

胆汁酸代謝と腸内細菌

内田 清久^{1*}^{1*}塩野義製薬株式会社

Bile Acid Metabolism and Intestinal Flora

Kiyohisa UCHIDA^{1*}^{1*}Shionogi & Co., Ltd.

コレステロールは細胞膜の構成成分として、また、ステロイドホルモンやビタミンDの前駆物質として生体に必須の物質であるが、一方、コレステロールの代謝異常が成人病、特に動脈硬化症の発症に係わるとして注目されている。生体に含まれるコレステロール量は成人では約140gといわれ、その約1%が毎日代謝されている。主な代謝物は胆汁酸であり、欧米人では一日当たり約600mg、日本人では約300mgの胆汁酸が生成されている。胆汁酸は単にコレステロールの代謝物というに止まらず、脂質の吸収を促進する作用を持つ点からもコレステロール代謝に重要な意義を持っている。したがって、コレステロール代謝を明らかにするためには胆汁酸代謝も考慮する必要がある。また、胆汁酸代謝自体の異常もいくつかの疾病に係わっていることが知られている。

一方、ヒトの腸内細菌は400種にも及び、その総数は約 10^{14} ヶ、重量では1kgにも達するといわれている。腸内細菌は胆汁酸も代謝するので、胆汁酸は腸肝循環の間に種々の変換を受け、それがコレステロールを含めた脂質代謝に影響する。すなわち、腸内細菌叢の変化は宿主のコレステロール・胆汁酸代謝に影響を及ぼすことになり、事実、無菌動物の上記代謝は通常動物とは異なっていることが報告されている。腸内細菌のコレステロール・胆汁酸代謝に対する作用が注目され広く

研究されているが、これらの成果がまとめれば生体にとって有利な腸内細菌叢を推定することも可能となる。本稿では胆汁酸代謝の概略といままで明らかにされた腸内細菌の作用について述べてみたい。

胆汁酸の化学

胆汁酸の基本骨格は図1に示すごとく炭素数24のコラン酸(5 β -cholan-24-oic acid)である。胆汁酸合成の過程で炭素数27のコレスタン酸(5 β -cholestan-26-oic acid)を基本骨格とする胆汁酸も生成されるが、これは高級胆汁酸と呼ばれ、一部の動物種の最終生成物となっている。C-24もしくはC-27のカルボン酸が水酸基のものを胆汁アルコールと呼ぶ(8)。

胆汁酸は肝でコレステロールから生成されるが、ヒトも含め多くの哺乳動物が生成する胆汁酸はコール酸(3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholanoic acid)とケノデオキシコール酸(3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholanoic acid)であり、肝で最初に生成される胆汁酸という意味で一次胆汁酸と呼ばれる。後述するが、一次胆汁酸は腸肝循環の間に腸内細菌により種々の変換を受ける。このような変換を受けた胆汁酸は二次胆汁酸と呼ばれる。

肝で生成された胆汁酸はさらに肝でタウリンもしくはグリシンの抱合を受けて胆汁中に分泌される。これらを抱合胆汁酸と呼び、抱合を受けていないものを遊離型胆汁酸と呼ぶ。胆汁酸が胆汁中

1991年7月8日受付

* 〒566 摂津市三島 2-5-1 Mishima, Settsu 566, Japan

に分泌される時は、通常は抱合型であり遊離型はほとんど分泌されない。タウリンもしくはグリシン抱合に加え、一部の胆汁酸には水酸基の硫酸抱合もしくはグルクロン酸抱合も起る(18)。硫酸抱合は主に3位であるが7位もしくは12位にも起こり、一硫酸抱合(mono-sulfate)に加え、量的には少ないが二(di)もしくは三(tri)硫酸抱合型も生成される。これらの硫酸もしくはグルクロン酸抱合胆汁酸は胆汁鬱滞症のごとく胆汁酸が胆汁では

なく尿中に排泄される時に主要なものとなる。コール酸に較べケノデオキシコール酸は細胞に対する障害作用が強く、特にケノデオキシコール酸の二次胆汁酸であるリトコール酸(3 α -hydroxy-5 β -cholanoic acid)はその作用が強いが(10)、これらは硫酸抱合を強く受ける。したがって、硫酸もしくはグルクロン酸抱合は毒性の強い胆汁酸に対する解毒機構と考えられている(32)。

図2には肝における胆汁酸の生合成経路を示した。種々の合成経路が知られているが(3)ヒトあるいは動物の生理的条件によりその経路が異なると考えられ、いずれが主要であるかは未だ解明されていない。図の左側がケノデオキシコール酸の、右側がコール酸の生合成経路である。最初の反応はコレステロールの7 α -水酸化であるとされているがC-26が水酸化される経路、あるいはC-12が水酸化される経路も報告されている。この分

