

# 新規二次胆汁酸生成菌 *Bacteroides intestinalis* AM-1 の 7-oxo 胆汁酸生成特性について

食品安全・機能性開発学講座 胃腸内圏微生物学分野  
川嶋紘子

(背景と目的) 主要な胆汁酸変換酵素である 7 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase (7 $\alpha$ -HSDH) は、コール酸 (CA) やケノデオキシコール酸 (CDCA) などの一次胆汁酸の 7 位の水酸基を脱水素化し、二次胆汁酸を生成する。近年我々の研究室では、ヒト糞便サンプルより新規二次胆汁酸生成菌である *Bacteroides intestinalis* AM-1 の分離に成功し、本菌が 7 $\alpha$ -HSDH を保持することを明らかにした。そこで本研究では、AM-1 の 7-oxo 胆汁酸生成特性を解明することを目的とした。また、本研究では一般的な腸内細菌における一次胆汁酸と 7-oxo 胆汁酸の生育に及ぼす影響を比較し、本酵素の生理学的な存在意義を解明することを第二の目的とした。

(方法) AM-1 と、既知の 7 $\alpha$ -HSDH 保有菌 *Escherichia coli* HB101, *Bacteroides fragilis* JCM11019<sup>T</sup> の 3 株を用いた。1 mM CA を含む GAM 培地で 3 菌株を嫌気培養し、生育および変換反応を、OD<sub>660</sub> の測定および HPLC による変換反応産物の定量により測定した。3 株から 7 $\alpha$ -HSDH 粗酵素を調製し、活性測定を行った。培地中の CA の有無および生育時期における活性の比較を行った。また、一般的な腸内細菌として *Bifidobacterium breve* JCM1192<sup>T</sup> を選択し、一次胆汁酸である CDCA とその 7-oxo 体をそれぞれ添加した GAM 培地で嫌気培養を行い、OD<sub>660</sub> の測定より胆汁酸が生育に及ぼす影響を調べた。

(結果) 生育を 3 株で比較したところ、AM-1 は最も生育速度が遅く、最終到達濁度も低かった。また、最も変換反応の活発な定常期における各株の変換比活性 (変換率/OD<sub>660</sub>) を算出したところ、AM-1 は 3 株中最も高い比活性を示し、*E. coli* HB101 の 4.2 倍、*B. fragilis* JCM11019<sup>T</sup> の 2.3 倍であった。7 $\alpha$ -HSDH 活性測定を行ったところ、AM-1 の粗酵素活性は 3 株中最大であり、*E. coli* HB101 の 1.2 倍、*B. fragilis* JCM11019<sup>T</sup> の 2.1 倍の活性を示した。また、培地中の CA の有無による活性の差は 3 株ともに見られず、定常期での菌体において活性が上昇した。*B. breve* JCM1192<sup>T</sup> における CDCA とその 7-oxo 体の生育に及ぼす影響は、胆汁酸析出の影響を無視できる培養 8 時間目において、胆汁酸無添加条件の OD<sub>660</sub> を基準とした際の OD<sub>660</sub> の減少率を比較すると、2 mM CDCA で 91%、2 mM 7-oxo 体では 50%であり、7-oxo 体の方が生育阻害の度合は小さかった。

(考察及び結論) 新規二次胆汁酸生成菌である AM-1 は、菌体反応および粗酵素レベルともに 3 株中最大の活性を持つことが明らかにされた。また粗酵素活性測定の結果より、本酵素の発現は基質である CA で誘導されず、増殖フェーズにより制御されていると考えられた。さらには、本酵素の生理学的な存在意義として、一次胆汁酸を 7-oxo 体に変換することによる胆汁酸の毒性軽減が示唆され、腸内細菌の腸内での生き残り戦略の一つとして、7 $\alpha$ -HSDH による胆汁酸の毒性軽減が考えられた。