

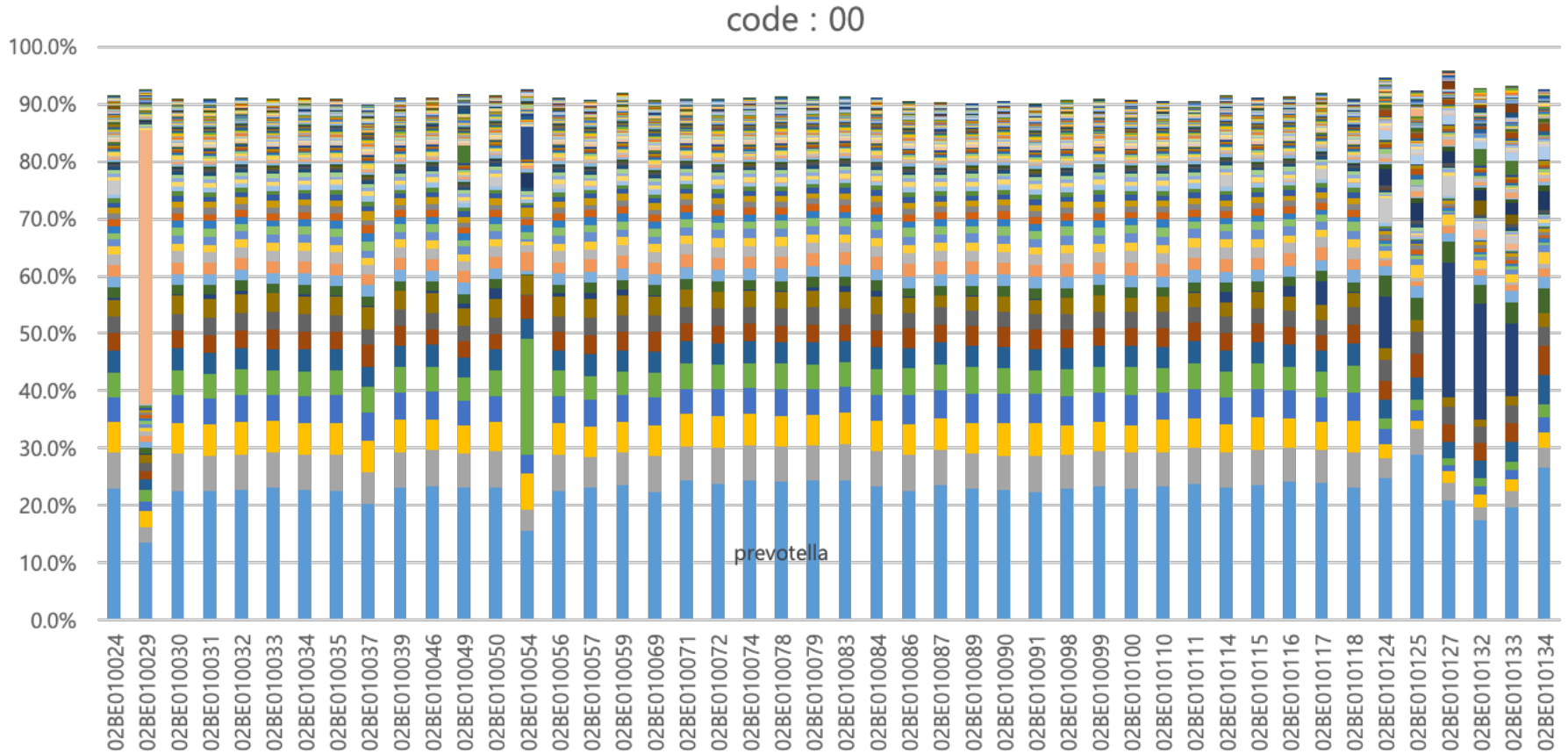
0

사전연구



만삭 분만 영아의 태변 분석

- 태변 샘플의 NGS결과는 매우 일정한 분포를 보이고 있다.
- 전체중 80% 이상이 일치하는 균종으로 구성되어 있음

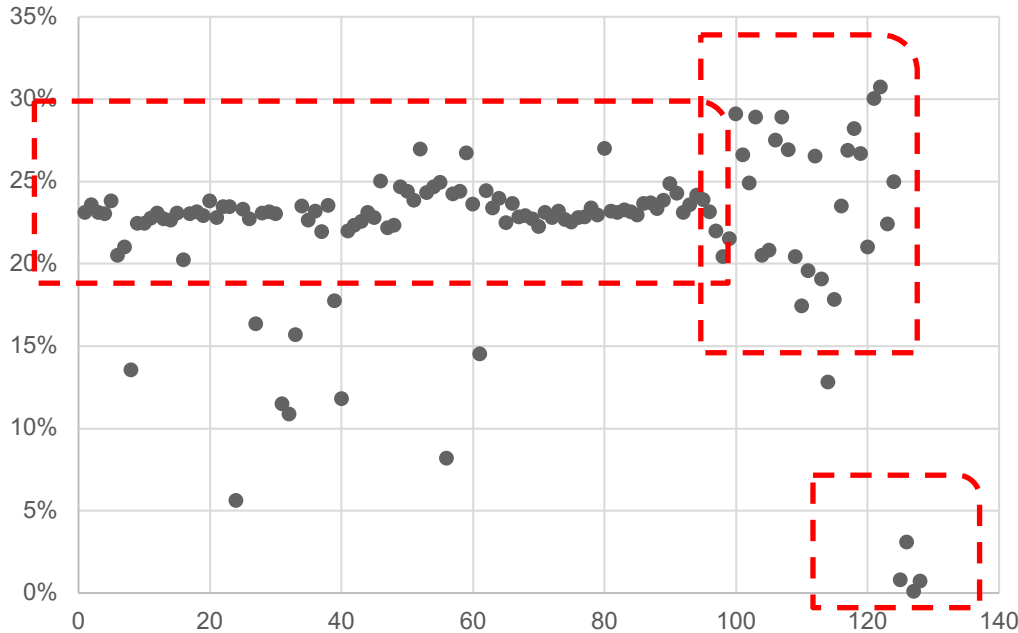


마치 filter를 거친 것 같은 일정한

전체 신생아 sample에서 Prevotella copori의 농도가 가장 높게 측정됨[평균농도 24%]

- 시계열성의 이상 분포는 오염으로 인한 outlier로 해석할수 있음
- 동일 Batch에서 분석한 성인 샘플 에서 prevotella copori 농도가 매우 낮게 측정됨.
- 기존 연구사례중 유사한 경우가 많지 않음. [브라질 산모 사례에서 일부확인]

Prevotella Prevotella_copri(AB064923)



태변의 Major 균종인 prevotella copori의 농도 분포

분석의 단계에서 시계열성의 영향성도 감안되어야...

Brevundimonas 증가시점 Sample
-> 원내 감염, 혹은 sample 간 오염으로 추정

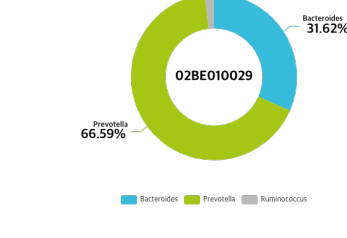
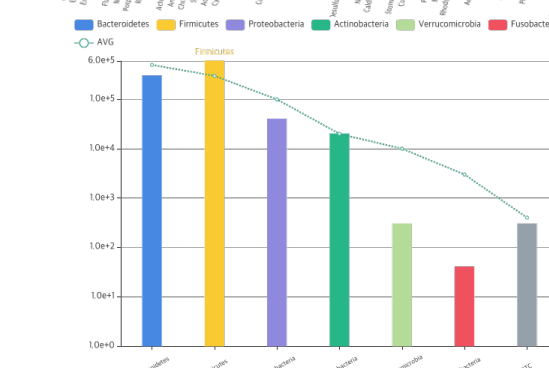
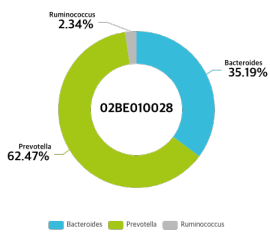
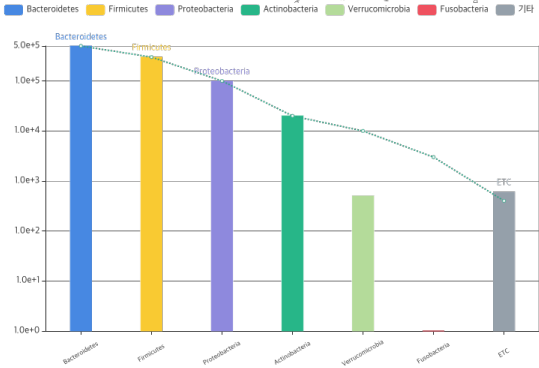
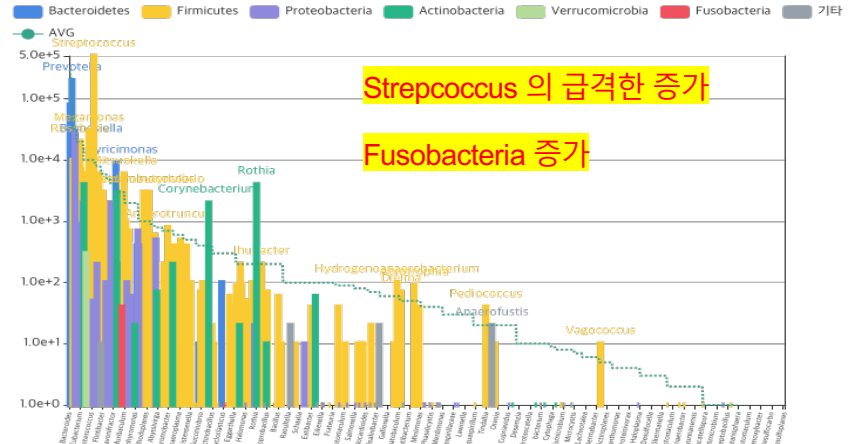
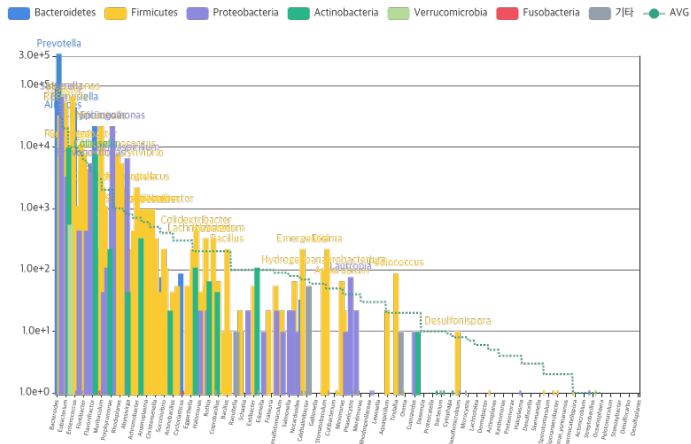
동일 배치에서 분석한 성인 Sample

