

第30回腸内フローラシンポジウム
30th Symposium on Intestinal Microbiota, Tokyo, 2022

腸内フローラと
発がん・生活習慣病

Intestinal Microbiota and Carcinogenesis/
Lifestyle-related diseases

講演要旨集
Abstracts

日 時 令和4年10月28日(金) 午前10時～午後5時30分
Date : Friday, October 28, 2022 Time :10:00 ~ 17:30
場 所 ニューピアホール (東京都港区海岸 1-11-1)
Venue : New Pier Hall (1-11-1 Kaigan, Minato-ku, Tokyo)
主 催 公益財団法人ヤクルト・バイオサイエンス研究財団
Organizer : Yakult Bio-Science Foundation
後 援 文 部 科 学 省
Support : Ministry of Education, Culture, Sports, Science and
Technology-Japan

プログラム

午前の部 10:00~12:00

主催者挨拶 澤田 治 司 公益財団法人ヤクルト・バイオサイエンス研究財団 理事長
来賓挨拶 文部科学省
はじめに 神谷 茂 (杏林大学 総合座長)

特別講演1 [座長：神谷 茂 (杏林大学)]
「腸内細菌叢と発がん：メカニズムとそのきっかけ」 3
Ryan Balfour Sartor (ノースカロライナ大学チャペルヒル校 微生物学・免疫学 米国)

特別講演2 [座長：大草 敏 史 (順天堂大学)]
「高度肥満や糖尿病、がんに対する外科的および薬物による治療の効果と腸内細菌叢の関係」
..... 7
前原 喜彦 (公立学校共済組合九州中央病院)

午後の部 13:15~17:30

講演1 [座長：加藤 公 敏 (さいたま記念病院)]
「腸内フローラと膵・胆道癌」 12
小井戸 薫 雄 (東京慈恵会医科大学附属柏病院 消化器・肝臓内科)

講演2 [座長：松本 敏 (ヤクルト本社中央研究所)]
「大腸がん発がん過程における腸内細菌群集構造のダイナミクス」 14
山田 拓 司 (東京工業大学 生命理工学院)

講演3 [座長：八村 敏 志 (東京大学)]
「腸内細菌叢と循環器疾患」 20
山下 智 也 (神戸大学医学部附属病院 循環器内科)

— 休憩 15:10~15:30 —

講演4 [座長：五十君 静 信 (東京農業大学)]
「腸内細菌叢からみた糖尿病の発症機構」 24
小川 佳 宏 (九州大学大学院医学研究院 病態制御内科 (第三内科))

講演5 [座長：伊藤 喜久治 (東京大学)]
「腸内フローラと糖質制限ダイエット」 27
Antonio Paoli (パドヴァ大学 生物化学分野 イタリア)

総合討論 [座長：神谷 茂 (杏林大学)]

P R O G R A M

10:00 ~ 12:00

Welcome Address : Haruji Sawada (President, Yakult Bio-Science Foundation)

Guest Address : Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology-Japan

Introduction : Shigeru Kamiya (Kyorin University, Japan)

Keynote Lecture :

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University, Japan)]

1. **“Intestinal microbiota and carcinogenesis: mechanisms and opportunities”** 5
Ryan Balfour Sartor (University of North Carolina – Chapel Hill, USA)

[Chair : Toshifumi Ohkusa (Juntendo University School of Medicine)]

2. **“Relationship between gut microbiota and clinical efficacy of surgical or pharmaceutical therapies on severe obesity, diabetes mellitus or cancer, and the impact of synbiotic interventions”** 10
Yoshihiko Maehara (Kyushu Central Hospital of the Mutual Aid Association of Public School Teachers, Japan)

13:15 ~ 17:30

Lecture :

[Chair : Kimitoshi Katoh (Saitama Memorial Hospital)]

1. **“Intestinal flora and pancreatic and biliary tract cancers”** 13
Shigeo Koido (Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of internal Medicine,
The Jikei University , Kashiwa Hospital, Japan)

[Chair : Satoshi Matsumoto (Yakult Central Institute)]

2. **“Dynamics of the gut microbiome community structure in colorectal carcinogenesis”** 17
Takuji Yamada (Tokyo Institute of Technology, Department of Life Science and Technology, Japan)

[Chair : Satoshi Hachimura (The University of Tokyo)]

3. **“Gut Microbiota and Cardiovascular Diseases”** 22
Tomoya Yamashita (Kobe University Hospital, Cardiovascular Medicine, Japan)

— 15:10 - 15:30 Break —

[Chair : Shizunobu Igimi (Tokyo University of Agriculture)]

4. **“Pathogenesis of Diabetes Viewed from Intestinal Microbiota”** 25
Yoshihiro Ogawa (Department of Medicine and Bioregulatory Science,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Japan)

[Chair : Kikuji Itoh (The University of Tokyo)]

5. **“Ketogenic diet and microbiota”** 30
Antonio Paoli (Department of Biomedical Sciences-University of Padua, Italy)

Discussion [Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University, Japan)]

腸内細菌叢と発がん：メカニズムとそのきっかけ

Ryan Balfour Sartor

ノースカロライナ大学チャペルヒル校 微生物学・免疫学 米国

略歴：

米国ルイジアナ州シュリーブポート生まれ。ワシントン&リー大学（バージニア州レキシントン）、ベイラー医科大学（テキサス州ヒューストン）を卒業。ノースカロライナ大学での消化器学フェローシップを経て、現在同大学の医学・微生物学・免疫学特別教授を務める。

Sartor 教授は難治性炎症性腸疾患（IBD）の治療を専門とする臨床医であるとともに、粘膜免疫学・微生物学の研究者でもあり、腸内細菌が腸粘膜の恒常性や慢性炎症に関与するメカニズムの解明に長年取り組んできた。げっ歯類の IBD モデルを用いた基礎研究を行い、IBD 患者を対象とした臨床研究に応用するトランスレーショナルリサーチを行っている。また、ノトバイオートマウスやヒト検体を用いて腸内常在細菌と遺伝的免疫応答との関係を調べ、腸内細菌の構成と機能に対する環境因子の影響について調査している。これまでに 400 以上の論文や論説を公表、5 冊の書籍を編集しており、1983 年以降アメリカ国立衛生研究所（国立糖尿病・消化器・腎疾病研究所）から継続的に研究助成を受けている。2020 年には、腸の炎症と恒常性における腸内細菌の役割に関する長年の業績が認められ、米国消化器病学会（AGA）の Basic Science Achievement Award を受賞した。また、若い科学者の育成に貢献したとして、2019 年に AGA マイクロバイオーム部門の Mentoring Award を受賞している。現在は、世界最大級のノトバイオート動物施設である UNC National Gnotobiotic Rodent Resource Center の所長および UNC Center for Gastrointestinal Biology and Disease の副所長を務める。さらに、UNC Multidisciplinary IBD Center を設立し、Crohn's and Colitis Foundation の主席医療顧問も務めた。

要約：

細菌、真菌、ウイルス、古細菌、原生動物、蠕虫などを含む多様な腸内微生物は、粘膜および全身性の免疫反応、食事成分や生体異物、薬物の代謝、そして腸管上皮の成長、発達、修復に多大な影響を与える。したがって、腸内細菌叢が消化管がんの発症や治療応答性に深く関与していることは想像に難くない。ヒト常在細菌は胃腺がん（ヘリコバクター・ピロリ菌）や大腸がん（コリバクチン産生性 PKS+ 大腸菌、バイオフィーム形成性の腸管毒素原性バクテロイデス・フラジリス、細胞内フソバクテリウム・ヌクレアタム）の発生機序に関与するほか、膵管腺がん、肝細胞がん、胆管がんとの関連も示されており、真菌については食道扁平上皮がんとの関連が指摘されている。さらに腸内細菌叢は、薬物代謝、免疫応答、がん細胞の化学療法抵抗性などを変化させることで、治療の成果に影響を及ぼす。例えば、腸内細菌の β グルクロニダーゼ活性を阻害すると、抗がん剤イリノテカンの副作用である腸粘膜炎症の発症が抑制される。また、腸内細菌叢は、膵臓がんを含む様々ながんの免疫チェックポイント阻害剤に対する応答に大きく影響する。腸内細菌叢プロファイリングを行うことで、がん免疫療法の治療効果、転帰、合併症リスクを予測することができる。抗生物質、糞便移植、または特定の微生物コンソーシアや製品の投与により腸内

細菌叢を変化させることで、がんの治療効果を高めることができるとのエビデンスも蓄積されつつある。ディープシーケンシングやメタボローム解析によって患者一人一人の腸内細菌構成や機能を把握することで、個人に合わせた治療法の選択や様々な薬剤に対する治療効果と副作用の予測を可能にし、治療結果を大幅に改善できる可能性が考えられる。究極的には、遺伝子解析や菌叢解析により高リスク群と診断された人に対して食生活や環境リスク因子と合わせて腸内細菌叢を操作することで、がんの発症率を低減できることが期待される。

参考文献

1. Sepich-Poore GD, Zitvogel L, Straussman R, Hasty J, Wargo JA, Knight R. The microbiome and human cancer. *Science*. 2021 Mar 26;371 (6536): eabc4552. doi: 10.1126/science.abc4552. PMID: 33766858; PMCID: PMC8767999.
2. Bhatt AP, Sartor RB. Bugs on drugs: implications for gut health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021 May;18 (5):287-288. doi: 10.1038/s41575-021-00437-1. PMID: 33692569.
3. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science*. 2012 Oct 5;338 (6103):120-3. doi: 10.1126/science.1224820. Epub 2012 Aug 16. PMID: 22903521; PMCID: PMC3645302.
4. Bhatt AP, Pellock SJ, Biernat KA, Walton WG, Wallace BD, Creekmore BC, Letertre MM, Swann JR, Wilson ID, Roques JR, Darr DB, Bailey ST, Montgomery SA, Roach JM, Azcarate-Peril MA, Sartor RB, Gharaibeh RZ, Bultman SJ, Redinbo MR. Targeted inhibition of gut bacterial β -glucuronidase activity enhances anticancer drug efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Mar 31;117 (13):7374-7381. doi: 10.1073/pnas.1918095117. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32170007; PMCID: PMC7132129.
5. Awoniyi M SR, Montgomery S, Ngo B, Sartor RBS. Accelerated onset of spontaneous proximal colonic dysplasia and invasive adenocarcinoma in novel PSC-IBD model. *Digestive Disease Week*. Volume 615. San Diego, CA, 2019.

