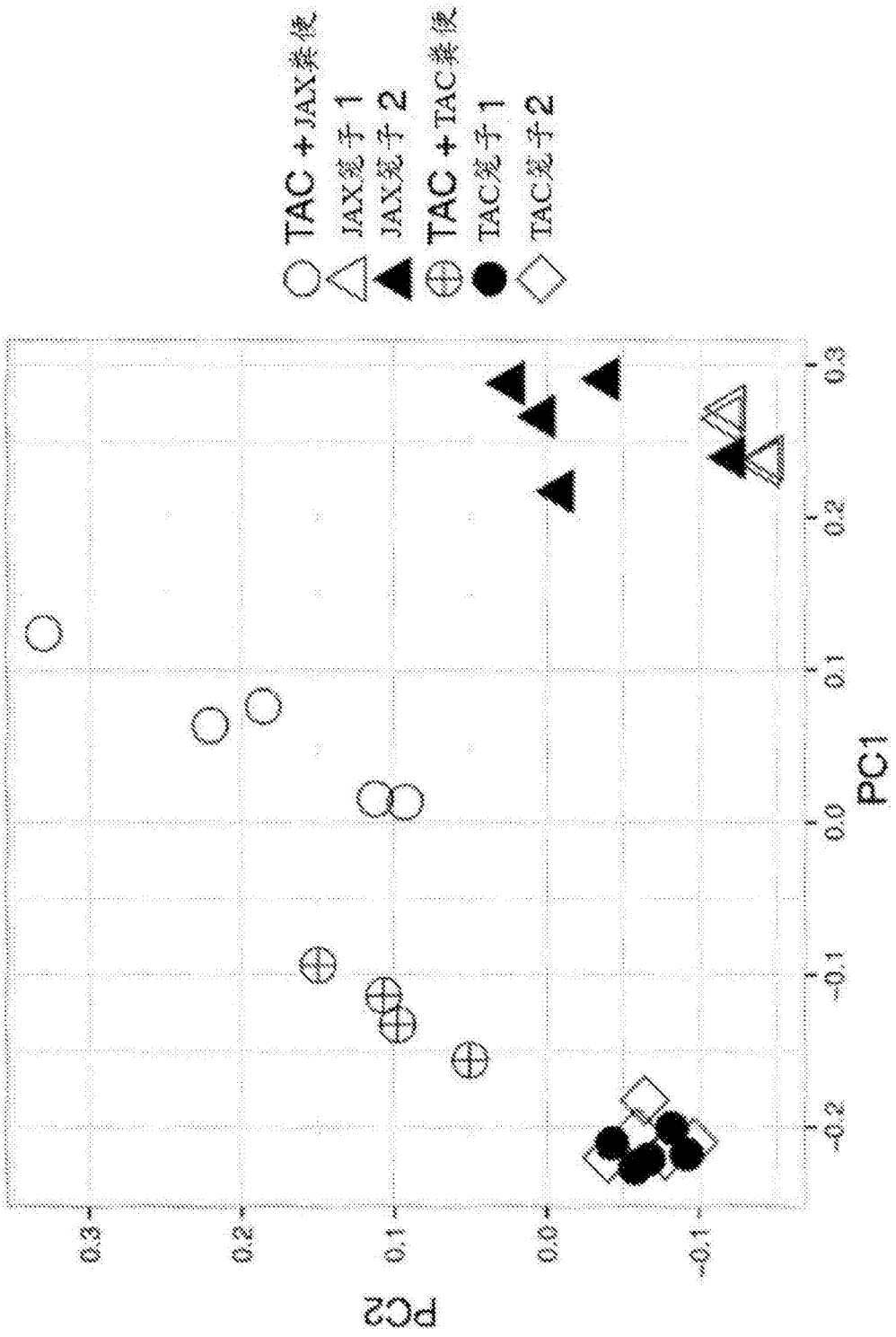

TAC + JAX粪便
JAX笼子1
JAX笼子2
TAC + TAC粪便
TAC笼子1
TAC笼子2
PC1
PC2
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2

图3B

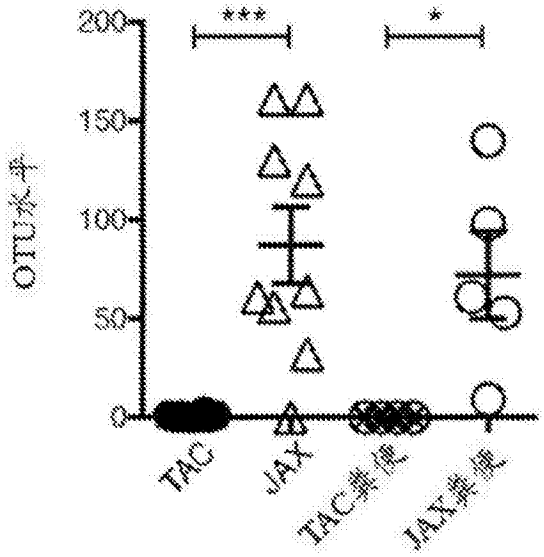

200
150
100
50
0
OTU水平
***
*
TAC
JAX
TAC粪便
JAX粪便

图3C

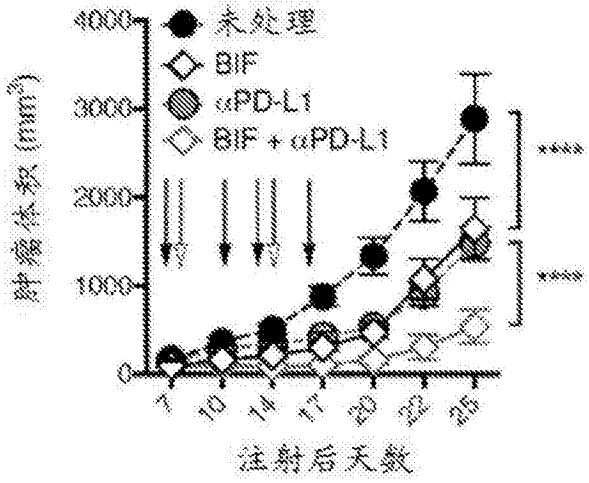

4000
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm³)
未处理
BIF
αPD-L1
BIF + αPD-L1
****
****
1
10
14
17
20
23
25
注射后天数

图3D

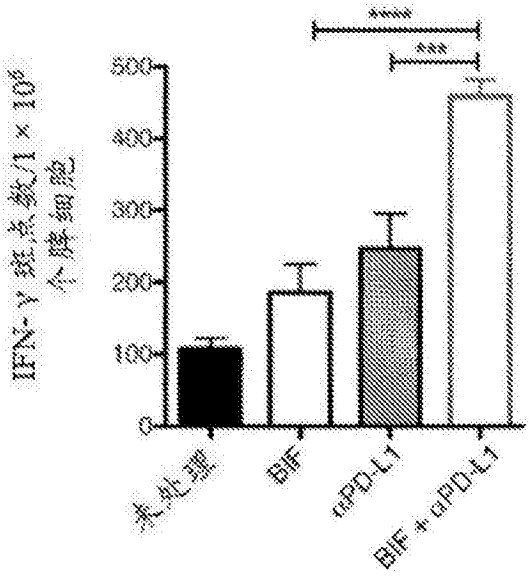

IFN-γ斑点数/1×10⁶
个脾细胞
500
400
300
200
100
0
****
***
未处理
BIF
αPD-L1
BIF + αPD-L1

图3E

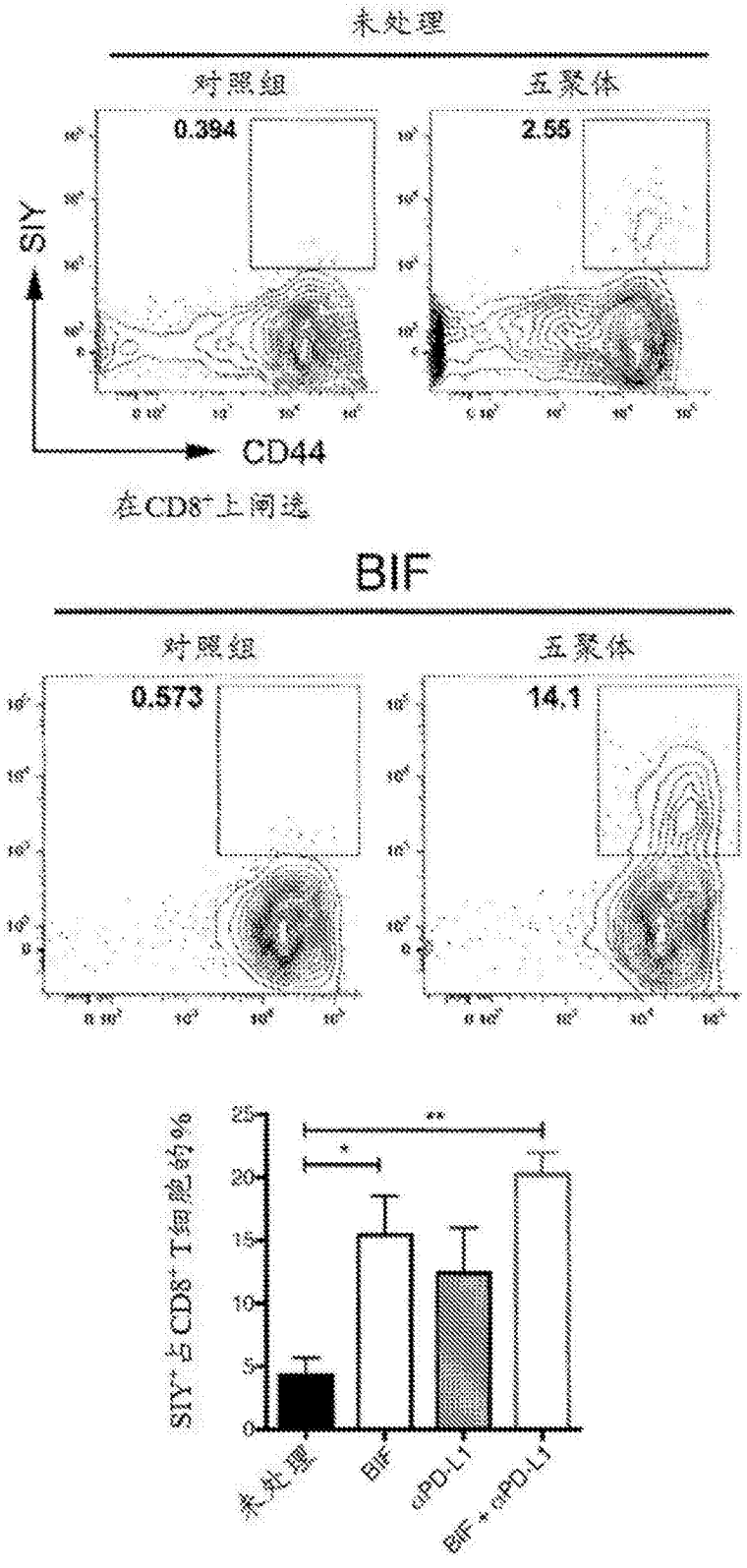

未处理
对照组
五聚体
0.394
2.55
SIY
CD44
在CD8+上闸选
BIF
对照组
五聚体
0.573
14.1
SIY+占CD8+T细胞的%
未处理
BIF
αPD-L1
BIF + αPD-L1

图3F

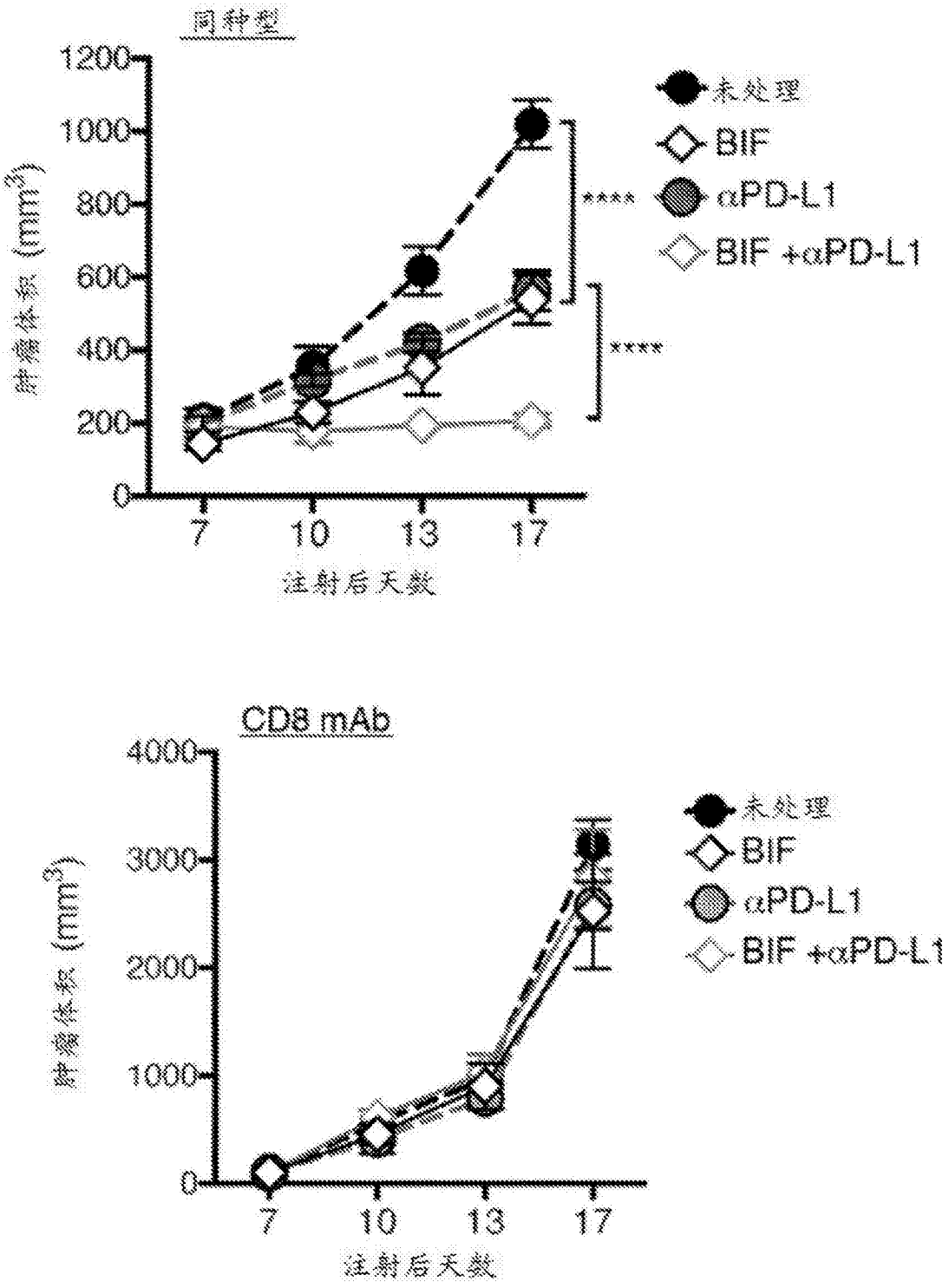

同种型
1200
1000
800
600
400
200
0
肿瘤体积 (mm³)
7
10
13
17
注射后天数
****
****
未处理
BIF
αPD-L1
BIF +αPD-L1
CD8 mAb
4000
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm³)
7
10
13
17
注射后天数
未处理
BIF
αPD-L1
BIF +αPD-L1

