

# 说明书

## 脆弱拟杆菌 839 在制备治疗或辅助治疗免疫相关疾病的药物及食物中的应用

### 技术领域

本发明属于生物工程技术领域，具体涉及脆弱拟杆菌 839 在制备治疗或辅助治疗免疫相关疾病的药物及食物中的应用。

### 背景技术

免疫功能是机体识别和清除外来入侵抗原及体内突变或衰老细胞并维持机体内环境稳定的功能总称。可以概括为：（1）免疫防御：防止外界病原体的入侵及清除已入侵的病原体（如细菌、病毒、真菌等微生物）以及/或其它有害物质，免疫防御功能低下导致无法抵抗外界病原体感染；（2）免疫监视：随时发现和清除体内出现的“非己”物质，如基因突变而产生的肿瘤细胞及衰老、死亡细胞等，免疫监视功能低下，可能导致肿瘤的发生；（3）免疫自稳：通过自身免疫耐受和免疫调节来达到机体内环境的稳定。一旦免疫耐受被打破，免疫调节功能紊乱，会导致过敏/自身免疫病的发生。目前免疫相关疾病已经成为临床上的常见病和多发病，大部分疾病的发病机制都涉及免疫功能异常，免疫反应失调、炎症损伤。尤其是自身免疫性疾病和肿瘤，在各个专科中均可见，病变可以累及局灶，也可累及全身。与免疫密切相关的疾病通常认为包括以下：湿疹、特应性皮炎、银屑病、天疱疮病；过敏性鼻炎；类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征、强直性脊柱炎；克隆氏病、溃疡性结肠炎、肠易激惹综合征、自身免疫性肝炎；肾小球肾炎、肾病综合征、IgA 肾病、间质性炎症肾炎；再生障碍性贫血、过敏性紫癜、血小板减少性紫癜；甲状腺功能亢进、桥本氏甲状腺炎、I 型糖尿病；特发性肺纤维化、慢支炎肺气肿、哮喘；多发性硬化、重症肌无力、视神经脊髓炎、自身免疫性癫痫、孤独症谱系障碍、抽动症、帕金森病、阿尔茨海默病；自身免疫性乳腺炎；免疫性不孕、自身免疫性肝炎、肿瘤及抗肿瘤药物的免疫副反应（包括但不限于免疫检查点抑制剂 PD-1 / PD-L 1 抗体、化疗药、靶向药的自身免疫反应如骨髓抑制、皮疹、肠炎、

肝肾功能损害等)；肝炎及生殖道感染。然而，这些免疫相关疾病的治疗非常困难。目前常用的方法是：(1) 免疫抑制剂、如糖皮质激素、环磷酰胺、环孢素、吗替麦考酚酯等：对各种免疫细胞都有较强的抑制作用，但是长期使用则持续抑制免疫，有较大副作用，增加肿瘤风险。(2) 抗体：免疫球蛋白、单克隆抗体，这些产品有效维持时间短，副作用不明确，且价格昂贵。(3) 各种免疫细胞输注及干细胞移植：尚未进入临床使用。临床迫切需要开发新的免疫调节剂。

微生物制剂也是一种常见的免疫调节剂，如卡介苗等。肠道微生物群的组成和功能的不平衡(生态失调)是多种疾病的根本原因，这些疾病包括：肿瘤、神经精神病、风湿免疫疾病、皮肤疾病、以及与免疫力低下导致的慢性感染不愈等。

有研究发现：脆弱拟杆菌 NCTC9343 可以调节健康和疾病中的宿主免疫系统，对哺乳动物免疫系统的发育以及对产生 IL-10 的 CD4+T 细胞的刺激具有关键影响，能调节 Th1/Th2 平衡，在实验性自身免疫，炎症和传染病方面赋予宿主好处。它的有益效果远远超出胃肠道，并且可以影响几乎所有的身体系统。众所周知，益生菌的功效是菌株特异性的，目前发现的脆弱拟杆菌有几十种菌株，也有产毒的脆弱拟杆菌菌株。脆弱拟杆菌 839 (图腾益生液) 是我国微生物学家张季阶 1983 年 9 月从新生儿粪便中培养出来的中国专利菌株(同族专利号：CN1029857C)，经初步研究发现其具有提高免疫 T 细胞的功能、防治肠道和呼吸道疾病的作用，且是一株无毒无害的脆弱拟杆菌。但是，在其它免疫相关疾病中的研究尚未报道。本单位是唯一能生产和销售脆弱拟杆菌 839 (图腾益生液) 的公司，在长期的使用过程中，发现其对以上申请的免疫相关疾病均有治疗作用。

