

益生菌用於腎臟保健食品之開發

撰文/黃筱雯·王品筑·白憶欣·陳明汝

近年來人及寵物慢性腎臟病 (chronic kidney disease, CKD) 之高發生率及高盛行率使腎臟保健成為全球關注議題，健保署公布去年因慢性腎臟病就醫人數高達 38 萬人，而洗腎人口數已超過 9 萬人，創下歷年新高，醫療費用支出高居首位達 513 億元 (7%)。糖尿病、高血壓及高血脂等三高控制不佳，常伴隨著慢性腎臟病的發生。在寵物方面，根據 2014 年臺灣大學獸醫專業學院的統計資料，腎臟病佔狗死亡原因的第四名，佔貓死亡原因的第二名。目前對於人及寵物慢性腎臟病的治療方法有：(1) 限制飲食中蛋白質來源及含量；(2) 口服吸附劑用於吸附尿素或其前驅物 (3) 透析或 (4) 腎臟移植。慢性腎臟病血液中高尿素濃度除了傷害體內其他組織器官，更與心臟血管疾病死亡率呈現高度相關性，早期發現時可藉由飲食控制減緩病程惡化，隨著病程持續發展，最終導致腎功能衰竭，需要透過透析或腎臟移植來維持血液中毒素的代謝。由於大部分的治療方法皆因有副作用及高成本，在臨床上一直無法有效預防及治療。因此目前迫切需要尋求其他替代性的預防或輔助療法，在可維持病患的生活品質前提之下，達到減緩慢性腎臟病病程惡化之目的，對於腎臟保健議題或許可提供有效的解決方案。

慢性腎臟病及尿毒素定義

(一) 慢性腎臟病 (CKD)

慢性腎臟病 (CKD) 定義為單一或是兩個腎臟持續三個月或更長時間的結構或功能之異常，根據此定義，CKD 可能是由單一腎臟輕微病變到兩側腎臟喪失功能 (Polzin, 2011)。CKD 可能是遺傳性疾病或是後天由於糖尿病、高血壓、心臟血管疾病、腎毒性物質或原發性腎疾病等其他疾病引起。早期發現及治療能減緩 CKD 進一步惡化，隨著病程持續，最終將導致腎功能衰竭，則需要藉由透析和腎臟移植來維持生命。

人類腎臟病的分級是根據美國國家腎臟基金會 (National Kidney Foundation, NKF) 提出「腎臟疾病治療成果品質建議指南」(Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, KDOQI)，CKD 的病程根據腎絲球過濾率 (glomerular filtration rate, GFR) 分成五級 (表一)，這些分級為判別 CKD 的重要指標，也可以預測疾病的發展，當 $GFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 持續三個月或更久稱為 CKD，當 $GFR < 15 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ 稱為末期腎臟病變，患者逐漸無法排除體內代謝廢物和水分，需要接受透析治療或腎臟移植 (Inker *et al.*, 2014)。

而犬貓慢性腎臟病依據 International Renal Interest Society (IRIS) 分為四期 (表二)，且指標是以空腹時血中肌酸酐 (creatinine, CREA) 或對稱性二甲

表一 以腎絲球過濾率分類慢性腎臟病之基準

GFR 分級	GFR (mL/min/1.73 m ²)	
G1	≥ 90	正常
G2	60-89	輕微降低
G3a	45-59	輕微到中度降低
G3b	30-44	中度到嚴重降低
G4	15-29	嚴重降低
G5	< 15	腎臟衰竭

GFR: 腎絲球過濾率
資料來源: Inker *et al.*, 2014。

基精氨酸 (symmetric dimethylarginine, SDMA) 作為 CKD 的分期方式。過去只以血中肌酸酐作為分期標準，然此指標易受年齡、性別及肌肉量影響，而 SDMA 為脊椎動物細胞中廣泛存在的胞內蛋白質，經由腎臟代謝排除體外，一般而言 CREA 在腎臟功能降低 75% 時才會上升，而 SDMA 則在 25%，因此與肌酸酐相比更可早期發現腎臟功能退化，且肌肉量、高齡和疾病狀態等因素對 SDMA 的影響比較小，因此國際腎臟權益組織在 2019 年將其納入為評估指標之一。第一期：沒有氮血症，伴隨其他腎臟的