Intestinal microbiota and carcinogenesis: mechanisms and opportunities

Ryan Balfour Sartor

University of North Carolina — Chapel Hill, USA

Brief curriculum vitae:

Dr. Sartor was born in Shreveport, Louisiana, USA. He graduated from Washington & Lee University, Lexington, Virginia and Baylor College of Medicine, Houston, Texas, then performed a clinical and research Gastroenterology Fellowship at the University of North Carolina, where he is the Midget Distinguished Professor of Medicine, Microbiology and Immunology.

Dr. Sartor is a physician-scientist, board-certified Gastroenterologist with expertise in managing difficult-to-treat patients with inflammatory bowel diseases (IBD) and a mucosal immunologist/microbiologist with a long-term interest in understanding mechanisms by which resident microbiota induce chronic intestinal inflammation vs. mucosal homeostasis. His research develops and studies rodent models of chronic, immune-mediated intestinal inflammation relevant to IBD and performs clinically relevant translational studies involving IBD patients. He investigates genetically-determined immune responses to luminal resident microbial components using gnotobiotic mice and patient-derived samples, and studies the influence of environmental factors on intestinal microbiota composition and function. He has published over 400 articles, editorials, and chapters, edited 5 books, and have been continuously funded by the NIH (NIDDK) since 1983. In 2020, he received the American Gastroenterology Association (AGA) Basic Science Achievement Award, recognizing his career-long contributions to understanding the role of the gut microbiota in intestinal inflammation and homeostasis. His interest and success in guiding the careers of young scientists was recognized by the AGA Microbiome Section's Mentoring Award in 2019. He directs the UNC National Gnotobiotic Rodent Resource Center, one of the world's largest gnotobiotic animal facilities. and is co-Director of the UNC Center for Gastrointestinal Biology and Disease. In addition, he founded and directed the UNC Multidisciplinary IBD Center and previously served as the Crohn's and Colitis Foundation's Chief Medical Advisor.

Abstract :

The diverse elements of the intestinal microbiota, which include bacteria, fungi, viruses, archaea, protozoa and helminths, profoundly regulate mucosal and systemic immune responses; metabolize dietary components, xenobiotic compounds and drugs; and influence intestinal epithelial growth, development and repair. Therefore, it is not surprising that the gut microbiota have been strongly implicated in gastrointestinal carcinogenesis and treatment responses. Resident bacteria have been mechanistically implicated in the development of gastric adenocarcinoma (*Helicobacter pylori*), colorectal cancer (PKS⁺ colibactin-producing *Escherichia coli*, biofilm-inducing enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and intracellular *Fusobacterium nucleatum*) and associated with pancreatic ductular adenocarcinoma, hepatocellular cancer and

cholangiocarcinoma, while fungi have been associated with esophageal squamous cell cancer. In addition, the intestinal microbiota influence the outcomes of therapy by variably metabolizing of therapeutic agents, modulating immune responses and altering chemo-resistance of cancer cells. An example of influencing chemotherapeutic responses is the inactivation of mucositis-inducing irinotecans by blocking gut bacterial β -glucuronidase activity. Intestinal microbiota profoundly influence responses to checkpoint inhibiting immunotherapy of various cancers, including pancreatic cancer. Moreover, intestinal microbial profiling can predict therapeutic responses to immunotherapy, disease outcomes and the risk of developing complications. Finally, developing evidence indicates that altering the microbiome can improve therapeutic efficacy by antibiotics, fecal transplant and potentially by defined microbial consortia or products. Understanding an individual patient's microbial signature composition and function by deep sequencing and metabolomic profiling has the potential to profoundly improve therapeutic outcomes by personalizing treatment choices, predicting therapeutic responses to various agents and decreasing drug toxicities. The ultimate hope is that manipulating the microbiome in concert with altering the diet and modifying environmental risk factors can decrease the likelihood of developing cancer in high risk individuals, as determined by microbial and genetic screening.

References

1. Sepich-Poore GD, Zitvogel L, Straussman R, Hasty J, Wargo JA, Knight R. The microbiome and human cancer. *Science*. 2021 Mar 26;371 (6536): eabc4552. doi: 10.1126/science.abc4552. PMID: 33766858; PMCID: PMC8767999.
2. Bhatt AP, Sartor RB. Bugs on drugs: implications for gut health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021 May;18 (5):287-288. doi: 10.1038/s41575-021-00437-1. PMID: 33692569.
3. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science*. 2012 Oct 5;338 (6103):120-3. doi: 10.1126/science.1224820. Epub 2012 Aug 16. PMID: 22903521; PMCID: PMC3645302.
4. Bhatt AP, Pellock SJ, Biernat KA, Walton WG, Wallace BD, Creekmore BC, Letertre MM, Swann JR, Wilson ID, Roques JR, Darr DB, Bailey ST, Montgomery SA, Roach JM, Azcarate-Peril MA, Sartor RB, Gharaibeh RZ, Bultman SJ, Redinbo MR. Targeted inhibition of gut bacterial β -glucuronidase activity enhances anticancer drug efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Mar 31;117 (13):7374-7381. doi: 10.1073/pnas.1918095117. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32170007; PMCID: PMC7132129.
5. Awoniyi M SR, Montgomery S, Ngo B, Sartor RBS. Accelerated onset of spontaneous proximal colonic dysplasia and invasive adenocarcinoma in novel PSC-IBD model. *Digestive Disease Week*. Volume 615. San Diego, CA, 2019.

高度肥満や糖尿病、がんに対する外科的および薬物による治療の効果と腸内細菌叢の関係

○前原喜彦^{*1}

池田哲夫^{*2}

庄司文裕^{*3}

1. 公立学校共済組合九州中央病院
2. 福岡歯科大学内視鏡センター
3. 国立病院機構九州がんセンター

略歴：

a. 出生年・地

昭和28年(1953年)・長崎県島原市

b. 最終学歴

昭和52年(1977)3月26日 九州大学医学部 卒業

昭和58年(1983)3月26日 九州大学大学院医学系研究科 修了(医学博士)

c. 主な職歴

昭和52年(1977)4月 九州大学第二外科入局

昭和60年(1985)1月 九州大学助手(腫瘍センター)

平成元年(1989)4月 九州大学助手(第二外科)

平成3年(1991)7月 九州大学講師(第二外科)

平成7年(1995)4月 Harvard Medical School へ留学

平成11年(1999)6月 九州大学大学院消化器・総合外科(第二外科)助教授

平成14年(2002)10月 九州大学大学院消化器・総合外科(第二外科)教授

平成23年(2011)10月 第22期日本学術会議会員

平成24年(2012)4月 九州大学病院救命救急センターセンター長(併任)

平成25年(2013)5月 九州大学病院小児救命救急センターセンター長(併任)

平成26年(2014)4月 九州大学病院集中治療部部長(併任)

平成26年(2014)10月 第23期日本学術会議会員

平成27年(2015)10月 九州大学大学院医学研究院主幹教授

平成30年(2018)4月 公立学校共済組合九州中央病院院長

平成30年(2018)4月 学校法人福岡学園福岡歯科大学客員教授

平成30年(2018)4月 九州大学名誉教授

平成30年(2018)4月 九州大学客員教授

d. 主な研究テーマ

- ・ 消化器癌発生・進展の分子機序
- ・ 癌化学療法
- ・ 腸内細菌叢

e. 主な受賞

昭和63年度 工藤学術財団褒章 受賞

平成22年度・24年度～28年度 九州大学研究活動表彰 受賞

平成30年度 第24回日本癌治療学会中山恒明賞 受賞

要約：

(はじめに)

Dysbiosis は様々な疾病の発生や進展に大きく関わっていると言われている。WHO は 2011 年以降、喫煙、過度の飲酒、不健康な食生活、運動不足や大気汚染などによって引き起こされる、がん、糖尿病、循環器疾患、呼吸器疾患などの慢性疾患を non-communicable diseases (NCDs：非微生物性疾患) と位置づけ世界各国へ強く制御を呼びかけている。現在、世界中で 4100 万人が NCDs で死亡し、全死因の 71% にものぼる。NCDs の原因と記された事項は、どれも dysbiosis と密接な関係が指摘されており、NCDs は non-communicable だけではなく、communicable の要因も含んだ疾患と位置づけられるものと考えられる。

我々は、外科領域で遭遇する疾患として、高度肥満や糖尿病、がんの患者さんにおいて、介入施行した治療の経過における腸内細菌叢の変化を解析し、シンバイオティクス投与による病態の改善効果について検討を進めているので報告する。

(方法と結果)

1. 糖尿病を合併する高度肥満症の患者さんに Laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) を行った (n=28)。術前、術後 2 週、1 カ月、3 カ月、6 カ月後に糞便を採取し、腸内細菌叢および一次胆汁酸、二次胆汁酸を解析した。術後、肥満症や糖尿病の病態改善が認められた。総細菌数は健常人に比べ低いままであったが、 α 多様性の上昇と Rikenellaceae、Christensenellaceae や *Akkermansia* の占有率の増加を認めた。

さらに、一次胆汁酸と二次胆汁酸の減少、一次胆汁酸 / 二次胆汁酸比の著明な減少を認めた。

糖尿病を合併する高度肥満患者に対して、LSG は病態を改善する有効な外科的治療法であり、同時に消化運動機能の向上と dysbiosis の部分的な改善効果も伴っていた。

現在、LSG を施行した糖尿病を合併する高度肥満患者さんを対象に、シンバイオティクス摂取による dysbiosis 改善効果について、二重盲検かつ無作為化比較研究を実施している。

2. 進行・再発非小細胞肺癌患者に対する immune checkpoint inhibitor (ICI) 治療によるレスポンドー群 (n=17) と非レスポンドー群 (n=11) における、ICI 治療中の腸内細菌

菌叢を解析した。レスポンド群の腸内細菌叢は非レスポンド群と比較して、有意に α 多様性が高く、 β 多様性が低かった。レスポンド群では *Blautia* が優位に多く認められ、非レスポンド群では RF32 目に属する未同定分類群が有意に多かった。

ICI レスポンド群の腸内細菌叢は、個体内で細菌叢を構成する菌種数は多く、個体間では類似性が高いと考えられる。ICI の効果には *Blautia* や RF32 目未同定分類群などの腸内細菌が関与している可能性がある。

現在、進行・再発非小細胞肺癌で ICI 治療を施行する患者さんを対象に、シンバイオティクスを摂取することによる腸内細菌叢の改善効果と、ICI 治療効果の関係について検討を進めている。

