

腸内細菌叢の異常と小児の腎疾患

Intestinal microbiota and kidney disease in pediatrics

辻 章志 金子一成

Shoji TSUJI and Kazunari KANEKO

はじめに

腸内細菌叢の分析法として従来は培養法が用いられてきたが、21世紀になり細菌に特異的な16SリボゾームRNA遺伝子の分子生物学的解析が導入され、腸内細菌叢の異常とさまざまな疾患の発症との関連についての研究が飛躍的に進展した。

この分野の研究は、当初は成人疾患を対象としたものが中心で、腎疾患に関しても慢性腎臓病(chronic kidney disease: CKD)における腸内細菌叢の攪乱(dysbiosis)の実態が明らかになってきた^{1~4)}。一方、小児科領域の疾患についてはdysbiosisとの関連性に関する報告が徐々に増えていくがまだ少なく、特にCKDに関しては限られている⁵⁾。

本稿では、まず小児の腸内細菌叢に関する基本的な知見を述べ、次に、腸内細菌叢の異常との関連性が指摘されている小児の代表的な慢性疾患についてまとめ、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との関連について述べる。

小児の腸内細菌叢

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)をも上回る約100兆個以上(重さにして1~2kg)存在している^{6,7)}。細菌は、皮膚をはじめとして消化管、呼吸器系、口腔、膣などに存在しているが、ヒトに定着している細菌の約90%は消化管に生息し腸内細菌叢と呼ばれている。

小児の腸内細菌叢の詳細な研究は1970年代の光岡らの

培養法による研究に始まる。彼らの研究によって、腸内細菌叢が年齢によって変化すること、出生直後の新生児の腸管はほぼ無菌であるが、まず大腸菌や*Streptococcus*が定着し、その後ビフィズス菌が最優勢となること、乳児の腸内細菌叢の構成は多様性が低いこと、成人は小児に比して*Bacteroides*, *Eubacterium*, 嫌気性球菌などが最優勢となること、さらに高齢者ではビフィズス菌が減少して通性嫌気性菌が増加すること、などが明らかとなった⁸⁾。

1990年代後半になると培養法に代わって細菌の16SリボゾームRNAを標的とした分子生物学的解析法が用いられるようになり、より詳細な腸内細菌叢の年齢変化がわかってきた。すなわち、生後1カ月までに急速に*Actinobacteria*門の*Bifidobacterium*属が増殖し、離乳期に入るまでは腸内細菌叢の大半を占めること、しかし離乳期になると、*Bifidobacterium*属はやや減少し、*Bacteroidetes*門の*Bacteroides*属や*Firmicutes*門の*Clostridium*属、*Eubacterium*属が増えること、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⁾。

ほぼ無菌の胎児の腸管内に細菌が定着し、腸内細菌叢と呼ばれる細菌叢を形成し始めるわけであるが、その起源は母体の産道であると考えられている。すなわち、母体の膣内細菌や腸内細菌を経口的に摂取、または経皮的に接触することで最初の腸内細菌叢が形成される。逆に、産道を通過せずに帝王切開で出生した新生児の腸内細菌叢は母体の皮膚常在菌が主体となり、*Bifidobacterium*属の定着が遅れる^{10~14)}。具体的には、出生後24時間以内に排泄された新生児の胎便中の細菌叢を解析すると、経膣分娩で出生した新生児は、*Lactobacillus*属、*Prevotella*属や*Sneathia*属など母親の膣内細菌叢や便中の細菌叢に類似した腸内細菌叢が形成されるが、帝王切開で出生した新生児は、*Staphylococcus*属、*Corynebacterium*属や*Propionibacterium*属といった

菌種が優位となり、母親の皮膚常在菌叢に類似している。また、母乳栄養児と比べて人工栄養児は、大腸菌、*Bacteroidaceae* 科、*Clostridiaceae* 科の検出頻度と占有率が高く、多様性が高い細菌構成となっている¹¹⁾。加えて、抗菌薬の使用や母親の出産後の入院期間によっても乳児の腸内細菌叢は影響を受けることが示唆されている¹¹⁾。

腸内細菌叢の異常とさまざまな小児疾患発症との関連

無菌状態の胎児が、出生直後から母体の細菌叢や環境細菌に曝露されて、新生児期から乳幼児期にかけて腸内細菌叢が大きく変化し、生後3歳頃に成人と同様の腸内細菌叢になることが知られているが⁹⁾、この間の腸内細菌叢の変化は免疫系や代謝機構の発達や成熟に重要な役割を果たすことが明らかとなってきた¹⁵⁾。近年の研究成果によれば、この時期に腸内細菌叢の異常、すなわち *dysbiosis* が起こると、アレルギー性疾患、自閉症、炎症性腸疾患 (*inflammatory bowel disease* : IBD)、膠原病、肥満、糖尿病などの慢性疾患の発症リスクが高まると考えられている^{16~24)}。

