

機能性糖質摂取によるコール酸投与ラットの腸内細菌叢改変に基づいた デオキシコール酸生成菌と相互作用する腸内細菌種の探索とその検証

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 佐竹 実菜子

1. 背景と目的

胆汁酸は肝臓でコレステロールから生合成され、脂質の消化吸収に寄与する。消化管へ分泌された胆汁酸の一部は大腸に流入し、腸内細菌の働きにより構造が変化する。ヒトの主要な胆汁酸であるコール酸 (CA) は、*Clostridium* 属に限られた腸内細菌種により殺菌活性や細胞毒性の強いデオキシコール酸 (DCA) に変換される。DCA は大腸がんや肝臓がんの原因ともなるため、腸内における DCA 生成のメカニズムを明らかにすることは、ヒトの健康増進の上で大変意義深い。しかしながら、DCA 生成菌が菌叢内で占める割合は総菌数の~0.0001%と非常に少ないにも関わらず、高濃度の DCA が腸内に蓄積する。このような生成菌数と DCA 量に矛盾が生じる理由は明らかにされていない。我々はこの現象の背景として、DCA 生成菌と他の腸内細菌種との複雑な相互作用により、DCA 生成が活性化されるのではないかと推測した。そこで本研究では、腸内 DCA 量の顕著な増加が観察される CA 投与ラットに対して様々な機能性糖質を投与し、ラット腸内における DCA 濃度の増減データと細菌叢変化との相関性を指標として、DCA 生成菌と相互作用する腸内細菌種を見出すことを目的とした。さらに、同定された相互作用候補菌種と DCA 生成菌との共培養試験を行い、菌種間相互作用による DCA 生成の活性化について検証した。

2. 方法

1) 3週齢の Wistar/Slc 雄性ラットを2週間予備飼育後、AIN-93G 準拠飼料を与える Control 群、0.05% CA 添加食投与群、0.05% CA 添加食に7種類の難消化性オリゴ糖 3%、3種類の難消化性多糖 5%を添加した飼料を与える計 12 群を設定し、4週間飼育した。解剖時に盲腸内容物を採取し、LC/ESI-MS を用いた胆汁酸組成分析および 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を標的とした Illumina MiSeq によるメタ 16S 菌叢解析に供した。腸内細菌叢構成は、配列情報に基づき OTU (Operational Taxonomic Unit) に分類して解析を行った。これらのデータをもとに網羅的な相関解析を行い、DCA 生成菌と正の相関を示した細菌種を相互作用候補菌種として同定した。

2) 同定された相互作用候補菌種 4 菌株と当研究室にてラット盲腸内容物から単離された DCA 生成菌 *Clostridium scindens* G10 を使用菌株とした。終濃度 0.1 mM の CA を含む GAM 培地にて *C. scindens* G10 と各候補菌株の共培養試験を行い、経時的に菌の生育 (OD₆₆₀) および培地の pH を測定し、LC/ESI-MS を用いて培養液中の胆汁酸組成を分析した。

3. 結果と考察

1) 飼育試験の結果、CA 群では Control 群と比較して DCA 濃度が有意に増加し、CA+機能性糖質摂取群では、各糖質で異なる DCA 濃度の増減データが得られた。さらに、腸内 DCA 濃度と腸内細菌叢解析により特定された全 1,353 OTUs の相対存在量との網羅的な相関解析を行った結果、DCA 生成菌の相対存在量と正の相関を示す 5 種類の OTU を相互作用候補菌種として特定した。

2) 同定された相互作用候補菌種の内、4 菌株と *C. scindens* G10 との共培養試験を行った結果、*C. scindens* G10 の単独培養時には基質の約 64%が DCA に変換されたのに対し、候補菌種 3 菌株との共培養時にはその割合が約 80-85%と顕著に増大した。これは、DCA 生成菌と他の腸内細菌種との相互作用による DCA 生成の活性化を示唆している。以上より、ヒト大腸において DCA が優位に蓄積する理由の一つとして、腸内細菌種間の相互作用が関与していることが示唆された。