



第11回 腸内細菌とプロバイオティクスの可能性

野本康二

東京農業大学生命科学部分子微生物学科動物共生微生物学研究室 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

Potentials of intestinal microbiota and probiotics

Koji Nomoto

Department of Molecular Microbiology, Tokyo University of Agriculture
1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya, Tokyo 156-8502, Japan

1. はじめに

われわれの腸内に共生している腸内細菌の存在は古くから認識されていましたが、近年の分子生物学的解析技術の発展により、複雑な微生物生態系である「腸内フローラ」の様相がかなり明確に理解されてきました。2013年にオランダの臨床研究グループから、腸内病原菌である *Clostridium difficile* を原因とし、抗菌薬の摂取により誘導される再発性の下痢症 (*Clostridium difficile* associated diarrhea, CDAD) に対する便微生物移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) の顕著な有効性が報告されたことは、腸内フローラがわれわれの健康に密接にかかわっていることを強く印象づけました (van Nood *et al.*, 2013)。その後、CDADのみならず多様な疾患の患者に対するFMT施行の有効性も報告されています。20世紀初頭にMechnikovが腸内腐敗とこれの乳酸菌による防御に関する概念を提唱しましたが (E. メチニコフ著, 平野威馬雄訳, 2006)、現在では「おなかに良い菌」としての乳酸菌、ビフィズス菌、あるいは酵母などを発酵乳、乳酸菌飲料、あるいはサプリメントとして摂取することが世界中で一般的となっています。プロバイオティクスは、「適正な量を摂取することにより宿主に有用な作用を発揮する生きた微生物」と比較的単純な内容で定義づけられていますが (Hill *et al.*, 2014)、その作用は実に多様で、さまざまな疾患、たとえば下痢症、慢性炎症性腸疾患、アレルギーなどの症状の低減についての臨床研究の学術論文をまとめたシステムアティ

クレビューも数多く報告されています。

2. プロバイオティクスの種類

プロバイオティクスの要件として、1) 安全性、2) 保健作用を説明する確固たる学術的な証拠、3) 適切な品質管理、の3つが肝要と考えられます。1)の安全性について、定義に「生きた微生物」とあるとおり、生菌を含有する食品あるいはサプリメントとして提供される限りは、徹底的な安全性の検証が求められます。2)について本邦では、「特定保健用食品」や「機能性表示食品」といった規制をクリアしたもののみが保健作用を提示できる仕組みとなっています。いずれにしても、ヒトを対象とした臨床試験における効果検証の結果が学術報告されていることは必須条件です。食品の保健作用について日本と同様の規制が敷かれている国々もありますが、欧米においては、必ずしも話は単純ではなく、EU加盟諸国では、「プロバイオティクス」として保健作用を提示するために、EFSA (欧州食品安全機関) による厳密な審査をクリアすることが要件となります。また、米国では、人を対象とした食品の有効性を検証するための臨床試験を実施すること自体に大きなハードルがあります。プロバイオティクスには実にさまざまな微生物菌株が使われています。表1に、PubMed検索から菌株名が使用されている論文の数を示しました。必ずしも、論文数のみが学術証拠の強度を計る指標とはなりません、各菌株によって学術研究のレベルがさまざまであることは想像されます。典型的なプロバイオティクス菌株と報告されている保健作用を表2に示しました。

表1 PubMedで検出されるプロバイオティクス菌株の学術論文数

>300	>100	>50	>20
<i>L. casei</i> Shirota	VSL#3	<i>L. rhamnosus</i> HN001	<i>L. casei</i> CRL431
<i>L. rhamnosus</i> GG	<i>L. acidophilus</i> NSFM	<i>L. johnsonii</i> LA-1	<i>B. bifidum</i> Yakult
<i>S. boulardii</i>	<i>L. plantarum</i> 299V	<i>B. breve</i> Yakult	<i>L. rhamnosus</i> LCR-35
<i>B. lactis</i> BB-12	<i>L. rhamnosus</i> GR-1	<i>B. longum</i> BB536	<i>L. rhamnosus</i> R0011
<i>E. coli</i> Nissle 1917		<i>B. lactis</i> HN019	<i>L. acidophilus</i> CERELA
		<i>L. rhamnosus</i> LC705	<i>L. salivarius</i> UCC118
		<i>L. acidophilus</i> LA5	<i>B. lactis</i> DN-173 010
		<i>L. reuteri</i> RC14	<i>L. paracasei</i> F19
			<i>L. gasseri</i> SBT2055
			<i>L. gasseri</i> OLL2716 (LG21)
			<i>L. acidophilus</i> L-92