## 发明内容

针对现有技术的不足，本发明提供了一种脆弱拟杆菌 839 在制备治疗或辅助治疗免疫相关疾病的药物和食物中的应用，并提供用于治疗或辅助治疗免疫相关疾病的药物组合、食品及保健品。

第一方面本发明提供了脆弱拟杆菌 839 (*Bacteroides fragilis*839, BF839) 在制备治疗或辅助治疗免疫相关疾病的药物或食物中的应用。

作为本发明的优选实施方式, 所述脆弱拟杆菌 839 为以下中的任意一种: 脆弱拟杆菌 839 活体菌; 经过基因重组、改造或修饰、减毒、化学处理、物理处理或灭活的脆弱拟杆菌 839; 脆弱拟杆菌 839 裂解物; 和/或脆弱拟杆菌 839 培养上清液。

第二方面本发明提供了一种治疗或辅助治疗免疫相关疾病的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物包括药学有效剂量的脆弱拟杆菌 839 及其在药学上可接受的载体。

作为本发明的优选实施方式, 所述脆弱拟杆菌 839 为以下中的任意一种: 脆弱拟杆菌 839 活体菌; 经过基因重组、改造或修饰、减毒、化学处理、物理处理或灭活的脆弱拟杆菌 839; 脆弱拟杆菌 839 裂解物; 和/或脆弱拟杆菌 839 培养上清液。

作为本发明的优选实施方式, 所述免疫相关疾病为以下疾病中的任意一种: 湿疹、特应性皮炎、银屑病; 过敏性鼻炎、天疱疮病; 类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征、强直性脊柱炎; 克隆氏病、溃疡性结肠炎、肠易激惹综合征、自身免疫性肝炎; 肾小球肾炎、肾病综合征、IgA 肾病、间质性炎症肾炎; 再生障碍性贫血、过敏性紫癜、血小板减少性紫癜; 甲状腺功能亢进、桥本氏甲状腺炎、I 型糖尿病; 特发性肺纤维化、慢支炎肺气肿、哮喘; 多发性硬化、重症肌无力、视神经脊髓炎、自身免疫性癫痫、孤独症谱系障碍、抽动症、帕金森病、阿尔茨海默病; 自身免疫性乳腺炎; 免疫性不孕; 自身免疫性肝炎; 肿瘤及抗肿瘤药物的免疫副反应 (包括但不限于免疫检查点抑制剂 PD-1 / PD-L1 抗体、化疗药、靶向药的自身免疫反应如骨髓抑制、皮疹、肠炎、肝肾功能损害等); 肝炎、生殖道感染、幽门螺旋杆菌感染。

作为本发明的优选实施方式, 所述药物组合物为片剂、胶囊剂、口服液或冻干粉剂。

作为本发明的优选实施方式, 所述药学上可接受的载体为脱脂奶、乳糖、

葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、海藻糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羧基苯甲酸甲酯、羧基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁或矿物油中的一种或多种的混合物。

第三方面本发明提供了一种用于治疗或辅助治疗免疫相关疾病的食品，其特征在于，所述食品包括以下中的任意一种：脆弱拟杆菌 839 活菌体；经过基因重组、改造或修饰、减毒、化学处理、物理处理或灭活的脆弱拟杆菌 839；脆弱拟杆菌 839 裂解物；和/或脆弱拟杆菌 839 培养上清液。

第四方面本发明提供了一种用于治疗或辅助治疗免疫相关疾病的保健品，其特征在于，所述保健品包括以下中的任意一种：脆弱拟杆菌 839 活菌体；经过基因重组、改造或修饰、减毒、化学处理、物理处理或灭活的脆弱拟杆菌 839；脆弱拟杆菌 839 裂解物；和/或脆弱拟杆菌 839 培养上清液。

