

# 胆汁酸の話

## — 腸内細菌との関係及び関連する問題 —

内田清久、小倉嘉夫

神戸女子大学 家政学部

### Bile Acids

#### — Intestinal Bacteria on Bile Acids, and Related Topics —

Kiyohisa UCHIDA, Yoshio OGURA

*Laboratory of Nutritional Science,  
Faculty of Home Economics, Kobe Women's University, Suma, Kobe 654-8585*

#### 1. はじめに

コレステロールは良く知られているが、胆汁酸というとあまり知られていないのではないだろうか。

コレステロールは細胞膜の構成成分として生体に必須のもので<sup>1)</sup>、コレステロールが無いと生物は生きていけない。多くの動物はコレステロールを自身で生合成し、同時に食事からも摂っている。しかし、昆虫は一般的にコレステロールを生合成出来ないで餌から摂取出来ないと死んでしまう<sup>2)</sup>。

哺乳動物では、男性ホルモン、女性ホルモン、副腎皮質ホルモン、あるいは、ビタミンDなどがコレステロールから生成されるが、これらに変換されるコレステロール量はわずかで、ヒトの一日当りのステロイドホルモンの生成量は50 mg程度である。一部のコレステロールは脱落細胞(腸上皮細胞や皮膚)の一部として体外に排泄されるが、体内のコレステロールの大部分は胆汁酸に変換され、ヒトでの一日当りの胆汁酸生合成量は300~600 mgである。そして生成された胆汁酸は食事として摂取したコレステロールを含めた脂肪や脂溶性ビタミンなどの吸収に不可欠なものであり、同時に生体のコレステロール代謝の調節をコントロールするという役割を担っている。つまり、胆汁酸代謝はコレステロール代謝と表裏一体をなすものである。なお、糞便中に排泄されるステロール(コレステロールとコプロスタノール)は成人で一日当たり600~1300 mg位であるが<sup>3)</sup>、これは吸収されなかった食事由来のコレステロール、胆汁中に分泌されたコレステロール、および脱落腸上皮細胞(一日当たり200 mg程度)に含有されるコレステロールの総和である。コレステロールは腸内細菌により一部はコプロスタノールに変換されるのでコレステロール総量を示す場合にはそれも加算しなければならない。食事に由来する植物ステロールも糞便中に排泄されるが、これは生体のコレステロール代謝とは別である。

#### 2. 胆汁酸の腸肝循環

胆汁酸は肝でコレステロールから生合成される。生合成経路は古くから研究されてきたが、図1に示すように、最初にコレステロールの7 $\alpha$ 位が水酸化される経路(Neutral pathway)と側鎖の27位が水酸化される経路(Acidic pathway)が主な経路である<sup>4,5)</sup>。

胆汁酸は炭素数24であるが、爬虫類、両生類などにはC27の胆汁酸が存在する。これは高級胆汁酸と呼ばれている。また、魚類などには側鎖末端のカルボキシル基が水酸基の胆汁アルコールも存在する<sup>6)</sup>。

肝で生合成された胆汁酸は主にタウリンあるいはグリシンと抱合し胆汁中に分泌され、胆嚢中に蓄えられる。蓄えられている間に20～30倍にも濃縮されるが、食事の摂取に伴い胆嚢は収縮し、胆汁は十二指腸に分泌される。そして、食事の脂質とミセルを形成し、その吸収を促進する。消化管内の胆汁酸は主に回腸末端から能動的に吸収されるが、一部は消化管全域、すなわち、空腸、回腸、及び、大腸からも受動的に吸収され、門脈を介して肝に戻り、再び胆汁中に分泌される。これが胆汁酸の腸肝循環である<sup>7)</sup>。胆汁中に分泌された胆汁酸の95-98%は吸収されるが、一部は糞便中に排泄される。日本人では一日当たりたかだか300 mg程度であり、これは肝での生合成量に相当する。体内の胆汁酸総量をプールサイズと呼んでいるが、その量は成人で2-4 gである。一方、一日当りの胆汁酸分泌量は20-40 gであるので、胆汁酸分子は一日に何度も再利用されている事になる。胆汁酸分泌量を胆汁酸プールサイズで除した値が回転数であるが、胆汁酸は一日当たり10回前後腸肝循環を行っていることになる。

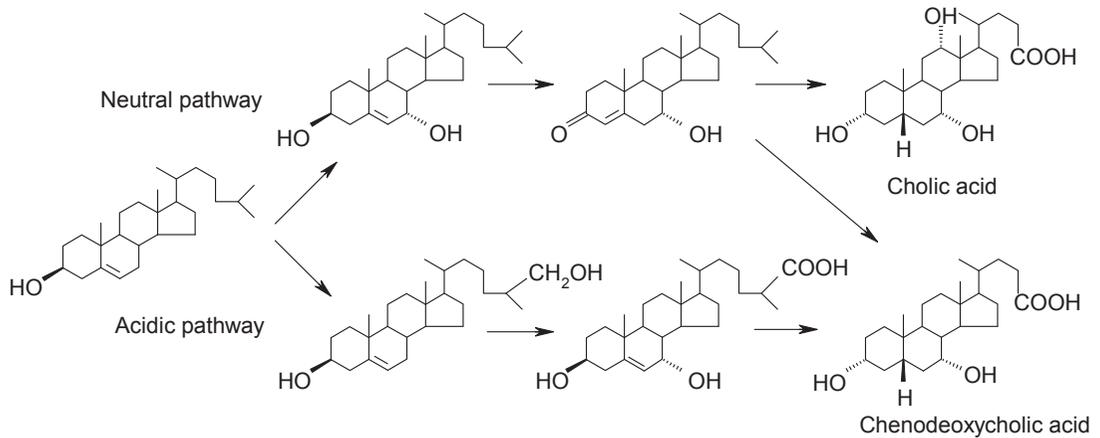


図1. 胆汁酸の生合成経路

以上が胆汁酸代謝の概略であるが、胆汁酸の重要な生理作用は、一つは脂質吸収促進作用であり、もう一つはコレステロール代謝調節作用である。胆汁酸の生合成量がコレステロール代謝にも大きく影響するからである。

胆汁酸は腸肝循環を行うので、腸管内で腸内細菌の影響を受ける事になる。動物での実験であるが、図2に示すように腸内細菌が無ければ確かに寿命は延びる<sup>8)</sup>。しかし、そのようなことはヒトでは無いので、腸内細菌の存在を無視する訳にはいかない。腸内細菌叢は個体差が大きい、一旦定着するとその個体ではかなり恒常的である。しかし、それも加齢、食事、あるいは生活習慣などで徐々に変化する。したがって、生体のコレステロール・胆汁酸代謝を扱う時は腸内細菌の動向に

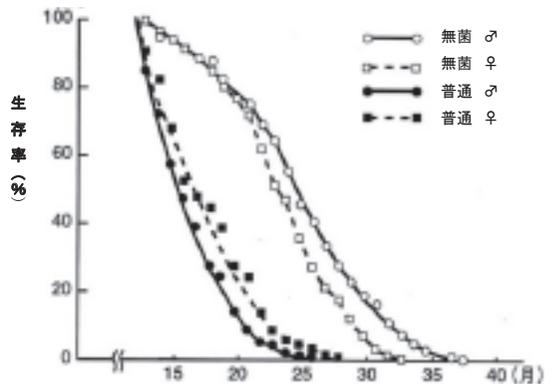


図2. 無菌マウスと通常マウスの寿命の比較<sup>8)</sup>

も留意しなければならない。腸内細菌の数は一人当たり約 $10^{14}$ ヶ、重量では1.5kgと推測されている。種類は400-500種と言われているが、正確には不明である。しかし、この重量はヒトの肝臓にも匹敵し、それに相当する生理活性を示すという事もできる。そこで、胆汁酸代謝に影響する腸内細菌の作用と、それに関連するいくつかの成績をまとめてみたい。

