



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Microecology—Review

人体微生态与健康

王保红, 姚铭飞, 吕龙贤, 凌宗欣, 李兰娟*

National Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 December 2016

Revised 9 January 2017

Accepted 12 January 2017

Available online 20 February 2017

关键词

微生物

健康

传染病

肝病

胃肠道恶性肿瘤

代谢紊乱

微生物技术

益生菌

摘要

数以万亿计的微生物寄生于人体表面和体内, 并与人类一起演变。多种环境因素可影响胃肠道生态的平衡, 这些改变与人体健康和疾病密切相关。本文重点关注人体微生态与宿主之间的相互作用, 总体概括微生物在人体基本生命过程中以及主要疾病中所起的作用, 如感染性疾病、肝脏疾病、胃肠道肿瘤、代谢性疾病、呼吸系统疾病、精神或心理疾病和自身免疫性疾病等。我们还综述了微生物研究相关技术的重要进展, 如 DNA 测序、代谢组学和基于计算生物信息学的蛋白质组学。目前对人类微生态的研究已经更加复杂和全面。建议研究应更多关注-宿主微生物的相互作用和因果关系, 这有助于我们更好地了解肠道微生物在人类健康和疾病中的作用, 并为临床实践提供新的治疗靶点和方法。

© 2017 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of the Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

人体表面和体内生活着超过100万亿美元的共生微生物, 它们在人类健康和疾病中发挥着重要作用。人体微生物菌群, 特别是肠道菌群, 还被认为是一个“必要的器官”[1], 其携带的基因组比整个人类基因组大了约150倍[2]。研究表明, 肠道菌群涉及人类的基本生物过程, 包括调节代谢表型、上皮发育和影响先天性免疫等[3–6]。人体微生态已被证实与多种慢性疾病[如肥胖症、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)、糖尿病、代谢综合征、动脉粥样硬化、酒精性脂肪性肝病、非酒

精性脂肪性肝病、肝硬化和肝细胞癌等]密切相关[7,8] (图1)。

数十年来, 大量有力的研究证据表明人体微生态主要通过多个潜在机制在人类健康和疾病中发挥着至关重要的作用[7,9–23]。首先, 微生物菌群可提高食物来源的能量摄取[24], 增加营养获取[9,10], 改变食欲信号传导[25,26]。微生物菌群提供了人类基因组中所不具有的丰富的代谢基因信息, 并为人类提供独特和特异的酶和生物化学通路[9]。此外, 对宿主有益的大部分代谢性微生物过程主要参与营养物获取或异生物加工, 包括未消化的碳水化合物的代谢和维生素的生物合成[10]。

* Corresponding author.

E-mail address: ljl@zju.edu.cn

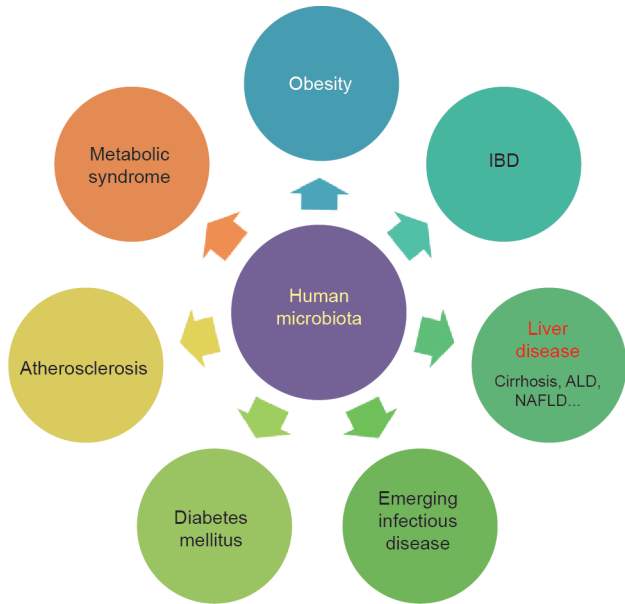


图1. 人体微生态与系统各疾病之间的关系。

其次，人类微生物菌群还提供了物理屏障，主要通过竞争排斥和生产抗菌物质来保护宿主免受外来病原体的侵袭[11–13]。最后，微生物群在宿主的肠黏膜和免疫系统的发育中是必不可少的[14,16]。例如，无菌(germ-free, GF)动物中有多种免疫细胞异常、局部和全身淋巴结构缺陷、脾脏和淋巴结形成不良、细胞因子水平异常[16]。对无菌动物的研究表明，微生物群的免疫调节功能主要参与促进免疫细胞的成熟和免疫功能的正常发展[14]。此外，研究表明共生微生物菌群在许多疾病的发展中有着重要作用[17]，如感染性疾病[18]、肝脏疾病[19]、胃肠道恶性肿瘤[20]、代谢性疾病[7]、呼吸系统疾病[21]、精神或心理疾病[22]和自身免疫性疾病[23]。

在本文中，我们概述了人类微生物菌群在人类健康和疾病中的作用，微生物组关联的研究现状，以及在预防和治疗人类疾病的临床应用中的重要进展。

2. 人体微生态与健康

人体微生态在很大程度上影响着宿主的生理机能。数以万亿计的微生物定植在人体内，包括细菌、古细菌、病毒和真核微生物。人体内包含至少1000种不同种类的已知细菌，并且携带比整个人类基因组多150倍的微生物基因组[2]。微生物组成和功能根据位置、年龄、性别、种族和宿主饮食的不同而不同[27]。

共生菌在人出生后不久就在宿主中定植。随着人的成长，这个简单微生物群落逐渐发展成为一个高度多样化的微生态系统[28]。随着时间的推移，宿主-细菌共

生发展成为有益的关系。共生细菌帮助机体代谢难消化的化合物，提供必需的营养物，防御机会致病菌定植，并有助于肠道结构的形成[29]。例如，肠道菌群可以消化不能被胃和小肠消化的某些食物，并且在维持能量稳态中起关键作用。这些食物主要是膳食纤维，如木葡聚糖，其通常存在于蔬菜中并且可以被特定种类的拟杆菌消化[30]。其他不可消化的纤维，如低聚果糖和低聚糖，可以被有益的微生物利用，如乳酸杆菌和双歧杆菌[31]。研究已经阐明肠道菌群在脂质和蛋白质稳态以及必需营养维生素的微生物合成中的作用[32]。正常的肠道微生物组每天产生50~100 mmol·L⁻¹的短链脂肪酸(SCFA)，如乙酸、丙酸和丁酸，并且作为宿主肠上皮的能量来源[33]。这些SCFA可以在结肠中被快速吸收，并在调节肠动力、炎症、葡萄糖体内平衡和能量获取中起到不同的作用[34,35]。此外，肠道微生物还能向宿主提供维生素，如叶酸盐、维生素K、生物素、核黄素(维生素B₂)、钴胺素(维生素B₁₂)和可能的其他B族维生素。有研究表明，维生素B₁₂可以由δ-氨基乙酰丙酸(ALA)作为前体产生[36]。

此外，肠道定植细菌刺激体液和细胞黏膜免疫系统的正常发育[37]。微生物的信号和代谢物可以被先天免疫系统的造血细胞和非造血细胞感知并转化为生理反应[38]。通过对比正常小鼠与无菌小鼠的研究发现，无菌小鼠在肠道淋巴组织的发育和抗体的产生方面均显示出广泛的缺陷[29,39]。报告还证实肠道微生物会产生作用于肠树突细胞并抑制T辅助细胞17(Th17)抗炎途径的致耐受性反应[40]。然而，并不是所有的微生物群都能带来健康效益。有一部分微生物在某些条件下会诱导炎症反应。

3. 人体微生态与疾病

3.1. 人体微生态与感染性疾病

感染是由微生物群生态失调引起的最常见的疾病之一。重要的是，感染性疾病本身以及其对应的抗菌药物治疗对人体微生态具有深远的影响，微生态变化反过来影响感染的疾病转归(图2)。致病性病原体定植于肠黏膜，从而诱导强烈的炎症反应，随后出现肠道菌群移位[41,42]。许多研究已经证明感染与菌群失调有联系，并且指出感染不仅与细菌相关，而且与病毒也有密切的联系[43,44]。例如，艰难梭菌感染(CDI)的患者的肠道微生物显著改变[45,46]。肠道菌群的变化也与艾滋病(HIV) [44,47]、乙肝(HBV) [48]和其他疾病的进展[49,50]