本发明的有益效果为：本发明中首次发现人肠道中的脆弱拟杆菌 839(图腾益生液) 在免疫相关疾病中的关键作用。脆弱拟杆菌 839(图腾益生液) 可有效治疗免疫相关疾病。在医疗和大健康领域中有巨大的应用前景。脆弱拟杆菌 839(图腾益生液) 本身就是肠道中正常存在的微生物，经研究是一株无毒无害的益生菌，不会对身体有副作用，已经在国内上市 20 年，具有其它新药不可比拟的优势。利用本发明中脆弱拟杆菌 839(图腾益生液) 在免疫相关疾病中的关键作用可以制备成药物组合物、食品、保健品或食品添加剂的形式，所述药物组合物、食品、保健品或食品添加剂含有脆弱拟杆菌 839(图腾益生液)，这些药物组合物、食品、保健品或食品添加剂可用于治疗免疫相关疾病，具有非常重要的应用价值。

## 附图说明

图 1 为小鼠沿边、中央运动距离示意图。

图 2 为两组小鼠沿边、中央停留时间示意图。

图 3 为旷场实验轨迹图。

图 4 为两组小鼠进入开放臂、封闭臂次数示意图。

图 5 为两组小鼠在开放臂、封闭臂的停留时间示意图。

图 6 为两组小鼠在开放臂、封闭臂的运动距离示意图。

图 7 为高架十字迷宫实验轨迹图。

图 8 为两组小鼠在实验第一阶段、第二阶段与各区域接触次数示意图。

图 9 为两组小鼠在实验第一阶段、第二阶段与各区域接触时间示意图。

图 10 为第一阶段 三箱实验轨迹图（左上角金属小球、右下角是熟悉鼠）示意图。

图 11 为第二阶段 三箱实验轨迹图（左上角陌生鼠、右下角是熟悉鼠）示意图。

图 12 为定位航行实验中两组小鼠连续 4 天逃避潜伏期 (s) 示意图。

图 13 为在空间搜索实验中两组小鼠第 5 天穿越平台次数示意图。

图 14 为水迷宫实验轨迹图。

图 15 为患者 1 干预前皮肤示意图。

图 16 为患者 1 干预后皮肤示意图。

图 17 为患者 2 干预前后皮肤对比示意图。

图 18 为患者 3 干预前后皮肤对比示意图。

图 19 为患者 4 干预前后皮肤对比示意图。

图 20 为患者 5 干预前后皮肤对比示意图。

图 21 为患者 6 干预前后皮肤对比示意图。

图 22 为患者 1 治疗前脑电图。

图 23 为患者 1 治疗后脑电图。

图 24 为患者 2 治疗前脑电图。

图 25 为患者 2 治疗后脑电图

## 具体实施方式

为了更加简洁明了的展示本发明的技术方案、目的和优点，下面结合具体实施例和附图详细说明本发明的技术方案。

以下实施例中所用的脆弱拟杆菌 839 为脆弱拟杆菌 839BF839(*bacteroides fragilis* 839)，于 1990 年 5 月 3 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微

生物中心(CGMCC),其保藏编号为 CGMCC No.0157,保藏地址为北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号。脆弱拟杆菌 839 菌液(图腾益生液)产品由大连图腾生物科学发展有限公司提供,每支菌液含量为 20ml,含脆弱拟杆菌 839 活菌量  $60 \times 10^8$  CFU/支。

## 实施例 1 脆弱拟杆菌 839 对脆性 X 综合征相关孤独症行为的影响

### 一、实验设计

选用断乳 3 周龄 Fmr1 KO 小鼠作为实验对象,分成两组,分别为空白对照组(Fmr1 KO 组)和实验组(BF839 组),每组 15 只,5 只为一笼,每组 3 笼。其中实验组(BF839 组)小鼠是 Fmr1 基因敲除型小鼠以自由饮水模式,饮用脆弱拟杆菌 839BF839 菌液 4 周,空白对照组(Fmr1 KO 组)是 Fmr1 基因敲除型小鼠自由饮用高压灭菌自来水 4 周,两组其它喂养模式一致。在小鼠 7-8 周龄开始进行动物行为学实验。

