



シリーズ 腸内細菌叢 5

糖尿病と腸内細菌

Diabetes and Gut Microbiome

なか の ゆうじろう ぼう うち りょうたろう お がわ よし ひろ
 中 野 雄二郎：坊 内 良太郎：小 川 佳 宏
 Yujiro NAKANO Ryotaro BOUCHI Yoshihiro OGAWA

はじめに

肥満症や糖尿病の有病率は全世界的に増加傾向である。糖尿病の有病率は1980年の1億5千万人から2008年では3億4千万人にまで増加している。肥満症や糖尿病の主たる原因はこの数十年間における過食や運動不足に代表されるような生活習慣の変化であると考えられている。しかし、肥満症や糖尿病の予防として生活習慣に介入することは容易ではない。近年の研究で、腸内細菌が肥満や糖尿病をきたす病態に関与することが解明されてきた。腸内細菌は腸管腔内では炎症性腸疾患や過敏性腸症候群とのかかわりが指摘されているが、腸内環境に限らず腸管外にも影響することがわかってきた^{1,2)}。本稿では糖尿病に与える腸内細菌の影響や腸内細菌制御の糖尿病治療法としての可能性について概説する。

I. 腸内細菌について

1. 腸内細菌の分類

腸内細菌とはヒトや動物の腸の内部に生息している細菌のことである。腸内細菌は総数にして100兆個以上が存在し、ヒトの全細胞数を上回る量である。腸内細菌は腸のなかで個々の細菌が集まって複雑な微生物生態系を形成しており、これを腸内細菌叢(または腸内フローラ)と呼ぶ。腸内細菌の分布は消化管部位により大きく異なる。胃や十二指腸においては、分泌される胃酸や膵液、胆汁酸などの消化酵素のため、その数は内容物1gあたり $10 \sim 10^3$ colony forming unitと少ない。一方、下部小腸(回腸)に達

するとその数は飛躍的に増加し、大腸では小腸の数万倍の腸内細菌が生息している。

ヒトの腸内細菌の99%以上が、Firmicutes門、Bacteroidetes門、Proteobacteria門、Actinobacteria門に属するが、健常者においては、*Clostridium* clusterに代表されるFirmicutes門が全体の60%、次いでBacteroidetes門が20%程度を占める。さらに、腸内細菌は自身のエネルギー獲得方法によって好気性菌、通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌に分けられる。好気性菌は酸素がある環境で発育し、乳酸桿菌(*Lactobacillus*)などが挙げられる。通性嫌気性菌は酸素が存在する環境では好気性菌と同様のエネルギー産生を行うが、酸素がない場合でも発酵によりエネルギー産生が可能である。大腸菌(*Escherichia coli*)や*Klebsiella*、*Enterobacter*が代表的な通性嫌気性菌として挙げられる。偏性嫌気性菌は酸素が存在する環境では生存が困難であり、腸管内では酸素の少ない回腸～大腸に存在する。善玉菌と呼ばれるビフィズス菌(*Bifidobacterium*)や悪玉菌と呼ばれるウェルシュ菌(*Clostridium perfringens*)が偏性嫌気性菌の代表である。

2. 腸内細菌の働き

腸内細菌は腸管内において糖質の分解および短鎖脂肪酸(SCFA)の生成を行っているが、このSCFAがヒトの代謝維持に重要な役割を果たしている^{3,4)}。炭水化物や食物繊維は宿主の食化酵素により分解され、生体のエネルギー源となるが、一部の栄養素(セルロースなどの植物由来多糖類)は分解困難である。腸内細菌はそれらの難消化性の栄養素を分解し、酢酸、プロピオン酸や酪酸といったSCFAを生成する。また、ブドウ糖に代表される単糖類は生体のエネルギー

ギー源として非常に重要であるが、偏性嫌気性菌の一種であるビフィズス菌はブドウ糖を代謝し、SCFAのひとつである酢酸と乳酸を生成する。乳酸は他の腸内細菌によりさらに代謝され、SCFAが生成される。