图3G

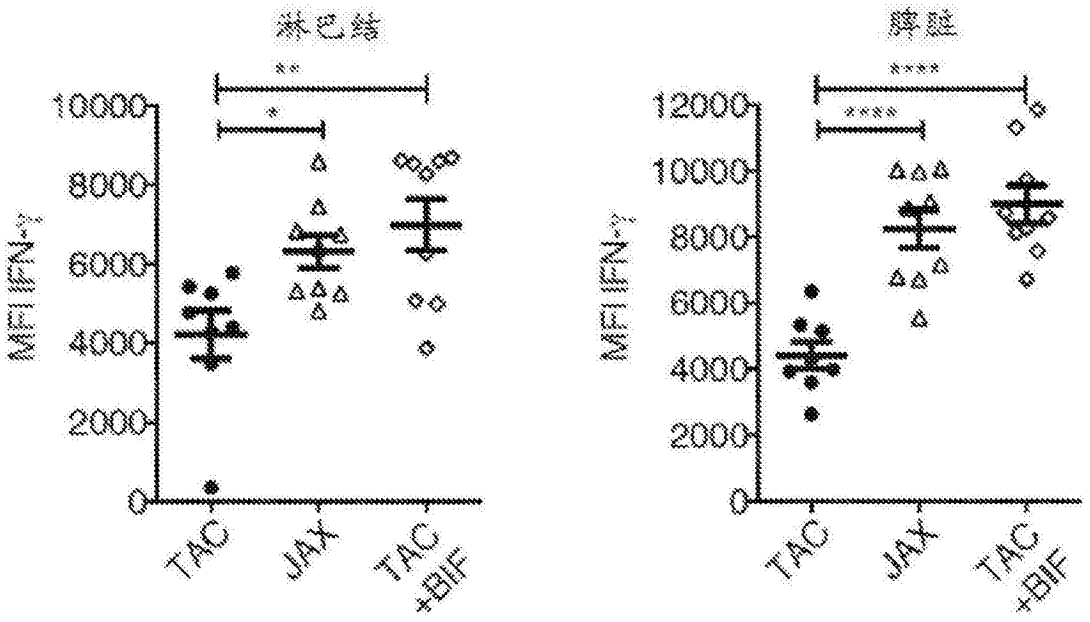

淋巴结
脾脏
MFI IFN-γ
10000
8000
6000
4000
2000
0
12000
**
*
****
TAC
JAX
TAC +BIF

图4A

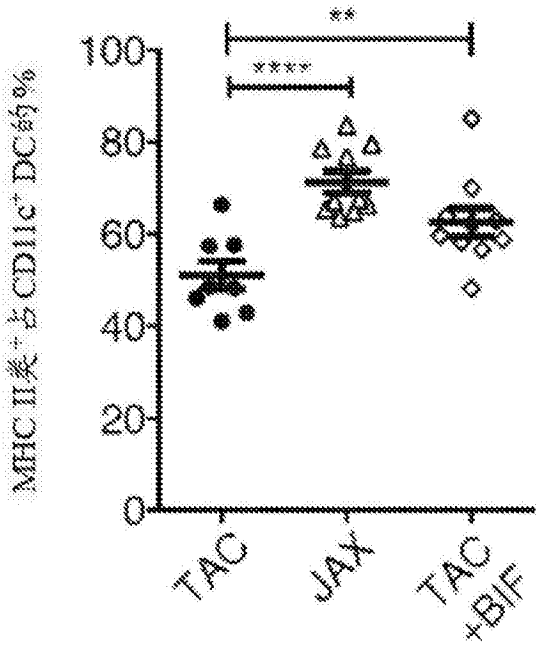

MHC II类+占CD11c+ DC的%
100
80
60
40
20
0
**
****
TAC
JAX
TAC +BIF

图4B

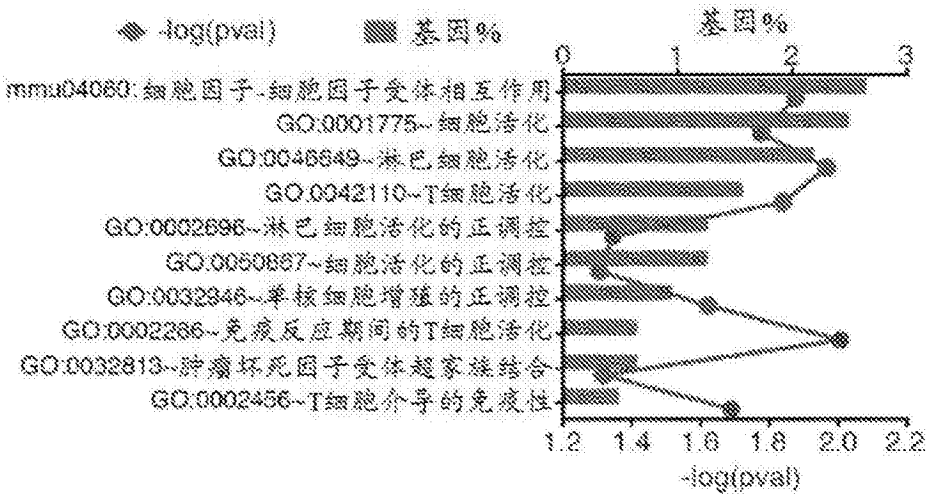

-log(pval)
基因%
基因%
0
1
2
3
mmu04060:细胞因子-细胞因子受体相互作用
GO:0001775~细胞活化
GO:0046649~淋巴细胞活化
GO:0042110~T细胞活化
GO:0002696~淋巴细胞活化的正调控
GO:0050867~细胞活化的正调控
GO:0032946~单核细胞增殖的正调控
GO:0002286~免疫反应期间的T细胞活化
GO:0032813~肿瘤坏死因子受体超家族结合
GO:0002456~T细胞介导的免疫性
1.2
1.4
1.6
1.8
2.0
2.2
-log(pval)

图4C

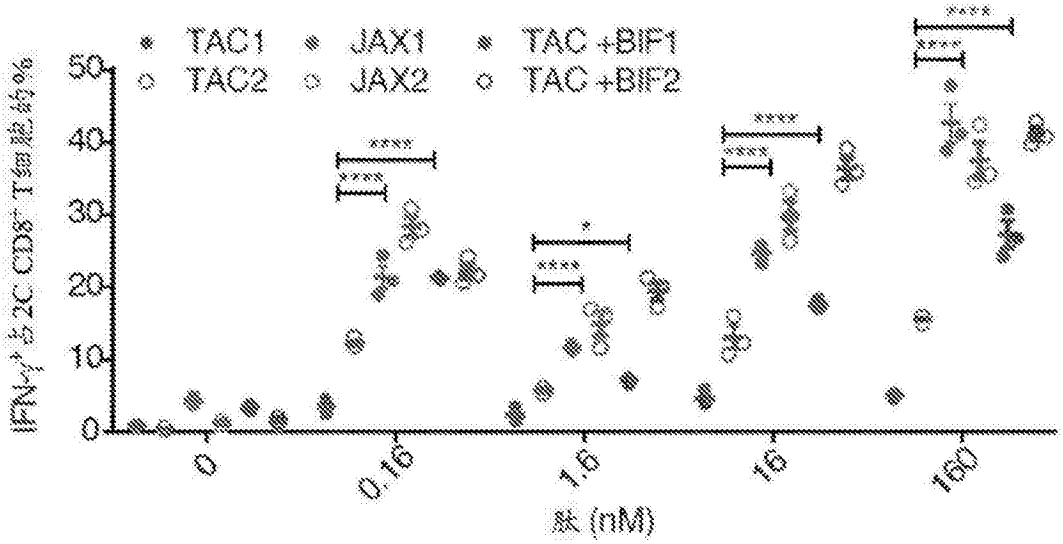
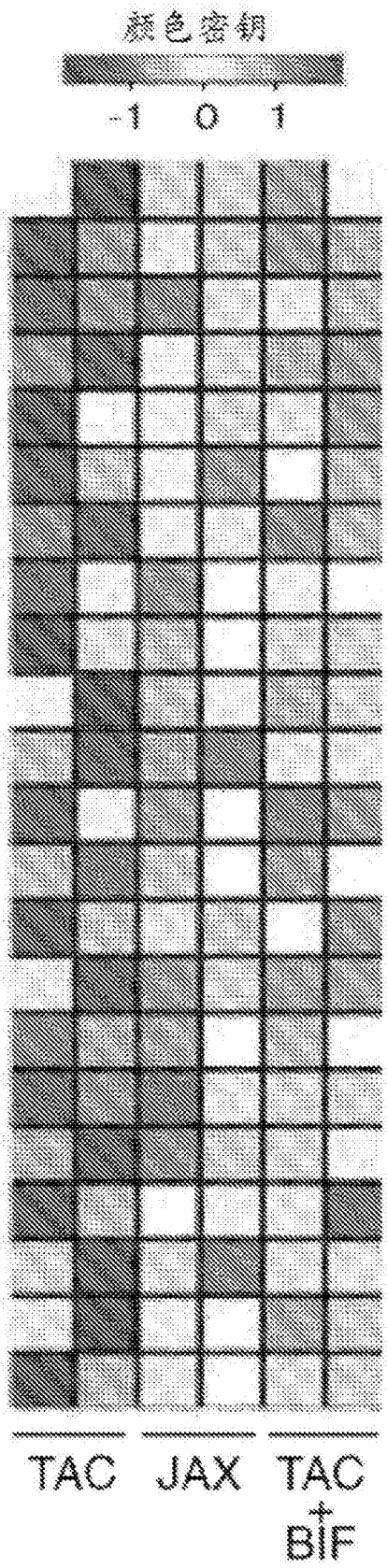

TAC1
TAC2
JAX1
JAX2
TAC +BIF1
TAC +BIF2
IFN-γ+ in CD8+ T细胞的%
50
40
30
20
10
0
0
0.16
1.6
16
160
肽 (nM)
****
*

图4E



基因	JAX/TAC	BIF/TAC
H2m2	2.18	6.99
Cd40	1.58	2.11
Cd70	9.67	4.33
Icam1	1.57	2.00
Tnfrsf18	1.51	1.68
Tnfsf14	2.05	1.70
Relb	1.79	2.54
Ifngr2	3.10	1.71
Tapbp	42.40	14.97
Rab27a	2.55	2.96
Slc11a1	3.46	1.79
Cxcl9	2.64	1.53
Cx3cl1	3.96	6.36
Cxcr4	2.20	2.41
Irf1	1.55	2.44
Ifnar2	2.70	2.33
Oas2	1.68	1.51
Ifi35	1.92	1.57
Ifitm1	2.82	5.00
Azi2	7.71	3.04
Ikbke	1.60	2.03
Ulk1	5.78	3.51