### 3. 胆汁酸の抱合

腸内細菌の作用を述べる前に、胆汁酸の抱合について述べておきたい。

胆汁酸の抱合はC24のカルボキシル基とタウリンやグリシンとのアミド結合<sup>9)</sup>が普遍的な抱合反応であるが、その他に、硫酸抱合<sup>10)</sup>や、グルクロン酸<sup>11)</sup>、グルコース<sup>12)</sup>、N-アセチルグルコサミン<sup>13,14)</sup>、あるいは、ガラクトース<sup>15)</sup>などとの抱合も知られている。硫酸抱合は水酸基とのエステル結合であるが、糖は $1\beta$ -D-グリコサイドの型を取る抱合で、胆汁酸のステロイド核とはエーテル結合である。グルクロン酸<sup>16)</sup>やガラクトース<sup>15)</sup>はカルボキシル基とエステル結合もする。なお、硫酸抱合やグルクロン酸抱合は胆汁鬱滞症などで増加する事が知られている<sup>17,18,19,20)</sup>。

硫酸抱合もグルクロン酸抱合も極性の低い胆汁酸ほど抱合反応を受け易い<sup>21,22)</sup>。硫酸抱合は3位水酸基との反応が優位であるが、その他の水酸基でも起こる。グルクロン酸との抱合は6 $\alpha$ -水酸基が他の水酸基との反応よりも遥かに優位である<sup>23,24,25)</sup>。グルコースとの抱合は3 $\alpha$ 水酸基との反応が優位である<sup>26)</sup>、6 $\alpha$ 水酸基とも反応する。一方、N-アセチルグルコサミン抱合は7 $\beta$ 水酸基にほぼ特異的である<sup>13,26,27)</sup>。

硫酸抱合胆汁酸は硫酸非抱合型に較べると腎クリアランスが極めて高く<sup>19)</sup>、硫酸抱合胆汁酸は、そしてグルクロン酸抱合胆汁酸も、尿中に排泄され易い<sup>20)</sup>。しかし、肝硬変患者で胆汁中排泄量と尿中排泄量を比較すると、硫酸抱合型は9:1、グルクロン酸抱合型では226:1なので胆汁中への排泄も重要な排泄経路である<sup>28)</sup>。胆管結紮ラットでは尿中胆汁酸排泄量が著しく増加し、硫酸抱合胆汁酸排泄量も増加するが、ラットでは硫酸抱合胆汁酸量は少なく、総量の1%程度である<sup>29)</sup>。また、硫酸抱合胆汁酸の回腸からの吸収率は低く、非抱合胆汁酸、3位硫酸抱合胆汁酸、7位硫酸抱合胆汁酸、3,7位硫酸抱合胆汁酸の順で低くなる<sup>30)</sup>。ラット肝は非抱合型リトコール酸の6位あるいは7位を水酸化するが、硫酸抱合型あるいはグルクロン酸抱合型のリトコール酸では起こらない<sup>31)</sup>。

### 4. 腸内細菌の胆汁酸に対する作用

腸内細菌の胆汁酸に対する作用を大別すると、脱抱合反応、脱水酸化反応、脱水素化・水素化反応(酸化・還元反応、あるいは、異性化反応)などである(図3)。その結果、体内には肝で生合成された胆汁酸以外に多種類の胆汁酸が存在する事になる。

どの腸内細菌がどんな作用をするか、については多くの報告が有る。胆汁酸を変換する腸内細菌の一覧表を作る事は可能であり、筆者の手元にも有るが、同じ属・種の菌でも菌株で性質が異なるので<sup>32,33)</sup>、その作業は労多くしての感を免れない。しかし、これに関しては以下の総説あるいは論文が参考になる<sup>34,35,36,37,38)</sup>。

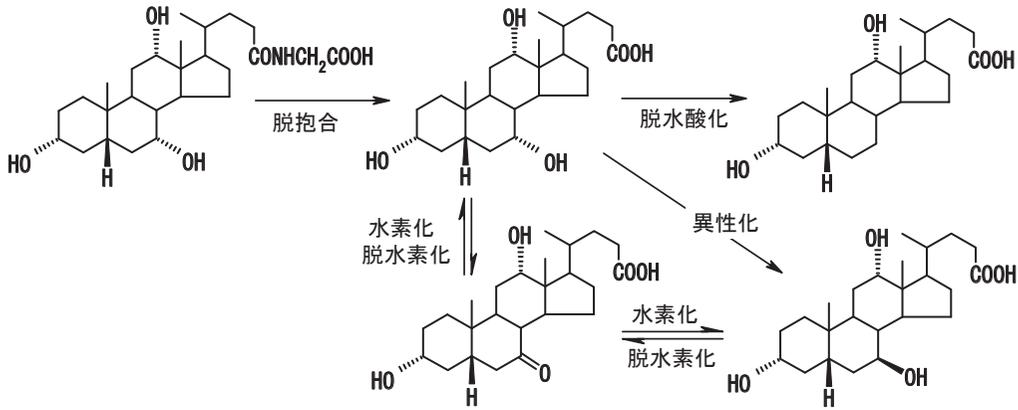


図3. 腸内細菌の胆汁酸に対する作用

#### 4-1. 腸内細菌による胆汁酸脱抱合反応

##### 4-1-1. アミド結合抱合胆汁酸の水解

一般的に脱抱合活性と呼ばれているアミド結合抱合胆汁酸の水解酵素活性は、*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*などに属する多くの腸内細菌に活性が認められるが<sup>36,37,39</sup>、その活性は菌株や基質としての胆汁酸の種類によりかなり異なる。*C. perfringens*由来の酵素はグリシン抱合もタウリン抱合も水解するが<sup>40,41,42</sup>、*L. brevis*や*S. faecalis*の酵素はグリシン抱合に活性が高く、タウリン抱合にはほとんど活性がない<sup>39</sup>。また、*B. vulgatus*の酵素はタウリン抱合型のケノデオキシコール酸に特異性が高い<sup>41,43</sup>。

表1に我々が単離した*B. vulgatus*由来の酵素を市販の*C. perfringens*由来の酵素と比較した成績を示す。*B. vulgatus*由来の酵素(CTH)はタウロケノデオキシコール酸に特異性が高いが、*C. perfringens*由来の酵素(CGH)はグリシン抱合型胆汁酸もタウリン抱合型胆汁酸も水解する<sup>43</sup>。なお、表1の成績については酵素標品の精製度が違うので両酵素の活性の強さは比較できない。

表1. 腸内細菌による水解酵素活性の基質特異性<sup>43)</sup>

	CTH		CGH	
	タウリン抱合	グリシン抱合	タウリン抱合	グリシン抱合
	(μ mol/mg protein)			
CA	0.69	nd	15.09	43.45
DCA	7.56	nd	11.76	40.61
CDCA	24.45	nd	12.25	36.04
UDCA	13.68	nd	8.01	25.28

CTH: Chenodeoxycholytaurine hydrolase, CGH: Cholyglycine hydrolase

上述の成績はin vitroのものであるが、図4は無菌ラットに種々の腸内細菌を接種し、内因性のタウロコール酸、及び、タウロβ-ムリコール酸の脱抱合率を検討した成績である<sup>44</sup>。*B. vulgatus*はタウロβ-ムリコール酸を効率よく水解したがタウロコール酸には作用が無く、*B. longum*は逆にタウロコール酸に活性を示したがタウロβ-ムリコール酸には作用が弱かった。*C. ramosum*は両胆汁酸に

活性を示したが、*E. coli* には作用がみられなかった。*P. productus* や *L. gasseri* は両者に活性を示すもののタウロコール酸に対して作用がやや強かった。このように脱抱合活性は細菌の種類により基質特異性や活性の強さが異なる。

