

Microbiome Modulation in ART: Antibiotics, Probiotics and Beyond

분당서울대학교병원 산부인과
홍 연 희



Contents

- Introduction
- Effects of the Microbiome on the Reproductive Tract and ART outcomes
- Effects of the Gut Microbiome on Reproductive Health
- Microbiome Modulation and Its Impact on ART Outcomes
 - Inflammation/Infection – Antibiotics
 - Antibiotic use at embryo transfer
 - Chronic endometritis
 - Bacterial Vaginosis
 - Probiotics
 - Prebiotics
- Summary

Definition of Terms

- **Microbiome**

- **Microbiota** (인간의 몸에 서식하며 공생하는 미생물) + **Biome** (생태계)
- 세균, 바이러스 등 모든 미생물 포함 (단, 오늘의 논의는 주로 세균)

- **Probiotics**

- 충분한 양을 섭취 시 숙주의 건강에 유익한 영향을 주는 **살아있는 미생물**을 의미
- 대표: Lactobacillus, Bifidobacterium, Saccharomyces

- **Prebiotics**

- 숙주 내 특정 유익균이 선별적으로 이용할 수 있는 **비소화성 성분**, 미생물 생태를 조절하여 건강 증진 효과를 유도하는 물질
- 대표: 프락토올리고당, 갈락토올리고당, 이눌린

- **Microbiota transplantation**

- 건강한 공여자(donor)의 (장/질) 미생물군을 환자(recipient)에게 이식하여, 수혜자의 미생물 균형을 회복시키거나 질병을 치료하는 방법
- Vaginal Microbiome Transplantation (VMT) (Investigational therapy)
- Fecal Microbiota Transplantation (FMT) (제한적 (ex CDI Tx) 등)

뉴스 입력 2023.04.14 10:32 수정 2023.04.14 10:33

마이크로바이옴(Microbiome) 왜 중요한가?



과일, 씨앗, 다양한 채소류 등은 건강한 박테리아 성장을 촉진하는 데 도움이 된다. 사진=pixabay

- 마이크로바이옴과 여러 질병과의 연관성 보고
- 미국
 - 2016년 (버락 오바마 전 미국 대통령 재임 시절) 마이크로바이옴 연구를 위한 'National Microbiome Initiative'를 발표

마이크로바이옴 첫 신약 등장...블루오션 길 열리나



황병우 기자

발행날짜: 2022-12-07 11:57:31



FDA 클로스트리디오이데스 디피실 감염 치료제 허가
글로벌 · 국내 기업 기술 격차 적어...신약 선점 가능성 ↑

건강한 기증자의 분변에서 추출한 미생물을 정제해 만든
마이크로바이옴 의약품 (직장을 통해 단 회 투약) (2022)

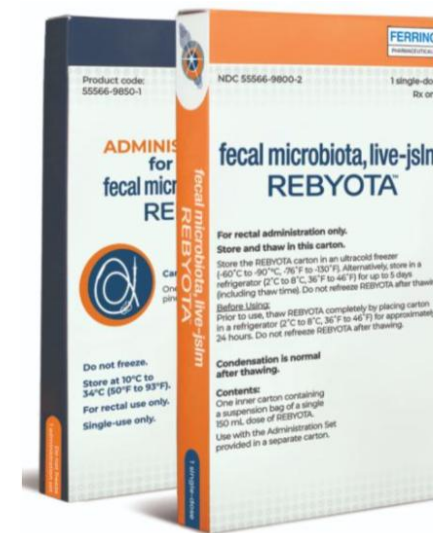
[메디컬타임즈=황병우 기자] 미국 식품의약국(FDA)이 마이크로바이옴 신약을 세계 최초로 승인하면서 마이크로바이옴 치료제 시장이 열렸다.



FDA는 지난달 30일 페링파마슈티컬스의 자회사 리바이오틱스(Rebiotix)가 개발한 클로스트리디오이데스 디피실 감염(CDI) 치료제 '리바이오타(Rebyota·RBX2660)'를 승인했다고 발표했다.

리바이오타는 18세 이상 성인에서 클로스트리디움 디피실 감염(Clostridium Difficile Infection, CDI) 재발 예방하기 위한 제품으로, 항생제 치료를 마친 뒤 사용할 수 있다.

클로스트리디움 디피실균은 건강한 사람에게는 잠재돼 있다가 면역력이 떨어지면 급격히 증식해 독소를 방출한다. 현재 미국에서 CDI로 인한 사망자 수는 연간 1만 5,000~3만 명에 달하는 것으로 추정된다.



첫 경구용 마이크로바이옴 치료제 탄생...업계 "산업 성장 기대"

세레스의 경구용 CDI 치료제 보우스트, 지난달 FDA서 승인
보우스트, 복용 편의성 높아...국내 업계 "긍정적인 이벤트"

경구용 (4cap qd P.O. for 3days) 마이크로바이옴
의약품, 복용 편의성이 뛰어남 (2023)



SERES

THERAPEUTICS™



세계 최초 경구용 마이크로바이옴 치료제가 탄생해 관련 업계의 이목을 끌고 있다.

미국 식품의약국(FDA)은 지난달 26일(현지 시각) 세레스 테라퓨틱스(Seres Therapeutics)의 경구용 클로스트리디움 디피실 감염증(CDI, Clostridium Difficile Infection) 치료제인 보우스트(Vowst, 개발코드명 SER-109)를 허가했다. 보우스트는 18세 이상의 클로스트리디움 디피실 감염증(CDI) 재발 예방을 위한 치료제로 승인됐다.

마이크로바이옴 치료제 개발 나선 국내 제약·바이오업체

회사명	비고
유한양행	마이크로바이옴 치료제 연구개발기업 에이투젠 지분 인수
종근당바이오	연세의료원과 마이크로바이옴 치료제 공동 연구개발
CJ바이오사이언스	2025년까지 마이크로바이옴 파이프라인 10개·기술수출 2건 목표
지놈앤컴퍼니	후보물질 'GEN-001' 위암 대상 국내 임상 2상 진행
고바이오랩	후보물질 'KBLP-007' 건선·궤장염 대장염 대상 미국 임상 2상·2a상 진행
셀트리온	리스큐어바이오사이언스와 파킨슨병 공동 연구 계약
마크로젠	마이크로바이옴 분석 서비스 '더바이옴' 브랜드 보유



여성 질 내 '미생물 군집'이 질염 · 불임 · 조산 등 여성 질환 좌우



이창호 기자 | 입력 2023.08.25 19:18 | 댓글 0



질 내 '마이크로바이옴' 여성 질환과 관련 높아...관리 중요

한국인의 다국적 제약

최신뉴스

"난소암, 생식기관 세균 집단과 관련있다"

송고 2023-01-19 08:54



한성간 기자

+ 구독

그 결과 난소암 환자들에게서 디알리스테르, 코리네박테리움, 프레보텔라, 펩토니필루스 같은 병원성 박테리아 집단이 발견됐다.

연구팀은 병기와 관계없이 예후가 비슷한 난소암 환자들이 치료 시작 전에 세균총의 구성이 비슷한지를 분석했다.

