

大便也能當黃金？ 你的腸道菌群其實是座化學寶庫

文・圖／徐丞志

微生物存在於幾乎地球上的每個角落，從海洋到土壤，從溫泉到人類的體表以及腸道內，都有其蹤跡。這些微生物面對外界環境變化時，會製造並釋放特殊的代謝產物，透過不同種形式的物質交換，幫助自身去適應環境，或是與其他微生物物種溝通或競爭資源，因此很多現代醫學常用的抗生素，都是來自於微生物的特殊代謝產物（或稱為次級代謝產物）；而其他如微生物外膜的主要成分脂多醣（lipopolysaccharide），則是可以用藉由調控宿主的免疫反應，將環境改變成有利其生存的狀態。如果將地球至今的歷史壓縮成一年的時間，微生物差不多從3月就出現在地球上，並存活至今且繁盛依舊，而人類幾乎是在12月31日晚上11點半過後才出現在地球上。以地球整體的角度觀之，微生物其實才是地球的主人，人類相對而言只是一個非常新的物種。

實際上，人體腸道中也存在著一個與人類互相依存，且生物多樣性極其豐富的微生物群落，稱之為「腸道菌群」。據研究估計，人體中大約有0.2到1.0公斤的腸道菌。腸道菌群的基因多樣性也極為豐富，在人類糞便中可以被檢測出超過一千種腸道微生物，這些微生物基因大約是人類蛋白編碼基因的150多倍。此外，據估計每個人體內大約存在著至少160種腸道微生物。腸道微生物在維持人體健康上扮演重要角色，腸道菌群生態的失衡也與多種疾病有關，例如肥胖症病人的腸道菌群多樣性下降，同時其腸道菌群的基因表達和代謝途徑也會發生改變；臺灣國衛院高承源研究團隊發現到，剔除dual-specificity phosphatase 6（dusp6）基因的小鼠，其腸道菌相中Firmicutes（後壁菌門）與Bacteroidetes（擬桿菌門）兩種菌門之間的比例會維持恆定並達到抑制肥胖的效果。

腸道菌相異常也跟許多精神疾病有關，像是自閉症等患者的腸道內常觀察到特殊的菌相。最近的一篇研究甚至發現帕金森氏症的成因跟腸道菌有密切的關係；在該研究中發現移植帕金森氏患者腸道內的菌群到小鼠中，會誘使小鼠出現神經退化等症狀。腸道菌的平衡對於人體健康至關重要，而此概念甚至已應用在臨床上，例如通過把健康人的糞便移植給被 *Clostridium difficile* 感染的病人，使病人的腸道菌多樣性恢復到健康人的水平，其

治療成效甚至要優於傳統的抗生素（vancomycin）治療方法。

再者，隨著基因定序技術的長足進步，我們開始理解到微生物的多樣性其實遠遠超越我們所能想像。2008年起美國國立衛生研究院（NIH）開始了人體微生物組計畫（Human Microbiome Project），五年內投入總計超過一億五千萬美金的研究經費，為人體微生物研究打下堅實的基礎。2016年美國白宮緊接著又提出了一項規模更勝以往的微生物組計畫，由官方及民間機構要提供超過六億美金的資金投入微生物組相關的研究領域中。歐盟也提出類似的計畫，資助相關領域研究。微生物研究已經成為全球生物學界的顯學之一；在2007年，美國NIH資助的計畫中，僅有14個計畫的標題及摘要中出現「微生物組（microbiome）」這個關鍵詞。然而這個數字逐年攀升，到了2017年，已經有1043個案件，成長近百倍（如圖1），足見微生物組在美國主流學界之研究熱潮，並且已經成為一個主要的新興學門。

這股由政府主導的研究熱潮，使得近年探討腸道菌群與人體健康關聯的文獻如雨後春筍般出現，可見腸道微生物的生態學研究引起了大量學術關注和公眾興趣，然而目前相關領域的主流研究工作中，幾乎都是從基因表現的層次去探討腸道菌群所扮演的角色，所使用的工具多半是基因測序；很少是利用化學分析方法為主幹，藉由分析腸道菌群與宿主之間複雜網路裡的物質交換，來理解腸道菌群對人體的作用。研究這些腸道菌所釋放的化學物質，正是理解其如何促進宿主健康的關鍵。因此，如何去鑑定和分析這些為數眾多的微生物代謝產物，就成為現代藥物開發的一個重要課

