



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201733601 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：106107283

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 06 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/74 (2015.01)* *A61P37/02 (2006.01)*
A61P37/08 (2006.01)

(30)優先權：2016/03/04 英國 1603817.6
 2016/07/13 英國 1612191.5
 2016/09/20 英國 1616022.8

(71)申請人：4 D 製藥有限公司 (英國) 4D PHARMA PLC (GB)
 英國

(72)發明人：柏納利爾—多納迪耶 安妮克 BERNALIER-DONADILLE, ANNICK (FR)；克魯茲
 羅琳 CROUZET, LAUREEN (FR)；阿布齊 克蘿伊 HABOUZIT, CHLOE (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：31 項 圖式數：23 共 72 頁

(54)名稱

包含細菌菌株之組合物

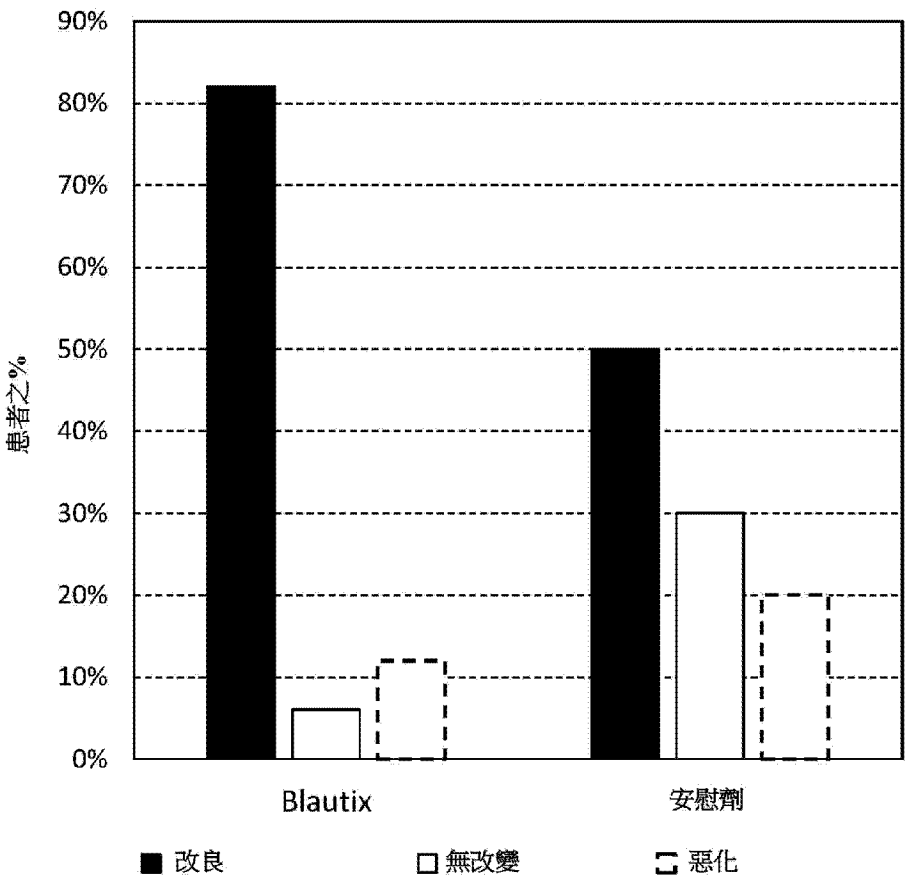
COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

(57)摘要

本發明提供用於治療或預防內臟過敏性之包含一或多種細菌菌株之組合物。

The invention provides compositions comprising one or more bacterial strains for treating or preventing visceral hypersensitivity.

指定代表圖：



【圖17】

【序列表】

<110> 英商4D製藥有限公司
<120> 包含細菌菌株之組合物
<130> P067595
<141> 2017-03-04
<160> 5
<170> SeqWin2010, version 1.0
<210> 1
<211> 1372
<212> DNA
<213> 糞便布勞特氏菌

<400> 1
tgcaagtcga gcgaagcgc taccacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg 60
gcgagcgggt gagtaacgcg tgggtaacct gcctcataca gggggataac agttggaaac 120
ggctgctaata accgcataag cgcacgggtat cgcattgatac agtgtgaaaa actccgggtgg 180
tatgagatgg acccgctctt gattagctag ttggagggggt aacggccac caaggcgacg 240
atcagtagcc ggccigagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gccagacac 300
ctacgggagg cagcagtggt gaattattgca caatggggga aacctgatg cagcgacgcc 360
gcgtgaagga agaagtatct cggatgtgaa acttctatca gcagggaaga aaatgacgg 420
acctgactaa gaagccccg ctaactacgt gccagcagcc gcggtatac gtagggggca 480
agcgttatcc ggattttact gggttaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtcgatgtg 540
aaaggctggg gcttaacccc aggaactgcat tggaaactgt tttcttgag tgccggagag 600
gtaagcggaa ttcttagtgt agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc 660
gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg 720
attagatacc ctggtagtc acgccgtaaa cgtatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc 780
ttctcgggtg cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg 840
aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag 900
caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca tgcatttgac cgttctgtaa tggaaacctt 960
ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgctgct agctcgtgct gtgagatgtt 1020
gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt atcctcagta gccagcaggt gaagctgggc 1080
actctgtgga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgacgtc aaatcatcat 1140
gccccctatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc 1200
gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt ccagttcgg actgcagttc gcaactcgac 1260
tgcacgaagc tggaaatcgt agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccc 1320
ggctttgtac acaccgcccg tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tc 1372

<210> 2
<211> 1438
<212> DNA
<213> 魏氏布勞特氏菌

<220>
<221> modified base
<222> 19
<223> 「n」係 a、c、g 或 t

<400> 2
caagtcgaac gggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaatttaat tctagtggcg 60
gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc 120
tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggtgggtat 180
aagatggacc cgcgttggat tagcttgttg gtggggtaac ggcccacaa gccgacgatc 240
catagccggc ctgagagggg gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta 300
cgggaggcag cagtggggaa tatgacaaa tgggggaaac cctgatgcag gcagcccgcg 360
tgaaggaaga agtatctcgg tatgtaaact tctatcagca gggaagatag tgacgggtacc 420
tgactaagaa gccccggcta actacgtgac agcagccgcg gtaatacgtg gggggcaagc 480
gttatccgga ttactgggtt gtaaaggag cgtagacggg gtggcaagtc tgatgtgaaa 540
ggcatgggct caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta 600
agcgggaatt ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcgaa 660
ggcggccttac tggacggtaa ctgacgttga ggctcgaaag cgtggggagc aaacaggatt 720

agataccctg	gtagtccacg	cgtaaacga	tgaataacta	ggtgtcgggt	ggcaaagcca	780
ttcgggtgccg	tcgcaaacgc	agtaagtatt	ccacctgggg	agtacgttcg	caagaatgaa	840
actcaaagga	atigacgggg	acccgcacaa	gcggtggagc	atgtggttta	attcgaagca	900
acgcgaagaa	ccftaccag	tcttgacatc	cgcctgaccg	atccttaacc	ggatctttcc	960
ttcgggacag	gcgagacagg	tgttgcatgg	tigtctcag	ctcgtgtcgt	gagatgttgg	1020
gttaagtccc	gcaacgagcg	caacccttat	cctcagtagc	cagcatttaa	ggtgggcact	1080
ctggggagac	tgccagggat	aacctggagg	aaggcgggga	tgacgtcaaa	tcacatgcc	1140
ccftatgatt	tgggctacac	acgtgctaca	atggcgtaaa	caaaggggag	cgagattgtg	1200
agatggagca	aatcccaaaa	ataacgtccc	agttcggact	gtagtctgca	acccgactac	1260
acgaagctgg	aatcgctagt	aatcgcggat	cagaatgccg	cgggtgaatac	gttcccgggt	1320
cttgtacaca	ccgcccgtca	caccatggga	gtcagtaacg	cccgaagta	gtgacctaac	1380
tgcaaaagag	gagctgccga	aggcgggacc	gatgactggg	gtgaagtcgt	aacaaggt	1438

<210> 3
<211> 1481
<212> DNA
<213> 糞便布勞特氏菌

<220>
<221> modified base
<222> 4
<223> 「k」係g或t

<400>	3					
tttkgtctgg	ctcaggatga	acgctggcgg	cgtgcttaac	acatgcaagt	cgagcgaagc	60
gcttacgaca	gaaccttcgg	gggaagatgt	aagggactga	gcggcggacg	ggtgagtaac	120
gcgtgggtaa	cctgcctcat	acagggggat	aacagttgga	aacggctgct	aataccgcat	180
aagcgcacag	tatcgcatga	tacagtgtga	aaaactccgg	tggtaggaga	tggacccgcg	240
tctgattagc	tagttggagg	ggtaacggcc	caccaaggcg	acgatcagta	gccggcctga	300
gaggggtgaac	ggccacattg	ggactgagac	acggcccaga	ctcctacggg	aggcagcagt	360
ggggaaatatt	gcacaatggg	ggaaaccctg	atgcagcgac	gccgcgtgaa	ggaagaagta	420
tctcggtatg	taaaacttcta	tcagcaggga	agaaaatgac	ggtacctgac	taagaagccc	480
cggctaacta	cgtgccagca	gccgcggtaa	tacgtagggg	gcaagcgtta	tccggattta	540
ctgggtgtaa	agggagcgta	gacggaagag	caagtctgat	gtgaaaggct	ggggcttaac	600
cccaggactg	cattggaaac	tgtttttctt	gagtgccgga	gaggtaaagc	gaattcctag	660
tgtagcggtg	aaatgcgttag	atattaggag	gaacaccagt	ggcgaaggcg	gcttactgga	720
cggtaacitga	cgttagaggct	cgaaaagcgtg	gggagcaaac	aggattagat	accctggtag	780
tccacgccgt	aaacgatgaa	tactaggtgt	tggggagcaa	agctcttcgg	tgccgcagca	840
aacgcaataa	gtattccacc	tggggagtag	gttcgcaaga	atgaaactca	aagggaattga	900
cggggagccg	cacaagcggg	ggagcatgtg	gtttattcga	agcaacgcga	agaaccttac	960
caagtcctga	catcgatctg	accggttcgt	aatggaaacct	ttccttcggg	acagagaaga	1020
cagggtggtgc	atggttgtcg	tcagctcgtg	tcgtgagatg	ttgggttaag	tcccgaacg	1080
agcgcaaccc	ctatcgtcag	tagccagcag	gtaaagctgg	gcactctgag	gagactgcca	1140
gggataacct	ggaggaaggc	ggggacgacg	tcaaatcatc	atgcccctta	tgatttgggc	1200
tacacacgtg	ctacaatggc	gtaaacaaag	ggaagcgagc	ccgcgagggg	gagcaaatcc	1260
caaaaataac	gtcccagttc	ggactgcagt	ctgcaactcg	actgcacgaa	gctggaatcg	1320
ctagtaatcg	cgaatcagaa	tgtcgcggtg	aatacgttcc	cgggtcttgt	acacaccgcc	1380
cgtcacacca	tgggagtcag	taacgcccga	agtcagtgac	ccaaccttag	ggaggggagct	1440
gccgaaggcg	ggattgataa	ctgggggtgaa	gtctaggggg	t		1481

