

Clostridium scindens G10 による 7-oxo-デオキシコール酸からのデオキシコール酸生成に関与する 7 α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼの反応特性の解析

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 柴野 可菜

1. 背景と目的

胆汁酸は界面活性作用を有し、脂質の消化吸収に寄与している。肝臓で合成された胆汁酸は小腸で機能したのち、その多くが再吸収されるが、一部は大腸へと流入して腸内細菌による変換を受ける。ヒトの主要な胆汁酸であるコール酸 (CA) は、大腸で腸内細菌の働きにより、デオキシコール酸 (DCA) あるいは7-oxo-デオキシコール酸 (7-oxo-DCA) に変換される。DCA 生成菌は *Clostridium* 属の一部に限られるが、7-oxo-DCA 生成菌には *Bacteroides* 属など多くの菌種が存在し、菌数も非常に多い。しかし、大腸の DCA 濃度は7-oxo-DCA 濃度の30倍以上となっている。DCA は肝臓がんや大腸がんの要因であることが報告されており、胆汁酸濃度と生成菌数の間の矛盾を解明することは、健康の維持増進の上で意義深い。我々はその矛盾を説明可能なメカニズムの一つとして、DCA 生成菌が7-oxo-DCA を DCA へと変換する新たな経路を有することを、両生成菌の共培養試験により見出した (FIG.)。この反応経路では、7-oxo-DCA の減少に伴って、CA が増加し、その後 DCA が増加した。前者の反応は7 α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ (7 α -HSDH) によって触媒されると考えられるため、本研究では、当研究室で単離された共培養試験の供試菌株である *Clostridium scindens* G10 (DCA 生成菌) と *Bacteroides nordii* C5 (7-oxo-DCA 生成菌) の7 α -HSDH の反応特性を解析し、本酵素の DCA 生成への関与を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

C. scindens G10 および *B. nordii* C5 の無細胞抽出液を粗酵素として7 α -HSDH 活性を測定した。また既知の7 α -HSDH とのアミノ酸配列の相同性を元に、両菌のゲノムから7 α -HSDH 遺伝子をクローニングし、大腸菌を宿主として発現、精製し、CA および7-oxo-DCA に対する速度論的解析を行った。

3. 結果と考察

各株の粗酵素を用いた検討の結果、*C. scindens* G10 由来の7 α -HSDH は7-oxo-DCA から CA への反応も触媒した一方、*B. nordii* C5 の7 α -HSDH は CA から7-oxo-DCA への反応しか触媒しなかった。また、組換え酵素の7-oxo-DCA に対する k_{cat}/K_m 値は、前者が $9.98 \text{ s}^{-1}\mu\text{M}^{-1}$ であったのに対して、後者は $0.00105 \text{ s}^{-1}\mu\text{M}^{-1}$ であった。これらの結果から、共培養系での7-oxo-DCA から CA への変換は、主に *C. scindens* G10 由来7 α -HSDH によって行われていると考えられた。ヒト腸内においても、DCA 生成菌は7-oxo-DCA 生成菌が生成した7-oxo-DCA を7 α -HSDH によって CA へと変換し、最終的に DCA を生成していると予想され、これがヒト大腸において DCA 濃度が高い理由の一つと考えられた。

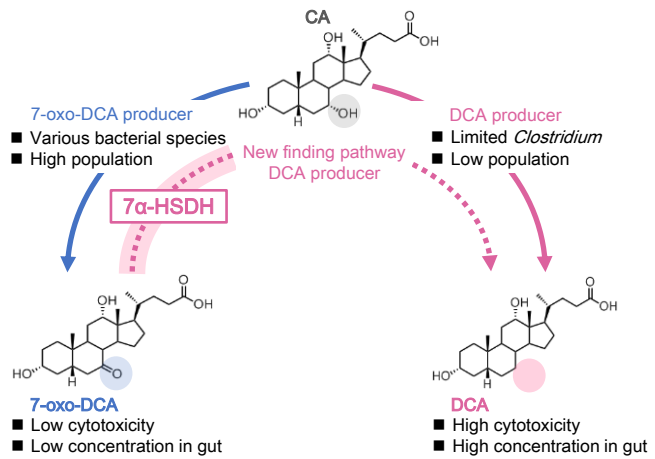


FIG. Conversion of CA by intestinal bacteria in the colon