表二 以血液中肌酸酐及對稱性二甲基精氨酸分類犬貓慢性腎臟病之基準

慢性腎臟病階段	血液中肌酸酐(CREA)		症狀
	μmol/l		
	mg/dl		
	對稱性二甲基精氨酸(SDMA)		
	μg/dl		
	Dogs	Cats	
第一期	<125	<140	• CREA正常
	<1.4	<1.6	• SDMA正常或些微增加
			• 腎臟異常現象發生(腎臟影像、腎臟檢體檢測異常)
第二期	<18	<18	• 血液中SDMA濃度持續提高(>14 μg/dl)可能為早期CKD
	125-250	140-250	• CREA正常或輕微增加
	1.4-2.8	1.6-2.8	• SDMA輕微增加
第三期	18-35	18-25	• 輕微腎臟氮血症
	251-440	251-440	• 仍未有臨床徵兆或相當輕微
	2.9-5.0	2.9-5.0	• 中度腎臟氮血症
第四期	36-54	26-38	• 可能開始出現腎臟以外器官的臨床徵兆(若仍未有徵兆為第三期前期，若出現明顯全身性徵兆即為第三期晚期)
	> 440	> 440	• 全身性臨床徵兆
	> 5.0	> 5.0	• 尿毒症
	> 54	> 38	

資料來源: International Renal Interest Society, 2019。

異常出現，CREA 及 SDMA 有升高，(CREA 狗 <1.4 mg/dl, 貓 <1.6 mg/dl; SDMA 狗 <18 µg/dl, 貓 <18 µg/dl)。第二期：有輕度的腎性氮血症及輕度的臨床症狀 (CREA 狗 1.4-2.8 mg/dl, 貓 1.6-2.8 mg/dl; SDMA 狗 18-35 µg/dl, 貓 18-25 µg/dl)。第三期：有中等程度的氮血症，伴隨除腎臟以外的症狀出現 (CREA 狗 2.9-5.0 mg/dl, 貓 2.9-5.0 mg/dl; SDMA 狗 36-54 µg/dl, 貓 26-38 µg/dl)。第四期：全身性臨床及尿毒症狀 (CREA 狗 >5.0 mg/dl, 貓 >5.0 mg/dl; SDMA 狗 >54 µg/dl, 貓 >38 µg/dl) (International Renal Interest Society, 2019; Kielstein *et al.*, 2006)。

(二) 尿毒症及尿毒素

尿毒症是指腎功能衰竭，使得腎絲球過濾率下降，造成蛋白質消化後產物、尿素等體內廢棄物無法排出，滯留體內所產生的中毒現象，而尿毒素依生理和化學特性分成三類：(1) 小分子水溶性化合物 (< 500 Da)，如尿素 (urea)、肌酸酐；(2) 中分子化合物 (≥ 500 Da)，如 β₂-微球蛋白 (β₂-microglobulin)、甲狀旁腺素 (parathyroid hormone, PTH)；(3) 小分子親蛋白質化合物，如硫酸吲哚酚 (indoxyl sulfate, IS) 及對硫甲酚 (*p*-cresyl sulfate, PCS) (Sampaio-Maia *et al.*, 2016)。當腎臟進入末期病變時，需要透過血液透析或腎臟移植進行治療，由於可供移植用的腎臟不多，主要以血液透析為主，但目前血液透析對於小分子親蛋白質化合物的移除率相當低，且蛋白質結合小分子尿毒素在體內堆積會造成細胞傷害、發炎反應和加速 CKD 進展，此小分子尿毒素之代表物質為硫酸吲哚酚和對硫甲酚，而此兩種尿毒素的生成與腸道微生物有關。飲食中蛋白質分解成色胺酸 (tryptophan)、苯丙胺酸 (phenylalanine) 及酪胺酸 (tyrosine) 後，經腸道特定微生物例如大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 代謝為吲哚 (indole) 或對甲酚 (*p*-cresol)，再被腸黏膜吸收，經血液流至肝臟後，在肝臟中經經基化作用和硫酸化作用後形成硫酸吲哚酚 (IS) 及對硫甲酚 (PCS)。兩者皆與 CKD 病程發展具有高度相關性，而腎功能越