<210> 4
<211> 1384
<212> DNA
<213> 魏氏布勞特氏菌

<220>
<221> modified base
<222> 749
<223> 「n」係a、c、g或t

<400>	4					
ttcattgaga	cttcgggtgga	tttagattct	atttctagt	gcggacgggt	gagtaacgcg	60
tgggtaacct	gccttatata	gggggataac	agtcagaaat	ggctgctaata	accgcataag	120
cgcacagagc	tgcatggctc	agtgtgaaaa	actccggttg	tataagatgg	acccgcgttg	180
gattagcttg	ttgggtgggt	aacggccac	caaggcgacg	atccatagcc	ggcctgagag	240
ggtgaacggc	cacattggga	ctgagacacg	gcccagactc	ctacgggagg	cagcagtggt	300
gaatattgca	caatggggga	aacctgatg	cagcgacgcc	gcgtgaaggga	agaagtatct	360

cggtatgtaa	acttctatca	gcagggaaga	tagtgacggt	acctgactaa	gaagccccgg	420
ctaactacgt	gccagcagcc	gcggtaatat	gtagggggca	agcgttatcc	ggatttactg	480
ggtgtaaagg	gagcgtagac	ggtgtggcaa	gtctgatgtg	aaaggcatgg	gctcaacctg	540
tggactgcat	tggaaactgt	catacttgag	tgccggaggg	gtaagcggaa	ttcctagtgt	600
agcggtgaaa	tgcgtagata	ttaggaggaa	caccagtggc	gaaggcggct	tactggacgg	660
taactgacgt	tgaggctcga	aagcgtgggg	agcaaacagg	attagatacc	ctggtagtcc	720
acgccgtaaa	cgaatgaatac	taggtgtcng	gggagcatgg	ctcttcggig	ccgtcgcaaa	780
cgcagtaagt	attccacctg	gggagtiacgt	tcgcaagaat	gaaactcaaa	ggaaattgacg	840
gggacccgca	caagcgggtgg	agcatgtggt	ttaattcgaa	gcaacgcgaa	gaaccttacc	900
aagtcttgac	atccgcctga	ccgatccita	accggatctt	tccttcggga	caggcgagac	960
aggtgggtga	tgggtgtcgt	cagctcgtgt	cgtgagatgt	tgggttaagt	ccgcaacga	1020
gcgcaacccc	tatccctcagt	agccagcatt	taagggtgggc	actctgggga	gactgccagg	1080
gataacctgg	aggaaggcgg	ggaatgacgtc	aaatcatcat	gccccctatg	atttgggcta	1140
cacacgtgct	acaatggcgt	aaacaaaggg	aagcgagatc	gtgagatgga	gcaaatccca	1200
aaaataacgt	cccagttcgg	actgtagtct	gcaacccgac	tacacgaagc	tggaaatcgct	1260
agtaatcgcg	gatcagaatg	ccgcgggtgaa	tacgttcccg	ggctctgtac	acaccgcccg	1320
tcacaccatg	ggagttagta	acgccgaag	tcagtgaacct	aactgcaaag	aaggagctgc	1380
cgaa						1384
<210>	5					
<211>	1458					
<212>	DNA					
<213>	氫營養布勞特氏菌					
<220>						
<221>	modified base					
<222>	1416					
<223>	「n」係 a、c、g 或 t					
<400>	5					
gatgaacgct	ggcggcggtgc	ttaacacatg	caagtcgaac	gaagcgatag	agaacggaga	60
tttcggttga	agtttttctat	tgactgagtg	gcggacgggt	gagtaacgcg	tgggtaacct	120
gccctatata	gggggataaac	agttagaaat	gactgctaata	accgcataag	cgcacagctt	180
cgcataaagc	ggtgtgaaaa	actgaggtgg	tataggatgg	acccgcgttg	gattagctag	240
ttggtgaggt	aacggcccac	caaggcgacg	atccatagcc	ggcctgagag	ggtgaacggc	300
cacatttggga	ctgagacacg	gccccaaactc	ctacgggagg	cagcagtggg	gaatatigca	360
caatggggga	aacctgatg	cagcgacgcc	gcgtgaagga	agaagtaict	cggtatgtaa	420
acttctatca	gcagggaaga	aagtacgggt	acctgactaa	gaagccccgg	ctaattacgt	480
gccagcagcc	gcggtaatat	gtaaggggca	agcgttatcc	ggatttactg	ggtgtaaagg	540
gagcgtagac	ggttttgcaa	gtctgatgtg	aaaggcatgg	gctcaacctg	tggactgcat	600
tggaaactgt	cagacttgag	tgccggagag	gcaagcggaa	ttcctagtgt	agcggtgaaa	660
tgcgtagata	ttaggaggaa	caccagtggc	gaaggcggcc	tgctggacgg	taactgacgt	720
tgaggctcga	aagcgtgggg	agcaaacagg	attagatacc	ctggtagtcc	acgctgtaaa	780
cgaatgaatac	taggtgtcgg	gtggcaaagc	cattcgggtgc	cgcagcaaac	gcaataagta	840
ttcccacctg	gggagtagct	tcgcaagaat	gaaactcaaa	ggaattgacg	gggacccgca	900
caagcgggtgg	agcatgtggt	ttaattcgaa	gcaacgcgaa	gaaccttacc	aaatcttgac	960
atccctctga	ccgggaagta	atgttcccct	ttcttcggaa	cagaggagac	agggtggtgca	1020
tggttgtcgt	cagctcgtgt	cgtgagatgt	tgggttaagt	cccgaacga	gcgcaacctt	1080
tattcttagt	agccagcagg	tagagctggg	cactctaggg	agactgccag	ggataacctg	1140
gaggaagggtg	gggatgacgt	caaatcatca	tgcctcttat	gatttgggct	acacacgtgc	1200
tacaatggcg	taaacaaagg	gaagcgaagg	ggtgacctgg	agcaaaticc	aaaaataacg	1260
tctcagttcg	gattgtagtc	tgcactcga	ctacatgaag	ctggaatcgc	tagtaatcgc	1320
gaatcagaat	gtcgcgggtga	atacgttccc	gggtcttgta	cacaccgccc	gtcacaccat	1380
gggagtcagt	aacgcccga	gtcagtgacc	caaccnaaag	gaggagctg	ccgaaggtgg	1440
gactgataac	tggggtaga					1458

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含細菌菌株之組合物

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

【技術領域】

本發明屬包含自哺乳動物消化道分離之細菌菌株之組合物及該等組合物治療疾病之用途的領域。

【先前技術】

儘管認為在子宮內時人腸無菌，但出生後其立即暴露於眾多種母體及環境微生物。其後，發生微生物移生及演替之動態時期，該時期受諸如分娩模式、環境、飲食及宿主基因型之因素影響，所有此等因素皆影響腸道微生物區之組成，尤其在幼年期間。隨後，微生物區穩定並變得成人化[1]。人類腸道微生物區含有多於1500種不同的種系型，其中兩種主要細菌門(division)(門(*phyla*))之豐度佔優，即擬桿菌門及厚壁菌門[2-3]。由人類腸道之細菌移生引起之成功的共生關係已產生眾多種代謝、結構、保護及其他有益功能。經移生腸道之增強代謝活動確保原本不可消化之飲食組份降解，同時釋放副產物，為宿主提供重要營養源及額外健康益處。類似地，腸道微生物區之免疫重要性係公認的且例示於無菌動物中，該等無菌動物之免疫系統受損且在引入共生性細菌後經功能重構[4-6]。

已記載諸如發炎性腸病(IBD)之胃腸道病症中微生物區組成之巨大改變。舉例而言，在IBD患者中梭菌屬(*Clostridium*)群落XIVa及梭菌屬群落XI (普拉梭菌(*F.prausnitzii*))細菌之含量降低，而大腸桿菌(*E. coli*)之數

目增加，此表明腸道內共生生物及致病生物之平衡的轉移[7-11]。

在對某些細菌菌株可對動物腸道具有之潛在正面效應之認識中，已提出多種菌株可用於治療多種疾病(參見，例如[12-15])。已提出多種菌株(主要包括乳酸菌屬(*Lactobacillus*)及雙叉桿菌屬(*Bifidobacterium*)菌株)可用於治療多種腸病症(綜述參見[16])。亦已提出布勞特氏菌(*Blautia*)屬之菌株可用於調節消化生態系統之微生物平衡(WO 01/85187)。然而，對不同細菌菌株與不同疾病之間之關係以及特定細菌菌株對腸道及在全身性層面上及對任何特定類型之疾病的精確效應之表徵很不充分。

需要表徵腸道細菌之潛在效應，使得可開發使用腸道細菌之新穎療法。

【發明內容】

本發明者已開發出用於治療並預防內臟過敏性之新穎療法。特定而言，本發明者已鑑別來自布勞特氏菌屬之細菌菌株可有效降低內臟過敏性。如在實例中所闡述，經口投與包含氫營養布勞特氏菌(*Blautia hydrogenotrophica*)之組合物可減少內臟過敏性及刺激性腸症候群(IRS)之大鼠模型之內臟過敏性。因此，在第一實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其係用於治療或預防內臟過敏性之方法中。

在較佳實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其係用於治療或預防經診斷患有克隆氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或更佳地IRS之個體之內臟過敏性之方法中。在其他較佳實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其係用於治療或預防經診斷患有克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良、嬰兒腸絞痛或更佳地IRS之個體之內臟過敏性之方法中。

在其他較佳實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其係用於治療或預防腹部中、較佳地胃腸道中且最佳地下胃腸道中之內臟過敏性。在其他實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防盲腸、結腸或直腸中之內臟過敏性。

在本發明之較佳實施例中，組合物中之細菌菌株屬於氫營養布勞特氏菌。亦可使用緊密相關之菌株，例如具有與氫營養布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列之細菌菌株。較佳地，細菌菌株具有與SEQ ID NO:5至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。最佳地，組合物中之細菌菌株係以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株。

在本發明之其他實施例中，組合物中之細菌菌株屬於糞便布勞特氏菌(*Blautia stercoris*)。亦可使用緊密相關之菌株，例如具有與糞便布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列之細菌菌株。較佳地，細菌菌株具有與SEQ ID NO:1或3至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係對SEQ ID NO:3而言。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有由SEQ ID NO:3所表示之16s rRNA序列。

在本發明之其他實施例中，組合物中之細菌菌株屬於魏氏布勞特氏菌(*Blautia wexlerae*)。亦可使用緊密相關之菌株，例如具有與魏氏布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列細菌菌株。較佳地，細菌菌株具有與

SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係對SEQ ID NO:4而言。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有由SEQ ID NO:4所表示之16s rRNA序列。

在某些實施例中，本發明之組合物係用於經口投與。經口投與本發明之菌株可有效治療內臟過敏性。而且，經口投與對患者及開業醫師方便，且允許遞送至腸及/或在腸中部分或全部移生。

在某些實施例中，本發明之組合物包含一或多種醫藥上可接受之賦形劑或載劑。

在某些實施例中，本發明之組合物包含已經凍乾之細菌菌株。凍乾係有效且方便的製備允許遞送細菌之穩定組合物之技術，且顯示提供實例中之有效組合物。

在某些實施例中，本發明提供包含如上文所述組合物之食物產品。

在某些實施例中，本發明提供包含如上文所述組合物之疫苗組合物。

另外，本發明提供治療或預防內臟過敏性之方法，其包含投與包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物。

【圖式簡單說明】

圖1：藉由qPCR量測BH群體，其顯示接受BH凍乾物之動物在第14天及第28天時BH增加。

圖2：BH培養物及凍乾物對動物對擴張之反應的影響，其顯示接受BH組合物之動物收縮減少。

圖3：BH培養物對微生物區之影響，其顯示接受日劑量之BH培養物

之大鼠中SRB減少1 log。

圖4：BH凍乾物對微生物區之影響。

圖5：BH凍乾物對微生物區發酵-短鏈脂肪酸之影響，其顯示經BH治療之大鼠中乙酸鹽產量增加。

圖6：BH凍乾物對微生物區發酵-硫化物之影響，其顯示硫化物產量之減少。

圖7：BH凍乾物對動物對擴張之反應之影響。大鼠MIH IBS + BH：CRD測試。

圖8：BH凍乾物對動物對擴張之反應之影響。大鼠MIH IBS + BH：所有數據-CRD測試。

圖9：BH凍乾物對硫化物之影響。大鼠MIH IBS + BH：硫化物濃度(mg/L)。

圖10：BH凍乾物對硫化物之影響。大鼠MIH IBS + BH：所有數據-硫化物濃度(mg/L)。

圖11：HIM大鼠中之投藥研究-接受不同濃度之細菌種的健康HIM大鼠之糞便試樣中氫營養布勞特氏菌(*B. hydrogenotrophica*)之RT-PCR量化。

