

微生命的交響樂

追尋人體 微生物相 的①和諧之旅



微生命的交響樂

追尋人體
微生物相
的和諧之旅



推薦序 - 探索人體微生物的奧秘

大家都聽過 " 益生菌 " ，這是一種對人類健康有益的微生物，通常是某些特定種類的細菌或酵母，可以通過食物或補充劑攝入。但並非所有的益生菌都適合每個人，如何針對特定疾病來使用特定的益生菌，是非常重要的研究課題。

人體，就如同一個神秘的宇宙，生命在其中交織共生。在這看似我們熟悉的生態系統中，卻隱藏著一個令人著迷的微觀世界——人體微生物。目前已知數量超過百億的微生物棲息在我們的身體，這些種類繁多的微生物生態群落總稱為微生物相，它組成我們生命中至關重要的一部分。微生物維持著我們的健康、調節免疫系統以及參與多種生理過程並發揮重要作用。這些微小的生命體以其微妙的互動和錯綜複雜的網絡，共同構成人體生態系統的一部分。

即使微生物看似微小的存在，肉眼無法輕易看見，對人類健康來說卻是不可或缺，目前有越來越多的研究顯示微生物與人類密不可分，參與了共同的演化，從共生到疾病，對於人體的免疫系統、內分泌系統、情緒、認知功能、調控神經傳導及其他關鍵生物過程產生巨大的影響。穩定的微生物相平衡可以保持健康，菌群的失衡則導致疾病發生，微生物群落與人體的關係是如此的微妙。

人類的起源遠遠不及微生物來的久遠，活在如此浩瀚的微生物世界中，我們是如此的渺小。微生物關係著疾病，同時它也守護著健康，在崗位上努力耕耘為我們的身體提供養分和保護力，但在過去它的重要性卻是常常被嚴重低估的。近年來各國紛紛發起了多項大型微生物體研究計畫，也讓大眾了解人體微生物相與健康密不可分，因此國科會為了促進國人健康福祉，鼓勵跨領域合作，人體微生物相專案研究計畫因而誕生。科技部（國科會）所支持的人體微生物相專案在民國 107 年先以先導型計畫執行兩年，為國內微生物相研究奠定良好的基礎，爾後於民國 109 年正式徵求「人體微生物相專案研究計畫」，目的是希望藉由探討微生物相與重大疾病的預防、診斷及治療，促進產學合作、結合國際最新資訊，更進一步的執行臨床研究。經由頂尖研究團隊引領，期望

可以在微生物相研究領域找出對抗疾病的嶄新策略，帶動臺灣生醫產業的發展。

隨著科技發展的推陳出新，我們對微觀世界已不像以前一樣一知半解，網路上充斥各種資訊，取得容易，卻也需要公眾具有獨立思辨的能力，判別真假訊息。為了提升公眾的科學知識普及，取得正確的資訊，在國科會的支持下，人體微生物相專案推動辦公室召集了多位在人體微生物相研究領域已累積豐厚經歷的學者們合力編寫，一同完成這本專書，內容匯集學研界、產業界的心血。書本第一部分由具有豐富學經歷且教學績優之微生物相專案計畫召集人吳俊忠教授及其團隊成員撰寫人體微生物相目前的發展，第二部分為微生物相與健康，內容講述腸道菌相與宿主之間的健康、對生命周期的影響，以及遺傳、環境因素、腸道菌相生理學又是如何影響腸道菌；第三部分為微生物相與疾病，內容講述微生物菌相與多種疾病之間的關聯，除了最常與微生物共同探討的消化道疾病，更包括了皮膚疾病、心血管疾病、神經發展障礙之疾病、肺部疾病、代謝疾病、癌症以及腎臟疾病；第四部份為微生物相、益生元、後生元，內容講述食物、中醫藥、益生元、後生元對腸道菌相之影響以外，也包含了次世代益生菌；書末的第五部分為未來展望，分別由臺大醫院吳明賢院長解析全球微生物相研究的概況、未來產業發展應用，以及生技產業代表介紹臺灣人體微生物相之生技研究。書中將帶領大眾深入瞭解人體微生物的多樣面貌，微生物不僅僅是病原體的代表，更是人體生態系統中的重要居民。

本書包含學者們積攢多年的研究心血，字裡行間勾勒出微生物相的面貌，利用樸實、簡明易懂的文體，深入淺出，盼能引發大眾共鳴及興趣，共同迎向科技日益更新的新時代。

國家科學及技術委員會 政務副主任委員

陳儀莊

目錄

推薦序 - 探索人體微生物的奧秘	002
PART 1 : 前言 Introduction	006
第一章：人體微生物相發展概況	007
Chapter 1 : Human microbiota and microbiome - an overview	
吳俊忠 (亞洲大學醫學暨健康學院院長 / 亞洲大學醫學檢驗暨生物技術學系講座教授)	
廖振捷 (陽明交通大學醫學生物技術暨檢驗學系博士後研究員)	
PART 2 : 微生物相與健康 Microbiota in Health	015
第二章：腸道菌群與個體健康	016
Chapter 2 : Role and function of gut microbiota in host health	
張皓文 (美國聖路易華盛頓大學博士後研究員)	
第三章：微生物菌叢的一生變化：從胎兒開始	023
Chapter 3 : Gut microbiota in lifespan-- starting from womb	
倪衍玄 (臺灣大學醫學院院長 / 臺灣大學醫學院醫學系小兒科特聘教授)	
第四章：腸道微生物群生理學關於宿主健康的腸漏理論	031
Chapter 4 : Intestinal microbiota physiology on host health-leaky gut theory	
吳莉玲 (陽明交通大學醫學院生理學研究所助理教授)	
第五章：基因和環境因素對腸道菌叢發展的角色	044
Chapter 5 : Role of genetic and environmental factors on gut microbiota development	
楊耀榮 (成功大學醫學院教授 / 成功大學醫學院附設醫院小兒腸胃科主任)	
賴馥蘋 (臺南新樓醫院小兒科主治醫師)	
PART 3 : 微生物相與疾病 Microbiota in Disease	053
第六章：腸道菌群軸和疾病	054
Chapter 6 : Axes of gut microbiota and diseases	
吳登強 (高雄醫學大學副校長 / 高雄醫學大學醫學系內科教授)	
第七章：胃微生物相在胃癌發生的組成與可能角色	068
Chapter 7 : Gastric microbiota composition and the potential role in gastric carcinogenesis	
鄭修琦 (成功大學醫學院附設醫院副院長 / 成功大學醫學院醫學系內科學科教授)	
第八章：微菌叢與皮膚疾病的關係	077
Chapter 8 : Microbiota and skin diseases	
陳怡如 (臺中榮民總醫院皮膚科主任 / 中興大學學士後醫學系教授)	
第九章：腸道菌在心血管疾病所扮演的角色	084
Chapter 9 : The role of gut microbiota in cardiovascular diseases	
吳偉愷 (臺灣大學醫學院附設醫院醫學研究部主治醫師)	
第十章：腸菌叢與神經發展疾患	093
Chapter 10 : Gut microbiota and neurodevelopmental disorders	
高淑芬 (臺灣大學醫學院附設醫院副院長 / 臺灣大學醫學院精神科特聘教授)	
第十一章：微生物相與肺部疾病	116
Chapter 11 : Microbiota and lung diseases	
賴信志 (微大生物科技股份有限公司總經理)	

第十二章：微菌叢與代謝性疾病	123
Chapter 12 : Microbiota and metabolic diseases	
高承源 (美國 Amgen 生物科技公司首席科學家)	
第十三章：腸道菌與癌症	131
Chapter 13 : Microbiota and cancers	
吳俊穎 (陽明交通大學醫學院講座教授兼副院長 / 陽明交通大學生物醫學資訊研究所所長 / 臺北榮民總醫院醫學研究部轉譯研究科主任 / 台灣微菌聯盟理事長)	
曾景鴻 (微菌方舟生物科技股份有限公司總經理)	
第十四章：微生物相與腎臟疾病	145
Chapter 14 : Microbiota and renal diseases	
洪思群 (台北慈濟醫院腎臟內科主任)	
林定筠 (台北慈濟醫院腎臟內科主治醫師)	
PART 4 : 微生物相、益生元、後生元	154
Microbiota, Prebiotics, Postbiotics	
第十五章：飲食組成與腸道微生物：影響與展望	155
Chapter 15 : Dietary composition and gut microbiota: impacts and prospects	
呂廷璋 (臺灣大學食品科技研究所教授兼所長)	
羅翊禎 (臺灣大學食品科技研究所教授)	
陳明煦 (臺灣大學食品科技研究所助理教授)	
第十六章：微生物體與次世代益生菌	164
Chapter 16 : Microbiota and next generation probiotics	
蔡英傑 (台灣生物化學學者 / 益生菌專家 / 著作《腸命百歲》作家)	
第十七章：微生物衍生的後生素在防治疾病的應用	172
Chapter 17 : Microbiota derived postbiotics in disease amelioration	
賴信志 (微大生物科技股份有限公司總經理)	
陸嘉真 (輔仁大學呼吸治療系教授)	
林稚容 (長庚大學醫學生物技術暨檢驗學系博士後研究員)	
第十八章：腸道菌治療	182
Chapter 18 : Therapeutic management of gut microbiota-from dysbiosis to normobiosis	
吳俊穎 (陽明交通大學醫學院講座教授兼副院長 / 陽明交通大學生物醫學資訊研究所所長 / 臺北榮民總醫院醫學研究部轉譯研究科主任 / 台灣微菌聯盟理事長)	
李維祥 (陽明交通大學健康創新中心博士後研究員)	
PART 5 : 未來展望與探索 Perspective & Exploration	190
第十九章：開拓腸道菌研究的邊界	191
Chapter 19 : Frontiers in microbiota research & beyond	
吳明賢 (臺灣大學醫學院附設醫院院長 / 臺灣大學醫學院內科特聘教授)	
第二十章：人體微生物相研究之生物技術	200
Chapter 20 : The biotechnology of human microbiota research	
劉君豪 (圖爾思生物科技總經理)	

PART 1

前言

Introduction

第一章：人體微生物相發展概況

Chapter 1 : Human microbiota and microbiome - an overview

吳俊忠、廖振捷

近年來健康科技及國民健康水準普遍提升，各國民眾對健康照護品質的要求與日俱增，隨著科學研究的進展，人體內微生物對於人體健康及疾病扮演的角色越來越重要。微生物相研究早已受到國際間之重視，近年來研究焦點更轉向微生物多樣性之定性定量及微生物組巨量資料處理等生醫研究方法，而導入大數據與人工智慧分析微生物相之巨量數據，以進一步提供診斷或預測疾病發生的可能模式。此章節簡介歐美、中國及台灣大型人體微生物相研究計畫推動發展的概況。

人體微生物相與健康

近年來益生菌相關商品（包含益生元及後生元）在保健商品市場相當熱門，不論在腸胃道健康、免疫調節、肥胖或精神方面都有相關產品問世，這與人體微生物相研究的發展有密切的關係。根據近年來的研究指出，人體的微生物組成會受到飲食及生活環境等因素影響，進而造成差異，人體內的微生物相可藉由下列幾項機制影響人體健康，如體內菌群平衡、代謝、免疫系統、神經及心血管調節，因此微生物相除了與腸胃道的疾病有關外，也包含新陳代謝、腫瘤、母嬰健康和中樞神經系統疾病 [1-4]。

微生物相 - 美國及歐盟推動概況

依據 PubMed 與 Web of Science 至 2022 年全球微生物相相關研究約數十萬篇（主要發表分布集中在近十年）。在 1990 年至 2004 年有八百多篇文章發表（早期主題主要聚焦在口腔與腸胃道上，研究也擴增至呼吸道、生殖泌尿道、肝、皮膚、腫瘤方面），2005 年後，隨著次世代定序的發展及宏觀基因體的研究，促進微生物組成及功能性的研究，各國大型人類微生物相研究的推動，由美國及歐盟開始進行大規模的微生物相資料庫建立，科研成果大幅成長，以下為幾項微生物相大型研究計畫簡介及推動時序（圖一）。

首先在 2008 年，由美國國衛院執行為期五年的「人類微生物組計畫」

(Human Microbiome Project, HMP; <https://www.hmpdacc.org/hmp/>)，共花費 1.15 億美元，以人體腸道、口腔、皮膚、鼻腔、生殖道中共生的微生物進行研究，藉以分析 300 位健康人與患病人之間的微生物相 (microbiota) 類群，並建立人類微生物 DNA 序列資料庫，提供大數據分析 [5]。第二階段 2013 至 2016 年以「綜合人類微生物組計劃」(Integrative Human Microbiome Project, iHMP; <https://www.hmpdacc.org/ihmp/>) 三個面向進行微生物組與人體間相關研究。1. 健康及有早產傾向的孕婦 [6]；2. 炎症性腸病 (inflammatory bowel disease, IBD) 為主的腸道疾病患者 [7]；3. 第二型糖尿病患者 [8]，藉由 HMP 及 iHMP 計畫的發現將有助於理解疾病的特徵，並幫助疾病治療的應用。

歐盟在同一時期 2008 年也發起人體腸道總體基因體學研究計畫 (Metagenomics of the Human Intestinal Tract Project, MetaHIT) [9]，由歐盟委員會資助 5 年匯集了來自 8 個國家共計 124 位受試者的研究成果，MetaHIT 主要著重於在歐洲日益重要的兩種疾病，發炎性腸道疾病 (IBD) 和肥胖症，透過建立表徵個體腸道宏觀基因組 (metagenomics) 的方法以及研究細菌基因與人類疾病之間的關聯。

2012 年美國人腸道菌計畫 (American Gut Project; <http://americangut.org/>) 藉由公民科學的方式，鼓勵民眾提供糞便檢體加以分析菌相組成，該計畫總共分析了 15,000 多個微生物組樣本，主要來自於美國、英國和澳大利亞以及其他 42 個國家和地區的 11,000 多名參與者，藉由此計畫可望能建立一個人類腸道微生物體學的全面性資料庫 [10]。

MyNewGut 是 2013 到 2018 年為期 5 年的計畫，透過免疫、神經和內分泌途徑，提供了有關腸道微生物群與生活方式在能量平衡及大腦發育和功能中的相互作用。這一舉措有助於加速這些知識轉化為實際解決方案，也有效地解

決飲食與壓力相關的代謝和精神障礙 [11]。

2016 年美國歐巴馬總統推動國家微生物體計畫（National Microbiome Initiative, NMI），由學界及產業界共同參與，並投入大量資金，進行最前瞻的科技研發，創造龐大的市場商機，NMI 核心的三個目標包含支持跨領域研究；開發檢測和分析微生物組平台技術；以及通過公民科學和教育機會，擴大微生物組研究的相關人員 [12]。

微生物相 - 中國推動概況

除了歐盟及美國，中國最近幾年也陸續投入微生物相的大規模研究，中國科學院在 2017 年提出微生物組計畫，在 2019 年 10 月公布了「百萬微生物態」的國際合作計畫（Million Microbiomes from Human Project, MMHP; <https://db.cngb.org/mmhp/>），由中國、瑞典、法國、丹麥、拉托維亞等多國科學家合作進行微生物宏觀基因組研究，專注於胃腸道、口腔、皮膚、生殖道等器官的微生物相進行分析。致力在三到五年內對 100 萬微生物樣本進行定序和分析，繪製人體微生物組圖譜，期望建立全球最大的人體微生物組開放存取資料庫 [13]。

微生物相 - 台灣推動概況

台灣在微生物相的研究這幾年也積極推展，腸胃道微生態結構易受飲食、生活習慣、壓力、環境等影響，台灣人的腸道菌相勢必與國外的有所差異，因此在 2017 年透過產學合作由長庚大學微生物相研究中心與生物科技公司，共同發起「台灣腸道公民科學計畫」（Taiwan Gut; <https://taiwangut.com/>），提供受試者個人化腸道分析服務，同時透過群眾力量建立台灣地區人群專屬的腸道菌資料庫，未來在疾病與腸道菌相間關係的分析能夠更精準，也可做為參考的指標。台灣微菌聯盟也於 2017 年成立，並推動台灣第一個微菌叢植入（FMT）專家共識，並且與衛生福利部達成共識，於 2018 年 3 月通過「臺灣

微菌叢植入治療」列入特定醫療技術檢查檢驗醫療儀器施行或使用管理辦法（簡稱特管辦法；<https://www.microbiota.org.tw/Knowledge/detail/3>）[14,15]，藉由執行台灣腸道公民科學計劃及台灣微菌聯盟的推動，有助於提升台灣微生物相研究與國際接軌。

政府單位也大力推展微生物相的相關研究，科技部（現為國科會）配合行政院「五加二」產業創新計畫之「生醫產業創新推動方案」，從 2017 年開始籌備專案，生科司於 2018 年推動人體微生物相專案研究計畫之先導計畫，第一期總共 9 個團隊，2019 年第二期則有 10 個團隊包含台大、成大、北榮、長庚、高醫、國衛院等，國網中心參與建置人體微生物相資料庫（Taiwan Human Microbiome Data Porta, HMP@tw）。

2020 年正式推動人體微生物相專案研究計畫，總共有 9 個團隊入選，包含五大面向代謝、免疫、癌症、神經醫學及婦幼醫學。目前團隊研究成果，除在國際高 impact factor 期刊如 GUT 等發表論文，也逐步將研究成果應用於臨床的診斷。如：肝癌是全球死亡率第四的癌症，高達 85% 的肝癌源自慢性肝炎或肝硬化，因此陽明交通大學與北榮的團隊透過結合微菌生物標誌物進行肝癌早期診斷，其準確性遠高於目前臨床使用的胎兒蛋白（alpha fetoprotein，簡稱 AFP），已提出國內外專利申請，能有助於肝癌患者早期之診斷與治療。此外，非酒精性脂肪肝病（NASH）主要指非因酒精或其他藥物造成的肝臟脂肪過度累積，進而引發廣泛性肝臟細胞破壞的疾病統稱，也可能導致肝纖維化和癌症。目前全球每四人即有一人是 NASH 病患，在台灣的盛行率約為 11.4 - 41%，代謝手術、運動及飲食控制是目前有效治療 NASH 的方法，而腸道微生物群可能參與其中。臺灣大學團隊藉由腸道菌群在代謝手術治療非酒精性脂肪性肝炎和不同運動處方及飲食干預的作用，發展出新的治療策略，進而減少病患罹癌之風險 [16]。慢性肺阻塞病（Chronic Obstructive Pulmonary Disease，

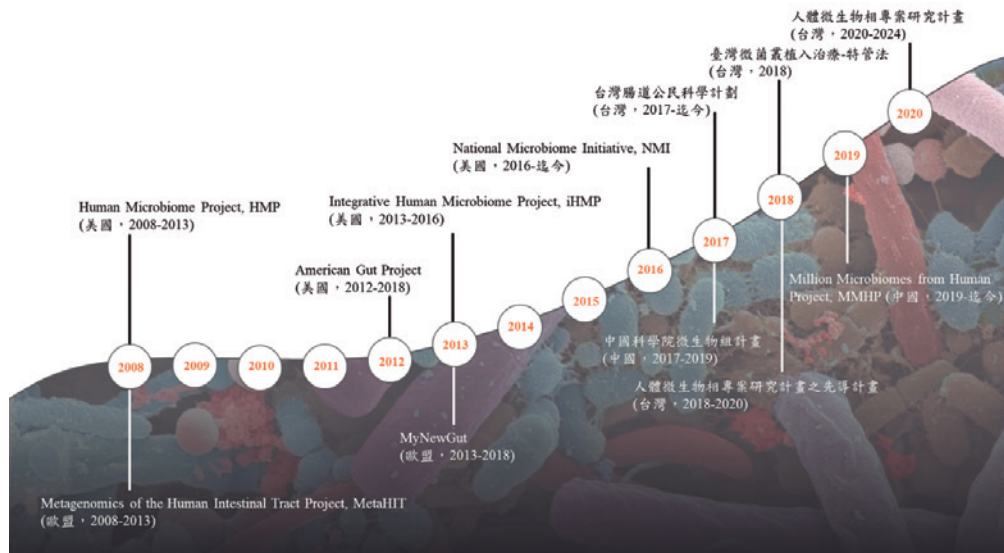
簡稱 COPD) 在全球具有很高的患病率，並導致全球單一疾病第三死亡率 [17,18]，然而 COPD 的治療方法依舊面臨相當多困難，且患者的持續性和進行性肺部發炎仍然非常常見，透過長庚大學的團隊藉由次世代益生菌菌株 - 戈氏副擬桿菌 MTS01 及其功能成分 (Pg-LPS) 可被開發，並用作預防與治療慢性肺阻塞 COPD 的替代藥物 [19]，目前已獲得台灣發明專利 (美國及大陸專利審查中) 且已申請美國臨時案。其餘團隊也分別在不同的疾病和婦幼健康，如肥胖、胃癌、自閉症、母乳及幼兒微菌相找出一些特定的菌叢，未來可應用於臨床的診斷及治療，降低疾病之風險，以促進國民健康 [20]。

台灣微生物相之展望

根據 BCC Research 報告指出，2018 年全球微生物相應用於市場規模為 1,863.2 億美元，預估到 2023 年將達 3023.7 億美元 [21]；Global Information 預估 2025 年全球膳食補充劑市場達 1584.7 億美元 [22]。此外，根據台灣食品工業發展研究所在食品產業年鑑上的推估，2021 年台灣保健食品市場規模可達 1,596 億元 [23]。如 *Akkermansia muciniphila* 是目前相關研究最多的次世代益生菌，具有調節腸道屏障功能、抗菌肽產生、免疫調節、黏液層厚度和發炎調節等功能，在 2021 年 9 月正式通過歐盟 EFSA 的新穎性食品認證 (Novel food) 認證，成為膳食補充劑，並且 *A. muciniphila* 目前也針對超重及糖尿病患者進行二期的臨床試驗 [24-26]。除此之外，越來越多以微生物相為基礎的活菌藥物進行臨床試驗，如困難梭狀桿菌與發炎性腸道疾病治療，目前 Seres Therapeutics 已有一微生物治療產品 SER-109 進入第三期臨床試驗，即將成為第一個美國 FDA 認證許可的藥用細菌，並預計於 2023 正式推出 [27,28]。

當前國內學界研究已有卓越的成果，業界投入熱絡，政府帶頭發展方向正確，但如何跨界融合、建立生態系、創新產業化應用，仍面臨許多挑戰，如台灣目前對於活菌生醫產品 (Live Biotherapeutic product, LBP) 並無訂定完整相關法規與準則，只能先參照國外規定如美國 FDA 或是歐盟 EDQM 的規範 [29]，

因此，希藉由台灣人體微生相研究的進行，期望在未來成立一個台灣的國際產學聯盟，並藉由國科會及政府的協助，邀請國外學術單位或藥廠一同進行合作，或是提供國內研究單位參與國外大型之微生物相研究，並將活菌生醫產品所需之規範，透過與相關單位召開會議討論，藉由專家學者與主管機關（如：衛福部）進行面對面的溝通，共同擬定相關之規範，一同帶動臺灣精準醫學及生醫產業之發展。



圖一. 全球人體微生物相計畫推動概況，包含美國，歐盟，中國及台灣。

(背景圖片來源 :<https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/microbiota/>)

參考文獻

1. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014;157:121-41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
2. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:55-71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
3. Yang I, Corwin EJ, Brennan PA, Jordan S, Murphy JR, Dunlop A. The infant microbiome: implications for infant health and neurocognitive development. *Nurs Res* 2016;65:76-88. doi: 10.1097/NNR.000000000000133.
4. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut microbiota in cardiovascular health and disease. *Circ Res* 2017;120:1183-96. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309715.
5. Integrative HMPRNC. The integrative human microbiome project. *Nature* 2019;569:641-8. doi: 10.1038/s41586-019-1238-8.
6. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med* 2019;25:1012-21. doi: 10.1038/s41591-019-0450-2.
7. Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature* 2019;569:655-62. doi: 10.1038/s41586-019-1237-9.
8. Zhou W, Sailani MR, Contrepois K, et al. Longitudinal multi-omics of host-microbe dynamics in prediabetes. *Nature* 2019;569:663-71. doi: 10.1038/s41586-019-1236-x.
9. Li J, Jia H, Cai X, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol* 2014;32:834-41. doi: 10.1038/nbt.2942.
10. McDonald D, Hyde E, Debelius JW, et al. American gut: an open platform for citizen science microbiome research. *mSystems* 2018;3. doi: 10.1128/mSystems.00031-18.
11. Dinan TG, Stanton C, Long-Smith C, et al. Feeding melancholic microbes: MyNewGut recommendations on diet and mood. *Clin Nutr* 2019;38:1995-2001. doi: 10.1016/j.clnu.2018.11.010.
12. Johnson-King B, Terry SF. Future of microbiomes through the national microbiome initiative. *Genet Test Mol Biomarkers* 2016;20:561-2. doi: 10.1089/gtmb.2016.29022.sjt.

(更多參考文獻請見附錄)

PART 2

微生物相 與健康 Microbiota in Health

第二章：腸道菌群與個體健康

Chapter 2 : Role and function of gut microbiota in host health

張皓文

腸道微生物群的定植與演替從出生就開始了。健康的腸道菌群可以幫助個體分解營養、抵禦疾病、促進個體發育，以及維持個體的正常生理機能。隨著個體成長、健康狀態改變，以及接觸不同的環境因子，腸道微生物群的組成也會有所改變。而且在生命不同階段時，腸道微生物群所影響的生理層面也不盡相同。因此，本章就依據個體各個生命階段，描述腸道微生物群的功能，以其它和健康之間密不可分的關係。

自從雷文霍克（Antonie van Leeuwenhoek）首次觀察到糞便中的微生物後，人們開始意識到腸道微生物的存在。之後隨著實驗和分析技術的發展，我們了解腸道微生物與生理健康關係方面也有了長足的進步。腸道微生物群的定植（colonize）從出生時就開始了，而其組成在後續的生命歷程中也有所改變。不同生命階段的生理狀態、在該時期的腸道微生物群組成、和個體健康有著千絲萬縷的關係。因此，本章就依據人生各階段，描述腸道微生物群和健康的關係。

嬰兒的早期腸道微生物群組成會因為生產方式而有所不同。首先，相較於經歷自然產的嬰兒，剖腹產的嬰兒腸道微生物群豐富度較低。再者，自然產嬰兒早期腸道微生物群組成和母親陰道微生物群組成較為相似，而剖腹產嬰兒腸道微生物群組成接近母親皮膚以及醫院環境中常見的微生物組成 [1]。不過，生產方式對腸道微生物群的影響在大約出生後三個月逐漸消失 [2]。之後，母乳與配方奶的選擇、接觸副食品的時機和攝取固體食物的種類等因子會持續影響嬰幼兒腸道微生物群 [3]。

藉由營養不良嬰幼兒腸道微生物群的研究，我們得以一窺生命初期腸道微生物群與健康的關係。營養不良和百分之四十五左右五歲以下幼兒夭折有關 [4]。現今的治療方式雖然能提升營養不良嬰幼兒的存活率，卻不能幫他們完

全恢復正常的生長發育 [5,6]。營養不良與正常生長嬰幼兒的腸道微生物群組成明顯不同，而現行治療方式也無法完全修復營養不良嬰幼兒體內不正常的腸道微生物群 [7,8]。利用已知菌小鼠模型^b，研究者進一步確立腸道微生物群跟生長遲緩以及不正常營養代謝的因果關係 [9]。之後，藉由已知菌小鼠、幼豬作為臨床前期的動物模型，展現出腸道微生物導向輔助食物（microbiota-directed complementary food），並在初期臨床測試上發現可以幫助營養不良幼兒調整腸道微生物群、增加體重、並且增加和正常生長發育有關的生物標記（biomarker） [8,10,11]。

透過利用無菌動物模型^c的相關研究，我們了解腸道微生物群廣泛影響諸如淋巴、神經、骨骼等不同系統與器官的發育 [12]。以腸道免疫系統為例，正常小鼠小腸內有名為派亞氏淋巴叢（Peyer's Patch）的次級淋巴組織，和在出生後才會發育的三級淋巴組織 [13-15]。派亞氏淋巴叢中微皺摺細胞（microfold cells）會採樣腸道中的微生物與抗原，並透過樹突狀細胞和巨噬細胞刺激 B 細胞製造抗體 [16]。它和口服疫苗效用以及食物過敏都息息相關 [17-20]。相較於無特定病原體小鼠^d，無菌小鼠體腸道內派亞氏淋巴叢中 B 細胞數量較低 [21]。因為缺乏腸道微生物刺激，無菌小鼠腸道內沒有三級淋巴組織 [14,22]。無菌狀態也會影響腸道神經系統的發展。接觸微生物可以幫助增加幼年時期腸神經元（enteric neuron）的密度 [23]。因為腸道神經系統調控腸道蠕動、液體吸收等重要生理功能 [24]。因此，無菌小鼠的腸道蠕動也較於無特定病原體動物來的為緩慢 [25]。

雖然幼兒腸道微生物群在三歲左右趨於穩定，並接近成年人的微生物群組成 [26]。但在後續的生命歷程中，飲食、生活習慣以及健康狀態仍可影響腸道微生物群的組成。正常的腸道微生物群可以幫個體抵禦疾病。例如，透過糞便移植（fecal transplant）重建患者腸道微生物群，可以用於治療高復發的艱難

梭菌 (*Clostridium difficile*) 感染 [27]。健康個體腸道微生物群常見的擬桿菌屬 (*Bacteroides*) 和普雷沃菌屬 (*Prevotella*) 可以幫助分解人體難以代謝的多醣 [28,29]。多醣分解的單醣或是衍伸產物可以被人體吸收、被其他微生物使用。所以飲食中包含不同的多醣種類，也會讓腸道微生物群歧異度 (diversity) 增加 [30]。反之，長期食用低多醣的食物，會降低腸道微生物群歧異度 [31]。

在諸多微生物代謝產物中，短鏈脂肪酸對個體生理影響的研究最為廣泛。在人類大腸內，乙酸、丙酸和丁酸為腸道微生物主要合成的短鏈脂肪酸。短鏈脂肪酸可以影響不同的生理功能。首先，丁酸為大腸上皮細胞的主要營養來源 [32]。因為缺乏微生物製造的丁酸，無菌小鼠的腸道上皮細胞會因為營養不良而降低生理活性、甚至啟動自噬作用 (autophagy) [33]。再者，短鏈脂肪酸也可以刺激 G 蛋白偶聯受體 (G protein-coupled receptor; GPR) [41,43] 和 109A [34,35]。例如，透過刺激 GPR41 使腸內分泌細胞 (enteroendocrine cell) 表達肽 YY (peptide YY; PYY) [36] 以及胰高血糖素樣肽 (glucagon-like peptide 1; GPL-1) [37]。此外，短鏈脂肪酸也可以藉由影響組蛋白 (histone) 上面的乙醯化程度，進而調控基因表現 [38,39]。刺激 G 蛋白偶聯受體或是調節組蛋白乙醯化程度可以調控上皮細胞以及免疫細胞的功能 [40-44]。至於短鏈脂肪酸是抑制或是促進特定細胞生理功能，則會因為個體是否遭受感染等免疫環境條件而有所不同 [45]。

另一個備受關注的微生物代謝產物為次級膽汁酸。人與動物肝臟會合成初級膽汁酸，並分泌到空腸中幫助食物消化吸收。在肝臟中的初級膽汁酸會被腸道微生物代謝成次級膽汁酸。在小鼠研究中發現，次級膽汁酸會促進腸道上皮細胞合成並分泌成纖維細胞生長因子 15 (Fibroblast growth factor; FGF15^e)，而 FGF15 會降低肝臟中初級膽汁酸的合成 [46,47]、抑制糖質新生 [48] 並促進肝醣合成 [49]。FGF15 也可以作用在下視丘中負責製造腦神經肽 Y (Neuropeptide Y; NPY) 和刺豚鼠關聯肽 (Agouti-related protein; AgRP) 的神

經元上，進而影響血糖濃度 [50]。

除了幫助分解與代謝食物，腸道微生物群也可以透過其他途徑影響個體營養吸收。例如，腸道微生物群可以促進第三型先天性淋巴球（Type 3 innate lymphoid cells）表達並釋放白細胞介素 22（interleukin 22, IL-22），而 IL-22 可以透過 STAT3 調控腸道上皮細胞中生物時鐘相關基因的表達，並影響脂肪吸收 [51]。

腸道微生物群也會透過迷走神經影響中樞神經系統功能。這一部分腸腦軸線（gut-brain axes）^f 的研究主要集中在描述乳桿菌屬（*Lactobacillus*）成員與情緒的關係。其中，長期給予無特定病原體小鼠 *Lactobacillus rhamnosus*，會促進腦中特定區域 γ -氨基丁酸 A 型受體（GABA receptor）表達，並減少與焦慮以及抑鬱的相關行為 [52]。在另一份研究中發現，給予無特定病原體小鼠 *Lactobacillus reuteri* 可以降低自閉症相關行為的表現 [53]。

成年小鼠體內的腸道神經元，會經由自嗜作用和腸道神經元母細胞的增生與分化，達到持續汰換的動態平衡 [54]。抗生素會影響無特定病原體小鼠的腸神經系統，並降低腸道蠕動 [55]。近一步的研究發現，腸道微生物可以藉由調控血清張力素（Serotonin）的合成，進而幫助腸道神經元母細胞（enteric neuronal progenitor）增生 [56]。所以，腸道微生物群不只影響到幼年時期腸道神經系統的發育，也可以幫助維持成年時期腸道神經系統的正常功能。

早在 1990 年代，梅契尼科夫（Elie Metchnikoff）就因為觀察高加索山地人民飲食習慣，提出益生菌幫助延年益壽的概念。近年來在人類與小鼠的研究中也發現，老年與年輕成年個體的腸道微生物相有所不同 [57,58]。不過保有「年輕」時期健康的腸道微生物群組成或許跟老年時期正常的生理機能有關。給予無菌小鼠來自年輕或是老年無特定病原菌小鼠的腸道微生物群後，發現年

輕小鼠腸道微生物群會幫助降低已知菌小鼠因為衰老而產生的生理機能退化 [59,60]。而老年小鼠腸道微生物群也和全身性的免疫反應有關 [61]。不過目前老年人腸道微生物群與健康的關係，以及詳細的生理機制，還是低於我們對腸道微生物群與其他年齡層生理狀態的了解。

- a. 微生物群 (microbiota) 指在棲息在一個環境中所有微生物。有時又被翻譯成微生物叢，例如：腸道微生物叢 (gut flora)。
- b. 已知菌動物 (gnotobiotic animals) 模型建立在無菌動物飼養技術之上。該動物體內、體外和居住環境中只有特定、由研究者引入的特定微生物。可用來探討特定微生物或微生物相與個體健康的因果關係。
- c. 無菌動物 (germ-free animal) 體內、體外和居住環境中不含任何微生物。
- d. 無特定病原體動物 (Specific pathogen free animals) 被飼養在受到控制的環境中，其體內和體外仍有正常的微生物相，只是其微生物相中不含有特定的病原體。
- e. 在小鼠中被稱為 FGF15，而在人類中被稱為 FGF19。因為這部分研究多以小鼠為動物模型進行研究，故在文中統一使用 FGF15。
- f. 腸腦軸線是研究腸道微生物與中樞神經系統功能的關係。近年來，隨著腸道微生物研究的蓬勃發展，更多腸道與其他臟器軸線的想法被提出和驗證。

參考文獻

1. Dominguez-Bello, M. G. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010;107:11971–11975.
2. Rutayisire, E., Huang, K., Liu, Y. & Tao, F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2016;16:86.
3. Moore, R. E. & Townsend, S. D. Temporal development of the infant gut microbiome. *Open Biol.* 2019;9:190128.
4. Black, R. E. et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *The Lancet* 2013;382:427-451.
5. Ahmed, T. et al. Mortality in severely malnourished children with diarrhoea and use of a standardised management protocol. *The Lancet* 1999;353:1919-1922.
6. Ashraf, H. et al. A follow-up experience of 6 months after treatment of children with severe acute malnutrition in Dhaka, Bangladesh. *J. Trop. Pediatr.* 2012;58:253-257.
7. Subramanian, S. et al. Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. *Nature* 2014;510:417-421.
8. Raman, A. S. et al. A sparse covarying unit that describes healthy and impaired human gut microbiota development. *Science* 2019;365:eaau4735.
9. Blanton, L. V. et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children. *Science* 2016;351:10.1126/science.aad3311 aad3311.
10. Gehrig, J. L. et al. Effects of microbiota-directed foods in gnotobiotic animals and undernourished children. *Science* 2019;365:eaau4732.
11. Chen, R. Y. et al. A microbiota-directed food intervention for undernourished children. *N. Engl. J. Med.* 2021;384:1517-1528.
12. Kennedy, E. A., King, K. Y. & Baldrige, M. T. Mouse microbiota models: Comparing germ-free mice and antibiotics treatment as tools for modifying gut bacteria. *Front. Physiol.* 2018;9:1534.

(更多參考文獻請見附錄)

第三章： 微生物菌叢的一生變化：從胎兒開始

Chapter 3 : Gut microbiota in lifespan-- starting from womb

倪衍玄

懷孕時期腸胃道通透性增加，有可能使孕婦的腸內菌經由血液循環進入到羊水中，所以胎兒在子宮內就有可能接觸細菌，若這是共生菌或益生菌，不但不會致病，反而說不定有好處。嬰兒出生以後，其腸道菌叢的建立受到很多因素影響，例如生產方式、餵食方式、遺傳基因、生活環境等；最重要的是母親健康狀況與母乳。由媽媽傳至兒童的腸內菌，(以 *Lactobacillus* 與 *Bifidobacterium* 為主)正是目前益生菌最主要的來源。嬰幼兒飲食等與成人很不相同，所以其腸道菌叢要到三歲以後才逐漸穩定，並延續至成人。藉由嬰幼兒發生疾病前、中、後之腸道菌叢分析，有望利用腸內菌來預防或治療疾病的發生。

嬰兒腸道菌叢的建立

每公克糞便約含有 10^{14} 隻各種細菌 [1]。這些細菌究竟是如何開始又如何演變呢？且讓我們細說從頭。以前以為胎兒在子宮內每天吞進的是羊水，羊水長久以來被認為應該是無菌，但是新的研究發現其實孕婦腸胃道通透性增加，有可能使孕婦的腸內菌經由血液循環或淋巴循環進入到羊水中，所以胎兒在子宮內就有可能接觸細菌，若這是共生菌或益生菌，不但不會致病，反而說不定有好處 [2]。因此胎兒的腸道不是完全無菌的狀態。有趣的是剛出生嬰兒如何獲得其菌叢？而其腸道菌又如何轉變成像大人一樣的型態？嬰幼兒腸道菌種、數量的演進與很多因素有關，例如生產方式、餵食方式、住院設置或母親健康狀況、種族、以及生活環境 [3]。

胎兒經由產道或剖腹生產，這時一定會接觸到外界的環境及微生物，立即接觸的環境包括母親陰道、皮膚、也會有母親尿道或肛門直腸的接觸 [4-6]，若是自然生產，這個嬰兒最初的腸道菌叢會接近母親的陰道或腸道的菌相，若是剖腹生產，這個嬰兒最初的腸道菌叢會比較接近母親的皮膚的菌相 [4]。

接下來最立即接觸的應該是母乳或嬰兒配方奶粉等等：母乳哺育的小孩一般而言其腸道菌叢會有較多的比菲得氏菌 (*Bifidobacteria*) 與乳酸桿菌 (*Lactobacillus*) [7]，這些菌多由母乳而來，目前比菲得氏菌與乳酸桿菌被認為是益生菌，天生是母親賜給小孩最佳禮物，這些細菌對於抵抗病原菌 (pathogen) 感染以及免疫調節有助益。母乳當中含有如運鐵乳蛋白 (lactoferrin), lysozyme, 以及果寡糖 (human milk oligosaccharides) 或稱益菌生 (prebiotics)，包括 N-acetylglucosamine, 葡萄糖，半乳糖，以及其他醣蛋白，這些可能有助於好菌的生長。配方奶粉一般而言並不具有這些成分，所以比菲得氏菌與乳酸桿菌的相對比例不高，反而是像 *Enterobacteria* 如大腸桿菌之類革蘭氏陰性菌在配方奶粉哺育的小孩之腸道菌叢較為顯著 [8]。

俗語說：「三歲定終生」，以腸內菌叢的角度而言，這句話很有道理。嬰兒三歲以後的菌叢型態就與成人近似，但由新生兒到三歲之間與成人腸道菌叢存在著相當差異。原因可能是由於嬰幼兒時期，牙齒仍未完全長出，消化系統也尚未成熟，能夠攝取的食物種類也有限，這些因素都影響腸道菌叢的建立，當飲食由非常單純的母乳及配方奶粉逐漸演變到接近成人飲食，亦即大約三歲以後，牙齒都已經長出來了，飲食的習慣也漸漸跟家裡大人相同，所以他的腸道菌叢也就開始走向大人的型態。基本上，嬰幼兒腸道菌叢中比菲得氏菌 (*Bifidobacteria*) 的比例是遠較成人為顯著，最常見的菌種如下：*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, and *B. parvulorum*[9]。

由對人類移民的研究也發現，如果從經濟發展比較落後的地區搬移到高度工業化化的國家，得到一些免疫相關疾病，例如克隆氏症、氣喘、多發性硬化症、第一型糖尿病等等的可能性，剛好與移民當時的年齡成反比，換言之，年紀越小搬到高度工業化國家的話，得到這些疾病的可能性就越高；年紀越大才移民的話，得到這些病的機會就越小 [10,11]。「三歲定終生」這句話在這

種疾病也得到驗證。

健康的初生嬰兒與在病房或加護病房接受各種治療的病兒，他們的菌相自然也是不同。特別是抗生素的使用，顯然也會導致腸道菌叢的變化 [12,13]。早產兒算是最常需要住在加護病房接受各種治療的族群，基本上他們的腸道菌叢多樣性 (diversity) 會較小，如此似乎會使他們得到困難梭狀桿菌 (*Clostridium difficile*) 或壞死性腸炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 的可能性增加。美國人的研究也發現：如果出生的新生兒和早產兒，受到嚴重的疾病影響而使用強力的抗生素，這些人將來長大了，容易變得比較瘦！如果嬰幼兒時只是一些小毛病，而常會去吃一些輕微的口服抗生素，這些人長大了容易會變成肥胖，如果都沒有使用抗生素的話，那麼體型常常會比較正常 [14]。「三歲定終生」再次也得到驗證。

腸道菌叢的生理

事實上，不同地區的人其腸道菌叢也是不同，例如工業化國家或發展中國家的人民，他們腸道菌叢也相當不同，目前的研究顯示發現，大概世界上的人其腸道菌叢大約可以區分成三大類 (enterotype)：各以 *Bacteroides* (第一型)，*Prevotella* (第二型) 或 *Ruminococcus* (第三型) 為主要之菌種 [15,16]。這是基於蒐集世界各區域人類糞便樣本作分析所得到的結論。這些研究大體上蒐羅了美國、丹麥、委內瑞拉、馬拉威等代表，每個人的腸道菌叢當然有差異，不過若以巨觀的角度綜合而言，總是這幾大項之間互有消長。這些差距很可能是由於環境跟飲食習慣的不同造成的。

環境因素，尤其是飲食習性被認為是造成人類彼此之間腸道菌叢不同的重大原因。所謂環境因素自然源自經濟、文化、衛生等等。在委內瑞拉、馬拉威等地區的兒童 *Prevotella* 是較為顯著的菌種，或許與他們的飲食較多纖維有

關；另一方面，美國兒童或許因為肉食較多，他們的腸道菌叢是以 *Bacteroides* 為主 [17]。如果我們改變飲食，腸道菌叢是否會隨之改變？是的，如果由高纖低脂的飲食型態改成低纖高脂，十天半個月確實就能看到腸道菌叢的改變，不過這種改變的幅度是遠小於各腸型分析 (enterotype) 本來既有的差異。

而觀察雙胞胎及家人的研究，可以發現雙胞胎或母女之間的腸道菌叢十分相似，即令不住在一起，其相似度仍遠遠勝過不相關的人，證明遺傳因素應該在腸道菌叢的形成上具有一定的份量 [18]；另一方面若觀察成人雙胞胎，又發現不管是同卵或異卵的雙胞胎，其腸道菌叢卻是十分相近，所以表示環境因素在遺傳因素有一定程度的近似之下，對於腸道菌叢的形成可能扮演更重要的角色。

目前又漸漸發現，不同菌種可以產生相同的生理或病理作用，所以即使因為種族或環境不同，有不同的菌株，但是人類大體生理功能是一致的 [20]。現代所謂次世代序列分析技術，使得科學家已能全面分析所有糞便中細菌的菌種及其功能基因，結果發現人與人之間其菌種雖不相同 [21]，但各菌叢所具有之功能卻是近似的，大體上這些細菌均能針對碳水化合物、胺基酸、膽酸等做代謝，差異處可能在對某些藥物或維他命的代謝能力。相關研究正方興未艾，希望未來能更見曙光，而這些所謂藥物微生物學 (pharmaco-microbiome) 或許正能提供許多疾病治療的契機。總之，目前的概念是我們雖然具有不同的腸道菌叢，卻擁有相似的腸道菌叢的代謝功能。

腸道菌叢與兒童疾病

腸道是人體最大的免疫器官。它接受無數的細菌從口腔中隨著食物進入，有些細菌會被排出、有些則被腸道細胞所認識而產生耐受性。細菌如何與腸道

免疫器官互動以調節全身免疫反應？這是當前難解但卻是非常重要的問題。事實上除了年齡的因素外，疾病狀態與健康狀態之菌叢亦頗有不同，最近幾年，兒童過敏疾病盛行率，無論中外均節節上升，克隆氏症就是很好的例子 [22]。如何解釋這個現象？目前較受矚目的理論是所謂「衛生理論」[22]，意即由於環境衛生越來越好，嬰幼兒的胃腸在初始就未曾受到腸道菌叢足夠的挑戰或引導，使得他們免疫調節失調，走向 TH2 主導的免疫路徑方向，也因此造成兒童過敏疾病的盛行 [23]。

老鼠實驗已顯示在會過敏的老鼠中，他們會有特定的腸道菌叢，這種特定的腸道菌叢主要是一種厚壁菌門 (Bacillota) 毛螺菌科 (Lachnospiraceae) 之細菌增多、乳酸桿菌 (*Lactobacillus*)、理研菌科 (Rikenellaceae)、紫單胞菌科 (Porphyromonadaceae) 等數種細菌的減少 [24]。我們自己的研究克服了過去相關研究的缺失與瓶頸，利用新技術與周詳實驗設計，揭開腸內菌瘤胃球菌 (*Ruminococcus gnavus*) 在幼兒的腸道中，過早或過量繁殖將誘導活化發炎性免疫細胞，再透過循環系統遊走全身，日後發展成過敏性發炎疾病，尤其是鼻炎和氣喘最為常見。此發現不僅可做為預測幼兒未來罹患過敏症的依據，亦可研發成預防與治療的新標的 [25]。

早產兒的壞死性腸炎的致病原因可能並不簡單，它被推測的原因很多，若把焦點集中在腸道菌叢，發現罹有此病的早產兒與一般正常早產兒比較，其腸道菌叢的複雜性降低很多 [26]，最近發現壞死性腸炎的早產兒，其變形菌門 (Proteobacteria) 之細菌增加，甚至有報告說在診斷 NEC 之前被可發現這些早產兒糞便中 Gamma - Proteobacteria 增加 [27]，所以目前已有不少人建議除了母乳哺育之外，也可使用益生菌來預防 NEC 的發生 [28]。

西方世界常見的炎性腸症 (Inflammatory Bowel Disease, IBD) 其患者的腸

道菌叢也與 NEC 一般有異曲同工之處；在急性發作期其腸道菌叢的複雜性降低很多，當然 IBD 的病理機轉也有許多原因，並非單一腸道菌叢的複雜性降低很多就可以解釋，初步資料顯示在克隆氏症 [29]，其 Proteobacteria 的比例增加，同時普拉梭菌 (*Faecalibacterium prausnitzii*) 減少 [30]，先前已有研究顯示 *F. prausnitzii* 是具有一定的抗發炎效果，或許也可以稍微解釋腸道菌叢與疾病發作之間的關係。無論如何，目前認為 IBD 其患者的腸道菌叢有其特定的表徵，隨技術之進步與文獻資料之累積，IBD 其患者的腸道菌叢在致病機轉的重要性將會更清楚。

肥胖是另一個腸道菌叢在致病機轉上扮演重要關鍵的疾病。美國聖路易華盛頓大學的研究人員於 2006 年在此領域就有劃時代的發現，他們把肥胖老鼠的糞便移植到所謂無菌瘦鼠身上，竟然導致這些無菌瘦鼠變胖起來，這個實驗首度證明代謝功能竟然是由腸道菌叢扮演關鍵角色 [31]。肥胖當然與新陳代謝相關，所以由此帶出的問題是腸道菌叢如何來帶動人體的代謝？動物實驗已顯示某些特定的腸道菌叢，例如 *Bacteroides* 會協助宿主更有效率地吸收熱量與脂肪，例如短鏈脂肪酸 [32]，或許就鋪陳了導致肥胖的可能性。

結語

我在之前的著作便已經著墨腸道菌叢在人類健康與疾病上扮演重要的角色 [8]。而在嬰幼兒時期 (大約 3 歲之前) 就會建立個人的腸道菌叢特徵，而且可能會持續至成人 [33]。目前相關技術的快速進步，使我們對此領域的認識將日新月異。未來視我們對腸道菌叢在人類健康與疾病上扮演角色瞭解之日益增加，或許我們可以藉此調節腸道菌叢以治療疾病，甚至早期偵測病徵，進而防範於未然。

參考文獻

1. O'Hara AM, and Shanahan F: The gut flora as a forgotten organ. *EMBO rep* 2006;7: 688-693.
2. Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LM, Fernández L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. *Benef Microbes* 2013;4(1):17-30.
3. Vael C, Desager K: The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21:794–800.
4. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al: Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:11971–11975.
5. Hyman RW, Fukushima M, Diamond L, et al: Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:7952–7957.
6. Biasucci G, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C: Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev* 2010;86(suppl 1):13–15
7. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, et al: Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:61–67.
8. 倪衍玄 Ni YH. 兒童疾病與腸道菌叢 *Formosan J Med 台灣醫誌* 2014;18:429-35
9. Turroni F, Peano C, Pass D, et al: Diversity of *bifidobacteria* within the infant gut microbiota. *PLoS One* 2012; 7:e36957.
10. Vangay P, Johnson AJ, Ward TL, et al. US immigration westernizes the human gut microbiome. *Cell* 2018;175:962–972.
11. Shanahan F, Ghosh TS, O' Tootle PW. The healthy microbiome—what is the definition of a healthy gut microbiome? *Gastroenterology* 2021;160:483–494.
12. Dethlefsen L, Relman DA: Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(suppl 1):4554–4561.

(更多參考文獻請見附錄)

第四章： 腸道微生物群生理學關於宿主健康的 腸漏理論

Chapter 4 : Intestinal microbiota physiology on host health-
leaky gut theory

吳莉玲

腸道屏障對人體健康至關重要，構成了身體內外環境之間的界面，其功能是允許吸收營養，同時防止細菌等有害物質穿過腸道上皮細胞進入體內。腸道通透性是透過通透性標誌物穿過腸道上皮的細胞與細胞間或細胞內途徑來當作腸道屏障完整性的指標。一旦腸道通透性增加稱為“腸漏 (leaky gut)”，腸漏已被證明會增加各種疾病，包括糖尿病和心血管等疾病。然而，腸漏的病因尚不清楚。本章概述如何利用體內外技術對腸道屏障的影響，進一步了解其可能的機制。

關鍵詞：漏腸、腸道通透性、短鏈脂肪酸、緊密連接、微生物組

一、介紹

腸漏是指腸道屏障功能障礙，在慢性狀態下常導致腸漏綜合症 (leaky gut syndrome, LGS) 的產生。因此，“腸漏”表示大分子或細菌從管腔到絨毛的異常轉移或從管腔過度吸收到體循環中，進而導致各種器官疾病。功能性腸道屏障允許吸收營養物質、水和離子的滲透，但同時防止毒素和細菌等有害物質通過腸上皮到達下層組織 [1,2]。此外也具有物理防禦機制，包括連接相鄰上皮細胞的緊密連接複合物和上皮細胞襯裡的黏膜層來維持功能性腸道屏障。典型的腸漏綜合症伴隨著腸道發炎被觀察到，包括發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease, IBD) 或乳糜瀉 (celiac disease) [3-5]。

基因組定序方法在過去 20 年間發生了巨大的變化，現在可以分析整個腸道細菌基因組，或透過對細菌的 16S rRNA 基因等保守標記基因進行定序來鑑定糞便樣本中的細菌 [6]。現在我們知道了人類腸道微生物群的全部基因含量，其數量被計算為人類基因組含量的 100 倍或更高 [7]。其中，在人類的微生物群中占主導地位的兩個主要的門為擬桿菌門 (Bacteroidetes) 和厚壁菌門 (Firmicutes) [8]。Firmicutes 包含各種類型的細菌，包括兼性、厭氧、球菌和桿菌。革蘭氏陽性菌在該門中占主要地位，鳥嘌呤和胞嘧啶含量相對較低

[9,10]。與 Firmicutes 相反，革蘭氏陰性菌在 Bacteroidetes 中佔優勢 [11]。細菌通過細菌分泌的生理活性分子直接或間接與宿主相互作用，這些生理活性分子包括短鏈脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFA)、對甲酚 (p-cresol)、對甲酚葡萄糖醛 (p-cresyl-glucuronide, pCG)、硫酸吲哚酚 (indoxyl sulphate, IS)、吲哚-3-乙酸 (Indole-3 acetic acid, IAA)、H₂S 和三甲胺-N-氧化物 (trimethylamine N-oxide, TMAO)，它們可能對腸道屏障和遠離腸道的各種器官（包括肝臟、腎臟和大腦）產生保護或有害影響 [12-14]。事實上，腸道菌群生態失調 (dysbiosis) 與多種疾病相關，包括發炎性腸道疾病 [15]、癌症 [16]、慢性腎臟疾病 [17,18] 和心臟代謝性疾病包括肥胖症、第二型糖尿病 (T2D) 和心血管疾病 [19] 等。腸道菌生態失調將導致病原菌數量增加，這些細菌可能產生更高量的脂多醣 (lipopolysaccharides, LPS) 並誘導上皮細胞受損，這是在腸道菌群生態失調中觀察到的腸道通透性增加的可能機制之一 [20-22]。此外，細胞間連接的破壞讓包括 LPS 在內的有害分子侵入腸道組織，從而進入血流，這不僅會引發或惡化發炎性腸道疾病 [23]，還會引發全身性疾病。因此，腸漏綜合症的概念從單純的發炎轉變為全身性疾病的惡化因素，然而其病因尚不清楚。因此，評估腸道微生物群組成、微生物代謝物以及發炎標誌物對於受干擾的腸道屏障背後的機制是扮演非常重要的角色。

二、腸道屏障和腸道上皮細胞緊密連接

腸道屏障功能由三個主要防線所組成，它們提供了一個物理屏障，可防止細菌從腸道腔侵入身體，包括 (1) 生物屏障 (biological barrier)，由正常腸道菌群 (腸道微生物群) 組成；(2) 免疫屏障 (immune barrier)，由腸道相關淋巴組織 (gut associated lymphoid tissue, GALT)、效應和調節性 T 細胞、產生 IgA 的 B 細胞、先天性淋巴樣細胞以及固有層中的常駐巨噬細胞和樹突狀細胞組成；(3) 機械屏障 (mechanical barrier)，由腸道上皮細胞和毛細血管內皮細胞組成。上皮細胞和內皮細胞透過“緊密連接” (tight junctions, TJ) 的特

定結構在外側細胞膜的最頂端部分（“接吻點 (kissing points)”）進行最密切的接觸，這些結構將細胞相互連接並限制離子的通過。腸道屏障作為抵抗腸腔微生物、病毒、食物抗原和環境毒素的物理和免疫防禦，該腸道屏障具有選擇性滲透性，允許必需的膳食營養素、電解質、氨基酸、短鏈脂肪酸 (Short-chain fatty acids, SCFA)、糖、水和選擇性微生物代謝物從腸腔轉移到循環中。腸上皮屏障由單細胞層上皮細胞組成，其中散佈著功能特化的分化上皮細胞。這些包括腸上皮細胞、潘氏細胞 (Paneth cell)、杯狀細胞 (goblet cells)、腸內分泌細胞 (enteroendocrine cells) 和微褶皺細胞 (microfold cells)，它們一起形成連續的極化單層，組成管腔與固有層。其中，潘氏細胞和微皺細胞僅存在於小腸中，而腸上皮細胞、杯狀細胞、腸內分泌和簇狀細胞則存在於小腸和結腸 [24-26]。黏液層和不同類型的腸細胞在維持腸道屏障功能和體內恆定方面發揮著重要而獨特的作用 [27]。由於腸通透性的定義是脂溶質通過一個簡單的膜，而腸膜由幾層和不同的細胞類型組成，因此在測量腸通透性時可以透過跨上皮電阻 (transepithelial resistance, TER) 的測量來評估，即離子電荷在上皮細胞中被動擴散的能力，也可以透過測量溶質在上皮細胞上通過不同的通道途徑來進行評估 [28]。分述如下：

(1) 上皮細胞與細胞間途徑 (The Paracellular Route)：溶質可以通過上皮細胞旁途徑穿過細胞取決於溶質的性質。通常，細胞旁途徑對蛋白質大小的分子是不可滲透的，因此構成了對抗原性大分子的有效屏障。上皮細胞通過由緊密連接、黏附連接、橋粒和間隙連接組成的連接複合物相互連接 [29]。緊密連接 (Tight junction)，也稱為 zonula occludens，位於側膜的頂端部分，形成連接鏈的網絡。它們在上皮和遠離管腔的運輸以及維持上皮細胞的極性方面扮演重要的角色 [30]。緊密連接表現為嵌入細胞膜中與相鄰細胞相互作用的多蛋白複合物。緊密連接複合物由跨膜蛋白組成，包括 occludin [31]、tricellulin [32] 和 Marvel D3 [33]，均屬於緊密連接相關 MARVEL 蛋白 (TAMP) 以及 claudins [34]

和連接黏附分子 (JAM) 蛋白家族 [35]。人類 claudin 家族包括 20 多個成員 [36]，這些成員在不同組織中的分佈各不相同 [35]。Tricellulin 主要位於三個細胞的接觸點 [32]，在三細胞連接處形成一個中心管，允許大溶質 (≤ 10 kDa) 通過。緊密連接複合物透過支架蛋白 ZO-1、ZO-2 和 ZO-3 以及幾種外周蛋白（如 cingulin 和 symplekin）與相鄰細胞的細胞骨架相連 [30]。此外，肌球蛋白 II 激酶 (myosin light-chain kinase, MLCK) 的肌球蛋白輕鏈磷酸化肌球蛋白輕鏈 (myosin light chain, MLC)，影響肌動蛋白細胞骨架，而造成增加細胞與細胞間的空隙，進而增加腸道通透性，這一系列的過程對於調節細胞與細胞間通透性至關重要 [37]。

(2) 細胞內途徑 (The Transcellular Route)：細胞內途徑是通過細胞的被動擴散，由脂溶性和小的親水性化合物使用。不能通過細胞膜或細胞旁空間的大顆粒和分子，如蛋白質和細菌產物，可以通過內吞作用被吸收，即細胞透過細胞膜內陷，然後形成囊泡。內吞作用介導外來抗原的攝取，身體可以針對這些外來抗原啟動適當的免疫反應。內吞作用後，被吞噬的物質通過胞吞作用通過細胞質主動轉運，這對於胃腸道中的抗原監測至關重要 [38]。胞吞作用是由外來微生物操縱以建立宿主進入的途徑，完整的屏障依賴於這些途徑的正確功能以及細胞消除外來物質的能力。根據所吸收物質的性質，上皮細胞的內吞作用可能會有所不同。第一種途徑是通過網格蛋白媒介的內吞作用 (clathrin-mediated endocytosis)，這是一種高度特異性的受體介導的過程，主要被免疫球蛋白和病毒利用。與細胞特異性結合的分子被內化並形成網格蛋白包起來的囊泡 [39]。第二種途徑是通過吞噬作用 (phagocytosis)，被細菌、病毒和顆粒使用 [40]，涉及透過受體將分子與細胞結合。吞噬作用與來自細菌和飲食的抗原的攝取有關，該過程由入侵細菌分泌的可溶物引發 [41]。第三種途徑，微胞飲作用 (micropinocytosis)，是一種非特異性過程，透過該過程，細胞外液與溶解的分子和病毒、細菌和凋亡細胞碎片一起被內化。小胞飲作用是通過細胞膜內陷

開始的，形成圓形褶邊，作為囊泡在細胞質中釋放，即所謂的大胞飲體 [42]。第四種途徑是通過脂筏 / 小窩 (lipid rafts/caveolae)，其涉及細胞膜內富含膽固醇的微區如燒瓶形狀形成內陷，其中可能含有外殼蛋白小窩蛋白 [43]。研究顯示某些腸毒素和病毒可能通過脂筏 / 小窩內吞進入腸細胞 [44]。

三、體外腸道通透性評估

胃腸道生理學的大部分基礎知識是通過體外技術獲得的，並且已經開發了各種用於腸黏膜體外研究的方法 4。舉例如下：

(1) Caco-2 細胞

研究腸道屏障功能時最常用的細胞株之一是 Caco-2 細胞，因為它具有表達的運輸特性 [45]。親代細胞起源於結腸，由人類結腸腺癌發展而來。雖然是結腸起源的，但細胞自發分化成極化單層，表達腸細胞的幾種形態和功能特徵。因此，細胞具有類似小腸的共同特徵 [46]。其特點是細胞呈圓柱形極化形態，頂端有微絨毛，細胞之間形成緊密連接，小腸能夠合成水解酶，如蔗糖 - 異麥芽糖酶 [46]。Caco-2 細胞特徵取決於細胞培養的時間，其中較長的時間會產生更多類似小腸的特徵 [47]。此外，細胞繼代次數的增加會導致選擇生長速度更快的細胞，從而導致 TER 增加以及幾種對腸道屏障功能很重要的轉運蛋白的表達發生改變 [48]。因此，必須標準化生長條件，包括細胞密度，以獲得可重複的實驗模型和可比較的結果。一旦透過監測 TER 在 transwell 上分化並生長為融合單層，Caco-2 細胞就提供了一個小腸上皮模型，提供研究上皮 - 顆粒 / 細菌 / 探針相互作用及其對腸道通透性的變化觀察 [49,50]。

(2) T84 細胞

除了 Caco-2 細胞外，T84 細胞還廣泛用於腸道屏障功能的研究。與 Caco-2 類似，T84 細胞起源於結腸，並且來源於結直腸腺癌的肺轉移。細胞

自發分化成單層，它顯示出結構和功能成熟的吸收性上皮細胞 [51]。然而，與 Caco-2 細胞相反，T84 細胞不會獲得小腸特徵，而是在整個分化過程中保留其大部分原始結腸特徵 [51]。因此，與 Caco-2 相比，T84 細胞是研究結腸屏障功能的更好模型。

(3) HT29 細胞

異質腺癌細胞 HT29 在分化時具有小腸結構 [52]。然而，HT29 細胞不能完全與小腸的吸收性腸細胞進行比較，因為這些細胞不表達所有水解酶，並且與小腸中存在的腸細胞相比，其離子轉運特性也不同。最初，HT29 細胞被用於研究人類癌症的不同方面，但最近由於它們能夠表達腸上皮細胞的不同特徵而引起了人們的關注。當在標準條件下生長時，HT29 細胞顯示出未分化的表型，並且不表達腸上皮細胞的任何典型特徵。然而，當這些細胞在半乳糖代替葡萄糖的培養基中生長時，細胞可以被調節產生黏蛋白，因此 HT29-C18N2 細胞株已被用作杯狀細胞分化的模型系統 [53]。當在 transwell 上生長時，HT29-MTX 細胞株形成極化單層，其中大部分細胞由成熟的杯狀細胞組成，分泌黏附的黏液層 [54]。由於能夠產生黏液，這些 HT29 細胞株被廣泛用作模型來研究共生菌和病原菌對宿主細胞的黏附 [55]。值得注意的是，將培養基更換為半乳糖會產生具有分泌型和吸收型兩種細胞類型的異質 HT29 細胞群 [53]。HT29 細胞株 HT29cl.f8 源自 HT29 的單細胞，在葡萄糖的標準條件下自發極化，並顯示出滲透性研究的重要特徵，例如微絨毛、緊密連接和高 TER [56]。因此，這種特殊的細胞株可以作為替代方案，並已在多項研究中用於模擬腸道屏障 [57,58]。

(4) 細胞的共培養 (Co-Culture)

儘管可以很容易地建立單獨的細胞，但單獨的細胞缺乏腸道的正常狀況下與免疫細胞的接觸以及來自神經和腸腔刺激的信號，最近研究證明共培養對

腸道屏障功能有很大影響 [59]。為了建立更逼真的體外模型來模擬腸道環境，已經建立了幾種共培養模型甚至三重培養 [60]。腸上皮黏液產生模型通常通過將 Caco-2 細胞與 HT29-MTX 細胞株共培養來建立 [61,62]。兩種細胞的不同比例共培養，以創造模擬腸道不同部分的小腸體內環境最相關的生理學的條件。共培養物長成具有連續黏液層的單層，並已用於腸道通透性研究 [63,64]。這些模型的一個限制是它們不會形成在小腸中觀察到的隱窩和絨毛結構，因為它們是單層生長的。最近，陳等人 [65]，開發了一種三重培養模型，其中設計了一個三維 (3D) 多孔絲支架管並塗有 Caco-2 和 HT29-MTX 上皮細胞的培養物。在該模型中，形成了在小腸中觀察到的隱窩狀結構。與 transwell 共培養相比，3D 模型進一步顯示 MUC2 的產量增加。儘管在培養幾週後觀察到細胞功能下降，但這些系統提供了一個與小腸具有許多生理相似性的模型，特別適用於有關細菌 - 上皮相互作用的短期研究 [65] 和潛在的腸道通透性研究。有趣的是，Dosh 等人最近使用在水凝膠 (L-pNIPAM) 支架上共培養的 Caco-2 和 HT29-MTX 細胞建立了小腸上皮的長期 3D 模型 [66]。該模型專門開發用於促進發炎環境中的長期機制研究，類似於發炎性腸道疾病 [67]。此外，最近使用 Caco-2 細胞和分化的 THP-1 單核細胞建立了共培養模型，以促進健康和發炎狀態下腸道屏障的研究 [68]。通過共培養 Caco-2 細胞和 THP-1 細胞 48 小時，建立了類似於腸道健康狀態的穩定共培養模型，這透過測量 TER 和釋放促發炎細胞因子的濃度導致腸道屏障完整性降低。由於該模型由上皮細胞和巨噬細胞組成，因此可以進行實驗來研究毒物、細菌和其他物質對腸道屏障的影響 [68]。

(5) 腸道類器官 (Intestinal Organoids) 作為評估屏障功能的模型

在新系統中培養時，腸上皮細胞 (intestinal epithelial cells, IEC) 包括原始腸上皮的 3D 結構和遺傳特徵並形成腸類器官 [69]，其中所有分化的細胞 (即吸收性腸上皮細胞、杯狀細胞、腸內分泌細胞、潘氏細胞，在構成腸上皮的細胞

和 M 細胞。與腸上皮細胞相比，這是一個明顯的優勢，並且使腸類器官成為研究腸屏障功能非常有用的模型 [70]。腸上皮細胞的分化細胞來源於腸道幹細胞 (intestinal stem cells,ISC)[71] 的多個譜系。ISC 位於腸上皮隱窩的底部 [72-74]，能夠自我更新和分化。從小鼠小腸上皮中分離出隱窩細胞，將它們包埋在基質膠中，讓細胞長時間生長，並觀察到細胞在生長因子存在下自組織形成腸上皮的 3D 結構，即類器官，目前已經開發出幾種從其他腸道細胞培養類器官的不同方法，現在可以從齧齒動物和人類的結腸細胞、胎兒腸道祖細胞產生類器官 [75-79]。該方法進一步用於從患有不同疾病的患者身上建立類器官，例如乳糜瀉 [80] 和發炎性腸道疾病 [81]。以 3D 結構生長的腸道類器官為研究腸上皮細胞中特化細胞的不同功能提供了理想細胞模型。例如，杯狀細胞在囊性纖維化中的功能 [82]、潘氏細胞對脫顆粒的控制 [83] 以及最近發現的簇狀細胞的功能 [84-86] 都是使用腸道類器官系統進行研究的例子。此外，腸道類器官為研究腸道屏障功能和宿主 - 微生物相互作用提供了一個令人興奮的模型 [70]。例如，該模型已被用於研究沙門氏菌感染對 IEC 的影響 [87] 以及艱難梭菌對上皮屏障功能的影響 [88]。然而，很難同時刺激 3D 腸道類器官進行大型實驗，因為它需要顯微注射感興趣的物質或細菌才能到達腸道類器官的內表面。在 transwell 上生長的腸道類器官的二維系統 [89,90] 因此已被開發用於促進宿主 - 微生物相互作用的研究、腸道屏障的功能研究以及藥物發現 [70,89,91]。此外，腸道類器官也用於使用離體 Ussing Chamber 對腸道屏障進行研究 [92,93]。

(6) 體外腸屏障功能評估——Ussing Chamber 技術

Ussing Chamber 技術於 1951 年由丹麥生理學家 Ussing 和 Zerhan[94] 首次描述，具有許多應用，包括對動物和人類的離子轉運、藥物吸收、蛋白質吸收和多種病理生理過程的研究 [95-97]。因此，提供了一個先進的系統，允許通過使用抑制劑和刺激劑對腸道屏障進行徹底的機制研究。這種方法是當今

最先進評估腸道屏障功能的方法。Ussing Chamber 的初始方法相當複雜，後來由 Grass 和 Sweetana[97] 修改和簡化方法。一般原則是在兩個裝有連續充氧緩衝液的半腔室之間安裝一層縱向剪開的腸道。滲透性標記 / 探針被添加到組織的黏膜面的緩衝液中，即所謂的黏膜腔。在規定的時間間隔後，從組織的漿膜面的緩衝液中，即所謂的漿膜腔來收集樣本，作為細胞旁通透性的測量值 [95]。在實驗過程中，腔室保持在 37°C 及持續供氧的狀態，其中兩對電極能夠監測電生理參數，即電位差 (PD)、短路電流 (Isc) 和 transepithelial electrical resistance (TER)，從而在整個實驗過程中驗證組織的活性 (viability)。所有上皮細胞的特徵是維持電位差的能力，該能力取決於上皮細胞膜中的電離子泵活性。消除電位差所需的電流定義為 Isc，它是離子泵活動的函數。TER 反應了細胞旁通路的電阻，主要透過緊密連接 [98,99]。

四、滲透性標記

TER 的變化很容易說明緊密連接的改變，然而，為了研究組織或細胞培養模型的腸道通透性和完整性，需要應用不同大小的滲透標記的測量。根據大小，標記物在體外和離體研究中作為細胞與細胞間或細胞內探針。

- (1) 腸上皮細胞與細胞間的探針，例如：51 釷 -EDTA：已知 EDTA 與放射性標記的釷的結合能力極強，釷的通過量與 EDTA 的通過量相等，分子量為 384Da 的惰性探針 51 釷 -EDTA 通常在體內使用，因為它在結腸腔環境中穩定，可以評估結腸通透性，並且很容易通過 γ 計數在尿液中檢測到。許多研究已經使用 51 釷 -EDTA 在體內 [100,101] 和離體環境 [98] 中評估了腸道細胞與細胞間通透性。
- (2) 異硫氰酸熒光素 (FITC)- 葡聚糖 :FITC- 葡聚糖 4000 是一種 4kDa 的螢光標記糖分子。FITC- 葡聚糖 4000 是廣泛用於體外研究腸道通透

性 [54,102]。與使用例如 51 銻 -EDTA 相比，使用 FITC- 葡聚糖 4000 的優勢顯然是它沒有放射性標記，因此更易於使用。安裝在 Ussing Chamber 中的活檢滲透性實驗證實 FITC- 葡聚糖 4000 和 51 銻 -EDTA 提供相同的細胞與細胞間滲透性結果 [103]。

- (3) 腸上皮細胞內探針：例如：辣根過氧化物酶 (Horseradish Peroxidase, HRP) 是一種 45kDa 蛋白質抗原，作 蛋白質攝取的標誌物，具有啟動人體免疫反應的抗原潛力。在正常情況下，已知 HRP 通過大胞飲作用穿過細胞 [104,105]。HRP 很容易通過 ELISA 檢測，並且經常用於 Ussing Chamber 的滲透性研究 [98,106]。HRP 的一個優點是它可以通過電子顯微鏡檢測 [98,107]。
- (4) 可以添加細菌作為宿主或體外環境中細胞內細菌攝取的標誌物，也可以使用活的或死的細菌進行實驗。大量螢光標記的死（熱或化學殺死）細菌以各種大小、形狀和天然抗原性存在。殺死的細菌通常用於研究腸上皮細胞的吞噬作用 [108]。這些螢光 BioParticles[®] (Molecular Probes, Leiden, The Netherlands) 例如可作為大腸桿菌 K-12 菌株獲得，該菌株存在於許多不同的波長中。化學殺死的大腸桿菌 K-12 被多聚甲醛殺死，從而阻止其繁殖但保留其抗原性，並且之前已用於腸道屏障功能的研究 [98,109,110]。對於體外和 Ussing Chamber 中的細胞內研究，尺寸以 $0.8 \times 0.2 \mu\text{m}$ 是最佳的研究工具。通過螢光法或流式細胞術可以很容易地檢測到帶有螢光的大腸桿菌通過。化學殺死細菌的一個優點是它們不受 Ussing chamber/ 體外模型中的含氧環境的影響，但是，為了徹底評估宿主 - 微生物相互作用，活細菌是優選的。使用活細菌時，重要的是要考慮將要研究的細菌的生長條件。由於體外和離體方法都涉及氧化以確保細胞 / 組織的存活，因此仔細監測厭氧菌在

這些條件下如何存活並考慮時間因素非常重要。使用前，活菌必須經過預培養並稀釋至固定的 CFU/mL，例如：用於研究腸道組織時，濃度應為 1.0×10^8 CFU/mL，以反映細菌的濃度。通過螢光法或流式細胞術可以很容易地檢測到有 GFP 的活細菌的通過。為了研究宿主 - 微生物的相互作用，可以將活細菌添加到 Ussing Chamber 中，以徹底評估特定細菌或一組細菌如何影響腸道屏障並追蹤途徑以及細菌如何與潛在的黏膜細胞之相互作用。

五、結論

總之，希波克拉底的名言“所有疾病都始於腸道”，在 2000 多年後似乎是正確的，適用於各種病理狀態。我們對腸道屏障和腸道微生物群在健康和疾病中的關鍵作用的認識已經得到了很大的發展，並構成了目前一個深入研究的科學領域，再加上在過去幾年中，對腸道屏障功能的研究與日俱增，新的研究繼續強調腸漏的核心作用。因此，重要的是結合不同的技術，以便盡可能準確地描述腸道屏障功能。儘管腸道上皮屏障的超微結構和功能已得到很好的研究，但腸道屏障其他成分的相互作用仍不清楚，特別是黏液層以及腸道菌如何影響腸道屏障以及如何與潛在的黏膜細胞相互作用。所以未來的研究需應用現代系統生物學方法配合使用基因組學、轉錄組學和蛋白質組學，可能會導致特定的和潛在的個體化藥理標靶用於控制腸道高滲透性的狀態來恢復腸道屏障功能，以改善局部胃腸道疾病或全身性疾病的臨床表現的影響。

參考文獻

1. Galipeau HJ, Verdu EF. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. *Neurogastroenterol Motil.* 2016;28:957-965.
2. Furness JB, Kunze WA, Clerc N. Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut. II. The intestine as a sensory organ: neural, endocrine, and immune responses. *Am J Physiol.* 1999;277:G922-928.
3. Uil JJ, van Elburg RM, van Overbeek FM, Mulder CJ, VanBerge-Henegouwen GP, Heymans HS. Clinical implications of the sugar absorption test: intestinal permeability test to assess mucosal barrier function. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1997;223:70-78.
4. Camilleri M, Vella A. What to do about the leaky gut. *Gut.* 2022;71:424-435.
5. Bjarnason I, Peters TJ, Veall N. A persistent defect in intestinal permeability in coeliac disease demonstrated by a ⁵¹Cr-labelled EDTA absorption test. *Lancet.* 1983;1:323-325.
6. Oulas A, Pavloudi C, Polymenakou P, et al. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinform Biol Insights.* 2015;9:75-88.
7. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science.* 2005;307:1915-1920.
8. Hillman ET, Lu H, Yao T, Nakatsu CH. Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract. *Microbes Environ.* 2017;32:300-313.
9. Ciccarelli FD, Doerks T, von Mering C, Creevey CJ, Snel B, Bork P. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science.* 2006;311:1283-1287.
10. Tocheva EI, Matson EG, Morris DM, Moussavi F, Leadbetter JR, Jensen GJ. Peptidoglycan remodeling and conversion of an inner membrane into an outer membrane during sporulation. *Cell.* 2011;146:799-812.
11. Human Microbiome Project C. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486:207-214.
12. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet.* 2003;361:512-519.