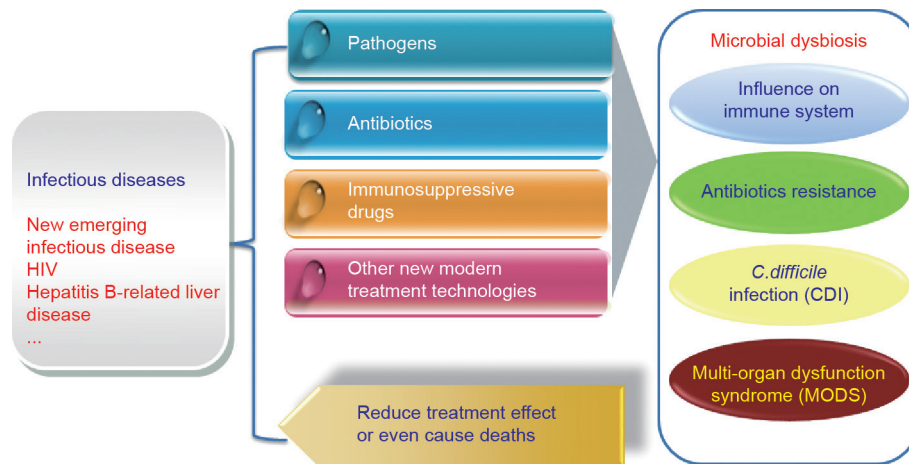


图2. 感染性疾病对人体微生态具有深远的影响。

密切相关。

在治疗感染性疾病中，如新发突发传染病、HIV和艰难梭菌感染等疾病，广泛地使用了抗生素、免疫抑制药物和其他新型现代治疗技术，对人类微生物群具有显著的影响，这一影响又会反过来决定感染性疾病的疾病转归。

3.1.1.1. 艰难梭菌感染

艰难梭菌感染通常与抗生素相关性腹泻有关，抗生素相关性腹泻是抗生素给药后最常见的并发症之一，现在已经对公共卫生产生巨大的威胁，并且日益严重[45]。艰难梭菌是一种厌氧、革兰阳性粗大杆菌、有鞭毛，它是人肠道微生物群的一个组成部分。抗生素扰乱肠黏膜稳态，从而降低对产生毒素的艰难梭菌的抗性，促进CDI的进展[45]。Gu等[45]发现在使用抗生素后，患者无论是否存在CDI，肠道菌群多样性均降低，并且肠道菌群结构发生显著变化。另外，与健康对照相比，无论是否存在CDI，在使用抗生素后的患者肠道中产生丁酸盐的厌氧菌显著减少，而产内毒素的机会致病菌和产乳酸型菌显著增加[45]。肠道菌群这一系列的变化可能增加了机体对艰难梭菌的易感性。Ling等[46]发现不同的产毒性艰难梭菌菌株对儿童的肠道菌群有不同的影响。毒素A和毒素B同为阳性的艰难梭菌菌株，比仅毒素B为阳性的菌株，能更大程度地降低粪便细菌多样性。

3.1.1.2. 幽门螺杆菌感染

幽门螺杆菌是一种会引起消化性疾病的病原体。最近有学者发现它与牙周炎的进展密切相关[49]。Hu等调查幽门螺杆菌感染与牙周病原体和炎症的相关性。他们的研究表明，感染幽门螺杆菌的患者的卟啉单胞菌、中

间层普氏菌、细胞核梭杆菌和密螺旋体的出现率显著高于幽门螺杆菌阴性的患者，而放线菌的出现率较低。结果表明，幽门螺杆菌患者显示牙周炎的深度更深以及出现附着丧失，幽门螺杆菌可能会促进一些牙周病原体的生长，加重慢性牙周炎的进展[49]。

3.1.1.3. 细菌性阴道炎

另一种被称为细菌性阴道病(BV)的感染与许多疾病相关，包括早产和获得性传播感染。BV被认为是阴道微生物群的生态学障碍。使用非依赖培养性聚合酶链反应(PCR)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)和454焦磷酸测序方法，Ling等[50]观察到存在于阴道中的细菌种的绝对和相对丰度均出现显著的变化。对与健康 and 疾病状况相关的群体进行比较后，发现有三个门和八个属与BV显著相关。这些属可以通过分子方法用作临床BV诊断的靶点[50]。

3.1.1.4. HIV 感染

目前，艾滋病仍然是一个重大的全球公共卫生问题。HIV患者的肠道微生物群显著受到破坏，感染HIV-1的患者的厚壁菌门/拟杆菌门的比例显著增加[47]。尽管HIV-1的病毒载量在短期的有效高活性抗逆转录病毒治疗(HAART)后减少，但是粪便微生物群的多样性和组成不能完全恢复，肠道生态失衡仍然存在[47]。非洲少女和年轻妇女具有极高的艾滋病毒感染率，这一现象被认为与生物因素有关。最近，一项研究发现，阴道微生物组可能影响艾滋病毒感染的风险。在阴道中一种被称为*Prevotella bivia*的细菌已被鉴定为可以引起炎症。一种杀菌凝胶可用于分解抗HIV药物替诺福韦，从而导致替诺福韦治疗失败[44]。通过仔细检查阴道微生物组，

Cohen [44]等最近在阴道发现了一种名为*Gardnerella*的特殊细菌,这个发现潜在地解释了南非妇女的高HIV感染率,并强烈地提示阴道微生物组影响HIV感染的风险。Cohen [44]发现*Gardnerella*可以“吞噬”替诺福韦,从而迅速降低药物的水平,并导致替诺福韦治疗失败。

3.2. 人肠道菌群与肝脏疾病

越来越多的证据表明胃肠道与肝脏有着十分紧密的相互作用,肝脏长期暴露于肠源性因子(包括细菌和细菌产物),从而促进“肠肝轴”概念的产生[51]。肠道微生物代谢产生的乙醇、氨和乙醛也可以通过内毒素释放或肝脏代谢从而影响肝脏功能[52]。

肠道菌群的改变可以通过细菌内毒素激活肝脏“库普弗细胞”等途径对各个病因(病毒性、毒理性和代谢异常等)引起的肝脏损伤的发生发展起重要的作用 [53]。同时,肠道菌群还参与多个肝硬化并发症的发生,包括感染、自发性细菌性腹膜炎、肝性脑病和肾功能衰竭。肝硬化患者的肠道菌群组成有明显的改变;研究发现,B级或C级的肝硬化患者的肠道微生物的数量显著高于A级的患者[54, 55]。肝硬化患者的粪便菌群与正常人有着明显的区别。通过16S rRNA基因测序分析发现,在肝硬化患者中,肠道菌群的多样性有差异,尤其是肝硬化患者肠道拟杆菌门显著下降而变形菌门和梭杆菌门显著增加[56]。之前有研究用宏基因组测序发现,拟杆菌门在属的水平上也有显著降低。在这个研究中,中国肝硬化患者的肠道微生物基因目录首次被建立,同时发现中国肝硬化患者中韦永氏球菌属、链球菌和梭状芽孢杆菌的丰度较高[57]。基于我们的前期研究,进一步检测到肝硬化患者存在十二指肠微生态失调。与健康对照组相比,肝硬化患者的十二指肠微生物确实有着显著的差异。我们找到了12个分类操作单位(OTU)在肝硬化组和健康对照组有着显著的差异。其中,两个OTU与是区别乙型肝炎(HBV)肝硬化和原发性胆汁性肝硬化(PBC)的关键微生物标志物。这些发现表明十二指肠微生态失衡与口腔微生态和十二指肠微环境的改变相关[58]。口腔微生态是人体重要的微生物菌群之一。同时,本研究还首次描述了肝硬化患者口腔微生态的多样性和组成,发现肝硬化患者的口腔微生态与健康人和HBV引起的慢性肝病患者的口腔微生态有着显著的差异。有害菌可能源于口腔。另外,慢性肝病患者常伴有口腔疾病[43]。

慢加急性肝衰竭(ACLF)综合征的主要临床特征为

肝硬化伴急性失代偿,在28天内患者有较高的死亡率。根据90天临床结局统计分析,我们首次鉴定发现ACLF患者存在肠道微生态失衡,同时,计算了ACLF患者死亡结局的预测值。我们发现ACLF患者的肠道菌群与健康人群的肠道菌群有显著差异。我们的研究表明在ACLF患者中特殊菌属与一些炎症因子有相关性。我们还发现巴斯德氏菌科的相对丰度和肝脏疾病末期(MELD)模型是两个独立的可以预测死亡率的因子,这表明肠道微生态失衡与慢加急性肝衰竭的死亡率有关[59]。

尽管造成肝硬化的这些变化的具体原因还不明确,但是这些变化显然与肠动力、胆胰分泌物减少,肠道屏障损伤以及肠道酸度降低相关。同时,80%的肝细胞癌(HCC)是从肝脏慢性损伤、炎症或纤维化的环境中发展而来[60]。肠道菌群的变化引起肠道通透性的增加以及Toll样受体的增多,从而促进HCC的发展[60]。

原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎的发病率和流行性正在逐年增加[61]。自身免疫性肝病被认为与遗传易感性的个体环境因子相关;然而,肠道菌群与其发病机理相关。最近,有研究发现原发性硬化性胆管炎-炎性肠病(PSC-IBD)患者与单纯性炎性肠病患者(IBD)和健康对照人群的肠道菌群有差异,具体为埃希氏杆菌属、毛螺菌科和巨型球菌属的丰度显著增加,而拟杆菌属显著减少[62]。另一个研究发现,通过肠道菌群与代谢改变、免疫力和肝功能指标的联合作用,原发性硬化性胆管炎与肠道菌群分类改变存在潜在的相互作用[63]。有证据表明,细菌抗原的移位是通过肠道屏障漏洞和炎症进入门静脉系统;因此,这可能引起机体免疫反应异常以及自身免疫肝病的发生[64]。