差，血液中的硫酸吲哚酚 (IS) 及對硫甲酚 (PCS) 的濃度越高 (Briskey *et al.*, 2017)。

腸道微生物生態失衡 (dysbiosis) 與CKD

在慢性疾病的發展中，腸胃道 (gastrointestinal tract) 及其相關的微生物代謝一直被忽視，直到近幾年來才慢慢受到重視。CKD 患者由於腎臟功能的衰退，導致血液中有機廢棄物累積無法正常排出體外並影響身體的各個器官。腸道微生物生態失調、腸道屏障異常引起發炎反應，造成慢性腎臟病病程之發展。腸道微生物生態失衡或可解釋全身性尿毒症的來源，腎臟病動物模式中糞便菌相中 *Escherichia*、*Enterobacter* 和 *Proteus* 屬比例增加，而 *Bifidobacterium* 及 *Lactobacillus* 屬則下降 (Wang *et al.*, 2012)。隨著分析技術之演進，次世代定序又可進一步了解整體菌相的分布情形，腎小球腎炎患者之腸道菌相多樣性與豐富程度皆顯著下降，而蛋白質分解菌如 *Clostridium*、*Escherichia*、*Enterobacter* 等屬比例上升，腸道益生菌 *Bifidobacteria* 及 *Lactobacillus* 比例下降，此現象與動物試驗相符 (De Angelis *et al.*, 2014)。腎臟病生理環境致使菌相轉變使得蛋白質分解菌相增加，研究指出，末期腎臟病患腸道中生成尿毒素的特定菌相增加，為尿毒素生成量上升之主因 (Wong *et al.*, 2014)。腎臟病進展與腸道生態失調之間的因果關係目前尚未有定論，現今證據傾向以慢性腎臟病造成腸道菌相失調之論點來闡述，可能的原因有尿毒素濃度過高、代謝酸血症、較長時間的腸道過渡期、醫療因素或限制飲食等。由腸道微生物生態失調所衍生之特定物質累積，經由腸壁上皮細胞吸收進入血液循環，亦可能增加腎臟負擔，若不加以控制則可能加速 CKD 惡化 (Sampaio-Maia *et al.*, 2016)。CKD 破壞了共生體 (symbionts) 與病原體 (pathobionts) 的平衡，有利於病原體的生長，可能造成以下之結果：(1) 破壞結腸上皮細胞緊密連結 (epithelial tight junction, ETJ) 和降低上皮細胞存活率，使腸道通透性增加利於細菌和脂多醣 (lipopolysaccharide, LPS) 穿透

上皮細胞移動至腸道固有層 (lamina propria)。(2) 免疫和發炎反應失調，LPS 活化先天免疫細胞透過類鐸受體 (Toll-like receptor, TLR) 4-dependent 和 nuclear factor-kappa B (NF- κ B) 路徑。病原體刺激樹突細胞 (dendritic cells, DC) 活化第 17 型輔助 (Type 17 Thelper cell, Th17) / 第 1 型輔助 (Type 1 T helper cell, Th1) T 細胞反應和增強發炎反應細胞激素的產量。(3) 蛋白質透過腸道病原體發酵，然後優先將其轉換成 IS、PCS 和氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide, TMAO)(Koppe *et al.*, 2015)。

益生菌(Probiotics)與慢性腎臟病(CKD)

慢性腎臟病患血液中過多的有機廢棄物累積無法排除，除使腎臟損傷之外，更造成腸道菌相失衡，引發全身性發炎反應。欲降低尿毒素之含量可透過限制飲食中蛋白質或攝食化學吸附劑以降低尿毒素前驅物質之含量、利用腎臟移植或透析增加腎臟清除率等手段來達成，由於部分已知具高度傷害性之尿毒素為腸道菌相所衍生而成，菌相失衡更使生成量大幅提升，已知益生菌具有改善腸道菌相之組成及恆定之效，應可作為有效的應用策略之一。益生菌係指活的微生物，經過攝食足夠的量時可產生對宿主健康有益之功效。近年來許多文獻已歸納出許多生理及病理現象與腸道菌相的關聯性，足以顯見腸道菌相對於維持生物體健康狀態扮演著關鍵角色 (Cani *et al.*, 2017)。以益生菌探討對慢性腎臟病病理現象影響之臨床實驗最早始於 1996 年，血液透析患者攝食混合益生菌株四週，可降低糞便中尿毒素前趨物及血清中尿毒素之含量 (Hida *et al.*, 1996)。而第四期及第五期之慢性腎臟病病患若服用含有九株乳酸菌株及益生質之膠囊十二週，可降低血清中硫酸吡啶酚和對硫甲酚之含量，此現象可能與提升病患腸道中 *Bifidobacterium* 及 *Lactobacillus* 有關。而第三期及第四期之慢性腎臟病病患若服用 *Lactobacillus acidophilus*、*Streptococcus thermophilus* 和 *Bifidobacterium longum* 混合菌株六個月，其血液中的尿酸和尿素氮 (blood urea