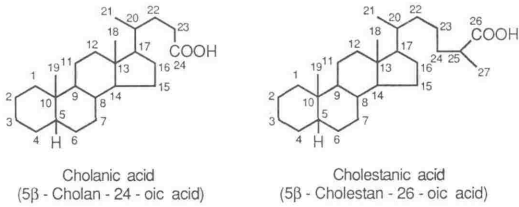


図1 胆汁酸の基本骨格

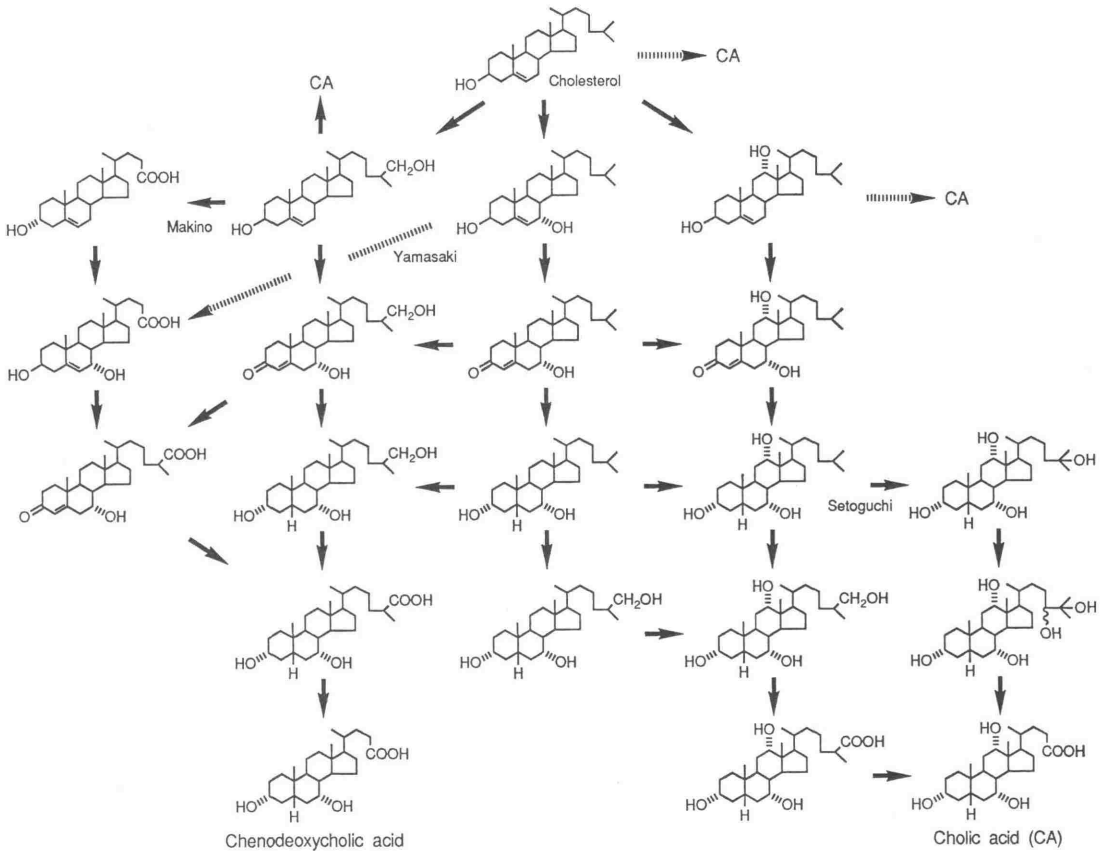


図2 胆汁酸の生合成経路

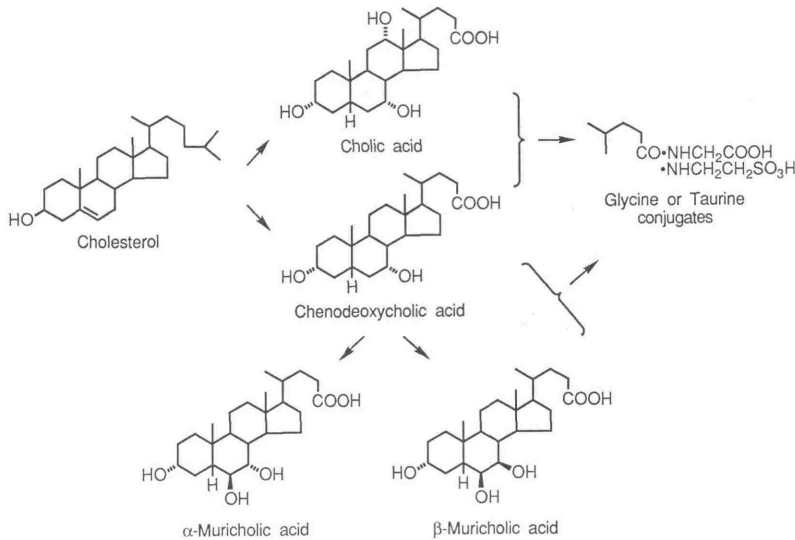


図3 ミュリコール酸の生合成経路

野の研究には日本の研究者の業績が多く、7 α -hydroxycholesterol から側鎖が切断されて 3 β , 7 α -dihydroxycholest-5-en-24-oic acid が生成される経路は Yamasaki (44) により、3 β -hydroxycholest-5-en-26-oic acid は Makino ら (16) により胆道閉鎖症児の尿中に見いだされ、5 β -cholestane-3 α , 7 α , 12 α -triol の 25-水酸化経路は Setoguchi ら (21) により明らかにされた。

多くの動物種が生成する一次胆汁酸はコール酸とケノデオキシコール酸であるが、一部の動物はその種に特有の胆汁酸を生成する (29)。ラットやマウスは二種のミュリコール酸 (3 α , 6 β , 7 α - および、3 α , 6 β , 7 β -trihydroxy-5 β -cholanoic acid) を、ブタはヒオコール酸 (3 α , 6 α , 7 α -trihydroxy-5 β -cholanoic acid) を生成するのがその例である。図3にはラットおよびマウスにおけるミュリコール酸の生成経路を示した。

図2に示したごとく、胆汁酸生合成の過程には種々の中間体が存在する。これらの中間体は正常人でも微量ではあるが体液中に検出される (2)。しかし、例えば肝障害時に、あるいは一部の疾病 (Cerebrotendinous xanthomatosis, Zellweger 病, 胆道閉鎖症など) では比較的多量に認められる (42)。これらは異常胆汁酸とも呼ばれている (表1) (28)。表中、アロ型胆汁酸というのはA環B環

がトランス型のものを示す。また、ケト型胆汁酸とあるが、現在ではケトという用語はオキシと呼ぶように定められたので、例えば、3 α -hydroxy-12-keto-5 β -cholanoic acid は 3 α -hydroxy-12-oxo-5 β -cholanoic acid と呼ぶのが正しい。

胆汁酸の腸肝循環

肝で生成された胆汁酸はタウリンもしくはグリシン抱合胆汁酸として胆汁中に分泌され、胆嚢の収縮に伴って十二指腸内に放出される。食事に由来する脂肪とミセルを形成してその吸収を促進させるのが胆汁酸の主たる生理作用であるが、胆汁酸自体は主に回腸末端部から能動的吸収機構により吸収され、門脈系を経て肝に戻り再び胆汁中に分泌される。これを胆汁酸の腸肝循環と呼んでいる (図4) (34)。胆汁酸の一部は上部小腸からも、また大腸からも吸収されうるが、その機構は濃度依存的な受動的吸収によっている。消化管から吸収される胆汁酸量は胆汁中に分泌された量の95~98%にも及ぶが、一部の胆汁酸は吸収されず大腸を経て糞便中に排泄される。定常状態では糞便中に排泄された量に相当する量が肝で生合成されていたことになるので、糞便中の胆汁酸量から生合成量を推定することができる。腸肝循環内に存在する胆汁酸総量を胆汁酸のプールサイズと呼ぶが、

表1 ヒト体液中の異常胆汁酸

1. 3, 7, 12位の一部にβ位で水酸基を有する胆汁酸
 - 3β-ヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3β, 7α-ジヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3α, 12β-ジヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3β, 12α-ジヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3α, 7β, 12α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3β, 7β, 12α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
2. 3, 7, 12位以外の位置に水酸基を有する胆汁酸
 - 3α, 6α-ジヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3α, 6β-ジヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3α, 6α, 7α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3α, 6α, 12α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 3α, 6β, 12α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 1β, 3α, 7α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 1β, 3α, 12α-トリヒドロキシ-5β-コラン酸
3. 二重結合を有する胆汁酸
 - 3β-ヒドロキシ-5-コレン酸
 - 3β, 12α-ジヒドロキシ-5-コレン酸
4. 側鎖の長さが異なる胆汁酸
 - 3α, 7α, 12α-トリヒドロキシ-24-ノル-5β-23-コラン酸
 - 3α, 7α-ジヒドロキシ-5β-コプロスタン酸
 - 3α, 7α, 12α-トリヒドロキシ-5β-コプロスタン酸
 - 3α, 7α, 12α-トリヒドロキシ-5β-C₂₉ ジカルボン酸
5. テトラヒドロキシ胆汁酸
 - 3, 6, 7, 12-テトラヒドロキシコラン酸
 - 3α, 7α, 12α, 23-テトラヒドロキシ-5β-コラン酸
 - 1β, 3α, 7α, 12α-テトラヒドロキシコラン酸
 - 2, 3, 6, 7-テトラヒドロキシコラン酸
6. アロ型胆汁酸
 - 3α-ヒドロキシ-5α-コラン酸
 - 3α, 7α-ジヒドロキシ-5α-コラン酸
 - 3α, 12α-ジヒドロキシ-5α-コラン酸
 - 3α, 7α, 12α-トリヒドロキシ-5α-コラン酸
7. ケト型胆汁酸
 - 3α-ヒドロキシ-12-ケト-5β-コラン酸
 - 3β-ヒドロキシ-12-ケト-5β-コラン酸
 - 3α, 12α-ジヒドロキシ-7-ケト-5β-コラン酸
 - 3α, 7α-ジヒドロキシ-12-ケト-5β-コラン酸
 - 3α-ヒドロキシ-7, 12-ジケト-5β-コラン酸
 - 12α-ヒドロキシ-3-ケト-5β-コラン酸
 - 7α-ヒドロキシ-3-ケト-5β-コラン酸
 - 7α, 12α-ジヒドロキシ-3-ケト-5β-コラン酸
 - 3, 7-ジケト-5β-コラン酸

胆汁酸は腸肝循環を繰り返すので一日当りに胆汁中に分泌された胆汁酸の総量をプールサイズで除した値を胆汁酸の回転数とし、一日当たり10回前後になると考えられている。すなわち、一日当たり10回前後の腸肝循環が行われていることになる。上述した能動および受動的吸収も胆汁酸の種類により異なり、ケノデオキシコール酸はコール酸よ

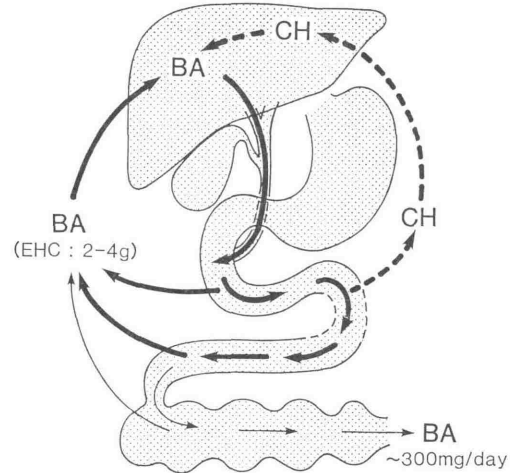


図4 胆汁酸の腸肝循環

りも、遊離型胆汁酸は抱合型胆汁酸よりも、また、グリシン抱合型胆汁酸はタウリン抱合型胆汁酸よりも受動的吸収を受けやすい。したがって、腸肝循環の回数も胆汁酸の種類によって異なる。さらに、後述するが腸内細菌の作用も胆汁酸の種類により異なり、生成される二次胆汁酸の性質(例えば溶解性)も異なるので解析は複雑となる。