그 결과 병원성 세균 집단이 많은 환자가 병원성 세균이 없는 환자보다 예후가 나쁘다는 사실이 밝혀졌다.



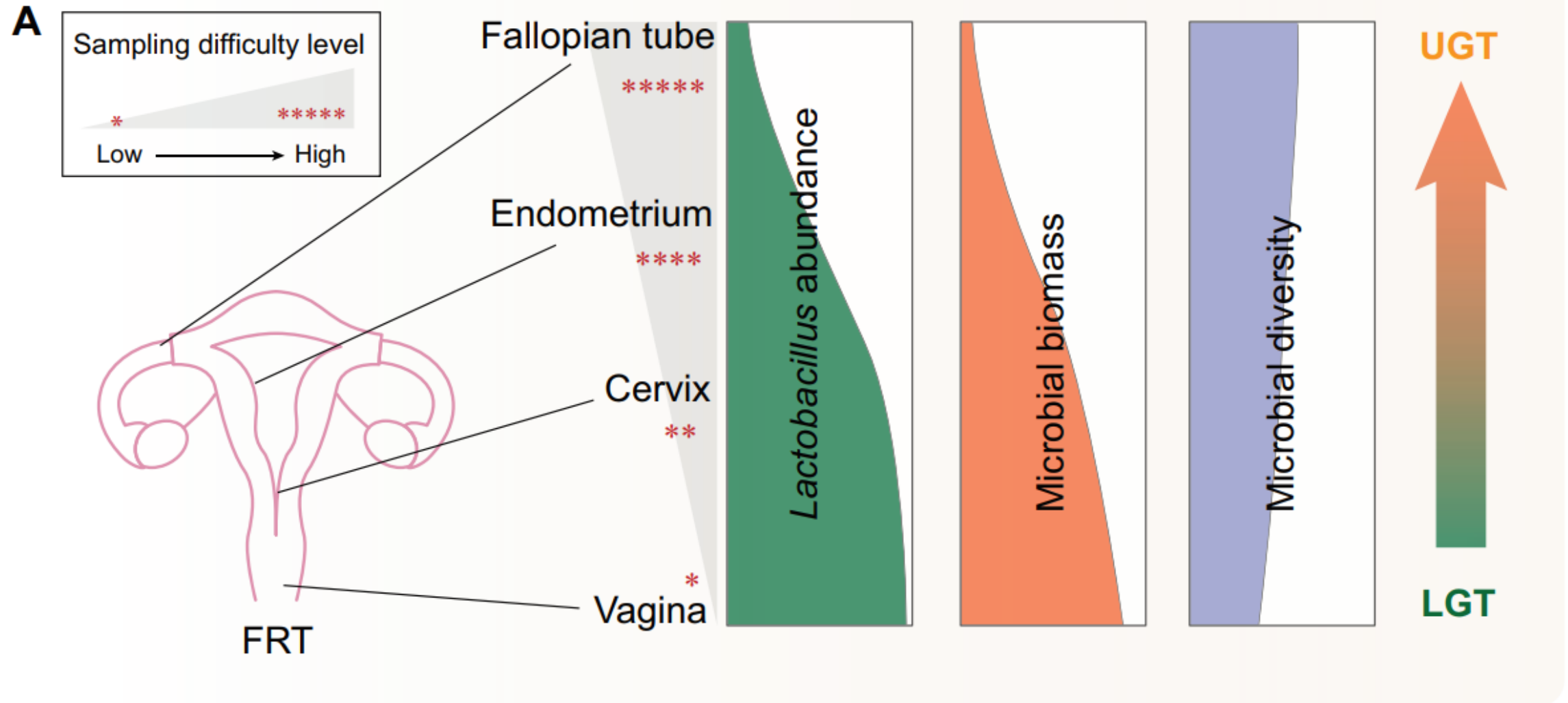
연합뉴스(<https://www.yna.co.kr/>)

코리아헬스로그(<https://www.koreahealthlog.com/>)

The Importance of the Reproductive Tract Microbiome in ART

- Human Microbiome Project (HMP) (2007)
 - 미생물이 **숙주 면역 조절, 염증 반응, 점막 항상성 유지** 등에 영향을 줌
 - Normal vaginal & uterine flora의 특성 확인
- 여성 생식 건강 관점에서 microbiome의 미세한 변화는 의미 있는 생식세포의 quality의 변화, 결과적으로 임상결과에 영향을 미침.
- ART failure의 주요 원인 중 하나가 implantation failure임
 - (배아 요인 등의 다른 가능한 원인들을 제외하였을 때) intrauterine microbial environment 조절이 RIF의 치료 등 ART success를 위한 하나의 치료 대안이 될 수 있음

