



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113573721 A

(43) 申请公布日 2021. 10. 29

(21) 申请号 202080013938.0

DSM 16605 2004.07.20

(22) 申请日 2020.03.06

DSM 21717 2008.08.06

(30) 优先权数据

102019000003351 2019.03.07 IT

(71) 申请人 波比奥泰克股份公司

地址 意大利诺瓦拉

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.08.12

(72) 发明人 V·莫格纳 M·帕内

A·阿莫鲁索

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2020/051961 2020.03.06

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司

11127

代理人 张培源 褚瑶杨

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/178794 EN 2020.09.10

(51) Int.Cl.

A61K 35/741 (2015.01)

A61P 37/08 (2006.01)

(83) 生物保藏信息

DSM 24706 2011.04.07

DSM 22775 2009.07.23

DSM 21980 2008.11.14

DSM 18616 2006.09.13

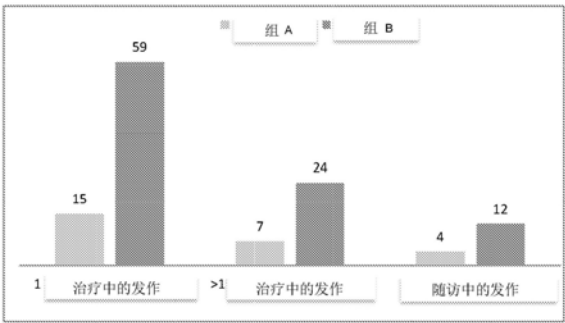
权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

优选用于儿科受试者的治疗过敏性哮喘和复发性喘鸣的益生菌菌株的混合物

(57) 摘要

本发明涉及属于物种短双歧杆菌的分离的细菌菌株 (B632) DSM 24706, 其用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病以及用于治疗哮喘和呼吸窘迫。此外, 本发明还涉及包含所述分离的细菌菌株或者由其组成的混合物, 该混合物用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病以及用于治疗哮喘和呼吸窘迫。此外, 本发明涉及包含所述混合物和可选地至少一种生理学和/或药学可接受的添加剂和/或技术赋形剂的组合物, 该组合物用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病以及用于治疗哮喘和呼吸窘迫。所述分离菌株、所述混合物和所述组合物被有效施用和应用用于儿科受试者的治疗中。



1. 一种属于短双歧杆菌物种的分离的细菌菌株,该菌株于2011年04月07日以短双歧杆菌(B632)保藏于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ),保藏号为DSM 24706;所述菌株被应用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病。

2. 如权利要求1所述的分离的细菌菌株,其中,所述呼吸道的病症或病况或疾病选自自由以下组成的组:过敏性鼻炎、呼吸困难、哮喘和呼吸窘迫。

3. 一种混合物,该混合物包括以下物质或由其组成:

- 属于唾液乳杆菌物种的分离的细菌菌株,该菌株于2009年07月23日以唾液乳杆菌(LS01)保藏于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ),保藏号为DSM 22775;和

- 属于短双歧杆菌物种的分离的细菌菌株,该菌株于2011年04月07日以短双歧杆菌(B632)保藏于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ),保藏号为DSM 24706;

以及任选地,至少一种生理学 and/或药理学可接受的添加剂或赋形剂。

4. 如权利要求3所述的混合物,其中,所述混合物被应用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病;优选地,所述病症或病况或疾病选自自由以下组成的组:过敏性鼻炎、呼吸困难、哮喘和呼吸窘迫。

5. 如权利要求3或4所述的混合物,其中,所述细菌菌株的重量比[唾液乳杆菌(LS01)DSM 22775:短双歧杆菌(B632)DSM 24706]为1:4至4:1;优选地,重量比为1:3至3:1;进而更优选地,重量比为1:2至2:1,例如重量比等于1:1。

6. 如权利要求3至5中任一项所述的混合物,其中,所述分离的细菌菌株以 1×10^6 CFU/g (或AFU/g)混合物至 1×10^{12} CFU/g (或AFU/g)混合物的浓度存在于所述混合物中;优选地,浓度为 1×10^8 CFU/g (或AFU/g)混合物至 1×10^{10} CFU/g (或AFU/g)混合物,例如浓度为约 1×10^9 CFU/g (或AFU/g)混合物。

7. 如权利要求3至6中任一项所述的混合物,其中,所述分离的细菌菌株作为活细胞细菌培养物存在,其中所述细胞是完整的和/或活的;或者,所述分离的细菌菌株作为非活细胞的细菌培养物、或细胞成分、或细胞提取物、或细胞裂解物而存在。

8. 一种组合物,该组合物包含前述权利要求3至7中任一项所述的混合物和至少一种生理学 and/或药理学可接受的技术添加剂。

9. 如前一权利要求所述的组合物,其中,所述技术添加剂选自防腐性物质和/或稳定性物质组成的组,优选地所述防腐性物质和/或稳定性物质包含麦芽糖糊精或菊粉或者由麦芽糖糊精或菊粉组成。

10. 如权利要求8-9中任一项所述的组合物,该组合物应用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病。

11. 如前一权利要求所述的组合物,其中,所述病症或病况或疾病选自自由以下组成的组:过敏性鼻炎、呼吸困难、哮喘和呼吸窘迫。

12. 如前一权利要求所述的组合物,其中,所述组合物用于儿科应用,特别是应用于治疗儿科哮喘受试者。

13. 一种制备混合物的方法,所述混合物例如为权利要求3至7中任一项所述的混合物,所述方法包括将以下保存于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ)的分离的细菌菌株混合的至少一个步骤:

- 唾液乳杆菌(LS01)DSM 22775,保藏于2009年07月23日;和

-短双歧杆菌 (B632) DSM 24706, 保藏于2011年04月07日;
以及任选地, 混合至少一种生理学和/或药学可接受的赋形剂以获得所述混合物。

优选用于儿科受试者的治疗过敏性哮喘和复发性喘鸣的益生菌菌株的混合物

[0001] 本发明涉及属于物种短双歧杆菌的分离的细菌菌株 (B632) DSM 24706, 其用于治疗与呼吸道变化相关的病症 (disturb) 或病况 (disordine) 或疾病以及用于治疗哮喘和呼吸窘迫。此外, 本发明还涉及包含所述分离的益生菌菌株或者由其组成的混合物, 该混合物用于治疗与呼吸道变化相关的病症或病况或疾病; 用于治疗哮喘和呼吸窘迫。此外, 本发明涉及包含所述混合物和可选地至少一种生理学和/或药学可接受的添加剂和/或技术赋形剂的组合物, 该组合物用于治疗呼吸道的病症或病况或疾病以及用于治疗哮喘和呼吸窘迫。所述分离菌株、所述混合物和所述组合物被有效施用和应用用于儿科受试者的治疗中。

[0002] 哮喘 (GINA 2016[1]; Global Initiative for Asthma) 是以慢性气道阻塞为特征的异源性疾病。哮喘由强度和持续时间不同的呼吸道症状 (例如呼吸窘迫或喘鸣、气短、胸闷和咳嗽) 以及气道流动限制来限定; 哮喘可以由许多刺激包括过敏原、暴露于刺激物、病毒和身体锻炼所引发。目前, 上述症状可以通过支气管扩张剂或抗炎性物质 (例如, 糖皮质激素类药物) 来减轻。哮喘识别若干人口统计性“簇”, 其具有异源性临床和生理病理特征, 称为“哮喘表型”。以下是两种最具代表性的哮喘表型:

[0003] - 过敏性哮喘: 更为熟知且更易于鉴别的哮喘表型, 其特征在于嗜酸性粒细胞炎症和响应于吸入皮质类固醇药物治疗;

[0004] - 非过敏性哮喘: 以嗜中性粒细胞或嗜酸性粒细胞炎症或者含有数种炎性细胞为特征的哮喘表型, 其区别在于对吸入可的松治疗的响应差。特别是, 在学龄前儿童中, 病毒感染作为支气管痉挛侵袭的诱发因素具有相当的重要性。

[0005] 近年来, 肠道微生物群已在过敏性和自体免疫性疾病的发生中呈现出很大的重要性 [2, 3]。不当的细菌群落可能是导致诱发疾病的促炎性细胞 (在过敏性炎症中产生白介素和细胞因子的细胞) 增加的免疫学事件的基础。恢复适当的细菌群落能够减少甚至延缓这类过敏性和自体免疫性疾病的发病和加重。

[0006] 这可见于例如文献 US 9498503。在该文献中, 选出的益生菌菌株被用于治疗过敏性疾病, 特别是用于治疗特应性皮炎。具体地, 该文献涉及减少和/或治愈皮肤炎症以及/或者减少诸如皮肤组织发红、瘙痒和湿疹等症状的治疗。所述治疗涉及施用如唾液乳杆菌 (LS01)、短双歧杆菌 (BR03) 和戊糖乳杆菌 (LPS01) 等细菌菌株。该研究表明, 这些菌株能够有效地治疗炎性皮肤病。然而, 该文献中所报道的研究并非旨在治疗和/或减少哮喘和呼吸窘迫的症状, 并且没有提出或强调这一问题。

[0007] 细菌菌株唾液乳杆菌 (LS01) 和短双歧杆菌 (BR03) 在治疗皮肤疾病中的应用也见于 E. Netti 等的研究 (E. Netti 等, Vol 48, N5, 182-187, 2016)。该文献描述了使用益生菌菌株唾液乳杆菌 LS01 和短双歧杆菌 BR03 来治疗慢性自发性荨麻疹 (参见 “Summary”)。具体地, 该研究涉及一组罹患慢性自发性荨麻疹的成年患者, 并且表明由于施用上述细菌菌株而存在至少部分的缓解。作者论述称证据表明益生菌能够调节皮肤免疫系统。该文献报道, 在已对慢性荨麻疹的治疗表现出积极响应的患者中, 一些患者还受到过敏性鼻炎的影响。然而, 该文献并未以任何方式解决过敏性鼻炎治疗的问题, 其意图也并非在于治疗过敏性鼻炎

状。该文献也未提及对可能与所述过敏性鼻炎相关的呼吸道病症或病况的治疗。

[0008] 鉴于上述内容,显而易见的是缺乏对于益生菌直接干涉呼吸道疾病症状的能力以及对于减少和/或解决哮喘和呼吸窘迫事件的指引。

[0009] 哮喘是气道的慢性炎症性疾病,由两种主要伴随事件引起:支气管周围的肌肉痉挛和其内部内衬的粘膜的炎症。对某些触发因素产生异常反应后,这两个因素的结合会导致支气管阻塞,由此阻止空气通过。这会导致罹患哮喘的人的典型症状:呼吸不足或呼吸窘迫,导致恼人的咳嗽、胸部闷感、喘鸣,尤其是在夜间或清晨。支气管内腔的急性阻塞导致哮喘发作。在一次发作和另一次发作之间的间隔没有任何症状。