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是多因子的成分失调引起的系列疾病。在NAFLD发病期间,基因、表观遗传以及环境因子之间相互作用。非酒精性脂肪性肝炎的肝脏特点是代谢失调。肥胖和胰岛素抵抗常常引起非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。在NAFLD患者中,肝细胞中甘油三酯的积聚是常见的疾病临床表现[65]。肠道微生态的改变被认为在NAFLD的发生发展中起着关键的作用,NAFLD患者中代谢综合征、糖尿病和肝脏疾病相互作用充分地影响了肠道微生态[66]。由于体质指数(BMI)可能是肠道菌群结构改变的决定性因素[7],因此王保红等[8]在研究中直接评估了成年非肥胖NAFLD患者的肠道菌群组成及其与肝脏病理的相关性。在NAFLD损伤研究中,用光谱技术检测肠道微生态失衡,研究发现,

在57个病理检查存在NAFLD病变的患者中，出现纤维化的患者中拟杆菌属和瘤胃球菌属的丰度显著增加，同时，普氏菌属水平显著降低。结合患者代谢信息，肠道微生物分析可以对NAFLD的分级和严重程度进行预测。例如，拟杆菌属仅在NASH中丰度较高，而瘤胃球菌属在NAFLD纤维化中丰度较高[67]。

总的来说，肝脏疾病往往伴随着肠道肠杆菌科的增加和双歧杆菌属的减少。肠道微生态失衡会通过细菌易位引起患者体内内毒素的产生。内毒素会引起免疫功能紊乱，从而进一步引起肝细胞坏死和肝功能衰竭。因此，我们提出发展利用特定的有益菌对肝脏疾病进行预防和治疗(图3)。

多个证据表明肝脏疾病的发生发展伴随着肠道微生态失衡，主要表现为肠杆菌科的增加和拟杆菌属的减少；这些变化引起了肠道微生物的易位(BT)，进一步引起内毒素的增加和自发性细菌性腹膜炎(SBP)，最终加剧肝脏疾病的进程。更重要的是，通过有益菌或益生元的调节，使肠道微生态趋于稳态，对肝脏疾病的预防和治疗有重要的作用。

3.3. 人体微生态与胃肠道恶性肿瘤

胃肠道恶性肿瘤是全世界范围内人类发病率和死亡率较高的一种疾病。除了已被广泛接受的遗传因素之外，癌症风险的非遗传因素，特别是胃肠道中定居的微生物，对胃肠道内癌症的发展具有广泛的影响。胃肠道恶性肿瘤，如胃癌、结肠直肠癌和食管癌的微生物生态研究的最新进展为了解人体微生态在肿瘤发生中的作用提供了新的理解。

3.3.1. 胃癌

幽门螺杆菌引起的慢性炎症被认为是胃癌的最相关的危险因素。每年，大约有660 000例新发的胃癌是由幽门螺杆菌感染引起的，幽门螺杆菌使产酸壁细胞减少，从而引起胃萎缩、化生、发育不良，最终发展成癌症[68]。有趣的是，在慢性萎缩性胃炎发病之前消除幽门螺杆菌可以预防胃癌的发生[69]。作为胃癌的独特致病因素，幽门螺杆菌已被世界卫生组织(WHO)归为I类致癌物。然而，只有1%~2%的幽门螺杆菌感染者会发展成胃癌[70]。致癌风险可能与幽门螺杆菌菌株的遗传多样性、宿主反应的变化和特异性宿主-微生物的相互作用有关[71]。另外，幽门螺杆菌可作为一个预测胃癌发生风险的良好指标[72]。

幽门螺杆菌有两个决定性因素已被深入研究，即CagA和VacA，它们被证明与癌症高风险相关[73]。据报道，VacA促进胃上皮细胞的细胞凋亡和特异性宿主对幽门螺杆菌的反应，从而通过干扰线粒体功能引起胃癌发生[74]。此外，VacA通过诱导树突细胞表达和释放抗炎细胞因子IL-10和IL-18来抑制宿主免疫应答。这种受损的免疫应答促进幽门螺杆菌逃逸并增加肿瘤细胞存活机会[75]。与VacA基因不同，存在于幽门螺杆菌的一些菌株中的cag致病岛(PAI)与显著增加的胃腺癌风险相关[76]。包含cag PAI的基因编码形成IV型细菌分泌系统(T4SS)的蛋白质。T4SS将来自黏附幽门螺杆菌的CagA和肽聚糖导入宿主细胞，从而激活PI3K途径，刺激细胞迁移并促进癌发生[77]。酪氨酸磷酸化后，CagA与几种宿主细胞蛋白相互作用并激活，从而导致细胞形态学的改变，包括细胞分散和延伸[78]。除幽门螺杆菌外，

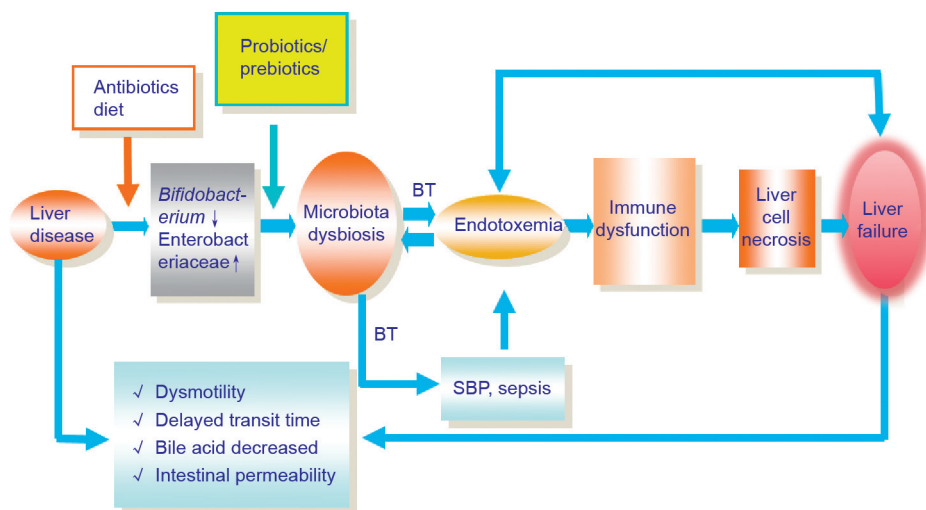


图3. 我们对肝脏疾病中肠道微生态失衡相关途径的猜测。

Lertpiriyapong等[79]注意到共生菌变异型舍德勒氏菌群(ASF)在胰岛-胃泌素(INS-GAS)小鼠中引起更显著的胃病理改变,包括胃体炎症、上皮增生和发育异常。

3.3.2. 结直肠癌

肠道菌群与结肠癌发生发展的相互作用最近已成为研究的主要热点。微生态失调涉及结肠腺瘤和结直肠癌(CRC)的发生。研究已经发现,与健康人相比,腺瘤患者存在肠道微生态的病理性失衡[80, 81]。尽管不同研究的结果不同,但在腺瘤或CRC病例中的微生物群是高比例的潜在病原体,如假单胞菌属、幽门螺杆菌和不动杆菌,以及较低丰度的有益细菌,如产生丁酸盐的细菌[80]。Zackular等[82]观察到带瘤小鼠的肠道菌群促进受体动物中的炎症和肿瘤发生,因此直接促成结直肠癌。这项研究为肠道菌群与CRC发展之间的关系提供了机理性认识。然而,从目前的研究来看,人们仍不清楚微生物群落的改变是腺瘤和CRC发生的原因还是后果。

此外,究竟是哪一个特定细菌在癌症的发病过程中起到关键作用仍有待进一步研究。目前有学者提出,在腺瘤到癌症的疾病进展过程中,一种名为杆状核梭菌(*Fusobacterium nucleatum*)的牙周病原菌表现出过度增长[83]。从晚期腺瘤到癌症,也观察到马赛拟杆菌、卵形拟杆菌、普通酵母和大肠杆菌的显著增加[84]。这种发展的潜在机制包括促进炎症和诱导肿瘤发生[85, 86]。Kostic等[86]观察到在腺瘤性结肠息肉病(APC)多发性小肠肿瘤(Min)小鼠模型中,细胞核杆菌通过促进肠肿瘤的骨髓浸润来调节肿瘤免疫微环境,并增加促炎基因,如PTGS2(COX-2), SCYB1(IL8), IL6, TNF(TNF α)和MMP3。此外,许多研究阐明了细菌抗原、毒力因子和结肠恶性肿瘤之间的联系。产生肠内毒素的脆弱拟杆菌(ETBF)产生一种毒素fragilysin(脆弱拟杆菌毒素, BFT),它能激活Wnt/ β -连环蛋白信号通路以及NF- κ B,因此,增加了细胞增殖以及免疫介质的产生[87-89]。吴等[90]进一步阐明了ETBF在结直肠癌发生中的作用,他们发现,与正常对照相比,ETBF定植的小鼠结肠腺瘤和肿瘤的发生率明显增加。粪肠球菌和大肠杆菌可以促进细胞外超氧化物在宿主细胞中的释放,并编码聚酮化合物合酶(PKS)基因,产生大肠杆菌素,进而诱导DNA损伤[91,92]。虽然这些结果提示肠道菌群参与大肠肿瘤的发生,但仍需要进一步的研究来确定肠道微生物作为CRC生物标志物的潜力或其作为诊断和治疗靶点的作用。