배치의 분석 오류
검증을 위한 대조그룹

				02BE010114							
Dragen				16S-DADA2				16S-Greengene			
		Percentage			Percentage					Percentage	
Prevotella	22870.0	27.1	27.1	Prevotella	19752.0	21.0	21.0	Bacteroides	19113.00	21.07	21.07
Bacteroides	13391.0	15.9	43.0	Bacteroides	14249.0	15.2	36.2	Prevotella	16976.00	18.72	39.79
Megamonas	7237.0	8.6	51.6	Megamonas	5988.0	6.4	42.5	Megamonas	6711.00	7.40	47.19
Sutterella	4277.0	5.1	56.6	Sutterella	5424.0	5.8	48.3	Sutterella	5785.00	6.38	53.57
Dialister	3793.0	4.5	61.1	Dialister	4168.0	4.4	52.7	Roseburia	4723.00	5.21	58.78
Alistipes	3090.0	3.7	64.8	Alloprevotella	4032.0	4.3	57.0	Faecalibacterium	3978.00	4.39	63.16
Barnesiella	2751.0	3.3	68.1	Barnesiella	3732.0	4.0	61.0	Sphingomonas	3139.00	3.46	66.62
Faecalibacterium	2478.0	2.9	71.0	Sphingomonas	3022.0	3.2	64.2	Blautia	3074.00	3.39	70.01
Butyrimonas	2034.0	2.4	73.4	Alistipes	2974.0	3.2	67.4	Oscillospira	2434.00	2.68	72.70
Brevundimonas	1630.0	1.9	75.4	Roseburia	2838.0	3.0	70.4	Butyrimonas	2089.00	2.30	75.00
Parabacteroides	1603.0	1.9	77.3	Faecalibacterium	2562.0	2.7	73.1	Flavobacterium	2033.00	2.24	77.24
Sphingobium	1471.0	1.7	79.0	Butyrimonas	1926.0	2.0	75.1	Mitsuokella	1878.00	2.07	79.31
Sphingomonas	1199.0	1.4	80.4	Parabacteroides	1903.0	2.0	77.2	Clostridium	1741.00	1.92	81.23
Bifidobacterium	1182.0	1.4	81.8	Mitsuokella	1692.0	1.8	79.0	Brevundimonas	1536.00	1.69	82.92
Anaerostipes	1043.0	1.2	83.1	Brevundimonas	1674.0	1.8	80.8	Parabacteroides	1500.00	1.65	84.58
Roseburia	964.0	1.1	84.2	Lachnospiraceae_incertae_sedis	1427.0	1.5	82.3	Bifidobacterium	1358.00	1.50	86.07
Veillonella	953.0	1.1	85.3	Bifidobacterium	1186.0	1.3	83.5	Veillonella	1135.00	1.25	87.33
Ruthenibacterium	934.0	1.1	86.4	Gemmiger	1042.0	1.1	84.6	Ruminococcus	922.00	1.02	88.34
Lachnoclostridium	895.0	1.1	87.5	Veillonella	1028.0	1.1	85.7	Bilophila	875.00	0.96	89.31
Blautia	837.0	1.0	88.5	Bilophila	803.0	0.9	86.6	Pseudobutyrvibrio	721.00	0.79	90.10
unclassified Blaut	798.0	0.9	89.4	Oscillibacter	802.0	0.9	87.4	Acidaminococcus	699.00	0.77	90.87
Acidaminococcus	667.0	0.8	90.2	Fusicatenibacter	784.0	0.8	88.3	Lachnospira	606.00	0.67	91.54
Collinsella	639.0	0.8	91.0	Intestinimonas	690.0	0.7	89.0	Collinsella	480.00	0.53	92.07
Lachnospira	598.0	0.7	91.7	Acidaminococcus	685.0	0.7	89.7	Phascolarctobacterium	438.00	0.48	92.55
Clostridium	556.0	0.7	92.4	Collinsella	601.0	0.6	90.4	Pectinatus	426.00	0.47	93.02
Phascolarctobacteri	497.0	0.6	92.9	Clostridium_XIVa	588.0	0.6	91.0	Coprococcus	360.00	0.40	93.42
Oscillibacter	429.0	0.5	93.5	Blautia	518.0	0.6	91.6	Alkaliphilus	309.00	0.34	93.76
Christensenella	416.0	0.5	94.0	Phascolarctobacterium	460.0	0.5	92.0	Escherichia	301.00	0.33	94.09
Flavonifractor	309.0	0.4	94.3	Escherichia/Shigella	422.0	0.4	92.5	Dysgonomonas	249.00	0.27	94.37
Anaerotignum	285.0	0.3	94.7	Anaerostipes	389.0	0.4	92.9	Negativicoccus	248.00	0.27	94.64
Streptococcus	261.0	0.3	95.0	Pseudobutyrvibrio	350.0	0.4	93.3	Streptococcus	207.00	0.23	94.87
unclassified Bacter	247.0	0.3	95.3	Flavonifractor	344.0	0.4	93.6	Anaerotruncus	180.00	0.20	95.07
unclassified Alist	228.0	0.3	95.5	Clostridium_sensu_stricto	334.0	0.4	94.0	Sphingobacterium	154.00	0.17	95.24
Odoribacter	186.0	0.2	95.7	Ruminococcus2	310.0	0.3	94.3	Pedobacter	147.00	0.16	95.40
Clostridioides	160.0	0.2	95.9	Parasutterella	289.0	0.3	94.6	Anaerostipes	145.00	0.16	95.56
Ruminococcus	135.0	0.2	96.1	Clostridium_IV	288.0	0.3	94.9	Haemophilus	136.00	0.15	95.71
Lactobacillus	110.0	0.1	96.2	Eisenbergiella	270.0	0.3	95.2	Slackia	135.00	0.15	95.86
Herbaspirillum	99.0	0.1	96.3	Haemophilus	241.0	0.3	95.5	Desulfovibrio	130.00	0.14	96.00
Spirosoma	96.0	0.1	96.5	Romboutsia	224.0	0.2	95.7	Serratia	125.00	0.14	96.14
unclassified Clostrid	96.0	0.1	96.6	Streptococcus	200.0	0.2	95.9	Delftia	121.00	0.13	96.27

태변과 이행변의 비교

출생일	첫입원	첫검체	몸무게	성별	VLBW	Prematurity	30주미만	재태연령_주	재태연령_일	제왕절개	DM	labor	PROM	preeclampsia	placenta abruption	placenta previa	oligohydramnios	RDS	TTN	anomaly	IUGR	intubation	특이사항
2021.05.18	NICU	1	973 M		1	1	1	26	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
2021.05.18	NICU	0	973 M		1	1	1	26	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1



태변

생후 1주

1

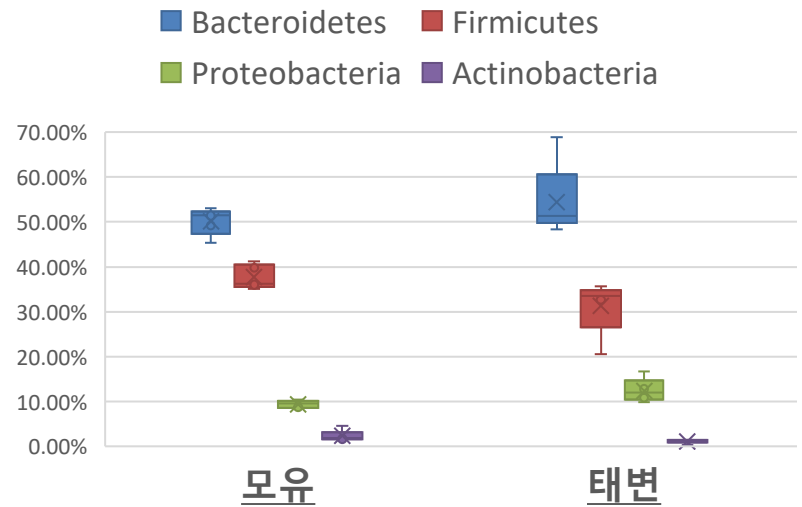
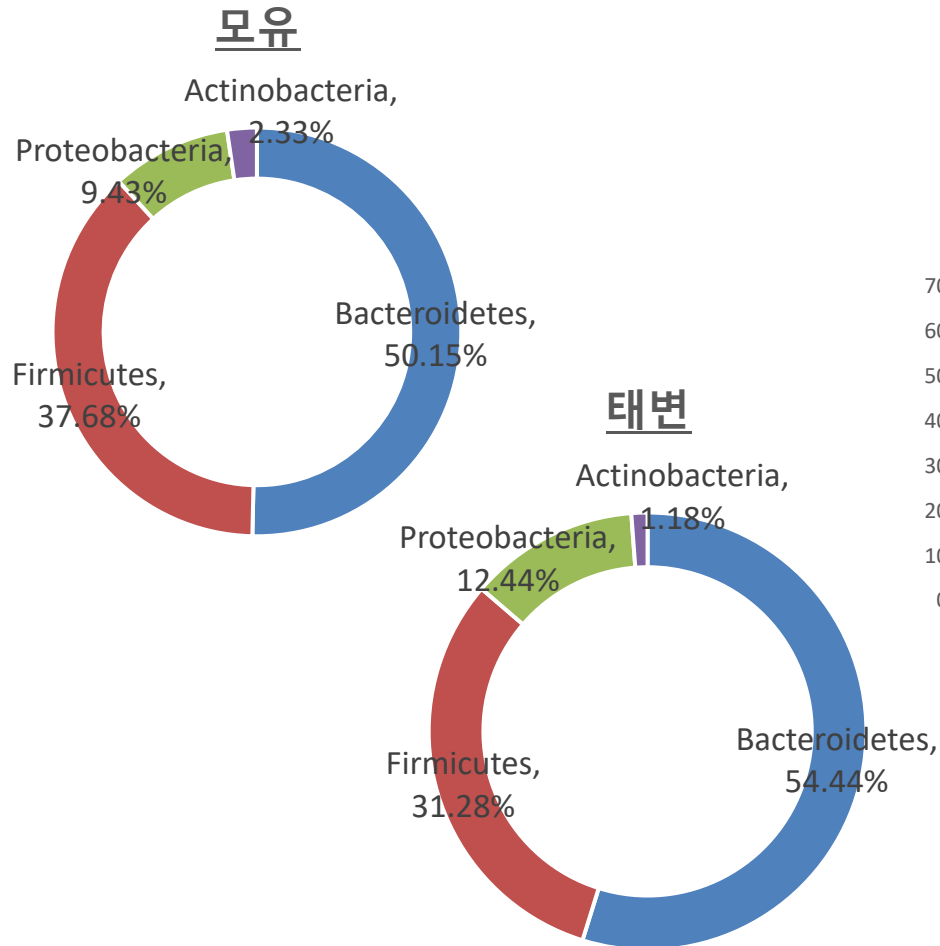
모유 및 태변 비교 분석