[0010] 源自先前对双歧杆菌和乳酸杆菌的不同配方进行的体外试验的在先研究(Drago等[4])已经证明,在特定细胞模型(PBMC)上,这种菌株混合物具有在体外调节成人过敏性哮喘患者的免疫系统细胞的细胞因子释放的能力。这些数据表明,这些益生菌菌株具有抗炎作用,能够抑制在过敏病理中增加的Th2细胞因子谱,但对于益生菌直接干预疾病症状和解决呼吸窘迫事件的能力则没有给出任何启示。因此,这项重要的研究提供了有关解决炎症的信息,但没有提供有关减少肌肉痉挛的可能事件的信息。然而,上文所述的现有技术揭示了一些局限和缺点,因为它没有专注于减少哮喘患者的最大问题和不适,即减少呼吸窘迫事件(节律和频率改变的呼吸,伴随患者的疲劳或痛楚发生)的频率和强度。

[0011] 呼吸窘迫(呼吸短促)是可能暂时或慢性地、逐渐或突然地发生的呼吸中的困难。呼吸窘迫通常自身表现为无法喘息的劳累感或郁烦感。

[0012] 基于先前的假设,本发明落入上述背景下,因为持续存在对没有传统使用的组合物和药学的限制和缺点的组合物及施用其的治疗的需求;所述组合物和治疗能够对于哮喘和呼吸窘迫的症状进行干预,并且具有良好的耐受性且易于施用于所有类别的受试者(包括儿科受试者)。

[0013] 更准确地说,经过广泛而深入的研究和开发活动,本发明的发明人能够从庞大的细菌物种和细菌菌株的组中鉴定和选择出属于物种短双歧杆菌的特定细菌菌株和含有它的特定细菌菌株组合,显示出在治疗与呼吸道改变、哮喘和呼吸窘迫相关的疾病中有效的协同特性。

[0014] 形成本发明的一个目的是属于物种短双歧杆菌(B632)的分离细菌菌株DSM 24706,用于治疗与呼吸道改变相关的病症或病况或疾病,其具有如所附权利要求中所定义的特征。

[0015] 形成本发明的一个目的是混合物(m1),该混合物包含属于物种短双歧杆菌(B632)的分离细菌菌株DSM 24706或者由其组成,用于治疗与呼吸道改变相关的病症或病况或疾病,其具有如所附权利要求中所定义的特征。

[0016] 形成本发明的一个目的是包含所述混合物(m1)和任选的至少一种生理学和/或药学可接受的添加剂和/或技术赋形剂的组合物(c1),其具有所附权利要求中定义的特征。

[0017] 形成本发明的一个目的是包含所述混合物(m1)和任选的至少一种生理学和/或药学可接受的添加剂和/或技术赋形剂的组合物(c1),用于治疗与呼吸道改变相关的病症或病况或疾病,其具有所附权利要求中定义的特征。

[0018] 形成本发明的一个目的是制备混合物(m1和m2)和组合物(c1和c2)的方法,其具有所附权利要求中定义的特征。

[0019] 现在将基于通过非限制性实例的方式提供的附图来描述本发明,其中:

[0020] -图1是示例性说明研究中包括的哮喘受试者的数量的柱状图,哮喘受试者分为用益生菌的混合物(m2)治疗的受试者(A组)或安慰剂治疗的受试者(B组);治疗允许将患者分为3个不同的类别:治疗期间仅发生1次哮喘发作的患者、多于1次哮喘发作的患者以及随访中发生哮喘发作的患者;

[0021] -图2是示例性说明与B组患者相比的A组患者中作为时间函数的FEV1的改善的图。

[0022] 在本发明的上下文中,属于短双歧杆菌物种的分离的细菌菌株(B632)DSM24706、包含其的混合物和组合物用于口服使用。

[0023] 在本发明的上下文中,属于短双歧杆菌物种的分离的细菌菌株(B632)DSM24706、包含其的混合物和组合物不用于局部使用,例如作为局部凝胶。

[0024] 在本发明的上下文中,表述:(i)“疾病(disease)”用于表示对人类疾病的研究,特别是研究疾病的原因、发展和影响的医学领域,(ii)“病况(ailment)”是指从解剖学或功能的角度来看,生物体或其器官的任何病理状况或改变。

[0025] 病症或病况或疾病选自过敏性鼻炎、呼吸困难(respiratory difficulty)、哮喘(两种哮喘表型——过敏性哮喘和非过敏性哮喘)和呼吸窘迫(dyspnoea)。

[0026] 申请人选择并分离了属于短双歧杆菌物种的细菌菌株,该菌株于2011年4月7日保藏于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ),其作为短双歧杆菌(B632),保藏号为DSM24706;这种菌株显示出益生菌的功能特性。

[0027] 有利地,细菌短双歧杆菌的分离菌株(B632)DSM 24706、包含其的混合物(m1)和包含所述混合物(m1)的组合物(c1)能够降低呼吸窘迫事件(节律和频率改变的呼吸,伴随患者的疲劳或痛楚发生)的频率和强度。