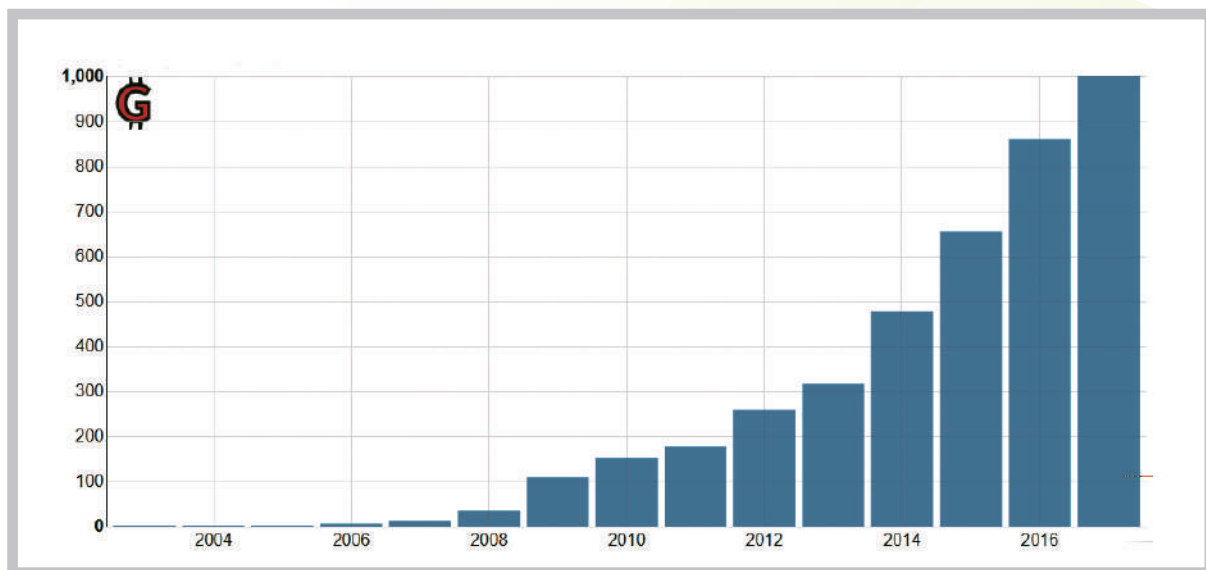


圖1：近14年美國NIH計畫標題或摘要中出現「微生物組（microbiome）」關鍵字的計畫數量。

題。現在全世界有超過10萬種被命名的微生物可以在實驗室中被培養出來，而無法在實驗室中培養的則是這個數字的兩倍。但比起地表上可能存在的微生物種類，可能占不到1%，而其中絕大多數的微生物次級代謝產物都未曾進行結構鑑定。所以，面對這樣龐大數量的微生物物種，能快速從培養基上鑑定的分析工具，不只可從分子層面了解這些次級代謝產物在跨物種間作用所扮演的角色，更重要的是可以加速新藥的探索與開發。

微生物次級代謝體分析

以層析分離搭配質譜的傳統方法雖具備高靈敏的特性，但在時間和人力成本上比重過高，很難做為一個高通量的分析方法。而基質輔助雷射脫附游離法串聯時間飛行質譜法（matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS）搭配質譜影像（imaging mass spectrometry, IMS）技術則提供了一個簡便快速又不失準確性的辦法。由UC San Diego的Dorrestein實驗室開發出質譜影像的方法，可直接將培養基上的微生物菌落以質譜影像技術觀察不同的微生物代謝產物在空間上的分布，可以看到不同菌落之間的化學物質交換（如圖2）。

