

長期コール酸投与ラットの腸内における 胆汁酸組成と胆汁酸変換菌の動態解析

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 胃腸内圏微生物学 馬場 菜那子

1. 目的

胆汁酸は、腸管内で特定の細菌によって様々な分子種へと変化する。その一方で、胆汁酸は抗菌活性を有しており、分子種によって抗菌活性の強さが異なることが知られている。例えば、胆汁酸の一種であるコール酸 (CA) から細菌が生成するデオキシコール酸 (DCA) は CA の 10 倍の殺菌作用がある。我々の過去の研究で、CA の短期投与により、ラット腸内で DCA をはじめとする胆汁酸分子種が生成され、腸内細菌叢構成を変化させることが明らかになった。しかしながら、胆汁酸を変換する細菌に関する知見は少なく、腸管内での胆汁酸変換の動態は未解明である。そこで、本研究では長期的 (8 週間) にラットに CA を摂取させた時の、盲腸内容物及び糞便中の胆汁酸組成と菌叢構成を調べ、腸管内での胆汁酸変換菌と胆汁酸との関連を検証した。

2. 方法

WKAH 雄ラットに 0.05%CA 添加食または CA 非添加食を与え、8 週間飼育した。2 週間おきに糞便を、解剖時には盲腸内容物を回収した。盲腸内容物と糞便を、LC-MS による胆汁酸分析と菌叢解析に供した。菌叢解析には次世代シーケンサーを用い、細菌 16S rDNA の部分配列決定を網羅的に行った。次に、菌叢解析で得られた配列の中から、盲腸内容物より単離に成功した胆汁酸変換菌と相同性 97%以上の配列を抽出した。そして、胆汁酸変換菌が帰属する配列の存在比と、その変換菌が生成する胆汁酸の存在比、または濃度との相関関係を調べた。

3. 結果と考察

CA 摂取により解剖時の盲腸内容物中の胆汁酸濃度は増加した。特に細菌によって CA から変換される DCA とウルソコール酸 (UCA) の増加が見られた。次に、次世代シーケンサーによる菌叢解析を行ったところ、すべてのサンプルで 5,500 リード以上の配列が得られた。ラットにおいて最も腸内発酵が盛んである盲腸内容物では、腸内細菌叢構成の主要な 2 門である Firmicutes の増加と Bacteroidetes の減少が観測された。

続いて、盲腸内容物に存在する胆汁酸変換菌と胆汁酸組成との相関を解析した。当研究室で単離し、*in vitro* の試験で高い UCA 変換能を示した *Clostridium disporicum* が帰属する配列と UCA が高い相関を示し ($R^2=0.62, p<0.001$), 盲腸内で UCA 生成に寄与することが示唆された。また、*in vitro* で強い DCA 変換能を持つことが知られている *Clostridium scindens* が帰属する配列と DCA も高い相関 ($R^2=0.82, p<0.001$) を示した。さらに、2 週間ごとの糞便の胆汁酸組成と菌叢を解析したところ、*C. scindens* が帰属する配列は、糞便においても常に DCA と高い相関を示した ($R^2=0.57, p<0.001$)。このことから *C. scindens* は腸管内で DCA 生成に強く寄与していると考えられる。

4. まとめ

CA 投与により、DCA をはじめとする胆汁酸分子種の増加が見られた。それに伴って、腸内細菌叢のバランスが崩れた。さらに盲腸内容物中では *C. disporicum* や *C. scindens* などの *in vitro* において変換効率の高い細菌の存在比が、胆汁酸組成に影響を及ぼす可能性が明らかとなった。腸管内における胆汁酸変換の動態の一端を解明できたことは、胆汁酸が持つ細胞毒性や、その毒性により変化する腸内細菌叢が、宿主の健康に与える影響を考えるうえで意義深い。