2019年9月現在

表2 代表的なプロバイオティクス菌株とその効果

プロバイオティクス菌株	謳われている主な保健作用や特徴
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	ロタウイルス下痢症の予防, アトピー性皮膚炎の予防
<i>Lactobacillus casei</i> strain Shirota	整腸作用, 腸内環境改善作用, 免疫調節作用
<i>Saccharomyces boulardii</i>	下痢症の予防, 慢性炎症性腸疾患や過敏性腸症候群 (IBS) の症状軽減
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	IBSの症状軽減, 腸管上皮への接着作用
VSL # 3	8菌株 (ビフィズス菌, 乳酸桿菌, ストレプトコッカス), 高菌数, 潰瘍性大腸炎の寛解維持
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12	腸内生残性が高い, 乳幼児の感染症予防
<i>Bifidobacterium breve</i> strain Yakult	整腸作用, 腸内環境改善作用, 壊死性腸炎の予防
<i>E. coli</i> strain Nissle 1917	潰瘍性大腸炎の寛解維持, 慢性便秘症の改善

世界的に一般的なプロバイオティクス菌株で, 学術論文数の多いものを選抜して示した。

3. プロバイオティクスの整腸作用や感染防御作用とその作用メカニズム

プロバイオティクスの作用メカニズムとして, たとえば整腸作用については, 腸管に生きて到達したプロバイオティクスによる腸内フローラおよび腸内環境の改善が一般的な理解と考えられます。近年, 腸内フローラの網羅的な解析法が進展し, 多様な腸内フローラ構成の差異を示すことが可能となりました。また, さらに最近では, 構成菌の割合のみでなく定量的な観点からの解析が重要であることも指摘されています (Vandeputte *et al.*, 2017)。筆者らは高精度な定量的腸内フローラ解析法を確立し, これを用いて多数の日本人の腸内フローラを解析したところ, 各年代において, 腸内フローラを構成する多様な菌群の菌数が対数正規分布することが明らかになりました (Tsuji *et al.*, 2018)。これにより, 腸内フローラの菌群ごとの菌数の標準値が設定可能であること, さらには, これを基準として各菌群の標準値からの有意な逸脱を異常 (dysbiosis) として捉えることが可能なことも示されました。プロバイオティクスによる dysbiosis の改善を定

量的に示すことが可能になったともいえます。また, dysbiosis に関連する因子をバイオマーカーとして, dysbiosis の改善と保健機能とを関連づけることも今後の研究の興味深いポイントです。

高齢者では, 一般的に腸内のビフィズス菌の低下や大腸菌群の増加などで示される dysbiosis が生じます。施設入居高齢者を対象としたプロバイオティクス飲料の長期の継続飲用試験において, プロバイオティクス飲用により試験期間中の対象者の便秘や下痢の発生頻度が減り, 発熱の頻度も下げることが報告されています (Nagata *et al.*, 2016)。この試験では, 飲用前, 飲用中および飲用終了後の各時期に, 被験者の新鮮便の腸内フローラが調べられましたが, プロバイオティクス摂取による, ビフィズス菌や乳酸桿菌の増加, 腸内細菌科菌群, プドウ球菌, *C. difficile*, *Clostridium perfringens* などのいわゆる日和見細菌群の菌数や検出率の低下, さらには腸内の酢酸などの有機酸濃度の上昇と pH の低下が明らかとなりました。興味深いことに, 同時期に同じ条件でプロバイオティクスを継続飲用した同じ医療施設のスタッフにおいても, 入居高

高齢者におけるのと同様なプロバイオティクス摂取による腸内フローラの改善（ビフィズス菌の増加と日和見感染菌の減少）および腸内環境の改善が認められました。この結果は、入居高齢者間や、高齢者と医療スタッフの間の dysbiosis（日和見感染菌も含めた）の水平伝播が、プロバイオティクス摂取により阻止される可能性を示すものとして重要と考えます。