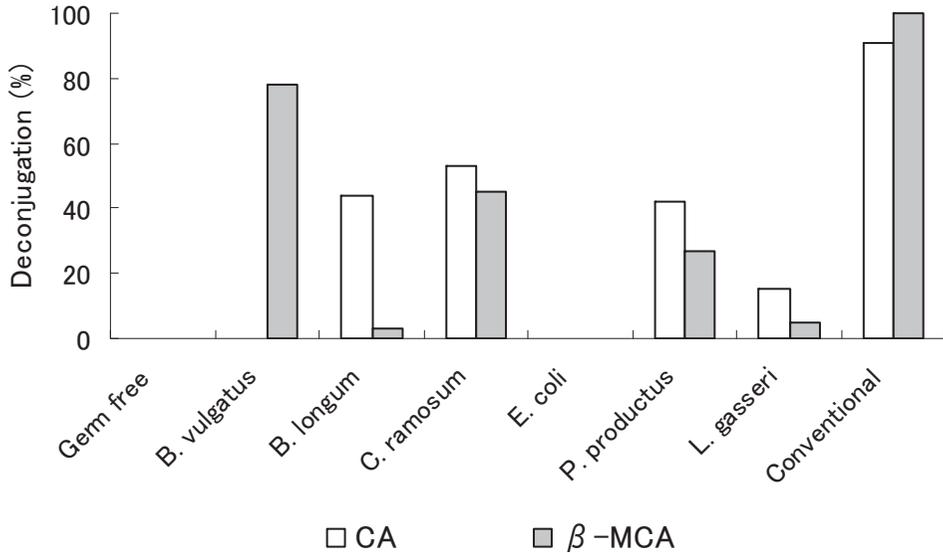


図4. ノートバイオトラットにおけるタウロコール酸 (TCA) および  
タウロ $\beta$ -ミュリコール酸 (T $\beta$ -MCA) の脱抱合率 (%)<sup>44)</sup>

*Bacteroides vulgatus*や*Clostridium ramosum*などで内因性の抱合胆汁酸が脱抱合される時、 $\beta$ -ミュリコール酸の側鎖は不飽和化されて $\Delta^{22}$ - $\beta$ -ミュリコール酸が生成されるがコール酸では起こらない<sup>44)</sup>。どのようにして不飽和化が起こるのか、なぜ $\beta$ -ミュリコール酸のみに不飽和化が起こるのか不思議な現象と思われたが、この現象もある程度は推測できる。すなわち、ウルソデオキシコール酸や $\beta$ -ミュリコール酸などの7 $\beta$ -OHを持つ遊離胆汁酸はラット肝のペルオキシソームで $\Delta^{22}$ が不飽和化されるが<sup>45,46)</sup>、この変換はタウリン抱合型では起こらない<sup>47,48)</sup>。従って、上述の成績は、内因性のタウロ- $\beta$ -ミュリコール酸が腸内細菌により脱抱合され、遊離型の $\beta$ -ミュリコール酸が吸収された後に肝ペルオキシソームで側鎖の不飽和化を受けて胆汁中に排泄され、それが糞便中に検出されたものと解される。しかし、7 $\beta$ 位に水酸基を持つ胆汁酸はなぜ $\Delta^{22}$ が不飽和化されるのであろうか。この変換がペルオキシソームで起こる事から脂肪酸の $\beta$ -酸化に対比し得るし、側鎖が短くなる事も推測されるが、未だその成績はみられない。

#### 4-1-2. 硫酸抱合胆汁酸の水解

硫酸抱合胆汁酸の腸内細菌による脱硫酸化に関しては*Pseudomonas aeruginosa*<sup>49)</sup>、*Clostridium* st.<sup>50,51,52)</sup>、*Peptococcus niger*<sup>52)</sup>などに活性が報告されている。活性にも基質特異性が見られ、*Clostridium* st. S1はリトコール酸、イソリトコール酸、アロイソリトコール酸の3位-硫酸抱合を脱硫酸化するが、*Clostridium* st. S2はイソリトコール酸やアロイソリトコール酸には活性を示さない。また、両者とも7 $\alpha$ -や12 $\alpha$ -硫酸抱合には活性を示さない<sup>52)</sup>。ヒト糞便の培養実験でも3位硫酸抱合胆汁酸は脱硫酸化され、さらに、3位水酸基の異性化や $\Delta^2$ あるいは $\Delta^3$ 不飽和化も起こるが<sup>50,53)</sup>、7位や12位の硫酸抱

合は水解を受けない<sup>54,55)</sup>。腸内細菌が3位の硫酸抱合に対してのみ活性があり7位や12位の抱合型には作用しない現象は、ヒトのみならずラットやマウスでも見られる<sup>56)</sup>。

硫酸抱合胆汁酸の吸収は非抱合胆汁酸に較べると遥かに低いので、腸内細菌による脱硫酸化が起こると、投与した硫酸抱合胆汁酸の体外排泄時間は長くなる<sup>30,57)</sup>。

#### 4-1-3. グリコシド抱合胆汁酸の水解

グルクロン酸、グルコース、N-アセチルグルコサミンなどが抱合した胆汁酸に対する腸内細菌の脱抱合活性についての報告は少ないが、一般的に3位抱合胆汁酸に対する活性が高い<sup>58)</sup>。一方、p-nitrophenyl glycoside<sup>59)</sup>や、天然物配糖体の水解活性に関しては*Escherichia coli*の他に*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Lactobacillus*、*Peptococcus*、*Streptococcus*など、多くの腸内細菌に報告されている。また、*Bifidobacterium longum*にはガラクトシダーゼ活性が報告されている<sup>59,60)</sup>。グルコシダーゼ、グルクロニダーゼ、あるいは、ガラクトシダーゼの基質特異性がどうか判らないが、胆汁酸に対しても活性を示しているかもしれない。

#### 4-2. 胆汁酸の脱水酸化反応

胆汁酸の脱水酸化反応は主に7 $\alpha$ 位の水酸基に起こるが、その結果生成されるデオキシコール酸やリトコール酸は細胞障害作用が強いため、生体にとって重要な反応である。

7 $\alpha$ -脱水酸化活性を持つ菌はかなり限られており、同じ属の細菌でも活性が有る、あるいは、無いと意見が分かれるが、一般的には、*Eubacterium*属、及び*Clostridium*属の菌に活性が報告されている。これは分類学上の問題であるが、今まで*Eubacterium*属、あるいは、*Clostridium*属とされている菌も、16S rDNAの比較では類似の遺伝子を持つので*Clostridium*属として統一できると考えられ<sup>61)</sup>、従って、7位脱水酸化活性をもつ腸内細菌は*Clostridium*属に限られると云えるかもしれない<sup>62)</sup>。

腸内細菌による脱水酸化反応は抱合型でも起こるとする報告も有るが<sup>63)</sup>、多くの報告は抱合型では起こらず脱抱合され遊離型の胆汁酸となつてはじめて起こるとしている<sup>64,65)</sup>。我々も遊離型のみが脱水酸化反応の基質になると考えている<sup>66)</sup>。一方、タウリンあるいはタウリン抱合胆汁酸は腸内細菌による7 $\alpha$ -脱水酸化反応を促進するが、それはタウリンから生成される硫化水素(H<sub>2</sub>S)が成長因子になるらしい<sup>67)</sup>。

*Clostridia* (Fusiform bacteria)はラット・マウスに見出される細菌で、菌数も10<sup>10</sup>/gと多い菌である<sup>68)</sup>。この菌は脱水酸化活性と脱抱合活性を併せ持つので、無菌ラットに接種すると単独接種でもデオキシコール酸の生成が見られる<sup>69)</sup>。

##### 4-2-1. 7 $\alpha$ -脱水酸化増強作用

腸内細菌の作用は、添加した胆汁酸の変化を培養系で検討する方法、無菌動物に接種してその内因性胆汁酸の変化から検討する方法、さらには、ヒトあるいは通常動物の糞便中胆汁酸組成および腸内細菌叢の比較から推測する方法もある。生体内では腸内細菌相互の作用、腸上皮細胞の関与、あるいは生体、特に肝の胆汁酸代謝活性などが影響して、培養系で得られた成績と生体系で得られる成績が一致しない事は度々起こる。例えば、腸内細菌によるケノデオキシコール酸の変換をラットあるいはマウスを用いてin vivoで検討すると、ケノデオキシコール酸が肝で速やかにミュリコール酸に変換されてしまうので、腸内細菌による変換を容易には知る事が出来ない。