腸内細菌により生成されたSCFAは受動輸送や monocarboxylate transporter 1 (MCT1) などを介して腸管腔から吸収され、全身の脂質や糖質の合成に利用される。腸内細菌が生成したSCFAは宿主のエネルギー源となり、その割合は全体の5～10%を占める。さらにSCFAには腸管収縮を促進する作用もあり、消化管からのエネルギー吸収の効率を高めていると考えられている。

II. 糖尿病について

糖尿病とはインスリンの作用不足による慢性の高血糖を主徴とする代謝疾患群である。インスリンの主な作用は肝臓における糖新生の抑制、骨格筋などにおけるグルコースの取り込みの促進とグリコーゲン合成の促進、脂肪組織における脂肪分解の抑制である。糖尿病はインスリン作用不足の機序の違いによって2型糖尿病、1型糖尿病に大別される。大多数を占める2型糖尿病はインスリン抵抗性をきたす遺伝素因に環境因子および加齢が加わり、膵β細胞の疲弊や減少が徐々に進行して発症する。一方、1型糖尿病は主に自己免疫による膵β細胞の破壊の結果、重度のインスリン分泌低下を来して発症する。膵β細胞の再生・インスリン分泌能の回復は研究段階であり、現時点では糖尿病は不治の病とされ、その発症や進行の予防が治療の主軸である。

1. 2型糖尿病について

2型糖尿病の主な病因はインスリン抵抗性である。インスリン抵抗性とはインスリン感受性臓器である肝臓、骨格筋、脂肪組織におけるインスリンの作用が低下した状態であり、作用を代償するためインスリン分泌は亢進する。例えば肥満者に見られる肥大化した脂肪細胞では遊離脂肪酸の放出が増加しており、遊離脂肪酸が骨格筋や肝臓に作用することでインスリン抵抗性が惹起され、結果として骨格筋や肝臓のグルコースの取り込みが低下する。また肥大化した脂肪細胞はマクロファージの増加をもたら

し、マクロファージからの腫瘍崩壊因子α (TNF-α) の分泌が増加する。炎症性サイトカインであるTNF-αは微小炎症を来すことで強力にインスリン感受性を低下させ、肝臓のグルコースの取り込みを抑制する(図1)。インスリン抵抗性によりインスリンの過剰分泌が持続すると、膵β細胞の疲弊やアポトーシスが誘導され、膵β細胞数が減少しインスリン分泌が低下する。このようにインスリン抵抗性や微小炎症を引き金としてインスリン分泌不全が重なり合ってインスリン作用不足となり2型糖尿病が発症・増悪する。

腸内細菌と2型糖尿病の関連はこれまでに種々の検討がされてきた^{5,6)}。糖尿病患者ではFirmicutes門やBacteroidetes門の割合の変化、*Clostridium*が減少し*Lactobacillus*が増加していると報告されているが、Bacteroidetes門とFirmicutes門の増減が肥満に与える影響については、腸内細菌の評価法の違いや対象人種、年齢といったさまざまな因子がこれらの研究の結果の違いの一因になっている可能性があり評価は一定していない。そのため腸内細菌と2型糖尿病の関連を説明しうる病態として、SCFAや微小炎症、腸管内分泌ホルモンの関与を想定した研究が進められてきた。

1) 肥満と腸内細菌

肥満者にみられる肥大化した脂肪細胞はインスリン抵抗性を惹起するが、肥満の発症に腸内細菌が影響していることがわかってきた⁷⁻⁹⁾。生活習慣病のない非肥満者、過体重、肥満者の腸内細菌を調べたところ、過体重、肥満者では非肥満者に比べてFirmicutes/Bacteroidetes比が低値であり、特に*Ruminococcus*が低値であった¹⁰⁾。そこで、肥満のモデルであるob/obマウスの腸内細菌と痩せ型モデルのマウスの腸内細菌を、それぞれ別々の無菌マウスに移植したところ、肥満マウスの腸内細菌を移植された無菌マウスのほうが体脂肪率の増加が顕著であった¹¹⁾。ヒトでも同様の報告があり、特定の腸内細菌または腸内細菌叢の乱れが肥満の原因となっている可能性がある。