#### 1. 旷场实验

旷场实验分析箱是一个高 30cm,底边长 70cm 的无盖正方形的敞箱。将每只小鼠放置在该箱内中央位置,允许其自由活动 5 分钟,同时使用摄像头跟踪小鼠运动轨迹并用 SMART 软件(Smart v 2.5.21; Panlab,Spain)记录下小鼠在箱子周边区域和中央区域的运动距离和停留时间,记录 5min。

#### 1.2 高架十字迷宫实验

高架十字迷宫成十字型,仪器高 50cm,由四个臂组成,每条臂长 30 厘米,宽 5 厘米,其中一相对边两侧被 15 厘米高的挡板遮盖,为闭合区域,称封闭臂;另外一侧没有挡板遮盖,为敞开区域,称开放臂。手臂通过 5×5 厘米的中心平台连接。在测试开始时将每只小鼠放置于面对开放臂的中央区域,并允许其自由活动 5 分钟。同时使用摄像头跟踪小鼠运动轨迹并用 SMART 软件记录下小鼠在开放臂和封闭臂的运动距离和停留时间,记录 5min。

#### 1.3 三箱社交实验

三箱含有三个透明塑料舱室，用两块隔板分成左中右三个舱室，各舱室大小为  $20 \times 40 \times 23$  cm，在每块隔板底下设置 1 个矩形 ( $6 \times 6$  cm) 开口，可让实验动物自由进入三个舱室。实验开始前，在左右舱室里各放一个空金属笼子，将测试小鼠沿中间舱室侧壁放入三箱内，让其适应 10 min。实验第一阶段，将测试小鼠取出，在左侧舱室里的金属笼子里，放入一个球状物，在右侧舱室里的金属笼子里，放入一只同笼同性别小鼠，最后将测试小鼠再次沿中间舱室侧壁放入三箱内，让测试小鼠在三个舱室中自由活动 10 min。实验第二阶段，将测试小鼠取出，在有球状物的金属笼子中，用一只不同笼同性别小鼠取代球状物，将测试小鼠再次沿中间舱室侧壁放入三箱内，使测试小鼠在三个舱室中自由活动 10 min。在实验第一和第二阶段同时使用摄像头跟踪小鼠运动轨迹并用 SMART 软件记录下测试小鼠与金属笼接触的次数和时间(金属笼周围 4.0 cm 定义为接触范围)，记录 10 min。

#### 1.4 水迷宫实验

水迷宫水池为圆形，直径 120cm，高 50cm，使用平台为圆形，直径为 5cm，高 30cm。水深刚好没过平台 1cm，温度  $21-22^{\circ}\text{C}$ 。实验分两部：①定位航行实验阶段，小鼠连续 4d 训练，每天 4 次，每次间隔 30s，记录小鼠按顺序分别从不同的象限不同点入水找到平台的时间，即小鼠从入水到爬上平台的时间称为逃避潜伏期。使用摄像头跟踪小鼠运动轨迹并用 SMART 软件记录下小鼠逃避潜伏期，4 次逃避潜伏期成绩的平均值作为当天最终成绩，作为统计用。实验过程中如果小鼠在 60s 内未找到平台者，将其引至平台，放置 10s，其逃避潜伏期按 60s 计算。②空间探索实验阶段，第 5 天撤去平台，由原先平台象限的对侧将小鼠放入水中。使用摄像头跟踪小鼠运动轨迹并用 SMART 软件记录 60s 内小鼠的游泳轨迹并分析小鼠在 60s 内穿越隐藏平台的次数。每次实验结束后将动物移开、擦干，放回笼内。

#### 1.5 统计学分析

所有结果均用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，用 SPSS 17.0 统计软件分析；以上实验两组间比较采用独立样本 t 检验，检验  $p < 0.05$  具有统计学意义。

## 二、结果与分析

1. 旷场实验: 两组小鼠在沿边和中央的运动距离和停留时间有差异。与 Fmrl KO 组对比, BF839 组小鼠沿边运动距离较短 ( $t=3.631$ ,  $p=0.001$ ), 在中央运动距离较长 ( $t=4.657$ ,  $p=0.000$ ), 结果有统计学意义 (图 1); 与 Fmrl KO 组对比, BF839 组小鼠沿边停留时间较少 ( $t=5.959$ ,  $p=0.000$ ), 在中央停留的时间较长 ( $t=6.024$ ,  $p=0.000$ ); 结果有统计学意义 (图 2); 以上结果结合旷场实验轨迹图 (图 3) 直观地显示了脆弱拟杆菌 839BF839 能加强 Fmrl KO 小鼠对新环境的自主探索行为, 降低焦虑感。

