



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112566648 A

(43) 申请公布日 2021.03.26

(21) 申请号 201980052231.8

(22) 申请日 2019.07.16

(30) 优先权数据

18183619.8 2018.07.16 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.02.05

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/069162 2019.07.16

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/016252 EN 2020.01.23

(83) 生物保藏信息

DSM 14294 2001.05.10

(71) 申请人 4D制药研究有限公司

地址 英国阿伯丁郡

(72) 发明人 伊姆克·马尔德

亚历山大·史蒂文森

海琳·萨维尼亚克

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

代理人 王达佐 洪欣

(51) Int. Cl.

A61K 35/74 (2015.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A23L 33/135 (2016.01)

权利要求书2页 说明书27页

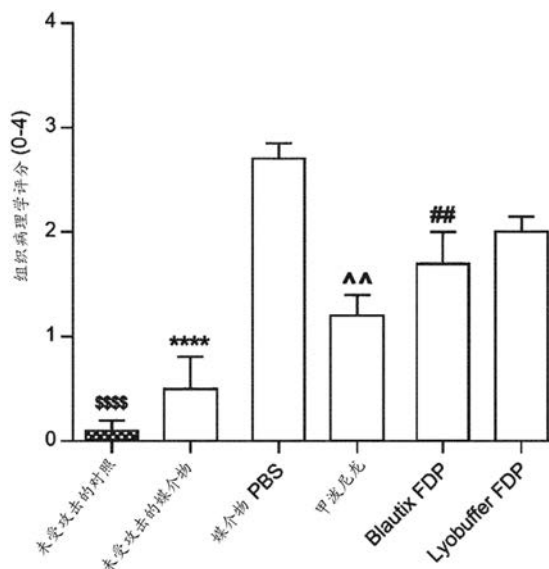
序列表2页 附图4页

(54) 发明名称

包含细菌菌株的组合

(57) 摘要

本发明提供用于治疗 and 预防肺损伤或肺疾病的包含细菌菌株的组合。



1. 一种包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,所述组合物用于治疗肺损伤或肺疾病的方法中。
2. 根据权利要求1使用的组合物,其中所述肺损伤或肺疾病由炎症介导。
3. 根据权利要求1或权利要求2使用的组合物,其中所述组合物减轻肺组织的炎症或者减轻由肺损伤或肺疾病引起的损害。
4. 根据权利要求1-3中任一项使用的组合物,其中所述肺损伤或肺疾病是:
 - (a) 哮喘;
 - (b) 急性呼吸窘迫综合征 (ARDS);或
 - (c) 慢性阻塞性肺疾病 (COPD)。
5. 根据权利要求4 (a) 使用的组合物,其中所述哮喘是:
 - (a) 轻度或中度哮喘;
 - (b) 过敏性哮喘,任选其中致病性过敏原是花粉、尘螨、宠物皮屑、霉菌或蟑螂颗粒;或
 - (c) 非过敏性哮喘。
6. 根据权利要求1-3中任一项使用的组合物,其中所述肺损伤或肺疾病不是哮喘。
7. 根据权利要求1-3中任一项使用的组合物,其中所述肺损伤或肺疾病不是过敏性哮喘、非过敏性哮喘、嗜酸性粒细胞哮喘和嗜中性粒细胞哮喘中的任一者。
8. 根据权利要求4 (a) 或权利要求5使用的组合物,其中所述组合物减轻诸如支气管和细支气管的气道的慢性炎症和限制。
9. 根据权利要求1-8中任一项使用的组合物,其中所述组合物减轻肺组织中的嗜中性粒细胞炎症、出血、水肿、坏死和肺不张中的一者或多者,任选其中所述组合物使肺组织中的嗜中性粒细胞炎症、出血、水肿、坏死和肺不张全部减轻。
10. 根据权利要求1-9中任一项使用的组合物,其中所述细菌菌株具有与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一的16s rRNA基因序列。
11. 根据权利要求1-10中任一项使用的组合物,其中所述细菌菌株具有SEQ ID NO:1的16s rRNA基因序列。
12. 根据权利要求1-11中任一项使用的组合物,其中所述组合物包含以登录号DSM 14294保藏在Deutsche Sammlung von Mikroorganismen (德国微生物保藏中心)的嗜氢布劳特氏菌或其衍生物。
13. 根据权利要求1-12中任一项使用的组合物,其中:
 - (a) 所述组合物用于口服施用;
 - (b) 所述组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体;
 - (c) 所述细菌菌株是冻干的;和/或
 - (d) 所述细菌菌株是有活力的。
14. 根据权利要求13 (d) 使用的组合物,其中所述细菌菌株能够部分或完全定殖于肠道。
15. 根据权利要求1-14中任一项使用的组合物,其中所述组合物包含:
 - (a) 属于嗜氢布劳特氏菌种的单一菌株,或
 - (b) 作为微生物菌群的一部分的嗜氢布劳特氏菌菌株。
16. 一种包含权利要求1-15中任一项的组合物的食物产品,所述食物产品用于根据权

利要求1-15中任一项的用途。

17.一种包含权利要求1-15中任一项的组合物的疫苗组合物,所述疫苗组合物用于根据权利要求1-15中任一项的用途。

包含细菌菌株的组合物

技术领域

[0001] 本发明的领域为包含分离自哺乳动物消化道的细菌菌株的组合物以及这类组合物在疾病治疗中的用途。

背景技术

[0002] 人类肠道在子宫内被认为是无菌的,但其在出生后立即暴露于各种各样的母体和环境微生物中。此后,出现微生物定殖和演替的动态期,其受多种因素的影响,如分娩方式、环境、饮食和宿主基因型,所有这些都影响肠道微生物群的组成,特别是在生命早期。随后,微生物群稳定,并且变得像成体一样[1]。人类肠道微生物群含有超过1500种不同的种系型,在丰度水平上占主导的是两种主要的细菌分类(门),即拟杆菌门和厚壁菌门[2-3]。由人类肠道的细菌定殖产生的成功共生关系已经产生了多种多样的代谢功能、结构功能、保护功能及其它有益功能。定殖肠道的代谢活性增强确保了原本难消化的膳食组分随着副产物的释放而降解,从而为宿主提供了重要的营养来源和额外的健康益处。类似地,肠道微生物群的免疫学重要性是众所周知的,并且在免疫系统受损的无菌动物中得到例证,在引入共生细菌后,受损的免疫系统在功能上得以重建[4-6]。

[0003] 在胃肠道病症如炎症性肠病(IBD)中已经记录了微生物群组成的显著变化。例如,在IBD患者中梭菌簇XIVa细菌和梭菌簇XI(普拉梭菌)的水平降低,而大肠杆菌数增多,表明肠道内共生体和致病有机体的平衡发生改变[7-11]。

[0004] 认识到某些细菌菌株可能对动物肠道及其它组织有潜在的积极作用,已经提出将各种菌株用于治疗各种疾病(参见例如[12-15])。已经提出许多菌株用于治疗各种肠道病症,主要包括乳杆菌和双歧杆菌菌株(综述参见[16])。也已经提出将嗜氢布劳特氏菌(*Blautia hydrogenotrophica*)种的菌株用于治疗肠道病症[17-19]。也已经提出将布劳特氏菌属(*Blautia*)的菌株用于调节消化生态系统的微生物平衡[20],并且也已经提出将特定的菌种用于治疗远离肠道的全身性疾病[21]。然而,不同细菌菌株与不同疾病之间的关系以及特定细菌菌株在全身水平上对肠道及其它组织和对任何特定类型疾病的确切作用尚未得到充分表征。

[0005] 需要表征肠道细菌的潜在作用,以便可以开发利用肠道细菌的新疗法。

发明内容

[0006] 本发明人已经开发出治疗肺损伤或肺疾病的新疗法。特别地,本发明人已经确认嗜氢布劳特氏菌种的菌株可有效治疗肺损伤或肺疾病。如实施例中所述,施用包含嗜氢布劳特氏菌种的菌株的组合物在脂多糖(LPS)诱导的肺损伤小鼠模型中减轻肺组织的炎症。因此,包含嗜氢布劳特氏菌种的菌株的组合物可以治疗肺损伤或肺疾病。

[0007] 在第一方面,本发明提供了包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,其用于治疗肺损伤或肺疾病的方法中。本发明还提供治疗肺损伤或肺疾病的方法,包括对有需要的患者施用包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物。此外,本发明提供了包含嗜氢布

劳特氏菌种的细菌菌株的组合物用于制备治疗肺损伤或肺疾病的药物的用途。

[0008] 在优选的实施方案中,本发明提供了包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,其用于治疗肺损伤或肺疾病的方法中,其中所述肺损伤或肺疾病由炎症介导。在优选的实施方案中,本发明提供了包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,其用于治疗肺损伤或肺疾病的方法中,其中所述组合物减轻肺组织的炎症。在优选的实施方案中,本发明提供了包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,其用于治疗哮喘的方法中。在优选的实施方案中,本发明提供了包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,其用于治疗急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的方法中。在优选的实施方案中,本发明提供了包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株的组合物,其用于治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的方法中。

[0009] 嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株可具有与嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株的16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一的16s rRNA序列。与嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株密切相关的菌株也可用于本发明,如具有与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一的16s rRNA基因序列的细菌菌株。在其它实施方案中,组合物中的细菌菌株具有与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一的16s rRNA序列。优选地,用于本发明的细菌菌株具有由SEQ ID NO:1表示的16s rRNA基因序列。最优选地,用于本发明的组合物中的细菌菌株是以登录号DSM 14294保藏的嗜氢布劳特氏菌菌株。也可以使用以登录号DSM 14294保藏的嗜氢布劳特氏菌菌株的衍生物。

[0010] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于口服施用。口服施用本发明的菌株可有效治疗肺损伤或肺疾病。另外,口服施用对患者和执业医师来说是方便的,并且允许向肠道递送和/或部分或完全定殖于肠道。

[0011] 在某些实施方案中,本发明的组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体。

[0012] 在某些实施方案中,本发明的组合物包含已经被冻干的细菌菌株。本发明的组合物还可以包含嗜氢布劳特氏菌种的冻干细菌菌株。冻干是制备允许递送细菌的稳定组合物的有效且方便的技术。

[0013] 在某些实施方案中,本发明提供了包含如上所述的组合物的食物产品。

[0014] 在某些实施方案中,本发明提供了包含如上所述的细菌菌株的疫苗组合物。

[0015] 另外,本发明提供了治疗肺损伤或肺疾病的方法,包括对有需要的患者施用包含嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株的组合物。

附图说明

[0016] 图1:第1-6组体重;数据以平均值±SEM给出。

[0017] 图2:第1-6组的组织病理学评分分析。肺切片的嗜中性粒细胞炎症、出血、水肿、坏死和肺不张各自按0-4分制评分。显示了第1-6组中的每一组的平均组织病理学总分。\$\$\$和****: $p < 0.0001$ 对比媒介物组。^^和##: $p < 0.01$ 对比媒介物组。

[0018] 图3:肺组织病理学代表性图像。图3A:小鼠1.1, $\times 10$;正常肺(总分0);图3B:小鼠4.3, $\times 10$ (总分3);细支气管周围、血管周围和肺泡内分布有炎症性聚集物;图3C:小鼠5.8, $\times 10$ (总分2);炎症性变化如上4.3;图3D和3E:小鼠6.6, $\times 10$ 和 $\times 40$ (总分5);细支气管周围、血

管周围和肺泡内炎症;高倍镜显示退化的动脉血管,血管壁有纤维蛋白样坏死,且剧烈肺泡内炎症区附近有浸润性粒细胞;图3F:小鼠6.10,x10(总分5);大量肺泡内出血,但炎症性变化最小;图3G:小鼠7.10,x10(总分3);多灶炎症性变化;图3H:小鼠8.8,x10(总分2);多灶炎症性变化。

[0019] 发明的公开内容

[0020] 细菌菌株

[0021] 本发明的组合物包含嗜氢布劳特氏菌种的细菌菌株。实施例表明这种菌株可用于治疗肺损伤或肺疾病,特别是由炎症介导的肺损伤或肺疾病。

[0022] 布劳特氏菌属是革兰氏反应阳性的非能动细菌,其可以是球形或卵形的,且全都是产生乙酸作为葡萄糖发酵的主要终产物的专性厌氧菌[22]。

[0023] 嗜氢布劳特氏菌(先前称为嗜氢瘤胃球菌,Ruminococcus hydrogenotrophicus)分离自哺乳动物的肠道,是严格厌氧性不形成孢子的球杆菌,并且将H₂/CO₂代谢为乙酸盐,这对于人类营养可能是重要的。嗜氢布劳特氏菌的模式菌株为S5a33=JCM 14656。嗜氢布劳特氏菌菌株S5a36的16S rRNA基因序列的GenBank登录号为X95624.1(本文公开为SEQ ID NO:1)。此示例性嗜氢布劳特氏菌菌株描述于[22]和[23]中。S5a33菌株和S5a36菌株对应于分离自健康受试者的粪便样品的菌株的两个亚克隆。它们显示出相同的形态、生理和代谢,并且具有相同的16S rRNA基因序列。因此,在一些实施方案中,用于本发明的嗜氢布劳特氏菌具有SEQ ID NO:1的16S rRNA基因序列。