1. アレルギー性疾患

腸内細菌叢が免疫系の発達・制御に関与していることが明らかになるにつれて、*dysbiosis* とアレルギー性疾患の関連性についての研究も進んだ。この分野の研究は、アレルギー性疾患罹患児と健康小児の2歳時の腸内細菌叢を培養法で比較した1999年の報告に始まる。この研究では、アレルギー性疾患罹患児の腸内細菌叢は乳酸菌や *Bacteroides* が少なく、大腸菌群や黄色ブドウ球菌などの好気性菌が多いことを報告している²⁵⁾。また、アレルギー性疾患罹患児が少ないエストニアの乳児の腸内細菌叢とアレルギー性疾患罹患児が多いスウェーデンの乳児の腸内細菌叢を比較した研究では、前者で乳酸菌が多いのに対して、後者では *Clostridium* 菌が多く、アレルギー性疾患罹患児の腸内細菌叢は優位菌群が異なる可能性を示唆している²⁶⁾。また、アトピー性皮膚炎の小児と健康小児の腸内細菌叢を比較した研究によれば、前者はビフィズス菌の割合が有意に低く、また疾患重症度も逆相関していたという²⁷⁾。

2. 自閉症

自閉症スペクトラム障がい (*autism spectrum disorder* : ASD) は社会的関係と言語異常、制限的・反復性行動を特徴とする神経発達障がい、遺伝因子と環境因子の相互作用により発症すると考えられている。遺伝因子の研究については、ASDの単一責任遺伝子は発見されていないが、自閉

症関連遺伝子が多数報告されている²⁸⁾。一方、環境因子としては腸内細菌叢の *dysbiosis* が注目されている。すなわち、健康小児と比較してASD患児で絶対量が増加している細菌として *Lachnospiraceae*、*Clostridiaceae*、*Desulfovibrionaceae*、*Sutterellaceae* が知られている。また、ASD患児では腸内細菌叢のうちプロピオン酸 (*propionic acid* : PA) 産生菌が増加しており、糞便中のPAも増加していることからASDにおけるPAの病因的意義が示唆されている²⁹⁾。腸管から血流に入ったPAは主に肝臓で代謝されるが、一部は血液脳関門を通過して脳グリア細胞や神経細胞に取り込まれること、動物実験でPAを脳室内に注入すると、行動異常、神経学的異常が起こること²⁹⁾、さらにバンコマイシンなどの抗菌薬を投与して腸管内のPA濃度を低下させるとASD患者の症状が改善したという報告²⁹⁾などからも、PAがASDの発症に関連している可能性がある。

3. 炎症性腸疾患 (IBD)

IBDの発症機序は解明されていないが、患者の腸内細菌叢の解析により、*dysbiosis* とIBD発症との関連が示唆されている²⁴⁾。具体的には、IBD患者の腸内細菌叢では *Firmicutes* 門、特に *Firmicutes* 門の *Clostridium* 属が減少しており、病態に関与していると考えられている³⁰⁾。すなわち、*Clostridium* 属が産生する酪酸は制御性T細胞 (*regulatory T cell* : Treg) の分化を誘導することが報告されていることから³¹⁾、腸管内の酪酸産生量の減少がTregの分化誘導を低下させ、IBDの発症に寄与している可能性がある。実際、成人患者を対象としてIBDの *dysbiosis* を改善する目的の糞便微生物移植 (*fecal microbiota transplantation* : FMT) の有効性の検討が進められているが、これまでのところ、*Clostridium difficile* 腸炎に対するFMTのような劇的な効果は得られていない^{32,33)}。小児IBD患者に対するFMTの報告も少ないながら存在する。Kundeらの報告によれば、7歳から21歳の潰瘍性大腸炎患者10例に対してFMTを行った結果、FMT後1週間の臨床的改善率は67%で、臨床的寛解率は33%であったという³⁴⁾。

4. 肥満

小児の肥満においても成人と同様に腸内細菌叢の *dysbiosis* が関連していることが明らかになってきている。肥満のヒトの腸内細菌叢は、やせ型のヒトと比較して *Firmicutes* 門の割合が高く、*Bacteroidetes* 門の比率が低い。*Firmicutes* 門の割合が高いと肥満になる理由として、*Firmicutes* 門の腸内細菌は多糖類の分解能が高く、同じ食事摂取量であっても吸収できるカロリー量が高くなるためと考えられている³⁵⁾。実際、Goffredoらは7歳から20歳の小