したがって、胆汁酸代謝に関連する指標として、プールサイズ、胆汁酸生合成量、胆汁酸回転数、コール酸とケノデオキシコール酸の比(CA/CDCA)、グリシン抱合胆汁酸とタウリン抱合胆汁酸の比(G/T)などが挙げられる。

ヒトや多くの動物は胆嚢を持ち、食事摂取に伴って胆嚢が収縮し胆嚢内に貯えられていた胆汁(胆嚢胆汁)が十二指腸内に分泌されるが、ウマ、シカ、ラットなどは胆嚢を持たないので肝で生成された胆汁(肝胆汁)は直接十二指腸に分泌される。なお、マウスは胆嚢を持っている。図5は血中胆汁酸濃度が食事に伴って変動する様子を示したものである(22)。ケノデオキシコール酸のピークはコール酸のピークより早く現れるが、これはケノデオキシコール酸が上部小腸から吸収されていることを示唆するものと思われる。胆嚢を持たない動物においても食事に伴う血中胆汁酸濃度の変動が報告されている(6)。

胆汁分泌量は胆汁酸分泌量に依存することが知られている。図6に示すごとく、胆汁流量は胆汁

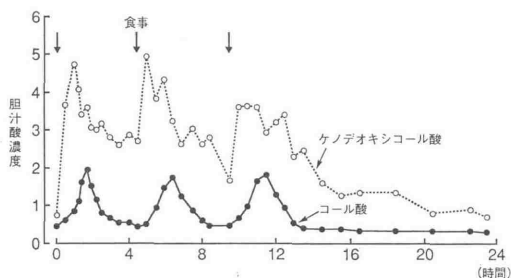


図 5 ヒト血中胆汁酸濃度の日内変動 (22)

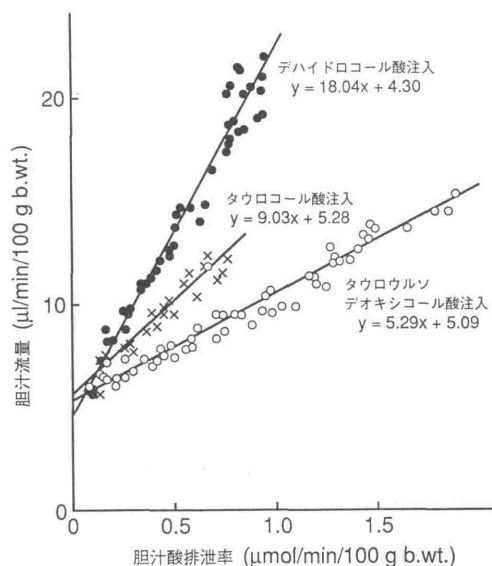


図 6 胆汁分泌と胆汁酸分泌 (13)

酸排泄率の増加に伴って直線的に増加し、その勾配は胆汁酸の種類により異なる (12)。勾配に相当する胆汁流量の増加は胆汁酸排泄量に依存することから胆汁酸依存性胆汁分泌と呼ばれ、胆汁酸排泄率を 0 に外挿した時に相当する胆汁流量は胆汁酸非依存性胆汁分泌と呼ばれる。胆汁中には胆汁酸のみならずリン脂質やコレステロールなどの脂質も含まれている。これら脂質の排泄率と胆汁酸排泄率との間にも正の相関が知られている (23)。

胆汁中では各脂質はミセルを形成している。各脂質がいかなる状態で存在するかは図 7 に示すごとくである (1)。胆汁中のコレステロールの割合がミセル域を越えて高い場合には結晶として析出しコレステロール胆石に発展すると考えられている。

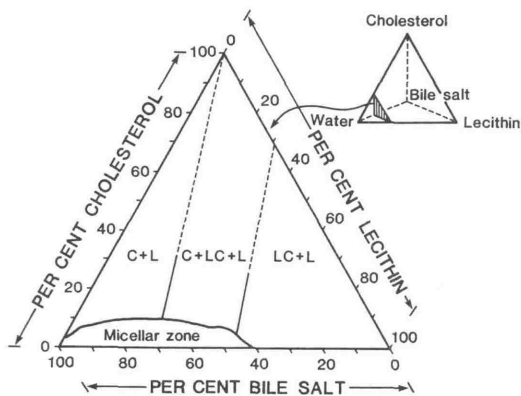


図 7 胆汁脂質濃度とミセル形成 (1)
C: crystal, LC: liquid crystal, L: liquid

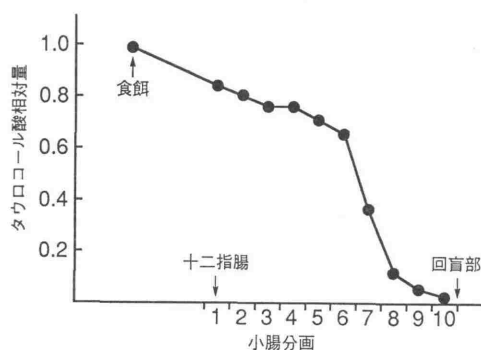
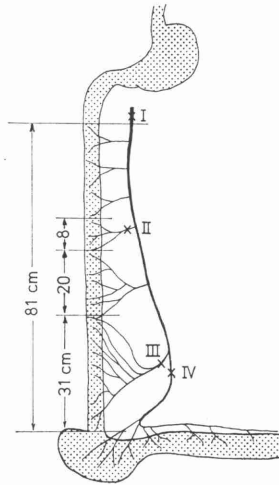


図 8 腸管からの胆汁酸吸収 (5)

胆汁酸吸収には回腸末端に局在する能動的吸収機構と消化管全域にみられる受動的吸収機構が関与することはすでに述べたが、図 8 はその実験的根拠を示すもので、小腸を十二指腸から回腸末端までを 10 分割し、各分画の胆汁酸能動を示すものである。第 6 分割位まで徐々に低下するのは受動的吸収によるものであり、第 7~9 分割で急激に低下するのは能動的吸収によるものである。図 9 はラットの各門脈分枝にカニューレを挿入し、*in situ* で胆汁酸吸収量を測定した成績である (11, 37)。門脈分枝の数も考慮すると約 60% が回腸から、30% が空腸から、10% が盲腸・大腸から吸収されていると推定される。

コレステロール吸収に対する胆汁酸の作用

脂質吸収には胆汁酸が必要であるが、これはコレステロールの吸収についても同様である。ラッ



	μg/ml	μg/10 min
I	44.50	—
II	14.52	31.42
III	46.72	151.81
IV	8.76	28.70
Sys	0.75	—

図9 腸管からの胆汁酸吸収 (36)

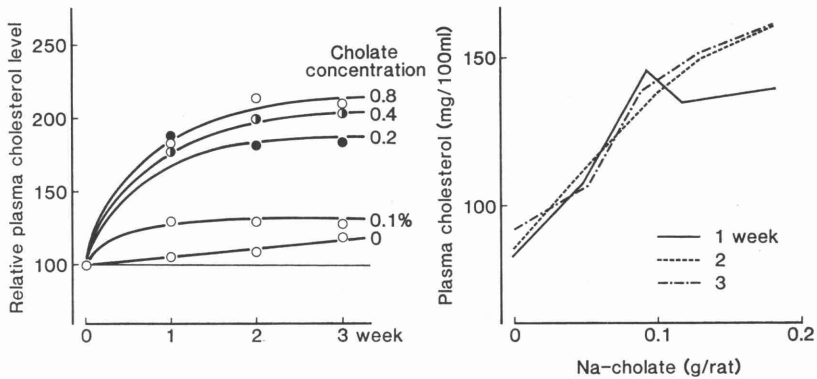


図10 コレステロール吸収と胆汁酸 (36)

トにコレステロールのみを負荷しても (2%コレステロール添加食餌) 血中コレステロール値はほとんど増加しないが、コール酸を同時に投与するとコール酸の投与量に応じて血中コレステロール値は増加する (図 10)。