圖12：將氫營養布勞特氏菌經口投與(10^9 /天)健康HIM大鼠後之傳輸時間。

圖13：投與(以 10^{10} /天/大鼠投與氫營養布勞特氏菌) 14天後，在健康HIM大鼠之糞便及盲腸試樣中發現之氫營養布勞特氏菌含量之比較(RT-PCR量化)。

圖14：氫營養布勞特氏菌(10^{10} /天，14天)對健康HIM大鼠之盲腸內

容物中之短鏈脂肪酸產量(RMN ^1H)之效應。

圖15：氫營養布勞特氏菌投與對IBS-HIM大鼠中之微生物群體之影響。

圖16：經氫營養布勞特氏菌治療(10^{10} /天，14天)之IBS-HIM大鼠中之硫化物產量。對照大鼠未經治療。

圖17：患者症狀在I期臨床試驗之投藥期間(第1-16天)之改變。

圖18：患者症狀在I期臨床試驗之導瀉期間之改變。

圖19：經或未經包含氫營養布勞特氏菌(BlautiX)之組合物治療28天之IBS-HMA大鼠之糞便試樣中的氫營養布勞特氏菌群體之qPCR評估。

圖20：在經或未經氫營養布勞特氏菌(BlautiX)治療28天之IBS-HMA大鼠中及在未經治療之健康HMA大鼠中對結腸直腸擴張之腹腔反應。

圖21：相對於對照溶液，氫營養布勞特氏菌(BlautiX)投與後，IBS HMA-大鼠糞便試樣中之細菌計數。

圖22：經或未經氫營養布勞特氏菌(Blautix)治療28天之IBS HMA-大鼠之盲腸試樣中之硫化物濃度。

圖23：經或未經氫營養布勞特氏菌(Blautix)治療28天之IBS-HMA大鼠之盲腸試樣中之短鏈脂肪酸(SCFA)濃度。圖23A顯示總SCFA濃度。圖23B顯示乙酸、丙酸及丁酸之濃度。

【實施方式】

細菌菌株

本發明之組合物包含布勞特氏菌屬之細菌菌株。實例顯示，此屬之細菌可用於治療或預防內臟過敏性。較佳細菌菌株屬氫營養布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌及魏氏布勞特氏菌種。用於本發明中之其他較佳細菌菌株

係產生性布勞特氏菌(*Blautia producta*)、球形布勞特氏菌(*Blautia coccoides*)及漢遜布勞特氏菌(*Blautia hansenii*)。

用於本發明中之布勞特氏菌菌株之實例包括氫營養布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌(*B. stercoris*)、糞便布勞特氏菌(*B. faecis*)、球形布勞特氏菌(*B. coccoides*)、格魯氏布勞特氏菌(*B. gluceracea*)、漢遜布勞特氏菌(*B. hansenii*)、陸體布勞特氏菌(*B. luti*)、產生性布勞特氏菌(*B. producta*)、斯辰氏布勞特氏菌(*B. schinkii*)及魏氏布勞特氏菌(*B. wexlerae*)。布勞特氏菌種係革蘭氏(Gram)反應陽性、非運動性細菌，其可係球菌狀或卵形且全部皆係產生乙酸作為葡萄糖發酵之主要最終產物之絕對嫌氧菌[17]。布勞特氏菌可自人類腸道分離，但產生性布勞特氏菌係自敗血症試樣分離。

氫營養布勞特氏菌(先前稱為氫營養瘤胃球菌(*Ruminococcus hydrogenotrophicus*))已自哺乳動物之腸道分離，嚴格嫌氧並將 H_2/CO_2 代謝為可對人類營養及健康重要之乙酸鹽。氫營養布勞特氏菌之模式菌株係 S5a33 = DSM 10507 = JCM 14656。氫營養布勞特氏菌菌株S5a36之16S rRNA基因序列之基因庫(GenBank)登錄號係X95624.1 (在本文中揭示為 SEQ ID NO:5)。此實例性氫營養布勞特氏菌菌株闡述於[17]及[18]中。S5a33菌株及S5a36菌株對應於自健康個體之糞便試樣分離之菌株之兩個子純系。其顯示相同的形態、生理學及代謝並具有相同的16S rRNA序列。因此，在一些實施例中，用於本發明中之氫營養布勞特氏菌具有SEQ ID NO:5之16S rRNA序列。

以登錄號DSM 10507以及以登錄號DSM 14294寄存之氫營養布勞特氏菌細菌在實例中經測試且在本文中亦稱為菌株BH。菌株BH係在1996年

1月以登錄號DSM 10507作為「氫營養瘤胃球菌」寄存於Deutsche Sammlung von Mikroorganismen [German Microorganism Collection] (Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, 德國), 以及在2001年5月10日以登錄號DSM 14294作為「S5a33」寄存。寄存者係INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand/Theix 63122 Saint Genès Champanelle, 法國。寄存物之所有權已藉由受讓之方式轉給4D Pharma Plc。

糞便布勞特氏菌菌株GAM6-1^T之16S rRNA基因序列之基因庫登錄號係HM626177 (本文中揭示為SEQ ID NO:1)。實例性糞便布勞特氏菌菌株係揭示於[19]中。魏氏布勞特氏菌之模式菌株係WAL 14507 = ATCC BAA-1564 = DSM 19850 [17]。魏氏布勞特氏菌菌株WAL 14507 T之16S rRNA基因序列之基因庫登錄號係EF036467 (本文中揭示為SEQ ID NO:2)。此實例性魏氏布勞特氏菌菌株係揭示於[17]中。

較佳糞便布勞特氏菌菌株係以登錄號NCIMB 42381寄存之菌株, 其在本文中亦稱為菌株830。830菌株之16S rRNA序列係提供於SEQ ID NO:3中。菌株830係在2015年3月12日由GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, 蘇格蘭)作為「糞便布勞特氏菌830」寄存於國際寄存機構NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, 蘇格蘭), 並被分配登錄號NCIMB 42381。GT Biologics Ltd.隨後將其名稱改為4D Pharma Research Limited。

較佳魏氏布勞特氏菌菌株係以登錄號NCIMB 42486寄存之菌株, 其在本文中亦稱為菌株MRX008。MRX008菌株之16S rRNA序列係提供於SEQ ID NO:4中。菌株MRX008係在2015年11月16日由4D Pharma

Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, 蘇格蘭)作為「布勞特氏菌/瘤胃球菌MRx0008」寄存於國際寄存機構 NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, 蘇格蘭)，並被分配登錄號NCIMB 42486。

亦預期與實例中所測試菌株緊密相關之細菌菌株有效治療或預防內臟過敏性。在某些實施例中，用於本發明中之細菌菌株具有與氫營養布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有與SEQ ID NO:5至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

在某些實施例中，用於本發明中之細菌菌株具有與糞便布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有與SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係對SEQ ID NO:3而言。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有由SEQ ID NO:3所表示之16s rRNA序列。在某些實施例中，用於本發明中之細菌菌株具有與魏氏布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有與SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係對SEQ ID NO:4而言。較佳地，用於本發明中之細菌菌株具有由SEQ ID NO:4所表示之16s rRNA序列。

亦預期係以登錄號DSM 10507/14294寄存之細菌之生物型或以登錄號NCIMB 42381及NCIMB 42486寄存之細菌之生物型之細菌菌株有效治療或預防內臟過敏性。生物型係具有相同或極相似生理及生物化學特徵之緊密相關之菌株。

係以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之生物型並適用於本發明之菌株可藉由將以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之其他核苷酸序列定序來鑑別。舉例而言，實質上全基因體可經定序，且用於本發明中之生物型菌株可跨越其全基因體之至少80%（例如，跨越至少85%、90%、95%或99%或跨越其全基因體）具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%之序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，生物型菌種跨越其基因體之至少98%具有至少98%之序列一致性，或跨越其基因體之99%具有至少99%序列一致性。用於鑑別生物型菌株之其他適宜序列可包括hsp60或諸如BOX、ERIC、(GTG)₅或REP或[20]之重複性序列。生物型菌株可具有與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之對應序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性之序列。在一些實施例中，生物型菌種具有作為DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株之對應序列具有至少97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性之序列，且包含與SEQ ID NO:5至少99%一致（例如，至少99.5%或至少99.9%一致）之16S rRNA序列。在一些實施例中，生物型菌種具有與作為DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株之對應序列具有至少97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性之序列，且具有SEQ ID NO:5之16S rRNA序

列。

或者，係以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之生物型且適用於本發明之菌株可藉由使用登錄號DSM 10507/14294寄存物、登錄號NCIMB 42381寄存物或登錄號NCIMB 42486寄存物及限制片段分析及/或PCR分析，例如，藉由使用螢光擴增片段長度多型性(FAFLP)及重複性DNA元件(rep)-PCR指紋分析或蛋白質譜分析或部分16S rDNA或23s rDNA定序來鑑別。在較佳實施例中，可使用此等技術來鑑別其他氫營養布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌或魏氏布勞特氏菌菌株。

在某些實施例中，係以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之生物型且適用於本發明之菌株係當藉由擴增核糖體DNA限制性分析(ARDRA)分析時，例如當使用Sau3AI限制酶時(實例性方法及指導參見(例如) [21])提供與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌相同之模式之菌株。或者，將生物型菌株鑑別為與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌具有相同碳水化合物發酵模式之菌株。

可用於本發明之組合物及方法中之其他布勞特氏菌菌株(例如，以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之生物型)可使用任一適當方法或策略(包括實例中所述之分析)鑑別。舉例而言，用於本發明中之菌株可藉由培養細菌並將其投與大鼠以在擴張分析中測試來鑑別。特定而言，與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌具有相似生長模式、代謝類型及/或表面抗原之細菌菌株可用於本發明中。可用菌株將具有與DSM 10507/14294、

NCIMB 42381或NCIMB 42486菌株相當之微生物區調節活性。特定而言，生物型菌種將引發與實例中所顯示之效應相當之對內臟過敏性模型之效應，該等效應可藉由使用實例中所述之培養及投與方案鑑別。

本發明之尤佳菌株係以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株。此為在實例中測試並顯示有效治療疾病之實例性BH菌株。因此，本發明提供以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株或其衍生物之細胞(例如，分離細胞)，其用於療法中，尤其用於本文中所述之疾病。

以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之菌株之衍生物可係子菌株(後代)或自原始菌株培養(亞選殖)之菌株。本發明菌株之衍生物可經修飾(例如，在基因層面上)而不去除生物活性。特定而言，本發明之衍生菌株具治療活性。衍生菌株將具有與原始DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486菌株相當之微生物區調節活性。特定而言，衍生菌株將引發與實例中所顯示之效應相當之對內臟過敏性模型之效應，該等效應可藉由使用實例中所述之培養及投與方案鑑別。DSM 10507/14294菌株之衍生物通常將係DSM 10507/14294菌株之生物型。NCIMB 42381菌株之衍生物通常將係NCIMB 42381菌株之生物型。NCIMB 42486菌株之衍生物通常將係NCIMB 42486菌株之生物型。

提及以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株之細胞時涵蓋與以登錄號DSM 10507/14294寄存之菌株具有相同安全性及治療效能特徵之任何細胞，且本發明涵蓋此等細胞。提及以登錄號NCIMB 42381寄存之糞便布勞特氏菌菌株之細胞時涵蓋與以登錄號NCIMB 42381寄存之菌株具有相同安全性及治療效能特徵之任何細胞，且本發明涵蓋此

等細胞。提及以登錄號NCIMB 42486寄存之魏氏布勞特氏菌菌株之細胞時涵蓋與以登錄號NCIMB 42486寄存之菌株具有相同安全性及治療效能特徵之任何細胞，且本發明涵蓋此等細胞。