此外,许多细菌衍生的代谢物与结肠癌发展的抑制有关;这些包括短链脂肪酸(SCFAs),其通过微生物对复合多糖的发酵而产生,包括乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐,是结肠上皮细胞的能量来源。丁酸盐主要由毛螺菌科和瘤胃菌科产生,并且发现其对结肠肿瘤有抵抗作用。高纤维食物的摄入被发现能通过产生丁酸盐从而降低结肠肿瘤的发生发展[93,94]。在癌症细胞系的体外研究中,发现丁酸盐主要通过诱导细胞凋亡、抑制增殖、引起基因表达的表现遗传变化以及调节炎症反应和细胞因子水平来发挥肿瘤抑制作用[95]。因此,通过膳食控制或抗生素治疗从而调节肠道微生物组有很大的治疗潜力。通过使用益生元或不可消化的食物成分来控制肠微生物产生SCFAs是一种有前景的用于重建宿主代谢稳态的方法,并且可能因此影响癌症的发生。

3.3.3. 食道癌

最近的研究证实,由胃食管反流引起的食管末端慢性炎症与食管腺癌(EA)密切相关。该发展过程的总体病理生理学可以描述为“胃食管反流障碍-巴雷特氏食道-食管腺癌”(GERD-BE-EA)[96-98]。其发病率的区域差异似乎与经济发展相关。因此,研究人员提出,全世界EA的发病率可能与使用抗生素有关。频繁使用抗生素使食管微生物发生变化,导致GERD的发病率较高,从而导致EA的发病率增加[99]。大量的描述性研究观察了食管反流性疾病患者的食管微生态变化[100]。然而,局部微生物组不能区分鳞状细胞癌和腺癌[101]。此外,幽门螺杆菌对GERD和EA的发病机理尚未得到统一的解释。幽门螺杆菌在1990年被世界卫生组织首次定义为与胃癌有关的致癌物,并且对幽门螺杆菌的根除治疗被广泛执行。此外,研究发现,随着幽门螺杆菌的感染率的下降,GERD的发病率也随着减少[102]。一系列的病例对照研究同样发现幽门螺杆菌对GERD的发展有促进作用,同时也与EA的发病相关。然而,幽门螺杆菌的根除治疗并没有引起GERD的恶化或疾病新发[103]。

3.4. 人类微生物和代谢紊乱

人类肠道微生物组成受抗生素的使用以及宿主体育锻炼、饮食和卫生习惯等生活方式的影响。反过来,肠道微生物的紊乱也会影响宿主免疫介质的生成,诱导慢性炎症和代谢紊乱[104]。肥胖及其相关代谢性疾病(如2型糖尿病、心血管疾病等)已经成为全球流行的健康问

题, 被考虑是宿主基因、饮食、环境和肠道微生物之间复杂多向的相互作用的结果[105]。

3.4.1. 肥胖

越来越多的研究显示肠道微生物与宿主基因型或饮食变化间的相互作用是导致肥胖和相关代谢紊乱的重要因素[106,107]。Ridaura等[108]证明来自瘦的或肥胖孪生老鼠的微生物可诱导相似的肥胖和代谢表型。另外, 如果给小鼠适当的饮食, 来自瘦的孪生老鼠体内的微生物可抑制肥胖受体老鼠的肥胖增加[108]。一些对肠道微生物的研究表明饮食可调控人类[109]和啮齿类动物[110]微生物的组成及功能。例如, 一项研究揭示, 对比喂养鱼油和喂养猪油的老鼠, 11周后发现喂养猪油的老鼠Toll样受体激活上调, 白色脂肪组织炎症增加, 伴随胰岛素敏感性下降[110]。然而, 饮食组之间的表型差异可以部分归因于微生物组成的差异。越来越多的证据表明肠道微生物是饮食与代谢疾病发展之间相互作用的重要调节因子[111]。此外, 最近的研究显示肠道微生物可影响生物钟, 发生昼夜较大的波动[112]。宿主生物钟破坏诱导的紊乱与宿主代谢紊乱相关[113]。肥胖与肠道微生物紊乱和代谢通路改变相关, 可诱导肠道黏膜上皮屏障功能损伤, 显著影响生理过程[114], 如肠道和免疫稳态[115]、能量代谢[116]、乙酸[25]和胆汁酸代谢[117]、肠激素的释放[118]。

3.4.2. 2型糖尿病

2型糖尿病(T2D)是常见的代谢性疾病, 肠道微生物组成与T2D发展之间的联系逐渐被揭示[119–121]。越来越多的研究显示糖尿病与具有较低生物多样性和肠道微生物的改变相关。致病机制可能是肠道微生物菌群异位到其他组织, 从而诱导炎症[122]。Pedersen等[123]最近证明肠道微生物菌种*Prevotella copri*和*Bacteroides vulgatus*可能影响血清代谢组学, 诱导胰岛素抵抗发生。二甲双胍是广泛应用的降糖药之一, 其应用会混淆肠道宏基因组数据分析结果[121]。另外, 肠道微生物可能通过影响氨基酸代谢来直接影响T2D, 这样, 未来糖尿病的治疗策略可针对调控与氨基酸代谢失衡相关的细菌菌株[121,124]。因此, 肥胖及其相关代谢性疾病可能是复杂的基因–环境相互作用的结果。最近, 针对恢复肠道微生物稳态的微生物干预措施已经出现, 如摄入特定纤维或治疗性微生物。这些措施有望降低胰岛素抵抗和减少相关代谢疾病的发生。

3.5. 人体菌群与其他疾病

此外, 越来越多的证据表明, 菌群的改变还与许多其他疾病[如严重哮喘、食物过敏、孤独症和重度抑郁症(MDD)]的发病机制有关[125–130], 这些疾病与菌群的关系最近越来越受到科学家的重视。有趣的是, 这些疾病可能不涉及与菌群的直接相互作用。然而, 菌群的调节功能, 如菌群–肠–脑轴, 可能参与疾病发生的特定途径。复杂的菌群–宿主相互作用是动态的, 涉及免疫、激素和神经途径的各种机制。因此, 菌群的变化可导致宿主稳态的失调和疾病易感性的增加。基于宿主疾病与稳态破坏相互作用的这些公认联系, 以菌群为靶点的治疗可以改变菌群的组成, 并且菌群重建可用于治疗这些疾病。

3.5.1. 菌群与过敏性疾病

生命早期抗生素驱动的肠道菌群多样性的降低增加了宿主对过敏性哮喘的易感性[131], 这在长期随访后发现可以影响儿童哮喘的发展。当然, 婴儿的出生方式、出生地点及婴儿喂养方式也影响肠道菌群的组成, 并随后影响过敏性疾病临床表现的风险[132]。Bunyavanich等[128]发现婴儿在3~6个月龄时富含*Clostridia*和*Firmicutes*的肠道菌群与8岁时牛奶过敏(CMA)的缓解相关。因为婴儿第一年肠道菌群迅速发展, 所以早期肠道菌群的组成可能是儿童期CMA结局的决定因素之一。肠道菌群与免疫系统密切相互作用, 可以提供信号促进调节性抗原呈递细胞和调节性T细胞(Treg)的成熟, 它们在免疫耐受的发展中起关键作用。菌群中的特定成员, 如梭菌属细菌, 可与Treg细胞相互作用并调节免疫球蛋白E(IgE)的水平[133]。Saarinen等[127]研究表明CMA的临床病程和预后高度依赖于牛奶特异性IgE的状态。前期研究还发现, 特异性菌群标志物(如*Clostridium sensu stricto*)可将IgE介导的食物过敏婴儿与非IgE介导的食物过敏婴儿区分开来, 并且*Clostridium sensu stricto*与血清特异性IgE水平呈显著正相关[126]。

3.5.2. 菌群与精神疾病

精神疾病对人类健康构成严重威胁[134]。它们是由生物、心理和环境因素的结合引起的[135–137]。几十年来人们已经认识到肠–脑轴的存在。肠–脑轴在维持正常的脑和肠道功能中起关键作用。最近, 肠道菌群已经成为该轴的关键调节器。这个轴的概念已经延伸到“菌群–肠–脑轴”, 并且现在被认为涉及许多系统, 包括内

分泌系统、神经系统、代谢系统和免疫系统,所有这些系统都在不断地相互作用[138]。肠道菌群失调可增加肠道细菌穿过肠壁易位到肠系膜淋巴组织,从而引发免疫应答,其可导致炎症细胞因子的释放及迷走神经和脊髓传入神经元的活化[139,140]。自闭症(ASD)已被报道与改变的肠道菌群相关,在自闭症儿童的粪便中发现*Akkermansia muciniphila*和双歧杆菌属细菌的相对丰度显著降低[125]。我们先前的研究发现MDD患者粪便菌群的组成显著改变。最显著的是,MDD患者的肠杆菌科细菌和*Alistipes*水平显著增加,但*Faecalibacterium*水平则显著降低[130]。这些研究提示肠道菌群在自闭症和MDD中作为肠-脑轴的一部分的功能作用;这也提示自闭症和MDD的发展和临床表现应该是微生物、遗传和激素变化的综合影响。

