

腸内細菌叢と腎疾患

辻 章志, 金子 一成 (関西医科大学小児科学講座)

I. はじめに

従来は腸内細菌叢の分析法として培養法が用いられていたが、今世紀になり細菌に特異的な16S リボゾーム RNA 遺伝子を分子生物学的に解析する手法が開発された。その結果、腸内細菌叢の異常とさまざまな疾患との関連についての報告が増加している。

腸内細菌叢と腎疾患の関連については、まず慢性腎臓病 (chronic kidney disease : CKD) における腸内細菌叢の破綻 (dysbiosis) の実態が明らかにされた^{1~4)}。小児領域の疾患についても dysbiosis との関連性に関する報告は徐々に増えているが、腎疾患に関しては CKD に関する報告のみである⁵⁾。

本稿では腸内細菌叢に関する基本的な知見を述べた後、腸内細菌叢の異常と小児疾患との関連や腸内細菌叢と腎疾患の関連についてのこれまでの知見を紹介する。最後に小児の特発性ネフローゼ症候群 (idiopathic nephrotic syndrome : INS) の発症・再発と腸内細菌叢の異常について現在著者らが考えている仮説を述べる。

II. ヒトの腸内細菌叢と健康との関わり

ヒトの腸管内には500種以上の細菌が存在し、菌数は人体を構成する細胞数 (約60兆個) をも上回る数100兆個以上存在していて重量は1~2 kg に及ぶ^{6,7)}。一般的に細菌は皮膚・消化管・呼吸器系・口腔・膣などに存在しているが、ヒトの細菌の約90%は消化管に定着して生息し腸内細菌叢と呼ばれている。

腸内細菌叢の詳細な研究は1970年代の光岡らの培養法を用いた研究から始まる。彼らの研究成果から、年齢により腸内細菌叢は変化することが明らかになっ

た。すなわち、出生直後の新生児の腸管は無菌的だが、最初は大腸菌や *Streptococcus* が定着し、次にビフィズス菌が最優勢となる。また乳児における腸内細菌叢の構成は多様性が低いことや、成人は小児に比して *Bacteroides*, *Eubacterium*, 嫌気性球菌などが優勢となること、さらにビフィズス菌は高齢者では減少し、通性嫌気性菌が増加することなどを明らかにした⁸⁾。

腸内細菌叢の分析法は従来用いられてきた培養法から、1990年代後半になると細菌の16S リボゾーム RNA を標的とした分子生物学的解析法に変わり、より詳細な腸内細菌叢の加齢に伴う変化が明らかとなってきた。すなわち、生後1か月までに *Actinobacteria* 門の *Bifidobacterium* 属が急速に増殖し、離乳期に入るまでは腸内細菌叢の大半を占めるが、離乳期になると、*Bifidobacterium* 属はやや減少し、*Bacteroidetes* 門の *Bacteroides* 属や *Firmicutes* 門の *Clostridium* 属、*Eubacterium* 属が増える。そして成人の腸内細菌叢は、主に *Bacteroidetes* と *Firmicutes* の2門になることなどが明らかとなった⁹⁾。

腸内細菌叢は小児、成人を問わず、生体の健康を維持するために重要な役割を果たしている。成人領域では dysbiosis によりさまざまな疾患の原因となることがわかってきた。現在、知られている dysbiosis が原因と考えられている疾患は炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、非アルコール性脂肪肝炎、糖尿病、動脈硬化、自己免疫疾患、アレルギー疾患、癌や精神疾患など多岐にわたっている¹⁰⁾。また近年、小児科領域でも乳幼児期の dysbiosis がアレルギー性疾患、自閉症、炎症性腸疾患、膠原病、肥満、糖尿病などの慢性疾患の発症と関連のあることが報告されている^{11~19)}。