在較佳實施例中，本發明組合物中之細菌菌株有活力且能夠部分地或全部移生於腸。

治療用途

在較佳實施例中，本發明之組合物係用於治療內臟過敏性。內臟過敏性係特殊類型之疼痛，其特徵為位於腹腔區域，由胸部、骨盆或腹腔內臟(器官)之痛覺感受器活化所致的主觀疼痛知覺。內臟過敏性通常瀰漫且難以定位，且因此與通常較劇烈並更集中之軀體性疼痛形成對比。而且，與軀體性疼痛不同，內臟過敏性通常與特定結構病灶無關聯。內臟痛覺感受器在本質上不同於皮膚及大部分其他非內臟痛覺感受器[22]。

內臟過敏性通常係在腹部經歷，但並非所有腹痛皆係內臟過敏性。相比之下，腹痛具有許多潛在原因且腹痛可係軀體性疼痛、牽涉痛或內臟疼痛。在腹部中，軀體性疼痛可由發炎器官引起且通常劇烈並集中。腹痛可由纖維肌痛引起，其係軀體(皮膚及肌肉)過敏性之病狀。牽涉痛係在遠離患病器官之皮膚位點感受到。

內臟過敏性通常與功能性消化不良及刺激性腸症候群(IRS)相關。然而，並非所有與功能性消化不良及IRS相關之疼痛皆係內臟過敏性。實際上，許多患有IRS之患者亦展現眾多種腹腔部位(背痛、胃灼熱)及非腹腔部位(偏頭痛、性交困難、軀體定位遠離腸道之身體部位中之肌肉疼痛)中之軀體症狀[23]。

在一些實施例中，疾病或病況之發病機制影響腸。在一些實施例

中，疾病或病況之發病機制不影響腸。在一些實施例中，疾病或病況之發病機制不侷限於腸。在一些實施例中，治療或預防發生於除腸以外之位點。在一些實施例中，治療或預防發生於腸以及除腸以外之位點。在某些實施例中，疾病或病況係全身性的。

內臟過敏性亦稱為內臟疼痛，且該兩個術語在本文中互換使用。

如實例中所顯示，本發明之細菌組合物可有效降低內臟過敏性。特定而言，本發明之細菌組合物可減少對結腸直腸擴張之反應，該反應係影響許多患者之內臟過敏性之表現。在較佳實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防腹部中、較佳地胃腸道中、且最佳地下胃腸道中之內臟過敏性。在其他實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防盲腸、結腸或直腸中之內臟過敏性。

在較佳實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防與克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良、嬰兒腸絞痛或更佳地**IBS**相關之內臟過敏性。在較佳實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防經診斷患有克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良、嬰兒腸絞痛或更佳地**IBS**之個體之內臟過敏性。在較佳實施例中，本發明之組合物係用於在克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良、嬰兒腸絞痛或更佳地**IBS**之治療中治療或預防內臟過敏性。

在較佳實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防與克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或更佳地**IBS**相關之內臟過敏性。在較佳實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防經診斷患有克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或更佳地**IBS**之個體之內臟過敏性。在較佳實施例中，本發明之組合物係用於在克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化

不良或更佳地**IBS**之治療中治療或預防內臟過敏性。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療遭受胃腸道(尤其在結腸或直腸中)脹痛之患者的內臟過敏性。

與**IBS**及其他腸病狀相關之不適及痛苦之某些態樣可由胃腸道中氣體之過量產生及該等累積氣體之巨大體積引起。例如，不同氣體之體積增加可導致胃積氣。如實例中所顯示，本發明之細菌組合物可有效治療**IBS**及其他腸病狀之特定態樣-內臟過敏性。不希望受限於任何理論，所觀測到之本發明之細菌組合物對內臟過敏性之效應可與細菌對特定氣體(H_2S)之效應及其對在腸道中合成 H_2S 之硫酸鹽還原細菌(**SRB**)之效應相關。 H_2S 可作為疼痛信號傳導分子起重要作用且在實例中所觀測到之本發明組合物對內臟過敏性之效應可與腸中 H_2S 產量之減少有關，該 H_2S 產生可藉由影響疼痛信號傳導促進內臟過敏性，與涉及氣體體積之任何氣脹效應無關。實例顯示本發明之細菌組合物可有效減少**SRB**並減少 H_2S 。在一些實施例中，本發明之細菌組合物在盲腸中減少**SRB**及/或減少 H_2S 。**SRB**係利用硫酸鹽還原作用產生能量之嫌氧細菌且**SRB**之實例包括脫硫弧菌屬(*Desulfovibrio*)之成員，且尤其係懶惰脫硫弧菌屬(*Desulfovibrio piger*，其係最豐富之種)，以及脫硫桿菌屬(*Desulfobacter*)、脫硫蔥球菌屬(*Desulfobulbus*)及脫硫腸狀菌屬(*Desulfotomaculum*)之成員。

在某些實施例中，本發明之組合物係用於內臟過敏性之治療中減少**SRB**在胃腸道中之移生。在此等實施例中，組合物較佳可呈細菌培養物之形式。在此等實施例中，組合物較佳可係凍乾物。在某些實施例中，本發明之組合物係用於內臟過敏性之治療中在胃腸道中降低 H_2S 含量或預防 H_2S 含量升高。在此等實施例中，組合物較佳可係凍乾物。

在某些實施例中，本發明之組合物係用於內臟過敏性之治療中減少SRB在胃腸道中之移生、群落及/或群體量。在某些實施例中，本發明之組合物係用於內臟過敏性之治療中減少SRB在盲腸中之移生、群落及/或群體量。

在較佳實施例中，本發明之組合物係用於與IBS相關之內臟過敏性的治療中減少SRB在胃腸道中之移生、降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。在其他實施例中，本發明之組合物係用於與克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或嬰兒腸絞痛相關之內臟過敏性之治療中、例如與克隆氏病、潰瘍性結腸炎或功能性消化不良相關之內臟過敏性之治療中，減少SRB在胃腸道中之移生、降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

在較佳實施例中，本發明之組合物係用於與IBS相關之內臟過敏性之治療中減少SRB在胃腸道中之移生、群落及/或群體量，降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。在其他實施例中，本發明之組合物係用於與克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或嬰兒腸絞痛相關之內臟過敏性之治療中、例如與克隆氏病、潰瘍性結腸炎或功能性消化不良相關之內臟過敏性之治療中，減少SRB在胃腸道中之移生、群落及/或群體量，降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

在較佳實施例中，本發明之組合物係用於腹部中，較佳地胃腸道中，更佳地下胃腸道中、盲腸中、結腸中或直腸中之內臟過敏性之治療中減少SRB在胃腸道中之移生、降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。在較佳實施例中，本發明之組合物係用於腹部中，較佳地胃腸道中，更佳地下胃腸道中、盲腸中、結腸中或直腸中之內臟過敏性之治療中減少SRB在胃腸道中之移生、群落及/或群體量，降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療、預防或減少SRB在胃腸道中之移生之方法中。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療、預防或減少SRB在胃腸道中之移生、群落及/或群體量之方法中。在某些實施例中，本發明之組合物係用於降低胃腸道中之H₂S含量或預防H₂S含量升高之方法中。

在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療(例如)當與健康個體或健康個體之群體相比時，展現或預期會展現其胃腸道中SRB及/或H₂S含量增加之患者。

在某些實施例中，本發明之組合物係用於預防正在接受或已接受抗生素治療或正在遭受或已遭受細菌胃腸炎之個體之內臟過敏性。抗生素治療及細菌胃腸炎與腸道微生物區之改變相關，該微生物區改變可引發內臟過敏性且可藉由本發明之組合物預防。本發明之組合物可與抗生素治療同時投與。

在較佳實施例中，利用本發明之組合物治療導致降低內臟過敏性、減少SRB移生及/或減少H₂S含量。

治療或預防內臟過敏性可指(例如)緩和症狀嚴重性或減小惡化頻率或對於患者成問題之觸發因素之範圍。舉例而言，在一些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防嚴重的內臟過敏性。在一些實施例中，患有嚴重內臟過敏性之個體係經診斷患有克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良、嬰兒腸絞痛或更佳地IBS之個體。在一些實施例中，患有嚴重內臟過敏性之個體係經診斷患有克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或更佳地IBS之個體。

投與模式

較佳地，欲將本發明之組合物投與胃腸道，以使得能將本發明之細菌菌株遞送至腸及/或在腸中部分或全部移生。一般而言，本發明之組合物係經口投與，但其可經直腸、鼻內或經頰或舌下途徑投與。

在某些實施例中，本發明之組合物可作為發泡體、作為噴霧劑或凝膠投與。

在某些實施例中，本發明之組合物可作為栓劑(例如，直腸栓劑)，例如以可可油(可可脂)、合成硬脂(例如，suppocire、witepsol)、甘油-明膠、聚乙二醇或甘油皂組合物之形式投與。

在某些實施例中，本發明之組合物係經由以下途徑投與胃腸道：管，例如，鼻胃管、口胃管、胃管、空腸造口管(J管)、經皮內視鏡胃造口術(PEG)；或埠，例如提供通路至胃之胸壁埠、空腸埠及其他適宜輸液埠。

本發明之組合物可投與一次，或其可作為治療方案之部分依序投與。在某些實施例中，本發明之組合物欲每天投與。實例顯示，每天投與在內臟過敏性之大鼠模型中成功地提供移生及臨床益處。

實例亦顯示，BH投與可不導致腸中之永久移生，故定期投與延長時間段可提供較大治療益處。因此，實例顯示遵循每天投與將本發明之細菌菌株成功地遞送至結腸。

因此，在某些實施例中，本發明之組合物係定期(例如，每天、每兩天或每週)投與延長時間段(例如，至少一週、兩週、一個月、兩個月、六個月或一年)。

在一些實施例中，本發明之組合物係投與7天、14天、16天、21天或28天或不多於7天、14天、16天、21天或28天。舉例而言，在一些實施例

中，本發明之組合物係投與16天。

在本發明之某些實施例中，本發明之治療伴隨患者之腸道微生物區之評價。若未達成本發明菌株之遞送及/或部分或全部移生，使得觀測不到效能，則可重複治療；或若遞送及/或部分或全部移生成功且觀測到效能，則可停止治療。

在某些實施例中，本發明之組合物可投與懷孕動物(例如，哺乳動物，例如人類)，以預防其子代在子宮內及/或出生後發生內臟過敏性。

本發明之組合物可投與已經診斷患有內臟過敏性或與內臟過敏性相關之疾病或病況或已鑑別為正處於內臟過敏性之風險下之患者。組合物亦可作為預防性措施投與以防止健康患者發生內臟過敏性。

本發明之組合物可投與已經鑑別為具有異常腸道微生物區之患者。舉例而言，患者可具有減少或不存在之布勞特氏菌、且尤其氫營養布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌或魏氏布勞特氏菌之移生。

本發明之組合物可作為諸如營養補充劑之食物產品投與。

一般而言，本發明之組合物係用於治療人類，但其可用於治療動物，包括單胃哺乳動物，例如家禽、豬、貓、狗、馬或兔。本發明之組合物可用於促進動物之生長及表現。若投與動物，則可使用經口胃管灌食。

在一些實施例中，欲向其投與組合物之個體係成年人。在一些實施例中，欲向其投與組合物之個體係人類嬰兒。

組合物

一般而言，本發明之組合物包含細菌。在本發明之較佳實施例中，組合物係以冷凍乾燥形式調配。舉例而言，本發明之組合物可包含包含本發明細菌菌株之顆粒或明膠膠囊，例如硬明膠膠囊。