児・青年 84 人の腸内細菌を解析し、肥満患者の腸内細菌叢は非肥満患者と比較して炭水化物を効率的に消化する傾向がみられたと報告している³⁶⁾。彼らは肥満患者では血中の短鎖脂肪酸が多かったとも述べている³⁶⁾。

5. 糖尿病

糖尿病の発症についても腸内細菌叢の関与が示唆されている。すなわち、2型糖尿病患者の腸内細菌叢では酪酸産生菌が減少している³⁷⁾。また便中有機酸について検討した報告では、健康成人と比較して2型糖尿病患者の便中短鎖脂肪酸が減少していることも報告されている³⁸⁾。小児においては、Goffau らが1歳から5歳の1型糖尿病患者27例の腸内細菌叢を分析し、健康小児と比較して、*Bacillus* 属と *Bacteroides* 属が多く、*Clostridium* 属が少ないことを報告している³⁹⁾。このことから、小児の1型糖尿病患児においても酪酸産生菌が減少していることが推測される。

小児の腎疾患と腸内細菌

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の減少を認め、dysbiosis が生じている^{1~3)}。この原因として、尿毒素の蓄積、CKDに合併する代謝性アシドーシス、鉄剤や抗菌薬、キレート剤などの治療薬による影響、などが推測されている⁴⁾。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、end-stage renal disease (ESRD) 患児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、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 患児の血清 p-cresyl sulfate と indoxyl sulfate が増加していることなどの特徴を有している⁵⁾。したがって、小児の ESRD 患者においても成人の CKD 患者と同様に腸内細菌叢の dysbiosis が生じ、細菌由来の尿毒症性毒素が血中に増加していることが推測される。

われわれは、小児 INS の発症や再発に dysbiosis が関係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成人のそれと異なり、INS が約 90% を占め、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 万当たり 30~35 人と比較的頻度の高い疾患であるにもかかわらず、病因は解明されていない⁴⁰⁾。これまでは、INS 患者循環血液中の 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が^{41~43)}、近年、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、蛋白尿が出現するという仮説が提唱されている⁴⁴⁾。CD80 の発現調節には Treg が関与していることが知られており⁴⁵⁾、INS 患児では実際に末梢血の Treg が質的・量的に低下していることも報告されている^{46,47)}。われわれも INS 患児の発症時における末梢血中の Treg 数が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⁴⁸⁾。前述のように、Treg の分化・誘導には腸内細菌の *Clostridium* が産生する酪酸が重要な役割を担っていることから³¹⁾、われわれは「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、検討を進めている。まだ症例数は少ないが、INS 患児においては発症時の便中酪酸量が少ない傾向を認めている⁴⁹⁾。現在、INS 発症時の腸内細菌叢のメタゲノム解析も行っている。

さらにわれわれは、小児 INS の発症や再発と腸内細菌叢の dysbiosis との関連を間接的に示唆するデータも得ている。すなわち、分娩様式(帝王切開分娩か経陰分娩か)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⁵⁰⁾、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⁵¹⁾。そこでわれわれは、「再発を繰り返す INS の患児は、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視的に検討した。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有意に帝王切開分娩の割合が高かった⁵²⁾。このことから、INS の発症や再発の原因として腸内細菌叢の dysbiosis が関与していると考えて検討を進めている。

おわりに

出生から3歳頃までの腸内細菌叢の確立時期に dysbiosis が起こると、アレルギー性疾患や発達障がいをはじめとするさまざまな疾患の発症リスクが高まる可能性のあることが多数報告されている。これまで小児腎疾患と腸内細菌叢の関連についてはあまり検討されてこなかったが、われわれの検討では、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 の関与が推測される。したがって、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、今後の研究成果が待たれる。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