さらに、培養系における*Eubacterium* sp. C-25の7 $\alpha$ -脱水酸化反応は、その活性を持たない*Bacteroides distasonis* K-5と共に培養すると、脱水酸化活性は著しく亢進する<sup>70)</sup>。一方、in vitroでは7 $\alpha$

-脱水酸化活性を示す*Clostridium* sp. TO-931を上記の*Bacteroides distasonis* K-5と共に無菌マウスに接種しても活性はほとんど認められないが<sup>71)</sup>、脱抱合活性を有する菌を数種類同時に接種すると脱抱合活性の強い菌も腸内に定着し、結果として脱水酸化活性が見られるようになる<sup>66)</sup>。つまり、理由は判らないが脱抱合活性を持つ菌も数種類が共存すると強い活性を示すようになる。

#### 4-2-2. 12 $\alpha$ -脱水酸化反応およびステロイド核の開裂反応

一般的に、コール酸をケノデオキシコール酸に、ケノデオキシコール酸をコール酸に変換する菌は無いと考えられているが<sup>72)</sup>、ヒト大腸癌患者の糞便から得た*Bacteroides* 属の細菌がコール酸の12 $\alpha$ -脱水酸化を行い、ケノデオキシコール酸を生成するとする報告がある<sup>73)</sup>(図5)。これが唯一の報告ではないかと思うが、この菌が普遍的に存在すると、胆汁酸代謝研究はかなり複雑になる。

細菌による反応として、側鎖が切断されてアンドロスタン系のC19-ステロイドになる例もある<sup>74,75)</sup>。B環が開裂して最終的には炭酸ガスと水になるが、これは土壌菌による変換で体内の腸内細菌ではこのような代謝は知られていない。ただし、ヒト糞便から得た*E. coli*が胆汁酸の側鎖を切断し、C19ステロイド(7 $\alpha$ ,12 $\beta$ -dihydroxy- androsta-1,4-diene-3,17-dioneなど)を生成するという報告が有る<sup>76)</sup>。

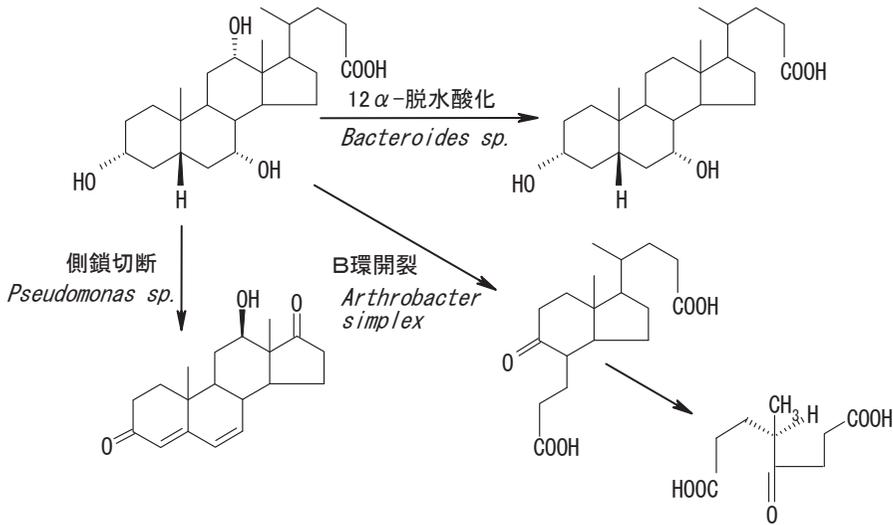


図5. 細菌による12 $\alpha$ -脱水酸化、側鎖短縮およびステロイド核の開裂<sup>73,74,75)</sup>

#### 4-3. 胆汁酸の脱水素化・水素化反応 (酸化・還元反応)

胆汁酸のステロイド核の水酸基は腸内細菌により酸化されオキシ胆汁酸になり、また、逆にそれが水酸基に還元される。水素化される時に配位が逆になる事もあるので上記反応を異性化と呼ぶこともある。よく知られているのは3位および7位の異性化であるが、6位や12位の水酸基でも起こる。前節で述べた脱水酸化反応は遊離型胆汁酸のみに起こる反応と考えられるが、本節で述べる脱水素化反応は遊離型でも抱合型でも起こる反応である。

水酸基の酸化(脱水素化)反応でオキシ胆汁酸が生成されるが、正常の胆汁中ではオキシ胆汁酸量は少ない。オキシ胆汁酸は主に大腸で生成されるので吸収が悪く、吸収されても肝で還元されるためと考えられる。7=O胆汁酸は肝では7 $\alpha$ -OHに還元されるが<sup>77)</sup>、3=O胆汁酸はヒト肝サイトゾールで、pH 7以

上では3 $\alpha$ -OHに、pH 6以下では3 $\beta$ -OHに還元され、その反応がpHに依存することも報告されている<sup>78)</sup>。これに対し、腸内細菌はオキシ胆汁酸を $\alpha$ 位にも $\beta$ 位にも還元するが $\beta$ 位への還元が優位であることが多い<sup>79,80,81)</sup>。なお、腸内細菌の持つ酵素の至適pHは菌種により、また、酵素により異なるが、菌体内のpHは培養液中のpHの変化よりも遥かに少なくほぼ一定である。*E. coli*で検討した成績であるが、細胞外pHを6-8に変動しても細胞内pHはほぼ一定であり<sup>82)</sup>、同じく*E. coli*で検討した別の報告でも、細胞外pHを7.6-8.5に対して細胞内pHは7.6と一定である<sup>83)</sup>。従って、細胞内酵素を扱う実験では、培養中に培地のpHがある程度変化しても影響を受けない。

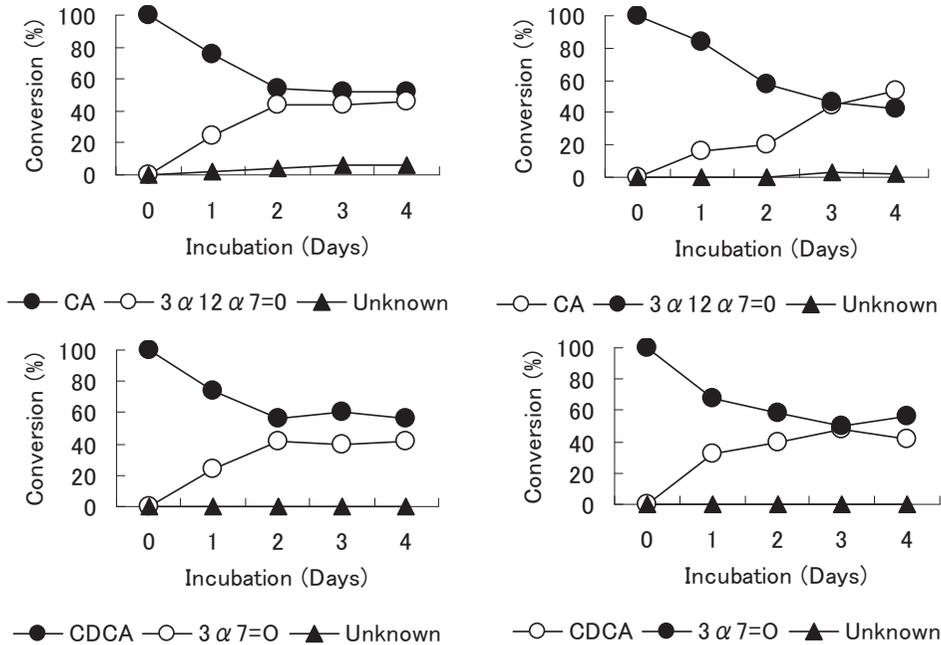


図6. 培養系に於ける*E. coli*によるコール酸 (CA) およびケノデオキシコール酸 (CDCA) の酸化及び還元反応

胆汁酸の酸化・還元反応の具体的な実験例として*E. coli*の培養系での反応を図6に示す。コール酸は7=0デオキシコール酸に酸化され、培養2日後にはほぼ50%の平衡に達する。同じように、7=0デオキシコール酸を基質にすると、コール酸に還元され、2日以後にはほぼ50%の平衡に達する。これはケノデオキシコール酸についても同様である<sup>84)</sup>。