(更多參考文獻請見附錄)

第五章： 基因和環境因素對腸道菌叢發展的角色

Chapter 5 : Role of genetic and environmental factors on gut
microbiota development

楊耀榮、賴馥蘋

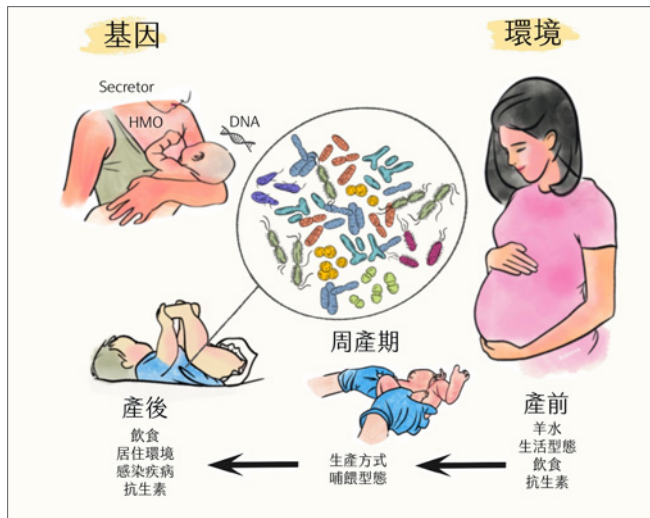
近年研究發現腸道菌叢的組成和多樣性與人類疾病的發生及嚴重度有密切的相關性；在早期嬰兒時期，腸道菌叢的建立扮演著維持人類健康的重要性已經漸漸的被強調。而調控嬰兒腸道菌叢的完整建立和維持與遺傳和環境二大因素有密切關係。環境因素包括：產前的孕期和產婦問題，生產時期的分娩類型（自然產或剖腹產）、出生週數（足月產或早產）、新生兒損傷，和產後的抗生素使用、營養支持、和新生兒疾病。因為腸道菌叢的複雜性相當大，且人們對遺傳基因影響腸道菌叢的了解仍有限。本章節將簡述遺傳和環境因素對腸道菌叢發展的角色。

遺傳基因因素

雙胞胎是一種可以控制環境因素，來探討嬰兒基因對腸道菌叢影響的病例對照研究。基於生活環境和飲食幾乎相似的情況下，Goodrich 等人收集 416 對雙胞胎的糞便檢體分析，發現同卵雙胞胎的腸道菌相會比異卵雙胞胎更相似 [1,2]。由此確定了許多微生物群 (taxa) 其豐富度受宿主遺傳基因的影響。其中發現最可遺傳的類群為 Christensenellaceae 科，它的豐富度與宿主的身體質量指數呈負相關 [1]。此結果說明宿主基因影響腸道微生物組成，並且可以影響宿主的新陳代謝。近年使用 mGWAS (microbial genome-wide association studies) 分析宿主與腸內菌基因，也發現某些腸道微生物組 (microbiomes) 與宿主的 SNPs 有相關性，這些基因對應於人類的代謝性疾病與免疫和發炎性疾病 [3-5]。

從小鼠研究中更容易闡明宿主基因的一致性和可重複性是可以影響腸道微菌叢的組成。同品系小鼠同樣的遺傳背景已被證明對腸道微菌相的影響比性別更強，因為小鼠品系內微生物群組成的相似性顯著高於不同品系之間或同性之間團體 [6-8]。Korach-Rechtman 等人使用 BALB/c 和 C57BL/6J 品系小鼠雜交產生的雜種的第一世代的分析發現，基因因素對微菌相組成的影響大於母鼠或持續暴露於另一品系小鼠的不同微生物相的影響 [7]。

另一種宿主基因影響腸道菌相的發現，可間接分析餵食不同種類和含量母乳寡糖的嬰兒，其腸道菌相的差異來證實。因為母乳寡糖種類的最重要決定因子是 Se 基因。表現 Se 基因 (secretor) 的母親，母乳中寡糖種類是以 2'-FL (2'-Fucosyllactose) 與 LNFP I (Lacto-N-fucopentaose I) 為主，而不表現 Se 基因 (non-secretor) 的母親，則以 3-FL (3-Fucosyllactose) 與 LNT (Lacto-N-tetraose) 為多。Smith-Brown 等人分析哺育母乳超過 4 個月的 2-3 歲兒童糞便微生物相，發現腸內菌種的差異顯著的與母親和嬰兒的 secretor 狀態有相關。同時也發現 secretor 母親哺育的兒童，其腸道中雙歧桿菌的豐富度顯著的高於 non-secretor 母親哺育的兒童 [9]。另外一個研究，在 non-secretor 母親生下的早產兒，發現了較高豐富度的變形菌 (proteobacteria) 和更低的厚壁菌門 (Firmicutes) 的趨勢 [10]。還有 Lewis 等人探討餵食母乳的嬰兒在連續收集前 4 個月的糞菌，發現 secretor 比 non-secretor 媽媽的嬰兒較早建立腸道中的雙歧桿菌，並且哺育不同 secretor 狀態母親母乳的嬰兒，腸道中雙歧桿菌菌種也明顯有差異 [11]。這些證據說明了不同 secretor 基因型的母親產生的母乳，所含的母乳寡糖成份不同，造成哺育嬰兒腸道微生物菌的差異，進而可能影響嬰兒的健康。雖然宿主的遺傳基因會對嬰兒和兒童期的腸內菌相產生影響，但環境因素是一種可以控制的因子，故顯得更為重要。



圖一、嬰兒腸道菌叢建立之影響因子。

環境因素

在產前、周產期和產後階段遇到的不同環境因素被證實會影響嬰幼兒腸道微菌叢組成，進而可能影響以後的疾病風險，例如氣喘、代謝性疾病和發炎性腸炎。

產前 (懷孕期，prenatal stage) 的因素

在懷孕過程中，胎兒暴露在羊水的保護之中。早些觀念認為正常狀態下羊水是無菌的環境，但近年研究者使用偵測細菌 DNA 和代謝物的方法，提出羊水中是存在有某些細菌的看法 [12,13]。雖然直接從羊水或胎盤培養出細菌的證據仍然薄弱和缺乏 [13]。這些可能存在於羊水或胎盤的特殊細菌群，對於胎兒腸胃道的生成具有重要的角色。胎兒從大約懷孕 10 周以後開始有吞嚥的動作，這些帶有特殊菌種的羊水接觸到胃和腸細胞後，將促使腸道細胞和腺體發育，以及刺激免疫細胞的成熟 [14]。雖然羊水中帶有的微菌叢仍屬於一個低豐富度，低多樣性和以變形菌為多數的環境 [13]。

懷孕時期，媽媽的生活型態、飲食、以及抗生素的使用也會影響嬰幼兒腸道微菌叢的生成。臨床研究發現，懷孕媽媽的飲食，尤其是飽和 (saturated, SFA) 和單一不飽和脂肪酸 (monounsaturated fatty acids, MUFA) 的攝食，與新生兒時期腸道內厚壁菌門 (Firmicutes) 的種類呈現正相關 [15]。但是一個在馬拉威的研究發現，為懷孕期間和產後 6 個月的母親以及 6 至 18 個月的嬰兒提供基於脂質的營養補充劑 (Lipid-Based Nutrient Supplements) 可促進嬰兒 18 個月大時的腸道微菌叢多樣性，但不會促進微菌叢的成熟 (microbiota-for-age z score, [16])。懷孕母親補充維生素 D 對於嬰兒腸道微菌叢的影響仍有爭議 [17,18]。一個大型隨機對照試驗評估了懷孕期間補充維生素 D 對嬰兒腸道和呼吸道微菌叢的影響發現，補充維生素 D 不會影響嬰兒腸道和母親陰道的微菌叢 [17]。而加拿大母嬰族群的研究發現，母親懷孕時以及嬰兒補充維生素 D 會顯著

的影響嬰兒腸道某些菌種的豐富度 [18]。至於維生素 D 的補充對於兒童哮喘 (wheezing) 疾病的預防效果與腸道微菌叢的關係，仍須日後的探討。

孕婦產前使用抗生素會影響嬰兒早期腸道微菌叢的組成和豐富度是廣泛被接受的。一個系統性回顧研究了 24 個獨立的研究指出，孕婦產前和生產時使用抗生素，會降低嬰兒腸內菌的多樣性 [19]。分析菌種的差異顯示暴露到抗生素的嬰兒，腸內擬桿菌 (Bacteroidetes) 和雙歧桿菌 (*Bifidobacteria*) 的豐富度會減低，伴隨著變形桿菌門 (Proteobacteria) 的增加。近期的研究發現當預防性抗生素使用在剖腹產產婦時，與自然產產婦比較，明顯改變了新生兒在一個月大時腸道內微菌叢的組成 [20]。但是抗生素給藥的時機 (手術前 vs. 斷臍後) 對於嬰兒腸道微菌叢的影響，研究結果不一 [20,21]。在有差異的報告中指出，斷臍後再給母親預防性抗生素的出生嬰兒，其胎便菌相呈現以葡萄球菌屬為顯著。而當嬰兒一個月大和一歲時，腸道菌相則會有較明顯的梭菌屬 (*Genus Clostridium*) 細菌 [21]。雖然這些結果是孕婦使用抗生素影響嬰兒腸道微菌叢的證據，但此變化對於嬰兒，甚至兒童到成人健康的影響，則需要更長時間的追蹤證實。

周產期 (perinatal stage) 的因素

生產方式 (自然產 vs. 剖腹產) 以及新生兒的餵食型態 (母乳哺育 vs. 配方奶餵食) 影響嬰兒腸道微菌叢的組成和豐富度經常被報導。新生兒腸道內定植的固有菌種，尤其是雙歧桿菌屬，被認為是從母親轉移過來的。Makino 等人分析母親與嬰兒一系列的糞便檢體發現，多種單一系列雙歧桿菌菌株可以同時在母親與嬰兒腸道中發現，並且自然產嬰兒帶有這些同系菌株的比率遠高於剖腹產嬰兒 (91.7% vs. 0) [22]。同樣比較哺育母乳且表現 Se 基因 (secretor) 媽媽的嬰兒一個月大時，剖腹產嬰兒腸道中龍根雙歧桿菌 (*B. longum*) 與擬桿菌的豐富度比自然產嬰兒來得低 [23]。這些菌種的差異皆從出生幾天後開始顯出差

別，並且可以延遲到數月和周歲。Princisval 等人使用薈萃分析 (meta-analysis) 探討了 31 篇觀察性的研究，同樣發現了有此現象 [24]。有趣的是，剖腹產的嬰兒如果哺育母乳，其腸道的菌相會更相似於自然產的嬰兒。這些證據闡述了生產方式對嬰兒腸道微菌叢建立和發展的重要性。

母乳除了是嬰幼兒最天然的營養來源外，它所含有的生物活性物質對嬰兒的免疫系統發展尤其重要。母乳哺育的嬰兒，糞便中的微生物組和代謝組 (metabolome) 顯著的與奶粉餵食的嬰兒不同 [25,26]。Savage 等人比較母乳哺育和餵食配方奶嬰兒的腸內菌相發現，母乳哺育嬰兒的腸道中有較高豐富度的雙歧桿菌屬、乳酸桿菌屬、以及梭菌屬 [26]。但此差異會在不同種族間而有所不同。嬰兒早期的營養來源不同 (母乳或嬰兒奶粉)，造成了早期腸道菌叢組成的差異，進而產生不同的腸道內代謝組差異 [25,27]。母乳中所具有的生物活性物質，例如：乳脂球膜 (Milk fat globule membrane, MFGM)，對於嬰兒免疫系統與神經的發展皆被報導有其貢獻 [28]。近年來發現奶粉中添加牛-來源的乳脂球膜也可以改變腸道中的菌種分佈，使之趨近於母乳哺育的嬰兒 [29,30]。Yao 等人使用人、山羊、以及牛的乳汁分離出的 MFGMs 研究發現，三種 MFGM 都可以促進雙歧桿菌和乳酸菌對腸細胞的附著力，並且抑制腸道致病菌的附著 [31]。當把三種 MFGMs 加入實驗小鼠的飲食中發現，人類與山羊母乳 MFGM 添加的小鼠，顯著的改變了腸道微菌叢的多樣性與豐富度。而添加人類母乳 MFGM 小鼠，腸道內明顯以阿克曼氏菌 (*Akkermansia*) 和雙歧桿菌等益生菌為主。綜合前述的母乳寡糖 (Human Milk Oligosaccharides, HMO) 以及 MFGM 的證據，哺育母乳的嬰兒經由這些具生物活性物質的攝取，而建立完整的腸道微菌叢與免疫系統，進而促進人類的健康。

產後 (postnatal) 因素

影響嬰兒腸道微菌叢的建立與發展的產後因素，包括：飲食、居住環境、

感染疾病、以及抗生素的使用。前述已經對母乳哺育影響嬰兒腸道菌叢以及日後健康的重要性做完整論述。在嬰兒加入固體食物後，考慮分析媽媽飲食和嬰兒食物(母乳或配方奶)後，仍與腸道內梭菌屬呈正相關 [26]。若過早給予(三個月大)母乳哺餵嬰兒致敏性食物(例如：牛奶、雞蛋、花生、芝麻、鱈魚、小麥)，會增加腸道菌相的多樣性，並且使得菌相趨向於普雷沃氏菌科(Prevotellaceae)和變形菌(Proteobacteria)為主 [32]。另外，研究者也發現哺育母乳6個月的嬰兒，附食品使用強化鐵的穀物、強化鐵穀物加水果、或加肉類，其腸道菌群的豐富度皆會不同 [33]。這些實例都在說明，不同的飲食種類也會影響嬰兒腸道微生物叢的種類和豐富度。至於建立何種腸道菌相會對嬰兒或甚至成人的健康最有助益，仍須更長久和更詳細的觀察。

嬰兒和兒童生長的環境也會影響腸道微生物叢的組成。生長在鄉村的兒童腸道菌種的豐富度，在幾個對照組研究中發現明顯不同 [34,35]。鄉村兒童的產乳酸細菌、大腸菌群(coliforms)、以及葡萄球菌顯著的高於都市兒童。而此種差異是否造成日後兒童或成年人的健康，仍無直接的人體證據。考量除了居住環境外，家庭成員人數、抗生素使用、引水和飲食、文化背景、和社經狀況都是可能的影響因素。越來越多的證據顯示感染症在人類和動物實驗上，腸道微生物扮演著重要的角色。不論在局部器官(例如：泌尿道)或是系統性(例如：敗血症)的感染，其發生率與併發症也可以發現與某些菌種或菌屬的豐富度有強烈的相關性 [36,37]。

新生兒出生後因為各種原因使用了抗生素，影響日後兒童健康的研究相當多。經過系統性與薈萃分析後發現，嬰兒時期使用抗生素會增加過敏性疾病(包括：異位性皮膚炎、過敏性鼻結膜炎、和氣喘)、肥胖、自體免疫疾病(包括：幼年型特發性關節炎和牛皮癬)、自閉症譜系障礙(autism spectrum disorders)、以及神經發展性疾病的風險 [38]。雖然，觀察發現嬰兒使用抗生素增加了罹患

這些疾病的風險，但現今仍無強烈的證據支持是否抗生素改變了腸道內微生物菌的多樣性或組成，而造成這些疾病的發生。

總之，探討並了解基因與環境因素影響腸道菌叢的機制，可以讓我們對於因腸道菌失衡所造成的疾病機轉更清楚，進而從基因與環境層面著手，找到可以預防或治療這類相關疾病的方法。

參考文獻

1. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, et al: Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*. 2014;159:789-99.
2. Goodrich JK, Davenport ER, Waters JL, Clark AG, Ley RE: Crossspecies comparisons of host genetic associations with the microbiome. *Science*. 2016;352:532-5.
3. Wang J, Thingholm LB, Skiecevi en J, et al: Genome-wide association analysis identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet*. 2016;48:1396-1406.
4. Knights D, Silverberg MS, Weersma RK, et al: Complex host genetics influence the microbiome in inflammatory bowel disease. *Genome Med*. 2014;6:107.
5. Hall AB, Tolonen AC, Xavier RJ: Human genetic variation and the gut microbiome in disease. *Nat Rev Genet*. 2017;18:690-9.
6. Buhnik-Rosenblau K, Danin-Poleg Y, Kashi Y: Predominant effect of host genetics on levels of *Lactobacillus johnsonii* bacteria in the mouse gut. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:6531-8.
7. Korach-Rechtman H, Freilich S, Gerassy-Vainberg S, et al: Murine genetic background has a stronger impact on the composition of the gut microbiota than maternal inoculation or exposure to unlike exogenous microbiota. *Appl Environ Microbiol*. 2019;85:826.
8. Kovacs A, Ben-Jacob N, Tayem H, Halperin E, Iraqi FA, Gophna U: Genotype is a stronger determinant than sex of the mouse gut microbiota. *Microb Ecol*. 2011;61:423-8.
9. Smith-Brown P, Morrison M, Krause L, Davies PSW: Mothers secretor status affects development of childrens microbiota composition and function: a pilot study. *PLoS One*. 2016;11:e0161211.
10. Underwood MA, Gaerlan S, De Leoz MLA, et al: Human milk oligosaccharides in premature infants: absorption, excretion, and influence on the intestinal microbiota. *Pediatr Res*. 2015;78:670-7.
11. Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, et al: Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome*. 2015;3:13.
12. He Q, Kwok LY, Xi X, et al: The meconium microbiota shares more features with the amniotic fluid microbiota than the maternal fecal and vaginal microbiota. *Gut Microbes*. 2020;12:1794266.

(更多參考文獻請見附錄)

PART 3

微生物相
與疾病

Microbiota
in Disease

第六章：腸道菌群軸和疾病

Chapter 6 : Axes of gut microbiota and diseases

吳登強

人類腸道擁有數以百萬計的微生物，這些微生物定義了一個複雜的微生物群落。腸道微生物群已被描述為一個重要器官，與其他器官形成多向連接軸。腸道微生物群軸負責宿主與微生物的相互作用，並經由與神經、內分泌、體液、免疫和代謝途徑進行交流來發揮作用。人類腸道微生物與宿主有共生關係，通常與宿主的免疫力相關以抵禦病原體入侵。因此，腸道菌群失調與多種人類疾病有關，例如腸胃疾病、皮膚疾病、心血管疾病、神經元疾病、肺部疾病、代謝性疾病、腎臟疾病和癌症等。

導致疾病發展的機制與人類的腸道微生物群、代謝產物和宿主免疫反應具有至關重要的相關性。全面了解腸道微生物群的相互作用、其在健康和疾病中的作用以及該主題的最新更新是當前引人注目的主題。

人類腸道是一個複雜的微生物生態系統，由大約 100 萬億個微生物組成，統稱為“腸道微生物群”。粗略估計，人類腸道微生物組包含近 330 萬個基因，大約是人類基因組中存在的人類基因總數的 150 倍。大量的遺傳信息產生各種酶和生理活性物質。因此，腸道菌群有助於維持宿主健康；然而，當健康的微生物組成受到干擾時，這種情況被稱為“生態失調”，改變的腸道微生物群會引發各種疾病的發展。

越來越多的證據支持人類腸道微生物組與腸道外器官功能之間的關係。研究人員創造了術語“軸”來描述身體的一部分與身體的另一部分進行生化交流的雙向或多向通路。已經確定了腸道和非胃腸道器官系統之間的特定軸。軸可以沿著神經通路運行，穿過門靜脈或直接穿過腸上皮屏障進入血液。腸道微生物組具有多種功能，包括保護腸道屏障的完整性、產生維生素 B12 和 K 等維生素以及調節免疫系統。腸道微生物組代謝可用的產物並釋放各種代謝物，例如短鏈脂肪酸 (Short-chain fatty acids, SCFA) 和神經活性化合物，這些代謝

物成為經由各個軸傳播並調節遠端組織功能的生化信號。這種與生俱來的交流系統展示了腸道微生物組對人體生理學的影響。

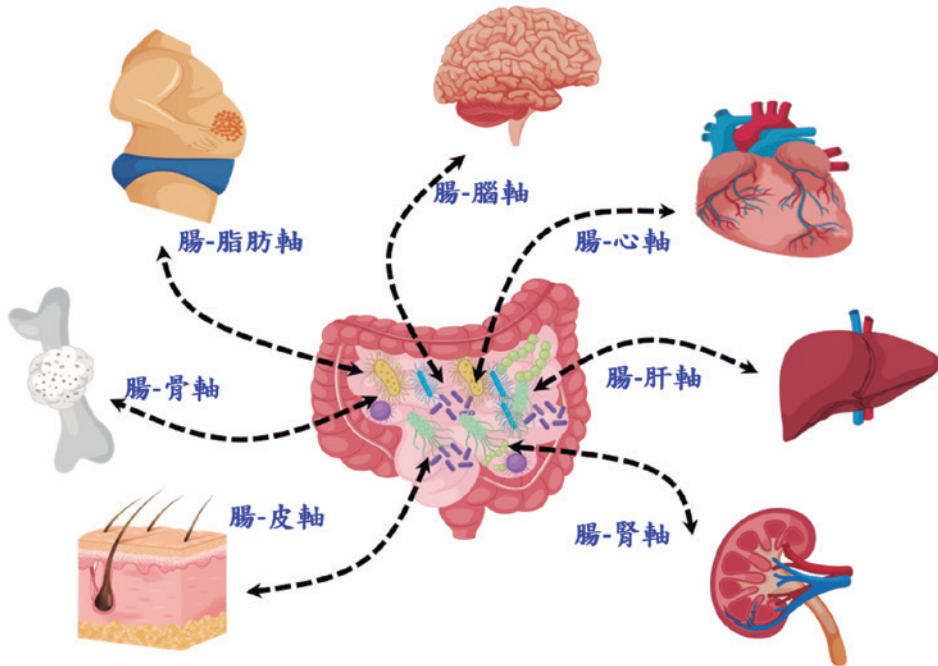


圖 1. 腸道、相關微生物群和各種器官之間的雙向或多向通信鏈接或“軸”。

腸胃疾病 [1]

當健康的微生物組成受到干擾時，改變的腸道微生物群會引發各種胃腸道疾病的發展。腸道微生物群為胃腸病學中極其重要的研究領域。有助於將腸道菌群的研究成果應用於人類胃腸道疾病的防治。一項隨機對照試驗表明，糞便微生物群移植 (Fecal microbiota transplantation, FMT) 對復發性困難梭菌感染 (Clostridioides difficile infection, CDI) 具有積極之改善作用。這些發現助於針對腸道微生物群的治療方法的開發，例如應用於人類胃腸道疾病，包括困難梭菌感染 (Clostridioides difficile infection, CDI)、炎症性腸病 (Inflammatory bowel diseases, IBD) 和大腸激躁症 (Irritable bowel syndrome, IBS) 等。

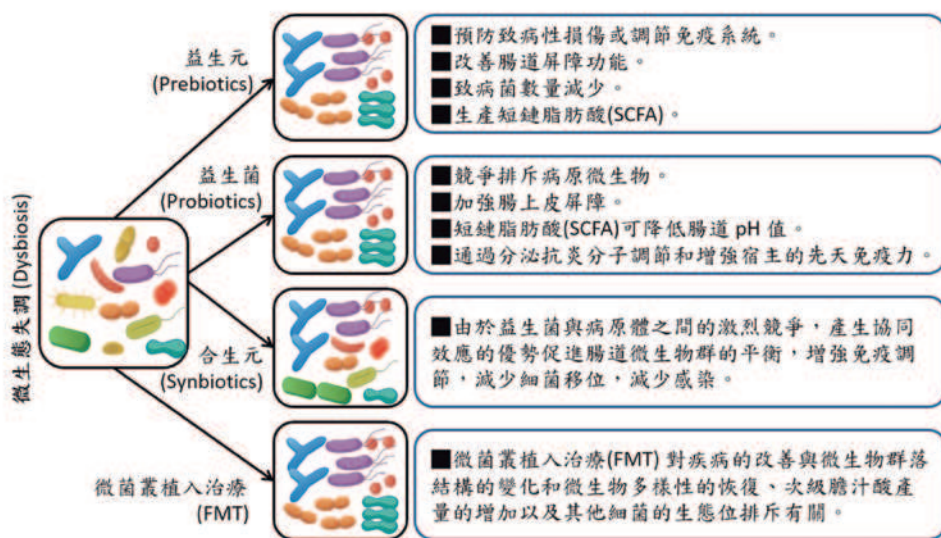


圖 2. 益生元 (Prebiotics)、益生菌 (Probiotics)、合生元 (Synbiotics) 和微菌叢植入治療 (FMT) 功效的潛在機制

皮膚疾病 [2-4]

皮膚是人體最大的器官，環境因素與人體皮膚的相互作用會導致一些皮膚病，作為人體免疫防禦的第一道防線，皮膚經由防止受皮膚微生物群影響嚴重的病原體入侵，在人體健康中發揮著重要作用。儘管對微生物來說是一個具有挑戰性的生態位，但人類皮膚被塑造皮膚環境的多種共生微生物定殖。皮膚微生物群會影響人體健康，其失衡和失調會導致皮膚病。

皮膚和胃腸道具有以下共同特徵，這些特徵構成了它們的軸的基礎：

- 被微生物群定殖。
- 富含免疫細胞、神經和血液供應。
- 平均總表面積 >20 平方米的大型器官。
- 襯有上皮細胞，形成與外界環境的保護屏障。

據報導，腸道和皮膚之間的交流涉及多個渠道，包括免疫和內分泌系統。例如，小麥過敏表現為胃腸道反應(胃痙攣(Stomach cramps)、腹瀉(Diarrhea))、免疫反應(流鼻涕(Runny nose)、打噴嚏(Sneezing)、搔癢(Itching)和皮膚反

應 (皮疹 (Rash)、蕁麻疹 (Hives))。研究發現，經由不完整的皮膚接觸室內灰塵中的花生蛋白會導致特應性皮炎患者對花生過敏。證據表明，近 10% 的大腸激躁症 (Irritable bowel syndrome, IBS) 患者患有乾癬 (Psoriasis)。此外，與僅服用維生素 D 補充劑的參與者相比，皮膚接觸窄帶 UVB 光的研究參與者表現出更高的血清維生素 D 水平和更大的腸道微生物組多樣性。這些例子說明了腸道和皮膚之間經由免疫和內分泌系統的雙向交流。

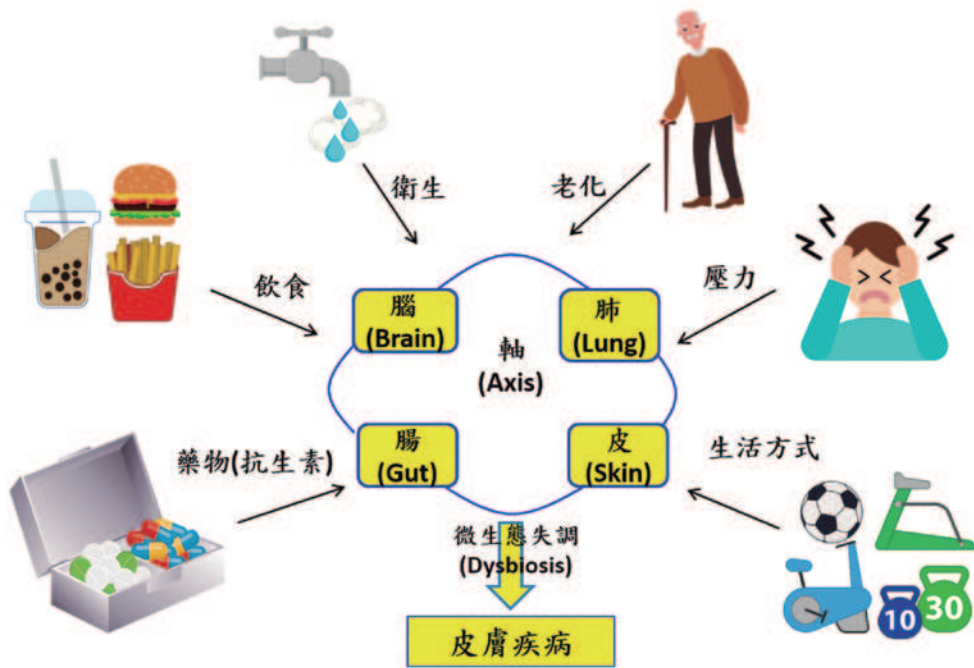


圖 3. 與皮膚病相關的因素。生活方式、壓力、飲食、衛生、年齡和藥物 (抗生素) 的應用經由腸、皮膚、肺和腦軸之間的聯繫與皮膚病密切相關。

心血管疾病 [5]

腸道微生物群正日益成為心血管疾病 (Cardiovascular disease, CVD) 發展的危險因素。腸道微生物群衍生的代謝物，如短鏈脂肪酸 (Short-chain fatty acids)、三甲胺 -N- 氧化物 (Trimethylamine-N-oxide)、膽汁酸 (Bile acids) 和多

酚 (Polyphenols)，在維持健康的心血管功能方面發揮著關鍵作用，當失調時，可能會導致心血管疾病 (Cardiovascular disease, CVD)。特別是，腸道微生物群的組成和多樣性發生變化，稱為生態失調，與動脈粥樣硬化、高血壓和心力衰竭有關。儘管如此，潛在的機制仍未被完全理解。因此，微生物群及其代謝產物已成為防治心血管疾病的新治療靶點。除了多樣化和均衡的飲食外，使用益生元和益生菌治療或選擇性三甲胺 -N- 氧化物 (Trimethylamine-N-oxide) 抑制劑可以在預防心血管疾病 (Cardiovascular disease, CVD) 方面發揮關鍵作用，特別是對於代謝風險高的患者。

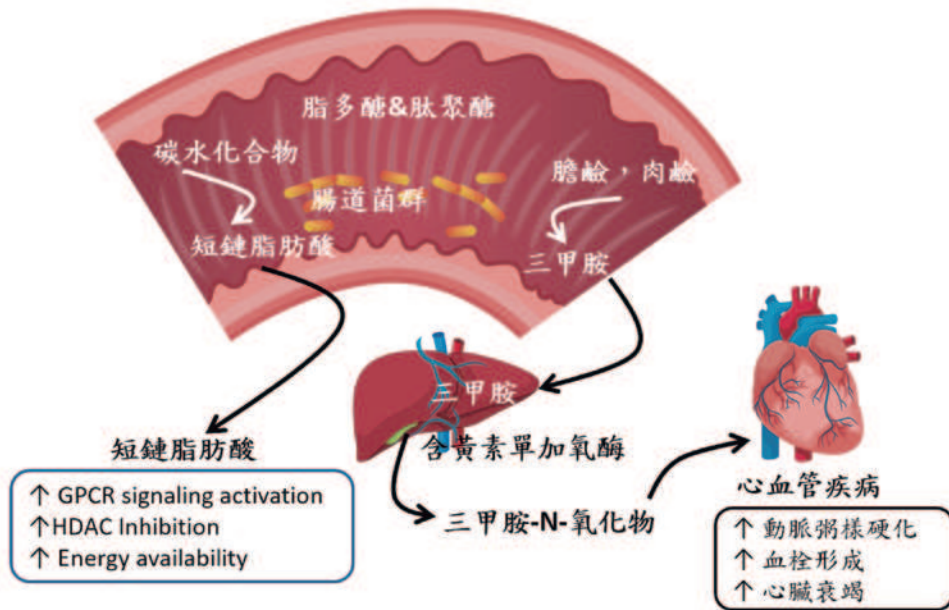


圖 4. 腸道菌群在心血管疾病進展中的作用。

EMCF 表示含黃素單加氧酶 (enzyme monoxygenase-containing Flavin)；GPCR，G 蛋白偶聯受體 (G protein-coupled receptor)；HDAC，組蛋白脫乙酰酶 (histone deacetylase)；LPS，脂多醣 (lipopolysaccharide)；MI，心肌梗塞 (myocardial infarction)；SCFA，短鏈脂肪酸 (short-chain fatty acids)；TMA，三甲胺；TMAO，三甲胺 -N- 氧化物 (trimethylamine-N-oxide)。

神經疾病 [6]

腸道微生物群與大腦之間的聯繫被稱為腸腦軸 (Gut-brain axis, GBA)，涉及經由中樞神經系統 (Central nervous system, CNS)、腸神經系統 (Enteric nervous system, ENS) 以及內分泌和免疫通路的連接。均衡的飲食對於建立健康的腸道微生物群 (Gut microbiota, GM) 至關重要，它可以改變腸神經系統 (Enteric nervous system, ENS) 並調節多種神經系統疾病。腸道微生物群透過腸腦軸 (Gut-brain axis) 自下而上地調節中樞神經系統，這促使研究人員相當關注腸道微生物群可能在預防和治療相關疾病，例如帕金森疾病 (Parkinson's disease, PD)、阿滋海默症 (Alzheimer's disease, AD) 和肌萎縮側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 等中發揮作用的潛在途徑。對肌萎縮側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 動物模型的研究表明，腸道生態失調會導致腦 - 腸信號 (Brain-gut signaling) 失調。這反過來又會引起腸道屏障、內毒素血症和全身炎症的變化，從而導致肌萎縮側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 的發展。經由使用抗生素、益生菌補充劑、噬菌體療法 (Phage therapy) 等誘導腸道菌群改變從而抑制炎症和延緩神經元變性的方法，可以減輕肌萎縮側索硬化的臨床症狀，延緩疾病的進展。因此，腸道微生物群可能是有效管理和治療神經系統疾病的關鍵目標。

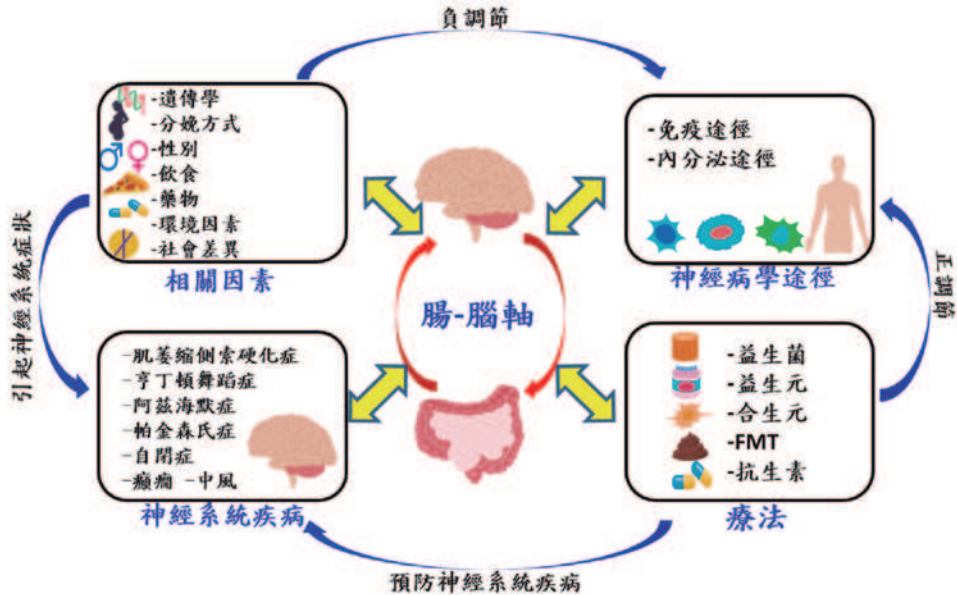


圖 5. 顯示了 GBA 中與 GM 相關的神經系統疾病的概述。

該圖說明了導致神經系統疾病的相關因素和所涉及的途徑，這些因素由因素（負調節）或治療（正調節）調節。這些通路的失調會導致多種神經系統疾病，例如帕金森氏症 (Parkinson's disease, PD)、阿茲海默症 (Alzheimer's disease, AD)、多發性硬化症 (Multiple sclerosis, MS)、肌萎縮側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、自閉症 (Autism spectrum disorder, ASD)、中風和腦損傷 (Stroke and Brain injury)、癲癇 (Epilepsy) 和亨丁頓舞蹈症 (Huntington's disease, HD)。此外，還提供了有關用於治療神經系統疾病的微生物療法的信息，包括益生元、益生菌、後生元、合生元、抗生素和糞便移植。展示了與疾病相關的生物標誌物水平調節，以及參與治療的微生物及其預防疾病的有益作用。

肺部疾病 [7]

腸道微生物群與肺之間存在重要的相互作用，這被稱為腸肺軸 (Gut-lung axis)。廣泛的研究觀察到肺部疾病，包括過敏 (Allergy)、氣喘 (Asthma)、慢性阻塞性肺病 (Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、囊性纖維化 (Cystic fibrosis) 和肺癌 (Lung cancer) 中的腸道紊亂。近年來，研究腸道微生物群如何影響其他遠處器官引起了極大的興趣。儘管尚未完全了解這種紊亂是肺部疾病的原因，腸道微生物種類和代謝物的改變與免疫反應和炎症的變化以及肺部疾病的發展、作用和機制及具有相關性。腸肺軸 (Gut-lung axis) 在介導免疫反應和重塑炎症中發生了作用，操縱腸道微生物群和代謝物的策略可作為治療肺部疾病的潛力方法。

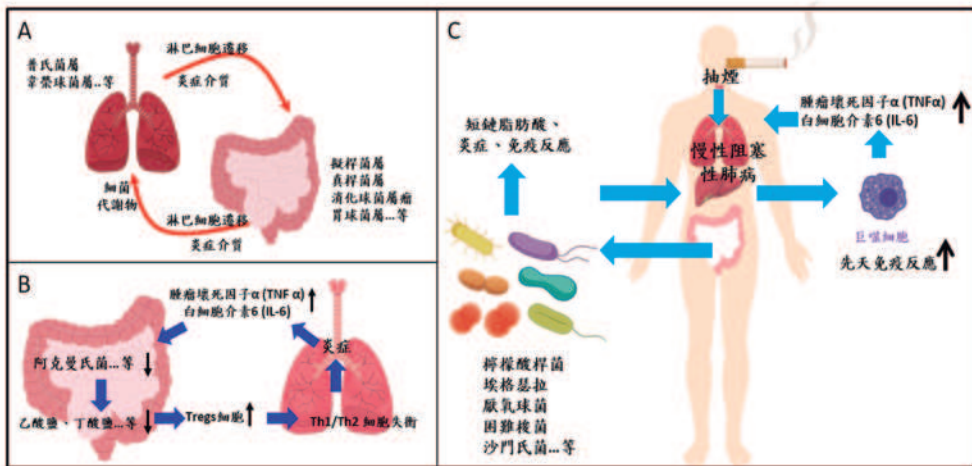


圖 6. (A) 腸道和肺之間的串擾。(B) 腸肺軸在氣喘中的潛在作用。(C) 慢性阻塞性肺病 (COPD) 中的腸 - 肝 - 肺軸。

代謝性疾病 [8-10]

代謝性疾病是對公眾健康的嚴重威脅，與腸道微生物群有關。人類腸道微生物群是一個龐大而複雜的微生物群落，被認為在調節宿主代謝方面發揮著重要作用。腸道微生物群的破壞導致宿主的病理反應，從而導致多種代謝性疾

病，例如肥胖症、2 型糖尿病、非酒精性脂肪肝、高血壓等主要代謝性疾病的影響和發展。因此，靶向腸道菌群的代謝性疾病的作用和機制值得探討和闡明。調節腸道微生物群組成、調節腸道微生物代謝物和改善腸道屏障功能有利於代謝性疾病的管理，尤其是肥胖和 2 型糖尿病等。

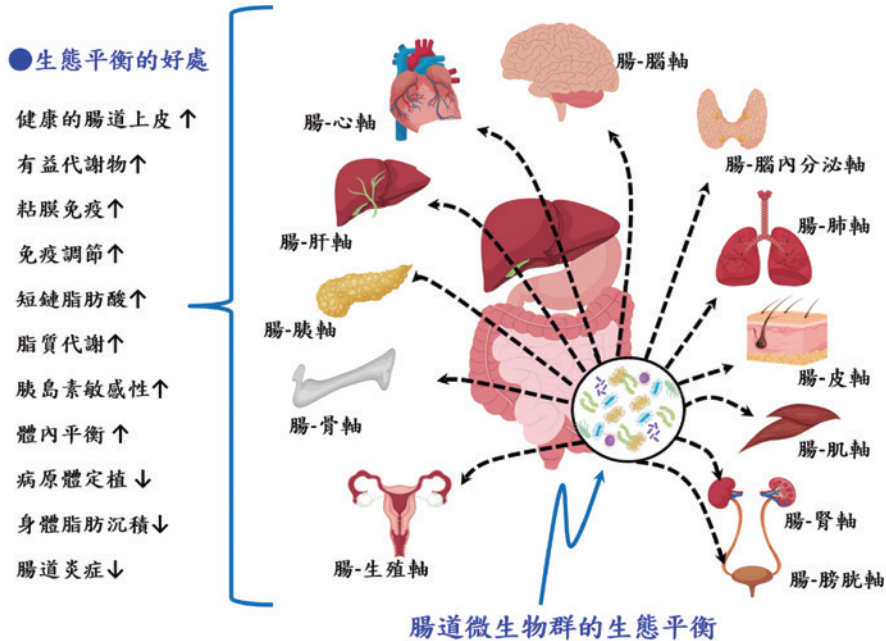


圖 7. 腸道微生物共生的積極健康結果。

腎臟疾病 [11]

在過去幾年中，人們對腸道微生物群失調及其與腎臟病 (Renal disease) 的發展和進展的潛在關聯的興趣大幅增加。隨著宿主相關因素和環境因素的重要性日益得到認可，微生物組領域已經相當成熟。過去在慢性腎臟病 (Chronic kidney disease, CKD) 背景下的研究成果沒有充分考慮該疾病特有的無數混雜因素。腸道微生物群衍生的代謝物仍然是降低尿毒症毒性的候選治療靶點。未來除了關於飲食和生物干預效果的研究將需要協調相關讀數，深入了解潛在的有

益機制之外。調查腸道細菌的相對組成和豐度，以及它們與血漿尿毒症毒素水平的潛在關聯，對患者腸道微生物組進行深入定量和功能探索，對於合理選擇和監測可作為慢性腎臟病 (Chronic kidney disease, CKD) 個人化干預措施的飲食和生物干預策略至關重要。

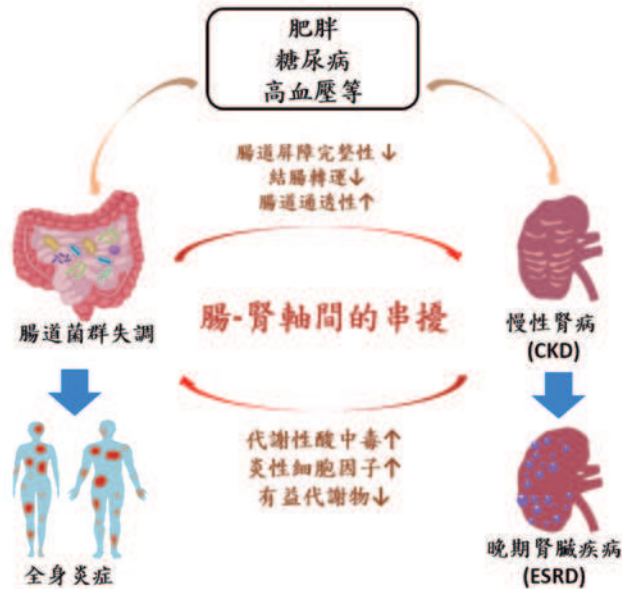


圖 8. 腸道微生物失調與慢性腎病 (CKD) 之間關係的機制。

CKD 導致腸道菌群失調，破壞腸粘膜屏障，使活細菌或其代謝物進入血液。它們的代謝物經由腸道屏障滲漏和易位進入循環系統會引發氧化應激和炎症，最終導致局部組織和血管功能障礙。

癌症疾病 [12]

改變的微生物組可能與複雜的癌症疾病有關。瘤內微生物成分 (Intratumoral microbial components) 存在於多種腫瘤組織中，與癌症的發生、發展和治療效果密切相關。瘤內微生物群 (Intratumoral microbiota) 可能有助於透過 DNA 突變促進癌症的發生和發展，激活致癌途徑，促進慢性炎症，補體系統和啟動轉移。此外，腫瘤內微生物群不僅可以經由 STING 信號激活 (STING signaling activation)、T 和 NK 細胞激活 (T and NK cell activation)、TLS

產生 (TLS production) 和腫瘤內微生物群衍生抗原呈遞 (Intratumoral microbiota-derived antigen presenting) 等機制增強抗腫瘤免疫力，還可以經由上調活性氧類 (Reactive oxygen species, ROS)，促進抗炎環境、T 細胞失活和免疫抑制。腫瘤內微生物群 (Intratumoral microbiota) 對抗腫瘤免疫的影響取決於微生物群的組成、微生物群與癌症之間的相互作用以及癌症的狀態。瘤內微生物群 (Intratumoral microbiota) 可經由不同的信號通路調節癌細胞生理和免疫反應，包括 ROS、 β - 連環蛋白、TLR、ERK、NF- κ B 和 STING 信號等。這些觀點可能有助於確定微生物群作為癌症的診斷或預後評估，以及作為癌症治療的新治療策略和潛在的治療靶點。

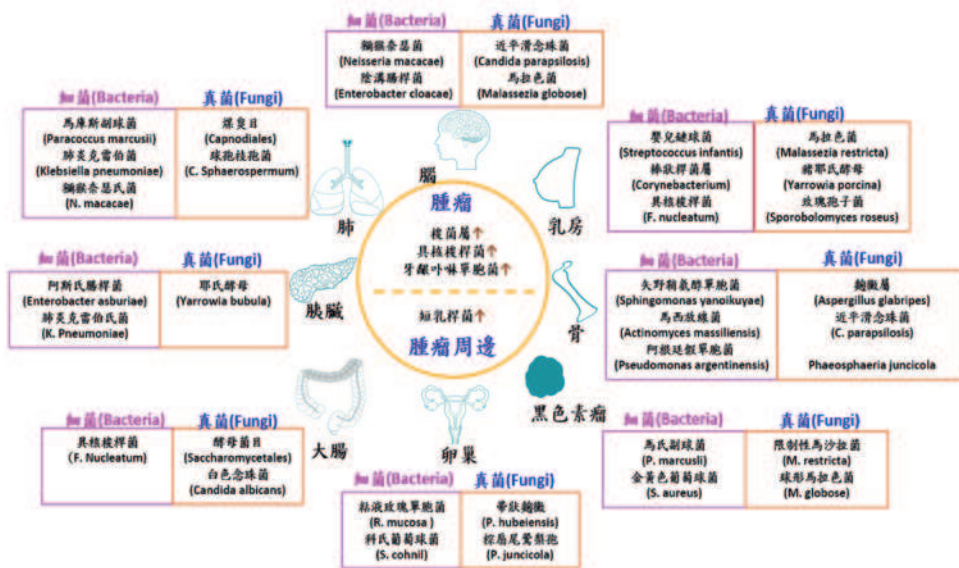


圖 9. 腫瘤內微生物群的多樣性。一些腫瘤與微生物感染密切相關。每種腫瘤類型，包括肺癌、乳腺癌、胰腺癌、卵巢癌、腦癌、骨腫瘤和黑色素瘤，都有不同的細菌和真菌成分。此外，已經發現腫瘤和腫瘤周圍組織之間存在明顯的微生物群落。

結論

身體健康狀況可能就在腸道內。腸 - 器官軸是一個雙向或多向、多通道的通信系統，越來越多的研究發現，在微生態失調中，促發炎微生物群產生代謝物，經由不同的腸 - 器官軸到達腸外器官，將微生態失調與急性和慢性疾病聯繫起來。因此，整體健康狀況在一定程度上可以經由腸道微生物及其基因的多樣性和組成來解釋。

從腸道微生物組成、腸 - 器官軸和微生態失調的科學證據中得出的一個關鍵結論：人體的健康狀況可能會遭受到損害、改善和恢復，這可能取決於腸道微生物的組成及其代謝物質的特性，進而影響生理的生化信號，經由腸 - 器官軸影響健康和疾病。

參考文獻

1. Nishida A, Nishino K, Ohno M, Sakai K, Owaki Y, Noda Y, et al. Update on gut microbiota in gastrointestinal diseases. *World J Clin Cases*. 2022;10(22):7653-64.
2. Yang Y, Qu L, Mijakovic I, Wei Y. Advances in the human skin microbiota and its roles in cutaneous diseases. *Microb Cell Fact*. 2022;21(1):176.
3. Ahlawat S, Asha, Sharma KK. Gut-organ axis: a microbial outreach and networking. *Lett Appl Microbiol*. 2021;72(6):636-68.
4. De Pessemier B, Grine L, Debaere M, Maes A, Paetzold B, Callewaert C. Gut-Skin Axis: Current Knowledge of the Interrelationship between Microbial Dysbiosis and Skin Conditions. *Microorganisms*. 2021;9(2).
5. Anselmi G, Gagliardi L, Egidi G, Leone S, Gasbarrini A, Miggiano GAD, et al. Gut Microbiota and Cardiovascular Diseases: A Critical Review. *Cardiol Rev*. 2021;29(4):195-204.
6. Tiwari P, Dwivedi R, Bansal M, Tripathi M, Dada R. Role of Gut Microbiota in Neurological Disorders and Its Therapeutic Significance. *J Clin Med*. 2023;12(4).
7. Zhang D, Li S, Wang N, Tan HY, Zhang Z, Feng Y. The Cross-Talk Between Gut Microbiota and Lungs in Common Lung Diseases. *Front Microbiol*. 2020;11:301.
8. Afzaal M, Saeed F, Shah YA, Hussain M, Rabail R, Socol CT, et al. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. *Front Microbiol*. 2022;13:999001.
9. Shi Q, Dai L, Zhao Q, Zhang X. A review on the effect of gut microbiota on metabolic diseases. *Arch Microbiol*. 2022;204(3):192.
10. Li HY, Zhou DD, Gan RY, Huang SY, Zhao CN, Shang A, et al. Effects and Mechanisms of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics on Metabolic Diseases Targeting Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*. 2021;13(9).
11. Krukowski H, Valkenburg S, Madella AM, Garssen J, van Bergenhenegouwen J, Overbeek SA, et al. Gut microbiome studies in CKD: opportunities, pitfalls and therapeutic potential. *Nat Rev Nephrol*. 2023;19(2):87-101.
12. Yang L, Li A, Wang Y, Zhang Y. Intratumoral microbiota: roles in cancer initiation, development and therapeutic efficacy. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8(1):35.

第七章： 胃微生物相在胃癌發生的組成 與可能角色

Chapter 7 : Gastric microbiota composition and the potential
role in gastric carcinogenesis

鄭修琦

胃微生物相與口腔，食道，小腸之微生物相因為吞嚥與十二指腸逆流而有相似之處。胃癌發生，是由幽門桿菌感染引起胃炎，進展至萎縮性胃炎與胃黏膜腸化生之癌前病變，而胃持續發炎促使胃癌發生。癌前病變之胃酸鹼值上升，粘蛋白改變，促使胃微生物相改變。研究發現來自口腔之微生物與持續胃炎和胃癌有關，另有研究發現來自腸道之微生物與胃癌有關。胃微生物組成的變化可能是造成胃癌之原因，而與胃癌發生之因果關係需進一步研究確認。

前言

人類共生微生物定殖於所有黏膜上，包括酸性環境之胃。每個人都有自我特色的胃微生物相，但主要的菌門 (*phylum*) 還是相同，包括放線菌門 (*Actinobacteria*)、擬桿菌門 (*Bacteroidetes*)、梭桿菌門 (*Fusobacteria*)、厚壁菌門 (*Firmicutes*)、變形菌門 (*Proteobacteria*) [1]；而最常見的菌屬 (*genus*) 是 *Lactobacillus*、*Streptococcus*、*Propionibacterium* [2]。癌症的發生是多重因素造成的 [3]，而微生物相改變所造成的微生態失調 (*dysbiosis*) 可能會引發免疫反應，進而誘發癌症發生。然而，除了幽門桿菌 (*Helicobacter pylori*) 確定是消化性潰瘍和胃癌的病原體以外，人類胃微生物相在相關疾病的角色仍不清楚 [4, 5]。

消化道的微生物相

每段腸胃道微生物相不盡相同，但會與鄰近部位相似 [6]。健康人的口腔和胃的微生物相相似，包括 *Prevotella*、*Streptococcus*、*Pasteurellaceae*、*Fusobacterium*、*Neisseria* [7]，這可能與每天近 10¹¹ 細菌被吞入胃有關 [8,9]。另外，由於十二指腸內容物逆流，微生物可能從腸道遷移至胃。幽門桿菌陰性的胃黏膜組織微生物相類似於十二指腸組織和腸液，包括 *Streptococcus*、*Prevotella*、*Gemella*、*Actinomyces*、*Haemophilus* [10]。胃的細菌，含括 8 個菌門，57 個菌屬 [4]，而以幽門桿菌最為常見 [4]。

幽門桿菌與胃癌

在 2020 年，胃癌是全球第 6 大常見癌症發生和第 4 大癌症死因 [11,12]。約 85% 的胃癌可歸因於幽門桿菌感染，根除幽門桿菌可降低胃癌風險近 50% [13,14]；然而即使根除幽門桿菌，仍有病人具罹患胃癌的風險 [15,16]。除幽門桿菌外，不適當的生活或飲食習慣，免疫性胃炎、家族遺傳、Epstein-Barr 病毒感染等都被認為是胃癌的危險因子 [13,17,18]。胃中微生物在胃癌發生的角色已成為另一個新興課題。

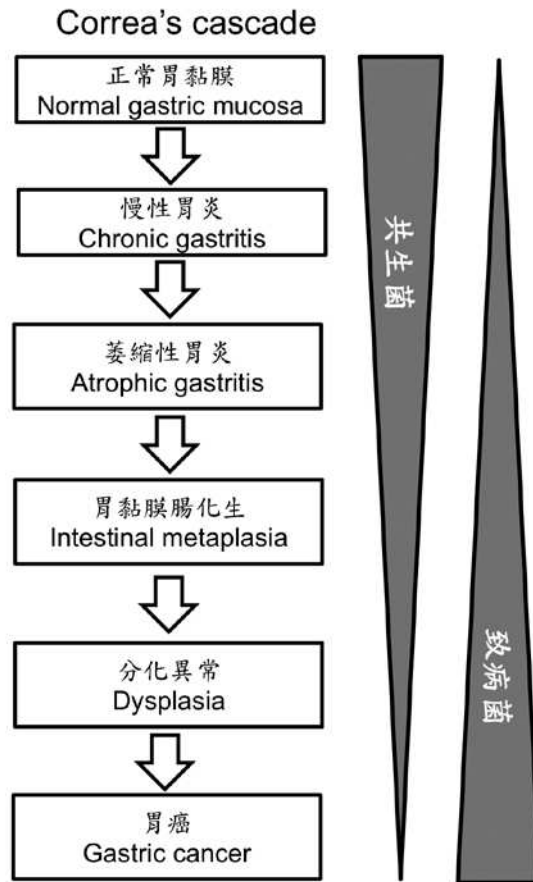
幽門桿菌感染和根除後胃微生物相組成和功能的變化

幽門桿菌在胃內定殖後會成為優勢菌種而減少胃內其他細菌 [19]。胃微生物 α 多樣性在幽門桿菌感染者比起未感染者低 [10,20,21]，根除後 1 個月內胃微生物相的 α 和 β 多樣性增加，且多樣性變化會持續到根除後 6 個月 [22]。

根除幽門桿菌也可能改變胃微生物相功能。與細菌繁殖相關之路徑，如細菌趨化性 (chemotaxis) 和 nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like 受體信號等功能下降，但與胃功能相關之路徑，如胃酸分泌、蛋白質消化吸收等功能會上升 [22]。而除菌後胃微生物相組成和功能變化與根除幽門桿菌時使用之抗生素無關 [22]。

胃癌前病變和胃癌中的微生物相組成和多樣性

幽門桿菌感染後經過慢性胃炎、萎縮性胃炎、胃黏膜腸化生、分化異常 (dysplasia)，最後發展成癌症，這過程稱為 Correa's cascade [23]。萎縮性胃炎、胃黏膜腸化生、分化異常病人有罹患胃癌的風險 [24]。萎縮性胃炎因胃酸分泌減少，胃黏膜腸化生分泌黏蛋白 2 (MUC2) [25]，使得幽門桿菌以外的細菌得以在胃黏膜定殖，如此可能使共生菌和致病菌數量上彼消我長，而造成胃的微生物生態失調 (圖一)。



圖一. 胃內共生菌和致病菌在胃癌發生過程，隨著 Correa' s cascade 各階段，從疾病初期到晚期，因為胃微環境的變化而彼此消長，造成胃微生態失調

萎縮性胃炎比起沒有萎縮性胃炎病人，胃微生物相有較高的豐富度和多樣性 (Shannon) 指數 [26]。世代研究發現在嚴重萎縮性胃炎階段，已無幽門桿菌感染的病人之胃癌發生率會高於仍有幽門桿菌感染的病人 [24,27]。胃黏膜腸化生病人會出現胃微生態失調 [28-30]。在模擬胃癌前病變之轉基因胰島素 - 胃泌素 (INS-GAS) 小鼠，除幽門桿菌感染外，再加上胃其他微生物會加速胃腫瘤的發生 [31]。有評論指出胃發炎起始是由幽門桿菌所引發，但持續性的發炎是因為胃內其他微生物所導致 [32]。這都暗示著除了幽門桿菌以外，在特定

胃環境下的胃微生態失調，可能在癌化過程扮演重要角色，而機制可能與胃微生態失調所引發之持續發炎有關 [33]。

根除幽門桿菌一年後，胃組織仍持續發炎的病人，其胃的 *Acinetobacter lwoffii*、*Streptococcus anginosus*、*Ralstonia* 增加，但 *Roseburia* 和 *Sphingomonas* 減少。而萎縮性胃炎和胃黏膜腸化生的持續存在不會消退與胃的 *Peptostreptococcus*、*Streptococcus*、*Parvimonas*、*Prevotella*、*Rothia*、*Granulicatella* 呈正相關，但與 *Faecalibacterium prausnitzii* 呈負相關 [34]。萎縮性胃炎和胃黏膜腸化生的嚴重程度分別可以依照 Operative Link on Gastritis Assessment (OLGA) 和 Operative Link on Gastric Intestinal Metaplasia Assessment (OLGIM) 評分系統分為 4 期 [35,36]。第 III-IV 期比起第 0-II 期的胃癌風險比值 (odds ratios)，OLGA 為 2.64 (95% CI 1.84–3.79)，OLGIM 為 3.99 (95% CI 3.05–5.21) [37]。比較在 OLGA I-II 期、III-IV 期、高度分化異常 / 早期胃癌，各階段的胃微生物相組成，發現隨著疾病進展，*Staphylococcus* 和 *Weeksellaceae* 的相對豐度降低，但 *Enterococcus*、*Campylobacter*、*Haemophilus*、*Actinobacillus* 增加 [38]。在胃癌發生各階段的胃微生物相研究，發現在胃癌比起癌前病變階段，*Parvimonas micra*、*Dialister pneumosintes*、*Slackia exigua*、*Peptostreptococcus stomatis*、*Prevotella intermedia*、*Fusobacterium nucleatum*、*Prevotella oris*、*Catonella morbi* 顯著增多 [28]。*P. stomatis*、*S. exigua*、*P. micra*、*S. anginosus*、*D. pneumosintes* 屬於口腔微生物，與前述萎縮性胃炎和胃黏膜腸化生相關的微生物也來自口腔類似 [34]。這暗示口腔微生物與胃癌發生之相關性。

不過，也有研究發現在胃癌中相對豐度增加的微生物有些是來自腸道。與慢性胃炎相比，胃癌中 *Achromobacter*、*Citrobacter*、*Phyllobacterium*、*Clostridium*、*Rhodococcus*、*Lactobacillus* 相對豐度增加，但 *Helicobacter*、*Neisseria*、*Prevotella*、*Streptococcus* 減少 [39]。來自腸道的微生物，如

Citrobacter、*Clostridium* 的豐度增加，可能與十二指腸逆流有關。然而，不論是口腔或是腸道微生物，其與胃癌發生的因果關係，需要進一步驗證。

一篇系統性回顧分析健康對照組、萎縮性胃炎、胃黏膜腸化生、胃癌的胃微生物相變化，發現胃癌與 *Lactobacillus coleohominis*、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter baumannii* 的豐度增加，而與 *Porphyromonas spp.*、*Neisseria spp.*、*Prevotella pallens*、*Streptococcus sinensis* 的減少有關 [40]。胃癌比起胃炎，胃的 *Fusobacterium*、*Parvimonas*、*Veillonella*、*Prevotella*、*Peptostreptococcus* 的豐度增加，而 *Bifidobacterium*、*Bacillus* 和 *Blautia* 減少。這些胃微生物，隨著 Correa's cascade 從疾病的初期到晚期，共生相關性強度也隨之增加 [41]。

鑑別胃癌與胃炎的微生物標誌物

如前述，胃癌比起慢性胃炎，有六種分類單元 (taxa)，即 *Achromobacter*、*Citrobacter*、*Phyllobacterium*、*Clostridium*、*Rhodococcus*、*Lactobacillus* 豐度增加，而四種，包括 *Helicobacter*、*Neisseria*、*Prevotella*、*Streptococcus* 豐度減少。因此，從這十個最相關的分類單元發展出的微生物失調指數 (microbial dysbiosis index) 能區分胃癌和慢性胃炎的不同，其曲線下面積 (the area under the curve, AUC) 約為 0.9 [39]。

另有統合分析指出，依據胃癌病人豐度增加的六個菌屬，包括 *Veillonella*、*Dialister*、*Granulicatella*、*Herbaspirillum*、*Comamonas*、*Chryseobacterium* 和減少的兩個菌屬，即 *Shewanella* 和 *Helicobacter* 所發展的診斷性細菌生物標誌物 (diagnostic bacterial biomarker) 可以很好地區分胃癌和胃炎，AUC 為 0.85 [41]。

微生物致癌機制

微生物可能引起誘變 (mutagenesis)、調控致癌基因並驅動免疫反應而促進癌變。幽門桿菌引發人類胃黏膜的 DNA 氧化損傷 [42]，CagA 蛋白降解抑癌基因 p53 [43]，肽聚醣 (peptidoglycan)/CagA 啟動 NOD-, leucine-rich repeat (LRR)-, and pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) 而形成發炎體 (inflammasome)，在胃癌發生扮演角色 [44]。幽門桿菌還引起介白素 -1 β (interleukin-1 β) 和腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 的表現，這兩者都與胃癌的發生有關 [45]。

N-亞硝基化合物 (N-nitroso compounds, NOCs) 是已知的致癌物，由硝酸鹽 / 亞硝酸鹽 (nitrate/nitrite) 與胺 / 醯胺 (amines/amides) 反應所形成 [46]。*Veillonella*、*Clostridium*、*Haemophilus*、*Staphylococcus*、*Neisseria*、*Lactobacillus*、*Nitrospirae* 可以刺激 NOCs 的形成 [47]。胃癌中豐度增加的胃微生物，如 *Lactobacillus*、*Escherichia-Shigella*、*Nitrospirae*、*Burkholderia fungorum*、*Lachnospiraceae*，有可能增加 NOCs [48]。

在胃癌病人之胃微生物基因體與 LPS 和 L-精氨酸 (arginine) 生物合成路徑功能增加有關，而在胃炎病人則與短鏈脂肪酸 (short-chain fatty acids) 發酵和支鏈氨基酸 (branched amino acid) 代謝功能增加有關 [49]。與胃炎相比，胃癌病人最主要增加的功能是肽聚醣 (peptidoglycan) 和嘌呤核苷酸 (purine nucleotide) 生物合成 [41]。

多酚 (polyphenols)，可由 *Clostridium sp.* 等細菌代謝產生，引起細胞凋亡並抑制促炎性細胞激素合成而具有抗癌作用 [50]。色氨酸 (tryptophan)，可由 *Clostridium sporogenes*、*Ruminococcus gnavus* 等所代謝產生，會抑制抗癌免疫反應而具致癌作用 [51,52]。

益生菌在胃癌發生中的潛在保護角色

益生菌具有抑制包括幽門桿菌等致病菌之定殖、提高根除率、減少副作用和直接抗發炎作用 [53-55]。在第一線治療幽門桿菌失敗後，先飲用含有 *Lactobacillus acidophilus*、*Bifidobacterium lactis*、*Lactobacillus bulgaricus*、*Streptococcus thermophilus* 的優酪乳 4 週，可降低幽門桿菌菌落量及提高鉍劑四合一的療效 [56]。在接受益生菌輔助幽門桿菌除菌治療的年輕人中，胃內 *Lachnospiraceae*、*Ruminococcaceae*、*Eubacterium ventriosum* 等益菌的豐度增加，而 *Proteobacteria*、*Fusobacterium*、*Mycoplasma*、*Leptotrichia*、*Campylobacter* 等致病菌減少 [57]。

除了競爭定殖外，體外細胞研究發現益生菌可能會改變免疫反應。*Lactobacillus salivarius* 減少幽門桿菌所誘導的介白素 (interleukin)-8 的產生，*L. acidophilus* 抑制 Smad7 和 NF- κ B 路徑活性，*L. bulgaricus* 調控 TLR4/I κ B α /NF- κ B 路徑活性 [58-60]。此外 *Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus rhamnosus*、*L. acidophilus* 可減少幽門桿菌感染引起的發炎反應 [61]，*Bifidobacterium bifidum* YIT 4007 可抑制與幽門桿菌共同培養的胃上皮細胞產生 IL-8 [62]。

結論

疾病的發生可能與微生物相組成變化所造成的微生態失調有關，目前在胃癌和癌前病變所發現的胃微生態失調，顯示其與胃癌發生的相關性；但仍需進一步研究如此胃微生態失調與癌變之間的因果關係。除了根除幽門桿菌外，如果益生菌可以控制微生態失調所造成的免疫反應或抑制致癌物的代謝，也許可以減少胃癌的發生。

參考文獻

1. Nardone G, Compare D: The human gastric microbiota: Is it time to rethink the pathogenesis of stomach diseases? *United European Gastroenterol J* 2015;3:255-60.
2. Yang I, Nell S, Suerbaum S: Survival in hostile territory: the microbiota of the stomach. *FEMS Microbiol Rev* 2013;37:736-61.
3. Liu J, Zhang Y: Intratumor microbiome in cancer progression: current developments, challenges and future trends. *Biomark Res* 2022;10:37.
4. Rajilic-Stojanovic M, Figueiredo C, Smet A, et al: Systematic review: gastric microbiota in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2020;51:582-602.
5. Graham DY: History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20:5191-204.
6. Li M, Shao D, Zhou J, et al: Microbial diversity and composition in six different gastrointestinal sites among participants undergoing upper gastrointestinal endoscopy in Henan, China. *Microbiol Spectr* 2022;10:e0064521.
7. Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, et al: Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *mBio* 2015;6:e00037.
8. Segata N, Haake SK, Mannon P, et al: Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol* 2012;13:R42.
9. Socransky SS, Haffajee AD: Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28:12-55.
10. Schulz C, Schütte K, Koch N, et al: The active bacterial assemblages of the upper GI tract in individuals with and without *Helicobacter* infection. *Gut* 2018;67:216-25.
11. World Health Organization: Cancer. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer> Accessed October 30, 2022.
12. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C: Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *Int J Cancer* 2015;136:487-90.