nitrogen, BUN) 比起給予安慰劑的組別有下降的趨勢 (Ranganathan *et al.*, 2009)。亦有文獻提及持續服用 *Lactobacillus acidophilus*、*Bifidobacterium lactis* 及菊糖 (inulin, 益生質) 兩個月可以改善血液透析患者腸胃不適之症狀 (Viramontes-Hörner *et al.*, 2015)。由於上述臨床試驗之受試者皆為末期腎臟病患，腎絲球過濾率及血液中肌酸酐含量等指標未能有效降低，推斷其為腎損傷已達後期不可逆之程度。現階段結果指出攝食益生菌可降低尿毒素含量及使腸道菌相中益生菌組成比例增加，除可改善腸道不適症狀之外，亦對延緩腎臟病患病程惡化具有正面助益。益生菌改善慢性腎臟病之病癥亦可由動物試驗得到印證，在肌酸酐清除率、尿素氮、腎臟組織損傷及纖維化、纖維化相關因子等皆具有顯著之改善效果，進一步分析可能之機制後發現此效應可能與改善腸道菌相以及降低尿毒素生成有關，慢性腎臟病模式誘導下可見腸道障蔽受損、腸道通透性增加以及體內呈現發炎之生理狀態，管餵益生菌後可回復腸道屏障完整性，並改善全身性發炎現象 (Wang *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2019)。綜合上述可知益生菌在臨床及動物試驗皆有正面結果顯示具減緩及改善慢性腎臟病病程

益生菌腎臟保健食品之開發

益生菌保健食品之開發可分為菌株篩選鑑定、益生菌混合比例配方試驗、利用動物試驗評估益生菌腎臟保健之功效性、最適化培養基比例開發及菌株量產。

(一) 菌株篩選及鑑定

篩選益生菌是決定益生菌保健食品是否有功效最關鍵的步驟，本研究室針對尿毒素前趨物 indole 及 *p*-cresol 自行開發體外腸道模擬篩選培養基，可快速初步篩選菌株出具有潛力之菌株。接續為確認所篩選潛力菌株之身分，必須進行菌株鑑定分析。16S rRNA 為原核生物 (prokaryote) 核糖體 (ribosome) 的重要組成，含有高度保守以及 9 個高度

變化的區域，高度變化的區域在屬或是種上具有特異性，能夠作為細菌分類鑑定的指標。將 16S rRNA 基因序列使用 NCBI BLAST 系統進行分析比較，從資料庫以相似性 (identity) 高於 98% 進行鑑菌，並繪製親緣樹以初步判定菌株身分。後續可利用持家基因定序做進一步確認，由於持家基因為生物體內所有細胞中皆表現，並且為維持細胞基本生命活動所需的高度保守性基因。經 Naser 等 (2007) 證實以 phenylalanyl-tRNA synthase α 次單元 (pheS) 與 RNA polymerase α 次單元 (rpoA) 之基因序列可作為鑑別乳酸桿菌分類的有效工具，可做為 16S rRNA 基因替代性的基因標記，在 *Lactobacillus* 屬中區別不同種可具有高度的鑑別力。因此本研究室後續再以持家基因 pheS 及 rpoA 基因序列繪製其親緣關係樹，針對菌株身分做確認。益生菌為能在體內發揮其增加生物體健康之益生特性，必須在歷經腸胃道消化系統後仍保有一定數量之菌數才得以達成。因此必須進行潛力菌株模擬腸胃液耐受性評估，配置腸胃道模擬液，並於其中加入對應之消化酵素，藉此模擬菌株在腸道環境經消化作用後之耐受性。