[0024] 在实施例中测试了保藏在登录号DSM 14294下的嗜氢布劳特氏菌细菌,并且其在本文中也称为菌株BH和Blautix。菌株BH是本发明的优选菌株。菌株BH由Deutsche Sammlung von Mikroorganismen[德国微生物保藏中心](Mascheroder Weg 1b,38124 Braunschweig,德国)作为“嗜氢瘤胃球菌”在2001年5月10日以“S5a33”保藏在登录号DSM 14294下。保藏者是INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand/Theix 63122 Saint Genès Champanelle,法国。保藏物的所有权已通过转让的方式转移给4D Pharma Plc。4D Pharma Plc已通过协议的方式授权4D Pharma Research Limited在申请中涉及保藏的生物材料,并且已经无保留且不反悔地同意向公众开放保藏的材料。在[20]中提到了DSM 14294保藏物。

[0025] 与实施例中测试的菌株密切相关的细菌菌株也预期可有效治疗肺损伤或肺疾病,特别是由炎症介导的肺损伤或肺疾病。在某些实施方案中,用于本发明的细菌菌株具有与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一的16s rRNA基因序列。优选地,细菌菌株具有由SEQ ID NO:1表示的16s rRNA基因序列。最优选地,细菌菌株是保藏在登录号DSM 14294下的嗜氢布劳特氏菌菌株。

[0026] 在某些实施方案中,本发明的组合物包含保藏在登录号DSM 14294下的细菌的生物型。保藏在登录号DSM 14294下的菌株的生物型是具有相同或非常类似的生理和生物化学特征的密切相关的菌株。生物型将具有与原始DSM 14294相当的免疫调节活性。因此生物型将可有效治疗肺损伤或肺疾病,特别是由炎症介导的肺损伤或肺疾病,包括哮喘、ARDS或COPD。

[0027] 生物型将对肺损伤或肺疾病引发与实施例中所示的效果相当的效果,这可以通过采用实施例中描述的培养和施用方案来确认。特别地,生物型将引发与保藏在登录号DSM

14294下的细菌相当的肺部炎症的减轻。

[0028] 可以通过对保藏在登录号DSM 14294下的细菌的其它核苷酸序列进行测序来确认作为保藏在登录号DSM 14294下的细菌的生物型且适用于本发明的菌株。例如,可以对基本上整个基因组进行测序,并且用于本发明的生物型菌株可以在其整个基因组的至少80%上(例如至少85%、90%、95%或99%上或者在其整个基因组上)具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%的序列同一性。例如,在一些实施方案中,生物型菌株在其基因组的至少98%上具有至少98%的序列同一性,或者在其基因组的99%上具有至少99%的序列同一性。用于确认生物型菌株的其它合适的序列可包括hsp60或重复序列,如BOX、ERIC、(GTG)₅或REP[24]。生物型菌株可具有这样的序列,其与保藏在登录号DSM 14294下的细菌的相应序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%的序列同一性。在一些实施方案中,生物型菌株可具有与SEQ ID NO:1的16S rRNA序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%的序列同一性的16S rRNA基因序列。

[0029] 或者,可以通过使用登录号DSM 14294保藏物和限制性片段分析和/或PCR分析,例如通过使用荧光扩增片段长度多态性(FAFLP)和重复DNA元件(rep)-PCR指纹分析或蛋白质谱分析或部分16S或23S rDNA测序来确认作为保藏在登录号DSM 14294下的细菌的生物型且适用于本发明的菌株。在优选的实施方案中,这类技术可用于确认其它嗜氢布劳特氏菌菌株。

[0030] 在某些实施方案中,作为保藏在登录号DSM 14294下的细菌的生物型且适用于本发明的菌株是这样的菌株,当通过扩增核糖体DNA限制性酶切分析(ARDRA)进行分析时,例如当使用Sau3AI限制性内切酶时,其提供与保藏在登录号DSM 14294下的细菌相同的模式(示例性方法和指导参见例如[25])。或者,生物型菌株被确认为具有与保藏在登录号DSM 14294下的细菌相同的碳水化合物发酵模式的菌株。

[0031] 在一些实施方案中,本发明中使用的细菌菌株:

[0032] (i) 对 α -葡萄糖苷酶和碱性磷酸酶中的一者或两者呈阳性;和/或

[0033] (ii) 对以下中的至少一者(例如至少2者、3者、4者、5者、6者、7者、8者、9者、10者、11者、12者、13者、14者、15者、16者、17者、18者、19者、20者、21者、22者、23者、24者、25者、26者或全部)呈阴性:脲酶、精氨酸二水解酶、 α -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶6磷酸酯、 β -葡萄糖苷酶、 α -阿拉伯糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸酶、N-乙酰基- β -氨基葡萄糖苷酶、甘露糖发酵、棉子糖发酵、谷氨酸脱羧酶、 α -岩藻糖苷酶、硝酸盐的还原、吲哚产生、精氨酸芳基酰胺酶、脯氨酸芳基酰胺酶、亮氨酸甘氨酸芳基酰胺酶、苯丙氨酸芳基酰胺酶、亮氨酸芳基酰胺酶、焦谷氨酸芳基酰胺酶、酪氨酸芳基酰胺酶、丙氨酸芳基酰胺酶、甘氨酸芳基酰胺酶、组氨酸芳基酰胺酶、谷氨酰谷氨酸芳基酰胺酶和丝氨酸芳基酰胺酶;优选通过碳水化合物、氨基酸和硝酸盐代谢的测定且任选碱性磷酸酶活性的测定来确定,更优选通过快速ID 32A分析(优选使用来自bioMérieux的快速ID 32A系统)来确定。

[0034] 可采用包括实施例中所所述的测定法在内的任何适当的方法或策略来确认可用于本发明的组合物和方法的其它嗜氢布劳特氏菌菌株,如保藏在登录号DSM 14294下的细菌的生物型。特别地,具有与保藏在登录号DSM 14294下的细菌类似的生长模式、代谢类型和/或表面抗原的细菌菌株可用于本发明。有用的菌株将具有与DSM 14294菌株相当的微生物群调节活性。特别地,生物型菌株将对肺损伤或肺疾病引发与实施例中所示的效果相当的

效果,这可以通过采用实施例中描述的培养和施用方案来确认。

[0035] 本发明特别优选的菌株是保藏在登录号DSM 14294下的嗜氢布劳特氏菌菌株。这是在实施例中测试并显示可有效治疗肺损伤或肺疾病的示例性BH菌株。因此,本发明提供了保藏在登录号DSM 14294下的嗜氢布劳特氏菌菌株或其衍生物的细胞,如分离的细胞,其用于特别是本文所述的损伤和疾病的治疗。

[0036] 在某些实施方案中,本发明的组合物包含保藏在登录号DSM 14294下的细菌的衍生物。保藏在登录号DSM 14294下的菌株的衍生物可以是子代菌株(子代)或由原始菌株培养(亚克隆)的菌株。本发明的菌株的衍生物可例如在遗传水平上被修饰,而不消除生物活性。特别地,本发明的衍生菌株有治疗活性。衍生菌株将具有与原始DSM 14294菌株相当的免疫调节活性。衍生菌株将具有与原始DSM 14294菌株相当的微生物群调节活性。因此衍生菌株将可有效治疗肺损伤或肺疾病,特别是由炎症介导的肺损伤或肺疾病,包括哮喘、ARDS或COPD。

[0037] 衍生菌株将对肺损伤或肺疾病引发与实施例中所示的效果相当的效果,这可以通过采用实施例中描述的培养和施用方案来确认。特别地,衍生菌株将对肺部炎症引发与保藏在登录号DSM 14294下的细菌的效果相当的效果。DSM 14294菌株的衍生物通常将是DSM 14294菌株的生物型。

[0038] 细菌菌株也可以是具有与保藏在登录号DSM 14294下的菌株相同的安全性和治疗功效特征的菌株,且本发明涵盖这类细胞。因此组合物可包含不是保藏在登录号DSM 14294下的菌株但具有与保藏在登录号DSM 14294下的菌株相同的安全性和治疗功效特征的嗜氢布劳特氏菌菌株。菌株的安全性特征可例如通过测试菌株对抗生素的抗性来确立,例如区分对抗生素的固有抗性与可传播抗性。菌株的安全性特征也可通过体外评估菌株的致病特性例如评估毒素产生的水平来确立。其它安全性测试包括细菌菌株在大鼠和小鼠模型中的急性或慢性毒性。菌株的治疗功效可通过使用相关模型在体外和体内对细菌菌株进行功能表征来确立。

[0039] 在优选的实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株是有活力的,并且能够部分或完全定殖于肠道。优选地,要对胃肠道施用本文公开的组合物,以便能够将本发明的细菌菌株向肠道递送和/或使本发明的细菌菌株部分或完全定殖于肠道。换言之,细菌可能已经定殖于一些或全部的胃肠道,和/或这种定殖可以是暂时的或永久的。

[0040] 更具体地,在一些实施方案中,“完全定殖于肠道”意指细菌已经定殖于肠道的所有部分(即小肠、大肠和直肠)。另外或可选择地,术语“完全定殖”意指细菌永久性地植入肠道的一些或所有部分中。

[0041] 在一些实施方案中,“部分定殖于肠道”意指细菌已经定殖于肠道的一些但非所有部分中。另外或可选择地,“部分定殖”意指细菌短暂地植入肠道的一些或所有部分中。

[0042] 可通过如下方式确定短暂植入,在给药间隔结束之后定期地(例如每日)评估(例如在粪便样品中)本发明的细菌菌株的丰度,以确定清除期,即给药间隔结束与不存在可检测水平的本发明的细菌菌株之间的时间段。在本发明的实施方案中,清除期为14天或更短、12天或更短、10天或更短、7天或更短、4天或更短、3天或更短、2天或更短或者1天或更短。

[0043] 在本发明的实施方案中,本发明的细菌短暂地植入大肠中。

[0044] 治疗用途

[0045] 肺损伤或肺疾病

[0046] 本发明的细菌组合物用于治疗肺疾病或肺损伤。本发明的细菌组合物还用于预防肺疾病或肺损伤。

[0047] 如实施例表明的那样,本发明的细菌组合物可有效减轻肺组织中的炎症。如由有资格的组织病理学家所测量,用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少。因此,本发明的组合物可用于治疗肺损伤或肺疾病,特别是由炎症介导的肺损伤或肺疾病。特别地,本发明的组合物可用于通过减轻肺组织中的炎症来治疗肺损伤或肺疾病。特别地,本发明的组合物可用于通过减轻由肺损伤或肺疾病引起的损害来治疗肺损伤或肺疾病。

[0048] 肺损伤和肺疾病涵盖影响在高等生物体中使得有可能进行气体交换的器官和组织的所有病理学病状。肺损伤和肺疾病可影响例如上呼吸道、下呼吸道、气管、支气管、细支气管、肺泡、间质、胸膜、胸膜腔以及呼吸的神经和肌肉中的一者或多者。

[0049] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响上呼吸道的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响下呼吸道的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响气管的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响支气管的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响细支气管的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响肺泡的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响间质的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响胸膜的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响胸膜腔的肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗影响呼吸的神经和肌肉的肺损伤或肺疾病。优选地,本发明的组合物用于治疗不是哮喘的肺损伤或肺疾病。

[0050] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗ARDS、哮喘、支气管扩张、细支气管炎、支气管炎、慢性咳嗽、COPD、囊性纤维化、肺气肿、人偏肺病毒(hMPV)感染、流感、大流行流感、百日咳、胸膜炎、胸膜腔疾病、肺炎、呼吸道合胞病毒(RSV)、结节病、严重急性呼吸综合征(SARS)、结核病或上呼吸道感染(如普通感冒、鼻窦炎、扁桃体炎、咽炎和喉炎)。

[0051] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗支气管扩张。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗细支气管炎。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗支气管炎。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗慢性咳嗽。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗COPD。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗囊性纤维化。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗肺气肿。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗hMPV。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗流感。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗大流行流感。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗百日咳。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗胸膜炎。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗胸膜腔疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗肺炎。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗RSV。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗结节病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗SARS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗结核病。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗上呼吸道感染,如普通感冒、鼻窦炎、扁桃体炎、咽炎或喉炎。

[0052] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由ARDS引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由哮喘引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻不是由哮喘引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由支气管扩张引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由细支气管炎引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由支气管炎引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由慢性咳嗽引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由COPD引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由囊性纤维化引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由肺气肿引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由hMPV引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由流感引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由大流行流感引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由百日咳引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由胸膜炎引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由胸膜腔疾病引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由肺炎引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由RSV引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由结节病引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由SARS引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由结核病引起的损害。在一些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由上呼吸道感染如普通感冒、鼻窦炎、扁桃体炎、咽炎或喉炎引起的损害。

[0053] 实施例显示,如由有资格的组织病理学家所测量,用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻嗜中性粒细胞炎症来治疗肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减少出血来治疗肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻水肿来治疗肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减少坏死来治疗肺损伤或肺疾病。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻肺不张来治疗肺损伤或肺疾病。

[0054] 哮喘

[0055] 本发明的细菌组合物用于治疗哮喘。本发明的细菌组合物也用于预防哮喘。

[0056] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗哮喘。在优选的实施方案中,本发明的组合物包含嗜氢布劳特氏菌种的菌株,并且用于治疗哮喘。

[0057] 如实施例表明,如由有资格的组织病理学家所测量,用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少,因此本发明的组合物可用于治疗哮喘。