[0028] 申请人成功地设计了一项旨在减轻如上所述两种哮喘表型(过敏性哮喘和非过敏性哮喘)的症状的研究。

[0029] 有利地,短双歧杆菌的分离菌株(B632)DSM 24706、包含其的混合物(m1)和包含所述混合物(m1)的组合物(c1)能够减轻两种哮喘表型(过敏性哮喘和非过敏性哮喘)的症状。

[0030] 作为本发明主题的分离的细菌菌株属于短双歧杆菌物种。所述菌株于2011年4月7日以短双歧杆菌(B632)保藏于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ),且其保藏号为DSM 24706。所述菌株用于儿科应用,其具有益生菌特性,且用于治疗儿科哮喘患者。

[0031] 关于“儿科”或“儿科年龄”的定义,在本说明书中,这些术语将指1天至16岁、优选1岁至14岁的儿童。

[0032] 当通过使用发酵领域技术人员已知的设备和方法进行的普通发酵工艺制备时,短双歧杆菌分离菌株(B632)DSM 24706可原样使用,以固体薄片、粉末、颗粒或冻干形式使用。作为另选,所述分离菌株可以与例如菊粉或麦芽糖糊精等添加剂和/或技术赋形剂(掺合剂)混合。

[0033] 形成本发明的另一个目的是混合物(m2),其包含以下成分或者由它们组成:(a)唾液乳杆菌细菌菌株(LS01)DSM 22775(由位于Novara(意大利)的Probiotical公司于2009年7月23日保藏)和(b)短双歧杆菌细菌菌株(B632)DSM 24706(由位于Novara(意大利)的Probiotical公司于2011年4月7日保藏),以及任选的至少一种生理学和/或药学可接受的添加剂和/或赋形剂。

[0034] 在本说明书中,除非另有说明,为简要起见,将使用表述“细菌培养物”、“细菌菌株”或“本发明的细菌培养物主题”来表示包含(具有所需比例的)细菌培养物唾液乳杆菌(LS01)DSM 22775(2009年7月23日保藏)和细菌培养物短双歧杆菌(B632)DSM 24706(2011年4月7日保藏)或者由其组成的混合物。

[0035] 已知属于同一细菌物种的不同细菌菌株通常具有不同的特征和行为。为此,本发明的菌株表现出菌株特异性的独特特征和行为。

[0036] 细菌培养物(a)和(b)中的每一个都可以被认为在本发明保护范围的混合物和含有该混合物的组合物(下文讨论)中发挥活性成分的作用和功能。

[0037] 上述细菌培养物(a)和(b)存在于混合物(m2)和包含所述混合物(m2)的组合物(c2)中,唾液乳杆菌(LS01)DSM 22775:短双歧杆菌(B632)DSM 24706的重量比为1:4至4:1、有利地为1:3至3:1、或为1:2至2:1,例如1:1。

[0038] 上述细菌培养物(a)和(b)(单独考虑)具有 1×10^6 CFU/g培养物至 1×10^{12} CFU/g培养物的浓度。单独考虑时,上述细菌培养物以 1×10^7 CFU/g混合物至 1×10^{11} CFU/g混合物的浓度(例如约 1×10^8 CFU/g混合物)存在于混合物(m1)和(m2)中。上述细菌培养物(a)和(b)独立地选自活细菌和存活细菌、死细菌或其细胞组分、细胞提取物、裂解物或其透析(tindalised)的形式。上述细菌培养物(a)和(b)处于粉末、颗粒或薄片的固体形式,或者冷冻或冻干形式,优选存在至少一种冷冻保护剂。载量以CFU/g或AFU/g表示。

[0039] 根据一个实施方式,在混合物(m1)和(m2)中,细菌菌株(a)和/或(b)以及生理学和/或药学上可接受的添加剂和/或赋形剂可以以1:4至4:1、有利地1:3至3:1、或1:2至2:1、例如约1:1的重量比[细菌菌株:赋形剂]存在。相对于混合物的总重量,混合物(m1)和(m2)中的细菌菌株的重量百分比可以为1重量%至99重量%,有利地为40重量%至99重量%,或60重量%至99重量%。

[0040] 根据不同的实施方式,至少一种生理学和/或药学可接受的赋形剂可选自以下组成的组:单糖、二糖、多糖、可溶性纤维和/或不溶性纤维、GOS、FOS、菊粉、麦芽糊精及其混合物。

[0041] 根据不同的实施方式,生理学和/或药学上可接受的赋形剂可选自以下组成的组:菊粉(CAS No.9005-85-5)、低聚果糖(FOS)、麦芽糊精(CAS No.9050-36-6)及其混合物。

[0042] 形成本发明的一个目的是包含混合物(m2)的组合物(c2),所述混合物(m2)包含以下或者由其组成:(a)细菌菌株唾液乳杆菌(LS01)DSM 22775(2009年07月23日由位于Novara(意大利)的Probiotical公司保藏),和细菌菌株短双歧杆菌(B632)DSM24706的菌株(2011年04月07日由位于Novara(意大利)的Probiotical公司保藏),以及任选地至少一种生理学和/或药学可接受的添加剂和/或赋形剂(例如单糖、二糖、多糖及其混合物;或菊粉(CAS No.9005-85-5)、低聚果糖(FOS)、麦芽糊精(CAS No.9050-36-6);以及生理学和/或药学上可接受的技术添加剂(或仅一种技术添加剂)(例如防腐剂和/或稳定性物质)。