图4D

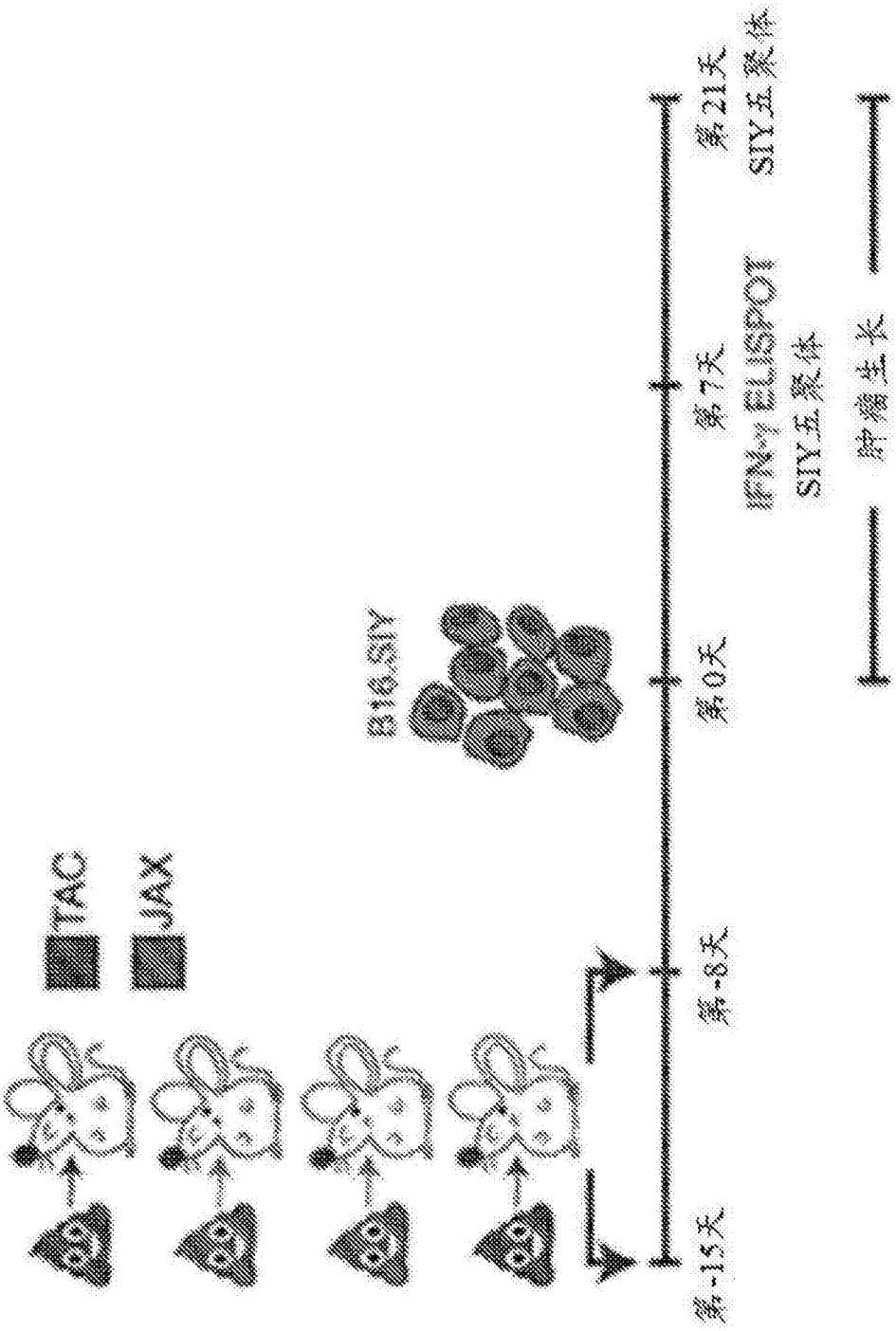

TAC
JAX
B16.SIY
第-15天
第-8天
第0天
第7天
第21天
IFN-γ ELISPOT
SIY五聚体
SIY五聚体
肿瘤生长

图5A

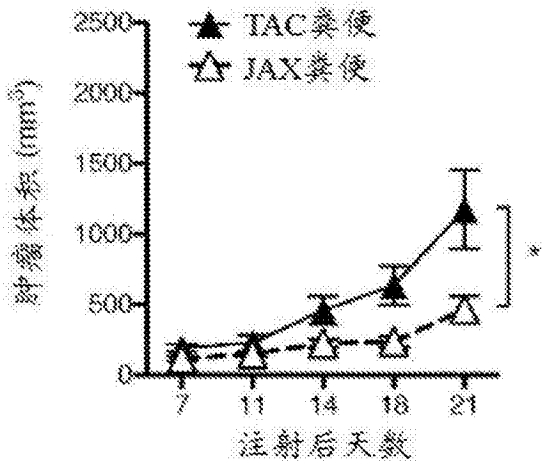

TAC粪便
JAX粪便
肿瘤体积 (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
7
11
14
18
21
注射后天数
*

图5B

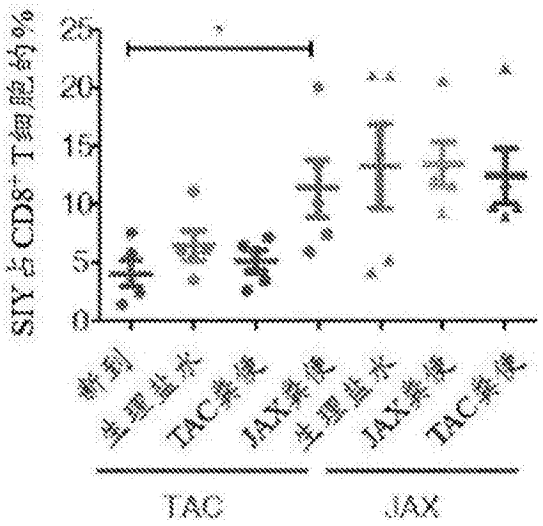

SIY占CD8⁺ T细胞的%
25
20
15
10
5
0
*
新到
生理盐水
TAC粪便
JAX粪便
生理盐水
JAX粪便
TAC粪便
TAC
JAX

图5C

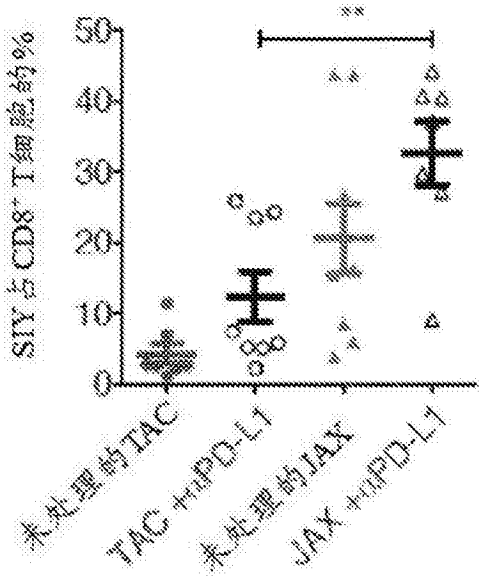

SIY占CD8+T细胞的%
50
40
30
20
10
0
未处理的TAC
TAC +抗PD-L1
未处理的JAX
JAX +抗PD-L1

图5D

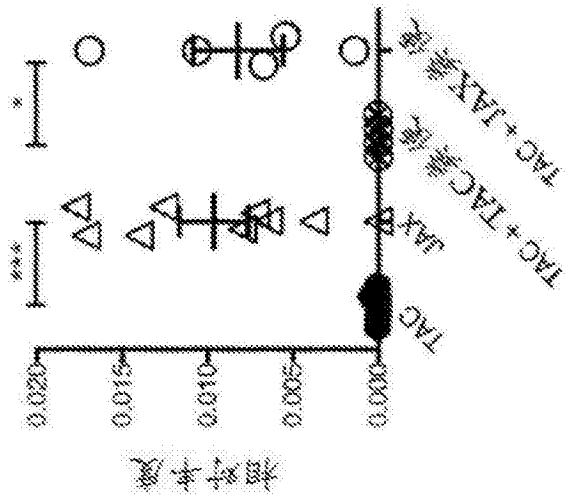

TAC + JAX基因
TAC + TAC基因
JAX
TAC
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000

图6A

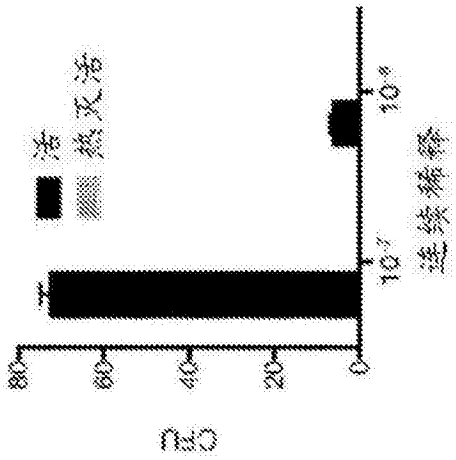

活
热灭活
CFU
80
60
40
20
0
连续稀释

图6B

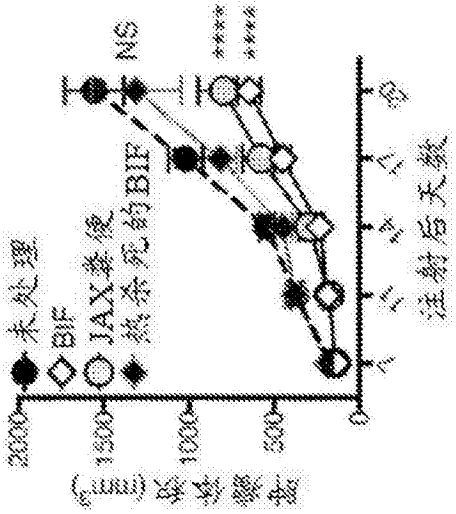

未处理
BIF
JAX靠便
热杀死的BIF
NS
****
****
2000
1500
1000
500
0
注射后天数

图6C

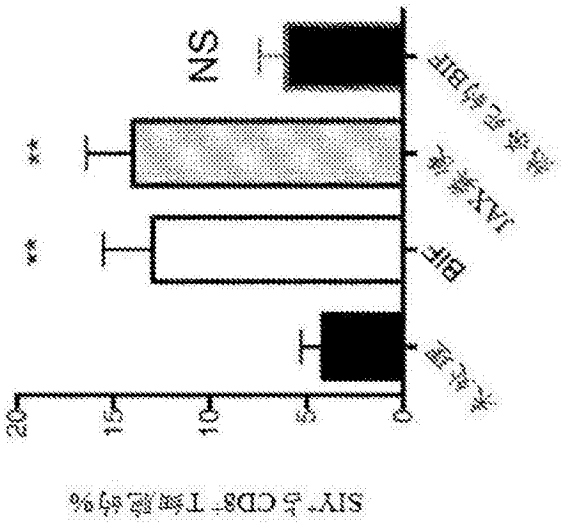


图6D

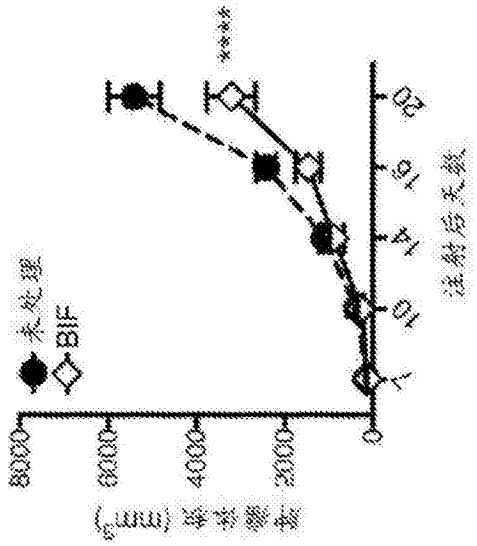


图6E

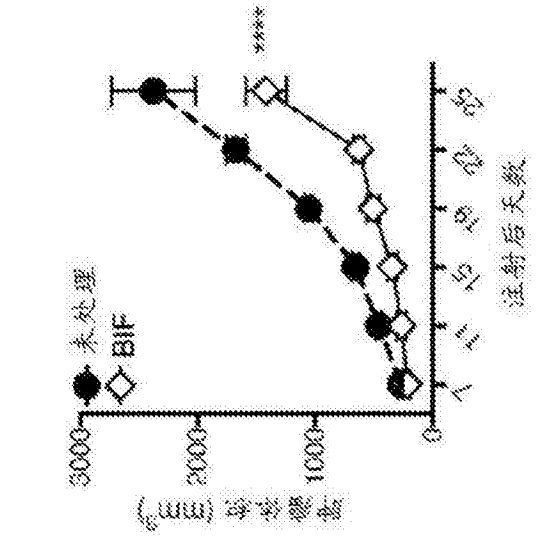

****
未处理
BIF
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm³)
0
7
11
15
19
23
注射后天数

图6F

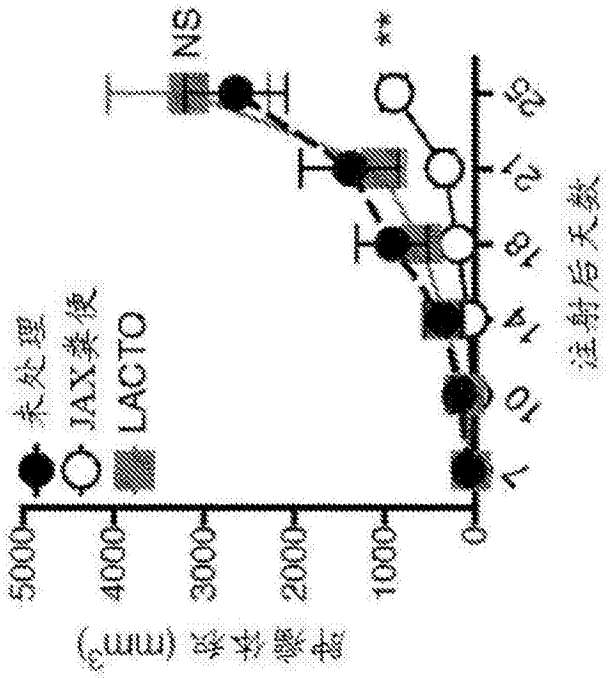

NS
**
未处理
JAX集像
LACTO
5000
4000
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm³)
0
7
10
14
18
21
28
注射后天数