図 11 は上述の作用を種々の胆汁酸について比較検討したものである (41)。血中コレステロール値も肝コレステロール値もほぼ同一の変動であるが、肝コレステロール値の変動の方が大きい。この成績から明らかなごとく、コレステロール吸収亢進を示す胆汁酸はコール酸 (CA) とデオキシコール酸 (DCA) に限られ、その他の胆汁酸、すなわち、ケノデオキシコール酸 (CDCA) とそれに関連する胆汁酸 (LCA : リトコール酸, UDCA :

ウルソデオキシコール酸, HDCA : ヒオデオキシコール酸) にはその作用が認められていない。デオキシコール酸に関しても、ラット肝はそれをコール酸に変換する能力を持っているので、この成績からだけではデオキシコール酸がコレステロール吸収を亢進させる作用が有るか否か結論できない。いずれにしても、コレステロール吸収を促進する作用はコール酸の作用であり、ケノデオキシコール酸やそれに関連する胆汁酸にはその作用はほとんどないと考えられる。

空腸ループ法によりコレステロール吸収に対する胆汁酸の作用を検討した (40)。成績は図 12 に示すごとくであるが、タウロコール酸 (TCA) の作用が最も強く、タウロ-β-ミユリコール酸

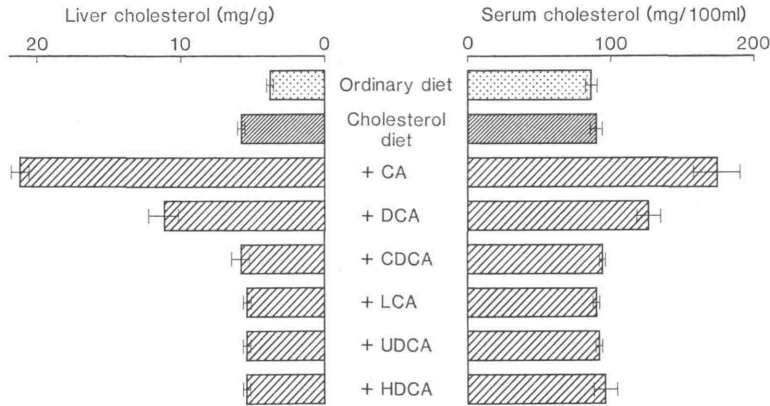


図 11 種々胆汁酸と血中および肝コレステロール値 (40)

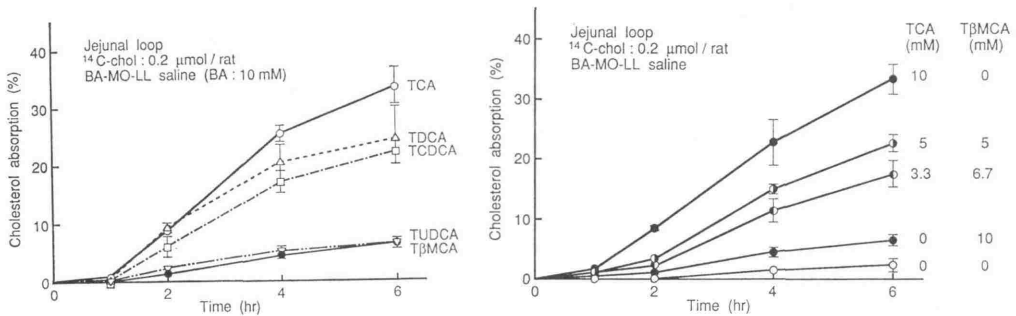


図 12 *In situ* コレステロール吸収に対する胆汁酸の影響

(TβMCA) やタウロウルソデオキシコール酸 (TUDCA) ではその作用はきわめて弱い、タウロデオキシコール酸 (TDCA) やタウロケノデオキシコール酸 (TCDCA) は中等度の作用である。先の図 11 でデオキシコール酸に作用があると結論できないと述べたが、この成績 (図 12) からデオキシコール酸もタウリン抱合型となれば作用を示すと考えられる。しかし、実際には投与したデオキシコール酸は吸収されてもコール酸に変換される量の方が多いので、デオキシコール酸を投与した時の血中および肝コレステロール値の増加はコール酸によると考えられる。*In situ* の空腸ループ法ではケノデオキシコール酸もかなりの作用を示すが *in vivo* ではほとんど作用を示さない。投与したケノデオキシコール酸はラットでは容易にβ-ミユリコール酸に代謝されてしまうので、ラットでは作用が発現しないと考えられる。

図 12 の右図は胆汁酸総量が同一でもその組成

が異なるとコレステロール吸収量が異なることを示す。コール酸とβ-ミユリコール酸とはラットやマウスに存在する主要胆汁酸であり、両者で総胆汁酸の 80% 以上を占めているが、上述の成績からコール酸の割合が増加すればコレステロール吸収は増加し、β-ミユリコール酸の割合が増加すればコレステロール吸収は低下すると推測される。

ラットの高コレステロール血症に対する防禦機構

ラットにコレステロールのみを負荷したのでは血中コレステロール値はほとんど増加しないことはすでに述べた (図 10)。この時の胆汁酸代謝を調べたのが表 2 の成績である。先にも述べたが、ラットの生成する胆汁酸はコール酸とケノデオキシコール酸とであり、ケノデオキシコール酸はさらにβ-ミユリコール酸に代謝されている。二次胆汁酸も含めると種々の胆汁酸が存在するが、それ

らはコール酸 (CA) 系胆汁酸とケノデオキシコール酸 (CDCA) 系胆汁酸とに分類され、前者ではコール酸が主であり、後者ではβ-ミュリコール酸が主である。

コレステロール負荷の胆汁酸代謝に対する作用を調べると、胆汁酸生成量は3倍強にも増加し、胆汁酸組成ではケノデオキシコール酸系胆汁酸、実際にはβ-ミュリコール酸、が増加するのでCA/CDCA比は低下していることがわかる。胆汁酸プールサイズについてみても、コレステロール負荷後プールサイズは増加するが、CAのプールサイズは低下しCDCAのそれは著しく増加していることがわかる。すなわち、先の図12の成績を考慮すれば、コレステロール負荷後にはコール酸のプールサイズが減少しβ-ミュリコール酸のそれが増加してコレステロールの吸収を抑制する方向に変化していると結論される。これは高コレステロール血症発症に対する防禦機構と考えることができる。

胆汁酸代謝からみたこの防禦機構に障害がある

表2 ラット血中および肝コレステロール値、および胆汁酸代謝に対するコレステロール負荷の影響

	Ordinary diet	Cholesterol diet
Serum cholesterol (mg/100 ml)	70.1	73.0
Liver cholesterol (mg/g)	2.7	7.2*
Feces bile acids (mg/day)	4.6	15.0*
CA	1.4	3.8*
CDCA	3.1	11.2*
CA/CDCA	0.45	0.34*
Pool size (mg/rat)	46.1	63.1*
CA	24.8	19.1*
CDCA	23.1	44.0*
CA/CDCA	1.07	0.43*

*p<0.05.

成熟雄ラットに1%コレステロール添加食餌を1週間投与した。

と思われるのが糖尿動物 (9, 31, 37), 甲状腺機能低下動物 (25, 33), 老齢動物 (30, 35, 41) などである。表3は糖尿動物の例 (アロキサン糖尿ラットおよび先天性I型糖尿病モデル動物NODマウス) を示す。対照動物に較べケノデオキシコール酸合成能が著しく低下しており、これらの動物はコレステロールのみの負荷で容易に高コレステロール血症を発症する。これらの動物でも、詳しく調べるとコレステロール負荷後にケノデオキシコール酸の生成は増加するが、その程度は正常動物に較べるとはるかに低い。

胆汁酸代謝異常に関連すると思われる代表的な疾患を表4に要約したが臨床的に注目を集めたのは肝疾患との関連性である (図13) (28)。肝疾患の診断と予後の判定に役立つと考えられたからであるが、胆汁酸値のみでは難しい問題と思われる。

腸内細菌の胆汁酸代謝に対する作用

胆汁酸の腸肝循環の間に腸内細菌が胆汁酸に作用し、胆汁酸の腸肝循環、ひいてはコレステロール代謝に影響するであろうことは容易に想像される。腸内細菌が胆汁酸代謝に与える影響として、通常ラットと無菌ラットの糞便中胆汁酸組成の差を表5に示した。無菌ラットでは胆汁中胆汁酸組成と同じくコール酸とβ-ミュリコール酸が主な胆汁酸であるが、通常ラットでは腸内細菌の影響を受けるため、コール酸に由来する二次胆汁酸であ

表4 胆汁酸代謝と各種疾患との関連性

1. コレステロール代謝異常
2. 肝, 胆道疾患 (胆汁酸合成能, 腸肝循環, 胆石症)
3. 小腸疾患 (吸収障害, 腸内細菌)
4. 大腸疾患 (大腸がん, 下痢)
5. 痔疾患 (胆汁酸吸収阻害?)
6. 胃, 食道疾患 (胆汁酸の逆流?)

