

## 特集：腸内細菌叢と腎疾患

## 腸内細菌叢が腎臓病に与える影響

## —正と負の両側面から—

Influence of microbiota on renal disease: The two faces of Janus

三島英換<sup>\*1</sup> 阿部高明<sup>\*2</sup>

Eikan MISHIMA and Takaaki ABE

## はじめに

腸内細菌叢は宿主にとって栄養面や免疫制御など種々の有益な機能を果たしているため、その破綻はさまざまな疾患の病態に関与する。近年の解析技術の発達によって腸内細菌に関する研究は飛躍的進歩を遂げており、腸疾患以外にもさまざまな臓器の病態との関与が次々に報告されてきている。腎臓病との関連も例外ではなく、腸内細菌叢および腸管機能はその病態に深く関与することが知られており、腸管と腎臓の臓器連関である「腸腎連関」が注目されている。

本稿では、腸内細菌自体および腸内細菌叢によって産生される代謝物群が腎臓病の病態にどのように影響しているか、それらが担う良い面と悪い面の両側面から論議する。

## 腎障害進展において腸内細菌が担う役割

ある特定の分子の病態への関与を検討する際にノックア

ウトマウスを使用するように、腸内細菌叢の病態への関与を検討するためには、腸内細菌を消失させた個体を用いた検討がなされてきた。腸内細菌を消失させるための実験的介入は、無菌環境での飼育による無菌(Germ free)動物の解析や、経口抗菌薬による腸管内除菌処理による個体の解析によって行われる。無菌動物はビニールアイソレータ内の無菌環境で隔離して飼育された動物であり、腸内細菌叢を含めて全身の常在細菌叢を有していない。抗菌薬による方法では、アンピシリン+メトロニダゾール+ネオマイシン+バンコマイシンの4剤併用によってほぼすべての腸内細菌を殺菌することが可能となる。これらの腸内細菌消失法を用いることで、腸内細菌叢が腎臓病の病態へ与える影響を検討した報告を以下にまとめた(表)。

## 1. 無菌動物を用いた検討から

これまでの報告では、腸内細菌叢の消失が腎臓病の病態に与える影響は無菌動物か抗菌薬処理動物かによって異なり、また解析した腎臓病のモデルによっても異なる(表)。腎虚血再灌流による急性腎障害(AKI)モデルを用いた研究

表 腸内細菌叢の消失が腎臓病の病態に与える影響に関する研究

| 文 献                               | 腎臓病モデル       | 腸内細菌消失法        | 結 果                                           |
|-----------------------------------|--------------|----------------|-----------------------------------------------|
| Jang HR, et al. <sup>1)</sup>     | 腎虚血再灌流       | Germ free 飼育 → | 腎機能悪化 (s-Cr ↑, CD8+T 細胞浸潤減少)                  |
| Mishima E, et al. <sup>2)</sup>   | アデニン誘発       | Germ free 飼育 → | 腎機能悪化 (s-Cr, BUN ↑)                           |
| Emal D, et al. <sup>3)</sup>      | 腎虚血再灌流       | 経口抗菌薬 →        | 腎障害軽減 (s-Cr, BUN ↓, Mφ 浸潤減少)                  |
| Andersen K, et al. <sup>4)</sup>  | コラーゲン 4α3 欠損 | 経口抗菌薬 →        | 全身炎症反応の軽減 (細菌体内移行 ↓, 血中エンドトキシン ↓, 炎症サイトカイン ↓) |
| Yoshifuji A, et al. <sup>5)</sup> | 5/6 腎摘       | 経口抗菌薬 →        | 腎機能に有意な影響なし (s-Cr, BUN →)                     |

