

二種の胆汁酸変換菌の相互作用によるウルソコール酸から デオキシコール酸への新たな変換経路の同定とその変換機構の解明

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 微生物生理学 北川 更

1. 背景と目的

胆汁酸は肝臓で合成され、小腸における脂質の消化吸収を促進する。分泌された胆汁酸の一部は大腸へ流入し、腸内細菌により異なる分子種へと変換される。特に、胆汁酸のステロイド骨格の7位の炭素に結合するヒドロキシ基が腸内細菌による変換を受け、様々な分子種が生成する。ヒトの主要な胆汁酸であるコール酸 (CA) は、腸内細菌によりデオキシコール酸 (DCA) または 7-oxo-DCA へと

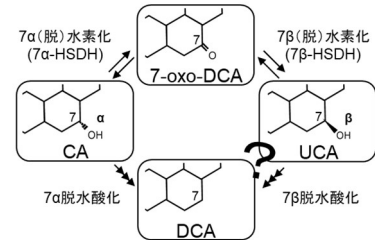


Fig. 1 Conversion of CA by intestinal bacteria in the colon.

変換され、7-oxo-DCA はさらにウルソコール酸 (UCA) へと変換される (Fig. 1)。DCA は非常に強い抗菌活性を示し、大腸がんや肝臓がんの原因物質となる。さらに、DCA は腸内において高濃度に存在するため、腸内における DCA の生成メカニズムを明らかにすることは重要である。これまでに我々が行ったラットへの CA 添加食摂取試験の結果から、ラット腸内で UCA が DCA へと変換されていることが示唆された。そこで本研究では、胆汁酸変換菌による UCA から DCA への変換経路を同定し、二種の胆汁酸変換菌の相互作用による変換機構を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

1 mM CA を含む GAM 培地において、UCA 生成菌である *Clostridium disporicum* F4 を培養し、UCA を生成した。この UCA が含まれている培養液を用いて、DCA 生成菌である *Clostridium scindens* G10 を含む様々な胆汁酸変換菌を培養することで、UCA から DCA が生成されるかを検証した。また、*Bifidobacterium longum* subsp. *longum* 105-A を宿主として胆汁酸変換酵素発現株を構築し、同様に培養試験を行った。さらに、UCA を生成した培養液から固相抽出カラムを用いて UCA を分取し、高純度の UCA を基質とした培養試験も行った。培養試験は 37°C、嫌気条件下で行い、培養中は経時的に菌の生育および培地の pH を測定し、UPLC/ESI-MS を用いて胆汁酸分析を行った。

3. 結果と考察

UCA を含む培養液を用いて DCA 生成菌を単培養すると UCA は DCA へと変換されなかったが、UCA 生成菌と DCA 生成菌の共培養では UCA が減少し、DCA が増加した。次に、UCA 生成菌が保有する、CA-7-oxo-DCA 間および 7-oxo-DCA-UCA 間の相互変換をそれぞれ担う、7 α -hydroxysteroid dehydrogenase (7 α -HSDH) および 7 β -HSDH の一方または両方の遺伝子を導入したビフィズス菌発現株を構築し、DCA 生成菌との共培養を行った。その結果、7 β -HSDH を発現する株との共培養において UCA が DCA へと変換された。以上より、UCA は 7 β -HSDH を有する胆汁酸変換菌と DCA 生成菌の相互作用により、7-oxo-DCA、CA を介して DCA へと変換されることが示された。さらに、UCA 生成菌の培養液から分取した高純度の UCA を基質とした培養試験において、UCA 生成菌は単独で UCA を 7-oxo-DCA へと変換した一方で、DCA 生成菌の単培養では UCA を DCA へと変換しなかった。したがって、7 β -HSDH を有する胆汁酸変換菌の存在下では、見かけ上は UCA から 7-oxo-DCA への変換は起こっていないが、UCA と 7-oxo-DCA は平衡状態にあり、同時に DCA 生成菌が存在することで、菌株間で 7-oxo-DCA の受け渡しが行われ、DCA へと変換されると推測された。