腸内細菌が肥満を引き起こすメカニズムについて、いくつかの機序が考えられる。ob/obマウスの腸内細菌には、難消化性の食物繊維の分解にかかわる酵素をコードする遺伝子が豊富に含まれている。食物繊維の分解が活発になると短鎖脂肪酸などのエ

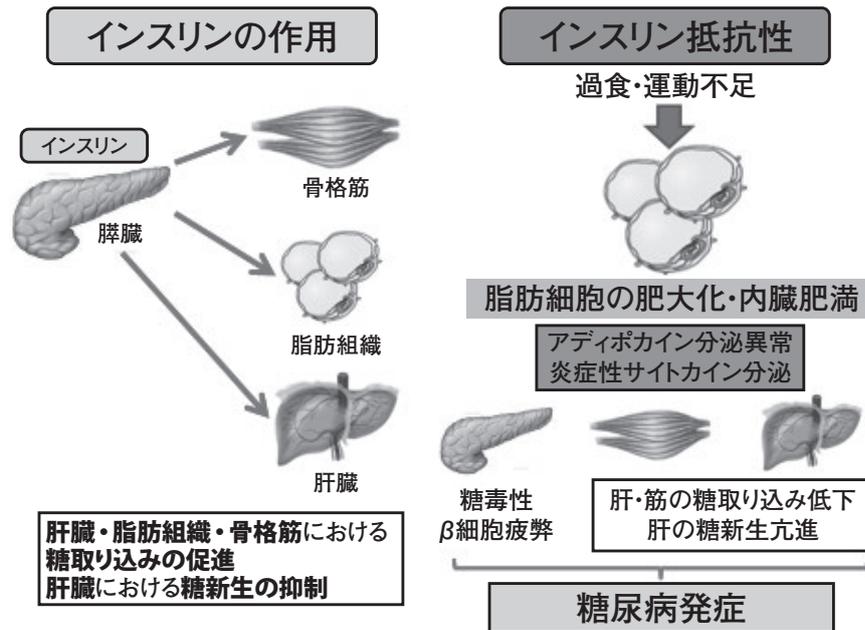


図1 インスリン抵抗性と糖尿病の関係

インスリンの主な作用は骨格筋、脂肪組織、肝臓での血糖の取り込み促進である。脂肪細胞の肥大化や微小炎症により炎症性サイトカインが増加すると、骨格筋、肝臓での脂肪取り込みが低下しインスリン抵抗性が增大する。インスリン抵抗性を代償するためにインスリン分泌が亢進し続けると膵臓β細胞が疲弊や減少し、糖尿病が発症する。

エネルギー源の生成が増加する。腸内細菌がエネルギー吸収の増加を介して肥満を引き起こしている可能性が考えられる。また、腸内細菌は腸管内分泌細胞の機能にも影響を及ぼす。腸内細菌が生成する短鎖脂肪酸 (SCFA) は腸管内分泌細胞上に存在する G-protein-coupled receptor (GPR) 41、43 に結合することで腸管内分泌ホルモンである glucagon like peptide-1 (GLP-1)、peptide YY (PYY) の分泌を促進している (図2)。インスリン抵抗性を有する肥満女性に酢酸 (SCFA の一つ) を注入したところ GLP-1、PYY の血中濃度が上昇すると報告された。これらの腸管内分泌ホルモンは摂食中枢に作用することで食欲を抑制している。さらに SCFA が脂肪組織に直接作用していることも明らかにされた。腸管内分泌細胞や脂肪細胞において発現する GPR43 は SCFA の受容体としての役割がある。GPR43 が欠損したマウスに通常食を与えたところ肥満になったが、GPR43 過剰発現マウスでは高脂肪食を与えても痩せたままであった (図2)。加えて、SCFA による GPR43 の活性化が脂肪細胞におけるインスリンシグナル伝達を抑制することで脂肪組織への脂肪蓄積を抑制し、逆に脂肪組織以外の組織では脂質・糖代