<sup>\*1</sup> 東北大学病院腎・高血圧・内分泌科, <sup>\*2</sup> 東北大学大学院医工学研究科

では、無菌マウスは腸内細菌を有する通常飼育マウスと比較して虚血再灌流に対してより強い炎症反応と腎機能低下を示した<sup>1)</sup>。本研究では、無菌マウスでは定常状態時から炎症細胞のステータスの変化が生じており、それにより腎虚血再灌流に対する強い炎症反応が無菌マウスでは生じたものと考察している<sup>1)</sup>。また、CKD モデルであるアデニン誘発腎障害モデルにおいても、無菌マウスは腸内細菌叢を有する通常飼育マウスよりもより高度な腎障害と腎機能低下を呈することをわれわれは示している<sup>2)</sup>。このわれわれの検討では、無菌の腎不全マウスは腸管短鎖脂肪酸の消失と腸管内でのアミノ酸利用効率の低下を認めており、これらが炎症制御や栄養的側面から腎障害増強に関与している可能性が考えられた。このように、常在細菌叢を欠失した環境で生育した無菌マウスではより強い腎障害が惹起されるため、ひとつの側面としては、腸内細菌叢が腎保護的な役割を果たしていることが推定される。

## 2. 経口抗菌薬を用いた検討から

一方、抗菌薬による腸管内除菌では無菌動物での検討とは異なる結果が示されている(表)。腎虚血再灌流 AKI モデルにおいては無菌マウスでの結果とは反対に、抗菌薬による腸管内除菌は腎障害を軽減させた<sup>3)</sup>。その機序としては、抗菌薬による腸内細菌の消失がマクロファージの成熟と遊走能に影響を与え、腎内へのマクロファージ浸潤の減少がその腎障害軽減の機序と考察されている。また、IV型コラーゲン  $\alpha 3$  鎖欠損による Alport 症候群モデルの CKD マウスでの検討では、抗菌薬処理によって腸管から全身へのバクテリアトランスロケーションを防ぎ、血中エンドトキシン濃度の低下やサイトカイン発現の減少が認められ、腸管内除菌が CKD に起因する全身性炎症反応を軽減した<sup>4)</sup>。また一方、5/6 腎摘ラットでの検討では、抗菌薬による腸管内除菌による腎機能(BUN, Cr 値)への有意な影響は示されていない<sup>5)</sup>。モデルによって差異はあるものの、まとめると、抗菌薬処理による一過的な腸内細菌叢の除菌は腎障害に起因する炎症を抑える作用を示している。したがって、腸内細菌叢の存在は腎臓病の病態に負に寄与しているとも捉えることができる。

## 3. 腎障害に対して腸内細菌は正負両面へ関与

このように、腸内細菌叢の消失が腎障害に与える影響は解析するモデルによって異なる。まず腸内細菌消失法としての無菌動物と抗菌薬処理では、継続的な無菌環境か一過性無菌処理かという大きな違いがある。無菌動物においては、成育時から無菌であることが炎症応答機構の成熟や腎臓の構造的成熟に影響を及ぼし、このことが腎障害惹起時

の脆弱性に寄与している可能性がある。一方、抗菌薬による腎障害惹起時のみの一過性の腸内細菌消失は、腎障害に伴う炎症応答反応を抑制することで腎保護的に作用している。そのため 5/6 腎摘のような解剖学的ネフロン減少が腎機能低下の主要因となるモデルでは、腸管除菌は明らかな影響を有していなかったと思われる。

これらの結果から、腎臓病の病態における腸内細菌叢の役割は、その病期や病態の種類によって正にも負にも多様な側面から関与しているといえる。しかしながら、無菌動物にせよ抗菌薬処理にせよ、いずれも腸内細菌叢をまるごと消失させる介入であるが、実際の腸内細菌叢は数多くの異なる菌種から複雑に構成されている。そのため、具体的にどの菌種がどの役割を介して腎臓病の病態に寄与しているかはいまだ不明な点が多く、その解明は今後の課題である。