表3 糖尿動物における胆汁酸プールサイズの変化

	Alloxan rats		NOD mice	
	Control	DM	Control	DM
Bile acid pool (mg)	70.64	165.39*	7.56	17.11*
Cholic acid group	36.03	148.85	4.23	11.16
Chenodeoxycholic acid group	31.08	1.08	3.26	5.79
CA/CDCA ratio	1.17	13.26*	1.30	1.97*

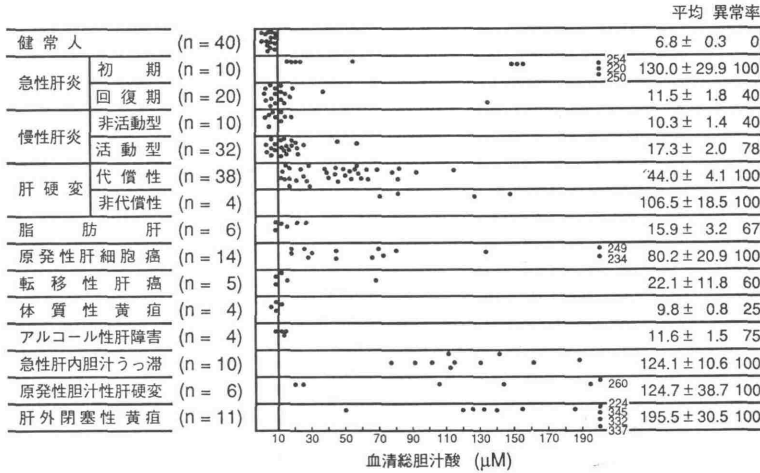


図 13 肝疾患と血中胆汁酸値 (28)

表 5 無菌ラット (GF) および通常ラット (CV) の糞便中胆汁酸組成 (%)

胆汁酸	代謝経路	GF (%)	CV (%)
Cholic acid	3α, 7α, 12α	41	4.0
Chenodeoxycholic acid	3α, 7α	1.4	0
Deoxycholic acid	3α, 12α	0	16
Lithocholic acid	3α	0	1.2
Hyodeoxycholic acid	3α, 6α	0	34
β-Muricholic acid	3α, 6β, 7α	56	2.2
ω-Muricholic acid	3α, 6α, 7β	0	19
Total oxo-bile acids		tr	24

るデオキシコール酸やβ-ミュリコール酸の二次胆汁酸であるヒオデオキシコール酸やω-ミュリコール酸が主たる胆汁酸となる。ちなみに、ω-ミュリコール酸は腸内細菌によりさらに代謝されてヒオデオキシコール酸となる。

各種動物の無菌および通常状態における胆汁中

胆汁酸組成を表 6 に示した。当然のことではあるが無菌状態では二次胆汁酸が認められない。

図 14 は腸内細菌の胆汁酸に対する作用を分類したものであり、表 7 はそれぞれの作用を示すことが報告されている腸内細菌を列記したものである。腸内細菌の作用は、脱抱合反応、脱硫酸抱合反応、脱水酸基反応、酸化および還元反応を含む異性化反応などに分類されるが、脱抱合反応が最も広く多くの腸内細菌に認められる。なお、脱抱合反応の結果生成される遊離胆汁酸に対しては、腸内細菌により生成されたとはいえ、二次胆汁酸とは呼ばない。

腸内細菌のステロールに対する作用を詳しく分類すると図 15 のごとくであるが、重要な反応はΔ⁵の還元反応である。Δ⁵の二重結合が存在するか否かはステロールの吸収に著しく影響し、還元されたステロールはほとんど吸収されない。

表 6 無菌 (GF) および通常 (CV) 動物の胆汁中胆汁酸組成 (%)

胆汁酸	Mouse		Rat		Rabbit		Dog		Human	
	GF	CV	GF	CV	GF	CV	GF	CV	GF	CV
CA	25	53	50	75	94	0	95	84	+	45
CDCA	1.5	0	1	4	1	0	4.6	3.7	+	35
DCA	0	3.5	0	1	0	89	0	12	0	20
allo-CA	—	—	—	—	5	0	—	—	—	—
allo-DCA	—	—	—	—	0	6.4	—	—	—	—
β-MCA	68	38	49	15	0	0	0	0	0	0
HDCA	0	tr	0	3	0	0	0	0	0	0

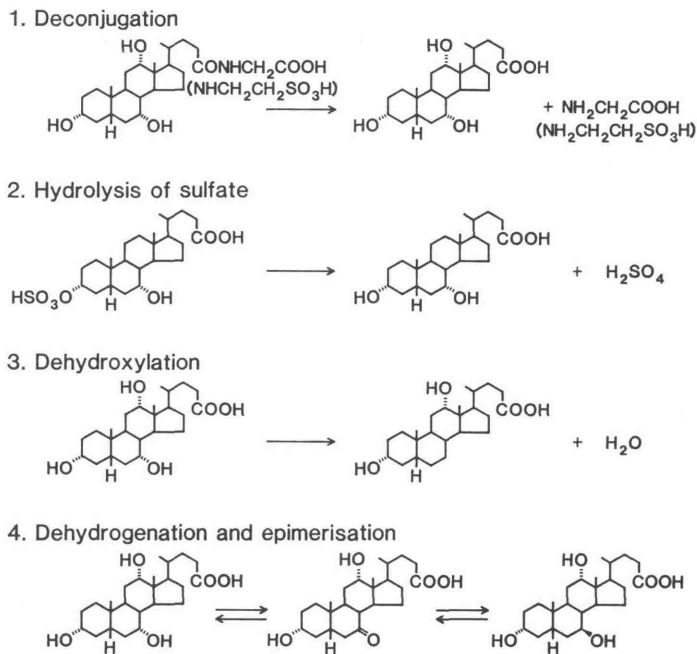


図 14 腸内細菌の胆汁酸に対する作用

表 7 胆汁酸に作用する腸内細菌

Deconjugation	
<i>Bacteroides</i>	Midvedt & Norman, 1967; Shimada et al., 1969
<i>Bifidobacterium</i>	Shimada et al., 1969; Ferrari et al., 1980
<i>Fusobacterium</i>	Shimada et al., 1969; Dickinson et al., 1971
<i>Clostridium</i>	Midvedt & Norman, 1967; Masuda, 1981
<i>Lactobacillus</i>	Gilliland & Speck, 1977
<i>Peptostreptococcus</i>	Dickinson et al., 1971; Kobashi et al., 1978
<i>Streptococcus</i>	Shimada et al., 1969; Kobashi et al., 1978
Dehydrogenation & Epimerization	
<i>Bacteroides</i>	Hylemon & Sherrod, 1975; Edenharter et al., 1976
<i>Eubacterium</i>	Macdonald et al., 1979; Hirano & Masuda, 1981, 1982
<i>Clostridium</i>	Dickinson et al., 1971; Edenharter & Deser, 1981
<i>Bifidobacterium</i>	Aries & Hill, 1970; Ferrari et al., 1980
<i>Lactobacillus</i>	Dickinson et al., 1971; Hirano & Masuda, 1981
<i>Peptostreptococcus</i>	Dickinson et al., 1971; Hirano & Masuda, 1981
<i>Fusobacterium</i>	Midvedt & Norman, 1967
<i>Eschericia</i>	Midvedt & Norman, 1967
Dehydroxylation	
<i>Clostridium</i>	Hayakawa & Hattori, 1970; Stellwag & Hylemon, 1979
<i>Eubacterium</i>	White et al., 1980, 1981

腸内細菌の胆汁酸に対する作用を図示すると図 16 のごとくであるが、主要な反応は図 14 のごとくに分類されることはすでに述べた。しかし、それ以外にアロ型胆汁酸が生成される系なども知ら

れている。硫酸抱合胆汁酸の場合には図 17 に示すごとくさらに特殊な代謝が報告されている。しかし、宿主としての動物の生理反応という点から重要なことは、これら腸内細菌による変換を定量