4. 微生物研究技术的发展

在过去的几十年中,人类微生物组研究已通过高通量测序技术进行了技术性革命。高通量测序技术为微生物菌群研究提供了关注复杂微生物系统的机会,而不再需要克隆个别基因。最初,微生物菌群研究集中于组成研究(即微生物菌群中有什么?)和功能研究(即它们在做什么?)。随着测序技术和生物信息学分析的发展,研究微生物菌群内微生物的活性变得越来越有趣。被广泛接受的是,具有最高丰度的微生物并不是最活跃的。RNA测序(RNA sequencing, RNAseq)可进行基因表达的分析,并将有价值的表达数据添加到组成数据集。Gosalbes等[141]在2011年对健康人肠道微生物菌群进行了首次元转录组分析。16S转录组的分析展现了活性微生物菌群的系统发育结构。*Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*及*Rickenellaceae*是活性微生物群中检测到的主要科。研究发现肠道微生物群的主要功能性作用是碳水化合物代谢、能量生成和细胞组分的合成。肠道宏基因组与宏转录组的系统比较显示,相对于其基因组丰度,大部分(41%)微生物转录物未发生差异调节。元转录组比DNA水平功能更个性化,但两者的微生物组成变化不大[142]。最近有研究者利用RNAseq对牙周微生物群中噬菌体群落进行了转录组分析,发现在相对牙周健康的个体中,患者口腔噬菌体的表达明显增高[143]。

为了实现未来的基于微生物组的精准医学,有必要了解哪些个体微生物在健康或疾病条件下介导重要的微

生物组-宿主的相互作用。目前,大多数肠道微生物是不可培养的。即使使用最新的技术,如无菌小鼠和厌氧培养技术,培养的菌群种类也仅为通过16S rDNA高通量测序鉴定的细菌种类的一半[144]。此外,由于大多数功能多样性只能反映菌株水平,因此物种水平的鉴定可能不反映真实情况。因此,开发用于鉴定和分离这些微生物和(或)微生物聚生体的技术至关重要。

与传统的微生物学方法相比,使用厌氧条件和无菌动物可极大地促进难以生长的微生物的培养。许多以前不可培养的微生物现在可以在实验室环境中培养[145]。最近开发了基于芯片的隔离装置(iChip),其被专门设计用于鉴定复杂微生物生态系统中的不可生存的微生物[146]。iChip由数百个微型扩散室组成,其中每个都用单个环境细胞接种。使用iChip的微生物的回收能力比标准培养高出许多倍,并且所得物种具有显著的系统发育新颖性[146]。随后开发的用于原位培养的新装置(I-tip),其主体类似于iChip的主体;然而,I-tip可捕获凝胶内的个体微生物,从而允许代谢物和营养物通过。使用I-tip从无脊椎动物生物体中原位分离微生物,已经从34种新型微生物物种中回收得到分离物[147]。

模拟胃肠道条件可以极大地促进体外培养。人肠道微生物生态系统(simulator of the human intestinal microbial ecosystem, SHIME)的模拟器已成功构建稳定的、可在反应器生长的GIT微生物群落。更重要的是,这个系统能够精确模拟人类GIT的不同区域,从而允许在体外不同的环境中对微生物菌群的多样性进行研究。SHIME的作用已经通过大量研究进行评估[148-150]。例如,研究发现当与微生物一起培养时,SHIME的不同区域会被不同的独特微生物群落定居。该分布与活的宿主的分布高度相似,如*Bacterioides/Prevotella* spp.和*Lactobacillus* spp.普遍存在于结肠[148]。

鉴定产生的代谢物利于复杂微生物生态系统的单个细胞,对于理解菌群-宿主的相互作用非常重要。为此,最近已经开发了使用微流体和荧光激活细胞分选的组合灵活的高通量方法[151]。该系统已经成功地在人口中鉴定了消耗木糖的酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和产生L-乳酸的大肠杆菌(*Escherichia coli*)。该系统还允许在已知途径中筛选突变体。

在微生物组研究中传统动物模型可继续提供对宿主-微生物群相互作用的深入研究。然而,动物模型通常不可预测在人体中的结果,因此当考虑与药物和营养物的口服吸收相关的挑战时,会造成特殊的问题。在这

里,我们介绍基于干细胞的体外模拟的两种方法:芯片上的肠道系统(gut-on-a-chip system)和结肠干细胞构建。芯片上的肠道系统利用生物材料工程,并提供了一种可选的方法来研究肠道微生物组内发生的复杂相互作用。该系统是基于体外活细胞的肠模型,模拟人肠道的性质以及关键的微生物共生体。仿生人类芯片上的肠道微器件通常由微流体通道和多孔柔性膜组成,其涂覆有细胞外基质并且排列有人肠上皮细胞[152];这样的装置可模拟活肠道的复杂结构和生理学。微流体装置也可用于研究微生物-微生物的相互作用,如趋化/化学吸引和群体感应[153];研究显示使用微流体装置比使用传统的基于毛细管的测定方法可更有效地研究这种相互作用[154]。此外,鉴于可重现正常人肠道的许多复杂功能,它也可能成为药物筛选和毒理学测试的平台。

结肠干细胞构建是最近开发的体外系统,被用来促进微结构引导的3D器官样结肠上皮结构的生长,而无需使用微流体技术[155]。在人工基底膜覆盖中,从包含单独生长结构的阵列中可以收集到来源于结肠干细胞或肠干细胞的球形3D结构。这些无膜的3D干细胞衍生的类器官,包含各种分化的细胞类型,形成类似于肠或结肠上皮的屏障[156, 157]。这些类器官最近应用于证明肠炎沙门氏菌可以成功侵入上皮细胞层[157],而艰难梭菌可以破坏上皮屏障功能[158]。尽管这种技术仍处于初期阶段,然而与现有模型相比,该技术为更高通量的微生物组研究提供了更新颖且有价值的方法。

5. 人体微生态的应用

人体微生态是一种重要的资源,在遗传多样性保护、健康维护、免疫代谢功能促进、药物功能发挥等方面具有不可替代的作用。一方面,虽然迄今为止大多数人体微生态中的微生物还不可培养,它们当中存在许多潜在的益生菌或有益菌,可以预防或治疗某些疾病[159]。例如,肠道中存在多种乳酸杆菌和大肠杆菌,它们当中的一部分已被发现具有重要的益生菌功能,但仍有众多成员的性质和功能值得深入研究;近期研究还发现了许多新的潜在有益菌,如具有潜在治疗炎症性肠病和肠易激综合征的普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*),以及改善代谢健康的嗜黏蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*)等[160],它们的发现极大地促进了人们对益生菌的认识及相关研究应用的发展。另一方面,人体微生物,尤其是肠道菌群编码基因的数量

是人类基因的100倍左右,被视为人类第二基因组,预示这些微生物将产生大量的代谢产物。尽管目前分离鉴定出哪些代谢物是由人体携带微生物群产生的仍然是一个巨大的挑战,但一些已分离到的代谢产物已经体现出人体携带菌群代谢产物的重要价值。例如,Chu等[161]发现源自人体微生物的sequencing具有杀灭耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的活性。

随着人类微生物组与各种疾病的关系披露的增加,如何利用这些结果来预测或诊断疾病已经引起了很多关注[162]。一些研究认为微生物的富集是某些疾病的潜在生物标志物;然而,这些人体菌群的变化也会在其他疾病中发现,给利用肠道菌群诊断疾病提供了新的挑战。与之相比,基于宏基因组分析建立的多基因疾病诊断和预测的临床模型显得更加具有优势。此外,我们发现双歧杆菌和肠杆菌科细菌的比值(B/E值)可体现肠道的定植抗力,从而作为人体肠道菌群健康与否的一个指标。健康人的B/E值通常大于1.0,而很多患有不同疾病的患者,如肝硬化患者和H7N9感染患者,B/E值往往远小于1.0 [163,164]。

基于人体微生态的疾病预防和治疗研究已经取得了重要进展,某些治疗方法和技术甚至已经得到了临床应用。首先,调节肠道菌群在临床感染性疾病的预防和治疗上已经获得了良好的应用。研究发现,利用口服益生菌来维持H7N9感染患者肠道菌群平衡,能够促进患者康复、降低病死率[164]。一些研究甚至发现,粪移植在治疗艰难梭菌感染方面比抗生素的效果更佳[165]。其次,肠道菌群调节在肝脏疾病防治中的作用研究也有了重要进展。例如,一项临床试验表明,口服益生菌VSL#3可以缓解肝硬化患者的疾病严重程度和减少住院时间[166];研究发现唾液乳杆菌L101或戊糖片球菌II05灌胃能显著改善D-氨基半乳糖诱导的大鼠急性肝损伤[167]。第三,研究发现肠道微生态调节在治疗感染性腹泻、抗生素相关性腹泻、炎症性肠病和坏死性小肠结肠炎中具有重要的作用。例如,给成年小鼠口服源自人体肠道菌群的17种梭状芽胞杆菌混合物,能够缓解结肠炎和过敏性腹泻[168]。第四,对肠道菌群的调节也可能有助于治疗癌症。一项研究表明,癌症治疗的最佳反应需要一个完整的共生微生物群,来调节肿瘤微环境下骨髓来源细胞的功能[169]。另一项研究表明,肠道微生物可以帮助塑造环磷酰胺的抗癌免疫反应[170]。此外,许多临床研究表明,益生菌及其制品也对过敏性疾病尤其是婴儿过敏性疾病具有显著疗效[171]。