## 腸内細菌由来代謝物が腎臓病に与える正負の影響

腸内細菌による代謝は宿主の体内における代謝物分布にも大きな影響を与える。そのため、腸内細菌叢の有無や組成の変化によって宿主内の血中濃度が大きく変化するような代謝物も数多く存在する。このような腸内細菌に由来する代謝物群も腎臓病の病態に正負両面から関与しうる。腸内細菌由来代謝物のうち、短鎖脂肪酸は腎臓病の病態にとって保護的に作用する可能性が報告されており、一方、腎臓病の病態に対して有害性を示す代謝物の代表例は、インドキシル硫酸をはじめとする尿毒素類である。

### 1. 腸内細菌由来短鎖脂肪酸

腸内細菌叢のうち炭水化物発酵菌は、腸管内において宿主が消化分解できない難消化性の食物繊維を大腸内で分解することで短鎖脂肪酸(酪酸、酢酸、プロピオン酸)や乳酸などの有機酸を産生する。この腸管で産生された短鎖脂肪酸は腸管上皮のエネルギー源になるうえ、制御性 T 細胞の分化・維持など免疫制御にも関与する<sup>6,7)</sup>。CKD 患者では腸内細菌叢の乱れの結果、短鎖脂肪酸産生菌が減少することが報告されており<sup>8)</sup>、われわれの検討でも、CKD マウスでは正常マウスと比較して腸管内での短鎖脂肪酸の産生が減少することを認めている<sup>2)</sup>。この CKD 状態における短鎖脂肪酸の産生低下は、腸管上皮障害やバリア障害などの腸内環境の悪化を介して慢性炎症の一因となり、腎臓病の病態に関与するとも考えられている。治療応用としては、短鎖脂肪酸の全身投与が腎虚血再灌流 AKI モデルマウスにおける腎障害を軽減させたことが報告されている<sup>9)</sup>。また、

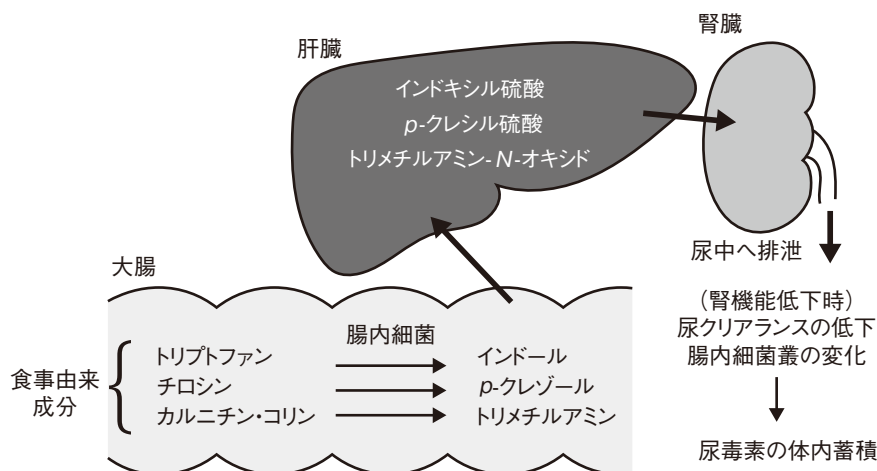


図1 腸内細菌由来尿毒素の産生経路

腸管内短鎖脂肪酸の産生を増やすような高アミローススターチ食が、CKD マウスにおける腎内炎症を抑制するとともに腎障害進展抑制効果を有することが報告されている<sup>10)</sup>。このように、腸内細菌叢由来の代謝物は短鎖脂肪酸のように腎保護的な役割を担っている可能性がある。