1. Phylum classification result

- 5명의 산모와 그 아기의 모유와 태변을 비교 분석

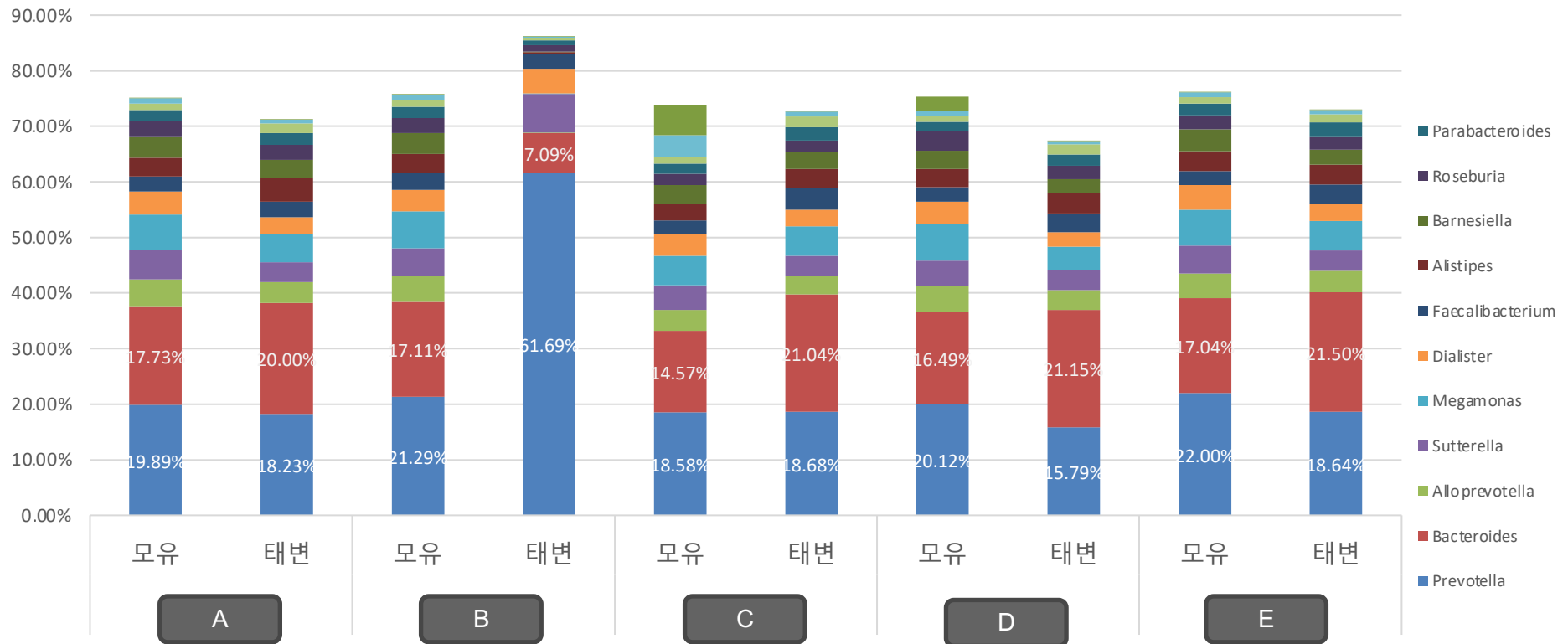
> Phylum Level 에서 모유와 태변은 구성과 비율의 유사성이 크다.



2. Genus classification result

모유와 태변에서 마이크로바이옴의 유사성은 임신기간 중 엄마의 Microbiome 이 아기에게 전달되었음을 추정할 수 있다.

- 태아 구강을 통한 양수 흡입?
- 탯줄을 통한 전이?



산모의 모유와 모유 수유이전 태변에서 각각 127종/ 136종의 Microbiome 이 확인되었으며 그 중 상위 10여종이 전체 70% 수준으로 일치하고 있다.

2. Genus classification result

Genus Level에서도 모유와 태변의 Microbiome은 종 유사성이 크다.

- 모유 및 태변의 주요 속은 Prevotella, Bacteroides, Alloprevotella, Sutterella, Megamonas
- 모유의 특수한 유산균인 비피더스균은 모유에서 평균 1% 내외 태변에서는 다소 낮은 0.67% 수준으로 측정
- 유산균은 농도뿐 아니라 Species Level 에서도 유사성을 보이고 있다. [다음장]

Genus	A		B		C		D		E	
	모유	태변	모유	태변	모유	태변	모유	태변	모유	태변
Prevotella	19.89%	18.23%	21.29%	61.69%	18.58%	18.68%	20.12%	15.79%	22.00%	18.64%
Bacteroides	17.73%	20.00%	17.11%	7.09%	14.57%	21.04%	16.49%	21.15%	17.04%	21.50%
Alloprevotella	4.81%	3.74%	4.61%	0.14%	3.80%	3.36%	4.73%	3.54%	4.48%	3.82%
Sutterella	5.28%	3.57%	5.00%	6.86%	4.45%	3.58%	4.46%	3.62%	4.99%	3.73%
Megamonas	6.42%	5.13%	6.69%	0.15%	5.30%	5.34%	6.61%	4.23%	6.43%	5.24%
Dialister	4.08%	2.99%	3.87%	4.40%	3.92%	3.03%	4.07%	2.61%	4.43%	3.14%
Faecalibacterium	2.78%	2.80%	3.07%	2.68%	2.50%	3.91%	2.53%	3.37%	2.59%	3.43%
Alistipes	3.36%	4.31%	3.36%	0.29%	2.97%	3.38%	3.27%	3.69%	3.57%	3.63%
Barnesiella	3.84%	3.17%	3.80%	0.10%	3.32%	2.95%	3.35%	2.50%	3.94%	2.64%
Roseburia	2.75%	2.69%	2.71%	1.14%	2.06%	2.21%	3.52%	2.43%	2.48%	2.43%
Parabacteroides	1.98%	2.16%	2.02%	0.90%	1.82%	2.35%	1.69%	2.04%	2.14%	2.52%
Veillonella	1.16%	1.77%	1.23%	0.50%	1.17%	1.99%	1.08%	1.75%	1.11%	1.45%
Bifidobacterium	0.97%	0.66%	0.99%	0.22%	3.90%	0.82%	0.85%	0.61%	0.91%	0.78%
Staphylococcus	0.06%	0.09%	0.09%	0.00%	5.56%	0.08%	2.59%	0.05%	0.04%	0.09%

3. 유산균 분포

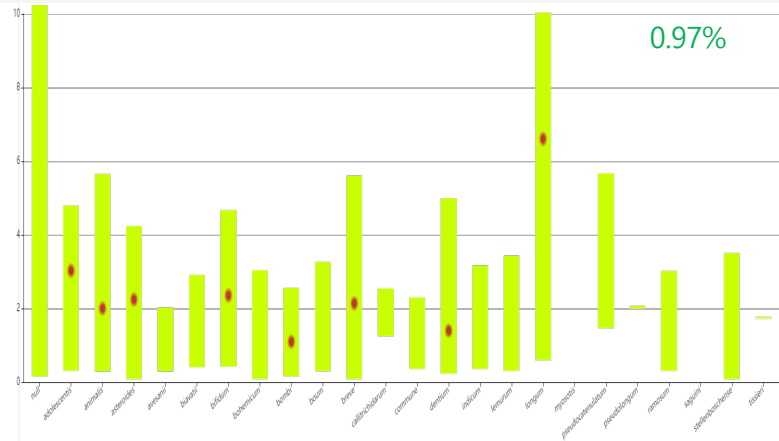
1% 미만의 균의 농도를
Log Scale로 치환하여
증폭한 그래프

1) A

Bifidobacterium [태변기준 5/7일치]

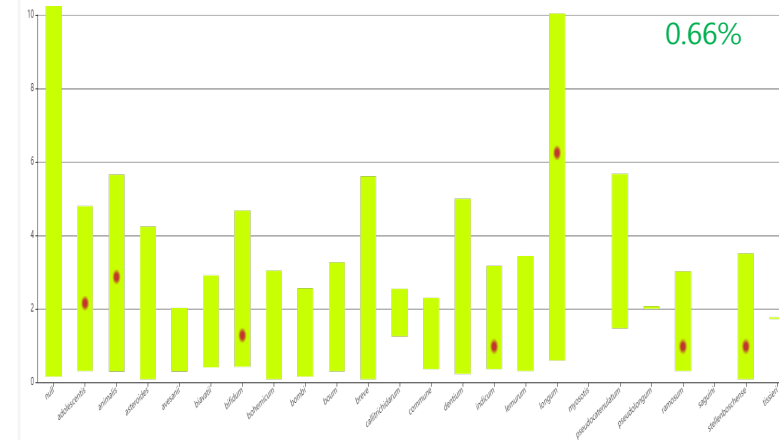
Lactobacillus [태변기준 3/4 일치]