### 2. 高架十字迷宫实验

在 5 分钟的实验中, 两组小鼠在开放臂和封闭臂的进入次数、停留时间和运动距离有差异。与 Fmrl KO 组对比, BF839 组小鼠进入开放臂次数减少 ( $t=2.506$ ,  $p=0.018$ ), 进入封闭臂次数增多 ( $t=2.499$ ,  $p=0.021$ ), 结果有统计学差异 (图 4); 与 Fmrl KO 组对比, BF839 组小鼠在开放臂停留时间减少 ( $t=2.610$ ,  $p=0.014$ ), 在封闭臂停留时间增多 ( $t=5.845$ ,  $p=0.000$ ), 结果有统计学差异 (图 5)。与 Fmrl KO 组对比, BF839 组小鼠在开放臂运动距离减少 ( $t=2.825$ ,  $p=0.010$ ), 在封闭臂运动距离增多 ( $t=3.553$ ,  $p=0.002$ ), 结果有统计学差异 (图 6)。以上结果结合高架十字迷宫实验轨迹图 (图 7) 直观地显示, BF839 组小鼠更愿意停留在较为安全的封闭臂中, 避开危险的环境, 脆弱拟杆菌 839BF839 能提高 Fmrl KO 小鼠环境认知能力, 危险意识升高。

### 3. 三箱社交实验

在实验第一阶段, 与 Fmrl KO 组对比, BF839 组与熟悉鼠接触的次数和时间有趋势性增多, 但是结果无统计学差异 ( $p < 0.05$ ), 同时与金属球接触的次数也增多 ( $t=2.841$ ,  $p=0.011$ )、时间也增多 ( $t=2.148$ ,  $p=0.046$ ), 结果有显著差异 (图 8、9); 在实验第二阶段, 与 Fmrl KO 组对比, BF839 组与陌生小鼠接触的次数更多 ( $t=4.718$ ,  $p=0.000$ )、时间更长 ( $t=3.419$ ,  $p=0.002$ ), 结果有显著差异 (图 3a、3b)。以上结果结合第一阶段 三箱实验轨迹图 (图 10、11) 直观地显示: 在同时面对熟悉和完全陌生的同类时, 脆弱拟杆菌 839BF839 组小



鼠更愿意与陌生个体接触更长的频率和时间，表现出社交新奇偏好，提示脆弱拟杆菌 839BF839 能增加 Fmr1 基因敲除小鼠的社交行为。

#### 4. 水迷宫实验

在定位航行实验中，前 3 天观察发现，两组小鼠逃避潜伏期无差异，至第 4 天实验中 BF839 组逃避潜伏期显著低于 Fmr1 KO 组 ( $t=4.05$ ,  $p=0.001$ )，结果有统计学差异 ( $p<0.05$ ) (图 12)。在空间搜索实验中，撤掉平台后，1 分钟内观察到 BF839 组穿越平台的次数显著多于 Fmr1 KO 组 ( $t=2.80$ ,  $p=0.012$ )，结果有统计学差异 ( $p<0.05$ ) (图 13)；以上结果结合水迷宫实验轨迹图 (图 14)

直观地显示，BF839 组小鼠找到隐藏平台位置的速度明显比 Fmr1KO 组小鼠快，而且这种差距随着时间的推移表现的更为明显，提示脆弱拟杆菌 839BF839 可提高 Fmr1 基因敲除小鼠的认知功能和学习记忆能力。

由上述结果可知，本发明提供的脆弱拟杆菌 839 可改善 Fmr1 KO 小鼠异常的探索行为、焦虑性、社交行为以及认知功能，为包括但不限于脆性 X 综合征孤独症谱系障碍疾病提供安全、有效的治疗方法。