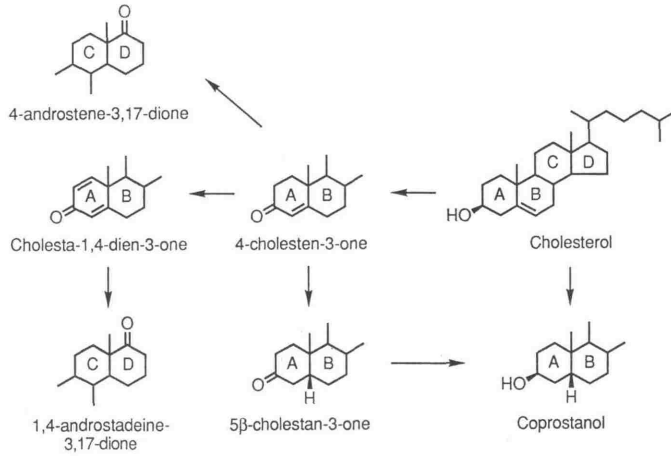


図 15 腸内細菌のコレステロールに対する作用 (15)

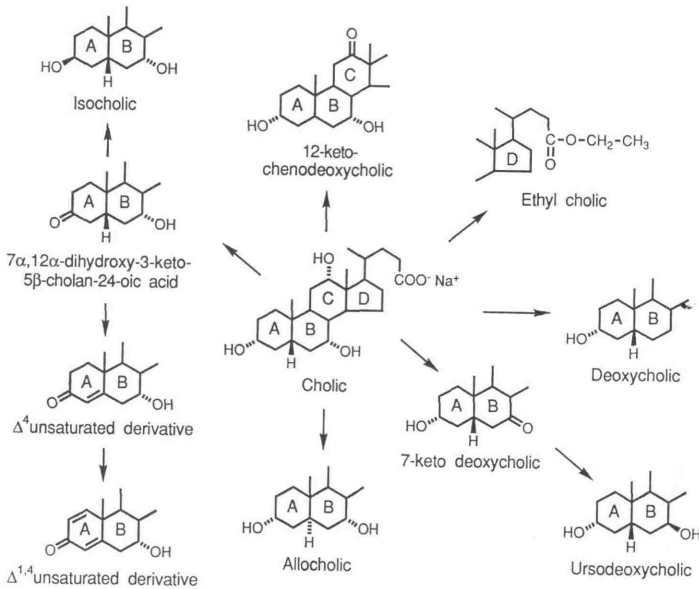


図 16 腸内細菌のコール酸に対する作用 (15)

的に評価することであるが、この点は未だ十分に解析されていない。

表 8 の成績は上述の点に関連する数少ない報告の一例である (7)。すなわち、硫酸抱合のタウロコール酸 (TCA-3-S) やタウロリトコール酸 (TLCA-3-S) は無菌ラット (GF) での体内半減期は短い、脱硫酸抱合能を有する腸内細菌 (*Clostridium* Cl-8+*Clostridium* S₁) を移植したラットでは上述の胆汁酸の半減期が著しく延長すること

を示したものである。

ところで、胆汁酸と深い係わりを持つのは大腸がんである (19, 38, 39)。大腸がんの発症率は脂肪 (動物油および植物油を問わない) の摂取率と高い相関を示し、その原因が胆汁酸生成量の増加にあることはすでに明らかにされている (43)。胆汁酸が大腸がん発症に対し原因因子 (initiator) とはならないが増悪因子 (promotor) として作用することも明らかにされていた。胆汁酸の promotor

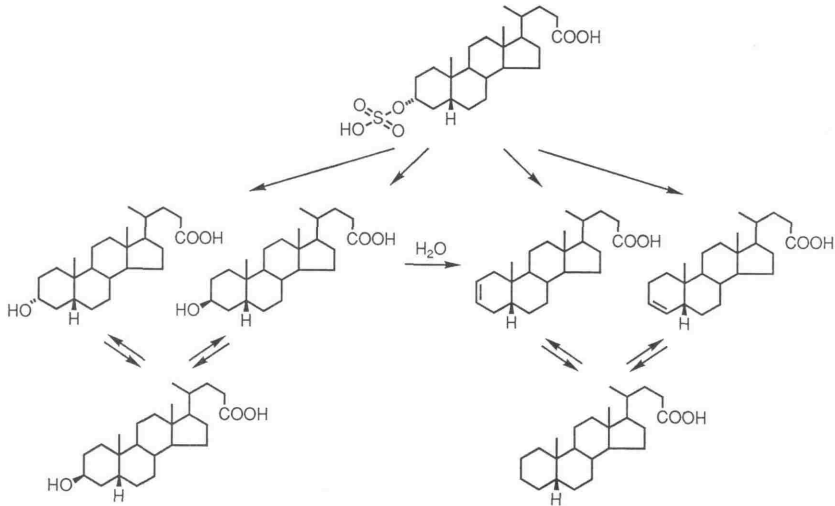


図 17 腸内細菌の硫酸抱合リトコール酸に対する作用 (15)

表 8 無菌 (GF), 通常 (CV) およびノートバイオトラットにおける投与胆汁酸の半減期 (日)

	TCA	TCA-3-S	TLCA	TLCA-3-S
GF rats	14.9	2.7	8.9	2.7
CV rats	6.6	3.1	4.4	1.5
Cl-8	16.9	2.5	8	2.7
S ₁ +Cl-8	13.3	12.2	12.5	11

Cl-8: *Clostridium* Cl-8, S₁: *Clostridium* S₁, TCA: taurocholic acid, TCA-3-S: taurocholic acid 3-sulfate, TLCA: tauroolithocholic acid, TLCA 3-S: tauroolithocholic acid 3-sulfate.

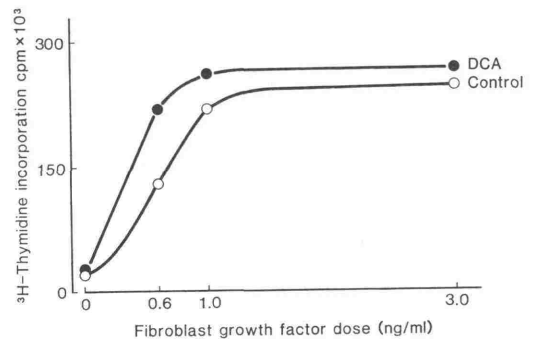


図 19 DNA 合成に対する胆汁酸の作用 (26)

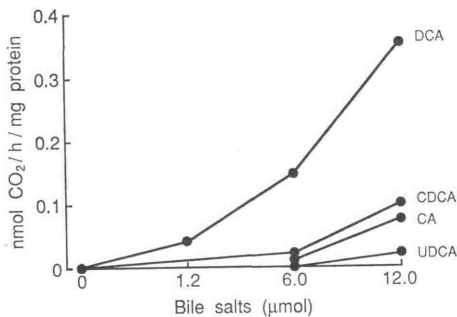


図 18 ラット大腸粘膜のオルニチン脱炭酸酵素活性に対する胆汁酸の影響 (27)

としての作用に胆汁酸の種類による差はあまり見いだされていなかったが, Takano ら (27) は大腸がん発症に関連すると思われるオルニチン脱炭酸酵素活性促進作用がデオキシコール酸に強いこと

を示した (図 18)。これは大腸がん発症に一つの示唆を与える成績である。糖尿病・甲状腺機能低下症もしくは老化といった条件にコレステロール負荷という条件を加えると高コレステロール血症のみならず大腸がんも発症しやすいことになる。なお、コレステロール低下を目的として胆汁酸の再吸収を抑制するためにコlestラミンや酸化アルミニウムも使用されるが、これらの場合にも大腸がんの発症率の増加することが報告されている (20)。

胆汁酸の生理作用として注目すべきものとして高井らの成績がある (26)。図 19 は DNA 合成に対するデオキシコール酸の作用を示したが、胆汁酸の存在下では fibroblast growth factor の用量が低値になる。すなわち、胆汁酸による閾値の低下