[0043] 有利地,混合物(m2)和包含所述混合物(m2)的组合物(c2)能够降低呼吸窘迫事件(节律和频率改变的呼吸,伴随患者的疲劳或痛楚发生)的频率和强度。

[0044] 有利地,混合物(m2)和包含所述混合物(m2)的组合物(c2)能够减轻两种哮喘表型(过敏性哮喘和非过敏性哮喘)的症状。

[0045] 根据一个实施方式,在上述组合物(c1)和(c2)中,重量比[细菌菌株:赋形剂和/或

添加剂]为1:10至10:1,有利地为1:5到5:1,或1:2到2:1,例如约1:1的比例。

[0046] 根据一个实施方式,相对于组合物的总重量,上述组合物(c1)和(c2)中混合物的重量百分比为1重量%至99重量%,有利地为40重量%至99重量%,或60重量%至99重量%。

[0047] 根据一个实施方式,技术添加剂(或其多种)包含防腐剂物质和/或稳定性物质,或由防腐剂物质和/或稳定性物质组成。

[0048] 根据一个实施方式,技术添加剂(或多种技术添加剂)可以以0.1:30至1:1的添加剂:细菌培养物比例存在。

[0049] 根据另一个实施方式,技术添加剂(或多种技术添加剂)可以以相对于组合物总重量为0.1%至50%的量存在,任选地以相对于组合物的总重量为0.1%至30%的量存在,有利地以相对于组合物总重量为0.1%至15%的量,例如相对于组合物总重量为0.1%至10%或0.1%至5%或0.1%至2%。

[0050] 根据另一个实施方式,防腐剂物质和/或稳定性物质包含麦芽糖糊精(CAS No.9050-36-6)或由其组成。麦芽糊精是一种水溶性复合碳水化合物,通过化学水解工艺获得,主要来自谷物(玉米、燕麦、小麦、大米)或块茎(土豆、木薯)淀粉的分解。根据一个实施方式,麦芽糖糊精或菊粉呈固体形式,例如粉末或颗粒形式。

[0051] 例如,根据本发明可用的麦芽糊精是由Roquette Italia公司销售的名为Glucidex19粉末麦芽糊精的产品。

[0052] 根据一个有利的实施方式,本发明的混合物和/或组合物主题中存在的细菌培养物可以以合适的比例与至少一种生理学和/或药学可接受的技术添加剂以及任选的至少一种其它细菌培养物组合或混合。

[0053] 例如,添加到本发明混合物中的所述其它细菌培养物选自由以下组成的组:

[0054] i) 戊糖乳杆菌(LPS01) DSM 21980,由位于Novara(意大利)的Probiotal公司于2008年11月14日保藏;

[0055] ii) 嗜热链球菌(FP4) DSM 18616,由位于Novara(意大利)的Mofin S.r.l.于2006年09月13日保藏;

[0056] iii) 干酪乳杆菌鼠李糖亚种(LR04) DSM 16605,由位于Novara(意大利)的Probiotal公司于2004年07月20日保藏;

[0057] iv) 嗜酸乳杆菌(LA02) DSM 21717,由位于Novara(意大利)的Probiotal公司于2008年08月06日保藏;和

[0058] v) 它们的组合。

[0059] 应该说明的是,额外的或任选的细菌培养物都根据布达佩斯条约保藏在德国微生物菌种保藏中心(DSMZ)。

[0060] 根据本发明的一个实施方式,本组合物是用作药物或药品的组合物。

[0061] 根据另一个实施方式,本组合物是用作医疗器械的组合物。

[0062] 根据另一个实施方式,本发明的组合物是用作膳食补充剂的组合物。

[0063] 根据又一个实施方式,本组合物是用作营养品的组合物。

[0064] 前述组合物是用于治疗(预防性和/或治愈性)至少一种与呼吸道改变相关的病症或一种病况或一种疾病以及与之相关的合并症的组合物。

[0065] 根据一个实施方式,此类病症或病况或疾病选自过敏症、特应性、过敏性鼻炎、食物超敏反应、特应性皮炎、湿疹、呼吸困难和哮喘或免疫缺陷。在优选的实施方式中,使用属于短双歧杆菌物种的分离细菌菌株(于2011年04月07日作为短双歧杆菌(B632)保藏于德国微生物菌种保藏中心(DSMZ),并具有保藏号DSM 24706)用于治疗与免疫系统改变相关的病症或病况或疾病。所述与免疫系统改变相关的病症或病况或疾病选自:过敏症、特应性、过敏性鼻炎、食物超敏反应、特应性皮炎、湿疹、呼吸困难和哮喘或免疫缺陷。

[0066] 根据优选的实施方式,这种疾病是呼吸困难或哮喘,尤其以呼吸窘迫为特征。

[0067] 本发明的组合物是用于儿科应用的组合物,特别是应用于治疗儿科哮喘患者。

[0068] 根据一个可能的实施方式,本发明的组合物是液体形式,例如溶液、悬浮液或分散液的形式。

[0069] 根据另一个可能的实施方式,本发明组合物是固体形式,例如粉末或颗粒形式,或片剂或丸剂形式。

[0070] 最后,上述目的是通过制备混合物的方法实现的,该方法包括将保藏在德国微生物菌种保藏中心(DSMZ)的以下分离细菌菌株混合的至少一个步骤:

[0071] -唾液乳杆菌(LS01)DSM 22775,保藏于2009年07月23日保藏;和

[0072] -短双歧杆菌(B632)DSM 24706,保藏于2011年04月07日保藏;