모유

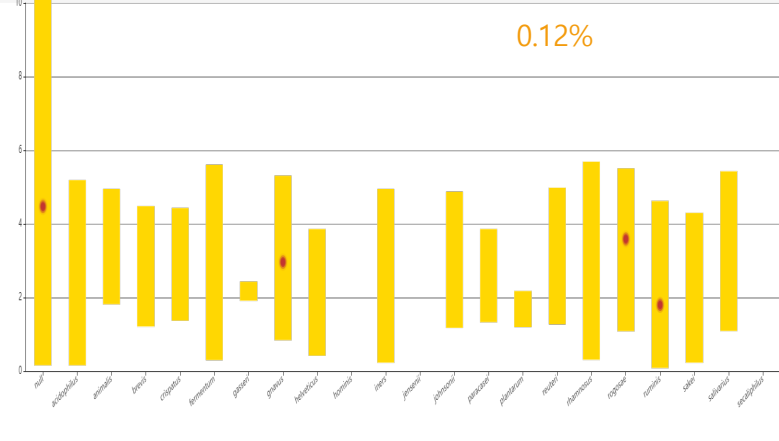


0.97%

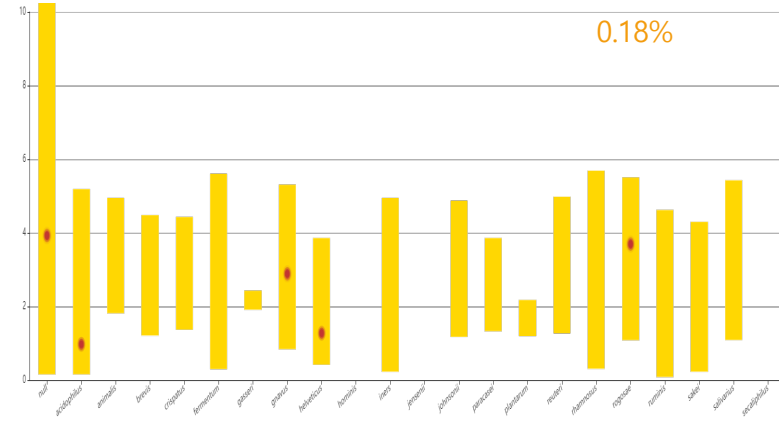
태변



0.66%



0.12%

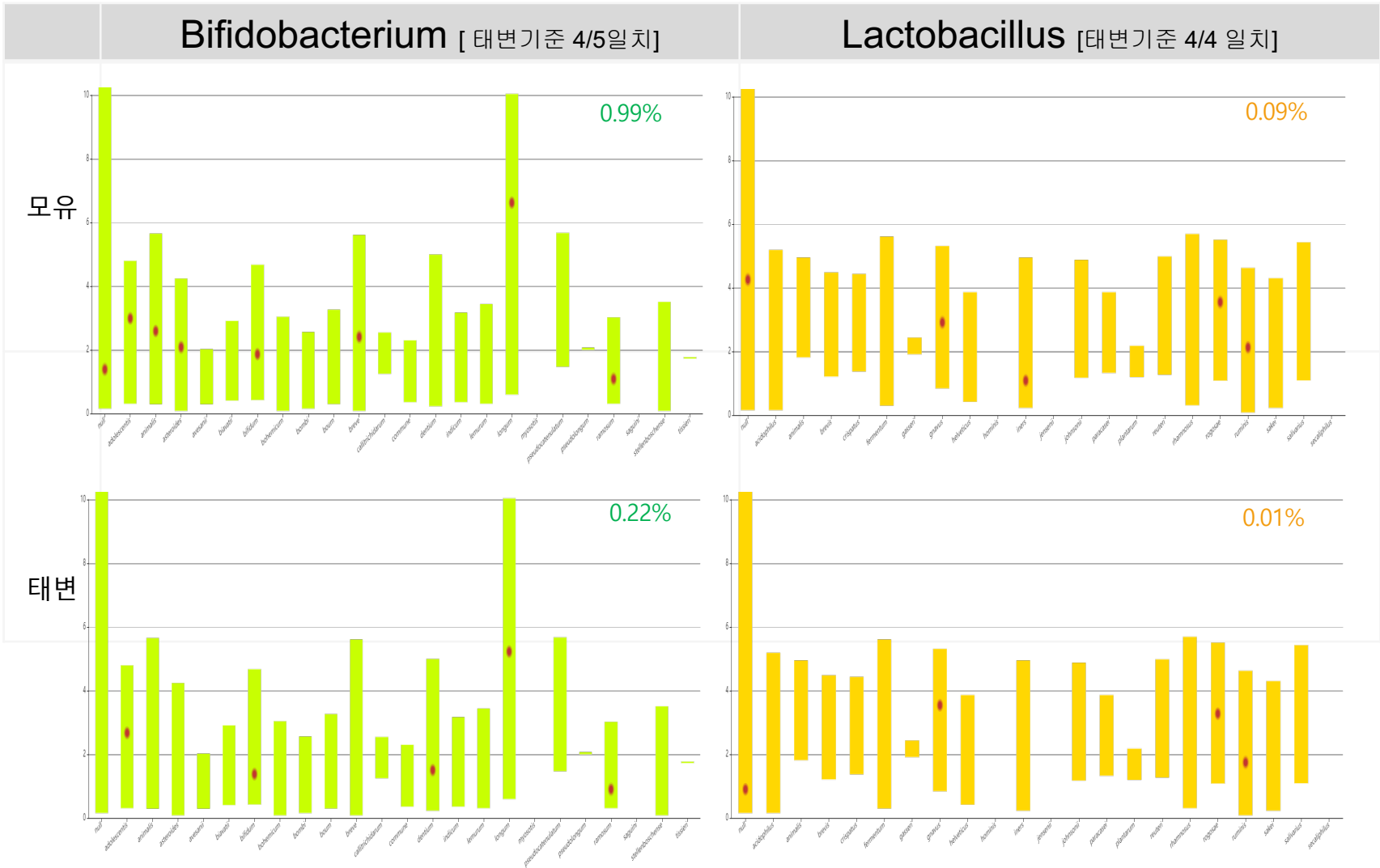


0.18%

막대 그래프는 해당 균의 전체population의 분포 구간. 점은 해당 샘플의 농도.

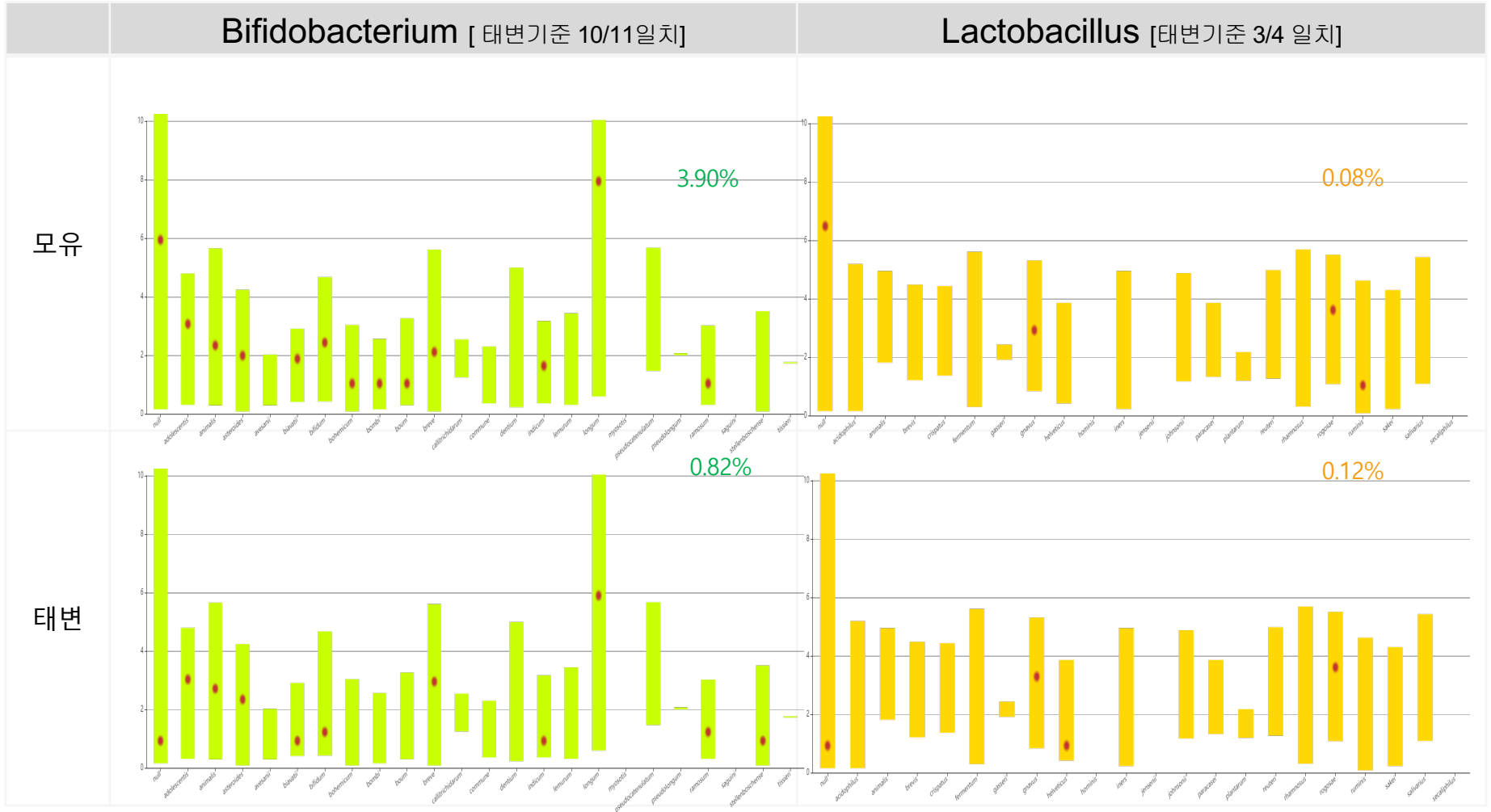
3. 유산균 분포

2) B



3. 유산균 분포

3) C



3. 유산균 분포

4) D

Bifidobacterium [태변기준 4/7일치]

Lactobacillus [태변기준 5/5 일치]