实施例 2 脆弱拟杆菌 839BF839 对银屑病治疗效果的单臂、开放、自身对照试验

##### 一、入选标准：

- 1、年龄 6-65 周岁（含 6~65 周岁），性别不限；
- 2、临床、病理诊断为寻常型银屑病的患者（诊断标准参考赵辨《中国临床皮肤病学》）：皮疹表现为红斑、鳞屑，有薄膜现象、点状出血以及以身体伸侧为主的对称性分布特点；皮肤镜下可见亮红色背景下的点状、小球状、发夹样、环状血管，弥漫分布的白色鳞屑；
- 3、PASI 评分  $\leq 12$  分，为轻-中度银屑病。

##### 二、排除标准：

- 1、年龄<6 周岁， >65 周岁；
- 2、一个月内服用激素类（不包括外用）或免疫抑制剂类药物及其它益生菌类食物或药物；
- 3、在一月内接受了其它临床试验；
- 4、妊娠或处于哺乳期的女性，或不能在试验期间采用有效避孕措施（避孕套、口服避孕药、宫内节育器等）的育龄妇女。

### 三、退出标准

- 1、患者自愿终止试验
- 2、没有按照方案执行，漏服>20%/月
- 3、明显改变原有的治疗方案，如停用或增加激素类软膏，增加其它益生菌类食物或药物。

四、疗效判定：入组前及治疗后分别进行 PASI 评分，计算 PASI 下降率。

表 1：PASI 评分表（Psoriasis Area and Severity Index，银屑病皮损面积和严重程度）

部位	皮损面积 (A)	红斑 (E)	浸润 (I)	鳞屑 (D)	系数	局部评分	PASI 评分
头					0.1		
上肢					0.2		
躯干					0.3		
下肢					0.4		

$$\text{PASI 评分} = (E_{\text{头}} + I_{\text{头}} + D_{\text{头}}) \times A_{\text{头}} \times 0.1 + (E_{\text{上肢}} + I_{\text{上肢}} + D_{\text{上肢}}) \times A_{\text{上肢}} \times 0.2 + (E_{\text{躯干}} + I_{\text{躯干}} + D_{\text{躯干}}) \times A_{\text{躯干}} \times 0.3 + (E_{\text{下肢}} + I_{\text{下肢}} + D_{\text{下肢}}) \times A_{\text{下肢}} \times 0.4$$

1、按照皮损面积 (A) 大小赋予 0~6 的分值进行评分

0=无皮疹(即 0)

4=50%~69%

1=1%~9%

5=70%~89%

2=10%~29%

6=90%~100%。

3=30%~49%

参考面积：患者手掌面积为 1%。

## 2、皮损严重程度评分

### (1) 红斑 (E) :

1-呈淡红色      2-红色      3-深红色      4-红色极深

### (2) 浸润 (I) :

0-皮损与正常皮肤平齐;

1-皮损轻微高出于正常皮肤表面;

2-中等度隆起, 斑块的边缘为圆或斜坡型;

3-皮损肥厚, 隆起明显;

4-皮损高度增厚, 隆起极为明显。

### (3) 鳞屑 (D) :

0-表面无可见鳞屑;

1-大多是皮损表面上覆有鳞屑, 以细微的鳞屑为主;

2-大多数皮损表面完全或不完全覆有鳞屑, 鳞屑呈片状;

3-几乎全部皮损表面覆有鳞屑, 鳞屑较厚成层;

4-全部皮损表面均覆有鳞屑, 鳞屑很厚成层

## 四、方案实施:

患者口服脆弱拟杆菌 839BF839 (粉剂/支, 饭后 20 分钟内口服, <18 岁, 每天 1 支;  $\geq 18$  岁且 PASI $\leq 6$  分每日一支;  $\geq 18$  岁且 PAS $>6$  分每日二支, 连续服用 3 个月, 每月进行 PASI 评分, 计算 PASI 下降率。

## 五、结果统计:

痊愈, PASI 评分下降率 $>90\%$ ;

显效, PASI 评分下降率为 60%—89%;

有效, PASI 评分下降率为 20%— 59%;

