

フマル酸が *Bacteroides fragilis* の胆汁酸変換に及ぼす影響

食品安全・機能性開発学講座 胃腸内圏微生物学分野
本田希未

【背景と目的】大腸癌は現代人にとって重大な疾病であり、効果的な予防法が求められている。予防法のひとつとして、発癌性をもつと考えられている胆汁酸である Deoxycholic acid (DCA) を低減する方法が考えられる。DCA はヒトの主要な胆汁酸である Cholic acid (CA) から *Clostridium* 属による還元反応を受け、腸内で優位に生成する。一方で、CA は *Bacteroides* 属による酸化反応を受けると、7-oxo-deoxycholic acid (7-oxo-DCA) へと変換される。7-oxo-DCA は毒性が低いと考えられているが、還元的な環境である腸内ではその生成量は少ない。そこで本研究では、CA から 7-oxo-DCA への変換を向上させることにより、相対的に DCA 生成を抑制できるのではないかと考えた。*Bacteroides* のフマル酸呼吸を促進させることで NADH が酸化され、7-oxo-DCA 生成に必要な NAD⁺が供給されるという仮説を立て (図)、*Bacteroides fragilis* を用いて検証を行った。

【方法】これまでの研究により、栄養豊富な培地では菌の代謝により炭素源からフマル酸が生産されるため、添加フマル酸の効果が明確に示されないことが明らかになった。そのため、栄養のない状況で検証する必要があるため、バッファー中で変換反応を行わせる実験系を考案した。供試菌株には *B. fragilis* ADB77 株およびフマル酸呼吸を担うフマル酸還元酵素を欠損した Δ *frdC* 株を用いた。GAM 培地で定常期初期まで生育させた菌体を、1 mM の CA および 5 mM または 10 mM のフマル酸を添加したバッファーに懸濁し、嫌氣的にインキュベートした。比較対照としてフマル酸無添加条件、および NAD⁺が生成しやすい好気条件を設定した。HPLC により経時的に 7-oxo-DCA と有機酸の生成を測定し、7-oxo-DCA への変換を担う 7 α -HSDH の酵素活性を測定した。また ADB77 株については、菌体内の NAD⁺/NADH 比の測定も行い、仮説を検証した。

【結果と考察】ADB77 株では、フマル酸添加条件において 7-oxo-DCA の生成が著しく向上し、さらにコハク酸の蓄積が観察されたことから、フマル酸呼吸が行われていることが示された。一方で Δ *frdC* 株を用いた場合では、フマル酸を添加しても 7-oxo-DCA の生成向上やコハク酸の蓄積が観察されなかった。したがって、フマル酸呼吸が 7-oxo-DCA の生成向上に寄与していることが示された。また ADB77 株では、7-oxo-DCA 生成が向上している条件で NAD⁺/NADH 比が高く保たれていた。さらに、どちらの株でも 7 α -HSDH の活性には条件間で差が見られなかった。これらの結果を総合すると、*B. fragilis* では仮説通りのメカニズムで、フマル酸呼吸が 7-oxo-DCA の生成を促進していると考えられる。



(図) 仮説：7-oxo-DCA 生成とフマル酸呼吸の共役