(更多參考文獻請見附錄)

第八章：微菌叢與皮膚疾病的關係

Chapter 8 : Microbiota and skin diseases

陳怡如

微菌叢失衡除了在肥胖、代謝性症候群、癌症、憂鬱症的疾病機制上扮演重要角色以外，近年來也被認為與慢性發炎性皮膚疾病的發生以及嚴重度有關，包括了異位性皮膚炎、乾癬、酒糟性皮膚炎以及青春痘。微菌叢恆定可能影響了人類宿主的營養代謝以及免疫功能的形塑。失衡的微菌叢則可能連結了這些慢性發炎性皮膚病發生全身性共病的相關性。如何操控微菌、讓失衡的表皮以及腸道微菌叢回復正常，將為這些發炎性疾病的治療提供了一線曙光。

慢性發炎性疾病的臨床表現以及系統性共病

乾癬以及異位性皮膚炎是皮膚科常見的慢性發炎性疾病。乾癬的臨床表現主要是皮膚出現多處紅色脫屑斑塊，包括頭皮，四肢軀幹以及指甲等，並常伴隨有關節發炎。全球乾癬的盛行率約佔 2-3% 人口。而異位性皮膚炎則是常見於幼年族群的搔癢過敏性皮膚炎，常會持續到成年。嚴重的時候會有全身脫屑紅皮的現象。異位性皮膚炎約佔全球人口 10-30%，常伴隨有過敏性家族史以及個人過敏疾病史。這些慢性發炎皮膚疾病常持續多年，因為季節變化、作息異常、藥物或是感染因素造成復發，不容易斷根。不僅造成病人生理心理的壓力，也常因過度搔癢以及疾病外觀，無法工作，形成沈重的經濟以及社交壓力。除了皮膚的表現，疾病嚴重時也會增加全身性共症的發生，包括心血管疾病、高血壓、糖尿病、高血脂症、心肌梗塞、中風、憂鬱症、過敏性以及自體免疫疾病、甚至癌症等等。這些與全身性共病症的相關性，被認為與共同的慢性發炎機制或是共享相似的基因變異性有關。

細菌以及黴菌微菌叢在皮膚疾病的角色

皮膚表面共生有諸多微菌叢，包括細菌、黴菌以及病毒。這些微菌的組成主要跟皮膚的特色有關，例如皮脂腺的分佈、濕潤度以及溫度，當然還與宿主的基因表現以及暴露的環境因素等等。研究指出，乾癬、異位性皮膚炎、酒糟性皮膚炎或是青春痘等致病機制與表皮微菌叢失衡有關。[1-5] 異位性皮

膚炎惡化與表皮微菌叢多樣性下降有關。同時，嬰幼兒腸道微菌叢多樣性的減少也與未來發生異位性皮膚炎有關。最新研究指出，嬰兒初出生兩個月內腸道若有帶有特定基因組合（例如超級抗原或是附著基因）的金黃色葡萄球菌，在一歲時比較不容易發生異位性皮膚炎。[2] 同樣的，表皮或是腸道微菌叢變異在其他發炎性皮膚病例如乾癬、乾癬性關節炎，白斑以及酒糟性皮膚炎等的角色近年來也成為研究的重點。[1,2,6,7]

除了細菌以外，黴菌菌叢的失衡在乾癬病灶也扮演了重要角色。[8] 除了皮膚，在嬰幼兒腸道的黴菌菌叢變化也被觀察到與過敏性氣喘的發生有關。Fujimura et al. 等人在美國的嬰兒糞便中發現有特定黴菌菌株大量表現者，如 *Candida* sp. 及 *Rhodotorula* sp，將增加未來發生異位性體質的機會。[9] 因此近年來研究認為，黴菌叢的變化在人體早期免疫功能的成熟扮演了重要角色。黴菌叢失衡也可能與未來腸道以及肺臟發炎性疾病的發生有關。[10] 但是目前主流微菌叢的研究仍以細菌為主，對於黴菌菌叢與宿主的免疫發展相關性研究仍有待發展。

腸道微菌叢改變與皮膚慢性發炎性疾病的臨床研究：以乾癬及酒糟性皮膚炎為例

在 2016 年 Scher JU 等人首先發表乾癬以及乾癬性關節炎患者有特別的腸道菌叢變異，並可能與腸道發炎有關。[7] 而我們團隊收集了 32 位乾癬患者以及年齡性別配對的 64 位非乾癬患者的腸道微菌叢指標，並分析病患臨床表徵。[11] 我們研究指出，乾癬病患相對於對照組病患截然不同的腸道微菌叢指標。而這些菌叢變異的指標除了年齡性別以外，也受到藥物以及身體質量比值 (BMI) 影響。我們也觀察到，乾癬病患的腸道微菌叢有較少的 *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* 菌屬，與較多的 *Ruminococcaceae* 與 *Lachnospiraceae* 菌屬。這些乾癬的相關腸道微菌叢指標可能與糖類、鐵質以

及維生素 B12 (Cobalamin) 運輸以及發炎驅動性有關。我們認為，乾癬的腸道微生物叢變異提供了乾癬性疾病與代謝性共病症的相關性連結。

我們也分析了酒糟性皮膚炎患者的腸道微生物叢指標。[12] 酒糟性皮膚炎為反覆性皮膚微血管擴張，形成臉部潮紅發熱，並出現臉部丘疹及皮下組織增生的疾病。近年來也發現酒糟性皮膚炎與諸多發炎性疾病發生有關，包括心血管疾病與發炎性腸炎等。形成酒糟性皮膚炎的原因很多，除了基因及慢性發炎以外，表皮微生物菌叢的變化近年來也是治療的重點之一。我們研究顯示，酒糟性皮膚炎的患者糞便中的微生物叢豐富度比起對照組較為減少。酒糟性皮膚炎患者特有的糞便微生物叢組成在於特別有較為豐富的菌屬包括 *Rhabdochlamydia*, *CF231*, *Bifidobacterium*, *Sarcina*, *Ruminococcus*, 這些菌屬分別屬於 Chlamydiae, Bacteroidetes, Actinobacteria, 以及 Lentisphaerae 門。酒糟性皮膚炎患者腸道中較缺乏的菌屬包含有 *Lactobacillus*, *Megasphaerae*, *Acidaminococcus*, *Hemophilus*, *Roseburia*, *Clostridium*, 分別屬於 Firmicutes, *Citrobacter*, 以及 Proteobacteria 門。這些特殊的腸道微生物叢標記也與硫化物以及維生素 B12 代謝以及碳水化合物運輸功能有關。

這些結果與我們之前利用醫療大數據的分析結果互相呼應。過去我們利用全國健保資料大數據分析，發現酒糟性皮膚炎是發生發炎性腸炎的獨立風險因子。[13] 而使用長期抗生素也與發生發炎性腸炎呈現負相關。此結果暗示，酒糟性皮膚炎與腸道發炎的相關性可能受到微生物菌叢改變影響。

我們也利用全國健保資料大數據在 2000-2017 年的資料，找到 1,527 位兒童乾癬患者以及 15,270 位非乾癬的配對兒童對照組，分析出生 0-2 歲感染疾病以及使用抗生素是否影響兒童乾癬的發生。家族史、個人病史以及共病症等都被列為可能的風險因子。多變數分析指出，異位性皮膚炎（調整後危險對比值

為 aOR 2.07, 95% 信賴區間 (CI) 1.84-2.32) , 媽媽有乾癬病史 (aOR 9.86, 95% CI 6.89-14.10) 或其他直系血親有乾癬病史 (aOR 5.49, 95% CI 3.91-7.70) , 是主要影響兒童乾癬發生的獨立風險因子。同時我們也分析出生初兩年的皮膚細菌以及病毒感染疾病 (aOR 1.35, 95% CI 1.13-1.62) 以及黴菌感染 (aOR 1.71, 95% CI 1.44-2.04) 與發生兒童乾癬有顯著相關性。[14] 類似的結果在不同年齡層做分析也有一致的結果。根據以上研究, 我們認為早期感染的確可能增加兒童乾癬的發生。此結果也為乾癬與早期微菌叢失衡的相關性提供了大數據的臨床佐證。

改變表皮以及腸道微菌叢的因素

表皮微菌叢在不同個體的不同身體部分皆都有顯著差異。表皮可以依據不同特性分為乾燥區、油性區、以及濕潤區。這樣的特性差異也表現在個別區塊不同的微菌叢組成。包括年齡、性別、飲食、個人清潔習慣、生活型態, 以及環境因素等等都能影響表皮微菌叢的組成。過去研究也指出, 居住在同一屋簷下的人們, 比較容易擁有類似的表皮微菌叢。[15] 除了基因背景差異以及不同出生方式, 年齡性別、飲食、藥物、運動以及身體質量比值, 以及其他環境暴露因素都可能影響腸道微菌叢的多樣性以及組成。

短鍊脂肪酸可能藉由改變腸道微菌叢影響自體免疫疾病以及慢性發炎性疾病

微菌叢失衡被認為與肥胖 [16-17]、代謝性症候群 [18]、糖尿病 [19]、癌症 [20]、, 以及自體免疫例如紅斑性狼瘡 [21]、類風濕關節炎 [22]、發炎性腸炎 [23]、多發性硬化症以及貝西氏症 [24]。腸道微菌叢會影響腸道障蔽功能的完整性, 進而調節宿主的免疫發炎反應。研究顯示, 腸道微菌叢藉由誘發 IgA 功能以及促使 Th1, Th17 以及調節性 T 細胞的功能, 來參與宿主免疫系統的成熟過程。[25-29] 某些特定細菌種類, 例如 *Clostridium* 或是 segmented filamentous

bacteria (SFB) 可能增加了腸道表皮障蔽的通透性，減少調節性 T 細胞功能，接著誘發局部以及全面性的 Th17 發炎反應，使得關節炎惡化。[30] 除此之外，廣效性抗生素可以減少 IMQ 誘發發炎小鼠的表皮厚度，降低 $\gamma \delta$ T 細胞以及 Th17 細胞的數目，接著降低 IL-17 分泌濃度。[31] 這些結果點出了腸道微菌叢的改變與 Th17 發炎的相關性。

腸道微菌叢主要由大量的細菌種類組成，從而產生多樣的代謝產物。這些特殊的代謝產物可能決定了腸道微生物種類組合並參與了重要的代謝功能，例如不同氨基酸或膽酸的合成以及生物性變性。[32] 其中短鍊脂肪酸是大腸內的細菌發酵性物質，已知可以產生抗發炎細胞激素例如 IL-10。最近的研究顯示，使用短鍊脂肪酸例如 butyrate, 可以有效抑制實驗室腸炎模型。[33] 實驗也指出，投予短鍊脂肪酸可以改變腸道微菌叢。[34]

需要臨床長期證據來佐證益生菌以及益生原在慢性發炎皮膚疾病的好處

雖然有許多實驗室數據以及臨床個案報告顯示微菌叢失衡在疾病機轉上的角色，相關臨床試驗也陸續提出令人振奮的新型微菌治療，可望輔助目前治療的困境。[35-36] 但是仍缺乏大型臨床證據來佐證益生菌或是益生原對於異位性皮膚炎或是乾癬等疾病的發生、症狀緩解或是病患生活品質有一致性的好處。未來仍有諸多疑問待研究解決。[37-38]

參考文獻

1. Alekseyenko AV, Peez-Perz G, Souza A, et al., Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. *Microbiome* 2013;1(1):31
2. Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. *Microbial pathogenesis* 2014; 71-72:37-40.
3. Nowrouzian FL, Lina G, Hodille E, et al. Superantigens and adhesins of infant gut commensal *Staphylococcus aureus* strains and association with subsequent development of atopic eczema. *Br J Dermatol* 2017;176 (2):439-455.
4. Parodi A, Paolino S, Greco A, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: clinical effectiveness of its eradication. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:759-764.
5. Picardo M, and Ottaviani M. Skin microbiome and skin disease. The example of rosacea. *J Clin Gastroenterol* 2014;48(1):S85-6.
6. Ganju P, Nagpal S, Mohammed MH, et al. Microbial community profiling shows dysbiosis in the lesional skin of Vitiligo subjects. *Sci report* 2016; 6: 18761.
7. Scher JU, Litman D, Abrasom SB. Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68(1):35-45.
8. Fyhrquist H, Murihead G, Prast-Nielsen S, et al., Microbe-host interplay in atopic dermatitis and psoriasis. *Nat Commun* 2019 (10):4703
9. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, et al., Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med.* 2016 Oct;22(10):1187-1191.
10. Bernardes E, Pettersen V, Guierrez M, et al., Intestinal fungi are causally implicated in microbiome assembly and immune development in mice. *Nat Commun* 2020 (11):2577.
11. Chen YJ, Ho HJ, Tseng CH, Lai ZL, Shieh JJ, Wu CY. Intestinal microbiota profiling and predicted metabolic dysregulation in psoriasis patients. *Exp Dermatol* 2018; 27 (12):1336-1343.
12. Chen YJ, Lee WH, Ho HJ, Tseng CH, Wu CY. An altered fecal microbial profiling in rosacea patients compared to matched controls. *J Formos Med Assoc* 2020 May 20;S0929-6646(20)30172-8

(更多參考文獻請見附錄)

第九章： 腸道菌在心血管疾病所扮演的角色

Chapter 9 : The role of gut microbiota in cardiovascular diseases

吳偉愷

許多證據顯示腸道菌組成與心血管疾病的發生與進展有密切關聯性，腸道共生菌與伺機病原菌的平衡可能影響血管斑塊與血栓形成。許多心血管疾病的危險因子，包括肥胖、血壓、血脂、血糖與慢性炎症，均受到腸道菌的代謝與免疫機制所調控。此外，腸道菌與飲食交互作用產生的活性分子，包括短鏈脂肪酸、氧化三甲胺、膽酸、尿毒素的血中濃度，在心血管健康亦扮演重要角色。相信不久後，相關研究發現應能改變心血管疾病的預防與治療方式。

前言

心血管疾病是造成全球死亡的主要原因之一。根據世界衛生組織，每年有超過 1700 萬人死於心血管疾病 [1]。儘管過去醫學在心血管疾病的預防與治療已有長足的進步，心血管疾病仍是造成人類死亡與健康負擔的重要疾病，因此，進一步了解心血管疾病的發生機制、找出延緩疾病進展的途徑非常重要。近年來，科學家們逐漸發現了腸道菌對健康的重要性，腸道菌不僅與腸道健康密切相關，還與全身健康有密切的聯繫，包括肥胖、糖尿病、血脂、血壓等傳統心血管疾病危險因子都與腸道菌的組成與功能有關 [2]。此外，腸道菌除了參與食物的消化、代謝，還能調節免疫與慢性炎症的發展，近期有許多腸道菌所參與粥狀動脈硬化與血栓形成的機制被發現 [3]，為心血管疾病過去仍未明的機轉開闢一條新的道路，腸道菌與心血管疾病相關的分子機制，亦逐漸成為發展新興預防與治療方法的重要標的 [4]。

腸道菌與心血管疾病的關聯性

隨著次世代定序技術興起，過去已有一些心血管疾病與腸道菌相關性的文獻發表。然而，由於地域性與使用定序平台技術的差異，不同研究所發現與心血管疾病有關的腸道菌特徵亦有所差異 [5,6]。目前已知心血管疾病病患的腸道菌特徵，比較一致性的發現為：腸桿菌科 (Enterobacteriaceae) 的菌種增加，如大腸桿菌 (*Escherichia coli*)，以及梭菌目 (Clostridiales) 的菌種減少，如腸道

羅斯氏菌 (*Roseburia intestinalis*)、普拉梭糞桿菌 (*Faecalibacterium prausnitzii*) 等 (表一)[7-15]。腸桿菌科涵蓋了多數人類腸道中的伺機病原菌，數量過多可能造成全身慢性發炎甚至增加感染風險。腸道羅斯氏菌與普拉梭糞桿菌為可以產生短鏈脂肪酸 (short chain fatty acids) 的共生菌 (commensal bacteria)，能將飲食中的膳食纖維代謝形成丁酸 (butyrate) 供人體使用 [4]。Rey 等人利用 ApoE 基因剔除無菌小鼠的實驗發現，腸道羅斯氏菌能藉由生成丁酸來增強腸粘膜屏障、調節脂質代謝途徑與降低系統性發炎來改善動脈粥狀硬化 [16]。Munukka 等人也發現，普拉梭糞桿菌能增強胰島素敏感度、改善肝臟脂肪堆積、降低脂肪組織發炎並增加肌肉量與粒腺體呼吸作用 [17]，這些機制研究直接或間接地支持腸道羅斯氏菌與普拉梭糞桿菌可能對心血管疾病帶來潛在益處。除了腸道的細菌外，口腔內的微生物也與心血管疾病有密切的關聯性。事實上，過去流行病學已發現牙周病 (periodontitis) 會增加 24%-30% 罹患心血管疾病的風險，牙菌斑常見的 *Streptococcus sanguinis* 與 *Porphyromonas gingivalis* 過去也在動物實驗發現能促進動脈粥狀硬化斑塊的形成 [18,19]。此外，動脈粥狀硬化斑塊的樣本中也多次發現來自口腔細菌的 DNA[20]，顯示口腔微生物在心血管疾病的進展應扮演重要角色。Chhibber-Goel 等人回顧過去研究發現，有 23 種口腔共生菌與動脈粥狀硬化斑塊有關，其中 5 種 (*Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*) 特別存在於冠狀動脈粥狀硬化斑塊中 [21]。未來若能進一步釐清口腔菌相與心血管疾病病程的機制與角色，或許能幫助發展新的心血管疾病預防與治療方法。

表一 腸道菌與心血管疾病的相關性研究

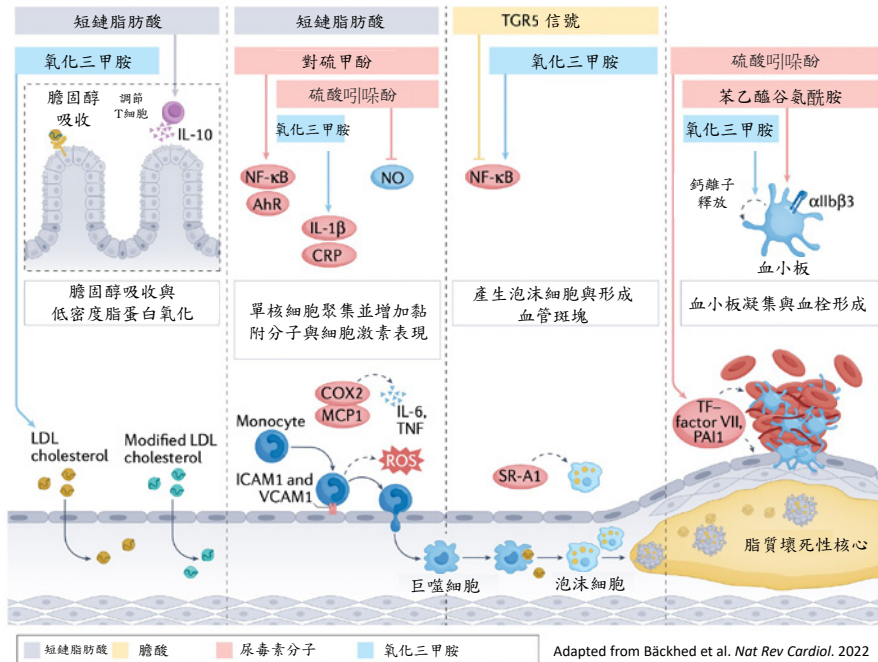
心血管疾病	研究世代	定序平台	多樣性差異	腸道菌物種變化	參考文獻
冠狀動脈狹窄	中國 218 位病人 187 位對照組	Shotgun metagenome	β 多樣性 *	↑ <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Solobacterium moorei</i> , <i>Atopobium parvulum</i> , <i>Ruminococcus gnavus</i> , <i>Eggerthella lenta</i> , ↓ <i>Bacteroides</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>Roseburia intestinalis</i> , <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Jie et al. Nat Commun 2017.7
	中國 70 位病人 98 位對照組	16S rDNA V4 amplicon	α 多樣性 ↓ β 多樣性 *	↑ <i>Escherichia-Shigella</i> , <i>Enterococcus</i> , ↓ <i>Faecalibacterium</i> , <i>Eubacterium rectale</i> , <i>Subdoligranulum</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Clostridiales</i>	Zhu et al. Physiol Genomics 2018.8
	西班牙 16 位冠心病合併 糖尿病病人 16 位冠心病無糖 尿病病人	16S rDNA V2-V3 amplicon	β 多樣性	↑ <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Desulfovibrio</i> ↓ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , <i>Bacteroides fragilis</i>	Sanchez-Alcoholado et al. Front Microbiol 2017.9
	以色列 199 位病人 473 位對照組	Shotgun metagenome	NA	↑ <i>Odoribacter splanchnicus</i> , <i>Escherichia coli</i> ↓ <i>Clostridium</i> , <i>Anaerostipes hadrus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Blautia</i> , <i>Clostridiaceae sp. SGB 4712</i>	Talmor-Barkan et al. Nat Med 2022.10
	歐洲 372 位缺血性心臟 病人 372 位已治療代謝 匹配對照組 222 位未治療代謝 匹配對照組 275 位健康人	Shotgun metagenome	α 多樣性 ↓	↑ <i>Burkholderiales</i> ↓ <i>Acinetobacter</i> , <i>Turcimonas</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Eubacterium siraeum</i> , <i>Clostridiales spp.</i> , <i>Ruminococcus sp.</i>	Fromentin et al. Nat Med 2022.11
頸動脈狹窄	瑞典 12 位病人 13 位對照組	Shotgun metagenome	β 多樣性 *	↑ <i>Collinsella</i> ↓ <i>Roseburia</i> , <i>Eubacterium</i>	Karlsson et al. Nat Commun 2012.12
腦中風	中國 141 位病人 94 位對照組	16S rDNA V4 amplicon	α 多樣性 ↑ β 多樣性 *	↑ <i>Enterobacter</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Oscillibacter</i> , <i>Desulfovibrio</i> ↓ <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Faecalibacterium</i>	Yin et al., J Am Heart Assoc 2015.13
	中國 30 位病人 30 位對照組	16S rDNA V1-V2 amplicon	β 多樣性	↑ <i>Odoribacter</i> , <i>Akkermansia</i> , <i>Ruminococcaceae_UCG_005</i> , <i>Victivallis</i> ↓ <i>Anaerostipes</i> , <i>Ruminiclostridium_5</i>	Li et al. BMC Microbiol 2019.14
	荷蘭 349 位病人 51 位對照組	16S rDNA V3-V4 amplicon	α 多樣性 ↓ β 多樣性 *	↑ <i>Escherichia/Shigella</i> , <i>Peptoniphilus</i> , <i>Ezakiella</i> , <i>Enterococcus</i> ↓ <i>Anaerostipes</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Subdoligranulum</i>	Haak et al. Transl Stroke Res 2020.15

* : β 多樣性具組間顯著差異

腸道菌與心血管疾病的機制

腸道菌是調控人體的代謝與免疫的動態器官，包含養分的吸收與利用、能量的消耗與儲存以及局部和系統性發炎的調節 [22]。心血管疾病常見的危險因子，包含代謝症候群有關的肥胖、高血糖、高血壓與高血脂，都與腸道菌有關。過去研究發現，肥胖和罹患糖尿病的病人的腸道菌組成與功能，與健康人有明顯的不同，包括厚壁菌門 / 擬桿菌門比 (F/B ratio) 與腸桿菌科增加、嗜黏蛋白艾克曼氏菌 (*Akkermansia muciniphila*) 與普拉梭糞桿菌等物種的減少等 [2]。科學家透過糞菌移植的研究進一步發現，這些腸道菌相的差異是造成宿主是否容易發生肥胖與胰島素抵抗的重要原因 [23,24]。腸道菌亦可透過多種途徑來調控人體的血壓狀況，比方說腸道一種糞球菌 (*Coprococcus comes*) 的脂酶 (esterase) 會降低 ACEI 類降血壓藥的生物吸收率 [25]，影響藥物的療效。部分腸內菌則是能透過生成丙酸 (propionate) 來抑制 Th17 細胞活性，降低血管發炎與心肌纖維化達到調控血壓的效果 [26]。此外，近期亦有研究發現，腸道內帶有 *isma* 基因的細菌，能將來自食物與膽汁的膽固醇 (cholesterol) 轉化為糞甾烷醇 (coprostanol)，可減少來自腸道的膽固醇吸收並降低血中膽固醇濃度 [27]。由此可知，腸道菌在心血管疾病已知危險因子中，均扮演不容忽視的因果性角色，如何透過調控腸道菌來減少心血管相關共病症的發生，將有機會進一步改善人類心血管健康情形。

腸道菌除了影響心血管疾病危險因子外，也能透過生成具生物活性的小分子代謝物，影響心血管疾病的病程 [28]。這些代謝物能經由腸道吸收，進入血液循環中，調節不同階段動脈粥狀硬化斑塊形成的生物反應步驟。這些來自腸道菌所產生的代謝物包括短鏈脂肪酸、氧化三甲胺、膽酸以及尿毒素等，已被證實具有參與血管斑塊生成與血栓形成的角色 (圖一) [4]。



圖一. 來自腸道菌所產生的代謝物參與與心血管疾病不同階段的病生理機制 [4]

短鏈脂肪酸

常見的短鏈脂肪酸包含乙酸 (acetate)、丙酸 (propionate) 與丁酸 (butyrate)，主要產生自腸道菌對膳食纖維的分解與發酵，其中丁酸可作為腸道上皮細胞的能量來源，幫助修復腸粘膜屏障並可透過與 GPR41、GPR43、histone deacetylase 等受體作用，降低局部和系統性發炎 [29]。研究亦發現人類腸道中丁酸濃度與血糖耐受性和骨骼肌肉量均呈現正相關 [30,31]，顯示丁酸在心血管疾病可能的正面角色。此外，丙酸在心血管疾病扮演的角色也逐漸明朗，Haghikia 等人於動物實驗發現丙酸能透過刺激腸道 Treg 細胞活性與 IL-10 的分泌，抑制腸道吸收膽固醇的蛋白 (Niemann-Pick C1-like 1) 表現，達到抑制動脈粥狀硬化的心血管保護效果，並以小規模人體試驗證實每日服用 500 毫克丙酸兩次，能顯著降低血中總膽固醇與低密度脂蛋白的含量 [32]，顯示其轉譯應用的可能性。

氧化三甲胺

氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide, TMAO) 則主要由腸道菌代謝動物性食物所產生，如來自紅肉、奶、蛋的肉鹼 (carnitine) 與膽鹼 (choline)。研究顯示，血中的氧化三甲胺濃度，與心血管病患發生嚴重不良心血管事件 (Major adverse cardiovascular event, MACE) 有顯著正相關性 [33,34]，且已有許多氧化三甲胺導致心血管疾病發生與進展的機制被證實，包括促進膽固醇吸收、低密度脂蛋白氧化與泡沫細胞形成、增強血小板凝集活性等 [3,4,35,36]。因此，若能有效減少人體內氧化三甲胺的生成，將可能改善心血管疾病的不良預後。近期研究發現腸道中少數帶有 *bbu* 基因的厭氧菌，能執行代謝肉鹼形成氧化三甲胺的關鍵步驟 [37,38]，可能作為代表腸道菌代謝紅肉生成氧化三甲胺的生物活性標記。

膽酸

膽酸來自肝臟代謝膽固醇所形成，透過膽汁由糞便排出體外，是肝臟清除膽固醇的主要方式。膽酸除了能幫助脂質消化吸收，也有抑制病菌維持正常菌相的功能，此外，腸道菌還能對初級膽酸進行修飾，形成多種不同結構與作用的次級膽酸，影響人體的生理功能，包括心血管疾病的病生理機制 [4,39]。膽酸主要透過與細胞膜上的 TGR5 (G-protein-coupled bile acid receptor 1) 與細胞核內的 FXR (farnesoid X receptor) 受體結合產生訊息傳遞，包括腸道、肝臟、脂肪、血管、免疫細胞均有相關受體與膽酸結合，部分膽酸能透過刺激腸道分泌 GLP-1、調節巨噬細胞發炎反應等作用來降低心血管疾病風險與抑制血管斑塊形成 [3,39,40]。然而，來自不同細胞的 TGR5/FXR 受體與膽酸的親和力歧異 [4,40]，加上膽酸種類複雜多元，因此若想利用膽酸來預防與治療心血管疾病，仍需進一步研究釐清其複雜機制。

尿毒素分子

硫酸吲哚酚 (indoxyl sulfate)、對硫甲酚 (p-cresol sulfate) 與苯乙醯谷氨醯胺 (phenylacetylglutamine, PAGln) 是來自腸道菌利用來自食物中的色胺酸 (tryptophan), 酪胺酸 (tyrosine) 與苯丙胺酸 (phenylalanine) 所產生的胺基酸次級代謝物 [4]。這些透過腸道菌生成而進入血液，經由腎臟排除的尿毒素分子，被認為與心血管疾病的嚴重程度有關 [41,42]。硫酸吲哚酚與對硫甲酚已被發現多項引起心血管疾病惡化的機制，包括抑制血管內皮細胞生成 NO 導致功能失調、引發血管局部發炎刺激免疫細胞附著與活化、分泌組織因子 (tissue factor) 刺激血栓形成等 [4,43]。血中的苯乙醯谷氨醯胺濃度是最近被發現與心血管疾病預後高度相關的尿毒素分子 [42,44]，可透過血小板膜上的腎上腺素受體 (Adrenergic receptor) 刺激其活化形成血栓 [44]，近年幾篇較大規模的多體學研究顯示，苯乙醯谷氨醯胺與心血管疾病具高度關聯性 [10,11]，且腸道菌對血中苯乙醯谷氨醯胺具高解釋度 [45]，顯示苯乙醯谷氨醯胺在腸道菌與心血管疾病的連結中，可能扮演重要角色。

結論

越來越多證據顯示，腸道菌在人體內的生理功能與作用機制，在心血管疾病發生與進展過程中，已存在不容忽視的重要性。腸道菌與心血管疾病的關聯性受到人種、飲食、文化、用藥等干擾因子的影響，與心血管疾病表型有關的微菌物種與基因特徵仍需進一步研究釐清。有許多與心血管疾病相關性高，但尚未培養分離的腸道菌種，亦需進一步研究發掘與驗證。此外，腸道菌的代謝功能及其所產生的活性分子，是切入腸道菌與心血管疾病轉譯研究的重要方向。簡而言之，腸道菌與心血管疾病的關聯性研究，正逐步透過因果性與致病機制的闡明走向臨床應用，相信在不久的將來，我們將能透過調節腸道菌相關機制，發展新穎的心血管疾病預防與治療方法。

參考文獻

1. Dagenais GR, Leong DP, Rangarajan S, Lanas F, Lopez-Jaramillo P, Gupta R, et al. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10226):785-94.
2. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(1):55-71.
3. Witkowski M, Weeks TL, Hazen SL. Gut Microbiota and Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2020;127(4):553-70.
4. Chakaroun RM, Olsson LM, Backhed F. The potential of tailoring the gut microbiome to prevent and treat cardiometabolic disease. *Nat Rev Cardiol*. 2022.
5. Kim M, Huda MN, Bennett BJ. Sequence meets function-microbiota and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2022;118(2):399-412.
6. Zhang X, Gerard P. Diet-gut microbiota interactions on cardiovascular disease. *Comput Struct Biotechnol J*. 2022;20:1528-40.
7. Jie Z, Xia H, Zhong SL, Feng Q, Li S, Liang S, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Commun*. 2017;8(1):845.
8. Zhu Q, Gao R, Zhang Y, Pan D, Zhu Y, Zhang X, et al. Dysbiosis signatures of gut microbiota in coronary artery disease. *Physiol Genomics*. 2018;50(10):893-903.
9. Sanchez-Alcoholado L, Castellano-Castillo D, Jordan-Martinez L, Moreno-Indias I, Cardila-Cruz P, Elena D, et al. Role of Gut Microbiota on Cardio-Metabolic Parameters and Immunity in Coronary Artery Disease Patients with and without Type-2 Diabetes Mellitus. *Front Microbiol*. 2017;8:1936.
10. Talmor-Barkan Y, Bar N, Shaul AA, Shahaf N, Godneva A, Bussi Y, et al. Metabolomic and microbiome profiling reveals personalized risk factors for coronary artery disease. *Nat Med*. 2022;28(2):295-302.
11. Fromentin S, Forslund SK, Chechi K, Aron-Wisnewsky J, Chakaroun R, Nielsen T, et al. Microbiome and metabolome features of the cardiometabolic disease spectrum. *Nat Med*. 2022;28(2):303-14.
12. Karlsson FH, Fak F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun*. 2012;3:1245.

(更多參考文獻請見附錄)

第十章：腸菌叢與神經發展疾患

Chapter 10 : Gut microbiota and neurodevelopmental disorders

高淑芬

腸菌叢及其代謝物參與調節早期的大腦發育，任何中斷早期發育都會影響大腦功能，導致一系列神經發育缺陷和神經精神疾病。於本章節中，我們總結了近期關於腸道菌組如何影響人類早期大腦發育過程，及其與主要神經發育性精神疾病（如自閉症、注意力不足過動症和思覺失調症）等相關文獻。基於現有研究，提出假設，早期介入微生物菌叢組態可以影響病患的精神健康，同時呼籲進一步研究以更深入地理解控制腸腦軸機制，並於未來提出嶄新的研究方法，以了解神經精神疾病的病理生理學和發展治療方法。

10.1 背景

人體腸菌叢（microbiota，簡稱腸菌叢）從懷孕期間開始初始移生（colonization）[1]的過程與大腦發育相互影響[2,3]。在關鍵發育階段，腸菌叢的失衡會影響整個大腦發育與成熟，主要是神經元和神經膠質[4,5]。其組成在出生後12個月內表現出最高的內外生性之個體獨特差異性，直到3歲趨於穩定，達到所謂“成人型態”[6-8]。微生物菌叢於宿主粘膜表面的早期移生影響宿主免疫系統發育和成熟[8]。然而，暴露於母體免疫活化反應（Maternal immune activation, MIA）、不良飲食、疾病/感染和抗生素過量等因素，則會導致早期的腸菌叢失調[9,10]，進而導致免疫失調，導致改變腦發育和神經精神與發展疾患（neurodevelopmental psychiatric disorders, NDPD）[11-13]。NDPD由大腦非典型發育所引起的一系列疾病，導致認知、情緒和動作缺陷[12,14,15]，包括注意力不足過動症（attention deficits hyperactivity disorder, ADHD）、自閉症類群障礙症（autism spectrum disorder, ASD）和思覺失調症（schizophrenia, SCZ）。這些疾患所產生的行為異常，可能會持續終生[16]。

10.2 腸菌叢在早期大腦發育中的作用

血腦屏障（blood brain barrier, BBB）[17]的建立、神經新生[18]、膠質細胞的成熟、髓鞘形成和腸道菌有關，也可以直接促進大腦的發育[19-21]，而且

腸道釋放的各種營養成分，可促進神經元細胞成熟和正常運作 [22]。

10.2.1 血腦屏障 (BBB)

腸道菌的平衡生態和衍生代謝物，如短鏈脂肪酸的存在可以調節 BBB 的形成和維持 [23,24]，隨著年齡的成長 BBB 的滲透性會降低。在無菌小鼠中，由於腦內皮層中的鹼性連接蛋白 (occludin 和 claudin-5) 表現量減少，增加 BBB 對大分子的滲透性 [22]。而腸道菌移生或是一種由腸道菌發酵產生的短鏈脂肪酸丁酸鹽，可降低無菌小鼠的 BBB 通透性 [22]。

10.2.2 神經新生

神經新生是指通過神經幹細胞的分化發育出具有功能的新神經元 [25, 26]。神經新生和神經元可塑性的功能對於學習、記憶、認知和壓力反應極為相關，尤其是海馬體 (認知中心) [27]。平衡的腸菌叢以直接或間接方式參與維持微環境支持神經元發育的過程 [28]，無菌小鼠研究發現腸道菌代謝物可以通過胎盤進入胚胎腔室，並且具有誘導和調節產前胎兒發育過程的能力 [29]。此外，細菌細胞壁成分 (PG) 更可以穿過胎盤到達胎兒大腦，並活化 Toll-like receptor 2 (TLR2)，使調控神經新生的 FOXP1 轉錄因子表達量增加，從而誘導前腦區域的神經元增生 [30,31]。此外，亦有研究指出菌叢透過調節微生物功能和相關細胞因子，影響神經新生過程 [32]。此外，腸道菌可能通過調節中樞神經系統中的神經元移行和成熟，來間接影響神經元的可塑性，其中可能透過調節 ephrin B 和 reelin 途徑，而 ephrin B 在維持腸道上皮屏障完整性和負責神經元移行的膜糖蛋白 reelin，產生關鍵的交互作用 [33-36]。腸道菌可以透過協調神經營養因子和神經傳導物質，進而影響大腦不同區域的分化與存活途徑，並且改變神經幹細胞 [37]。突觸發育和成熟的過程與神經元的成熟和可塑性有關。根據研究指出，在 22 天大的大鼠中實驗中給予 neonatal prebiotic (Bimuno®, BGOs) 可提高 synaptophysin, 突觸小泡蛋白及腦源性神經營養因子 (BDNF) 的

表現量 [38]。

血清素 (serotonin) 可以由腸道菌合成並釋放到腸腔中，可促進成人的神經新生 [39]，且和多個大腦腦區有交互作用 [40]。更且，腸道菌量會影響成鼠腦部背側海馬迴神經產生神經增生現象 [41]。會抑制腸菌叢的抗生素可能減少神經新生 [42]。雖然微生物菌叢及相關代謝物的調節如何在成人階段調節神經新生地機制尚未明瞭，可能與神經發炎機轉與體液的代謝途徑有關 [43]。在成年小鼠之腸道神經系統發現腸菌叢透過 Toll-like receptor 2 (TLR2) 誘導神經新生 [44]。此外，於切斷迷走 (Vagus nerve system) 神經小鼠觀察到整個海馬迴的 BDNF mRNA 表現量下降以及神經元增生和存活率顯著下降 [45]。並且腸菌叢亦能通過調節神經元免疫系統，間接影響海馬迴之神經新生。早期生活壓力，如缺乏社交互動，也可以改變腸菌叢的穩定性 [46]，同時降低小鼠海馬迴的神經新生、IL-6 和 IL-10 表現量 [47]。最後，海馬迴之神經新生的減少與學習受損、焦慮、類憂鬱行為、神經炎症密切相關，而這些又與腸菌叢的結構改變有明確的關聯性 [43]。

10.2.3 髓鞘形成 (myelination)

根據研究指出，健康 / 完整的腸菌叢可調節髓鞘形成 [2,48]。人類於出生時，位於中樞神經系統的軸突是無髓鞘的。而於分娩後幾年內至成人期間，逐漸成熟的軸突將透過寡突膠質細胞的接合和嵌入 (ensheathment) 快速形成髓鞘 [49,50]，並伴隨著時間的改變而發生不同的髓鞘形成率和髓鞘含量 [50-52]，此過程中的任何異常都可能導致長期缺陷。髓鞘形成與神經元的可塑性和功能以及認知功能相關 [53,54]，而腸菌叢透過調節寡突膠質細胞中髓鞘形成和相關基因的表現量，來調節髓鞘形成的關鍵過程，髓鞘形成的失敗，對於大腦功能和行為有不利的影響 [48,55,56]。其中以大腦的前額葉皮層，在嬰兒初始階段會出現髓鞘形成，因此更容易受到外在因素的影響，例如腸道菌群失調 [48]。在無菌小鼠也觀察到於前額葉腦區中不受調控的髓鞘形成對其社會行為

有不利影響 [48,55]。此外，短鏈脂肪酸 等代謝物已被證明對行為問題、腸道屏障功能障礙和髓鞘形成過程的調節具有正面效果 [55,57]。口服短鏈脂肪酸丁酸鹽可治療因使用抗生素而損傷髓鞘形成的小鼠，並且矯正腸道生理和行為缺陷，顯示腸菌叢透過調節髓鞘形成過程，於發育期間針對微生物組 - 腸 - 腦 (MGB) 軸方面發揮著關鍵作用，尤其是前額葉腦區 [58]。總之，微生物菌叢對於髓鞘形成和維持髓鞘的可塑性相當重要。

10.3 腸道菌和神經發展障礙

全球估計有 15% 的人口有神經發展障礙 (neurodevelopmental disorders, NDD)[59]。腸菌叢透過複雜的雙向通訊（也稱為腸—腦軸線）在神經元發展中發揮重要作用。腸道菌群定殖的改變對哺乳動物大腦發展有重大影響，透過以改變大腦發展過程中所涉遺傳機制的表達模式，來影響成年行為 [60]。此外，在發展期間，由於腸道菌群定殖被破壞而導致的神經分泌障礙 [61] 和隨之而來的行為表型無法通過後期微生物群的重建來逆轉 [60,62,63]。因為母體感染、母體腸道菌群失調或妊娠期間代謝紊亂而造成的母體免疫系統失調，進而引發的炎症反應，也被認為是產前和新生兒大腦發展異常的危險因素，能在後期導致一系列神經發展和神經精神疾病 [64,65]。胎兒接觸母體腸道菌產物（丙酸、脂多醣或肽聚醣）、免疫複合物、抗體和發炎介質可以改變正常的神經發展過程。已知其中一些特定因素會穿透胎盤和未成熟的血腦屏障，並直接或間接透過誘導神經炎症來調節幾個與大腦發展相關的機制 [66]。免疫失調和全身炎症與腸胃道系統失調有直接聯繫 [67]，最終導致腸道通透性增加（腸漏）並伴有各種腸胃道症狀。免疫失調和全身炎症亦存在與腸道菌叢失調的相互關係。據研究指出，此類胃腸道併發症與各種神經發展障礙相關 [68]。出生後腸胃道內的第一批微生物定殖者中，*Bifidobacteria* 是嬰兒和成人腸道共生體中最重要和最主要的菌屬 [69]。此外，*Bifidobacteria* 被認為是最具潛力的益生菌之一，並且已知具有抗炎、抗菌特性，可以利用難以消化的

多醣並產生各種 B 群維生素 [70]。此外，*Bifidobacteria* 可以通過改善下視丘 - 垂體 - 腎上腺軸線應激反應 [62]、提高血清素系統前趨物色氨酸 [63] 和本身的抗焦慮作用 [71] 來降低壓力水平，並幫助治療抑鬱症。腸道 *Bifidobacteria* 的缺乏與 NDD 患者的消化不良、維生素 B12 缺乏、免疫系統失調、腸道炎症、抑鬱和焦慮樣行為有關 [72,73]。此外，只有在 NDD 患者中，*Bifidobacteria* 顯著減少或完全不存在 [74]。總短鏈脂肪酸濃度與 *Bifidobacteria*、*Ruminococcus* 和 *Bifidobacterium* 的相對豐富度（relative abundance）之間存在關聯性 [75]，其中 *R. champanellensis* 和 *F. prausnitzii* 在患者中的豐富度較低，還有其他幾種菌株來自 *Bifidobacterium*。*Desulfotomaculum guttoideum*、*Romboutsia ilealis* 和 *Intestinibacter bartlettii* 是與 *Clostridium* 菌群密切相關的微生物菌種 [76]，常見於 NDD 患者 [74]。此外，歸類為 *Bifidobacterium* 和 *Ruminococcus* 的微生物不能自行產生短鏈脂肪酸丁酸鹽，但可以誘導短鏈脂肪酸的產生，因為它們能夠分解不可消化的碳水化合物，可以為結腸區域中產生丁酸鹽的微生物提供基質，來誘導丁酸鹽的產生 [77]。短鏈脂肪酸是腸-腦軸線的重要中介分子，可能與類自閉症症狀的發生有關 [78]。研究指出，產生較少短鏈脂肪酸的菌種，尤其是產生丁酸鹽的菌種，對 NDD 的病因病理學有重大影響 [74]。其中 *Dialister invisus*，通常是從健康人類腸道菌群個體中的口腔分離出來的 [79]，並且 NDD 患者豐富度下降 [74]，與健康對照組比較，NDD 患者的一般共生微生物的差異顯著降低，潛在有害菌種數量較高且有較多腸道菌群失調。然而，腸道菌群內微生物豐富度和多樣性的類型因不同類型的 NDD 而有差異 [80]。

10.4 自閉症類群障礙症 (Autism spectrum disorder, ASD)

10.4.1 ASD 與腸道菌

大約 80% 的 ASD 兒童有胃腸道症狀，包括消化不良、腹痛和便秘。這些

嚴重的胃腸道問題的主要原因可能是腸道菌群的破壞 [72]。近期研究發現，ASD 兒童的食物偏好造成的限制性飲食和他們的腸道菌生態失調及多樣性降低有關 [81]。腸道菌群可以調節飲食偏好、食物選擇以及與飲食相關的行為，健康的腸道菌組成與健康的食物選擇相關 [82-84]。在懷孕期間，母體腸道的生態失調可明顯改變後代的腸道菌多樣性和免疫力，導致 NDD 的早期發病 [85, 86]。另外，免疫和發炎反應的改變也會導致腸道菌群生態失調 [87]。

越來越多的證據支持腸道菌群失調與 ASD 之間存在關聯 [88]。例如，透過培養方法，57% ASD 兒童的糞便樣本中，發現具有侵襲性的 *Candida* 菌 [89]。對微生物組與 ASD 之間相關性的研究顯示，*Clostridium histolyticum* 是一種致病性厭氧菌（*Clostridium* clusters I and II），在 ASD 個體的糞便微生物群中非常豐富，檢測到 *Clostridium* 菌的過度生長 [75,90,91]，甚至分離出來 *Erysipelatoclostridium ramosum* [90]。*Clostridium tetani* 會產生神經毒素對甲酚和其他有毒代謝物（酚類和吡啶衍生物），導致類焦慮行為 [92,93]。已知 *Clostridium bartlettii* 可合成反式 3-吡啶丙烯酸 (IAA)，並通過甘氨酸結合將其轉化為 Indolyl-3-acryloyl glycine (IAG)，是一種推測性的 ASD 泌尿診斷標誌物 [94,95]。這些微生物的過度生長與 ASD 病理學有關。除了慢性氧化外，在 ASD 兒童中還檢測到硫代謝異常，例如血液血清硫含量下降、尿排泄量增加、反式硫化作用降低、和甲基化能力降低 [96]。這可能是由於另一種硫酸鹽還原生物 *D. guttoideum*（類似於 *Desulfovibrio*）的增加有關 [97,98]。除了 *Chloristidium* 菌群外，與腸道免疫穩態和腸胃道症狀相關的 *Sutterella* 已被發現與 ASD 兒童的腸上皮層密切相關，而對照組則不存在此關聯 [99]。此外，Actinomycetaceae、*Allisonella*、*Barnesiella*、*Coprobacter*、*Fusobacterium*、*Olsenella* 與其便秘之間可能有關係。相較之下，在沒有便秘的情況下，ASD 的 *Holdemanella* 有所增加 [80]。ASD 個體的腸道菌因 Firmicutes 的顯著增加和 Bacteroidetes 豐度的減少，而導致 Firmicutes/

Bacteroidetes 比例有增加的現象 [100,101]。研究指出，在分類層級上，Eubacteriaceae、Erysipelotrichaceae、*Faecalibacterium*、Peptostreptococcaceae、Ruminococcaceae 和 Streptococcaeae 的豐度較低 [75]。在科層級上，Bifidobacteriaceae、Lactobacillaceae、*Enterobacteriaceae* 和 *Veillonellaceae* 的豐度要高得多 [102]。在屬層級上，*Bifidobacterium*、*Bacteroides*、*Bacillus*、*Biophila*、*Faecalibacterium*、*Lactobacillus*、*Lachnospira*、*Lactococcus*、*Lachnobacterium*、*Megamonas*、*Megasphaera*、*Mitsuokella*、*Oscillospira*、*Parabacteroides*、*Sutterella* [80]、*Collinsella*、*Corynebacterium* 和 *Dorea* [103] 的豐度明顯較高。在 ASD 兒童中觀察到 *Streptococcus*、*Veillonella*、*Escherichia* [104]、*Alistipes*、*Dialister* 和 *Parabacteroides* [103] 的豐度較低。另有研究指出特別是在 ASD 兒童腸道菌的 *Romboutsia timonensis* 豐度明顯下降 [81]。此外，短鏈脂肪酸 s 以及其對腸上皮屏障功能的調控 [105]，對維持血腦屏障完整性和在大腦發展的過程是不可或缺的 [106]。像丁酸鹽、丙酸鹽和乙酸鹽這樣的短鏈脂肪酸單獨或與其他物質結合，可以刺激緊密連接 (TJ) 的形成 [105,107,108]，尤其是丁酸鹽對血腦屏障形成的調節 [109]。此外，丁酸鹽和丙酸鹽對神經傳導系統、神經元細胞黏附分子、炎症、線粒體功能、氧化壓力 (oxidative stress) 和脂質代謝的基因表型產生強烈的表觀遺傳效應。相關研究表示，上述機轉都與 ASD 的發展有關 [109]。較低的短鏈脂肪酸層度可能會破壞腸道中的上皮屏障功能，因此血腦屏障會增加 ASD 患者腸道上皮屏障的通透性 [110]。腸道中短鏈脂肪酸濃度降低，可能與 ASD 患者微生物群中缺乏可產生短鏈脂肪酸的菌種有關 [74]。

10.4.2 ASD 與發炎反應

細胞因子調節免疫反應，並且參與神經元發展、突觸功能、分化、遷移、增生和行為障礙相關機制 [111,112]。據研究指出，神經生成細胞因子如 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 對皮質神經元、樹突發育、神經活動、長時程增強

(long-term potentiation)、神經突觸生長、海馬突觸的可塑性、整體神經發育和行為發展相關的調節機制產生直接影響 [111,112]。細胞因子的失調會導致免疫穩態紊亂，這可能會造成兒童早期神經元的交流和行為障礙，嚴重時，亦會導致 ASD [113, 114]。ASD 兒童，被觀察到單核細胞數量和血漿 IL-8、TNF- α 、IL-1 β 濃度增加，顯示異常的炎症狀況 [115]。據研究指出，IL-8 的血漿濃度增加是由於活化的 Th17 細胞因上皮和內皮感染而釋放的 IL-17 增加 [116]。另外，ASD 患者的免疫功能障礙，如異常 T 輔助細胞 [117]、補體因子濃度增加 [118]、促炎白細胞介素 (IL-1 β 、IL-6、IL-12p40) [119]，以及 TNF- α 和 TGF- β 濃度降低會引起類似 ASD 病症的急性炎症。細胞因子異常與 ASD 個體的健康狀態和溝通不良、社交互動受損、認知 / 記憶力差以及行為和神經元功能障礙有關 [119,120]。更多研究顯示，在 ASD 兒童中，血漿 IL-1 β 、IL-6、IL-17、IL-12p40 和 IL-12p70 濃度升高，包括 Th1 和 Th2 細胞因子與 IL-2 的負調控相關 [121-123]。另一項研究顯示，細胞因子表現存在性別特異性；男性的 TNF- α mRNA 表現程度與 TGF- β 、INF- γ 、IL-17 和 IL-6 的表現有關，而女性則不然 [123]。報告還指出，根據 ASD 兒童的疾病嚴重程度，細胞因子表達存在差異。在輕度嚴重的情況下，IL-12p40 的血漿濃度升高。而疾病嚴重程度中等的患者血漿 TNF- α 濃度較高，解釋疾病嚴重程度與血漿 TNF- α 濃度增加的相關性 [122,124]。

除了這些導致 ASD 病理學的炎症因素外，懷孕期間母體免疫系統的失調也與 ASD 的發生有關 [125]。來自母親的胎兒大腦反應性抗體、自身免疫或 IgG 抗體可以穿過胎盤屏障進入胎兒隔室，在那裡它們可以通過識別自身蛋白來干擾發育過程。且在胎兒大腦中，血腦屏障尚未完全形成或發揮作用 [110,126,127]。因此，發揮作用的免疫複合物和炎症介質 (inflammatory mediators) 可以通過 BBB 到達腦幹，最終導致小膠質細胞活化和神經元發炎反應 [110,128]。中樞神經系統內的神經發炎反應也與 ASD 的疾病嚴重程度有

關 [129,130]。動物和人類研究顯示，ASD 大腦中 IL-6 表現升高，導致構造異常。這種 IL-6 的過度產生可以改變突觸形成和神經傳遞以及樹突棘的扭曲和分布異常 [131-133]。此外，ASD 動物模型研究顯示全身發炎反應與 IL- β 、IL-6、IL-18、IL-33、IL-17 和 TNF- α 的正調控、小膠質細胞的活化、以及神經發炎反應為促成 ASD 病理機制的主要因素 [134]。

10.5 注意力不足過動症 (Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder, ADHD)

10.5.1 ADHD 與腸道菌

ADHD 通常以兒童期持續注意力不集中和過動 / 衝動為特徵。遺傳 [135]、鏈球菌感染 [136] 和環境因素 [137,138] 與 ADHD 有著密切相關。然而，多巴胺缺乏和正腎上腺素、血清素、Gamma-Aminobutyric Acid(GABA) 的濃度改變 [139,140]，代表下視丘 - 垂體 - 腎上腺軸出現調控異常的皮質醇的濃度下降 [141]，也曾被提出與 ADHD 有關。微生物群在下視丘 - 垂體 - 腎上腺軸的發展中扮演著重要作用，患有 ADHD 的個體的微生物群失衡，微生物數量及多樣性的減少，引發皮質醇濃度降低，導致下視丘 - 垂體 - 腎上腺軸對壓力的調控失常 [142,143]。ADHD 兒童中 Bacteroidaceae 和 Neisseriaceae 科的微生物負荷異常高，而對照組中 Prevotellaceae、Catabacteriaceae、Porphyromonadaceae 科的微生物數量較高。據相關研究指出，Bacteroidaceae 和 Neisseriaceae 的微生物高負荷導致 ADHD 腸道菌多樣性顯著下降 [80]。在生物分類上，在「科」的層面，具有 ADHD 特異性的糞便微生物主要以 Moraxellaceae, Peptostreptococcaceae, Peptococcaceae, Xanthomonadaceae 的高豐富度及 Alcaligenaceae 的高貧乏形式表現 [144]。而在「屬」的階層上，*Dialister*、*Faecalibacterium*、*Lachnoclostridium* 和 *Sutterella* 分別為造成 ADHD 兒童和非 ADHD 兒童之間差異的主要代表 [145]。此外，某些腸道菌群可以合成與 ADHD 發病機制相關的神經活性單胺分子（多巴胺、去甲腎上腺素、

5-HT、GABA) 及其前驅物 (苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸)。這些微生物還誘導腸上皮細胞合成神經活性化合物，並間接控制神經傳導系統，從而對大腦功能和行為產生至關重要的影響 [146-148]。在一項針對 28 名受試者的研究中，fMRI 影像顯示 ADHD 中 *Bifidobacterium* 屬微生物的增加 [149]，*Bifidobacterium* 的增加與一種 cyclohexadienyl dehydratase 的基因功能增強顯著相關 [150]，環己二烯脫水酶是一種參與苯丙氨酸 (phenylalanine, 多巴胺前驅物) 合成途徑的酶 [151]。苯丙氨酸可以通過 BBB，並經由多巴胺合成過程抑制酪氨酸羥化酶來調節多巴胺合成 [151]。多巴胺缺乏會導致對獎勵預期的神經反應減少，這是 ADHD 的生物標記之一 [150]。另一方面，兒童早期 *Bifidobacterium* 數量減少與罹患 ADHD 的風險增加有關 [152]。*Bacillus macerans* 可以合成多巴胺，因為它擁有一種產生多巴胺的關鍵酶——環麥芽糖糊精葡萄糖基轉移酶 (CTGase) [61]。腸道菌群中此類微生物的缺乏和豐度減少可能會導致 ADHD 患者出現壓力、憂鬱和類焦慮行為 [153]。在 ADHD 患者中，血清素濃度的改變與認知功能異常、神經元發育過程中的各種機制有關 [139]。研究顯示，腸道菌可調節結腸和血液中的血清素濃度，在結腸中的微生物會產生某些代謝物，刺激嗜鉻細胞增加色氨酸羥化酶 (tryptophan hydroxylase (Tph)) 濃度增加和血清素合成 [148]。血清素系統主要參與腦部與壓力、焦慮和憂鬱間關聯機制 [154]。特定腸道菌亦可產生重要的抑制性神經傳導物質 GABA。

此外，*Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus* 可以產出 GABA，而可以產出血清素的 *Streptococcus* sp. 和 *Enterococcus* sp. 在 ASD 和 ADHD 患者的糞便微生物群中數量較少 [155]。相關的研究發現，憂鬱症患者的 *Alistipes* 和 *Oscillibacter* 數量較高，*Bacteroidales* 的數量則顯著較少 [156,157]。*Bacteroidales* 與肥胖相關，而肥胖又與憂鬱和輕度發炎反應相關 [67]。此外，*Oscillibacter* 的代謝終產物戊酸，其結構類似 GABA，因此可以與 GABA 受體結合 [158]，促進抑制

性神經傳遞的增加，這表示微生物組內的相互作用與 NDDs（如 ADHD）中的憂鬱和類焦慮行為相關。

10.5.2 ADHD 與發炎反應

ADHD 與兒童期出現的急性炎症免疫反應相關，免疫相關遺傳因素和免疫遺傳性是 ADHD 最常見的成因之一 [159]。在 ADHD 患者中發現了大量 IL-6 和 TNF- α 的基因多型性 [160]。此外，細胞因子在大腦中的色氨酸代謝和多巴胺機制中發揮重要作用 [161]。因此，在 ADHD 中，促炎和抗炎細胞因子比例表現的改變可以造成必需單胺神經傳導物質濃度的變化 [162]。由於正腎上腺素增加和多巴胺濃度降低，IL-6、IL-2、IL-1 β 的施用導致齧齒動物模型中神經傳遞的改變，模擬類似於 ADHD 的狀況 [163,164]。ADHD 患者中，先天性促炎細胞因子如 TNF- α 的表現增加，而抗炎細胞因子如 IL-4、IL-2 和 INF- γ 的表現減少。這些促炎和抗炎細胞因子改變可誘導小膠質細胞活化和神經發炎反應 [165,166]。活化的小膠質細胞釋放更多的促炎細胞因子和其他相關因子，導致慢性神經炎症 [167]。在產前期間，周圍神經系統及神經炎症可能以單獨或聯合的方式干擾前額葉皮層和神經傳導系統（例如多巴胺）的成熟，增加後代罹患 ADHD 的風險。中樞神經系統中的多巴胺缺乏是 ADHD 的發病機制之一 [139,150]。據研究指出，被歸類為高度炎症的過敏性疾病也可能與 ADHD 相關 [168,169]。

10.6 思覺失調症

10.6.1 思覺失調症與腸道菌

思覺失調症（Schizophrenia, SCZ）是一種慢性、異質性神經發育性精神疾病，成因涉及遺傳和表觀遺傳因素、腸道菌組改變、免疫系統失調以及與幻覺、妄想、混亂社會互動相關的環境因素 [170]。SCZ 的機轉被認為始於子宮內，與產前營養不良、妊娠不良、胎兒生長狀況、緊急剖腹產、和低出生體重

有關 [171]。雙向腸腦交流的功能與情緒和認知中心有關，例如中樞神經系統、周圍神經系統、腸神經系統和腸內分泌系統，其失調可能會對 SCZ 的發生和病因產生影響 [78,172]。

SCZ 患者的腸胃道問題發生率很高，例如腸胃炎、結腸炎、腸躁症 [173-175] 並且大多處於高程度糖尿病、肥胖、高血壓和心血管疾病的風險。此類代謝紊亂與微生物群失調密切相關，包括 SCZ 等神經精神疾病 [176, 177]。此外，SCZ 中代謝紊亂的合併症和特定腸道菌的富集可能會破壞大腦白質 [178]，導致出現負面症狀和認知功能異常 [179]。腸道菌群的改變與 SCZ 微生物群內物種多樣性的降低有關 [180]。

與健康對照組相比，SCZ 患者的口咽微生物物種豐度增加，如 *Bifidobacterium dentium*、*Lactobacillus oris*、*Veillonella atypica*、*Dialister invisus*、*Veillonella dispar* 和 *Streptococcus salivarius* [181-183]。因此，*Streptococcus* 和 *Veillonella* 的豐度增加具有正相關性，表示 SCZ 個體腸道和口咽微生物群之間存在密切關聯 [181,182]。口咽微生物的易位增加可能與黏膜屏障破壞、腸漏及腸道病理狀況的發生以及 SCZ 個體對外來微生物的免疫能力下降有關 [181,182]。SCZ 患者俱有獨特的兼性厭氧菌組合，其中包括 *Lactobacillus fermentum*、*Alkaliphilus oremlandii*、*Enterococcus faecium* 和 *Cronobacter sakazakii/turicensis*，這些菌種通常在健康腸道中是不存在的 [181, 182]。

高數量的 Proteobacteria 增加是 SCZ 微生物組的特徵。尤其，*Methanobrevibacter*、*Clostridium*、*Collinsella*、*Succinivibrio*、*Klebsiella*、*Megasphaera* 的顯著增加，及 *Coprococcus*、*Blautia*、*Roseburia* 的減少，亦與 SCZ 中的脂肪酸、維生素 B6 代謝等代謝途徑紊亂有關 [184]。Proteobacteria

門, Rumimococcaceae 科、*Haemophilus* 屬、*Sutterella* 屬 和 *Clostridium* 屬的減少則與疾病進展有關。而在 SCZ 中, *Anaerococcus* 和 *Bacteroids* 的數量亦有所增加。Rumimococcaceae 的相對減少與負性症狀直接相關, 據研究指出, *Bacteroids* 的增加與 SCZ 個體憂鬱症狀的增加有關 [185]。此症早期 Lactobacillaceae 的增加 [186], 和後期 Lachnospiraceae 和 Veillonellaceae 的增加與 SCZ 的疾病嚴重程度有關 [187]。另外, 在 SCZ 和 ASD 中皆觀察到較高數量的 Clostridiales、Lactobacillales 和 Bacteroidales [75,184]。

此外, SCZ 血液中微生物多樣性的增加, 可能與其腸道菌的整體增加有關 [188]。血液微生物群被認為來自腸道和口腔 [189,190]。據研究表示, 患有腸胃道發炎和腸躁症的 SCZ 患者的其抗釀酒酵母抗體 (anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies, ASCA) 較高 [191,192]。*Clostridium difficile* 的感染頻率亦與 SC 群體高度相關 [193]。一項研究指出, SCZ 中 *Acidaminococcus*、*Akkermansia*、*Alistipes*、*Citrobacter*、*Dialister*、*Veillonella* 的豐度增加 [187]。此外, 在 SCZ 患者中進行的環境基因組研究提出了 12 個豐度增加的分類群: Deltaproteobacteria、Actinobacteria、Sphingomonadales、Actinomycetales、*Shingomonadaceae*、*Megasphaera*、*Eggerthella*、*Megasphaera elsdeniis*、*Clostridium perfringens*、*Akkermansia*、*muciniphila*、*Lactobacillus gasseri* 和 *Bifidobacterium adolescentis*, 和 7 個豐度減少的分類群: Rhodocyclales、Enterococcaceae、Rikenellaceae、Alcaligenaceae、Rhodocyclaceae、Leuconostocaceae 和 *Enterococcus*, 與年齡和性別匹配的健康對照相比, 存在高度相關 [194]。

在 SCZ 的代謝型麩氨酸受體 5 (mGlu5) 剔除小鼠模型中, 觀測到 Erysipelotrichaceae 科和 *Allobaculum* 屬的多樣性減少以及生態失調 [195]。此外, SCZ 患者糞便的 *Bifidobacterium*、*Lactobacillus* 和 *E. coli* 數量顯著降低,

Clostridium coccoides 則顯著較高 [196]。而與未用 olanzapine 或 risperidone 藥物的族群相比，用藥的族群中 *Bifidobacterium*, *E. coli* 明顯增加，糞便中 *Clostridium coccoides* 與 *Lactobacillus* 則明顯減少 [197,198]。研究表示，新生兒的產前和固有微生物感染會增加患 SCZ 的風險 [199,200]。Helicobacter pylori 感染與兒童時期的營養吸收不良有關，並導致生化平衡破壞，這可能在 SCZ 的發病機制中發揮重要作用 [201,202]。妊娠期 Toxoplasma gondii 感染與後代 SCZ 呈正相關 [203]。此外，*Streptococcus vestibularis* 已被認為是 SCZ 生物標誌，與其社會行為缺陷有關、神經傳導物質濃度的改變 [181,182]、ADHD、與 SCZ 相關的認知障礙 [204]。

SCZ 與涉及多巴胺、麩胺酸 (glutamic acid) 和 GABA 訊號傳導的各種機制的異常有關 [205-207]，如短鏈脂肪酸的合成（丁酸、乙酸、丙酸和異戊酸、色氨酸代謝），以及幾種神經傳導物質的合成（麩胺酸、GABA 和一氧化氮） [187]。這些機制的異常與 SCZ 症狀相關，例如憂鬱、焦慮和其他病理生理學 [208-210]，亦可能與 SCZ 中腸道菌多樣性的改變有關。若實驗性地將 SCZ 患者的糞便轉移到無菌小鼠腸道中，以誘導 SCZ 相關行為時，受體小鼠大腦海馬區出現明顯異常的麩氨酸、麩醯胺酸和 GABA 比率，模擬出因麩氨酸系統功能低下所導致的行為發展 [187]。

麩氨酸訊號傳導系統相關基因的異常與 SCZ 的發展密切相關。同時，麩氨酸合酶 (GOGAT) 被證實為 SCZ 腸道生物標記，與健康對照組相比，SCZ 患者的 GOGAT 表達和活性增加與腸道菌多樣性的特徵性降低和 IgA 相關粘膜免疫的改變相關 [194,195]。

色氨酸代謝是維持和維持腸道菌群穩態的重要途徑之一，據研究指出，此途徑受干擾會導致 SCZ 的病理生理學 [210,211]。色氨酸主要通過犬尿氨酸

途徑代謝，SCZ 患者則有高血清犬尿氨酸代謝物和低血清色氨酸濃度 [181,182, 212]。一項將未經藥物治療的 SCZ 患者的糞便微生物群移植到 SPF 小鼠中的研究報告了受體小鼠的犬尿氨酸代謝途徑和 SCZ 行為的改變。色氨酸和犬尿氨酸途徑代謝物濃度的改變，與腸道菌群的改變、和 SCZ 特異性微生物的富集直接相關 [181,182]。由於腸道菌群失調以及腸道上皮屏障完整性增加，微生物連同脂多醣等微生物成分易位進入血液，可能會誘發全身炎症，從而導致神經炎症、神經損傷和細胞凋亡，進而導致經免疫調控的 SCZ [213-215]。此外，短鏈脂肪酸直接引起焦慮和行為變化，例如與 SCZ 中的較高度強迫症等神經精神疾病相關的反社會、重複、儀式行為 [216]。此外，據報導，微生物易位標記 sCD14 的升高與產生丁酸鹽 *Roseburia* 和 *Coprococcus* 的減少有關，同時炎症和中樞神經系統感染增加 [217]。短鏈脂肪酸還通過減少 SCZ 中組蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 的過度活性來間接調節 DNA 修復機制，因此短鏈脂肪酸的降低表達會對疾病狀況產生負面影響 [218]，表明短鏈脂肪酸在 SCZ 中具有額外的間接作用。

10.6.2 思覺失調症與發炎反應

SCZ 影響全球約 1% 的人口 [219]。遺傳和環境風險因素之間的複雜相互作用會操縱免疫系統，從而在 SCZ 中引起炎症、神經免疫穩態的破壞、慢性神經炎症和神經發育障礙 [220]。風險因素包括遺傳異常、母體免疫活化反應 (maternal immune activation, MIA)、母體感染、腸道菌群失調、早期生活壓力和暴露於污染，造成血腦屏障、小膠質細胞功能失調進而引發神經炎症，導致 SCZ 的發病和進展 [220]。SCZ 的特徵性腦損傷開始於生命早期，其作用於生命後期出現 [221]。此症症狀通常出現在青春期晚期和成年早期 [222]。

全基因組關聯研究揭示了 SCZ 病因病理中免疫相關基因的遺傳多態性。例如，C4 補體因子的基因多型性、6 號染色體上的 major histocompatibility complex (MHC)[223,224]、白介素 1 β 、IL-6、可溶性 IL-6 受體 (sIL6R) 和

IL-10 與 SCZ 風險增加相關 [225-228]。相比之下，IL-2、IL-4、TNF- α 或 TGF- β 1 的多態性與 SCZ 風險增加較無關 [228,229]。此外，B 細胞相關之 CD19 和 CD20 基因與 SCZ 發病有關 [230]。在 SCZ 患者中也檢測到少突膠質細胞和髓鞘形成相關基因的遺傳異常 [231]。此外，SCZ 患者的血液中 CD5+ B 細胞顯著增加 [232]，表示 B 細胞功能在大腦發育過程中對免疫、少突膠質細胞生成和髓鞘形成的重要貢獻。SCZ 的病理生理學與風險亦與 B 細胞功能障礙和增加的易感性 [233,234]。

然而，較高的 C-reactive protein (CRP) 血液濃度與 SCZ 風險的降低呈負相關 [235,236]，較高的可溶性 IL-2 受體 (sIL-2R) 濃度則與 SCZ 的風險增加有關 [237]。參與小膠質細胞介導的突觸修剪的補體蛋白 C4A，其表達的增加會降低神經元間連結性，直接導致 SCZ 的病理生理學 [220,238,239]。此外，C4 結構等位基因的變異會增加男性 SCZ 的自體免疫和性別特異性易感性的風險 [240]。以 892 名新生兒的研究顯示 C4A 補體蛋白濃度升高和後續引發 SCZ 間的關聯 [241]。CSMD1 在周產期早期發育時表現，可調節 C4 蛋白的表現，因此遺傳破壞或路徑失調可能導致 SCZ 的平均認知能力和自我調控缺陷 [242, 243]。

細胞因子表現如 IRF3 [244]、IFN- γ [245]、IL-1 α [246]、IL-1 β [247]、IL-6 [248, 249]、IL-10 [226] 的升高以及 CRP、IL-6、IL-1 β 、TNF- β 和 TGF- β 的 mRNA 升高 [250]，皆與 SCZ 相關。免疫受體，如參與免疫監測的 MHC 受體和參與先天免疫細胞和小膠質細胞對微生物衍生分子訊號的認知、早期大腦發育 [251,252]、突觸可塑性和神經生成 [253] 的 toll-like receptors (TLR)，皆被發現在血液或死後腦組織有異常 [101,254,255]。在一個蘇格蘭 SCZ 家庭 [256] 和以及全球樣本 [257] 先後發現了 DISC1 基因的破壞。此變異基因型會破壞免疫系統網絡，從而誘發炎症 [258]，表示免疫相關基因的功能

失調和炎症共同促成了 SCZ 的病理生理學 [259,260]。懷孕期間的 MIA 導致胎兒大腦中腦多巴胺系統神經元增加，這與 SCZ 中腦區域的過度多巴胺系統訊號傳導有關 [261]。此外，在子宮內 MIA 前提條件孕育的後代，當青春期的接觸大麻素時會觸發下視丘 - 垂體 - 腎上腺軸壓力反應，並以性別特異性方式表現出 SCZ 相關行為以及腸道 *Bifidobacterium longum* 豐度顯著下降 [262]。此外，在子宮內暴露於病毒或細菌病原體，也會增加 SCZ 的風險。母體感染 *Toxoplasma gondii*、流感、風疹和 Borna disease virus 病毒顯著增加了 SCZ 的風險 [203,263]。自身免疫性疾病 [264]、產前感染和兒童時期接觸不同病毒 [263,265-267]、*Toxoplasma gondii* 感染 [203]、呼吸道感染 [268]、生殖泌尿道感染 [199] 和其他感染 [269,270]，皆曾有研究指出會誘發行為和認知功能障礙，並增加後代 SCZ 發展的總體風險 [222,271]。

未服藥的 SCZ 患者具有特定的細胞因子表現模式：1 型（IFN- γ 、IL-2、sIL-2R）較低和 2 型細胞因子（IL-6 和 IL-10）互補增加的不平衡免疫反應 [272]。產前期間增加的 IL-8 濃度也與 SCZ 後代的大腦皮層體積減少和心室體積增加有關 [273]。此外，免疫標記 IL-1 β 表現升高的遺傳風險與腦容量減少有關 [274]。最近在 SCZ 個體中進行的一項研究顯示，IL-6、IL-8 和 IL-10 的血清細胞因子濃度升高，與眶額皮質、扣帶回和額顳回的皮質體積密切相關 [275]。IL-6 濃度升高與出生前環境中 SCZ 相關因子的重現有關 [276]。此外，IL-6 對降低胎兒大腦血清素系統神經元的存活能力有很強的影響 [277]。IL-1 β 在動物中誘導中腦祖細胞分化為多巴胺系統神經元模型 [278,279]，代表細胞因子對 SCZ 中神經傳導物質系統建立的潛在影響有關。此外，早期血液中較高的 IL-6 與 18 歲時出現精神疾病的風險增加有關 [280]。IL-6 和 IL-17 可能會引起 MIA 模型中的一種免疫刺激劑 poly (I: C)，對胎兒大腦產生影響 [281,282]。較高的 C-Reactive Protein 濃度與血清 IL-6 升高和慢性及首發 SCZ 的認知顯著改變、語言和學習記憶力差、自主照護差和精神運動速度受損有關 [283,284]

。此外，CRP 程度與 BMI 呈顯著正相關，與 HDL 呈負相關 [285]。而與性別和年齡匹配的患者相比，較高的 CRP 濃度與男性腰圍增加有關 [286]，較高的 IL-6 和 hs-CRP 濃度僅與女性的 BMI 顯著正相關 [287]。高 CRP 濃度的 SCZ 患者最有可能患有代謝症候群 [288,289]。妊娠期間母體血液中炎症標記 CRP、IL-8 和 IL-10 的增加與患 SCZ 的風險相關，同時伴有 SCZ 的早期體徵和症狀，這顯示產前炎症改變了胎兒大腦發育過程，導致其對 SCZ 的易感性增加 [290]。CRP 與負性症狀和精神病理學相關，而 IL-18 與 SCZ 的總體和一般精神病理學呈正相關 [291]。在臨床高危患者中，CRP、IL-6、IL-4、IL-12 升高，IL-1 β 、IL-10 降低 [292-294]，而在剛開始出現 SCZ 症狀的患者中檢測到 IL-12/IL-23p40 的濃度更高 [295]。

在首次發作的精神病患者 (first-episode psychosis, FEP) 中，顯著較高水平的 IFN- γ 和 IL-12 與全腦灰質體積呈負相關 [296]。此外，IL-12 是與臨床高危 (clinical high risk, CHR) 個體轉變為 SCZ 相關的唯一炎症標的物 [297]。然而，與 CHR 個體不同，FEP 個體的 IL-1 β 和 IL-10 比對照組升高 [297]。在超高風險 (ultra-high risk, UHR) 族群中發現血清中 IL-6 濃度增加和 IL-17 下降，解釋了增加 IL-17 濃度可以改善疾病狀況的關聯 [298]。同時，還發現 TNF- α 的表現會使負性症狀惡化 [299]。現已發現首發和慢性患者的細胞因子濃度升高，包括 IFN- γ 、IL-1 受體拮抗劑 (IL-1RA)、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、sIL-2R、TGF- β 和 TNF- α [297]。然而，在所有 IL-6 和 TNF- α 中，FEP 患者的濃度相對於健康對照組要高得許多 [300]。與 FEP 患者不同，慢性患者的 IFN- γ 濃度較低 [297]。此外，FEP 中 IL-1b、sIL-2R、IL-6 和 TNF- α 的升高與抗精神病藥物治療無關 [301]。此外炎症也發現與自殺有關，和患有情緒障礙的患者一樣，與 SCZ 非自殺患者和健康對照相比，在血液和屍檢腦樣本中檢測到血清 IL-1 β 和 IL-6 濃度升高 [302]。自殺的 SCZ 患者的背外側前額葉皮層、前扣帶皮層、中背側丘腦內的小膠質細胞密度極度升高，並伴有

海馬小膠質細胞增生 [303]，解釋極端的神經炎症可以在 SCZ 中誘發自殺。

此外，空氣污染亦會誘發與 SCZ 發病機制相關的炎症 [304]。免疫基因，尤其是小膠質細胞表現基因，在免疫系統與污染的相互作用中發揮著核心作用 [305,306]。與生活在空氣品質較佳地區的兒童相比，暴露於交通相關的空氣污染 (TRAP) 的兒童中促炎細胞因子 IL-6、IL-1 β 、CD14 和 TNF- α 程度較高 [307-309]。此外，受污染的空氣在健康的年輕人群中引起了相同的炎症細胞因子，具有特徵性的 IL-6 增加以及炎症細胞和相關微粒的頻率增加，可能代表內皮損傷 [310]。此外，在動物模型中，TRAP 暴露顯示大腦中 IL-1 α 、IL-6 和 TLR4 的表達升高 [311]。TRAP 特別影響 MyD88 途徑中的小膠質細胞 TLR4 的訊號傳導 [312]。在男童中，隨著這種交互炎症訊號而來的是環境、聽覺提示恐懼條件反射和焦慮、行為缺陷 [313-315]，長時間將帶來有害後果，例如改變突觸可塑性 [316] 改變大腦發育和功能，這種情況亦已經由 SCZ 的 MIA 模型中模擬顯示 [317]。

10.7 神經發育性精神疾病的微生物菌叢和治療介入的未來展望

NDD 較會出現腸道菌叢失調和炎症狀態，這會影響學習、語言、認知、運動和行為的發展，並帶來長期障礙 [318]。早期辨別有 NDD 風險的嬰兒是採取預防性治療措施的先決條件。NDD 患者在腸菌叢中缺乏潛在生產短鏈脂肪酸的微生物，像是 *Bifidobacteria* sp. *Lactobacillus* sp. [319]。進而採用 *Bifidobacteria* sp. *Lactobacillus* sp 的益生菌菌株和益生菌物種作為治療，使炎症、神經心理困擾、胃腸道和行為問題相關的生態失調正常化。據報導，在 ASD 小鼠模型中，*B. fragilis* 治療可降低腸道通透性、使腸菌叢的生態組成正常化並緩解疾病症狀 [320,321]。益生菌、*Lactobacillus rhamnosus* 及 *Lactobacillus reuteri*，可以增強調節緊密連接蛋白的表現量進而改善腸道

屏障的完整性和功能，減少了體外或動物模型中的微生物轉移 [322,323]，而 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacteria* 被證明可以顯著減少焦慮症狀 [324]。此外，在同時於 ASD 兒童和健康兒童的糞便樣本觀察到補充含有 *Lactobacillus*，*Bifidobacteria* 及 *Streptococci* 的益生菌製劑可使 Bacteroidetes/Firmicutes 的比例正常化同時減緩 *Desulfovibrio* sp. 和 *Bifidobacterium* sp. 的失衡 [98]。除了益生菌療法外，糞便微生物群移植（fecal microbiota transplantation, FMT）和微生物群轉移療法（microbiota transfer therapy, MTT）越來越被認為是作為治療 NDDs 的有潛力的療法。據報導，FMT 可成功治療發炎型腸道疾病和腸躁症，於患者體內產生正常典型的腸道菌群組成，從而改善便秘症狀 [325, 326]。微生物群轉移療法（MTT）是一種改良的 FMT，過程為使患者接受 14 天的抗生素治療，然後清潔腸道，然後給予較高初始劑量的系統化人類腸道菌群 (systemized human gut microbiota)，治療達 7-8 週。據報導，臨床試驗中的 MTT 可改善消化不良、腹痛、便秘和腹瀉等胃腸道症狀以及與 ASD 相關的症狀，並使 ASD 患者腸道菌群正常化 [327,328]。總之，在安全的治療環境為前提下，人們越來越關注使用 FMT 和 MTT 作為治療 NDDs 兒童的治療介入措施 [329]。

10.8 總論

中樞神經系統和腸菌叢生態系統之間存在著雙向訊號網絡 [330]。要了解其中之機轉需要更多的研究。例如，由於嬰兒過量使用抗生素使神經元和腸道菌群的發育過程受到干擾，可能導致大腦發育的關鍵階段出現炎症狀態 [331]。腸菌叢組成的改變可導致全身炎症和神經炎症 [332]。此外，微生物還在小膠質細胞成熟過程中發揮重要作用，可以調節並活化中樞神經系統中的神經膠質，因此也被認為是中樞神經系統神經炎症的調節因子 [333]。而上述之發育過程等現象均扮演了重要的影響因子且同時成為 NDD 發病之重要風險因素。研究複雜的途徑，以簡要說明微生物組 - 腸 - 腦 - 免疫軸在 NDD 的發展、疾

病發作和進展將有利於發現臨床相關的標靶生物療法，以因應全球 NDD 患者的持續上升。於未來展望，微生物的療法具有令人興奮的潛力，可防止 NDD 的出現與發病後的治療，然而需要更多進一步的研究來闡明與神經元發育過程、相關疾病、診斷相關的特定分子訊號通路，並開發個人化的微生物菌株療法。

參考文獻

1. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S: Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports* 2016, 6:23129.
2. Jena A, Montoya CA, Mullaney JA, Dilger RN, Young W, McNabb WC, Roy NC: Gut-Brain Axis in the Early Postnatal Years of Life: A Developmental Perspective. *Front Integr Neurosci* 2020, 14:44.
3. Acuna I, Cerdo T, Ruiz A, Torres-Espinola FJ, Lopez-Moreno A, Aguilera M, Suarez A, Campoy C: Infant Gut Microbiota Associated with Fine Motor Skills. *Nutrients* 2021, 13.
4. Borre YE, O'Keefe GW, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF: Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med* 2014, 20:509-518.
5. Marin O: Developmental timing and critical windows for the treatment of psychiatric disorders. *Nat Med* 2016, 22:1229-1238.
6. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE: Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108 Suppl 1:4578-4585.
7. Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, et al: Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe* 2015, 17:852.
8. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS: How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 2016, 352:539-544.
9. Vangay P, Ward T, Gerber JS, Knights D: Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. *Cell Host Microbe* 2015, 17:553-564.
10. Li W, Chen M, Feng X, Song M, Shao M, Yang Y, Zhang L, Liu Q, Lv L, Su X: Maternal immune activation alters adult behavior, intestinal integrity, gut microbiota and the gut inflammation. *Brain Behav* 2021, 11:e02133.
11. Garay PA, McAllister AK: Novel roles for immune molecules in neural development: implications for neurodevelopmental disorders. *Front Synaptic Neurosci* 2010, 2:136.
12. Munawar N, Ahsan K, Muhammad K, Ahmad A, Anwar MA, Shah I, Al Ameri AK, Al Mughairbi F: Hidden Role of Gut Microbiome Dysbiosis in Schizophrenia: Antipsychotics or Psychobiotics as Therapeutics? *Int J Mol Sci* 2021, 22.