3. 他施設からの、外科領域におけるシンバイオティクス摂取と様々な病態の改善効果に関する研究成果について紹介する。

(まとめ)

臨床症例において、様々な疾病の治療による効果および病態の改善作用と、腸内細菌叢の関係を解析することで、腸内細菌叢の役割とシンバイオティクス摂取の意義が明らかとなる。

Relationship between gut microbiota and clinical efficacy of surgical or pharmaceutical therapies on severe obesity, diabetes mellitus or cancer, and the impact of synbiotic interventions

○ Yoshihiko Maehara*¹

Tetsuo Ikeda*²

Fumihiko Shoji*³

1. Kyushu Central Hospital of the Mutual Aid Association of Public School Teachers
2. Center of Endoscopy, Endoscopic Therapy and Surgery, Fukuoka Dental College
3. National Hospital Organization Kyushu Cancer Center

Brief curriculum vitae:

Yoshihiko Maehara, MD, PhD, FACS

Director

Kyushu Central Hospital of the Mutual Aid Association of Public School Teachers

Abstract :

(Introduction)

Dysbiosis is considered to be deeply involved in the development and progression of various diseases. Since 2011, the World Health Organization (WHO) has strongly promoted the management of cancer, diabetes, circulatory and respiratory diseases, and other chronic diseases caused by such factors as smoking, excessive alcohol consumption, unhealthy eating habits, inadequate exercise, and ambient air pollution by positioning them as non-communicable diseases (NCDs) across the world. At present, 41 million people annually die of NCDs worldwide, and NCDs account for 71% of all causes of death. All of the above etiological factors of NCDs have been pointed out to be closely related to dysbiosis, suggesting that NCDs are not only positioned as non-communicable diseases, but that they also have a communicable element.

We have analyzed changes in the gut microbiota of patients with severe obesity, diabetes, or cancer, which are diseases encountered in the field of surgery, during the course of interventional treatment to investigate the improving effect of synbiotic administration on the disease condition.

(Methods and Results)

1. Laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) was performed in severely obese patients with diabetes (n=28). Feces was collected before LSG, and at 2 weeks, 1 month, 3 months, and 6 months after LSG, and the gut microbiota, primary bile acids (BAs), and secondary BAs were analyzed. After LSG, the condition of both obesity and diabetes improved. Although the total bacterial count remained low compared to healthy

individuals, relative increases in α -diversity and the abundance of Rikenellaceae, Christensenellaceae, and Akkermansia were observed.

In addition, decreases in primary and secondary BAs and a marked decrease in the primary/secondary BA ratio were observed.

LSG is an effective surgical treatment to improve the disease condition of severely obese patients with diabetes, and is also associated with improvement in digestive motility and dysbiosis.

Now, a double-blind, randomized, controlled study to investigate the improving effect of synbiotic intake on dysbiosis is currently ongoing in severely obese patients with diabetes who have undergone LSG.

2. The gut microbiota of patients with advanced/recurrent non-small cell lung cancer (NSCLC) undergoing immune checkpoint inhibitor (ICI) therapy was analyzed in the groups of both responders (n=17) and non-responders (n=11) to ICI therapy. The microbiota in the responder group demonstrated significantly higher α -diversity and lower β -diversity compared to the non-responder group. *Blautia* was dominantly abundant in the responder group, while unclassified bacteria belonging to the RF32 order (Alphaproteobacteria) were significantly more abundant in the non-responder group.

It is considered that the gut microbiota in the ICI responder group is composed of many bacterial species and similar among individuals. The gut microbes, such as *Blautia* and unclassified RF32 bacteria may contribute to the effect of ICI.

Now, a study to investigate the relationship between the improving effect of synbiotic intake on the gut microbiota and the effect of ICI therapy is currently ongoing in patients with advanced/recurrent NSCLC receiving ICI therapy.

3. Study results of other facilities on the improving effect of synbiotic intake on various disease conditions in the field of surgery will also be introduced here.

(Conclusion)

By analyzing the relationship between the effect of surgical or pharmaceutical therapies on various diseases and improvement of the disease condition and the gut microbiota in clinical cases, the role of gut microbiota and the significance of synbiotic intake will be clarified.

腸内フローラと膵・胆道癌

小井戸薫雄

東京慈恵会医科大学附属柏病院 消化器・肝臓内科

略歴：

1961年 東京生まれ。1987年 東京慈恵会医科大学卒業。1993年 東京慈恵会医科大学大学院卒業。1998年 Harvard Medical School, Dana-Farber Cancer Institute Research Fellow。2019年 東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科 教授。2012年 東京慈恵会医科大学 消化器・肝臓内科 非常勤講師。おもな研究テーマ：膵臓癌患者に対するワクチン療法の開発（WT1樹状細胞ワクチン・ペプチドワクチン）

要約：

ヒトの腸内には約 1000 種類以上、40兆個以上の腸内細菌が存在すると推定されている。近年、次世代シーケンサーによる遺伝子解析の迅速化が可能となった。その結果、メタゲノム解析にて、腸内細菌叢（gut microbiota）の解析が多数報告されている。すなわち、消化器疾患、代謝疾患、神経疾患、アレルギー性疾患、動脈硬化などのさまざまな疾患において、腸内細菌叢構成が健常人と比較し異なっている（dysbiosis）ことが報告されている。われわれも、大腸腺腫、早期大腸癌、肝硬変、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患と腸内細菌叢との関連性を報告してきた。

膵・胆道癌は予後不良の癌であり、その発育・進展機序の解明や新規バイオマーカーの開発は急務である。近年、膵・胆道疾患でも細菌叢の解析が蓄積されてきている。ヒト膵臓癌やその前癌病変である IPMN（膵管内乳頭粘液腫瘍（Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm）および胆道癌の腸内、口腔内、および組織内の細菌叢との関係性についての報告が増加している。本シンポジウムでは膵・胆道癌と関連する細菌叢について報告する。

Intestinal flora and pancreatic and biliary tract cancers

Shigeo Koido

Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine, Kashiwa Hospital, Japan

Brief curriculum vitae:

Born in Tokyo in 1961. Graduate from The Jikei University School of Medicine in 1987 and the doctoral course at The Jikei University School of Medicine in 1993. Research Fellow at Harvard Medical School, Dana-Farber Cancer Institute in 1998. Professor, division of Gastroenterology and Hepatology, The Jikei University School of Medicine in 2019. Part-time lecturer, division of Gastroenterology and Hepatology, The Jikei University School of Medicine in 2022. Major field of research: Cancer vaccines for pancreatic cancer patients (WT1-dendritic cell or -peptide vaccines).

Abstract :

It has been estimated that there are more than 1000 types and more than 40 trillion intestinal bacteria in the human intestine. In recent years, it has become possible to easily analyze genes using a next-generation sequencer. As a result, the study of the intestinal flora (gut microbiota) by metagenomic analysis have been reported. That is, it has been reported that the composition of the intestinal flora is different from that of healthy subjects (dysbiosis) in various diseases such as digestive diseases, metabolic diseases, neurological diseases, allergic diseases, and arteriosclerosis. We have also reported the association between colorectal adenoma, early colorectal cancer, liver cirrhosis, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease and the intestinal flora.

Pancreatic and biliary tract cancers are one of the most aggressive human tumors. Therefore, it is an urgent needed to analyze the growth and progression mechanism and develop new biomarkers associated with the prognosis. In recent years, analysis of bacterial flora has been accumulated in pancreatic and biliary tract diseases. There has been an increasing number of reports on the relationship between intestinal, oral, and tissue bacterial flora and human pancreatic cancer and its precancerous lesions, IPMN (Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm) and biliary tract cancer. In this symposium, we report the bacterial flora associated with pancreatic and biliary tract cancers.

大腸がん発がん過程における腸内細菌群集構造のダイナミクス

山田拓司

東京工業大学 生命理工学院

株式会社メタジェン

メタジェンセラピューティクス株式会社

株式会社 digzyme

略歴：

- a. 出生年、地：1977.8.8, 富山県
- b. 京都大学大学院 理学研究科生物科学専攻 博士課程 研究指導認定退学
博士（理学） 京都大学
- c. 主な職歴
 - ・平成18年3月 特任助手（京都大学）
 - 平成19年4月 Postdoctoral fellow
(European Molecular Biology Laboratory)
 - 平成22年4月 Senior Technical Officer
(European Molecular Biology Laboratory)
 - 平成24年4月 講師（東京工業大学）
 - 平成27年3月 株式会社メタジェン 取締役副社長 CTO（兼任）
 - 平成28年4月 准教授（東京工業大学）
 - 令和元年8月 株式会社 digzyme 取締役（兼任）
 - 令和2年3月 メタジェンセラピューティクス株式会社 CTO（兼任）
- d. 主な研究テーマ
ヒト腸内環境と疾患の関連研究、
オミクスデータ可視化手法の開発、
発酵食品における菌群集構造のダイナミクス解析
- e. 主な受賞歴
令和2年度 文部科学大臣表彰 科学技術省受賞

要約：

大腸がんの多段階発がん と 腸内細菌

日本では大腸がんによる死亡率が過去30年で著しく増加し、2014年に胃がんを抜いて本邦で最も罹患率の高いがん種となった¹。大腸がん罹患率は世界でも最も高い国の一つとなっている。食生活習慣の欧米化が原因の一つと考えられているが、そのメカニズムは明らかにされていない^{2,3,4}。散発性大腸がんの多くは、大腸ポリープ（腺腫）、粘膜内がんを経て進行がんへと進展する^{5,6}。このプロセスは多段階発がんとして知られている。

ヒトの体には約40兆個もの細菌が生息していると言われており⁷。その中でも、ヒトの腸管に生息する腸内細菌は、炎症性腸疾患など様々な腸疾患と関係することが知られ、近

年、注目を集めている⁸。散発性大腸がんでは2012年に、歯周病の原因として知られる口腔内細菌である *Fusobacterium nucleatum* が大腸がん患者の便中に特徴的に多数存在することが報告され⁹、マウス実験により、その発がん機構が次々に明らかになった¹⁰。その後、次世代シーケンサの発達により、糞便試料を用いた大規模メタゲノム解析が容易になり、次々に新しいがん関連菌が見つかってきている。さらに、腸内細菌の代謝物であるコリバクチンやデオキシコール酸は遺伝毒性であることが以前から知られている^{11,12}。