[0058] 哮喘是以气道的慢性炎症和受限为特征的疾病。最常见地,哮喘的特征在于支气管和细支气管的慢性炎症,导致它们变窄。哮喘的症状包括喘息、咳嗽、胸闷和/或呼吸短促。在某些时候,例如在晚上、在清晨或者在锻炼后,症状可能会更加严重。

[0059] 哮喘主要根据症状的严重程度和频率进行分类。例如,哮喘可分为间歇性哮喘、轻度持续性哮喘、中度持续性哮喘或重度持续性哮喘。哮喘也可以更简单地分为轻度、中度或重度。哮喘也可分为由产生一系列由T辅助型2淋巴细胞(Th2)过程介导的炎症性事件的过敏原引发的哮喘(称为Th2高型哮喘)或由非Th2介导的过程引发的哮喘(称为非Th2哮喘或Th2低型哮喘)。非Th2或Th2低型哮喘通常对吸入皮质类固醇疗法没有反应。根据症状是否由过敏原促成,哮喘也可分为过敏性的(也称特应性的或外源性的)或非过敏性的(也称非

特应性的或内源性的)。过敏性哮喘是Th2高型哮喘的一种形式。非过敏性哮喘是非Th2或Th2低型哮喘的一种形式。

[0060] 哮喘可进一步分成各种亚型。嗜中性粒细胞哮喘、与肥胖有关的哮喘、与吸烟有关的哮喘和寡粒细胞性哮喘都是非Th2或Th2低型哮喘的亚型。嗜中性粒细胞哮喘也是非过敏性哮喘和/或重度哮喘的亚型。嗜酸性粒细胞哮喘是重度哮喘、过敏性哮喘和/或非过敏性哮喘的亚型。

[0061] 嗜酸性粒细胞哮喘的特征在于外周血、肺组织和气道分泌物中嗜酸性粒细胞的数目增多。嗜中性粒细胞哮喘是可能对皮质类固醇治疗不敏感的重度哮喘。其特征在于外周血、肺组织和气道分泌物中嗜中性粒细胞的数目增多。

[0062] 目前对哮喘的治疗涉及组合用药,通常是经由吸入器施用。通常根据患者的特定需要,针对每位患者制定个体治疗计划。治疗计划通常既包括治疗急性症状的快速缓解用药,也包括防止病状进一步恶化的长期控制用药。治疗哮喘需要新的疗法。

[0063] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗间歇性哮喘、轻度持续性哮喘、中度持续性哮喘或重度持续性哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗重度、中度或轻度哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗Th2高型哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗非Th2或Th2低型哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗过敏性、特应性或外源性哮喘。致病性过敏原可以是一种或多种吸入过敏原,如花粉、尘螨、宠物皮屑、霉菌和/或蟑螂颗粒。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗不是过敏性、特应性或外源性哮喘的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗非过敏性、非特应性或内源性哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗嗜酸性粒细胞哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗嗜中性粒细胞哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗嗜酸性粒细胞哮喘和嗜中性粒细胞哮喘两者。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗不是嗜酸性粒细胞哮喘的哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗不是嗜中性粒细胞哮喘的哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗既不是嗜酸性粒细胞哮喘也不是嗜中性粒细胞哮喘的哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗与肥胖有关的哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗与吸烟有关的哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗寡粒细胞性哮喘。

[0064] 哮喘以特定的病理生理学特点为特征。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有嗜酸性粒细胞炎症性反应的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有嗜中性粒细胞炎症性反应的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有淋巴细胞浸润的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有肥大细胞激活的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有上皮细胞损伤的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有细支气管周围浸润的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有血管周围浸润的哮喘。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗其中已经有这些病理生理学特点中的一者或多者(如这些病理生理学特点中的两者、三者、四者或多于四者)的哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物导致这些病理生理学特点中的一者或多者减轻。在某些实施方案中,本发明的组合物导致嗜酸性粒细胞和/或嗜中性粒细胞炎症性反应减轻。在某些实施方案中,本发明的组合物导致细支气管周围浸润和/或血管周围浸润减少。

[0065] 哮喘的家族史、病毒性呼吸道感染、过敏、吸烟、肥胖、空气污染、职业暴露于某些刺激物、产妇在怀孕期间吸烟和早产都被认为是哮喘的风险因素。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗具有至少一种哮喘风险因素的受试者的哮喘。在一些实施方案中，受试者具有两种哮喘风险因素。在一些实施方案中，受试者具有三种哮喘风险因素。在一些实施方案中，受试者具有四种哮喘风险因素。在一些实施方案中，受试者具有超过四种哮喘风险因素。在一些实施方案中，受试者具有哮喘的家族史。在一些实施方案中，受试者患有/已经患有病毒性呼吸道感染。在一些实施方案中，受试者患有/已经患有过敏症。在一些实施方案中，受试者吸烟/已经吸烟。在一些实施方案中，受试者已经肥胖/肥胖。在一些实施方案中，受试者已经暴露于/正在暴露于空气污染。在一些实施方案中，受试者已经暴露于/正在暴露于工作场所中的某些刺激物，如工业粉尘、木材粉尘、化学烟雾、蒸汽和/或霉菌。在一些实施方案中，受试者的母亲在她怀孕期间吸烟。在一些实施方案中，受试者早产。

[0066] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由过敏原引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由长期暴露于非类固醇抗炎药如阿司匹林引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由肥胖引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由长期暴露于胃肠反流引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由污染引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由香烟烟雾引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由鼻炎引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由压力、焦虑和/或抑郁引起的哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由嗜酸性粒细胞炎症和/或嗜中性粒细胞炎症引起的哮喘。在某些实施方案中，要治疗的患者例如通过血液采样或痰液分析确认患有或先前已经被确认患有嗜中性粒细胞或嗜酸性粒细胞水平升高。

[0067] 实施例显示，用本发明的组合物治疗减轻了肺组织中的炎症。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减轻肺组织中的炎症来治疗哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减轻诸如支气管和细支气管的慢性炎症和限制来治疗哮喘。

[0068] 实施例显示，如由有资格的组织病理学家所测量，用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减轻嗜中性粒细胞炎症来治疗哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减少出血来治疗哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减轻水肿来治疗哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减少坏死来治疗哮喘。在一些实施方案中，本发明的组合物通过减轻肺不张来治疗哮喘。

[0069] 实施例表明，当在损伤事件发生前施用，本发明的组合物可用于治疗哮喘和帮助恢复。可在例如被确认有哮喘风险的患者哮喘发作之前对受试者提供本发明用于治疗哮喘的组合物。或者，可在受试者正罹患哮喘时对他们提供本发明用于治疗哮喘的组合物。或者，可在哮喘已经发生后例如在恢复期间提供本发明用于治疗哮喘的组合物。

[0070] 当对新生儿或者对孕妇施用，本发明的组合物可用于预防新生儿产生哮喘。所述组合物可用于预防儿童产生哮喘。本发明的组合物可用于治疗成人发作型哮喘。本发明的组合物可用于控制或缓解哮喘的症状。

[0071] 哮喘的治疗可包括例如实现疾病的改善、缓解症状的严重程度、减轻所引起的损害或者减小作为患者问题的起因的加重频率或范围。

[0072] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于实现哮喘的改善。在某些实施方案中，本

发明的组合物用于缓解哮喘症状的严重程度。在某些实施方案中，本发明的组合物用于减轻由哮喘引起的损害。在某些实施方案中，本发明的组合物用于减小哮喘的加重频率。在某些实施方案中，本发明的组合物用于减小作为哮喘患者问题的起因的范围。

[0073] 如实施例表明，本发明的细菌组合物可有效治疗哮喘。在某些实施方案中，组合物可呈细菌培养物的形式。在一些实施方案中，组合物可优选为冻干物。

[0074] 在某些实施方案中，本发明的组合物与第二活性剂组合使用。在某些实施方案中，本发明的组合物与支气管扩张剂组合使用。在一些实施方案中，本发明的组合物与短效 β_2 肾上腺素能受体激动剂、长效 β_2 肾上腺素能受体激动剂、抗胆碱能药、皮质类固醇、白三烯抑制剂、肥大细胞稳定剂、抗毒蕈碱药、黄嘌呤、奥马珠单抗和免疫调节剂中的一者或多者组合使用。本发明的组合物可改善患者对第二活性剂的反应。

[0075] ARDS

[0076] 本发明的细菌组合物用于治疗ARDS。本发明的细菌组合物也用于预防ARDS。

[0077] 在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS。在优选的实施方案中，本发明的组合物包含嗜氢布劳特氏菌种的菌株，并且用于治疗ARDS。

[0078] 如实施例表明，如由有资格的组织病理学家所测量，用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少，因此本发明的组合物可用于治疗ARDS。

[0079] ARDS也称为急性肺损伤(ALI)，是与弥漫性肺泡损伤(DAD)以及肺内皮细胞和上皮细胞屏障破坏相关的急性炎症病症。在ARDS的早期阶段，由微血管内皮细胞和肺泡上皮细胞形成的肺泡-毛细血管屏障的通透性增加，这导致富含蛋白质的流体流入肺泡空间。因此ARDS是流体在肺中积累的形式。任何导致微血管内皮细胞和/或肺泡上皮细胞损害的起因或事件均可导致ARDS。像肺泡-毛细血管膜完整性的丧失一样，过度的跨上皮细胞的嗜中性粒细胞迁移和促炎症性细胞因子的释放增强了ARDS中的炎症和肺损害[26]。然而，ARDS可在不存在循环嗜中性粒细胞的情况下产生，因此与嗜中性粒细胞无关的途径也可引起ARDS[27]。

[0080] ARDS的症状往往在引发事件的两小时内开始，但可在1-3天后发生。体征和症状可包括呼吸短促、呼吸急促、由通气异常所致的血氧水平低、低血压、紊乱和/或极度疲劳。

[0081] 美国-欧洲共识会议委员会(American-European Consensus Conference Committee)在1994年建议采用ALI/ARDS的一致定义。该定义依赖于患者动脉血中的氧分压(PaO_2)与吸入空气中的氧分数(FiO_2)的比率。此定义要求急性发作、胸片上出现弥漫性双侧肺浸润物、ALI的 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率 $\leq 300\text{mmHg}$ (40kPa)和ARDS的 $\leq 200\text{mmHg}$ ($\leq 26.7\text{kPa}$)，并且没有左心房高血压的临床证据[28]。

[0082] 然而，关于ARDS的这一国际一致标准后来在2012年更新，现在称为“柏林定义”或“柏林标准”。柏林标准是对之前的1994年共识会议定义的修改。根据柏林标准，ARDS的特征在于以下各项：

[0083] -在明显临床伤害的1周内急性发作的肺损伤，并伴有呼吸道症状的进展；

[0084] -放射学影像改变(不能由积液、实变或肺不张充分解释的双侧浊斑)；

[0085] -不能由心力衰竭或体液超负荷解释的呼吸衰竭；

[0086] - $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率减小。

[0087] 柏林标准不鼓励使用术语ALI，而是建议仅使用术语ARDS，其中ARDS根据动脉血氧

饱和度分为轻度、中度或重度。轻度ARDS定义是 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率为201-300mmHg ($\leq 39.9\text{kPa}$)；中度ARDS定义是 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率为101-200mmHg ($\leq 26.6\text{kPa}$)；且重度ARDS定义是 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率 $\leq 100\text{mmHg}$ ($\leq 13.3\text{kPa}$)。柏林标准要求考虑 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率的最小呼气末正压(PEEP)为5cmH₂O。柏林标准代表了ARDS临床和研究分类的当前国际一致准则。

[0088] 通过通气策略和非通气策略治疗ARDS。迄今为止，最重要的治疗进展与机械通气改善相关。若干研究和临床试验已显示，大量的药理学策略不能有效降低ARDS的死亡率(例如表面活性剂疗法、吸入一氧化氮和皮质类固醇)。治疗ARDS需要新的非通气策略。

[0089] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗如由美国-欧洲共识会议委员会定义的ARDS。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗如由美国-欧洲共识会议委员会定义的ALI。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ALI，其中受试者急性发作，在胸片上有弥漫性双侧肺浸润物， $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率 $\leq 300\text{mmHg}$ (40kPa)，且没有左心房高血压的临床证据。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中受试者急性发作，在胸片上有弥漫性双侧肺浸润物， $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率 $\leq 200\text{mmHg}$ ($\leq 26.7\text{kPa}$)，且没有左心房高血压的临床证据。

[0090] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗如由柏林标准定义的ARDS。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗如由柏林标准定义的轻度、中度和/或重度ARDS。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗轻度ARDS，其中受试者的 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率为201-300mmHg ($\leq 39.9\text{kPa}$)。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗中度ARDS，其中受试者的 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率为101-200mmHg ($\leq 26.6\text{kPa}$)。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗重度ARDS，其中受试者的 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比率 $\leq 100\text{mmHg}$ ($\leq 13.3\text{kPa}$)。

[0091] ARDS以特定的病理生理学特点为特征[29]。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中肺内皮细胞和上皮细胞屏障已被破坏，导致肺泡-毛细血管膜完整性丧失。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中肺泡-毛细血管屏障的通透性增加。在一些实施方案中，肺泡-毛细血管屏障的通透性增加导致流体流入肺泡。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中存在可通过肺组织的弥漫性炎症表征的DAD。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中释放了促炎症性细胞因子。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中存在过度的跨上皮细胞的嗜中性粒细胞迁移。然后嗜中性粒细胞被激活，并释放毒性介体，如反应性氧物质和蛋白酶，引起氧化性细胞损害和炎症。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗ARDS，其中已有这些病理生理学特点中的一者或多者，如这些病理生理学特点中的两者、三者、四者或多于四者。