高齢者のみならず、健常小児においても6ヵ月間のプロバイオティクス飲料の継続飲用により腸内フローラおよび環境が改善されたことが報告されています（Wang *et al.*, 2015）。この研究では、プロバイオティクスの飲用を終了してさらに6ヵ月経過した同じ被験児の腸内フローラが調べられましたが、試験開始前の状態に戻ってしまうことが示されました。プロバイオティクス製品に含まれる菌株の多くはいわゆる腸内通過菌であり、長くは腸内にとどまらなるとされています。したがって、この研究結果は、腸内フローラや環境を恒常的に改善するためにプロバイオティクスを継続的に摂取する必要性を示唆していると考えます。

プロバイオティクスの作用メカニズムを調べるうえで、さまざまな動物実験モデルが有用です。たとえば、マウスの多剤耐性のサルモネラ菌の経口感染モデルに対する、典型的なプロバイオティクス菌株の一つである乳酸桿菌 *L. casei* シロタ株（LcS）の感染防御作用において、腸内における有機酸産生による病原菌の増殖抑制が重要であることが示されました（Asahara *et al.*, 2011）。ビフィズス菌プロバイオティクス（*B. breve*）についても、腸管出血性大腸菌のマウス感染モデルにおいて同様の感染防御作用が報告されています（Asahara *et al.*, 2004）。この感染モデルでは、マウスに抗生剤が投与されていて、この抗生剤に自然耐性を有する *B. breve* をマウスに投与すると、*B. breve* は安定的に腸管内に定着することができますが、興味深いことに、同じビフィズス菌でマウスの腸管定着レベルが同程度であっても、腸管における有機酸（特に酢酸）産生性の強い菌株のみに感染防御作用（O157の増殖や毒素産生の抑制）が認められることが示されています。この研究の発展形として、Fukudaらは、腸管出血性大腸菌感染モデルにおけるビフィズス菌株間の感染防御作用の差において、ビフィズス菌株による糖の取り込みを含む利用能の差異が感染防御作用の強さと関連していることを明らかにしています（Fukuda *et al.*, 2011）。さらに、近年、臨床的に大きな問題となっている多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* のマウス感染症モデルにおいて、ビフィズス菌とオリゴ糖の

併用投与による感染防御作用が示されました。この感染防御作用においては、多剤の抗生物質を投与されて誘導されるマウス腸内の顕著な dysbiosis を補完するように投与されたビフィズス菌が定着して、*A. baumannii* の感染性を顕著に抑制しました（Asahara *et al.*, 2016）。ビフィズス菌による腸管環境の改善、腸管透過性や腸管上皮バリア形成機能の改善が作用メカニズムとして示唆されています。

4. プロバイオティクスによる免疫調節作用

プロバイオティクスの免疫調節作用の可能性も注目すべきポイントでしょう。2001年に Kalliomäki らは、アトピー性皮膚炎の家族歴を有する妊婦を対象とするプラセボ対照ランダム化比較試験（RCT）において、妊娠末期および産後のプロバイオティクスの継続的な摂取により、この母親から誕生した児の生後2年目までのアトピー発症に伴う湿疹などの臨床症状の発症が低減されたと報告しました（Kalliomäki *et al.*, 2001）。その後現在まで、この臨床研究を踏まえて十数例の同様のプロトコールのプロバイオティクスの臨床研究が世界各国で実施されました。これらの研究をまとめた世界アレルギー機関のシステムティックレビューでは、母親や児によるプロバイオティクスの摂取が乳幼児のアトピー発症予防に有効であるといえる臨床的証拠は十分ではないとの注意書き付きではありますが、同機関のガイドラインとして、高いアトピー発症リスクを有する母子におけるプロバイオティクスの使用が推奨されています（Fiocchi *et al.*, 2015; Ricci *et al.*, 2016）。最近、食物アレルギーに対する免疫療法の有効性が注目されています。たとえば、ピーナッツアレルギーに対するアレルギーの継続摂取による脱感作療法（OIT）の有効性が示唆されていますが、OITの治療時にプロバイオティクス乳酸菌を併用摂取することでOITの効果が増強されると報告されています（Tang *et al.*, 2015）。すなわち、プロバイオティクス投与により治療終了後のアレルギーに対する不応答の期間が延長し、プラセボ摂取対照群に比べてOIT + プロバイオティクス群では、治療開始から終了後におけるピーナッツ特異的なIgEレベルの低下とピーナッツ特異的なIgG₄レベルの上昇が顕著に示されたことから、作用メカニズムとしてプロバイオティクスのアレルギー抑制的な免疫アジュバント作用の促進が示唆されています。