謝を促進することが明らかにされた¹²⁾。

これらの結果から、腸内細菌叢の乱れは腸管および脂肪組織へのエネルギーの過剰吸収、短鎖脂肪酸の減少を介した食欲の亢進を引き起こし、結果として肥満をもたらす可能性が示唆される。

2) 微小炎症と腸内細菌

微小炎症はインスリン抵抗性を介して糖尿病の原因となるが、ここでも腸内細菌が関与していることが明らかとなってきた¹³⁾。腸内細菌が微小炎症を調節するメカニズムには粘液産生による腸管バリア、および腸管感染に対する炎症性の免疫応答による腸管バリアが挙げられる。

腸内細菌が産生する SCFA の中で酢酸および酪酸は goblet 細胞からの粘液産生を増加させ腸管を保護する作用をもつ。SCFA の減少により goblet 細胞の働きが抑制されると、腸管バリア機能が低下しグラム陰性菌 (大多数が Proteobacteria 門) が産生する Lipopolysaccharide (LPS) が血中に移行する。血中 LPS の増加は骨格筋や肝臓などのインスリン感受性臓器においてインスリン抵抗性を惹起する (図2)。実際に 2 型糖尿病患者群ではコントロール群に比較して血中において LPS と関連する LPS 結合蛋白の

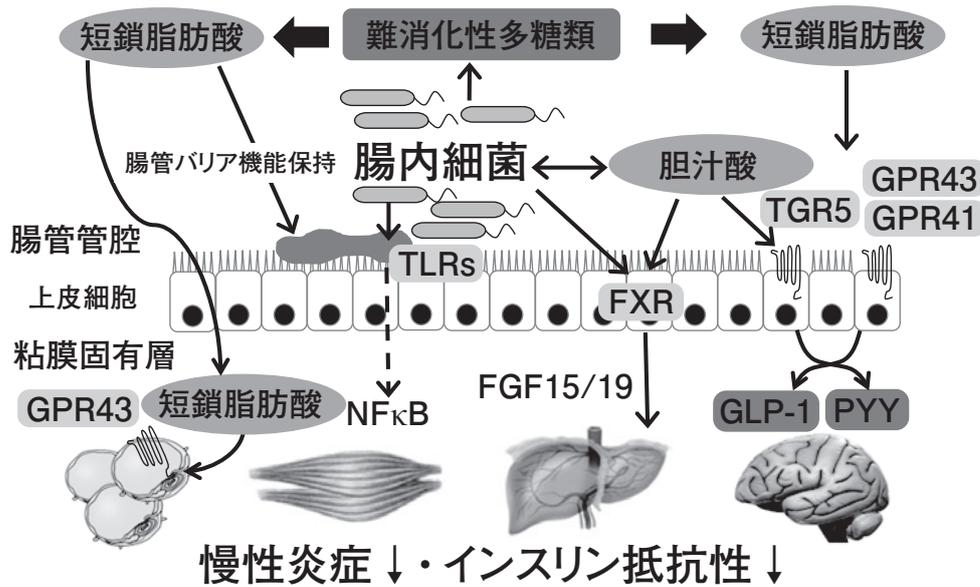


図2 腸内細菌のインスリン感受性臓器における働き

腸内細菌は難消化性の食物繊維から短鎖脂肪酸を生成する。短鎖脂肪酸は腸管内分泌細胞のGPR41、GPR43に作用してGLP-1、PYYの分泌を促し、GLP-1、PYYが中枢に作用し、食欲を抑制する。短鎖脂肪酸は脂肪細胞のGPR43に結合し抗炎症作用を発揮する。短鎖脂肪酸は goblet 細胞に作用して粘液産生を促進することで腸管バリア機能を保持している。