しかしながら、腸内細菌が発がんの原因か結果であるか（または進展に寄与しているのか）については十分に解明されていない。また、食事の傾向や、細菌の栄養源となる腸内の化合物が発がんとのどのように関係しているかというような全体的な理解は未だ断片的にしか進んでいない。我々のグループでは、この2つの問題を明らかにすることを目指し、大規模なコホートを立ち上げ、大腸がん患者を対象に、糞便試料や、食事等の「生活習慣に関するアンケート」などのデータを収集し、食生活習慣、メタゲノム、メタボロームなどを用いたマルチオミクス解析を行ってきた¹³。ここでは、今までの解析から得られた知見の一部を紹介する。

大規模コホートによる日本人の腸内環境の全容解明と大腸がんへの関与

これまでのコホート研究から、大腸がんに関連する細菌がいくつか特定されてきたが、その多くは進行の進んだがん (Stage I/II/III/IV) に関連するもので、大腸ポリープ (腺腫) や、がんのごく初期 (Stage 0) と関連する細菌や代謝物質に関するデータはあまり収集されて来なかった。本研究では、国立がん研究センター・中央病院で大腸内視鏡検査を受けた631被検者 (健常者、多発ポリープ (腺腫)、粘膜内がん (Stage 0)、各ステージのがん (Stage I/II/III/IV)) を対象とし、糞便サンプルを収集した。そのうち、Stage I/II/III の計28患者からは、腫瘍切除の前後で糞便を収集した。また、「生活習慣などに関するアンケート」を用いた調査を実施し、食事や、既知のリスク要因 (年齢、性別、喫煙習慣、飲酒習慣など) も解析の対象とした。その結果、*F. nucleatum* の上昇が、今までのコホート研究で知られていたような Stage I/II/III/IV だけでなく、Stage 0 から上昇し、がんの進行に伴い段階的に上昇することを示した。これは、上記のマウス実験が示しているように、*F. nucleatum* が多段階発がんのごく初期の段階で寄与していることを示唆している。一方、*P. stomatis*, *P. anaerobius*, *P. micra* は Stage I/II、Stage III/IV のグループで占有率の上昇がみられたが、腫瘍切除後に占有率が低下したため、発がんの原因ではなく、腫瘍のある環境に適応する菌であると解釈することができる。我々はさらに、大腸ポリープ (腺腫) や Stage 0 でのみ高い占有率を示す菌 *Atopobium parvulum* と *Actinomyces odontolyticus* を新たに特定した。これらの菌はがんのごく初期に関係する、すなわち発がんの要因の一つである可能性が示唆される。また、酪酸産生菌の *Lachnospira multipara* や *Eubacterium eligens*、*Bifidobacterium longum* は大腸がん患者では低い占有率を示した。

我々のメタボローム解析の結果、大腸ポリープ (腺腫) を有する被験者の糞便中に発がん性の腸内細菌産物であるデオキシコール酸 (DCA) が高い濃度で検出された。DCA は、

腸管内に分泌された一次胆汁酸の一部が特定の腸内細菌の代謝によって生産された二次胆汁酸である。DCA は、以前から、大腸がんと関連が指摘されていたが、ヒトの糞便を用いた網羅的な解析で検証されたことは画期的なことである。

今までの知見から、腸内細菌が免疫様々な機構によってがんの発生や進展に関与していることがわかってきた。特に、*F. nucleatum* は上皮細胞の増殖に関わるシグナル伝達経路やがんの免疫機構に作用することでがんを促進することが示されてきた。我々のコホート研究では、腸内細菌組成や腸内代謝物のプロファイルが、がんの進行に伴いどのように変化するかを観察する為に、大規模なメタゲノムデータ、及びメタボロームデータを収集した。その結果、これまでマウス実験で示されていたような *F. nucleatum* の変化や、デオキシコール酸の上昇が大腸がんのごく初期の段階から起っていることを示した。腸内細菌の発がん機構の研究は、免疫学な側面では研究は進んでいるが、腸内細菌の代謝という生化学的な研究は断片的にしか進んでいない。また、食生活とがんの発症の腸内細菌がどのように関係しているのかという研究は始まったばかりである。我々の大規模マルチオミクス研究は、その第一歩となる。

参考文献

1. 国立がん研究センター, がん情報サービス「がん登録・統計」
https://ganjoho.jp/reg_stat/ (引用 2019/11/21)
2. 国立研究開発法人 国立がん研究センター, 社会と健康研究センター 予防研究グループ
「食事パターンと大腸がんリスクとの関連について」| 現在までの成果 | 多目的コホート研究 |
<https://epi.ncc.go.jp/jphc/outcome/7948.html> (引用 2019/11/21)
3. Kolonel, L. N., Altshuler, D. & Henderson, B. E. The multiethnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nat. Rev. Cancer* **4**, 519-527 (2004).
4. Kuriki, K. & Tajima, K. The increasing incidence of colorectal cancer and the preventive strategy in Japan. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **7**, 495-501 (2006).
5. Fearon, E. R. & Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**, 759-767 (1990).
6. Vogelstein, B. et al. Cancer genome landscapes. *Science*. **339**, 1546-58 (2013) .
7. Sender, R., Fuchs, S. & Milo, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* **14**, e1002533 (2016).
8. Aggeletopoulou, I., Konstantakis, C., Assimakopoulos, S. F. & Triantos, C. The role of the gut microbiota in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Microb. Pathog.* **137**, 103774 (2019).
9. Grivennikov, S. I. et al. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* **491**, 254-258 (2012).
10. Kostic, A. D. et al. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res.* **22**, 292-298 (2012).
11. Arthur, J. C. et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* **338**, 120-123 (2012).
12. Wilson, M. R. et al. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science* **363**, eaar7785 (2019).
13. Yachida, S. et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat. Med.* **25**, 968-976 (2019).

Dynamics of the gut microbiome community structure in colorectal carcinogenesis

Takuji Yamada

Tokyo Institute of Technology, Department of Life Science and Technology, Japan

● Multi-step colorectal carcinogenesis and gut microbiota

In Japan, the mortality rate from colorectal cancer (CRC) has increased significantly over the past 30 years, and in 2014, CRC surpassed gastric cancer to become the most prevalent cancer type in Japan¹. Japan is one of the countries with the highest CRC incidences in the world. Westernized dietary habits are considered to be one of the causal factors, but the underlying mechanism has not been clarified^{2,3,4}. Most sporadic CRCs develop from polypoid adenomas and are preceded by intramucosal carcinoma, which can progress into malignant forms^{5,6}. This developmental process is known as the adenoma–carcinoma sequence.

Roughly 40 trillion bacteria are estimated to inhabit the human body⁷, and disturbances of intestinal bacteria are related to various diseases, such as inflammatory bowel disease⁸. In sporadic cancer cases, *Fusobacterium nucleatum*, a periodontal pathogen, was reported to be associated with non-colitis-associated CRC among cases of sporadic CRC⁹. The underlying mechanisms were studied in mouse models and human cell lines. Later, with the advent of next-generation sequencing technologies that produce large amounts of metagenome data, more CRC-associated gut bacteria were identified¹⁰. Additionally, some gut bacterial products such as deoxycholic acid and colibactin have been known to be genotoxyc^{11,12}.

However, it has not been fully elucidated whether changes in the intestinal microbiota are a cause or a result of carcinogenesis, or whether the microbiota contributes to cancer progression. Current knowledge on the potential links between diet and intestinal residues as a trophic resource for the gut microbiota and carcinogenesis is only fragmental. To address this issue, we established a large human cohort study in Japan, in which we collected fecal samples and a food frequency questionnaire from the same subjects and conducted multi-omics analyses to comprehensively study dietary habits and metagenome and metabolome data in relation to CRC¹³. Here we introduce some of the knowledge we obtained from our study.

● The intestinal microbiota and its involvement in colorectal cancer in a Japanese population

Large cohort studies have identified several bacteria and their metabolites that are associated with CRC, mostly in stage I–IV cases; however very limited data are available for intramucosal carcinoma (stage 0), the very early stage of CRC. In order to address these challenges, we have established a large Japanese cohort, where we collected fecal samples from 631 participants, including patients with multiple polypoid adenomas, intramucosal carcinoma (stage 0), stages I–IV, and healthy controls,

undergoing colonoscopy check at the National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan¹³. From 28 of these patients in stages I–III, fecal samples were collected before and after surgical tumor resection. In addition, data on lifestyle were obtained from a detailed questionnaire which includes questions on food frequency as well as known CRC risk factors (age, sex, smoking habits, and alcohol consumption). Firstly, we found that *F. nucleatum* abundance was significantly elevated continuously from stage 0 to more advanced stages. This suggests that *F. nucleatum* contributes in the very early stage of the adenoma-carcinoma sequence, which was in line with the above-mentioned findings in mouse models and human cell lines. On the other hand, *P. anaerobius*, *P. stomatis*, and *P. micra* were predominantly enriched in stage I/II and stage III/IV, and their abundances decreased after tumor resection, which implies that these species might not cause carcinogenesis, but are adapted to the cancerous environment. Secondly, we found that *Atopobium parvulum* and *Actinomyces odontolyticus*, whose relative abundances were higher than those of other CRC-associated bacteria, were significantly increased in multiple polypoid adenomas and/or in stage 0, but were not increased as significantly in more advanced stages. Thirdly, butyrate producers (i.e., *Lachnospira multipara* and *Eubacterium eligens*) and *Bifidobacterium longum* were depleted in several CRC stages.

A metabolome analysis in our Japanese cohort study displayed higher concentrations of DCA in the feces of patients with multiple polypoid adenomas. The findings in the above-mentioned studies and ours support that DCA might be involved in very early carcinogenesis. DCA is a secondary bile acid produced by a specific group of gut bacteria. Primary bile acids are generated from cholesterol in the liver and secreted into the intestine. A number of animal studies in the past few decades have shown the carcinogenic effect of DCA in gastroenterological organs. It is of great importance that this was also verified by in human feces.

Previous findings have revealed that intestinal bacteria are involved in the development and progression of CRC through various mechanisms. In particular, *F. nucleatum* has been shown to promote cancer by acting on signal transduction pathways involved in epithelial cell proliferation and cancer immune mechanisms. In our large-scale cohort study, we collected metagenome and metabolome data to evaluate how the intestinal microbial composition and metabolomic profile change as CRC progresses. We showed that CRC-associated bacteria (e.g., *F. nucleatum*) and microbial metabolites (e.g., DCA) are increased at CRC onset. Immunological studies have largely elucidated the carcinogenic mechanisms of gut microbiota, whereas biochemical research on their metabolites and the carcinogenic effects thereof is limited. Furthermore, research on how dietary habits are related to the intestinal bacteria that promote cancer development has just begun. Further metagenome and metabolome studies might provide answers to these questions.