一方で、発がん予防、感染症制御、あるいは腸炎といったさまざまな実験動物モデルにおいて、プロバイ

オテイクスによる症状の軽減が報告されています。これらの作用のメカニズムとして、プロバイオティクスの自然免疫系を介する作用が注目されています。たとえば、LcSはマクロファージを刺激することにより、IL-12などのサイトカイン産生を上昇させますが、この作用においてLcSの細胞壁表層の多糖構造が重要な役割を果たしていることが示唆されています(Nagahama *et al.*, 2015a, 2015b)。すなわち、LcSの細胞壁表層を覆っている多糖を精製したものの自体には免疫賦活能は認められませんが、多糖分子をポリスチレン微粒子の表層に結合させたものはLcS菌体と同等のマクロファージ活性化作用(IL-12産生増強)を示しました。1 μ 程度の微粒子に多糖分子を結合させた場合に最も強いマクロファージ活性化作用が認められることから、プロバイオティクスの菌体表層の多糖構造と細菌サイズとがあいまってマクロファージの活性化を促すものと考えられます。一方で、マウスのデキストラン硫酸ナトリウム誘導大腸発癌実験モデルにおいて、LcSの連続経口投与により発がんが抑制されますが、上記の細胞壁表層の多糖分子を欠如したLcSの変異株では発がん抑制作用は全く認められないことも明らかとなっています(Matsumoto *et al.*, 2009)。プロバイオティクスの自然免疫系を介する免疫調節機能について今後のさらなる進展が望まれます。

5. おわりに

腸内常在細菌の有用菌として、いわゆる「次世代プロバイオティクス」の候補がいくつか挙がっています。たとえば、腸内最優勢嫌気性菌群の一種である *Akkermansia muciniphila* は、元々は肥満者における検出頻度が低い菌種として分離され、マウスの食餌性肥満モデルにおける抗肥満作用を示すことが明らかになっています(Cani & de Vos, 2017)。また、ヒト腸内最優勢嫌気性菌群の一種である *Fusicatenibacter saccharivorans* については、慢性炎症性腸疾患の患者における棲息レベルが低いこと、マウスの腸炎モデル

における抗炎症作用や炎症性サイトカインの発現を抑制することが報告されています(Takeshita *et al.*, 2016)。興味深いことに、*A. muciniphila* および *F. saccharivorans* の死菌についても生菌と同様の効果が認められています。*A. muciniphila* については、精製された外膜タンパク画分など菌体成分による宿主免疫系を介する抗炎症作用も明らかになっています。Caniらの研究グループはさらに最近、過体重でインスリン抵抗性の成人を対象とした予備的なヒト試験において、低温殺菌された *A. muciniphila* 死菌体の摂取によりインスリン抵抗性が軽減し、末梢血の肝機能や炎症のマーカーの改善が認められたと報告しました(Depommier *et al.*, 2019)。他方、本田らは、ヒトの腸内常在細菌から分離した17菌株のカクテルを無菌マウスの腸内に移植することで、実験的な腸炎が抑制されること、また、これらの細菌群により腸内で産生される酪酸により、炎症を抑制する制御性T細胞の分化が促進されることを明らかにしました(Atarashi *et al.*, 2013)。さらに最近、同研究グループは、上記とは別にヒト便から分離された11種のヒト腸内細菌株のカクテルが、がんや細胞内寄生細菌に対する細胞性免疫を増強することを報告しています(Tanoue *et al.*, 2019)。以上のように、ヒトの腸内細菌が健康や疾病と密接に関与していることが示唆されており、言い方を変えれば、ヒトの常在細菌叢は、とてもポテンシャルの高い微生物資源であるともいえるでしょう(表3)。遺伝子配列は明らかにされているものの、未分離の細菌群も多いことから、本領域の研究のさらなる伸展が望まれます。

文献

Asahara, T., Shimizu, K., Nomoto, K., Hamabata, T., Ozawa, A. & Takeda, Y. 2004. Probiotic *bifidobacteria* protect mice from lethal infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Infect. Immun.* **72**: 2240-2247.