无效, PASI 评分下降率 < 20%。

总有效率(痊愈例数+显效例数+有效例数)/总例数 100%。

应用统计学软件 SPSS (18.0 版) 进行统计学处理, 根据资料的性质采用配对样本 t 检验, 以  $P < 0.05$  为显著性水平。

## 六、结果

表 2: 脆弱拟杆菌 839BF839 对银屑病治疗效果

指标		1 个月(N=24)	2 个月(N=23)	3 个月(N=22)
总分	干预前	218.3	214.7	208.4
	干预后	148.9	129.35	125.5
平均分 ( $\bar{x} \pm s$ )	干预前	9.10 ± 6.14	9.34 ± 6.17	9.47 ± 6.28
	干预后	6.20 ± 4.90	5.62 ± 4.80	5.70 ± 5.11
	T 值	6.028*	6.152*	4.702*
	p 值	0.000	0.000	0.000
疗效	痊愈例数	0	0	0
	显效例数	3	6	7
	有效例数	14	12	10
	无效例数	7	5	5
总有效率		70.8%	78.3%	77.3%

一共入组 27 例, 有 1 例因自身原因主动退出, 4 例因自行停用激素软膏陆续退出, 结果如表 2。由上述结果可知, 本发明提供的脆弱拟杆菌 839 可有效治

疗银屑病，为银屑病提供安全、有效的治疗方法。

实施例 3 益生菌脆弱拟杆菌 839BF839 治疗难治性自身免疫性癫痫的效果

#### 一、入组标准：

1、确诊慢性癫痫：至少 2 次相隔时间>24 h 的非诱发或非反射的癫痫发作，脑电图提示癫痫样异常，符合 2014 年癫痫的定义。

2、患者诊断为癫痫伴部分性癫痫发作，历史上用至少 2 种的 AED 不能充分控制。在入组时，患者接受稳定剂量的 1-5 种标准 AED，并且在 4 周的基线阶段中至少有 4 次局部发作，病程至少>4 月

#### 3、符合以下条件任一：

(1) 既往曾诊断“自身免疫性脑炎”，包括各种神经抗体阳性的边缘叶脑炎后癫痫，自身免疫性疾病合并癫痫，原发性自身免疫性 Resamussen 脑炎

(2) 曾经诊断为“病毒性脑炎但未检出特定病毒”

(3) 不明原因的癫痫，起病前伴如下症状之一：

(3.1) 发热或咽痛等感染的前驱症状；

(3.2) 2 个月内注射过疫苗；

(3.3) 起病前进食较多冷饮或有便秘、腹泻、腹痛、消化不良等胃肠道症状

(3.4) 病前有生活应激，如睡眠不足，压力和其它疾病等

(3.5) 检查发现颈部或腹腔淋巴结肿大

(3.6) 癫痫伴精神症状，性格改变，认知下降，记忆下降

(3.7) 血常规发现中性粒细胞或淋巴细胞或单核细胞异常

(3.8) 淋巴细胞亚群检查任一项异常

(3.9 ) 脑电图背景慢, 或慢波增多

(3.10) 血或脑脊液自身免疫性抗体阳性

(3.11) 伴有自身免疫性疾病、如过敏性鼻炎、湿疹、荨麻疹、甲亢或甲减、系统性红斑狼疮等。

## 二、排除标准:

1、结构性病因, 如外伤、肿瘤(副肿瘤综合征或结节性硬化)、皮质发育畸形(FCD)、中风、缺氧缺血性脑病导致的癫痫。

2、遗传性病因, 主要指患者存在引起个体癫痫方面具有显著作用的突变, 包括 Dravet 综合征, 儿童失神癫痫、青少年失神癫痫、青少年肌阵挛性癫痫、单独的全面性强直阵挛性癫痫; 自限性局灶性癫痫, 如伴有中央颞区棘波的儿童良性癫痫

3、传染病因, 直接由已知的感染引起的, 其中癫痫发作是该疾病的核心症状 1, 如脑囊虫病、结核病、艾滋病, 脑疟疾, 脑弓形体病、化脓性脑膜脑炎, 找到病原体的病毒性脑炎, 如单纯疱疹病毒性脑炎等