[0092] 败血症、肺部感染、肺动脉高压、肺炎、抽吸、创伤、胰腺炎、输血、烧伤、近乎淹溺、烟雾或毒气吸入、其它吸入损伤和药物过量都被认为是ARDS的风险因素。ARDS的最高发病率与重度败血症和多次输血相关，而最低发病率与患者创伤或药物过量相关[30]、[31]。

[0093] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有ARDS或已经具有ARDS的至少一种风险因素的受试者的ARDS。在一些实施方案中，受试者患有ARDS或已经具有ARDS的两种风险因素。在一些实施方案中，受试者患有ARDS或已经具有ARDS的三种风险因素。在一些实施方案中，受试者患有ARDS或已经具有ARDS的四种风险因素。在一些实施方案中，受试者患有ARDS或已经具有ARDS的多于四种风险因素。在一些实施方案中，受试者患有或已经患有败血症。受试者患有或已经患有重度败血症。在一些实施方案中，受试者患有或已经患有肺

部感染。在一些实施方案中,受试者患有或已经患有肺动脉高压。在一些实施方案中,受试者患有或已经患有肺炎。在一些实施方案中,受试者有或已经有抽吸。在一些实施方案中,受试者正罹患或已经罹患创伤。在一些实施方案中,受试者患有或已经患有胰腺炎。在一些实施方案中,受试者已经输血。在一些实施方案中,受试者已经多次输血,即一次或多次、两次或更多次、三次或更多次或四次或更多次输血。在一些实施方案中,受试者有烧伤或已经烧伤。在一些实施方案中,受试者已经遭受近乎淹溺事故。在一些实施方案中,受试者已经吸入烟雾或毒气。在一些实施方案中,受试者患有或已经患有吸入损伤。在一些实施方案中,受试者已经服药过量。

[0094] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由败血症引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由重度败血症引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由肺部感染引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由肺动脉高压引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由肺炎引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由抽吸引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由创伤引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由胰腺炎引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由输血引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由多次输血引起的ARDS,即一次或多次、两次或更多次、三次或更多次或四次或更多次输血。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由烧伤引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由近乎淹溺事故引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由吸入烟雾或毒气引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由吸入损伤引起的ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由药物过量引起的ARDS。

[0095] 实施例显示,用本发明的组合物治疗减轻了肺组织中的炎症。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻肺组织中的炎症来治疗ARDS。

[0096] 实施例显示,如由有资格的组织病理学家所测量,用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻嗜中性粒细胞炎症来治疗ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减少出血来治疗ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻水肿来治疗ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减少坏死来治疗ARDS。在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻肺不张来治疗ARDS。

[0097] 实施例表明,当在损伤事件发生前施用,本发明的组合物可用于治疗ARDS和帮助恢复。可在例如被确认有ARDS风险的患者的ARDS发作之前对受试者提供本发明用于治疗ARDS的组合物。或者,可在受试者正罹患ARDS时对他们提供本发明用于治疗ARDS的组合物。或者,可在ARDS已经发生后例如在恢复期间提供本发明用于治疗ARDS的组合物。

[0098] 当对新生儿或者对孕妇施用,本发明的组合物可用于预防新生儿产生ARDS。所述组合物可用于预防儿童产生ARDS。本发明的组合物可用于治疗成人发作型ARDS。本发明的组合物可用于控制或缓解ARDS的症状。

[0099] ARDS的治疗可包括例如实现疾病的改善、缓解症状的严重程度、减轻ARDS所引起的损害或者减小作为患者问题的起因的加重频率或范围。

[0100] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于实现ARDS的改善。在某些实施方案中,本发明的组合物用于缓解症状的严重程度。在某些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由

ARDS引起的损害。在某些实施方案中,本发明的组合物用于减小作为患者问题的起因的加重频率或范围。

[0101] 如实施例表明,本发明的细菌组合物可有效治疗ARDS。在某些实施方案中,组合物可呈细菌培养物的形式。在一些实施方案中,组合物可优选为冻干物。

[0102] 在某些实施方案中,本发明的组合物与第二活性剂组合使用。在某些实施方案中,本发明的组合物与无创通气、机械通气和保守性流体控制组合使用。其它第二剂包括表面活性剂疗法、吸入一氧化氮、酮康唑、辛伐他汀、布洛芬、抗生素疗法和皮质类固醇。本发明的组合物可改善患者对第二活性剂的反应。

[0103] COPD

[0104] 本发明的细菌组合物用于治疗COPD。本发明的细菌组合物也用于预防COPD。

[0105] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗COPD。在优选的实施方案中,本发明的组合物包含嗜氢布劳特氏菌种的菌株,并且用于治疗COPD。

[0106] 如实施例表明,如由有资格的组织病理学家所测量,用本发明的组合物治疗导致肺部炎症迹象减少,因此本发明的组合物可用于治疗COPD。

[0107] COPD是以长期呼吸问题和气流不畅为特征的进行性疾病。COPD的症状包括呼吸短促、咳嗽、喘息、产生痰液和/或胸闷。COPD之前可能会出现慢性支气管炎或肺气肿。其通常是由长期暴露于刺激物引起,如暴露于烟草烟雾、空气污染或工作场所刺激物,它们会引起肺部的炎症性反应,进而导致气道变窄,并最终导致肺组织破裂。遗传易感性也可能是一种因素。

[0108] 与哮喘不同,支气管扩张剂不能有效治疗COPD,其提供的益处甚微。实际上,除了在患有极重度COPD的非常年轻的个体中常见的肺移植或肺减容手术之外,目前尚无已知的COPD治疗方法。而是,通常为COPD患者提供针对其具体症状的治疗和/或减缓疾病进展的方法。例如,可以对COPD患者提供补充氧、无创通气、抗生素、吗啡、肺康复、流感疫苗接种和(在重度情况下)皮质类固醇,以治疗与COPD相关的各种症状。迄今减缓疾病进展的最佳方法是减少或消除患者对被确认为病因的刺激物的暴露。例如,治疗通常侧重于帮助患者戒烟或者改善他们的工作场所或家中的空气条件。治疗COPD需要新的疗法。

[0109] 家族史和长期暴露于各种刺激物被认为是COPD的风险因素。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗具有或已经具有至少一种COPD风险因素的受试者的COPD。在一些实施方案中,受试者具有或已经具有两种COPD风险因素。在一些实施方案中,受试者具有或已经具有三种COPD风险因素。在一些实施方案中,受试者具有或已经具有四种COPD风险因素。在一些实施方案中,受试者具有或已经具有多于四种COPD风险因素。在一些实施方案中,受试者有COPD、肺气肿和/或慢性支气管炎的家族史。在一些实施方案中,受试者吸烟/已经吸烟。在一些实施方案中,受试者已经暴露于空气污染,如通风不良的烹饪用火,特别是以煤或生物质燃料燃烧的烹饪用火;和/或城市空气污染,特别是废气。在一些实施方案中,受试者已经暴露于工作场所中的某些刺激物,如工业粉尘、木材粉尘、化学烟雾、化学蒸汽和/或霉菌中的一者或多者,特别是镉、异氰酸酯、二氧化硅粉尘、玻璃纤维粉尘和/或来自焊接的烟雾。

[0110] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由肺气肿引起的COPD。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗由慢性支气管炎引起的COPD。在一些实施方案中,本发明

的组合用于治疗由吸烟引起的COPD。在一些实施方案中，本发明的组合用于治疗由暴露于空气污染物引起的COPD。在一些实施方案中，本发明的组合用于治疗由暴露于工作场所中的刺激物引起的COPD。

[0111] 实施例显示，用本发明的组合减轻了肺组织中的炎症。在一些实施方案中，本发明的组合通过减轻肺组织中的炎症来治疗COPD。

[0112] 实施例显示，如由有资格的组织病理学家所测量，用本发明的组合治疗导致肺部炎症迹象减少。在一些实施方案中，本发明的组合通过减轻嗜中性粒细胞炎症来治疗COPD。在一些实施方案中，本发明的组合通过减少出血来治疗COPD。在一些实施方案中，本发明的组合通过减轻水肿来治疗COPD。在一些实施方案中，本发明的组合通过减少坏死来治疗COPD。在一些实施方案中，本发明的组合通过减轻肺不张来治疗COPD。

[0113] 实施例表明，当在损伤事件发生前施用，本发明的组合可用于治疗COPD和帮助恢复。可在例如被确认有COPD风险的患者的COPD发作之前对受试者提供本发明用于治疗COPD组合。或者，可在受试者正罹患COPD时对他们提供本发明用于治疗COPD的组合。或者，可在COPD已经发生后例如在恢复期间提供本发明用于治疗COPD组合。

[0114] 当对新生儿或者对孕妇施用，本发明的组合可用于预防新生儿产生COPD。所述组合可用于预防儿童产生COPD。本发明的组合可用于治疗成人发作型COPD。本发明的组合可用于控制或缓解COPD的症状。

[0115] COPD的治疗可包括例如实现疾病的改善、缓解症状的严重程度、减轻所引起的损害或者减小作为患者问题的起因的加重频率或范围。

[0116] 在某些实施方案中，本发明的组合用于实现COPD的改善。在某些实施方案中，本发明的组合用于缓解COPD症状的严重程度。在某些实施方案中，本发明的组合用于减轻由COPD引起的损害。在某些实施方案中，本发明的组合用于减小COPD的加重频率。在某些实施方案中，本发明的组合用于减小作为COPD患者问题的起因的范围。

[0117] 如实施例表明，本发明的细菌组合可有效治疗COPD。在某些实施方案中，组合可呈细菌培养物的形式。在一些实施方案中，组合可优选为冻干物。

[0118] 在某些实施方案中，本发明的组合与第二活性剂组合使用。在某些实施方案中，本发明的组合与短效 β_2 肾上腺素能受体激动剂、长效 β_2 肾上腺素能受体激动剂、抗胆碱能药、皮质类固醇、白三烯抑制剂、肥大细胞稳定剂、抗毒蕈碱药、黄嘌呤、奥马珠单抗和免疫调节剂中的一者或多者组合使用。本发明的组合可改善患者对第二活性剂的反应。

[0119] 施用方式

[0120] 优选地，要对胃肠道施用本发明的组合，以便能够将本发明的细菌菌株向肠道递送和/或使本发明的细菌菌株部分或完全定殖于肠道。在一些实施方案中，“完全定殖于肠道”意指细菌已经定殖于肠道的所有部分（即小肠、大肠和直肠）。在一些实施方案中，“部分定殖于肠道”意指细菌已经定殖于肠道的一些但非所有部分中。在本发明进一步的实施方案中，术语“完全定殖”或“部分定殖”分别意指细菌永久或暂时地保留在肠道中。一般地，口服施用本发明的组合，但它们也可以直肠施用、鼻内施用或者经由颊或舌下途径施用。

[0121] 在某些实施方案中，本发明的组合可作为泡沫、作为喷雾剂或凝胶施用。

[0122] 在某些实施方案中，本发明的组合可作为栓剂施用，如直肠栓剂，例如呈可可豆油（可可脂）、合成硬脂肪（例如suppocire、witepsol）、甘油明胶、聚乙二醇或皂甘油组合

形式。

[0123] 在某些实施方案中,经由管对胃肠道施用本发明的组合物,如鼻胃管、口胃管、胃管、空肠造口管(J管)、经皮内窥镜胃造口术(PEG),或经由孔口施用,如提供向胃、空肠的通道胸壁孔口及其它合适的通道孔口。

[0124] 可施用一次本发明的组合物,或者它们可作为治疗方案的一部分顺序施用。在某些实施方案中,要每日(一次或者若干次)施用本发明的组合物。实施例表明,施用在肺损伤或肺疾病的治疗中提供了成功的定殖和临床益处。

[0125] 在某些实施方案中,定期施用本发明的组合物,如每日、每两天或每周,持续延长的时间段,如持续至少一周、两周、一个月、两个月、六个月或一年。施用可能不会导致永久定殖于肠道,因此持续延长的时间段定期施用可以提供更大的治疗益处。

[0126] 在一些实施方案中,持续7天、14天、16天、21天或28天或不超过7天、14天、16天、21天或28天施用本发明的组合物。例如,在一些实施方案中,持续16天施用本发明的组合物。在一些实施方案中,持续1、2、3、4、5或6个月、超过6个月或超过1年施用本发明的组合物。

[0127] 在本发明的某些实施方案中,根据本发明的治疗伴随着对患者的肠道微生物群进行评估。如果没有实现本发明菌株的递送和/或部分或完全定殖,以致于没有观察到功效,则可以重复进行治疗,或者如果递送和/或部分或完全定殖成功,并且观察到功效,则可以停止治疗。

[0128] 在某些实施方案中,可以对怀孕的动物施用本发明的组合物,例如哺乳动物如人,以便治疗她的孩子在子宫内和/或出生后产生的肺损伤或肺疾病。

[0129] 可以对已被诊断为患有肺损伤或肺疾病或与肺损伤或肺疾病相关的疾病或病状或已被确认为有肺损伤或肺疾病风险的患者施用本发明的组合物。

[0130] 可以对已被确认为肠道微生物群异常的患者施用本发明的组合物。例如,患者可具有减少的嗜氢布劳特氏菌定殖或没有嗜氢布劳特氏菌定殖。

[0131] 本发明的组合物可作为食物产品施用,如营养补充品。

[0132] 一般地,本发明的组合物用于治疗人,但它们也可用于治疗动物,包括单胃哺乳动物,如家禽、猪、猫、狗、马或兔。本发明的组合物可用于增进动物的生长和表现。如果对动物施用,则可采用口服管饲法。