图6G

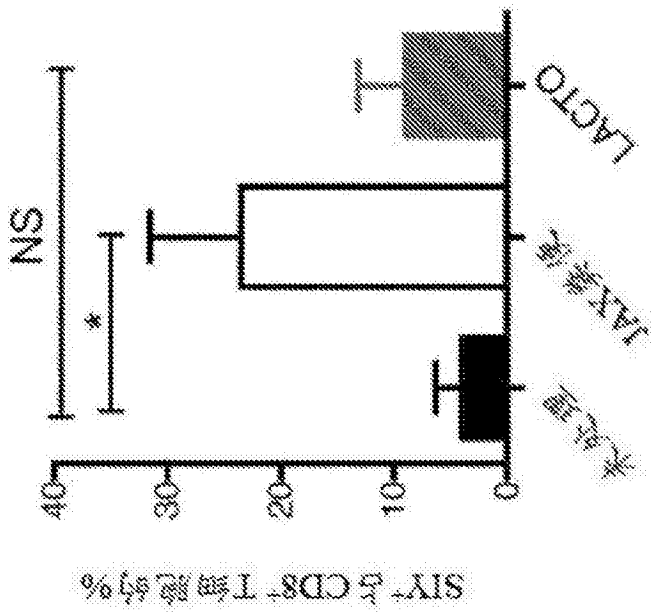
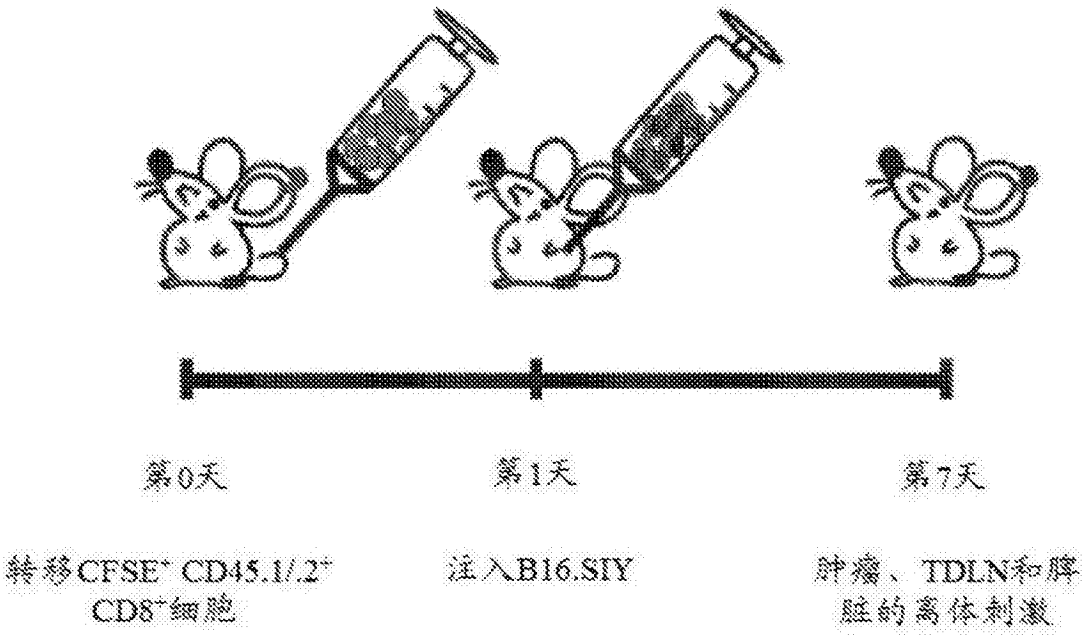


图6H


第0天
第1天
第7天
转移CFSE+ CD45.1/.2+ CD8+细胞
注入B16.SIY
肿瘤、TDLN和脾脏的离体刺激

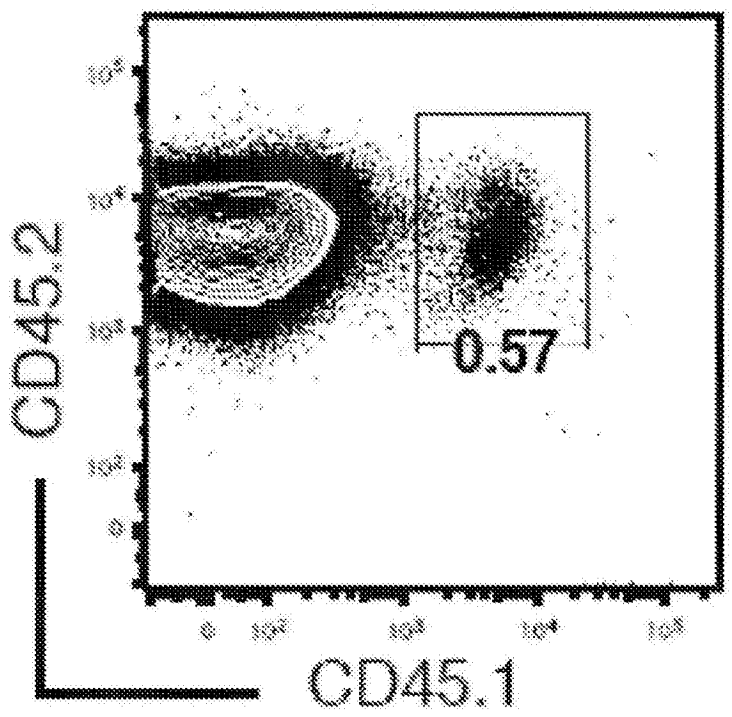

CD45.2
CD45.1
0.57

图7A

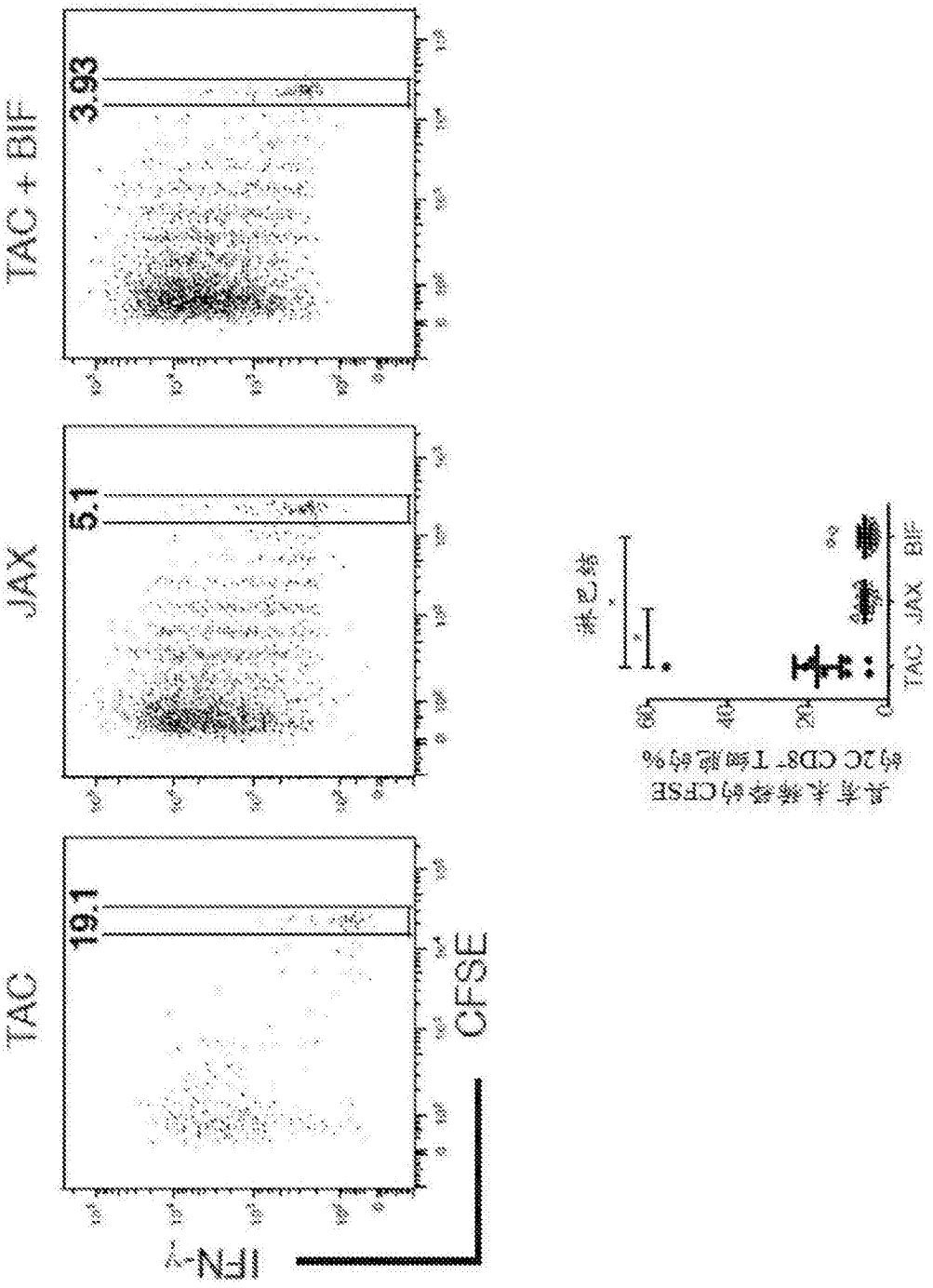


图7B

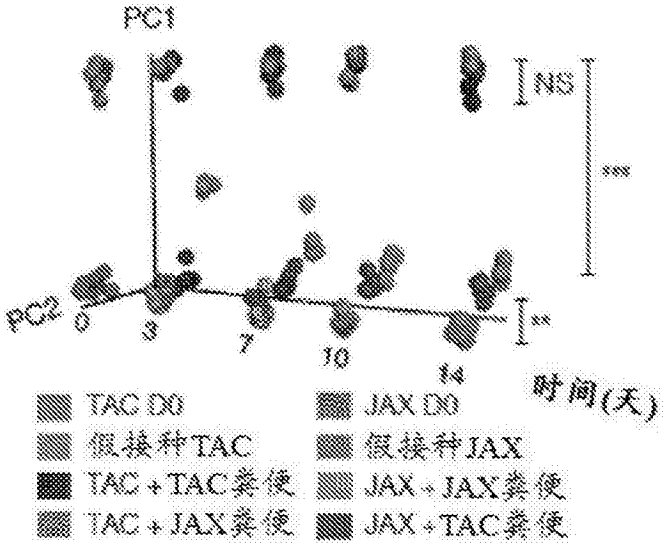

PC1
NS
***
PC2
0
3
7
10
14
**
时间(天)
TAC D0
JAX D0
假接种TAC
假接种JAX
TAC+TAC粪便
JAX+JAX粪便
TAC+JAX粪便
JAX+TAC粪便

图8A

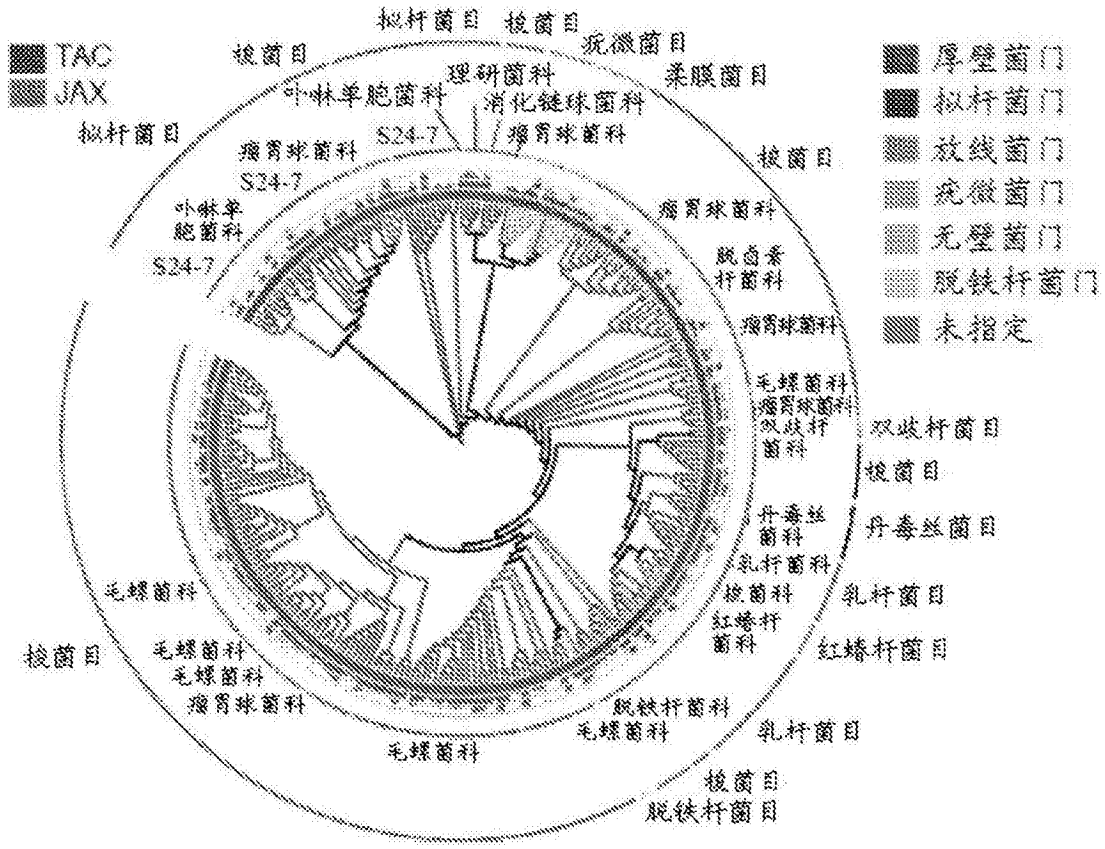

TAC
JAX
拟杆菌目
梭菌目
疣微菌目
柔膜菌目
理研菌科
消化链球菌科
卟啉单胞菌科
S24-7
瘤胃球菌科
脱卤素杆菌科
毛螺菌科
双歧杆菌目
丹毒丝菌科
丹毒丝菌目
乳杆菌科
乳杆菌目
红蝽杆菌科
红蝽杆菌目
脱铁杆菌科
脱铁杆菌目
厚壁菌门
拟杆菌门
放线菌门
疣微菌门
无壁菌门
脱铁杆菌门
未指定