表3 腸内フローラとプロバイオティクス：保健作用に関する研究開発のポイント

◎適切な方法に基づき実施された臨床研究から得られる確固たる証拠：再現性の検証、臨床効果にリンクするバイオマーカー、レスポonderとノンレスポonder
◎臨床効果を説明する明確な作用メカニズムの提示 ⇒作用メカニズムを共有する菌種や菌株の系統化
◎保健作用の質や強度：予防、治療(アジュバント)、適切な効果量、摂取法(量、時期、期間)
◎新規菌株：由来(食品や食材以外の場合)、摂取履歴、十分な安全性の検証
◎腸内定着性：colonization resistanceの制御、FMT
◎生菌-死菌(特異的な菌体成分や構造)

- Asahara, T., Shimizu, K., Takada, T., Kado, S., Yuki, N., Morotomi, M., Tanaka, R. & Nomoto, K. 2011. Protective effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota against lethal infection with multi-drug resistant *Salmonella enterica serovar Typhimurium* DT104 in mice. *J. Appl. Microbiol.* **110**: 163–173.
- Asahara, T., Takahashi, A., Yuki, N., Kaji, R., Takahashi, T. & Nomoto, K. 2016. Protective effect of synbiotic administration against multiple drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a murine lethal infection model. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**: 3041–3050.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., Kim, S., Fritz, J.V., Wilmes, P., Ueha, S., Matsushima, K., Ohno, H., Olle, B., Sakaguchi, S., Taniguchi, T., Morita, H., Hattori, M. & Honda, K. 2013. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* **500**: 232–236.
- Cani, P.D. & de Vos, W.M. 2017. Next-generation beneficial microbes: the case of *Akkermansia muciniphila*. *Front. Microbiol.* **8**: 1765.
- Depommier, C., Everard, A., Druart, C., Plovier, H., Van Hul, M., Vieira-Silva, S., Falony, G., Raes, J., Maiter, D., Delzenne, N.M., de Barse, M., Loumaye, A., Hermans, M.P., Thissen, J.P., de Vos, W.M. & Cani, P.D. 2019. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat. Med.* **25**: 1096–1103.
- Fiocchi, A., Pawankar, R., Cuello-Garcia, C., Ahn, K., Al-Hammadi, S., Agarwal, A., Beyer, K., Burks, W., Canonica, G.W., Ebisawa, M., Gandhi, S., Kamenwa, R., Lee, B.W., Li, H., Prescott, S., Riva, J.J., Rosenwasser, L., Sampson, H., Spigler, M., Terracciano, L., Vereda-Ortiz, A., Wasserman, S., Yepes-Nuñez, J.J., Brożek, J.L. & Schünemann, H.J. 2015. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ. J.* **8**: 4.
- Fukuda, S., Toh, H., Hase, K., Oshima, K., Nakanishi, Y., Yoshimura, K., Tobe, T., Clarke, J.M., Topping, D.L., Suzuki, T., Taylor, T.D., Itoh, K., Kikuchi, J., Morita, H., Hattori, M. & Ohno, H. 2011. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* **469**: 543–547.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C. & Sanders, M.E. 2014. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **11**: 506–514.
- Kalliomäki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P. & Isolauri, E. 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* **357**: 1076–1079.
- Matsumoto, S., Hara, T., Nagaoka, M., Mike, A., Mitsuyama, K., Sako, T., Yamamoto, M., Kado, S. & Takada, T. 2009. A component of polysaccharide peptidoglycan complex on *Lactobacillus* induced an improvement of murine model of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Immunology* **128** (1 Suppl): e170–e180.
- E・メチニコフ 2006. 第IV章 人間の生命の延長をくわだつべきか? 平野威馬雄 (訳), 長寿の研究—楽観論者のエッセイ, p. 184–223, 幸書房, 東京.
- Nagahama, K., Kumano, T., Nakata, T., Tsuji, H., Moriyama, K., Shida, K., Nomoto, K., Chiba, K., Koumoto, K. & Matsui, J. 2015a. Synthesis and immunostimulating activity of lactobacilli-originated polysaccharide-polymeric microparticle conjugates. *Langmuir* **31**: 1489–1495.
- Nagahama, K., Kumano, T., Nakagawa, Y., Oyama, N., Tsuji, H., Moriyama, K., Shida, K., Nomoto, K., Chiba, K., Koumoto, K. & Matsui, J. 2015b. Enhanced immunostimulating activity of Lactobacilli-mimicking materials by controlling size. *Bioconjug. Chem.* **26**: 1775–1781.
- Nagata, S., Asahara, T., Bian, L., Wang, C., Takano, K., Daibou, M., Yuki, N., Takahashi, A., Suyama, Y., Chonan, O., Takahashi, T., Nomoto, K. & Yamashiro, Y. 2016. The effectiveness of *Lactobacillus* beverages in controlling infections among the residents of an aged care facility: a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Ann. Nutr. Metab.* **68**: 51–59.
- Ricci, G., Cipriani, F., Cuello-Garcia, C.A., Brożek, J.L., Fiocchi, A., Pawankar, R., Yepes-Nuñez, J.J., Terracciano, L., Gandhi, S., Agarwal, A., Zhang, Y. & Schünemann, H.J. 2016. A clinical reading on “World

- Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics". *World Allergy Organ. J.* **9**: 9.
- Takeshita, K., Mizuno, S., Mikami, Y., Sujino, T., Saigusa, K., Matsuoka, K., Naganuma, M., Sato, T., Takada, T., Tsuji, H., Kushiro, A., Nomoto, K. & Kanai, T. 2016. A single species of clostridium Subcluster XIVa decreased in ulcerative colitis patients. *Inflamm. Bowel Dis.* **22**: 2802-2810.
- Tang, M.L., Ponsonby, A.L., Orsini, F., Tey, D., Robinson, M., Su, E.L., Licciardi, P., Burks, W. & Donath, S. 2015. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: A randomized trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* **135**: 737-744.
- Tanoue, T., Morita, S., Plichta, D.R., Skelly, A.N., Suda, W., Sugiura, Y., Narushima, S., Vlamakis, H., Motoo, I., Sugita, K., Shiota, A., Takeshita, K., Yasuma-Mitobe, K., Riethmacher, D., Kaisho, T., Norman, J.M., Mucida, D., Suematsu, M., Yaguchi, T., Bucci, V., Inoue, T., Kawakami, Y., Olle, B., Roberts, B., Hattori, M., Xavier, R.J., Atarashi, K. & Honda, K. 2019. A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity. *Nature* **565**: 600-605.
- Tsuji, H., Matsuda, K. & Nomoto, K. 2018. Counting the countless: bacterial quantification by targeting rRNA molecules to explore the human gut microbiota in health and disease. *Front. Microbiol.* **9**: 1417.
- van Nood, E., Vrieze, A., Nieuwdorp, M., Fuentes, S., Zoetendal, E.G., de Vos, W.M., Visser, C.E., Kuijper, E.J., Bartelsman, J.F., Tijssen, J.G., Speelman, P., Dijkgraaf, M.G. & Keller, J.J. 2013. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N. Engl. J. Med.* **368**: 407-415.
- Vandeputte, D., Kathagen, G., D'hoel, K., Vieira-Silva, S., Valles-Colomer, M., Sabino, J., Wang, J., Tito, R.Y., De Commer, L., Darzi, Y., Vermeire, S., Falony, G. & Raes, J. 2017. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature* **551**: 507-511.
- Wang, C., Nagata, S., Asahara, T., Yuki, N., Matsuda, K., Tsuji, H., Takahashi, T., Nomoto, K. & Yamashiro, Y. 2015. Intestinal microbiota profiles of healthy pre-school and school-age children and effects of probiotic supplementation. *Ann. Nutr. Metab.* **67**: 257-266.