References

1. 国立がん研究センター, がん情報サービス「がん登録・統計」
https://ganjoho.jp/reg_stat/ (引用 2019/11/21)
2. 国立研究開発法人 国立がん研究センター, 社会と健康研究センター 予防研究グループ
「食事パターンと大腸がんリスクとの関連について」| 現在までの成果 | 多目的コホート研究 |
<https://epi.ncc.go.jp/jphc/outcome/7948.html> (引用 2019/11/21)
3. Kolonel, L. N., Altshuler, D. & Henderson, B. E. The multiethnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nat. Rev. Cancer* **4**, 519-527 (2004).
4. Kuriki, K. & Tajima, K. The increasing incidence of colorectal cancer and the preventive strategy in Japan. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **7**, 495-501 (2006).
5. Fearon, E. R. & Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**, 759-767 (1990).
6. Vogelstein, B. et al. Cancer genome landscapes. *Science*. **339**, 1546-58 (2013) .
7. Sender, R., Fuchs, S. & Milo, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* **14**, e1002533 (2016).
8. Aggeletopoulou, I., Konstantakis, C., Assimakopoulos, S. F. & Triantos, C. The role of the gut microbiota in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Microb. Pathog.* **137**, 103774 (2019).
9. Grivennikov, S. I. et al. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* **491**, 254-258 (2012).
10. Kostic, A. D. et al. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res.* **22**, 292-298 (2012).
11. Arthur, J. C. et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* **338**, 120-123 (2012).
12. Wilson, M. R. et al. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science* **363**, eaar7785 (2019).
13. Yachida, S. et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat. Med.* **25**, 968-976 (2019).

腸内細菌叢と循環器疾患

山下智也

神戸大学医学部附属病院 循環器内科

略歴：

1968年 兵庫県生まれ。1993年 神戸大学医学部医学科卒業、2000年 神戸大学大学院医学系研究科修了。2003年 カリフォルニア大学サンディエゴ校（UCSD）留学。2006年 神戸大学医学部附属病院循環器内科 助教、2012年 講師、2014年 准教授。総合内科専門医、循環器専門医。

主な研究テーマ：動脈硬化、循環器疾患、腸内細菌。

受賞歴：2011年 Daniel Steinberg New Investigator Award in Atherosclerosis（アメリカ心臓協会）、2016年 五島雄一郎賞（日本動脈硬化学会）。

要約：

近年の臨床・基礎研究により腸内常在細菌がヒトの健康維持と疾患の発症に関連することが示された。腸内細菌は生体恒常性維持に関与し、特に代謝機能と免疫機能に大きな影響を与えていることがわかってきた。そして、腸内細菌を様々な疾患の治療標的として利用しようとする研究が世界中で進められている。

循環器領域でも、腸内細菌との関係を調査した研究がなされ、コリンの腸内細菌関連代謝物であるトリメチルアミン N オキシド（TMAO）の血中濃度が高い人は、心血管イベントの発生が多いことが報告された^{1,2)}。さらに、心不全でも TMAO が上昇して予後予測マーカーになりうること³⁾が示されており、この TMAO が循環器疾患の治療標的として注目されている。しかし、多様な腸内細菌の生体作用を、その代謝物の一つ TMAO だけで説明することは不可能であり、我々は循環器疾患と腸内細菌叢との関連を調査している。

臨床研究にて、生活習慣病患者や正常者に比較して冠動脈疾患発症患者では、ラクトバシルス目菌の増加ならびにバクテロイデス門菌の減少が認められることが判明した⁴⁾。その中で、冠動脈疾患患者で有意に減少している *Bacteroides vulgatus* と *Bacteroides dorei* という 2 菌種を見出した。このバクテロイデス 2 菌種を動脈硬化モデルマウスに経口投与すると、血中・糞便中のグラム陰性桿菌の毒素リポポリサッカライド（LPS）の活性が低下し、抗炎症作用を示すとともに動脈硬化が抑制できた⁵⁾。ヒトでも、この 2 菌種の存在比率が高いヒトは、糞便中 LPS 活性が低いことがわかった。本バクテロイデス 2 菌種に注目した腸内細菌への介入治療法を探索しており、紹介したい^{6,7)}。

また、心不全に関しても腸内細菌と代謝物に注目した研究を行い報告した⁸⁾。既報の通り、心不全で血中 TMAO 濃度は上昇していたが、心不全の病態を表すバイオマーカー BNP とは異なる動態を示した。腸内細菌の持つ TMAO の前駆物質を合成する酵素 trimethylamine (TMA) lyase 遺伝子量との関連を解析したので、紹介する⁹⁾。

本講演にて、腸内マイクロバイーム制御による循環器疾患の新たな治療法の開発について概説し、将来の展望をお話して議論できればと考えている。

参考文献

1. Wang Z, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*. 2011; 472: 57-63.
2. Tang WH, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2013; 368: 1575-1584.
3. Tang WH, et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 64: 1908-1914.
4. Emoto T, et al. Analysis of gut microbiota in coronary artery disease patients - A possible link between gut microbiota and coronary artery disease - *J Atheroscler Thromb*. 2016; 23: 908-21.
5. Yoshida N, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* reduce gut microbial lipopolysaccharide production and inhibit atherosclerosis. *Circulation*. 2018; 138: 2486-98.
6. Yoshida N, et al. Effect of Resistant Starch on the Gut Microbiota and Its Metabolites in Patients with Coronary Artery Disease. *J Atheroscler Thromb*. 2019; 26: 705-19.
7. Yoshida N, et al. A possible beneficial effect of *Bacteroides* on faecal lipopolysaccharide activity and cardiovascular diseases. *Sci Rep*. 2020; 10: 13009.
8. Hayashi T, et al. Gut microbiome and plasma microbiome-related metabolites in patients with decompensated and compensated heart failure. *Circ J*. 2018; 83: 182-92.
9. Emoto T, et al. Metagenomic analysis of gut microbiota reveals its role in trimethylamine metabolism in heart failure. *Int J Cardiol*. 2021; 338: 138-42.

Gut Microbiota and Cardiovascular Diseases

Tomoya Yamashita

Kobe University Hospital, Cardiovascular Medicine, Japan

Curriculum vitae:

Born in Hyogo in 1968. Graduated from Kobe University School of Medicine in 1993. Completed PhD Course at Kobe University Graduate School of Medicine in 2000. Study abroad in University of California San Diego from 2003 to 2006. Assistant Professor in Kobe University Hospital in 2006. Associate Professor in 2014.

Main Research Theme; atherosclerosis, cardiovascular diseases, gut microbiota. Award; 2011 Daniel Steinberg New Investigator Award in Atherosclerosis (American Heart Association), 2016 Yuichiro Goto Award (Japan Atherosclerosis Society).

Abstract :

Basic and clinical evidence has revealed the critical roles of microbiota in human health and diseases. Gut microbiota interact with the host through many pathways including immune response and metabolism. Further, gut microbiota has been thought to be therapeutic targets for some diseases including cardiovascular diseases (CVDs).

High plasma concentration of trimethylamine N-oxide (TMAO), one of gut microbiota-associated metabolites, was shown to be related with the incidence of cardiovascular events^{1, 2)} and the prognosis of heart failure³⁾. However, it is difficult to explain the effect of gut microbiota on CVDs using only one gut microbiota-associated metabolite. Therefore, we tried to investigate the relationship between the gut microbiota and CVDs.

Our clinical studies demonstrated that patients with coronary artery disease (CAD) had an increase in Family Lactobacillus and a decrease in Phylum Bacteroidetes compared to control patients⁴⁾. Finally we found a significantly lower abundance of *Bacteroides (B.) vulgatus* and *B. dorei* in CAD patients⁵⁾. Gavage with *B. vulgatus* and *B. dorei* decreased fecal and plasma lipopolysaccharide activity, effectively suppressed pro-inflammatory immune responses, and resulted in attenuating atherosclerotic lesion formation in atherosclerosis-prone mice. Our translational research findings identify that *Bacteroides* two species could be gut microbial drugs for preventing CAD. Now we tried to develop novel therapies of CVDs to control the gut microbiota itself^{6, 7)}.

We also investigated heart failure by focusing on gut microbiota and their metabolites⁸⁾. Plasma TMAO concentration was elevated in heart failure patients compared with controls, but the dynamic was different from that of brain natriuretic

peptide (BNP), an established biomarker of heart failure. We have analyzed the relationship between plasma TMAO level and gut bacterial genes of trimethylamine (TMA) lyase, an enzyme that synthesizes TMAO precursors, and found some specific changes in heart failure⁹.

In this lecture, I would like to outline the development of novel therapies for CVDs by controlling the intestinal microbiome, talk about future prospects, and discuss them.

References

1. Wang Z, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*. 2011; 472: 57-63.
2. Tang WH, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2013; 368: 1575-1584.
3. Tang WH, et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 64: 1908-1914.
4. Emoto T, et al. Analysis of gut microbiota in coronary artery disease patients - A possible link between gut microbiota and coronary artery disease - *J Atheroscler Thromb*. 2016; 23: 908-21.
5. Yoshida N, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* reduce gut microbial lipopolysaccharide production and inhibit atherosclerosis. *Circulation*. 2018; 138: 2486-98.
6. Yoshida N, et al. Effect of Resistant Starch on the Gut Microbiota and Its Metabolites in Patients with Coronary Artery Disease. *J Atheroscler Thromb*. 2019; 26: 705-19.
7. Yoshida N, et al. A possible beneficial effect of *Bacteroides* on faecal lipopolysaccharide activity and cardiovascular diseases. *Sci Rep*. 2020; 10: 13009.
8. Hayashi T, et al. Gut microbiome and plasma microbiome-related metabolites in patients with decompensated and compensated heart failure. *Circ J*. 2018; 83: 182-92.
9. Emoto T, et al. Metagenomic analysis of gut microbiota reveals its role in trimethylamine metabolism in heart failure. *Int J Cardiol*. 2021; 338: 138-42.