(二) 益生菌混合比例配方試驗

腸道微生物所衍生而成之尿毒素如硫酸吡啶酚和對硫甲酚係由飲食中蛋白質經分解成色胺酸、苯丙胺酸及酪胺酸後，再經腸道菌相代謝生成吡啶及對甲酚，經血液運送至肝臟代謝而產生，經研究證實對腎臟、心臟及血管上皮組織造成嚴重傷害，硫酸吡啶酚和對硫甲酚又可作為腎臟病病程發展之重要指標。本研究室則進一步評估不同組合之潛力菌株降低腸道模擬環境中尿毒素前趨物吡啶及對甲酚之能力。利用所篩選出的潛力菌株，進行不同菌株之混合搭配，經尿毒素前驅物質清除力試驗評估，選擇具最佳清除效果之菌株組合。

(三) 以動物試驗評估益生菌改善慢性腎臟病之功效性

1. 小鼠模式

本研究室利用 0.2% adenine 誘發小鼠慢性腎臟病模式，評估混合益生菌株改善慢性腎臟病病徵之能力，以判斷是否具有延緩慢性腎臟病之功效性。將實驗動物隨機分為控制組 (control)、慢性腎臟病組 (CKD)、CKD 餵飼低劑量混合菌株組 (10^7 CFU/mice; CKD+LD) 及 CKD 餵飼高劑量混合菌株組 (10^9 CFU/mice; CKD+HD)。於 CKD 誘導前先行管餵測試菌株兩周，兩周後再同時管餵並餵飼含 0.2% adenine 之飼料以持續誘導 CKD 17 天，待完成 CKD 誘導後將飼料更換為不含誘導劑之一般飼料。經動物試驗評估，相較於 control 組腎臟外觀平滑且顏色紅潤，CKD 組腎臟外觀皺縮且顏色較蒼白，而腎臟功能指標血液中尿素氮及肌酸酐分析方面，CKD 組顯著上升，顯示腎臟功能的衰退。由組織病理切片分析顯示，誘導組在腎臟間質組織具有明顯病理惡化如白血球浸潤、纖維化，合併腎小管擴大、退化、壞死及結晶之沉積；而包氏囊間隙亦有擴大之情形，顯示此誘導模式具有慢性腎臟病相似的病理發展特徵。混合菌株餵飼組可顯著降低腎臟功能指標血液中尿素氮之指數，肌酸酐指數則具有下降之趨勢。於組織病理分析，潛力益生菌可延緩腎臟病理惡化之情形，腎臟組織病理現象如白血球浸潤、纖維化、腎小管擴大、退化、壞死及結晶之沉積皆顯著降低，而包氏囊間隙擴大情形亦得到減緩。組織纖維化程度分析試驗上也可見潛力益生菌可降低纖維化面積。由此結果得知，本研究室所篩選之益生菌可透過延緩腎臟病程發展並降低纖維化程度，可使腎臟維持較佳的功能性。於氧化壓力指標分析，餵食益生菌雖無法改變 CKD 所引起對穀胱甘肽 (glutathione, GSH) 之消耗，但可回復由慢性腎臟病所引起之超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 及穀胱甘肽過氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 變化，呈現與正常組相似之趨勢。於腎臟組織發炎相關指標分析，潛力菌株組可降低腎臟組織促發炎因子骨髓過氧化酵素

(myeloperoxidase, MPO) 之蛋白質表現，並可調控細胞激素 TNF-alpha 及 IL-6 之含量，使其回復至與控制組相似之水準。進一步分析潛在機制，於尿毒素前趨物吡啶及對甲酚以及血液中硫酸吡啶和對硫甲酚含量分析試驗指出，餵飼潛力混合菌株可顯著降低腸道中對甲酚，而低劑量組 (CKD+LD) 血液中的硫酸吡啶之含量顯著下降，對硫甲酚含量則具下降之趨勢。此外，益生菌組可提升實驗動物之腸道屏障能力，降低腸道通透性，並可增加糞便中短鏈脂肪酸丁酸的含量。可以合理推測，餵飼混合菌株改變腸道菌相，調控腸道菌相之平衡，以維持良好的腸道屏障能力，並降低由微生物衍生之尿毒素前趨物質之含量，進而降低血液中尿毒素之濃度，減少毒物質累積對腎臟組織之傷害，改善慢性腎臟病所引起之氧化壓力及發炎現象而使腎臟保留較佳的功能性。

