北海道大学　大学院農学院　修士論文発表会，2016 年 2 月 10 日

二種の腸内細菌の代謝リレーによる新たなデオキシコール酸生成経路の発見

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　鳥居　剛史

１．はじめに

胆汁酸は界面活性作用を示し，脂質の吸収に寄与している。ヒトなどの動物では，胆汁酸は肝臓で合成され，小腸に分泌される。その一部は大腸に流入し，腸内細菌による変換反応を受ける（図 1）。ヒトの主要な胆汁酸であるコール酸 (CA) も同様に様々な変換反応を受ける。例えば、CA は *Clostridium* 属に属する限られた腸内細菌種によりデオキシコール酸 (DCA) へと変換される。DCA は基質の CA よりも細胞に対する毒性が高く，腸内細菌叢バランスの崩壊を引き起こすと報告されている。一方で，*Bacteroides* 属に代表される様々な腸内細菌種により，CA は低毒性の 7-oxo-デオキシコール酸 (7-oxo-DCA) へも変換される（図 1）。ヒト腸内においてDCA 生成反応を担う細菌種の菌数は，7-oxo-DCA 生成反応を担う細菌種の菌数と比べて圧倒的に少ない。それにも関わらず，ヒト腸内では毒性の高い DCA が優位に生成し，腸内や糞便中に蓄積することが知られている。これは人間の健康上問題であるため，当研究室では，腸内細菌による 7-oxo-DCA 生成反応を増強することで，基質が同一である DCA の生成を抑制することを目的として研究を続けてきた。本発表では，この目的を果たすために二種の細菌を用いた培養実験を行う中で発見した，腸内細菌の代謝リレーによる新たな DCA 生成経路について報告する。

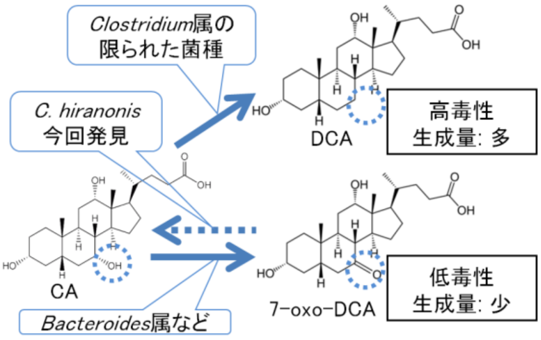

図 1. 大腸における腸内細菌による CA の変換

２．方法

CA を基質として DCA を生成する *Clostridium hiranonis* JCM10541^{T} と，同基質より 7-oxo-DCA を生成する *Bacteroides fragilis* ADB77 を使用菌株とした。終濃度 1 mM もしくは 0.1 mM の CA を含む複数の培地において二菌の単独培養，共培養あるいは *B. fragilis* 培養後の培養上清へ *C. hiranonis* を接種する二段階の培養を行い，培地の濁度および培地中の胆汁酸構成比率を継時的に測定した。

３．結果と考察

終濃度 1　mM の CA を含む培地において，*B. fragilis* 単独培養時には基質の約 80%が 7-oxo-DCA へと変換されたのに対して，二菌を共培養するとその割合は 10%以下まで減少した。加えて，*C. hiranonis* 単独培養時には基質の約 40%が DCA へと変換されたのに対して，共培養下ではその割合が約 70%まで増大した。これらの現象は基質濃度を 0.1 mM とし，生成した DCA の毒性が *B. fragilis* の増殖や CA の変換に影響を及ぼさない条件においても認められた。これらの結果から，*C. hiranonis* が *B. fragilis* の生成した 7-oxo-DCA を CA，更には DCA へと変換することが予想された (図 1)。そこで，7-oxo-DCA を基質とする培養実験を始めとする複数の実験からこの仮説を検証した結果，*C. hiranonis* は確かに 7-oxo-DCA を基質とし，毒性の高い DCA を生成できることが明らかとなった。このことから，ヒト腸内において，同様の経路が働いていることが示唆された。すなわち，ヒト腸内や糞便において DCA が優位に蓄積し，かつ 7-oxo-DCA の蓄積が少ない原因として，7-oxo-DCA 生成菌と DCA 生成菌の代謝リレーによる DCA 生成が関与していると予想される。