(更多參考文獻請見附錄)

第十一章：微生物相與肺部疾病

Chapter 11 : Microbiota and lung diseases

賴信志

定植在人體內的微生物群與人體具有共生關係，形成不同的微生態系統，影響人體免疫、新陳代謝、內分泌等生理過程。微生物群失衡通常與異常的免疫反應和炎症有關，最終促進呼吸道疾病的發生和發展。患有慢性呼吸系統疾病（包括哮喘、COPD、支氣管擴張和特發性肺纖維化）的患者通常會改變腸道和肺微生物群的組成和功能。腸道菌群通過肺 - 腸道菌群影響呼吸免疫和屏障功能，導致慢性呼吸道疾病的預後改變。反過來，肺生態失調通過體內淋巴細胞的持續活化促進肺部疾病的惡化並導致腸道功能障礙。新一代定序技術的最新進展揭示了肺腸道微生物群在慢性呼吸道疾病發病機制中的關鍵作用。本綜述重點關注腸肺生態失調與呼吸系統疾病發病機制之間的關係。此外，還評估了潛在的治療方式，例如益生菌和糞便微生物群移植，以預防慢性呼吸道疾病。

一、簡介

微生物群在人體內，主要分佈在口腔、腸道、呼吸道、皮膚、陰道等黏膜表面，形成了一個複雜的微生態系統 [1,2]。這些菌相不僅幫助人體維持正常生理功能，也在疾病的發生和發展中扮演重要角色。隨著高通量二代核酸定序技術的發展，以及經由對微生物菌群 (targeted 16S rDNA) 及全基因譜 (metagenome) 的定序分析，逐漸發現呼吸道與腸道的菌相之間，存在一定的相關性 [3]。其中，在二者微生物群失調 (dysbiosis) 的情況下，發現肺和腸道中的微生物共生病原菌 (pathobionts) 能夠增生，影響全身系統性的發炎症狀、不正常代謝和細胞信號傳導等方式，導致疾病發生及發展。例如，氣喘、慢性阻塞性肺病 (COPD) 甚至肺癌等肺部疾病，除了呼吸道微生物相，常與消化道疾病密切相關。因此形成了腸肺軸 (gut-lung axis) 的概念 [4]。

腸肺軸理論主要以在腸道及肺定殖 (colonize) 的微生物菌群為連接樞紐，影響免疫及代謝系統，形成了連接肺和腸的雙向軸。基本上，腸道菌群影響

肺部疾病的發展，而肺部疾病也可以通過免疫代謝調節，影響消化道生理及疾病。這個觀念為臨床腸道及肺部疾病的診斷和治療提供了新的思考方向 [5]。

二. 肺微生物群與呼吸道疾病

腸道菌群不僅參與腸黏膜的免疫發育，而且被稱為重要的先天免疫系統調節劑。相對的，對肺微生態 (microecology) 的了解程度就不若於對腸道的了解。我們知道的是，在健康情形下，人體呼吸道和肺部的主要細菌包含了普氏菌屬、鏈球菌屬、韋榮氏球菌屬、梭桿菌屬和嗜血桿菌屬 [6]，雖然它們的相對豐度 (abundance) 低於腸道中的細菌。肺微生物群在生命早期，主要通過從鼻咽部以及胃液中遷移到肺內的菌群，與肺泡巨噬細胞及粘液纖毛的密切互動，刺激並促進肺部免疫系統成熟和平衡 [7]。

肺部微生物群在失衡狀態下，可導致許多疾病發生。其中，慢性發炎進一步引起呼吸道的環境變化，更可導致某些菌群的生長和繁殖。此外，肺上皮屏障功能障礙 (如受損的黏膜纖毛) 會影響肺微生物的清除機制，或促進病菌向肺遷移 (如二次感染)。病原細菌中，流感嗜血桿菌、卡他莫拉菌、肺炎鏈球菌和肺炎克雷伯菌被認為是嚴重呼吸道疾病患者最常見的細菌種類，也被認為是潛在的致病因素 [8,9]。在囊性纖維化患者，其呼吸道中綠膿桿菌、葡萄球菌和伯克霍爾德菌的數量顯著增加。在 COPD 患者中，肺部莫拉氏菌和嗜血桿菌的數量增加 [10] 等等，皆與肺部疾病發展密切相關。

三. 腸道和肺微生物群的相互作用

定殖於呼吸道和消化道黏膜的微生物可以對雙方組織產生免疫調節作用。例如，用健康小鼠的糞便懸浮液 (faeces suspension) 灌胃可以減輕感染肺炎鏈球菌的小鼠在抗生素治療下的肺炎症狀。此外在兒童中，口服乳酸桿菌和雙歧桿菌有助於緩解氣喘症狀，並減少癲癇發作的頻率。腸道中的分段絲狀細菌可

以刺激機體產生 Th17 免疫細胞，從而降低肺炎鏈球菌的感染率和死亡率。在小鼠中，腸道接種約氏乳桿菌可顯著降低肺部 Th2 的炎症反應 [11,12]。

肺和腸道微生物群的作用是雙向的。腸道微生物也可以轉移到肺部。例如，臨床發現，當腸漏症 (leaky gut) 發生時，敗血症 (sepsis) 和急性呼吸窘迫綜合徵候群 (ARDS) 會惡化，導致腸道菌群轉移到血液甚至肺部。肺部的肺炎鏈球菌和流感嗜血桿菌也會激活腸組織細胞的 MAPK 通路並增強炎症反應。此外，當機體發生腸道或肺部菌群失調時，ILC2s 等免疫細胞可通過肺部和腸道內的血液遷移，釋放過多的炎症介質，從而影響肺部微生態環境以及感染的類型和強度 [13,14]。

鑑於腸道菌群在人體中發揮著重要作用，已嘗試使用補充益生菌（主要由雙歧桿菌和乳酸桿菌組成）或糞便微生物群移植來治療疾病。先前研究指出，在糞菌移植 (faecal microbiota transplantation, FMT) 後 6 小時，這些腸道微生物群促使小鼠的肺部細菌數量減少以及 TNF- α 和 IL-10 濃度趨向正常化，顯示腸道微生物群對肺炎鏈球菌性肺炎具有保護作用。同樣，FMT 降低 TLR4/NF- κ B 信號通路的活性，並通過恢復腸道微生態 (normobiosis) 來緩解急性肺損傷動物的氧化壓力。它們不僅能治療因腸道菌群失調引起的各種腸道疾病，而且對傳染病的防治也有正向作用。特別是美國等國製定預防 COVID-19 肺炎的臨床治療指南明確提出，腸道微生態調節劑可用於維持腸道菌群平衡，預防繼發性肺部感染。然而，無論使用菌群調節劑或菌群移植，都可能存在一定的病原菌污染風險，這會增加免疫相關不良事件的發生。因此，在臨床實踐中，應注意菌群調節劑或菌群移植的安全和質量控制。在提高療效的同時盡可能預防和減少不良事件的發生 [15,16]。

四 . 微生物群代謝物和呼吸系統疾病

腸道微生物群的某些成分或代謝物，如短鏈脂肪酸 (SCFA)、脂多醣 (LPS) 和肽聚醣，在身體處於疾病或健康狀態時也發揮著重要作用。目前對於 SCFA 功能的研究最為詳細。腸腔中的 SCFAs 可為結腸細胞提供能量，調節腸道內的免疫反應，維持腸道微生態的穩定。此外，SCFAs 可以通過與細胞膜上的 G 蛋白偶聯受體 (GPCR; 例如 GRP43、FFA2 和 HCA2) 結合來活化下游效應分子 (例如 MAPK、PI3K 和 NLRP3)，從而改變樹突狀細胞 (DC) 和輔助 T 細胞的互動及功能。此外，SCFAs 也可通過轉運蛋白 SLC5A8 或 SLC16A1 進入細胞，抑制組蛋白脫乙酰酶的活性，增加骨髓和肺中 Ly6c⁺ 單核細胞的數量，從而減少產生中性粒細胞和改善肺部過敏性炎症 [17,18]。

除了 SCFAs 外，腸道菌群產生的其它代謝物，如脫氨基酪胺酸、吲哚衍生物、菸酸、多胺、尿石素 A、丙酮酸和乳酸，也具有抗炎和抗感染活性。例如，吲哚及其衍生物可通過活化星形膠質細胞中的芳烴受體信號傳導抑制中樞神經系統炎症，調節腸道生態系統功能，從而發揮抗炎和抗氧化作用 [19,20]。

五 . 服用中藥對肺失調的免疫調節

肺大腸表裡關係理論是中醫藏象學說的重要組成部分。早在 3000 年前，中醫經典《黃帝內經》就詳細記錄了肺與大腸的生理病理關係。玄白承氣湯、葛根芩連湯及其他滋補中藥，如人參、梔子、當歸、黃芪等，可透過降低脂多醣誘導的急性肺組織損傷和病理性結腸組織損傷，調節肺腸黏膜免疫功能，因此是基於肺腸共治概念的創新藥物開發中的候選藥物。然而，目前對中藥作用機制的研究主要集中在分泌的 IgA 和細胞因子的基因表現變化以及 T 淋巴細胞等免疫細胞數量的變化。目前缺乏對呼吸道 / 腸黏液分泌、黏膜系統免疫細胞功能變化、肺腸軸局部微生態成分變化的深入研究，而這個研究領域正蓬勃進行中 [21,22]。

六、未來的挑戰和前景

隨著微生物組研究的深入發展，人們越來越意識到肺和腸道微生態在機體中的重要作用，肺腸軸背後的機制在許多臨床現象和實驗數據中逐漸被揭示。但由於臨床試驗樣本來源的不同，結果的一致性和重複性較差。由於缺乏對微生物組的縱向或侵入性研究，腸 - 肺軸的具體機制和途徑的研究仍然困難，口服益生菌、菌群移植或抗生素防治仍需進一步驗證。未來，隨著樣本處理方法的更新、生物技術的進步以及定序結果解讀的增加，該領域將引領肺部疾病防治的革命性進展，為臨床治療提供新的思路和治療靶點的相關疾病。

致謝：

感謝國家科學技術委員會 (NSTC) 的 MOST111-2327-B-182-003 研究計畫支持。

參考文獻

1. Fan, Y. & Pedersen, O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:55-71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
2. Gebrayel, P. et al. Microbiota medicine: towards clinical revolution. *J Transl Med* 2022;20:111. doi: 10.1186/s12967-022-03296-9.
3. Enaud, R. et al. The Gut-Lung Axis in Health and Respiratory Diseases: A Place for Inter-Organ and Inter-Kingdom Crosstalks. *Front Cell Infect Microbiol* 2020;10:9. doi: 10.3389/fcimb.2020.00009.
4. Budden, K. F. et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol* 2017;15:55-63. doi:10.1038/nrmicro.2016.142.
5. Dang, A. T. & Marsland, B. J. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol* 2019;12:843-850. doi:10.1038/s41385-019-0160-6.
6. Hilty, M. et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One* 2010;5:e8578. doi:10.1371/journal.pone.0008578 .
7. Whiteside, S. A., McGinniss, J. E. & Collman, R. G. The lung microbiome: progress and promise. *J Clin Invest* 2021;131:e150473. doi: 10.1172/JCI150473.
8. Kloepfer, K. M. et al. Detection of pathogenic bacteria during rhinovirus infection is associated with increased respiratory symptoms and asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1301-1307, 1307.e1-3. doi:10.1016/j.jaci.2014.02.030.
9. Agarwal, D. et al. Potential of Health and Demographic Surveillance System in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease Microbiome Research. *Front Public Health* 2017;5:196. doi: 10.3389/fpubh.2017.00196.
10. Wang, Z. et al. Airway host-microbiome interactions in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2019;20:113. doi: 10.1186/s12931-019-1085-z.
11. Ivanov, II et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 2009;139:485-98. doi: 10.1016/j.cell.2009.09.033.
12. Fujimura, K. E. et al. House dust exposure mediates gut microbiome *Lactobacillus* enrichment and airway immune defense against allergens and virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:805-10. doi: 10.1073/pnas.1310750111.

(更多參考文獻請見附錄)

第十二章：微菌叢與代謝性疾病

Chapter 12 : Microbiota and metabolic diseases

高承源

人體腸道微菌叢能影響宿主的日常生理系統，包括食物攝取、消化吸收與代謝轉化等不同階段。當其出現失衡時，則會與許多代謝性疾病有高度關聯。本章對於腸道微菌叢與肥胖、第二型糖尿病、非酒精性脂肪肝與營養不良相關的高通量菌相與多體學的關聯分析做一綜述，並提供目前對其因果關係與潛在分子機制的理解。另外，進一步介紹目前關於針對這方面疾病，以腸道微菌叢為靶點的預防措施的例子，為微菌叢領域未來的基礎和轉變研究提供了新視角。

腸道微菌叢與肥胖

本章討論腸道微菌叢與代謝性疾病的關聯性。此處代謝性疾病並非指遺傳性代謝疾病，而是與肥胖症息息相關的高血壓，高血脂和高血糖等代謝症候群以及其相關之疾病。這些血脂異常、血糖代謝異常（胰島素抗性）、高血壓的綜合症狀，經常與體內長期低度發炎高度相關，進一步導致更嚴重的疾病，例如第二型糖尿病、非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 以及心血管疾病。

自 20 世紀中以來，已開發國家肥胖症及其相關的代謝症候群發病率急劇增加。肥胖流行的主要原因是能量供需的失衡，久坐不動的生活型態與增加的食物攝取正是其主要原因，而後研究發現抗生素的廣泛使用可能會進一步加劇這種情況。

目前有越來越多的證據顯示腸道微菌叢在肥胖發病中可能扮演重要的角色。最經典的研究於 2006 年開始，腸道微菌叢研究的先驅 - 美國華盛頓大學教授 Jeffrey Gordon 以及他所領導的研究團隊的一系列論文發表，發現經由糞微菌叢移植，可以讓肥胖相關微菌叢移植到瘦小鼠腸道裡並導致其體重增加。隨後的流行病學研究闡明，肥胖者和纖瘦者的腸道微菌叢存在顯著差異。腸道中含量最豐富的兩門細菌 - 厚壁菌門 (Firmicutes) 和擬桿菌門 (Bacteroidetes)

相對豐富度在肥胖者中明顯升高。他們更進一步的糞微菌叢移植研究表明，將一胖一瘦的同卵雙胞胎的糞便，分別移植到無菌小鼠體內，竟可神奇的將原有糞便來源捐贈者的胖瘦表型，相似的轉移給無菌小鼠。這類糞微菌叢移植的實驗對於腸道菌相與肥胖之間從相關性連結更進一步提供了因果關係的相關佐證。

除了肥胖可以透過腸道微菌叢去調控，是否一體兩面的纖瘦表徵亦可以被腸道微菌叢所影響也是值得深入研究的議題。過去國家衛生研究院高承源副研究員的研究團隊曾經在 *Nature Microbiology* 期刊發表論文，發現雙特異性去磷酸酶六 (*dusp6*) 基因敲除鼠在進行高脂飼料餵食後有不易變肥胖的表型，且其腸道菌相明顯與野生型小鼠不同。再進一步經由糞微菌叢移植研究後，證實 *dusp6* 基因敲除鼠的腸道微菌叢在移植到野生型無菌鼠後，也會產生顯著的抗肥胖效果。這方面的研究整體而言為持續深入尋找將腸道微生物群與全身能量代謝關聯提供了理論基礎，在在顯示肥胖與否（或是纖瘦與否），很可能有部分成因是由腸道微菌叢來控制。

從目前這些針對肥胖個體的總體基因體學關聯研究發現，在肥胖個體中，除了厚壁菌門與擬桿菌門的豐度比例之外，研究也顯示更細的某些細菌層級豐度與肥胖呈現正相關，例如凸腹真桿菌 (*Eubacterium ventriosum*) 和羅斯氏菌 (*Roseburia intestinalis*)。而艾克曼嗜黏蛋白菌 (*Akkermansia muciniphila*)、普拉梭菌 (*Faecalibacterium prausnitzii*)、多形類桿菌 (*Bacteroides thetaiotaomicron*) 和史氏甲烷短桿菌 (*Methanobrevibacter smithii*) 等菌群的豐度則可能與肥胖程度呈現負相關。進一步將艾克曼嗜黏蛋白菌 (*A. muciniphila*) 或多形類桿菌 (*B. thetaiotaomicron*) 來灌餵小鼠皆可防止肥胖，這證實了這些與肥胖有負相關的菌群的，未來用以預防、控制與治療肥胖與代謝性疾病的潛力無窮。

腸道微菌叢與第二型糖尿病

第二型糖尿病 (T2D) 與糖尿病前期 (血糖高於正常值，但卻還未達第二型糖尿病的確診標準的階段，通常仍未用藥，而是用飲食營養和日常生活與運動來調整) 是另一群被認為與腸道菌相有高度關聯的疾病。T2D 約佔所有糖尿病病例的 90%，並與肥胖有類似的發病率和患病率都在增長的趨勢，影響了 5% 到 15% 的成年人口，這也是相當常見的代謝性疾病。T2D 的病因與數百種基因變異和複雜的環境因素的有關，而且常與肥胖症共病，是故解析腸道微菌叢是否參與糖尿病前期血糖升高，進而觸發 T2D 或維持高血糖具有相當重要的意義。

第二型糖尿病患者通常接受了針對高血糖及心血管相關併發症的多重藥物療程，而這些多重藥物治療後來也已被發現會影響這些個體的腸道微菌叢。例如，常用於治療高血糖的藥物二甲雙胍 (Metformin) 對腸道菌相的改變相當大，對腸桿菌等多個屬和種的相對豐度產生影響，並誘導腸道菌對人體有益的短鏈脂肪酸的丙酸鹽和丁酸鹽產生。但二甲雙胍治療亦會導致大約三分之一的人出現短暫或持續性的腸道不適，部分原因可能是某些大腸桿菌的產氣量以及各種細菌毒性因子的增加。因為以上原因，試圖闡明腸道微菌叢與第二型糖尿病之間關聯的人體研究，多數集中在糖尿病前期階段。

目前在尚未接受藥物治療的糖尿病前期個體中，腸道微菌相有幾個特徵，例如產丁酸鹽的菌群減少，艾克曼嗜黏蛋白菌 (*A. muciniphila*) 的豐度減少以及具有促發炎性質的菌群豐度增加。另外，來自大規模流行病學研究的顯示，接受全結腸切除術的個體，與未接受結腸切除術的相比，有顯著增加患第二型糖尿病的風險。然而，這些變化都不是第二型糖尿病所獨有的，而卻常發生在許多以臨床無症狀的低度炎症為特徵的慢性非傳染性疾病中。至目前為止，以糞微菌叢移植將腸道微菌從患有第二型糖尿病或糖尿病前期的未用藥個

體轉移到無菌小鼠以嘗試再現第二型糖尿病表型的實驗尚未成功，故其因果關係尚未定論。但在機制的探討方面，經由實驗動物的研究建議，高血糖可能會經由改變腸上皮細胞的 GLUT2 基因轉錄和緻密連接完整性的改變來增加腸上皮屏障通透性，從而導致腸道黏膜滲漏，而腸道黏膜滲漏正是可能會改變腸道菌相的主因之一。

腸道微菌叢與非酒精性脂肪肝病

非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 與非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 通常被認為是代謝症候群在肝臟所呈現的疾病。在某些盛行的國家中，其患病率可達 20-40% 的成年人口。目前的研究建議，失衡的腸道微菌叢可能是 NAFLD 和 NASH 病理中的關鍵因素之一。目前關聯性研究結果顯示 NAFLD 患者的變形菌門 (Proteobacteria)、梭桿菌門 (Fusobacteria)、放線菌門 (Actinobacteria)、梭菌屬 (*Clostridium*)、厭氧桿菌屬 (*Anerobacter*)、鏈球菌屬 (*Streptococcus*)、埃希氏菌屬 (*Escherichia*) 和乳酸桿菌屬 (*Lactobacillus*) 的豐度增加，反之擬桿菌門 (Bacteroidetes)、普雷沃菌屬 (*Prevotella*)、顫螺旋菌屬 (*Oscillibacter*)、普氏梭桿菌屬 (*Flavonifaractor*)、氣味桿菌屬 (*Odoribacter*) 和另枝菌 (*Alistipes* spp) 豐度則較低。與健康對照組相比，腸道微菌叢的改變與糞便中 2- 丁酮和 4- 甲基 -2- 戊酮的濃度升高有關，這些會導致代謝性肝病患者的肝細胞毒性。此外，鑑於 NAFLD 患者體內的異常腸道微菌叢比健康個體更富含產生乙醇的細菌，間接可能增加循環和呼吸中內生性產生的乙醇濃度。乙醇會活化 NF- κ B 信息傳導途徑，並通過損害腸道屏障功能和導致肝門靜脈內毒素血症導致組織損傷，進而可能誘發肝臟炎症和脂肪肝炎。除了上述觀察性研究，糞微菌叢移植研究進一步證明 NAFLD 的發病機制亦可能是來自於腸道中大量產酒精的肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*)，所以儘管患者沒有酒精過度攝取的問題，但其腸道菌所產生的酒精仍會造成肝臟的損傷。

腸道微菌叢與營養不良

前述幾種疾病，與肥胖有高度關聯，而肥胖簡言之正是一種營養攝取過剩導致的疾病。另一個對全球未開發國家影響亦相當大的健康問題在於營養不良。營養不良影響約 1.6 億人，是 5 歲以下兒童死亡的主要原因。目前已知在持續營養不良的情況下，會伴隨著健康成熟厭氧腸道微菌叢的喪失，逐漸導致能量收集、免疫反應和維生素合成不足，並與慢性吸收不良、腹瀉和病原菌的入侵有關。不過可惜的是因為這方面健康問題影響的國家與族群較不受重視，相關研究遠比肥胖、第二型糖尿病、非酒精性脂肪性肝病等『帝王貴族病』稀少，尚待更多研究資源的投入。

肥胖與相關代謝性疾病的次世代益生菌

艾克曼嗜黏蛋白菌是 2004 年由荷蘭 Willem de Vos 教授實驗室自人類糞便鑑定出來的一個新的疣微菌門 (Verrucomicrobia) 的少數成員之一。這隻細菌為絕對厭氧的革蘭氏陰性菌，其唯一碳源和氮源是腸道黏液中的黏蛋白，在一般健康人的體內豐度約達 1-5%。如前述研究發現，腸道艾克曼嗜黏蛋白菌的豐度跟肥胖與第二型糖尿病有明顯的負相關。

比利時魯汶天主教大學的 Patrice Cani 教授團隊發現口服攝取艾克曼嗜黏蛋白菌的小鼠可以逆轉高脂飼料引起的肥胖，減少血液中細菌脂多醣 (LPS) 的濃度，減低胰島素抗性和其引發的代謝併發症。他們進一步研究了其分子機制，並除了以小鼠研究，也進行了臨床試驗。結果顯示，受試者們都有不同程度的原本過重的體重減輕，胰島素抵抗能力與血脂也漸趨於正常，肝腎功能亦沒有異常現象。目前美國 Pendulum 公司已開發出以艾克曼嗜黏蛋白菌為主的次世代益生菌產品，以血糖控制為目標在銷售中，可見該菌作為次世代益生菌的肥胖與相關代謝性疾病之治療潛力。

總結

人體腸道微菌叢會受遺傳因子、人種、地域、飲食、生活習慣等眾多因素的影響，所以不同人體研究所找出的代謝性疾病的關聯菌群會有一定侷限性，未必能完全一致。但整體而言，若能完整建立一個研究體系，由代謝性疾病的患者歸納出某些菌群的豐富程度彼此消長，深度分析其菌相所影響的基因途徑，加以配合無菌或限菌實驗動物模式的因果關係建立，闡明腸道微菌叢失衡影響代謝性疾病的機制，再將其結論帶回到臨床實驗進一步驗證，將能將人體腸道微菌叢相關研究連結到新靶點，提供延緩、治療甚或預防代謝性疾病的新解方。

參考文獻

1. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(1):55-71.
2. Chang CS, Ruan JW, Kao CY. An overview of microbiome based strategies on anti-obesity. *Kaohsiung J Med Sci.* 2019;35(1):7-16.
3. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006;444(7122):1027-31.
4. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(3):979-84.
5. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022-3.
6. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.* 2013;341(6150):1241214.
7. Ruan JW, Statt S, Huang CT, Tsai YT, Kuo CC, Chan HL, et al. Dual-specificity phosphatase 6 deficiency regulates gut microbiome and transcriptome response against diet-induced obesity in mice. *Nature microbiology.* 2016;2:16220.
8. Tims S, Derom C, Jonkers DM, Vlietinck R, Saris WH, Kleerebezem M, et al. Microbiota conservation and BMI signatures in adult monozygotic twins. *The ISME journal.* 2013;7(4):707-17.
9. Dao MC, Everard A, Aron-Wisniewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut.* 2016;65(3):426-36.
10. Liu R, Hong J, Xu X, Feng Q, Zhang D, Gu Y, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nat Med.* 2017;23(7):859-68.
11. Nie K, Ma K, Luo W, Shen Z, Yang Z, Xiao M, et al. *Roseburia intestinalis*: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:757718.
12. Maioli TU, Borrás-Nogues E, Torres L, Barbosa SC, Martins VD, Langella P, et al. Possible Benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for Obesity-Associated Gut Disorders. *Front Pharmacol.* 2021;12:740636.

(更多參考文獻請見附錄)

第十三章：腸道菌與癌症

Chapter 13 : Microbiota and cancers

吳俊穎、曾景鴻

億數以計的細菌生活在人體胃腸道（gastrointestinal track，GI）中，發揮著支持人類生理的各種功能，這群微生物就是眾所周知的「腸道菌」。隨著相關研究的進展，已經證實腸道菌群出現紊亂時會引起疾病，包括癌症。由於腸道菌大量存在胃腸道中，形成了一個多樣的生態系統，腸道菌與胃腸道癌症的關聯性與機制上的因果關係已被廣泛研究。簡單來說，腸道菌群不僅隨著癌症進展而改變組成，同時也會破壞宿主免疫反應、引發自身的基因毒性、誘導慢性發炎，證明了它們在癌變（carcinogenesis）中的關鍵角色。本文首先會介紹癌症與腸道菌的關係，接著回顧近期腸道菌在胃癌、大腸癌與肝癌中的角色與作用，最後摘要腸道菌與癌症免疫療法的突出進展。希望這些知識的彙整能激發讀者對於癌症治療的新想法。

癌症與腸道菌

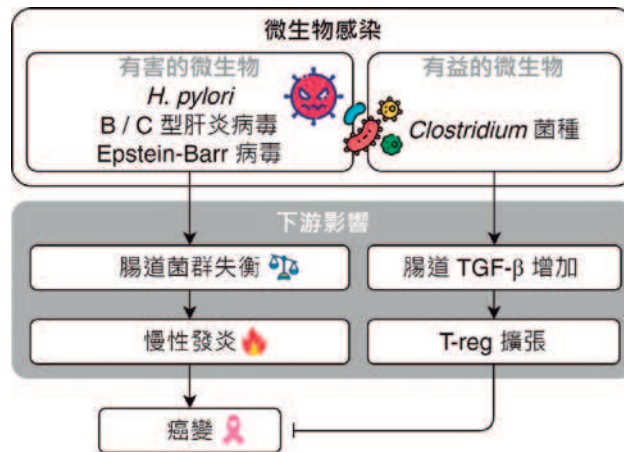
癌症是一種由細胞不受控制且持續生長與分裂所引起的疾病，最常見的原因是染色體去氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA）中累積了無法復原的突變（或損傷），與良性腫瘤相比，癌症（即惡性腫瘤）有可能轉移到身體的其他部位，對宿主的傷害更嚴重，最終導致死亡。

一般來說，癌症進展始於加速細胞分裂的遺傳缺陷，導致細胞不斷增生，此階段的細胞在顯微鏡下看起來很正常；隨著細胞持續分裂，進一步的突變會加劇細胞產生異常外觀，稱為發育異常（dysplasia）；隨後，發育異常的細胞就可能變成原位癌（in situ cancer），特徵是結構異常、喪失分化能力以及與周圍細胞失去接觸，但它們局限於生長的上皮層；最後，癌症形成具有侵入組織並穿透血管或淋巴結的能力，將癌細胞脫落到血液或淋巴液中並轉移到其他部位。

根據 GLOBOCAN 2020 [1]，胃腸道癌症是發病率（大腸癌，10%；胃癌，

5.6%；肝癌，4.7%；食道癌，2.1%）和死亡率（大腸癌，9.4%；肝癌，8.3%；胃癌，7.7%；食道癌，5.5%）最高的癌症類型，特別是大腸癌、胃癌和肝癌。在台灣，癌症自 1981 年以來一直位居十大死因之首 [2]，另外，在死亡率最高的前十名癌症中，肝癌排名第二（18.0%）、大腸癌第三（14.6%）、胃癌第八（5.2%）。

長期以來認為微生物感染與癌變（carcinogenesis）有關，感染引起的慢性發炎是關鍵，最著名的例子是幽門螺旋桿菌（*Helicobacter pylori*，*H. pylori*），它在胃部感染會增加罹患消化性潰瘍和胃癌的風險 [3]。其他致癌微生物包括肝吸蟲（導致膽管癌）[4]、B 型和 C 型肝炎病毒（導致肝癌）[5] 和 Epstein-Barr 病毒（導致鼻咽癌）[6]。事實上，越來越多證據表明腸道菌群失平衡（gut dysbiosis）是微生物感染、慢性炎症和癌變的中間觸發因素 [7]。然而並非所有微生物都是有害的，某些共生細菌反而對宿主免疫系統的發育相當重要 [8]，例如，*Clostridium* 提供抗原並在結腸中創造富含 β 轉化生長因子（transforming growth factor β ，TGF- β ）的環境來促進調節 T 細胞（regulatory T，Treg）的增生和分化 [9,10]（圖一）。



圖一 . 已知的微生物感染及下游與癌症發生相關的機制。© flaticon.com

細菌是人體不可或缺的部分，而它們的類型（致病或共生）與組成決定了宿主健康狀況。至於癌變，大量研究已成功證明腸道菌與胃腸道癌症間的關係，其中胃癌、大腸癌和肝癌將在以下段落中討論。

胃癌與腸道菌

胃癌病因有許多常見的危險因子，包括生活方式（如吃太多高鹽、煙燻的食物、吸煙和慣性飲酒）、*H. pylori* 感染（尤其是攜帶毒素因子的菌株）和遺傳易感性（即發炎反應相關基因的遺傳變異）[11]。這些危險因子的隨機組合可能會誘發胃癌前的相關胃病，包括慢性淺表性胃炎（chronic superficial gastritis）、萎縮性胃炎（atrophic gastritis）和腸化生（intestinal metaplasia）。

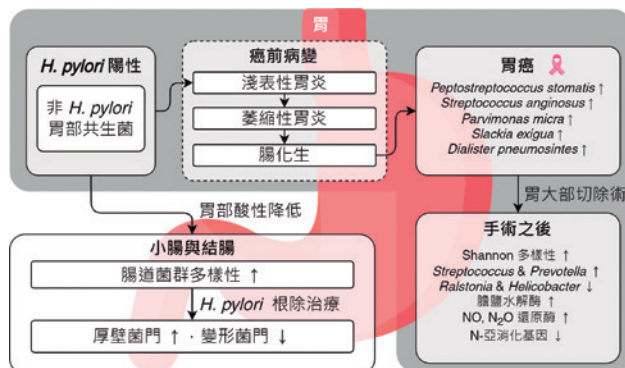
在生活方式中，食物是最常被提及的議題，因為它是與地區文化密切相關的日常活動。在中、韓等東亞國家，吃醃製食品的習慣與胃癌風險增加有關 [12]。一項跨洲的分析指出，與「謹慎、健康」的飲食相比，「西式、不健康」飲食的胃癌風險高出兩倍 [13]。至於 *H. pylori* 相關胃癌，在日本 [14]、台灣 [15] 的前瞻性隊列研究都顯示被感染者的胃癌風險顯著高於非感染者，而 *H. pylori* 的根除（eradication）則能阻止胃癌發生 [16]。在消化性潰瘍患者中，與晚期根除 *H. pylori* 相比，早期（診斷後一年內）根除有效降低胃癌風險 [17]；若患者（尤其是 *H. pylori* 感染者）是非類固醇抗發炎藥（nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID）規律使用者，他們的胃癌風險更低於非規律使用者 [18]，顯示 NSAID 有預防胃癌的效果。

除了 *H. pylori*，其他共生菌群在胃癌中的相互作用也受到關注。透過胃炎小鼠模型，與無特定病原小鼠相比，無菌小鼠感染 *H. pylori* 後表現出較輕的胃損傷病延遲胃腸道上皮內瘤變（gastrointestinal intraepithelial neoplasia）[19]，說明 *H. pylori* 以外的細菌參與其中。隨後透過「改變的 Schaedler 菌群（the

altered Schaedler microbiota) 」，證明部分菌種就足以在感染 *H. pylori* 的小鼠中產生胃部瘤變 [20]。使用腸化生或胃癌患者的胃組織進行胃菌移植 (gastric microbiota transplant) 會導致小鼠胃中出現發育異常，由於沒有發現 *H. pylori* 定植，說明 *H. pylori* 之外的菌群就能誘導胃的癌前病變 [21]。

H. pylori 在胃的感染不僅會影響胃生態，還會改變腸道菌群；*H. pylori* 感染者比非感染者具有更高的腸道菌群多樣性 [22,23]，這種違反直覺的觀察推測與 *H. pylori* 感染後會降低胃部酸度有關，讓更多微生物能抵達小腸與結腸 [24]。使用抗生素根除 *H. pylori* 會導致腸道中厚壁菌門 (Firmicutes) 減少和變形菌門 (Proteobacteria) 增加 (圖二)。

胃部菌群與胃病的關聯讓科學家們試圖整理各種與胃病狀態對應的菌群特徵。除了胃癌和慢性胃炎間有不同的菌群組成外 [25]，胃部菌群在胃癌發生的各階段 (從淺表性胃炎、萎縮性胃炎、腸化生到胃癌) 都有顯著變化 [26]，而 *Peptostreptococcus stomatis*、*Streptococcus anginosus*、*Parvimonas micra*、*Slackia exigua* 和 *Dialister pneumosintes* 等菌種可區分胃癌與淺表性胃炎。最後，胃癌手術 (例如：胃大部切除術) 則會改變胃部菌群、多樣性與代謝功能，例如：增加 Shannon 多樣性、*Streptococcus*、*Prevotella*、膽鹽水解酶、NO 和 N₂O 還原酶數量，降低 *Ralsonia*、*Helicobacter* 和 N-亞硝化基因的數量 [27] (圖二)。

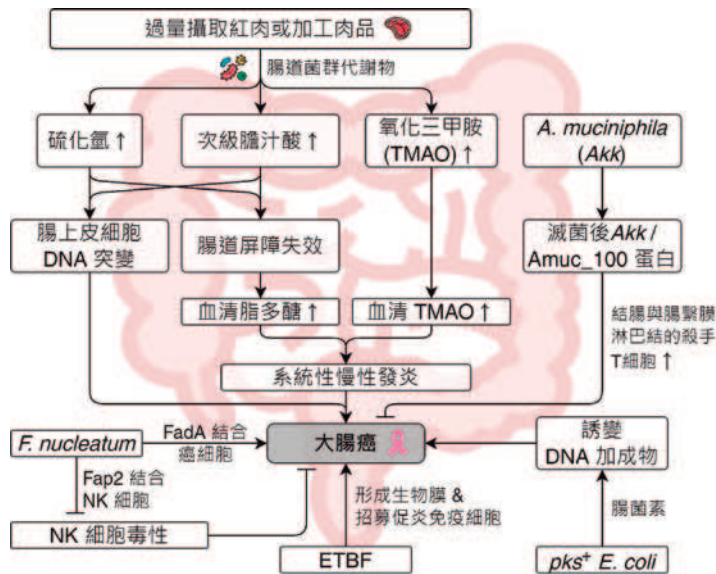


圖二. 與 *H. pylori* 感染、胃癌發生與治療相關的胃腸道微生物群變化。© flaticon.com

大腸癌與腸道菌

大腸癌（學名結腸直腸癌）是全球最常見的胃腸道癌症，近幾十年來患者年齡年輕化與生活方式、食物選擇、飲食模式都有關 [28]。結腸是消化系統最末端，由於低氧環境，微生物密度最高。結腸菌群負責食物殘渣的終端分解，而它們旺盛的代謝物是調節宿主健康的關鍵，說明食物對結腸病變的重要性 [29]。

大腸癌的風險因子之一是過度攝取紅肉與加工肉品，因為會增加腸道次級膽酸（secondary bile acid）、硫化氫和氧化三甲胺（trimethylamine-N-oxide）[30]（圖三）。這些代謝物不僅會增加腸道上皮細胞 DNA 突變率，還會損害腸道屏障功能（gut barrier function），造成類似於肥胖引起的腸漏（leaky gut）、增加血清中脂多醣（lipopolysaccharide）而導致慢性發炎。這些都是腸道菌群參與大腸癌發生的途徑。



圖三．透過腸道菌群及飲食誘發或抑制大腸癌的相關途徑。© flaticon.com

近年來研究發現許多腸道菌種造成大腸癌的分子機制 [31]。例如，與正常組織相比，*Fusobacterium nucleatum* 在結腸腫瘤中普遍存在 [32,33]，並在小鼠中證實它能促進結腸腫瘤細胞生長 [34]；*F. nucleatum* 的黏附素 FadA 與癌細胞結合觸發了致癌的 Wnt/ β - 連環蛋白訊息傳遞 [35]，而另一種黏附素 Fap2 與自然殺手細胞（natural killer cell, NK cell）結合則抑制 NK 細胞毒性並保護癌細胞不被攻擊 [36]。產腸毒素（enterotoxigenic）*Bacteroides fragilis*（ETBF）是已知的胃腸道致病菌，最近發現它的致癌性來自於當 ETBF 附著於癌細胞或癌前病灶後，由於會招募更多腸道菌來共同形成生物膜，導致大量吸引相關促炎免疫細胞（proinflammatory immune cell）對病灶處的攻擊而加劇發炎 [37]。另外，可表現聚酮合成酶（polyketide synthase, pks）大腸桿菌（pks+ *Escherichia coli*）也會促進腸道發炎與癌變 [38]，因為它所產的腸菌素（colibactin）會使 DNA 烷基化、產生容易誘發突變的 DNA 加成物（DNA adducts），增加大腸癌的發生 [39]（圖三）。

透過擴增子定序（amplicon sequencing）發現結腸病灶（包括腺瘤和癌症）和鄰近粘膜炎中具有不同的菌群結構，而其中口腔菌（例如：*Gemella*、*Peptostreptococcus* 與 *Parvimonas*）不僅在數量上佔主導地位，還在癌細胞與鄰近粘膜炎菌群間形成了具有排它性的共生網絡（co-exclusive symbiotic network）[40]，進一步研究發現 *Parvimonas micra* 和 *Solobacterium moorei* 也是大腸癌標記菌種。此外，在中國人患者中找到二十個腸道菌基因可區分大腸癌與對照組（其中四個在丹麥人患者中重複發現），透過定量聚合酶鏈鎖反應（qPCR）實驗也驗證成功，說明這些基因或許能成為非侵入式、低成本的大腸癌篩檢標的 [41]。

為了證明致癌性，最直覺的方式就是進行糞便微生物叢移植（fecal microbiota transplant, FMT）。與健康者 FMT 相比，接受大腸癌患者 FMT 的

小鼠結腸中增加了息肉數量、腸發育不良和增生的程度、發炎標誌物及 T 輔助細胞 1 (T-helper 1, Th1) 和 17 (Th17) 的比例 [42]。另一個更大規模實驗發現，與健康者相比，接受大腸癌患者 FMT 的小鼠腸道中的癌前病變增加，同時組織與血液 DNA 被甲基化程度也增加，意味著表觀基因組失調 (epigenome dysregulation) 也是腸道菌群失衡引發大腸癌的機制之一 [43]。

關於大腸癌的治療，使用腸道菌群的最新成功案例是來自於 *Akkermansia muciniphila* 的應用。*A. muciniphila* 最早被發現可控制肥胖 [44]，它的膜蛋白 Amuc_1100 無論透過活菌、滅菌後和純化後等處理都有助於代謝症候群的緩解 [45]。在結腸炎小鼠模型中，滅菌後的 *A. muciniphila* 或 Amuc_1100 都能降低巨噬細胞和毒殺型 T 淋巴細胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 的浸潤，並增加結腸和腸繫膜淋巴結中 CTL 數量來抑制大腸癌的生長 [46] (圖三)。

肝癌和腸道菌

B 型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 或 C 型肝炎病毒 (HCV) 的感染是肝癌 (學名肝細胞癌) 最常見的危險因子。與 HCV 相比，HBV 是亞洲和發展中國家更普遍的肝癌病因。核苷或核苷酸類似物 (nucleoside or nucleotide analog) 是病毒性肝炎常用的治療方法，後來被發現可降低 HBV 相關肝癌的發生率與復發風險 [47,48]。

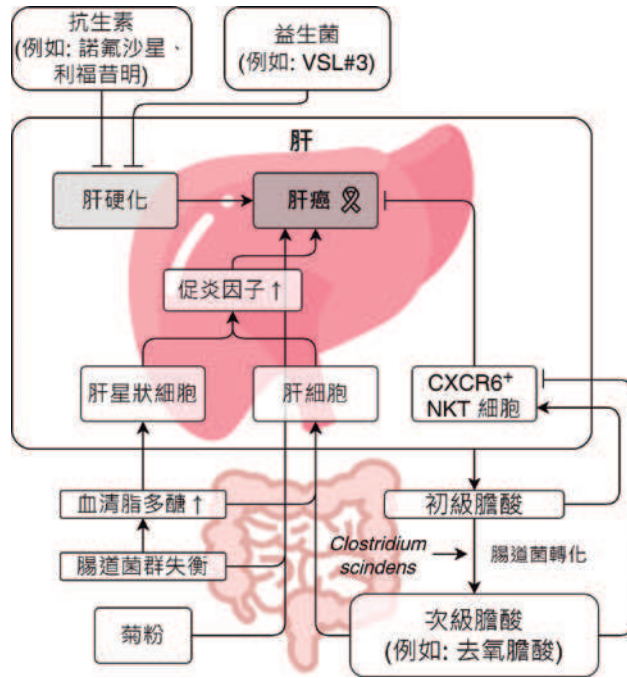
生理結構上肝臟與腸道菌群是相互隔離的，但當腸道菌群穩態或屏障功能異常時，微生物代謝物與小分子就有機會由肝門靜脈進入肝臟引起肝炎 [49]。以大鼠為例，青黴素 (破壞菌群穩態) 或硫酸葡聚糖鈉 (破壞腸道屏障) 會升高循環中的內毒素和炎性細胞因子而促進肝腫瘤的形成 [50]。機制上，脫氧膽酸 (一種次級膽酸) 可使肝星狀細胞 (hepatic stellate cells) 在肝臟中分泌炎症和促腫瘤因子 [51]；革蘭氏陰性菌的細胞壁成分脂多醣會活化肝星狀細胞和肝

細胞上的類鐸受體（toll-like receptor，TLR）引起肝臟發炎、增加肝癌發生 [52]（圖四）。

許多小規模臨床試驗發現利用抗生素或益生菌來進行腸道菌群干預可有效控制肝病。例如，抗生素諾氟沙星（norfloxacin）和利福昔明（rifaximin）可提高肝硬化患者的存活率，並降低發生自發性細菌性腹膜炎和肝腎症候群的風險 [53,54]；服用 VSL#3 益生菌對肝硬化患者和患有非酒精性脂肪性肝炎的肥胖兒童有益 [55,56]（圖四）；益生菌在動物模型中陸續被發現可抑制肝癌生長 [50,57]。

肝臟產生的初級膽酸（primary bile acid）會透過腸道菌群轉化為各種次級形式，以擴增膽酸的功能多樣性，例如：脂質消化、細胞訊息傳遞、微生物群調節 [58] 甚至抵抗病原體 [59]。初級膽酸能誘導 CXCR6⁺ 自然殺手 T 細胞（NKT cell）在肝臟積累並執行免疫監視、抑制腫瘤生長 [60]。同篇研究更報導，與服用抗生素或餵食無法轉化膽酸的菌種相比，膽酸轉化菌種 *Clostridium scindens* 在小鼠腸道中定植後降低了肝臟 NKT 數量也增加了肝腫瘤的生長，說明腸道菌群對膽酸的轉化會影響肝癌的發生（圖四）。

人類難以消化的膳食纖維對腸道健康至關重要，因為它們可以被腸道菌群發酵分解並產生短鏈脂肪酸（short-chain fatty acid，SCFA），為結腸細胞提供養分並負責體內許多器官的訊息傳遞 [61]。然而，一項用菊粉（一種可溶性纖維）治療結腸炎小鼠並試圖緩解代謝症候群的實驗，意外發現小鼠膽紅素升高的同時併發肝功能障礙；在菌群失衡的情況下，長期補充菊粉搭配其他可溶性纖維反而誘發膽汁淤積、肝細胞死亡、中性球炎症，最後導致肝癌 [62]（圖四）。因此，可溶性纖維的作用高度取決於腸道菌群，當菌群失衡時應避免過量攝取菊粉。



圖四．腸道菌群促進與抑制肝癌發生的相關機制。© flaticon.com

肝癌可能起源於不同肝病，識別各種肝病對應的腸道菌群特徵能預防肝癌。對比健康者、非酒精性脂肪肝病相關肝硬化和肝癌患者，發現肝癌者腸道菌群差異最大，而肝硬化患者腸道中 *Bifidobacterium*、*Akkermensia* 豐度與糞便鈣衛蛋白 (calprotectin) 及炎症細胞因子濃度呈負相關，意味著肝硬化患者若缺乏某些細菌可能促進系統性炎症與肝癌 [63]。與健康者相比，肝癌患者若有帶原 HBV 則腸道菌群豐富度較高，而非肝炎病毒帶原的肝癌患者則含有更多的促炎菌群（例如：*Escherichia-Shigella*、*Enterococcus*）與較少的產短鏈脂肪酸菌（例如：*Faecalibacterium*、*Ruminococcus*、*Ruminoclostridium*）[64]。肝癌與肝內膽管癌患者雖然腸道菌群差異不大，但膽酸在血漿中與糞便中的濃度比值可區分兩組患者 [65]。由此可見，不同類型的肝癌會有不同的腸道菌群結構，因此若要用益生菌（或其他有益菌）來干預或治療，肝癌患者的病因也需要納入考量。

腸道菌與免疫療法

腸道菌群失衡與人類疾病（包括各種癌症）密切相關，菌群失衡誘發的反應（例如：上皮毒性、細菌轉移和免疫反應）則會透過菌群代謝物由體循環影響腫瘤微環境（tumor microenvironment）[7]。根據各種癌症治療所累積的數據，越來越多證據顯示腸道菌群會影響化療和免疫療法的功效 [66]。例如，抗癌藥物環磷醯胺（cyclophosphamide，CTX）需要腸道共生菌來誘導其抗腫瘤免疫反應 [67]，尤其是 *Enterococcus hirae* 與 *Barnesiella intestinihominis* 分別增強次級淋巴器官與結腸中的腫瘤免疫監視而促進 CTX 療效 [68]。此外，*Bacteroides* 會在淋巴結中誘導 Th1 免疫反應並促進腫瘤內樹突細胞的成熟，提高毒殺型 T 淋巴細胞相關蛋白 4（cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4，CTLA-4）阻斷劑治療黑色素瘤的療效 [69]。

在小鼠身上進行的臨床前實驗（preclinical experiment）相繼證實腸道菌群影響癌症治療的反應性，像是化療 [67]、CpG-寡核苷酸 [70] 和抗程序性死亡配體 1（anti-programmed death ligand 1，anti-PD-L1）免疫治療 [71]。因而激勵了後續在人類患者中進行的臨床試驗。在接受抗細胞程序性死亡蛋白 1（anti-programmed cell death protein 1，anti-PD-1）免疫治療的黑色素瘤患者中，應答者（responder）比無應答者的腸道菌群表現出更高的菌群多樣性、較多的 Ruminococcaceae 及強化的系統性與抗腫瘤免疫 [72]。在非小細胞肺癌（non-small-cell lung cancer）和腎細胞癌（renal cell cancer）患者中，抗生素治療降低了 anti-PD-1 與 anti-PD-L1 的療效，而 *A. muciniphila* 的豐度與偵測率在應答者皆高於無應答者 [73]。2021 年初，兩篇研究陸續報導了使用 anti-PD-1 應答者腸道菌進行 FMT 搭配 anti-PD-1 來治療難治性黑色素瘤（refractory melanoma）的臨床試驗；以色列的試驗報導十位患者中有三位顯示治療應答得到改善，同時腸道固有層（lamina propria）和腫瘤微環境的免疫細胞浸潤與基因表現都發生了有利於抗腫瘤的變化 [74]；美國的試驗報導十五位患者中有

六位改善了治療應答，同時應答者腸道菌群與免疫組成（immune profile）的改變皆與 anti-PD-1 的應答有關 [75]。以上結果說明，使用免疫療法應答者的腸道菌群進行 FMT 具有克服免疫療法耐藥性的臨床潛力。最後，*H. pylori* 感染會降低阻斷劑免疫療法（blockade immunotherapy）對非小細胞肺癌的療效 [76]，因此 *H. pylori* 的檢測或許是定制個人化癌症治療的另一個參考指標。

結論

腸道菌群是個具有動態性質的概念器官，它們的好壞取決於組成的成員。透過胃腸癌動物實驗與患者檢體的分析，對於腸道菌群與這些癌症的關聯性、致癌機制、癌症預測、診斷甚至是治療等相關知識都得到了長足的拓展。*H. pylori* 以外的胃部菌群也參與了胃癌的發展；監測胃部 *P. stomatis*、*S. anginosus*、*P. micra*、*S. exigua* 和 *D. pneumosintes* 的豐度可做為預測胃部疾病發展與惡化的方法；*F. nucleatum*、ETBF 和 pks+ 大腸桿菌都有各自能誘發大腸癌的機制。根據口腔菌群會透過食道大量轉移至胃腸道的觀察 [77]，結腸中的口腔菌檢測（包含 *Gemella*、*Peptostreptococcus*、*Parvimonas*）也是早期大腸癌的另一個篩檢指標。與胃癌、大腸癌不同的是，肝癌相關的腸道菌群則是透過肝腸循環中的代謝物和小分子（例如：次級膽酸和脂多醣）間接傷害肝臟，此外，當腸道菌群失衡時，原本有助於腸道健康的菊粉與可溶性纖維則可能會增加肝癌發生的風險。由於肝癌可源自於多種早期肝病，說明未來研究肝癌菌群時，應在實驗設計中依照起始肝病種類（例如：脂肪肝、肝炎、肝硬化等）對肝癌患者進行分類，以減少未知變因隊下游分析的干擾。由於腸道菌群對化療藥物和免疫療法的協同作用會影響治療應答性，調節腸道菌群已引起科學家們的注意，也成為難治性癌症（refractory cancer）患者的個人化醫療選項，不過目前針對胃腸道癌症的相關數據仍然相對缺乏。使用 FMT 來治療癌症在患者身上應答率仍有加強空間，說明癌症患者的個體差異應該進行更深入的探討，特別是患者在治療前的腸道菌群基礎配置（baseline configuration）。這些

知識的進展，勢必增加未來在治療癌症時的臨床選項，同時也會提升治癒率。

利益衝突聲明

兩位作者宣稱無任何利益衝突事項。

誌謝

感謝中華民國國家科學及技術委員會計畫支持本文的撰寫。

參考文獻

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F: Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021, 71:209-249.
2. Statistics on the causes of death of Taiwanese people in 2020 [<https://www.mohw.gov.tw/cp-5017-61533-1.html>]
3. O'Connor A, O'Morain CA, Ford AC: Population screening and treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017, 14:230-240.
4. Brindley PJ, Bachini M, Ilyas SI, Khan SA, Loukas A, Sirica AE, Teh BT, Wongkham S, Gores GJ: Cholangiocarcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2021, 7:65.
5. El-Serag HB: Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012, 142:1264-1273 e1261.
6. Wong KCW, Hui EP, Lo KW, Lam WKJ, Johnson D, Li L, Tao Q, Chan KCA, To KF, King AD, et al: Nasopharyngeal carcinoma: an evolving paradigm. *Nat Rev Clin Oncol* 2021.
7. Zitvogel L, Galluzzi L, Viaud S, Vetzizou M, Daillere R, Merad M, Kroemer G: Cancer and the gut microbiota: an unexpected link. *Sci Transl Med* 2015, 7:271ps271.
8. Zhao Q, Elson CO: Adaptive immune education by gut microbiota antigens. *Immunology* 2018, 154:28-37.
9. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, Fukuda S, Saito T, Narushima S, Hase K, et al: Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 2013, 500:232-236.
10. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, Cheng G, Yamasaki S, Saito T, Ohba Y, et al: Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011, 331:337-341.
11. Rawla P, Barsouk A: Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol* 2019, 14:26-38.
12. Ren JS, Kamangar F, Forman D, Islami F: Pickled food and risk of gastric cancer--a systematic review and meta-analysis of English and Chinese literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012, 21:905-915.

(更多參考文獻請見附錄)

第十四章：微生物相與腎臟疾病

Chapter 14 : Microbiota and renal diseases

洪思群、林定筠

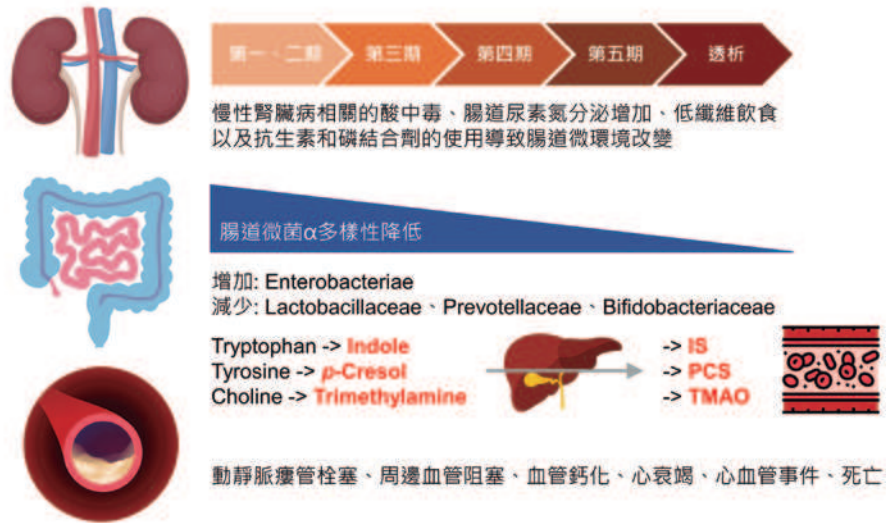
慢性腎臟病相關的酸中毒、腸道尿素氮分泌增加、低纖飲食以及藥物的使用大幅改變了腸道微環境，導致獨特的腸道微生物組成和衍生之尿毒素。慢性腎臟病患的腸道微生態失調與營養不良、發炎和死亡風險有關。腸源性尿毒素如硫酸吡啶酚、對硫甲酚和氧化三甲胺在心血管疾病的致病機轉扮演重要的角色。維持腸道共生可以降低尿毒素的產生和吸收，腸道微生物相的研究將有助於慢性腎臟病患個別化的飲食指導，實現精準營養治療的目標。

微生物相的研究在腎臟疾病與其他學門不同的是先有代謝物(尿毒素)的觀念之後才開始探討腸道微菌的組成。尿毒素傳統上根據影響其在透析過程中清除的物理和化學特性分為水溶性小分子(分子量 <500 Da)、較大的中分子(分子量 >500 Da)和親蛋白質(protein-bound)分子[1]。親蛋白質分子在血液循環中與白蛋白結合，無法經由腎絲球過濾排出，在慢性腎臟病腎功能惡化時從近端腎小管代謝的途徑也受到阻礙。尿毒素也可以根據其來源進行分類，儘管內源性代謝是主要的貢獻者，但很大一部分的尿毒素源自腸道微生物。腸道微生物將不被宿主酶消化的植物多醣發酵產生短鏈脂肪酸，另外也提供包括維生素在內的微量營養素。除了對宿主有益的物質外，腸道微生物對食物的作用產生許多有機化合物。當腎臟衰竭時，通常經由尿液排泄的這些腸道衍生溶質會累積在體內，並有可能導致尿毒症毒性。與普通人群相比，慢性腎臟病患者的預期壽命明顯縮短。傳統的心血管危險因子，例如年齡、肥胖、血脂異常、高血壓和糖尿病在慢性腎臟病患更為普遍，卻不能完全解釋隨腎功能惡化所遽增的死亡風險。非傳統的危險因子包括營養不良、發炎和尿毒素的積累可能扮演更重要的致病角色。越來越多的證據顯示腸源性尿毒素參與了慢性腎臟病患者心血管疾病的發病機制(表一)[2]。

表一、與慢性腎臟病人心血管疾病相關之腸道衍生尿毒素

尿毒素名稱	來源	分類	心血管疾 病
indoxyl sulfate	tryptophan	protein-bound	動靜脈瘻管堵塞、周邊血管阻塞、血管鈣化、心衰竭、心血管事件、死亡
indole-3 acetic acid	tryptophan	protein-bound	心血管事件、死亡
p-cresyl sulfate	phenylalanine, tyrosine	protein-bound	心血管事件、死亡
trimethylamine N-oxide	choline, L-carnitine, phosphatidylcholine	water-soluble	冠狀動脈粥狀硬化
phenylacetylglutamine	phenylalanine	water-soluble	心血管事件、死亡

血液透析領域的先驅 Kolff 早在 1946 年出版的教科書 *The Artificial Kidney* 即寫道“腎功能不全時血液中各種腸道菌分解蛋白質的產物可能會增加，除了吲哚酚之外，還有苯酚、甲酚、芳香族含氧酸和其他芳香物質” [3]。Aronov 等人通過使用高效液相層析法證明，與大腸完整的血液透析患者相比，接受大腸切除的血液透析患者血漿中超過 30 種尿毒素有缺失或降低 [4]。Poesen 等人研究血液透析和健康個體的糞便代謝體學 (metabolomics)，觀察到 81 種揮發性有機化合物在兩組間顯著不同的濃度 [5]。Vaziri 等人進一步證明 190 種腸道微生物的豐度在血液透析患者和健康對照組之間存在顯著差異，在血液透析患者中具有顯著擴大的尿素酶、尿酸酶、吲哚和對甲酚形成酶的細菌家族 [6]。事實上，腎功能的喪失並不是尿毒素濃度上升唯一的原因，人們越來越關注腸道微生物作為尿毒素的來源。因為慢性腎臟病伴隨的代謝性酸中毒、腸道尿素氮分泌增加、低纖維飲食以及磷結合劑和抗生素的使用，大幅改變了腸道微環境，導致獨特的腸道微生物組成和代謝，也就是所謂的腎 - 腸軸向 (kidney-gut axis) (圖一)。

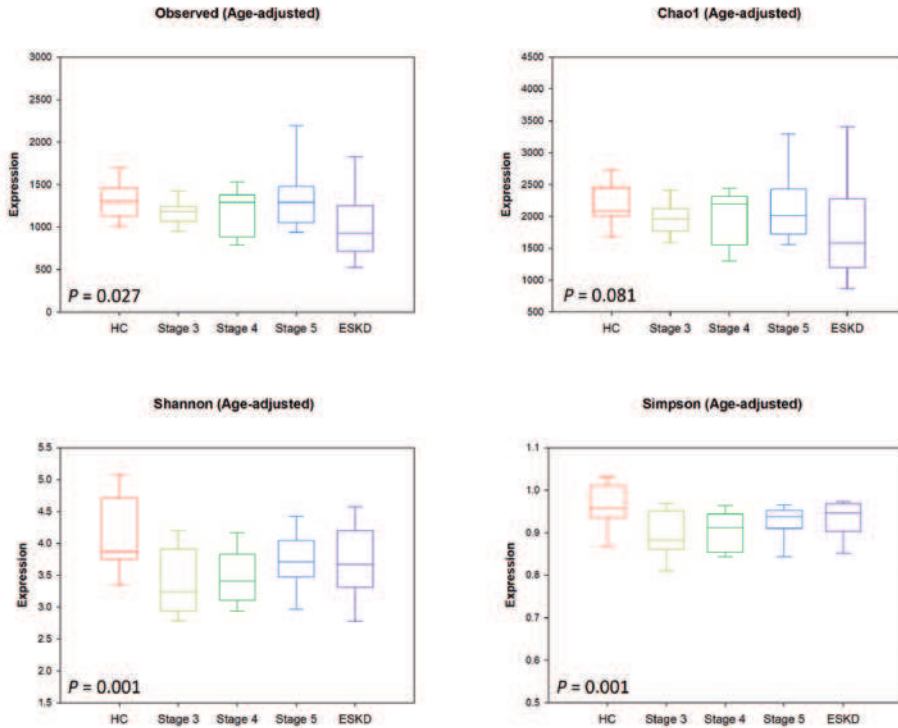


圖一、慢性腎臟病腸道微生物改變的因素及其影響

腸道衍生尿毒素中最被廣泛研究的是硫酸吲哚酚 (indoxyl sulfate, IS)，慢性腎臟病患的硫酸吲哚酚平均濃度比健康個體高 40 到 90 倍，因為其親蛋白質的特性，無法藉由傳統的血液或腹膜透析完全移除 [7]。其他來自腸道細菌的溶質包括對硫甲酚 (p -cresyl sulfate, PCS) 和氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide, TMAO) 也是人類心血管疾病的危險因子，並且根據臨床研究和動物實驗的判斷具有致病作用。吲哚 (indole) 是由腸道細菌代謝色胺酸 (tryptophan) 產生，隨後被腸道吸收在肝臟中透過酵素 CYP2E1 和 SULT1A1 轉化成為硫酸吲哚酚。對硫甲酚源自於酪胺酸 (tyrosine) 經腸道細菌發酵後之產物對甲酚 (p -cresol)，氧化三甲胺則是由膳食左旋肉鹼 (L-carnitine) 和膽鹼 (choline) 代謝產生。腸道衍生尿毒素濃度增加會導致腸道屏障完整性的破壞以及細菌成分和代謝物的易位 (translocation)，從而引發腸道和後續全身性的發炎反應。不同的尿毒素並可能透過特定的病生理機轉，進一步誘發或加速心血管疾病的進展。越來越多的證據指出，硫酸吲哚酚與至少六種慢性腎臟病相關心血管疾病表型 (phenotype) 的發病機制有關，包括動脈粥樣硬化、動脈硬化、心衰竭、心律不整、血管通路血栓形成和周邊動脈阻塞疾病。

以在慢性腎臟病患最具挑戰性的周邊動脈阻塞疾病為例，基礎研究顯示硫酸吡啶酚通過誘導內皮細胞功能失調和組織因子 (tissue factor) 的釋放導致動脈粥樣硬化血栓形成。同時，硫酸吡啶酚通過抑制缺氧誘導因子 (HIF)-1 α 的活化降低血管內皮前驅細胞 (EPC) 的促血管新生功能，導致後肢缺血的慢性腎臟病動物模式新血管形成受損 [8]。Arinze 等人也觀察到硫酸吡啶酚以活化內皮細胞芳香烴受體 (aryl hydrocarbon receptor) 的方式抑制 Wnt 路徑，造成對血管的傷害 [9]。臨床上，我們對於血液透析病患的長期追蹤發現，在校正傳統危險因子 (包括年齡、吸煙、糖尿病和心血管疾病) 之後，硫酸吡啶酚仍然與新發生周邊動脈阻塞疾病事件的風險明顯相關，這表明硫酸吡啶酚特有的毒性可能導致在終末期腎臟病患者所盛行且結果嚴重的周邊動脈阻塞疾病 [10]。目前，避免腸源性尿毒素的產生和吸收可分為三種主要介入措施：飲食蛋白質限制、維持腸道共生和口服吸附劑的使用。雖然這些方法已經達到降低硫酸吡啶酚的初步目的，然而我們還需要更多充分有力的隨機分派試驗來確定是否降低硫酸吡啶酚可以降低慢性腎臟病患者心血管疾病的風險 [11]。

腸道菌群對於抵禦病原體和維持正常的免疫和新陳代謝至關重要。健康的人體胃腸道含有高度多樣化的微生物群。相比之下，尿毒症會改變腸道菌群的正常組成和功能，通常稱為腸道微生態失調 (gut dysbiosis)，可以定義為病原體的擴大、有益微生物的喪失和 / 或微生物多樣性的減少。多樣性是健康微生物群的重要特徵，腸道微生態失調的特點是多樣性喪失和單一分類群的組成支配失衡。高 α 多樣性 (α -diversity) 是衡量細菌豐富度和均勻度的指標，通常與較佳的健康狀況有關。以微生物多樣性降低為特徵的腸道微生態失調會促進發炎反應，持續性發炎在慢性腎臟病的併發症中扮演關鍵的致病作用。我們的數據顯示，與健康人群相比，腸道微生物的多樣性隨著腎功能惡化而下降，末期腎臟病接受透析患者的腸道微生物多樣性最低 (圖二)，與 Wu 等人的研究結果一致 [12]。

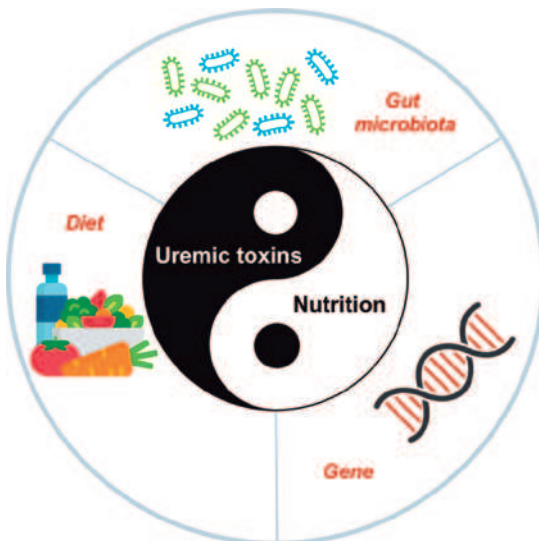


圖二、健康受試者、第三、四、五期未透析慢性腎臟病患者與末期腎臟病接受透析病人的腸道微生物多樣性比較。ESKD，末期腎臟病；HC，健康受試者。

我們最近的研究結果證明營養不良和發炎與末期腎臟病患者腸道微生物多樣性的降低有顯著相關 [13]。我們也觀察到，較低的腸道微生物多樣性與末期腎臟病接受長期血液透析患者有較高的死亡風險相關 [14]。總體而言，存活者表現出比非存活者更高的微生物多樣性。此外，不同的腸道微生物組成對末期腎臟病患者的預後具有重要作用。具體來說，我們發現，與存活者相比，非存活者的 *Succinivibrio* 菌和 *Anaerostipes* 菌，兩種產生短鏈脂肪酸的細菌的相對豐度顯著降低。短鏈脂肪酸已被證明對宿主生理有廣泛的影響，包括抗炎作用和維持腸道完整性。腸道微生物群在宿主免疫系統的發育中起著至關重要的作用，宿主免疫系統在很大程度上已經進化以維持其與高度多樣化的微生物群的共生關係。然而在尿毒症的环境下，這種體內平衡的破壞可能會阻礙腸道微生物群的抗炎反應。值得注意的是，儘管更多樣化的微生物群落通常被認為構

成了更健康的宿主 - 微生物關係，但最近的研究指出，某些腸道衍生尿毒素與健康個體群體中的腸道微生物多樣性呈現密切且正相關 [15]。因此，需要進行大規模的多組學 (multi-omics) 研究，以擴展我們對慢性腎臟病背景下微生物多樣性與宿主健康之間複雜交互作用的瞭解。

儘管大部分的實證顯示腸源性尿毒素的心血管毒性，在一個大型臨床試驗 (HEMO 研究) 的血液透析患者中，硫酸吡啶酚的濃度卻與心血管疾病和死亡無關，僅在血清白蛋白較低的患者中存在著毒性趨勢關聯性 [16]。事實上，營養狀態可能作為慢性腎臟病患者尿毒素和臨床疾病之間的干擾因子。就健康人而言，大部分的飲食成分會被吸收成為營養，但在慢性腎臟病患者，飲食會被轉化為營養或是尿毒素則取決於飲食內容物與腸道微菌組成和宿主基因的互相影響 (圖三)。我們發現在接受口服固定劑量的色胺酸後，受試者間血液硫酸吡啶酚的濃度差異甚大，然而酵素 CYP2E1 和 SULT1A1 的基因多型性無顯著差異，表示特定飲食對個體尿毒素產生的影響因人而異，與腸道微生物有關 [17]。通過腸道微生物組成的分析，未來將可以建立預測模型，識別各種不同尿毒素的生產表現類型，作為慢性腎臟病患者個別化飲食指導的依據 [18]。



圖三、慢性腎臟病飲食、腸道微生物與宿主基因的互動決定營養或尿毒素的表現

參考文獻

1. Duranton F, Cohen G, De Smet R, et al; European Uremic Toxin Work Group: Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1258–1270.
2. Hung SC, Kuo KL, Wu CC, Tarng DC: Indoxyl Sulfate: A Novel Cardiovascular Risk Factor in Chronic Kidney Disease. *J Am Heart Assoc* 2017;6:e005022.
3. Kolff WJ: *The Artificial Kidney*. J. H. Kok: Kampen, 1946.
4. Aronov PA, Luo FJ, Plummer NS, et al: Colonic contribution to uremic solutes. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:1769–1776.
5. Poesen R, Windey K, Neven E, et al: The influence of CKD on colonic microbial metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:1389–1399.
6. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, et al: Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int* 2013;83:308–315.
7. Duranton F, Cohen G, De Smet R, et al: Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1258–1270.
8. Hung SC, Kuo KL, Huang HL, et al: Indoxyl sulfate suppresses endothelial progenitor cell-mediated neovascularization. *Kidney Int* 2016;89:574–585.
9. Arinze NV, Yin W, Lotfollahzadeh S, et al: Tryptophan metabolites suppress the Wnt pathway and promote adverse limb events in chronic kidney disease. *J Clin Invest* 2022;132:e142260.
10. Lin TY, Chou HH, Huang HL, Hung SC: Indoxyl Sulfate and Incident Peripheral Artery Disease in Hemodialysis Patients. *Toxins (Basel)*. 2020;12:696.
11. Schulman G, Berl T, Beck GJ, Remuzzi G, et al: Randomized Placebo-Controlled EPPIC Trials of AST-120 in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:1732–1746.
12. Wu IW, Gao SS, Chou HC, et al: Integrative metagenomic and metabolomic analyses reveal severity-specific signatures of gut microbiota in chronic kidney disease. *Theranostics* 2020;10:5398–5411.
13. Lin TY, Hung SC: Association of subjective global assessment of nutritional status with gut microbiota in hemodialysis patients: a case-control study. *Nephrol Dial Transplant* 2021;36:1104–1111.
14. Lin TY, Wu PH, Lin YT, Hung SC: Gut dysbiosis and mortality in hemodialysis patients. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2021;7:20.
15. Wilmanski T, Rappaport N, Earls JC, et al: Blood metabolome predicts gut microbiome α -diversity in humans. *Nat Biotechnol* 2019;37:1217–1228.
16. Shafi T, Sirich TL, Meyer TW, et al: Results of the HEMO Study suggest that p-cresol sulfate and indoxyl sulfate are not associated with cardiovascular outcomes. *Kidney Int* 2017;92:1484–1492.

17. Lin TY, Hung SC: Identification of indoxyl sulfate producer phenotypes by oral tryptophan challenge test: a microbiota-based personalized nutritional approach [Abstract]. 57th ERA-EDTA Congress, Milan, 2020. *Nephrol Dial Transplant* 2020;35(Supplement_3):gfaa140.MO043.
18. Wu WK, Chen CC, Liu PY, et al: Identification of TMAO-producer phenotype and host-diet-gut dysbiosis by carnitine challenge test in human and germ-free mice. *Gut* 2019;68:1439–1449.