2. 小型豬模式

由於豬的 DNA 相較於啮齒動物與人類更為相似，因此本研究室建立以 cisplatin 誘導慢性腎臟病蘭嶼豬模式，探討給予混菌乳酸菌於 cisplatin 誘導慢性腎臟病之影響。試驗設計共分成 4 組，每組 3 隻 8 月齡蘭嶼豬。組別分成控制組，給予一般飼糧；cisplatin 誘導組，一般飼糧且以靜脈注射 cisplatin；低劑量混合菌株組，給予 10^9 CFU/kg BW 混合菌株且以靜脈注射 cisplatin；高劑量混合菌株組，給予 10^{10} CFU/kg BW Pm-1 且以靜脈注射 cisplatin，混菌 Pm-1 會在 cisplatin 誘導前先給予 90 天。結果顯示，高劑量混合菌株組別其血液中肌酸酐及尿素氮之含量比起 cisplatin 誘導組有下降的趨勢。透過蘇木紫—伊紅染色和 Masson's trichrome 染色，高劑量組腎臟組織病灶發生率及腎臟纖維化程度皆低於 cisplatin 誘導組。腎臟組織使用化學免疫組織染色法偵測凋亡蛋白酶 -3 之表現量，高劑量組凋亡蛋白酶 -3 面積比起 cisplatin 誘導組有下降的趨勢。高劑量組可以降低蘭嶼豬血液中 TNF- α 和 IL-6 以及過氧化氫酶之含量。在糞便菌相部分，高劑

量混合菌株組比起 cisplatin 誘導組 *Lactobacilli* 和 *Bifidobacteria* 有增加，而 *Clostridium perfringens* 則是下降。然而給予混菌乳酸菌之組別，其血液中硫酸吡啶含量並沒有顯著差異。在腸道菌相部分，由熱圖以及主成分分析圖觀察到給予高劑量作為前處理，其腸道菌相組成比起 cisplatin 誘導組更接近控制組 (Lee *et al.*, 2019)。

(四) 菌株量產

由於菌株之商業化生產模式具有成本效益之考量，因此必須研發符合經濟效益之菌株發酵基質，將有助於研究成果與產業應用接軌。開發替代型的商業量產培養參數落實工業化生產，實為益生菌商品化及臨床試驗評估之必要前提。為了降低大量發酵之成本，本研究室利用三因子三階次之 Box-Behnken 設計進行反應曲面模式之建立，再配合序列二次規劃法 (sequential quadratic programming, SQP) 進行最適化碳源、氮源及補充物添加量之配方設計。

益生菌應用於腎臟保健之未來展望

慢性腎臟病為全球共同關注的健康議題，糖尿病病患和高血壓病患也是罹患慢性腎臟病的高風險族群。通常慢性腎臟病是緩慢且漸進式地喪失腎臟功能，當腎功能損失程度達到後期腎臟病變時，會伴隨著尿毒症的發生。減少尿毒的產生可預防或延緩腎臟病的發生及惡化。本研究室所篩選之益生菌可降低腎臟受損，延緩腎臟病病程發展，原理可能藉由吸附或代謝腸道中之尿毒素前驅物、調控腸道菌組成及降低氧化壓力之機制而達到具有預防腎功能衰退之潛力。相較於目前 CKD 的治療方式，使用益生菌作為預防或輔助治療的腎臟保健產品，可提供慢性腎臟病一種低成本且無副作用的微生物療法，並可應用於開發各類發酵產品，應用於腎臟病的預防及延緩應有無限潛力。

AgBIO

黃筱雯	國立臺灣大學	動物科學技術學系	博士研究生
王品筑	國立臺灣大學	動物科學技術學系	碩士研究生
白憶欣	國立臺灣大學	動物科學技術學系	碩士研究生
陳明汝	國立臺灣大學	動物科學技術學系	教授