[0133] 在一些实施方案中,要施用组合物的受试者是成年人。在一些实施方案中,要施用组合物的受试者是人类婴儿。

[0134] 组合物

[0135] 一般地,本发明的组合物包含细菌。在本发明优选的实施方案中,以冷冻干燥形式配制组合物。例如,本发明的组合物可包括包含本发明的细菌菌株的颗粒或明胶胶囊,例如硬明胶胶囊。

[0136] 优选地,本发明的组合物包含冻干细菌。细菌的冻干是得到确认的程序,且相关的指导可见于例如参考文献[32-34]。冻干组合物可能是特别有效的。在优选的实施方案中,本发明的组合物包含冻干细菌,并且用于治疗肺损伤或肺疾病。

[0137] 或者,本发明的组合物可包含活的活性细菌培养物。在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株尚未被灭活,例如尚未被热灭活。在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株尚未被杀灭,例如尚未被热杀灭。在一些实施方案中,本发明的组合物中的细

菌菌株尚未被减毒,例如尚未被热减毒。例如,在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株尚未被杀灭、灭活和/或减毒。例如,在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株是活的。例如,在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株是有活力的。例如,在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株能够部分或完全定殖于肠道。例如,在一些实施方案中,本发明的组合物中的细菌菌株是有活力的,并且能够部分或完全定殖于肠道。

[0138] 在一些实施方案中,组合物包含活细菌菌株和已被杀灭的细菌菌株的混合物。

[0139] 在优选的实施方案中,本发明的组合物被包封,以使得能够将细菌菌株递送至肠道。包封保护组合物不被降解,直到通过例如可由pH变化触发的化学或物理刺激(如压力、酶活性或物理崩解)破裂而在靶位置递送。可采用任何适当的包封方法。示例性包封技术包括包埋多孔基质内、附着或吸附在固体载体表面上、通过絮凝或用交联剂自聚集以及机械包藏在微孔膜或微胶囊后面。有关可用于制备本发明组合物的包封指导可见于例如参考文献[35-36]。

[0140] 组合物可口服施用,并且可呈片剂、胶囊或粉末形式。包封产品是优选的,因为嗜氢布劳特氏菌是厌氧菌。

[0141] 本发明的组合物包括治疗有效量的本发明的细菌菌株。治疗有效量的细菌菌株足以对患者发挥有益作用。治疗有效量的细菌菌株可足以导致向患者的肠道递送和/或部分或完全定殖于患者的肠道。

[0142] 例如对于成年人来说,细菌的合适日剂量可以为约 1×10^3 至约 1×10^{11} 菌落形成单位(CFU);例如约 1×10^7 至约 1×10^{10} CFU;在另一实施例中为约 1×10^6 至约 1×10^{10} CFU;在另一实施例中为约 1×10^7 至约 1×10^{11} CFU;在另一实施例中为约 1×10^8 至约 1×10^{10} CFU;在另一实施例中为约 1×10^8 至约 1×10^{11} CFU。

[0143] 在某些实施方案中,细菌的剂量为每天至少 10^9 个细胞,如每天至少 10^{10} 个细胞、至少 10^{11} 个细胞或至少 10^{12} 个细胞。

[0144] 在某些实施方案中,相对于组合物的重量,组合物含有的细菌菌株量为约 1×10^6 至约 1×10^{11} CFU/g。例如,组合物可包含约 1×10^3 至约 1×10^{11} CFU/g的细菌菌株;例如约 1×10^7 至约 1×10^{10} CFU/g;在另一实施例中为约 1×10^6 至约 1×10^{10} CFU/g;在另一实施例中为约 1×10^7 至约 1×10^{11} CFU/g;在另一实施例中为约 1×10^8 至约 1×10^{10} CFU/g;在另一实施例中为约 1×10^8 至约 1×10^{11} CFU/g、约 1×10^8 至约 1×10^{10} CFU/g。剂量可以为例如1g、3g、5g或10g。

[0145] 组合物可以被配制为益生菌。FAO/WHO将益生菌定义为当以足够的量施用时对宿主赋予健康益处的活微生物。

[0146] 典型地,益生菌如本发明的组合物任选与至少一种合适的益生元化合物组合。在某些实施方案中,相对于组合物总重量,本发明的益生菌组合物包括约1至约30重量%量的益生元化合物(例如5至20重量%)。已知的益生元包括诸如菊粉和转半乳-寡糖的商业产品。

[0147] 益生元化合物通常是不易消化的碳水化合物,如寡糖或多糖或糖醇,其在上消化道中不降解或吸收。碳水化合物可选自:果-寡糖(或FOS)、短链果-寡糖、菊粉、异麦芽-寡糖、果胶、木-寡糖(或XOS)、壳聚糖-寡糖(或COS)、 β -葡聚糖、阿拉伯胶改质和抗性淀粉、聚葡萄糖、D-塔格糖、阿拉伯胶纤维、角豆胶、燕麦和柑橘纤维。一方面,益生元是短链果-寡糖(为简单起见在下文中示为FOSs-c.c.);所述FOSs-c.c.是不易消化的碳水化合物,通常是通

过甜菜糖转化获得的,并且包括与三个葡萄糖分子结合的蔗糖分子。

[0148] 可包括其它益生元化合物(例如维生素C)作为氧清除剂,并改善体内递送和/或部分或完全定殖和存活。或者,本发明的益生菌组合物可作为食物或营养产品口服(如牛奶或基于乳清的发酵乳制品)或作为药物产品施用。

[0149] 本发明的组合物可包含药学上可接受的赋形剂或载体。这类合适赋形剂的实例可见于参考文献[37]。用于治疗用途的可接受的载体或稀释剂是药学领域中熟知的,并且描述于例如参考文献[38]中。合适载体的实例包括乳糖、淀粉、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露糖醇、山梨糖醇等。合适稀释剂的实例包括乙醇、甘油和水。药物载体、赋形剂或稀释剂的选择可根据预期的施用途径和标准药学实践来选择。药物组合物可包含作为载体、赋形剂或稀释剂的或除了载体、赋形剂或稀释剂之外的任何合适的粘结剂、润滑剂、悬浮剂、包衣剂、增溶剂。合适粘结剂的实例包括淀粉、明胶、天然糖如葡萄糖、无水乳糖、自由流动乳糖、 β -乳糖、玉米甜味剂、天然及合成树胶如阿拉伯胶、黄蓍胶或海藻酸钠、羧甲基纤维素和聚乙二醇。合适润滑剂的实例包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。药物组合物中可提供防腐剂、稳定剂、染料甚至调味剂。防腐剂的实例包括苯甲酸钠、山梨酸、半胱氨酸和对羟基苯甲酸的酯。例如,在一些实施方案中,防腐剂选自苯甲酸钠、山梨酸和对羟基苯甲酸的酯。也可使用抗氧化剂和悬浮剂。合适载体的进一步实例是蔗糖。防腐剂的进一步实例是半胱氨酸。

[0150] 本发明的组合物可以被配制为食物产品。例如,食物产品可提供除了本发明的治疗效果以外的营养益处,如营养补充品。类似地,可配制食物产品以增强本发明的组合物的味道,或者通过更类似于普通食品而不是药物组合物而使组合物更吸引消费者。在某些实施方案中,本发明的组合物被配制为奶类产品。术语“奶类产品”意指具有不同脂肪含量的任何液体或半固体奶或乳清类产品。奶类产品可以是例如牛奶、山羊奶、绵羊奶、脱脂奶、全脂奶、由奶粉和乳清不经任何加工而重组的奶,或加工的产品,如酸乳、凝固奶、凝乳、酸奶、酸全脂奶、黄油奶及其它酸奶产品。另一重要组包括奶饮料,如乳清饮料、发酵奶、浓缩奶、婴儿或宝宝奶;调味奶、冰淇淋、含奶食物如甜食。

[0151] 在一些实施方案中,本发明的组合物包含嗜氢布劳特氏菌,并且不含任何其它种的细菌,或仅包含微量允许或生物学无关紧要量的别的菌种的细菌。在一些实施方案中,本发明的组合物包含嗜氢布劳特氏菌的单一菌株,并且不含任何其它菌株的细菌,或仅包含微量允许或生物学无关紧要量的别的菌株的细菌。这类组合物可以是基本上不含其它生物物种的培养物。在一些实施方案中,这类组合物可以是基本上不含其它生物物种的冻干物。

[0152] 在一些实施方案中,本发明的组合物包含多于一种细菌菌株。例如,在一些实施方案中,本发明的组合物包含来自同一菌种内的多于一种菌株(例如多于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40或45种菌株),并且任选不含任何其它菌种的细菌。在一些实施方案中,本发明的组合物包含来自同一菌种内的少于50种菌株(例如少于45、40、35、30、25、20、15、12、10、9、8、7、6、5、4或3种菌株),并且任选不含任何其它菌种的细菌。在一些实施方案中,本发明的组合物包含来自同一菌种内的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种菌株,并且任选不含任何其它菌种的细菌。本发明包含前述的任何组合。

[0153] 在一些实施方案中,组合物包含微生物菌群。例如,在一些实施方案中,组合物包

含嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株作为微生物菌群的一部分。例如,在一些实施方案中,嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株与来自可与其在肠道中体内共生的其它属的一种或多种(例如至少2、3、4、5、10、15或20种)其它细菌菌株组合存在。例如,在一些实施方案中,组合物包含嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株与来自不同属的细菌菌株组合。在另一实施例中,组合物包含嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株与来自布劳特氏菌属的细菌菌株组合,或者组合物包含嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株与来自布劳特氏菌属的细菌菌株和来自不同属的细菌菌株组合。在一些实施方案中,微生物菌群包含得自单一生物体例如人的粪便样品的两种或更多种细菌菌株。在一些实施方案中,微生物菌群不是在自然界中一起被发现的。例如,在一些实施方案中,微生物菌群包含得自至少两种不同生物体的粪便样品的细菌菌株。在一些实施方案中,两种不同的生物体来自同一物种,例如两个不同的人。在一些实施方案中,两种不同的生物体是人类婴儿和成年人。在一些实施方案中,两种不同的生物体是人和非人类哺乳动物。

[0154] 在一些实施方案中,本发明的组合物另外包含具有与保藏在登录号DSM 14294下的嗜氢布劳特氏菌菌株相同的安全性和治疗功效特征但不是保藏在登录号DSM 14294下的嗜氢布劳特氏菌菌株或不是嗜氢布劳特氏菌或不是布劳特氏菌的细菌菌株。

[0155] 在本发明的组合物包含多于一种细菌菌株、菌种或属的一些实施方案中,单独的细菌菌株、菌种或属可分开、同时或顺序施用。例如,组合物可包含所有多于一种的细菌菌株、菌种或属,或者细菌菌株、菌种或属可分开储存,并分开、同时或顺序施用。在一些实施方案中,多于一种细菌菌株、菌种或属分开储存,但在使用之前混合在一起。

[0156] 在一些实施方案中,用于本发明的细菌菌株得自成人粪便。在其中本发明的组合物包含多于一种细菌菌株的一些实施方案中,所有的细菌菌株均得自成人粪便,或者如果存在其它细菌菌株,则它们仅以微量允许的量存在。细菌可在继得自成人粪便之后进行培养,并用于本发明的组合物中。

[0157] 在一些实施方案中,一种或多种嗜氢布劳特氏菌的细菌菌株是本发明的组合物中仅有的治疗活性剂。在一些实施方案中,组合物中的细菌菌株是本发明的组合物中仅有的治疗活性剂。

[0158] 根据本发明使用的组合物可能需要或可能不需要上市许可。

[0159] 在某些实施方案中,本发明提供上述药物组合物,其中所述细菌菌株是冻干的。在某些实施方案中,本发明提供上述药物组合物,其中所述细菌菌株是喷雾干燥的。在某些实施方案中,本发明提供上述药物组合物,其中细菌菌株是冻干或喷雾干燥的,且其中其是活的。在某些实施方案中,本发明提供上述药物组合物,其中细菌菌株是冻干或喷雾干燥的,且其中其是有活力的。在某些实施方案中,本发明提供上述药物组合物,其中细菌菌株是冻干或喷雾干燥的,且其中其能够部分或完全定殖于肠道。在某些实施方案中,本发明提供上述药物组合物,其中细菌菌株是冻干或喷雾干燥的,且其中其是有活力的,并且能够部分或完全定殖于肠道。

[0160] 在一些情况下,冻干或喷雾干燥的细菌菌株在施用之前复原。在一些情况下,通过使用本文所述的稀释剂进行复原。

[0161] 本发明的组合物可包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

[0162] 在某些实施方案中,本发明提供了包含以下的药物组合物:本发明的细菌菌株;和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂;其中当对有需要的受试者施用,所述细菌菌株的

量足以治疗病症；且其中所述病症是肺损伤或肺疾病，特别是哮喘、ARDS或COPD。

[0163] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中细菌菌株的量相对于组合物的重量为约 1×10^3 至约 1×10^{11} 个菌落形成单位。