모유

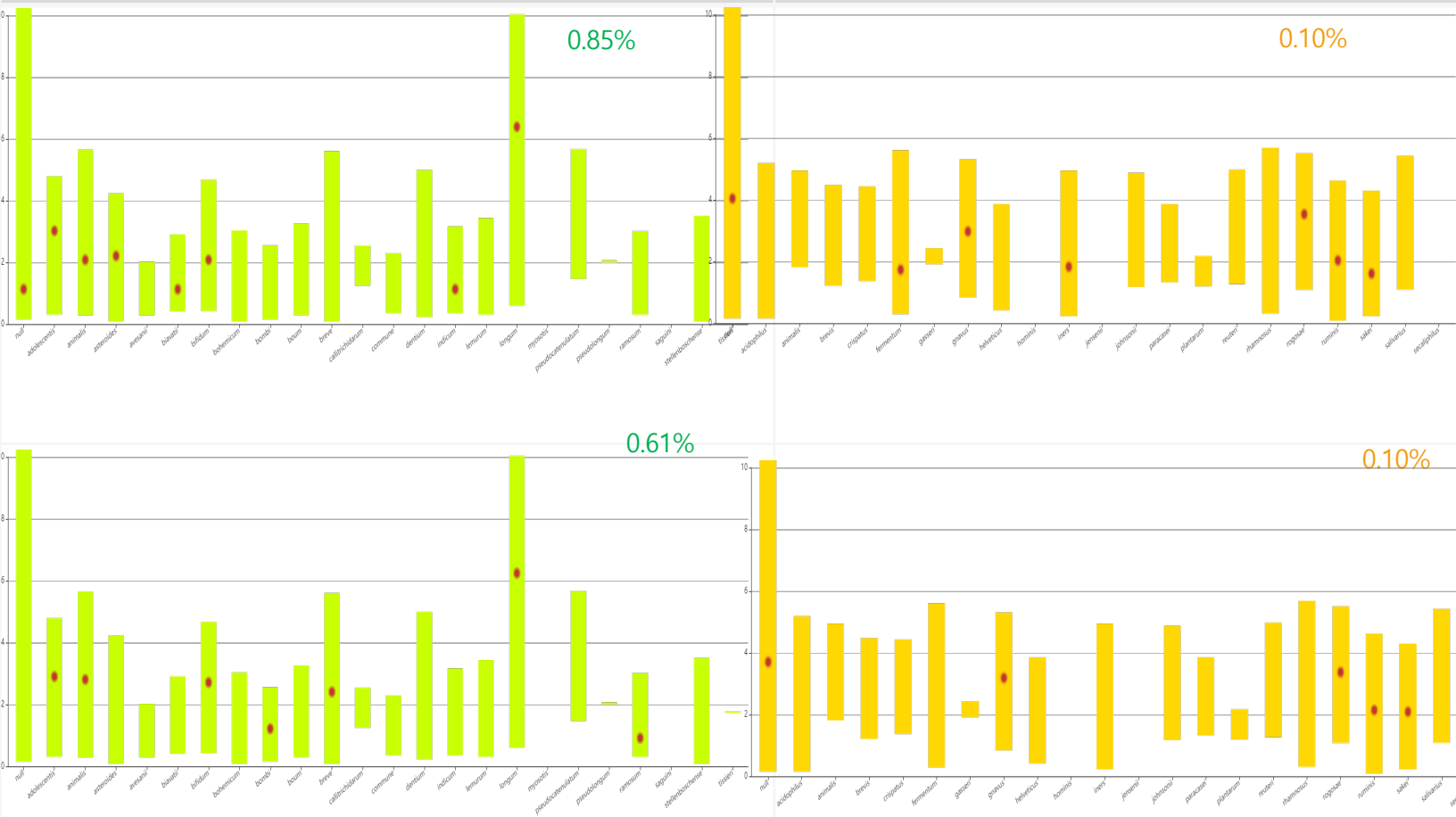
0.85%

0.10%

태변

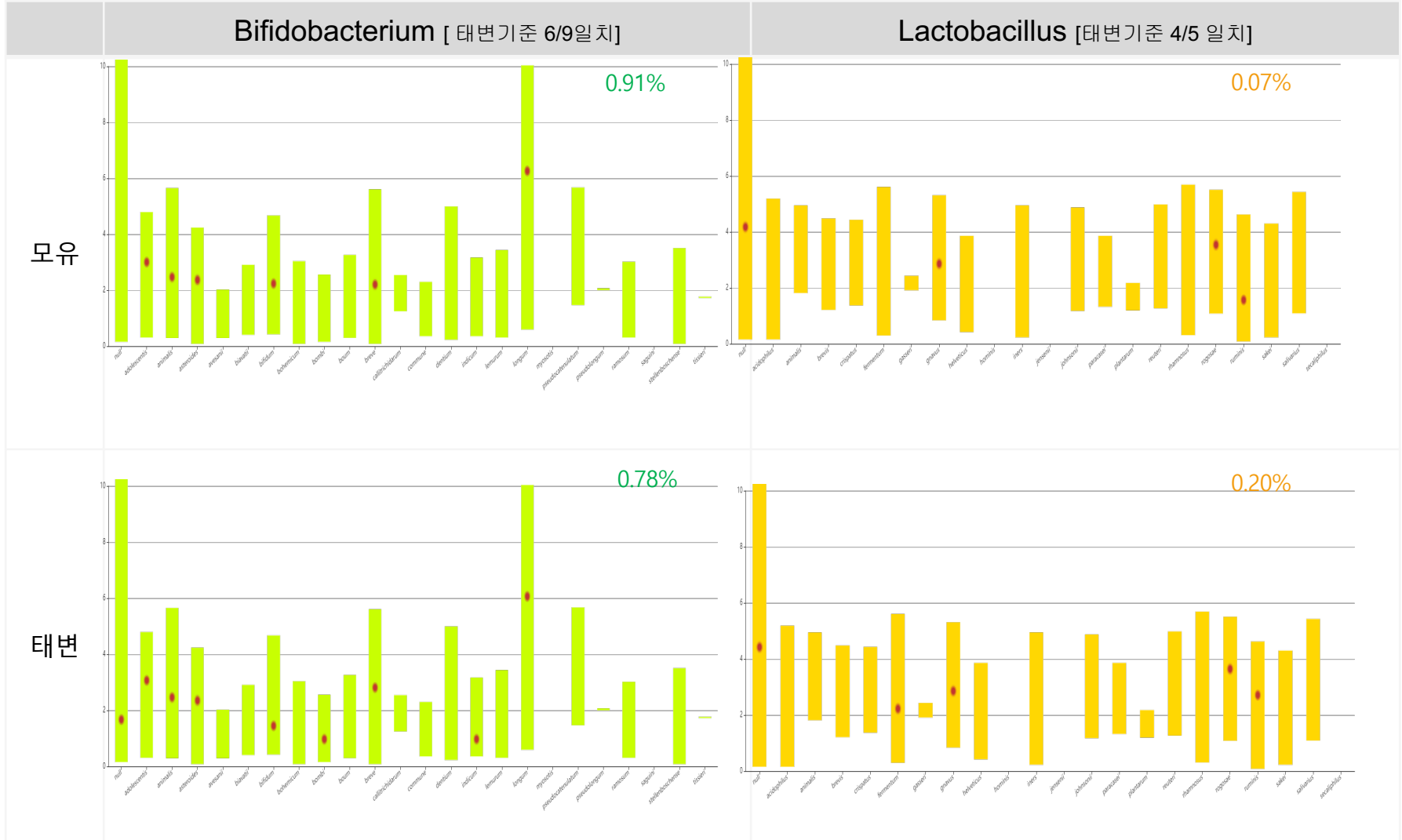
0.61%

0.10%



3. 유산균 분포

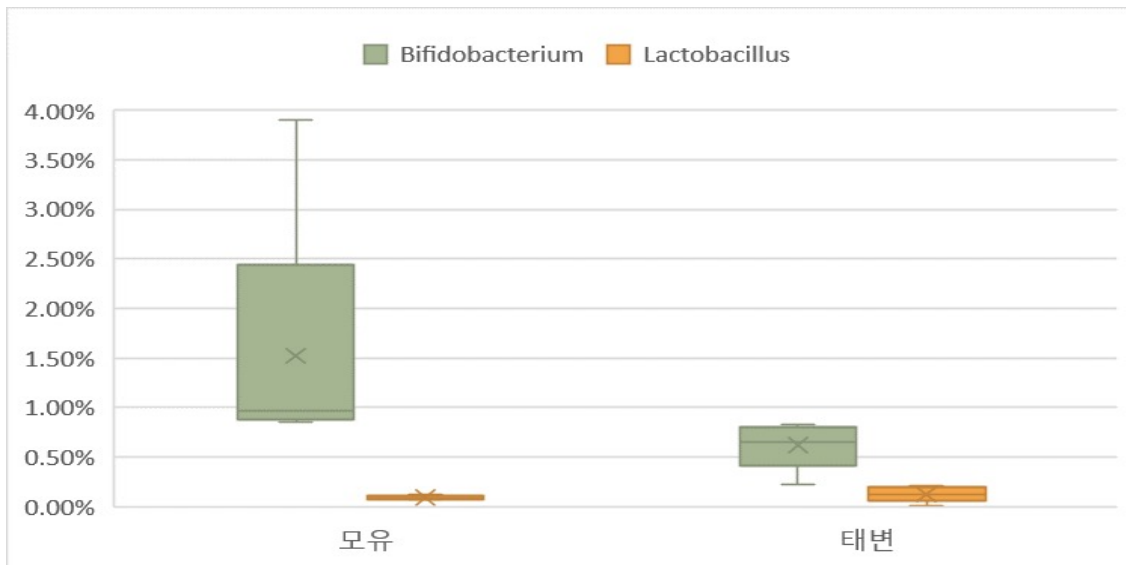
5) E



3. 유산균 분포

- 모유에는 태변보다 Bifidobacterium이 더 높게 분포되어 있음
- Lactobacillus는 모유보다 태변에서 농도가 더 높음.
- 태변에서 관찰되는 Bifidobacterium 속의 종들은 대부분 모유에 속해 있어 엄마에게서 유래 된 것으로 추정 가능

유산균	A		B		C		D		E	
	모유	태변	모유	태변	모유	태변	모유	태변	모유	태변
Bifidobacterium	0.97%	0.66%	0.99%	0.22%	3.90%	0.82%	0.85%	0.61%	0.91%	0.78%
Lactobacillus	0.12%	0.18%	0.09%	0.01%	0.08%	0.12%	0.10%	0.10%	0.07%	0.20%



2

생후 일수 별
microbiome 변화

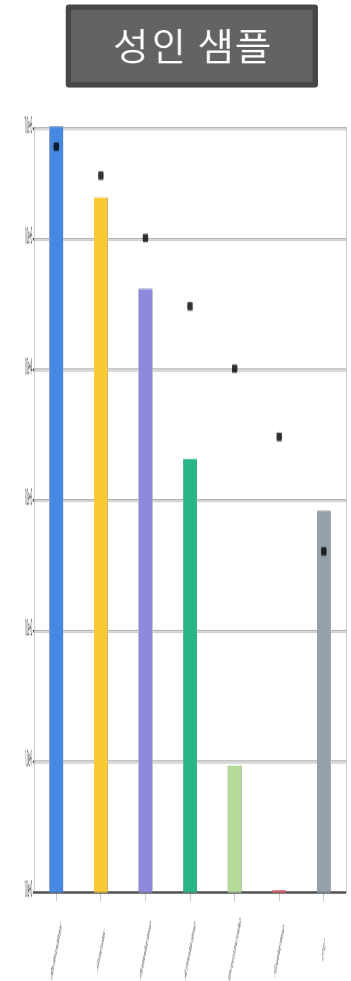
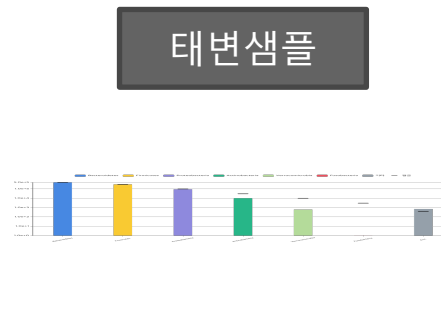
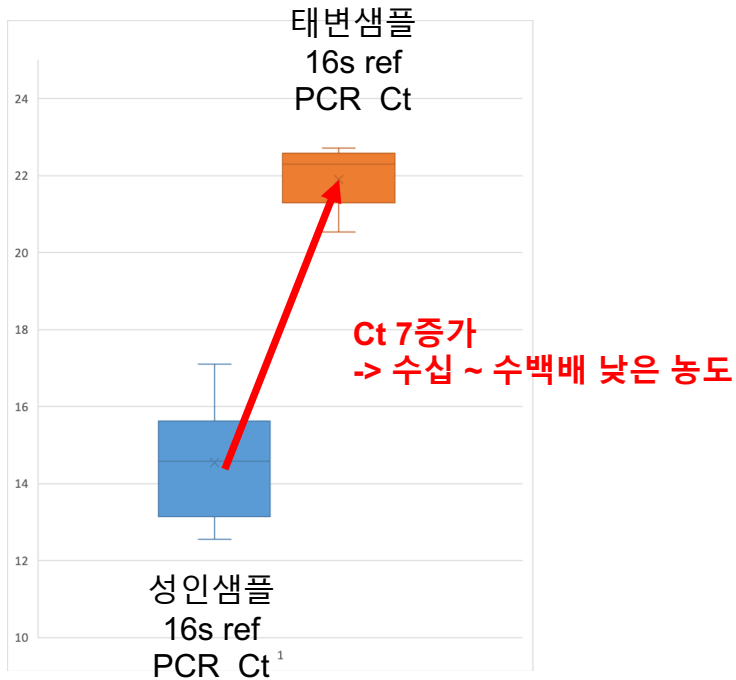


태변과 성인 샘플의 농도 비교

사실상의 정량 평가가 어렵지만 태변의 DNA 농도 및 16s Amplicon 농도로 추정할 때 성인 샘플 대비 Microbiom의 농도가 상당히 낮은 것으로 추정.