PART 4

微生物相、
益生元、
後生元

Microbiota,
Prebiotics,
Postbiotics

第十五章： 飲食組成與腸道微生物：影響與展望

Chapter 15 : Dietary composition and gut microbiota:
impacts and prospects

呂廷璋、羅翊禎、陳明煦

腸道是人體微生物相中分布數量最多的器官，飲食與生活環境顯著影響腸道微生物相組成。宿主與微生物均可利用食物中營養素，微生物生長釋出許多對宿主具正面效益或負面風險的代謝物。人類消化系統酵素無法分解之膳食纖維，為腸道微生物的選擇性碳源，因為微生物之碳水化合物活性酶 (CAZymes) 可以降解膳食纖維中非消化性碳水化合物，利用微生物碳水化合物活性酶的差異，可以開發具微生物群導向的食物 (microbiota-directed food)，以維持腸道微生物的複雜與平衡。

前言

目前腸道微生物已成為生物醫學研究中的重要焦點之一。從微生物數量來看，人體內的細菌總數 (包括來自皮膚、唾液、牙齦和腸道的細菌) 幾乎與人體細胞總數 (包括紅血球) 相等，而在人體內的細菌分布中，大腸中的微生物數量居首位 [1]，因此腸道微生物相受到高度的關注。這些與人類同住共生的微生物雖然會受到宿主 (人類) 的基因、年齡、居住環境與飲食的影響，而使腸道微生物組成呈現差異。然而，最近的研究也逐漸顯示包含個人飲食與藥物的生活環境對體內腸道微生物組成的影響比個人基因型更為重要 [2]。腸道微生物在獲取人類提供的環境和食物的同時，也釋放出類似人體「賀爾蒙訊息」的物質，對我們產生有正面效益的好處，但當然也可能對我們產生有害的物質或毒素，進而影響到人體疾病的發生。因此人體微生物群也被認為具有“內分泌器官” (endocrine organ) 的功能 [3]，也因此更提升了腸道微生物對人體健康的重要性。”。

無論在自然界還是在腸道中，微生物的角色主要是分解者。在人體的消化系統中，食物停留的時間最長的地方是小腸 (約 7-8 小時) 和大腸 (約 12-14 小時)。食物中的碳水化合物、蛋白質和脂質在經過口腔、唾液和胃的部分消化後，進入小腸，然後在小腸中進一步消化和水解為糖、胺基酸和脂肪酸等小

分子，然後被小腸細胞吸收進入體內。無法被消化吸收的食物殘渣，即膳食纖維（也稱為非消化性碳水化合物），會停留在大腸中，成為大腸微生物的主要營養來源。此外，植物中的植化素 (phytochemicals)、消化道中的膽酸，以及腸道微生物產生的維生素（如維生素 K、維生素 B12）和微生物代謝產物，以及食品添加物等，都存在於大腸中。因此這些物質與腸道微生物之間的生存、競爭以及人體健康密切相關 [4]。以下將對非消化性碳水化合物、脂質、蛋白質和植化素對腸道微生物群的影響進行說明。

食物中膳食纖維為腸道微生物重要碳源

從食物在腸道中被消化吸收的角度來看，大腸（包括結腸與直腸等部位）所含的食物成分主要由上消化道中剩餘的可消化物質以外的膳食纖維、水分和電解質組成。在腸道中微生物的分佈中，大腸中的微生物含量最為豐富，因此大腸中微生物的組成與大腸中剩餘的食物成分密切相關。人體攝取的碳水化合物在消化道內經過一系列酵素的作用進行分解，這些酵素包括口腔中的唾液澱粉酶 (salivary α -amylase)、小腸中的胰臟澱粉酶 (pancreatic α -amylase) 以及小腸絨毛上的葡萄糖澱粉酶 (glucoamylase)、蔗糖酶 - 異麥芽糖酶 (sucrase-isomaltase)、乳糖酶 (lactase) 等。這些酵素能將碳水化合物分解為單糖，然後通過腸細胞膜通道進入肝門靜脈。然而，膳食纖維主要部分仍是碳水化合物，由於其結構不同於可被人類消化酵素所分解的澱粉、蔗糖或乳糖等糖苷鍵特性，無法被消化道內的酵素分解，因此被稱為非消化性碳水化合物 (nondigestible carbohydrates)，這些物質隨著食物殘渣進入大腸，成為腸道微生物生長和代謝的碳源，被視為益生質 (prebiotics) 可促進益生菌 (probiotics) 的增生 [5]。近年來，科學家們不僅了解膳食纖維能夠促進有益腸道菌的生長，還能增加短鏈脂肪酸 (short-chain fatty acids) 的生成，減少腸道發炎的情況，從而維護腸道的健康狀態。對未來而言，進一步開發以微生物群為導向的食品 (microbiota-directed food; MDF)[6] 將為腸道疾病患者或營養不良人群帶來更多

期待。

腸道微生物碳水化合物分解酵素系統

腸道中微生物利用碳水化合物活性酶 (carbohydrate-active enzymes, CAZymes) 降解非消化性碳水化合物。碳水化合物活性酶是一群與醣類反應相關酵素之總稱，可依其功能分類為醣苷水解酶 (glycoside hydrolase, GH)、醣基轉移酶 (glycosyltransferase, GT)、多醣裂解酶 (polysaccharide lyase, PL)、碳水化合物酯酶 (carbohydrate esterase, CE)、醣類吸附模組 (carbohydrate-binding module, CBM) 和輔助活性酶 (auxiliary activities, AA) 等。在微生物的基因體中，一些與降解碳水化合物相關的酵素、識別蛋白質以及細胞膜通道的相關基因呈現集中且高度排序的現象，這被稱為多醣利用基因座 (polysaccharide utilization loci, PUL)，這些基因座在微生物中有著重要作用，讓微生物能夠有效地分解和利用非消化性碳水化合物 [7]。

擬桿菌門 (Bacteroidetes) 是人體腸道中主要之微生物群之一，常見的菌屬有擬桿菌屬 (*Bacteroides*) 及普雷沃氏菌屬 (*Prevotella*)。擬桿菌門微生物利用類澱粉利用系統 (starch utilization-like system) 來降解大腸中的非消化性碳水化合物。類澱粉利用系統由八種蛋白組成，其中 SusD-like、SusE-like、SusF-like、SusG-like 等蛋白鑲嵌在細胞外膜，將細胞外之多醣受質水解成寡醣。SusC-like 蛋白具有膜通道之功能可將寡醣轉運進入細胞周質 (periplasm)。接著由 SusA-like、SusB-like 蛋白進一步分解胞內寡醣形成雙醣或單醣。SusR-like 蛋白則負責調節擬桿菌門相關基因之表達。

相較於擬桿菌門，厚壁菌門 (Firmicutes) 微生物通常更偏好分解較小分子量的碳水化合物。厚壁菌門中常見的菌屬包括乳酸桿菌屬 (*Lactobacillus*) 和腸球菌屬 (*Enterococcus*)。這些微生物通過不同機制吸收非消化性碳水化合物，

包括利用 ABC 轉運蛋白 (ATP-binding cassette transporters, ABC transporter)、磷酸烯醇丙酮酸：磷酸轉移酶系統 (phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system, PEP-PTS) 和主要協同轉運蛋白超家族 (major facilitator superfamily, MFS)。ABC 轉運蛋白通過 ATP 水解改變跨膜蛋白的構型，使目標醣類進入細胞。PEP-PTS 通過主動運輸將醣類攝入細胞，同時進行磷酸化反應。MFS 則利用細胞內外陽離子濃度差，將外源低濃度醣類運輸進入細胞。

放線菌門 (Actinobacteria) 在人體中以雙歧桿菌屬 (*Bifidobacterium*) 為代表。這些微生物也偏好分解較小分子量的碳水化合物，並使用 ABC 轉運蛋白、PEP-PTS 和 MFS 等機制來攝取胞外的碳水化合物。在雙歧桿菌屬中，ABC 轉運蛋白是最常用的攝取方式。根據受質種類的不同，ABC 轉運蛋白主要負責運輸寡醣和多醣，而 PEP-PTS 和 MFS 則主要運輸較小分子量的雙醣和單醣。

儘管人體的消化酵素無法完全分解食物中所有複雜的碳水化合物，非消化性碳水化合物卻是腸道中共生微生物群的重要營養來源。碳水化合物降解過程產生的代謝產物對人體健康具有正面的效益。因此，深入探究腸道微生物與膳食性碳水化合物之間的關係是未來重要的研究議題。

高脂飲食與高蛋白飲食對腸道微生物相之影響

隨著西化飲食日益普及，飲食結構逐漸偏向高油脂、飽和脂肪含量較高，同時蛋白質攝取增加，而膳食纖維攝取則相對不足。許多研究已顯示飲食組成不僅對實驗動物的生理、血液生化指標和病理狀態產生影響，還可改變腸道的菌相結構，甚至影響特定腸道微生物的豐富度變化。例如，在小鼠實驗中，高油、低膳食纖維的飲食可導致擬桿菌門微生物減少，而厚壁菌門和變形菌門 (Proteobacteria) 中的病原菌增加。然而，在人類實驗中，由於個體和飲食組成的多樣性較大，觀察個體健康與特定菌叢之間的關聯性相對複雜。儘管如

此，多項研究顯示高油脂、低膳食纖維的飲食會降低人體糞便菌叢的多樣性和豐富度，尤其是擬桿菌屬和普雷沃氏菌屬的微生物明顯減少。此外，研究還指出，在健康受試者中進行為期 8 週的口服 Omega-3 EPA/DHA 脂肪酸（主要來自魚油）試驗，有助於增加腸道中的厚壁菌門中的雙歧桿菌屬、乳酸桿菌屬以及羅斯氏菌屬 (*Roseburia*) 等微生物，同時促進短鏈脂肪酸（Short chain fatty acids）的產生。而富含植物性蛋白的飲食也會促進短鏈脂肪酸的生成，並有助於乳桿菌屬的生長。總之，飲食組成對腸道菌相構成有顯著影響。高脂飲食與高蛋白飲食可能導致腸道微生物相的不平衡，而透過選擇更健康的飲食結構，有助於維持腸道微生物的多樣性和平衡，從而對人體健康產生積極影響。

特殊結構寡糖

在人類出生後之嬰兒期母乳常是唯一營養來源也是最理想組成，母乳所含母乳寡糖 (human milk oligosaccharides, HMO) 具有結構的複雜性，已知種類超過 100 種以上 [8]，母乳寡糖對腸道微生物相的形成有顯著性的影響 [9]，在母乳中含量除水分外佔第三位，僅次於油脂與乳糖，母乳寡糖不是嬰兒的直接營養素，但腸道微生物可以水解與利用 [10]，這與健康息息相關 [11]，這些寡糖具有免疫調節與益生質功能，對嬰兒發育扮演多種功能的角色 [12,13]。在母乳的研究中發現，嬰兒從出生後若以母乳餵養，其糞便中雙歧桿菌科微生物的含量顯著增加 [14]。這些雙歧桿菌科微生物，如嬰兒雙歧桿菌 (*Bifidobacterium infantis*)、短雙歧桿菌 (*B. breve*) 和長雙歧桿菌 (*B. longum*)，具備分解母乳寡糖的酵素，同時能刺激黏蛋白的生成，保護腸道免受損害，並減少腸道發炎的可能性。目前食品產業已經可以工業化生產少數幾種母乳寡糖，並添加於嬰幼兒配方中 [13]，另外也使用萃取、降解或轉糖化方式生產多種寡糖素材，如果寡糖、木寡糖、半乳寡糖與難消化性糊精等 [15]，應用於產品中提供調整腸道微生物相功能 [16]，達到促進健康目的 [17]。

植化素

除了前述食物的主要成分外，許多植物中含有的多酚類 (polyphenols)、類 (terpenoids) 與皂素 (saponins) 或硫化合物質 (organosulfides)，一部分可能與膳食纖維緊密結合，例如小麥中的阿魏酸 (ferulic acid)、對香豆酸 (p -coumaric acid)、香草酸 (vanillic acid) 等。因此，這些植物中的植化素 (phytochemicals) 也隨著膳食纖維一同進入腸道 [18]。然而，各別的植化素在腸道中經過微生物的酵素轉換，各種代謝物是否能影響或改變腸道微生物的菌相，甚至改變個體的健康狀態，仍存在著許多的不確定性，尚需要更多的研究 [19]。另外，目前植化素的研究中往往是以高濃度的特定植化素餵養下進行動物實驗，而得到試驗效果。因此若需將動物的實驗結果轉譯至人體的試驗時，則可能會因為試驗中的植化素所需量過高而難以進行 [20]。相比之下，我們飲食中的植化素種類多樣且複雜，但每種植化素在食物中的含量有限。因此，植化素的效果是否是由於其共同存在而產生協同作用，進而影響腸道菌相甚至個體健康 [21]，仍需科學家進一步解謎。

總結：

腸道微生物近年成為生物醫學重要研究焦點，且對人體健康至關重要。健康飲食，增加膳食纖維攝取，並減少高脂高蛋白的飲食，有助於維持腸道微生物的平衡與多樣性。未來，植化素的研究仍值得進一步的探究。而以微生物為導向的食品可能帶來更多期待，希望可對腸道疾病患者和營養不良人群，能夠提供更多改善健康的契機。

參考文獻

1. Sender R, Fuchs S, and Milo R: Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol* 2016; 14(8):e1002533.
2. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, et al.: Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature* 2018; 555:210-215.
3. Brown JM, Hazen, SL: The gut microbial endocrine organ: bacterially derived signals driving cardiometabolic diseases. *Annu Rev Med* 2015; 66:343-59.
4. Zafar H, Saier MH: Gut *Bacteroides* species in health and disease. *Gut Microb* 2021; 13(1):1-20.
5. Roberfroid M, Gibson G, Hoyles L, et al: Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *Brit J Nutr* 2010;104(S2):S1-S63.
6. Gehrig L, Venkatesh S, Chang H-W, et al: Effects of microbiota-directed foods in gnotobiotic animals and undernourished children. *Science* 2019; 365(6449)eaau4732.
7. Grondin JM, Tamura K, Déjean G, et al: Polysaccharide Utilization Loci: Fueling Microbial Communities. *J Bacteriol* 2017; 199(15):e00860-16.
8. Bode, L: Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012; 22(9):1147-1162.
9. De Leoz, MLA, Kalanetra, KM, Bokulich, NA, et al; Human Milk Glycomics and Gut Microbial Genomics in Infant Feces Show a Correlation between Human Milk Oligosaccharides and Gut Microbiota: A Proof-of-Concept Study. *J Proteom Res* 2015; 14(1):491-502.
10. Marcobal A, Barboza M, Froehlich JW, et al: Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Gut-Related Microbes. *J Agric Food Chem* 2010; 58(9):5334-5340.
11. Walsh C, Lane JA, van Sinderen D, et al: Human milk oligosaccharides: Shaping the infant gut microbiota and supporting health. *J Funct Food* 2020; 72: 104074.
12. Musilova S, Rada V, Vlkova E, et al: Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Benef Microbes* 2014; 5(3):273-83.
13. Zhang B, Li L-Q, Liu F, et al: Human milk oligosaccharides and infant gut microbiota: Molecular structures, utilization strategies and immune function. *Carbohydr Polym* 2022; 276:118738.
14. Pannaraj PS, Li F, Cerini C, et al: Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatr* 2017; 171(7):647-654.
15. Crittenden RG, Playne MJ: Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trend Food Sci Technol* 1996; 7(11):353-361.
16. Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, et al: Prebiotics as functional foods: A review. *J Funct Food* 2013; 5(4):1542-1553.

17. Yang S, Wu C, Yan Q, et al: Nondigestible Functional Oligosaccharides: Enzymatic Production and Food Applications for Intestinal Health. *Annu Rev Food Sci Technol* 2023; 14(1):297-322.
18. Vitaglione P, Napolitano A, Fogliano V: Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trend Food Sci Technol* 2008; 19: 451-463.
19. Luo B, Wen Y, Ye F, et al: Bioactive phytochemicals and their potential roles in modulating gut microbiota. *J Agric Food Res* 2023; 12:100583.
20. Yin R, Kuo HC, Hudlikar R, et al: Gut Microbiota, Dietary Phytochemicals, and Benefits to Human Health. *Curr Pharmacol Rep* 2019; 5:332-344.
21. Santhiravel S, Bekhit AE-DA, Mendis E, et al: The Impact of Plant Phytochemicals on the Gut Microbiota of Humans for a Balanced Life. *Int J Mol Sci* 2022; 23:8124.

第十六章：微生物體與次世代益生菌

Chapter 16 : Microbiota and next generation probiotics

蔡英傑

次世代益生菌 (NGP) 是因著微生物體風潮而崛起的益生菌新領域，通常指經由比較分析腸道菌相，而挑選出的人體腸道共生菌株。在開發 NGP 時，必須遵循新藥開發的管理法規，美國 FDA 即為這類活菌醫藥產品 (LBP) 公佈管理規範。目前已經有不少 NGP 菌株依循 LBP 規範，進行研發，其中，戈氏副乳桿菌，艾克曼嗜黏蛋白菌，普拉梭菌等菌株皆廣受注目。NGP 之開發無法僅依賴學界力量，政府應該全力支持，產業界亦應積極投入。

前言

次世代益生菌 (Next Generation Probiotics, NGP) 是跟著微生物體風潮而崛起的益生菌新領域，2012 年左右開始出現在研究論文中 [1,2]。它的定義尚未完全被確立，可以單純指非傳統使用的益生菌菌株 [3]，但多數是指經由比較分析腸道菌相，而挑選出的人體腸道共生菌株 [4]，當然還是必須符合益生菌安全有效的的基本定義。

這一章將由益生菌的定義開始講述，進而由微生物體的角度，談次世代益生菌的崛起及產業發展，盤點近年備受注目的重要 NGP 菌株。

一、 益生菌基本要件及生理功能

什麼樣的菌株才能夠名正言順地被稱為益生菌？

1907 年，法國巴斯德研究所的梅契尼可夫在他的名著：「The prolongation of life: optimistic studies」中，強調腸道腐敗是老化主因，服用乳酸菌，可以抑制腸道腐敗 [5]。1907 年因此被公認為益生菌元年，梅契尼可夫是第一位將乳酸菌與健康串連一起，奠定今日益生菌健康形象的學者。

1989 年，英國的 Fuller 教授提出益生菌定義「能夠改善宿主腸道菌平衡的活的微生物」[6]，這個定義讓梅契尼科夫的益生菌保健概念復活。不過要

到 2001 年，FAO 和 WHO 提出的定義「活的微生物，當適量使用時，有益於宿主健康」[7]，才將益生菌的益生效果，由腸道擴大到整體健康。

2014 年，國際益生菌與益生元科學協會 (ISAPP) 提出專家共識 [8,9]，強調益生菌必須符合「活菌，功效驗證，菌株鑑定及安全性驗證」等四項基本要件。看似簡單的基本要件，其實多數益生菌產品都難以符合，例如功效驗證就強調必須要在以產品目標族群為對象進行至少一項臨床試驗，菌株鑑定則需要鑑定到菌株層次，安全性驗證也有高於我國第二類安全性試驗標準的 GRAS，或 NDI 認證標準。

我國益生菌產業蓬勃發展，產品玲瓏滿目，ISAPP 提出的這四項益生菌基本要件，確實是大家必須互相砥礪，努力精進的目標。

在 ISAPP 的專家共識 [8] 中，也提出益生菌核心功效 (Core benefits) 的概念，認為大多數符合定義的益生菌菌株，都能夠相當程度的改善某些腸道功能，稱之為益生菌的核心功效，其他諸如免疫，代謝，精神等相關之高階功能，就僅有特殊菌株才具備。

如何開發益生菌腸道以外的高階功能，以及探討其作用機制，是近年益生菌研究的重點。人體微生物體研究釐清人體各器官組織的微生物相，探討其如何整合協調，帶動所謂的腸器官軸 (Gut-organ axis) 的概念 [10]，講腸道如何影響腦，肝，肺，腎，心，皮膚，骨等器官的機能。腸器官軸所講的「腸」，其實是指腸道菌。特殊的益生菌吃進腸道，同樣經由腸器官軸路徑，發揮各種腸道以外的高階生理功能。

微生物體研究快速向產業化轉進，同時也將益生菌推上更高層次，無論是

基礎，臨床，應用，各方面都向高科技快速進化，可稱之為益生菌 2.0 [11]。

益生菌 2.0，可以由新功能與新菌株，兩方面來詮釋。益生菌的新功能隨著腸器官軸的浪潮，由腸道推向全身各組織器官，腦腸軸更是重中之重，其次是腸肝軸，及腸肺軸。新菌株方面突破性的發展，就是和微生物體密不可分的次世代益生菌。

二、次世代益生菌的崛起

2017 年，愛爾蘭 Cork 大學的 O' Toole 教授在他講述 NGP 的綜論中說：「主要源自腸道的次世代益生菌菌株，特性未明，分類特殊，必須和活菌醫藥品 (live biotherapeutic products, LBP) 一樣，走新藥開發路徑才能上市」[3]。

O' Toole 教授團隊定義 NGP 為「非傳統使用的益生菌」，包括經過基因修飾改質的基改菌株 [12]。這些 NGP 菌株都必須滿足益生菌定義的基本要件，而且因為沒有人體使用歷史，難以保證其長期使用時之安全性，所以在開發產品時，必須遵循新藥開發的管理法規。可是 NGP 又不像低分子藥物，有清楚的分子結構和作用機制，所以美國 FDA 就在 2012 年特別為這類活菌醫藥產品公佈了 LBP 管理規範。2016 年因為微生物體研究的加速進展，許多源自腸道的新菌株都躍躍欲試，準備開發為 LBP 新藥，FDA 在 2016 年再公佈新的規範 [13]，讓企業更清楚瞭解如何開發 LBP。2019 年歐洲藥品和保健質量管理局 (EDQM) 也正式接受 LBP 在歐洲市場定位為醫藥產品 [14]。

FDA 將 LBP 定義為「活菌，用於預防或治療疾病或症狀，不是疫苗」。依照 LBP 管理規範，新世代益生菌，不論是非傳統新菌株，或基改菌株，都必須要做臨床前研究，探討作用機制，要做安全性，藥物動力學，藥物效力學，要做三期臨床試驗，然後才能提出新藥上市申請。NGP 的初期研發都是

在學研單位或生技新創公司進行，可是進入產品開發階段，就需要大量資金挹注，通常製藥企業就會介入。生技產品的研發一定以能夠進入市場為目標，而 NGP 進入市場一定要走 LBP 的路徑，所以 NGP 菌株遲早必須併入 LBP，否則只做研發，意義不大。

三、次世代益生菌的實例

目前廣泛研發中的 NGP 大略可分為傳統菌株經過基因修飾改質的基改菌株，以及由微生物體研究衍生出來的非傳統使用之人體共生菌株。

基因改質的傳統菌株，不論其起始菌株多麼的安全，依法規就是無法以食品名義上市，必須進行正式的新藥開發臨床試驗。中興大學食科系葉娟美教授早早就將靈芝的抗發炎蛋白質 [15]，以及枯草菌的抗凍蛋白質 [16]，放進乳酸乳球菌中，開發在食品中的應用，不過想當然的，僅限於研發，無法上市銷售。現在已經有幾株基改菌株，開始進行正式的新藥臨床試驗，例如美國的 Precigen Actobio 公司將三葉因子 (trefoil factor 1) 表現在乳酸乳球菌中，用於治療頭頸癌患者化療時的口腔粘膜炎 [17]，已經進入臨床二期。美國的 Synlogic 公司改造大腸桿菌 Nissle1917，增強對苯丙氨酸的代謝能力，用於治療苯丙酮尿症，已經正式進入臨床 3 期試驗 [18]。

腸道共生菌來源的非傳統 NGP 菌株，才是近年注目的焦點。長庚大學賴信志教授的戈氏副乳桿菌 (*Parabacteroides goldsteinii*) 是其中的一顆閃亮明星 [19,20]，在賴教授執筆的章節中，一定會有詳細介紹。最近發表多篇有關 NGP 的綜論 [2,3,36-38]，介紹不少知名 NGP 及其研發，以下僅選擇介紹其中三株。

1. 艾克曼嗜黏蛋白菌 (*Akkermansia muciniphila*, AKK 菌) [21]:

AKK 菌是 2004 年荷蘭瓦赫寧恩大學 Vos 教授由腸道中分離 [22]，會分解腸道黏膜蛋白質，佔腸道菌數目的 3-5%，但是在肥胖、2 型糖尿病，異位性皮膚炎等患者腸道裡的數量卻非常低。比利時魯文大學的 Cani 教授在 2013 年以肥胖鼠模式，證明 AKK 菌會改善代謝症狀 [23]，而且發現熱殺死菌和其純化的外膜蛋白 Amuc1100 都有顯著效果 [24]。2019 年更率先發表 AKK 菌改善肥胖糖尿病受測者體重，胰島素抗性與血脂的臨床試驗 [25]。除此以外，法國和美國的團隊分別在 2018 年及 2019 年發表 AKK 菌對癌症免疫治療有幫助 [26,27]，西班牙團隊則發現 AKK 菌能延長早衰老鼠的壽命 [28]，以色列團隊發現 AKK 菌能延緩肌萎縮側索硬化症老鼠的病程進展 [29]。這一連串重量級研究，將 AKK 菌拱成 NGP 的超級巨星。de Vos 和 Cani 兩位教授在 2016 年發起成立 Akkermansia 公司，推出 AKK 熱殺菌之體重及血糖控制產品，於 2021 年通過歐洲食品安全局 (EFSA) 新食品安全認證 [30]。

2. 普拉梭菌 (*Faecalibacterium prausnitzii*) [31]:

普拉梭菌在健康人腸道菌中佔比約達 5%，在腸躁症，炎症性腸病，克隆氏症等病人的腸道菌中，佔比顯著降低。和 AKK 菌不同的是它們不但會去分解黏膜蛋白，反而會促進黏膜蛋白的合成，提高腸黏膜屏障功能 [32]。普拉梭菌在腸道的重要功能是分解膳食纖維，生成對維持腸道環境健康極為重要的各種短鏈脂肪酸。普拉梭菌非常的厭氧，大量培養比 AKK 菌困難許多，也許是因為如此，其產業發展進度遠輸給 AKK 菌。最近較受注目的研究是發現癌症免疫治療效果和腸道內的普拉梭菌數目頗有關係 [33]。

3. 蜂房哈夫尼菌 (*Hafnia alvei*, HA 菌):

HA 菌屬於腸桿菌科，最初是由蜜蜂的腸道中分離，是人類胃腸道的常見菌，在泡菜等發酵食品中也常見，在奶酪中數目更每克多達千萬個。法國魯昂

諾曼第大學的 Déchelotte 教授和 Fetissov 教授，於 2011 年發起成立 Targedys 公司，開發具控制食慾效果的 HA 菌 4597，該菌分泌的 ClpB 蛋白質結構與可控制食慾的 α -黑色素細胞刺激素 (α -MSH) 類似，因而可發揮降低食慾，控制體重的功能 [34]。在 2021 年發表 236 位肥胖者的臨床試驗中，也得到減緩體重增加，降低血糖血脂的正面效果 [35]。這株菌雖然是非傳統使用於益生菌食品的菌株，不過因為在乳酪中大量存在，所以已經以食品上市。

四、結語

NGP 多數是厭氧菌，相較於傳統的益生菌，其工業生產較為困難，而且必須通過新藥開發審查流程，市場開發門檻高。我國有許多學研單位擁有紮實的微生物分離、培養與鑑定技術，食品工業發展研究所的生物資源保存及研究中心更擁有傲視亞洲的菌種庫，更重要的是，該中心已經建立起厭氧菌的開發技術平台，再加上開發益生菌相關產品也是台灣企業的強項，這些都是台灣搶占 NGP 市場的優勢所在，不過如果只是依賴學界力量，發表論文，申請專利，確實難以踏出象牙塔，不但政府應該全力支持，協助學界解決問題，台灣相關產業亦應盡快投入，切勿缺席。

參考文獻

1. Kelly D, Mulder IE: Microbiome and immunological interactions. *Nutr Rev* 2012; 70:S18-3.
2. Cani PD, Van Hul M: Novel opportunities for next-generation probiotics targeting metabolic syndrome. *Curr Opin Biotechnol* 2015; 32:21-27.
3. O'Toole PW, Marchesi JR, Hill C: Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat Microbiol* 2017; 2:17057
4. Martín R, Langella P: Emerging Health Concepts in the Probiotics Field: Streamlining the Definitions. *Front Microbiol* 2019; 10:1047.
5. Mackowiak PA: Recycling metchnikoff: probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life. *Front Public Health* 2013; 1: 52.
6. Fuller R: Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66:365-78.
7. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. World Health Organization [online], http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf (2001).
8. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, et al: Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11:506-14
9. Binda S, Hill C, Johansen E, et al: Criteria to Qualify Microorganisms as "Probiotic" in Foods and Dietary Supplements. *Front Microbiol* 2020; 11:1662.
10. Ahlawat S, Asha, Sharma KK: Gut-organ axis: a microbial outreach and networking. *Lett Appl Microbiol* 2021; 72:636-68.
11. 蔡英傑， 益生菌 2.0 大未來：人體微生物逆轉疾病的全球新趨勢。臺北，方舟文化 / 遠足文化事業，2020。
12. Rutter JW, Dekkerm L, Owen, KA, Barnes CP: Microbiome engineering: engineered live biotherapeutic products for treating human disease. *Front Bioeng Biotechnol* 2022; 10:1000873.

(更多文獻請見附錄)

第十七章： 微生物衍生的後生素在防治疾病的應用

Chapter 17 : Microbiota derived postbiotics in disease
amelioration

賴信志、陸嘉真、林稚容

微生物相科學不斷發展。如何適當調節微生物群組成，開發微生物群調節相關製劑，以對人類健康狀態產生有益影響，越來越受到科學家及醫療生技專業人士的重視。由於腸道菌群失衡會導致多種疾病的發展，因此使用益生元、益生菌和後生元來改變腸道微生物群，是目前主要的發展方向。相較於益生菌是活的微生物，後生元指由微生物的代謝活動所釋放或產生的無生命物質。其中某些特定物質會直接或間接地對宿主產生有益影響。由於後生元不含活性物質，因此可將攝入後相關的風險降至最低。國際益生菌和益生元科學協會 (ISAPP) 的專家小組將後生元一詞定義為“對宿主有益的無生命微生物和 / 或其成分的製備”。這裡我們對後生元的作用機制和潛在的生醫臨床治療應用進行基本敘述，包含後生元的多效性作用，它們的免疫調節、抗發炎、抗氧化和抗疾病之主要功能特性。此外，後生元具有安全性，及在整個製造過程中的穩定性。在不利的溫度或其他條件變化下不易改變其特性。對於應用研究和商業化具有極大發展潛力。

一、簡介

微生物相 (Microbiota) 居住在人及動物體許多不同的位置。人體為居住的微生物提供了一個穩定而營養豐富的環境。它們在胃腸道中含量最多。許多研究表明，腸道菌群失衡 (gut microbiota dysbiosis) 可導致全身疾病，包含過敏或自身免疫性疾病 (例如炎症性腸病、一型糖尿病等)、癌症和精神疾病等等 [1]。因此，利用影響微生物群組成，進而影響患者健康的治療策略和製劑變得越來越受重視。微生物相在腸道中產生的物質，除了作用在局部胃腸道之間外，而且可以影響遠處器官。這種現象稱為腸-器官軸，包含腸-腦、腸-皮、腸-肺軸等。目前的疾病防治策略，主要通過四種主要方式來調節微生物群，改進疾病狀態。即通過使用益生元、益生菌、合生元或後生元。益生元被微生物用作食物，同時對宿主的健康產生有益的影響。目前可用或常用的益生元包括人乳寡糖 (human milk oligosaccharides; HMO)、果寡糖 (fructose oligosaccharides)

和菊粉 (inulin) 衍生物。相比之下，儘管多項研究分析證實了在開發益生菌的過程中，某些微生物可以從動物體各部分（例如腸道，皮膚、上呼吸道或泌尿生殖道等等）分離出來。某些益生菌也在各種疾病（包括急性胃腸道感染和炎症性腸病 [2,3] 中顯示有效性，但臨床應用是否確實顯示效果，以及在高危患者中的安全性仍需注意 [4]。因此人們對後生元的興趣越來越大。

二、後生元潛在的治療應用

開發後生元的主要概念是基於微生物群的有益生化作用機制，是由各種代謝物介導的。後生元物質廣泛包括由微生物的生理代謝活動所釋放至環境，或產生構成細菌本體的任何物質。因此後生元指不含活微生物的物質。它們可以通過與益生菌特有的類似作用機制，直接或間接地對動物宿主產生影響 [5]。基於找出防治疾病的任何有效物質之目的，後生元廣泛指包括所有細菌或真菌來源的物質。這些物質可經由各種調控代謝及免疫機制，影響宿主生理活動。同時也因為不含活性細胞物質，可將攝入後生元相關的風險及副作用降至最低。因此，與益生元一樣，適度的後生元使用，可以降低嚴重的副作用，同時保持與益生菌相似的功效。

三、後生元的來源

3.1。無細胞上清液

無細胞上清液 (cell-free supernatant) 含有由細菌分泌到周圍培養液體中的生物活性代謝物質。培養一段時間後，將微生物離心，然後除去不要的物質。最後，無菌過濾所得混合物，後生元則包含其中。

不同微生物培養物產生的上清液可表現出不同的活性。其中例子包含嗜酸乳桿菌和乾酪乳桿菌上清液，可明顯減少促炎性腫瘤壞死因子 - α (TNF- α) 等細胞因子的分泌，同時也增加抗炎細胞因子白細胞介素 -10 (IL-10) 的分泌。

此對於腸上皮細胞 (intestinal epithelial cells)、巨噬細胞 (macrophages) 和中性粒細胞 (neutrophils) 具有促進抗發炎和抗氧化作用 [6]。同時，來自乾酪乳桿菌和鼠李糖乳桿菌 GG 培養物的上清液亦顯示可以防止結腸癌細胞的侵襲 [7]。此外，來自乳酸桿菌屬和雙歧桿菌屬細菌培養物的上清液，最近也被證明能通過防止腸侵襲性大腸桿菌菌株在體外侵入腸細胞，而顯示出抗菌活性 [8]。這些抗菌特性可能是由於對受體蛋白位點的競爭，進而抑制病原菌株的粘附。基本上，由無細胞上清液分離之後生素，用以調控腸道微環境、維持細胞正常屏障和保護基因完整性，是非常重要的 [9]。其可以減少體內過度免疫發炎反應，在臨床上可能用於預防癌症及其它許多疾病。

3.2. 菌體外多醣

微生物生長過程中會產生具有不同化學性質的生物聚合物 (biopolymers)，包含胞外多醣 (EPS)。EPS 目前在食品工業中經常添加作為穩定劑、乳化劑和保水劑 [10]。此外，EPS 在新的藥品和功能性食品的開發及使用，越來越重要。EPS 可通過與樹突狀細胞 (DC) 和巨噬細胞 (macrophages) 相互作用，導致增強 T 和 NK 淋巴細胞的增殖及表現出不同的免疫調節反應 [11]。此外，從植物乳桿菌分離出的 EPS 亦顯示誘導一氧化氮 (NO) 分泌，增強巨噬細胞的吞噬能力，增加腸粘膜中的 IgA 濃度，刺激淋巴細胞增殖，強化抗菌和抗氧化特性，並通過抑制膽固醇吸收，對脂質代謝產生積極影響，延緩了動脈粥樣硬化的發展 [12]。此外， β -葡聚醣是另一類 EPS，可與巨噬細胞表面的 Dectin-1 受體相互作用並激活，增強細胞對細菌的免疫反應 [13]。

3.3. 功能性蛋白質 (諸如酶)

微生物已經進化出抵禦活性氧化自由基 (ROS) 對於動物有害影響的防禦機制。特別是，抗氧化酶，如穀胱甘肽過氧化物酶 (GPx)、過氧化物歧化酶 (SOD)、過氧化氫酶和 NADH 氧化酶等等，在對抗 ROS 中顯示重要作用。然

而，雖然某些乳酸桿菌菌株的抗發炎活性取決於每種菌株的抗氧化酶表現的形式 (pattern) [14]，目前關於在體內使用單一抗氧化酶的數據並不充足。抗氧化酶是否適於直接開發成為後生素，有待進一步驗證。

3.4. 細胞壁其它成份

除了 EPS 及革蘭氏陰性菌的 LPS 外，細菌細胞壁也有許多成分具有引發特定免疫反應的功能。存在於革蘭氏陽性菌的細胞壁中，可自發釋放到環境中的脂磷壁酸 (LTA) 即為一例 [15]。儘管 LTA 已被證明主要刺激 TLR2，具有免疫刺激作用，然其對生物體可能會產生副作用並引起過度的炎症反應。因此，有必要對 LTA 進行進一步的安全性評估。

3.5. 短鏈脂肪酸

短鏈脂肪酸 (short chain fatty acids, SCFAs) 是腸道微生物群發酵植物多醣的終產物。其中，較為眾所周知的 SCFA 包括乙酸、丙酸和丁酸，它們可以形成相應的脂肪酸鹽（即乙酸鹽、丙酸鹽和丁酸鹽）。丁酸鹽顯現多種功能，包含 (i) 是腸細胞最重要的能量來源之一，有助於更新腸上皮細胞，還可以 (ii) 通過抑制組蛋白脫乙酰酶 (histone deacetylase) 來調節基因表達。此外，丁酸鹽也 (iii) 顯示免疫抑制作用 [16]。通過增加免疫抑制細胞因子（例如，type 1 IFN、IL-10、TGF- β ）的表達和下調幾種細胞因子和促炎受體（例如，Toll-like receptor, TLR）來誘導食物耐受性。丁酸鹽的這些免疫抑制作用是由於抑制了 NF- κ B1 轉錄因子活性及其細胞內途徑。*Roseburia gutis*（一種 butyrate producer）的腸道定植可產生大量丁酸鹽，抑制內毒素血症，慢性發炎，及動脈粥樣硬化形成。此外，SCFA 可以通過刺激 G 蛋白偶聯受體 (GPCR) 和胰高血糖素樣肽 1 (GLP-1) 的分泌來影響能量管理，直接調節中樞神經系統的食慾。其中，高醋酸鹽飲食可顯著提高對腸出血性大腸桿菌 O157:H7 感染的抵抗力。丙酸鹽可抑制膽固醇合成途徑，顯示出與丁酸鹽相當的抗炎活性作用

17. 短鏈脂肪酸的實際臨床應用價值正被積極評估中。

3.6. 細菌裂解物

細菌裂解物 (bacterial lysate; BL) 是通過化學或物理機械方式，來殺死並分解細菌獲得的產物。口服凍乾的 BLs 會到達小腸的 Peyer 斑 (Peyer' s patch)，在那裡 BLs 會刺激 DC，然後激活 T 和 B 淋巴細胞。成熟的淋巴細胞會遷移到呼吸道粘膜並刺激免疫系統，促進 IgA 分泌。BLs 使用的安全性已在許多關於各種疾病的臨床研究中得到證實，包括兒童反覆上呼吸道感染。此外，預防感染是 BLs 對減少兒童哮喘發作和成人慢性阻塞性肺病的積極影響的一個重要原因。BLs 還可以減少過敏性鼻炎發作的頻率並緩解特應性皮炎的症狀。最後，攝入熱殺死的副乾酪乳桿菌可能適用於減輕乾眼症的症狀，乾眼症主要是由於長期、反覆暴露於 LED 屏幕發出的藍光而引起的 [18]。

3.7. 腸道微生物群產生的其它代謝物

腸道微生物群產生一系列分子，包括維生素、葉酸，酚類衍生代謝物和芳香族氨基酸。由於高生物利用度、抗氧化特性和信號傳導特性，這些物質被認為是宿主 - 微生物相互動機制的重要物質 [19]。

四 . 後生元作用的重要調控機制

在免疫調節作用方面，腸道微生物組的免疫調節作用早已被提出。在抗腫瘤作用方面，丙酸鹽被證明可以選擇性地誘導胃癌細胞的凋亡。SCFAs 還通過表觀遺傳修飾影響癌基因和抑制基因的調節，可能有助於減少結直腸腫瘤細胞的侵襲。在感染預防方面，某些後生元可以通過封閉腸道屏障、競爭性結合某些病原菌所需的受體、改變宿主基因的表達或調節局部環境來產生直接的抗菌作用。丁酸鹽可支持腸上皮細胞的再生。同時，BLs 可保護人體腸道平滑肌細胞免受損傷。在脂質代謝方面，後生元可抗動脈粥樣硬化作用，降低心血

管事件的風險，及降低體內總脂肪含量和肝細胞內脂質含量。後生元也促進細胞自噬功能，清除受損的細胞器和蛋白質。其亦可加速傷口癒合 [20]。

五. 後生元的生技產業效用及潛力

5.1 生產技術

與益生菌相比，後生元的好處包括更長的保質期、更容易儲存、運輸以及減少維持低溫的需要。易於重複生產過程，和更精確的定量控制，可能性是後生元的額外優勢 [21]。

5.2 使用安全

後生元在安全性方面優於益生菌。後生元的優勢是繞過了獲得抗生素抗性基因和毒力因子的問題。此外，後生元消除了接觸活微生物的需要，這對於免疫系統不成熟和腸道屏障滲漏的兒童尤為重要。

5.3 功能性食品

功能性食品可以定義為除了營養價值之外還具有其他健康益處的膳食項目。功能性食品的生理利潤是通過添加新的（例如益生菌或後生元）或已經存在的成分來提供的。後生元良好的安全性使其成為功能性食品的合理候選者。將益生元、後生元和益生菌組合成一種製劑是一個主要的趨勢 [22]。

5.4 用於過敏性疾病

後生元被認為可能是過敏性疾病的一種可行的治療選擇，因為它們可以恢復 Th1/Th2 介導的免疫反應的平衡並支持免疫系統的成熟。此外，特應性皮炎症狀的嚴重程度與腸道中產生丁酸鹽的細菌數量成反比，口服 BLs 與兒童特應性皮炎治療效果更好有關。最後，後生元可能對食物過敏產生有益的影響。一項針對 200 多名兒童的臨床研究表明，富含丁酸鹽的細菌微生物群的存在與

較早解決牛奶過敏有關 [23]。

六. 未來臨床應用

後生元在免疫系統成熟中發揮著至關重要的作用，影響屏障的緊密度和腸道生態系統，並間接塑造微生物群的結構。因此，後生元可用於治療或預防許多疾病實體，包括尚未發現有效因果療法的疾病 [例如，阿滋海默症 (AD)、炎症性腸病 (IBD) 或多發性硬化症 (MS) 等等]。事實上，旨在改變患有上述疾病的患者的微生物群的臨床試驗目前正在積極進行中 [24]。

柒. 總結

使用源自微生物的各種代謝物（即“後生元”）是現代醫學中一種有吸引力的治療和預防策略。根據目前的數據，這些後生元具有多效性，包括免疫調節、抗炎、抗氧化和抗癌特性。其中一些特性甚至在臨床上使用。在一些試驗中，益生菌和後生元之間的關聯很密切，因為它們對結果的影響通常是一起評估的。我們期望對這些代謝物的生物活性的進一步研究將揭示後生元在醫學及其他領域的新用途。

致謝：

感謝國家科學技術委員會 (NSTC) 的 MOST111-2327-B-182-003 研究計畫支持。

參考文獻

1. Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B. M. & Owen, L. J. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis* 2015;26: 26191. doi:10.3402/mehd.v26.26191.
2. Derwa, Y., Gracie, D. J., Hamlin, P. J. & Ford, A. C. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of probiotics in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;46:389-400. doi: 10.1111/apt.14203.
3. Brussow, H. Problems with the concept of gut microbiota dysbiosis. *Microb Biotechnol* 2020;13:423-434. doi: 10.1111/1751-7915.13479.
4. Kothari, D., Patel, S. & Kim, S. K. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review. *Biomed Pharmacother* 2019;111:537-547. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.104.
5. Tsilingiri, K. & Rescigno, M. Postbiotics: what else? *Benef Microbes* 2013;4:101-7. doi: 10.3920/BM2012.0046.
6. De Marco, S. et al. Probiotic Cell-Free Supernatants Exhibited Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity on Human Gut Epithelial Cells and Macrophages Stimulated with LPS. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018;2018:1756308. doi: 10.1155/2018/1756308.
7. Escamilla, J., Lane, M. A. & Maitin, V. Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutr Cancer* 2012;64:871-8. doi: 10.1080/01635581.2012.700758.
8. Khodaii, Z., Ghaderian, S. M. H. & Natanzi, M. M. Probiotic Bacteria and their Supernatants Protect Enterocyte Cell Lines from Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) Invasion. *Int J Mol Cell Med* 2017;6:183-189. doi: 10.22088/acadpub.BUMS.6.3.183.
9. Canonici, A. et al. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal cell restitution through activation of the alpha2beta1 integrin collagen receptor. *PLoS One* 2011;6:e18427. doi: 10.1371/journal.pone.0018427.
10. Singh, P. & Saini, P. Food and Health Potentials of Exopolysaccharides Derived from Lactobacilli. *Microbiology Research Journal International* 2017;22:1-14, doi:10.9734/MRJI/2017/36935.
11. Makino, S. et al. Enhanced natural killer cell activation by exopolysaccharides derived from yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus OLL1073R-1. *J Dairy Sci* 2016;99:915-923. doi: 10.3168/jds.2015-10376.
12. Maeda, H., Zhu, X., Omura, K., Suzuki, S. & Kitamura, S. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors* 2004;22:197-200. doi: 10.1002/biof.5520220141.
13. Brown, G. D. et al. Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *J Exp Med* 2002;196:407-12. doi: 10.1084/jem.20020470.

- 14 de Moreno de LeBlanc, A. et al. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. *J Med Microbiol* 2008;57:100-105. doi: 10.1099/jmm.0.47403-0.
- 15 van Langevelde, P. et al. Antibiotic-induced release of lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus*: quantitative measurements and biological reactivities. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:3073-8. doi: 10.1128/AAC.42.12.3073.
- 16 Lee, C. et al. Sodium butyrate inhibits the NF-kappa B signaling pathway and histone deacetylation, and attenuates experimental colitis in an IL-10 independent manner. *Int Immunopharmacol* 2017;51:47-56. doi: 10.1016/j.intimp.2017.07.023.
- 17 Tedelind, S., Westberg, F., Kjerrulf, M. & Vidal, A. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007;13:2826-32. doi: 10.3748/wjg.v13.i20.2826.
- 18 Koatz, A. M., Coe, N. A., Ciceran, A. & Alter, A. J. Clinical and Immunological Benefits of OM-85 Bacterial Lysate in Patients with Allergic Rhinitis, Asthma, and COPD and Recurrent Respiratory Infections. *Lung* 2016;194:687-97. doi: 10.1007/s00408-016-9880-5.
- 19 Lavelle, A. & Sokol, H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020;17:223-237. doi: 10.1038/s41575-019-0258-z.
- 20 Vallejo-Cordoba, B., Castro-Lopez, C., Garcia, H. S., Gonzalez-Cordova, A. F. & Hernandez-Mendoza, A. Postbiotics and paraprobiotics: A review of current evidence and emerging trends. *Adv Food Nutr Res* 2020;94:1-34. doi: 10.1016/bs.afnr.2020.06.001.
- 21 Imperial, I. C. & Ibane, J. A. Addressing the Antibiotic Resistance Problem with Probiotics: Reducing the Risk of Its Double-Edged Sword Effect. *Front Microbiol* 2016;7:1983. doi: 10.3389/fmicb.2016.01983.
- 22 Rad, A. H., Abbasi, A., Kafil, H. S. & Ganbarov, K. Potential Pharmaceutical and Food Applications of Postbiotics: A Review. *Curr Pharm Biotechnol* 2020;21:1576-1587. doi: 10.2174/1389201021666200516154833.
- 23 Homayouni Rad, A., Aghebati Maleki, L., Samadi Kafil, H. & Abbasi, A. Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2021;61:492-499. doi: 10.1080/10408398.2020.1738333.
- 24 Mosca, A. et al. The clinical evidence for postbiotics as microbial therapeutics. *Gut Microbes* 2022;14:2117508. doi: 10.1080/19490976.2022.2117508.

第十八章：腸道菌治療

Chapter 18 : Therapeutic management of gut microbiota-from
dysbiosis to normobiosis

吳俊穎、李維祥

人體腸道是許多微生物的家園，腸道中的微生物組介於環境和宿主之間，影響宿主免疫系統與宿主對外來病原的反應。個體間的差異亦導致腸道菌相的多樣性，依照優勢菌種的不同，約略可分為三種腸型 (Enterotypes)[1]。然而腸型似乎並不穩定，個人的腸道菌相可能在一段時間中改變為另一種腸型 [2]。普遍認為多樣性高的腸道菌相對宿主本身是有益的。然而，有益的不是多樣性本身，而是這些多樣性微生物貢獻的多樣化生理功能。菌種多樣性與健康狀態之間的關聯部分是因為多樣化的群落將涵蓋更多的功能生態位 (Ecological Niche)，因而減低了相同生態位致病菌的生存空間。此外，共生物種之間的相互作用可提供單一物種本身無法提供的額外好處 [3]。許多因素都可能在日常生活中影響腸道的生態系統，人們可能才剛剛開始意識到正常的腸道菌相 (Normobiosis) 與干預腸道微生物生態以作為治療和預防的潛力。

腸道微生物組的失調 (Dysbiosis) 與多種胃腸道疾病有關，包括復發性艱難梭菌感染 (CDI)、發炎性腸道疾病 (IBD、克羅恩氏症 CD、潰瘍性結腸炎 UC) 和大腸癌 (CRC)。一些實驗與觀察結果表明，腸道菌群失調可能與 IBD 患者的黏膜發炎存在因果關係。通過在無菌鼠中植入失調微菌叢或單一菌種後誘導發炎反應而得到證實 [4]。

基於微生物組的干預措施的原理與作用機制各有不同，從單一或整個菌群的重組到補充直接影響菌種或宿主的特定分子。益生元 (Prebiotics) 目前被定義為被微生物選擇性利用並賦予健康益處的成分，例如果寡糖、半乳寡糖和非消化性碳水化合物 (non-digestible carbohydrates, NDCs) 可用於調節腸道的組成和功能微生物組 [5]。特定於纖維類型提供了適合在競爭生態條件下利用這些纖維的菌種的所需資源，其降解物和副產品又可能提供其他菌種生長所需，而這些菌種是高度專一化的。植物是天然膳食纖維的主要來源，可發酵的膳食纖維 (nondigestible fermentable carbohydrates, NDFCs) 被轉化為代謝物，例

如短鏈脂肪酸 (SCFA)，它們是腸道微生物組和免疫系統之間相互作用的重要媒介，並影響促炎和抗炎機制之間的平衡。富含纖維的飲食還可以促進腸道黏膜屏障的成熟，降低病原體感染和結腸炎的風險。相比之下，缺乏纖維的飲食中腸道微生物組的可用營養素含量較低，並且會促進粘液的微生物降解，從而導致腸道黏膜屏障的侵蝕，增加病原體的易感性 [6]。最廣泛證明對人體有益的膳食益生元是不易消化的果寡糖和半乳寡糖，這些寡糖優先被雙歧桿菌 (*Bifidobacterium*) 代謝因而增加了其在腸道菌內的豐度。大多數在商業使用的益生元都被證明可以特異性刺激乳酸桿菌 (*Lactobacillus*) 和雙歧桿菌的生長，但不會刺激某些病原體，例如梭狀芽胞桿菌類的某些成員 (*Clostridia*) 和大腸桿菌 (*Escherichia coli*) [5]。由於這些屬通常用作益生菌 (Probiotics)，提供這種益生元的方法增加了益生菌和益生元之間共同效用。

益生菌是活的微生物，因此攝取足量的益生菌直接增加了原生腸道生態的多樣性，而普遍認為多樣性高的腸道菌相對宿主本身是有益的，且更接近於正常的腸道菌相 (Normobiosis)。益生菌的最新定義是“活的微生物，當攝取足夠的量時，會給宿主帶來健康益處” [7]。益生菌可以從單一菌株到來自不同菌種的多種菌株的複雜組合。直到最近，益生菌還僅限於少數已知的種類（主要是乳酸桿菌和雙歧桿菌），研究最多的益生菌菌株之一即是鼠李糖乳酸桿菌 GG (*Lactocaseibacillus rhamnosus* GG, LGG)。定序技術的進步提供了更廣泛的可用作益生菌的菌株候選人，通過這種形式選擇的益生菌被稱為“次世代益生菌” (NGP)。

研究最多的次世代益生菌之一是 *Akkermansia muciniphila*，第一個通過安全食品認證 (GRAS) 的產品 Pendulum Glucose Control (*Akkermansia muciniphila* 為主要菌)，已於美國上市銷售。另一種菌株以巴氏殺菌形式被歐洲食品安全局 (EFSA) 批准為一種新型食品補充劑。*A. muciniphila* 是腸道微生物群的

粘液定殖成員，已進化為專門降解和利用宿主粘液。細菌共生研究顯示 *A. muciniphila* 將粘液中難以消化的寡糖分解成其他細菌 (*Anaerostipes caccae*, *Eubacterium hallii*, and *Faecalibacterium prausnitzii*) 可以消化的化合物，其他細菌不僅消化這些化合物，而且還將它們製造的丁酸鹽 (butyrate) 餵回給 *A. muciniphila*，而丁酸鹽亦是腸道內壁細胞所需的一種脂肪酸。腸道中共生的 *A. muciniphila* 可以因而間接刺激腸道上皮細胞附近的腸道丁酸鹽水平，對宿主具有潛在的健康益處 [8]。攝入活的或巴氏殺菌的 *A. muciniphila* 已在人類 [9] 和小鼠實驗 [10] 中顯示，可以改善宿主代謝參數（包括胰島素敏感性和血漿膽固醇水平）。

後生元 (Postbiotics) 的正式定義為“為宿主提供健康益處的滅活微生物和 / 或其成分的製備”。有效的後生元必須含有滅活的微生物細胞或細胞成分，有或沒有代謝物，並產生可見的健康益處 [11]。這個定義的關鍵是，雖然完整的微生物細胞可能被認為是後生元，但該製劑不是活的或有活力的。這可以防止定植的機會，並意味著後生元賦予的健康益處依賴於定期攝入來維持生物活性分子的存在 [3]。完整細胞後生元的一個例子即是前述使用巴氏殺菌的 *A. muciniphila* 細胞，其提高了胰島素敏感性並降低了血漿膽固醇水平 [9]。

補充 SCFA 這些重要的微生物代謝分子亦可以改變腸道菌相。實驗顯示丙酸鈉補充劑降低了高脂飲食對小鼠的影響，並恢復了高脂飲食小鼠的腸道微生物群失調，包括微生物群的豐度和多樣性以及厚壁菌門與擬桿菌門的比例。此外，亦逆轉了高脂飲食引起的結腸丁酸鹽和戊酸鹽濃度降低的狀況 [12]。

微菌叢植入 (FMT) 是將健康捐贈者的糞便製劑施用於患者，已治療或緩解疾病。目前 FMT 最成功的應用是用於治療復發性艱難梭菌感染 (CDI)，不僅比抗生素更有效地治療復發性艱難梭菌感染，還能夠預防艱難梭菌感染的相關併發症 [13]。FMT 亦被嘗試於治療或緩解克羅恩氏症的患者，在小群體的

隨機對照實驗中，FMT 的接受者顯現出部分的緩解徵兆 [14]。FMT 可導致接受者腸道菌相的全面改變，包括接受者原始微生物組中不存在的菌株，及可能的腸型改變。其成功率可部分歸因於捐贈者的微生物組，提高的成功率與更高的豐富度以及特定菌群的相對豐度有關，因此產生了“超級捐贈者”或“多重捐贈者”的概念，即具有高度多樣化的微生物組的捐贈個體對 FMT 最有效 [15]。

經由設計混合的常駐保護性共生菌所組成的口服生物治療產品（LBP）在發炎性腸道疾病顯示出令人印象深刻的臨床前結果 [16]。美國食品和藥物管理局 (FDA) 為此創建了一個新類別，用於“活的生物體，例如細菌，適用於預防、治療或治愈人類的疾病或狀況，並發布了臨床試驗指南 [17]。目前在研究基於微生物和微生物靶向 (Microbial-Based and Microbial-Targeted) 以治療發炎性腸道疾病的初級治療的規模越來越大，並取得了良好的早期結果 [16]。FMT 療法帶來的已知或未知病原體傳播的風險和長期益處與害處仍不清楚 [18]，且主要限制仍是不同捐贈者帶來的不同效果。相比之下，LBP 是明確定義的菌株組合，長期使用是安全的，並且可以根據個體接受者的腸道菌結構設計用於個人化醫療使用 [16]。

腸道菌對人體健康有著多方面影響，與腸道功能及免疫功能有深切的關聯。健康的腸道菌相有如人體的另一個代謝與免疫器官，因此亦有學者建議將重症病患的腸道菌失調視為另一種“器官衰竭”的等級來處置 [19]，以治療前避免對腸道菌的干擾或治療後矯正腸道菌失調，可見其對人體健康的重要性。

方法	優點	缺點	發展性
益生元 (Prebiotics)	簡單便宜、容易施行、可與益生菌並用	須定時補充、交互作用複雜度高	特定益生元與特定益生菌作用可生成特定後生元
益生菌 (Probiotics)	簡單便宜、容易施行	活菌有定植的風險存在	次世代益生菌
後生元 (Postbiotics)	簡單便宜、容易施行、滅活菌無定植風險	須定時補充	不同菌種的特定分子
微菌叢植入 (FMT)	腸道菌相的全面改變、減低抗藥菌的機率	已知或未知病原體傳播的風險、除 CDI 外其餘仍為臨床試驗、效果不穩定	自體 FMT(aFMT) 減低病原傳播風險
生物治療產品 (LBP)	長期使用安全	臨床試驗進行中	個人化醫療

參考文獻

1. Arumugam, M., et al., Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 2011. 473(7346): p. 174-180.
2. Knights, D., et al., Rethinking “Enterotypes” . *Cell Host & Microbe*, 2014. 16(4): p. 433-437.
3. Hitch, T.C.A., et al., Microbiome-based interventions to modulate gut ecology and the immune system. *Mucosal Immunology*, 2022.
4. Ivanov, I.I., et al., Induction of Intestinal Th17 Cells by Segmented Filamentous Bacteria. *Cell*, 2009. 139(3): p. 485-498.
5. Gibson, G.R., et al., Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017. 14(8): p. 491-502.
6. Desai, M.S., et al., A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*, 2016. 167(5): p. 1339-1353.e21.
7. Hill, C., et al., The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014. 11(8): p. 506-514.
8. Belzer, C., et al., Microbial Metabolic Networks at the Mucus Layer Lead to Diet-Independent Butyrate and Vitamin B₁₂ Production by Intestinal Symbionts. *mBio*, 2017. 8(5): p. e00770-17.
9. Depommier, C., et al., Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nature Medicine*, 2019. 25(7): p. 1096-1103.
10. Everard, A., et al., Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013. 110(22): p. 9066-9071.
11. Salminen, S., et al., The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2021. 18(9): p. 649-667.
12. Song, B., et al., Propionate alleviates high-fat diet-induced lipid dysmetabolism by modulating gut microbiota in mice. *Journal of Applied Microbiology*, 2019. 127(5): p. 1546-1555.
13. van Nood, E., et al., Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *New England Journal of Medicine*, 2013. 368(5): p. 407-415.
14. Sokol, H., et al., Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn’s disease: a pilot randomized controlled study. *Microbiome*, 2020. 8(1): p. 12.

15. Wilson, B.C., et al., Strain engraftment competition and functional augmentation in a multi-donor fecal microbiota transplantation trial for obesity. *Microbiome*, 2021. 9(1): p. 107.
16. Oka, A. and R.B. Sartor, Microbial-Based and Microbial-Targeted Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Digestive Diseases and Sciences*, 2020. 65(3): p. 757-788.
17. US_Food_and_Drug_Administration, Early clinical trials with live biotherapeutic products: chemistry, manufacturing, and control information. 2016.
18. Ianiro, G., et al., Minimising the risk of monkeypox virus transmission during faecal microbiota transplantation: recommendations from a European expert panel. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2022. 7(11): p. 979-980.
19. Kitsios, G.D., et al., Dysbiosis in the intensive care unit: Microbiome science coming to the bedside. *Journal of Critical Care*, 2017. 38: p. 84-91.

The background of the slide features a purple overlay on a microscopic image of various bacteria. The bacteria are shown in different orientations and sizes, with some appearing as long, thin rods and others as more complex, multi-segmented structures. The overall color palette is a range of purple tones, from light lavender to deep, dark purple.

PART 5

未來展望與
探索

Perspective &
Exploration

第十九章：開拓腸道菌研究的邊界

Chapter 19 : Frontiers in microbiota research & beyond

吳明賢

腸道菌研究沒有必然的未來趨勢，我們也沒有水晶球可以預測未來，但是用邊界 (Frontier) 一字來代表腸道菌學研究的範疇 (Boundary)、機會 (Opportunity) 以及好奇心 (Curiosity) 或許更為恰當。以下幾方面就是未來可看到的機會以及值得繼續拓寬的研究邊界：(一) 從相關性到致病性 (From association to causation)、(二) 從基因體學到多體學 (From genomics to multiomics)、(三) 從糞菌植入術到微生物體藥物 (From fecal microbiota transplantation to microbiome-based drugs)、(四) 從微生物體到病毒體或真菌體 (From microbiome to virome or mycobionome)、(五) 從精準醫學到精準健康 (From precision medicine to precision health)。

(一) 從相關性到致病性 (From association to causation)

使用微生物體 (microbiome) 標記來做疾病診斷、預後、風險歸類 (risk profiling) 及精準治療 (precision therapy)，首先必須要定義清楚健康腸微生物體 (healthy microbiome)。健康腸道菌組成由 Human Microbiome Project (HMP) 和 Metagenomics of the Human Intestinal Tract Consortium (Meta Hit) 兩項大規模研究略知一二。但是很多因子，包括先天的基因組成和後天的生活習慣，出生時的生產模式及生命早期營養、飲食和運動等等，都會影響腸道基因體的組成 (microbiome assembly)；反過來腸道基因體也會經由免疫、代謝等作用影響人類的消化、大腦、甚至全身健康，若嚴重不均衡時，則造成各種疾病 (圖一)。因此腸道菌的研究雖然很容易得到某些病態組成 (pathobiome) 或腸道菌相失衡 (dysbiosis) 和疾病相關，但是因為有眾多的干擾或影響因子和菌相組成有關，而且腸道內尚有真菌、病毒、古菌 (Archaeome) 等 (圖二)，所以得到的相關性到底是因或果，就必須透過進一步的機制研究來確認。

(二) 從基因體學到多體學 (From genomics to multiomics)

次世代定序 (next generation sequencing) 確實是開展腸道菌種類多元研究

的新紀元，特別是有些培養困難的菌種或微量的菌種也因此技術的導入而得以發現。然而要進一步探討機制和因果就必須加上蛋白體 (proteomic)，代謝體 (metabolomic) 和培養體 (culturomic) 等技術，因此未來的趨勢一定是多體學加上動物模式的無菌鼠 (germ free mice)，或是類器官 (organoids)，甚至 organ-on-chips (圖三)，才能完整的了解腸道菌對人體的影響以及彼此的交互作用。

(三) 從糞菌植入術到微生物體藥物

(From fecal microbiota transplantation to microbiome-based drugs)

糞菌植入術 (FMT) 除了一開始在難癒性 (refractory) 或反覆性 (recurrent) 困難梭菌感染 (*clostridium difficile* infection) 證實為安全且有效的治療外，在發炎性大腸疾病 (inflammatory bowel disease)、腸躁症 (irritable bowel disease) 也有不錯的效果，更是癌症藥物輔助治療的熱門話題。但是 FMT 仍存在感染風險、供體 (donor) 選擇、標準化製作、技術或藥物，作用機轉及長期安全性等問題與不確定性。然而 FMT 有效除了可証實該疾病與腸道生態改變有關外，也興起了基於微生物體來開發藥物的熱潮 (圖四)，這包括過去第一代益生菌 (probiotic)、飲食與益生元 (prebiotic)、及腸道菌相關蛋白、代謝物與後生元 (postbiotic)、和活體生物藥 (live biotherapeutic product-LBP)，也稱為活菌藥物。根據美國 FDA 2016 年公佈的指南，LBP 是一類具有活性的生物體 (如細菌)，並可用於預防、治療或治癒人體疾病或具有一定適應症的生物製品，但疫苗不包括在內。根據使用活性生物體數量和性質，可以將 LBP 分成三類 (1) 單菌藥物 (次世代益生菌)；(2) 複合菌藥物；(3) 工程菌藥物。其定義和特徵比較在表一。

表一：LBP 種類

類型	定義	特徵
單菌藥物	利用天然的單活性生物體製成	藥效明確成分單一
複合菌藥物	由 2 種或多種天然活性生物體配而成	成分和藥效模型更為複雜
工程菌藥物	使用人工設計和改造後的活性生物體製成	智能效應、表達高效 靶向明確、功能多樣

(四) 從微生物體到病毒體或真菌體

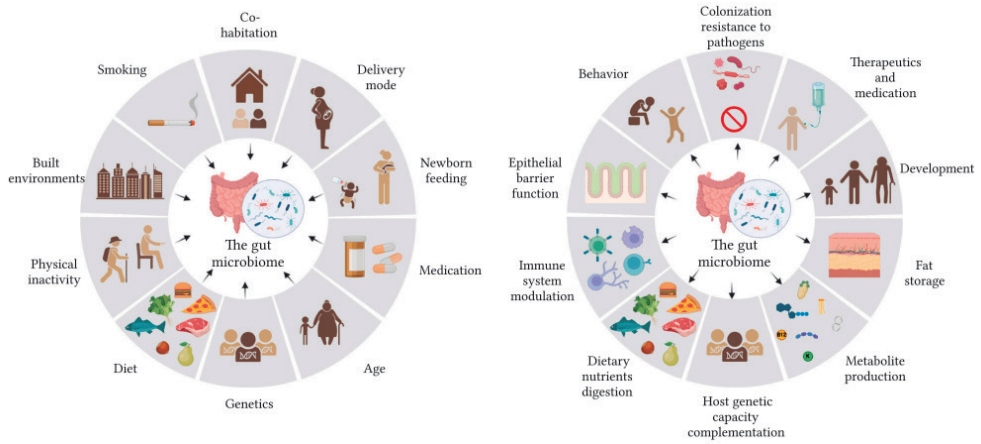
(From microbiome to virome or mycobiome)

腸道的微生物體，除了細菌外，還有病毒以及真菌，它們的重要性在 FMT 的研究裡即得到証實。利用宏觀組基因序列分析 (metagenomic sequencing)，也漸漸了解到每一個人體大約有 10^{13} 病毒顆粒，這些位於身體不同位置的病毒體，與身體健康和疾病發生也息息相關 (圖五)。真菌體雖然數量上不如微菌體和病毒體，但是也在宿主的恆定 (homeostasis)、生理反應、病態生理扮演關鍵角色，特別是 *Candida* 和 *Saccharomyces spp* 和腸道微菌及宿主免疫有協同作用 (synergism)，也成為疾病診斷和治療的新興標的 (圖六)。

(五) 從精準醫學到精準健康

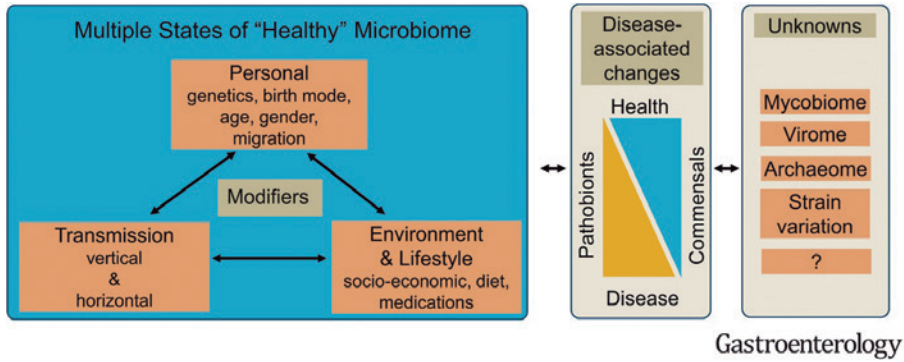
(From precision medicine to precision health)

精準醫學指的是在適當的時候給適當的病人最適當的治療，也有專家用個人化醫學代替，特別是癌症的治療從化學治療邁向標靶治療和免疫治療的時代，透過癌症基因體的分析，更是成為目前的顯學。但是有愈來愈多的研究發現只考慮宿主或癌細胞的基因體變化，沒有同時考慮腸道微生物的狀況，仍然不夠精準來預測治療的效果和病患的預後，尤其是最近研究發現一些免疫治療效果與腸道菌有關，化學治療的副作用甚至是療效也與腸道菌密不可分。因此開始有所謂的藥物微生物體學 (pharmacomicrobiomics)，專門探討藥物的副作用和療效與微生物體的關係。從疾病的研究往前推進到健康，尤其是吃什麼較健康，紅肉與心血管疾病的關係等的精準或個人化營養，也必須考慮腸道菌的分析。因為腸道微生物、基因體或各式各樣病人相關的大數據，其分析必須要有機器學習或人工智能的協助，才能進一步促成精準醫學或精準健康的實踐。



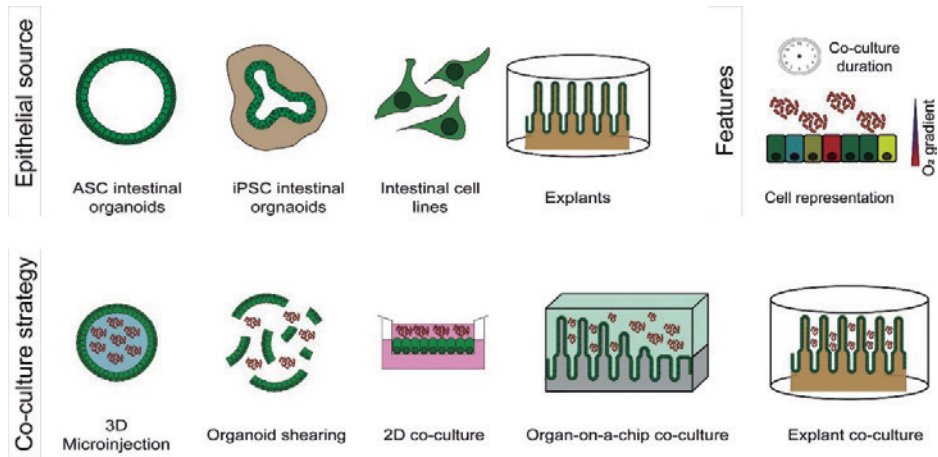
Cell Host Microbe 2023; 31:472-484

圖一、腸道菌組成受很多因子影響，也會透過代謝、免疫等作用維護健康或導致疾病



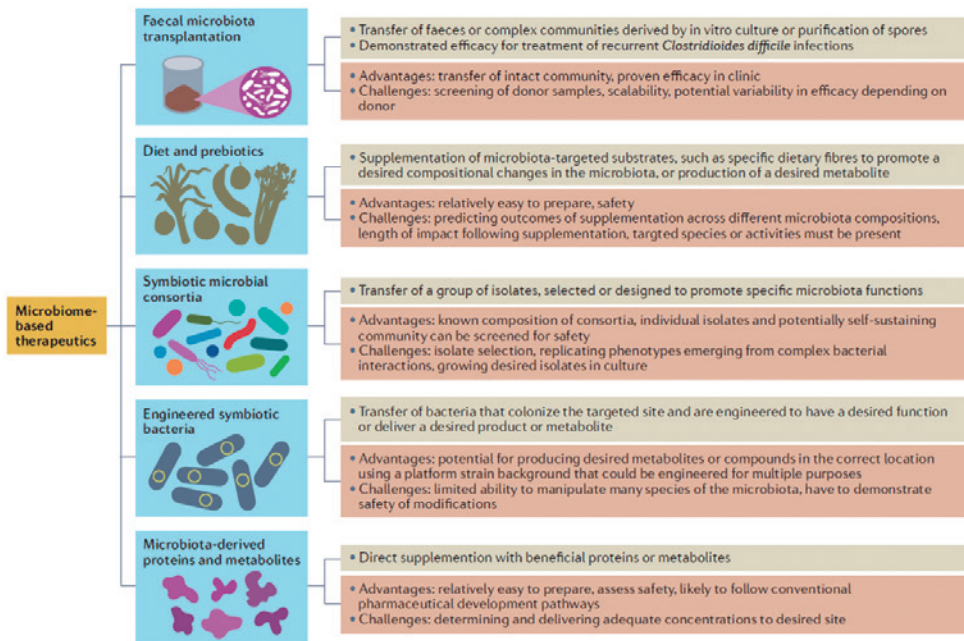
Gastroenterology 2021; 160:483-494

圖二、健康微生物體的組成受很多因素影響，呈現動態性變化，除了細菌外，病毒、真菌甚至古菌的組成變化，也可能和疾病有關



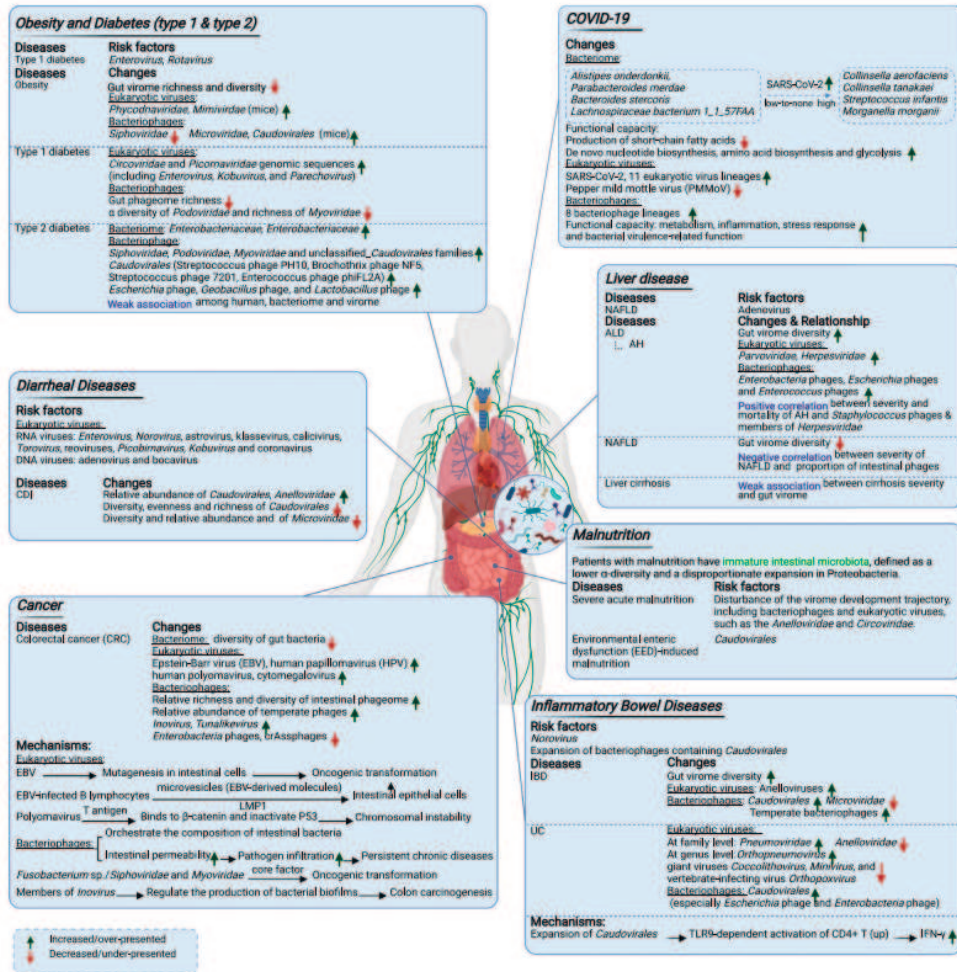
Cell Host Microbe 2021; 29:867-878

圖三、腸道上皮 (Gut epithelium) 的共同培養模式 (co-culture models)



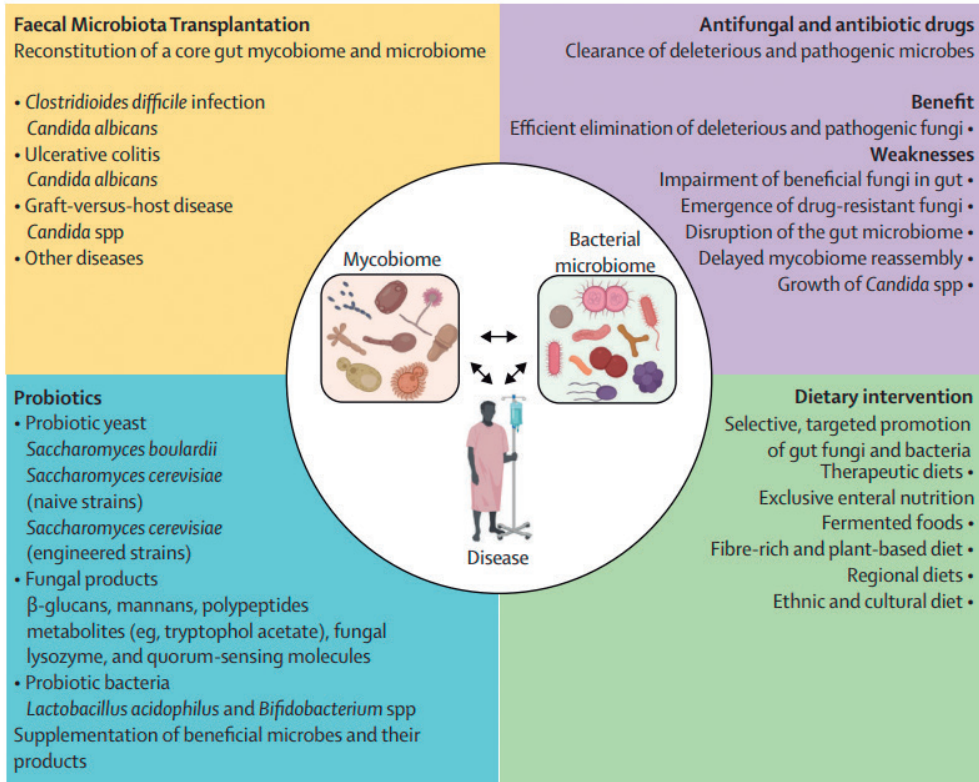
Nat Rev Microbiol 2022; 20:365-380

圖四、微生物體治療的種類



圖五、病毒體與人類疾病關係的研究

Nat Rev Microbiol 2022; 20:365-380



Lancet Microbe 2022; 3:e969-e983

圖六、調整腸道真菌體做為新的治療疾病途徑

參考文獻

1. Arumugan M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473:174-180.
2. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486:207-214.
3. Oliveira RA, Pamer EG. Assembling symbiotic bacterial species into live therapeutic consortia that reconstitute microbiome functions. *Cell Host & Microbiol* 2023; 31:472-484.
4. Shanshan F, Ghosh TS, O' Toole PW. The healthy microbiome-What is the definition of a healthy microbiome. *Gastroenterology* 2021; 160:483-494.
5. Puschhof J, Pleguezuelos-Manzano C, Clevers H. Organoids and organs-on-chips: insights into human gut-microbe interactions. *Cell Host & Microbe* 2021; 29:867-878.
6. Sorbara MT, Pamer EG. Microbiome-based therapeutics. *Nat Rev Microbiol* 2022; 20:365-380.
7. Lam S, Bai X, Shkoporov AN, et al. Roles of the gut virome and mycobiome in faecal microbiota transplantation. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2022; 7:472-484.
8. Cao Z, Sugimura N, Burgermeister E, Ebert MP, Zuo T, Lan P. The gut microbiome: a new microbiome component in health and disease. *eBioMedicine* 2022; 81:104113.
9. Zhang F, Aschenbrenner D, Yoo JY, Zuo T. The gut mycobiome in health, disease, and clinical applications in association with the gut bacterial microbiome assembly. *Lancet Microbe* 2022; 3:e969-e983.
10. Cammarota G, Ianiro G, Ahern A, et al. Gut microbiome, big data and machine learning to promote precision medicine for cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17:635-648.