图8B

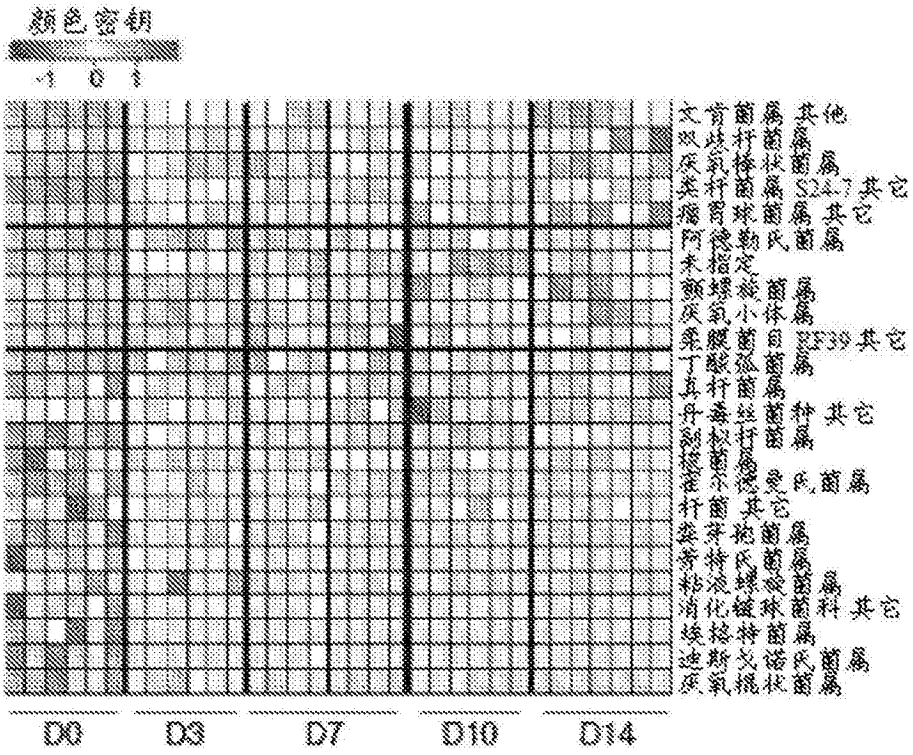

颜色密钥
-1 0 1
D0
D3
D7
D10
D14

图8C

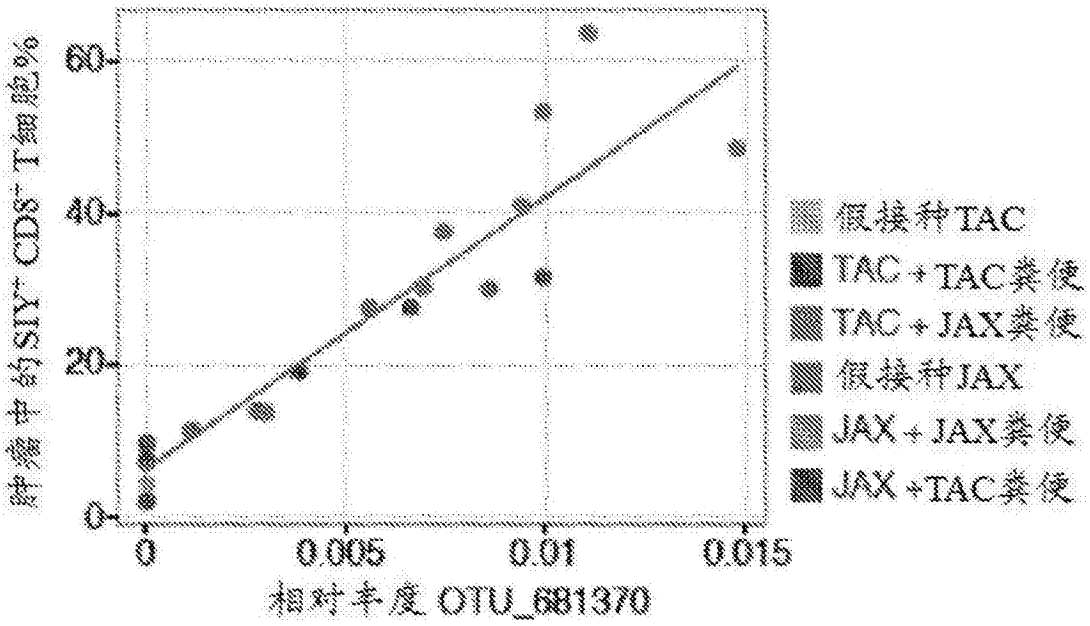

肿瘤中的SIY+ CD8+ T细胞%
60
40
20
0
0
0.005
0.01
0.015
相对丰度 OTU_681370
假接种TAC
TAC + TAC粪便
TAC + JAX粪便
假接种JAX
JAX + JAX粪便
JAX +TAC粪便

图8D

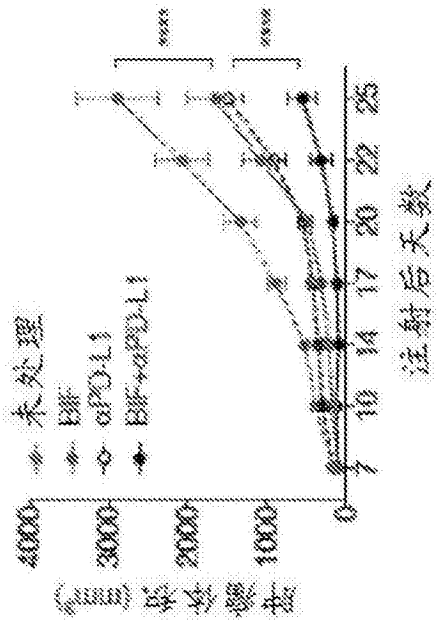

未处理
BIF
αPD-L1
BIF+αPD-L1
注射后天数
肿瘤体积 (mm³)
0
1000
2000
3000
4000
7
10
14
17
20
22
25

图8E

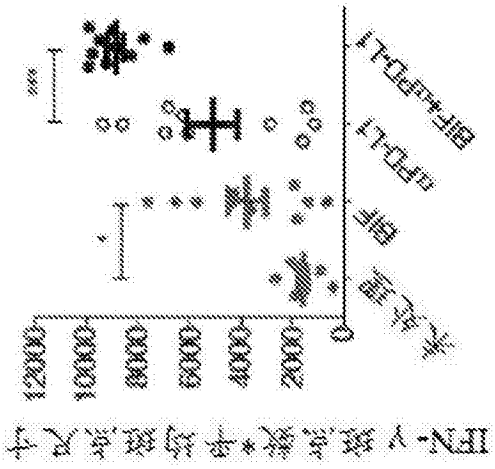

未处理
BIF
αPD-L1
BIF+αPD-L1
IFN-γ斑点数*平均斑点尺寸
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000