參考文獻

1. Briskey, D. Tucker, P., Johnson, D. W. and Coombes, J. S. (2017) *The role of the gastrointestinal tract and microbiota on uremic toxins and chronic kidney disease development*. Clinical and Experimental Nephrology 21: 7-15.
2. Cani, P. D. (2017) *Gut microbiota - at the intersection of everything?* Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 14: 321-322.
3. De Angelis, M., Montemurno, E., Piccolo, M., Vannini, L., Lauriero, G., Maranzano, V., Gozzi, G., Serrazanetti, D., Dalfino, G., Gobetti, M. and Gesualdo, L. (2014) *Microbiota and metabolome associated with immunoglobulin A nephropathy (IgAN)*. PLoS One. 9: e99006.
4. Hida, M., Aiba, Y., Sawamura, S., Suzuki, N., Satoh, T. and Koga, Y. 1996. *Inhibition of the accumulation of uremic toxins in the blood and their precursors in the feces after oral administration of Lebenin, a lactic acid bacteria preparation, to uremic patients undergoing hemodialysis*. Nephron. 74: 349-355.
5. Inker, L. A., Astor, B. C., Fox, C. H., Isakova, T., Lash, J. P., Peralta, C. A., Tamura, M. K. and Feldman, H. I. (2014) *KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD*. American Journal of Kidney Disease 63: 713-735.
6. International Renal Interest Society. (2019) *IRIS staging of CKD (modified 2019)*. International Renal Interest Society.
7. Kielstein, J. T., Salpeter, S. R., Bode-Boeger, S. M., Cooke, J. P. and Fliser, D. (2006) *Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function—a meta-analysis*. Nephrology Dialysis Transplantation 21: 2446-2451.
8. Koppe, L., Mafra, D. and Fouque, D. (2015) *Probiotics and chronic kidney disease*. Kidney International 88: 958-966.
9. Lee, Y. J., Li, K. Y., Wang, P. J., Huang, H. W. and Chen, M. J. (2019) *Alleviating chronic kidney disease progression through modulating the critical novel genus of gut microbiota in a cisplatin-induced Lanyu pig model*. Journal of Food and Drug Analysis: In press.
10. Naser, S. M., Dawyndt, P., Hoste, B., Gevers, D., Vandemeulebroecke, K., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M. and Swings, J. (2007) *Identification of lactobacilli by pheS and rpoA gene sequence analyses*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57: 2777-2789.
11. Polzin, D. J. (2011) *Chronic kidney disease in small animals*. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice 41:15-30.
12. Ranganathan, N., Friedman, E. A., Tam, P., Rao, V., Ranganathan, P. and Dheer, R. 2009. *Probiotic dietary supplementation in patients with stage 3 and 4 chronic kidney disease: a 6-month pilot scale trial in Canada*. Current Medical Research and Opinion 25:1919-1930.
13. Sampaio-Maia, B., Simões-Silva, L., Pestana, M., Araujo, R. and Soares-Silva, I. J. (2016) *The role of the gut microbiome on chronic kidney disease*. Advances in Applied Microbiology 96: 65-94.
14. Viramontes-Hörner, D., Márquez-Sandoval, F., Martín-del-Campo, F., Vizmanos-Lamotte, B., Sandoval-Rodríguez, A., Armendáriz-Borunda, J., García-Bejarano, H., Renoirte-López, K. and García-García, G. (2015) *Effect of a symbiotic gel (Lactobacillus acidophilus + Bifidobacterium lactis + inulin) on presence and severity of gastrointestinal symptoms in hemodialysis patients*. Journal of Renal Nutrition 25: 284-91.
15. Wang, F., Jiang, Y. S. and Liu, F. (2016) *The influence of mutant lactobacilli on serum creatinine and urea nitrogen concentrations and renal pathology in 5/6 nephrectomized rats*. Renal Failure 38: 1441-1447.
16. Wang, F., Zhang, P., Jiang, H. and Cheng, S. (2012) *Gut bacterial translocation contributes to microinflammation in experimental uremia*. Digestive Diseases and Sciences 57:2856-2862.
17. Wong, J., Piceno, Y. M., DeSantis, T. Z., Pahl, M., Andersen, G. L. and Vaziri, N. D. (2014) *Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short-chain fatty acid-producing intestinal microbiota in ESRD*. American Journal of Nephrology 39: 230-237.
18. Yang, J., Lim, S. Y., Ko, Y. S., Lee, H. Y., Oh, S. W., Kim, M. G., Cho, W. Y. and Jo, S. K. (2019) *Intestinal barrier disruption and dysregulated mucosal immunity contribute to kidney fibrosis in chronic kidney disease*. Nephrology Dialysis Transplantation 34: 419-428.