## 5. ウルソデオキシコール酸

ウルソデオキシコール酸は腸内細菌により生成される二次胆汁酸であるが、コレステロール胆石症<sup>85)</sup>、原発性胆汁性肝硬変症<sup>86)</sup>、自己免疫性肝炎<sup>87)</sup>、C型慢性肝炎<sup>88,89)</sup>、サイトプロテクション<sup>90)</sup>、原発性硬化性胆管炎<sup>91,92)</sup>、実験的肝臓・大腸癌の抑制<sup>93,94)</sup>、コレステロール吸収の抑制<sup>95,96)</sup>などに有効であると報告されている。ただし、コレステロール吸収は低下しないと報告も有る<sup>97)</sup>。

### 5-1. プロバイオティクス

プロバイオティクスとは、例えばビフィズ菌のように、生物の健康維持に有益な効果をもたらす

腸内細菌のことである<sup>98)</sup>。そこで、ウルソデオキシコール酸の上記薬効を考慮すると、ウルソデオキシコール酸を生成する腸内細菌もそれに当ると考えられるので、以下にその概略を述べたい。

ケノデオキシコール酸の異性化は、7 $\alpha$ 位の水酸基が7 $\alpha$ -ヒドロキステロイド脱水素化酵素(7 $\alpha$ -HSDH)により7-オキシケノデオキシコール酸に酸化され、次いで、7 $\beta$ -ヒドロキステロイド脱水素化酵素(7 $\beta$ -HSDH)によりウルソデオキシコール酸に還元されて起こる。7 $\alpha$ -HSDHのみを持つ菌、7 $\beta$ -HSDHのみを持つ菌、あるいは両者を併せ持つ菌が有るが、両者の活性を同時に持つ菌は効率が悪いと考えられるので、我々は7 $\alpha$ -HSDHを持つ菌として*Bacteroides* sp. T-40を、7 $\beta$ -HSDHを持つ菌として*Clostridium innocuum* T-94をヒト糞便から選び出し2つの腸内細菌を用いて検討した。その結果、*E. coli*は図7の1に示す如く、酸化と還元が同程度であるので基質と生成物とがほぼ50%で平衡になる(図6を参照)。一方、7 $\alpha$ -HSDH活性を持つ*Bacteroides* sp.T-40はケノデオキシコール酸を7-オキシリトコール酸に速やかに酸化するが、7-オキシリトコール酸をケノデオキシコール酸に還元する作用は弱く(図7の2)、また、7 $\beta$ -HSDHを持つ*Clostridium innocuum* T-94は7-オキシリトコール酸をウルソデオキシコール酸に還元する作用は強いが、ウルソデオキシコール酸を酸化する作用は弱い(図7の3)。つまり、*Bacteroides* sp. T-40は反応が酸化に傾き*Clostridium innocuum* T-94は還元に傾く。

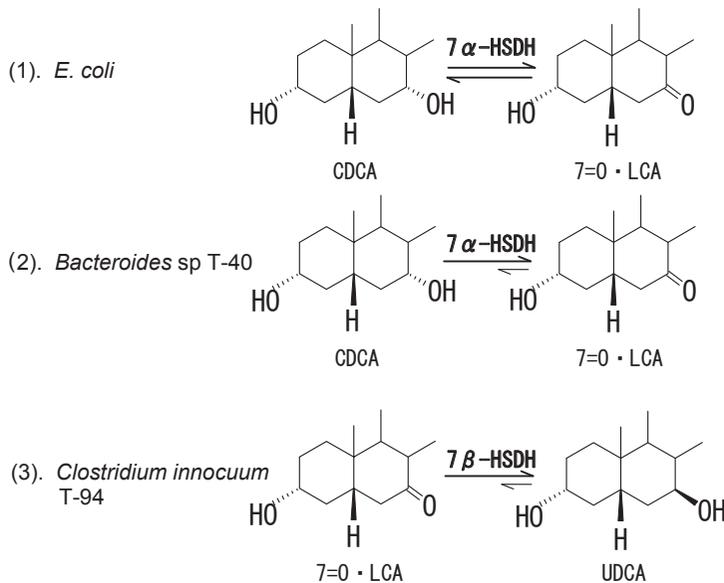


図7. *E. coli* (1)、*Bacteroides* sp T-40 (2)、及び*Clostridium innocuum* T-94 (3) の作用

そこで、両者を混合培養すると、図8に示す如く、ケノデオキシコール酸は速やかにウルソデオキシコール酸に、コール酸はウルソコール酸に変換され、中間体の7-オキシ胆汁酸の蓄積は共に少ない事がわかった<sup>99)</sup>。この両者の組み合わせは腸内でウルソデオキシコール酸を生成するプロバイオティクスとしての役割を果たし得るものと考えられる。

この試みは7 $\alpha$ -HSDHと7 $\beta$ -HSDHの両活性を持つ*Clostridium absonum*<sup>100)</sup>や*Clostridium baratii*<sup>81)</sup>でも検討されているが、両活性を持つ菌では変換の効率が悪い。

## 5-2. ウルソデオキシコール酸の生体内における特異な反応

ウルソデオキシコール酸をヒトに投与するとイソウルソデオキシコール酸(3β,7β-dihydroxy-5β-cholanoic acid)が生成され主に尿中に排泄される<sup>101,102</sup>。これはウルソデオキシコール酸が腸内細菌によ

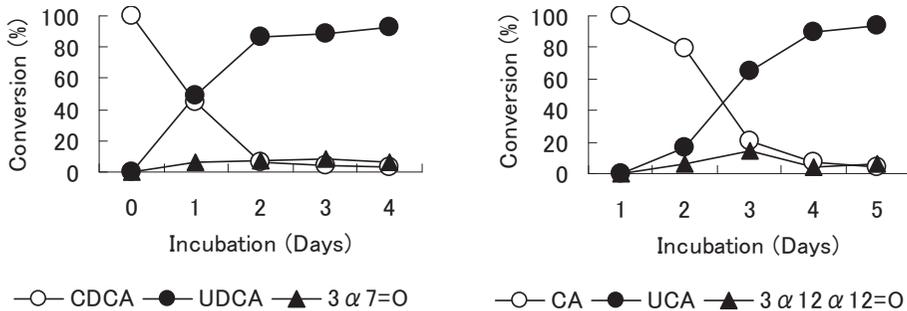


図8. *Bacteroides* sp. T-40と*Clostridium innocuum* T-94によるウルソデオキシコール酸 (UDCA) およびウルソコール酸 (UCA) の生成

り3位水酸基が異性化され生成されたものである<sup>103</sup>。面白い事に、このイソウルソデオキシコール酸をラット<sup>104</sup>やヒト<sup>105</sup>に投与すると肝で3位水酸基の異性化が起り、通常の3α-OHに変換され胆汁中に排泄される。このように、イソウルソデオキシコール酸は肝でウルソデオキシコール酸に容易に変換されるので、ウルソデオキシコール酸のプロドラッグになるとする報告もある<sup>105</sup>。これらの反応はウルソデオキシコール酸やケノデオキシコール酸について報告されているが、他の胆汁酸ではどうであろうか。