腸内細菌叢からみた糖尿病の発症機構

小川佳宏

九州大学大学院医学研究院病態制御内科（第三内科）

略歴：

1962年 大阪府生まれ 1987年 京都大学医学部卒業 1994年～1997年 日本学術振興会特別研究員
1997年～2003年 京都大学医学部附属病院助手 2003年～2012年 東京医科歯科大学難治疾患研究所
教授 2011年～2019年 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科教授 2016年～現在 九州大学大
学院医学研究院教授 2016年～現在 名古屋大学環境医学研究所客員教授

主な研究テーマ：内分泌代謝疾患の成因の解明と治療戦略の開発

主な受賞：2017年度 杉田玄白賞（小浜市） 2019年度 文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）

要約：

近年、わが国における糖尿病患者は約2000万人と推計されている。糖尿病は膵臓の β 細胞に由来するインスリンの不足や作用低下による慢性的な高血糖に特徴付けられる症候群であり、基盤病態の一つとして消化管粘膜バリア機能や腸内細菌叢などの腸内環境の変化が注目されている。

我々は既に、膵頭十二指腸切除術（PD）と膵体尾部切除術（DP）はいずれも膵臓を半分切除するにもかかわらず、PDではDPと比較して術後5年間の糖尿病の累積発症率が著しく低いことを見出した。PDでは近位小腸のバイパス手術後に腸内細菌叢が大きく変化し、糞便中の短鎖脂肪酸と遠位小腸L細胞に由来するGLP-1分泌の増加に伴ってインスリン分泌が増加し、術後糖尿病発症を抑制する可能性が示唆された。

我々は最近、内視鏡下に消化管粘膜バリア機能をリアルタイムに可視化する手法を用いて、糖尿病患者では消化管粘膜バリア機能が障害されていること、これが血糖コントロール状態と逆相関し、腸内細菌叢の変化に関連する可能性を見出した。非糖尿病患者においても腸内細菌叢と消化管粘膜バリアの関連が認められ、腸内細菌による粘膜バリア機能の調節機構が示唆された。

本講演では、糖尿病における腸内環境、特に腸内細菌の病態生理的意義を議論したい。

参考文献

T. Fukuda et al. Importance of intestinal environment and cellular plasticity of islets in the development of postpancreatectomy diabetes. **Diabetes Care** 44: 1002-1011, 2021.

Y. Nishihara et al. Mucosa-associated gut microbiota reflects clinical course of ulcerative colitis. **Sci. Rep.** 11: e13743, 2020.

Pathogenesis of Diabetes Viewed from Intestinal Microbiota

Yoshihiro Ogawa

Department of Medicine and Bioregulatory Science, Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University

Brief curriculum vitae:

Born in Osaka in 1962. Graduated from Kyoto University School of Medicine in 1987. Postdoctoral Fellow at Japan Society of Promotion and Science, 1994 ~ 1997. Assistant Professor at Kyoto University Hospital, 1997 ~ 2003. Professor at Tokyo Medical and Dental University Medical Research Institute, 2003 ~ 2012. Professor at Tokyo Medical and Dental University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 2011 ~ 2019. Professor and Chairman at Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, 2016 ~ present. Visiting Professor at Nagoya University Research Institute of Environmental Medicine, 2016 ~ present.

Main research interest: Understanding the molecular mechanism underlying endocrine and metabolic diseases.

Major awards: 2017, Genpaku Sugita Award (Obama City); 2019, Commendation for Science and Technology by the Minister of Education, Culture, Sports, Science and Technology.

Abstract :

A nationwide study has recently revealed approximately 20 million patients with diabetes in Japan. Diabetes is a group of diseases associated with various metabolic disorders, the main feature of which is chronic hyperglycemia due to insufficient insulin action. Insulin resistance plays a critical role in the pathogenesis of diabetes, which would arise at least partly from elevated systemic endotoxin due to gastrointestinal epithelial barrier damage. There is considerable evidence that altered microbiota or intestinal dysbiosis is involved in the process.

We previously examined the time course of glucose tolerance before and after 2 different types of partial pancreatectomy; pancreatoduodenectomy (PD) and distal pancreatectomy (DP). Although the volume of resected pancreatic tissues is roughly comparable between PD and DP, the cumulative incidence of diabetes in PD is significantly lower than that in DP, in the 5-year postoperative outcomes. After PD, the bypass of proximal intestine results in marked change in the composition of fecal microbiomes and intestinal levels of short-chain fatty acids. The altered intestinal environment might stimulate GLP-1 secretion from the intestinal endocrine L cells, thereby contributing to increased secretion of insulin from the remaining pancreatic tissues.

Recently, we have tried to evaluate the gut epithelial barrier function in patients with diabetes, by measuring the real-time short-circuit current of gut epithelium in situ with

a novel endoscopic apparatus. Our data suggest that high HbA1c levels are associated with gut barrier dysfunction and a certain pattern of dysbiosis.

In this talk, I would discuss the role of intestinal environment in the pathogenesis of diabetes with special reference on microbiota.

References

T. Fukuda et al. Importance of intestinal environment and cellular plasticity of islets in the development of postpancreatectomy diabetes. **Diabetes Care** 44: 1002-1011, 2021.

Y. Nishihara et al. Mucosa-associated gut microbiota reflects clinical course of ulcerative colitis. **Sci. Rep.** 11: e13743, 2020.

腸内フローラと糖質制限ダイエット

Antonio Paoli

パドヴァ大学 生物化学分野 イタリア

略歴：

1989年に体育専門大学 (Istituto Superiore di Educazione Fisica; ISEF) を卒業後、2004年にパドヴァ大学 (イタリア) で医学、2008年にパヴィア大学 (イタリア) でスポーツ医学の学位を取得。2011年からパドヴァ大学・人体解剖生理学部のスポーツ科学の助教を務めた。2013年には同大学のバイオメディカルサイエンス学部・運動スポーツ科学科の准教授、2018年には正教授/学科長に就任した。ムルシア・カトリック大学 (UCAM; スペイン) の筋力トレーニング/スポーツ栄養学科教授/学科長、ロバチェフスキー大学 (ロシア) のヒト健康研究室長、さらにはイタリアスポーツ運動科学学会 (SISMES) および欧州スポーツ栄養学会 (ESNS) の学会長も務める。パドヴァ大学のスポーツ・ウェルネス担当として、2015年10月から2021年まで学長補佐、2021年以降は副学長を務め、学生や教員、職員のためのスポーツ・ウェルネス・健康関連活動の運営に従事している。

現在はパドヴァ大学・バイオメディカルサイエンス学部の栄養・運動生理学研究所長を務め、ヒト運動学の学士課程、予防・リハビリ運動学の修士課程を統括する。主な研究テーマは、ケトン食と断食、腸内細菌叢、運動・食事と骨格筋代謝との相互作用、運動トレーニングに対する適応の分子的機序、様々な筋力トレーニング法が若年者と成人の健康指標と体組成に及ぼす影響など。これまでに国際学術雑誌にて査読付き論文218報を発表し、被引用数は3957件、h指数は34である。学術雑誌 *Nutrients*、*Medicina* (リトアニア)、*Frontiers in Physiology*、*Sport Science for Health*、*Journal of Translational Medicine* の編集委員であり、*Journal of Human Kinetics* と *Aging, Clinical and Experimental Research* の共同編集者も務める。2017年には *European Journal of Sport Science* (EJSS) の年間ベストペーパー賞を共同受賞し、同年 *European College of Sport Science* (ECSS) 学会では *Gatorade Sports Science Institute* (GSSI) 賞1位を受賞した。また、イタリアとヨーロッパの研究助成プロジェクトにおいて数々の研究を主導した。

要約：

ヒトの腸管は、宿主に共生する膨大な数の微生物集団 (マイクロバイオータ) とそれらの遺伝子 (マイクロバイーム) で構成されている。近年、ヒトの健康における微生物叢の重要性に対する関心は非常に高まっており、マイクロバイーム研究は生命科学の中でも重点分野となっている [1]。年齢、環境、出産経路、母乳育児、抗生物質、食生活、運動などの内因性および外因性の要因が腸内細菌叢の構成と機能に影響を及ぼし、中でも食事と運動が主要な因子である [2-5]。栄養に関しては、炭水化物、タンパク質、脂質の総摂取量および/または摂取比率が菌叢構成に大きく影響する。例えば、炭水化物が腸内細菌叢に与える影響は、一般的に食物繊維と呼ばれる、腸内に届き菌に利用される炭水化物 (MACs) の含有量と種類に大きく左右される。MACsは植物、動物組織、食物由来微生物など様々な食品に含まれ、腸内細菌にとって代謝可能な炭水化物供給源となる。MACsは大腸内生態系における「第一発酵槽」として、一般的にバクテロイデスやアクチノバク

テリアなどの有益な短鎖脂肪酸産生菌を増加させる [6]。一方で、タンパク質摂取量の増加は、クロストリジウムやプロテオバクテリアの増殖による過剰なタンパク質発酵を引き起こす可能性がある。栄養と腸内菌叢との関連において、ケトン食 (KD) は一つの実例的な課題といえる。KD は高脂肪、適度なタンパク質と一日 20 グラム以下 (または一日のエネルギー摂取量の 5%) の炭水化物からなる食事プロトコルである [7]。この栄養学的アプローチは 1920 年代から難治性てんかんの治療法として用いられており [8]、その後肥満や代謝性疾患への治療効果が期待できるとしてさらに広まった [9]。実際に KD が体組成を適正化し健康を維持するための効果的で安全な方法であることを示唆する報告も増えつつある一方で、KD の腸内細菌叢に対する影響について重要な問題を提起する研究者もいる。高脂肪食の腸内細菌に対する影響を調査した研究は多数あるが [10-13]、これらは精製高脂肪 - 低繊維食を与えたマウスと水溶性繊維を多く含む標準飼料を与えたマウスを用いた実験モデルでのみ検証されている。そのため、これらの動物実験で得られた結果をケトン食の効果やそれに関連する腸内細菌叢への影響の予測に外挿することはできない [14]。ヒトでは近年、ケトン食が高脂肪食とは異なる腸内細菌叢構成の変化をもたらし、さらにケトン食に限って消化管関連の全身的指標を改善することが確認されている [15]。単なる高脂肪食と KD に多くの根本的な違いがあることは明らかである。KD の腸内細菌叢に対する特異的な代謝作用は、インスリンとグルコース値の低下および β ヒドロキシ酪酸の上昇によって説明できるかもしれない。実際に Turnbaugh らは、KD が宿主内のケトン体、特に β ヒドロキシ酪酸の産生を介して腸内生態系に良い影響を及ぼすことを確認した [15]。研究者らは、KD に関連した消化管内と脂肪組織における炎症性 Th17 細胞の減少が、ケトン食の代謝に対する効果に寄与する潜在的なメカニズムではないかと考察し、KD がより「全身的に」作用する可能性があることを強調した。また、脂質の量だけでなく、脂質の種類や質も考慮されるべきである。実際に、脂肪の種類が異なれば腸内細菌叢への影響も異なり、結果として腸管および全身性の炎症への影響も異なる [16-18]。飽和脂肪がヒトにおける菌叢多様性の低下と体内 LPS 量の増加に関連する一方で [19]、オメガ 3 などの多価不飽和脂肪は菌叢の多様性と豊富さには影響を与えないものの短鎖脂肪酸 (SCFAs) の産生を通じて腸管上皮の完全性と胃腸炎を改善した [20]。さらに、KD と腸内細菌叢の相互作用が KD の効果に極めて重要な役割を果たすことは特筆すべきであり [21-23]、この相互作用は抗けいれん効果や神経血管機能改善などの効果をもたらすために必要なものである [24-26]。我々は最近、植物抽出物と良質な脂質を含む KD をサッカー選手が摂取することで、有害事象や腸内細菌叢プロファイルへの悪影響なしに腸内細菌叢の特性が維持されることを示したが、一方で KD が腸内細菌叢プロファイルに影響し、その変化が KD の有効性に重要な役割を果たすとの報告もある [21-23]。KD の腸内細菌叢への影響に関する様々な結果 (マイナス効果、プラス効果、または変化なし) を理解することは、これらの結果に影響する栄養因子 (タンパク質・脂質の量と質、MACs、プレバイオティクス、プロバイオティクスなど) を解明するために不可欠である。結論として、ヒトにおけるケトン食介入法をより腸内細菌叢を考慮した形で確立するためには、長期的な臨床試験を含むさらなる研究が必要である。