图8F

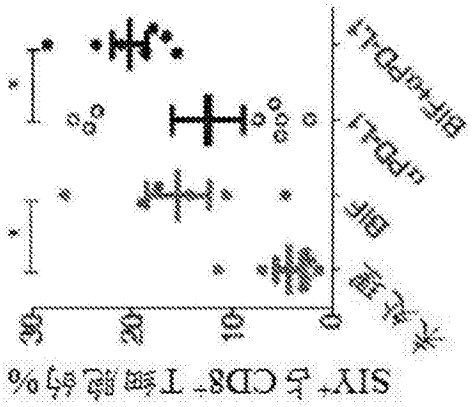

SIY+占CD8+T细胞的%
30
20
10
0
未处理
BIF
cPDL1
BIF+cPDL1

图8G

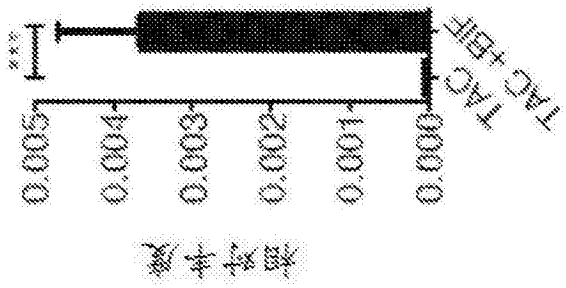

相对丰度
0.005
0.004
0.003
0.002
0.001
0.000
TAC
TAC+BIF

图9A

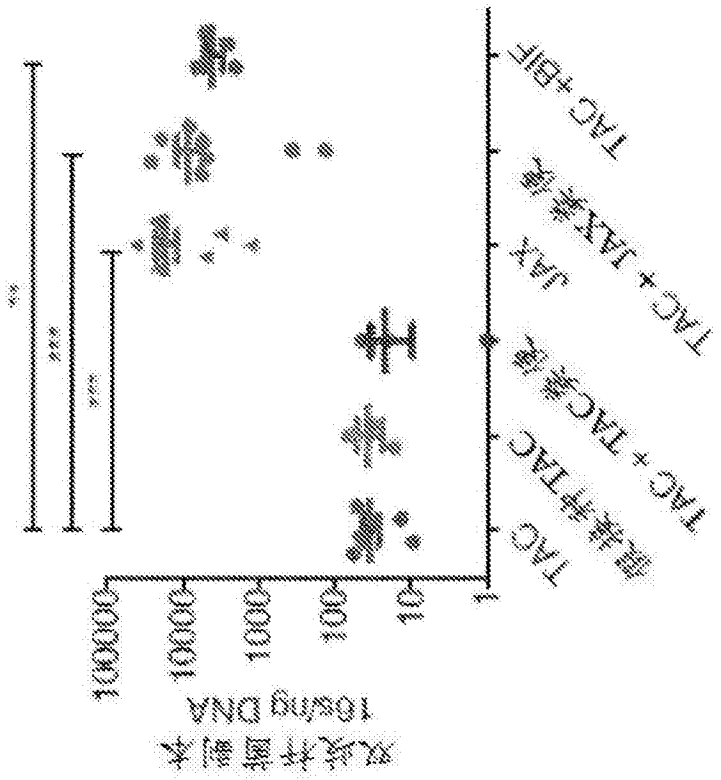

TAC
TAC+TAC类度
JAX
TAC+JAX类度
TAC+BIF
100000
10000
1000
100
10
1
双发杆菌副本
16s/ng DNA

图9B

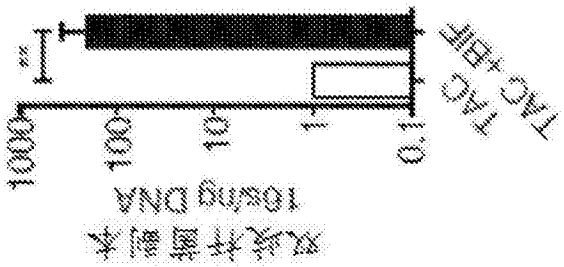

TAC
TAC+BIF
1000
100
10
1
0.1
双发杆菌副本
16s/ng DNA

图9D

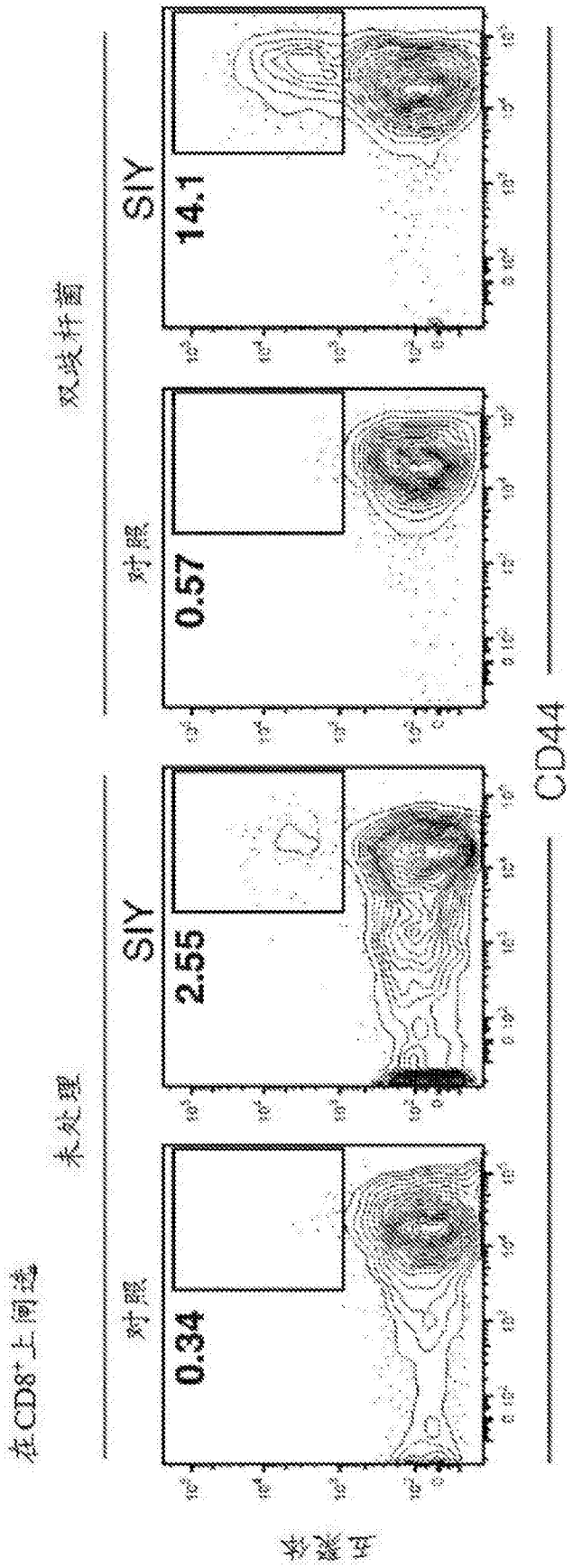


图9C

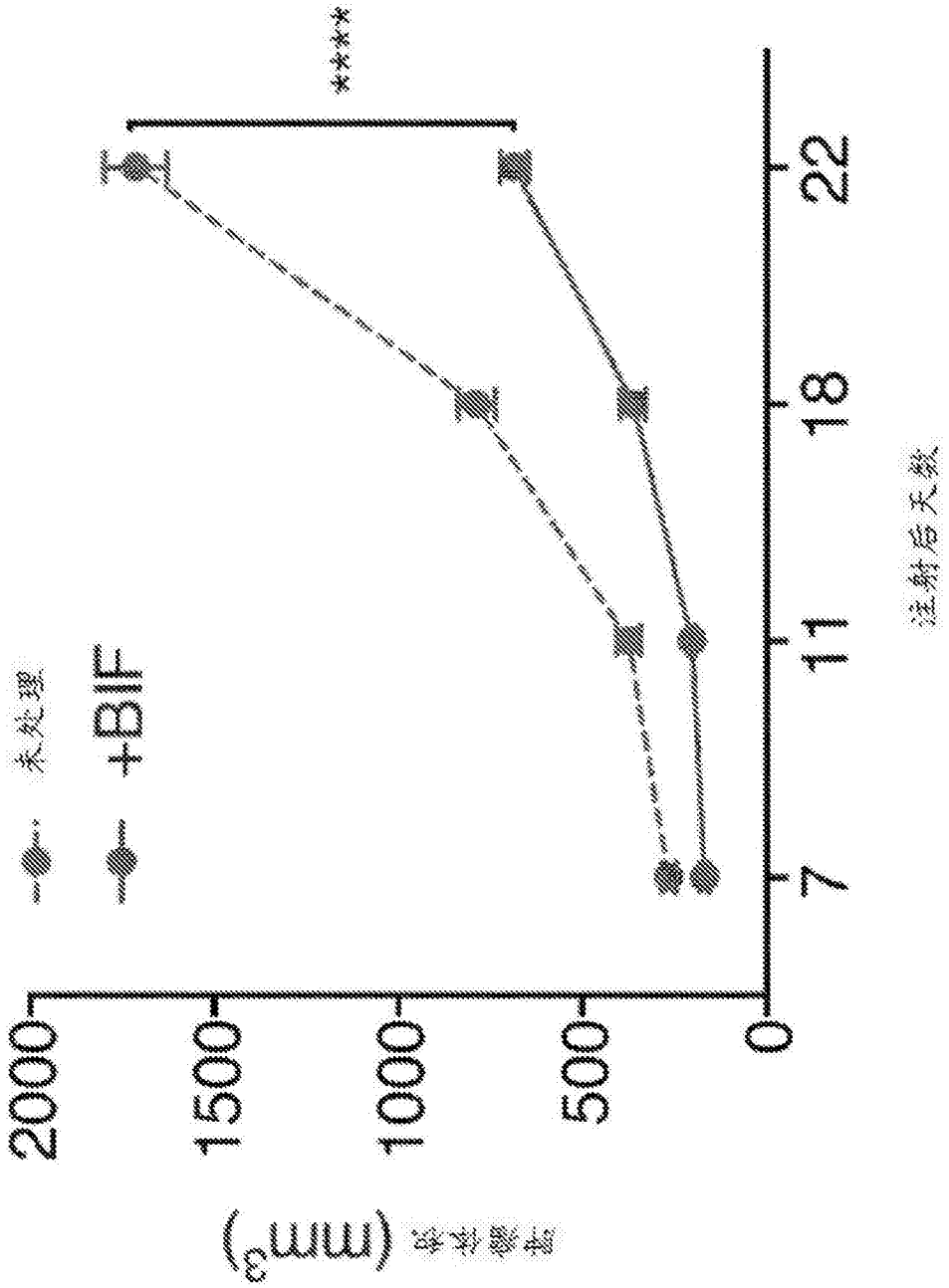


图9E

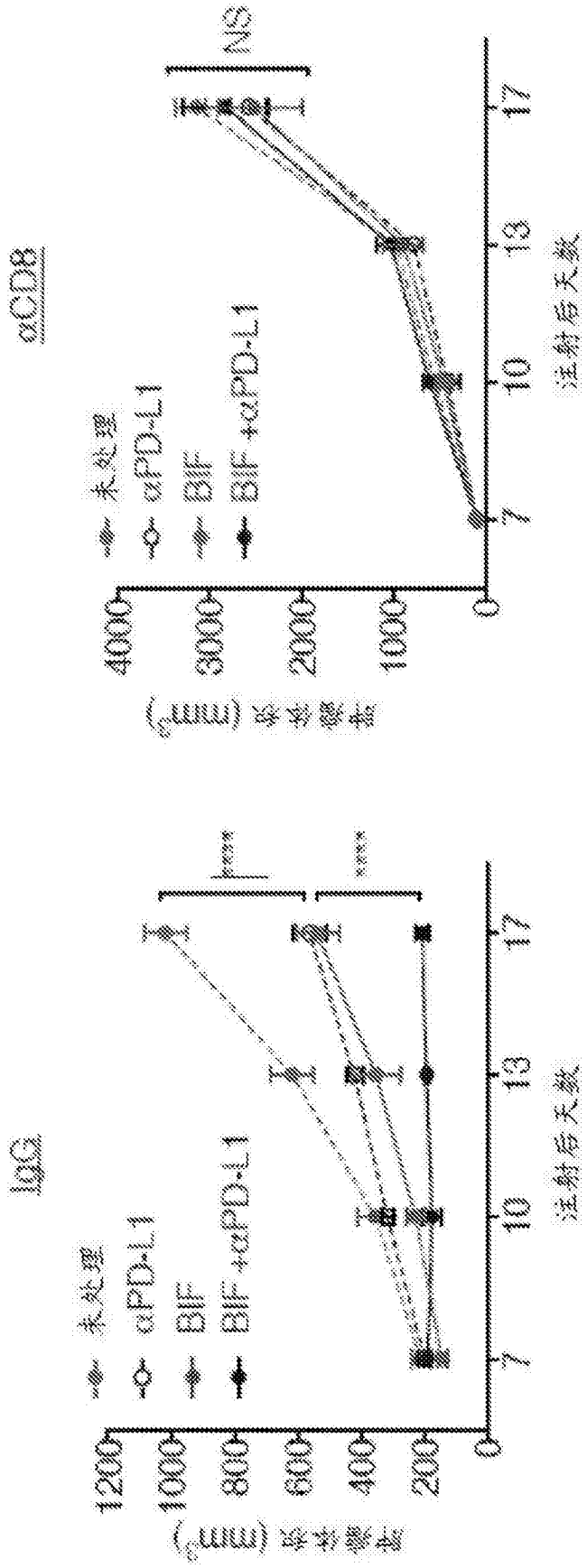

αCD8
NS
未处理
αPD-L1
BIF
BIF +αPD-L1
4000
3000
2000
1000
0
7
10
13
17
注射后天数
平均体积 (mm³)
IgG
****
****
未处理
αPD-L1
BIF
BIF +αPD-L1
1200
1000
800
600
400
200
0
7
10
13
17
注射后天数
平均体积 (mm³)