## 2. 尿毒素産生における腸内細菌の寄与

腎不全時には種々の物質が体内や血中に蓄積する。これらの腎不全時の蓄積物質のうち、毒性を発揮するものを尿毒素と呼ぶ。尿毒素の蓄積は腎障害の更なる進展を引き起こす悪循環を形成するとともに、心血管疾患、高血圧、掻痒感、神経障害、骨ミネラル代謝異常など種々の腎不全関連症状にも関与する。この尿毒素の内、インドキシル硫酸、*p*-クレシル硫酸、トリメチルアミン-*N*-オキシド(TMAO)といった代表的尿毒素は腸内細菌代謝によって産生される代謝物である(図1)。食事成分として摂取したトリプトファン、チロシン、L-カルニチンとコリンは小腸までで吸収されずに大腸に到達すると、腸内細菌代謝を受けてそれぞれインドール、*p*-クレゾール、トリメチルアミンへと変化する。これらの物質は全身循環から移行して肝臓において代謝を受けることでそれぞれインドキシル硫酸、*p*-クレシル硫酸、TMAO と変化する。インドキシル硫酸や*p*-クレシル硫酸は広くその毒性が研究されている尿毒素であるため、その毒性については本稿では割愛する。TMAO は心血管疾患への関与から近年着目されている尿毒素である。TMAO は動脈硬化を強く促進させるとともに血栓形成にも寄与するとされ<sup>11)</sup>、疫学的にも TMAO の血中濃度と心血管疾患発症との関連性についての報告が相次いでいる<sup>12)</sup>。さらに、TMAO による腎障害と腎臓線維化の促進作用も示されて

いる<sup>13)</sup>。

われわれは、腎不全時に蓄積するこれらの尿毒素がどの程度腸内細菌の影響に依存しているかを、腸内細菌叢を有さない無菌の腎不全マウスを用いた解析を行うことで明らかにした<sup>2)</sup>(図2)。その結果、インドキシル硫酸や*p*-クレシル硫酸は無菌マウスでは体内から消失しており、腎不全にしても無菌マウスでは全く体内に存在しないことから、100% 腸内細菌代謝に由来していることが確認された。一方、TMAO は無菌にもかかわらず、腎不全時にはある程度の蓄積が残存することから、腎不全時の蓄積には腸内細菌代謝以外の関与もあることを明らかにした(図2)。この腸内細菌に依存しない TMAO は食事成分に含まれる TMAO と思われる。実際に魚類には TMAO が多量に含まれているため、この食事成分に含まれる TMAO が腎不全時には血中に蓄積しているものと考えられる。

## 3. 腸内細菌由来尿毒素はすべからく「毒」か

これらの尿毒素はその毒性の面が主に注目される代謝物であるが、健康な生体内でも腸内細菌由来に産生されているため、果たして生体にとってすべからく毒かという疑問も生じる。インドキシル硫酸は健康者でも1日当たり10～130 mg も体内で産生されており<sup>14)</sup>、血中濃度は腎不全時よりも低いながら、健康な生体内でもこれらの尿毒素が産生されているということは、生体にとって何らかの意義のある物質である可能性も考えられる。

尿毒素であるインドキシル硫酸およびその前駆体であるインドールは芳香族炭化水素受容体(aryl hydrocarbon receptor: AhR)の内在性リガンドでもある<sup>15)</sup>。AhR はダイオキシン受容体とも呼ばれる核内受容体であり、その経路はイ