Differences in the Microbiomes of the Female Reproductive Tract



Vaginal microbiome

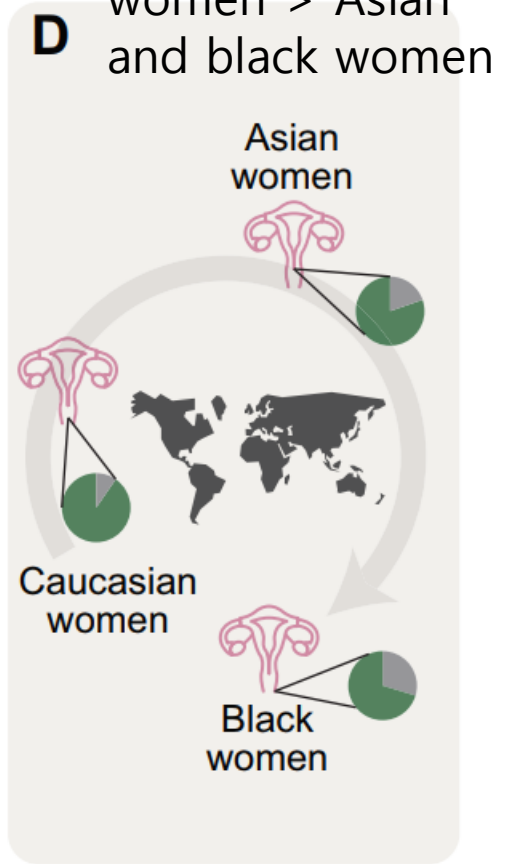
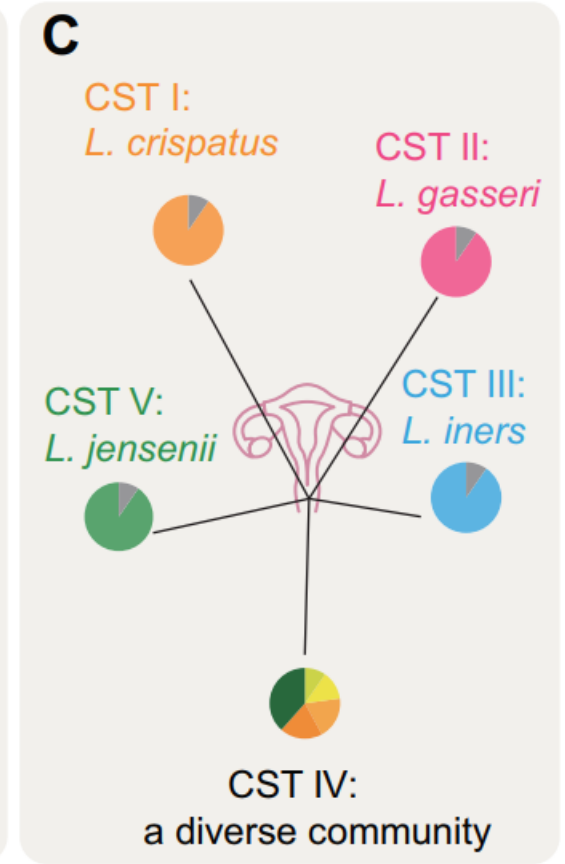
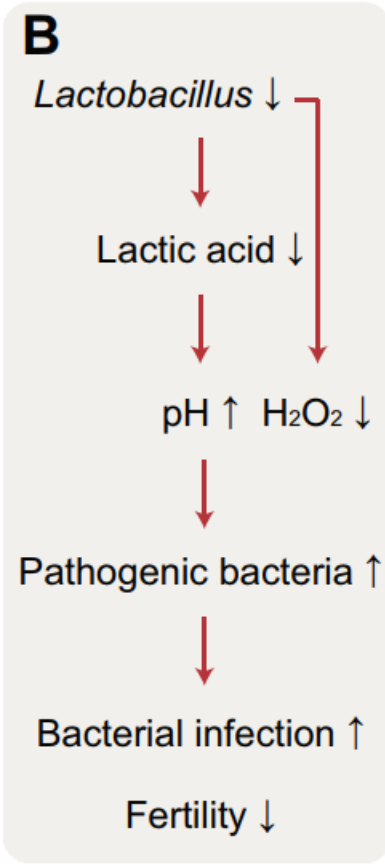
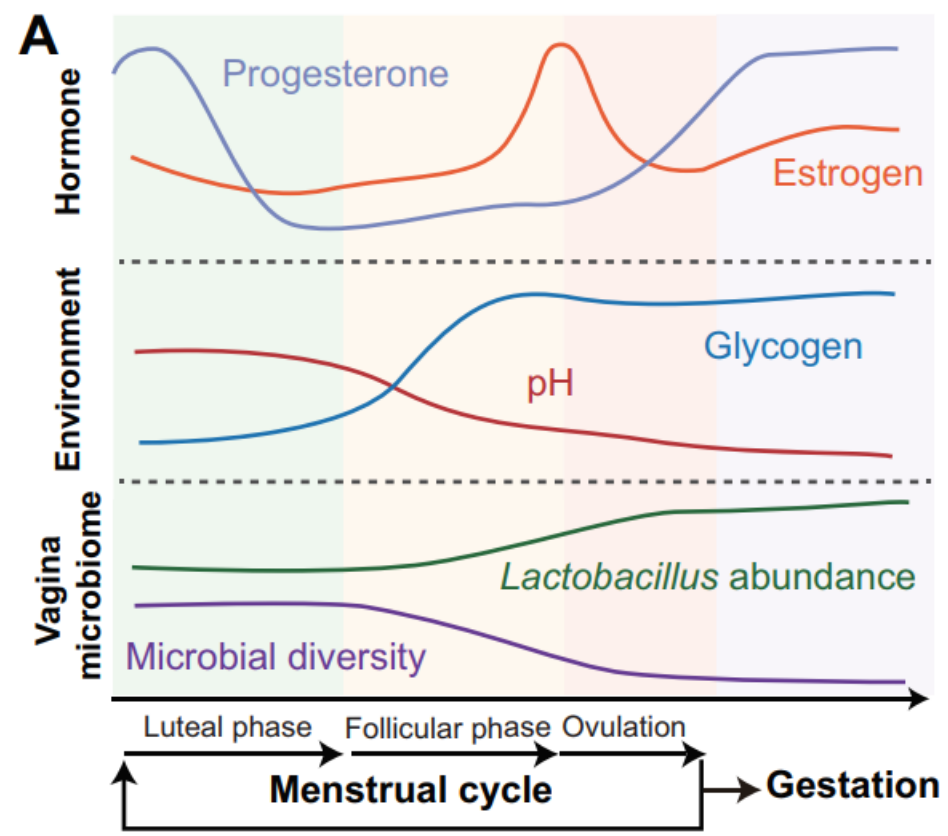


Figure 2 Microbial characteristics in the FRT

FRT, female reproductive tract

CST, community state type

Vaginal microbiome

- 가임기 여성에서 질 내 마이크로바이옴은 age, sexual activity, pregnancy, exogenous hormones 등에 영향 받음
- 질 내 부위 (vaginal introitus, midpoint, and posterior fornix)에 관계없이 ***Lactobacillus spp.***가 우점, 일부 *Prevotella*, *Gardnerella*, *Atopobium* 등 존재
- **Dysbiosis** (미생물 불균형)
 - Ex.: Gardnerella, Prevotella, Atopobium
 - 난임, 골반염증, 조기진통 등과 연관