6. 展望

人类微生物群在人宿主的健康中起重要作用，并且积极参与多种疾病的发展。鉴于微生物在整个人体中的广泛影响，我们建议在未来更应该注重对宿主-微生物群相互作用的研究，而不仅仅是微生物的表性特征和组成改变。从微生物群的结构到功能，未来的研究应该注重微生物群与疾病的因果关系解释。利用新的微生物群功能预测技术、微生物群相互作用模型及新型的分析和模拟方法，未来的发展将有助于探究微生物群与人类发展之间的相互作用，以及参与各种疾病机制中微生物群的潜在作用，如肝病、细菌感染、肿瘤、精神性疾病和代谢性疾病。应该在更深层次上研究人类微生物群的关键作用，并将基于微生物的诊断和治疗策略用于未来的个性化医疗工作。

Acknowledgements

This study was supported by grants from the National Basic Research Program of China (973 Program, 2013CB531401), the Major Science and Technology Program of Zhejiang Province (2014C03039), and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (R16H260001). We acknowledge Doctors Chunlei Chen, Bo Li, Jing Guo, Ding Shi, Qionglng Bao, Silan Gu, Yanfei Chen, Kai Zhou, Qixiang Luo, Ruiqi Tang, and Xiangyang Jiang for the literature search and the preparation for the manuscript. We also thank the reviewers for their thoughtful and helpful comments.

Compliance with ethics guidelines

Baohong Wang, Mingfei Yao, Longxian Lv, Zongxin Ling, and Lanjuan Li declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006;7(7):688–93.
- [2] Ursell LK, Haiser HJ, Van Treuren W, Garg N, Reddivari L, Vanamala J, et al. The intestinal metabolome: an intersection between microbiota and host. *Gastroenterology* 2014;146(6):1470–6.
- [3] Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(12):6578–83.
- [4] Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977;31(1):107–33.
- [5] Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 2006;124(4):837–48.
- [6] Wang B, Li L. Who determines the outcomes of HBV exposure? *Trends Microbiol* 2015;23(6):328–29.
- [7] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006;444(7122):1022–3.
- [8] Wang B, Jiang X, Cao M, Ge J, Bao Q, Tang L, et al. Altered fecal microbiota correlates with liver biochemistry in nonobese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep* 2016;6:32002.
- [9] Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006;312(5778):1355–9.
- [10] Roberfroid MB, Bornet F, Bouley C, Cummings JH. Colonic microflora: nutrition and health. Summary and conclusions of an International Life Sciences Institute (ILSI) [Europe] workshop held in Barcelona, Spain. *Nutr Rev* 1995;53(5):127–30.
- [11] Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, Hooper LV. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 2006;313(5790):1126–30.
- [12] Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol* 2003;4(3):269–73.
- [13] Schaubert J, Svanholm C, Termén S, Iffland K, Menzel T, Scheppach W, et al. Expression of the cathelicidin LL-37 is modulated by short chain fatty acids in colonocytes: relevance of signalling pathways. *Gut* 2003;52(5):735–41.
- [14] Bouskra D, Brézillon C, Bérard M, Werts C, Varona R, Boneca IG, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature* 2008;456(7221):507–10.
- [15] Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Innate immune recognition of the indigenous microbial flora. *Mucosal Immunol* 2008;1(Suppl 1):S10–4.
- [16] Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004;4(6):478–85.
- [17] Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* 2010;90(3):859–904.
- [18] Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008;134(2):577–94.
- [19] Liu Q, Duan Z, Ha D, Bengmark S, Kurtovic J, Riordan SM. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2004;39(5):1441–9.
- [20] Scanlan PD, Shanahan F, Clune Y, Collins JK, O'Sullivan GC, O'Riordan M, et al. Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. *Environ Microbiol* 2008;10(3):789–98.
- [21] Verhulst SL, Vael C, Beunckens C, Nelen V, Goossens H, Desager K. A longitudinal analysis on the association between antibiotic use, intestinal microflora, and wheezing during the first year of life. *J Asthma* 2008;45(9):828–32.
- [22] Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002;35(Suppl 1):S6–16.
- [23] Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 2008;455(7216):1109–13.
- [24] 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.
- [25] Perry RJ, Peng L, Barry NA, Cline GW, Zhang D, Cardone RL, et al. Acetate mediates a microbiome-brain-β-cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature* 2016;534(7606):213–7.
- [26] Cani PD, Dewever C, Delzenne NM. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br J Nutr* 2004;92(3):521–6.
- [27] Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology* 2014;146(6):1449–58.
- [28] Rogier EW, Frantz AL, Bruno ME, Wedlund L, Cohen DA, Stromberg AJ, et al. Lessons from mother: long-term impact of antibodies in breast milk on the gut microbiota and intestinal immune system of breastfed offspring. *Gut Microbes* 2014;5(5):663–8.
- [29] Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9(5):313–23.
- [30] Larsbrink J, Rogers TE, Hensworth GR, McKee LS, Tauzin AS, Spadiut O, et al. A discrete genetic locus confers xyloglucan metabolism in select human gut Bacteroidetes. *Nature* 2014;506(7489):498–502.
- [31] Goh YJ, Klaenhammer TR. Genetic mechanisms of prebiotic oligosaccharide metabolism in probiotic microbes. *Annu Rev Food Sci Technol* 2015;6:137–56.
- [32] Morowitz MJ, Carlisle EM, Alverdy JC. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surg Clin North Am* 2011;91(4):771–85.
- [33] Duncan SH, Louis P, Thomson JM, Flint HJ. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. *Environ Microbiol* 2009;11(8):2112–22.
- [34] Cani PD, Everard A, Duparc T. Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism. *Curr Opin Pharmacol* 2013;13(6):935–40.
- [35] Flint HJ, Scott KP, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9(10):577–89.
- [36] Kang Z, Zhang J, Zhou J, Qi Q, Du G, Chen J. Recent advances in microbial production of δ-aminolevulinic acid and vitamin B₁₂. *Biotechnol Adv* 2012;30(6):1533–42.
- [37] Cebra JF. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 1999;69(5):1046S–51S.
- [38] Thaiss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity.