濃度が高値であった¹⁴⁾。このように腸内細菌叢の乱れは粘液による腸管バリアの低下を介して微小炎症を引き起こすと考えられる。

腸内細菌は腸管局所における炎症性の免疫応答を制御することで腸管バリア機能の一部を担っていると考えられている。GPR41欠損マウスおよびGPR43欠損マウスの腸管に腸炎の原因菌である *Citrobacter rodentium* を感染させ経時的に観察したところ、コントロール群では糞便中における *Citrobacter rodentium* の増加に併せて炎症性サイトカインである Interleukin-6 (IL-6)、chemokine ligand 1 (CXCL1) や CXCL2 が誘導されていたが、GPR欠損マウスでは炎症性サイトカインの誘導が低下・遅延していた。これらの結果は感染症に対する腸管の免疫応答にGPRが重要な役割を果たしていることを意味し、GPR欠損マウスは腸管における感染防御機構が破綻している可能性がある。そのようなGPR欠損マウスにSCFAを継続投与すると *Citrobacter rodentium* 感染後の炎症反応誘導の遅延は軽減された¹⁵⁾。したがってSCFAが腸管感染に防御的に働いている可能性が示唆される。また、2型糖尿病患者とコントロール群で腸内細菌の分布と血中の腸内細菌を調べたとこ

ろ、2型糖尿病患者群において *Clostridium coccoides* group が腸内細菌では減少しており、血中で同定される割合が有意に高かった¹⁴⁾。以上より、腸内細菌叢の乱れはSCFAの減少から炎症反応による腸管バリア機能が低下し血中への菌の移行を引き起こしている可能性がある。

2. 1型糖尿病と腸内細菌の関与

1型糖尿病は、2型糖尿病と異なる発症形式をもつ。自己免疫発症1型糖尿病はT細胞による膵島β細胞の破壊によってインスリン分泌不全をきたす。腸内細菌が1型糖尿病の発症に関与することが多数報告されるようになってきた^{16,17)}。

フィンランドにおいて出生時から糞便中の腸内細菌叢を定期的に評価して経過を追うことで1型糖尿病の発症と腸内細菌の関連を検討する研究が行われた¹⁸⁾。1型糖尿病を発症した群は非発症群に比して便中のBacteroidetes門の増加およびFirmicutes門の減少が認められた。一方で非発症群ではFirmicutes門は増加し、Bacteroidetes門が減少していた。これらの細菌門の変化は抗GAD抗体に代表される膵島関連自己抗体の出現よりも以前からすでに認め

られていた。最終観察点において1型糖尿病に優位な腸内細菌は22種類、非発症群に優位な腸内細菌は15種類同定できた。この結果は自己免疫反応の獲得や1型糖尿病発症と関連を示す特徴的な腸内細菌を同定しえた事を意味する。加えて、非発症群では成長とともに腸内細菌叢の多様性を獲得したのに対して、1型糖尿病群では腸内細菌叢の多様性に乏しかった。この結果から、1型糖尿病の発症予測に腸内細菌叢の変化が有用である可能性、腸内細菌叢に対する治療介入による1型糖尿病の発症・進展を抑制する可能性が示唆される。

腸内細菌が1型糖尿病の発症に関与するメカニズムとしては免疫寛容の調節が考えられている。腸内細菌が産生するSCFAの一つである酪酸はhistone deacetylase (HDAC) 6およびHDAC9を阻害することにより転写因子foxp3の発現を促進する。foxp3は制御性T細胞の特異的表面マーカーであり、foxp3の発現低下は細胞障害性T細胞の活性化を介して1型糖尿病を誘導する¹⁹⁾。また、1型糖尿病の自然発症モデル動物であるNODマウスを無菌環境下で飼育すると1型糖尿病を発症しやすい。更に、Toll-like receptorからのシグナルを遮断したMyD88蛋白欠損マウスをSPF (specific antigen free) 環境下において飼育すると1型糖尿病の発症が抑制されるが、無菌環境下では1型糖尿病を発症しやすい²⁰⁾。これらの結果から1型糖尿病の発症における免疫寛容の破綻において腸内細菌の関与が重要であることがわかる。