[0073] 并且任选地混合至少一种生理学和/或药学上可接受的赋形剂(或仅一种赋形剂)以获得所述混合物。

[0074] 根据一个实施方式,混合步骤干式进行,例如使用粉末形式的细菌培养物,例如冻干形式。

[0075] 由于这种方法优选旨在制备上述混合物或组合物,即使没有明确阐明,这种方法也可以包括上文概述的特征中的任何优选的或任选的特征。

[0076] 下文报道了本发明的一些实施例,其通过非限制性实例的方式提供。

[0077] 实验部分

[0078] 实施例1:实验部分——定义和研究方法

[0079] 在大约360名患有过敏性哮喘和复发性呼吸窘迫的儿童中进行了一项双盲随机对照研究,其目标如下:

[0080] a) 主要目标:降低哮喘发作或呼吸窘迫发作的频率和严重程度;

[0081] b) 次要目标:减少用于治疗哮喘发作的药物施用量和基础治疗的持续时间,从而节省可的松或其他基础治疗药物方面的使用,并确保降低药物成本。

[0082] 可观察到的哮喘类型(GINA 2016;[1],表2)如下:

[0083] -间歇性哮喘:症状每周少于一次,夜间症状每月少于两次,FEV1>80%;

[0084] -轻度持续性哮喘:症状每周出现超过一次但每天少于一次,夜间症状多于每月两次,FEV1≥80%;

[0085] -中度持续性哮喘:每日发作,限制活动和睡眠,夜间症状频率大于每周一次,FEV1约等于60-80%;

[0086] -重度持续性哮喘:每日发作,夜间症状频繁,限制体力活动,FEV1≤60%。

[0087] 需要注意的是,上述“FEV1”参数(“Forced Expiration Volume in the 1st second”的英文缩写)是指第一秒时间的最大呼气体积。这是肺活量测定法中使用的参数,

它表示最大强制呼气时间的第一秒内呼出的空气体积,它表示大气道的通畅程度。在阻塞性肺支气管疾病(例如,哮喘)的情况下,FEV1的绝对值会降低,因为它与支气管收缩的程度密切相关。

[0088] 术语“复发性呼吸窘迫”用于表示在点刺试验(皮肤过敏试验)呈阴性的年龄6个月至5岁的受试者中在前一年发生超过3次呼吸窘迫发作的症状。

[0089] 关于哮喘发作的严重程度,使用“急性哮喘严重程度分类”指南(SIP 2016;[5])将发作分类为:

[0090] -轻度:受试者有正常说话的能力,FRC(功能残气量)正常,肤色正常,感觉功能正常,呼气时有细微喘鸣,不使用副肌,FVC(用力肺活量)正常,FEV1>80%,Sat O2>95%;

[0091] -中度:受试者只能说几句话,FRC增加,儿童出现轻微激动,肤色苍白,呼气喘鸣,呼吸肌中度受累,FVC增加,Sat O2 92-95%,FEV1 60-80%;

[0092] -重度:受试者只说几个字,肤色苍白/发绀,极度激动,呼吸和吸气喘鸣,呼吸肌明显受累,FVC增加,SatO2<92%,FEV1<60%。

[0093] 在上述人群中,研究方案中使用的纳入标准是:6至14周岁儿童,具有根据上述GINA 2015标准分类的轻度持续性哮喘和中度哮喘,皮肤过敏测试(点刺试验)呈阴性或阳性;以及具有复发性呼吸窘迫的学龄前儿童,有或没有哮喘诊断(阳性和/或阴性点刺试验)。

[0094] 排除标准为年龄小于1岁或大于14岁的受试者、患有严重持续性哮喘的受试者、患有已知先天性或获得性免疫缺陷的受试者、患有囊性纤维化和/或慢性肺病(例如支气管肺发育不良)的受试者。

[0095] 该人群由11名儿科医生组成的小组选出,并将其分为两个具有相应数量的受试者的不同的组(A和B)。

[0096] 将其成分列于表A中的本发明的混合物主题施用于A组。将其成分列于表B的安慰剂组合物施用于B组。

[0097] 表A:本发明的组合物主题

	细菌菌株	类型	宣称载量 (MLD/剂)
[0098]	唾液乳杆菌(LS01) DSM 22775	裸(a)(LY)(b)	1*
	短双歧杆菌(B632) DSM 24706	裸(a) (LY)(b)	1*
	麦芽糖糊精(赋形剂)	/	/

[0099] (a) 裸=未涂布细胞

[0100] (b) LY=冻干的

[0101] *理论载量:100MLD/g.

[0102] 表B:安慰剂

[0103]	赋形剂
	麦芽糖糊精

[0104] 作为一项双盲研究,施用上表中列出的混合物和安慰剂(简言之,两种组合物)的

儿科医生和接受它的患者都不知道所施用的组合物的性质,无论是本发明的组合物(表A)或安慰剂组合物(表B)。

[0105] 儿科医生报告了其患轻度持续过敏性哮喘和中度哮喘以及复发性呼吸窘迫的患者的识别代码、他们的年龄组以及(如果适用)他们是否进行了背景治疗、持续了多长时间、使用了哪些药物和方案(预期持续时间)。

[0106] 该研究共进行了12个月,因此分为两个时期:

[0107] A) 施用一剂组合物治疗,每天两次(早上和晚上)服用一袋,持续八周,然后每天一次(早上或晚上)服用一袋,持续八周;