[0164] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中以500mg与1000mg之间、600mg与900mg之间、700mg与800mg之间、500mg与750mg之间或750mg与1000mg之间的剂量施用组合物。在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中以500mg与1000mg之间、600mg与900mg之间、700mg与800mg之间、500mg与750mg之间或750mg与1000mg之间的剂量施用药物组合物中的冻干细菌。

[0165] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中通过选自口服、经直肠、皮下、经鼻、经颊和舌下的方法施用组合物。

[0166] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其包含选自乳糖、淀粉、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露糖醇和山梨糖醇的载体。

[0167] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其包含选自乙醇、甘油和水的稀释剂。

[0168] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其包含选自淀粉、明胶、葡萄糖、无水乳糖、自由流动乳糖、 β -乳糖、玉米甜味剂、阿拉伯胶、黄蓍胶、海藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇、油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠和氯化钠的赋形剂。

[0169] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其进一步包含防腐剂、抗氧化剂和稳定剂中的至少一者。

[0170] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其包含选自苯甲酸钠、山梨酸和对羟基苯甲酸的酯的防腐剂。

[0171] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中所述细菌菌株是冻干的。

[0172] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中当在约4°C或约25°C的密封容器中储存组合物并将容器置于50%相对湿度的气氛中时，以菌落形成单位测量在至少约：1个月、3个月、6个月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年的时段后剩下至少80%的细菌菌株。

[0173] 在一些实施方案中，在包含如本文所述的组合物的密封容器中提供本发明的组合物。在一些实施方案中，密封容器是小袋或瓶子。在一些实施方案中，在包含如本文所述的组合物的注射器中提供本发明的组合物。

[0174] 在一些实施方案中可将本发明的组合物作为药物制剂提供。例如，可将组合物作为片剂或胶囊提供。在一些实施方案中，胶囊是明胶胶囊（“凝胶帽”）。胶囊可以是硬胶囊或软胶囊。在一些实施方案中，制剂是软胶囊。软胶囊是由于在胶囊壳中添加了软化剂比如甘油、山梨糖醇、麦芽糖醇和聚乙二醇而具有一定弹性和柔软性的胶囊。可例如基于明胶或淀粉来制备软胶囊。基于明胶的软胶囊可商购自不同的供应商。根据施用方法，比如口服或经直肠，软胶囊可具有各种形状，它们可以是例如圆形的、椭圆形的、长方形的或鱼雷形的。可通过常规方法制备软胶囊，比如通过Scherer法、Accogel法或者液滴或吹制法。

[0175] 在一些实施方案中，口服施用本发明的组合物。口服施用可涉及吞咽，使得化合物进入胃肠道，和/或经颊、经舌或舌下施用，化合物由此从口腔直接进入血流。

[0176] 适用于口服施用的药物制剂包括固体塞、固体微颗粒、半固体和液体（包括多相或分散体系），如片剂；含有多种颗粒或纳米颗粒的软胶囊或硬胶囊、液体（例如水溶液）、乳液

或粉末；锭剂(包括充液的)；咀嚼物；凝胶；快速分散剂型；薄膜；胚珠；喷雾剂；和颊/粘膜粘附贴片。

[0177] 在一些实施方案中，药物制剂是肠溶制剂，即适于通过口服施用将本发明的组合物递送至肠道的耐胃制剂(例如，耐胃pH)。当组合物的细菌或别的组分对酸敏感(例如在胃条件下易于降解)时，肠溶制剂可能特别有用。

[0178] 在一些实施方案中，肠溶制剂包含肠溶包衣。在一些实施方案中，制剂是肠溶包衣剂型。例如，制剂可以是肠溶包衣片剂或肠溶包衣胶囊等。肠溶包衣可以是常规的肠溶包衣，例如用于口服递送的片剂、胶囊等的常规包衣。制剂可包含薄膜包衣，例如肠溶聚合物(例如酸不溶性聚合物)的薄膜层。

[0179] 在一些实施方案中，肠溶制剂固有肠溶性，例如不需要肠溶包衣而具有耐胃性。因此，在一些实施方案中，制剂是不包含肠溶包衣的肠溶制剂。在一些实施方案中，制剂是由热胶凝材料制成的胶囊。在一些实施方案中，热胶凝材料是纤维素材料，如甲基纤维素、羟甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素(HPMC)。在一些实施方案中，胶囊包含不含任何成膜聚合物的壳。在一些实施方案中，胶囊包含壳，且壳包含羟丙基甲基纤维素，并且不包含任何成膜聚合物(例如参见[39])。在一些实施方案中，以固有性肠溶胶囊形式提供制剂(例如，来自Capsugel的Vcaps[®])。

[0180] 培养方法

[0181] 可采用例如参考文献[40-42]中详述的标准微生物学技术来培养用于本发明的细菌菌株。

[0182] 用于培养的固体或液体培养基可以是例如YCFA琼脂或YCFA培养基。YCFA培养基可包括(每100ml,近似值):酪朊(1.0g)、酵母提取物(0.25g)、NaHCO₃(0.4g)、半胱氨酸(0.1g)、K₂HPO₄(0.045g)、KH₂PO₄(0.045g)、NaCl(0.09g)、(NH₄)₂SO₄(0.09g)、MgSO₄·7H₂O(0.009g)、CaCl₂(0.009g)、刃天青(0.1mg)、氯高铁血红素(1mg)、生物素(1μg)、钴胺素(1μg)、对氨基苯甲酸(3μg)、叶酸(5μg)和吡哆胺(15μg)。

[0183] 用于疫苗组合物的细菌菌株

[0184] 本发明人已经确认，本发明的细菌菌株可用于治疗肺疾病或肺损伤。本发明的细菌组合物还可用于预防肺疾病或肺损伤。这可能是本发明的细菌菌株对宿主免疫系统作用的结果。因此，当作为疫苗组合物施用时，本发明的组合物也可用于预防这类疾病或病症。在某些这类实施方案中，本发明的细菌菌株是有活力的。在某些这类实施方案中，本发明的细菌菌株能够部分或完全定殖于肠道。在某些这类实施方案中，本发明的细菌菌株是有活力的，并且能够部分或完全定殖于肠道。在其它某些这类实施方案中，本发明的细菌菌株可以被杀灭、灭活或减毒。在某些这类实施方案中，组合物可包含疫苗佐剂。在某些实施方案中，组合物用于经由注射施用，如经由皮下注射。

[0185] 一般说明

[0186] 除另指出外，本发明的实施将采用本领域技术范围内的常规化学、生物化学、分子生物学、免疫学和药理学方法。这类技术在文献中有充分解释。参见例如参考文献[43-50]等。

[0187] 术语“包含”涵盖“包括”以及“由…组成”，例如，“包含”X的组合物可仅仅由X组成，或者可包括另外的一些，例如X+Y。

[0188] 与数值x相关的术语“约”是任选的,并且意指例如 $x \pm 10\%$ 。

[0189] 词语“基本上”不排除“完全”,例如“基本上不含”Y的组合物可完全不含Y。必要的情况下,可以从本发明的定义中忽略词语“基本上”。

[0190] 提到两个核苷酸序列之间的序列同一性百分比意指当进行比对时,在两个序列的比较中,该百分比的核苷酸是相同的。可使用本领域中已知的软件程序(例如参考文献[51]的第7.7.18节中所述的软件程序)来确定这种比对和同源性百分比或序列同一性。通过Smith-Waterman同源性搜索算法,使用仿射空位搜索确定优选的比对,空位开口罚分为12且空位延伸罚分为2,BLOSUM矩阵为62。参考文献[52]中公开了Smith-Waterman同源性搜索算法。

[0191] 其它可能的计算机程序有BLAST或FASTA,其中两个序列针对它们相应残基的最佳匹配进行比对(要么沿一个或两个序列的全长,要么沿一个或两个序列的预定部分)。程序提供了默认的开口罚分和默认的空位罚分,且评分矩阵如PAM 250[53]可与计算机程序结合使用。例如,然后可如下计算同一性百分比:相同匹配总数乘以100,然后除以匹配跨度内较长序列的长度和为了比对两个序列而引入较短序列中的空位数目的总和。

[0192] 除有具体说明外,包括许多步骤的过程或方法可在方法开始或结束时包括另外的步骤,或者可包括另外的中间步骤。另外,适当情况下可以合并、忽略或以交替顺序执行步骤。

[0193] 本文描述了本发明的各种实施方案。将要理解的是,每个实施方案中指定的特征可与其它指定的特征组合,以提供进一步的实施方案。特别地,本文中突出为合适、典型或优选的实施方案可彼此组合(除非它们相互排斥)。

[0194] 本说明书中引用的所有专利和参考文献特此以引用的方式全文并入。

[0195] 任何提到的包括对患者施用剂的治疗方法也涵盖用于所述治疗方法的该剂,以及该剂在所述治疗方法中的用途,和该剂在制备药物中的用途。

[0196] 提供以下实施例仅用于说明的目的,并不旨在以任何方式限制本发明的范围。

[0197] 发明实施方式

[0198] 实施例1-在小鼠模型中对肺损伤或肺疾病的影响

[0199] 给小鼠施用包含根据本发明的细菌菌株的组合物,并随后用作为炎症性反应的公认触发物的LPS进行攻击。在肺中对LPS的炎症性反应是肺损伤或肺疾病的模型。将用本发明的组合物治疗的小鼠表现出的炎症性反应的大小与对照组进行比较。发现本发明的组合物可减轻肺组织的炎症,表明它们可用于治疗肺疾病或肺损伤。

[0200] 治疗方案

[0201] 根据下示方案施以治疗:

[0202] 表1:治疗方案

组	N	剂量	途径	方案	疾病诱导	尸体剖检
[0203] 1	10	n/a	n/a	n/a	第 0 天:	第 1 天
2	10	n/a	PO	SID: 第-14 天-第 0 天	盐水 IN	
3	10	n/a	PO	SID: 第-14 天-第 0 天		
4	10	30 mg/kg	PO IV	SID: 第-14 天-第 0 天(媒介物, WFI) LPS (甲泼尼龙)后 -0.5 小时、6 小时和 12 小时	第 0 天: LPS IN	
5	10	2×10^8	PO	SID: 第-14 天-第 0 天		
[0204] 6	10	n/a	PO	SID: 第-14 天-第 0 天		

[0205] 施用体积为每只小鼠 100 μ l。n/a: 不适用, SID: 每天一次, PO: 口服施用(管饲), LPS: 脂多糖, IN: 鼻内, IV: 静脉内, WFI: 注射用水

[0206] 当处置动物时, 在各处理组之间要更换手套, 并在同一组的各笼之间喷洒 70% 酒精溶液, 以使任何污染风险最小化。所有处理均为每日随机且交替施用, 以便防止同一组在每天的相同时间被处理。

[0207] 成年雌性 C57BL/6 小鼠根据她们的体重随机分成六个实验组(第 1、2、3、4、5 和 6 组; 每组十只小鼠), 并使她们适应一周。第一给药日为第 -14 天(处理前基线)。每日随机且交替地如表 1 中概述每天对第 2-6 组施以处理, 以便防止同一组在每天的相同时间被处理。在第 0 天, 第 3-6 组接受通过鼻内途径施用的盐水(NaCl 0.9%) 中的脂多糖(LPS, Sigma); 第 1 和第 2 组仅接受通过鼻内途径施用的盐水(NaCl 0.9%)。在异氟醚麻醉下进行鼻内施用。然后在 LPS 施用后六、十二和二十四小时对小鼠的急性肺损伤的临床征象进行评分。

[0208] 肺解剖

[0209] 对于第 1-6 组, 在第 1 天将肺切开, 转移到组织固定剂中, 然后包埋在石蜡中并储存, 直到进行组织病理学分析。

[0210] 盲肠解剖

[0211] 对于第 1-6 组, 在第 1 天将整个盲肠(及其内含物)和两厘米的以下切片中的每一者在 4 $^{\circ}$ C 下的 Qiagen 预充管(5ml) 中储存过夜, 然后在 -80 $^{\circ}$ C 下储存: 十二指肠、空肠、盲肠上游的回肠、升结肠、横结肠和降结肠。

[0212] 体重

[0213] 对于第1-6组,从第-14天起,每周将动物称重三次,直到第1天。还在第0天和第1天将所有动物称重。每天随机、交替进行动物操纵和处置,以便防止在相同的时间点处置相同的动物。

[0214] 粪粒

[0215] 对于第1-6组,在第-14天和第-2天收集来自每只动物的粪粒,立即速冻并在-80℃下储存。

[0216] 采血

[0217] 对于第1-6组,在第-14天和第1天,收集来自每只动物尾部(尾)静脉的血样,一半体积加到EDTA中,且一半体积加到肝素锂管中。将管在2000g+4℃下离心10分钟,吸出血浆并分成2个等分试样。在第1天,收集来自眶窦的末梢血样,并收集在EDTA管中,还进行处理以分离血浆。当在每个时间点取样时随机分组。样品在-80℃下储存。

[0218] 菌株

[0219] 嗜氢布劳特氏菌的细菌保藏在登录号DSM 14294下。以冷冻干燥粉末形式提供并进行复原。

[0220] 读出

[0221] 临床观察

[0222] 对于第1-6组,在第0天的T=0小时、6小时、12小时以及第1天的T=24小时对动物的包括异常姿势(弓背)、异常皮毛状况(竖毛)和异常活动水平(活动减少或增加)在内的临床征象进行评分。