較佳地，本發明之組合物包含經凍乾之細菌。細菌之凍乾係公認程序且相關指導可在(例如)參考文獻[24-26]中獲得。實例顯示，凍乾物組合物尤其有效。在較佳實施例中，本發明之組合物包含經凍乾之細菌且係用於治療與IBS相關之內臟過敏性、較佳用於在與IBS相關之內臟過敏性之治療中降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。在其他較佳實施例中，本發明之組合物包含經凍乾之細菌且係用於治療與IBS相關之內臟過敏性、較佳用於在內臟過敏性之治療中減少SRB在胃腸道中之移生。在其他較佳實施例中，本發明之組合物包含經凍乾之細菌且係用於治療與IBS相關之內臟過敏性、較佳地用於在內臟過敏性之治療中減少SRB在胃腸道中之移生、群落及/或群體量。

或者，本發明之組合物可包含活的活性細菌培養物。實例顯示，本發明之細菌之培養物在治療上有效。

在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株未經不活化，例如未經熱不活化。在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株未經殺死，例如未經熱殺死。在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株未經減毒，例如未經熱減毒。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株未經殺死、不活化及/或減毒。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株係活的。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株有活力。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株能部分地或全部移生於腸。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌菌株有活力且能夠部分地或全部移生於腸。

在一些實施例中，組合物包含活的細菌菌株及已經殺死之細菌菌株之混合物。

在較佳實施例中，將本發明之組合物囊封以使得能夠將細菌菌株遞送至腸。囊封保護組合物免於降解直至藉助(例如)利用諸如壓力、酶活性或物理分解之化學或物理刺激破裂而遞送於目標位置為止，其可由pH之改變觸發。可使用任何適當囊封方法。實例性囊封技術包括覆埋多孔基質內、附接或吸附在固體載劑表面上、藉由絮凝或利用交聯劑自聚集及機械密封於微孔性膜或微膠囊後。可用於製備本發明組合物之囊封之指導可在(例如)參考文獻[27-28]中獲得。

組合物可經口投與並可呈錠劑、膠囊或粉末之形式。由於布勞特氏菌係嫌氧菌，故經囊封之產品較佳。可包括其他成分(例如維生素C)作為氧清除劑及益生元受質，以改良在活體內之遞送及/或部分或全部移生及存活。或者，本發明之益生菌(probiotic)組合物可作為食物或營養產品(例如基於乳或乳清之發酵乳製品)或作為醫藥產品經口投與。

可將組合物調配為益生菌。

本發明之組合物包括治療有效量之本發明之細菌菌株。細菌菌株之治療有效量足以發揮對患者之有益效應。細菌菌株之治療有效量可足以導致遞送至患者之腸及/或在患者之腸中部分或全部移生。

例如，對於成年人，細菌之適宜的日劑量可係約 1×10^3 至約 1×10^{11} 菌落形成單位(CFU)；舉例而言，約 1×10^7 CFU至約 1×10^{10} CFU；在另一實例中，約 1×10^6 CFU至約 1×10^{10} CFU；在另一實例中，約 1×10^7 CFU至約 1×10^{11} CFU；在另一實例中，約 1×10^8 CFU至約 1×10^{10} CFU；在另一實例中，約 1×10^8 CFU至約 1×10^{11} CFU。

在某些實施例中，細菌之劑量係至少 10^9 個細胞/天，例如至少 10^{10} 個細胞/天、至少 10^{11} 個細胞/天或至少 10^{12} 個細胞/天。

在某些實施例中，相對於組合物之重量，組合物係以約 1×10^6 CFU/g 至約 1×10^{11} CFU/g 之量含有細菌菌株；舉例而言，約 1×10^8 CFU/g 至約 1×10^{10} CFU/g。劑量可係(例如) 1 g、3 g、5 g 及 10 g。

通常，益生菌(例如本發明之組合物)視情況與至少一種適宜的益生元化合物組合。益生元化合物通常係不可消化之碳水化合物(例如，寡醣或多醣或糖醇)，其在上消化道中不降解或不吸收。已知益生元化合物包括諸如菊糖及反式半乳寡醣之商品。

在某些實施例中，相對於組合物之總重量，本發明之益生菌組合物以約 1 重量% 至約 30 重量% 之量包括益生元化合物(例如 5 重量% 至 20 重量%)。碳水化合物可選自由以下組成之群：果寡醣(或FOS)、短鏈果寡醣、菊糖、異麥芽寡醣、果膠、木寡醣(或XOS)、幾丁聚醣-寡醣(或COS)、 β -葡聚醣、阿拉伯膠改質的抗性澱粉、聚右旋糖、D-塔格糖、阿拉伯樹膠纖維、刺槐纖維、燕麥纖維及柑橘纖維。在一個態樣中，益生元化合物係短鏈果寡醣(為簡單起見，下文顯示為FOSs-c.c)；該FOSs-c.c係不可消化之碳水化合物，通常藉由甜菜糖之轉化獲得且包括鍵結有三個葡萄糖分子之蔗糖分子。

本發明之組合物可包含醫藥上可接受之賦形劑或載劑。此等適宜賦形劑之實例可在參考文獻[29]中發現。用於治療用途之可接受之載劑或稀釋劑為醫藥業內所熟知且闡述於(例如)參考文獻[30]中。適宜載劑之實例包括乳糖、澱粉、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、甘露醇、山梨醇及諸如此類。適宜稀釋劑之實例包括乙醇、甘油及水。醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑之選擇可針對既定投與路徑及標準醫藥實踐選擇。醫藥組合物可包含任何適宜黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗佈劑、增溶劑作為載劑、賦形劑或

稀釋劑，或除載劑、賦形劑或稀釋劑以外包含任何適宜黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗佈劑、增溶劑。適宜黏合劑之實例包括澱粉、明膠、天然糖類(例如，葡萄糖、無水乳糖、自由流動乳糖、 β -乳糖、玉米甜味劑)、天然及合成膠(例如，阿拉伯樹膠、黃蓍膠或海藻酸鈉)、羧甲基纖維素及聚乙二醇。適宜潤滑劑之實例包括油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉及諸如此類。防腐劑、穩定劑、染料及甚至調味劑可提供於醫藥組合物中。防腐劑之實例包括苯甲酸鈉、山梨酸、半胱胺酸及對羥基苯甲酸之酯，例如，在一些實施例中，防腐劑係選自苯甲酸鈉、山梨酸及對羥基苯甲酸之酯。亦可使用抗氧化劑及懸浮劑。適宜載劑之另一實例係蔗糖。防腐劑之另一實例係半胱胺酸。

本發明之組合物可調配為食物產品。舉例而言，除本發明之治療效應之外，食物產品可提供營養益處，例如在營養補充劑中。類似地，食物產品可經調配以藉由與普通食品而非與醫藥組合物更相似來改善本發明組合物之味道或增強服用組合物之吸引力。在某些實施例中，本發明之組合物經調配為基於乳之產品。術語「基於乳之產品」意指具有不同脂肪含量之任何液體或半固體之基於乳或乳清之產品。基於乳之產品可係(例如)牛乳、山羊乳、綿羊乳、脫脂乳、全脂乳、乳粉與乳清在無任何處理之情況下重新組合之乳或經處理產品，例如酸酪乳、凝結乳、凝乳、酸乳、酸全脂乳、酪乳及其他酸乳產品。另一重要之組包括乳飲料，例如乳清飲料、發酵乳、煉乳、嬰兒或幼兒乳；調味乳、冰淇淋；諸如甜品之含乳食物。

在一些實施例中，本發明之組合物包含一或多種布勞特氏菌屬之細菌菌株且不含有來自任何其他屬之細菌，或其僅包含最少量或生物學上無關量之來自其他屬之細菌。

在某些實施例中，本發明之組合物含有單一細菌菌株或種且不含有任何其他細菌菌株或細菌種。此等組合物可僅包含最少量或生物學上無關量之其他細菌菌株或細菌種。此等組合物可係實質上不含其他物種生物體之培養物。在一些實施例中，此等組合物可係實質上不含其他物種生物體之凍乾物。

在某些實施例中，本發明之組合物包含一或多種布勞特氏菌屬(例如，氫營養布勞特氏菌)之細菌菌株且不含有任何其他細菌屬，或其僅包含最少量或生物學上無關量之來自其他屬之細菌。在某些實施例中，本發明之組合物包含布勞特氏菌之單一種(例如，氫營養布勞特氏菌)且不含有任何其他細菌種，或其僅包含最少量或生物學上無關量之來自其他種之細菌。在某些實施例中，本發明之組合物包含布勞特氏菌(例如，氫營養布勞特氏菌)之單一菌株且不含有任何其他細菌菌株或細菌種，或其僅包含最少量或生物學上無關量之來自另一菌株或種之細菌。

在一些實施例中，本發明之組合物包含一種以上細菌菌株或細菌種。舉例而言，在一些實施例中，本發明之組合物包含一種以上來自同一個種內之菌株(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40或45種以上菌株)，且視情況不含有來自任何其他種之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含少於50種來自同一個種內之菌株(例如，少於45、40、35、30、25、20、15、12、10、9、8、7、6、5、4或3種菌株)，且視情況不含有來自任何其他種之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含1-40、1-30、1-20、1-19、1-18、1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、1-2、2-50、2-40、2-30、2-20、2-15、2-10、2-5、6-30、6-15、16-25或31-50種來自同一個種內之菌

株，且視情況不含有來自任何其他種之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含一個以上來自同一屬內之種(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20、23、25、30、35或40個以上種)，且視情況不含有來自任何其他屬之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含少於50個來自同一屬內之種(例如，少於50、45、40、35、30、25、20、15、12、10、8、7、6、5、4或3個種)，且視情況不含有來自任何其他屬之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含1-50、1-40、1-30、1-20、1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、1-2、2-50、2-40、2-30、2-20、2-15、2-10、2-5、6-30、6-15、16-25或31-50個來自同一屬內之種，且視情況不含有來自任何其他屬之細菌。本發明包含上述之任一組合。

在一些實施例中，組合物包含微生物菌群。舉例而言，在一些實施例中，組合物包含布勞特氏細菌菌株作為微生物菌群之部分。舉例而言，在一些實施例中，布勞特氏細菌菌株係與一或多種(例如，至少2、3、4、5、10、15或20種)來自其他屬之其他細菌菌株(該布勞特氏細菌菌株可與其在活體內共生生存)組合存於腸中。舉例而言，在一些實施例中，組合物包含氫營養布勞特氏菌之細菌菌株與來自不同屬之細菌菌株的組合。在一些實施例中，微生物菌群包含兩個或更多個自單一生物體(例如，人類)之糞便試樣獲得之細菌菌株。在一些實施例中，微生物菌群在自然界中未一起發現。舉例而言，在一些實施例中，微生物菌群包含自至少兩個不同生物體之糞便試樣獲得之細菌菌株。在一些實施例中，該兩個不同生物體來自同一物種，例如兩個不同人類。在一些實施例中，兩個不同生物體係人類嬰兒及成年人。在一些實施例中，兩個不同生物體係人類及非人類哺

乳動物。

在一些實施例中，本發明之組合物另外包含與以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株具有相同安全性與治療效能特徵之細菌菌株，但其並非以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養布勞特氏菌菌株，或其並非係氫營養布勞特氏菌或其並非係布勞特氏菌。

在一些其中本發明之組合物包含一種以上細菌菌株、種或屬之實施例中，個別細菌菌株、種或屬可用於分開、同時或依序投與。舉例而言，組合物可包含所有一種以上細菌菌株、種或屬，或細菌菌株、種或屬可分開儲存並分開、同時或依序投與。在一些實施例中，一種以上細菌菌株、種或屬係分開儲存但在使用前混合在一起。

在一些實施例中，用於本發明中之細菌菌株係自成年人糞便獲得。在一些其中本發明之組合物包含一種以上細菌菌株之實施例中，所有細菌菌株皆係自成年人糞便獲得，或若存在其他細菌菌株，則其僅以最少量存在。細菌可在自成年人糞便獲得並用於本發明之組合物中之後已經培養。