[0108] (B) 四个月的随访,以验证治疗对哮喘发作、反复喘鸣(呼吸窘迫)和可能的背景治疗的效果。

[0109] 基于临床检查和O₂饱和度(饱和度测定法),使用SIP指南2016[5]对2周岁至5岁零364天的受试者评估哮喘发作的严重程度。

[0110] 除了临床评估和O₂饱和度外,还对6周岁至13岁364天的受试者进行了肺活量测定评估,目的是评估FEV₁性能。

[0111] 在治疗结束时采用相同的标准进行随访(临床检查、饱和度测定和肺活量测定),为期四个月,如果没有发作,则每月一次。在这种情况下,在发作治疗结束时(C2)进行急诊门诊(C1)和控制。

[0112] 招募时,儿科医生填写表格形式CRF(病例报告表),其中包含招募对象的医疗史和个人资料:出生日期、年龄、性别、首次检查日期、家族特应症、熟悉度和家庭环境(如果孩子住在城镇、城市或山区,温暖/潮湿/干燥的环境,暖气类型,来自母亲或父亲的被动吸烟(如果有,在家里吸的香烟数量和由谁吸烟))、兄弟姐妹、教育程度;个人过敏素质(如阳性点刺试验,如果存在);上一年哮喘发作或喘鸣的次数;自上次肺活量测定以来的FEV₁(如果适用)。在另一张表格中,儿科医生还包括了在主动观察(治疗)和随访期(未治疗)期间发生的任何发作的数据:发作的严重程度、饱和度测定和纳入研究的儿童的FEV₁。第三个表格报告了随后检查的数据,包括:临床检查、饱和度测定和纳入研究的儿童的FEV₁。

[0113] 总之,在受试者招募和治疗(双盲药物与安慰剂)开始的时间T₀进行一次访视,在治疗中期(开始后约8周)的时间T₁进行一次访视,在时间T₂治疗结束进行一次访视(开始后16周)。

[0114] 在T₀、T₁、T₂时间收集的数据包括参与治疗的受试者的临床检查、饱和度测定和FEV₁,适用时还包括背景治疗。

[0115] 此外,该研究包括随访期间的月度中期评估(时间F₁:1个月后;时间F₂:2个月后;时间F₃:治疗结束后3个月),采用临床检查、饱和度测定和肺活量测定对参与并在适用时增加或减少或可能改变了基础疗法的受试者进行。

[0116] 例如,在儿童病况恶化的情况下,需要将治愈与背景治疗相结合,或者在儿童病况好转的情况下,可以暂停背景治疗。

[0117] 随访期结束后,在治疗结束四个月后的FF时间进行检查。

[0118] 实施例2:对实施例1所得结果的统计分析

[0119] 统计分析由Centro Studi Scientifico SIMPE进行。统计分析涉及所有随机儿童。评估了急性哮喘发作的发生率和/或患病率,并使用MedCal Ostend Belgium和Epi

info 7软件,通过Student t检验和调整后的相对风险 (ARR) 针对混杂模式比较A组和B组之间的任何差异。

[0120] 进行统计分析计算:

[0121] (a) 相对风险 (RR)、统计显著性 (SS)、需要治疗的数量 (NNT), 针对包括治疗或随访期间哮喘发作减少的变量;

[0122] (b) 用于关联儿童在根据本发明的治疗期间的ACT (哮喘控制测试) 趋势的T检验。

[0123] 第一个显著不同的数据是治疗期间与安慰剂相比的哮喘发作的显著 (统计学显著) 减少, 如下表C所示, 其数值显示在图1的图中:

[0124] 表C: 治疗中 (1次发作, 或>1次发作) 以及随访中的发作次数

[0125]	组 (受试者数)	1 次发 作	RR/ SS/ NNT	>1 次发作	RR/ SS/ NNT	随访中的发作	RR/ SS/ NNT
	A (160)	15	0.2/ <0.0001/ 3	7	0.3/ 0.01/ 12	4	0.3/ 0.1/ 26
	B (189)	59		24		12	

[0126] 其中:RR=相对风险;SS=统计学显著性;NNT=需治疗的数量

[0127] 发作的减少显然伴随着克服发作的药物施用的减少, 发作次数的这种减少也与第二次发作有关。

[0128] 但是, 这种减少发作次数的效果是暂时的, 治疗结束后会随着时间的推移而消失。

[0129] 另一个重要的事实是哮喘儿童的生活质量 (无论背景治疗如何) 在治疗期间显著改善, 这可以从所进行的ACT的改善中看出。

[0130] 关于肺活量测定数据 (如图2示例性说明), 儿童的肺活量测定显示自治疗开始以来FEV1参数增加, 因此支气管收缩程度降低。这种改善在随访中也得以保持。

[0131] 图2所示数据对应于下表D中的数值。

[0132] 表D: A组和B组中的FEV1值

[0133]	T0	T1	T2	F1	F2	F3	FF
	A组	1	0.96	1.04	1.14	1.04	1.11
	B组	1	1.05	1.05	1.05	1.01	1.11

[0134] 应用的分离菌株、混合物、组合物、上述用途和方法的实施方式可由本领域技术人员根据偶然情况对所描述的特征进行替换或修改。这些实施方式也被认为包括在所附权利要求书面表述化的保护范围之内。

[0135] 此外, 应该说明的是, 任何实施方式都可以独立于所描述的其他实施方式来实施。

[0136] 参考文献

[0137] [1] Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Guidelines (2016update) .