## 6. C20~C29胆汁酸

一応無菌と考えられる胎便中に特殊な胆汁酸として、C20、C21、C22など側鎖の短いリトコール酸が報告されている<sup>106,107</sup> (図9)。C20やC21などは黄体ホルモンや副腎皮質ホルモンなどC21-ステロイドの代謝物とも想定されているが、仮にそう

であったとしても炭素数がC21-ステロイドよりも一つ多いC22-短鎖胆汁酸はどのようにして生成されたのであろうか。やはり、C20やC21も含め胎児肝が側鎖の切断を行っているのではないかと想像される。一方、7α, 12α-dihydroxy-3-oxopregna-1,4-diene-20-carboxylic acidなどのC22胆汁酸が大腸菌で生成されるとする報告は有るか<sup>76</sup>、胎児が無菌であるとするならこの可能性は少ない。

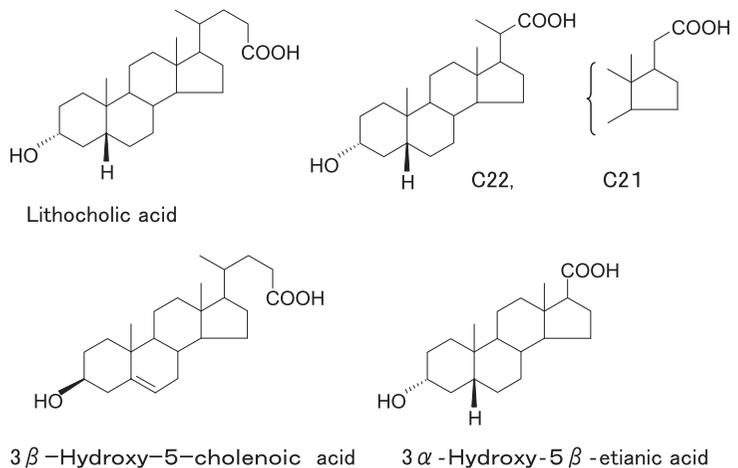


図9. ヒト胎便中の胆汁酸<sup>107</sup>

文献を調べると、C21胆汁酸はin vivoで植物ステロールの $\beta$ -シトステロールから生成される事が報告されている。ラットに $\beta$ -シトステロールを投与すると24時間で7%前後が3 $\alpha$ 位と15位に水酸基を持つが7位には水酸基をもたないC21-胆汁酸に変換されるとする報告である<sup>108)</sup>。この成績から $\beta$ -シトステロールの代謝はコレステロールとは著しく異なっていると考えられる。ステロイドの15位水酸化は土壤菌<sup>109)</sup>、あるいは動物細胞<sup>110)</sup>でも認められている。ただし、胎便中のC21胆汁酸には15位の水酸化は報告されていない。

主題からずれるが、植物ステロールから胆汁酸が生成されるか、という疑問がある。ヒトに $\beta$ -シトステロールを投与するとコール酸やケノデオキシコール酸に変換されるとする報告<sup>111)</sup>、あるいは、ラットで胆汁酸に変換されるとする報告<sup>112)</sup>もあるが、多くはヒトにおいても、ラットやサルにおいても否定的である<sup>113)</sup>。なお、ラットでの成績であるが、 $\beta$ -シトステロールやカンベステロールの側鎖も水酸化されるが、活性はコレステロールの側鎖水酸化に較べれば低い<sup>114)</sup>。

また、側鎖切断活性を欠如するツェルバーガー症候群患者血中には高級胆汁酸の他に、側鎖にカルボキシル基を2つ持つC29胆汁酸 (3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -trihydroxy-27 $\alpha$ ,27 $\beta$ -dihomo-5 $\beta$ -cholestane-26,27 $\beta$ -dioic acid) が30-40%も存在すると報告されている<sup>115,116)</sup>。この化合物は $\beta$ -シトステロールの側鎖末端にカルボキシル基が導入された化合物 (26,29-dioic acid) と異なり<sup>116)</sup>、どのようにして生成されたか不明である。

植物ステロール以外では、コレステロール生合成の最終過程で24-デヒドロコレステロール (デスモステロール) が還元されてコレステロールが生成されるが、デスモステロールはコレステロールを経ずに胆汁酸に変換される<sup>117)</sup>。

## 7. 胎児の胆汁酸代謝

### 7-1. 胎児性胆汁酸

胎便中、胎児血中、あるいは、羊水中の胆汁酸組成は成人とかなり異なっている<sup>118,119,120)</sup>。コール酸やケノデオキシコール酸の一部、あるいは、二次胆汁酸であるデオキシコール酸などは母体由来とされるが、それ以外の特殊な胆汁酸は胎児肝で生成されることが明らかになってきた。これらの胎児性胆汁酸は、総括的に述べれば、1 $\beta$ 、2 $\beta$ 、4 $\beta$ 、あるいは、6 $\alpha$ に水酸基を持つコール酸やケノデオキシコール酸、及び $\Delta^5$ に二重結合を有する3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acidや3 $\beta$ ,12 $\alpha$ -dihydroxy-5-cholenoic acidなどである。これらは妊娠週令に伴って増加し出生後は低下する<sup>119)</sup>。

### 7-2. 胎便中ステロール

ヒト胎便中には (22R)-22-ヒドロキシコレステロール、7 $\alpha$ -ヒドロキシコレステロール、26-ヒドロキシコレステロールなどが存在する<sup>121)</sup>。(22R)-22-ヒドロキシコレステロールはプレグネノロンの前駆体と考えられているが、7 $\alpha$ -ヒドロキシコレステロールや26-ヒドロキシコレステロールは胆汁酸の前駆体であり、両者を較べると26-ヒドロキシコレステロールが圧倒的に多いので、胎児肝では26-水酸化経路で胆汁酸が生成され、従って、ケノデオキシコール酸の生成が多いと考えられる。この成績は胎便中ではケノデオキシコール酸が多い<sup>122)</sup>、あるいは、胎児血中ではケノデオキシコール酸を主とする一次胆汁酸が主であるとする報告<sup>123)</sup>などと一致する。

### 7-3. 胎児肝の胆汁酸代謝

胎児肝の胆汁酸代謝の特徴はコール酸に較ベケノデオキシコール酸の含量比が高く、CA/CDCA比は1.0以下である<sup>120,124</sup>。また、コール酸は主に1 $\beta$ -水酸化を受けて羊水や新生児尿中に排泄されるのに対し、ケノデオキシコール酸は主に6 $\alpha$ -水酸化を受けて胎便中に分泌されている<sup>119</sup>。コール酸の抱合反応ではタウリン抱合がグリシン抱合に優先し、コール酸に較ベケノデオキシコール酸の抱合は少ない<sup>122,125</sup>。胆汁酸の抱合能はかなり早い時期から出現し、10週令胎児肝組織で既に認められている。このように、胎児肝ではタウリン抱合が主であるが、出生後はグリシン抱合が増加し、1年未満で成人のグリシン/タウリン比に近づく<sup>126</sup>。また、先に述べた1 $\beta$ -水酸化胆汁酸の生成も活性は低いながら20週令で既に認められる<sup>119</sup>。

胎児腸からの胆汁酸吸収を個体発生的にみた場合、犬ではタウロコール酸の吸収は空腸及び回腸とは同程度であり回腸からの吸収が多いという事はない。回腸からの能動的吸収は出生後5週令で成体並みに増加すると報告されている<sup>127</sup>、ラットでは生後15日令位からみられると報告されている<sup>128</sup>。

胎児肝を細胞増殖の盛んな組織とみるなら、肝部分切除後の再生肝でも同じ事が起こると考えられるが、その事を示した成績を未だ見ていない。一方、この胎児性胆汁酸は成人の胆汁鬱滞症にも認められるので<sup>118,129,130</sup>、胆汁鬱滞が原因か、とする意見も有るが、両者がこのような類似性を示す事については未だ説明されていない。これは、障害を起こした肝細胞がこれらの胆汁酸を生成するのではなく、肝細胞死に伴って起こるであろう新生肝細胞により生成されているのではないかと想像できるがどうか。