-> 양수내에서 마이크로바이옴 외 Human DNA 등의 기타 성분의 농도가 높았을 가능성

태변과 성인변의 Microbiome 농도 비교

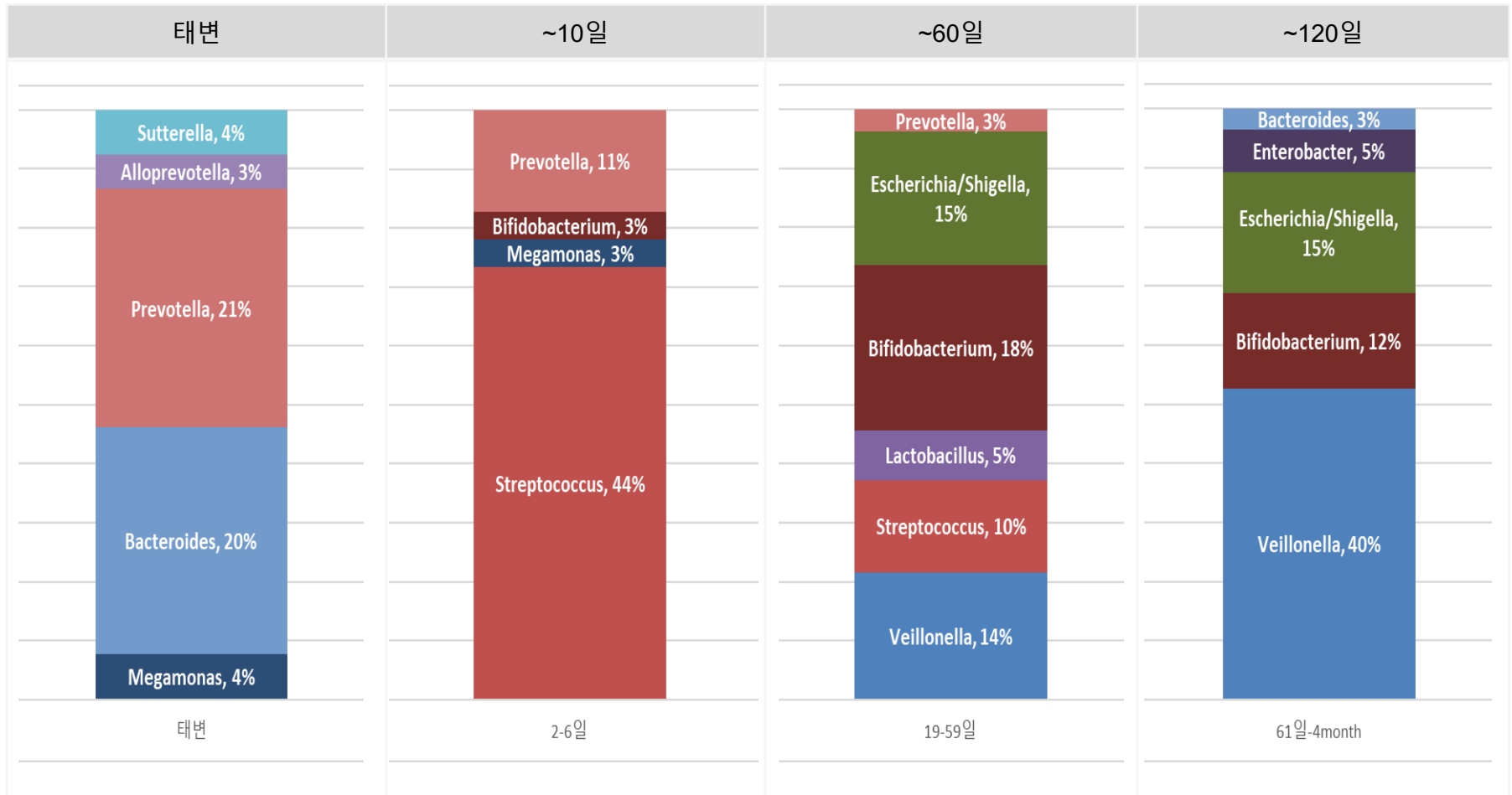


* DNA 추출액을 Realtime PCR로 증폭하여 Ct Value를 비교

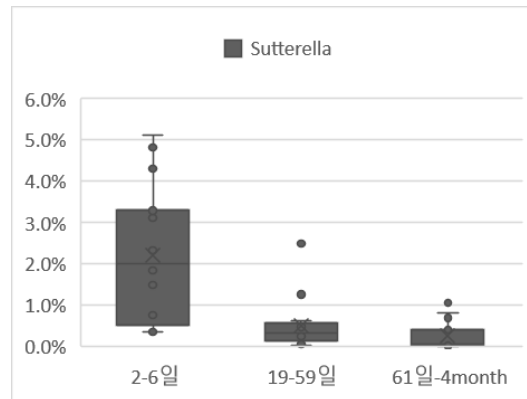
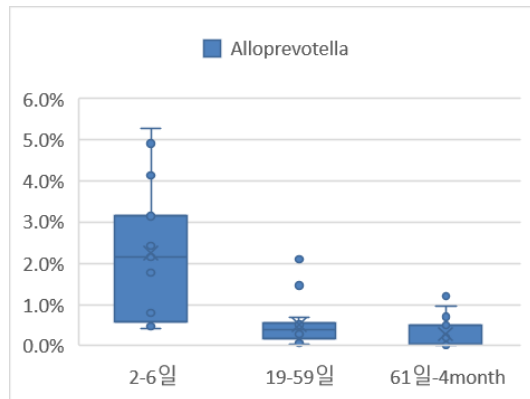
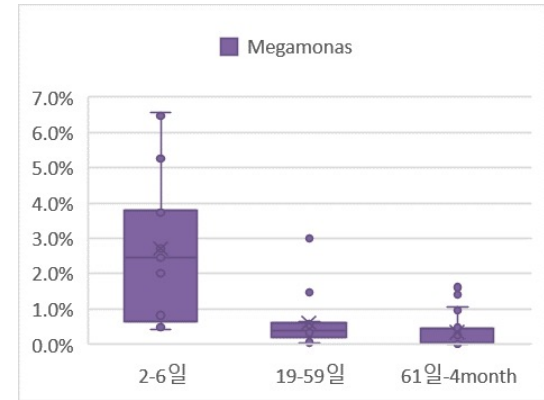
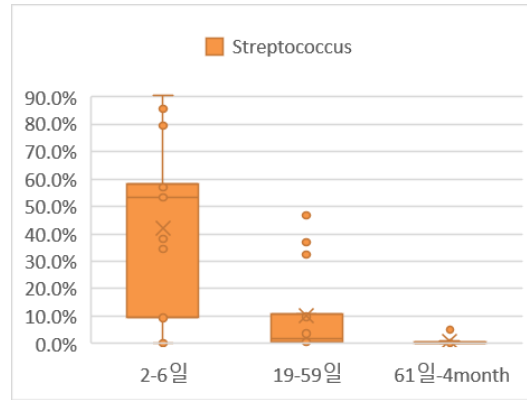
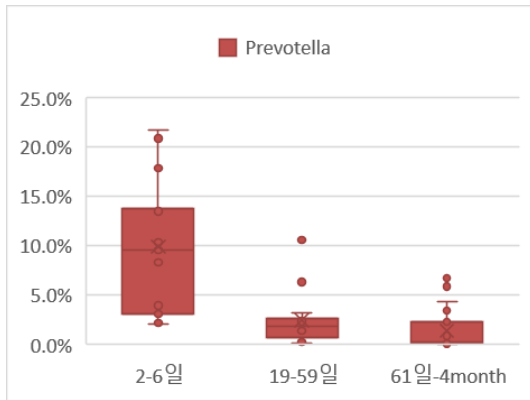
1. 생후 경과에 따른 장내미생물 변화

Outlier를 제외한 data의 합으로 일수 경과에 따른 종의 변화를 측정

- 절대량의 변화가 아닌 농도 분포의 변화
- 모유, 분유 섭취에 따라 다양성의 증가가 확인되며 Streptococcus- Bifidobacteria- Veillonella – Escherichia 의 순으로 증가함을 확인



2. 생후 경과에 따른 농도감소를 나타내는 미생물 속

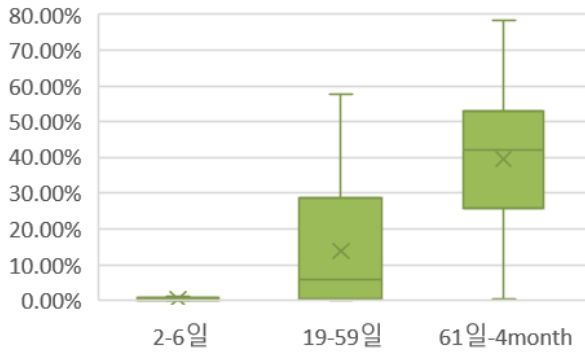


Outlier에 대한 tracking 및 임상 소견 추적 관찰 요망.

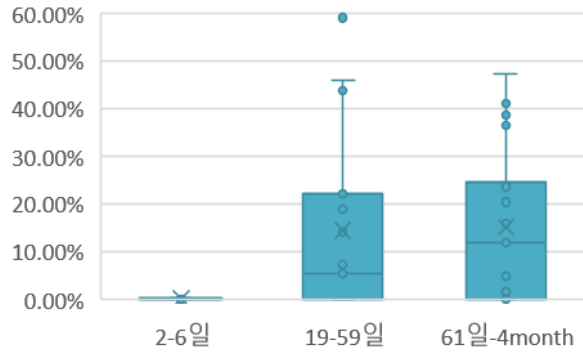
절대량의 감소가 아닌 농도의 감소이므로 상대적으로 유입되거나 증식되는 microbiome에 다른 상대농도의 변화로 인식.

3. 생후 경과일에 따른 증가를 나타내는 미생물 속

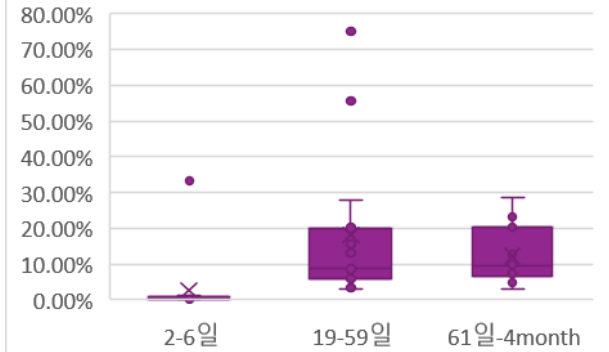
■ Veillonella



■ Escherichia/Shigella



■ Bifidobacterium



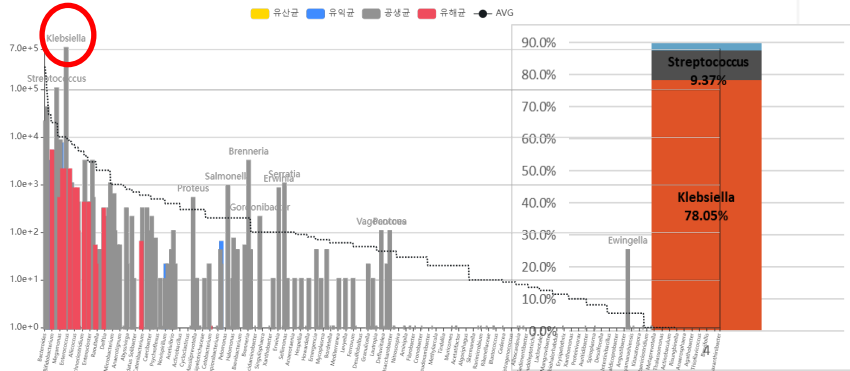
- 모유 및 분유로 인해 Bifidobacterium, Veillonella 증가

4. Dysbiosis 사례

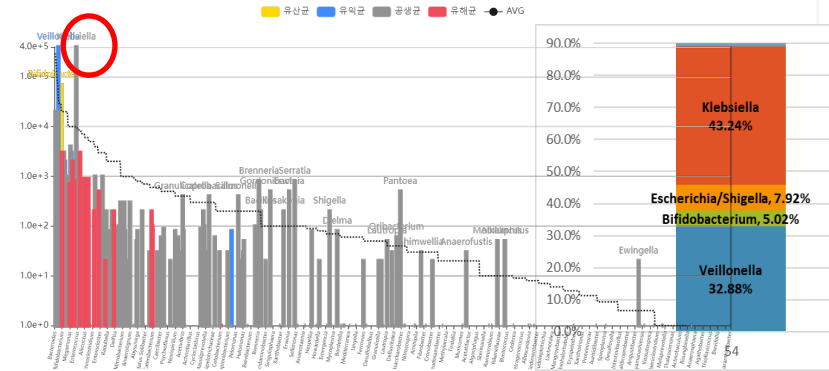
1) Klebsiella – 원인. ???

속레벨

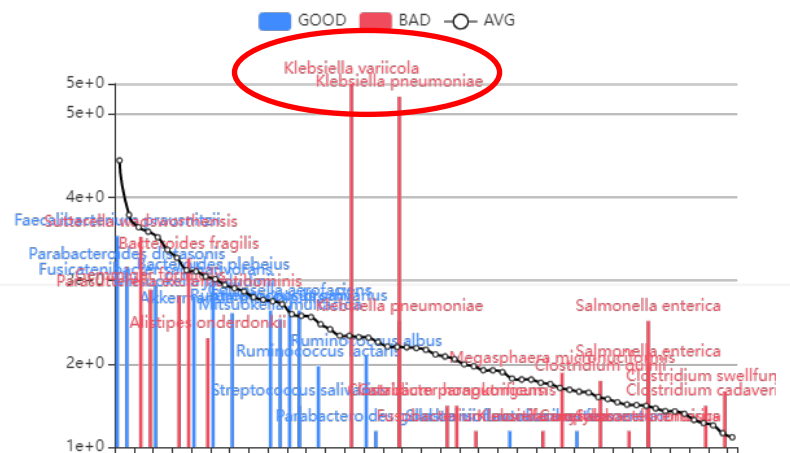
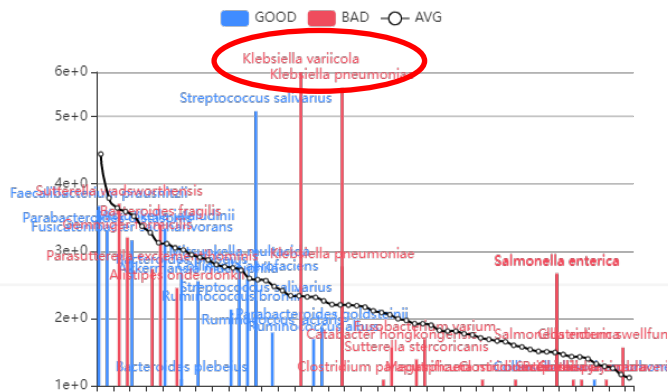
생후 4일