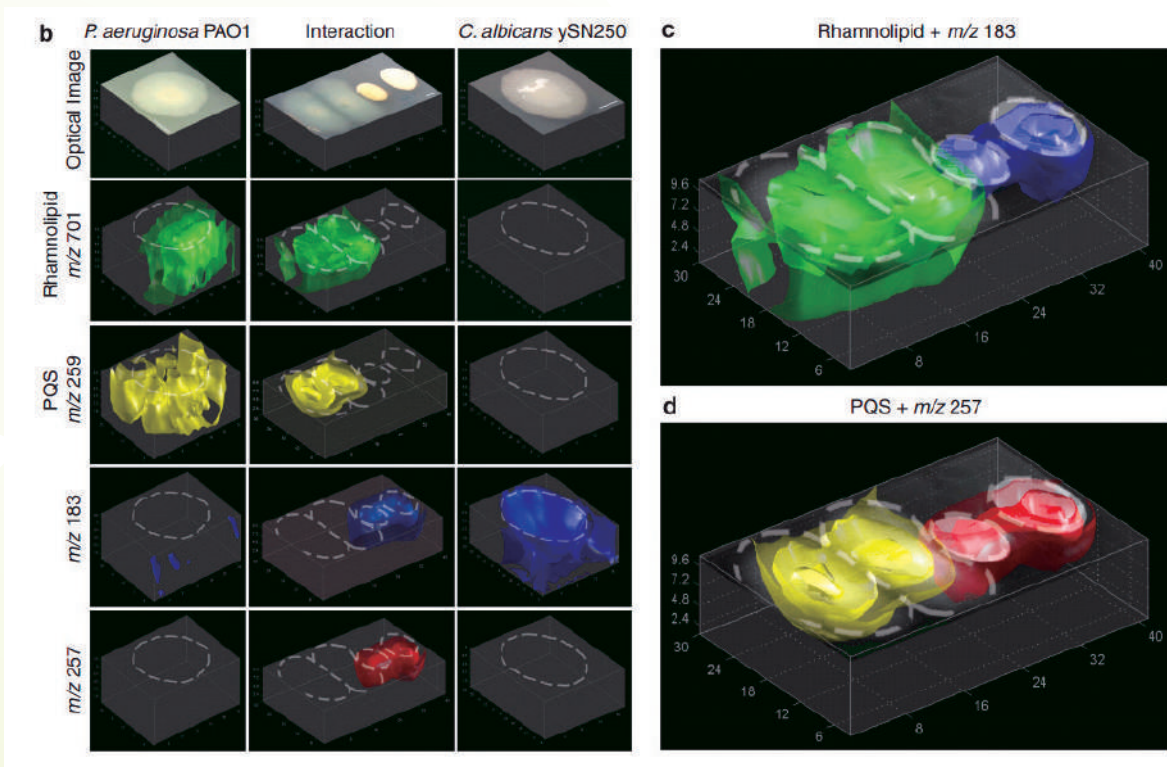


圖2：以質譜影像技術分析綠膿桿菌與白色念珠真菌之間的次級代謝物交換，該類活性物質對於真菌的生長有明顯的抑制作用。（圖片來源：參考文獻1）

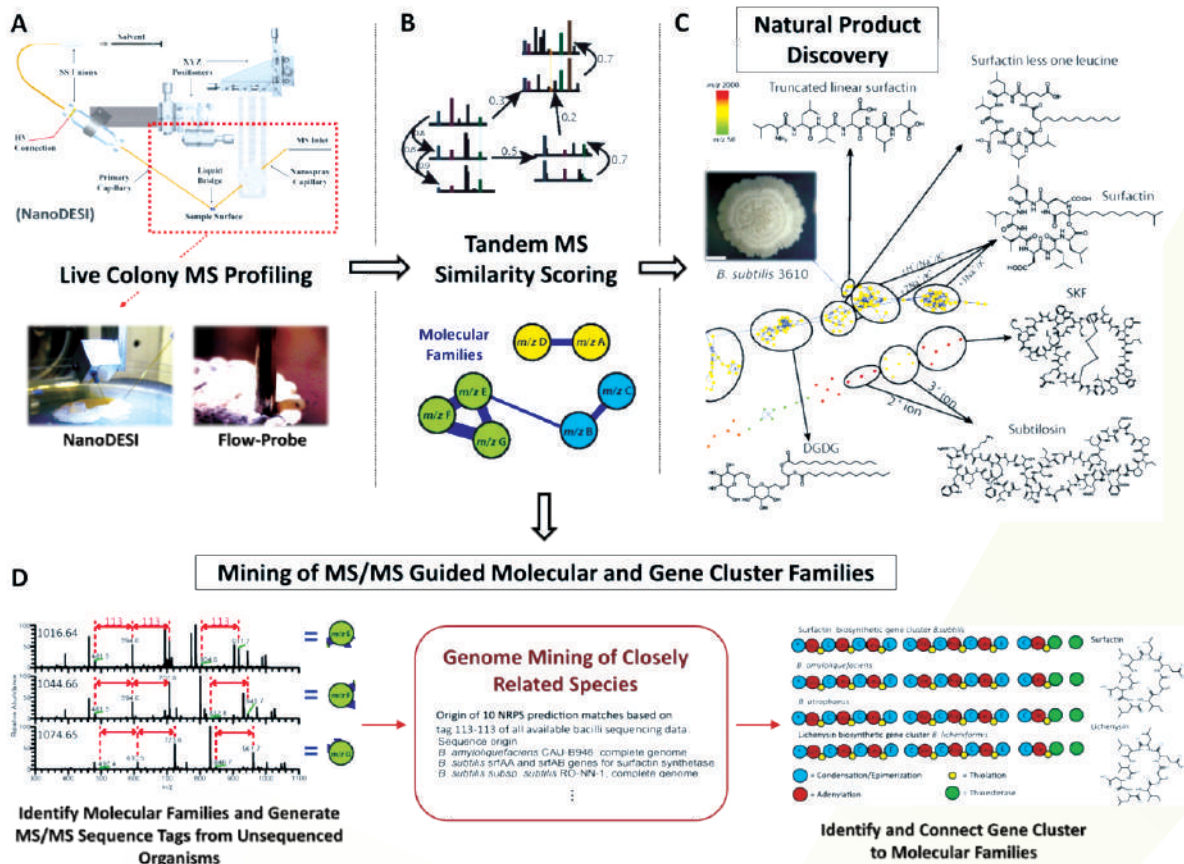


圖3：以MS/MS networking的即時微生物代謝質體學與peptidogenomics流程圖。二次質譜訊號的取得後以GNPS平台去計算每張圖譜之間的相關性，進而可以預測未知物可能的結構。B圖中每個節點均代表了一張MS/MS圖譜；C圖中顯示不同類型的微生物次級代謝物質在molecular networking中會有明顯分群的現象；D圖展示的便是以此方法用來回推其他相關物種的的合成基因相關之位置。（圖片來源：參考文獻2）

除了MALDI-TOF質譜法外，近10年興起的「常壓游離質譜法」也被用於微生物代謝質體的分析（如圖3）。比起MALDI-TOF質譜法，常壓游離法最大的優勢在於不需要經過繁瑣的樣品前處理過程，可將生物樣品在分析時保持在幾乎是最原始的狀態，對於樣品的破壞非常微量。也因此，此項技術特別適合用於分析宿主與微生物間的代謝物交換；本人在博士班時的其中一項工作，即是以螢光顯微鏡搭配nanoDESI質譜法，並以螢光標記追蹤患有white-nose syndrome蝙蝠身上的真菌，並直接在蝙蝠的體表觀察到由病原真菌所釋放螯鐵分子（siderophore），為其感染症的分子機理提供具體的證據。