関連する現象としてラット胆管を結紮すると $\beta$ -ミュリコール酸の生成が著しく増加する<sup>131</sup>。 $\beta$ -ミュリコール酸はラット肝においてケノデオキシコール酸から生成されるので、胆管結紮ラットではケノデオキシコール酸生成が亢進すると言う事が出来る。しかし、ヒトの胆汁鬱滞症ではコール酸の増加が著しくCA/CDCA比は増加している<sup>132</sup>、単純に胆汁鬱滞時の変化であるとするわけにはいかない。一方、出生後の若年ラット肝はコール酸の生成が高く、肝部分切除後の再生肝の活性と類似している。胎児肝の代謝活性は成長期の乳幼児肝、あるいは、再生肝と類似していると想像できるが、全く異なっているのかもしれない。

### 7-4. 3 $\beta$ $\Delta^5$ 経路

胆汁酸が生成される経路には、最初にコレステロールの7 $\alpha$ 位が水酸化される経路と側鎖のC27位が水酸化される経路が有り、前者はNeutral pathway、後者はAcidic pathwayと呼ばれている事は先に述べた(図1)<sup>4</sup>。Acidic pathwayの場合、C27位が水酸基の時は12位が水酸化されコール酸も生成されるが、カルボキシル基になると12位はもはや水酸化されずケノデオキシコール酸のみが生成される<sup>133,134</sup>。胎児の胆汁酸代謝をみると、さらに別の経路として3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenic acid(3 $\beta$   $\Delta^5$ )を経由してケノデオキシコール酸が生成される経路があると考えられる<sup>135,136</sup>。

すなわち、27-水酸化コレステロールは3 $\beta$ -hydroxy-5-cholestenic acidとなり、側鎖が切断されて3 $\beta$   $\Delta^5$ が生成される。3 $\beta$   $\Delta^5$ は胆汁鬱滞患者の尿中に<sup>137,138</sup>、胎便中に<sup>118,119</sup>、そして脳内にも存在し<sup>139</sup>、リトコール酸やケノデオキシコール酸に代謝される<sup>140,141</sup>。さらに、胎便中ではケノデオキシコール酸とヒオコール酸が多いとする成績<sup>124</sup>なども勘案すると、先に述べたNeutral pathwayとAcidic pathwayに加え、図10示すように、3 $\beta$   $\Delta^5$ を経由してケノデオキシコール酸が生成される経路(破線)が考えられ

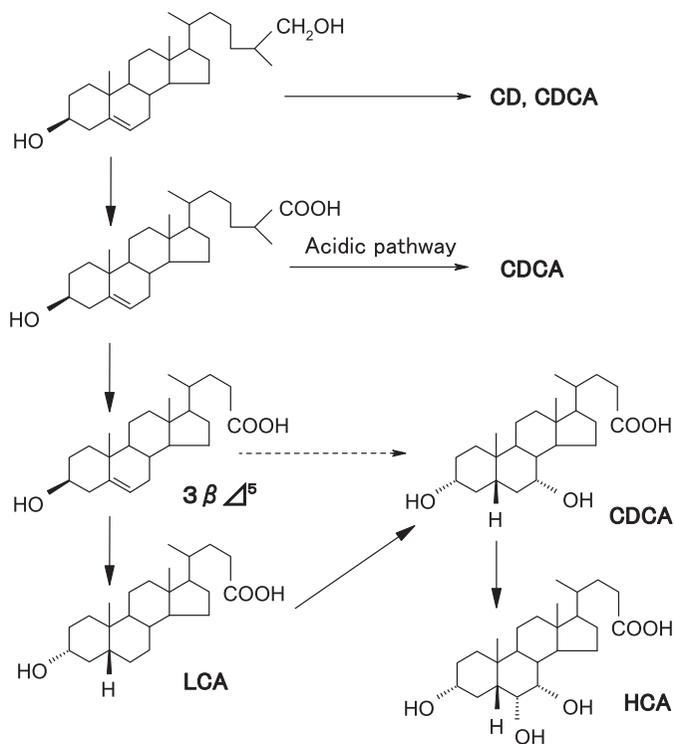


図10. 3β Δ<sup>5</sup>を経由するCDCA生成の別経路

る。また、脳内にはケノデオキシコール酸が多いが<sup>142)</sup>、これも脳内で3β Δ<sup>5</sup>から生成される<sup>143)</sup>。ただし、脳内では24S-ヒドロキシコレステロール(セブレプロステロール)から3β Δ<sup>5</sup>が生成されていると思われる。

胆汁酸生成には25位が水酸化され主にコール酸が生成される経路も有る<sup>144)</sup>。従って、胆汁酸生成経路を総括すれば、(1) コレステロールの7α-水酸化から始まる経路(Neutral pathway)でコール酸とケノデオキシコール酸が、(2) 27-水酸化から始まる経路(Acidic pathway)でコール酸も生成されるが主にケノデオキシコール酸が、(3) 25-水酸化経路では主にコール酸が、そして、(4) 3β Δ<sup>5</sup>を経由する経路ではケノデオキシコール酸が生成されるという事になる。25-水酸化経路は上述の(1)の経路から分岐したものであり、3β Δ<sup>5</sup>を経由する経路は上述の(2)の経路から分岐したものである。

## 8. 腸内細菌の直接的な作用

### 8-1. 腸内細菌による胆汁酸の吸着・吸収作用

腸内細菌は胆汁酸を吸着するので<sup>145)</sup>、腸内細菌と共に糞便中への胆汁酸排泄量は増加するが、吸着以外に腸内細菌が胆汁酸を菌体内に取り込み蓄積とする成績が有る<sup>146)</sup>。*Lactobacillus*属<sup>147)</sup>や*Bacteroides*属<sup>148)</sup>の腸内細菌は遊離型の胆汁酸を菌体内に取り込むとする成績である。抱合胆汁酸は取り込まないので受容体を介するものではない。取り込み率は菌種にもよるが、高いものでは*Lactobacillus salivarius*や*Bifidobacterium breve*では外液の10倍前後にも達する。これらの細菌が糞便中に排泄されれば胆汁酸の体外排泄量は増加する事になる。

## 8-2. 胆汁酸の抗菌作用および細胞障害作用

胆汁酸の抗菌作用あるいは細胞毒作用に関して、胆汁酸は細菌の増殖を阻害し、一方では、生体の細胞膜を破壊し細胞毒作用を示す。種々のヒト腸内細菌を単離し、培養系に胆汁酸を添加すると、その増殖は抑制される<sup>149,150</sup>。*Bacteroides fragilis*の増殖は胆汁酸濃度の増加に伴い阻害されるが、その作用はケノデオキシコール酸が最も強く、次いでデオキシコール酸であり、コール酸は前二者に較べると遙かに弱い。また、抱合型胆汁酸の作用は弱く、グリシン抱合型のコール酸は阻害効果をほとんど示さない。胆汁酸による増殖阻害作用は細菌の種類により異なり、*Bacteroides fragilis*よりも*Enterococcus*や*Lactobacillus*、あるいは*Clostridium perfringens*の方が抵抗性を示すようである<sup>150</sup>。なお、ヒト小腸内胆汁酸濃度は回腸上部で最も高く10 mM程度になるが、遊離型胆汁酸濃度は0.5 mM程度であり、回腸下部では1.3 mM程度なので<sup>151</sup>、腸内細菌も存続出来るであろう。