- Nature 2016;535(7610):65–74.
- [39] Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN. *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999;116(5):1107–14.
- [40] Magrone T, Jirillo E. The interplay between the gut immune system and microbiota in health and disease: nutraceutical intervention for restoring intestinal homeostasis. *Curr Pharm Des* 2013;19(7):1329–42.
- [41] Brenchley JM, Douek DC. Microbial translocation across the GI tract. *Annu Rev Immunol* 2012;30:149–73.
- [42] Hand TW, Dos Santos LM, Bouladoux N, Molloy MJ, Pagán AJ, Pepper M, et al. Acute gastrointestinal infection induces long-lived microbiota-specific T cell responses. *Science* 2012;337(6101):1553–6.
- [43] Ling Z, Liu X, Cheng Y, Jiang X, Jiang H, Wang Y, et al. Decreased diversity of the oral microbiota of patients with hepatitis B virus-induced chronic liver disease: a pilot report. *Sci Rep* 2015;5:17098.
- [44] Cohen J. Vaginal microbiome affects HIV risk. *Science* 2016;353(6297):331.
- [45] Gu S, Chen Y, Zhang X, Lu H, Lv T, Shen P, et al. Identification of key taxa that favor intestinal colonization of *Clostridium difficile* in an adult Chinese population. *Microbes Infect* 2016;18(1):30–8.
- [46] Ling Z, Liu X, Jia X, Cheng Y, Luo Y, Yuan L, et al. Impacts of infection with different toxigenic *Clostridium difficile* strains on faecal microbiota in children. *Sci Rep* 2014;4:7485.
- [47] Ling Z, Jin C, Xie T, Cheng Y, Li L, Wu N. Alterations in the fecal microbiota of patients with HIV-1 infection: an observational study in a Chinese population. *Sci Rep* 2016;6:30673.
- [48] Xu M, Wang B, Fu Y, Chen Y, Yang F, Lu H, et al. Changes of fecal *Bifidobacterium* species in adult patients with hepatitis B virus-induced chronic liver disease. *Microb Ecol* 2012;63(2):304–13.
- [49] Hu Z, Zhang Y, Li Z, Yu Y, Kang W, Han Y, et al. Effect of *Helicobacter pylori* infection on chronic periodontitis by the change of microecology and inflammation. *Oncotarget* 2016;7(41):66700–12.
- [50] Ling Z, Kong J, Liu F, Zhu H, Chen X, Wang Y, et al. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis. *BMC Genomics* 2010;11:488.
- [51] Giannelli V, Di Gregorio V, Iebba V, Giusto M, Schippa S, Merli M, et al. Microbiota and the gut-liver axis: bacterial translocation, inflammation and infection in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014;20(45):16795–810.
- [52] Nardone G, Rocco A. Probiotics: a potential target for the prevention and treatment of steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004;38(Suppl 2):S121–2.
- [53] Cesaro C, Tiso A, Del Prete A, Cariello R, Tuccillo C, Cotticelli G, et al. Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011;43(6):431–8.
- [54] Lakshmi CP, Ghoshal UC, Kumar S, Goel A, Misra A, Mohindra S, et al. Frequency and factors associated with small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis of the liver and extra hepatic portal venous obstruction. *Dig Dis Sci* 2010;55(4):1142–8.
- [55] Gupta A, Dhiman RK, Kumari S, Rana S, Agarwal R, Duseja A, et al. Role of small intestinal bacterial overgrowth and delayed gastrointestinal transit time in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2010;53(5):849–55.
- [56] Chen Y, Yang F, Lu H, Wang B, Chen Y, Lei D, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 2011;54(2):562–72.
- [57] Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014;513(7516):59–64.
- [58] Chen Y, Ji F, Guo J, Shi D, Fang D, Li L. Dysbiosis of small intestinal microbiota in liver cirrhosis and its association with etiology. *Sci Rep* 2016;6:34055.
- [59] Chen Y, Guo J, Qian G, Fang D, Shi D, Guo L, et al. Gut dysbiosis in acute-on-chronic liver failure and its predictive value for mortality. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30(9):1429–37.
- [60] Dapito DH, Mencin A, Gwak GY, Pradere JP, Jang MK, Mederacke I, et al. Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell* 2012;21(4):504–16.
- [61] Ozaslan E, Efe C. Further considerations in autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2016;64(6):1457–8.
- [62] Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GD, Hirschfield GM, Hold G, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut* 2016;65(2):330–9.
- [63] Lv L, Fang D, Shi D, Chen D, Yan R, Zhu Y, et al. Alterations and correlations of the gut microbiome, metabolism and immunity in patients with primary biliary cirrhosis. *Environ Microbiol* 2016;18(7):2272–86.
- [64] Björnsson E, Cederborg A, Åkvist A, Simren M, Stotzer PO, Bjarnason I. Intestinal permeability and bacterial growth of the small bowel in patients with primary sclerosing cholangitis. *Scand J Gastroenterol* 2005;40(9):1090–4.
- [65] Tilg H, Moschen AR, Roden M. NAFLD and diabetes mellitus. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14(1):32–42.
- [66] Wesolowski SR, Kasmi KC, Jonscher KR, Friedman JE. Developmental origins of NAFLD: a womb with a clue. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. Epub 2016 Oct 26.
- [67] Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology* 2016;63(3):764–75.
- [68] de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol* 2012;13(6):607–15.
- [69] Wong BCY, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al.; China Gastric Cancer Study Group. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291(2):187–94.
- [70] Herrera V, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. *Clin Microbiol Infect* 2009;15(11):971–6.
- [71] El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000;404(6776):398–402.
- [72] de Sablet T, Piazzuelo MB, Shaffer CL, Schneider BG, Asim M, Chaturvedi R, et al. Phylogeographic origin of *Helicobacter pylori* is a determinant of gastric cancer risk. *Gut* 2011;60(9):1189–95.
- [73] Rhead JL, Letley DP, Mohammadi M, Hussein N, Mohagheghi MA, Eshagh Hosseini M, et al. A new *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology* 2007;133(3):926–36.
- [74] Cover TL, Krishna US, Israel DA, Peek RM Jr. Induction of gastric epithelial cell apoptosis by *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *Cancer Res* 2003;63(5):951–7.
- [75] Oertli M, Sundquist M, Hitzler I, Engler DB, Arnold IC, Reuter S, et al. DC-derived IL-18 drives Treg differentiation, murine *Helicobacter pylori*-specific immune tolerance, and asthma protection. *J Clin Invest* 2012;122(3):1082–96.
- [76] Blaser MJ, Perez-Perez GI, Klebanoff H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1995;55(10):2111–5.
- [77] Kaparakis M, Turnbull L, Carneiro L, Firth S, Coleman HA, Parkington HC, et al. Bacterial membrane vesicles deliver peptidoglycan to NOD1 in epithelial cells. *Cell Microbiol* 2010;12(3):372–85.
- [78] Odenbreit S, Püls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* *cagA* into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 2000;287(5457):1497–500.
- [79] Lertpiriyapong K, Whary MT, Muthupalani S, Lofgren JL, Gamazon ER, Feng Y, et al. 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(1):54–63.
- [80] Sanapareddy N, Legge RM, Jovov B, McCoy A, Burcal L, Araujo-Perez F, et al. Increased rectal microbial richness is associated with the presence of colorectal adenomas in humans. *ISME J* 2012;6(10):1858–68.
- [81] Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012;22(2):299–306.
- [82] Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, Sadler WD, Petrosino JF, Chen GY, et al. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *MBio* 2013;4(6):e00692–13.
- [83] Keku TO, McCoy AN, Azcarate-Peril AM. *Fusobacterium* spp. and colorectal cancer: cause or consequence? *Trends Microbiol* 2013;21(10):506–8.
- [84] Feng Q, Liang S, Jia H, Stadlmayr A, Tang L, Lan Z, et al. Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Nat Commun* 2015;6:6528.
- [85] Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/β-catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 2013;14(2):195–206.
- [86] Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* 2013;14(2):207–15.
- [87] Sokol SY. Wnt signaling and dorso-ventral axis specification in vertebrates. *Curr Opin Genet Dev* 1999;9(4):405–10.
- [88] Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev* 2009;22(2):349–69.
- [89] Shiryayev SA, Remacle AG, Chernov AV, Golubkov VS, Motamedchaboki K, Muranaka N, et al. Substrate cleavage profiling suggests a distinct function of *Bacteroides fragilis* metalloproteinases (fragilysin and metalloproteinase II) at the microbiome-inflammation-cancer interface. *J Biol Chem* 2013;288(48):34956–67.
- [90] Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009;15(9):1016–22.
- [91] Huycke MM, Abrams V, Moore DR. *Enterococcus faecalis* produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. *Carcinogenesis* 2002;23(3):529–36.
- [92] Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède JP. *Escherichia coli* induces DNA damage *in vivo* and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(25):11537–42.
- [93] Howe GR, Benito E, Castelletto R, Cornée J, Estève J, Gallagher RP, et al. Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *J Natl Cancer Inst* 1992;84(24):1887–96.
- [94] Clausen MR, Bonnén H, Mortensen PB. Colonic fermentation of dietary fibre to short chain fatty acids in patients with adenomatous polyps and colonic cancer. *Gut* 1991;32(8):923–8.
- [95] Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H, et al. Activation