参考文献

1. Lynch SV, Pedersen O: **The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease.** *N Engl J Med* 2016, **375** (24):2369-2379.
2. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA *et al*: **Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome.** *Nature* 2014, **505** (7484):559-563.
3. Scheiman J, Lubber JM, Chavkin TA, MacDonald T, Tung A, Pham LD, Wibowo MC, Wurth RC, Punthambaker S, Tierney BT *et al*: **Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism.** *Nat Med* 2019, **25** (7):1104-1109.
4. Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, Lucey AJ, Humphreys M, Hogan A, Hayes P, O'Reilly M, Jeffery IB, Wood-Martin R *et al*: **Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity.** *Gut* 2014, **63** (12):1913-1920.
5. Barton W, Penney NC, Cronin O, Garcia-Perez I, Molloy MG, Holmes E, Shanahan F, Cotter PD, O'Sullivan O: **The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level.** *Gut* 2018, **67** (4):625-633.
6. Sonnenburg ED, Sonnenburg JL: **Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates.** *Cell Metab* 2014, **20** (5):779-786.
7. Paoli A, Bianco A, Grimaldi KA: **The Ketogenic Diet and Sport: A Possible Marriage?** *Exerc Sport Sci Rev* 2015, **43** (3):153-162.
8. Cooder HR: **Epilepsy in Children: With Particular Reference to the Ketogenic Diet.** *Cal West Med* 1933, **39** (3):169-173.
9. Perez-Guisado J: [Ketogenic diets: additional benefits to the weight loss and unfounded secondary effects]. *Arch Latinoam Nutr* 2008, **58** (4):323-329.
10. Singh RP, Halaka DA, Hayouka Z, Tirosh O: **High-Fat Diet Induced Alteration of Mice Microbiota and the Functional Ability to Utilize Fructooligosaccharide for Ethanol Production.** *Front Cell Infect Microbiol* 2020, **10**:376.
11. Daniel H, Gholami AM, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H, Loh G, Mondot S, Lepage P, Rothballer M, Walker A *et al*: **High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice.** *ISME J* 2014, **8** (2):295-308.
12. Xiao L, Sonne SB, Feng Q, Chen N, Xia Z, Li X, Fang Z, Zhang D, Fjaere E, Midtbo LK *et al*: **High-fat feeding rather than obesity drives taxonomical and functional changes in the gut microbiota in mice.** *Microbiome* 2017, **5** (1):43.
13. Serino M, Luche E, Gres S, Baylac A, Berge M, Cenac C, Waget A, Klopp P, Iacovoni J, Klopp C *et al*: **Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota.** *Gut* 2012, **61** (4):543-553.
14. Morrison KE, Jasarevic E, Howard CD, Bale TL: **It's the fiber, not the fat: significant effects of dietary challenge on the gut microbiome.** *Microbiome* 2020, **8** (1):15.
15. Ang QY, Alexander M, Newman JC, Tian Y, Cai J, Upadhyay V, Turnbaugh JA, Verdin E, Hall KD, Leibel RL *et al*: **Ketogenic Diets Alter the Gut Microbiome Resulting in Decreased Intestinal Th17 Cells.** *Cell* 2020, **181** (6):1263-1275 e1216.
16. Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Backhed F: **Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling.** *Cell Metab* 2015, **22** (4):658-668.
17. Huang EY, Leone VA, Devkota S, Wang Y, Brady MJ, Chang EB: **Composition of dietary fat source shapes gut microbiota architecture and alters host inflammatory mediators in mouse adipose tissue.** *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2013, **37** (6):746-754.
18. Paoli A, Mancin L, Bianco A, Thomas E, Mota JF, Piccini F: **Ketogenic Diet and Microbiota: Friends or Enemies?** *Genes (Basel)* 2019, **10** (7).
19. Wolters M, Ahrens J, Romani-Perez M, Watkins C, Sanz Y, Benitez-Paez A, Stanton C, Gunther K: **Dietary fat, the gut microbiota, and metabolic health - A systematic review conducted within the MyNewGut project.** *Clin Nutr* 2019, **38** (6):2504-2520.
20. Costantini L, Molinari R, Farinon B, Merendino N: **Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota.** *Int J Mol Sci* 2017, **18** (12).
21. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY: **The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet.** *Cell* 2018, **174** (2):497.
22. Newell C, Bombhof MR, Reimer RA, Hittel DS, Rho JM, Shearer J: **Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder.** *Mol Autism* 2016, **7** (1):37.
23. Xie G, Zhou Q, Qiu CZ, Dai WK, Wang HP, Li YH, Liao JX, Lu XG, Lin SF, Ye JH *et al*: **Ketogenic diet poses a significant effect on imbalanced gut microbiota in infants with refractory epilepsy.** *World J Gastroenterol* 2017, **23** (33):6164-6171.
24. Lindefeldt M, Eng A, Darban H, Bjerckner A, Zetterstrom CK, Allander T, Andersson B, Borenstein E, Dahlin M, Prast-Nielsen S: **The ketogenic diet influences taxonomic and functional composition of the gut microbiota in children with severe epilepsy.** *NPJ Biofilms Microbiomes* 2019, **5**:5.
25. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY: **The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet.** *Cell* 2018, **173** (7):1728-1741 e1713.
26. Zhang Y, Zhou S, Zhou Y, Yu L, Zhang L, Wang Y: **Altered gut microbiome composition in children with refractory epilepsy after ketogenic diet.** *Epilepsy Res* 2018, **145**:163-168.

Ketogenic diet and microbiota

Antonio Paoli

Department of Biomedical Sciences-University of Padua, Italy

Brief curriculum vitae:

Antonio Paoli graduated in physical education (ISEF) in 1989, then in 2004 in Medicine (Padova University) and in 2008 he earned the specialization in Sport Medicine (University of Pavia). He became assistant professor of Sport Sciences in 2011 at the Department of Human Anatomy and Physiology, University of Padova (Italy). In 2013 he became associate professor and in 2018 full professor and chair of Exercise and Sport Sciences at the Department of Biomedical Sciences, University of Padova. He is Director and Professor of Strength Training and Sport Nutrition at the University UCAM (Murcia, Spain) and Head of Human Health Laboratory Lobachevsky University - Niznij Novgorod - Russia. He is President of the Italian Society of Sport and Exercise Science (SISMES) and the European Sport Nutrition Society (ESNS). From October, 2015 to 2021, Antonio Paoli has served as Rector's Delegate for Sport and Wellness of the University of Padova, and from 2021 he became Vice Rector for Wellness and Sport , being in charge for managing sport and wellness-health related activities for students, faculties and employees.

He is currently Director of the Nutrition & Exercise Physiology Laboratory of the Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Italy, Dean of the Bachelor Degree in Human Movement Science and Dean of the Master Degree in Preventive and Adapted Physical Activity. His laboratory research interests include ketogenic diet and fasting, gut-microbiota, the interaction of exercise and diet on skeletal muscle metabolism, the molecular bases of exercise training adaptation and the effects of different methodology of resistance training on health parameters and body composition in young and adults. Antonio Paoli published 218 papers in international peer reviewed, indexed journals, with 3957 citations and an H-Index of 34. He serves as member of editorial board for *Nutrients*, *Medicina - Lituania*, *Frontiers in Physiology*, *Sport Science for Health*, *Journal of Translational medicine* and as associate editor for *Journal of Human Kinetics*, and *Aging, Clinical and Experimental Research*. He was the co-recipient of the 2017 year's EJSS Best Paper Award and the recipient of the 1st place of the GSSI Award at the 2017 ECSS conference. Antonio Paoli led many work packages for Italian and European grants.

Five recent publications

Paoli A, Cenci L, Pompei P, Sahin N, Bianco A, Neri M, Caprio M, Moro T. Effects of Two Months of Very Low Carbohydrate Ketogenic Diet on Body Composition, Muscle Strength, Muscle Area, and Blood Parameters in Competitive Natural Body Builders. *Nutrients*. 2021 Jan 26;13 (2):374

Mancin L, Rollo I, Mota JF, Piccini F, Carletti M, Susto GA, Valle G, **Paoli A**. Optimizing

Microbiota Profiles for Athletes: Dream or Reality? *Exerc Sport Sci Rev.* 2021 Jan;49(1):42-49

Paoli A, Mancin L, Caprio M, Monti E, Narici MV, Cenci L, Piccini F, Pincella M, Grigoletto D, Marcolin G. Effects of 30 days of ketogenic diet on body composition, muscle strength, muscle area, metabolism, and performance in semi-professional soccer players. *J Int Soc Sports Nutr.* 2021 Sep 16;18 (1):62.