在一些實施例中，一或多個布勞特氏細菌菌株係本發明之組合物中之唯一治療活性劑。在一些實施例中，組合物中之細菌菌株係本發明之組合物中之唯一治療活性劑。

根據本發明使用之組合物可需要或可不需要行銷核可。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌菌株經凍乾。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌菌株經噴霧乾燥。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中細菌菌株經凍乾或噴霧乾燥且其中該細菌菌株係活的。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中細菌菌株經凍乾或噴霧乾燥且其中該細菌菌株有

活力。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中細菌菌株經凍乾或噴霧乾燥且其中該細菌菌株能部分地或全部移生於腸。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中細菌菌株經凍乾或噴霧乾燥且其中該細菌菌株有活力並能夠部分地或全部移生於腸。

在一些情形下，經凍乾或噴霧乾燥之細菌菌株在投與之前經重構。在一些情形下，重構係藉由使用本文中所述之稀釋劑進行。

本發明之組合物可包含醫藥上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑。

在某些實施例中，本發明提供醫藥組合物，其包含：本發明之細菌菌株；及醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑；其中細菌菌株之量在投與需要其之個體時足以治療病症；且其中該病症係內臟過敏性，例如與克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良、嬰兒腸絞痛或更佳地IBS相關之內臟過敏性。

在某些實施例中，本發明提供醫藥組合物，其包含：本發明之細菌菌株；及醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑；其中細菌菌株之量在投與需要其之個體時足以治療病症；且其中該病症係內臟過敏性，例如與克隆氏病，潰瘍性結腸炎，功能性消化不良或更佳地IBS相關之內臟過敏性。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中細菌菌株之量相對於組合物之重量係約 1×10^3 菌落形成單位/克至約 1×10^{11} 菌落形成單位/克。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該組合物係以1g、3g、5g或10g之劑量投與。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該組合物係藉

由選自由以下組成之群之方法投與：經口、經直腸、皮下、經鼻、經頰及舌下。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下組成之群之載劑：乳糖、澱粉、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、甘露醇及山梨醇。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下組成之群之稀釋劑：乙醇、甘油及水。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下組成之群之賦形劑：澱粉、明膠、葡萄糖、無水乳糖、自由流動乳糖、 β -乳糖、玉米甜味劑、阿拉伯樹膠、黃蓍膠、海藻酸鈉、羧甲基纖維素、聚乙二醇、油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉及氯化鈉。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其進一步包含防腐劑、抗氧化劑及穩定劑中之至少一者。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下組成之群之防腐劑：苯甲酸鈉、山梨酸及對羥基苯甲酸之酯。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌菌株經凍乾。

在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中當將組合物儲存在約4°C或約25°C下之密封容器中並將容器置於具有50%相對濕度之氣氛中時，在至少約1個月、3個月、6個月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年之時間段後保留至少80%細菌菌株(如以菌落形成單位所量測)。

在一些實施例中，將本發明之組合物提供於包含如本文中所述組合物之密封容器中。在一些實施例中，密封容器係小藥囊或瓶子。在一些實

施例中，將本發明之組合物提供於包含如本文中所述組合物之注射器中。

在一些實施例中，可將本發明之組合物作為醫藥調配物提供。舉例而言，可將組合物作為錠劑或膠囊提供。在一些實施例中，膠囊係明膠膠囊(「gel-cap」)。

在一些實施例中，本發明之組合物係經口投與。經口投與可涉及吞嚥(以使化合物進入胃腸道)及/或經頰、經舌或舌下投與，化合物藉由該方式自口腔直接進入血流。

適於經口投與之醫藥調配物包括固體栓塞、固體微粒、半固體及液體(包括多相或分散系統)，例如錠劑；含有多顆粒或奈米顆粒之軟質或硬質膠囊、液體(例如，水溶液)、乳液或粉劑；菱形錠劑(包括液體填充的)；咀嚼劑；凝膠劑；快速分散劑型；膜劑；陰道栓劑；噴霧劑；及頰/黏膜黏著貼片。

在一些實施例中，醫藥調配物係腸溶調配物，亦即適於藉由經口投與將本發明之組合物遞送至腸之胃耐受性調配物(舉例而言，耐受胃內pH)。當組合物之細菌或另一組份對酸敏感(例如，在胃內條件下易於降解)時，腸溶調配物可尤其有用。

在一些實施例中，腸溶調配物包含腸溶包衣。在一些實施例中，調配物係腸衣劑型。舉例而言，調配物可係腸衣錠劑或腸衣膠囊或諸如此類。腸溶包衣可係習用腸溶包衣，例如，用於經口遞送之錠劑、膠囊或諸如此類之習用包衣。調配物可包含膜包衣，例如，腸溶聚合物(例如，酸不溶性聚合物)之薄膜層。

在一些實施例中，腸溶調配物具固有腸溶性，例如，無需腸溶包衣即具胃耐受性。因此，在一些實施例中，調配物係不包含腸溶包衣之腸溶

調配物。在一些實施例中，調配物係自熱膠凝材料製得之膠囊。在一些實施例中，熱膠凝材料係纖維素材料，例如甲基纖維素、羥甲基纖維素或羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，膠囊包含不含任何成膜聚合物之殼。在一些實施例中，膠囊包含殼且殼包含羥丙基甲基纖維素且不含任何成膜聚合物(例如參見[31])。在一些實施例中，調配物係固有腸溶性膠囊(例如Capsugel之Vcaps®)。

在一些實施例中，調配物係軟質膠囊。軟質膠囊係可因添加存在於膠囊殼中之軟化劑(例如甘油、山梨醇、麥芽糖醇及聚乙二醇)而具有一定彈性及柔軟性之膠囊。軟質膠囊可例如基於明膠或澱粉製造。基於明膠之軟質膠囊可自多個供應商購得。根據投與方法，例如經口或經直腸，軟質膠囊可具有各種形狀，其可係例如圓形、卵形、長橢圓形或魚雷形。軟質膠囊可藉由習用方法製造，例如藉由Scherer方法、Accogel方法或微滴或吹製方法。

培養方法

用於本發明中之細菌菌株可使用例如參考文獻[32-34]中詳述之標準微生物學技術培養。

用於培養之固體或液體培養基可係例如YCFA瓊脂或YCFA培養基。YCFA培養基可包括(每100ml，近似值)：酪朊(Casitone，1.0 g)、酵母提取物(0.25 g)、 NaHCO_3 (0.4 g)、半胱胺酸(0.1 g)、 K_2HPO_4 (0.045 g)、 KH_2PO_4 (0.045 g)、 NaCl (0.09 g)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.09 g)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.009 g)、 CaCl_2 (0.009 g)、刃天青(0.1 mg)、氯化血紅素(1 mg)、生物素(1 μg)、鈷胺素(1 μg)、對胺基苯甲酸(3 μg)、葉酸(5 μg)及吡哆胺(15 μg)。

概述

除非另有指示，否則本發明實踐將採用熟習此項技術者已知之習用化學、生物化學、分子生物學、免疫學及藥理學方法。此等技術於文獻中充分解釋。參見例如參考文獻[35-42]等。

術語「包含」涵蓋「包括」以及「由.....組成」，例如「包含」X之組合物可僅由X組成或可包括其他，例如X + Y。

與數值x相關之術語「約」為可選且意指例如 $x \pm 10\%$ 。

詞語「實質上」不排除「完全」，例如「實質上不含」Y之組合物可完全不含Y。需要時，詞語「實質上」可自本發明之定義省略。

提及兩個核苷酸序列之間之序列一致性百分比時意指，當比對時，兩個序列之比較中該百分比之核苷酸相同。此比對及同源性或序列一致性百分比可使用業內已知軟體程式(例如，闡述於參考文獻[43]之章節7.7.18中之彼等)測定。較佳比對係藉由Smith-Waterman同源性檢索算法使用仿射空位檢索測定，其中空位開放罰分為12且空位延伸罰分為2，BLOSUM矩陣為62。Smith-Waterman同源性檢索算法係揭示於參考文獻[44]中。

除非明確說明，否則包含多個步驟之製程或方法可在方法開始或結束時包含額外步驟，或可包含額外中間步驟。而且，若適當，可將步驟組合、省略或以替代順序實施。

本文闡述本發明之多個實施例。應認識到，在每一實施例中所指定之特徵可與其他指定特徵組合，以提供其他實施例。特定而言，在本文中強調為適宜、典型或較佳之實施例可與彼此組合(除非其互斥)。

實施本發明之模式

實例1 - 細菌接種物在內臟過敏性之大鼠模型中之效能

概述

利用來自展現內臟過敏性之人類IBS個體之糞便微生物區接種大鼠。然後將包含本發明細菌菌株之組合物投與大鼠且然後使用擴張分析測試以量測內臟過敏性。發現本發明之組合物減少大鼠對擴張之反應，從而指示內臟過敏性之降低。

菌株

氫營養布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294。

組合物及投與

BH培養物(16H)或凍乾物-藉由經口胃管灌食投與

藉由經口胃管灌食投與之對照溶液

大鼠

經來自IBS個體之人類腸微生物區接種。

研究設計

第14天-大鼠經來自IBS個體之人類腸微生物區接種

第0天至第28天-每天給予BH培養物或凍乾物或對照溶液

第0天、第14天及第28天-糞便試樣中BH群體之qPCR

第14天與第28天之間-操作以將電極植入腹部中(用於擴張分析)

第28天-擴張分析，收集盲腸試樣用於硫化物及短鏈脂肪酸(SCFA)分析，計數選擇性培養基上糞便試樣中之微生物區

結果

圖1呈現來自經投與對照溶液(IBS)或BH凍乾物(IBS+BH)之大鼠之糞便試樣中BH群體之qPCR分析的結果。第14天及第28天時在接受BH凍乾物之大鼠中觀察到BH群體增加，其證實移生成功。

圖2呈現擴張分析之結果。使大鼠經受結腸直腸擴張並記錄每分鐘之收縮數作為內臟過敏性之特定量度。經本發明組合物治療之大鼠展現減少之收縮及降低之內臟過敏性。

圖3及圖4報告投與BH培養物及凍乾物對糞便試樣中之微生物區之效應。投與BH培養物導致硫酸鹽還原細菌(SRB)顯著減少(1 log)。

圖5報告投與BH凍乾物對微生物區發酵之影響，如藉由盲腸試樣中之短鏈脂肪酸濃度所量測。投與BH凍乾物導致乙酸鹽產量增加。

圖6報告投與BH凍乾物對微生物區發酵之影響，如藉由盲腸試樣中之硫化物(H_2S)濃度所量測。投與BH導致硫化物產量減少。

結論

投與包含氫營養布勞特氏菌之組合物導致成功移生及內臟過敏性顯著降低，如使用擴張分析所量測。當將氫營養布勞特氏菌作為培養物及作為凍乾物投與時觀測到此效應。投與氫營養布勞特氏菌亦對微生物區構成及發酵具有顯著效應，其中觀測到SRB及硫化物產量減少。該等數據指示，氫營養布勞特氏菌可用於降低內臟過敏性，且尤其用於降低與IBS相關之內臟過敏性。內臟過敏性之降低可與所觀測到之SRB及硫化物產量之減少相關。

實例2 - 細菌凍乾物在內臟過敏性之大鼠模型中之效能

實例1之觀測在使用氫營養布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294之凍乾物及IBS之大鼠模型之進一步實驗中得到證實。如在圖7及圖8中所顯示，投與BH凍乾物提供腹腔收縮數因應擴張之統計學上顯著的減少，從而指示內臟過敏性之降低。此外，如在圖9及圖10中所顯示，投與BH凍乾物提供硫化物之統計學上顯著的減少。

實例3 - 細菌凍乾物對健康大鼠之效應

研究投與氫營養布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294之凍乾物對健康HIM大鼠之效應且結果報告於圖11-14中。關於實驗之其他細節係提供於以上對圖之說明中。圖11顯示在大鼠中BH之適當劑量係 10^9 個細胞/天或更多。圖12顯示在該等實驗中，BH並未永久地移生於大鼠消化道。圖13顯示BH主要係發現於盲腸中。圖14顯示投與BH誘導乙酸鹽以及丁酸鹽產量增加。