생후 54일



종레벨

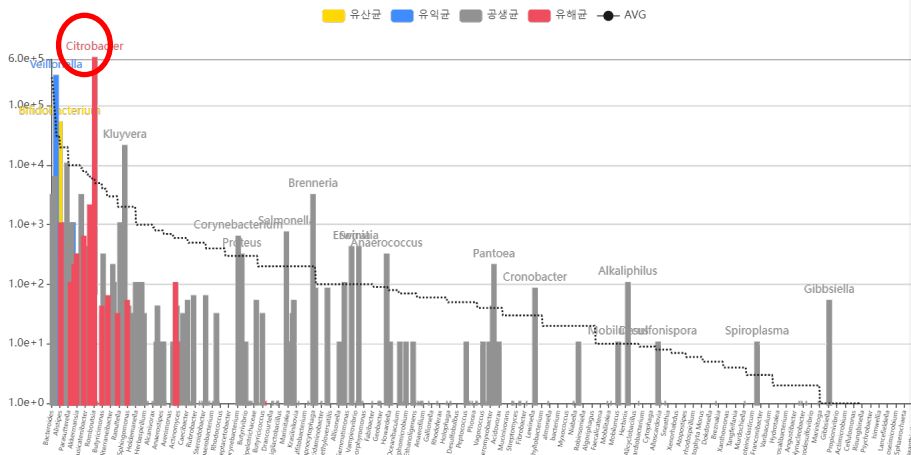


4. Dysbiosis 사례

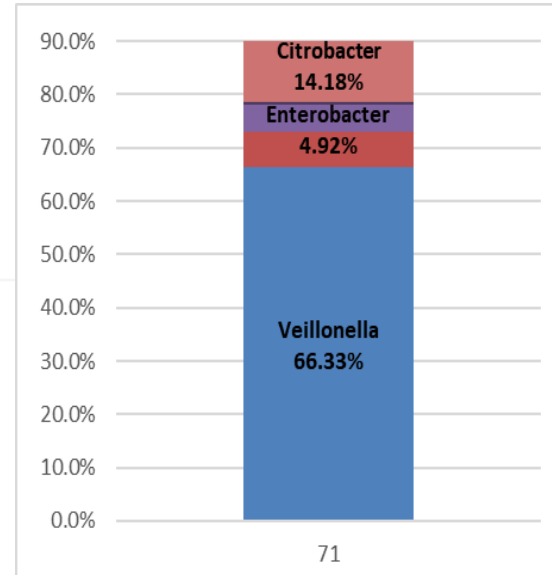
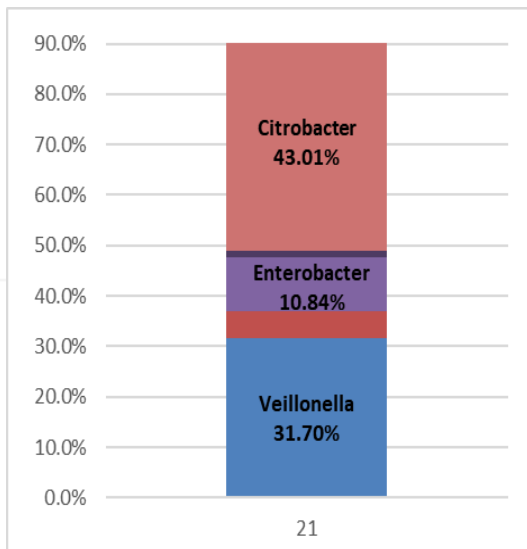
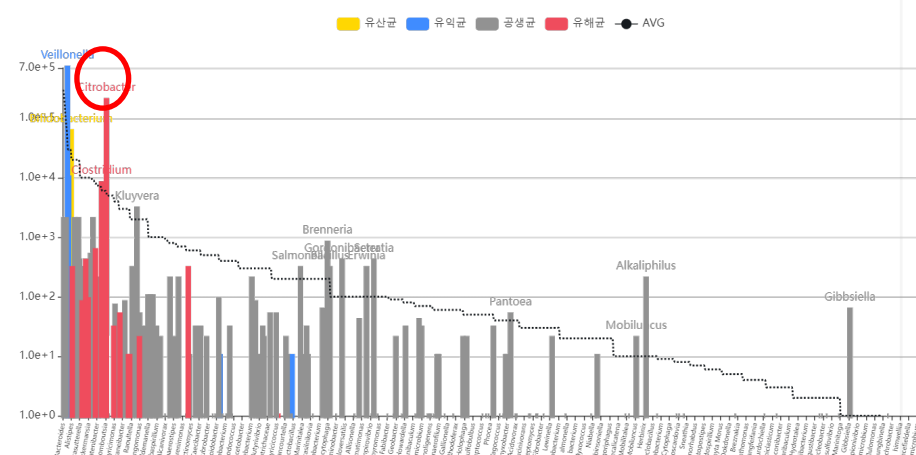
2) Citrobacter

생후 초기 발생된 특이균은 장기간에 걸쳐 변화 없이 상대적인 농도차가 유지되고 있음.

생후 21일



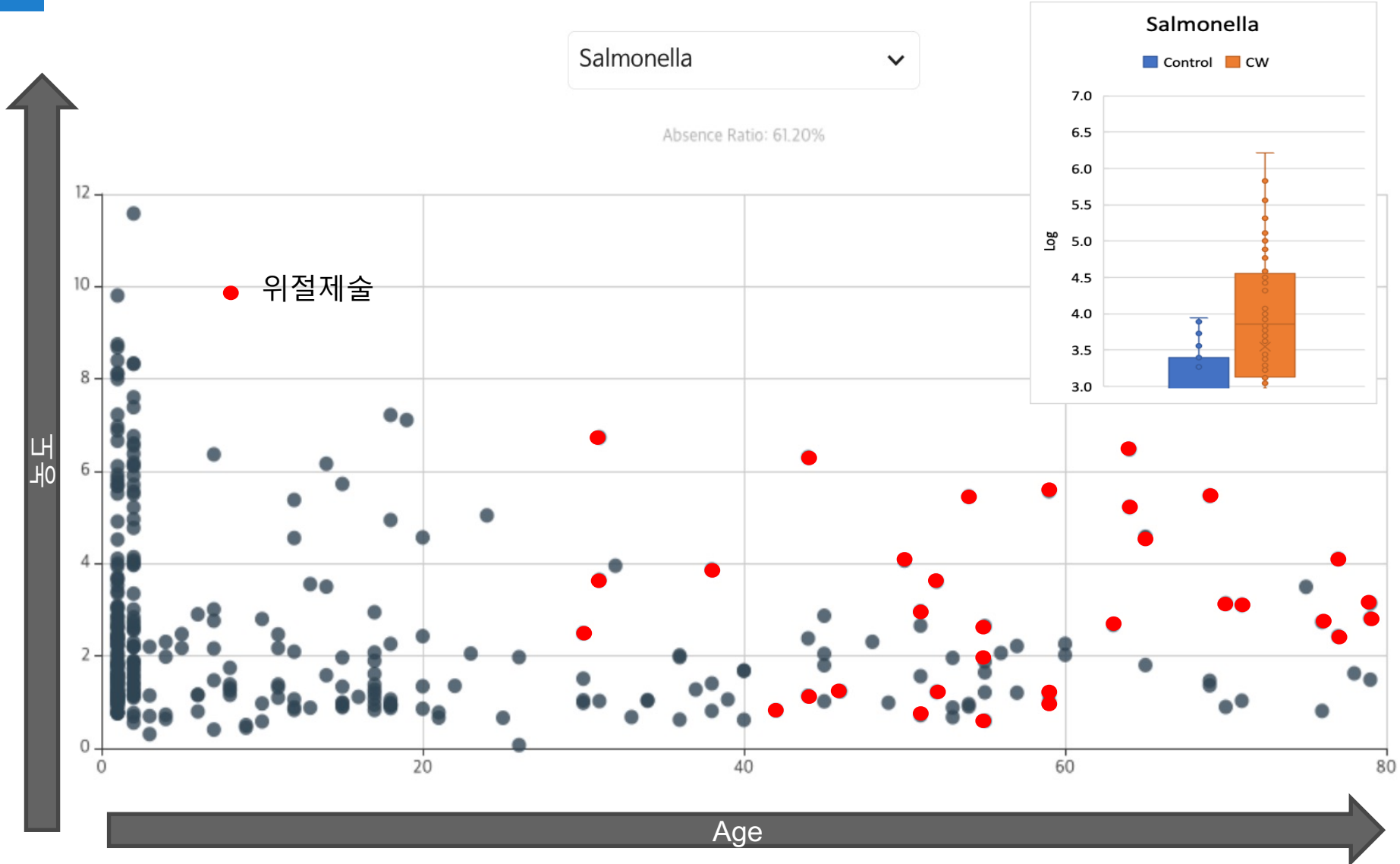
생후 71일



5. Discussion

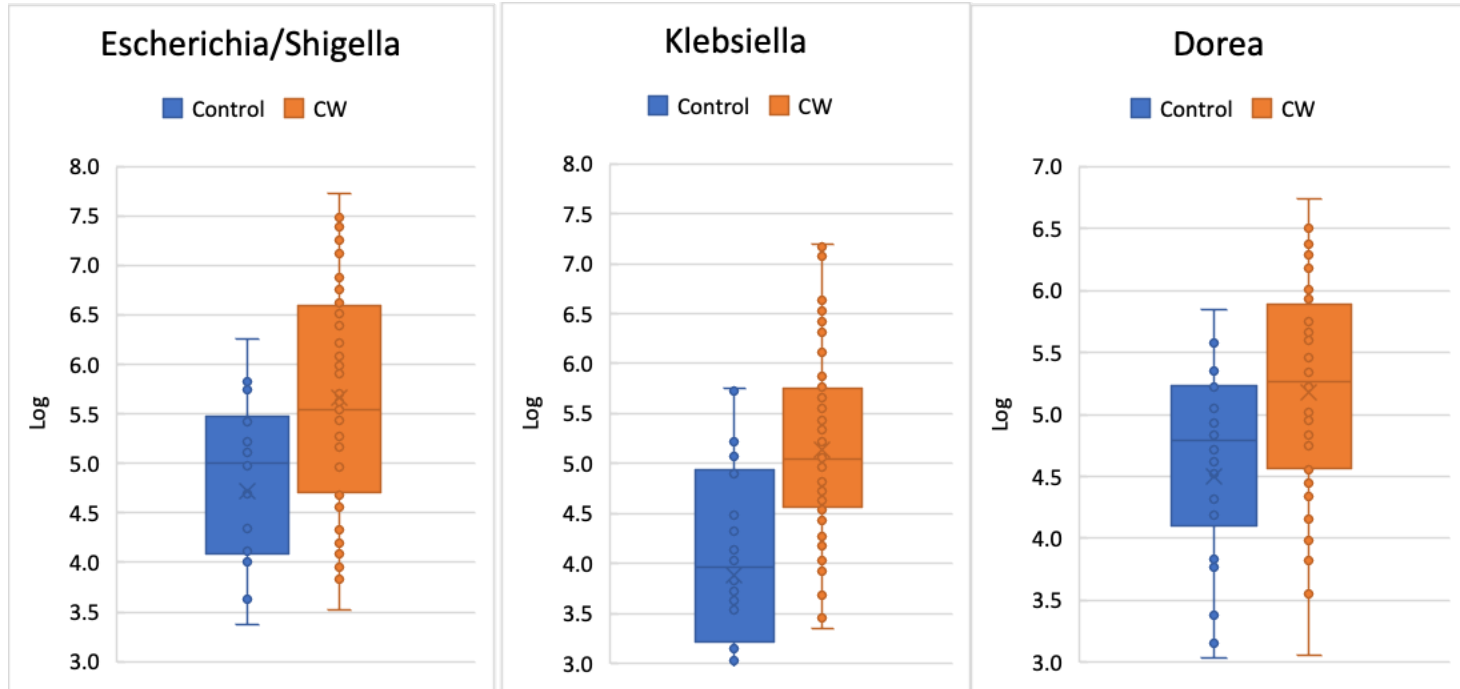
- 1) 태변에는 Prevotella, Bacteroides, Megamonas가 높게 분포되어 있음. 이후 Streptococcus가 증가를 보이며, 20일 이후 Veillonella, Bifidobacterium, Escherichia/Shigella, Enterobacter가 높은 농도로 확인됨. 생후 일수 경과에 따라 Prevotella의 상대적인 농도는 감소하고, 수유로 인해 Bifidobacterium, veillonella 증가됨
- 2) 출생 직후의 장내미생물은 특정 균에 의한 점령이 쉬우며, 영아 개개인의 차이가 크지만 개인별로는 기간의 변화에 따라 균 종의 차이는 크지 않으며 비율만 차이를 보임
- 3) 장내 미생물에 유해균이 자리 잡게 된 영유아의 경우 쉽게 없어지지 않으므로 시간 경과에 따라 지속적인 추적 확인 필요
- 4) 출생 직후 태변에서 확인된 미생물총은 수유 시작 후 급격한 변화를 나타냄. 추후 고형식을 섭취한 유아의 장내 미생물의 구성은 크게 달라지며 성인과 유사해짐.
- 5) Dysbiosis가 생긴 경우에 질병의 발생 유무, 증상의 차이를 확인하고 추적관찰이 필요함.
- 6) 생후 초기에 제왕절개, 정상분만아, 분유수유, 모유수유에 따른 차이를 보이다가 시간이 지나면서 차이가 없어지는 경우가 많은데 이런 경우를 추적관찰하여 어느 시점에서 차이가 없어지는 지, 먹거리는 차이가 없는 지 확인이 필요하다.
- 7) 연령별 core microbiome이 어떤 것인지 밝힐 필요가 있다.