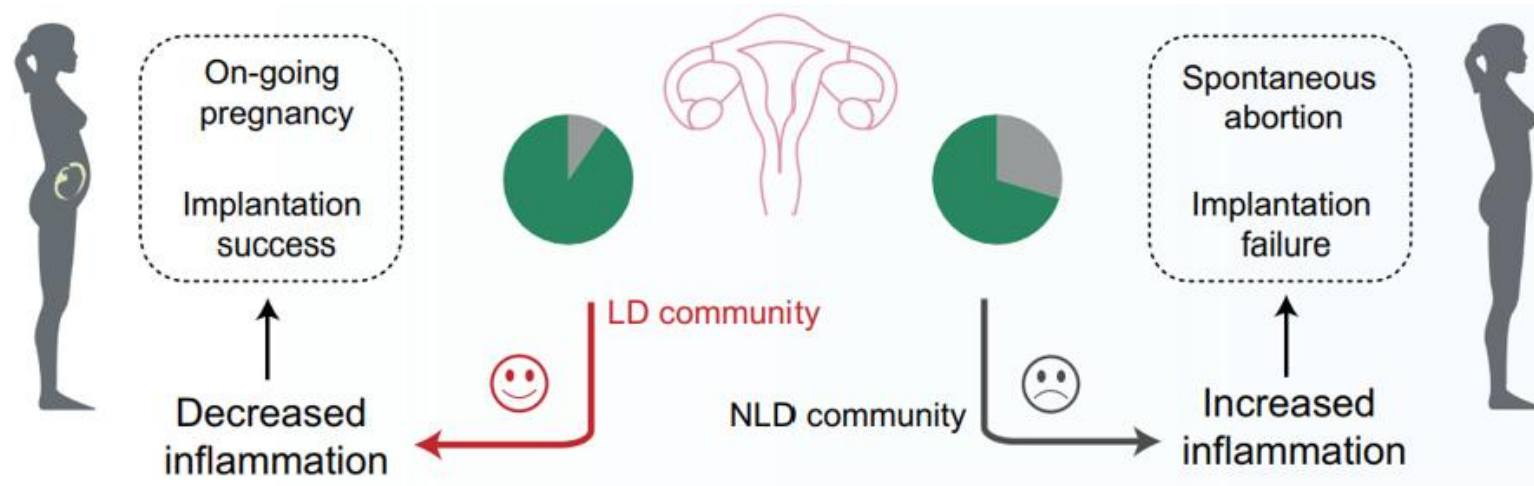
The Vaginal Microbiome and IVF Outcomes

- Embryo transfer day의 vaginal microbiome 상태가 pregnancy outcome에 영향을 미침
- IVF 임신군 vs. 비임신군사이 flora 조성이 다름
 - 비임신군에서 pathogens Gardnerella and Prevotella가 풍부
 - 반면, 임신군의 경우 Lactobacillus가 풍부
- RIF 환자에서 Lactobacillus abundance가 유의하게 감소
- Poor pregnancy outcomes in vaginal dysbiosis
 - Mycoplasma tuberculosis, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae은 난임을 유발하고, poor birth outcomes과 연관
 - IVF 환자에서 비정상적인 vaginal microbiota를 가진 경우, CPR은 9%에 불과
 - 질 마이크로바이옴이 불균형(dysbiotic)인 여성은 정상(eubiotic) 마이크로바이옴을 가진 여성에 비해 IVF 치료 후 임신할 확률이 1.4배 낮음

Endometrial Microbiome

- 자궁내막: 이전에는 sterile한 장소로 여겨졌으나, 많은 연구 결과들에 의하면 low-biomass 미생물 군집
 - Lactobacillus가 가장 풍부
 - Sola-Leyva et al. (2021) > 자궁내막 내 bacteria 이외에 fungi (10%), viruses (5%), archaea (고세균, 0.3%) 존재

The Endometrial Microbiome and IVF Outcomes

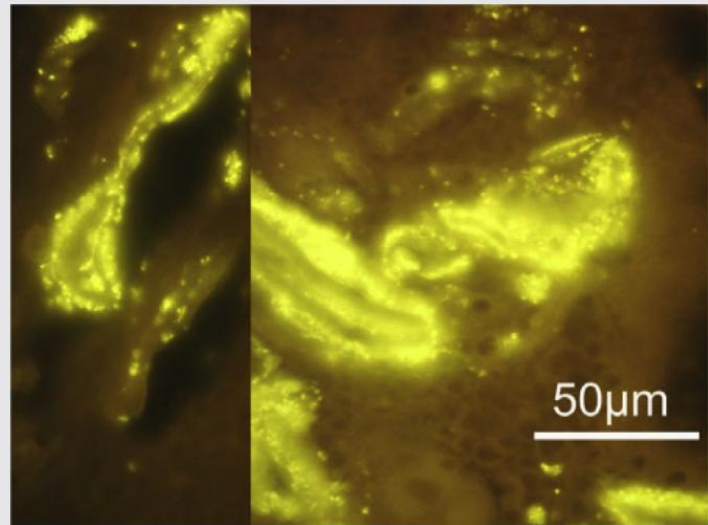


- Lactobacillus-dominant endometrium (LDE): 일부 연구들에서 더 좋은 ART 결과 보고 (higher IR & LBR)
 - IR (60.7% vs. 23.1%, $p = 0.02$), PR (70.6% vs. 33.3%, $p = 0.03$), OPR (58.8% vs. 13.3%, $p = 0.02$), LBR (58.8% vs. 6.7%, $P = 0.002$)
- Non-Lactobacillus-dominant profiles (higher anaerobes or Proteobacteria)에서 poorer IVF outcomes (higher implantation failure)
- Uterine pathology를 치료하는 것이 임신가능성을 증가시키는 하나의 방법

Hypothesis of the Vagino-Uterine Axis and Microbial Translocation

- Cervix를 통해 upward microbial migration이 가능
- 자궁경부 점액, 자궁내막 점막 특성, 자궁 면역 국소 환경이 조절 변수
- Local immunity and mucosal integrity에 변화로 implantation에 영향을 줄 수 있음

FIGURE 1



Polymicrobial biofilm dominated by *Gardnerella* attached to the endometrium. The left panel shows follicular and the right panel luteal endometrium. From Swidsinski et al. (14).

Franasiak. Reproductive tract microbiome in ART. Fertil Steril 2015.

⇒ 세균성 질염(BV) 여성의 자궁내막에 부착된 *G. vaginalis* 바이오필름(polymicrobial biofilm)의 존재를 통해 upward microbial migration 입증