[0223] 肺组织病理学

[0224] 对于第1-6组,制备肺切片,用苏木精和曙红染色,然后由有资格的组织病理学家对炎症征象进行评分。从每组肺中取两个标准切片:取自一个颅叶和对侧尾叶。评分系统改编自Su等人[54]。对受影响最严重的肺切片进行评分。按下示的分制对嗜中性粒细胞炎症、出血、水肿、坏死和肺不张各自进行评分:

[0225] (0) 正常;

[0226] (1) 0-25%的区域受影响;

[0227] (2) 25-50%的区域受影响;

[0228] (3) 50-75%的区域受影响;

[0229] (4) 75-100%的区域受影响。

[0230] 结果

[0231] 以克为单位的体重示于图1中。此模型预期了图1中在第1天观察到的体重变化。数据以平均值±SEM给出。

[0232] 总之,如此模型中所预期的那样,在LPS攻击的动物中,在大多数情况下,组织病理学变化对颅叶的影响比对尾叶的影响更严重。这些变化包括细支气管周围、血管周围、间质和肺泡内分布的嗜中性粒细胞炎症;局灶性肺泡内或血管周围出血以及局灶性肺不张和肺气肿。如在未受攻击的动物中所预期的那样,第1组和第2组的肺中没有病理到病理可忽略。如通过单向ANOVA接着是邓尼特事后检验评估,这些组与媒介物组之间的差异是显著的($p < 0.0001$)。其余各组均显示出不同程度的病理学变化;这在第3组中最严重,在甲泼尼龙(第4组)、Blautix FDP(第5组)和Lyobuffer FDP(第6组)组中严重程度较低(图2)。如分别通过

单向ANOVA接着是邓尼特事后检验和不成对双尾学生t检验评估,在甲泼尼龙 ($p<0.01$) 和 Blautix FDP ($p<0.01$) 组中,组织病理学评分显著改善。与媒介物相比,甲泼尼龙和Blautix FDP显著降低了组织病理学评分。关于代表性组织病理学图像参见图3。

[0233] 实施例2-稳定性测试

[0234] 将含有至少一种本文所述的细菌菌株的本文所述的组合物储存在25°C或4°C的密封容器中,并将容器置于相对湿度为30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%或95%的气氛中。通过标准方案确定,在1个月、2个月、3个月、6个月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年后,以菌落形成单位测量将剩下至少50%、60%、70%、80%或90%的细菌菌株。

[0235] 序列

[0236] SEQ ID NO:1 (嗜氢布劳特氏菌菌株S5a36 16S核糖体RNA基因,部分序列-X95624.1)

```

1 gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgatag agaacggaga
61 tttcggttga agttttctat tgactgagtg gcgacgggt gagtaacgcg tgggtaacct
121 gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaata accgcataag cgcacagctt
181 cgcattgaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcggtg gattagctag
241 ttggtgaggt aacggccac caagcgacg atccatagcc ggccctgagag ggtgaacggc
301 cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtgagg gaatattgca
361 caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa
421 acttctatca gcaggaaga aagtacgggt acctgactaa gaagccccgg ctaattacgt
481 gccagcagcc gcggtaatac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg
541 gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat
601 tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcggaa ttccctagtgt agcggtgaaa
661 tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tgctggacgg taactgacgt
[0237] 721 tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaa
781 cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcgggtg cgcagcaaac gcaataagta
841 ttccacactg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaa ggaattgacg gggaccgcga
901 caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aaatcttgac
961 atccctctga ccgggaagta atgttcctt ttcttcggaa cagaggagac aggtggtgca
1021 tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga ggcgaacctt
1081 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg
1141 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gatttgggct acacacgtgc
1201 tacaatggcg taacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaaataacg
1261 tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc
1321 gaatcagaat gtcgcggtga atacgttccc ggtcttcta cacaccgcc gtcacaccat
1381 gggagtcagt aacgccgaa gtcagtgacc caaccnaag gagggagctg ccgaaggtgg
1441 gactgataac tggggtga

```

[0238] 参考文献

[0239] [1]Spor et al. (2011) Nat Res Microbiol.9 (4) :279-90.

[0240] [2]Eckburg et al. (2005) Science.10;308 (5728) :1635-8.

[0241] [3]Tap et al. (2009) Environ Microbiol.11 (10) :2574-84

[0242] [4]Macpherson et al. (2001) Microbes Infect,3 (12) :1021-35

[0243] [5]Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci.59 (12) :2088-96.

- [0244] [6]Mazmanian et al.(2005) Cell 15;122(1):107-18.
- [0245] [7]Frank et al,(2007) PNAS 104(34):13780-5.
- [0246] [8]Scanlan et al(2006) J Clin Microbiol.44(11):3980-8.
- [0247] [9]Kang et al,(2010) Inflamm Bowel Dis.16(12):2034-42.
- [0248] [10]Machiels et al.(2013) Gut.63(8):1275-83.
- [0249] [11]Lopetuso et al.(2013), Gut Pathogens,5:23
- [0250] [12]WO 2013/050792
- [0251] [13]WO 03/046580
- [0252] [14]WO 2013/008039
- [0253] [15]WO 2014/167338
- [0254] [16]Lee and Lee(2014) World J Gastroenterol.20(27):8886-8897.
- [0255] [17]WO 2017/148596
- [0256] [18]WO 2018/011593
- [0257] [19]WO 2018/011594
- [0258] [20]WO 01/85187
- [0259] [21]WO 2016/203218
- [0260] [22]Liu et al.(2008) Int J Syst Evol Microbiol 58,1896-1902.
- [0261] [23]Berralier et al.(1996) Arch.Microbiol.166(3),176-183.
- [0262] [24]MBsco et al.(2003) Systematic and Applied Microbiology,26:557-563.
- [0263] [25]Srůtková et al.(2011) J.Microbiol.Methods,87(1):10-6.
- [0264] [26]Ware and Matthay(2000) N Engl J Med,342:1334-1349.
- [0265] [27]Martin et al,(1989) J Clin Invest,84:1609-1619.
- [0266] [28]Bernard et al(1994) J Crit Care.9:72-81.
- [0267] [29]Pierrakos et al.(2012) J Clin Med Res.4(1):7-16.
- [0268] [30]Rubinfeld et al.(2005) N Engl J Med.353:1685-1693.
- [0269] [31]Hudson and Steinberg(1999) Chest.116:74S-82S.
- [0270] [32]Miyamoto-Shinohara et al.(2008) J.Gen.Appl.Microbiol,54,9-24.
- [0271] [33]Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols,ed.by Day and McLellan,Humana Press.
- [0272] [34]Leslie et al.(1995) Appl,Environ.Microbiol.61,3592-3597.
- [0273] [35]Mitropoulou et al.(2013) J Nutr Metab.(2013) 716861.
- [0274] [36]Kailasapathy et al.(2002) Curr Issues Intest Microbiol.3(2):39-48.
- [0275] [37]Handbook of Pharmaceutical Excipients,2nd Edition,(1994),Edited by A Wade and PJ Weller
- [0276] [38]Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.(A.R.Gennaro edit.1985)
- [0277] [39]US 2016/0067188
- [0278] [40]Handbook of Microbiological Media,Fourth Edition(2010) Ronald Atlas,CRC Press.

- [0279] [41]Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry(1996) Jennie C.Hunter-Cevera,Academic Press
- [0280] [42]Strobel (2009)Methods Mol Biol.581:247-61.
- [0281] [43]Gennaro (2000)Remington:The Science and Practice of Pharmacy.20th edition,ISBN:0683306472.
- [0282] [44]Molecular Biology Techniques:An Intensive Laboratory Course,(Ream et al.,eds.,1998,Academic Press).
- [0283] [45]Methods In Enzymology(S.Colowick and N.Kaplan,eds.,Academic Press, Inc.)
- [0284] [46]Handbook of Experimental Immunology,Vols.I-IV(D.M.Weir and C.C.Blackwell,eds,1986,Blaekwell Scientific Publications)
- [0285] [47]Sambrook et al.(2001)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,3rd edition(Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [0286] [48]Handbook of Surface and Colloidal Chemistry(Birdi,K.S,ed.,CRC Press,1997)
- [0287] [49]Ausubel et al.(eds) (2002)Short protocols in molecular biology,5th edition(Current Protocols).
- [0288] [50]PCR(Introduction to Biotechniques Series),2nd ed.(Newton&(iraham eds.,1997,Springer Verlag)
- [0289] [51]Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel et al.,eds., 1987) Supplement 30
- [0290] [52]Smith&Waterman(1981)Adv.Appl.Math.2:482-489.
- [0291] [53]Dayhoff et al.(1978)Atlas of Protein Sequence and Structure, vol.5,supp,3
- [0292] [54]Su et al.(2004)Intensive Care Medicine 30,133-140.
- [0293] PCT
- [0294] (电子版原件)
- [0295] (本页不属于也算为国际申请的页)

[0296]	0-1-1 表 PCT/RO/134 关于微生物保藏或其它生物材料的说明 (PCT 细则 13 之二) 准备使用	PCT 在线提交 版本 3.51.000.263e MT/FOP 20141031/0.20.5.20
	0-2 国际申请号	
	0-3 申请人或代理人档案号	P076008WO

	1	对下述说明书中所述的已保藏的微生物或其它生物材料的说明:	
	1-1	页数	4
	1-2	行数	20
	1-3	保藏证明	
[0297]	1-3-1	保藏单位名称	DSM 莱布尼兹研究所 DSMZ - 德国微生物和细胞培养物保藏中心
	1-3-2	保藏单位地址	因霍夫恩斯 7B, D-38124 布伦瑞克, 德国
	1-3-3	保藏日期	2001 年 5 月 10 日(10.05.2001)
	1-3-4	保藏号	DSM 14294
	1-5	为哪个指定国而作	所有指定国
[0298]	由受理局填写		
	0-4	本表已经和国际申请一起收到: (是或否)	是
[0299]	0-4-1	授权官员	布雷利, 伊娃
[0300]	由国际局填写		
	0-5	国际局收到本表日期:	
[0301]	0-5-1	授权官员	

序列表

<110> 4D制药研究有限公司(4D PHARMA RESEARCH LIMITED)

<120> 包含细菌菌株的组合物

<130> P076008W0

<141> 2019-07-16

<160> 1

<170> SeqWin2010, version 1.0

<210> 1

<211> 1458

<212> DNA

<213> 嗜氢布劳特氏菌菌株S5a36

<220>

<221> misc_feature

<222> 1416

<223> n是a、t、c或g中的任一者

<400> 1

```

gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgatag agaacggaga 60
tttcggttga agttttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct 120
gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaata accgcataag cgcacagctt 180
cgcatgaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcttg gattagctag 240
ttggtgaggt aacggccac caaggcgacg atccatagcc ggctgagag ggtgaacggc 300
cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca 360
caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa 420
acttctatca gcaggaaga aagtacgggt acctgactaa gaagccccg ctaattacgt 480
gccagcagcc gcggaatac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg 540
gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat 600
tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcgaa ttcctagtgt agcggtgaaa 660
tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcgcc tgctggacgg taactgacgt 720
tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaa 780
cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcggtgc cgcagcaaac gcaataagta 840
ttcccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaa ggaattgacg gggaccgca 900
caagcgttg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcaa gaaccttacc aaatcttgac 960
atccctctga ccgggaagta atgttccctt ttcttcggaa cagaggagac aggtggtgca 1020
tggttgctgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaacct 1080
tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg 1140
gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gatttgggct acacacgtgc 1200
tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaataacg 1260
tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc 1320

```

gaatcagaat gtcgCGgtga atacgttccc ggttcttgta cacaccgccc gtcacacat 1380
gggagtcagt aacgcccga gtcagtgacc caaccnaag gagggagctg ccgaaggtgg 1440
gactgataac tgggtga 1458