4、代谢病因: 直接由已知或推测的代谢性疾病引起的癫痫, 包括卟啉症, 尿毒症, 氨基酸病或依赖吡多醇的癫痫发作。

## 三、方法

1、在不改变原有药物基础上, 每日脆弱拟杆菌 839BF839(图腾益生液) 2 只, 饭后冲服, 持续 3 个月。

2、给患者发放记录发作表, 入组后每月复诊一次, 每月发放菌液及登记发作次数

3、入组前、后 3 个月内 16 导脑电图检查。

4、疗效指标

主要疗效终点是缓解率，定义为在整个 12 周维持阶段中与基线相比，30 天癫痫发作率（所有部分性癫痫发作）中减少  $\geq 50\%$  的患者比例。次要疗效评估 1、与基线相比，继发性强直性阵挛（SGTC）癫痫发作减少  $\geq 50\%$  的比例；2、脑电图报告好转的比例（包括放电及慢波的减少或消失）

#### 四、结果

入组患者 25 例，其中未完成 3 个月的 6 例，6 例中 1 例失访，5 例退出，原因：2 例为患者选择，1 例为改变治疗方案，1 例为发作增多，1 例为副作用。

19 例患者，在入组后的 3 个月维持期间，发作减少  $>50\%$  的有 8 例（42%），总发作次数减少平均为 42%，在有强直阵挛发作及强直发作的 12 例患者中，强直阵挛发作及强直发作减少  $>50\%$  的有 9 例（75%），有 5 例患者在入组后的第 3 个月达到无发作 30 天（26%），在获得前后脑电图结果的 15 例患者中，好转的有 12 例（80%）。有 3 例报告副作用，2 例为呕吐，呕吐导致 2 例退出，1 例为腹泻，腹泻在减量后好转。2 例患者治疗前后脑电图如图 23~25。

#### 实施例 4 脆弱拟杆菌 839BF839 治疗妊娠合并阴道炎的效果

##### 1. 临床资料

1.1 一般资料 收集医院建档产检的孕妇，患者诉有外阴瘙痒，取阴道分泌物检验。患者自愿接受使用含脆弱拟杆菌 839BF839 的卫生护垫，使用一个月（每日两片）为一周期，复查阴道分泌物，视情况是否继续用含有益生菌的卫生护垫 BF839，随访孕妇的症状。排除有妊娠合并症（妊娠期糖尿病、妊娠期高血压、妊娠合并血液系统疾病等）、就诊时或前 1 周曾使用抗生素治疗和其它阴道清洁洗剂。失访、未能按规定使用卫生护垫的孕妇，共有 4 例纳入本研究。4 例妊娠合并阴道炎病例年龄 18-45 岁，均否认有心、脑、肝、肾和造血系统疾病及精神病受试者。一般情况见表 3。

表 3：临床资料

病例	年龄（岁）	孕产次	入组孕周	受孕方式
1	36	G2P0	18+	体外受精-胚

				胎移植
2	31	G1P0	18+	自然受孕
3	30	G1P0	20+	自然受孕
4	31	G2P0	16+	自然受孕

1.2 实验室检查：宫颈分泌物检查中的指标：清洁度、脓细胞、线索细胞、孢子、菌丝、加德纳菌、白细胞酯酶。产检时完善阴道分泌物检查，结果见表 4。

表 4：4 例妊娠合并阴道炎的病例实验室相关指标

病例	清洁度		脓细胞		加德纳菌		白细胞酯酶	
	第 1 次	第 2 次	第 1 次	第 2 次	第 1 次	第 2 次	第 1 次	第 2 次
1	III	II	++	少许	—	—	阳性	—
2	III	II	少许	—	—	—	弱阳性	—
3	IV	IV	++	+	++	—	阳性	—
4	III	III	少许	少许	—	—	弱阳性	弱阳性

结果如表 4 所示，4 例孕妇在常规产检诉有外阴瘙痒不适，予查阴道分泌物检查，结果如表 2 所示，4 例中孢子、菌丝、滴虫均阴性，免费发含有益生菌的卫生护垫，嘱孕妇使用过程中出现不适随诊以及下次复诊时间。4 例孕妇使用含有益生菌的卫生护垫后，外阴瘙痒症状明显好转。病例 1 和病例 2 中分泌物检查中清洁度及脓细胞较第一次明显好转，白细胞酯酶转阴；病例 3 中虽然清洁度无变化，但加德纳菌转阴，病例 4 阴道分泌物结果无明显变化，但患者外阴瘙痒的症状明显好转。

以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。