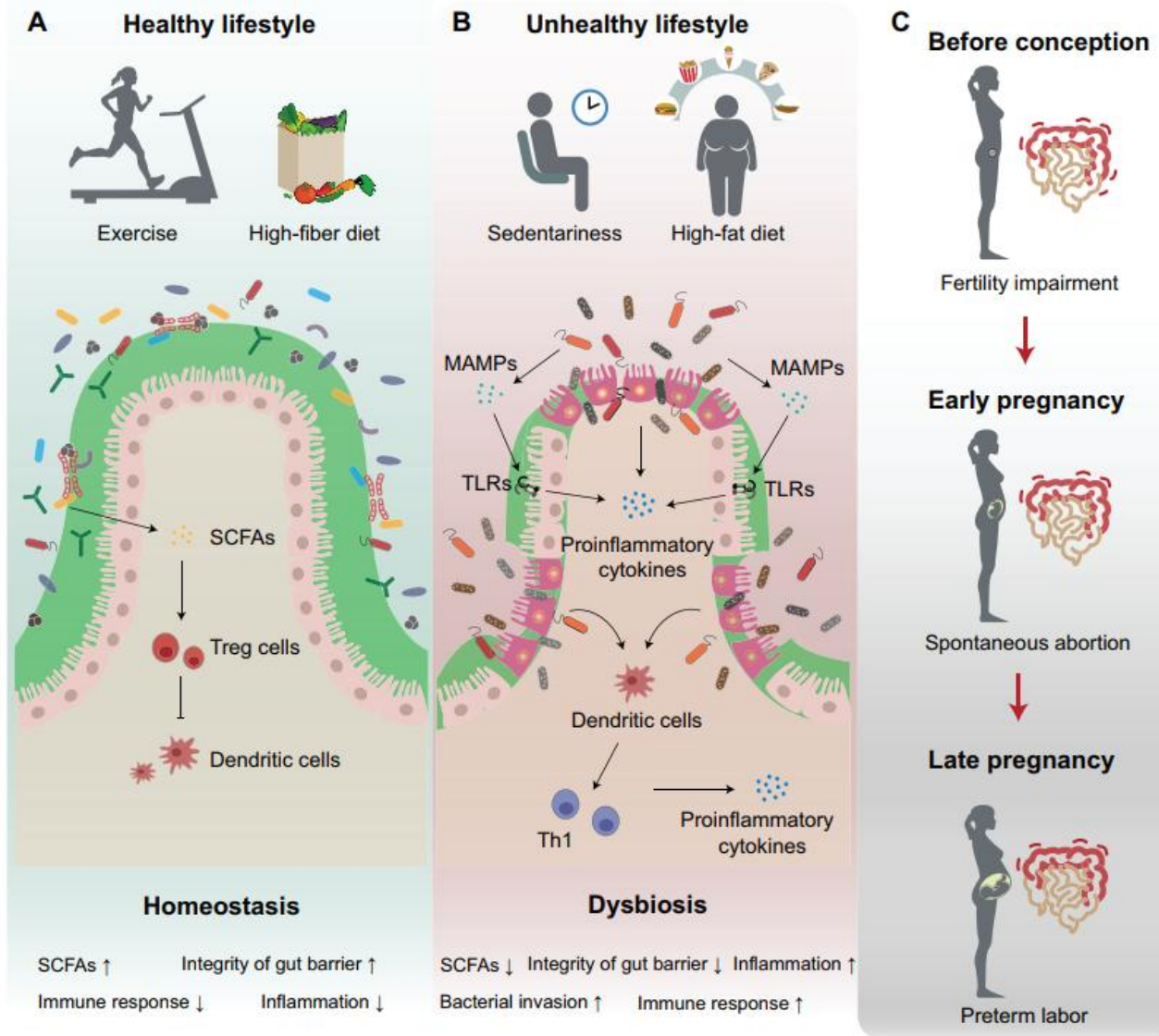
endomeTRIO: ERA+EMMA+ALICE

- 3개의 endometrial tests로 자궁내막 상태 평가
 - ERA test (Endometrial Receptivity Array)
 - **EMMA test** (Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis)
 - 환자의 자궁내막 미생물 군을 평가하여 Lactobacillus를 포함한 다양한 세균 군집의 양을 정량화
 - **ALICE test** (Analysis of Infectious Chronic Endometritis)
 - 만성 자궁내막염과 가장 흔하게 관련된 병원성 세균을 확인

EndomeTRIO: ERA, EMMA and ALICE Tests



Effects of the Gut Microbiome on Reproductive Health



- Healthy lifestyle (A)
 - Gut barrier integrity 유지, SCFAs 생산증가 (proinflammatory cytokine 감소, 면역 반응 억제)
- Unhealthy lifestyle (B)
 - gut microbiome을 교란하여 gut barrier integrity 손상
 - 병원균의 침입은 면역 세포들을 자극하여 proinflammatory cytokines을 생산, 이는 면역반응을 유발하여 다양한 질환 유발
- 임신주기에서 지속되는 inflammation의 영향 (C)
 - 생식능 저해 (난임) / 착상실패
 - 유산
 - 조기진통 / GDM / Preeclampsia

Figure 1 Lifestyle influences gut microbiome and is associated with reproductive health

Infection and Inflammation

- 임상적으로 명백한 infection, inflammation과 reproductive function의 변화는 correlation이 있음
 - Pathogen 침입은 면역세포를 활성화시켜 proinflammatory cytokines, growth factors 분비
 - 작은 microbiome shift로 인한 local milieu의 변화가 임상적으로 의미있는 변화를 유발할 수 있음
 - 정확한 molecular mechanisms에 대해서는 아직 추가 연구가 필요

① Antimicrobial Prophylaxis at Embryo Transfer

- Transfer catheter tip의 upper genital tract microbiota colonization에 대한 우려
- Kroon B et al., (Cochrane Database Syst Rev, 2012)
 - A review of RCT in the literature that investigated antibiotics at embryo transfer (N=1)
 - 항생제를 투여시 배아 이식 카테터 끝 부분을 배양한 결과로 확인된 미생물 오염은 감소
 - 그러나, CPR은 유의한 차이 없음
 - 항생제 투여군 36% vs. 비투여군 35.5% (odds ratio 1.02, 95% CI 0.66–1.58)
 - LBR을 primary outcome으로 하는 추가 연구가 필요
- 배아 이식시 항생제 사용에 대해 주장할 또는 반박할 양질 데이터는 현재 거의 없음 (No clear benefit)

② Chronic Endometritis (CE)

- **만성자궁내막염 (CE):** 자궁 내막의 국소 점막 염증 질환, 조직병리학적으로 자궁 내막 기질(endometrial stroma) 내에 CD138(+) 형질세포(plasmacytes)가 비정상적으로 침윤하는 것으로 확인
- 여성 난임 / 산과적 / 주산기 합병증 (PTL, PE, PVL, CP in premature infants)과 연관
 - unknown etiology의 난임 여성 28%
 - IVF-ET 후 RIF인 여성의 14-31%
 - RPL 여성의 9-13%
- 원인
 - 자궁내막 감염
 - Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Streptococcus, Staphylococcus, Mycoplasma/Ureaplasma, Mycobacterium
 - Local dysbiosis in the female reproductive tract
- 치료
 - 항생제 → 효과적으로 CD138(+) 형질세포 제거

Table 2. Studies on the use of metronidazole against CE.

Authors [Reference]/ Published Year/Nation/ Study Period/Study Design	Dose	Indications	Age (Years)	BMI (kg/m ²)	Conditions for IHC-CD138	Diagnostic Criteria for CE	The Cure Rate of Histopathologic CE
Johnston-MacAnanny EB et al. [6]/ 2010/USA/ January 2001–December 2007/ retrospective study	1000 mg/day, 14 days (500 mg, twice) in combination with ciprofloxacin 1000 mg/day, 14 days	Repeated implantation failure (two failed ET cycles), second-line treatment against doxycycline-resistant CE	34.5 ± 3.27 (mean ± SD)	Information unavailable	Pipelle suction speci- mens/Immunohistochemistry, paraffin-embedded sections/MI15 Cell Marque (Biocare Medical, Concord, CA)/not available Biocare Medical, Concord, CA)/1:100 dilution/60 min/Room air?	1 or more ESPCs in 1 HPF observed	100% (3/3)
McQueen DB et al. [43]/ 2014/USA (Caucasian and African-American)/ July 2004–February 2012/ prospective study	1000 mg/day, 14 days (500 mg, twice) in combination with or ofloxacin 800 mg/day, 14 days	Recurrent pregnancy loss, first-line treatment	22.08 ± 4.83 (mean ± SD)	25.8 ± 6.4, and 20–47 (mean ± SD, and range)	Not detailed	Not detailed	73.1% (19/26)
Yang R et al. [77]/ 2014/China /January 2009–January 2010/prospective study	1000 mg/day, 14 days (500 mg, twice)in combination with levofloxacin 500 mg/day, 14 days	Repeated implantation failure (three failed ET cycles or 6 or more high-quality transferred embryos), first-line treatment	Not detailed (Two combined studies are reported in one article)	Not detailed (Two combined studies are reported in one article)	Pipelle suction speci- mens/Immunohistochemistry	1 or more ESPCs in the section observed	Not re-examined (?/68)
Tersoglio AE et al. [78]/2015/ Argentina/ 2010–2013/ prospective study	1000 mg/day, 14 days (500 mg, twice)in combination with ciprofloxacin 1000 mg/day, 14 days and precedent 200 mg/day doxycycline along with prednisone 4–8 mg/day	Repeated implantation failure (two or more failed ET cycles) first-line treatment	36.0 ± 4.08 (mean and SD)	Information unavailable	Not detailed	1 or more ESPCs in 1 HPF observed	64.3% (9/14)

Table 2. Cont.