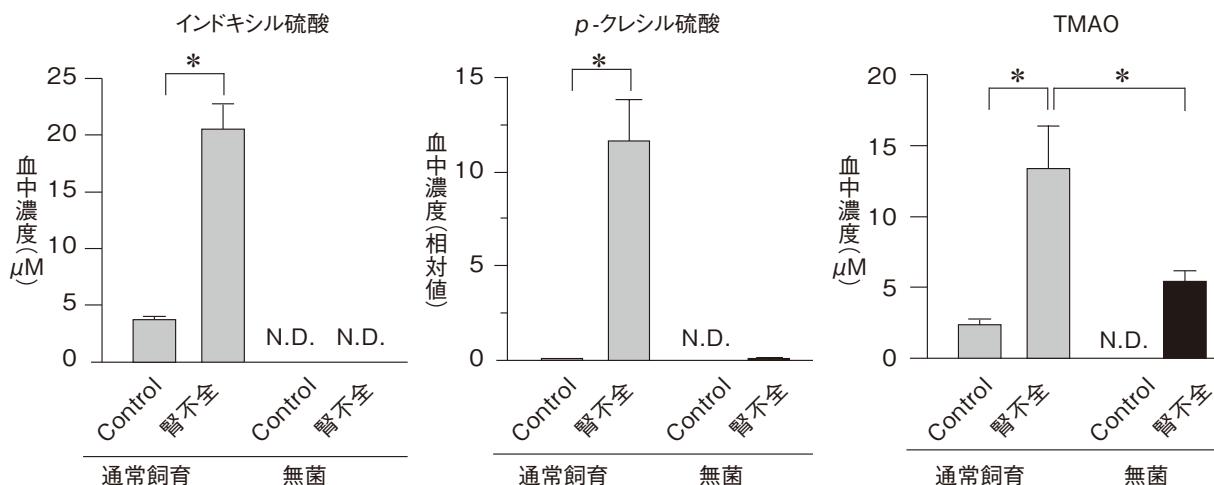


図2 無菌腎不全マウスにおける腸内細菌由来尿毒素の消失  
TMAO: トリメチルアミン-N-オキシド

インドキシル硫酸の毒性の観点から語られることも多いが、生体にとっては免疫修飾など多彩な役割を有している<sup>16)</sup>。腸内細菌が産生するインドール類は、このAhRを介して腸管粘膜の修復機能や腸管上皮バリアの保護作用など生体にとって有用な作用を果たしているとの報告もある<sup>17)</sup>。また、インドール類はCYP3A4などの薬物代謝酵素を誘導するプレグナンX受容体(pregunane X receptor: PXR)のリガンドでもある<sup>18)</sup>。腸管上皮でのPXR活性化は腸上皮の創傷治癒を促進する作用を有しているため<sup>19,20)</sup>、この経路もインドールによる腸管保護作用を示唆している。臨床的エビデンスとしてもインドールを多量に含む漢方薬である「青黛(せいたい)」の炎症性腸疾患に対する有効性が本邦の臨床研究から報告されている<sup>21)</sup>(注:「青黛」は本邦では保険収載されていない漢方薬である)。さらに、インドキシル硫酸にはAhRを介して中枢神経系の炎症抑制作用があることも脱髄性疾患モデルマウスを用いた研究から報告されている<sup>22)</sup>。またp-クレシル硫酸の前駆体は腸内細菌によって産生されるp-クレゾールであるが、“クレゾール”は消毒石けん薬に使用される成分でもある。したがって、当然ながらp-クレゾールには腸内細菌の殺菌、増殖抑制作用がある<sup>23)</sup>。このp-クレゾールが腸管内で産生されるということは、腸管内の望ましくない菌の増殖を防ぐことで細菌叢の恒常性を維持する役割を担っている可能性を想起させる。

このように一般に毒性の側面が注目されている腸内細菌由来尿毒素も、本来の量であれば生体内恒常性に対して生理的意義を担っている可能性がある。したがって、これらの腸内細菌由来尿毒素およびその前駆体を完全に排除する

のではなく、正常のレベルを維持することが重要とも考えられる。

## おわりに

腸内細菌叢は本来のバランスであれば生体にとって有益に作用している存在であり、腸内細菌由来の代謝物も健康人のレベルにおいては生体に対して有益な作用を果たしている可能性がある。しかしながら、それらの量的および質的な破綻がCKDをはじめ腎臓病の病態への修飾を含めてさまざまな害を及ぼしうる。そのため、腸内細菌叢も腸内細菌由来尿毒素も、本来あるべきバランスの維持が大切であると思われる。CKDを含め腎臓病で悪化するそれらを是正するような治療法が腎臓病の新規治療オプションとして開発されることが今後期待される。

利益相反自己申告:

阿部高明; 奨学寄付(スキャンポファーマ合同会社)

## 文献

1. Jang HR, Gandolfo MT, Ko GJ, Satpute S, Racusen L, Rabb H. Early exposure to germs modifies kidney damage and inflammation after experimental ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297: F1457-1465.
2. Mishima E, Fukuda S, Mukawa C, et al. Evaluation of the impact of gut microbiota on uremic solute accumulation by a CE-TOFMS-based metabolomics approach. *Kidney Int* 2017. in press.