APPENDIX: 위절제술 환자와 대조군의 Salmonella 농도 비교



위절제술로 위산분비가 없거나 작을것으로 추정되는 환자의 경우 Salmonella의 상대 농도가 높음.

APPENDIX: 위절제술 환자와 대조군의 유해균 농도 비교



위산의 영향 ?

The background of the slide features a teal and blue color scheme. On the left, there is a wireframe-style illustration of a microscope. On the right, several rod-shaped bacteria are depicted with a glowing, wireframe-like texture, suggesting a digital or scientific theme. The overall aesthetic is futuristic and scientific.

Microbiome Therapy Industry Forecast

Microbiome in Science ERA

합리적 추정

과학적 분석
미생물학

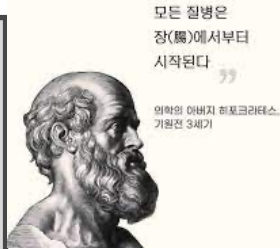
과학적 분석
(미생물학, 유전학)

과학적 분석 +
의학적 해석 +
건기식

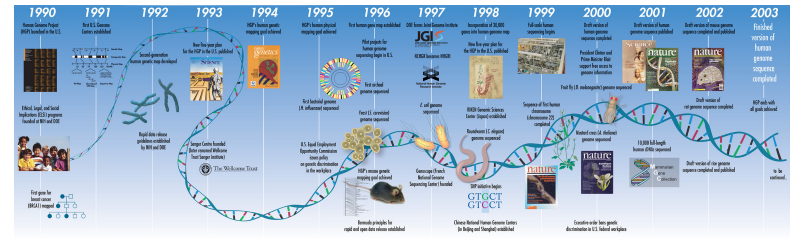
과학적 분석 +
의학적 해석 +
영양학

과학적 분석 +
의학적 접근 +
치료제

과학적 분석 +
임상의학적 접근

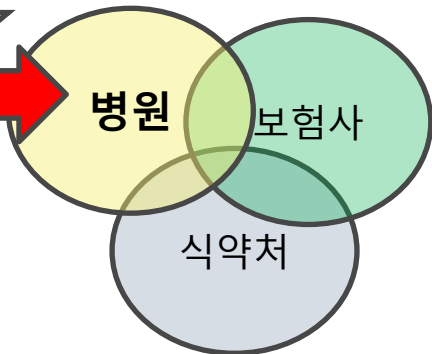


Human Genom Project

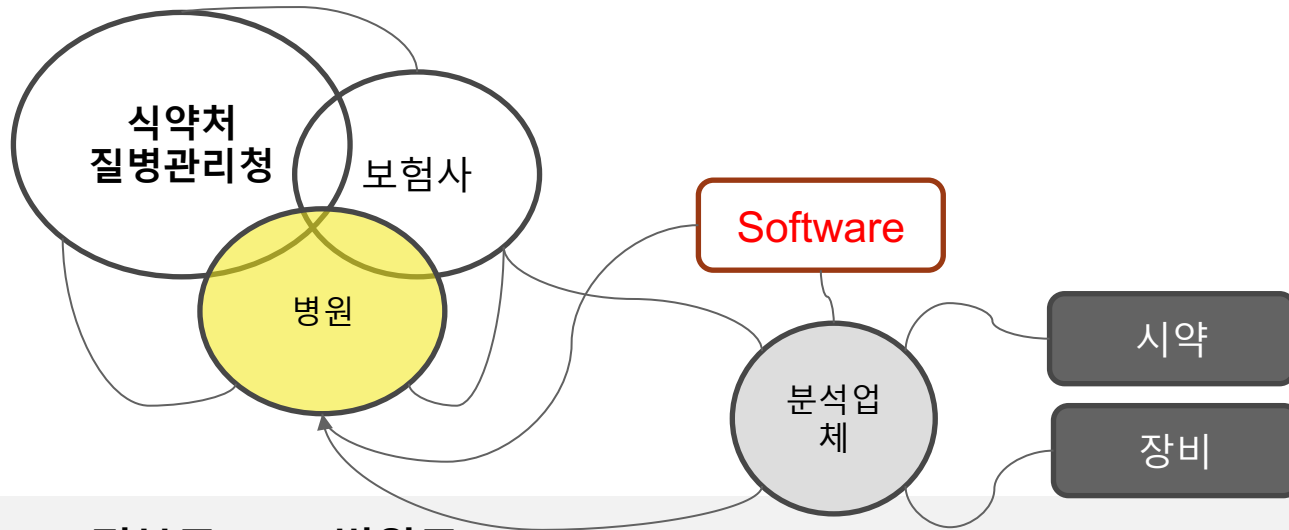


Microbiome이 진단영역으로 인정되지 못하는 이유.

- 의학적인 증거가 부족
- Spec이 없다
- 규격화된 Protocol이 없다



Microbiome 진단 서비스의 가능성



1. 민간주도 vs 정부주도 vs 병원주도

> 선진국 사례가 부족하지만 여러 가능성이 대두

- Microbiome 국가 이니셔티브 사업 예산 확보 [3조~]

> 다양한 의학적 활용성 발굴 및 이슈 제기

- FMT 공여자 검증, 건강 검진 항목, 연령별 Monitor

2. 보험사는 강력한 증거 혹은 확신이 필요하다.

> 외국의 경우 정부 주도의 Microbiome 사업추진으로 일부 보험사에 Microbiome 상품 출시

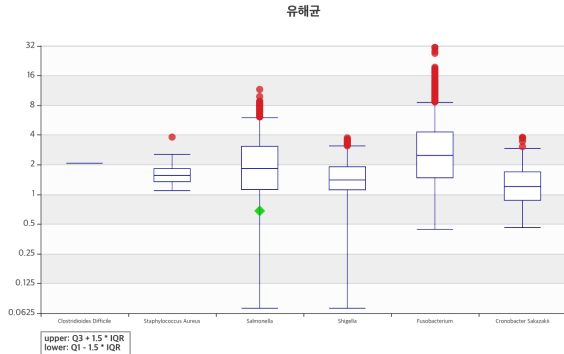
➢ 의사의 강력한 추천, 정부주도 프로그램의 개발이 선행되어야.

3. 분석 업체 주도의 DTC VS 병원 주도 검진

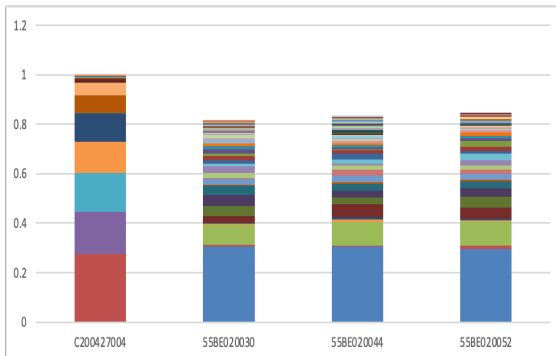
> 많은 기업에서 시도하고 있지만 성공사례가 부족 [효용 가치에 대한 인식 확대의 한계]

Microbiome 진단 서비스의 가능성

건강검진의 목적, 자발적인 Monitor, 의사의 강력한 추천(?)



[NGS를 통한 특이균 동정]



치료에 따른 경과 Monitor

1. 다양한 임상 사례 확보

- 모자 연관성.
- 당뇨병 유관인자
- 약제 내성균 확인
- 아토피, 알러지 연관성

2. Monitor의 다양한 가치 제시

- 모유의 완전성
- 감염 가능성 확인
- Enterotype 으로 식이 습관 평가
- 유산균 맞춤 처방

3. 치료에 활용

- 치료 이후 장미생물총의 변화 확인
- 비약 처방[음식, 운동....]



ALL DISEASE BEGINS
IN THE GUT
- HIPPOCRATES -

MICROBIOME

NEW ECOSYSTEM



감사합니다.

Define the Connection Between the Maternal-Infant Microbiome & Long-Term Health to Establish New Mechanisms of Action, Develop Therapeutic & Nutritional Products, and Proactively Reduce Disease Risk

MAY 17-19, 2022 | BOSTON, MA

Welcome to the 4th *Microbiome Movement* - Maternal & Infant Health Summit 2022

The 4th *Microbiome Movement* - Maternal & Infant Health Summit is returning, in person, on May 17-19, 2022 with the goal of uniting expert industry and academic minds to tackle the biggest challenges in the **understanding, targeting and treatment creation** for the maternal and infant microbiome.

This summit is the only place where you will find such a collaborative and engaged group of speakers and attendees with a diverse group of backgrounds in academia, drug discovery, nutritional product creation and clinical health care - you can be sure to hear a wide range of opinions and perspectives.

Ensure you do not miss out on the latest and greatest work in fields relating to the microbiome such as **maternal health, the vaginal microbiome, harnessing the microbiome for preventative treatment, breastmilk, pre-term birth and infant allergic/metabolic disease.**

2022 World-Class Speaker Faculty Include:



Devon Kuehn
Chief Medical Officer
ByHeart



Dorottya Nagy-Szagal
Chief Medical Officer
Biotia



Maria Brooks
Senior Director
Evolve Biosystems



Nikole Kimes
Founder & Chief Executive
Officer
Finch Therapeutics



Shrish Budree
Medical Director
Finch Therapeutics