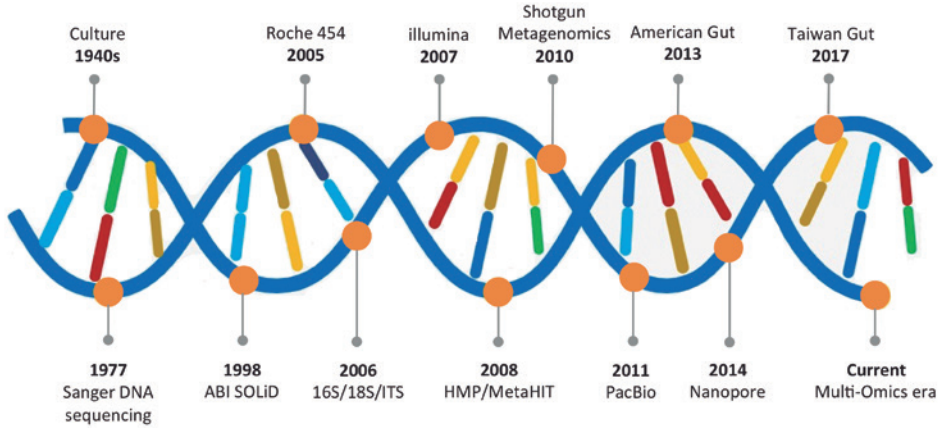
第二十章： 人體微生物相研究之生物技術

Chapter 20 : The biotechnology of human microbiota research

劉君豪

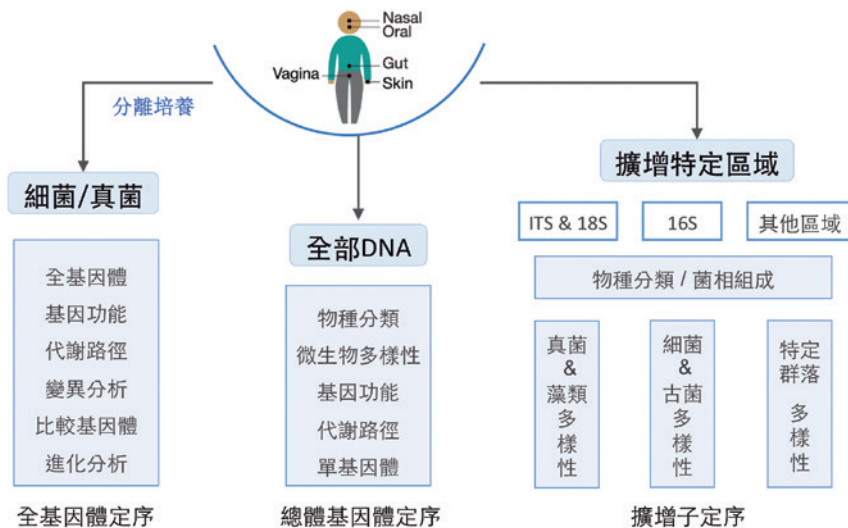
精準醫療浪潮下，人體微生物相與宿主健康、疾病間的關係已成為近年的研究熱點。隨著生物技術和生物資訊學的進步，可針對不同研究階段提供微生物體研究相應的策略選擇，如擴增子定序、總體基因體定序、微生物全基因體定序及代謝多體學等方法。隨著人體微生物領域逐步朝向大眾健康的方向發展，這些生物技術將有助於系統性地探索，進而推動微生物精準醫療，期望藉由多種體學的功能性研究，能實現透過管理微生物來管理人體健康的目標。

微生物體與人類健康有著密不可分的關係，根據研究顯示，高達 90% 的疾病與人體中各部位的微生物相群落結構及平衡與否高度相關，包含腸胃道、神經疾病、慢性代謝疾病、精神疾病、癌症、自體免疫、過敏氣喘、心血管、肝臟、肺臟等相關疾病。研究的推展仰賴著生物技術演進的支持，從 1977 年 Frederick Sanger 定序第一個病毒全基因體 phiX174 後，微生物體研究開啟了定序的時代。隨著 2005 年 Roche 454 的誕生到 2007 年 illumina 的推進（收購 Solexa），科學家們開始透過高通量次世代定序（Next-Generation Sequencing, NGS）的 16S 擴增子技術，大規模的探索人類腸道微生物的組成與多樣性，進而探討菌相變化與人類疾病及健康的關聯，因此也催生了許多大型計畫，例如：美國 Human Microbiome Project (HMP) 與 歐盟 METAGENOMICS OF THE HUMAN INTESTINAL TRACT (MetaHIT)。另外，2011 年 PacBio 與 2014 年 Oxford Nanopore 三代長讀長定序技術（Third-Generation Sequencing, TGS）的出現，也為微生物體研究帶來高解析度探索的機會，特別是過去侷限在特定 16S 高變區的研究，使得解析度只能受限於屬層級，如今透過三代定序將 16S 全長定序提升解析度到種層級，尤其是對某個細菌、真菌或病毒基因體進行解序時，三代定序更可協助建構完整的全基因體圖譜（圖一）。



圖一：微生物研究技術演進

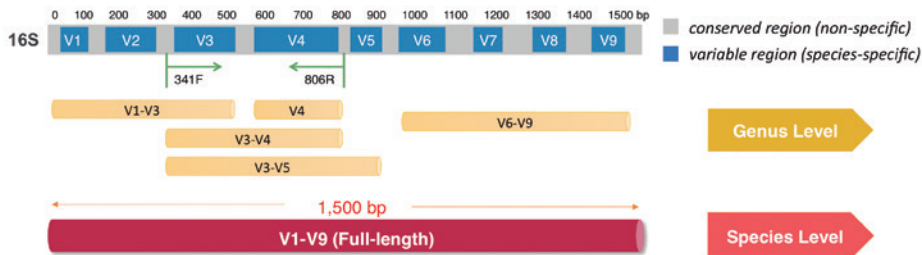
DNA 定序技術和生物資訊分析的進展，提供微生物體研究可根據不同需求選擇相應的定序策略（圖二），如：擴增子定序（Amplicon sequencing）、總體基因體定序（Whole-metagenome shotgun sequencing）、細菌 / 真菌全基因體定序（Whole-Genome Sequencing）與代謝多體學（Metabolomic multi-omics）。



圖二：微生物體研究定序技術

16S 擴增子定序

16S 核糖體 RNA (rRNA) 基因定序對細菌進行基於序列的鑑定，不需經由培養，是微生物群落研究常見且成本較低的方法。由於 16S rRNA 基因序列在不同細菌物種中高度保守 [1,2]，使其成為 PCR 擴增和定序的理想標靶。16S rRNA 基因序列長約 1,500 bp，由 9 個高變區和 10 個保守區組成（圖三）。過去研究指出，並沒有一個區域能夠有效地區分所有細菌 [3]，對選定的不同高變區域進行定序可能會產生不同的解讀 [4,5]，通常需要根據問題和研究目標選擇不同的高變區進行研究。研究人員之所以只針對 16S rRNA 的部分區域定序而非 16S rRNA 全長，是由於次世代定序技術最長只能涵蓋 600bp [6]，取捨下僅針對部分 16S rRNA 基因而不是全長基因進行定序，可能會降低系統發育的解析度。例如，V1-V2 區域在對屬於變形菌門的序列進行分類時表現不佳，而 V3-V5 區域在對屬於放線菌門的序列進行分類時表現不佳 [7]，可能會導致某些物種被錯誤的分類而對整個微生物群落的組成與多樣性分析造成影響。



圖三：16S rRNA 擴增子技術

三代定序技術 PacBio 和 Oxford Nanopore 平台 [8] 可產生超過 1,500bp 的序列，研究指出，透過三代定序進行全長 16S rRNA 基因定序相較於過去常見的特定高變區域定序，可大幅提高微生物物種分類的解析度 [9]。比較細菌物種分類在 V1-V9 和 V3-V4 的解析度，在屬層級，V1-V9 只有 1.1% 被錯誤分類或未分類，而 V3-V4 則高達 18.97%。同樣地，在種層級，V1-V9 被錯誤分

類或未分類的比例為 7.47%，V3-V4 則急劇上升至 55.17% [10]。總體而言，16S rRNA 可提供研究人員進行物種分類與多樣性研究，但在人體微生物相研究通常需要更準確辨識到菌種甚至菌株層級，因此透過全長 16S rRNA 將是人體微生物相研究較具成本效益的選擇 [11]。

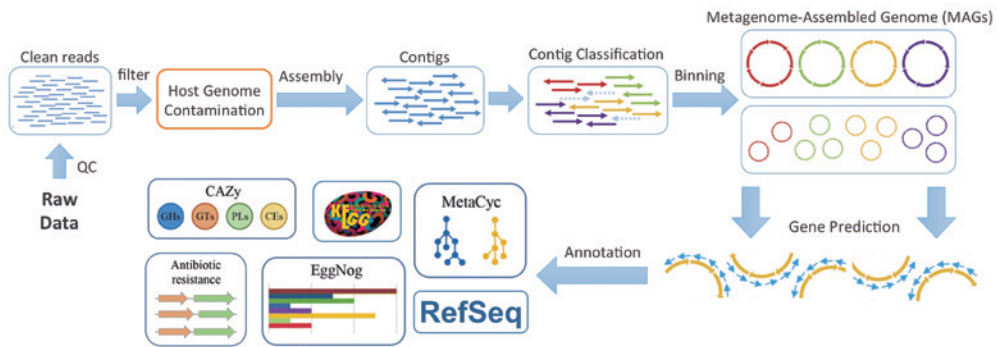
總體基因體定序

Handelsman & Rondon 在 1998 年首次提出總體基因體學 (metagenome) 的概念 [12]，論文中描述了如何不需培養直接對環境樣本 DNA 定序，進行微生物群落多樣性和功能研究。Shotgun Metagenomic Sequencing (散彈槍總體基因體定序技術) 相較於 16S rRNA 基因定序存在多項優勢，包含物種分類可準確到菌種甚至是菌株層級，準確度對於人體微生物相疾病與健康研究、次世代益生菌開發、個人化益生菌、微生物藥物研究等是至關重要的條件。相比於 16S rRNA 僅能針對組成與變化推論可能發生的生理生化代謝反應，總體基因體可直接透過 ORF 預測確認目標基因序列，因此可直接進行基因功能與代謝路徑分析，另外，由於人類目前仍對微生物的理解甚低，在微生物基因體資料庫尚未完備下，總體基因體技術可協助發現未知的物種、未知的基因序列 (圖四)，進而發現微生物暗物質的可能。

	Amplicon Sequencing	Whole Metagenome Shotgun (WMS) sequencing	
	Full length / v3v4 16S	Mapping-based	Assembly-based
PROS	<ul style="list-style-type: none"> Less expensive non-host contamination Full length 16S confers species-level resolution 	<ul style="list-style-type: none"> Fast, scales to large datasets Less sequencing depth Sub-species level resolution Gene function 	<ul style="list-style-type: none"> Species or strain-level Unmatched for identifying novel genomic and gene diversity Profiling unknown/novel species Gene function
CONS	<ul style="list-style-type: none"> v3v4 resolution limited to genus level Can't see "within genomes" (only sequencing one gene) PCR amplification 	<ul style="list-style-type: none"> Limited to identifying sequences like those that have been seen before (unknown species) Host contamination 	<ul style="list-style-type: none"> Can't assemble a sequence unless it is well-covered in the community Extremely resource-intensive Host contamination High Cost

四：16S 擴增子定序與總體基因體定序比較

散彈槍總體基因體技術能檢測和識別實驗室中難以培養的微生物物種，透過萃取樣品中的 DNA 並隨機片段化成小片段進行定序，而由於樣本中所有 DNA 都被定序，因此在人類樣本中通常會存在一定比例的人類基因序列，分析前需要以生物資訊方法先將宿主基因序列的污染濾除，以獲得可以進行後續微生物分析的序列。散彈槍總體基因體學的生物資訊分析流程較擴增子分析複雜且耗時，依照分析策略（Mapping-based or Assembly-based）有不同的計算資源需求。主要包括序列品質控制、宿主污染過濾（Host Contamination）、比對（mapping）或組裝（denovo assembly）、基因預測、分箱（Binning）、物種分類和功能註釋 [13-16]（圖五）。透過 Binning 的優勢，可重建出單個微生物基因體（metagenome-assembled genome, MAG）以準確識別樣本中存在的物種。另外，功能分析也是總體基因體學的優勢，預測的蛋白質編碼基因可以比對到代謝路徑資料庫（KEGG）[17-20]、蛋白質功能資料庫（COG [21] 和 eggNOG [22,23]）、氮循環基因資料庫（NCyc）[24]、碳水化合物酵素資料庫（dbCAN2）[25,26]、毒力因子資料（VFDB）[27-29]、細菌抗藥性基因資料庫（CARD）[30-34]、殺菌劑和重金屬細菌耐藥性基因資料庫（BacMet）[35] 和病原體宿主交互作用資料庫（PHIbase）[36-40]。



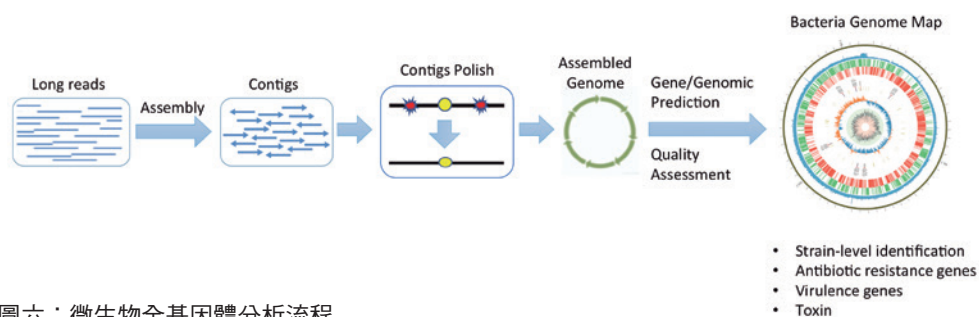
圖五：總體基因體學分析流程

總體基因體定序技術，除了為科學研究提供高解析度的物種注釋與功能分析，在臨床應用上已可快速且準確地完成感染病原基因體定序檢測（metagenomic next-generation sequencing, mNGS），不需假設不需培養可一次性檢測超過一萬種病原體（含細菌、真菌、病毒、寄生蟲），可有效協助醫生釐清感染病原以給予相應的治療方案。目前已有商業化服務公司，如美國的 Karius、Delve Bio、IDbyDNA 與台灣的亞洲準譯。

微生物全基因體定序

1977 年 Frederick Sanger 定序第一個病毒全基因體 phiX174 到 1995 年第一個細菌全基因體（Haemophilus influenzae Rd.）被定序完成 [41]，在微生物研究領域，全基因體定序在了解細菌、真菌或病毒所運作的生命現象扮演著重要的角色。隨著 NGS 的出現及價格持續大幅的下降，已有許多微生物全基因體被解序完成。但由於 NGS 的定序原理，在處理微生物基因體中高 GC 含量、重複序列、複雜基因體時存在一定的限制，在目前已發表的基因體中仍有近 90% 未被完成 [42]。隨著三代定序正確率與數據產出的提升，已廣泛應用來克服 NGS 的限制，可在一條讀序中覆蓋連續重複序列或結構變異使組裝分析更易於完成。研究上為了最佳化定序策略，常使用 NGS 和 TGS 聯合來對微生物基因體定序（hybrid genome sequencing），此方法既具有 NGS 檢測 SNV 的高準確率，又具有 TGS 可發現結構變異和有助於基因體組裝的長讀長特性 [43]。

2021 年一篇使用 NGS（Illumina）和 TGS（PacBio 或 Nanopore）來組裝微生物基因體的論文，分析當使用單一技術進行定序時，TGS 明顯有更長的 contig 和更少的 contig 數量。透過使用 polish 工具，評估組裝完整性（BUSCO）的分數可以從 75.1% 增加到 98.6% [44]。這些結果顯示，NGS 加 TGS 或多步驟 polish 的 TGS（Racon、Medaka 和 Homopolish 等）都提高了微生物基因體組裝的完整性和序列準確性（圖六）。

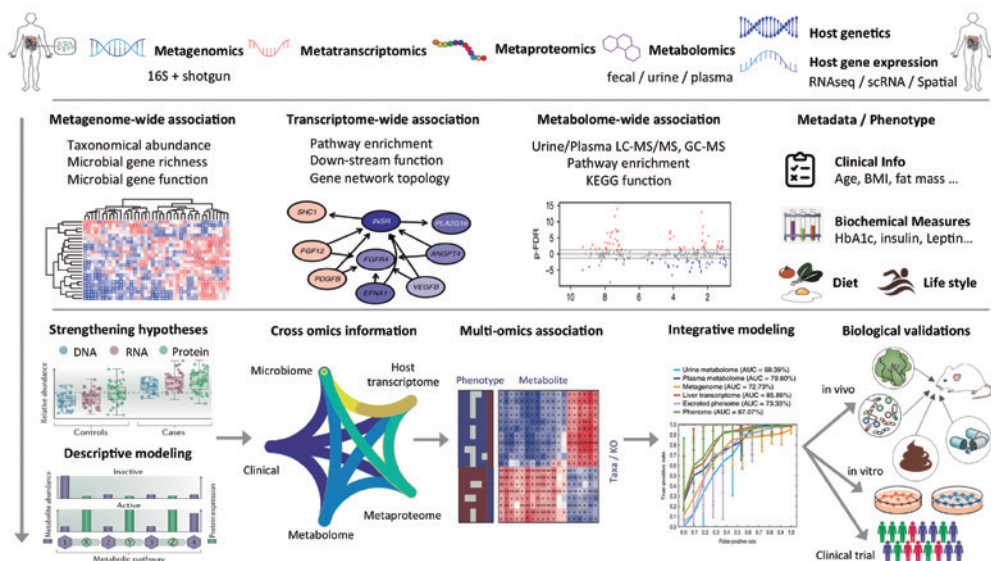


圖六：微生物全基因體分析流程

目前微生物全基因體定序已進入到商業應用產品開發，在新興微生物體療法的競賽中，獲取功能性菌株仍是關鍵，特別若以新藥開發標準對次世代益生菌（Next Generation Probiotics, NGPs）進行菌株品質、穩定性、安全性、功效驗證和臨床評價，全基因體定序分析可協助針對其菌株功能、毒力、毒素、耐藥基因等做系統性評估 [45,46]。

代謝多體學

代謝體學（Metabolomics）是指在特定的時間點下，對生物體內（細胞，組織，生物體液）的小分子代謝物進行定性和定量 [47]。而代謝物（metabolic）泛指分子量小於 1500 M.W. 的物質，例如：葡萄糖、脂質、胺基酸等。代謝物是生物系統中的最終產物，相較於基因或蛋白，更能直接表現生物體在特定時間下的狀況，其最接近表現型（phenotype）且更能反應出環境變化對生物體的影響 [48]。人體微生物相與疾病研究中，腸道菌是最廣為研究的標的，而腸道菌、代謝物對疾病的影響可能不是單一隻菌或單一個代謝物所導致，而是菌群與多種代謝物交互作用產生的結果，因此結合菌相、代謝與宿主的多體學（MultiOmics）研究在微生物精準醫療就扮演了重要的角色 [49,50]，在 2019 年 5 月 Nature 一次性刊登了 10 篇微生物多體學文章 [51-59]，透過微生物群落組成、病毒、代謝體、基因表現、宿主遺傳與特異性、表觀基因體、細胞因子、蛋白質體等研究宿主 - 微生物間交互作用關係，以進行人體疾病成因的綜合性探討（圖七）。



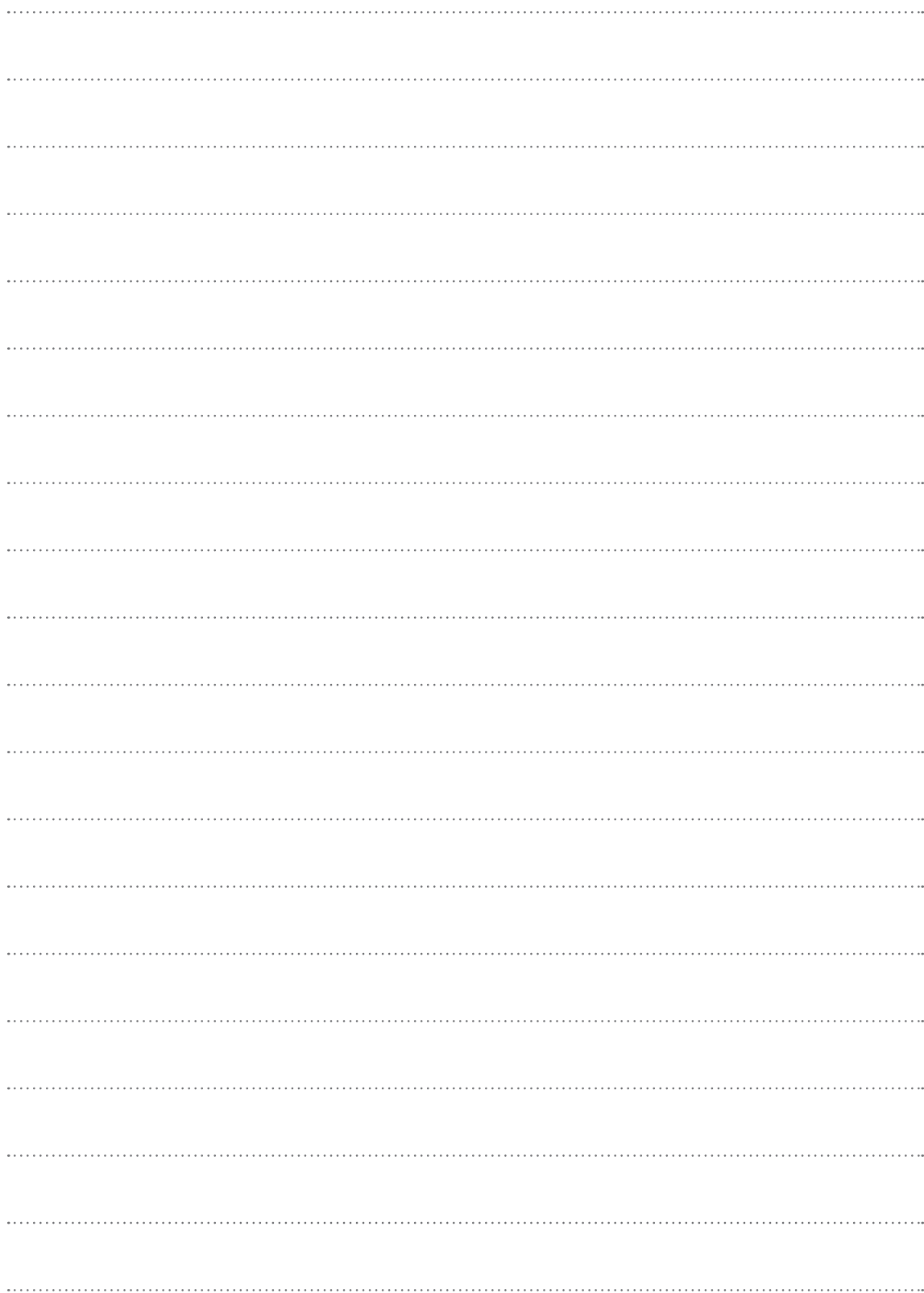
圖七：多體學研究策略

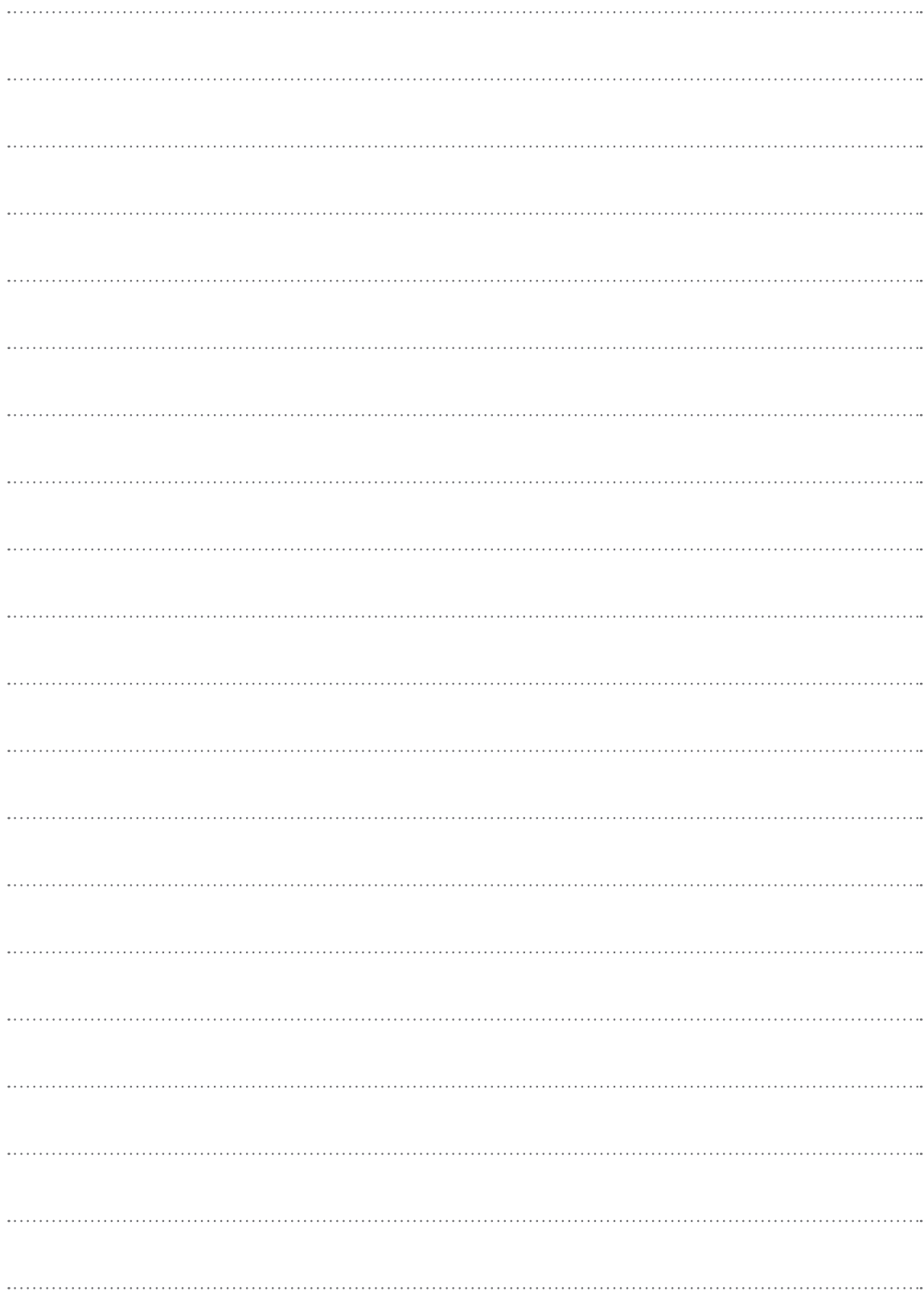
因此，未來要走向大眾健康臨床應用，發展出可商業化人體微生物應用的目標，需結合多體學及多因子關聯分析，並著眼於關聯之外的因果關係探索，相信結合各種生物技術所獲得的寶貴資料，將有助於推進微生物精準醫療的到來。

參考文獻

1. Woese, C.R., Bacterial evolution. *Microbiol Rev*, 1987. 51(2): p. 221-71.
2. Woese, C.R., et al., A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Syst Appl Microbiol*, 1985. 6: p. 143-51.
3. Chakravorty, S., et al., A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Microbiol Methods*, 2007. 69(2): p. 330-9.
4. Sirichoat, A., et al., Comparison of different hypervariable regions of 16S rRNA for taxonomic profiling of vaginal microbiota using next-generation sequencing. *Arch Microbiol*, 2021. 203(3): p. 1159-1166.
5. Rintala, A., et al., Gut Microbiota Analysis Results Are Highly Dependent on the 16S rRNA Gene Target Region, Whereas the Impact of DNA Extraction Is Minor. *J Biomol Tech*, 2017. 28(1): p. 19-30.
6. Liu, Z., et al., Short pyrosequencing reads suffice for accurate microbial community analysis. *Nucleic Acids Res*, 2007. 35(18): p. e120.
7. Johnson, J.S., et al., Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun*, 2019. 10(1): p. 5029.
8. Goodwin, S., J.D. McPherson, and W.R. McCombie, Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*, 2016. 17(6): p. 333-51.
9. Levy, S.E. and R.M. Myers, Advancements in Next-Generation Sequencing. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2016. 17: p. 95-115.
10. Matsuo, Y., et al., Full-length 16S rRNA gene amplicon analysis of human gut microbiota using MinION nanopore sequencing confers species-level resolution. *BMC Microbiol*, 2021. 21(1): p. 35.
11. Notario, E., et al., Amplicon-Based Microbiome Profiling: From Second- to Third-Generation Sequencing for Higher Taxonomic Resolution. *Genes (Basel)*, 2023. 14(8).
12. Handelsman, J., et al., Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol*, 1998. 5(10): p. R245-9.

(更多參考文獻請見附錄)





微生命的交響樂

追尋人體 微生物相 的和諧之旅

發行者：國家科學及技術委員會

出版者：人體微生物相專案推動辦公室

著者：吳明賢、吳俊忠、吳俊穎、吳偉愷、吳莉玲、吳登強、呂廷璋、李維祥、林稚容、林定筠、洪思群、倪行玄、高承源、高淑芬、張皓文、陳怡如、陳明熙、陸嘉真、曾景鴻、楊耀榮、廖振捷、劉君豪、蔡英傑、鄭修琦、賴信志、賴馥蘋、羅翊禎
(依姓名筆劃排序)

執行編輯：吳俊忠、俞松良

美術編輯：伯驊印刷有限公司

ISBN：9786267214503

出版日期：2024年3月初版

著作權管理

本書保留所有權，欲使用本書全部或部分內容者，需徵求國家科學及技術委員會同意或書面授權。

微生命的交響樂：
追尋人體微生物相的和諧之旅

附錄-參考文獻

參考文獻目錄

◆ PART 1:前言 Introduction.....	4
第一章:人體微生物相發展概況	4
◆ PART 2:微生物相與健康 Microbiota in Health....	7
第二章: 腸道菌群與個體健康	7
第三章: 微生物菌叢的一生變化:從胎兒開始	12
第四章: 腸道微生物群生理學關於宿主健康的腸漏理論	14
第五章: 基因和環境因素對腸道菌叢發展的角色	23
◆ PART 3:微生物相與疾病 Microbiota in Disease	28
第六章: 腸道微生物菌相軸與疾病的關聯	28
第七章: 胃微生物相在胃癌發生的組成與可能角色	29
第八章: 微菌叢與皮膚疾病的關係	36

第九章: 腸道菌在心血管疾病所扮演的角色	39
第十章: 腸菌叢與神經發展疾患	43
第十一章: 微生物相與肺部疾病	75
第十二章: 微菌叢與代謝性疾病	77
第十三章: 腸道菌與癌症	80
第十四章: 微生物相與腎臟疾病	88

◆ PART 4: 微生物相、益生元、後生元 Microbiota, Prebiotics, Postbiotics..... 90

第十五章: 食物營養、中醫藥及益生元對腸道微生物菌相之影響	90
第十六章: 微生物體與次世代益生菌	92
第十七章: 微生物衍生的後生素在防治疾病的應用	95
第十八章: 腸道菌治療	98

◆ PART 5: 未來展望與探索 Perspective &

Exploration 100

第十九章: 開拓腸道菌研究的邊界 100

第二十章: 人體微生物相研究之生物技術 101

◆ PART 1:前言 Introduction

第一章:人體微生物相發展概況

Chapter 1: Human microbiota and microbiome- an overview

1. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014;**157**:121-41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
2. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2021;**19**:55-71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
3. Yang I, Corwin EJ, Brennan PA, Jordan S, Murphy JR, Dunlop A. The infant microbiome: implications for infant health and neurocognitive development. *Nurs Res* 2016;**65**:76-88. doi: 10.1097/NNR.0000000000000133.
4. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut microbiota in cardiovascular health and disease. *Circ Res* 2017;**120**:1183-96. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309715.
5. Integrative HMPRNC. The integrative human microbiome project. *Nature* 2019;**569**:641-8. doi: 10.1038/s41586-019-1238-8.
6. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med* 2019;**25**:1012-21. doi: 10.1038/s41591-019-0450-2.
7. Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature* 2019;**569**:655-62. doi: 10.1038/s41586-019-1237-9.
8. Zhou W, Sailani MR, Contrepois K, et al. Longitudinal multi-omics of host-microbe dynamics in prediabetes. *Nature* 2019;**569**:663-71. doi: 10.1038/s41586-019-1236-x.
9. Li J, Jia H, Cai X, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol* 2014;**32**:834-41. doi: 10.1038/nbt.2942.
10. McDonald D, Hyde E, Debelius JW, et al. American gut: an open platform for citizen science microbiome research. *mSystems* 2018;**3**. doi: 10.1128/mSystems.00031-18.
11. Dinan TG, Stanton C, Long-Smith C, et al. Feeding melancholic microbes: MyNewGut recommendations on diet and mood. *Clin Nutr* 2019;**38**:1995-2001. doi: 10.1016/j.clnu.2018.11.010.

12. Johnson-King B, Terry SF. Future of microbiomes through the national microbiome initiative. *Genet Test Mol Biomarkers* 2016;**20**:561-2. doi: 10.1089/gtmb.2016.29022.sjt.
13. MGI Tech Co. L. The million microbiome of humans project (MMHP) officially launched to build the world's largest human microbiome database. Available at: <https://en.mgi-tech.com/News/info/id/96>. 17 Nov 2019.
14. Lin TC, Hung YP, Ko WC, Ruan JW. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection in Taiwan: establishment and implementation. *J Microbiol Immunol Infect* 2019;**52**:841-50. doi: 10.1016/j.jmii.2019.08.009.
15. Consortium TM. Taiwan fecal microbiota transplantation expert consensus. Available at: <https://www.microbiota.org.tw/Knowledge/detail/3>. 2018.
16. Chen YH, Wu WK, Wu MS. Microbiota-associated therapy for non-alcoholic steatohepatitis-induced liver cancer: A review. *Int J Mol Sci* 2020;**21**. doi: 10.3390/ijms21175999.
17. Organization WH. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)). 20 May 2022.
18. Adeloye D, Song P, Zhu Y, et al. Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Respir Med* 2022;**10**:447-58. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00511-7.
19. Lai HC, Lin TL, Chen TW, et al. Gut microbiota modulates COPD pathogenesis: role of anti-inflammatory *Parabacteroides goldsteinii* lipopolysaccharide. *Gut* 2022;**71**:309-21. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322599.
20. Chang CS, Liao YC, Huang CT, et al. Identification of a gut microbiota member that ameliorates DSS-induced colitis in intestinal barrier enhanced dusp6-deficient mice. *Cell Rep* 2021;**37**:110016. doi: 10.1016/j.celrep.2021.110016.
21. Research B. Microbial products: technologies, applications and global markets. Available at: <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/microbial-products-technologies-applications-and-global-markets-report.html>. Jul 2018.

22. Information G. Global dietary supplements market research report - Forecast till 2025. Available at: <https://www.giiresearch.com/report/marf945551-global-dietary-supplements-market-research-report.html>. 24 Feb 2020.
23. ETtoday 財經雲. 疫情下保健食品需求強勁年產值攻上 1596 億元、年成長率 5.6%. Available at: <https://finance.ettoday.net/news/2284524>. 1 July 2022.
24. Cani PD, Depommier C, Derrien M, Everard A, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila*: paradigm for next-generation beneficial microorganisms. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2022;**19**:625-37. doi: 10.1038/s41575-022-00631-9.
25. Efsa Panel on Nutrition NF, Food A, Turck D, et al. Safety of pasteurised *Akkermansia muciniphila* as a novel food pursuant to regulation (EU) 2015/2283. EFSA J 2021;**19**:e06780. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6780.
26. Medicine. UNLo. Effect of *Akkermansia muciniphila* WST01 strain in overweight or obese patients with type 2 diabetes. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04797442>. 2021.
27. Garber K. First microbiome-based drug clears phase III, in clinical trial turnaround. Nat Rev Drug Discov 2020;**19**:655-6. doi: 10.1038/d41573-020-00163-4.
28. Feuerstadt P, Louie TJ, Lashner B, et al. SER-109, an oral microbiome therapy for recurrent *Clostridioides difficile* infection. N Engl J Med 2022;**386**:220-9. doi: 10.1056/NEJMoa2106516.
29. Rouanet A, Bolca S, Bru A, et al. Live biotherapeutic products, a road map for safety assessment. Front Med (Lausanne) 2020;**7**:237. doi: 10.3389/fmed.2020.00237.
-

◆ PART 2: 微生物相與健康 Microbiota in Health

第二章: 腸道菌群與個體健康

Chapter 2: Role and function of gut microbiota in host health

1. Dominguez-Bello, M. G. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010;107:11971-5.
2. Rutayisire, E., Huang, K., Liu, Y. & Tao, F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2016;16:86.
3. Moore, R. E. & Townsend, S. D. Temporal development of the infant gut microbiome. *Open Biol.* 2019;9:190128.
4. Black, R. E. et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *The Lancet.* 2013;382:427-451.
5. Ahmed, T. et al. Mortality in severely malnourished children with diarrhoea and use of a standardised management protocol. *The Lancet.* 1999;353:1919-22.
6. Ashraf, H. et al. A follow-up experience of 6 months after treatment of children with severe acute malnutrition in Dhaka, Bangladesh. *J. Trop. Pediatr.* 2012;58:253-7.
7. Subramanian, S. et al. Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. *Nature.* 2014;510:417-21.
8. Raman, A. S. et al. A sparse covarying unit that describes healthy and impaired human gut microbiota development. *Science.* 2019;365:eaau4735.
9. Blanton, L. V. et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children. *Science.* 2016;351:10.1126/science.aad3311 aad3311.
10. Gehrig, J. L. et al. Effects of microbiota-directed foods in gnotobiotic animals and undernourished children. *Science.* 2019;365:eaau4732.
11. Chen, R. Y. et al. A microbiota-directed food intervention for undernourished children.

- N. Engl. J. Med. 2021;384:1517-1528..
12. Kennedy, E. A., King, K. Y. & Baldridge, M. T. Mouse microbiota models: Comparing germ-free mice and antibiotics treatment as tools for modifying gut bacteria. *Front. Physiol.* 2018;9:1534.
 13. Finke, D., Acha-Orbea, H., Mattis, A., Lipp, M. & Kraehenbuhl, J. P. CD4+CD3- cells induce Peyer's Patch development: Role of $\alpha 4\beta 1$ integrin activation by CXCR5. *Immunity.* 2002;17:363–373.
 14. Hamada, H. et al. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine. *J. Immunol.* 2002;168:57–64.
 15. Lorenz, R. G., Chaplin, D. D., McDonald, K. G., McDonough, J. S. & Newberry, R. D. Isolated Lymphoid Follicle Formation Is Inducible and Dependent Upon Lymphotoxin-Sufficient B Lymphocytes, Lymphotoxin β Receptor, and TNF Receptor I Function. *J. Immunol.* 2003;170:5475–5482.
 16. Mabbott, N. A., Donaldson, D. S., Ohno, H., Williams, I. R. & Mahajan, A. Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol.* 2013;6:666–677.
 17. Brayden, D. J., Jepson, M. A. & Baird, A. W. Keynote review: intestinal Peyer's patch M cells and oral vaccine targeting. *Drug Discov Today.* 2005;10:1145-57.
 18. Pais Soares, E. F. & Fernandes Borges, O. M. Oral vaccination through Peyer's Patches: update on particle uptake. *Curr. Drug Deliv.* 2018;15:321–330.
 19. Chambers, S. J. et al. Rapid in vivo transport of proteins from digested allergen across pre-sensitized gut. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004;325:1258–1263.
 20. Roth-Walter, F. et al. Pasteurization of milk proteins promotes allergic sensitization by enhancing uptake through Peyer's patches. *Allergy.* 2008;63:882–890.
 21. Yamanaka, T. et al. Microbial Colonization Drives Lymphocyte Accumulation and Differentiation in the Follicle-Associated Epithelium of Peyer's Patches. *J. Immunol.* 2003;170:816–822.
 22. Pabst, O. et al. Adaptation of solitary intestinal lymphoid tissue in response to microbiota and chemokine receptor CCR7 signaling. *J. Immunol.* 2006;177:6824-32.
 23. Collins, J., Borojevic, R., Verdu, E. F., Huizinga, J. D. & Ratcliffe, E. M. Intestinal microbiota influence the early postnatal development of the enteric nervous system.

- Neurogastroenterol. Motil. Off. J. Eur. Gastrointest. Motil. Soc. 2014;26:98–107.
24. Furness, J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012;9:286–294.
 25. Vincent, A. D., Wang, X.-Y., Parsons, S. P., Khan, W. I. & Huizinga, J. D. Abnormal absorptive colonic motor activity in germ-free mice is rectified by butyrate, an effect possibly mediated by mucosal serotonin. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2018;315:G896–G907.
 26. Yatsunenکو, T. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012;486:222–227.
 27. Bakken, J. S. et al. Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* 2011;9:1044.
 28. Arumugam, M. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011; 473:174–180.
 29. Costea, P. I. et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat. Microbiol.* 2018;3:8–16.
 30. Schnorr, S. L. et al. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat. Commun.* 2014;5:3654.
 31. Sonnenburg, E. D. et al. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature.* 2016;529:212–215.
 32. Roediger, W. E. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology.* 1982;83:424–429.
 33. Donohoe, D. R. et al. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab.* 2011;13:517–526.
 34. Le Poul, E. et al. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:25481–25489.
 35. Taggart, A. K. P. et al. (d)- β -Hydroxybutyrate inhibits adipocyte lipolysis via the nicotinic acid receptor PUMA-G. *J. Biol. Chem.* 2005;280:26649–26652.
 36. Samuel, B. S. et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc. Natl. Acad.*

- Sci. U. S. A. 2008;105:16767–16772.
37. Tolhurst, G. et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-Like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*. 2012;61:364–371.
 38. Lawley, T. D. et al. Targeted restoration of the intestinal microbiota with a simple, defined bacteriotherapy resolves relapsing *Clostridium difficile* disease in mice. *PLOS Pathog*. 2012;8: e1002995.
 39. Krautkramer, K. A. et al. Diet-microbiota interactions mediate global epigenetic programming in multiple host tissues. *Mol. Cell*. 2016;64:982–992.
 40. Smith, P. M. et al. The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013;341: 569-73.
 41. Park, J. et al. Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR–S6K pathway. *Mucosal Immunol*. 2015;8:80–93.
 42. Yang, W. et al. Intestinal microbiota-derived short-chain fatty acids regulation of immune cell IL-22 production and gut immunity. *Nat. Commun*. 2020;11: 4457.
 43. Chun, E. et al. Metabolite-sensing receptor Ffar2 regulates colonic group 3 innate lymphoid cells and gut immunity. *Immunity*. 2019;51:871-884.e6.
 44. Schulthess, J. et al. The short chain fatty acid butyrate imprints an antimicrobial program in macrophages. *Immunity*. 2019;50:432-445.e7.
 45. Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P. & Bäckhed, F. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*. 2016;165:1332–1345.
 46. Sinal, C. J. et al. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell*. 2000;102:731–744.
 47. Kok, T. et al. Enterohepatic circulation of bile salts in farnesoid X receptor-deficient mice: efficient intestinal bile salt absorption in the absence of ileal bile acid-binding protein. *J. Biol. Chem*. 2003;278:41930–41937.
 48. Potthoff, M. J. et al. FGF15/19 regulates hepatic glucose metabolism by inhibiting the CREB-PGC-1 α pathway. *Cell Metab*. 2011;13:729–738.
 49. Kir, S. et al. FGF19 as a postprandial, insulin-independent activator of hepatic protein and glycogen synthesis. *Science*. 2011;331:1621–1624.

50. Liu, S. et al. A gut–brain axis regulating glucose metabolism mediated by bile acids and competitive fibroblast growth factor actions at the hypothalamus. *Mol. Metab.* 2018;8:37–50.
51. Wang, Y. et al. The intestinal microbiota regulates body composition through NFIL3 and the circadian clock. *Science.* 2017;357:912–916.
52. Bravo, J. A. et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2011;108:16050–16055.
53. Sgritta, M. et al. Mechanisms underlying microbial-mediated changes in social behavior in mouse models of autism spectrum disorder. *Neuron.* 2019;101:246-259.e6.
54. Kulkarni, S. et al. Adult enteric nervous system in health is maintained by a dynamic balance between neuronal apoptosis and neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2017;114:E3709–E3718.
55. Ge, X. et al. Antibiotics-induced depletion of mice microbiota induces changes in host serotonin biosynthesis and intestinal motility. *J. Transl. Med.* 2017;15: 13.
56. De Vadder, F. et al. Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2018;115:6458–6463.
57. Jeffery, I. B., Lynch, D. B. & O’Toole, P. W. Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons. *ISME J.* 2016;10:170–182.
58. Xu, C., Zhu, H. & Qiu, P. Aging progression of human gut microbiota. *BMC Microbiol.* 2019;19:236.
59. Boehme, M. et al. Microbiota from young mice counteracts selective age-associated behavioral deficits. *Nat. Aging.* 2021;1:666–676.
60. Parker, A. et al. Fecal microbiota transfer between young and aged mice reverses hallmarks of the aging gut, eye, and brain. *Microbiome.* 2022;10:68.
61. Fransen, F. et al. Aged gut microbiota contributes to systemical inflammaging after transfer to germ-free mice. *Front. Immunol.* 2017;8.

第三章: 微生物菌叢的一生變化:從胎兒開始

Chapter 3: Gut microbiota in lifespan- starting from womb

1. O'Hara AM, and Shanahan F: The gut flora as a forgotten organ. *EMBO rep* 2006;7: 688-693.
2. Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LM, Fernández L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. *Benef Microbes* 2013;4(1):17-30.
3. Vael C, Desager K: The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21:794–800.
4. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al: Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:11971–11975.
5. Hyman RW, Fukushima M, Diamond L, et al: Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:7952–7957.
6. Biasucci G, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C: Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev* 2010;86(suppl 1):13–15.
7. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, et al: Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:61–67.
8. 倪衍玄 Ni YH. 兒童疾病與腸道菌叢 *Formosan J Med 台灣醫誌* 2014;18:429-35
9. Turrone F, Peano C, Pass D, et al: Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS One* 2012; 7:e36957.
10. Vangay P, Johnson AJ, Ward TL, et al. US immigration westernizes the human gut microbiome. *Cell* 2018;175:962–972.
11. Shanahan F, Ghosh TS, O'Toole PW. The healthy microbiome—what is the definition of a healthy gut microbiome? *Gastroenterology* 2021;160:483–494.
12. Dethlefsen L, Relman DA: Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(suppl 1):4554–4561.
13. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term impacts of antibiotic exposure

- on the human intestinal microbiota. *Microbiology*. 2010;156(pt 11):3216–3223.
14. Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11(3):182-190.
 15. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al: Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473:174–180.
 16. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R: Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489:220-230.
 17. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al: Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334:105–108.
 18. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, et al: A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480–484.
 19. The Human Microbiome Project Consortium: Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486: 207–214.
 20. Qin J, Li Y, Cai Z, et al: A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490: 55-60.
 21. Shen YM, Wu JF, Chen HL, Hsu HY, Chang MH, Hsieh TK, Ni YH. Characteristics and incidences of pediatric Crohn’s disease in the decades before and after 2000. *Pediatr Neonatol* 2011; 52(6):317-20.
 22. Strachan DP: Hay fever, hygiene and household size. *Br Med J* 1989; 299: 1259–1260.
 23. Penders J, Gerhold K, Thijs C, et al: New insights into the hygiene hypothesis in allergic diseases: Mediation of sibling and birth mode effects by the gut microbiota. *Gut Microbes* 2014; 5: (epub ahead)
 24. Rivas MN, Burton OT, Wise P, et al: A microbiota signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:201-212.
 25. Chua HH, Chou HC, Tung YL, et al. Intestinal dysbiosis featuring abundance of *Ruminococcus gnavus* associates with allergic diseases in infants. *Gastroenterology* 2018; 154(1):154-67.
 26. Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, et al: 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J*. 2009;3:944–954.

27. Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, et al: Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with nonculture-based techniques. *J Pediatr.* 2010;156:20–25.
 28. Lin HC, Hsu CH, Chen HL, et al: Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics.* 2008;122:693–700.
 29. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D: The microbiome in inflammatory bowel disease: Current status and the future ahead. *Gastroenterology* 2014;146:1489-1499.
 30. Sokol H, Seksik P, Furet JP, et al: Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1183–1189.
 31. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444:1027–31.
 32. Schwiertz, A. et al: Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity* 2010;18:190–195.
 33. Tamburini S, Shen N, Wu HC, Clemente JC. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med.* 2016; 22(7):713-22.
-

第四章: 腸道微生物群生理學關於宿主健康的腸漏理論

Chapter 4: Intestinal microbiota physiology on host health-leaky gut theory

1. Galipeau HJ, Verdu EF. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. *Neurogastroenterol Motil.* 2016;28:957-965.
2. Furness JB, Kunze WA, Clerc N. Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut. II. The intestine as a sensory organ: neural, endocrine, and immune responses. *Am J Physiol.* 1999;277:G922-928.
3. Uil JJ, van Elburg RM, van Overbeek FM, Mulder CJ, VanBerge-Henegouwen GP, Heymans HS. Clinical implications of the sugar absorption test: intestinal permeability test to assess mucosal barrier function. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1997;223:70-78.

4. Camilleri M, Vella A. What to do about the leaky gut. *Gut*. 2022;71:424-435.
5. Bjarnason I, Peters TJ, Veall N. A persistent defect in intestinal permeability in coeliac disease demonstrated by a ⁵¹Cr-labelled EDTA absorption test. *Lancet*. 1983;1:323-325.
6. Oulas A, Pavloudi C, Polymenakou P, et al. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinform Biol Insights*. 2015;9:75-88.
7. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005;307:1915-1920.
8. Hillman ET, Lu H, Yao T, Nakatsu CH. Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract. *Microbes Environ*. 2017;32:300-313.
9. Ciccarelli FD, Doerks T, von Mering C, Creevey CJ, Snel B, Bork P. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science*. 2006;311:1283-1287.
10. Tocheva EI, Matson EG, Morris DM, Moussavi F, Leadbetter JR, Jensen GJ. Peptidoglycan remodeling and conversion of an inner membrane into an outer membrane during sporulation. *Cell*. 2011;146:799-812.
11. Human Microbiome Project C. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012;486:207-214.
12. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003;361:512-519.
13. Heselmans M, Reid G, Akkermans LM, Savelkoul H, Timmerman H, Rombouts FM. Gut flora in health and disease: potential role of probiotics. *Curr Issues Intest Microbiol*. 2005;6:1-7.
14. Stecher B, Hardt WD. The role of microbiota in infectious disease. *Trends Microbiol*. 2008;16:107-114.
15. Hold GL, Smith M, Grange C, Watt ER, El-Omar EM, Mukhopadhyaya I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: what have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol*. 2014;20:1192-1210.
16. Cheng Y, Ling Z, Li L. The Intestinal Microbiota and Colorectal Cancer. *Front Immunol*. 2020;11:615056.
17. Castillo-Rodriguez E, Fernandez-Prado R, Esteras R, et al. Impact of Altered Intestinal Microbiota on Chronic Kidney Disease Progression. *Toxins (Basel)*. 2018;10.

18. Lau WL, Savoj J, Nakata MB, Vaziri ND. Altered microbiome in chronic kidney disease: systemic effects of gut-derived uremic toxins. *Clin Sci (Lond)*. 2018;132:509-522.
19. Hansen TH, Gobel RJ, Hansen T, Pedersen O. The gut microbiome in cardio-metabolic health. *Genome Med*. 2015;7:33.
20. Salguero MV, Al-Obaide MAI, Singh R, Siepmann T, Vasylyeva TL. Dysbiosis of Gram-negative gut microbiota and the associated serum lipopolysaccharide exacerbates inflammation in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease. *Exp Ther Med*. 2019;18:3461-3469.
21. Xi Y, Yan J, Li M, Ying S, Shi Z. Gut microbiota dysbiosis increases the risk of visceral gout in goslings through translocation of gut-derived lipopolysaccharide. *Poult Sci*. 2019;98:5361-5373.
22. Belancic A. Gut microbiome dysbiosis and endotoxemia - Additional pathophysiological explanation for increased COVID-19 severity in obesity. *Obes Med*. 2020;20:100302.
23. Pastor Rojo O, Lopez San Roman A, Albeniz Arbizu E, de la Hera Martinez A, Ripoll Sevillano E, Albillos Martinez A. Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13:269-277.
24. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:141-153.
25. Okumura R, Takeda K. Roles of intestinal epithelial cells in the maintenance of gut homeostasis. *Exp Mol Med*. 2017;49:e338.
26. Ghosh S, Whitley CS, Haribabu B, Jala VR. Regulation of Intestinal Barrier Function by Microbial Metabolites. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021;11:1463-1482.
27. Corfield AP. The Interaction of the Gut Microbiota with the Mucus Barrier in Health and Disease in Human. *Microorganisms*. 2018;6.
28. Anderson JM. Molecular structure of tight junctions and their role in epithelial transport. *News Physiol Sci*. 2001;16:126-130.
29. Hollander D, Kaunitz JD. The "Leaky Gut": Tight Junctions but Loose Associations? *Dig Dis Sci*. 2020;65:1277-1287.
30. Mitic LL, Van Itallie CM, Anderson JM. Molecular physiology and pathophysiology of

- tight junctions I. Tight junction structure and function: lessons from mutant animals and proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279:G250-254.
31. Furuse M, Hirase T, Itoh M, et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol.* 1993;123:1777-1788.
 32. Krug SM, Amasheh S, Richter JF, et al. Tricellulin forms a barrier to macromolecules in tricellular tight junctions without affecting ion permeability. *Mol Biol Cell.* 2009;20:3713-3724.
 33. Raleigh DR, Marchiando AM, Zhang Y, et al. Tight junction-associated MARVEL proteins marveld3, tricellulin, and occludin have distinct but overlapping functions. *Mol Biol Cell.* 2010;21:1200-1213.
 34. Morita K, Furuse M, Fujimoto K, Tsukita S. Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:511-516.
 35. Liu Y, Nusrat A, Schnell FJ, et al. Human junction adhesion molecule regulates tight junction resealing in epithelia. *J Cell Sci.* 2000;113 (Pt 13):2363-2374.
 36. Tepass U. Claudin complexities at the apical junctional complex. *Nat Cell Biol.* 2003;5:595-597.
 37. Madara JL, Barenberg D, Carlson S. Effects of cytochalasin D on occluding junctions of intestinal absorptive cells: further evidence that the cytoskeleton may influence paracellular permeability and junctional charge selectivity. *J Cell Biol.* 1986;102:2125-2136.
 38. Garcia-Castillo MD, Chinnapen DJ, Lencer WI. Membrane Transport across Polarized Epithelia. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9.
 39. Sandvig K, Kavaliauskiene S, Skotland T. Clathrin-independent endocytosis: an increasing degree of complexity. *Histochem Cell Biol.* 2018;150:107-118.
 40. Conner SD, Schmid SL. Regulated portals of entry into the cell. *Nature.* 2003;422:37-44.
 41. Viswanathan VK, Sharma R, Hecht G. Microbes and their products--physiological effects upon mammalian mucosa. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004;56:727-762.
 42. Kay RR. Macropinocytosis: Biology and mechanisms. *Cells Dev.* 2021;168:203713.
 43. Hommelgaard AM, Roepstorff K, Vilhardt F, Torgersen ML, Sandvig K, van Deurs B.

- Caveolae: stable membrane domains with a potential for internalization. *Traffic*. 2005;6:720-724.
44. Simionescu M, Popov D, Sima A. Endothelial transcytosis in health and disease. *Cell Tissue Res*. 2009;335:27-40.
 45. Sun H, Chow EC, Liu S, Du Y, Pang KS. The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4:395-411.
 46. Zweibaum A, Triadou N, Kedinger M, et al. Sucrase-isomaltase: a marker of foetal and malignant epithelial cells of the human colon. *Int J Cancer*. 1983;32:407-412.
 47. Engle MJ, Goetz GS, Alpers DH. Caco-2 cells express a combination of colonocyte and enterocyte phenotypes. *J Cell Physiol*. 1998;174:362-369.
 48. Sambuy Y, De Angelis I, Ranaldi G, Scarino ML, Stammati A, Zucco F. The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biol Toxicol*. 2005;21:1-26.
 49. Ragnarsson EG, Schoultz I, Gullberg E, et al. Yersinia pseudotuberculosis induces transcytosis of nanoparticles across human intestinal villus epithelium via invasion-dependent macropinocytosis. *Lab Invest*. 2008;88:1215-1226.
 50. Roberts CL, Keita AV, Duncan SH, et al. Translocation of Crohn's disease Escherichia coli across M-cells: contrasting effects of soluble plant fibres and emulsifiers. *Gut*. 2010;59:1331-1339.
 51. Devriese S, Van den Bossche L, Van Welden S, et al. T84 monolayers are superior to Caco-2 as a model system of colonocytes. *Histochem Cell Biol*. 2017;148:85-93.
 52. Zweibaum A, Pinto M, Chevalier G, et al. Enterocytic differentiation of a subpopulation of the human colon tumor cell line HT-29 selected for growth in sugar-free medium and its inhibition by glucose. *J Cell Physiol*. 1985;122:21-29.
 53. Phillips TE, Huet C, Bilbo PR, Podolsky DK, Louvard D, Neutra MR. Human intestinal goblet cells in monolayer culture: characterization of a mucus-secreting subclone derived from the HT29 colon adenocarcinoma cell line. *Gastroenterology*. 1988;94:1390-1403.
 54. Behrens I, Stenberg P, Artursson P, Kissel T. Transport of lipophilic drug molecules in a new mucus-secreting cell culture model based on HT29-MTX cells. *Pharm Res*. 2001;18:1138-1145.

55. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Lactobacillus acidophilus LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut*. 1994;35:483-489.
56. Mitchell DM, Ball JM. Characterization of a spontaneously polarizing HT-29 cell line, HT-29/cl.f8. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2004;40:297-302.
57. Sun L, Cao X, Lechuga S, Feygin A, Naydenov NG, Ivanov AI. A Septin Cytoskeleton-Targeting Small Molecule, Forchlorfenuron, Inhibits Epithelial Migration via Septin-Independent Perturbation of Cellular Signaling. *Cells*. 2019;9.
58. Wang D, Naydenov NG, Feygin A, Baranwal S, Kuemmerle JF, Ivanov AI. Actin-Depolymerizing Factor and Cofilin-1 Have Unique and Overlapping Functions in Regulating Intestinal Epithelial Junctions and Mucosal Inflammation. *Am J Pathol*. 2016;186:844-858.
59. Keita AV, Soderholm JD. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22:718-733.
60. Dosh RH, Jordan-Mahy N, Sammon C, Le Maitre CL. Tissue Engineering Laboratory Models of the Small Intestine. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018;24:98-111.
61. Wikman A, Karlsson J, Carlstedt I, Artursson P. A drug absorption model based on the mucus layer producing human intestinal goblet cell line HT29-H. *Pharm Res*. 1993;10:843-852.
62. Walter E, Janich S, Roessler BJ, Hilfinger JM, Amidon GL. HT29-MTX/Caco-2 cocultures as an in vitro model for the intestinal epithelium: in vitro-in vivo correlation with permeability data from rats and humans. *J Pharm Sci*. 1996;85:1070-1076.
63. Ferraretto A, Bottani M, De Luca P, et al. Morphofunctional properties of a differentiated Caco2/HT-29 co-culture as an in vitro model of human intestinal epithelium. *Biosci Rep*. 2018;38.
64. Rocha RA, Velez D, Devesa V. In vitro evaluation of intestinal fluoride absorption using different cell models. *Toxicol Lett*. 2012;210:311-317.
65. Chen Y, Lin Y, Davis KM, et al. Robust bioengineered 3D functional human intestinal epithelium. *Sci Rep*. 2015;5:13708.
66. Dosh RH, Jordan-Mahy N, Sammon C, Le Maitre CL. Use of I-pNIPAM hydrogel as a 3D-scaffold for intestinal crypts and stem cell tissue engineering. *Biomater Sci*.

- 2019;7:4310-4324.
67. Dosh RH, Essa A, Jordan-Mahy N, Sammon C, Le Maitre CL. Use of hydrogel scaffolds to develop an in vitro 3D culture model of human intestinal epithelium. *Acta Biomater.* 2017;62:128-143.
 68. Kampfer AAM, Urban P, Gioria S, Kanase N, Stone V, Kinsner-Ovaskainen A. Development of an in vitro co-culture model to mimic the human intestine in healthy and diseased state. *Toxicol In Vitro.* 2017;45:31-43.
 69. Schutgens F, Clevers H. Human Organoids: Tools for Understanding Biology and Treating Diseases. *Annu Rev Pathol.* 2020;15:211-234.
 70. Nakamura T. Recent progress in organoid culture to model intestinal epithelial barrier functions. *Int Immunol.* 2019;31:13-21.
 71. Kurashima Y, Yamamoto D, Nelson S, et al. Mucosal Mesenchymal Cells: Secondary Barrier and Peripheral Educator for the Gut Immune System. *Front Immunol.* 2017;8:1787.
 72. Bjerknes M, Cheng H. Clonal analysis of mouse intestinal epithelial progenitors. *Gastroenterology.* 1999;116:7-14.
 73. Marshman E, Booth C, Potten CS. The intestinal epithelial stem cell. *Bioessays.* 2002;24:91-98.
 74. Beumer J, Clevers H. Regulation and plasticity of intestinal stem cells during homeostasis and regeneration. *Development.* 2016;143:3639-3649.
 75. Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature.* 2009;459:262-265.
 76. Sato T, Stange DE, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology.* 2011;141:1762-1772.
 77. Jung P, Sato T, Merlos-Suarez A, et al. Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells. *Nat Med.* 2011;17:1225-1227.
 78. Yui S, Nakamura T, Sato T, et al. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5(+) stem cell. *Nat Med.* 2012;18:618-623.
 79. Fordham RP, Yui S, Hannan NR, et al. Transplantation of expanded fetal intestinal progenitors contributes to colon regeneration after injury. *Cell Stem Cell.* 2013;13:734-

744.

80. Freire R, Ingano L, Serena G, et al. Human gut derived-organoids provide model to study gluten response and effects of microbiota-derived molecules in celiac disease. *Sci Rep.* 2019;9:7029.
81. Noben M, Verstockt B, de Bruyn M, et al. Epithelial organoid cultures from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease: a truly long-term model to study the molecular basis for inflammatory bowel disease? *Gut.* 2017;66:2193-2195.
82. Schwank G, Koo BK, Sasselli V, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell.* 2013;13:653-658.
83. Farin HF, Karthaus WR, Kujala P, et al. Paneth cell extrusion and release of antimicrobial products is directly controlled by immune cell-derived IFN-gamma. *J Exp Med.* 2014;211:1393-1405.
84. Howitt MR, Lavoie S, Michaud M, et al. Tuft cells, taste-chemosensory cells, orchestrate parasite type 2 immunity in the gut. *Science.* 2016;351:1329-1333.
85. Gerbe F, Sidot E, Smyth DJ, et al. Intestinal epithelial tuft cells initiate type 2 mucosal immunity to helminth parasites. *Nature.* 2016;529:226-230.
86. von Moltke J, Ji M, Liang HE, Locksley RM. Tuft-cell-derived IL-25 regulates an intestinal ILC2-epithelial response circuit. *Nature.* 2016;529:221-225.
87. Zhang YG, Wu S, Xia Y, Sun J. Salmonella-infected crypt-derived intestinal organoid culture system for host-bacterial interactions. *Physiol Rep.* 2014;2.
88. Leslie JL, Huang S, Opp JS, et al. Persistence and toxin production by *Clostridium difficile* within human intestinal organoids result in disruption of epithelial paracellular barrier function. *Infect Immun.* 2015;83:138-145.
89. Altay G, Larranaga E, Tosi S, et al. Self-organized intestinal epithelial monolayers in crypt and villus-like domains show effective barrier function. *Sci Rep.* 2019;9:10140.
90. Kretzschmar K, Clevers H. Organoids: Modeling Development and the Stem Cell Niche in a Dish. *Dev Cell.* 2016;38:590-600.
91. Yoo JH, Donowitz M. Intestinal enteroids/organoids: A novel platform for drug discovery in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2019;25:4125-4147.
92. Tse CM, In JG, Yin J, et al. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)-Secreted Serine Protease

- EspP Stimulates Electrogenic Ion Transport in Human Colonoid Monolayers. *Toxins (Basel)*. 2018;10.
93. Moorefield EC, Blue RE, Quinney NL, Gentsch M, Ding S. Generation of renewable mouse intestinal epithelial cell monolayers and organoids for functional analyses. *BMC Cell Biol*. 2018;19:15.
94. Ussing HH, Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiol Scand*. 1951;23:110-127.
95. Smith PL. Methods for evaluating intestinal permeability and metabolism in vitro. *Pharm Biotechnol*. 1996;8:13-34.
96. Holtug K, Hansen MB, Skadhauge E. Experimental studies of intestinal ion and water transport. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1996;216:95-110.
97. Grass GM, Sweetana SA. In vitro measurement of gastrointestinal tissue permeability using a new diffusion cell. *Pharm Res*. 1988;5:372-376.
98. Keita AV, Gullberg E, Ericson AC, et al. Characterization of antigen and bacterial transport in the follicle-associated epithelium of human ileum. *Lab Invest*. 2006;86:504-516.
99. Thomson A, Smart K, Somerville MS, et al. The Ussing chamber system for measuring intestinal permeability in health and disease. *BMC Gastroenterol*. 2019;19:98.
100. Dahlgren D, Roos C, Lundqvist A, et al. Preclinical Effect of Absorption Modifying Excipients on Rat Intestinal Transport of Model Compounds and the Mucosal Barrier Marker (51)Cr-EDTA. *Mol Pharm*. 2017;14:4243-4251.
101. Irvine EJ, Marshall JK. Increased intestinal permeability precedes the onset of Crohn's disease in a subject with familial risk. *Gastroenterology*. 2000;119:1740-1744.
102. Wang L, Llorente C, Hartmann P, Yang AM, Chen P, Schnabl B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. *J Immunol Methods*. 2015;421:44-53.
103. Wallon C, Persborn M, Jonsson M, et al. Eosinophils express muscarinic receptors and corticotropin-releasing factor to disrupt the mucosal barrier in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2011;140:1597-1607.
104. Owen RL. Sequential uptake of horseradish peroxidase by lymphoid follicle epithelium of Peyer's patches in the normal unobstructed mouse intestine: an

- ultrastructural study. *Gastroenterology*. 1977;72:440-451.
105. Schurmann G, Bruwer M, Klotz A, Schmid KW, Senninger N, Zimmer KP. Transepithelial transport processes at the intestinal mucosa in inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis*. 1999;14:41-46.
106. Richter JF, Pieper R, Zakrzewski SS, Gunzel D, Schulzke JD, Van Kessel AG. Diets high in fermentable protein and fibre alter tight junction protein composition with minor effects on barrier function in piglet colon. *Br J Nutr*. 2014;111:1040-1049.
107. Porras M, Martin MT, Yang PC, Jury J, Perdue MH, Vergara P. Correlation between cyclical epithelial barrier dysfunction and bacterial translocation in the relapses of intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12:843-852.
108. Wan CP, Park CS, Lau BH. A rapid and simple microfluorometric phagocytosis assay. *J Immunol Methods*. 1993;162:1-7.
109. Keita AV, Lindqvist CM, Ost A, Magana CDL, Schoultz I, Halfvarson J. Gut Barrier Dysfunction-A Primary Defect in Twins with Crohn's Disease Predominantly Caused by Genetic Predisposition. *J Crohns Colitis*. 2018;12:1200-1209.
110. Peters SA, Edogawa S, Sundt WJ, et al. Constipation-Predominant Irritable Bowel Syndrome Females Have Normal Colonic Barrier and Secretory Function. *Am J Gastroenterol*. 2017;112:913-923.
-

第五章: 基因和環境因素對腸道菌叢發展的角色

Chapter 5: Role of genetic and environmental factors on gut microbiota development

1. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, et al: Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*. 2014;159:789-99.
2. Goodrich JK, Davenport ER, Waters JL, Clark AG, Ley RE: Crossspecies comparisons of host genetic associations with the microbiome. *Science*. 2016;352:532-5.
3. Wang J, Thingholm LB, Skiecevičienė J, et al: Genome-wide association analysis

identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet.* 2016;48:1396-1406.

4. Knights D, Silverberg MS, Weersma RK, et al: Complex host genetics influence the microbiome in inflammatory bowel disease. *Genome Med.* 2014;6:107.
5. Hall AB, Tolonen AC, Xavier RJ: Human genetic variation and the gut microbiome in disease. *Nat Rev Genet.* 2017;18:690-9.
6. Buhnik-Rosenblau K, Danin-Poleg Y, Kashi Y: Predominant effect of host genetics on levels of *Lactobacillus johnsonii* bacteria in the mouse gut. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77:6531-8.
7. Korach-Rechtman H, Freilich S, Gerassy-Vainberg S, et al: Murine genetic background has a stronger impact on the composition of the gut microbiota than maternal inoculation or exposure to unlike exogenous microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 2019;85:826.
8. Kovacs A, Ben-Jacob N, Tayem H, Halperin E, Iraqi FA, Gophna U: Genotype is a stronger determinant than sex of the mouse gut microbiota. *Microb Ecol.* 2011;61:423-8.
9. Smith-Brown P, Morrison M, Krause L, Davies PSW: Mothers secretor status affects development of childrens microbiota composition and function: a pilot study. *PLoS One.* 2016;11:e0161211.
10. Underwood MA, Gaerlan S, De Leoz MLA, et al: Human milk oligosaccharides in premature infants: absorption, excretion, and influence on the intestinal microbiota. *Pediatr Res.* 2015;78:670-7.
11. Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, et al: Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome.* 2015;3:13.
12. He Q, Kwok LY, Xi X, et al: The meconium microbiota shares more features with the amniotic fluid microbiota than the maternal fecal and vaginal microbiota. *Gut Microbes.* 2020;12:1794266.
13. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S: Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep.* 2016;6:23129.
14. Walker WA: Initial intestinal colonization in the human infant and immune

- homeostasis. *Ann Nutr Metab.* 2013;63 Suppl 2:8-15.
15. Selma-Royo M, García-Mantrana I, Calatayud M, Parra-Llorca A, Martínez-Costa C, Collado MC: Maternal diet during pregnancy and intestinal markers are associated with early gut microbiota. *Eur J Nutr.* 2021;60:1429-42.
 16. Kamng'ona AW, Young R, Arnold CD, et al: Provision of lipid-based nutrient supplements to mothers during pregnancy and 6 months postpartum and to their infants from 6 to 18 months promotes infant gut microbiota diversity at 18 months of age but not microbiota maturation in a rural malawian setting: secondary outcomes of a randomized trial. *J Nutr.* 2020;150:918-28.
 17. Hjelmsø MH, Shah SA, Thorsen J, et al: Prenatal dietary supplements influence the infant airway microbiota in a randomized factorial clinical trial. *Nat Commun.* 2020;11:426.
 18. Drall KM, Field CJ, Haqq AM, et al: Vitamin D supplementation in pregnancy and early infancy in relation to gut microbiota composition and *C. difficile* colonization: implications for viral respiratory infections. *Gut Microbes.* 2020;12:1799734.
 19. Dierikx TH, Visser DH, Benninga MA, et al: The influence of prenatal and intrapartum antibiotics on intestinal microbiota colonisation in infants: A systematic review. *J Infect.* 2020;81:190-204.
 20. Dierikx T, Berkhout D, Eck A, et al: Influence of timing of maternal antibiotic administration during caesarean section on infant microbial colonisation: a randomised controlled trial. *Gut.* 2022;71:1803-11.
 21. Bossung V, Lupatsii M, Dashdorj L, et al: Timing of antimicrobial prophylaxis for cesarean section is critical for gut microbiome development in term born infants. *Gut Microbes.* 2022;14:2038855.
 22. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, et al: Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One.* 2013;8:e78331.
 23. Tonon KM, Morais TB, Taddei CR, et al: Gut microbiota comparison of vaginally and cesarean born infants exclusively breastfed by mothers secreting α 1-2 fucosylated oligosaccharides in breast milk. *PLoS One.* 2021;16:e0246839.
 24. Prinsival L, Rebelo F, Williams BL, et al: Association between the mode of delivery and

- infant gut microbiota composition up to 6 months of age: A systematic literature review considering the role of breastfeeding. *Nutr Rev.* 2021;80:113-27.
25. Brink LR, Mercer KE, Piccolo BD, et al: Neonatal diet alters fecal microbiota and metabolome profiles at different ages in infants fed breast milk or formula. *Am J Clin Nutr.* 2020;111:1190-202.
26. Savage JH, Lee-Sarwar KA, Sordillo JE, et al: Diet during pregnancy and infancy and the infant intestinal microbiome. *J Pediatr.* 2018;203:47-54.e4.
27. Sillner N, Walker A, Lucio M, et al: Longitudinal profiles of dietary and microbial metabolites in formula- and breastfed infants. *Front Mol Biosci.* 2021;8:660456.
28. Andreas NJ, Kampmann B, Le-Doare KM: Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev.* 2015;91:629-35.
29. He X, Parenti M, Grip T, et al: Fecal microbiome and metabolome of infants fed bovine MFGM supplemented formula or standard formula with breast-fed infants as reference: a randomized controlled trial. *Sci Rep.* 2019;9:11589.
30. Brink LR, Lönnerdal B: Milk fat globule membrane: the role of its various components in infant health and development. *J Nutr Biochem.* 2020;85:108465.
31. Yao Y, Zhou X, Hadiatullah H, Li C, Wang X, Wang S: Effects of human, caprine, and bovine milk fat globules on microbiota adhesion and gut microecology. *J Agric Food Chem.* 2021;69:9778-87.
32. Marrs T, Jo JH, Perkin MR, et al: Gut microbiota development during infancy: Impact of introducing allergenic foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147:613-21.e9.
33. Qasem W, Azad MB, Hossain Z, et al: Assessment of complementary feeding of Canadian infants: effects on microbiome & oxidative stress, a randomized controlled trial. *BMC Pediatr.* 2017;17:54.
34. Mah KW, Sangsupawanich P, Tunyapanit W, et al: Gut microbiota of children living in rural south Thailand and urban Singapore. *Allergol Int.* 2008;57:65-71.
35. Tyakht AV, Kostryukova ES, Popenko AS, et al: Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. *Nat Commun.* 2013;4:2469.
36. Magruder M, Edusei E, Zhang L, et al: Gut commensal microbiota and decreased risk for *Enterobacteriaceae* bacteriuria and urinary tract infection. *Gut Microbes.* 2020;12:1805281.

37. Dickson RP, Singer BH, Newstead MW, et al: Enrichment of the lung microbiome with gut bacteria in sepsis and the acute respiratory distress syndrome. *Nat Microbiol.* 2016;1:16113.
 38. Duong QA, Pittet LF, Curtis N, Zimmermann P: Antibiotic exposure and adverse long-term health outcomes in children: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2022;85:213-300.
-

◆ PART 3:微生物相與疾病 Microbiota in Disease

第六章: 腸道微生物菌相軸與疾病的關聯

Chapter 6: Axes of gut microbiota and diseases

1. Nishida A, Nishino K, Ohno M, Sakai K, Owaki Y, Noda Y, et al. Update on gut microbiota in gastrointestinal diseases. *World J Clin Cases*. 2022;10(22):7653-64.
2. Yang Y, Qu L, Mijakovic I, Wei Y. Advances in the human skin microbiota and its roles in cutaneous diseases. *Microb Cell Fact*. 2022;21(1):176.
3. Ahlawat S, Asha, Sharma KK. Gut-organ axis: a microbial outreach and networking. *Lett Appl Microbiol*. 2021;72(6):636-68.
4. De Pessemier B, Grine L, Debaere M, Maes A, Paetzold B, Callewaert C. Gut-Skin Axis: Current Knowledge of the Interrelationship between Microbial Dysbiosis and Skin Conditions. *Microorganisms*. 2021;9(2).
5. Anselmi G, Gagliardi L, Egidi G, Leone S, Gasbarrini A, Miggiano GAD, et al. Gut Microbiota and Cardiovascular Diseases: A Critical Review. *Cardiol Rev*. 2021;29(4):195-204.
6. Tiwari P, Dwivedi R, Bansal M, Tripathi M, Dada R. Role of Gut Microbiota in Neurological Disorders and Its Therapeutic Significance. *J Clin Med*. 2023;12(4).
7. Zhang D, Li S, Wang N, Tan HY, Zhang Z, Feng Y. The Cross-Talk Between Gut Microbiota and Lungs in Common Lung Diseases. *Front Microbiol*. 2020;11:301.
8. Afzaal M, Saeed F, Shah YA, Hussain M, Rabail R, Socol CT, et al. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. *Front Microbiol*. 2022;13:999001.
9. Shi Q, Dai L, Zhao Q, Zhang X. A review on the effect of gut microbiota on metabolic diseases. *Arch Microbiol*. 2022;204(3):192.
10. Li HY, Zhou DD, Gan RY, Huang SY, Zhao CN, Shang A, et al. Effects and Mechanisms of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics on Metabolic Diseases Targeting Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*. 2021;13(9).
11. Krukowski H, Valkenburg S, Madella AM, Garssen J, van Bergenhenegouwen J,

Overbeek SA, et al. Gut microbiome studies in CKD: opportunities, pitfalls and therapeutic potential. *Nat Rev Nephrol.* 2023;19(2):87-101.