图10A

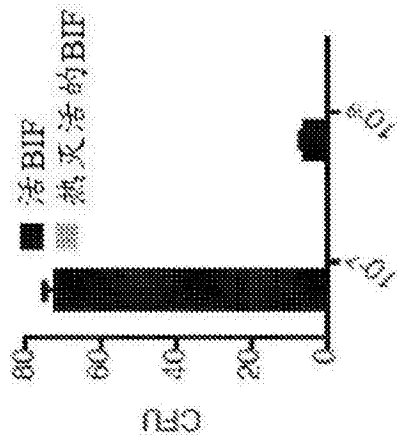

活BIF
热灭活的BIF
CFU
80
60
40
20
0

图10B

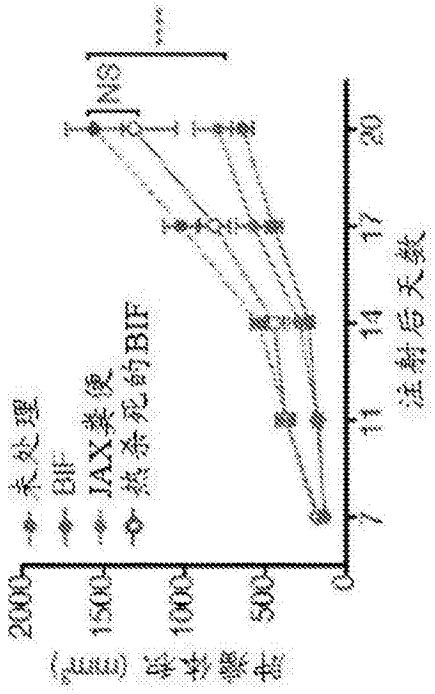

未处理
BIF
IAX类使
热杀死的BIF
NS
2000
1500
1000
500
0
7
11
14
17
20
注射后天数

图10C

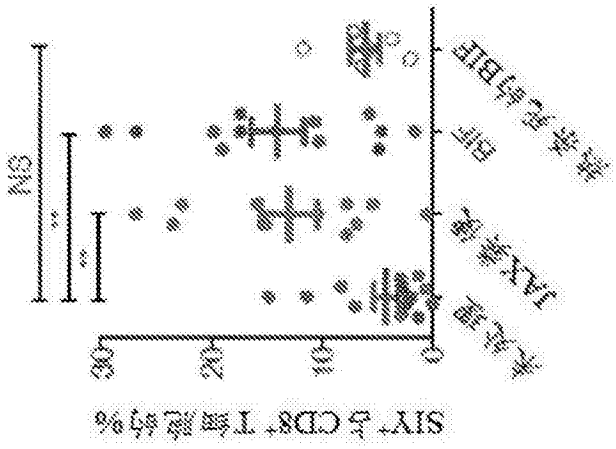

NS
SIY+ 占 CD8+ T 细胞的%
0
10
20
30
未处理
JAX类使
BIF
抗非无的BIF

图10D

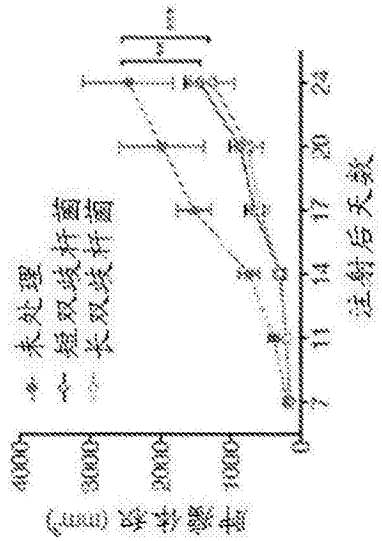

未处理
短双歧杆菌
长双歧杆菌
注射后天数
0
1000
2000
3000
4000
7
11
14
17
20
24

图11A

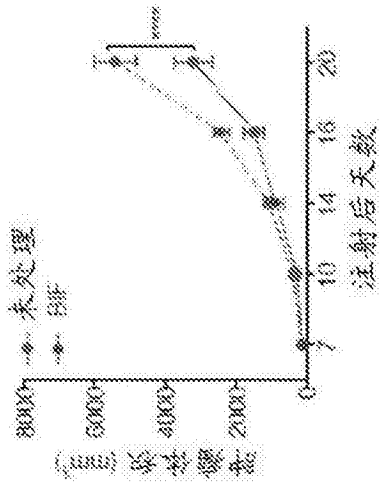


图11B

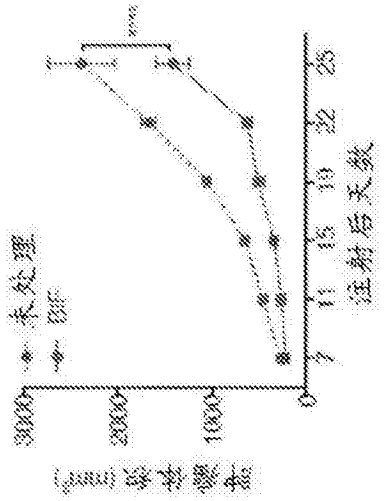


图11C

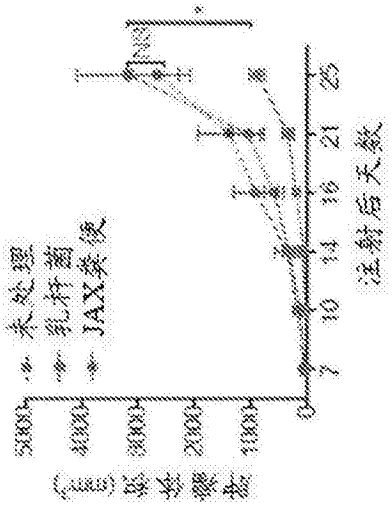


图11D

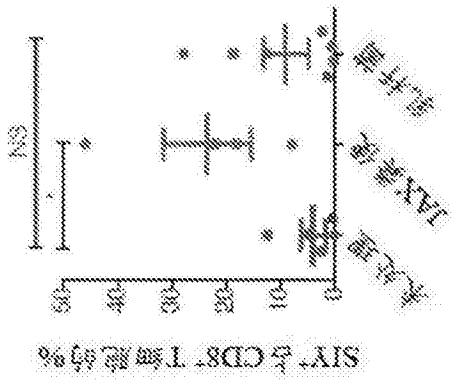


图11E

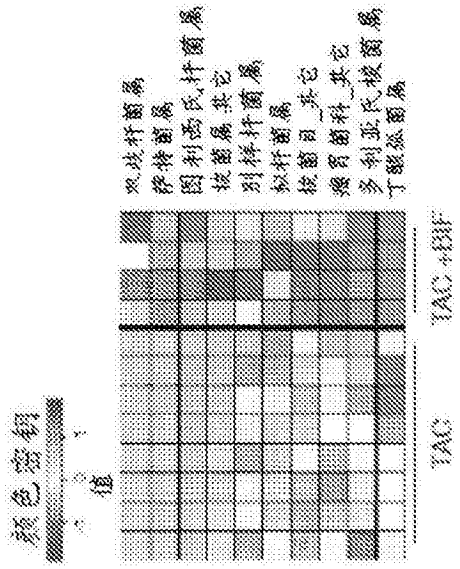


图12A

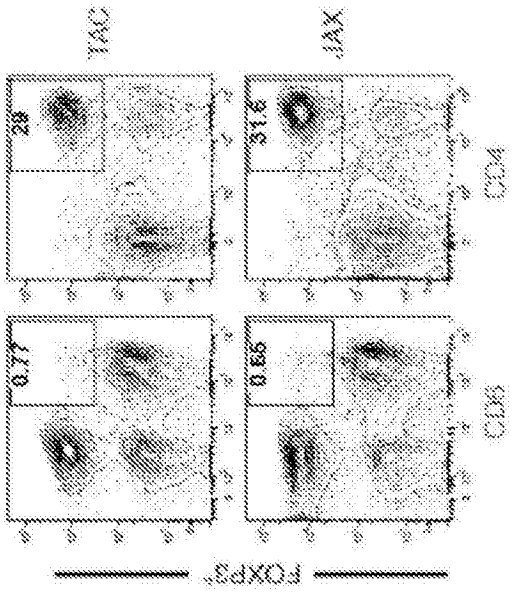


图12B

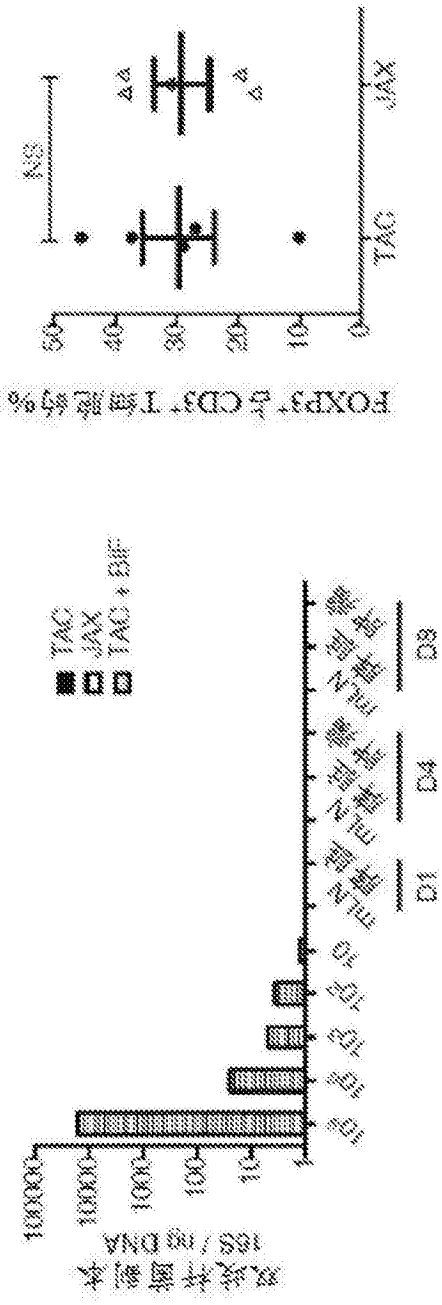

NS
TAC
JAX
FOXP3+ 占 CD3+ T细胞的%
TAC
JAX
TAC + BIF
D1
D4
D8
双歧杆菌制本
16S / ng DNA

图12C

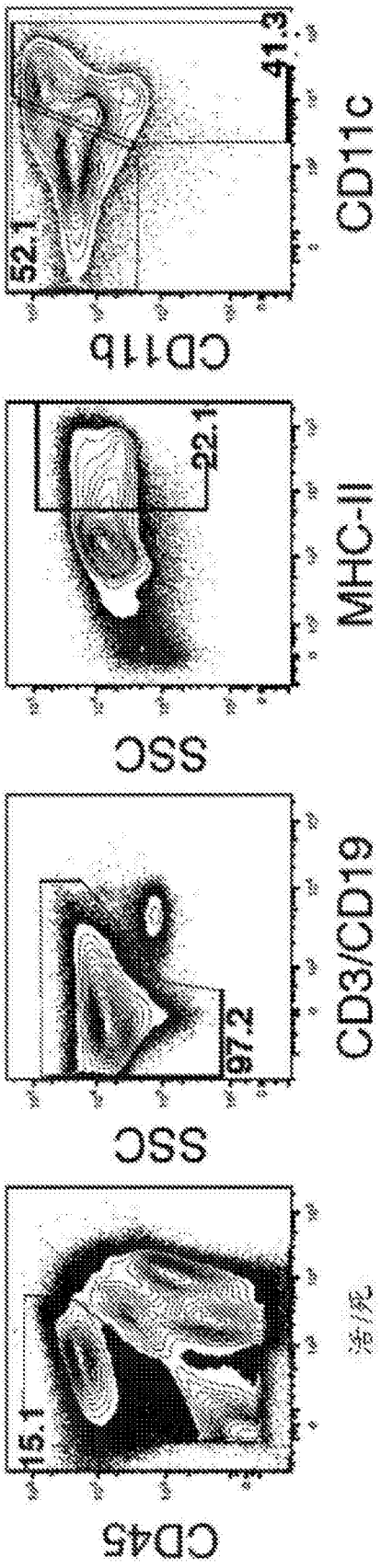


图13A

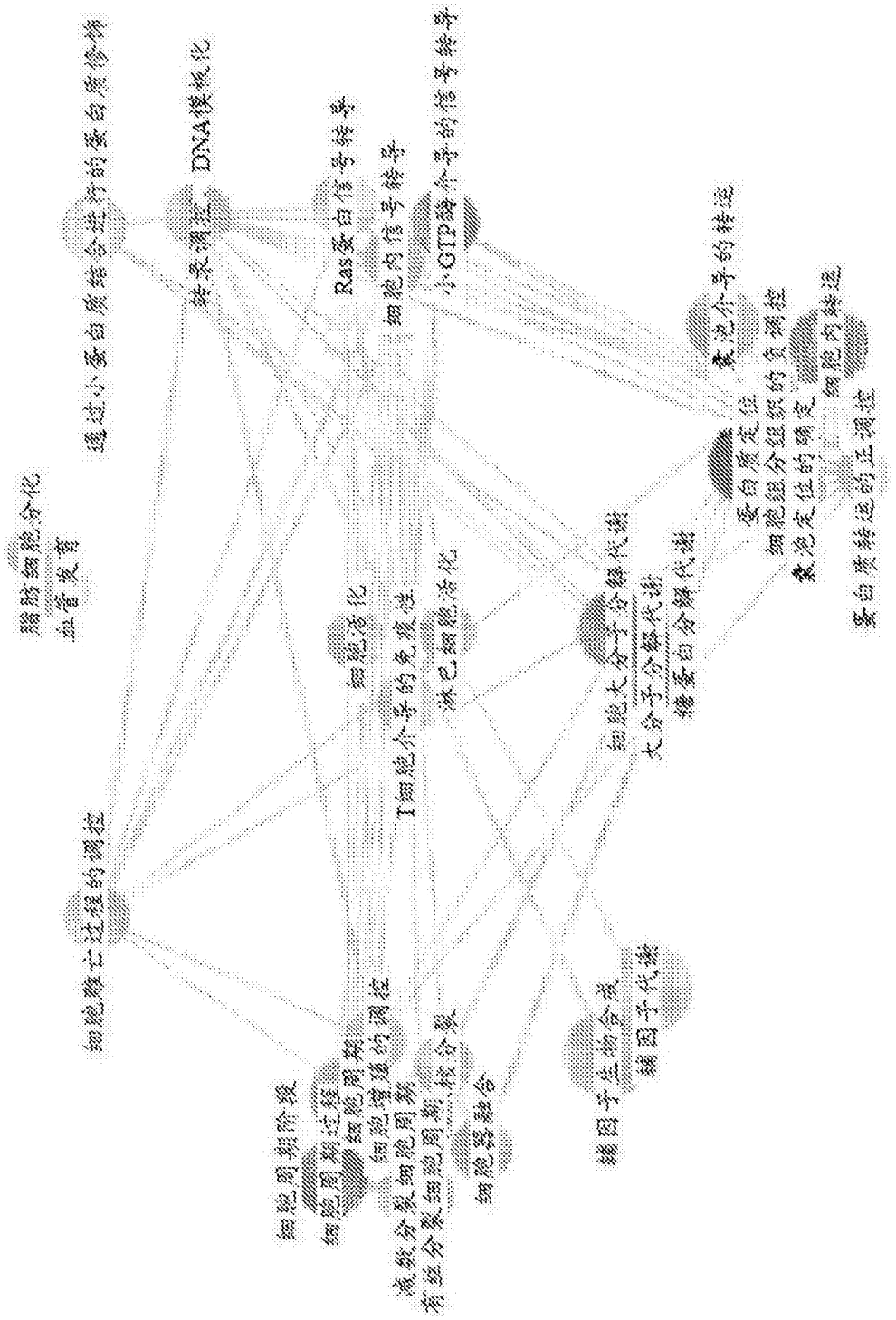

通过小蛋白质结合进行的蛋白质修饰
转录调控
DNA模板化
Ras蛋白信号转导
细胞内信号转导
小GTP酶介导的信号转导
脂肪细胞分化
血管发育
细胞活化
T细胞介导的免疫性
淋巴细胞活化
细胞大分子分解代谢
大分子分解代谢
糖蛋白分解代谢
囊泡介导的转运
蛋白质定位
细胞组分组织的负调控
囊泡定位的确定
细胞内转运
蛋白质转运的正调控
细胞雕亡过程的调控
细胞周期阶段
细胞周期过程
细胞周期
细胞增殖的调控
减数分裂细胞周期
有丝分裂细胞周期
核分裂
细胞器融合
辅因子生物合成
辅因子代谢

图13B

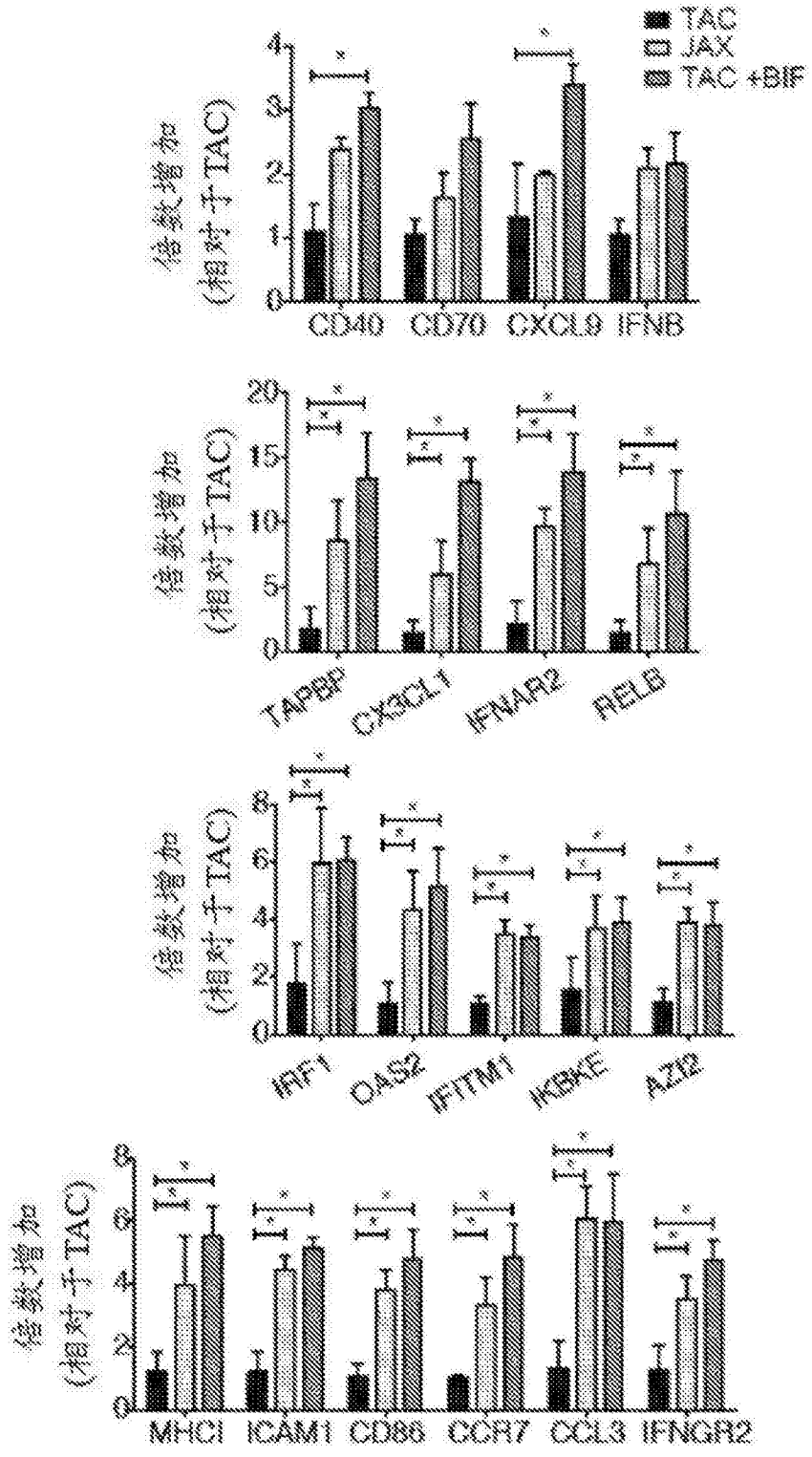

TAC
JAX
TAC +BIF
倍数增加
(相对于TAC)
CD40
CD70
CXCL9
IFNB
TAPBP
CX3CL1
IFNAR2
RELB
IRF1
OAS2
IFITM1
IKBKE
AZI2
MHC1
ICAM1
CD86
CCR7
CCL3
IFNGR2