Ⅲ. 腎疾患と腸内細菌との関係

1. 慢性腎臓病における腸内細菌叢

成人CKD患者の腸内細菌叢は、*Lactobacillaceae*, *Prevotellaceae*, *Bifidobacteria*などのいわゆる善玉菌は減少し、*Brachy bacterium*, *Catenibacterium*, *Enterobacteriaceae*などが増加している^{1~3)}。このような腸内細菌叢のdysbiosisの原因として、尿毒素の蓄積、CKDに合併する代謝性アシドーシス、体液量増加に伴う腸管上皮細胞の浮腫、鉄剤や抗菌薬やキレート剤などの治療薬による影響、などが推定されているが、詳細については明らかではない⁴⁾。Dysbiosisにより、尿毒症物質の産生がさらに亢進するが、特にインドール酢酸の増加はCKD進展の予測因子となることが報告されている²⁰⁾。またCKD患者に緩下剤であるルビプロストンを投与して排便コントロールを行うと、緩下作用に加えてプレバイオティクス効果により*Lactobacillus*や*Prevotella*が増加すると報告されている²¹⁾。

小児の腎疾患と腸内細菌叢の関連についての研究は少ないが、末期腎不全(end-stage renal disease: ESRD)患者の腸内細菌叢を健康小児と比較解析した報告によれば、腹膜透析を受けている患児は、*Firmicutes*門と*Actinobacteria*門が著明に低下していることや、血液透析を受けている患児は*Bacteroidetes*門が増加していること、またESRD患児は血清p-クレシル硫酸とインドール酢酸が増加しているなどの特徴を有していることが明らかにされている⁵⁾。

2. 小児の特発性ネフローゼ症候群における腸内細菌叢

著者らは現在小児INSの発症や再発にdysbiosisが関与しているのではないかと考えて研究を進めている。小児のネフローゼ症候群はINSが約90%を占め、成人と異なり、IgA血管炎などの全身性疾患に続発する症候性ネフローゼ症候群は約10%と少ない。15歳未満の有病率は人口10万人あたり30~35人と頻度が比較的高い疾患であるにもかかわらず、未だ病因は解明されていない²²⁾。これまでINS患者の循環血液中に存在するTリンパ球やBリンパ球を主体とするリンパ球機能異常が示唆されてきた^{23~25)}。しかし最近、「腎糸球体上皮細胞足突起のCD80の過剰発現がアクチン骨格の構造変化を招き、タンパク尿が出現する」という仮説が提唱されている²⁶⁾。CD80の発現調節には制御性T細胞(regulatory T cell: Treg)が関与してい

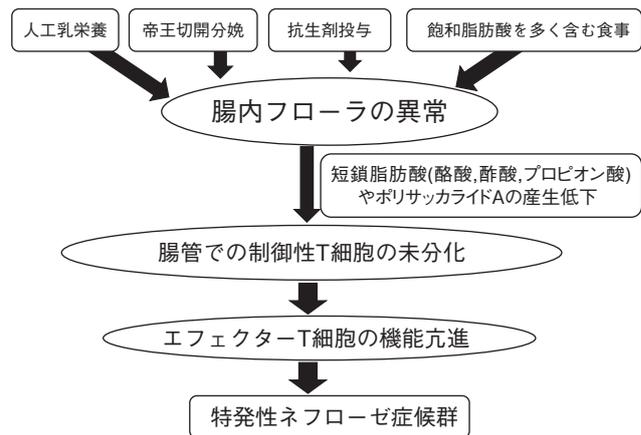


図 特発性ネフローゼ症候群の病因に関する著者の仮説(文献³⁵⁾から引用、一部改変)