3. Emal D, Rampanelli E, Stroo I, et al. Depletion of gut microbiota protects against renal ischemia-reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2016. [Epub ahead of print]
4. Andersen K, Kesper MS, Marschner JA, et al. Intestinal dysbiosis, barrier dysfunction, and bacterial translocation account for CKD-related systemic inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 76–83.
5. Yoshifuji A, Wakino S, Irie J, et al. Gut lactobacillus protects against the progression of renal damage by modulating the gut environment in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2016 ; 31 : 401–412.
6. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013 ; 504 : 446–450.
7. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 2013 ; 341 : 569–573.
8. Wong J, Piceno YM, Desantis TZ, Pahl M, Andersen GL, Vaziri ND. Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short-chain fatty acid-producing intestinal microbiota in ESRD. *Am J Nephrol* 2014 ; 39 : 230–237.
9. Andrade-Oliveira V, Amano MT, Correa-Costa M, et al. Gut bacteria products prevent AKI induced by ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 2015 ; 26 : 1877–1888.
10. Vaziri ND, Liu SM, Lau WL, et al. High amylose resistant starch diet ameliorates oxidative stress, inflammation, and progression of chronic kidney disease. *PLoS One* 2014 ; 9 : e114881.
11. Zhu W, Gregory JC, Org E, et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell* 2016 ; 165 : 111–124.
12. Tang WH, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2013 ; 368 : 1575–1584.
13. Tang WH, Wang Z, Kennedy DJ, et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide (TMAO) pathway contributes to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease. *Circ Res* 2015 ; 116 : 448–455.
14. Patel KP, Luo FJ, Plummer NS, Hostetter TH, Meyer TW. The production of p-cresol sulfate and indoxyl sulfate in vegetarians versus omnivores. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012 ; 7 : 982–988.
15. Schroeder JC, Dinatale BC, Murray IA, et al. The uremic toxin 3-indoxyl sulfate is a potent endogenous agonist for the human aryl hydrocarbon receptor. *Biochemistry* 2010 ; 49 : 393–400.
16. Stockinger B, Di Meglio P, Gialitakis M, Duarte JH. The aryl hydrocarbon receptor : multitasking in the immune system. *Annu Rev Immunol* 2014 ; 32 : 403–432.
17. Shimada Y, Kinoshita M, Harada K, et al. Commensal bacteria-dependent indole production enhances epithelial barrier function in the colon. *PLoS One* 2013 ; 8 : e80604.
18. Kumagai T, Aratsu Y, Sugawara R, et al. Indirubin, a component of Ban-Lan-Gen, activates CYP3A4 gene transcription through the human pregnane X receptor. *Drug Metab Pharmacokin* 2016 ; 31 : 139–145.
19. Terc J, Hansen A, Alston L, Hirota SA. Pregnane X receptor agonists enhance intestinal epithelial wound healing and repair of the intestinal barrier following the induction of experimental colitis. *Eur J Pharm Sci* 2014 ; 55 : 12–19.
20. Venkatesh M, Mukherjee S, Wang H, et al. Symbiotic bacterial metabolites regulate gastrointestinal barrier function via the xenobiotic sensor PXR and Toll-like receptor 4. *Immunity* 2014 ; 41 : 296–310.
21. Sugimoto S, Naganuma M, Kiyohara H, et al. Clinical efficacy and safety of oral Qing-Dai in patients with ulcerative colitis : A Single-Center Open-Label Prospective Study. *Digestion* 2016 ; 93 : 193–201.
22. Rothhammer V, Maccanfroni ID, Bunse L, et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med* 2016 ; 22 : 586–597.
23. Nowak A, Libudzisz Z. Influence of phenol, p-cresol and indole on growth and survival of intestinal lactic acid bacteria. *Anaerobe* 2006 ; 12 : 80–84.