12. Yang L, Li A, Wang Y, Zhang Y. Intratumoral microbiota: roles in cancer initiation, development and therapeutic efficacy. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8(1):35.
-

第七章: 胃微生物相在胃癌發生的組成與可能角色

Chapter 7: Gastric microbiota composition and the potential role in gastric carcinogenesis

1. Nardone G, Compare D: The human gastric microbiota: Is it time to rethink the pathogenesis of stomach diseases? *United European Gastroenterol J* 2015;3:255-60.
2. Yang I, Nell S, Suerbaum S: Survival in hostile territory: the microbiota of the stomach. *FEMS Microbiol Rev* 2013;37:736-61.
3. Liu J, Zhang Y: Intratumor microbiome in cancer progression: current developments, challenges and future trends. *Biomark Res* 2022;10:37.
4. Rajilic-Stojanovic M, Figueiredo C, Smet A, et al: Systematic review: gastric microbiota in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2020;51:582-602.
5. Graham DY: History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20:5191-204.
6. Li M, Shao D, Zhou J, et al: Microbial diversity and composition in six different gastrointestinal sites among participants undergoing upper gastrointestinal endoscopy in Henan, China. *Microbiol Spectr* 2022;10:e0064521.
7. Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, et al: Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *mBio* 2015;6:e00037.
8. Segata N, Haake SK, Mannon P, et al: Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol* 2012;13:R42.
9. Socransky SS, Haffajee AD: Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol*

2000. 2002;28:12-55.
10. Zoetendal EG, Raes J, van den Bogert B, et al: The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *ISME J* 2012;6:1415-26.
 11. Schulz C, Schütte K, Koch N, et al: The active bacterial assemblages of the upper GI tract in individuals with and without *Helicobacter* infection. *Gut* 2018;67:216-25.
 12. World Health Organization: Cancer. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer> Accessed October 30, 2022.
 13. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C: Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *Int J Cancer* 2015;136:487-90.
 14. Liou JM, Malfertheiner P, Lee YC, et al: Screening and eradication of *Helicobacter pylori* for gastric cancer prevention: the Taipei global consensus. *Gut* 2020;69:2093-112.
 15. Amieva MR, El-Omar EM: Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2008;134:306-23.
 16. Kwok T, Zabler D, Urman S, et al: *Helicobacter* exploits integrin for type IV secretion and kinase activation. *Nature* 2007;449:862-6.
 17. Su B, Ceponis PJ, Lebel S, Huynh H, Sherman PM: *Helicobacter pylori* activates Toll-like receptor 4 expression in gastrointestinal epithelial cells. *Infect Immun* 2003;71:3496-502.
 18. Molteni M, Gemma S, Rossetti C: The role of Toll-like receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation. *Mediators Inflamm* 2016;2016:6978936.
 19. Pimentel-Nunes P, Afonso L, Lopes P, et al: Increased expression of Toll-like receptors (TLR) 2, 4 and 5 in gastric dysplasia. *Pathol Oncol Res* 2011;17:677-83.
 20. Lee YC, Chiang TH, Chou CK, et al: Association between *Helicobacter pylori* eradication and gastric cancer incidence: A systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2016;150:1113-24.e5.
 21. Chen HN, Wang Z, Li X, Zhou ZG: *Helicobacter pylori* eradication cannot reduce the risk of gastric cancer in patients with intestinal metaplasia and dysplasia: evidence from a meta-analysis. *Gastric Cancer* 2016;19:166-75.
 22. Akbari M, Tabrizi R, Kardeh S, Lankarani KB: Gastric cancer in patients with gastric atrophy and intestinal metaplasia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*

- 2019;14:e0219865.
23. Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, et al: Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer Causes Control* 2008;19:689-701.
 24. Song JH, Kim YS, Heo NJ, et al: High salt intake is associated with atrophic gastritis with intestinal metaplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017;26:1133-8.
 25. Schulz C, Schütte K, Malfertheiner P: Helicobacter pylori and other gastric microbiota in gastroduodenal pathologies. *Dig Dis* 2016;34:210-6.
 26. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, et al: Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:732-7.
 27. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L: Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2008;3:e2836.
 28. Guo Y, Cao XS, Guo GY, Zhou MG, Yu B: Effect of Helicobacter pylori eradication on human gastric microbiota: A systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:899248.
 29. Correa P, Piazuelo MB: The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis* 2012;13:2-9.
 30. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P: Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1161-81.
 31. Taniyama Y, Katanoda K, Charvat H, et al: Estimation of lifetime cumulative incidence and mortality risk of gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2017;47:1097-102.
 32. Parsons BN, Ijaz UZ, D'Amore R, et al: Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of Helicobacter pylori-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use. *PLoS Pathog* 2017;13:e1006653.
 33. Coker OO, Dai Z, Nie Y, et al: Mucosal microbiome dysbiosis in gastric carcinogenesis. *Gut* 2018;67:1024-32.
 34. Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, et al: Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut* 2018;67:226-36.
 35. Schulz C, Schütte K, Mayerle J, Malfertheiner P: The role of the gastric bacterial microbiome in gastric cancer: Helicobacter pylori and beyond. *Therap Adv*

- Gastroenterol 2019;12:1756284819894062.
36. Guo Y, Zhang Y, Gerhard M, et al: Effect of *Helicobacter pylori* on gastrointestinal microbiota: a population-based study in Linqu, a high-risk area of gastric cancer. *Gut* 2020;69:1598-607.
 37. Lofgren JL, Whary MT, Ge Z, et al: Lack of commensal flora in *Helicobacter pylori*-infected INS-GAS mice reduces gastritis and delays intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology* 2011;140:210-20.
 38. Ohata H, Kitauchi S, Yoshimura N, et al: Progression of chronic atrophic gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection increases risk of gastric cancer. *Int J Cancer* 2004;109:138-43.
 39. Kaźmierczak-Siedlecka K, Daca A, Roviello G, Catalano M, Połom K: Interdisciplinary insights into the link between gut microbiome and gastric carcinogenesis-what is currently known? *Gastric Cancer* 2022;25:1-10.
 40. Singh R, Mishra MK, Aggarwal H: Inflammation, Immunity, and Cancer. *Mediators Inflamm* 2017;2017:6027305.
 41. Sung JJY, Coker OO, Chu E, et al: Gastric microbes associated with gastric inflammation, atrophy and intestinal metaplasia 1 year after *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 2020;69:1572-80.
 42. Rugge M, Correa P, Di Mario F, et al: OLGA staging for gastritis: a tutorial. *Dig Liver Dis.* 2008;40:650-8.
 43. Capelle LG, de Vries AC, Haringsma J, et al: The staging of gastritis with the OLGA system by using intestinal metaplasia as an accurate alternative for atrophic gastritis. *Gastrointest Endosc* 2010;71:1150-8.
 44. Yue H, Shan L, Bin L: The significance of OLGA and OLGIM staging systems in the risk assessment of gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Gastric Cancer* 2018;21:579-87.
 45. Zaramella A, Arcidiacono D, Fassan M, et al: Evolution of the resident microbiota in gastric carcinogenesis. *Dig Liver Di* 2022;54(Suppl 2):S65-6.
 46. Ndegwa N, Ploner A, Liu Z, Roosaar A, Axéll T, Ye W: Association between poor oral health and gastric cancer: A prospective cohort study. *Int J Cancer* 2018;143:2281-8.
 47. Dias-Jácome E, Libânio D, Borges-Canha M, Galaghar A, Pimentel-Nunes P: Gastric

- microbiota and carcinogenesis: the role of non-*Helicobacter pylori* bacteria - A systematic review. *Rev Esp Enferm Dig* 2016;108:530-40.
48. Liu C, Ng SK, Ding Y, et al: Meta-analysis of mucosal microbiota reveals universal microbial signatures and dysbiosis in gastric carcinogenesis. *Oncogene* 2022;41:3599-610.
49. Lee J, Shin S, Lee SB, et al: Microbiome profiling through the various gastrointestinal environment of gastric cancer. *Cancer Res* 2022;82(Suppl 12):A6135.
50. Zhang C, Hu A, Li J, et al: Combined non-invasive prediction and new biomarkers of oral and fecal microbiota in patients with gastric and colorectal cancer. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:830684.
51. Baik SC, Youn HS, Chung MH, et al: Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Cancer Res* 1996;56:1279-82.
52. Buti L, Spooner E, Van der Veen AG, Rappuoli R, Covacci A, Ploegh HL: *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:9238-43.
53. Mommersteeg MC, Yu J, Peppelenbosch MP, Fuhler GM: Genetic host factors in *Helicobacter pylori*-induced carcinogenesis: Emerging new paradigms. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2018;1869:42-52.
54. Basso D, Plebani M: *H. pylori* infection: bacterial virulence factors and cytokine gene polymorphisms as determinants of infection outcome. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004;41:313-37.
55. Engevik MA, Danhof HA, Ruan W, et al: *Fusobacterium nucleatum* secretes outer membrane vesicles and promotes intestinal inflammation. *mBio* 2021;12:e02706-20.
56. Zhang Q, Ma C, Duan Y, et al: Gut microbiome directs hepatocytes to recruit MDSCs and promote cholangiocarcinoma. *Cancer Discov* 2021;11:1248-67.
57. Castaño-Rodríguez N, Kaakoush NO, Mitchell HM: Pattern-recognition receptors and gastric cancer. *Front Immunol* 2014;5:336.
58. Correa P: Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992;52:6735-40.

59. Wang C, Song X, Han Z, Li X, Xu Y, Xiao Y: Monitoring nitric oxide in subcellular compartments by hybrid probe based on rhodamine spirolactam and SNAP-tag. *ACS Chem Biol* 2016;11(7):2033-40.
60. Winter SE, Winter MG, Xavier MN, et al: Host-derived nitrate boosts growth of *E. coli* in the inflamed gut. *Science* 2013;339:708-11.
61. Wang L, Zhou J, Xin Y, et al: Bacterial overgrowth and diversification of microbiota in gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016;28:261-6.
62. Hu YL, Pang W, Huang Y, Zhang Y, Zhang CJ: The gastric microbiome is perturbed in advanced gastric adenocarcinoma identified through shotgun metagenomics. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:433.
63. Vinasco K, Mitchell HM, Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N: Microbial carcinogenesis: Lactic acid bacteria in gastric cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2019;1872:188309.
64. Armstrong CP, Dent DM, Berman P, Aitken RJ: The relationship between gastric carcinoma and gastric juice lactate (L + D) and lactate dehydrogenase. *Am J Gastroenterol* 1984;79:675-8.
65. Larrosa M, Luceri C, Vivoli E, et al: Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. *Mol Nutr Food Res* 2009;53:1044-54.
66. Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, et al: Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:2497-502.
67. Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA: Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil* 2009;21:1239-49.
68. Linsalata M, Russo F, Notarnicola M, et al: Effects of genistein on the polyamine metabolism and cell growth in DLD-1 human colon cancer cells. *Nutr Cancer* 2005;52:84-93.
69. Yang YJ, Sheu BS: Probiotics-containing yogurts suppress *Helicobacter pylori* load and modify immune response and intestinal microbiota in the *Helicobacter pylori*-infected children. *Helicobacter* 2012;17:297-304.
70. Han YM, Park JM, Jeong M, et al: Dietary, non-microbial intervention to prevent

- Helicobacter pylori-associated gastric diseases. *Ann Transl Med* 2015;3:122.
71. Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, et al: Impact of supplement with Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt on triple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1669-75.
 72. Sheu BS, Cheng HC, Kao AW, et al: Pretreatment with Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual Helicobacter pylori infection after failed triple therapy. *Am J Clin Nutr* 2006;83:864-9.
 73. Yuan Z, Xiao S, Li S, et al: The impact of Helicobacter pylori infection, eradication therapy, and probiotics intervention on gastric microbiota in young adults. *Helicobacter* 2021;26:e12848.
 74. Song H, Zhou L, Liu D, Ge L, Li Y: Probiotic effect on Helicobacter pylori attachment and inhibition of inflammation in human gastric epithelial cells. *Exp Ther Med* 2019;18:1551-62.
 75. Ryan KA, O'Hara AM, van Pijkeren JP, Douillard FP, O'Toole PW: Lactobacillus salivarius modulates cytokine induction and virulence factor gene expression in Helicobacter pylori. *J Med Microbiol* 2009;58(Pt 8):996-1005.
 76. Yang YJ, Chuang CC, Yang HB, Lu CC, Sheu BS: Lactobacillus acidophilus ameliorates H. pylori-induced gastric inflammation by inactivating the Smad7 and NFκB pathways. *BMC Microbiol* 2012;12:38.
 77. Lee JS, Paek NS, Kwon OS, Hahm KB: Anti-inflammatory actions of probiotics through activating suppressor of cytokine signaling (SOCS) expression and signaling in Helicobacter pylori infection: A novel mechanism. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:194-202.
 78. Miki K, Urita Y, Ishikawa F, et al: Effect of Bifidobacterium bifidum fermented milk on Helicobacter pylori and serum pepsinogen levels in humans. *J Dairy Sci* 2007;90:2630-40.
-

第八章: 微菌叢與皮膚疾病的關係

Chapter 8: Microbiota and skin diseases

1. Alekseyenko AV, Peez-Perz G, Souza A, et al., Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. *Microbiome* 2013;1(1):31
2. Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. *Microbial pathogenesis* 2014; 71-72:37-40.
3. Nowrouzian FL, Lina G, Hodille E, et al. Superantigens and adhesins of infant gut commensal *Staphylococcus aureus* strains and association with subsequent development of atopic eczema. *Br J Dermatol* 2017;176 (2):439-455.
4. Parodi A, Paolino S, Greco A, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: clinical effectiveness of its eradication. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:759-764.
5. Picardo M, and Ottaviani M. Skin microbiome and skin disease. The example of rosacea. *J Clin Gastroenterol* 2014;48(1):S85-6.
6. Ganju P, Nagpal S, Mohammed MH, et al. Microbial community profiling shows dysbiosis in the lesional skin of Vitiligo subjects. *Sci report* 2016; 6: 18761.
7. Scher JU, Litman D, Abrasom SB. Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68(1):35-45.
8. Fyhrquist H, Murihead G, Prast-Nielsen S, et al., Microbe-host interplay in atopic dermatitis and psoriasis. *Nat Commun* 2019 (10):4703
9. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, et al., Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med.* 2016 Oct;22(10):1187-1191.
10. Bernardes E, Pettersen V, Guierrez M, et al., Intestinal fungi are causally implicated in microbiome assembly and immune development in mice. *Nat Commun* 2020 (11):2577.
11. Chen YJ, Ho HJ, Tseng CH, Lai ZL, Shieh JJ, Wu CY. Intestinal microbiota profiling and predicted metabolic dysregulation in psoriasis patients. *Exp Dermatol* 2018; 27 (12):1336-1343.
12. Chen YJ, Lee WH, Ho HJ, Tseng CH, Wu CY. An altered fecal microbial profiling in rosacea patients compared to matched controls. *J Formos Med Assoc* 2020 May 20;S0929-

6646(20)30172-8

13. Wu CY, Chang YT, Juan CK, et al., Risk of inflammatory bowel disease in patients with rosacea: Results from a nationwide cohort study in Taiwan. *J Am Acad Dermatol* 2017; 76(5):911-917.
14. Chen YJ, Ho HJ, Wu CY, Juan CK, Wu CY. Infantile infection and antibiotic exposure in association with pediatric psoriasis development: a nationwide nested case control study in Taiwan. *J Am Acad Dermatol* 2021; 85(3):626-635.
15. Hoffmann AR. The cutaneous ecosystem: the roles of the skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in humans and animals.
16. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone ZA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102 (31):11070-11075.
17. Turnbaugh PJ, Rey RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444 (7122):1027-1031.
18. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*. 2010 (5975); 328: 228-231.
19. Delzenne NM, Cani PD, Everard A, Neyrinck AM, Bindels LB. Gut microorganisms as promising targets for the management of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2015; 58 (10):2206-2217.
20. Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science*. 2015; 348 (6230): 80-86.
21. Edwards CJ, Costenbader KH. Epigenetics and the microbiome: developing areas in the understanding of the aetiology of lupus. *Lupus*. 2014; 23 (6): 505-506.
22. Brusca SB, Abramson SB, Scher JU. Microbiome and mucosal inflammation as extra-articular triggers for rheumatoid arthritis and autoimmunity. *Curr Opin Rheumatol*. 2014;26 (1): 101-107.
23. Huttenhower C, Kostic AD, Xavier RJ. Inflammatory bowel disease as a model for translating the microbiome. *Immunity*. 2014; 40 (6): 843-854.
24. Rosser EC, Mauri C. A clinical update on the significance of the gut microbiota in systemic autoimmunity. *J Autoimmun*. 2016;74: 85-93.
25. Klaasen HL, Koopman JP, Van den Brink ME, et al., Intestinal, segmented, filamentous bacteria in a wide range of vertebrate species. *Lab Anim* 1993;27:141-150.

26. Talham GL, Jiang HQ, Bos NA, Cebra JJ. Segmented filamentous bacteria are potent stimuli of a physiologically normal state of the murine gut mucosal immune system. *Infet Immun* 1999;67:1992-2000.
27. Atarashi K, Tonoue T, Shima T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011;331:337-41.
28. Gaboriau-Routhiau V, Rakotabe S, Leuyer E, et al., The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses. *Immunity* 2009;31:677-89.
29. Ivanov II, Atarashi K, Manel N, et al, Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 2009;139:485-98.
30. Nouri M, Bredberg A, Westrom B, Lavasani S. Intestinal barrier dysfunction develops at the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis, and can be induced by adoptive transfer of auto-reactive T cells. *PloS one*. 2014;9 (9): e106335.
31. Zakostelska Z, Malkova J, Klimesova K, et al. Intestinal Microbiota Promotes Psoriasis-Like Skin Inflammation by Enhancing Th17 Response. *PloS one*. 2016;11 (7): e0159539.
32. Han J, Meng J, Chen S, Li C. Integrative analysis of the gut microbiota and metabolome in rats treated with rice straw biochar by 16s rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics. *Sci Report* 2019(9):17860.
33. Sun M, Wu W, Chen L, Yang W, Huang X, Ma C, et al., Microbiota-derived short-chain fatty acids promote Th1 cell IL-10 production to maintain intestinal homeostasis. *Nature Communication* 2018;9:3555.
34. Jimenez JA, Uwiera TC, Abbot DW, Uwiera RRE, Inglis GD. Butyrate supplementation at high concentrations alters enteric bacterial communities and reduces intestinal inflammation in mice infected with *Citrobacter rodentium*. *mSphere* 2017;2(4):e00243-17.
35. Nakatsuji T, Hata TR, Tong Y, et al. Development of a human skin commensal microbe for bacteriotherapy of atopic dermatitis and use in a phase 1 randomized clinical trial. *Nat Med*. 2021 Apr;27(4):700-709.
36. Mashiah J, Karady T, Fliss-Isakov N, et al., Clinical efficacy of fecal microbial transplantation treatment in adults with moderate to severe atopic dermatitis. *Immun Inflamm Dis*. 2022 Mar;10(3):e570.

37. Makrgeorgou A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall FJ, et al., Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 Nov 21;11(11):CD006135.
 38. Sodré CS, Vieira MS, Estefan JL, et al., The effect of probiotics on the clinical status of adult patients with atopic dermatitis: a systematic review. *Eur J Med Res.* 2022 Jun 15;27(1):94.
-

第九章：腸道菌在心血管疾病所扮演的角色

Chapter 9: The Role of Gut Microbiota in Cardiovascular Disease

1. Dagenais GR, Leong DP, Rangarajan S, Lanas F, Lopez-Jaramillo P, Gupta R, et al. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet.* 2020;395(10226):785-94.
2. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(1):55-71.
3. Witkowski M, Weeks TL, Hazen SL. Gut Microbiota and Cardiovascular Disease. *Circ Res.* 2020;127(4):553-70.
4. Chakaroun RM, Olsson LM, Backhed F. The potential of tailoring the gut microbiome to prevent and treat cardiometabolic disease. *Nat Rev Cardiol.* 2022.
5. Kim M, Huda MN, Bennett BJ. Sequence meets function-microbiota and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2022;118(2):399-412.
6. Zhang X, Gerard P. Diet-gut microbiota interactions on cardiovascular disease. *Comput Struct Biotechnol J.* 2022;20:1528-40.
7. Jie Z, Xia H, Zhong SL, Feng Q, Li S, Liang S, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Commun.* 2017;8(1):845.
8. Zhu Q, Gao R, Zhang Y, Pan D, Zhu Y, Zhang X, et al. Dysbiosis signatures of gut microbiota in coronary artery disease. *Physiol Genomics.* 2018;50(10):893-903.
9. Sanchez-Alcoholado L, Castellano-Castillo D, Jordan-Martinez L, Moreno-Indias I, Cardila-Cruz P, Elena D, et al. Role of Gut Microbiota on Cardio-Metabolic Parameters

- and Immunity in Coronary Artery Disease Patients with and without Type-2 Diabetes Mellitus. *Front Microbiol.* 2017;8:1936.
10. Talmor-Barkan Y, Bar N, Shaul AA, Shahaf N, Godneva A, Bussi Y, et al. Metabolomic and microbiome profiling reveals personalized risk factors for coronary artery disease. *Nat Med.* 2022;28(2):295-302.
 11. Fromentin S, Forslund SK, Chechi K, Aron-Wisniewsky J, Chakaroun R, Nielsen T, et al. Microbiome and metabolome features of the cardiometabolic disease spectrum. *Nat Med.* 2022;28(2):303-14.
 12. Karlsson FH, Fak F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun.* 2012;3:1245.
 13. Yin J, Liao SX, He Y, Wang S, Xia GH, Liu FT, et al. Dysbiosis of Gut Microbiota With Reduced Trimethylamine-N-Oxide Level in Patients With Large-Artery Atherosclerotic Stroke or Transient Ischemic Attack. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(11).
 14. Li N, Wang X, Sun C, Wu X, Lu M, Si Y, et al. Change of intestinal microbiota in cerebral ischemic stroke patients. *BMC Microbiol.* 2019;19(1):191.
 15. Haak BW, Westendorp WF, van Engelen TSR, Brands X, Brouwer MC, Vermeij JD, et al. Disruptions of Anaerobic Gut Bacteria Are Associated with Stroke and Post-stroke Infection: a Prospective Case-Control Study. *Transl Stroke Res.* 2021;12(4):581-92.
 16. Kasahara K, Krautkramer KA, Org E, Romano KA, Kerby RL, Vivas EI, et al. Interactions between *Roseburia intestinalis* and diet modulate atherogenesis in a murine model. *Nat Microbiol.* 2018;3(12):1461-71.
 17. Munukka E, Rintala A, Toivonen R, Nylund M, Yang B, Takanen A, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* treatment improves hepatic health and reduces adipose tissue inflammation in high-fat fed mice. *ISME J.* 2017;11(7):1667-79.
 18. Tonelli A, Lumngwena EN, Ntusi NAB. The oral microbiome in the pathophysiology of cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2023.
 19. Tuganbaev T, Yoshida K, Honda K. The effects of oral microbiota on health. *Science.* 2022;376(6596):934-6.
 20. Koren O, Spor A, Felin J, Fak F, Stombaugh J, Tremaroli V, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108

Suppl 1(Suppl 1):4592-8.

21. Chhibber-Goel J, Singhal V, Bhowmik D, Vivek R, Parakh N, Bhargava B, et al. Linkages between oral commensal bacteria and atherosclerotic plaques in coronary artery disease patients. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2016;2:7.
22. Brown JM, Hazen SL. The gut microbial endocrine organ: bacterially derived signals driving cardiometabolic diseases. *Annu Rev Med*. 2015;66:343-59.
23. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027-31.
24. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013;341(6150):1241214.
25. O'Donnell JA, Zheng T, Meric G, Marques FZ. The gut microbiome and hypertension. *Nat Rev Nephrol*. 2023;19(3):153-67.
26. Bartolomeaus H, Balogh A, Yakoub M, Homann S, Marko L, Hoges S, et al. Short-Chain Fatty Acid Propionate Protects From Hypertensive Cardiovascular Damage. *Circulation*. 2019;139(11):1407-21.
27. Kenny DJ, Plichta DR, Shungin D, Koppel N, Hall AB, Fu B, et al. Cholesterol Metabolism by Uncultured Human Gut Bacteria Influences Host Cholesterol Level. *Cell Host Microbe*. 2020;28(2):245-57 e6.
28. Krautkramer KA, Fan J, Backhed F. Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(2):77-94.
29. Gentile CL, Weir TL. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science*. 2018;362(6416):776-80.
30. Sanna S, van Zuydam NR, Mahajan A, Kurilshikov A, Vich Vila A, Vosa U, et al. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. *Nat Genet*. 2019;51(4):600-5.
31. Han DS, Wu WK, Liu PY, Yang YT, Hsu HC, Kuo CH, et al. Differences in the gut microbiome and reduced fecal butyrate in elders with low skeletal muscle mass. *Clin Nutr*. 2022;41(7):1491-500.
32. Haghikia A, Zimmermann F, Schumann P, Jasina A, Roessler J, Schmidt D, et al.

- Propionate attenuates atherosclerosis by immune-dependent regulation of intestinal cholesterol metabolism. *Eur Heart J.* 2022;43(6):518-33.
33. Tang WH, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2013;368(17):1575-84.
34. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med.* 2013;19(5):576-85.
35. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, Dugar B, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 2011;472(7341):57-63.
36. Zhu W, Gregory JC, Org E, Buffa JA, Gupta N, Wang Z, et al. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk. *Cell.* 2016;165(1):111-24.
37. Rajakovich LJ, Fu B, Bollenbach M, Balskus EP. Elucidation of an anaerobic pathway for metabolism of l-carnitine-derived gamma-butyrobetaine to trimethylamine in human gut bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(32).
38. Buffa JA, Romano KA, Copeland MF, Cody DB, Zhu W, Galvez R, et al. The microbial gbu gene cluster links cardiovascular disease risk associated with red meat consumption to microbiota L-carnitine catabolism. *Nat Microbiol.* 2022;7(1):73-86.
39. Collins SL, Stine JG, Bisanz JE, Okafor CD, Patterson AD. Bile acids and the gut microbiota: metabolic interactions and impacts on disease. *Nat Rev Microbiol.* 2022.
40. Fuchs CD, Trauner M. Role of bile acids and their receptors in gastrointestinal and hepatic pathophysiology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2022;19(7):432-50.
41. Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, Nagler EV, Glorieux G. The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: a systematic review. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(9):1897-907.
42. Poesen R, Claes K, Evenepoel P, de Loor H, Augustijns P, Kuypers D, et al. Microbiota-Derived Phenylacetylglutamine Associates with Overall Mortality and Cardiovascular Disease in Patients with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(11):3479-87.
43. Hung SC, Kuo KL, Wu CC, Tarng DC. Indoxyl Sulfate: A Novel Cardiovascular Risk Factor

in Chronic Kidney Disease. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(2).

44. Nemet I, Saha PP, Gupta N, Zhu W, Romano KA, Skye SM, et al. A Cardiovascular Disease-Linked Gut Microbial Metabolite Acts via Adrenergic Receptors. *Cell.* 2020;180(5):862-77 e22.
 45. Dekkers KF, Sayols-Baixeras S, Baldanzi G, Nowak C, Hammar U, Nguyen D, et al. An online atlas of human plasma metabolite signatures of gut microbiome composition. *Nat Commun.* 2022;13(1):5370.
-

第十章: 腸菌叢與神經發展疾患

Chapter 10: Gut microbiota and neurodevelopmental disorders

1. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S: Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports* 2016, 6:23129.
2. Jena A, Montoya CA, Mullaney JA, Dilger RN, Young W, McNabb WC, Roy NC: Gut-Brain Axis in the Early Postnatal Years of Life: A Developmental Perspective. *Front Integr Neurosci* 2020, 14:44.
3. Acuna I, Cerdo T, Ruiz A, Torres-Espinola FJ, Lopez-Moreno A, Aguilera M, Suarez A, Campoy C: Infant Gut Microbiota Associated with Fine Motor Skills. *Nutrients* 2021, 13.
4. Borre YE, O'Keeffe GW, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF: Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med* 2014, 20:509-518.
5. Marin O: Developmental timing and critical windows for the treatment of psychiatric disorders. *Nat Med* 2016, 22:1229-1238.
6. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE: Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108 Suppl 1:4578-4585.
7. Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H,

- Zhong H, et al: Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe* 2015, 17:852.
8. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS: How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 2016, 352:539-544.
 9. Vangay P, Ward T, Gerber JS, Knights D: Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. *Cell Host Microbe* 2015, 17:553-564.
 10. Li W, Chen M, Feng X, Song M, Shao M, Yang Y, Zhang L, Liu Q, Lv L, Su X: Maternal immune activation alters adult behavior, intestinal integrity, gut microbiota and the gut inflammation. *Brain Behav* 2021, 11:e02133.
 11. Garay PA, McAllister AK: Novel roles for immune molecules in neural development: implications for neurodevelopmental disorders. *Front Synaptic Neurosci* 2010, 2:136.
 12. Munawar N, Ahsan K, Muhammad K, Ahmad A, Anwar MA, Shah I, Al Ameri AK, Al Mughairbi F: Hidden Role of Gut Microbiome Dysbiosis in Schizophrenia: Antipsychotics or Psychobiotics as Therapeutics? *Int J Mol Sci* 2021, 22.
 13. Lu J, Claud EC: Connection between gut microbiome and brain development in preterm infants. *Dev Psychobiol* 2019, 61:739-751.
 14. In *Neurological, Psychiatric, and Developmental Disorders: Meeting the Challenge in the Developing World*. Washington (DC); 2001
 15. Villagomez AN, Munoz FM, Peterson RL, Colbert AM, Gladstone M, MacDonald B, Wilson R, Fairlie L, Gerner GJ, Patterson J, et al: Neurodevelopmental delay: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 2019, 37:7623-7641.
 16. Klimkeit E, Rinehart N, May T, Bradshaw J: Neurodevelopmental Disorders. In *International Encyclopedia of Public Health (Second Edition)*. Edited by Quah SR. Oxford: Academic Press; 2017: 223-230
 17. Parker A, Fonseca S, Carding SR: Gut microbes and metabolites as modulators of blood-brain barrier integrity and brain health. *Gut Microbes* 2020, 11:135-157.
 18. Cerdó T, Diéguez E, Campoy C: Impact of gut microbiota on neurogenesis and neurological diseases during infancy. *Current Opinion in Pharmacology* 2020, 50:33-37.
 19. Ratsika A, Codagnone MC, O'Mahony S, Stanton C, Cryan JF: Priming for Life: Early Life

- Nutrition and the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Nutrients* 2021, 13:423.
20. Hoen WP, Lijmer JG, Duran M, Wanders RJ, van Beveren NJ, de Haan L: Red blood cell polyunsaturated fatty acids measured in red blood cells and schizophrenia: a meta-analysis. *Psychiatry Res* 2013, 207:1-12.
 21. Duncan ID, Watters JJ: Remyelination and the gut-brain axis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2019, 116:24922-24924.
 22. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, Korecka A, Bakocevic N, Ng LG, Kundu P, et al: The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine* 2014, 6:263ra158-263ra158.
 23. Obermeier B, Daneman R, Ransohoff RM: Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. *Nature Medicine* 2013, 19:1584-1596.
 24. Michel L, Prat A: One more role for the gut: microbiota and blood brain barrier. *Ann Transl Med* 2016, 4:15.
 25. Gage FH: Adult neurogenesis in mammals. *Science* 2019, 364:827-828.
 26. Cosacak MI, Bhattarai P, Kizil C: Alzheimer's disease, neural stem cells and neurogenesis: cellular phase at single-cell level. *Neural Regeneration Research* 2020, 15.
 27. Kempermann G: Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. *Nat Rev Neurosci* 2019, 20:235-245.
 28. Sarubbo F, Cavallucci V, Pani G: The Influence of Gut Microbiota on Neurogenesis: Evidence and Hopes. *Cells* 2022, 11.
 29. Pessa-Morikawa T, Husso A, Kärkkäinen O, Koistinen V, Hanhineva K, Iivanainen A, Niku M: Maternal microbiota-derived metabolic profile in fetal murine intestine, brain and placenta. *BMC Microbiol* 2022, 22:46.
 30. Kaul D, Habel P, Derkow K, Krüger C, Franzoni E, Wulczyn FG, Bereswill S, Nitsch R, Schott E, Veh R, et al: Expression of Toll-like receptors in the developing brain. *PLoS One* 2012, 7:e37767.
 31. Humann J, Mann B, Gao G, Moresco P, Ramahi J, Loh LN, Farr A, Hu Y, Durick-Eder K, Fillon SA, et al: Bacterial Peptidoglycan Traverses the Placenta to Induce Fetal Neuroproliferation and Aberrant Postnatal Behavior. *Cell Host Microbe* 2016, 19:901.
 32. Salvo E, Stokes P, Keogh CE, Brust-Mascher I, Hennessey C, Knotts TA, Sladek JA, Rude

- KM, Swedek M, Rabasa G, Gareau MG: A murine model of pediatric inflammatory bowel disease causes microbiota-gut-brain axis deficits in adulthood. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2020, 319:G361-G374.
33. Allam-Ndoul B, Castonguay-Paradis S, Veilleux A: Gut Microbiota and Intestinal Trans-Epithelial Permeability. *Int J Mol Sci* 2020, 21.
34. Grandi A, Zini I, Palese S, Giorgio C, Tognolini M, Marchesani F, Bruno S, Flammini L, Cantoni AM, Castelli R, et al: Targeting the Eph/Ephrin System as Anti-Inflammatory Strategy in IBD. *Front Pharmacol* 2019, 10:691.
35. D'Arcangelo G: Reelin in the Years: Controlling Neuronal Migration and Maturation in the Mammalian Brain. *Advances in Neuroscience* 2014, 2014:597395.
36. Perez White BE, Getsios S: Eph receptor and ephrin function in breast, gut, and skin epithelia. *Cell Adhesion & Migration* 2014, 8:327-338.
37. Sharon G, Sampson TR, Geschwind DH, Mazmanian SK: The Central Nervous System and the Gut Microbiome. *Cell* 2016, 167:915-932.
38. Williams S, Chen L, Savignac HM, Tzortzis G, Anthony DC, Burnet PW: Neonatal prebiotic (BGOS) supplementation increases the levels of synaptophysin, GluN2A-subunits and BDNF proteins in the adult rat hippocampus. *Synapse* 2016, 70:121-124.
39. Alenina N, Klempin F: The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis. *Behavioural Brain Research* 2015, 277:49-57.
40. O'Mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG, Cryan JF: Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research* 2015, 277:32-48.
41. Ogbonnaya ES, Clarke G, Shanahan F, Dinan TG, Cryan JF, O'Leary OF: Adult Hippocampal Neurogenesis Is Regulated by the Microbiome. *Biol Psychiatry* 2015, 78:e7-9.
42. Möhle L, Mattei D, Heimesaat Markus M, Bereswill S, Fischer A, Alutis M, French T, Hambardzumyan D, Matzinger P, Dunay Ildiko R, Wolf Susanne A: Ly6Chi Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Reports* 2016, 15:1945-1956.
43. Liu C, Yang SY, Wang L, Zhou F: The gut microbiome: implications for neurogenesis and neurological diseases. *Neural Regen Res* 2022, 17:53-58.

44. Yarandi SS, Kulkarni S, Saha M, Sylvia KE, Sears CL, Pasricha PJ: Intestinal Bacteria Maintain Adult Enteric Nervous System and Nitroergic Neurons via Toll-like Receptor 2-induced Neurogenesis in Mice. *Gastroenterology* 2020, 159:200-213.e208.
45. O'Leary OF, Ogbonnaya ES, Felice D, Levone BR, L CC, Fitzgerald P, Bravo JA, Forsythe P, Bienenstock J, Dinan TG, Cryan JF: The vagus nerve modulates BDNF expression and neurogenesis in the hippocampus. *Eur Neuropsychopharmacol* 2018, 28:307-316.
46. Cong X, Henderson WA, Graf J, McGrath JM: Early Life Experience and Gut Microbiome: The Brain-Gut-Microbiota Signaling System. *Adv Neonatal Care* 2015, 15:314-323; quiz E311-312.
47. Dunphy-Doherty F, O'Mahony SM, Peterson VL, O'Sullivan O, Crispie F, Cotter PD, Wigmore P, King MV, Cryan JF, Fone KCF: Post-weaning social isolation of rats leads to long-term disruption of the gut microbiota-immune-brain axis. *Brain Behav Immun* 2018, 68:261-273.
48. Hoban AE, Stilling RM, Ryan FJ, Shanahan F, Dinan TG, Claesson MJ, Clarke G, Cryan JF: Regulation of prefrontal cortex myelination by the microbiota. *Transl Psychiatry* 2016, 6:e774.
49. Lu QR, Sun T, Zhu Z, Ma N, Garcia M, Stiles CD, Rowitch DH: Common developmental requirement for Olig function indicates a motor neuron/oligodendrocyte connection. *Cell* 2002, 109:75-86.
50. Williamson JM, Lyons DA: Myelin Dynamics Throughout Life: An Ever-Changing Landscape? *Front Cell Neurosci* 2018, 12:424.
51. Benes FM: Myelination of cortical-hippocampal relays during late adolescence. *Schizophr Bull* 1989, 15:585-593.
52. Lebel C, Gee M, Camicioli R, Wielar M, Martin W, Beaulieu C: Diffusion tensor imaging of white matter tract evolution over the lifespan. *Neuroimage* 2012, 60:340-352.
53. Almeida RG, Lyons DA: On Myelinated Axon Plasticity and Neuronal Circuit Formation and Function. *J Neurosci* 2017, 37:10023-10034.
54. Kaller MS, Lazari A, Blanco-Duque C, Sampaio-Baptista C, Johansen-Berg H: Myelin plasticity and behaviour—connecting the dots. *Current Opinion in Neurobiology* 2017, 47:86-92.
55. Gacias M, Gaspari S, Santos PM, Tamburini S, Andrade M, Zhang F, Shen N, Tolstikov V,

- Kiebish MA, Dupree JL, et al: Microbiota-driven transcriptional changes in prefrontal cortex override genetic differences in social behavior. *Elife* 2016, 5.
56. Ntranos A, Casaccia P: The Microbiome-Gut-Behavior Axis: Crosstalk Between the Gut Microbiome and Oligodendrocytes Modulates Behavioral Responses. *Neurotherapeutics* 2018, 15:31-35.
57. Machek SB: Mechanisms of sarcopenia: motor unit remodelling and muscle fibre type shifts with ageing. *J Physiol* 2018, 596:3467-3468.
58. Keogh CE, Kim DHJ, Pusceddu MM, Knotts TA, Rabasa G, Sladek JA, Hsieh MT, Honeycutt M, Brust-Mascher I, Barboza M, Gareau MG: Myelin as a regulator of development of the microbiota-gut-brain axis. *Brain Behav Immun* 2021, 91:437-450.
59. Boyle CA, Boulet S, Schieve LA, Cohen RA, Blumberg SJ, Yeargin-Allsopp M, Visser S, Kogan MD: Trends in the prevalence of developmental disabilities in US children, 1997-2008. *Pediatrics* 2011, 127:1034-1042.
60. Diaz Heijtz R, Wang S, Anuar F, Qian Y, Bjorkholm B, Samuelsson A, Hibberd ML, Forsberg H, Pettersson S: Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108:3047-3052.
61. Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney RD, Shanahan F, Dinan TG, Cryan JF: The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry* 2013, 18:666-673.
62. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, Kubo C, Koga Y: Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 2004, 558:263-275.
63. Desbonnet L, Clarke G, Shanahan F, Dinan TG, Cryan JF: Microbiota is essential for social development in the mouse. *Mol Psychiatry* 2014, 19:146-148.
64. Boulanger-Bertolus J, Pancaro C, Mashour GA: Increasing Role of Maternal Immune Activation in Neurodevelopmental Disorders. *Front Behav Neurosci* 2018, 12:230.
65. Guma E, Bordignon PDC, Devenyi GA, Gallino D, Anastassiadis C, Cvetkovska V, Barry AD, Snook E, Germann J, Greenwood CMT, et al: Early or Late Gestational Exposure to Maternal Immune Activation Alters Neurodevelopmental Trajectories in Mice: An Integrated Neuroimaging, Behavioral, and Transcriptional Study. *Biol Psychiatry* 2021, 90:328-341.

66. Madore C, Leyrolle Q, Lacabanne C, Benmamar-Badel A, Joffre C, Nadjar A, Laye S: Neuroinflammation in Autism: Plausible Role of Maternal Inflammation, Dietary Omega 3, and Microbiota. *Neural Plast* 2016, 2016:3597209.
67. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L: Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* 2018, 9:7204-7218.
68. Maguire M, Maguire G: Gut dysbiosis, leaky gut, and intestinal epithelial proliferation in neurological disorders: towards the development of a new therapeutic using amino acids, prebiotics, probiotics, and postbiotics. *Rev Neurosci* 2019, 30:179-201.
69. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turroni F, Mahony J, Belzer C, Delgado Palacio S, Arboleya Montes S, Mancabelli L, et al: The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev* 2017, 81.
70. O'Callaghan A, van Sinderen D: Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota. *Front Microbiol* 2016, 7:925.
71. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, Deng Y, Blennerhassett P, Macri J, McCoy KD, et al: The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 2011, 141:599-609, 609 e591-593.
72. Wasilewska J, Klukowski M: Gastrointestinal symptoms and autism spectrum disorder: links and risks - a possible new overlap syndrome. *Pediatric Health Med Ther* 2015, 6:153-166.
73. Zhang Y, Hodgson NW, Trivedi MS, Abdolmaleky HM, Fournier M, Cuenod M, Do KQ, Deth RC: Decreased Brain Levels of Vitamin B12 in Aging, Autism and Schizophrenia. *PLoS One* 2016, 11:e0146797.
74. Bojovic K, Ignjatovic Eth I, Sokovic Bajic S, Vojnovic Milutinovic D, Tomic M, Golic N, Tolinacki M: Gut Microbiota Dysbiosis Associated With Altered Production of Short Chain Fatty Acids in Children With Neurodevelopmental Disorders. *Front Cell Infect Microbiol* 2020, 10:223.
75. De Angelis M, Piccolo M, Vannini L, Siragusa S, De Giacomo A, Serrazanetti DI, Cristofori F, Guerzoni ME, Gobbetti M, Francavilla R: Fecal microbiota and metabolome

of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS One* 2013, 8:e76993.

76. Gerritsen J, Fuentes S, Grievink W, van Niftrik L, Tindall BJ, Timmerman HM, Rijkers GT, Smidt H: Characterization of *Romboutsia ilealis* gen. nov., sp. nov., isolated from the gastro-intestinal tract of a rat, and proposal for the reclassification of five closely related members of the genus *Clostridium* into the genera *Romboutsia* gen. nov., *Intestinibacter* gen. nov., *Terrisporobacter* gen. nov. and *Asaccharospora* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014, 64:1600-1616.
77. Belenguer A, Duncan SH, Calder AG, Holtrop G, Louis P, Lobley GE, Flint HJ: Two routes of metabolic cross-feeding between *Bifidobacterium adolescentis* and butyrate-producing anaerobes from the human gut. *Appl Environ Microbiol* 2006, 72:3593-3599.
78. Rogers GB, Keating DJ, Young RL, Wong ML, Licinio J, Wesselingh S: From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry* 2016, 21:738-748.
79. Downes J, Munson M, Wade WG: *Dialister invisus* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003, 53:1937-1940.
80. Lacorte E, Gervasi G, Bacigalupo I, Vanacore N, Raucci U, Parisi P: A Systematic Review of the Microbiome in Children With Neurodevelopmental Disorders. *Front Neurol* 2019, 10:727.
81. Yap CX, Henders AK, Alvares GA, Wood DLA, Krause L, Tyson GW, Restuadi R, Wallace L, McLaren T, Hansell NK, et al: Autism-related dietary preferences mediate autism-gut microbiome associations. *Cell* 2021, 184:5916-5931 e5917.
82. Alcock J, Maley CC, Aktipis CA: Is eating behavior manipulated by the gastrointestinal microbiota? Evolutionary pressures and potential mechanisms. *Bioessays* 2014, 36:940-949.
83. de Wouters d'Oplinter A, Rastelli M, Van Hul M, Delzenne NM, Cani PD, Everard A: Gut microbes participate in food preference alterations during obesity. *Gut Microbes* 2021, 13:1959242.
84. Koponen KK, Salosensaari A, Ruuskanen MO, Havulinna AS, Mannisto S, Jousilahti P, Palmu J, Salido R, Sanders K, Brennan C, et al: Associations of healthy food choices

- with gut microbiota profiles. *Am J Clin Nutr* 2021, 114:605-616.
85. Nyangahu DD, Lennard KS, Brown BP, Darby MG, Wendoh JM, Havyarimana E, Smith P, Butcher J, Stintzi A, Mulder N, et al: Disruption of maternal gut microbiota during gestation alters offspring microbiota and immunity. *Microbiome* 2018, 6:124.
86. Di Gesu CM, Matz LM, Buffington SA: Diet-induced dysbiosis of the maternal gut microbiome in early life programming of neurodevelopmental disorders. *Neurosci Res* 2021, 168:3-19.
87. Zeng MY, Inohara N, Nunez G: Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunol* 2017, 10:18-26.
88. Xu M, Xu X, Li J, Li F: Association Between Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Psychiatry* 2019, 10:473.
89. Iovene MR, Bombace F, Maresca R, Sapone A, Iardino P, Picardi A, Marotta R, Schiraldi C, Siniscalco D, Serra N, et al: Intestinal Dysbiosis and Yeast Isolation in Stool of Subjects with Autism Spectrum Disorders. *Mycopathologia* 2017, 182:349-363.
90. Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E, McTeague M, Sandler R, Wexler H, Marlowe EM, et al: Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002, 35:S6-S16.
91. Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL: Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol* 2005, 54:987-991.
92. Bolte ER: Autism and *Clostridium tetani*. *Med Hypotheses* 1998, 51:133-144.
93. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Codelli JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino JF, et al: Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* 2013, 155:1451-1463.
94. Bull G, Shattock P, Whiteley P, Anderson R, Groundwater PW, Lough JW, Lees G: Indolyl-3-acryloylglycine (IAG) is a putative diagnostic urinary marker for autism spectrum disorders. *Med Sci Monit* 2003, 9:CR422-425.
95. Shattock P, Whiteley P: Biochemical aspects in autism spectrum disorders: updating the opioid-excess theory and presenting new opportunities for biomedical intervention. *Expert Opin Ther Targets* 2002, 6:175-183.

96. Finegold SM, Downes J, Summanen PH: Pathogenesis and Toxins Microbiology of Regressive Autism. *Anaerobe* 2012, 18.
97. Finegold SM, Downes J, Summanen PH: Microbiology of regressive autism. *Anaerobe* 2012, 18:260-262.
98. Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, Ostatnikova D: Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behav* 2015, 138:179-187.
99. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI: Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of *Sutterella* species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. *mBio* 2012, 3.
100. Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, Youn E, Summanen PH, Granpeesheh D, Dixon D, et al: Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 2010, 16:444-453.
101. Kang DW, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, Labaer J, Adams JB, Krajmalnik-Brown R: Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One* 2013, 8:e68322.
102. Bezawada N, Phang TH, Hold GL, Hansen R: Autism Spectrum Disorder and the Gut Microbiota in Children: A Systematic Review. *Ann Nutr Metab* 2020, 76:16-29.
103. Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De Felice C, Donati C, Hayek J, Jousson O, Leoncini S, Renzi D, Calabro A, De Filippo C: New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome* 2017, 5:24.
104. Zhang M, Ma W, Zhang J, He Y, Wang J: Analysis of gut microbiota profiles and microbe-disease associations in children with autism spectrum disorders in China. *Sci Rep* 2018, 8:13981.
105. Peng L, Li ZR, Green RS, Holzman IR, Lin J: Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr* 2009, 139:1619-1625.
106. Silva YP, Bernardi A, Frozza RL: The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020, 11:25.
107. Peng L, He Z, Chen W, Holzman IR, Lin J: Effects of butyrate on intestinal barrier

- function in a Caco-2 cell monolayer model of intestinal barrier. *Pediatr Res* 2007, 61:37-41.
108. Ohata A, Usami M, Miyoshi M: Short-chain fatty acids alter tight junction permeability in intestinal monolayer cells via lipoxygenase activation. *Nutrition* 2005, 21:838-847.
109. Nankova BB, Agarwal R, MacFabe DF, La Gamma EF: Enteric bacterial metabolites propionic and butyric acid modulate gene expression, including CREB-dependent catecholaminergic neurotransmission, in PC12 cells--possible relevance to autism spectrum disorders. *PLoS One* 2014, 9:e103740.
110. Fiorentino M, Sapone A, Senger S, Camhi SS, Kadzielski SM, Buie TM, Kelly DL, Cascella N, Fasano A: Blood-brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders. *Mol Autism* 2016, 7:49.
111. Deverman BE, Patterson PH: Cytokines and CNS development. *Neuron* 2009, 64:61-78.
112. Mousa A, Bakhiet M: Role of cytokine signaling during nervous system development. *Int J Mol Sci* 2013, 14:13931-13957.
113. Goines PE, Ashwood P: Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol* 2013, 36:67-81.
114. Hughes HK, Mills Ko E, Rose D, Ashwood P: Immune Dysfunction and Autoimmunity as Pathological Mechanisms in Autism Spectrum Disorders. *Front Cell Neurosci* 2018, 12:405.
115. Rodriguez N, Morer A, Gonzalez-Navarro EA, Serra-Pages C, Boloc D, Torres T, Garcia-Cerro S, Mas S, Gasso P, Lazaro L: Inflammatory dysregulation of monocytes in pediatric patients with obsessive-compulsive disorder. *J Neuroinflammation* 2017, 14:261.
116. Suzuki K, Matsuzaki H, Iwata K, Kamenoy Y, Shimmura C, Kawai S, Yoshihara Y, Wakuda T, Takebayashi K, Takagai S, et al: Plasma cytokine profiles in subjects with high-functioning autism spectrum disorders. *PLoS One* 2011, 6:e20470.
117. Ashwood P, Wakefield AJ: Immune activation of peripheral blood and mucosal CD3+ lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms. *J Neuroimmunol* 2006, 173:126-134.

118. Corbett BA, Kantor AB, Schulman H, Walker WL, Lit L, Ashwood P, Rocke DM, Sharp FR: A proteomic study of serum from children with autism showing differential expression of apolipoproteins and complement proteins. *Mol Psychiatry* 2007, 12:292-306.
119. Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah I, Van de Water J: Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain Behav Immun* 2011, 25:40-45.
120. Tye C, Runicles A, Whitehouse AJO, Alvares GA: Corrigendum: Characterizing the Interplay Between Autism Spectrum Disorder and Comorbid Medical Conditions: An Integrative Review. *Front Psychiatry* 2019, 10:438.
121. Molloy CA, Morrow AL, Meinzen-Derr J, Schleifer K, Dienger K, Manning-Courtney P, Altaye M, Wills-Karp M: Elevated cytokine levels in children with autism spectrum disorder. *J Neuroimmunol* 2006, 172:198-205.
122. Jacome MCI, Chacon, L. M. M., Cuesta, H. V., Rizo, C. M., Santiesteban, M. W., Hernandez, L. R., et al: Peripheral inflammatory Markers Contributing to Comorbidities in Autism. *Behav Sci* 2016, 6.
123. Eftekharian MM, Ghafouri-Fard S, Noroozi R, Omrani MD, Arsang-Jang S, Ganji M, Gharzi V, Noroozi H, Komaki A, Mazdeh M, Taheri M: Cytokine profile in autistic patients. *Cytokine* 2018, 108:120-126.
124. Xie J, Huang L, Li X, Li H, Zhou Y, Zhu H, Pan T, Kendrick KM, Xu W: Immunological cytokine profiling identifies TNF-alpha as a key molecule dysregulated in autistic children. *Oncotarget* 2017, 8:82390-82398.
125. Bilbo SD, Block CL, Bolton JL, Hanamsagar R, Tran PK: Beyond infection - Maternal immune activation by environmental factors, microglial development, and relevance for autism spectrum disorders. *Exp Neurol* 2018, 299:241-251.
126. Croen LA, Braunschweig D, Haapanen L, Yoshida CK, Fireman B, Grether JK, Kharrazi M, Hansen RL, Ashwood P, Van de Water J: Maternal mid-pregnancy autoantibodies to fetal brain protein: the early markers for autism study. *Biol Psychiatry* 2008, 64:583-588.
127. Braunschweig D, Van de Water J: Maternal autoantibodies in autism. *Arch Neurol*

- 2012, 69:693-699.
128. Morgan JT, Chana G, Pardo CA, Achim C, Semendeferi K, Buckwalter J, Courchesne E, Everall IP: Microglial activation and increased microglial density observed in the dorsolateral prefrontal cortex in autism. *Biol Psychiatry* 2010, 68:368-376.
 129. Dipasquale V, Cutrupi MC, Colavita L, Manti S, Cuppari C, Salpietro C: Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorders: Role of High Mobility Group Box 1 Protein. *Int J Mol Cell Med* 2017, 6:148-155.
 130. Eissa N, Sadeq A, Sasse A, Sadek B: Role of Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder and the Emergence of Brain Histaminergic System. Lessons Also for BPSD? *Front Pharmacol* 2020, 11:886.
 131. Wei H, Alberts I, Li X: Brain IL-6 and autism. *Neuroscience* 2013, 252:320-325.
 132. Wei H, Chadman KK, McCloskey DP, Sheikh AM, Malik M, Brown WT, Li X: Brain IL-6 elevation causes neuronal circuitry imbalances and mediates autism-like behaviors. *Biochim Biophys Acta* 2012, 1822:831-842.
 133. Wei H, Zou H, Sheikh AM, Malik M, Dobkin C, Brown WT, Li X: IL-6 is increased in the cerebellum of autistic brain and alters neural cell adhesion, migration and synaptic formation. *J Neuroinflammation* 2011, 8:52.
 134. Prata J, Santos SG, Almeida MI, Coelho R, Barbosa MA: Bridging Autism Spectrum Disorders and Schizophrenia through inflammation and biomarkers - pre-clinical and clinical investigations. *J Neuroinflammation* 2017, 14:179.
 135. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, Sklar P: Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 2005, 57:1313-1323.
 136. Leslie DL, Kozma L, Martin A, Landeros A, Katsovich L, King RA, Leckman JF: Neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection: a case-control study among privately insured children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2008, 47:1166-1172.
 137. Mulligan A, Anney R, Butler L, O'Regan M, Richardson T, Tulewicz EM, Fitzgerald M, Gill M: Home environment: association with hyperactivity/impulsivity in children with ADHD and their non-ADHD siblings. *Child Care Health Dev* 2013, 39:202-212.
 138. Guney E, Cetin, F. H., and Iseri, E.: The Role of Environmental Factors in Etiology of

- Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. In ADHD: New Directions in Diagnosis and Treatment. Edited by Norvilitis JM: InTech; 2015
139. Blum K, Chen AL, Braverman ER, Comings DE, Chen TJ, Arcuri V, Blum SH, Downs BW, Waite RL, Notaro A, et al: Attention-deficit-hyperactivity disorder and reward deficiency syndrome. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2008, 4:893-918.
 140. Wilens TE, Spencer TJ: Understanding attention-deficit/hyperactivity disorder from childhood to adulthood. *Postgrad Med* 2010, 122:97-109.
 141. Fortier ME, Sengupta SM, Grizenko N, Choudhry Z, Thakur G, Joobor R: Genetic evidence for the association of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis with ADHD and methylphenidate treatment response. *Neuromolecular Med* 2013, 15:122-132.
 142. Huo R, Zeng B, Zeng L, Cheng K, Li B, Luo Y, Wang H, Zhou C, Fang L, Li W, et al: Microbiota Modulate Anxiety-Like Behavior and Endocrine Abnormalities in Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *Front Cell Infect Microbiol* 2017, 7:489.
 143. Checa-Ros A, Jerez-Calero A, Molina-Carballo A, Campoy C, Munoz-Hoyos A: Current Evidence on the Role of the Gut Microbiome in ADHD Pathophysiology and Therapeutic Implications. *Nutrients* 2021, 13.
 144. Jiang HY, Zhou YY, Zhou GL, Li YC, Yuan J, Li XH, Ruan B: Gut microbiota profiles in treatment-naïve children with attention deficit hyperactivity disorder. *Behav Brain Res* 2018, 347:408-413.
 145. Prehn-Kristensen A, Zimmermann A, Tittmann L, Lieb W, Schreiber S, Baving L, Fischer A: Reduced microbiome alpha diversity in young patients with ADHD. *PLoS One* 2018, 13:e0200728.
 146. Strandwitz P: Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res* 2018, 1693:128-133.
 147. Chen Y, Xu J, Chen Y: Regulation of Neurotransmitters by the Gut Microbiota and Effects on Cognition in Neurological Disorders. *Nutrients* 2021, 13.
 148. Huang F, Wu X: Brain Neurotransmitter Modulation by Gut Microbiota in Anxiety and Depression. *Front Cell Dev Biol* 2021, 9:649103.
 149. Hiergeist A, Gessner J, Gessner A: Current Limitations for the Assessment of the Role of the Gut Microbiome for Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). *Front*

Psychiatry 2020, 11:623.

150. Aarts E, Ederveen THA, Naaijen J, Zwiers MP, Boekhorst J, Timmerman HM, Smeekens SP, Netea MG, Buitelaar JK, Franke B, et al: Gut microbiome in ADHD and its relation to neural reward anticipation. *PLoS One* 2017, 12:e0183509.
151. Lou HC: Dopamine precursors and brain function in phenylalanine hydroxylase deficiency. *Acta Paediatr Suppl* 1994, 407:86-88.
152. Partty A, Kalliomaki M, Wacklin P, Salminen S, Isolauri E: A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood: a randomized trial. *Pediatr Res* 2015, 77:823-828.
153. Clapp M, Aurora N, Herrera L, Bhatia M, Wilen E, Wakefield S: Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis. *Clin Pract* 2017, 7:987.
154. Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF: Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav* 1996, 54:129-141.
155. Bundgaard-Nielsen C, Knudsen J, Leutscher PDC, Lauritsen MB, Nyegaard M, Hagstrom S, Sorensen S: Gut microbiota profiles of autism spectrum disorder and attention deficit/hyperactivity disorder: A systematic literature review. *Gut Microbes* 2020, 11:1172-1187.
156. Fremont M, Coomans D, Massart S, De Meirleir K: High-throughput 16S rRNA gene sequencing reveals alterations of intestinal microbiota in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome patients. *Anaerobe* 2013, 22:50-56.
157. Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, Sekelja M, Linlokken A, Wilson R, Rudi K: Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil* 2014, 26:1155-1162.
158. Katano Y, Fujinami S, Kawakoshi A, Nakazawa H, Oji S, Iino T, Oguchi A, Ankai A, Fukui S, Terui Y, et al: Complete genome sequence of *Oscillibacter valericigenes* Sjm18-20(T) (=NBRC 101213(T)). *Stand Genomic Sci* 2012, 6:406-414.
159. Franke B, Faraone SV, Asherson P, Buitelaar J, Bau CH, Ramos-Quiroga JA, Mick E, Grevet EH, Johansson S, Haavik J, et al: The genetics of attention deficit/hyperactivity disorder in adults, a review. *Mol Psychiatry* 2012, 17:960-987.
160. Drtilkova I, Sery O, Theiner P, Uhrova A, Zackova M, Balastikova B, Znojil V: Clinical and molecular-genetic markers of ADHD in children. *Neuro Endocrinol Lett* 2008,

29:320-327.

161. Miller AH, Haroon E, Raison CL, Felger JC: Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety* 2013, 30:297-306.
162. Dunn GA, Nigg JT, Sullivan EL: Neuroinflammation as a risk factor for attention deficit hyperactivity disorder. *Pharmacol Biochem Behav* 2019, 182:22-34.
163. Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, Nance DM, Dyck D, Anisman H, Greenberg AH: Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2 and -6. *Brain Res* 1994, 643:40-49.
164. Anisman H, Kokkinidis L, Merali Z: Interleukin-2 decreases accumbal dopamine efflux and responding for rewarding lateral hypothalamic stimulation. *Brain Res* 1996, 731:1-11.
165. Oades RD, Myint AM, Dauvermann MR, Schimmelmann BG, Schwarz MJ: Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) and glial integrity: an exploration of associations of cytokines and kynurenine metabolites with symptoms and attention. *Behav Brain Funct* 2010, 6:32.
166. Anand D, Colpo GD, Zeni G, Zeni CP, Teixeira AL: Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder And Inflammation: What Does Current Knowledge Tell Us? A Systematic Review. *Front Psychiatry* 2017, 8:228.
167. Harry GJ, Kraft AD: Neuroinflammation and microglia: considerations and approaches for neurotoxicity assessment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008, 4:1265-1277.
168. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA: Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Appl Environ Microbiol* 2011, 77:6718-6721.
169. Miyazaki C, Koyama M, Ota E, Swa T, Mlunde LB, Amiya RM, Tachibana Y, Yamamoto-Hanada K, Mori R: Allergic diseases in children with attention deficit hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry* 2017, 17:120.
170. Van Os J KS: Schizophrenia. *Lancet* 2009, 374:635-645.
171. King S, St-Hilaire, A., and Heidkamp, D.: Prenatal Factors in Schizophrenia. *Curr Dir Psychol Sci* 2010, 19.

172. Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG: Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front Physiol* 2011, 2:94.
173. Garakani A, Win T, Virk S, Gupta S, Kaplan D, Masand PS: Comorbidity of irritable bowel syndrome in psychiatric patients: a review. *Am J Ther* 2003, 10:61-67.
174. Shah ED, Riddle MS, Chang C, Pimentel M: Estimating the contribution of acute gastroenteritis to the overall prevalence of irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil* 2012, 18:200-204.
175. Yeh TC, Bai YM, Tsai SJ, Chen TJ, Liang CS, Chen MH: Risks of Major Mental Disorders and Irritable Bowel Syndrome among the Offspring of Parents with Irritable Bowel Syndrome: A Nationwide Study. *Int J Environ Res Public Health* 2021, 18.
176. De Hert M, Dobbelaere M, Sheridan EM, Cohen D, Correll CU: Metabolic and endocrine adverse effects of second-generation antipsychotics in children and adolescents: A systematic review of randomized, placebo controlled trials and guidelines for clinical practice. *Eur Psychiatry* 2011, 26:144-158.
177. Ventriglio A, Gentile A, Stella E, Bellomo A: Metabolic issues in patients affected by schizophrenia: clinical characteristics and medical management. *Front Neurosci* 2015, 9:297.
178. Spangaro M, Mazza E, Poletti S, Cavallaro R, Benedetti F: Obesity influences white matter integrity in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 2018, 97:135-142.
179. Socala K, Doboszewska U, Szopa A, Serefko A, Wlodarczyk M, Zielinska A, Poleszak E, Fichna J, Wlacz P: The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacol Res* 2021, 172:105840.
180. Patrono E, Svoboda J, Stuchlik A: Schizophrenia, the gut microbiota, and new opportunities from optogenetic manipulations of the gut-brain axis. *Behav Brain Funct* 2021, 17:7.
181. Zhu F, Guo R, Wang W, Ju Y, Wang Q, Ma Q, Sun Q, Fan Y, Xie Y, Yang Z, et al: Transplantation of microbiota from drug-free patients with schizophrenia causes schizophrenia-like abnormal behaviors and dysregulated kynurenine metabolism in mice. *Mol Psychiatry* 2020, 25:2905-2918.
182. Zhu F, Ju Y, Wang W, Wang Q, Guo R, Ma Q, Sun Q, Fan Y, Xie Y, Yang Z, et al: Metagenome-wide association of gut microbiome features for schizophrenia. *Nat*

Commun 2020, 11:1612.

183. Castro-Nallar E, Bendall ML, Perez-Losada M, Sabuncyan S, Severance EG, Dickerson FB, Schroeder JR, Yolken RH, Crandall KA: Composition, taxonomy and functional diversity of the oropharynx microbiome in individuals with schizophrenia and controls. PeerJ 2015, 3:e1140.
184. Shen Y, Xu J, Li Z, Huang Y, Yuan Y, Wang J, Zhang M, Hu S, Liang Y: Analysis of gut microbiota diversity and auxiliary diagnosis as a biomarker in patients with schizophrenia: A cross-sectional study. Schizophr Res 2018, 197:470-477.
185. Nguyen TT, Kosciolk T, Eyley LT, Knight R, Jeste DV: Overview and systematic review of studies of microbiome in schizophrenia and bipolar disorder. J Psychiatr Res 2018, 99:50-61.
186. Schwarz E, Maukonen J, Hyytiainen T, Kieseppa T, Oresic M, Sabunciyani S, Mantere O, Saarela M, Yolken R, Suvisaari J: Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response. Schizophr Res 2018, 192:398-403.
187. Zheng P, Zeng B, Liu M, Chen J, Pan J, Han Y, Liu Y, Cheng K, Zhou C, Wang H, et al: The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice. Sci Adv 2019, 5:eaa8317.
188. Olde Loohuis LM, Mangul S, Ori APS, Jospin G, Koslicki D, Yang HT, Wu T, Boks MP, Lomen-Hoerth C, Wiedau-Pazos M, et al: Transcriptome analysis in whole blood reveals increased microbial diversity in schizophrenia. Transl Psychiatry 2018, 8:96.
189. Potgieter M, Bester J, Kell DB, Pretorius E: The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. FEMS Microbiol Rev 2015, 39:567-591.
190. Spadoni I, Zagato E, Bertocchi A, Paolinelli R, Hot E, Di Sabatino A, Caprioli F, Bottiglieri L, Oldani A, Viale G, et al: A gut-vascular barrier controls the systemic dissemination of bacteria. Science 2015, 350:830-834.
191. Desplat-Jego S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson N, Ballot E, Sarles J, Baudon JJ, Grimaud JC, et al: Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic

- inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007, 13:2312-2318.
192. Rodrigues-Amorim D, Rivera-Baltanas T, Regueiro B, Spuch C, de Las Heras ME, Vazquez-Noguerol Mendez R, Nieto-Araujo M, Barreiro-Villar C, Olivares JM, Agis-Balboa RC: The role of the gut microbiota in schizophrenia: Current and future perspectives. *World J Biol Psychiatry* 2018, 19:571-585.
193. Argou-Cardozo I, Zeidan-Chulia F: Clostridium Bacteria and Autism Spectrum Conditions: A Systematic Review and Hypothetical Contribution of Environmental Glyphosate Levels. *Med Sci (Basel)* 2018, 6.
194. Xu R, Wu B, Liang J, He F, Gu W, Li K, Luo Y, Chen J, Gao Y, Wu Z, et al: Altered gut microbiota and mucosal immunity in patients with schizophrenia. *Brain Behav Immun* 2020, 85:120-127.
195. Gubert C, Kong G, Uzungil V, Zeleznikow-Johnston AM, Burrows EL, Renoir T, Hannan AJ: Microbiome Profiling Reveals Gut Dysbiosis in the Metabotropic Glutamate Receptor 5 Knockout Mouse Model of Schizophrenia. *Front Cell Dev Biol* 2020, 8:582320.
196. Cuomo A, Maina G, Rosso G, Beccarini Crescenzi B, Bolognesi S, Di Muro A, Giordano N, Goracci A, Neal SM, Nitti M, et al: The Microbiome: A New Target for Research and Treatment of Schizophrenia and its Resistant Presentations? A Systematic Literature Search and Review. *Front Pharmacol* 2018, 9:1040.
197. Flowers SA, Evans SJ, Ward KM, McInnis MG, Ellingrod VL: Interaction Between Atypical Antipsychotics and the Gut Microbiome in a Bipolar Disease Cohort. *Pharmacotherapy* 2017, 37:261-267.
198. Yuan X, Zhang P, Wang Y, Liu Y, Li X, Kumar BU, Hei G, Lv L, Huang XF, Fan X, Song X: Changes in metabolism and microbiota after 24-week risperidone treatment in drug naive, normal weight patients with first episode schizophrenia. *Schizophr Res* 2018, 201:299-306.
199. Babulas V, Factor-Litvak P, Goetz R, Schaefer CA, Brown AS: Prenatal exposure to maternal genital and reproductive infections and adult schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2006, 163:927-929.
200. Brown AS, Derkits EJ: Prenatal infection and schizophrenia: a review of

- epidemiologic and translational studies. *Am J Psychiatry* 2010, 167:261-280.
201. Yilmaz Y, Gul CB, Arabul M, Eren MA: Helicobacter pylori: a role in schizophrenia? *Med Sci Monit* 2008, 14:HY13-16.
202. Vitale G, Barbaro F, Ianiro G, Cesario V, Gasbarrini G, Franceschi F, Gasbarrini A: Nutritional aspects of Helicobacter pylori infection. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2011, 57:369-377.
203. Brown AS, Schaefer CA, Quesenberry CP, Jr., Liu L, Babulas VP, Susser ES: Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry* 2005, 162:767-773.
204. Maes M, Kanchanatawan B, Sirivichayakul S, Carvalho AF: In Schizophrenia, Increased Plasma IgM/IgA Responses to Gut Commensal Bacteria Are Associated with Negative Symptoms, Neurocognitive Impairments, and the Deficit Phenotype. *Neurotox Res* 2019, 35:684-698.
205. Rowland LM, Summerfelt A, Wijtenburg SA, Du X, Chiappelli JJ, Krishna N, West J, Muellerklein F, Kochunov P, Hong LE: Frontal Glutamate and gamma-Aminobutyric Acid Levels and Their Associations With Mismatch Negativity and Digit Sequencing Task Performance in Schizophrenia. *JAMA Psychiatry* 2016, 73:166-174.
206. Hoftman GD, Dienel SJ, Bazmi HH, Zhang Y, Chen K, Lewis DA: Altered Gradients of Glutamate and Gamma-Aminobutyric Acid Transcripts in the Cortical Visuospatial Working Memory Network in Schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2018, 83:670-679.
207. Kesby JP, Eyles DW, McGrath JJ, Scott JG: Dopamine, psychosis and schizophrenia: the widening gap between basic and clinical neuroscience. *Transl Psychiatry* 2018, 8:30.
208. Maas JW, Contreras SA, Miller AL, Berman N, Bowden CL, Javors MA, Seleshi E, Weintraub S: Studies of catecholamine metabolism in schizophrenia/psychosis--I. *Neuropsychopharmacology* 1993, 8:97-109.
209. Mohler H: The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology* 2012, 62:42-53.
210. Erhardt S, Schwieler L, Imbeault S, Engberg G: The kynurenine pathway in schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropharmacology* 2017, 112:297-306.
211. Plitman E, Iwata Y, Caravaggio F, Nakajima S, Chung JK, Gerretsen P, Kim J, Takeuchi

- H, Chakravarty MM, Remington G, Graff-Guerrero A: Kynurenic Acid in Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr Bull* 2017, 43:764-777.
212. Muneer A: Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism in Neuropsychiatric Disorders: Pathophysiologic and Therapeutic Considerations. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 2020, 18:507-526.
213. Fasano A: Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2012, 1258:25-33.
214. Alhasson F, Das S, Seth R, Dattaroy D, Chandrashekar V, Ryan CN, Chan LS, Testerman T, Burch J, Hofseth LJ, et al: Altered gut microbiome in a mouse model of Gulf War Illness causes neuroinflammation and intestinal injury via leaky gut and TLR4 activation. *PLoS One* 2017, 12:e0172914.
215. Yuan X, Kang Y, Zhuo C, Huang XF, Song X: The gut microbiota promotes the pathogenesis of schizophrenia via multiple pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2019, 512:373-380.
216. Macfabe DF: Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol Health Dis* 2012, 23.
217. Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijs I, Eeckhaut V, Ballet V, Claes K, Van Immerseel F, Verbeke K, et al: A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2014, 63:1275-1283.
218. Oleskin AV, Shenderov BA: Neuromodulatory effects and targets of the SCFAs and gasotransmitters produced by the human symbiotic microbiota. *Microb Ecol Health Dis* 2016, 27:30971.
219. Kahn RS, Sommer IE, Murray RM, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR, Cannon TD, O'Donovan M, Correll CU, Kane JM, van Os J, Insel TR: Schizophrenia. *Nat Rev Dis Primers* 2015, 1:15067.
220. Comer AL, Carrier M, Tremblay ME, Cruz-Martin A: The Inflamed Brain in Schizophrenia: The Convergence of Genetic and Environmental Risk Factors That Lead to Uncontrolled Neuroinflammation. *Front Cell Neurosci* 2020, 14:274.
221. Altamura AC, Pozzoli S, Fiorentini A, Dell'osso B: Neurodevelopment and inflammatory patterns in schizophrenia in relation to pathophysiology. *Prog*

- Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2013, 42:63-70.
222. Na KS, Jung HY, Kim YK: The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014, 48:277-286.
223. Shi J, Levinson DF, Duan J, Sanders AR, Zheng Y, Pe'er I, Dudbridge F, Holmans PA, Whittemore AS, Mowry BJ, et al: Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 2009, 460:753-757.
224. Sekar A, Bialas AR, de Rivera H, Davis A, Hammond TR, Kamitaki N, Tooley K, Presumey J, Baum M, Van Doren V, et al: Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature* 2016, 530:177-183.
225. Xu M, He L: Convergent evidence shows a positive association of interleukin-1 gene complex locus with susceptibility to schizophrenia in the Caucasian population. *Schizophr Res* 2010, 120:131-142.
226. Gao L, Li Z, Chang S, Wang J: Association of interleukin-10 polymorphisms with schizophrenia: a meta-analysis. *PLoS One* 2014, 9:e90407.
227. Shibuya M, Watanabe Y, Nunokawa A, Egawa J, Kaneko N, Igeta H, Someya T: Interleukin 1 beta gene and risk of schizophrenia: detailed case-control and family-based studies and an updated meta-analysis. *Hum Psychopharmacol* 2014, 29:31-37.
228. Hudson ZD, Miller BJ: Meta-Analysis of Cytokine and Chemokine Genes in Schizophrenia. *Clin Schizophr Relat Psychoses* 2018, 12:121-129B.
229. Qin H, Zhang L, Xu G, Pan X: Lack of association between TNFalpha rs1800629 polymorphism and schizophrenia risk: a meta-analysis. *Psychiatry Res* 2013, 209:314-319.
230. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics C: Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 2014, 511:421-427.
231. Katsel P, Davis KL, Haroutunian V: Variations in myelin and oligodendrocyte-related gene expression across multiple brain regions in schizophrenia: a gene ontology study. *Schizophr Res* 2005, 79:157-173.
232. Printz DJ, Strauss DH, Goetz R, Sadiq S, Malaspina D, Krolewski J, Gorman JM: Elevation of CD5+ B lymphocytes in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1999, 46:110-118.
233. Steiner J, Jacobs R, Panteli B, Brauner M, Schiltz K, Bahn S, Herberth M, Westphal S,

- Gos T, Walter M, et al: Acute schizophrenia is accompanied by reduced T cell and increased B cell immunity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2010, 260:509-518.
234. Birnbaum R, Weinberger DR: Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 2017, 18:727-740.
235. Ligthart S, Vaez A, Vosa U, Stathopoulou MG, de Vries PS, Prins BP, Van der Most PJ, Tanaka T, Naderi E, Rose LM, et al: Genome Analyses of >200,000 Individuals Identify 58 Loci for Chronic Inflammation and Highlight Pathways that Link Inflammation and Complex Disorders. *Am J Hum Genet* 2018, 103:691-706.
236. Prins BP, Abbasi A, Wong A, Vaez A, Nolte I, Franceschini N, Stuart PE, Guterriez Achury J, Mistry V, Bradfield JP, et al: Investigating the Causal Relationship of C-Reactive Protein with 32 Complex Somatic and Psychiatric Outcomes: A Large-Scale Cross-Consortium Mendelian Randomization Study. *PLoS Med* 2016, 13:e1001976.
237. Gaughran F, O'Neill E, Cole M, Collins K, Daly RJ, Shanahan F: Increased soluble interleukin 2 receptor levels in schizophrenia. *Schizophr Res* 1998, 29:263-267.
238. Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehalow AK, Huberman AD, Stafford B, et al: The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell* 2007, 131:1164-1178.
239. Schafer DP, Lehrman EK, Kautzman AG, Koyama R, Mardinly AR, Yamasaki R, Ransohoff RM, Greenberg ME, Barres BA, Stevens B: Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron* 2012, 74:691-705.
240. Kamitaki N, Sekar A, Handsaker RE, de Rivera H, Tooley K, Morris DL, Taylor KE, Whelan CW, Tomblason P, Loohuis LMO, et al: Complement genes contribute sex-biased vulnerability in diverse disorders. *Nature* 2020, 582:577-581.
241. Cooper JD, Ozcan S, Gardner RM, Rustogi N, Wicks S, van Rees GF, Leweke FM, Dalman C, Karlsson H, Bahn S: Schizophrenia-risk and urban birth are associated with proteomic changes in neonatal dried blood spots. *Transl Psychiatry* 2017, 7:1290.
242. Kraus DM, Elliott GS, Chute H, Horan T, Pfenninger KH, Sanford SD, Foster S, Scully S, Welcher AA, Holers VM: CSMD1 is a novel multiple domain complement-regulatory protein highly expressed in the central nervous system and epithelial tissues. *J Immunol* 2006, 176:4419-4430.
243. Athanasiu L, Giddaluru S, Fernandes C, Christoforou A, Reinvang I, Lundervold AJ,

- Nilsson LG, Kauppi K, Adolfsson R, Eriksson E, et al: A genetic association study of CSMD1 and CSMD2 with cognitive function. *Brain Behav Immun* 2017, 61:209-216.
244. Li X, Zhang W, Lencz T, Darvasi A, Alkelai A, Lerer B, Jiang HY, Zhang DF, Yu L, Xu XF, et al: Common variants of IRF3 conferring risk of schizophrenia. *J Psychiatr Res* 2015, 64:67-73.
245. Paul-Samojedny M, Owczarek A, Suchanek R, Kowalczyk M, Fila-Danilow A, Borkowska P, Kucia K, Kowalski J: Association study of interferon gamma (IFN-gamma) +874T/A gene polymorphism in patients with paranoid schizophrenia. *J Mol Neurosci* 2011, 43:309-315.
246. Katila H, Hanninen K, Hurme M: Polymorphisms of the interleukin-1 gene complex in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 1999, 4:179-181.
247. Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Iijima Y, Tatsumi M, Higuchi T, Amano N, Kunugi H: Possible association between interleukin-1beta gene and schizophrenia in a Japanese population. *Behav Brain Funct* 2011, 7:35.
248. Kalmady SV, Venkatasubramanian G, Shivakumar V, Gautham S, Subramaniam A, Jose DA, Maitra A, Ravi V, Gangadhar BN: Relationship between Interleukin-6 gene polymorphism and hippocampal volume in antipsychotic-naive schizophrenia: evidence for differential susceptibility? *PLoS One* 2014, 9:e96021.
249. Frydecka D, Misiak B, Pawlak-Adamska E, Karabon L, Tomkiewicz A, Sedlaczek P, Kiejna A, Beszlej JA: Interleukin-6: the missing element of the neurocognitive deterioration in schizophrenia? The focus on genetic underpinnings, cognitive impairment and clinical manifestation. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2015, 265:449-459.
250. Kroken RA, Sommer IE, Steen VM, Dieset I, Johnsen E: Constructing the Immune Signature of Schizophrenia for Clinical Use and Research; An Integrative Review Translating Descriptives Into Diagnostics. *Front Psychiatry* 2018, 9:753.
251. Mallard C: Innate immune regulation by toll-like receptors in the brain. *ISRN Neurol* 2012, 2012:701950.
252. Chen CY, Shih YC, Hung YF, Hsueh YP: Beyond defense: regulation of neuronal morphogenesis and brain functions via Toll-like receptors. *J Biomed Sci* 2019, 26:90.
253. Barak B, Feldman N, Okun E: Toll-like receptors as developmental tools that regulate

- neurogenesis during development: an update. *Front Neurosci* 2014, 8:272.
254. Garcia-Bueno B, Gasso P, MacDowell KS, Callado LF, Mas S, Bernardo M, Lafuente A, Meana JJ, Leza JC: Evidence of activation of the Toll-like receptor-4 proinflammatory pathway in patients with schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci* 2016, 41:E46-55.
255. MacDowell KS, Pinacho R, Leza JC, Costa J, Ramos B, Garcia-Bueno B: Differential regulation of the TLR4 signalling pathway in post-mortem prefrontal cortex and cerebellum in chronic schizophrenia: Relationship with SP transcription factors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2017, 79:481-492.
256. St Clair D, Blackwood D, Muir W, Carothers A, Walker M, Spowart G, Gosden C, Evans HJ: Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness. *Lancet* 1990, 336:13-16.
257. Chubb JE, Bradshaw NJ, Soares DC, Porteous DJ, Millar JK: The DISC locus in psychiatric illness. *Mol Psychiatry* 2008, 13:36-64.
258. Brandon NJ, Millar JK, Korth C, Sive H, Singh KK, Sawa A: Understanding the role of DISC1 in psychiatric disease and during normal development. *J Neurosci* 2009, 29:12768-12775.
259. Trepanier MO, Hopperton KE, Mizrahi R, Mechawar N, Bazinet RP: Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: a systematic review. *Mol Psychiatry* 2016, 21:1009-1026.
260. van Kesteren CF, Gremmels H, de Witte LD, Hol EM, Van Gool AR, Falkai PG, Kahn RS, Sommer IE: Immune involvement in the pathogenesis of schizophrenia: a meta-analysis on postmortem brain studies. *Transl Psychiatry* 2017, 7:e1075.
261. Winter C, Djodari-Irani A, Sohr R, Morgenstern R, Feldon J, Juckel G, Meyer U: Prenatal immune activation leads to multiple changes in basal neurotransmitter levels in the adult brain: implications for brain disorders of neurodevelopmental origin such as schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009, 12:513-524.
262. Katz-Barber MW, Hollins SL, Cuskelly A, Leong AJW, Dunn A, Harms L, Hodgson DM: Investigating the gut-brain axis in a neurodevelopmental rodent model of schizophrenia. *Brain Behav Immun Health* 2020, 3:100048.
263. Brown AS, Cohen P, Greenwald S, Susser E: Nonaffective psychosis after prenatal exposure to rubella. *Am J Psychiatry* 2000, 157:438-443.