ることが示唆されているが²⁷⁾、INS患児では末梢血のTregが質的・量的に低下している^{28,29)}。著者らもINS患児の発症時の末梢血中のTreg数はINSの寛解時や年齢の等しい健康小児と比較して有意に低下していることを報告した³⁰⁾。また近年、腸内細菌の*Clostridium*属が産生する酪酸はTregの分化を誘導することが報告されている³¹⁾。このことから著者らは「INS患児においては腸内細菌叢のdysbiosisによって腸内細菌の産生する酪酸が減少し、その結果腸管でTregが十分に分化・誘導されない」という仮説を立てて検討を進めている。著者らが現在考えているINSの発症仮説を図に示した。すなわち、人工乳栄養、帝王切開分娩、抗生剤の投与、飽和脂肪酸を多く含む食事摂取などにより乳児期に腸内細菌叢のdysbiosisを来す結果、短鎖脂肪酸、特に酪酸の産生低下や*Bacteroides fragilis*由来のポリサッカライドAの産生低下が起これ、腸管におけるTregの分化・誘導が進まず、エフェクターT細胞の機能亢進を招くためにINSが発症するのではないかと考えている。

上記の仮説の一部を裏付ける結果を最近、著者らは報告している。すなわち、分娩様式は新生児期・乳児期の腸内細菌叢を規定する重要な因子の一つであるが³²⁾、近年、帝王切開分娩で出生した新生児は、さまざまな小児の慢性疾患の発症リスクの高いことが報告されその意義が注目されている³³⁾。そこで著者らは「再発を繰り返すINS患児は、帝王切開分娩で出生し腸内細菌叢のdysbiosisがあるのではないか」という仮説を立て、当科で診療しているINS患児の診療録を後方的に検討した。その結果、頻回再発型の患児は、再発のない患児や非頻回再発型の患児と比較

して帝王切開分娩の割合が有意に高かったことを示した³⁴⁾。

IV. 結 語

出生から約3歳までの腸内細菌叢が確立する時期に dysbiosis が起こると, アレルギー疾患や発達障がいを始めとするさまざまな疾患の発症リスクが高まる可能性が最近, 多数報告されている。しかし小児腎疾患と腸内細菌叢の関連については, これまではあまり注目されてこなかったが, 著者らの検討では小児の代表的腎疾患である INS においても腸内細菌叢の dysbiosis の関与が推測されている。今後はプレバイオティクスなどによる dysbiosis への介入による INS の治療効果も含めての研究成果が待たれる。

文 献

- 1) Wang F, Zhang P, Jiang H, et al. Gut bacterial translocation contributes to microinflammation in experimental uremia. *Dig Dis Sci* 2012 ; 57 : 2856-2862.
- 2) Wang IK, Lai HC, Yu CJ, et al. Real-time PCR analysis of the intestinal microbiotas in peritoneal dialysis patients. *Appl Environ Microbiol* 2012 ; 78 : 1107-1112.
- 3) Vaziri ND, Yuan J, Nazertehrani S, et al. Chronic kidney disease causes disruption of gastric and small intestinal epithelial tight junction. *Am J Nephrol* 2013 ; 38 : 99-103.
- 4) Anders HJ, Andersen K, Stecher B. The intestinal microbiota, a leaky gut, and abnormal immunity in kidney disease. *Kidney Int* 2013 ; 83 : 1010-1016.
- 5) Crespo-Salgado J, Vehaskari VM, Stewart T, et al. Intestinal microbiota in pediatric patients with end stage renal disease : a Midwest Pediatric Nephrology Consortium study. *Microbiome* 2016 ; 4 : 50.
- 6) Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003 ; 361 : 512-519.
- 7) Steinhoff U. Who controls the crowd? New findings and old questions about the intestinal microflora. *Immunol Lett* 2005 ; 99 : 12-16.
- 8) Mitsuoka T. Establishment of intestinal bacteriology. *Biosci Microbiota Food Health* 2014 ; 33 : 99-116.
- 9) Odamaki T, Kato K, Sugahara H, et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian : a cross-sectional study. *BMC Microbiol* 2016 ; 16 : 90.
- 10) Selber-Hnatiw S, Rukundo B, Ahmadi M, et al. Human Gut Microbiota : Toward an Ecology of Disease. *Front Microbiol* 2017 ; 8 : 1265.
- 11) Wopereis H, Oozeer R, Knipping K, et al. The first thousand days-intestinal microbiology of early life : establishing a symbiosis. *Pediatr Allergy Immunol* 2014 ; 25 : 428-438.
- 12) Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nat Rev Endocrinol* 2015 ; 11 : 182-190.
- 13) Nobel YR, Cox LM, Kirigin FF, et al. Metabolic and metagenomic outcomes from early-life pulsed antibiotic treatment. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 7486.
- 14) Song H, Yoo Y, Hwang J, et al. Faecalibacterium prausnitzii subspecies-level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2016 ; 137 : 852-860.
- 15) Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 307ra152.
- 16) Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* 2013 ; 155 : 1451-1463.
- 17) Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2011 ; 94 : 58-65.
- 18) Haberman Y, Tickle TL, Dexheimer PJ, et al. Pediatric Crohn disease patients exhibit specific ileal transcriptome and microbiome signature. *J Clin Invest* 2014 ; 124 : 3617-3633.
- 19) Michail S, Durbin M, Turner D, et al. Alterations in the gut microbiome of children with severe ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012 ; 18 : 1799-1808.
- 20) Wu IW, Hsu KH, Lee CC, et al. p-Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of

- chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011 ; 26 : 938-947.
- 21) Mishima E, Fukuda S, Shima H, et al. Alteration of the Intestinal Environment by Lubiprostone Is Associated with Amelioration of Adenine-Induced CKD. *J Am Soc Nephrol* 2015 ; 26 : 1787-1794.
- 22) Kaneko K, Tsuji S, Kimata T, et al. Pathogenesis of childhood idiopathic nephrotic syndrome : a paradigm shift from T-cells to podocytes. *World J Pediatr* 2015 ; 11 : 21-28.
- 23) Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephrosis : a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974 ; 2 : 556-560.
- 24) Kemper MJ, Meyer-Jark T, Lilova M, et al. Combined T-and B-cell activation in childhood steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2003 ; 60 : 242-247.
- 25) Iharada A, Kaneko K, Tsuji S, et al. Increased nitric oxide production by T-and B-cells in idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009 ; 24 : 1033-1038.
- 26) Shimada M, Ishimoto T, Lee PY, et al. Toll-like receptor 3 ligands induce CD80 expression in human podocytes via an NF-kappaB-dependent pathway. *Nephrol Dial Transplant* 2012 ; 27 : 81-89.
- 27) Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008 ; 322 : 271-275.
- 28) Bertelli R, Bodria M, Nobile M, et al. Regulation of innate immunity by the nucleotide pathway in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 2011 ; 166 : 55-63.
- 29) Kimata T, Tsuji S, Kino J, et al. Close association between proteinuria and regulatory T cells in patients with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 ; 28 : 667-669.
- 30) Tsuji S, Kimata T, Yamanouchi S, et al. Regulatory T cells and CTLA-4 in idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Int* 2017 ; 59 : 643-646.
- 31) Atarashi K, Tanoue T, Shima T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science* 2011 ; 331 : 337-341.
- 32) Nagpal R, Yamashiro Y. Early-Life Gut Microbial Composition. *J Pediatr Biochem* 2015 ; 5 : 41-50.
- 33) Sevelsted A, Stokholm J, Bonnelykke K, et al. Cesarean section and chronic immune disorders. *Pediatrics* 2015 ; 135 : e92-98.
- 34) Kimata T, Kino J, Yamanouchi S, et al. Effect of Cesarean section on Relapses of Idiopathic Nephrotic Syndrome in Children. *Pediatr Int* 2017 ; in press.
- 35) Kaneko Kazunari, Tsuji Shoji, Kimata Takahisa. Role of gut microbiota in idiopathic nephrotic syndrome in children. *Medical Hypotheses* 2017 ; 108 : 35-37.