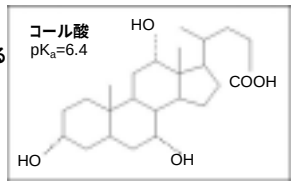
ビフィズス菌におけるコール酸蓄積の発見とプロバイオティクスメカニズム

ペーター・カルディ[1]、浅野行蔵[2]、冨田房男[2]、横田　篤[3]
[1]NOASTEC財団、[2]北大院・農・応用菌学分野、[3]北大院・農・微生物資源生態学分野

1 背景と目的

★ コール酸 (CA) が ビフィズス菌の生理に与える影響については十分に理解されてない
★ 多くのプロバイオティクスの作用メカニズムは解明が不十分

▶ ビフィズス菌と胆汁酸との相互作用について調べた



- 血清コレステロール低下
- 大腸ガン発症リスクの低減

胆汁酸は脂質代謝に関与
二次胆汁酸は大腸ガンの発症を促進する

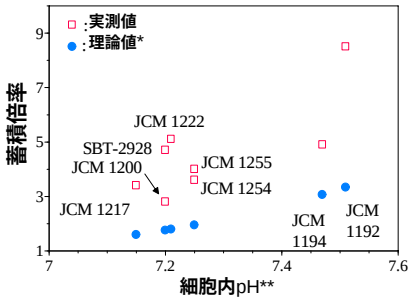
2 ビフィズス菌におけるコール酸輸送実験

株	起源	蓄積倍率*
Bifidbacterium breve JCM 1192	Intestine of infant	8.5
B. catenulatum JCM 1194	Human faeces	4.9
B. pseudocatenulatum JCM 1200	Feces of infant	2.8
B. longum SBT-2928	Human intestine	4.7
B. longum JCM 1217	Intestine of adult	3.4
B. infantis JCM 1222	Intestine of infant	5.1
B. bifidum JCM 1254	Intestine of adult	4.0
B. bifidum JCM 1255	Feces of infant	3.6
B. adolescentis JCM 7046	Intestine of adult	2.7

*グルコースでエネルギー化した後の細胞外コール酸濃度 (0.116 mM) と細胞内コール酸濃度の比率

- 全てのビフィズス菌試験株においてコール酸の蓄積が認められた

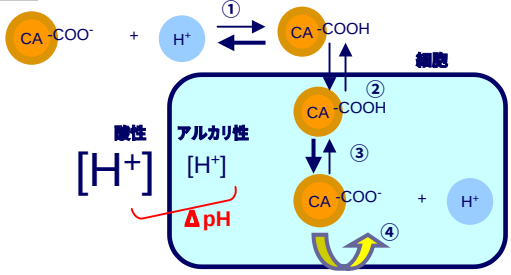
3 ビフィズス菌におけるコール酸の蓄積量と細胞内pHとの相関性



*蓄積倍率の理論値は、測定した細胞内pHの値からHenderson-Hasselbalchの式: $pH=pK_a+\log([A^-]/[HA])$ を使って算出した
**細胞内pHは蛍光プローブcFSEによって測定した

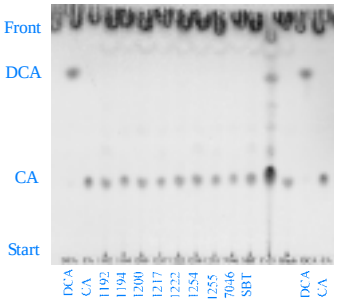
- 理論値は実測値とよく符合した
- コール酸の蓄積はタンパク質キャリアーによって仲介されていないこと、また、コール酸蓄積の駆動力が細胞内外のプロトン濃度勾配 (ΔpH) によることが示唆された (これはイオノフォア実験及び、膜電位差ΔΨの測定によっても証明された (データ省略))

4 コール酸蓄積のメカニズム



①コール酸は与えられたpH環境ではHenderson-Hasselbalchの式に従って解離する
②非解離型のコール酸は細胞膜を通過することができる
③ビフィズス菌をエネルギー化すると細胞内はアルカリ性になるため、細胞内のコール酸の解離度は細胞外のコール酸に比べて増大する
④生じたコール酸アニオンはその極性により細胞内に捕そくされる

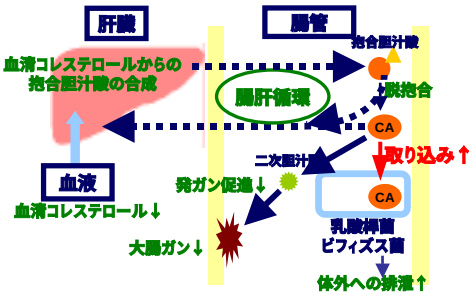
5 ビフィズス菌はコール酸を代謝しない



0.15 mMのコール酸を含むMRS培地で48時間培養後、培養液を酢酸エチル抽出し、薄層クロマトグラフィー分析した (DCA: デオキシコール酸、C-25: ポジティブコントロールとしての*Eubacterium*株、Blank: 培地のみ)

- ビフィズス菌はコール酸をデオキシコール酸などの二次胆汁酸に変換しない

6 プロバイオティクスメカニズムとの関連性



- 大腸においてビフィズス菌がコール酸を蓄積することによって次のような効果が期待される:
  - 大腸がん発症リスクの低減
  - 血清コレステロールの低下

7 結論

- エネルギー化したビフィズス菌はΔpHを駆動力として細胞内にコール酸を蓄積する
- ビフィズス菌は細胞内に取り込んだコール酸を代謝せず、従って二次胆汁酸を生成しない
- 新たに見出されたコール酸蓄積現象は、宿主の胆汁酸代謝に影響を与え、プロバイオティクス機構の重要因子を成している可能性がある