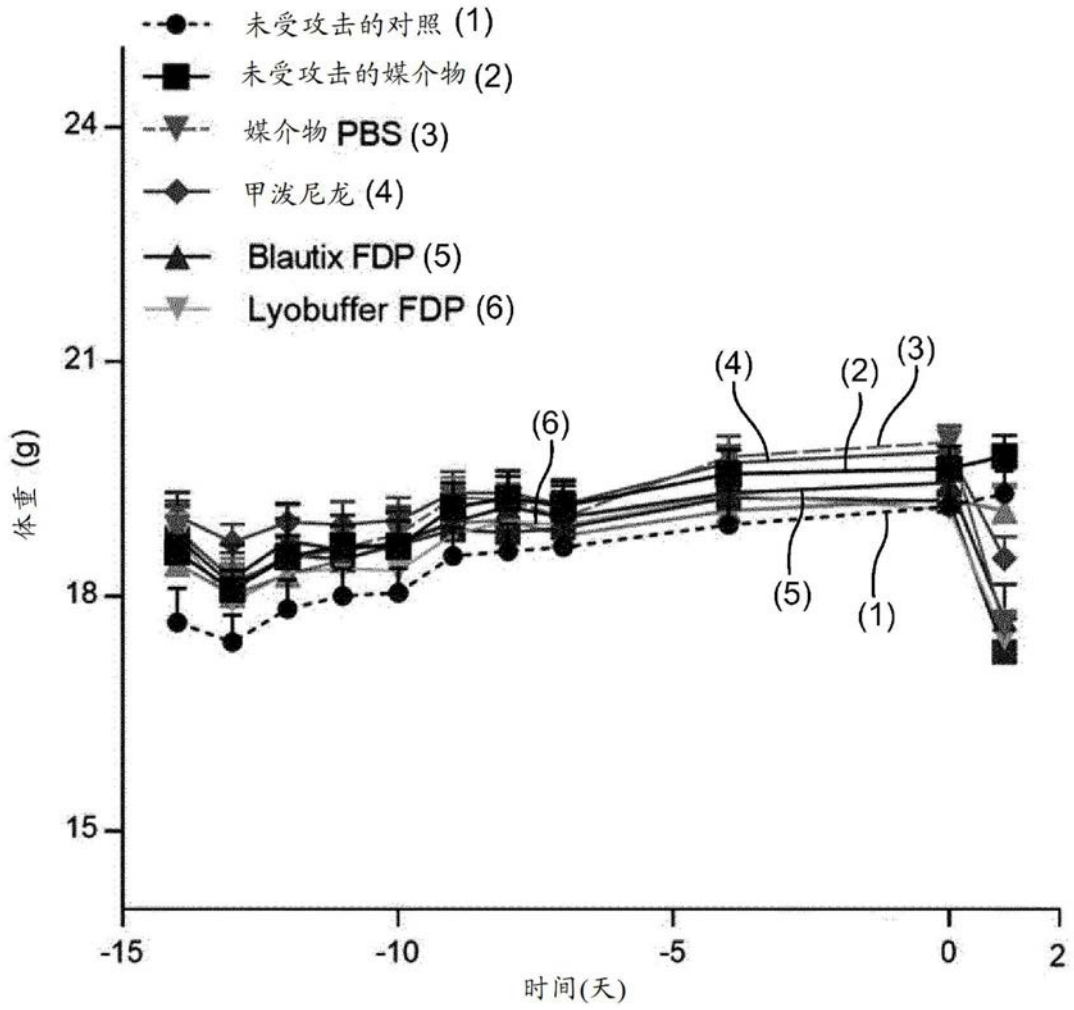


图1

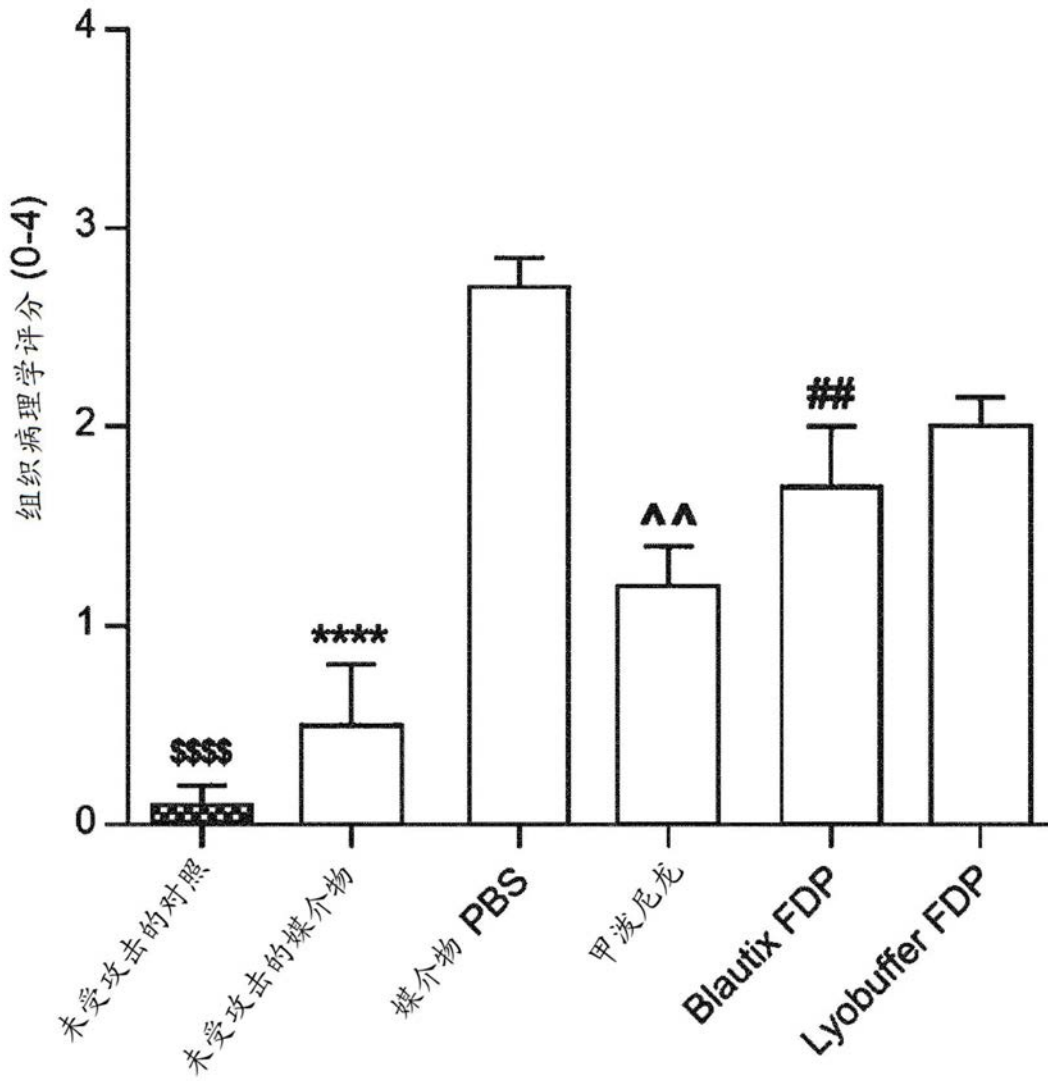


图2

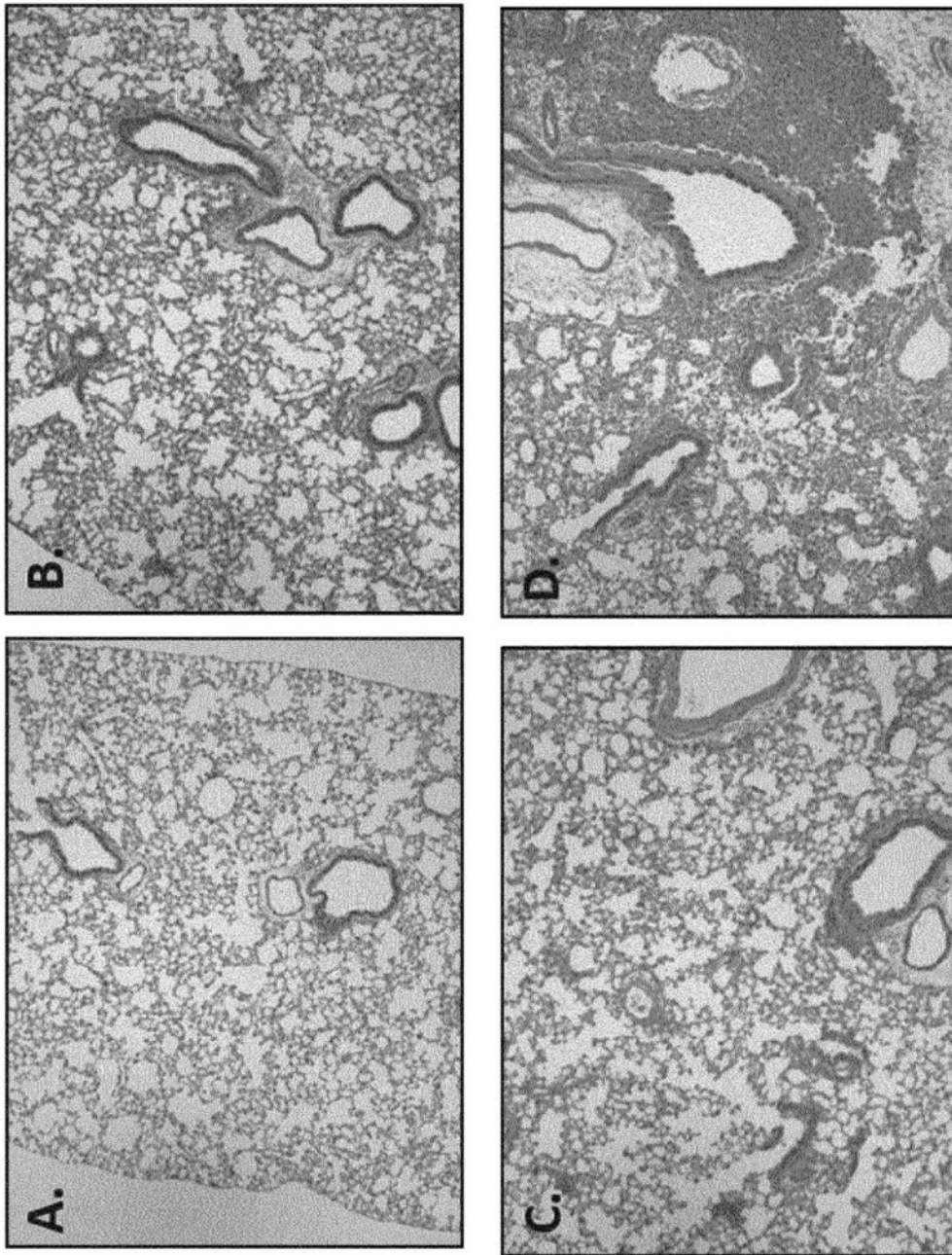


图3

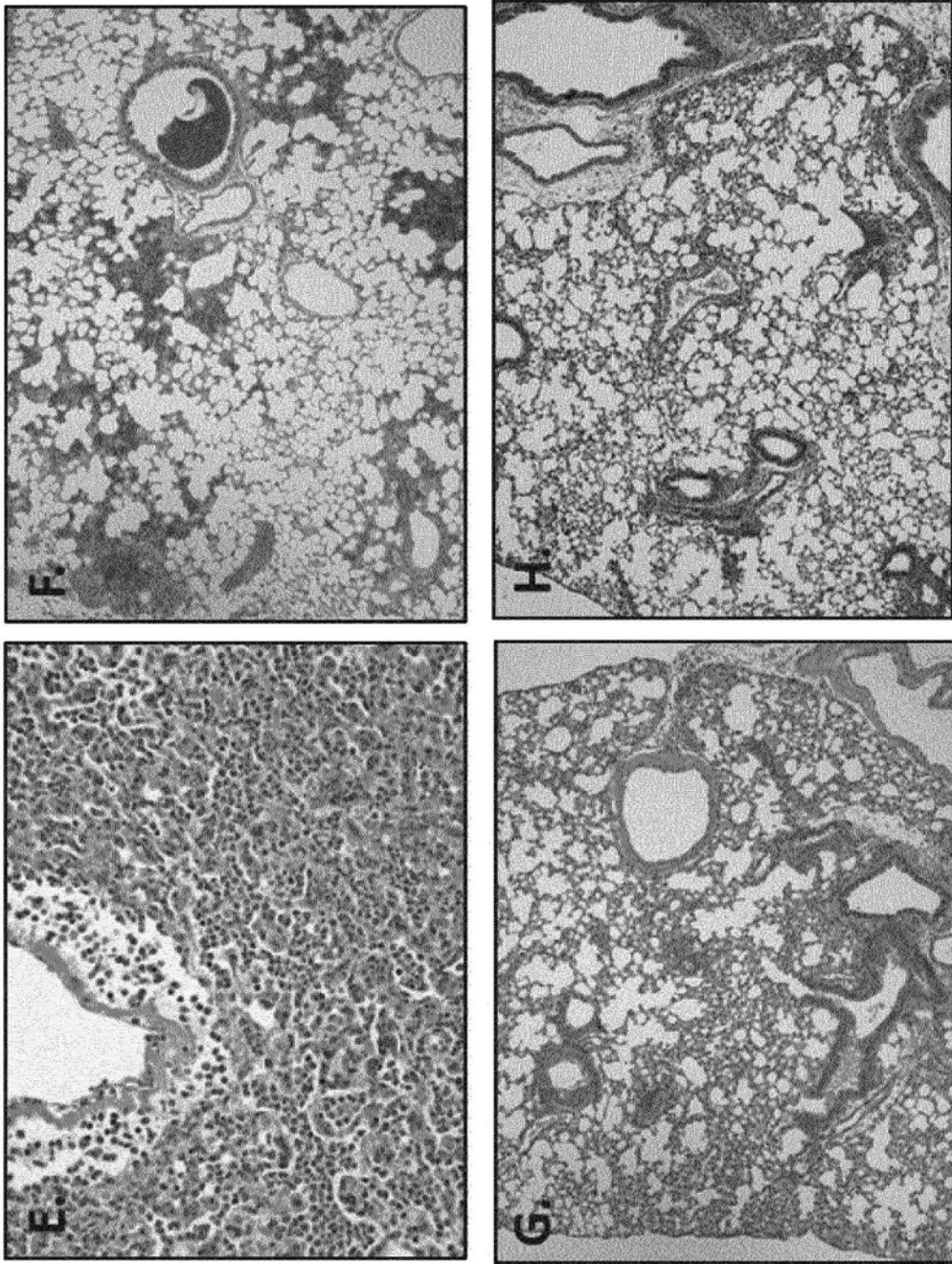


图3(续)