图13C

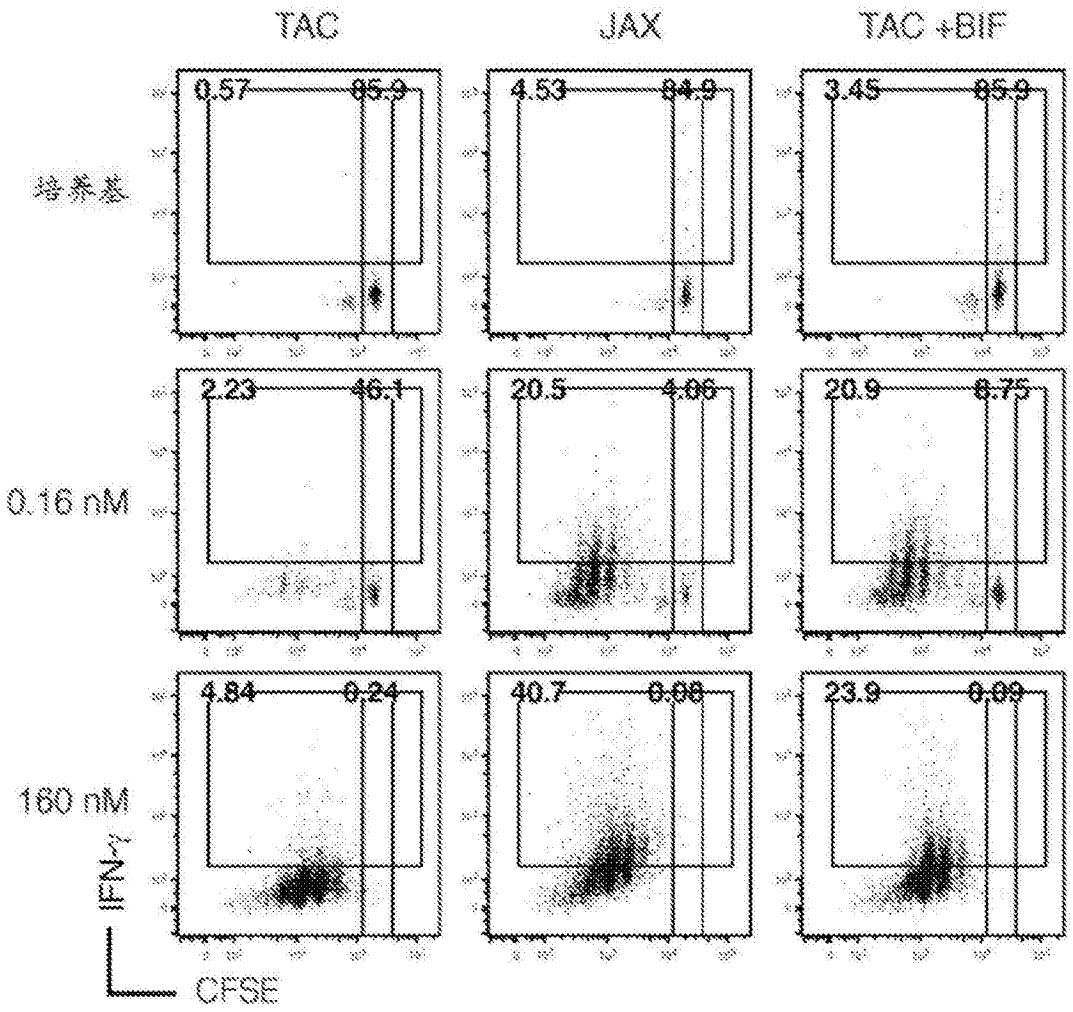

TAC
JAX
TAC +BIF
培养基
0.16 nM
160 nM
IFN-γ
CFSE
0.57
85.9
4.53
84.9
3.45
85.9
2.23
46.1
20.5
4.06
20.9
6.75
4.84
0.24
40.7
0.08
23.9
0.09

图14A

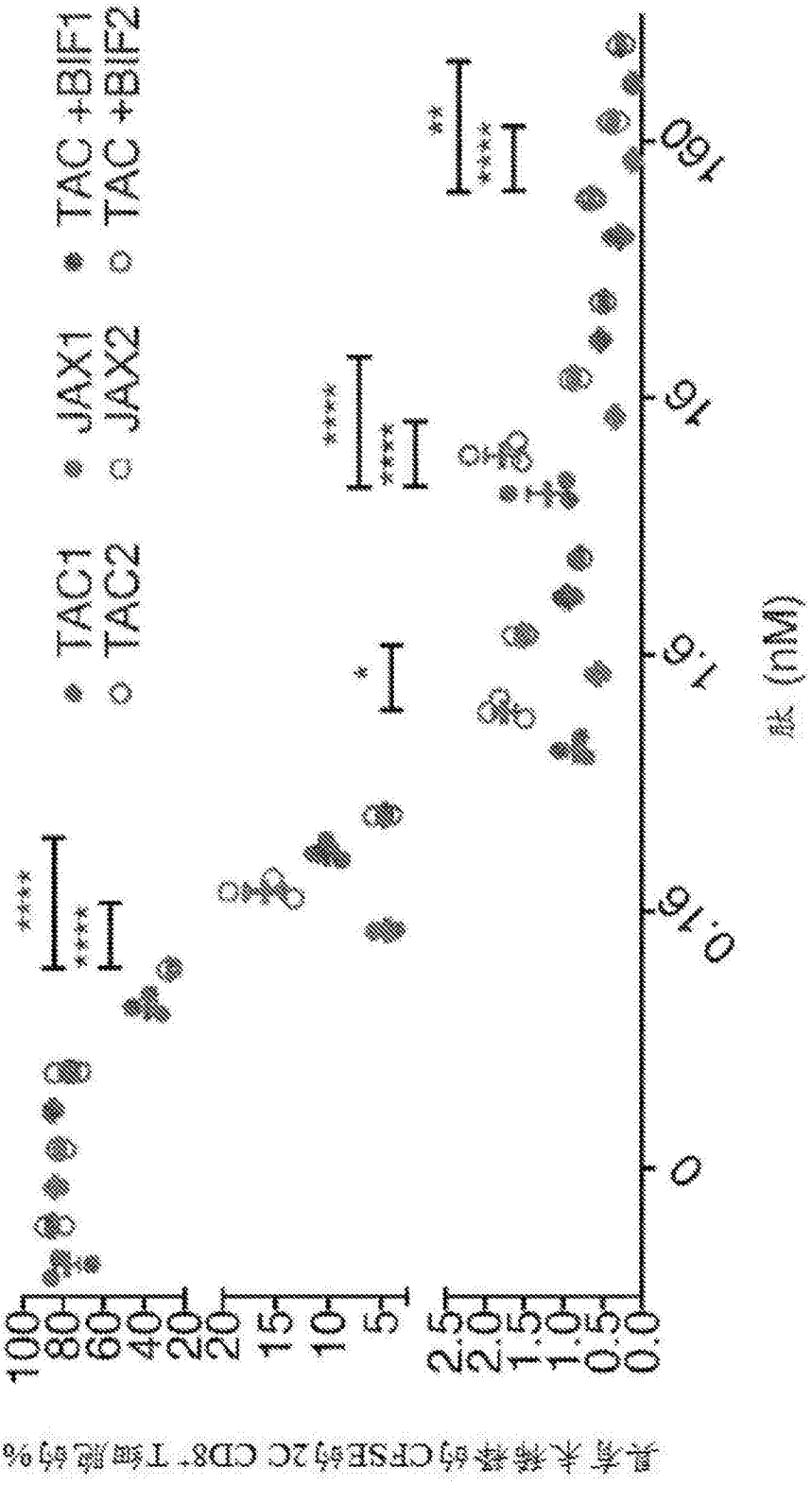

TAC1
TAC2
JAX1
JAX2
TAC +BIF1
TAC +BIF2
100
80
60
40
20
20
15
10
5
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
0.16
1.6
16
160
肽 (nM)
具有未稀释的CFSE的2C CD8+ T细胞的%

图14B

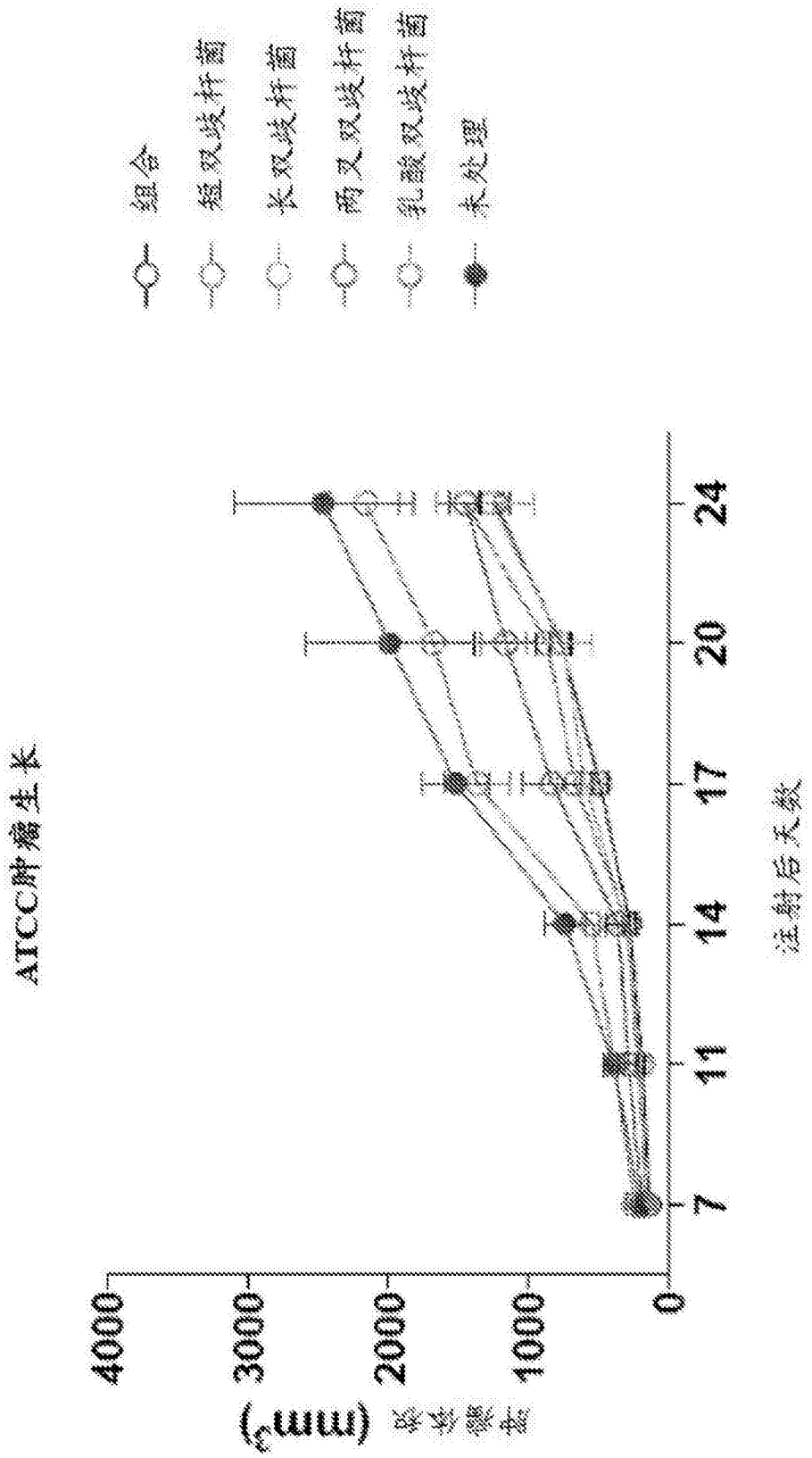

组合
短双歧杆菌
长双歧杆菌
两叉双歧杆菌
乳酸双歧杆菌
未处理
ATCC肿瘤生长
肿瘤体积 (mm³)
4000
3000
2000
1000
0
7
11
14
17
20
24
注射后天数

图15