Ⅲ. 腸内細菌の調節による糖尿病治療の可能性

エネルギーの過剰摂取、脂質摂取量の増加、運動不足といった生活習慣の乱れ、特に摂取する食事内容により腸内環境が変化することが報告されている²¹⁾。動物性食品(動物性タンパク質および飽和脂肪)中心の食事は植物性食品と比較してFirmicutes門の腸内細菌が減少し、SCFAの産生が低下する可能性がある。実際に、動物性食品は*Bacteroides*を増加させ、炭水化物は*Prevotella*を増加させる。このように、腸内環境を制御することで2型糖尿病の病態を改善、1型糖尿病の発症を予防する可能性が報告されている。以下にその具体的な方法について述べる。

1. 外科手術

胃切除術として知られているRoux-en-Y graft手術(RYGB)は、近年は減量困難な肥満症患者を対象とした肥満外科手術の一つとして認識されるようになった。RYGBは体重減少依存性および非依存性の耐糖能改善効果がそれぞれ知られている。近年RYGBにおける耐糖能の改善に腸内細菌がかかわっている可能性が指摘されるようになった^{22, 23)}。RYGBを受けたマウスはγ-proteobacteriaやVerrucomicrobiaの増加を認め、手術後のマウスの腸内細菌を無菌マウスに投与したところ、体重と体脂肪率の減少が認められた²⁴⁾。ヒトにおいてRYGBは*Bacteroides*やγ-proteobacteriaを増加させ、一方で*Clostridium*の低下に加えて、*Lactobacillus*、*Bifidobacterium*や便中のプロピオン酸(SCFAの一つ)は低下していた²⁵⁾。更に、RYGBはヒトにおいてGLP-1、PYY分泌を上昇させることが明らかとなった。以上の結果は、RYGBが腸内細菌に影響を与えることで腸管内分泌細胞の働きを介して肥満度・内臓脂肪を改善させている可能性を示している。

2. 抗菌薬

広域の抗菌薬を投与すると血中LPSの減少を介してインスリン抵抗性が改善する。また、抗菌薬はtight-junctionを構成するタンパクであるoccludinやzonula occludens1の発現増加を引き起こし、腸管バリア機能を保持する可能性がある。健常者に強力な抗菌薬を3日間投与したところ、一過性に*Enterococcus*、*Bifidobacterium*が減少し、更に血中のPYYの上昇が見られた²⁶⁾。ただし、抗菌薬の長期投与による耐性獲得や腸内細菌叢の変化、腸内細菌多様性の消失、体重増加の可能性も指摘されている。

3. 腸内細菌移植 / プロバイオティクス / プレバイオティクス

腸内細菌移植とは生体の腸管から得られた腸内細菌叢を直接的に投与する方法である。肥満モデルのラットに代謝に悪影響を与える高フルクトース食を与えた群、事前に健常な腸内細菌移植をした上で高フルクトース食を与えた群、通常食群(コントロール群)で比較したところ、腸内細菌移植をしなかった高フルクトース食群において*Ruminococcus*の増加お

よび血中の LPS、TNF- α の増加を認めたが、腸内細菌を移植した高フルクトース食群における血中の炎症マーカーはコントロール群と同程度であった²⁷⁾。腸内細菌の移植によって腸内細菌叢が変化して宿主の代謝に良い影響を与えている可能性が示唆される。

プロバイオティクスとは体内に良い影響を与えるとされるいわゆる善玉菌のことで 1989 年に Fuller によって定義された。代表的なプロバイオティクスである *Lactobacillus* はマウスの脂肪細胞の成熟化や体脂肪量の減少との関連が報告されており、ヒトにおいても *Lactobacillus* を摂取することにより、体重や体脂肪量が低下することが示されている。

プレバイオティクスは難消化性の食物繊維のうち腸内細菌へ良い影響を与えるものである。Inulin、fructooligosaccharides、galactooligosaccharides は腸内細菌への影響が多く検討されている。プレバイオティクスは SCFA の増加、腸管内分泌細胞からの GLP-1、PYY の分泌の亢進、ghrelin の発現低下を引き起こすとされる。肥満女性にプレバイオティクスを投与すると *Bifidobacterium*、*Foecalibacterium prausnitzii* が増加することが報告されている。これらの腸内細菌は血中 LPS 濃度と負の相関があり、プレバイオティクスによる腸内細菌叢の乱れの改善は LPS の減少を介してインスリン抵抗性を軽減させて耐糖能の改善に寄与すると期待される。