在微生物次級代謝體學分析上，目前技術上最大的困難來自於資料庫的缺乏及其結構鑑定上不易。天然產物的結構非常豐富且難以預測，即使是同一個菌屬但不同種的菌

之間，所能產生的次級代謝產物在結構上也有相當大的差異。如前所述，全世界的微生物種類可能多達數十億種，要將所有微生物所產生的代謝產物一一以傳統的分離純化、建立二次指紋質譜甚至以核磁共振光譜確定結構，幾乎是不可能任務。為了實際解決微生物次級代謝產物鑑定上的需求，以二次質譜相關性（MS/MS Similarity）為分析基礎的平台——Global Natural Products Social Molecular Networking（GNPS），便應運而生，專門針對結構未知的天然產物作高通量的比對，藉由少數已確知結構的化合物尋求那些結構未知化合物的可能結構，如此可以大幅度地加速天然產物的鑑定（圖3）。GNPS優異的數據分析能力使得微生物代謝質體的巨量分析成為可能，2016年一篇發表在《Nature Microbiology》的研究，分析了260種不同來源的 *Pseudomonas* 菌的代謝體，發現到這些 *Pseudomonas* 菌中都能產生如 poaeamide B 和 bananamides 等幾大類的化合物，並且可以從這些化合物的結構相似度，去找到這些菌彼此之間的演化順序。