[0138] [2] S. BIBBÒ (1,2), G. IANIRO (1), V. GIORGIO (3), F. SCALDAFERRI (1), L. MASUCCI (4), A. GASBARRINI (1), G. CAMMAROTA (1); (1): Internal Medicine, Gastroenterology and Liver Unit, Catholic University of the Sacred Heart, School of Medicine,

A.Gemelli Foundation,Rome,Italy;(2):Department of Clinical and Experimental Medicine,University of Sassari,Italy;(3):Division of Pediatrics,Catholic University of the Sacred Heart,School of Medicine A.Gemelli Foundation,Rome, Italy;(4):Institute of Microbiology,Catholic University of the Sacred Heart, A.Gemelli Foundation,School of Medicine,Rome,Italy;Corresponding Author: Stefano Bibbò,MD;e-mail:s.bibbo@gmail.com The role of diet on gut microbiota composition European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2016;20: 4742-4749.

[0139] [3]Stitaya Sirisinha:The potential impact of gut microbiota on your health:Current status and future challenges.

[0140] [4]Drago L.et all.Immunomodulatory Effects of Lactobacillus salivarius LS01 and Bifidobacterium breve BR03,Alone and in Combination,on Peripheral Blood Mononuclear Cells of Allergic Asthmatics Allergy Asthma Immunol Res.2015 July;7(4):409-413.

[0141] [5]SIP(SocietàItaliana di Pediatria)guidelines for acute asthma attack,rev.2016.

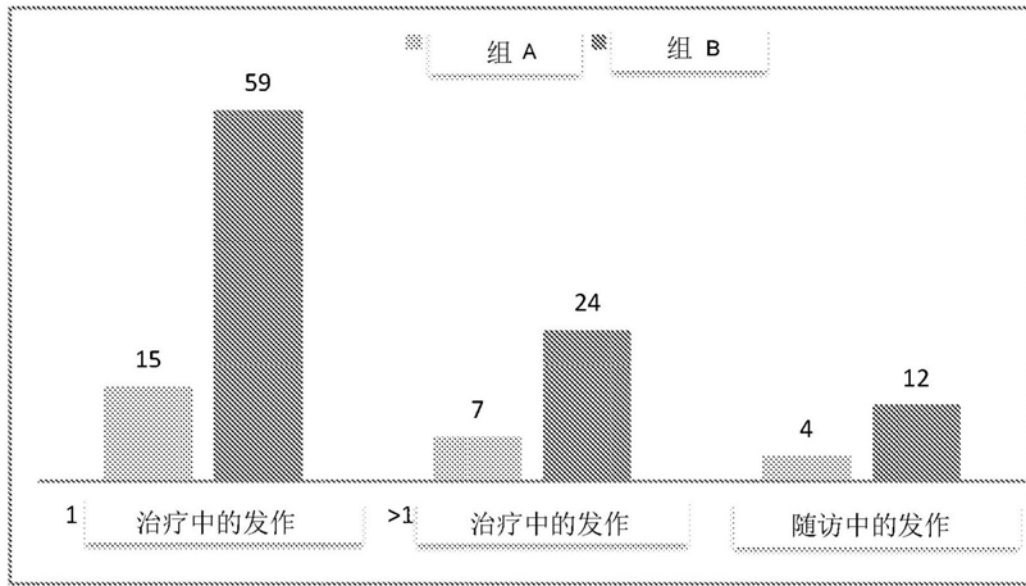


图1

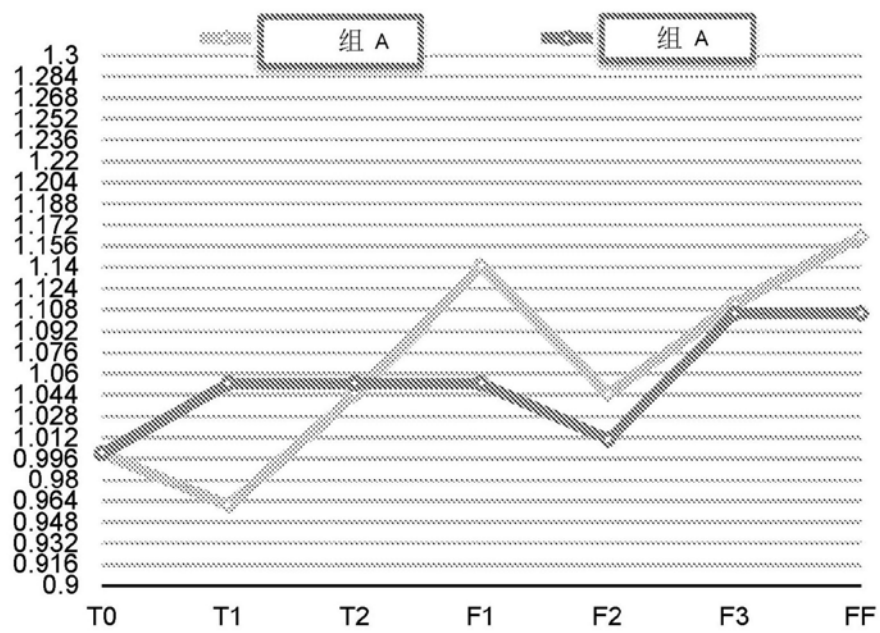


图2