4. ビグアナイド薬

糖尿病治療薬の 1 つであるビグアナイド薬はインスリン抵抗性を改善する有用な薬剤であるが、ビグアナイド薬の投与による腸内細菌の調節に関して報告されている²⁸⁻³⁰⁾。肥満モデルマウスにおいてビグアナイド薬を投与したところ *Akkermansia muciniphilia* (*A muciniphilia*) を増加させ、腸管バリア機能の維持にかかわる goblet 細胞を増加させた。*A muciniphilia* は肥満度と負の相関を認めており、ビグアナイド薬が肥満の改善に寄与している可能性がある。

5. 1 型糖尿病における腸内細菌の調整の意義

1 型糖尿病は一度発症してしまうとインスリン分泌機能が改善する確率は皆無に等しい。そのため腸内細菌の調整が 1 型糖尿病の発症予防に役立つ可能性が検討されている³¹⁾。1 型糖尿病モデルのラット

に *Lactobacillus johnsonii* (*L. johnsonii*) を投与した群を非投与群と比較したところ、*L. johnsonii* を投与した群で 1 型糖尿病の発症が有意に遅れていた³²⁾。この研究では *L. johnsonii* 投与後の腸内細菌叢は投与群と非投与群の間で明らかに異なっており、腸内細菌の調整による変化と考えられている。更に、*L. johnsonii* 投与群は非投与群と比べて腸管バリア機能に直接かかわる goblet 細胞が多く、TNF- α の遺伝子発現も低下しており、炎症性サイトカインの違いが 1 型糖尿病の発症と関連している可能性が示唆される。この結果をまとめると、健全な段階で腸内細菌の調整することで 1 型糖尿病の発症が予防できる可能性を示している。

おわりに

糖尿病の病態における腸内細菌のかかわりは遺伝子解析技術の進歩によって日進月歩で解明が進んでいる。本稿で述べた内容が更に研究されることで、腸内細菌を対象とした治療が普遍的に行えるような日が近い将来に訪れることを期待する。

文 献

- 1) Annick V. Hartstra et al. Insights Into the Role of the Microbiome in Obesity and Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*. 2015 ; **38** : 159-165.
- 2) Julian R Marchesi et al. The gut microbiota and host health : a new clinical frontier, *Gut*. 2015 ; **0** : 1-10
- 3) Marlene Remely et al. Effects of short chain fatty acid producing bacteria on epigenetic regulation of FFAR3 in type 2 diabetes and obesity, *Gene*. 2014 ; **537** : 85-92.
- 4) P. Friedrichs et al. Energy and metabolic sensing G protein-coupled receptors during lactation-induced changes in energy balance, *Domestic Animal Endocrinology*. 2014 ; **48** : 33-41.
- 5) Jungie Qin et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes, *Nature*. 2012 ; **490** : 55-60.
- 6) Fredrik H. Karlsson et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control, *Nature*. 2013;498 : doi : 10.1038/nature12198.
- 7) F. Dengler et al. Both butyrate incubation and hypoxia up-regulate genes involved in the ruminal transport of SCFA and their metabolites, *Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2014 ; doi : 10.1111/jpn.12201.
- 8) Peter J. Turnbaugh et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest, *Nature*. 2006 ; **444** : 629-633.