腸道菌群與飲食

如前段所述，腸道菌群不僅與多種疾病的有密切的關係，而且其菌相結構還受到人類膳食習慣的影響。研究發現由正常飲食轉變為只吃動物性食物或植物性食物，會改變腸道菌的數量和種類。膳食中的不同的多醣成分也會造成不同的腸道菌相；最近甚至有研究發現，母乳中常見的醣類（Sialylated milk oligosaccharides）會藉由誘導腸道菌相的改變而影響體重，因此促進嬰幼兒發展。長庚大學的賴信志實驗室以肥胖小鼠實驗證實，餵食靈芝多醣萃取物的小鼠，可以調整其腸道菌並達到減肥效果，該研究同時發現到，靈芝萃取物會誘導某株特別的革蘭氏陰性厭氧菌在腸道內增生，未來有潛力作為減肥菌。另有研究發現，長期的高纖維和碳水化合物飲食可以使腸道中的 *Prevotella* 顯著增加，而富含高蛋白和高脂肪的「西式餐飲」則使 *Bacteroides* 顯著增加。飲食可作為調節腸道菌群組成的一個有效的途徑，以膳食調理腸道菌來達到減肥效果，最著名的例子莫過於上海交通大學的趙立平教授，以自己的身體做實驗，驗證透過特殊的食譜配方食用兩年之後，他的體重從90公斤降到了60公斤，而他腸道內的 *Faecalibacterium prausnitzii* 菌則在這個過程中成為優勢的菌種；在後續的研究中，其團隊也陸續證實了透過飲食調理可以控制腸道菌種以抑制肥胖症。

因此，我們提出一個創新性的假設：膳食中的活性物質會透過改變腸道菌的菌相，進而改變腸道內活性菌原性代謝物的組成，再以此去影響人體的生理健康。藉由質譜分析工具以及動物模型，我們將會串連起「飲食—微生物」和「微生物代謝體—人體宿主」兩個