264. Benros ME, Nielsen PR, Nordentoft M, Eaton WW, Dalton SO, Mortensen PB: Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia: a 30-year population-based register study. *Am J Psychiatry* 2011, 168:1303-1310.
265. Pearce BD: Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a focus on mechanisms. *Mol Psychiatry* 2001, 6:634-646.
266. Brown AS, Begg MD, Gravenstein S, Schaefer CA, Wyatt RJ, Bresnahan M, Babulas VP, Susser ES: Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2004, 61:774-780.
267. Buka SL, Cannon TD, Torrey EF, Yolken RH, Collaborative Study Group on the Perinatal Origins of Severe Psychiatric D: Maternal exposure to herpes simplex virus and risk of psychosis among adult offspring. *Biol Psychiatry* 2008, 63:809-815.
268. Sorensen HJ, Mortensen EL, Reinisch JM, Mednick SA: Association between prenatal exposure to bacterial infection and risk of schizophrenia. *Schizophr Bull* 2009, 35:631-637.
269. Gattaz WF, Abrahao AL, Foccacia R: Childhood meningitis, brain maturation and the risk of psychosis. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2004, 254:23-26.
270. Dalman C, Allebeck P, Gunnell D, Harrison G, Kristensson K, Lewis G, Lofving S, Rasmussen F, Wicks S, Karlsson H: Infections in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one million Swedish subjects. *Am J Psychiatry* 2008, 165:59-65.
271. Fineberg AM, Ellman LM: Inflammatory cytokines and neurological and neurocognitive alterations in the course of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2013, 73:951-966.
272. Muller N, Schwarz MJ: Neuroimmune-endocrine crosstalk in schizophrenia and mood disorders. *Expert Rev Neurother* 2006, 6:1017-1038.
273. Ellman LM, Deicken RF, Vinogradov S, Kremen WS, Poole JH, Kern DM, Tsai WY, Schaefer CA, Brown AS: Structural brain alterations in schizophrenia following fetal exposure to the inflammatory cytokine interleukin-8. *Schizophr Res* 2010, 121:46-54.
274. Meisenzahl EM, Rujescu D, Kirner A, Giegling I, Kathmann N, Leinsinger G, Maag K, Hegerl U, Hahn K, Moller HJ: Association of an interleukin-1beta genetic polymorphism with altered brain structure in patients with schizophrenia. *Am J*

- Psychiatry 2001, 158:1316-1319.
275. Wu D, Lv P, Li F, Zhang W, Fu G, Dai J, Hu N, Liu J, Xiao Y, Li S, et al: Association of peripheral cytokine levels with cerebral structural abnormalities in schizophrenia. *Brain Res* 2019, 1724:146463.
276. Zhou D, Kusnecov AW, Shurin MR, DePaoli M, Rabin BS: Exposure to physical and psychological stressors elevates plasma interleukin 6: relationship to the activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology* 1993, 133:2523-2530.
277. Jarskog LF, Xiao H, Wilkie MB, Lauder JM, Gilmore JH: Cytokine regulation of embryonic rat dopamine and serotonin neuronal survival in vitro. *Int J Dev Neurosci* 1997, 15:711-716.
278. Kabiersch A, Furukawa H, del Rey A, Besedovsky HO: Administration of interleukin-1 at birth affects dopaminergic neurons in adult mice. *Ann N Y Acad Sci* 1998, 840:123-127.
279. Potter ED, Ling ZD, Carvey PM: Cytokine-induced conversion of mesencephalic-derived progenitor cells into dopamine neurons. *Cell Tissue Res* 1999, 296:235-246.
280. Khandaker GM, Pearson RM, Zammit S, Lewis G, Jones PB: Association of serum interleukin 6 and C-reactive protein in childhood with depression and psychosis in young adult life: a population-based longitudinal study. *JAMA Psychiatry* 2014, 71:1121-1128.
281. Choi GB, Yim YS, Wong H, Kim S, Kim H, Kim SV, Hoeffler CA, Littman DR, Huh JR: The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science* 2016, 351:933-939.
282. Smith SE, Li J, Garbett K, Mirnics K, Patterson PH: Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6. *J Neurosci* 2007, 27:10695-10702.
283. Miller B, A. Mellor, and P. F. Buckley. : Interleukin-6 and cognition in non-affective psychosis. *Schizophr Bull* 2013, 39:242-243.
284. Misiak B, Stanczykiewicz B, Kotowicz K, Rybakowski JK, Samochowiec J, Frydecka D: Cytokines and C-reactive protein alterations with respect to cognitive impairment in schizophrenia and bipolar disorder: A systematic review. *Schizophr Res* 2018, 192:16-29.
285. Carrizo E, Fernandez V, Quintero J, Connell L, Rodriguez Z, Mosquera M, Acosta A,

- Baptista T: Coagulation and inflammation markers during atypical or typical antipsychotic treatment in schizophrenia patients and drug-free first-degree relatives. *Schizophr Res* 2008, 103:83-93.
286. Fawzi MH, Fawzi MM, Fawzi MM, Said NS: C-reactive protein serum level in drug-free male Egyptian patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2011, 190:91-97.
287. Kelly CW, McEvoy JP, Miller BJ: Total and differential white blood cell counts, inflammatory markers, adipokines, and incident metabolic syndrome in phase 1 of the clinical antipsychotic trials of intervention effectiveness study. *Schizophr Res* 2019, 209:193-197.
288. Vuksan-Cusa B, Sagud M, Jakovljevic M: C-reactive protein and metabolic syndrome in patients with bipolar disorder compared to patients with schizophrenia. *Psychiatr Danub* 2010, 22:275-277.
289. Boyer L, Richieri R, Dassa D, Boucekine M, Fernandez J, Vaillant F, Padovani R, Auquier P, Lancon C: Association of metabolic syndrome and inflammation with neurocognition in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2013, 210:381-386.
290. Zhang J, Luo W, Huang P, Peng L, Huang Q: Maternal C-reactive protein and cytokine levels during pregnancy and the risk of selected neuropsychiatric disorders in offspring: A systematic review and meta-analysis. *J Psychiatr Res* 2018, 105:86-94.
291. Miller B, and Essali, N.: O10.5 Meta-Analysis of Cytokine Levels and Psychopathology in Schizophrenia. *Schizophr Bull* 2019, 45:191-192.
292. Perkins DO, Jeffries CD, Addington J, Bearden CE, Cadenhead KS, Cannon TD, Cornblatt BA, Mathalon DH, McGlashan TH, Seidman LJ, et al: Towards a psychosis risk blood diagnostic for persons experiencing high-risk symptoms: preliminary results from the NAPLS project. *Schizophr Bull* 2015, 41:419-428.
293. Delaney S, Fallon B, Alaedini A, Yolken R, Indart A, Feng T, Wang Y, Javitt D: Inflammatory biomarkers in psychosis and clinical high risk populations. *Schizophr Res* 2019, 206:440-443.
294. Park S, Miller BJ: Meta-analysis of cytokine and C-reactive protein levels in high-risk psychosis. *Schizophr Res* 2020, 226:5-12.
295. Focking M, Dicker P, Lopez LM, Cannon M, Schafer MR, McGorry PD, Smesny S, Cotter DR, Amminger GP: Differential expression of the inflammation marker IL12p40

- in the at-risk mental state for psychosis: a predictor of transition to psychotic disorder?
BMC Psychiatry 2016, 16:326.
296. Lesh TA, Careaga M, Rose DR, McAllister AK, Van de Water J, Carter CS, Ashwood P: Cytokine alterations in first-episode schizophrenia and bipolar disorder: relationships to brain structure and symptoms. J Neuroinflammation 2018, 15:165.
297. Goldsmith DR, Rapaport MH, Miller BJ: A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. Mol Psychiatry 2016, 21:1696-1709.
298. Zeni-Graiff M, Rizzo LB, Mansur RB, Maurya PK, Sethi S, Cunha GR, Asevedo E, Pan P, Zugman A, Yamagata AS, et al: Peripheral immuno-inflammatory abnormalities in ultra-high risk of developing psychosis. Schizophr Res 2016, 176:191-195.
299. Goldsmith DR, Haroon E, Miller AH, Addington J, Bearden C, Cadenhead K, Cannon T, Cornblatt B, Mathalon D, McGlashan T, et al: Association of baseline inflammatory markers and the development of negative symptoms in individuals at clinical high risk for psychosis. Brain Behav Immun 2019, 76:268-274.
300. Fraguas D, Diaz-Caneja CM, Ayora M, Hernandez-Alvarez F, Rodriguez-Quiroga A, Recio S, Leza JC, Arango C: Oxidative Stress and Inflammation in First-Episode Psychosis: A Systematic Review and Meta-analysis. Schizophr Bull 2019, 45:742-751.
301. Upthegrove R, Manzanares-Teson N, Barnes NM: Cytokine function in medication-naive first episode psychosis: a systematic review and meta-analysis. Schizophr Res 2014, 155:101-108.
302. Black C, Miller BJ: Meta-Analysis of Cytokines and Chemokines in Suicidality: Distinguishing Suicidal Versus Nonsuicidal Patients. Biol Psychiatry 2015, 78:28-37.
303. Steiner J, Bielau H, Brisch R, Danos P, Ullrich O, Mawrin C, Bernstein HG, Bogerts B: Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. J Psychiatr Res 2008, 42:151-157.
304. Horsdal HT, Agerbo E, McGrath JJ, Vilhjalmsjon BJ, Antonsen S, Closter AM, Timmermann A, Grove J, Mok PLH, Webb RT, et al: Association of Childhood Exposure to Nitrogen Dioxide and Polygenic Risk Score for Schizophrenia With the Risk of Developing Schizophrenia. JAMA Netw Open 2019, 2:e1914401.

305. Peters A, Veronesi B, Calderon-Garciduenas L, Gehr P, Chen LC, Geiser M, Reed W, Rothen-Rutishauser B, Schurch S, Schulz H: Translocation and potential neurological effects of fine and ultrafine particles a critical update. *Part Fibre Toxicol* 2006, 3:13.
306. Genc S, Zadeoglulari Z, Fuss SH, Genc K: The adverse effects of air pollution on the nervous system. *J Toxicol* 2012, 2012:782462.
307. Calderon-Garciduenas L, Franco-Lira M, D'Angiulli A, Rodriguez-Diaz J, Blaurock-Busch E, Busch Y, Chao CK, Thompson C, Mukherjee PS, Torres-Jardon R, Perry G: Mexico City normal weight children exposed to high concentrations of ambient PM2.5 show high blood leptin and endothelin-1, vitamin D deficiency, and food reward hormone dysregulation versus low pollution controls. Relevance for obesity and Alzheimer disease. *Environ Res* 2015, 140:579-592.
308. Calderon-Garciduenas L, Solt AC, Henriquez-Roldan C, Torres-Jardon R, Nuse B, Herritt L, Villarreal-Calderon R, Osnaya N, Stone I, Garcia R, et al: Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered innate immune response, disruption of the blood-brain barrier, ultrafine particulate deposition, and accumulation of amyloid beta-42 and alpha-synuclein in children and young adults. *Toxicol Pathol* 2008, 36:289-310.
309. Gruzieva O, Merid SK, Gref A, Gajulapuri A, Lemonnier N, Ballereau S, Gigante B, Kere J, Auffray C, Melen E, Pershagen G: Exposure to Traffic-Related Air Pollution and Serum Inflammatory Cytokines in Children. *Environ Health Perspect* 2017, 125:067007.
310. Pope CA, 3rd, Bhatnagar A, McCracken JP, Abplanalp W, Conklin DJ, O'Toole T: Exposure to Fine Particulate Air Pollution Is Associated With Endothelial Injury and Systemic Inflammation. *Circ Res* 2016, 119:1204-1214.
311. Bos I, De Boever P, Emmerechts J, Buekers J, Vanoirbeek J, Meeusen R, Van Poppel M, Nemery B, Nawrot T, Panis LI: Changed gene expression in brains of mice exposed to traffic in a highway tunnel. *Inhal Toxicol* 2012, 24:676-686.
312. Woodward NC, Levine MC, Haghani A, Shirmohammadi F, Saffari A, Sioutas C, Morgan TE, Finch CE: Toll-like receptor 4 in glial inflammatory responses to air pollution in vitro and in vivo. *J Neuroinflammation* 2017, 14:84.
313. Bolton JL, Smith SH, Huff NC, Gilmour MI, Foster WM, Auten RL, Bilbo SD: Prenatal air pollution exposure induces neuroinflammation and predisposes offspring to

- weight gain in adulthood in a sex-specific manner. *FASEB J* 2012, 26:4743-4754.
314. Bolton JL, Huff NC, Smith SH, Mason SN, Foster WM, Auten RL, Bilbo SD: Maternal stress and effects of prenatal air pollution on offspring mental health outcomes in mice. *Environ Health Perspect* 2013, 121:1075-1082.
315. Bolton JL, Marinero S, Hassanzadeh T, Natesan D, Le D, Belliveau C, Mason SN, Auten RL, Bilbo SD: Gestational Exposure to Air Pollution Alters Cortical Volume, Microglial Morphology, and Microglia-Neuron Interactions in a Sex-Specific Manner. *Front Synaptic Neurosci* 2017, 9:10.
316. Gruol DL: IL-6 regulation of synaptic function in the CNS. *Neuropharmacology* 2015, 96:42-54.
317. Girgis RR, Kumar SS, Brown AS: The cytokine model of schizophrenia: emerging therapeutic strategies. *Biol Psychiatry* 2014, 75:292-299.
318. Jeste SS: Neurodevelopmental behavioral and cognitive disorders. *Continuum (Minneapolis Minn)* 2015, 21:690-714.
319. Santiago PB, Charneau S, Mandacaru SC, Bentes K, Bastos IMD, de Sousa MV, Ricart CAO, de Araújo CN, Santana JM: Proteomic Mapping of Multifunctional Complexes Within Triatomine Saliva. *Front Cell Infect Microbiol* 2020, 10:459.
320. Gilbert Jack A, Krajmalnik-Brown R, Porazinska Dorota L, Weiss Sophie J, Knight R: Toward Effective Probiotics for Autism and Other Neurodevelopmental Disorders. *Cell* 2013, 155:1446-1448.
321. Hsiao Elaine Y, McBride Sara W, Hsien S, Sharon G, Hyde Embriette R, McCue T, Codelli Julian A, Chow J, Reisman Sarah E, Petrosino Joseph F, et al: Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Cell* 2013, 155:1451-1463.
322. Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC: Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *J Nutr* 2011, 141:769-776.
323. Dicksved J, Schreiber O, Willing B, Petersson J, Rang S, Phillipson M, Holm L, Roos S: *Lactobacillus reuteri* maintains a functional mucosal barrier during DSS treatment despite mucus layer dysfunction. *PLoS One* 2012, 7:e46399.
324. Rao AV, Bested AC, Beaulne TM, Katzman MA, Iorio C, Berardi JM, Logan AC: A

- randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens* 2009, 1:6.
325. Aroniadis OC, Brandt LJ: Fecal microbiota transplantation: past, present and future. *Current Opinion in Gastroenterology* 2013, 29.
326. Huang HF, Zeng Z, Wang KH, Zhang HY, Wang S, Zhou WX, Wang ZB, Xu WG, Duan J: Heme oxygenase-1 protects rat liver against warm ischemia/reperfusion injury via TLR2/TLR4-triggered signaling pathways. *World J Gastroenterol* 2015, 21:2937-2948.
327. Kang DW, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, Khoruts A, Geis E, Maldonado J, McDonough-Means S, et al: Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome* 2017, 5:10.
328. Kang DW, Adams JB, Coleman DM, Pollard EL, Maldonado J, McDonough-Means S, Caporaso JG, Krajmalnik-Brown R: Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota. *Sci Rep* 2019, 9:5821.
329. Gaonkar P: Safety and Potential Risks with Fecal Microbiota Transplantation. In; 2021
330. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C: The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol* 2015, 28:203-209.
331. Neuman H, Forsythe P, Uzan A, Avni O, Koren O: Antibiotics in early life: dysbiosis and the damage done. *FEMS Microbiol Rev* 2018, 42:489-499.
332. Belkaid Y, Hand TW: Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014, 157:121-141.
333. Abdel-Haq R, Schlachetzki JCM, Glass CK, Mazmanian SK: Microbiome-microglia connections via the gut-brain axis. *J Exp Med* 2019, 216:41-59.
-

第十一章：微生物相與肺部疾病

Chapter 11: Microbiota and lung diseases

1. Fan, Y. & Pedersen, O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:55-71, doi:10.1038/s41579-020-0433-9.
2. Gebrayel, P. et al. Microbiota medicine: towards clinical revolution. *J Transl Med* 2022;20:111, doi:10.1186/s12967-022-03296-9.
3. Enaud, R. et al. The Gut-Lung Axis in Health and Respiratory Diseases: A Place for Inter-Organ and Inter-Kingdom Crosstalks. *Front Cell Infect Microbiol* 2020;10: 9, doi:10.3389/fcimb.2020.00009.
4. Budden, K. F. et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol* 2017;15:55-63, doi:10.1038/nrmicro.2016.142.
5. Dang, A. T. & Marsland, B. J. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol* 2019;12: 843-850, doi:10.1038/s41385-019-0160-6.
6. Hilty, M. et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One* 2010;5: e8578, doi:10.1371/journal.pone.0008578.
7. Whiteside, S. A., McGinniss, J. E. & Collman, R. G. The lung microbiome: progress and promise. *J Clin Invest* 2021;131 doi:10.1172/JCI150473.
8. Kloepfer, K. M. et al. Detection of pathogenic bacteria during rhinovirus infection is associated with increased respiratory symptoms and asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133: 1301-1307, 1307 e1301-1303, doi:10.1016/j.jaci.2014.02.030.
9. Agarwal, D. et al. Potential of Health and Demographic Surveillance System in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease Microbiome Research. *Front Public Health* 2017;5: 196, doi:10.3389/fpubh.2017.00196.
10. Wang, Z. et al. Airway host-microbiome interactions in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2019;20: 113, doi:10.1186/s12931-019-1085-z.
11. Ivanov, II et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 2009;139: 485-498, doi:10.1016/j.cell.2009.09.033.
12. Fujimura, K. E. et al. House dust exposure mediates gut microbiome *Lactobacillus* enrichment and airway immune defense against allergens and virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111: 805-810, doi:10.1073/pnas.1310750111.

13. Peschel, T. et al. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail* 2003;5: 609-614, doi:10.1016/s1388-9842(03)00104-1.
 14. Tang, W. H. W., Li, D. Y. & Hazen, S. L. Dietary metabolism, the gut microbiome, and heart failure. *Nat Rev Cardiol* 2019;16: 137-154, doi:10.1038/s41569-018-0108-7.
 15. Umesaki, Y., Okada, Y., Matsumoto, S., Imaoka, A. & Setoyama, H. Segmented filamentous bacteria are indigenous intestinal bacteria that activate intraepithelial lymphocytes and induce MHC class II molecules and fucosyl asialo GM1 glycolipids on the small intestinal epithelial cells in the ex-germ-free mouse. *Microbiol Immunol* 1995;39: 555-562, doi:10.1111/j.1348-0421.1995.tb02242.x.
 16. Ekmekci, I. et al. Immune Responses to Broad-Spectrum Antibiotic Treatment and Fecal Microbiota Transplantation in Mice. *Front Immunol* 2017;8: 397, doi:10.3389/fimmu.2017.00397.
 17. Trompette, A. et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med* 2014;20: 159-166, doi:10.1038/nm.3444 .
 18. Thorburn, A. N. et al. Evidence that asthma is a developmental origin disease influenced by maternal diet and bacterial metabolites. *Nat Commun* 2015;6: 7320, doi:10.1038/ncomms8320.
 19. Rothhammer, V. et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med* 2016;22: 586-597, doi:10.1038/nm.4106.
 20. Vernocchi, P. et al. Network Analysis of Gut Microbiome and Metabolome to Discover Microbiota-Linked Biomarkers in Patients Affected by Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci* 2020;21: doi:10.3390/ijms21228730.
 21. Adesso, S., Russo, R., Quaroni, A., Autore, G. & Marzocco, S. Astragalus membranaceus Extract Attenuates Inflammation and Oxidative Stress in Intestinal Epithelial Cells via NF-kappaB Activation and Nrf2 Response. *Int J Mol Sci* 2018;19: doi:10.3390/ijms19030800.
 22. Cui, Y. et al. Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge repairs intestinal mucosal injury induced by LPS in mice. *BMC Complement Altern Med* 2018;18: 230, doi:10.1186/s12906-018-2298-2.
-

第十二章：微菌叢與代謝性疾病

Chapter 12: Microbiota and metabolic diseases

1. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(1):55-71.
2. Chang CS, Ruan JW, Kao CY. An overview of microbiome based strategies on anti-obesity. *Kaohsiung J Med Sci.* 2019;35(1):7-16.
3. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006;444(7122):1027-31.
4. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(3):979-84.
5. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022-3.
6. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.* 2013;341(6150):1241214.
7. Ruan JW, Statt S, Huang CT, Tsai YT, Kuo CC, Chan HL, et al. Dual-specificity phosphatase 6 deficiency regulates gut microbiome and transcriptome response against diet-induced obesity in mice. *Nature microbiology.* 2016;2:16220.
8. Tims S, Derom C, Jonkers DM, Vlietinck R, Saris WH, Kleerebezem M, et al. Microbiota conservation and BMI signatures in adult monozygotic twins. *The ISME journal.* 2013;7(4):707-17.
9. Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut.* 2016;65(3):426-36.
10. Liu R, Hong J, Xu X, Feng Q, Zhang D, Gu Y, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nat Med.* 2017;23(7):859-68.

11. Nie K, Ma K, Luo W, Shen Z, Yang Z, Xiao M, et al. Roseburia intestinalis: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:757718.
12. Maioli TU, Borrás-Nogues E, Torres L, Barbosa SC, Martins VD, Langella P, et al. Possible Benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for Obesity-Associated Gut Disorders. *Front Pharmacol.* 2021;12:740636.
13. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2014;37 Suppl 1:S81-90.
14. de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Corrales-Agudelo V, Velasquez-Mejia EP, Carmona JA, Abad JM, et al. Metformin Is Associated With Higher Relative Abundance of Mucin-Degrading *Akkermansia muciniphila* and Several Short-Chain Fatty Acid-Producing Microbiota in the Gut. *Diabetes Care.* 2017;40(1):54-62.
15. Zhang J, Ni Y, Qian L, Fang Q, Zheng T, Zhang M, et al. Decreased Abundance of *Akkermansia muciniphila* Leads to the Impairment of Insulin Secretion and Glucose Homeostasis in Lean Type 2 Diabetes. *Adv Sci (Weinh).* 2021;8(16):e2100536.
16. Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, Jensen BAH, Damgaard MTF, Bahl MI, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia.* 2018;61(4):810-20.
17. Thaïss CA, Levy M, Grosheva I, Zheng D, Soffer E, Blacher E, et al. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection. *Science.* 2018;359(6382):1376-83.
18. Ray K. Examining the prevalence of NAFLD and NASH in a US cohort. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology.* 2021;18(5):286.
19. Nouredin M, Ntanios F, Malhotra D, Hoover K, Emir B, McLeod E, et al. Predicting NAFLD prevalence in the United States using National Health and Nutrition Examination Survey 2017-2018 transient elastography data and application of machine learning. *Hepatol Commun.* 2022;6(7):1537-48.
20. Jiang W, Wu N, Wang X, Chi Y, Zhang Y, Qiu X, et al. Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep.* 2015;5:8096.
21. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, Russo A, De Stefanis C, Gnani D, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients

- unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology*. 2017;65(2):451-64.
22. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57(2):601-9.
23. Rao RK, Seth A, Sheth P. Recent Advances in Alcoholic Liver Disease I. Role of intestinal permeability and endotoxemia in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;286(6):G881-4.
24. Yuan J, Chen C, Cui J, Lu J, Yan C, Wei X, et al. Fatty Liver Disease Caused by High-Alcohol-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Cell metabolism*. 2019;30(4):675-88 e7.
25. Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, Ezzati M, et al. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*. 2008;371(9608):243-60.
26. Million M, Diallo A, Raoult D. Gut microbiota and malnutrition. *Microb Pathog*. 2017;106:127-38.
27. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54(Pt 5):1469-76.
28. Plovier H, Everard A, Druart C, Depommier C, Van Hul M, Geurts L, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med*. 2017;23(1):107-13.
29. Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med*. 2019;25(7):1096-103.
-

第十三章: 腸道菌與癌症

Chapter 13: Microbiota and cancers

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F: Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021, 71:209-249.
2. Statistics on the causes of death of Taiwanese people in 2020 [<https://www.mohw.gov.tw/cp-5017-61533-1.html>]
3. O'Connor A, O'Morain CA, Ford AC: Population screening and treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017, 14:230-240.
4. Brindley PJ, Bachini M, Ilyas SI, Khan SA, Loukas A, Sirica AE, Teh BT, Wongkham S, Gores GJ: Cholangiocarcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2021, 7:65.
5. El-Serag HB: Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012, 142:1264-1273 e1261.
6. Wong KCW, Hui EP, Lo KW, Lam WKJ, Johnson D, Li L, Tao Q, Chan KCA, To KF, King AD, et al: Nasopharyngeal carcinoma: an evolving paradigm. *Nat Rev Clin Oncol* 2021.
7. Zitvogel L, Galluzzi L, Viaud S, Vetzizou M, Daille R, Merad M, Kroemer G: Cancer and the gut microbiota: an unexpected link. *Sci Transl Med* 2015, 7:271ps271.
8. Zhao Q, Elson CO: Adaptive immune education by gut microbiota antigens. *Immunology* 2018, 154:28-37.
9. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, Fukuda S, Saito T, Narushima S, Hase K, et al: Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 2013, 500:232-236.
10. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, Cheng G, Yamasaki S, Saito T, Ohba Y, et al: Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011, 331:337-341.
11. Rawla P, Barsouk A: Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol* 2019, 14:26-38.
12. Ren JS, Kamangar F, Forman D, Islami F: Pickled food and risk of gastric cancer--a systematic review and meta-analysis of English and Chinese literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012, 21:905-915.

13. Bertuccio P, Rosato V, Andreano A, Ferraroni M, Decarli A, Edefonti V, La Vecchia C: Dietary patterns and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol* 2013, 24:1450-1458.
14. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ: *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001, 345:784-789.
15. Hsu PI, Lai KH, Hsu PN, Lo GH, Yu HC, Chen WC, Tsay FW, Lin HC, Tseng HH, Ger LP, Chen HC: *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric malignancy. *Am J Gastroenterol* 2007, 102:725-730.
16. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, et al: *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004, 291:187-194.
17. Wu CY, Kuo KN, Wu MS, Chen YJ, Wang CB, Lin JT: Early *Helicobacter pylori* eradication decreases risk of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 2009, 137:1641-1648 e1641-1642.
18. Wu CY, Wu MS, Kuo KN, Wang CB, Chen YJ, Lin JT: Effective reduction of gastric cancer risk with regular use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in *Helicobacter pylori*-infected patients. *J Clin Oncol* 2010, 28:2952-2957.
19. Lofgren JL, Whary MT, Ge Z, Muthupalani S, Taylor NS, Mobley M, Potter A, Varro A, Eibach D, Suerbaum S, et al: Lack of commensal flora in *Helicobacter pylori*-infected INS-GAS mice reduces gastritis and delays intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology* 2011, 140:210-220.
20. Lertpiriyapong K, Whary MT, Muthupalani S, Lofgren JL, Gamazon ER, Feng Y, Ge Z, Wang TC, Fox JG: Gastric colonisation with a restricted commensal microbiota replicates the promotion of neoplastic lesions by diverse intestinal microbiota in the *Helicobacter pylori* INS-GAS mouse model of gastric carcinogenesis. *Gut* 2014, 63:54-63.
21. Kwon SK, Park JC, Kim KH, Yoon J, Cho Y, Lee B, Lee JJ, Jeong H, Oh Y, Kim SH, et al: Human gastric microbiota transplantation recapitulates premalignant lesions in germ-free mice. *Gut* 2021.
22. Iino C, Shimoyama T, Chinda D, Sakuraba H, Fukuda S, Nakaji S: Influence of

- Helicobacter pylori* Infection and Atrophic Gastritis on the Gut Microbiota in a Japanese Population. *Digestion* 2020, 101:422-432.
23. Frost F, Kacprowski T, Ruhlemann M, Bang C, Franke A, Zimmermann K, Nauck M, Volker U, Volzke H, Biffar R, et al: *Helicobacter pylori* infection associates with fecal microbiota composition and diversity. *Sci Rep* 2019, 9:20100.
 24. Chen C-C, Liou J-M, Lee Y-C, Hong T-C, El-Omar EM, Wu M-S: The interplay between *Helicobacter pylori* and gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes* 2021, 13:1909459.
 25. Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, Costa JL, Carneiro F, Machado JC, Figueiredo C: Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut* 2018, 67:226-236.
 26. Coker OO, Dai Z, Nie Y, Zhao G, Cao L, Nakatsu G, Wu WK, Wong SH, Chen Z, Sung JJY, Yu J: Mucosal microbiome dysbiosis in gastric carcinogenesis. *Gut* 2018, 67:1024-1032.
 27. Tseng CH, Lin JT, Ho HJ, Lai ZL, Wang CB, Tang SL, Wu CY: Gastric microbiota and predicted gene functions are altered after subtotal gastrectomy in patients with gastric cancer. *Sci Rep* 2016, 6:20701.
 28. Hofseth LJ, Hebert JR, Chanda A, Chen H, Love BL, Pena MM, Murphy EA, Sajish M, Sheth A, Buckhaults PJ, Berger FG: Early-onset colorectal cancer: initial clues and current views. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020, 17:352-364.
 29. Vipperla K, O'Keefe SJ: Diet, microbiota, and dysbiosis: a 'recipe' for colorectal cancer. *Food Funct* 2016, 7:1731-1740.
 30. Song M, Chan AT, Sun J: Influence of the Gut Microbiome, Diet, and Environment on Risk of Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2020, 158:322-340.
 31. Garrett WS: The gut microbiota and colon cancer. *Science* 2019, 364:1133-1135.
 32. Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, Ojesina AI, Jung J, Bass AJ, Tabernero J, et al: Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012, 22:292-298.
 33. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercoe E, Moore RA, Holt RA: *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012, 22:299-306.
 34. Bullman S, Pedamallu CS, Sicinska E, Clancy TE, Zhang X, Cai D, Neuberger D, Huang K, Guevara F, Nelson T, et al: Analysis of *Fusobacterium* persistence and antibiotic

- response in colorectal cancer. *Science* 2017, 358:1443-1448.
35. Rubinstein MR, Baik JE, Lagana SM, Han RP, Raab WJ, Sahoo D, Dalerba P, Wang TC, Han YW: *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal cancer by inducing Wnt/beta-catenin modulator Annexin A1. *EMBO Rep* 2019, 20.
36. Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, Yamin R, Abed J, Gamliel M, Enk J, Bar-On Y, Stanietzky-Kaynan N, Copenhagen-Glazer S, et al: Binding of the Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity* 2015, 42:344-355.
37. Dejea CM, Fathi P, Craig JM, Boleij A, Taddese R, Geis AL, Wu X, DeStefano Shields CE, Hechenbleikner EM, Huso DL, et al: Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria. *Science* 2018, 359:592-597.
38. Arthur JC, Perez-Chanona E, Muhlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, et al: Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012, 338:120-123.
39. Wilson MR, Jiang Y, Villalta PW, Stornetta A, Boudreau PD, Carra A, Brennan CA, Chun E, Ngo L, Samson LD, et al: The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science* 2019, 363.
40. Nakatsu G, Li X, Zhou H, Sheng J, Wong SH, Wu WK, Ng SC, Tsoi H, Dong Y, Zhang N, et al: Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat Commun* 2015, 6:8727.
41. Yu J, Feng Q, Wong SH, Zhang D, Liang QY, Qin Y, Tang L, Zhao H, Stenvang J, Li Y, et al: Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut* 2017, 66:70-78.
42. Wong SH, Zhao L, Zhang X, Nakatsu G, Han J, Xu W, Xiao X, Kwong TNY, Tsoi H, Wu WKK, et al: Gavage of Fecal Samples From Patients With Colorectal Cancer Promotes Intestinal Carcinogenesis in Germ-Free and Conventional Mice. *Gastroenterology* 2017, 153:1621-1633 e1626.
43. Sobhani I, Bergsten E, Couffin S, Amiot A, Nebbad B, Barau C, de'Angelis N, Rabot S, Canoui-Poitrine F, Mestivier D, et al: Colorectal cancer-associated microbiota contributes to oncogenic epigenetic signatures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019, 116:24285-24295.

44. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, et al: Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013, 110:9066-9071.
45. Plovier H, Everard A, Druart C, Depommier C, Van Hul M, Geurts L, Chilloux J, Ottman N, Duparc T, Lichtenstein L, et al: A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med* 2017, 23:107-113.
46. Wang L, Tang L, Feng Y, Zhao S, Han M, Zhang C, Yuan G, Zhu J, Cao S, Wu Q, et al: A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurised bacterium blunts colitis associated tumourigenesis by modulation of CD8(+) T cells in mice. *Gut* 2020, 69:1988-1997.
47. Wu CY, Lin JT, Ho HJ, Su CW, Lee TY, Wang SY, Wu C, Wu JC: Association of nucleos(t)ide analogue therapy with reduced risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: a nationwide cohort study. *Gastroenterology* 2014, 147:143-151 e145.
48. Wu CY, Chen YJ, Ho HJ, Hsu YC, Kuo KN, Wu MS, Lin JT: Association between nucleoside analogues and risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma recurrence following liver resection. *JAMA* 2012, 308:1906-1914.
49. Yu LX, Schwabe RF: The gut microbiome and liver cancer: mechanisms and clinical translation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017, 14:527-539.
50. Zhang HL, Yu LX, Yang W, Tang L, Lin Y, Wu H, Zhai B, Tan YX, Shan L, Liu Q, et al: Profound impact of gut homeostasis on chemically-induced pro-tumorigenic inflammation and hepatocarcinogenesis in rats. *J Hepatol* 2012, 57:803-812.
51. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, et al: Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 2013, 499:97-101.
52. Dapito DH, Mencin A, Gwak GY, Pradere JP, Jang MK, Mederacke I, Caviglia JM, Khiabanian H, Adeyemi A, Bataller R, et al: Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell* 2012, 21:504-516.
53. Fernandez J, Navasa M, Planas R, Montoliu S, Monfort D, Soriano G, Vila C, Pardo A,

- Quintero E, Vargas V, et al: Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology* 2007, 133:818-824.
54. Vlachogiannakos J, Viazis N, Vasianopoulou P, Vafiadis I, Karamanolis DG, Ladas SD: Long-term administration of rifaximin improves the prognosis of patients with decompensated alcoholic cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013, 28:450-455.
55. Dhiman RK, Rana B, Agrawal S, Garg A, Chopra M, Thumburu KK, Khattri A, Malhotra S, Duseja A, Chawla YK: Probiotic VSL#3 reduces liver disease severity and hospitalization in patients with cirrhosis: a randomized, controlled trial. *Gastroenterology* 2014, 147:1327-1337 e1323.
56. Alisi A, Bedogni G, Baviera G, Giorgio V, Porro E, Paris C, Giammaria P, Reali L, Anania F, Nobili V: Randomised clinical trial: The beneficial effects of VSL#3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014, 39:1276-1285.
57. Li J, Sung CY, Lee N, Ni Y, Pihlajamaki J, Panagiotou G, El-Nezami H: Probiotics modulated gut microbiota suppresses hepatocellular carcinoma growth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016, 113:E1306-1315.
58. Jia W, Xie G, Jia W: Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018, 15:111-128.
59. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gobourne A, No D, Liu H, Kinnebrew M, Viale A, et al: Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature* 2015, 517:205-208.
60. Ma C, Han M, Heinrich B, Fu Q, Zhang Q, Sandhu M, Agdashian D, Terabe M, Berzofsky JA, Fako V, et al: Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. *Science* 2018, 360.
61. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Backhed F: From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* 2016, 165:1332-1345.
62. Singh V, Yeoh BS, Chassaing B, Xiao X, Saha P, Aguilera Olvera R, Lapek JD, Jr., Zhang L, Wang WB, Hao S, et al: Dysregulated Microbial Fermentation of Soluble Fiber Induces Cholestatic Liver Cancer. *Cell* 2018, 175:679-694 e622.
63. Ponziani FR, Bhoori S, Castelli C, Putignani L, Rivoltini L, Del Chierico F, Sanguinetti M,

- Morelli D, Paroni Sterbini F, Petito V, et al: Hepatocellular Carcinoma Is Associated With Gut Microbiota Profile and Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2019, 69:107-120.
64. Liu Q, Li F, Zhuang Y, Xu J, Wang J, Mao X, Zhang Y, Liu X: Alteration in gut microbiota associated with hepatitis B and non-hepatitis virus related hepatocellular carcinoma. *Gut Pathog* 2019, 11:1.
65. Jia X, Lu S, Zeng Z, Liu Q, Dong Z, Chen Y, Zhu Z, Hong Z, Zhang T, Du G, et al: Characterization of Gut Microbiota, Bile Acid Metabolism, and Cytokines in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Hepatology* 2020, 71:893-906.
66. Cheng WY, Wu CY, Yu J: The role of gut microbiota in cancer treatment: friend or foe? *Gut* 2020, 69:1867-1876.
67. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillere R, Hannani D, Enot DP, Pfirschke C, Engblom C, Pittet MJ, et al: The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013, 342:971-976.
68. Daillere R, Vetizou M, Waldschmitt N, Yamazaki T, Isnard C, Poirier-Colame V, Duong CPM, Flament C, Lepage P, Roberti MP, et al: *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestinihominis* Facilitate Cyclophosphamide-Induced Therapeutic Immunomodulatory Effects. *Immunity* 2016, 45:931-943.
69. Vetizou M, Pitt JM, Daillere R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, Rusakiewicz S, Routy B, Roberti MP, Duong CP, et al: Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015, 350:1079-1084.
70. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, Molina DA, Salcedo R, Back T, Cramer S, et al: Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013, 342:967-970.
71. Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, Aquino-Michaels K, Earley ZM, Benjamin FW, Lei YM, Jabri B, Alegre ML, et al: Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015, 350:1084-1089.
72. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, Prieto PA, Vicente D, Hoffman K, Wei SC, et al: Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* 2018, 359:97-103.
73. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillere R, Fluckiger A,

- Messaoudene M, Rauber C, Roberti MP, et al: Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* 2018, 359:91-97.
74. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L, Adler K, Dick-Necula D, Raskin S, Bloch N, et al: Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science* 2021, 371:602-609.
75. Davar D, Dzutsev AK, McCulloch JA, Rodrigues RR, Chauvin JM, Morrison RM, Deblasio RN, Menna C, Ding Q, Pagliano O, et al: Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science* 2021, 371:595-602.
76. Oster P, Vaillant L, Riva E, McMillan B, Begka C, Truntzer C, Richard C, Leblond MM, Messaoudene M, Machremi E, et al: *Helicobacter pylori* infection has a detrimental impact on the efficacy of cancer immunotherapies. *Gut* 2021.
77. Schmidt TS, Hayward MR, Coelho LP, Li SS, Costea PI, Voigt AY, Wirbel J, Maistrenko OM, Alves RJ, Bergsten E, et al: Extensive transmission of microbes along the gastrointestinal tract. *Elife* 2019, 8.
-

第十四章：微生物相與腎臟疾病

Chapter 14: Microbiota and renal diseases

1. Duranton F, Cohen G, De Smet R, et al; European Uremic Toxin Work Group: Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1258–1270.
2. Hung SC, Kuo KL, Wu CC, Tarng DC: Indoxyl Sulfate: A Novel Cardiovascular Risk Factor in Chronic Kidney Disease. *J Am Heart Assoc* 2017;6:e005022.
3. Kolff WJ: *The Artificial Kidney*. J. H. Kok: Kampen, 1946.
4. Aronov PA, Luo FJ, Plummer NS, et al: Colonic contribution to uremic solutes. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:1769–1776.
5. Poesen R, Windey K, Neven E, et al: The influence of CKD on colonic microbial metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:1389–1399.
6. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, et al: Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int* 2013;83:308–315.
7. Duranton F, Cohen G, De Smet R, et al: Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1258–1270.
8. Hung SC, Kuo KL, Huang HL, et al: Indoxyl sulfate suppresses endothelial progenitor cell-mediated neovascularization. *Kidney Int* 2016;89:574–585.
9. Arinze NV, Yin W, Lotfollahzadeh S, et al: Tryptophan metabolites suppress the Wnt pathway and promote adverse limb events in chronic kidney disease. *J Clin Invest* 2022;132:e142260.
10. Lin TY, Chou HH, Huang HL, Hung SC: Indoxyl Sulfate and Incident Peripheral Artery Disease in Hemodialysis Patients. *Toxins (Basel)*. 2020;12:696.
11. Schulman G, Berl T, Beck GJ, Remuzzi G, et al: Randomized Placebo-Controlled EPPIC Trials of AST-120 in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:1732–1746.
12. Wu IW, Gao SS, Chou HC, et al: Integrative metagenomic and metabolomic analyses reveal severity-specific signatures of gut microbiota in chronic kidney disease. *Theranostics* 2020;10:5398–5411.
13. Lin TY, Hung SC: Association of subjective global assessment of nutritional status with gut microbiota in hemodialysis patients: a case-control study. *Nephrol Dial Transplant* 2021;36:1104–1111.

14. Lin TY, Wu PH, Lin YT, Hung SC: Gut dysbiosis and mortality in hemodialysis patients. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2021;7:20.
15. Wilmanski T, Rappaport N, Earls JC, et al: Blood metabolome predicts gut microbiome α -diversity in humans. *Nat Biotechnol* 2019;37:1217–1228.
16. Shafi T, Sirich TL, Meyer TW, et al: Results of the HEMO Study suggest that p-cresol sulfate and indoxyl sulfate are not associated with cardiovascular outcomes. *Kidney Int* 2017;92:1484–1492.
17. Lin TY, Hung SC: Identification of indoxyl sulfate producer phenotypes by oral tryptophan challenge test: a microbiota-based personalized nutritional approach [Abstract]. 57th ERA-EDTA Congress, Milan, 2020. *Nephrol Dial Transplant* 2020;35(Supplement_3):gfaa140.MO043.
18. Wu WK, Chen CC, Liu PY, et al: Identification of TMAO-producer phenotype and host-diet-gut dysbiosis by carnitine challenge test in human and germ-free mice. *Gut* 2019;68:1439–1449.

◆ PART 4:微生物相、益生元、後生元 Microbiota, Prebiotics, Postbiotics

第十五章:食物營養、中醫藥及益生元對腸道微生物菌相之影響 Chapter 15: Nutritions/TCM and prebiotics on gut microbiota

1. Sender R, Fuchs S, and Milo R: Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol* 2016; 14(8):e1002533.
2. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, et al.: Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature* 2018; 555:210-215.
3. Brown JM, Hazen, SL: The gut microbial endocrine organ: bacterially derived signals driving cardiometabolic diseases. *Annu Rev Med* 2015; 66:343-59.
4. Zafar H, Saier MH: Gut Bacteroides species in health and disease. *Gut Microb* 2021; 13(1):1-20.
5. Roberfroid M, Gibson G, Hoyles L, et al: Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *Brit J Nutr* 2010;104(S2):S1-S63.
6. Gehrig L, Venkatesh S, Chang H-W, et al: Effects of microbiota-directed foods in gnotobiotic animals and undernourished children. *Science* 2019; 365(6449)eaau4732.
7. Grondin JM, Tamura K, Déjean G, et al: Polysaccharide Utilization Loci: Fueling Microbial Communities. *J Bacteriol* 2017; 199(15):e00860-16.
8. Bode, L: Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012; 22(9):1147-1162.
9. De Leoz, MLA, Kalanetra, KM, Bokulich, NA, et al; Human Milk Glycomics and Gut Microbial Genomics in Infant Feces Show a Correlation between Human Milk Oligosaccharides and Gut Microbiota: A Proof-of-Concept Study. *J Proteom Res* 2015; 14(1):491-502.
10. Marcobal A, Barboza M, Froehlich JW, et al: Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Gut-Related Microbes. *J Agric Food Chem* 2010; 58(9):5334-5340.
11. Walsh C, Lane JA, van Sinderen D, et al: Human milk oligosaccharides: Shaping the infant gut microbiota and supporting health. *J Funct Food* 2020; 72: 104074.

12. Musilova S, Rada V, Vlkova E, et al: Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Benef Microbes* 2014; 5(3):273-83.
 13. Zhang B, Li L-Q, Liu F, et al: Human milk oligosaccharides and infant gut microbiota: Molecular structures, utilization strategies and immune function. *Carbohydr Polym* 2022; 276:118738.
 14. Pannaraj PS, Li F, Cerini C, et al: Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatr* 2017; 171(7):647-654.
 15. Crittenden RG, Playne MJ: Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trend Food Sci Technol* 1996; 7(11):353-361.
 16. Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, et al: Prebiotics as functional foods: A review. *J Funct Food* 2013; 5(4):1542-1553.
 17. Yang S, Wu C, Yan Q, et al: Nondigestible Functional Oligosaccharides: Enzymatic Production and Food Applications for Intestinal Health. *Annu Rev Food Sci Technol* 2023; 14(1):297-322.
 18. Vitaglione P, Napolitano A, Fogliano V: Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trend Food Sci Technol* 2008; 19: 451-463.
 19. Luo B, Wen Y, Ye F, et al: Bioactive phytochemicals and their potential roles in modulating gut microbiota. *J Agric Food Res* 2023; 12:100583.
 20. Yin R, Kuo HC, Hudlikar R, et al: Gut Microbiota, Dietary Phytochemicals, and Benefits to Human Health. *Curr Pharmacol Rep* 2019; 5:332-344.
 21. Santhiravel S, Bekhit AE-DA, Mendis E, et al: The Impact of Plant Phytochemicals on the Gut Microbiota of Humans for a Balanced Life. *Int J Mol Sci* 2022; 23:8124.
-

第十六章：微生物體與次世代益生菌

Chapter 16: Microbiota and next generation probiotics

1. Kelly D, Mulder IE: Microbiome and immunological interactions. *Nutr Rev* 2012; 70:S18-3.
2. Cani PD, Van Hul M: Novel opportunities for next-generation probiotics targeting metabolic syndrome. *Curr Opin Biotechnol* 2015; 32:21-27.
3. O'Toole PW, Marchesi JR, Hill C: Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat Microbiol* 2017; 2:17057
4. Martín R, Langella P: Emerging Health Concepts in the Probiotics Field: Streamlining the Definitions. *Front Microbiol* 2019; 10:1047.
5. Mackowiak PA: Recycling metchnikoff: probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life. *Front Public Health* 2013; 1: 52.
6. Fuller R: Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66:365-78.
7. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. World Health Organization [online], http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf (2001).
8. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, et al: Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11:506-14
9. Binda S, Hill C, Johansen E, et al: Criteria to Qualify Microorganisms as "Probiotic" in Foods and Dietary Supplements. *Front Microbiol* 2020; 11:1662.
10. Ahlawat S, Asha, Sharma KK: Gut-organ axis: a microbial outreach and networking. *Lett Appl Microbiol* 2021; 72:636-68.
11. 蔡英傑， 益生菌 2.0 大未來:人體微生物逆轉疾病的全球新趨勢。臺北，方舟文化/遠足文化事業，2020。
12. Rutter JW, Dekkerm L, Owen, KA, Barnes CP: Microbiome engineering: engineered live biotherapeutic products for treating human disease. *Front Bioeng Biotechnol* 2022;

10:1000873.

13. FDA. Early Clinical Trials with Live Biotherapeutic Products: Chemistry, Manufacturing, and Control Information (FDA, 2016).
14. EDQM (European Pharmacopoeia). 3053E General monograph on Live Biotherapeutic Products published.pdf (EDQM, 2019).
15. Yeh CM, Yeh CK, Hsu XY, Luo QM, Lin MY: Extracellular expression of a functional recombinant *Ganoderma lucidium* immunomodulatory protein by *Bacillus subtilis* and *Lactococcus lactis*. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74:1039-49.
16. Yeh CM, Huang XH, Sue CW: Functional secretion of a type 1 antifreeze protein analogue by optimization of promoter, signal peptide, prosequence, and terminator in *Lactococcus lactis*. *J Agric Food Chem* 2008; 56:8442-50.
17. Limaye SA, Haddad RI, Cilli Fiona, et al: Phase 1b, multicenter, single blinded, placebo-controlled, sequential dose escalation study to assess the safety and tolerability of topically applied AG013 in subjects with locally advanced head and neck cancer receiving induction chemotherapy. *Cancer* 2013; 119:4268-76.
18. Adolfsen KJ, Callihan I, Monahan, CE, et al: Improvement of a synthetic live bacterial therapeutic for phenylketonuria with biosensor-enabled enzyme engineering. *Nat Commun* 2021; 12:6215.
19. Chang CJ, Lin TL, Tsai YL, et al: Next generation probiotics in disease amelioration. *J Food Drug Anal* 2019; 27:615-22.
20. Lai HC, Lin TL, Chen TW, et al: Gut microbiota modulates COPD pathogenesis: role of anti-inflammatory *Parabacteroides goldsteinii* lipopolysaccharide. *Gut* 2022; 71:309-21.
21. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM: *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54:1469-76.
22. Cani PD, Depommier C, Derrien M, Everard A, de Vos WM: *Akkermansia muciniphila*: paradigm for next-generation beneficial microorganisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2022; 19:625-37.
23. Everard A, Belzer C, Geurts L, et al: Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci* 2013; 110:9066-71.

24. Plovier H, Everard A, Druart C, et al: A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med* 2017; 23:107-113
25. Depommier C, Everard A, Druart, C et al: Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med* 2019; 25:1096-103.
26. Routy B, Chatelier EL, Derosa L, et al: Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* 2018; 359:91-7.
27. Ansaldo E, Slayden LC, Ching KL, et al: *Akkermansia muciniphila* induces intestinal adaptive immune responses during homeostasis. *Science* 2019; 364:1179-84.
28. Bárcena C, Valdés-Mas R, Mayoral P, et al: Healthspan and lifespan extension by fecal microbiota transplantation into progeroid mice. *Nat Med* 2019; 25:1234-42.
29. Blacher E, Bashiardes S, Shapiro H, et al: Potential roles of gut microbiome and metabolites in modulating ALS in mice. *Nature* 2019; 572:474-80.
30. Turck D, Bohm T, Castenmi J, et al: Safety of pasteurised *Akkermansia muciniphila* as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J* 2021; 19, e06780.
31. Lopez-Siles M, Duncan SH, Garcia-Gil LJ, Martinez-Medina M: *Faecalibacterium prausnitzii*: from microbiology to diagnostics and prognostics. *ISME J* 2017; 11:841-852
32. Martín R, Miquel S, Chain F, et al: *Faecalibacterium prausnitzii* prevents physiological damages in a chronic low-grade inflammation murine model. *BMC Microbiol* 2015; 21;15:67.
33. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al: Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* 2018; 359:97-103.
34. Legrand R, Lucas N, Dominique M, et al: Commensal *Hafnia alvei* strain reduces food intake and fat mass in obese mice-a new potential probiotic for appetite and body weight management. *Int J Obes (Lond)* 2020; 44:1041-51.
35. Déchelotte P, Breton J, Trotin-Piccolo C, et al: The Probiotic Strain *H. alvei* HA4597® Improves Weight Loss in Overweight Subjects under Moderate Hypocaloric Diet: A Proof-of-Concept, Multicenter Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Nutrients* 2021; 13:1902.

36. Singh TP, Natraj BH: Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine. *Crit Rev Microbiol* 2021; 47:479-98.
 37. López-Moreno A, Acuña I, Torres-Sánchez A, et al: Next Generation Probiotics for Neutralizing Obesogenic Effects: Taxa Culturing Searching Strategies. *Nutrients* 2021; 13:1617.
 38. Almeida D, Machado D, Andrade JC, Mendo S, Gomes AM, Freitas AC: Evolving trends in next-generation probiotics: a 5W1H perspective. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2020; 60:1783-96.
-

第十七章: 微生物衍生的後生素在防治疾病的應用

Chapter 17: Microbiota derived postbiotics in disease amelioration

- 1 Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B. M. & Owen, L. J. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis* 2015;26: 26191, doi:10.3402/mehd.v26.26191.
- 2 Derwa, Y., Gracie, D. J., Hamlin, P. J. & Ford, A. C. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of probiotics in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;46: 389-400, doi:10.1111/apt.14203.
- 3 Brussow, H. Problems with the concept of gut microbiota dysbiosis. *Microb Biotechnol* 2020;13: 423-434, doi:10.1111/1751-7915.13479.
- 4 Kothari, D., Patel, S. & Kim, S. K. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review. *Biomed Pharmacother* 2019;111: 537-547, doi:10.1016/j.biopha.2018.12.104.
- 5 Tsilingiri, K. & Rescigno, M. Postbiotics: what else? *Benef Microbes* 2013;4: 101-107, doi:10.3920/BM2012.0046.
- 6 De Marco, S. et al. Probiotic Cell-Free Supernatants Exhibited Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity on Human Gut Epithelial Cells and Macrophages Stimulated with LPS. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018, 1756308, doi:10.1155/2018/1756308.

- 7 Escamilla, J., Lane, M. A. & Maitin, V. Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutr Cancer* 2012;64: 871-878, doi:10.1080/01635581.2012.700758.
- 8 Khodaii, Z., Ghaderian, S. M. H. & Natanzi, M. M. Probiotic Bacteria and their Supernatants Protect Enterocyte Cell Lines from Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) Invasion. *Int J Mol Cell Med* 2017;6: 183-189, doi:10.22088/acadpub.BUMS.6.3.183.
- 9 Canonici, A. et al. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal cell restitution through activation of the $\alpha 2\beta 1$ integrin collagen receptor. *PLoS One* 2011;6: e18427, doi:10.1371/journal.pone.0018427.
- 10 Singh, P. & Saini, P. Food and Health Potentials of Exopolysaccharides Derived from *Lactobacilli*. *Microbiology Research Journal International* 2017;22: 1-14, doi:10.9734/MRJI/2017/36935.
- 11 Makino, S. et al. Enhanced natural killer cell activation by exopolysaccharides derived from yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *J Dairy Sci* 2016;99: 915-923, doi:10.3168/jds.2015-10376.
- 12 Maeda, H., Zhu, X., Omura, K., Suzuki, S. & Kitamura, S. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors* 2004;22: 197-200, doi:10.1002/biof.5520220141.
- 13 Brown, G. D. et al. Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *J Exp Med* 2002;196: 407-412, doi:10.1084/jem.20020470.
- 14 de Moreno de LeBlanc, A. et al. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. *J Med Microbiol* 2008;57: 100-105, doi:10.1099/jmm.0.47403-0.
- 15 van Langevelde, P. et al. Antibiotic-induced release of lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus*: quantitative measurements and biological reactivities. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42: 3073-3078, doi:10.1128/AAC.42.12.3073.
- 16 Lee, C. et al. Sodium butyrate inhibits the NF-kappa B signaling pathway and histone deacetylation, and attenuates experimental colitis in an IL-10

- independent manner. *Int Immunopharmacol* 2017;51: 47-56, doi:10.1016/j.intimp.2017.07.023.
- 17 Tedelind, S., Westberg, F., Kjerrulf, M. & Vidal, A. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007;13: 2826-2832, doi:10.3748/wjg.v13.i20.2826.
- 18 Koatz, A. M., Coe, N. A., Ciceran, A. & Alter, A. J. Clinical and Immunological Benefits of OM-85 Bacterial Lysate in Patients with Allergic Rhinitis, Asthma, and COPD and Recurrent Respiratory Infections. *Lung* 2016;194: 687-697, doi:10.1007/s00408-016-9880-5.
- 19 Lavelle, A. & Sokol, H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;17: 223-237, doi:10.1038/s41575-019-0258-z.
- 20 Vallejo-Cordoba, B., Castro-Lopez, C., Garcia, H. S., Gonzalez-Cordova, A. F. & Hernandez-Mendoza, A. Postbiotics and paraprobiotics: A review of current evidence and emerging trends. *Adv Food Nutr Res* 2020;94: 1-34, doi:10.1016/bs.afnr.2020.06.001.
- 21 Imperial, I. C. & Ibanez, J. A. Addressing the Antibiotic Resistance Problem with Probiotics: Reducing the Risk of Its Double-Edged Sword Effect. *Front Microbiol* 2016;7: 1983, doi:10.3389/fmicb.2016.01983.
- 22 Rad, A. H., Abbasi, A., Kafil, H. S. & Ganbarov, K. Potential Pharmaceutical and Food Applications of Postbiotics: A Review. *Curr Pharm Biotechnol* 2021;21: 1576-1587, doi:10.2174/1389201021666200516154833.
- 23 Homayouni Rad, A., Aghebati Maleki, L., Samadi Kafil, H. & Abbasi, A. Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2021;61: 492-499, doi:10.1080/10408398.2020.1738333.
- 24 Mosca, A. et al. The clinical evidence for postbiotics as microbial therapeutics. *Gut Microbes* 2022;14: 2117508, doi:10.1080/19490976.2022.2117508.
-

第十八章: 腸道菌治療

Chapter 18: Therapeutic management of gut microbiota-from dysbiosis to normobiosis

1. Arumugam, M., et al., Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 2011. 473(7346): p. 174-180.
2. Knights, D., et al., Rethinking “Enterotypes”. *Cell Host & Microbe*, 2014. 16(4): p. 433-437.
3. Hitch, T.C.A., et al., Microbiome-based interventions to modulate gut ecology and the immune system. *Mucosal Immunology*, 2022.
4. Ivanov, I.I., et al., Induction of Intestinal Th17 Cells by Segmented Filamentous Bacteria. *Cell*, 2009. 139(3): p. 485-498.
5. Gibson, G.R., et al., Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017. 14(8): p. 491-502.
6. Desai, M.S., et al., A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*, 2016. 167(5): p. 1339-1353.e21.
7. Hill, C., et al., The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014. 11(8): p. 506-514.
8. Belzer, C., et al., Microbial Metabolic Networks at the Mucus Layer Lead to Diet-Independent Butyrate and Vitamin B₁₂ Production by Intestinal Symbionts. *mBio*, 2017. 8(5): p. e00770-17.
9. Depommier, C., et al., Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nature Medicine*, 2019. 25(7): p. 1096-1103.
10. Everard, A., et al., Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences, 2013. 110(22): p. 9066-9071.

11. Salminen, S., et al., The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2021. 18(9): p. 649-667.
12. Song, B., et al., Propionate alleviates high-fat diet-induced lipid dysmetabolism by modulating gut microbiota in mice. *Journal of Applied Microbiology*, 2019. 127(5): p. 1546-1555.
13. van Nood, E., et al., Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *New England Journal of Medicine*, 2013. 368(5): p. 407-415.
14. Sokol, H., et al., Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study. *Microbiome*, 2020. 8(1): p. 12.
15. Wilson, B.C., et al., Strain engraftment competition and functional augmentation in a multi-donor fecal microbiota transplantation trial for obesity. *Microbiome*, 2021. 9(1): p. 107.
16. Oka, A. and R.B. Sartor, Microbial-Based and Microbial-Targeted Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Digestive Diseases and Sciences*, 2020. 65(3): p. 757-788.
17. US_Food_and_Drug_Administration, Early clinical trials with live biotherapeutic products: chemistry, manufacturing, and control information. 2016.
18. Ianiro, G., et al., Minimising the risk of monkeypox virus transmission during faecal microbiota transplantation: recommendations from a European expert panel. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2022. 7(11): p. 979-980.
19. Kitsios, G.D., et al., Dysbiosis in the intensive care unit: Microbiome science coming to the bedside. *Journal of Critical Care*, 2017. 38: p. 84-91.

◆ PART 5: 未來展望與探索 Perspective & Exploration

第十九章: 開拓腸道菌研究的邊界

Chapter 19: Frontiers in Microbiota Research & Beyond

1. Arumugan M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473:174-180.
 2. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486:207-214.
 3. Oliveira RA, Pamer EG. Assembling symbiotic bacterial species into live therapeutic consortia that reconstitute microbiome functions. *Cell Host & Microbiol* 2023; 31:472-484.
 4. Shanshan F, Ghosh TS, O'Toole PW. The healthy microbiome-What is the definition of a healthy microbiome. *Gastroenterology* 2021; 160:483-494.
 5. Puschhof J, Pleguezuelos-Manzano C, Clevers H. Organoids and organs-on-chips: insights into human gut-microbe interactions. *Cell Host & Microbe* 2021; 29:867-878.
 6. Sorbara MT, Pamer EG. Microbiome-based therapeutics. *Nat Rev Microbiol* 2022; 20:365-380.
 7. Lam S, Bai X, Shkoporov AN, et al. Roles of the gut virome and mycobiome in faecal microbiota transplantation. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2022; 7:472-484.
 8. Cao Z, Sugimura N, Burgermeister E, Ebert MP, Zuo T, Lan P. The gut microbiome: a new microbiome component in health and disease. *eBioMedicine* 2022; 81:104113.
 9. Zhang F, Aschenbrenner D, Yoo JY, Zuo T. The gut mycobiome in health, disease, and clinical applications in association with the gut bacterial microbiome assembly. *Lancet Microbe* 2022; 3:e969-e983.
 10. Cammarota G, Ianiro G, Ahern A, et al. Gut microbiome, big data and machine learning to promote precision medicine for cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17:635-648.
-

第二十章: 人體微生物相研究之生物技術

Chapter 20: The biotechnology of human microbiota research

1. Woese, C.R., Bacterial evolution. *Microbiol Rev*, 1987. 51(2): p. 221-71.
2. Woese, C.R., et al., A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Syst Appl Microbiol*, 1985. 6: p. 143-51.
3. Chakravorty, S., et al., A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Microbiol Methods*, 2007. 69(2): p. 330-9.
4. Sirichoat, A., et al., Comparison of different hypervariable regions of 16S rRNA for taxonomic profiling of vaginal microbiota using next-generation sequencing. *Arch Microbiol*, 2021. 203(3): p. 1159-1166.
5. Rintala, A., et al., Gut Microbiota Analysis Results Are Highly Dependent on the 16S rRNA Gene Target Region, Whereas the Impact of DNA Extraction Is Minor. *J Biomol Tech*, 2017. 28(1): p. 19-30.
6. Liu, Z., et al., Short pyrosequencing reads suffice for accurate microbial community analysis. *Nucleic Acids Res*, 2007. 35(18): p. e120.
7. Johnson, J.S., et al., Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun*, 2019. 10(1): p. 5029.
8. Goodwin, S., J.D. McPherson, and W.R. McCombie, Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*, 2016. 17(6): p. 333-51.
9. Levy, S.E. and R.M. Myers, Advancements in Next-Generation Sequencing. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2016. 17: p. 95-115.
10. Matsuo, Y., et al., Full-length 16S rRNA gene amplicon analysis of human gut microbiota using MinION nanopore sequencing confers species-level resolution. *BMC Microbiol*, 2021. 21(1): p. 35.
11. Notario, E., et al., Amplicon-Based Microbiome Profiling: From Second- to Third-Generation Sequencing for Higher Taxonomic Resolution. *Genes (Basel)*, 2023. 14(8).
12. Handelsman, J., et al., Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol*, 1998. 5(10): p. R245-9.
13. Jovel, J., et al., Characterization of the Gut Microbiome Using 16S or Shotgun Metagenomics. *Front Microbiol*, 2016. 7: p. 459.

14. Lindgreen, S., K.L. Adair, and P.P. Gardner, An evaluation of the accuracy and speed of metagenome analysis tools. *Sci Rep*, 2016. 6: p. 19233.
15. Sharpton, T.J., An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Front Plant Sci*, 2014. 5: p. 209.
16. Nayfach, S. and K.S. Pollard, Toward Accurate and Quantitative Comparative Metagenomics. *Cell*, 2016. 166(5): p. 1103-1116.
17. Kanehisa, M., et al., Data, information, knowledge and principle: back to metabolism in KEGG. *Nucleic Acids Res*, 2014. 42(Database issue): p. D199-205.
18. Kanehisa, M., et al., From genomics to chemical genomics: new developments in KEGG. *Nucleic Acids Res*, 2006. 34(Database issue): p. D354-7.
19. Kanehisa, M. and S. Goto, KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res*, 2000. 28(1): p. 27-30.
20. Kanehisa, M., et al., New approach for understanding genome variations in KEGG. *Nucleic Acids Res*, 2019. 47(D1): p. D590-D595.
21. Tatusov, R.L., et al., The COG database: a tool for genome-scale analysis of protein functions and evolution. *Nucleic Acids Res*, 2000. 28(1): p. 33-6.
22. Huerta-Cepas, J., et al., eggNOG 5.0: a hierarchical, functionally and phylogenetically annotated orthology resource based on 5090 organisms and 2502 viruses. *Nucleic Acids Res*, 2019. 47(D1): p. D309-D314.
23. Jensen, L.J., et al., eggNOG: automated construction and annotation of orthologous groups of genes. *Nucleic Acids Res*, 2008. 36(Database issue): p. D250-4.
24. Tu, Q., et al., NCycDB: a curated integrative database for fast and accurate metagenomic profiling of nitrogen cycling genes. *Bioinformatics*, 2019. 35(6): p. 1040-1048.
25. Yin, Y., et al., dbCAN: a web resource for automated carbohydrate-active enzyme annotation. *Nucleic Acids Res*, 2012. 40(Web Server issue): p. W445-51.
26. Zhang, H., et al., dbCAN2: a meta server for automated carbohydrate-active enzyme annotation. *Nucleic Acids Res*, 2018. 46(W1): p. W95-W101.
27. Chen, L., et al., VFDB 2016: hierarchical and refined dataset for big data analysis--10 years on. *Nucleic Acids Res*, 2016. 44(D1): p. D694-7.
28. Liu, B., et al., VFDB 2019: a comparative pathogenomic platform with an interactive

- web interface. *Nucleic Acids Res*, 2019. 47(D1): p. D687-D692.
29. Chen, L., et al., VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Res*, 2005. 33(Database issue): p. D325-8.
 30. McArthur, A.G. and G.D. Wright, Bioinformatics of antimicrobial resistance in the age of molecular epidemiology. *Curr Opin Microbiol*, 2015. 27: p. 45-50.
 31. Jia, B., et al., CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Res*, 2017. 45(D1): p. D566-D573.
 32. Alcock, B.P., et al., CARD 2020: antibiotic resistome surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Res*, 2020. 48(D1): p. D517-D525.
 33. Alcock, B.P., et al., CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res*, 2023. 51(D1): p. D690-D699.
 34. McArthur, A.G., et al., The comprehensive antibiotic resistance database. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(7): p. 3348-57.
 35. Pal, C., et al., BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database. *Nucleic Acids Res*, 2014. 42(Database issue): p. D737-43.
 36. Urban, M., et al., PHI-base in 2022: a multi-species phenotype database for Pathogen-Host Interactions. *Nucleic Acids Res*, 2022. 50(D1): p. D837-D847.
 37. Winnenburg, R., et al., PHI-base update: additions to the pathogen host interaction database. *Nucleic Acids Res*, 2008. 36(Database issue): p. D572-6.
 38. Winnenburg, R., et al., PHI-base: a new database for pathogen host interactions. *Nucleic Acids Res*, 2006. 34(Database issue): p. D459-64.
 39. Urban, M., et al., PHI-base: a new interface and further additions for the multi-species pathogen-host interactions database. *Nucleic Acids Res*, 2017. 45(D1): p. D604-D610.
 40. Urban, M., et al., PHI-base: the pathogen-host interactions database. *Nucleic Acids Res*, 2020. 48(D1): p. D613-D620.
 41. Fleischmann, R.D., et al., Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*, 1995. 269(5223): p. 496-512.
 42. Land, M., et al., Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Funct Integr Genomics*, 2015. 15(2): p. 141-61.

43. Diaz-Viraque, F., et al., Nanopore Sequencing Significantly Improves Genome Assembly of the Protozoan Parasite *Trypanosoma cruzi*. *Genome Biol Evol*, 2019. 11(7): p. 1952-1957.
44. Zhang, P., et al., Comparison of De Novo Assembly Strategies for Bacterial Genomes. *Int J Mol Sci*, 2021. 22(14).
45. O'Toole, P.W., J.R. Marchesi, and C. Hill, Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat Microbiol*, 2017. 2: p. 17057.
46. Merenstein, D., et al., Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut Microbes*, 2023. 15(1): p. 2185034.
47. Nicholson, J.K. and J.C. Lindon, Systems biology: Metabonomics. *Nature*, 2008. 455(7216): p. 1054-6.
48. Fiehn, O., Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol*, 2002. 48(1-2): p. 155-71.
49. Veiga, P., et al., Moving from probiotics to precision probiotics. *Nat Microbiol*, 2020. 5(7): p. 878-880.
50. Nyholm, L., et al., Holo-Omics: Integrated Host-Microbiota Multi-omics for Basic and Applied Biological Research. *iScience*, 2020. 23(8): p. 101414.
51. Fettweis, J.M., et al., The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med*, 2019. 25(6): p. 1012-1021.
52. Llorens-Rico, V. and J. Raes, Tracking humans and microbes. *Nature*, 2019. 569(7758): p. 632-633.
53. Proctor, L., Priorities for the next 10 years of human microbiome research. *Nature*, 2019. 569(7758): p. 623-625.
54. Lloyd-Price, J., et al., Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature*, 2019. 569(7758): p. 655-662.
55. Zhou, W., et al., Longitudinal multi-omics of host-microbe dynamics in prediabetes. *Nature*, 2019. 569(7758): p. 663-671.
56. Integrative, H.M.P.R.N.C., The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*, 2019. 569(7758): p. 641-648.
57. Dominguez-Bello, M.G., Gestational shaping of the maternal vaginal microbiome. *Nat Med*, 2019. 25(6): p. 882-883.

58. Steinhubl, S.R., The future of individualized health maintenance. *Nat Med*, 2019. 25(5): p. 712-714.
59. Gilbert, J.A. and S.V. Lynch, Community ecology as a framework for human microbiome research. *Nat Med*, 2019. 25(6): p. 884-889.
-



微生命的交響樂

追尋人體 微生物相 的①和諧之旅