- ture. 2006 ; **444** : 1027-1031.
- 9) Yeon-Hee Hong et al. Acetate and Propionate Short Chain Fatty Acids Stimulate Adipogenesis via GPCR43, *Endocrinology*. 2005 ; **146** : 5092-5099.
 - 10) Andreas Schwirtz et al. Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects, *Obesity*. 2009 ; **18** : 190-195.
 - 11) Peter J. Turnbaugh et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest, *Nature*. 2006 ; **444** : 1027-1031.
 - 12) Ikuo Kimura et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43, *Nature communications*. 2013 ; doi : 10.1038/ncomms2852.
 - 13) Chiara Voltolini et al. A Novel Antiinflammatory Role for the Short-Chain Fatty Acids in Human Labor, *Endocrinology*. 2012 ; **153**(1) : 395-403.
 - 14) Junko Sato et al. Gut Dysbiosis and Detection of "Live Gut Bacteria" in Blood of Japanese Patients With Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*. 2014 ; **37** : 2343-2350.
 - 15) Myung H. Kim et al. Short-Chain Fatty Acids Active GPR41 and GPR43 on Intestinal Epithelial Cells to Promote Inflammatory Responses in Mice, *Gastroenterology*. 2013 ; **145** : 396-406.
 - 16) Chang H. Kim, Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids, T Cells, and Inflammation, *Immune Network*. 2014 ; **14**(6) : 277-288.
 - 17) Andrea M. Caricilli, Gut Microbiota Is a Key Modulator of Insulin Resistance in TLR 2 Knockout Mice, *PLOS biology*. 2011 ; **9**(12) : doi : 10.1371/journal.pbio.1001212.
 - 18) Adriana Giongo et al. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes, *ISME J*. 2011 ; **5**(1) : 82-91.
 - 19) Koji Atarashi et al, T_{reg} induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota, *Nature*. 2013 ; doi : 10.1038/nature12331.
 - 20) Li Wen et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes, *Nature*. 2008 ; doi : 10.1038/nature07336.
 - 21) Carmen Haro et al. Two healthy diets modulate gut microbial community improving insulin sensitivity in a human obese population, *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015 ; doi:10.1210/jc.2015-3351.
 - 22) Alice P. Liou et al. Conserved Shifts in the Gut Microbiota Due to Gastric Bypass Reduce Host Weight and Adiposity, *Science Translational Medicine*. 2013 ; **178**(5): doi : 10.1126/scitranslmed.3005687.
 - 23) Husen Zhang et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass, *PNAS*. 2009 ; **106**(7) : 2365-2370.
 - 24) Valentina Tremaroli et al. Roux-en-Y Gastric Bypass and Vertical Banded Gastroplasty Induce Long-Term Changes on the Human Gut Microbiome Contributing to Fat Mass Regulation, *Cell Metabolism*. 2015 ; **22** : 228-238.
 - 25) Jean-Pierre Furet et al. Differential Adaptation of Human Gut Microbiota to Bariatric Surgery-Induced Weight Loss, *Diabetes*. 2010 ; **59** : 3049-3057.
 - 26) Kristian H. Mikkelsen et al. Effect of Antibiotics on Gut Microbiota, Gut Hormones and Glucose Metabolism, *PLOS one*. 2015 ; doi : 10.1371/journal.pone.0142352.
 - 27) Blanda Di Luccia et al. Rescue of fructose-Induced Metabolic Syndrome by Antibiotics or Faecal Transplantation in a Rat Model of Obesity, *PLOS one*. 2015 ; doi :10.1371/journal.pone.0134893.
 - 28) Filipe Cabreiro et al. Metformin Retards Aging in *C. elegans* by Altering Microbial Folate and Methionine Metabolism, *Cell*. 2013 ; **153** : 228-239.
 - 29) Antonella Napolitano et al. Novel Gut-Based Pharmacology of Metformin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus, *PLOS one*. 2014 ; **9** : doi : 10.1371/journal.pone.0100778.
 - 30) Kristoffer Forslund et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota, *Nature*. 2015 ; **528** : doi : 10.1038/nature15766.
 - 31) Mikael Knip et al. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes mellitus, *Nature review endocrinology*. 2016 ; doi : 10.1038/nrendo.2015.218.
 - 32) Ricardo Valladares et al. *Lactobacillus johnsonii* N6.2 Mitigates the Development of Type 1 Diabetes in BB-DP Rats, *PLOS one*. 2010 ; **5** : doi:0.1371/journal.pone.0010507.