- of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity* 2014; 40(1):128–39.
- [96] Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999;340(11):825–31.
- [97] Lagergren J. Adenocarcinoma of oesophagus: what exactly is the size of the problem and who is at risk? *Gut* 2005;54(Suppl 1):i1–5.
- [98] Anderson LA, Murphy SJ, Johnston BT, Watson RG, Ferguson HR, Bamford KB, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and gastric atrophy and the stages of the oesophageal inflammation, metaplasia, adenocarcinoma sequence: results from the FINBAR case-control study. *Gut* 2008;57(6):734–9.
- [99] Pei Z, Bini EJ, Yang L, Zhou M, Francois F, Blaser MJ. Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(12):4250–5.
- [100] Yang L, Lu X, Nossa CW, Francois F, Peek RM, Pei Z. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome. *Gastroenterology* 2009;137(2):588–97.
- [101] Finlay IG, Wright PA, Menzies T, McArdle CS. Microbial flora in carcinoma of oesophagus. *Thorax* 1982;37(3):181–4.
- [102] El-Serag HB, Sonnenberg A. Opposing time trends of peptic ulcer and reflux disease. *Gut* 1998;43(3):327–33.
- [103] Hamada H, Haruma K, Mihara M, Kamada T, Yoshihara M, Sumii K, et al. High incidence of reflux oesophagitis after eradication therapy for *Helicobacter pylori*: impacts of hiatal hernia and corpus gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14(6):729–35.
- [104] Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013;11(4):227–38.
- [105] Franks PW, McCarthy MI. Exposing the exposures responsible for type 2 diabetes and obesity. *Science* 2016;354(6308):69–73.
- [106] Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al.; MetaHIT Consortium. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013;500(7464):541–6.
- [107] Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457(7228): 480–4.
- [108] 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.
- [109] David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014;505(7484):559–63.
- [110] Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell Metab* 2015;22(4):658–68.
- [111] Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* 2016;535(7610):56–64.
- [112] Leone V, Gibbons SM, Martinez K, Hutchison AL, Huang EY, Cham CM, et al. Effects of diurnal variation of gut microbes and high-fat feeding on host circadian clock function and metabolism. *Cell Host Microbe* 2015;17(5):681–9.
- [113] Thaiss CA, Zeevi D, Levy M, Zilberman-Schapira G, Suez J, Tengele AC, et al. Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell* 2014;159(3):514–29.
- [114] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012;489(7415):242–9.
- [115] de Vos WM, Nieuwdorp M. Genomics: a gut prediction. *Nature* 2013;498(7452): 48–9.
- [116] Delzenne NM, Cani PD. Gut microflora is a key player in host energy homeostasis. *Med Sci (Paris)* 2008;24(5):505–10.
- [117] Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metab* 2016;24(1):41–50.
- [118] Camilleri M. Peripheral mechanisms in appetite regulation. *Gastroenterology* 2015;148(6):1219–33.
- [119] Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490(7418):55–60.
- [120] Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013;498(7452):99–103.
- [121] Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al.; MetaHIT Consortium. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature* 2015;528(7581): 262–6.
- [122] Burcelin R. Gut microbiota and immune crosstalk in metabolic disease. *Mol Metab* 2016;5(9):771–81.
- [123] Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyötyläinen T, Nielsen T, Jensen BA, et al.; MetaHIT Consortium. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature* 2016;535(7612):376–81.
- [124] Mardinoglu A, Boren J, Smith U. Confounding effects of metformin on the human gut microbiome in type 2 diabetes. *Cell Metab* 2016;23(1):10–2.
- [125] 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(18):6718–21.
- [126] Ling Z, Li Z, Liu X, Cheng Y, Luo Y, Tong X, et al. Altered fecal microbiota composition associated with food allergy in infants. *Appl Environ Microbiol* 2014;80(8):2546–54.
- [127] Saarinen KM, Pelkonen AS, Mäkelä MJ, Savilahti E. Clinical course and prognosis of cow's milk allergy are dependent on milk-specific IgE status. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116(4):869–75.
- [128] Bunyavanich S, Shen N, Grishin A, Wood R, Burks W, Dawson P, et al. Early-life gut microbiome composition and milk allergy resolution. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(4):1122–30.
- [129] Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behav* 2015;138:179–87.
- [130] Jiang H, Ling Z, Zhang Y, Mao H, Ma Z, Yin Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun* 2015;48:186–94.
- [131] Russell SL, Gold MJ, Hartmann M, Willing BP, Thorson L, Wlodarska M, et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep* 2012;13(5):440–7.
- [132] van Nimwegen FA, Penders J, Stobberingh EE, Postma DS, Koppelman GH, Kerkhof M, et al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128(5):948–55.e1–3.
- [133] Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011;331(6015):337–41.
- [134] Charlson FJ, Baxter AJ, Cheng HG, Shidhaye R, Whiteford HA. The burden of mental, neurological, and substance use disorders in China and India: a systematic analysis of community representative epidemiological studies. *Lancet* 2016;388(10042):376–89.
- [135] Kendler KS. What psychiatric genetics has taught us about the nature of psychiatric illness and what is left to learn. *Mol Psychiatry* 2013;18(10):1058–66.
- [136] Maes M. Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011;35(3):664–75.
- [137] Schmitt A, Malchow B, Hasan A, Falkai P. The impact of environmental factors in severe psychiatric disorders. *Front Neurosci* 2014;8:19.
- [138] Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012;13(10):701–12.
- [139] Maes M, Kubera M, Leunis JC, Berk M. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *J Affect Disord* 2012;141(1):55–62.
- [140] Maes M, Kubera M, Leunis JC, Berk M, Geffard M, Bosmans E. In depression, bacterial translocation may drive inflammatory responses, oxidative and nitrosative stress (O&NS), and autoimmune responses directed against O&NS-damaged neopeptides. *Acta Psychiatr Scand* 2013;127(5):344–54.
- [141] Gosalbes MJ, Durbán A, Pignatelli M, Abellan JJ, Jiménez-Hernández N, Pérez-Cobas AE, et al. Metatranscriptomic approach to analyze the functional human gut microbiota. *PLoS One* 2011;6(3):e17447.
- [142] Franzosa EA, Morgan XC, Segata N, Waldron L, Reyes J, Earl AM, et al. Relating the metatranscriptome and metagenome of the human gut. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(22):E2329–38.
- [143] Santiago-Rodríguez TM, Naidu M, Abeles SR, Boehm TK, Ly M, Pride DT. Transcriptome analysis of bacteriophage communities in periodontal health and disease. *BMC Genomics* 2015;16:549.
- [144] Arnold JW, Roach J, Azcarate-Peril MA. Emerging technologies for gut microbiome research. *Trends Microbiol* 2016;24(11):887–901.
- [145] Cannon SA, Giovannoni SJ. High-throughput methods for culturing microorganisms in very-low-nutrient media yield diverse new marine isolates. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(8):3878–85.
- [146] Nichols D, Cahoon N, Trakhtenberg EM, Pham L, Mehta A, Belanger A, et al. Use of ichip for high-throughput *in situ* cultivation of “uncultivable” microbial species. *Appl Environ Microbiol* 2010;76(8):2445–50.
- [147] Jung D, Seo EY, Epstein SS, Joong Y, Han J, Parfenova VV, et al. Application of a new cultivation technology, I-tip, for studying microbial diversity in freshwater sponges of Lake Baikal, Russia. *FEMS Microbiol Ecol* 2014;90(2):417–23.
- [148] Possemiers S, Verthé K, Uyttendaele S, Verstraete W. PCR-DGGE-based quantification of stability of the microbial community in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiol Ecol* 2004;49(3):495–507.
- [149] Petrof EO, Khoruts A. From stool transplants to next-generation microbiota therapeutics. *Gastroenterology* 2014;146(6):1573–82.
- [150] McDonald JA, Fuentes S, Schroeter K, Heikamp-deJong I, Khursigara CM, de Vos WM, et al. Simulating distal gut mucosal and luminal communities using packed-column biofilm reactors and an *in vitro* chemostat model. *J Microbiol Methods* 2015;108:36–44.
- [151] Wang BL, Ghaderi A, Zhou H, Agresti J, Weitz DA, Fink GR, et al. Microfluidic high-throughput culturing of single cells for selection based on extracellular metabolite production or consumption. *Nat Biotechnol* 2014;32(5):473–8.
- [152] Kim HJ, Huh D, Hamilton G, Ingber DE. Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow. *Lab Chip* 2012;12(12):2165–74.
- [153] Rusconi R, Garren M, Stocker R. Microfluidics expanding the frontiers of microbial ecology. *Annu Rev Biophys* 2014;43:65–91.
- [154] Englert DL, Manson MD, Jayaraman A. Investigation of bacterial chemotaxis in flow-based microfluidic devices. *Nat Protoc* 2010;5(5):864–72.

- [155] Wang Y, Ahmad AA, Sims CE, Magness ST, Allbritton NL. *In vitro* generation of colonic epithelium from primary cells guided by microstructures. *Lab Chip* 2014;14(9):1622–31.
- [156] Gracz AD, Williamson IA, Roche KC, Johnston MJ, Wang F, Wang Y, et al. A high-throughput platform for stem cell niche co-cultures and downstream gene expression analysis. *Nat Cell Biol* 2015;17(3):340–9.
- [157] Forbester JL, Goulding D, Vallier L, Hannan N, Hale C, Pickard D, et al. Interaction of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with intestinal organoids derived from human induced pluripotent stem cells. *Infect Immun* 2015;83(7):2926–34.
- [158] Leslie JL, Huang S, Opp JS, Nagy MS, Kobayashi M, Young VB, 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(1):138–45.
- [159] Sommer MO. Advancing gut microbiome research using cultivation. *Curr Opin Microbiol* 2015;27:127–32.
- [160] Dao MC, Everard A, Aron-Wisniewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al.; MICRO-Obes Consortium. *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.
- [161] Chu J, Vila-Farres X, Inoyama D, Ternei M, Cohen LJ, Gordon EA, et al. Discovery of MRSA active antibiotics using primary sequence from the human microbiome. *Nat Chem Biol* 2016;12(12):1004–6.
- [162] Wang J, Jia H. Metagenome-wide association studies: fine-mining the microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2016;14(8):508–22.
- [163] Lu H, Wu Z, Xu W, Yang J, Chen Y, Li L. Intestinal microbiota was assessed in cirrhotic patients with hepatitis B virus infection. Intestinal microbiota of HBV cirrhotic patients. *Microb Ecol* 2011;61(3):693–703.
- [164] Lu H, Zhang C, Qian G, Hu X, Zhang H, Chen C, et al. An analysis of microbiota-targeted therapies in patients with avian influenza virus subtype H7N9 infection. *BMC Infect Dis* 2014;14:359.
- [165] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;368(5):407–15.
- [166] Dhiman RK, Rana B, Agrawal S, Garg A, Chopra M, Thumburu KK, et al. Probiotic VSL#3 reduces liver disease severity and hospitalization in patients with cirrhosis: a randomized, controlled trial. *Gastroenterology* 2014;147(6):1327–37.e3.
- [167] Lv LX, Hu XJ, Qian GR, Zhang H, Lu HF, Zheng BW, et al. Administration of *Lactobacillus salivarius* LI01 or *Pediococcus pentosaceus* LI05 improves acute liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014;98(12):5619–32.
- [168] Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 2013;500(7461):232–6.
- [169] Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013;342(6161):967–70.
- [170] Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013;342(6161):971–6.
- [171] West CE, Jenmalm MC, Kozyrskyj AL, Prescott SL. Probiotics for treatment and primary prevention of allergic diseases and asthma: looking back and moving forward. *Expert Rev Clin Immunol* 2016;12(6):625–39.