Authors [Reference]/ Published Year/Nation/ Study Period/Study Design	Dose	Indications	Age (Years)	BMI (kg/m ²)	Conditions for IHC-CD138	Diagnostic Criteria for CE	The Cure Rate of Histopathologic CE
Kitaya K et al. [79]/ 2017/Japan/ November 2011–July 2014/ prospective study	500 mg/day, 14 days (250 mg, twice) in combination with ciprofloxacin 400 mg/day, 14 days	RIF (three or more 6 or more high-quality transferred embryos and/or blastocysts), second-line treatment against doxycycline-resistant CE	38.1 ± 3.8 (mean ± SD)	21.1 ± 1.9 (mean ± SD)	Curette biopsy specimens/ Immunohistochemistry, paraffin-embedded 4-m sections/B-A38 (Nichirei Corp., Tokyo, Japan), stock solution, 60 min, room temperature	endometrial stromal plasmacyte density index (sum of ESPC counts divided by the number of HPF evaluated) 0.25 or more	88.9% (8/9)
Gay C et al. [80]/ 2021/France/ January 2013–January 2018/ retrospective study	1000 mg/day, 14 days (500 mg, twice) in combination with doxycycline 200 mg/day, 14 days (Antibiotic agents were chosen according to antibiogram if bacteria were identified.)	Recurrent pregnancy loss, first-line treatment	33 and 9 (median and interquartile range)	24 and 3 (median and interquartile range)	Pipelle suction speci- mens/Immunohistochemistry, not detailed	1 or more ESPCs in 1 HPF observed	100%? Not detailed

Antibiotic Treatment of CE and Its Impact on ART Outcomes

- 몇몇 연구들에서 항생제 치료 후 (완치) 다음 주기에 ET 시행시, LBR 향상 보고
 - No published RCTs yet.
- 항생제
 - 다양한 미생물 커버 (common bacteria to Mycoplasma 등) 위해 broad-spectrum antibiotic agents (doxycycline, fluoroquinolones (ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin), nitroimidazoles (tinidazole and metronidazole))
 - TB-associated CE: antitubercular therapy
 - 6개월 antitubercular agents 치료 후 12개월 내 CPR은 90% 정도로 보고
- RIF 환자에서 Multi-drug-resistant CE 문제
 - doxycycline 저항성 CE: 20%
 - 다른 regimen 고려 (ex. azithromycin, moxifloxacin, and lincomycin)

ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure[†]

ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure, D. Cimadomo ¹, M.J. de los Santos ², G. Griesinger ^{3,4}, G. Lainas ⁵, N. Le Clef ⁶, D.J. McLernon ⁷, D. Montjean ⁸, B. Toth⁹, N. Vermeulen ⁶, and N. Macklon ^{10,*}



Assessment for chronic endometritis (CE) can be considered. If CE is diagnosed, treatment with antibiotics can be considered.

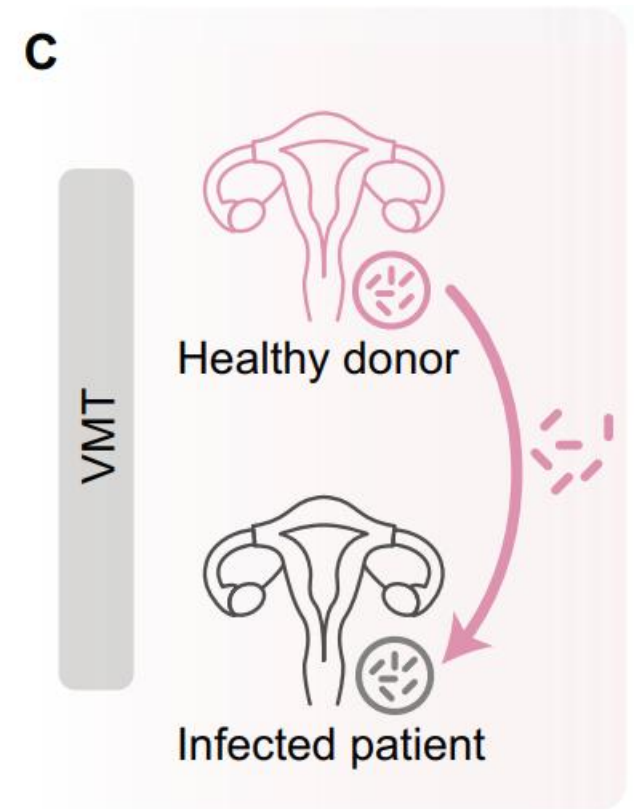
- RIF 환자 맥락에서 만성 자궁내막염 평가를 고려할 수 있고, 진단되면 항생제 치료를 고려할 수 있다
 - 다만 기존 연구들의 경우 작은 표본수, 진단 기준 다양성, 무작위 대조시험 부족 등 때문에 아직 확실한 결론을 내리기는 어려움

③ Bacterial Vaginosis (BV)

- BV: Lactobacillus dominance 감소, Gardnerella, Mycoplasma, Prevotella 과증식과 연관, CST IV configuration과 연관
- 난임 여성의 19%에서 발견, 비정상적인 genital microflora 비율 39%
- ART를 시행받는 여성에서, BV는 착상실패, 자연 유산 위험 증가와 연관
- 질 내 Lactobacillus spp.가 풍부한 경우에서 ART시 임신율 증가와 관련 → 항생제 치료 필요

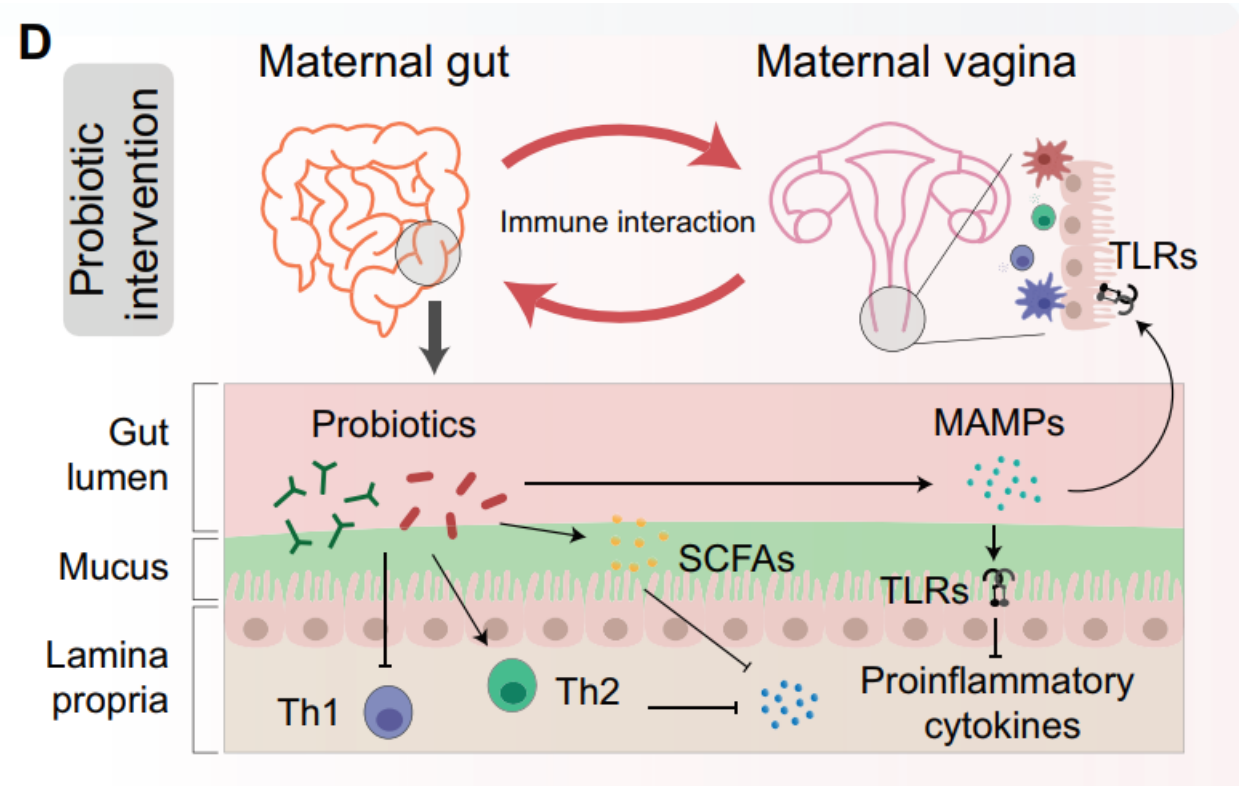
Antibiotic Treatment of BV and Its Impact on ART Outcomes