1. Vaziri ND, Yuan J, Nazertehrani S, Ni Z, Liu S. Chronic kidney disease causes disruption of gastric and small intestinal epithelial tight junction. *Am J Nephrol* 2013 ; 38 : 99-103.
2. Wang F, Zhang P, Jiang H, Cheng S. Gut bacterial translocation contributes to microinflammation in experimental uremia. *Dig Dis Sci* 2012 ; 57 : 2856-2862.
3. Wang IK, Lai HC, Yu CJ, Liang CC, Chang CT, Kuo HL, Yang YF, Lin CC, Lin HH, Liu YL, Chang YC, Wu YY, Chen CH, Li CY, Chuang FR, Huang CC, Lin CH, Lin HC. Real-time PCR analysis of the intestinal microbiotas in peritoneal dialysis patients. *Appl Environ Microbiol* 2012 ; 78 : 1107-1112.
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, Ferris M, Zhang Q, Wang G, Blanchard EE, Taylor CM, Kallash M, Greenbaum LA, Aviles DH. 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, Hashikura N, Takahashi S, Xiao JZ, Abe F, Osawa R. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian : a cross-sectional study. *BMC Microbiol* 2016 ; 16 : 90.
10. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 11971-11975.
11. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006 ; 118 : 511-521.
12. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, Oishi K, Martin R, Ben-Amor K, Knol J, Tanaka R. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One* 2013 ; 8 : e78331.
13. Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, Khan MT, Zhang J, Li J, Xiao L, Al-Aama J, Zhang D, Lee YS, Kotowska D, Colding C, Tremaroli V, Yin Y, Bergman S, Xu X, Madsen L, Kristiansen K, Dahlgren J, Wang J. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe* 2015 ; 17 : 690-703.
14. Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, Sears MR, Becker AB, Scott JA, Kozyrskyj AL, Investigators CS. Gut microbiota of healthy Canadian infants : profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ* 2013 ; 185 : 385-394.
15. Geuking MB, Koller Y, Rupp S, McCoy KD. The interplay between the gut microbiota and the immune system. *Gut Microbes* 2014 ; 5 : 411-418.
16. Wopereis H, Oozeer R, Knipping K, Belzer C, Knol J. The first thousand days - intestinal microbiology of early life : establishing a symbiosis. *Pediatr Allergy Immunol* 2014 ; 25 : 428-438.
17. Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nat Rev Endocrinol* 2015 ; 11 : 182-190.
18. Nobel YR, Cox LM, Kirigin FF, Bokulich NA, Yamanishi S, Teitler I, Chung J, Sohn J, Barber CM, Goldfarb DS, Raju K, Abubucker S, Zhou Y, Ruiz VE, Li H, Mitreva M, Alekseyenko AV, Weinstock GM, Sodergren E, Blaser MJ. Metabolic and metagenomic outcomes from early-life pulsed antibiotic treatment. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 7486.
19. Song H, Yoo Y, Hwang J, Na YC, Kim HS. *Faecalibacterium prausnitzii* subspecies-level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2016 ; 137 : 852-860.
20. Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, Kuzeljevic B, Gold MJ, Britton HM, Lefebvre DL, Subbarao P, Mandhane P, Becker A, McNagny KM, Sears MR, Kollmann T, Investigators CS, Mohn WW, Turvey SE, Finlay BB. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 307ra152.
21. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Codelli JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino JF, Patterson PH, Mazmanian SK. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* 2013 ; 155 : 1451-1463.
22. Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, Krakoff J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2011 ; 94 : 58-65.
23. Haberman Y, Tickle TL, Dexheimer PJ, Kim MO, Tang D, Karns R, Baldassano RN, Noe JD, Rosh J, Markowitz J, Heyman MB, Griffiths AM, Crandall WV, Mack DR, Baker SS, Huttenhower C, Keljo DJ, Hyams JS, Kugathasan S, Walters TD, Aronow B, Xavier RJ, Gevers D, Denson LA. Pediatric Crohn disease patients exhibit specific ileal transcriptome and microbiome signature. *J Clin Invest* 2014 ; 124 : 3617-3633.
24. Michail S, Durbin M, Turner D, Griffiths AM, Mack DR, Hyams J, Leleiko N, Kenche H, Stolfi A, Wine E. Alterations in the gut microbiome of children with severe ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012 ; 18 : 1799-1808.

25. Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999 ; 29 : 342-346.
26. Sepp E, Julge K, Vasar M, Naaber P, Bjorksten B, Mikelsaar M. Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants. *Acta Paediatr* 1997 ; 86 : 956-961.
27. Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, Okamatsu H, Ikenaga T, Tajiri Y, Kumemura M. Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2003 ; 111 : 587-591.
28. Grayson DR, Guidotti A. Merging data from genetic and epigenetic approaches to better understand autistic spectrum disorder. *Epigenomics* 2016 ; 8 : 85-104.
29. Macfabe DF. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome : implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol Health Dis* 2012 Aug 24 ; 23. doi : 103402
30. Andoh A, Kuzuoka H, Tsujikawa T, Nakamura S, Hirai F, Suzuki Y, Matsui T, Fujiyama Y, Matsumoto T. Multicenter analysis of fecal microbiota profiles in Japanese patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2012 ; 47 : 1298-1307.
31. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, Cheng G, Yamasaki S, Saito T, Ohba Y, Taniguchi T, Takeda K, Hori S, Ivanov II, Umesaki Y, Itoh K, Honda K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011 ; 331 : 337-341.
32. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JH, Duflo A, Lowenberg M, van den Brink GR, Mathus-Vliegen EM, de Vos WM, Zoetendal EG, D'Haens GR, Ponsioen CY. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2015 ; 149 : 110-118 e114.
33. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, Armstrong D, Marshall JK, Kassam Z, Reinisch W, Lee CH. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 2015 ; 149 : 102-109 e106.
34. Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, Jr., Cloney D, Kugathasan S. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013 ; 56 : 597-601.
35. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology : human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006 ; 444 : 1022-1023.
36. Goffredo M, Mass K, Parks EJ, Wagner DA, McClure EA, Graf J, Savoye M, Pierpont B, Cline G, Santoro N. Role of gut microbiota and short chain fatty acids in modulating energy harvest and fat partitioning in youth. *J Clin Endocrinol Metab* 2016 ; 101 : 4367-4376.
37. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012 ; 490 : 55-60.
38. Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, Yoshihara T, Goto H, Abe H, Komiya K, Kawaguchi M, Shimizu T, Ogihara T, Tamura Y, Sakurai Y, Yamamoto R, Mita T, Fujitani Y, Fukuda H, Nomoto K, Takahashi T, Asahara T, Hirose T, Nagata S, Yamashiro Y, Watada H. Gut dysbiosis and detection of "live gut bacteria" in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2014 ; 37 : 2343-2350.
39. de Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling GW, Hyoty H, Harmsen HJ. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia* 2014 ; 57 : 1569-1577.
40. Kaneko K, Tsuji S, Kimata T, Kitao T, Yamanouchi S, Kato S. Pathogenesis of childhood idiopathic nephrotic syndrome : a paradigm shift from T-cells to podocytes. *World J Pediatr* 2015 ; 11 : 21-28.
41. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephrosis : a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974 ; 2 : 556-560.
42. Kemper MJ, Meyer-Jark T, Lilova M, Muller-Wiefel DE. Combined T- and B-cell activation in childhood steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2003 ; 60 : 242-247.
43. Iharada A, Kaneko K, Tsuji S, Hasui M, Kanda S, Nishiyama T. Increased nitric oxide production by T- and B-cells in idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009 ; 24 : 1033-1038.
44. Shimada M, Ishimoto T, Lee PY, Lanaspas MA, Rivard CJ, Roncal-Jimenez CA, Wymer DT, Yamabe H, Mathieson PW, Saleem MA, Garin EH, Johnson RJ. Toll-like receptor 3 ligands induce CD80 expression in human podocytes via an NF-kappaB-dependent pathway. *Nephrol Dial Transplant* 2012 ; 27 : 81-89.
45. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, Nomura T, Sakaguchi S. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008 ; 322 : 271-275.
46. Bertelli R, Bodria M, Nobile M, Alloisio S, Barbieri R, Montobbio G, Patrone P, Ghiggeri GM. Regulation of innate immunity by the nucleotide pathway in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 2011 ; 166 : 55-63.
47. Kimata T, Tsuji S, Kino J, Kitao T, Yamanouchi S, Kaneko K. Close association between proteinuria and regulatory T cells in patients with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 ; 28 : 667-669.
48. Tsuji S, Kimata T, Yamanouchi S, Kitao T, Kino J, Suruda C, Kaneko K. Regulatory T cells and CTLA-4 in idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Int* 2017 (in press).
49. 辻 章志, 木全貴久, 山内壮作, 北尾哲也, 神田枝理子, 木野仁郎, 駿田竹紫, 金子一成. 小児特発性ネフローゼ症候群の

- 病因研究としての便中有機酸の解析. 日小児会誌 2017 ; 121 : 443.
50. Nagpal R, Yamashiro Y. Early-life gut microbial composition. *J Pediatr Biochem* 2015 ; 5 : 41-50.
51. Sevelsted A, Stokholm J, Bønnelykke K, Bisgaard H. Cesarean section and chronic immune disorders. *Pediatrics* 2015 ; 135 : e92-98.
52. Kimata T, Kino J, Yamanouchi S, Suruda C, Tsuji S, Kaneko K. Effect of cesarean section on relapses of idiopathic nephrotic syndrome in children. *Pediatr Int* 2017 (in press).