實例4 - 細菌凍乾物在內臟過敏性之大鼠模型中之效能

進一步研究投與氫營養布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294之凍乾物對IBS之大鼠模型之效應。利用來自C-IBS (患便秘)或U-IBS (未定型)患者之糞便試樣接種無菌大鼠。大多數實驗係利用來自顯示內臟過敏性(利用恒壓器量測之VH)之IBS患者之糞便試樣實施。結果報告於圖15及圖16中且關於實驗之其他細節係提供於以上對圖之說明中。圖15證實投與BH凍乾物引起硫酸鹽還原細菌統計學上顯著減少。如所預期，亦觀測到BH之增加。圖16顯示BH投與誘導由IBS HIM大鼠所產生之 H_2S 之量統計學上顯著減少。腸道微生物區產生過多盲腸 H_2S 與內臟過敏性相關。

實例5 - 在I期臨床試驗期間患者症狀之改變

進行I期臨床試驗，其中將氫營養布勞特氏菌(「Blautix」，以登錄號DSM 10507以及以登錄號DSM 14294寄存之菌株)投與患有刺激性腸症候群(IBS)之人類患者。在投藥期間(第1-16天)將Blautix投與患者，且導瀉期係第19-23天。發現Blautix安全且耐受良好。監測到四種症狀，其中之一係腹痛。研究記錄患者經歷該等症狀中之每一者之改良、不變抑或惡化。將來自經投與Blautix之患者的結果與使用經投與安慰劑之患者所得

之彼等結果比較。在三個時間點監測症狀：第1天、第15/16天及研究結束時。結果顯示於圖17及圖18中。

當將患者在第16天報告之症狀與第1天之基線比較時，17名接受Blautix之IBS患者中有82%報告症狀之改良(圖17)。症狀(其中之一係腹痛)之改良支持使用Blautix治療或預防內臟過敏性。值得注意的是，在研究開始時皆患有嚴重腹痛之患者3.02、3.17及3.24在第15/16天分別患有輕微、輕微及無腹痛。

50%之接受安慰劑的患者報告症狀之改良(圖17)。高安慰劑反應率係在IBS臨床研究中已確立之現象。最近基於顯著較小之相對於安慰劑之改良批准利福昔明(Xifaxan)治療IBS [45]。

基於本文呈現之教示，預期與投藥完成時(第16天)所呈現之症狀相比，在研究完成時(第19-23天)症狀惡化。在I期臨床試驗中觀察到此症狀惡化：41%之IBS患者在Blautix投藥停止後報告症狀之惡化(圖18)。因此，症狀(其中之一係腹痛)在Blautix投藥停止後之惡化亦支持使用Blautix治療或預防內臟過敏性。

實例6 - 在人類微生物區相關大鼠(HMA 大鼠)模型中研究之氫營養布勞特氏菌對內臟過敏性之效能

概述

利用來自人類IBS個體之糞便微生物區接種20隻無菌大鼠之組(IBS-HMA大鼠)。使用來自3個不同IBS患者之糞便試樣實施三次連續實驗。利用健康個體(n=2個個體；2組健康-HMA大鼠)之糞便試樣接種另兩組大鼠(n=10)作為內臟敏感性對照。然後將包含本發明氫營養布勞特氏菌之細菌菌株之組合物投與一半IBS-HMA大鼠28天，而另一半動物接受對照溶

液。投與28天後，使用結腸擴張分析測試所有HMA-大鼠以量測內臟敏感性。發現本發明之組合物減少IBS-HMA大鼠對擴張之反應，從而指示內臟過敏性降低，達到如在健康-HMA大鼠中所觀測之正常敏感性。

菌株

氫營養布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507^T/14294。

組合物及投與

將BH凍乾物懸浮於無菌礦物溶液中至 10^{10} 個細菌/ml之濃度。藉由經口胃管灌食每天將2 ml此懸浮液投與每隻IBS-HMA大鼠經28天之時期。

對照溶液係無菌礦物溶液，藉由經口胃管灌食將其每天投與(2 ml/大鼠)對照組之IBS-HMA大鼠。

大鼠

利用來自IBS個體之人類糞便微生物區接種無菌雄性Fisher大鼠(10週齡) (IBS-HMA大鼠)。利用相同的人類糞便接種物接種20隻大鼠。利用來自3個不同IBS個體之糞便試樣實施3次連續實驗。利用來自2個健康個體之糞便試樣接種另2組10隻大鼠(正常敏感性對照組)。

研究設計

第14天-利用人類糞便微生物區接種無菌大鼠。

第0天至第28天-藉由經口胃管灌食每天給予BH凍乾物(分析組)或對照溶液(對照組)。

第14天與第22天之間-操作以將電極植入腹部中(用於擴張分析)。

第22-28天-使大鼠適應以避免與擴張測試相關之壓力。

第28天-擴張分析並將動物安樂死以收集盲腸試樣用於硫化物及短鏈脂肪酸(SCFA)分析。

第0、14及28天-收集糞便試樣用於微生物分析：qPCR用於評估BH群體及其他共生微生物群，且使用選擇性培養基及嚴格嫌氧方法計數微生物之功能群。

結果

圖19呈現來自接受對照溶液或BH凍乾物之IBS-HMA大鼠之糞便試樣中氫營養布勞特氏菌群體之qPCR分析的結果。在投與時期結束時(第28天)在接受BH凍乾物之大鼠中觀測到BH群體顯著增加，其證實成功將BH遞送於結腸中。

圖20呈現擴張分析之結果。使大鼠經受結腸直腸擴張並記錄每5分鐘之收縮數作為內臟過敏性之特定量度。經本發明組合物治療之IBS-HMA大鼠展現減少之收縮，此反映內臟過敏性之降低。氫營養布勞特氏菌治療後，與在健康HMA大鼠中所量測者相比，IBS-HMA大鼠顯示正常內臟敏感性。在圖20中所顯示之BlautiX治療組內之3隻大鼠與圖8中所顯示之彼等相同。

圖21報告投與氫營養布勞特氏菌對來自糞便微生物區之一些微生物組之效應，先前發現該等微生物組在IBS患者中受影響。投與BH導致硫酸鹽還原細菌(SRB)顯著減少。

圖22報告投與BH對IBS-HMA大鼠之盲腸試樣中硫化物(H_2S)濃度之影響。投與BH導致硫化物產量顯著減少。在圖22中所顯示之BlautiX治療組內之3隻大鼠與在圖10中所顯示之彼等相同。

圖23報告投與BH對IBS-HMA大鼠之盲腸試樣中之主要發酵代謝物(短鏈脂肪酸)之影響。投與BH導致乙酸鹽濃度顯著增加以及丁酸鹽濃度顯著增加(圖23B)。

結論

投與包含氫營養布勞特氏菌之組合物引起內臟過敏性顯著降低，如使用擴張分析所量測。治療後，發現IBS-HMA大鼠之內臟敏感性與在健康-HMA大鼠中所量測者相似。投與包含氫營養布勞特氏菌之組合物可使IBS-HMA動物之內臟敏感性恢復至正常。投與氫營養布勞特氏菌亦對微生物區構成及發酵具有顯著效應，且尤其誘導SRB及硫化物產量顯著減少。該等數據指示，氫營養布勞特氏菌可用於降低內臟過敏性，且尤其用於降低與IBS相關之內臟過敏性。內臟過敏性之降低可與所觀測到的SRB及硫化物產量之減少相關。

實例7 - 穩定性測試

將含有至少一種本文中所述之細菌菌株之本文中所述之組合物儲存於25℃或4℃下之密封容器中並將容器置於具有30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%或95%之相對濕度之氣氛中。1個月、2個月、3個月、6個月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年後，應保留至少50%、60%、70%、80%或90%之細菌菌株，如以藉由標準方案測定之菌落形成單位所量測。

序列

SEQ ID NO:1 (糞便布勞特氏菌菌株GAM6-1 16S核糖體RNA基因，部分序列- HM626177)

1 tgcaagtcga gcgaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg
61 gcggaacgggt gagtaacgcg tgggtaacct gcctcataca gggggataac agttggaaac
121 ggctgctaata accgcataag cgcacgggtat cgcatagatac agtgtgaaaa actccggtgg
181 tatgagatgg acccgcgctct gattagctag ttggaggggt aacggcccac caaggcgacg
241 atcagtagcc ggccctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gccagactc
301 ctacgggagg cagcagtggg gaattattgca caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc
361 gcgtgaagga agaagtattct cggtatgtaa acttctatca gcagggaaga aaatgacggt
421 acctgactaa gaagccccgg ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gtagggggca

481 agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg
541 aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt ttttcttgag tgccggagag
601 gtaagcggaa ttcttagtgt agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc
661 gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg
721 attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc
781 tcttcggtgc cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg
841 aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcggtgga gcatgtgggt taattcgaag
901 caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca tcgatctgac cggttcgtaa tggaaacctt
961 ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgctgct agctcgtgct gtgagatgtt
1021 gggttaagtc ccgcaacgag cgcaacccct atcctcagta gccagcaggt gaagctgggc
1081 actctgtgga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgacgtc aaatcatcat
1141 gccccttatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc
1201 gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt ccagttcgg actgcagtct gcaactcgac
1261 tgcacgaagc tggaatcgct agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccc
1321 ggtcttgtac acaccgcccg tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tc

SEQ ID NO:2 (魏氏布勞特氏菌菌株WAL 14507 16S核糖體RNA基因，部分序列- EF036467)

1 caagtccaac gggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaatttaat tctagtggcg
61 gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc
121 tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggtggtat
181 aagatggacc cgcgttggat tagcttgttg gtggggtaac ggcccaccaa ggcgacgac
241 catagccggc ctgagagggt gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta
301 cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag cgacgccgcg
361 tgaaggaaga agtatctcgg tatgtaaact tctatcagca ggaagatag tgacgggtacc
421 tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgta gggggcaagc
481 gttatccgga tttactgggt gtaaaggag cgtagacggt gtggcaagtc tgatgtgaaa
541 ggcatgggct caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta
601 agcggaatte ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcgaa
661 ggcggttac tggacggtaa ctgacgttga ggctcgaaag cgtggggagc aaacaggatt
721 agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcgggt ggcaaagcca
781 ttcggtgccg tcgcaaacgc agtaagtatt ccacctgggg agtacgttcg caagaatgaa
841 actcaaagga attgacgggg acccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca
901 acgcgaagaa ccttaccaag tcttgacatc cgcctgaccg atccttaacc ggatctttcc
961 ttcgggacag gcgagacagg tgggtgcatg ttgtcgtcag ctcgtgctgt gagatgttgg
1021 gttaagtccc gcaacgagcg caaccctat cctcagtagc cagcatttaa ggtgggcaact
1081 ctggggagac tgccagggat aacctggagg aaggcgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc
1141 ccttatgatt tgggctacac acgtgctaca atggcgtaaa caaagggaag cgagatttgt
1201 agatggagca aatccccaaa ataacgtccc agttcggact gtagtctgca acccgactac
1261 acgaagctgg aatcgctagt aatcgcggat cagaatgccg cgggtgaatac gttccccgggt
1321 cttgtacaca ccgcccgtca caccatggga gtcagtaacg cccgaagtca gtgacctaac
1381 tgcaaagaag gagctgccga aggcgggacc gatgactggg gtgaagtcgt aacaagggt

SEQ ID NO:3 (冀便布勞特氏菌菌株830之共有16S rRNA序列)

TTTKGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTTACGACAGAACCTT
CGGGGGAAGATGTAAGGGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTCATACAGGGGGATAACA
GTTGGAAACGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTATCGCATGATACAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATGAGAT
GGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGAGGGGTAAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGA
ACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAA
CCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGAAAAATGACGG
TACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTT
ACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGAAGAGCAAGTCTGATGTGAAAGGCTGGGGCTTAACCCAGGACTGCATTGG
AAACTGTTTTTCTTGAGTGCCGGAGAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAA
CACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGTAAGTACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCGCAGCAAACGCAA
TAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTTATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCGATCTGACCGGTTTCGTAATGGAACCTT
TCCTTCGGGACAGAGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCCTATCGTCAGTAGCCAGCAGGTAAAGCTGGGCACTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGG
AAGGCGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGG
AAGCGAGCCCGCGAGGGGGAGCAAATCCCCAAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGA
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTAACACACCGCCCGTCAC
ACCATGGGAGTCAGTAACGCCCCGAAGTCAGTGACCCAACCTTAGGGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGATTGATAACTG
GGGTGAAGTCTAGGGGGT

SEQ ID NO:4 (魏氏布勞特氏菌菌株MRX008之共有16S rRNA序列)

TTCATTGAGACTTCGGTGGATTTAGATTCTATTTCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTTAT
ACAGGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGAGCTGCATGGCTCAGTGTGAAAACTC
CGGTGGTATAAGATGGACCCGCGTTGGATTAGCTTGTTGGTGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCCATAGCCG
GCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
CACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAAACTTCTATCAGCAGG
GAAGATAGTGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAG
CGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTGTGGCAAGTCTGATGTGAAAGGCATGGGCTCAACCT
GTGGACTGCATTGGAACTGTCTACTTGAGTGCCGGAGGGGTAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGTAAGTACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGC
AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTCNGGGGAGCATGGCTCTTCGGTG
CCGTCGCAAACGCAGTAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCGCCTGACCGA
TCCTTAACCGGATCTTTCTTCGGGACAGGCGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTT
GGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTCAGTAGCCAGCATTTAAGGTGGGCACTCTGGGGAGACTGCCA
GGGATAACCTGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGCGTAAACAAAGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCCCAAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGTAGTCTGC
AACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCCCCGAAGTCAGTGACCTAACTGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

SEQ ID NO:5 (氫營養布勞特氏菌菌株S5a36 16S核糖體RNA基因，
部分序列- X95624.1)

1 gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgatag agaacggaga
61 tttcggttga agttttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct
121 gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaata accgcataag cgcacagctt
181 cgcatagaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcggtg gattagctag
241 ttggtgaggt aacggccac caaggcgacg atccatagcc gccctgagag ggtgaacggc
301 cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca
361 caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa
421 acttctatca gcagggaaga aagtgcgggt acctgactaa gaagccccgg ctaattacgt
481 gccagcagcc gcgtaatac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg
541 gagcgtagac ggtttgcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat
601 tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcggaa ttcttagtgt agcggtgaaa
661 tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tgctggacgg taactgacgt
721 tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa
781 cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcgggtc cgcagcaaac gcaataagta
841 ttccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg gggaccgca
901 caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aaatcttgac
961 atccctctga ccgggaagta atgttccctt ttcttcgaa cagaggagac aggtggtgca
1021 tgggtgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaacct
1081 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg
1141 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgcccccttat gatttgggct acacacgtgc
1201 tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaactc aaaaataacg
1261 tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc
1321 gaatcagaat gtcgcggtga atacgttccc gggctctgta cacaccgcc gtcacaccat
1381 gggagtcagt aacgcccgaa gtcagtgacc caaccnaag gagggagctg ccgaaggtgg
1441 gactgataac tggggtga

參考文獻

[1] Spor等人(2011) *Nat Rev Microbiol.* 9(4):279-90.

[2] Eckburg等人(2005) *Science.* 10;308(5728):1635-8.

[3] Tap等人(2009), *Environ Microbiol*, 11(10):2574-84.

[4] Macpherson等人(2001) *Microbes Infect.* 3(12):1021-35

[5] Macpherson等人(2002) *Cell Mol Life Sci.* 59(12):2088-96.

[6] Mazmanian等人(2005) *Cell* 15;122(1):107-18.

[7] Frank等人(2007) *PNAS* 104(34):13780-5.

[8] Scanlan等人 (2006) *J Clin Microbiol.* 44(11):3980-8.

[9] Kang等人(2010) *Inflamm Bowel Dis.* 16(12):2034-42.

- [10] Machiels等人(2013) *Gut*. 63(8):1275-83.
- [11] Lopetuso等人(2013), *Gut Pathogens*, 5: 23
- [12] WO 2013/050792
- [13] WO 03/046580
- [14] WO 2013/008039
- [15] WO 2014/167338
- [16] Lee及Lee (2014) *World J Gastroenterol*. 20(27): 8886-8897.
- [17] Liu等人(2008) *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1896–1902.
- [18] Bernalier等人(1996) *Arch. Microbiol*. 166 (3), 176-183.
- [19] Park等人(2012) *Int J Syst Evol Microbiol*. 62(Pt 4):776-9.
- [20] Masco 等人 (2003) *Systematic and Applied Microbiology*, 26:557-563.
- [21] Srůtková等人(2011) *J. Microbiol. Methods*, 87(1):10-6.
- [22] Robinson及Gebhart (2008) *Mol Interv*, 8(5): 242–253.
- [23] Zhou等人(2010) *Pain*. 148(3): 454–461.
- [24] Miyamoto-Shinohara等人(2008) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 9–24.
- [25] Cryopreservation 及 Freeze-Drying Protocols 編輯，Day and McLellan, Humana Press.
- [26] Leslie等人(1995) *Appl. Environ. Microbiol*. 61, 3592–3597.
- [27] Mitropoulou等人(2013) *J Nutr Metab*. (2013) 716861.
- [28] Kailasapathy等人(2002) *Curr Issues Intest Microbiol*. 3(2):39-48.

[29] Handbook of Pharmaceutical Excipients，第二版(1994)，由A Wade及PJ Weller編輯

[30] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro編輯，1985)

[31] US 2016/0067188

[32] *Handbook of Microbiological Media*，第四版(2010) Ronald Atlas, CRC Press.

[33] *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry* (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press

[34] Strobel (2009) *Methods Mol Biol.* 581:247-61.

[35] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*.第20版，ISBN: 0683306472.

[36] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream等人編輯，1998，Academic Press).

[37] *Methods In Enzymology* (S. Colowick 及 N. Kaplan 編輯，Academic Press, Inc.)

[38] *Handbook of Experimental Immunology*，第I-IV卷(D.M. Weir 及 C.C. Blackwell編輯，1986，Blackwell Scientific Publications)

[39] Sambrook 等人 (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第3版(Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[40] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K.S.編輯，CRC Press，1997)

[41] Ausubel 等人 (編輯) (2002) *Short protocols in molecular*

biology，第5版(Current Protocols).

[42] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*，第2版，(Newton 及Graham編輯，1997，Springer Verlag)

[43] *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel等人編輯，1987) Supplement 30

[44] Smith及Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489.

[45] XIFAXAN- rifaximin tablet, Salix Pharmaceuticals, Inc. - FDA Highlights of Prescribing Information，於2015年11月經修訂

【生物材料寄存】

[主張利用生物材料1]

TW 中華民國；食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心；
2016/09/20；BCRC 910744

[主張利用生物材料2]

TW 中華民國；食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心；
2016/09/20；BCRC 910745

[主張利用生物材料3]

GB 英國；National Collections of Industria, Food and Marine Bacteria (NCIMB)；2015/03/12；NCIMB 42381

[主張利用生物材料4]

GB 英國；National Collections of Industria, Food and Marine Bacteria (NCIMB)；2015/11/16；NCIMB 42486



201733601

申請日: 106/03/06

【發明摘要】

IPC分類: **A61K 35/74** (2015.01)
A61P 37/02 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)

【中文發明名稱】

包含細菌菌株之組合物

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

【中文】

本發明提供用於治療或預防內臟過敏性之包含一或多種細菌菌株之組合物。

【英文】

The invention provides compositions comprising one or more bacterial strains for treating or preventing visceral hypersensitivity.

【指定代表圖】

圖17

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種包含布勞特氏菌(*Blautia*)屬之細菌菌株之組合物，其係用於治療或預防內臟過敏性之方法中。

【第2項】

如請求項1之組合物，其中該內臟過敏性與IBS、克隆氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或嬰兒腸絞痛相關。

【第3項】

如請求項2之組合物，其中該內臟過敏性與IBS、克隆氏病、潰瘍性結腸炎或功能性消化不良相關。

【第4項】

如請求項1之組合物，其中該組合物係用於治療或預防經診斷患有IBS、克隆氏病、潰瘍性結腸炎、功能性消化不良或嬰兒腸絞痛之個體之內臟過敏性。

【第5項】

如請求項4之組合物，其中該組合物係用於治療或預防經診斷患有IBS、克隆氏病、潰瘍性結腸炎或功能性消化不良之個體之內臟過敏性。

【第6項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物係用於內臟過敏性之治療或預防中減少硫酸鹽還原細菌(SRB)在胃腸道中之移生(colonisation)。

【第7項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物係用於內臟過敏性

之治療或預防中於胃腸道中降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

【第8項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物係用於治療或預防遭受胃腸道、尤其結腸或直腸中脹痛之患者的內臟過敏性。

【第9項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該細菌菌株為氫營養布勞特氏菌(*Blautia hydrogenotrophica*)。

【第10項】

如請求項1至8中任一項之組合物，其中該細菌菌株為糞便布勞特氏菌(*Blautia stercoris*)。

【第11項】

如請求項1至8中任一項之組合物，其中該細菌菌株為魏氏布勞特氏菌(*Blautia wexlerae*)。

【第12項】

如請求項1至8中任一項之組合物，其中該細菌菌株具有與氫營養布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

【第13項】

如請求項12之組合物，其中該細菌菌株具有與SEQ ID NO:5至少97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列或具有SEQ ID NO:5之16s rRNA序列。

【第14項】

如請求項1至8中任一項之組合物，其中該細菌菌株具有與糞便布勞

特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

【第15項】

如請求項1至8中任一項之組合物，其中該細菌菌株具有與魏氏布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

【第16項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含氫營養布勞特氏菌種之細菌菌株，其用於治療或預防經診斷患有IBS之個體之內臟過敏性之方法中。

【第17項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含氫營養布勞特氏菌種之細菌菌株，其係用於內臟過敏性之治療或預防中減少硫酸鹽還原細菌(SRB)在胃腸道中之移生、在胃腸道中降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

【第18項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含糞便布勞特氏菌種之細菌菌株，其係用於治療或預防經診斷患有IBS之個體之內臟過敏性之方法中。

【第19項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含糞便布勞特氏菌種之細菌菌株，其係用於內臟過敏性之治療或預防中減少硫酸鹽還原細菌(SRB)在胃腸道中之移生、在胃腸道中降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

【第20項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含魏氏布勞特氏菌種之細菌菌株，其係用於治療或預防經診斷患有IBS之個體之內臟過敏性之方法中。

【第21項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含魏氏布勞特氏菌種之細菌菌株，其係用於內臟過敏性之治療或預防中減少硫酸鹽還原細菌(SRB)在胃腸道中之移生、在胃腸道中降低H₂S含量或預防H₂S含量升高。

【第22項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物係用於經口投與。

【第23項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物包含一或多種醫藥上可接受之賦形劑或載劑。

【第24項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該細菌菌株經凍乾。

【第25項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該細菌菌株有活力(viable)。

【第26項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物包含布勞特氏菌屬之單一菌株。

【第27項】

如前述請求項中任一項之組合物，其包含該布勞特氏細菌菌株作為微生物菌群(microbial consortium)之部分。

【第28項】

一種包含如前述請求項中任一項之組合物之食物產品，其用於如前述請求項中任一項之用途。

【第29項】

一種包含如前述請求項中任一項之組合物之疫苗組合物，其用於如前述請求項中任一項之用途。

【第30項】

一種治療或預防內臟過敏性之方法，其包含將包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物投與需要之患者。

【第31項】

如請求項30之方法，其中該布勞特氏菌係氫營養布勞特氏菌。