- First-line treatment: antibiotics
- 항생제 비반응균 또는 재발 환자군에서 Vaginal microbiome transplantation을 시도한 case series 정도는 있으나 (2019) 아직 experimental
- 그렇다면 Fertility treatment를 받기 전에 prophylactic antibiotic use?
 - 저항성 균주 증가, 재발 위험도 증가, 그 외의 adverse effects 고려
 - Not recommended



Probiotics

- Lactobacillus의 높은 우점성은 IVF 및 IVF-ICSI에 유리한 결과
- 대부분의 probiotic supplement의 균주 (ex. Lactobacillus spp.)는 SCFA의 생산을 증가, T cell 면역반응 조절 (Th1/Th2 cell ratio 감소)
- proinflammatory cytokines 감소, uterine barrier를 강화하여 난임, BV, 내막 질환 위험도, GDM, PE, PTL 감소



Probiotics

- Probiotics 경구 투여로도 질 미생물 조성 (ex. Lactobacillus 비율)을 변화시킬 수 있음
- Probiotics 치료는 Gut과 female reproductive tract의 microbiome 회복에 도움 → 결과적으로 모성, 태아 건강에 영향
- 다만, probiotics 치료의 failure cases도 존재
- Probiotics 투여가 IVF의 임상적 최종결과(임신·출산율)를 확실히 개선한다는 고품질 근거(RCT 메타분석 수준)는 아직 불충분
 - 일부 연구에서 긍정적 평가 (임신율 증가 경향, 소규모 유의성)를 보고하였으나 전체적으로 보면 혼합된 결과를 보이거나 통계적 유의성 없음
 - 기전 이해, 적절한 환자군/용량/용법 등을 설계한 고품질 추가 연구 필요

Female genital tract microbiome: the influence of probiotics on assisted reproduction

Chart 1. Characteristics and relevant clinical results of included studies

Article	Study design	Population		Probiotic				Objective	Outcomes
		Type	Size	Route	Strain	Dose	Days		
Gilboa et al. (2005) ⁽³⁶⁾	Clinical Trial	Infertile patients	117	Vaginal	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> and <i>Bifidobacterium longum</i> (3x10 ⁹ CFU)	2 capsules	3	To investigate the effect of probiotics on vaginal colonization and on outcome of the IVF cycle.	The probiotic did not affect the vaginal colonization of <i>Lactobacillus</i> during embryo transfer. The clinical pregnancy rate improved slightly, albeit with no statistical significance.
Iniesta et al. (2022) ⁽³⁹⁾	Clinical Trial	Infertile couples	14	Oral	<i>Lactobacillus salivarius</i> PS11610 (1x10 ⁹ CFU)	1 capsule/ 12 hours	180	To evaluate the effect of <i>L. salivarius</i> PS11610 on the microbial composition of urogenital tract in infertile couples with bacterial dysbiosis.	Probiotic supplementation significantly modified the urogenital microbiome composition. Additionally, slightly improved the pregnancy and delivery rates, albeit with no statistical significance.
Di Pierro et al. (2023) ⁽³⁵⁾	Retrospective, observational, study	Infertile patients	160	Oral	<i>Lactobacillus crispatus</i> M247 (2x10 ⁹ CFU)	1 sachet/day	90	To evaluate whether the oral administration of <i>L. crispatus</i> could increase pregnancy and live birth rates in women undergoing ART.	The rate of biochemical and clinical pregnancy rates, as well as live births were higher in the probiotic group, although with no statistical significance.
Tanha et al. (2023) ⁽³⁸⁾	Randomized, controlled trial	Infertile patients	103	Vaginal	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (1x10 ⁹ CFU)	1 suppository/ day	14	To evaluate the effect of <i>Lactobacillus rhamnosus</i> on normalizing vaginal microbiome, and its potential to enhance outcomes in FET cycles.	In the Lactovag group, biochemical and clinical pregnancy rates were higher, albeit without statistical significance. The rate of pregnancy loss in the control group was fivefold in comparison with the Lactovag group.
Thanaboonyawat et al. (2023) ⁽³⁴⁾	Randomized, controlled trial	Infertile patients	316	Vaginal	<i>Lactobacillus acidophilus</i> KS400 (1x10 ⁹ CFU)	1 tablet/day	6	To compare the biochemical pregnancy rate between women using intravaginal probiotic supplementation and those with standard treatment before embryo transfer in FET cycles.	The biochemical and clinical pregnancy rates were comparable in both groups. There was a statistically significant reduction in the miscarriage rate in the study group.
Wei et al. (2024) ⁽²⁶⁾	Prospective controlled trial	Infertile patients	60	Vaginal	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> DM8909	-	30	To investigate the impact of transvaginal <i>Lactobacillus</i> supplementation on reproductive outcomes in patients with prior failed FET cycles	Transvaginal supplementation significantly increased the clinical pregnancy rate, while the miscarriage rate showed no difference between the two groups.