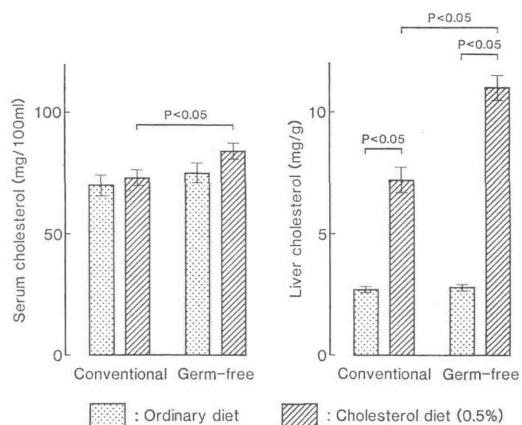


図20 無菌ラットおよび通常ラットの血中および肝コレステロール値に対するコレステロール負荷の影響

がみられることである。高井らは胆汁酸のこの作用をフォスファチジルイノシトール回路の促進効果として説明しているが(26),胆汁鬱滞症のごとく血中胆汁酸値が増加する時にはその影響が予測される。これらの点はさらに詳しく追及されるべき点である。

図20は腸内細菌の有無によるコレステロール代謝の違いを示した成績である。無菌ラットではコレステロール吸収に一番強い促進作用を示すタウロコール酸が残存するため、短期間(3日間)のコレステロール負荷に対して高いコレステロール吸収率を示し、その結果、血中および肝コレステロール値は通常ラットよりも高値を示す。

*In vivo*における腸内細菌の胆汁酸に対する作用を検討するために gnotobiotte ラットを作製し、その胆汁酸組成の変化を調べた。図21は糞便中

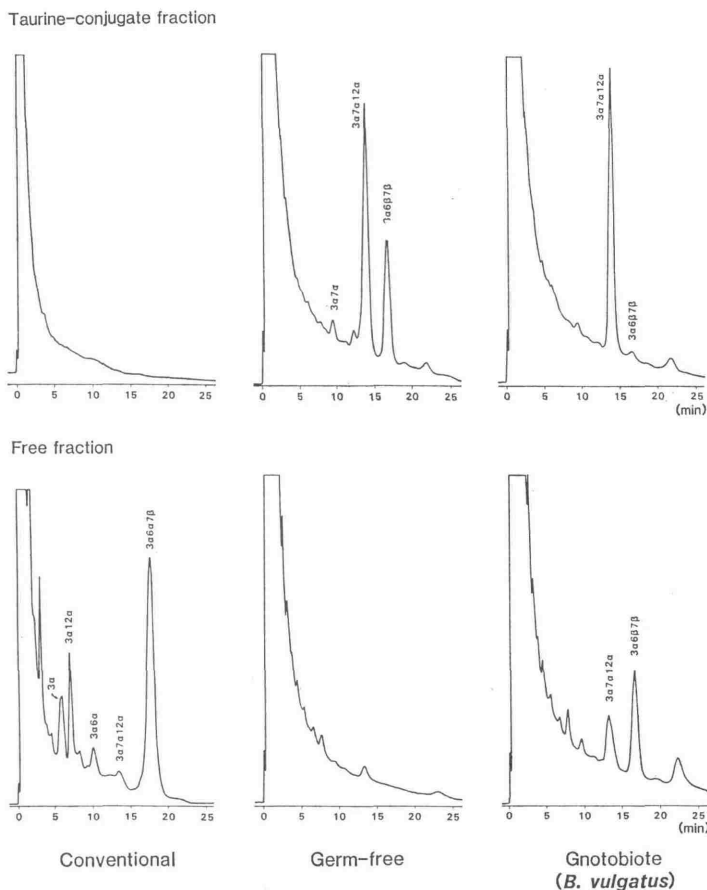


図21 無菌ラットおよびノットバイオラットの糞便中胆汁酸組成

表 9 無菌ラットおよびノートバイオラットの糞便中遊離胆汁酸組成

	Before inoculation		After inoculation (Days 9-10)	
	CA	β -MCA	CA	β -MCA
	<i>B. vulgatus</i>	0	0	2.8
<i>B. longum</i>	0	0	64.2	5.0
<i>E. coli</i>	0	0	0	0
<i>G. ramosum</i>	0	0	57.9	43.1

胆汁酸をタウリン抱合画分および遊離胆汁酸画分に分画し、それぞれのガスクロマトグラフィーによる分析例を示したものである。通常ラットでは腸内細菌が十分に存在するのでほとんどすべてが遊離胆汁酸画分にみられるが、無菌ラットではタウリン抱合胆汁酸画分に一次胆汁酸のみが見いだされる。*B. vulgatus* を移植した gnotobiotte ラットでは二次胆汁酸は見られないが、コール酸は主にタウリン抱合胆汁酸画分に、 β -ミュリコール酸は遊離胆汁酸画分に見いだされた。この成績から、*B. vulgatus* は主に β -ミュリコール酸を脱抱合すると推測された。なお、ラットではグリシン抱合胆汁酸はほとんど存在しない。

そこで4種のヒトでの代表的な優勢菌についてその脱抱合能を同一の手法で検討した結果、表9に示すごとく、*B. vulgatus* が主に β -ミュリコール酸の脱抱合に関与するのに反し、*B. longum* はコール酸の脱抱合に高い活性を示し、*E. coli* は両胆汁酸の脱抱合に活性を示さず、*C. ramosum* は両胆汁酸に活性を示した(4)。このように、胆汁酸に対する作用も腸内細菌の種類により異なることが明らかとなった。また、*Eubacterium* などの腸内細菌はグリシンおよびタウリン抱合胆汁酸を水解するが(17, 24)、Kobashiら(14)は *Peptostreptococcus intermedius* はタウリン抱合胆汁酸を、*Lactobacillus brevis* や *Streptococcus faecalis* II-136 はグリシン抱合胆汁酸をより選択的に水解すると報告している。上述の表9の成績は、腸内細菌による脱抱合能がアミノ酸部分の差によるだけでなく、胆汁酸骨格部分の差によっても異なることを示すものである。

次に、*B. vulgatus* から胆汁酸の水解酵素を部分精製し、その基質特異性を調べた(表10)。この

表 10 抱合胆汁酸水解酵素の基質特異性

Conjugated bile acid	Activity (units/mg protein)	
	CTH ^a	CGH ^b
Taurocholic acid	0.69	15.09
Tauro-7 β -cholic acid	0.11	6.48
Taurodeoxycholic acid	7.56	11.76
Taurochenodeoxycholic acid	24.45	12.25
Tauro- β -muricholic acid	15.15	5.57
Taoursodeoxycholic acid	13.68	8.01
Taurohyocholic acid	5.86	5.96
Taurohyodeoxycholic acid	8.74	4.94
Glycocholic acid	N.D. ^c	43.45
Glyco-7 β -cholic acid	N.D.	20.45
Glycodeoxycholic acid	N.D.	40.61
Glycochenodeoxycholic acid	N.D.	36.04
Glyco- β -muricholic acid	N.D.	15.34
Glycoursodeoxycholic acid	N.D.	25.28
Glychoyocholic acid	N.D.	25.28
Glychoyodeoxycholic acid	N.D.	31.24

^a Chenodeoxycholytaurine hydrolase.

^b Cholyglycine hydrolase. ^c Not detected.

成績(12)から明らかのごとく、市販の cholyglycine hydrazase は特異性が比較的低いが、われわれの得た酵素はタウリン抱合胆汁酸に特異性を示し、特にケノデオキシコール酸に高い活性を示した。したがって、われわれの精製した酵素は chenodeoxycholytaurine hydrazase と呼んで良いのではないかと考えている。市販の cholyglycine hydrazase の基質特異性が低いのは、精製酵素としての特異性が低いのか、複数酵素が混っているのか明らかでない。

おわりに

腸内細菌が宿主動物の生理条件に強く影響していることは想像に難くない。しかし、それがいかなる影響であるかを生化学的に把握することはそれほど容易でない。関連する要因が多いということもあるが、それらを正しく解析すれば腸内細菌叢を制御し、求める状態に持って行くことも可能と思われる。しかし、現時点では未だ関連する現象の探索といった程度の段階にある分野であり、腸内細菌の作用としていくつかの例も示したがそれらも未だ定性的な話であり、定量的に取扱うにはもう少し努力の要する話である。したがって、今後の発展と進歩が望まれしかも期待される分野である。