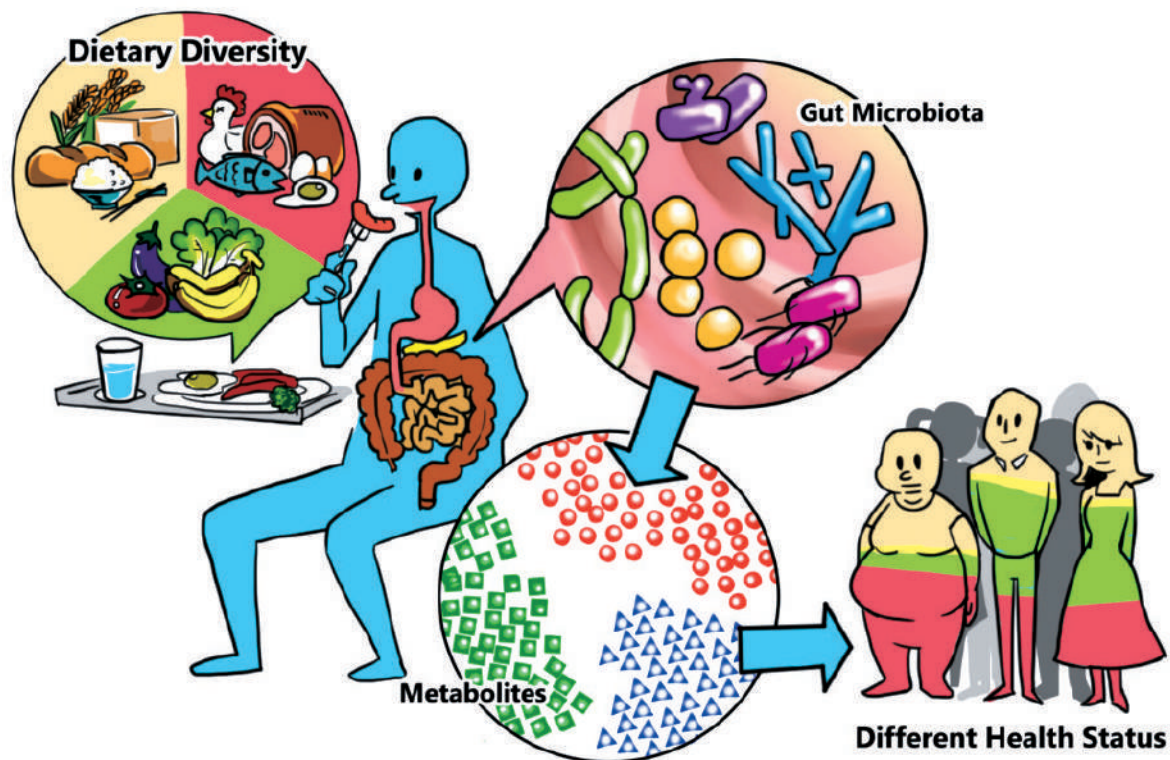


圖4：飲食可以改變腸道菌群的組成，從而導致菌群代謝物組成的變化，這些代謝物進一步影響宿主的身體健康狀況。運用生物學分析方法和生物化學分析工具，我們得以探究食物中的成分如何改變腸道微生物的次級代謝產物，並從這些代謝產物中找到具有生物活性的化學成分。（圖片來源：參考文獻3）

原本獨立的橫向連結，藉由了解食品中的化學分子與腸道菌之間的作用，以及腸道菌的活性化學物質對於宿主生理功能的影響，進一步確認可以通過膳食結構的調整來改變腸道菌群的結構，進而影響腸道的代謝來達到對疾病的預防和治療（見圖4）。

結論與展望

多種分析技術的應用如16 sRNA基因測序，使我們對腸道菌群影響人體健康的重要性有了更全面性了解。但是對腸道菌群代謝產物研究才剛剛起步。腸道菌群的變化如何影響腸道菌群代謝物的組成？腸道代謝物多樣性是否和腸道菌群生物多樣性同樣對人體健康重要？腸道菌群與人類共同進化了數百萬年，現在是時候去研究其存在對人類的意義了！結合質譜分析與代謝體學等多種技術手段，我們將挖掘人體腸道內這座化學分子寶庫，進一步探索人體微生物群的奧秘。📖（本期專題策畫／地理環境資源學系林俊全教授&生命科學系鄭貽生教授）

參考文獻：

- [1] Jeramie Watrous,[†] Vanessa Phelan,[†] Cheng-Chih Hsu,[†] ([†]contribute equally) et al. “Microbial Metabolic Exchange in 3D.” *ISME J.*, 2013, 7, 770-780.
- [2] Cheng-Chih Hsu, Pieter C. Dorrestein,* “Visualizing Life with Ambient Mass Spectrometry.” *Curr. Opin. Biotechnol.* 2015, 31, 24-34.
- [3] Qiang Lyu, Cheng-Chih Hsu,* “Can Diet Influence Our Health by Altering Intestinal Microbiota-derived Fecal Metabolites?” *mSystems* 2018, 3, e00187-17.
- [4] Mingxun Wang, et al., “Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking.” *Nat. Biotechnol.* 2016, 34, 828-837.
- [5] Phelan VV, Liu WT, Pogliano K, Dorrestein PC. “Microbial metabolic exchange--the chemotype-to-phenotype link.” *Nat. Chem. Biol.* 2012, 8, 26-35.
- [6] The Human Microbiome Project Consortium, Curtis; Gevers D, Knight R, et al, “Structure, function and diversity of the healthy human microbiome.” *Nature* 2012, 486, 207-214.



徐丞志小檔案

徐丞志博士為質譜影像及分析化學專業的年輕學者；在臺灣大學化學系完成學士及碩士學位後，於 2009 年起於美國加州大學聖地牙哥分校攻讀化學及生物化學博士，其在博班期間開發出常壓下於生物體表的蛋白質顯影的質譜技術，研究成果發表於美國國家科學院院刊，此項技術並獲得 2015 年的「質譜顯影技術研究獎（Mass Spectrometry Imaging Award）」。爾後在史丹佛大學進行博士後研究，2015 年起在臺大化學系擔任助理教授，同時擔任臺大貴重儀器中心質譜專家。徐博士返臺後，積極投入質譜領域的基礎研究及相關技術的開發，特別是常壓游離質譜的造影技術，以及腸道微生物代謝體的研究。目前與國內外許多實驗室進行多項跨領域研究，已有 18 篇論文刊登在國際學術期刊。

【更正啟事】117期第15頁表1修正如下：

認知失能程度	住家裡	住機構
輕 度	瑞智學堂	安養中心
中 度	樂智據點 日照中心 居家服務 互助家庭 外籍看護工	團體家屋
重 度	居家服務 外籍看護工	養護中心 護理之家