Ana Sofia Almeida Santana¹

<https://orcid.org/0009-0004-8516-406X>

Ana Margarida Póvoa^{2,3}

<https://orcid.org/0000-0003-0018-9264>

약간의 CPR증가, but, 유의성 없음

약간의 CPR & LBR 증가, but, 유의성 없음

Biochemical PR, CPR & LBR 증가, but, 유의성 없음

Biochemical PR, CPR 증가, but, 유의성 없음, 다만 유산율의 경우, 유산균 투여군에 비투여군에서 5배 높음

Biochemical PR, CPR 비슷, 다만 투약군에서 유의하게 유산율 감소

VMT을 시행시 CPR 유의한 증가, but. 유산율에는 변화 없음

Prebiotics

- Partially Hydrolyzed Guar Gum (PHGG)
 - 수용성 식이섬유
 - An RCT (Zenta Yasukawa et al.) : PHGG가 장내 세균군의 구성 변화를 유도하여 배변 형태 개선 등의 효과를 보였음



Original Article

Characterizing the gut microbiota in females with infertility and preliminary results of a water-soluble dietary fiber intervention study

Shinnosuke Komiya,^{1,2,*} Yuji Naito,^{3,*} Hidetaka Okada,² Yoshiyuki Matsuo,⁴ Kiichi Hirota,⁴ Tomohisa Takagi,^{2,5} Katsura Mizushima,² Ryo Inoue,⁶ Aya Abe⁷ and Yoshiharu Morimoto¹

- PHGG 보충이 장내 미생물 불균형(gut dysbiosis)과 보조생식술(ART) 결과에 미치는 영향 탐색

- 결과
 - 난임 치료 중인 여성 12명에게 PHGG (Sunfiber, 10g/d)를 보충제로 섭취하게 하고, ART를 시행하였을 때 7명(58.3%)이 임신에 성공
- 주요 미생물
 - 임신군은 PHGG 투여 전부터 Bifidobacterium의 비율이 높았고, 투여 후 Bifidobacterium 비율이 더욱 상승함. Paraprevotella 및 Blautia 속의 비율이 낮음
 - 반면 비임신군에서는 Paraprevotella와 Blautia의 비율이 높았음.

Prebiotics

DOES PROBIOTIC AND PREBIOTIC TREATMENT IN IVF CYCLES OF INFERTILE WOMEN WITH INTESTINAL DYSBIOSIS, AFFECT PREGNANCY RATE?

Irollo A.M¹, Gangale M.F.¹, Tartaglione A.¹, Criscuolo C.², Aiello R.¹, Stortini E.¹, Infante V.¹

- An RCT, FET cycle, PR 비교, total N=53
- Group A (n=29) (control group) vs. acute intestinal dysbiosis 상태의 난임 여성 (n=24)
 - 실험군은 적어도 2달간 prebiotic & probiotic (syngut and serplus 2 capsules/day each) 치료 시행
- 결과: 치료군은 15건의 임신과 12명의 출산이 있었으며, 대조군 (각각 5명, 3명)에 비해 통계적으로 유의미한 차이를 보임 ($P < 0.05$)
- 프리바이오틱스와 프로바이오틱스의 병용 치료가 장내 미생물 불균형을 개선하고 IVF 성공률을 높일 수 있음을 시사, but small study

Limitations of Microbiome Research

- Key Limitations
 - High contamination risk in low-biomass samples
 - Methodological differences in sequencing and sampling
 - Heterogeneity of study populations: prior antibiotic use, sexual behavior, surgery, etc.
 - Causality remains unproven—whether dysbiosis is cause or consequence
 - Strong validation through randomized controlled trials & defined methodologies is necessary for the clinical translation of microbiome-based therapeutics

Microbiome Modulation Strategies

Strategy	Mechanism / Rationale	Evidence & Key Studies	Risks / Limitations
Antibiotics	Reduce pathogenic or anaerobic overgrowth to favor beneficial recolonization	Some studies show improved implantation after BV-targeted therapy	Resistance, loss of beneficial species, altered diversity
Probiotics	Replenish <i>Lactobacillus</i> spp.; produce lactic acid and bacteriocins	Small studies show improved microbial composition (Lactobacillus-dominant endometrial cultures linked to higher pregnancy rates.) But, inconsistent clinical benefit	Strain-dependent effects; transient colonization; limited evidence
Prebiotics	Enhance growth of beneficial microbes via selective substrates	PHGG (guar gum) supplementation improved ART success in small trial	Lack of direct data on endometrial microbiome; dosage undefined
Microbiota Transplantation	Restore healthy microbial ecosystem (conceptual FMT, VMT)	Still experimental; limited to case reports	Safety, donor selection, ethical/regulatory concerns
Metabolomic / Immunologic Modulation	Target microbial metabolites (SCFAs, amines) or local immune tone	Preclinical studies suggest link between metabolite profiles and receptivity	Mechanistic complexity; no established interventions

Microbial Biomarkers as Indicators of Pregnancy Disorders

- 여러 임신 합병증의 예방과 조기 진단을 할 수 있는 세균성 바이오마커를 연구
 - Ex. PTL 관련하여, 질 내 *Lactobacillus crispatus*는 보호 효과를 보이는 반면, *Lactobacillus iners*는 with low gestational age와 관련
- IVF outcome을 예측할 수 있는 Microbiota에 대한 연구도 향후 고려 가능

Emerging Research Directions

- **Precision Microbiome Therapy (표적 미생물 치료)** : individualized microbial profiling to tailor interventions
- **Engineered Probiotics** : genetically modified *Lactobacillus* to secrete targeted antimicrobials
- **Metabolomic Modulation** : regulating microbial metabolites (e.g., SCFAs, tryptophan derivatives)
- **Immune–Microbiome Interaction Targeting** : modulating mucosal immunity to improve receptivity
- **Integrated Multi-omics** : combining metagenomics, transcriptomics, metabolomics, and host immune profiling.

⇒ A multidisciplinary approach combining systems biology, reproductive endocrinology, and microbiology will be necessary

Clinical and Ethical Considerations

- **Sampling contamination:** essential to include negative controls and replicate testing
- **Safety:** potential translocation or infection from probiotic strains in immunocompromised patients.
- **Regulation:** microbiota-based interventions are not yet standardized or approved for ART
- **Ethics:** informed consent, donor screening, and long-term monitoring needed for transplantation-based therapy

Summary and Take-home Messages

- 생식계/장내 마이크로바이옴은 ART 성패와 연관될 가능성이 있으며, 특히 질 및 자궁내막, 장내 미생물 조성이 중요
 - Lactobacillus-dominant 환경이 favorable한 임신 결과를 보이거나, 아직 inconsistent한 결과들이 존재, high-quality evidence 부족
 - Microbiome modulation은 미생물 균형을 회복하고 생식 건강을 증진시키기 위한 현재 떠오르는 유망한 전략 중의 하나로 지속 연구는 필요
- 현재까지 이를 조절하기 위한 개입 전략 (Antibiotics, Probiotics, Prebiotics)의 임상 근거는 제한적
 - 모든 IVF 환자에게 routine한 투여는 어려움
 - 다만, 선별적으로 엄격한 적응증을 가지고 투여 고려
 - Ex. 질/자궁내막 미생물 검사(NGS, qPCR 등)에서 dysbiosis가 확인된 RIF 환자, CE가 확인된 RIF 환자 등
- 효과 확인을 위해서는 대규모 환자군에서의 무작위 검증이 필요 – 적정 미생물 샘플링 방법, 적정 균주 용량, 투여 경로, 기간 등 설정
- 향후 연구는 정밀 치료 (precision microbiome), 대사체 조절, 면역 연계 치료 등 다중 접근을 지향해야 함
- 임상 적용 시, 안전성(근거와 한계 설명), 오염 통제, 임상결과 모니터링, 윤리 및 규제 필수

Thank you for your attention.