Paoli A, Mancin L, Bianco A, Thomas E, Mota JF, Piccini F. Ketogenic Diet and Microbiota: Friends or Enemies? *Genes (Basel).* 2019 Jul 15;10 (7):534.

Paoli A, Mancin L, Giacona MC, Bianco A, Caprio M. Effects of a ketogenic diet in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Transl Med.* 2020 Feb 27;18 (1):104

Abstract :

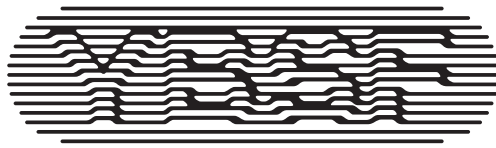
The human intestinal tract is composed of a considerable population of microorganisms (microbiota) and its corresponding gene complement (microbiome), that symbiotically live within the host. In recent years, the awareness of the importance of microbial community in human health has increased tremendously, making the science of microbiome a key area for life sciences [1]. Intrinsic and extrinsic factors including age, environment, birth delivery route, breastfeeding, antibiotics, dietary factors, and exercise, impact the microbial composition and function, with the diet and exercise act as primary modulators [2-5]. Regarding nutrition the total amount and/or the relative percentage of carbohydrate/protein and fat has a great influence on microbiota composition. Indeed, the effect of carbohydrates on the gut microbiota differs widely as a function of microbiota-accessible carbohydrates (MACs) commonly referred to as dietary fiber, content and types. Dietary MACs are found in a variety of sources including plants, animal tissue, or food-borne microbes and represent the source of carbohydrates that are metabolically available for gut microbes. MACs hold a role of “primary fermenters” within the colonic ecosystem and generally tend to increase the production of the beneficial short chain fatty acids (SCFAs) producing bacteria such as Bacteroides and Actinobacteria [6]. Differently, an increased consumption of protein, may lead to an excessive protein fermentation associated with the increased abundance of related taxa such as Clostridium and Proteobacteria. In this regard, ketogenic diet (KD) may represent a paradigmatic example. KD is a dietary protocol consisting of high-fat, adequate protein and less than 20g of carbohydrate daily (or 5% of total daily energy) [7]. This nutritional approach has been used since the 1920s as a treatment for refractory epilepsy [8] and it has gained popularity as a potential treatment for obesity and related metabolic disorders [9]. Indeed, increased amount of evidence point out that KD may represent an efficient and safe solution to get adequate body composition and maintain a general good health, whilst some researchers raised important issues about KD effects on microbiota. As a matter of fact, many studies

[10-13] investigating the effect of a high-fat diet on gut microbiota, but it has been tested only on mouse models fed a refined high-fat, low fiber diet with animals fed a standard chow diet, high in soluble fibers. For this reason, the conclusions arising from these animal studies cannot be adopted to predict the outcomes of a ketogenic diet and, consequently, its associated effect on gut microbiome [14]. In humans, it has been recently confirmed [15] that ketogenic diets differentially alter the composition of gut microbiota when compared to high-fat diet and, further, only ketogenic diet was able to provide positive gut-associated systemic outcomes [15]. It is of evidence that there are many, fundamental differences between a normal CHO/high fat diet and a KD. The low level of insulin and glucose and the high level of beta-hydroxybutyrate may help to explain the peculiar metabolic effect of KD on microbiota. Indeed, Turnbaugh and colleagues confirmed that KD positively affected the gut ecosystem with a mechanism involving the concomitant host production of ketone bodies and particularly of beta-hydroxybutyrate [15]. The authors hypothesized that the KD-associated decreases in pro-inflammatory Th17 cell levels, both in gut and adipose tissues, might have represented a potential mechanism contributing to some metabolic positive effects of ketogenic diet; highlighting that KD might have act as more “systemically”. Moreover, not only the amount of fat should be considered, but also the different type/quality of fats. Indeed, different types of fat are associated with different effects on the gut microbiome and consequential effects on intestinal and systemic inflammation [16-18]. If on one side saturated fat is associated with decreased microbiome diversity and increased availability of LPS [19] in humans, polyunsaturated fat such as omega-3 did not affect microbial diversity and richness. Indeed, polyunsaturated fats improved gut epithelial integrity and gastrointestinal inflammation through the production of short chain fatty acids (SCFAs) [20]. Additionally, it is essential to point out that the interplay between KD and microbiota, plays a pivotal role on the KD’s effects [21-23] ; this interaction it is necessary in order to provide positive effects such the anti-seizure effect and amelioration of neurovascular function [24-26]. Even though, we recently demonstrated that a KD with phytoextracts and good quality fats is able to maintain, in a population of soccer players, microbiota characteristics without any harmful effect or negative modification of microbiome profile, there are other data actually showing an the effects of KD on microbiome profile and these changes plays a positive, pivotal role on the itself activity of KD itself [21-23]. Understanding the different outcomes induced by a KD on microbiota (negative, positive, or no effects) is mandatory to understand the nutritional variables influencing these results (amount/quality of protein and fats, MACs, prebiotics and probiotics, etc). In conclusion, further researches with long-term clinical trials has to be performed in order to establish more precisely microbiota-oriented ketogenic diet interventions in humans.

References

1. Lynch SV, Pedersen O: **The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease.** *N Engl J Med* 2016, **375** (24):2369-2379.
2. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA *et al*: **Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome.** *Nature* 2014, **505** (7484):559-563.
3. Scheiman J, Lubber JM, Chavkin TA, MacDonald T, Tung A, Pham LD, Wibowo MC, Wurth RC, Punthambaker S, Tierney BT *et al*: **Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism.** *Nat Med* 2019, **25** (7):1104-1109.
4. Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, Lucey AJ, Humphreys M, Hogan A, Hayes P, O'Reilly M, Jeffery IB, Wood-Martin R *et al*: **Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity.** *Gut* 2014, **63** (12):1913-1920.
5. Barton W, Penney NC, Cronin O, Garcia-Perez I, Molloy MG, Holmes E, Shanahan F, Cotter PD, O'Sullivan O: **The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level.** *Gut* 2018, **67** (4):625-633.
6. Sonnenburg ED, Sonnenburg JL: **Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates.** *Cell Metab* 2014, **20** (5):779-786.
7. Paoli A, Bianco A, Grimaldi KA: **The Ketogenic Diet and Sport: A Possible Marriage?** *Exerc Sport Sci Rev* 2015, **43** (3):153-162.
8. Cooder HR: **Epilepsy in Children: With Particular Reference to the Ketogenic Diet.** *Cal West Med* 1933, **39** (3):169-173.
9. Perez-Guisado J: [Ketogenic diets: additional benefits to the weight loss and unfounded secondary effects]. *Arch Latinoam Nutr* 2008, **58** (4):323-329.
10. Singh RP, Halaka DA, Hayouka Z, Tirosh O: **High-Fat Diet Induced Alteration of Mice Microbiota and the Functional Ability to Utilize Fructooligosaccharide for Ethanol Production.** *Front Cell Infect Microbiol* 2020, **10**:376.
11. Daniel H, Gholami AM, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H, Loh G, Mondot S, Lepage P, Rothballer M, Walker A *et al*: **High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice.** *ISME J* 2014, **8** (2):295-308.
12. Xiao L, Sonne SB, Feng Q, Chen N, Xia Z, Li X, Fang Z, Zhang D, Fjaere E, Midtbo LK *et al*: **High-fat feeding rather than obesity drives taxonomical and functional changes in the gut microbiota in mice.** *Microbiome* 2017, **5** (1):43.
13. Serino M, Luche E, Gres S, Baylac A, Berge M, Cenac C, Waget A, Klopp P, Iacovoni J, Klopp C *et al*: **Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota.** *Gut* 2012, **61** (4):543-553.
14. Morrison KE, Jasarevic E, Howard CD, Bale TL: **It's the fiber, not the fat: significant effects of dietary challenge on the gut microbiome.** *Microbiome* 2020, **8** (1):15.
15. Ang QY, Alexander M, Newman JC, Tian Y, Cai J, Upadhyay V, Turnbaugh JA, Verdin E, Hall KD, Leibel RL *et al*: **Ketogenic Diets Alter the Gut Microbiome Resulting in Decreased Intestinal Th17 Cells.** *Cell* 2020, **181** (6):1263-1275 e1216.
16. Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Backhed F: **Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling.** *Cell Metab* 2015, **22** (4):658-668.
17. Huang EY, Leone VA, Devkota S, Wang Y, Brady MJ, Chang EB: **Composition of dietary fat source shapes gut microbiota architecture and alters host inflammatory mediators in mouse adipose tissue.** *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2013, **37** (6):746-754.
18. Paoli A, Mancin L, Bianco A, Thomas E, Mota JF, Piccini F: **Ketogenic Diet and Microbiota: Friends or Enemies?** *Genes (Basel)* 2019, **10** (7).
19. Wolters M, Ahrens J, Romani-Perez M, Watkins C, Sanz Y, Benitez-Paez A, Stanton C, Gunther K: **Dietary fat, the gut microbiota, and metabolic health - A systematic review conducted within the MyNewGut project.** *Clin Nutr* 2019, **38** (6):2504-2520.
20. Costantini L, Molinari R, Farinon B, Merendino N: **Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota.** *Int J Mol Sci* 2017, **18** (12).
21. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY: **The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet.** *Cell* 2018, **174** (2):497.
22. Newell C, Bombhof MR, Reimer RA, Hittel DS, Rho JM, Shearer J: **Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder.** *Mol Autism* 2016, **7** (1):37.
23. Xie G, Zhou Q, Qiu CZ, Dai WK, Wang HP, Li YH, Liao JX, Lu XG, Lin SF, Ye JH *et al*: **Ketogenic diet poses a significant effect on imbalanced gut microbiota in infants with refractory epilepsy.** *World J Gastroenterol* 2017, **23** (33):6164-6171.
24. Lindfeldt M, Eng A, Darban H, Bjerckner A, Zetterstrom CK, Allander T, Andersson B, Borenstein E, Dahlin M, Prast-Nielsen S: **The ketogenic diet influences taxonomic and functional composition of the gut microbiota in children with severe epilepsy.** *NPJ Biofilms Microbiomes* 2019, **5**:5.
25. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY: **The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet.** *Cell* 2018, **173** (7):1728-1741 e1713.
26. Zhang Y, Zhou S, Zhou Y, Yu L, Zhang L, Wang Y: **Altered gut microbiome composition in children with refractory epilepsy after ketogenic diet.** *Epilepsy Res* 2018, **145**:163-168.

MEMO



Yakult Bio-Science Foundation