引用文献

- (1) Admiraud, W.H., and D.M. Small. 1968. The physico-chemical basis of cholesterol gallstone formation in man. *J. Clin. Invest.* **47**: 1043-1052.
- (2) Alme, B., A. Bremmelgaard, J. Sjøvall, and P. Thomassen. 1977. Analysis of metabolic profiles of bile acids in urine using lipophilic anion exchanger and computerized gas-liquid chromatography mass spectrometry. *J. Lipid Res.* **18**: 339-362.
- (3) Bjorkhem, I. 1985. Mechanism of bile acid biosynthesis in mammalian liver, p. 231-278. *In* H. Danielsson and J. Sjøvall (eds.), *Sterols and Bile Acids*, Elsevier Science Publishers B. V, Amsterdam.
- (4) Chikai, T., H. Nakao, and K. Uchida. 1987. Deconjugation of bile acids by human intestinal bacteria implanted in germ-free rats. *Lipids* **22**: 669-671.
- (5) Dietschy, J.M. 1968. Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids. *J. Lipid Res.* **9**: 297-309.
- (6) Duane, W.C., M.L. Gillberstadt, and D.M. Wiegand. 1979. Diurnal rhythms of bile acid production in the rat. *Am. J. Physiol.* **236**: R175-179.
- (7) Eyssen, H., J. van Eldere, G. Parmentier, S. Huughebaert, and J. Mertens. 1985. Influence of microbial bile salt desulfation upon the fecal excretion of bile salts in gnotobiotic rats. *J. Steroid Biochem.* **22**: 547-554.
- (8) Hoshita, T. 1985. Bile alcohols and primitive bile acids, p. 279-302. *In* H. Danielsson and J. Sjøvall (eds.), *Sterols and Bile Acids*, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- (9) Ishikawa, Y., K. Uchida, and T. Akiyoshi. 1984. Increased biliary cholesterol secretion in alloxan diabetic mice. *Jpn. J. Surg.* **14**: 174-183.
- (10) Javitt, N.B. 1976. Hepatic bile formation. *N. Engl. J. Med.* **295**: 1464-1469.
- (11) 金村 稔. 1982. 胆汁酸吸収および胆汁酸代謝に関する実験的研究. *日外会誌* **83**: 677-690.
- (12) Kawamoto, K., I. Horibe, and K. Uchida. 1989. Purification and characterization of a new hydrolyase for conjugated bile acids, chenodeoxy cholytaurine hydrolase, from *Bacteroides vulgatus*. *J. Biochem.* **106**: 1049-1053.
- (13) 木谷健一. 1980. いわゆる有機陰イオンによる浸透圧性利胆機構への疑問—胆汁酸依存胆汁を中心として. *肝臓* **21**: 1710-1712.
- (14) Kobashi, K., I. Nishizawa, T. Yamada, and J. Hase. 1978. A new hydrolase specific for taurine conjugates of bile acids. *J. Biochem.* **84**: 495-497.
- (15) Macdonald, I.A., V.D. Bokken Heuser, J. Winter, A.M. McLernon, and E.H. Mosbach. 1983. Degradation of steroids in the human gut. *J. Lipid Res.* **24**: 675-700.
- (16) Makino, I., J. Sjøvall, A. Norman, and B. Strandvik. 1971. Excretion of 3 β -hydroxy-5-cholenoic and 3 α -hydroxy-5 α -cholanoic acids in urine of infants with biliary atresia. *FEBS Lett.* **15**: 161-164.
- (17) Midtvedt, T., and A. Norman. 1967. Bile acid transformations by microbial strains belonging to genera found in intestinal contents. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **71**: 629-638.
- (18) 村田宣夫, 別府倫兄, 出月康夫. 1985. 肝における胆汁酸抱合機転. *生体の科学* **36**: 132-138.
- (19) 成澤富雄. 1990. 胆汁酸と発癌. *クリニカ* **17**: 512-516.
- (20) Nigro, N.D., N. Bhadrachari, and C. Chomchai. 1973. A rat model for studying colonic cancer: effect of cholestyramine on inducing tumor. *Dis. Colon. Rectum.* **16**: 438-443.
- (21) Setoguchi, T., G. Salen, G.S. Tint, and E.H. Mosback. 1974. A biochemical abnormality in cerebrotendinous xanthomatosis. *J. Clin. Invest.* **53**: 1393-1401.
- (22) Schalm, S.W., N.F. Larusso, A.F. Hofmann, N.E. Hoffman, C.P. van Berge-Henegouwen, and M.G. Korman. 1978. Diurnal serum levels of primary conjugated bile acids. *Gut* **19**: 1006-1014.
- (23) Schersten, T. 1971. Relationship between the biliary excretion of bile acids and the excretion of water, lecithin, and cholesterol in man. *Eur. J. Clin. Invest.* **1**: 242-247.
- (24) Shimada, K., K.S. Bricknell, and S.M. Finegold. 1969. Deconjugation of bile acids by intestinal bacteria: review of literature and additional studies. *J. Infect. Dis.* **119**: 273-281.
- (25) Strand, O. 1963. Effects of D- and L-triiodothyronine and of propylthiouracil on the production of bile acids in the rat. *J. Lipid Res.* **4**: 305-311.
- (26) 高井義美, 貝淵弘三, 津田晃孝, 山下孝之, 菊地章, 谷本徹二, 星島正彦. 1986. 細胞増殖因子と発癌プロモーターによる c-myc 遺伝子の活性化機構. *癌と化学療法* **13** (part II): 798-805.
- (27) Takano, S., M. Matsushima, E. Erturk, and G.T. Bryan. 1981. Early induction of rat colonic epithelial ornithine and A-adenosyl-L-methionine decarboxylase activities by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or bile salts. *Cancer Res.* **41**: 624-628.
- (28) 田中直見, 松崎靖司, 正田純一, 大菅俊明. 1990. 胆汁酸組成からみた肝・胆道疾患. *クリニカ* **9**: 506-511.
- (29) 内田清久, 門脇真澄. 1977. 胆汁と胆汁酸の比較生化学. *代謝* **14**: 199-210.
- (30) Uchida, K., Y. Nomura, M. Kadowaki, H. Takase, K. Takano, and N. Takeuchi. 1978. Age-related changes in cholesterol and bile acid metabolism in rats. *J. Lipid Res.* **19**: 544-552.
- (31) Uchida, K., H. Takase, M. Kadowaki, Y. Nomura,

- T. Matsubara, and N. Takeuchi. 1979. Altered bile acid metabolism in alloxan diabetic rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **29**: 553-562.
- (32) 内田清久, 遠藤友一郎. 1980. 胆汁うっ滞と胆汁酸代謝 **17**: 119-130.
- (33) 内田清久, 高瀬治登. 1980. 胆汁酸代謝とホルモン. *Tokyo Tanabe Quarterly* **31**: 217-227.
- (34) 内田清久. 1981. 腸管循環, 消化管, 機能と病態. 織田敏次, 岡 博編, p. 413-422. 中外医学社, 東京.
- (35) Uchida, K., Y. Nomura, H. Takase, S. Makino, M. Koga, N. Takeuchi, and Y. Ishikawa. 1982. Age-related changes in cholesterol and bile acid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **1**: 171-191.
- (36) 内田清久. 1984. 胆汁酸代謝の変化と成人病および腸内フローラとの関連性について. 腸内フローラと成人病. 光岡知足編, p. 65-100. 学会出版センター, 東京.
- (37) Uchida, K., S. Makino, and T. Akiyoshi. 1985. Altered bile acid metabolism in non obese, spontaneously diabetic (NOD) mice. *Diabetes* **34**: 79-83.
- (38) 内田清久. 1986. 腸内細菌による胆汁酸の変換と毒性. *トキシコロジーフォーラム* **9**: 151-159.
- (39) 内田清久, 石川羊男. 1987. 胆汁酸の代謝と毒性—大腸癌のプロモーター—. *トキシコロジーフォーラム* **10**: 601-609.
- (40) 内田清久, 市橋輝久. 1989. 胆汁酸におけるヒトと動物の違い. *臨床栄養* **75**: 575-582.
- (41) Uchida, K., T. Chikai, H. Takase, Y. Nomura, S. Seo, H. Nakao, and N. Takeuchi. 1991. Age-related changes of bile acid metabolism in rats. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **10**: 37-48.
- (42) 山村雄一, 遠藤友一郎, 内田清久. 1982. 肝疾患と胆汁酸の代謝. *新内科学大系追補* **2**: 80-130.
- (43) Wynder, E.L. 1977. The epidemiology of large bowel cancer. *Cancer Res.* **35**: 3388-3394.
- (44) Yamasaki, K. 1971. Vierzig Jahre Studien über die Gallensauren. *Yonago Acta Med.* **15**: 171-187.