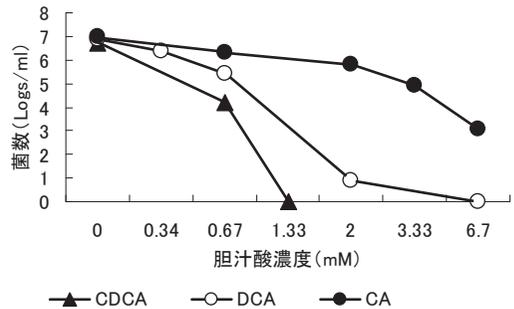


図11. 胆汁酸の腸内細菌増殖阻害作用<sup>150)</sup>

一方、胆汁酸はヒト繊維芽細胞の損傷を来たすので創傷治癒遅延の原因となる。その作用は抱合型のデオキシコール酸が最も強いが<sup>152</sup>、肝細胞膜を損傷する作用は遊離型のデオキシコール酸がコール酸や抱合型胆汁酸よりも強い<sup>153</sup>。細胞膜障害作用は胆汁酸のデタージェント作用(界面活性化作用)に原因し、胆汁酸の疎水性強度と一致すると報告されているが<sup>154</sup>、胆汁酸のデタージェント作用が細胞膜障害作用のみによるとは考え難いとする意見もあり<sup>155</sup>、細菌の増殖阻害作用や細胞膜損傷作用がどのような機作で発現するかは未だ疑問として残る。

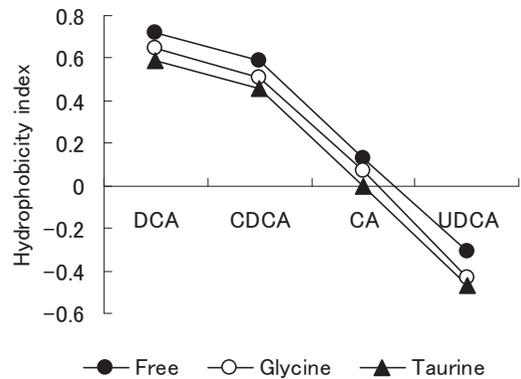


図12. 胆汁酸の疎水性強度<sup>157)</sup>

なお、胆汁酸のコレステロール可溶化能はミセル形成能と平行すると考えられ、その作用は抱合型と遊離型の別無く、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸、コール酸、ウルソデオキシコール酸の順であり<sup>156</sup>、これは疎水性強度(図12)と概ね一致する。しかし、同じ胆汁酸の遊離型、グリシン抱合型、タウリン抱合型の疎水性強度はこの順で弱くなるので<sup>157</sup>、その比較では一致しないが、その差は僅かなので一致すると云うべきかもしれない。

## 9. 腸内細菌の種属差とそれに関連する胆汁酸代謝

これは考慮しなければならない問題であるがあまり解明されていない。わずかに、ラットでは腸内細菌により $\beta$ -ミユリコール酸が $\omega$ -ミユリコール酸に変換されるが、この活性はヒト腸内細菌には認められないとする報告が有るのみである<sup>158,159</sup>。

ところで、体内の胆汁酸組成は動物種により相違が見られる。ヒトではコール酸が40～50%、ケノデオキシコール酸が30～40%、デオキシコール酸が10～20%、リトコール酸が数%であり、サルやハムスターも似たような数値である。イヌやネコではコール酸の割合が高く、モルモットやニワトリでは逆にケノデオキシコール酸が高値を示すが、前者にケノデオキシコール酸が、あるいは後者にコール酸が無いわけではない。一方、ウサギでは胆汁中の胆汁酸は90%以上がデオキシコール酸であるが、これは腸内細菌により生成されたデオキシコール酸が蓄積したもので、ウサギ肝が生成する一次胆汁酸はコール酸である。

これに対し、その種に特有の胆汁酸を持つ動物がある<sup>160,161</sup>。ラットやマウスは $\alpha$ -および $\beta$ -ミュリコール酸を、ブタはヒオコール酸を生成している<sup>162</sup>。ミュリコール酸やヒオコール酸はコレステロールから肝で生合成される一次胆汁酸である。一方、クマはウルソデオキシコール酸を持つ動物として有名であるが、その含量はクマの種類により、また同一種でも個体により大きく異なるので、確認した成績はまだ見ないが、恐らく腸内細菌により生成されるウルソデオキシコール酸の量に依存するものではないかと考えられる。これは、ヒトについても云える事で、個体によりウルソデオキシコール酸含量の高いケースも有るが、これも腸内細菌に原因するものであろう。

ラット糞便中の $\omega$ -ミュリコール酸やヒオデオキシコール酸は $\beta$ -ミュリコール酸から腸内細菌により生成される二次胆汁酸である<sup>158</sup>。 $\beta$ -ミュリコール酸が $\omega$ -ミュリコール酸に異性化され、次いで、7位が脱水酸化されてヒオデオキシコール酸になると推測される<sup>162</sup>。 $\omega$ -ミュリコール酸とヒオデオキシコール酸の含量は個体により大きく変動するが、両者間には明確な負の相関が見られる(図13)。腸内細菌により変換される量の個体差に依るものであろう。なお、ヒオデオキシコール酸は $\beta$ -ミュリコール酸から3 $\alpha$ ,6-dihydroxy-5 $\beta$ -6-cholenoic acidを経て生成される可能性が示唆されている<sup>164</sup>。

腸内細菌の胆汁酸に対する作用、及び関連する話題を述べたが、近年、腸内細菌はメタボリックシンドロームつまり肥満にも関与するのではないかとする報告も見られるようになった<sup>165</sup>。今後は、この方面の研究も展開されるであろう。

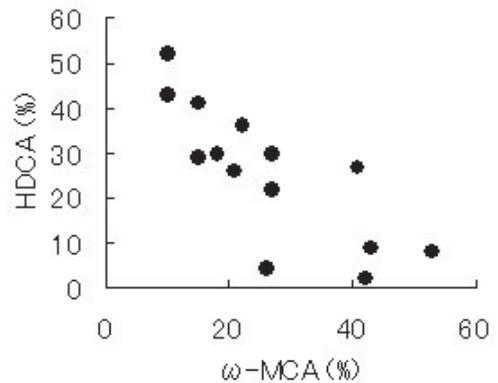


図 13. ラット糞便中の $\omega$ -ミュリコール酸( $\omega$ -MCA)量とヒオデオキシコール酸(HDCA)量の相関 (内田、他、未発表)

#### 引用文献

- 1) Chapman D, Kramers MTC and Restall CJ: Cholesterol and biomembrane structures. In "Sterols and Bile acids", (Danielsson H and Sjövall J, eds), pp.151-174 (1985), Elsevier Science Publishers BV (Biomedical Division)
- 2) Thompson MJ, Kaplanis JN, Robbins, WE, et al: Metabolism of steroids in insects, *Adv Lipid Res*, 11, 219-265 (1973)
- 3) 塚本和久: コレステロール吸収制御のメカニズム, *Cardio-Lipidology*, 1, 19-25 (2007)
- 4) Vlahcevic ZR, Hylemon PB and Chiang JYL: Hepatic cholesterol metabolism. In "The Liver: Biology and Pathobiology, 3<sup>rd</sup> ed.", (Arias IM, Boyer JL, Fausto N, et al eds), pp.379-389 (1994), Raven Press Ltd New York.

- 5) Russell DW: The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis, *Ann Rev Biochem*, **72**, 137-174 (2003)
- 6) 穂下剛彦: 胆汁酸と系統発生、生体の科学、**36**, 97-103 (1985)
- 7) Carey MC and Duane WC: Enterohepatic circulation. In *The Liver: Biology and Pathobiology*, (Arias IM, Boyer JL, Fausto N, Jakoby WB, Schachter DA and Shafritz DA. eds), pp.716-767 (1994), Raven Press Ltd, New York
- 8) Gordon HA, Bruckner-Kardoss E and Wostmann BS: Aging in germ-free mice: Life tables and lesions observed at natural death, *J Gerontol*, **21**, 380-387 (1966)
- 9) Killenberg PG and Jordan JT: Purification and characterization of bile acid-CoA: amino acid N-acetyltransferase from rat liver, *J Biol Chem*, **253**, 1005-1010 (1978)
- 10) Palmer RH: The formation of bile acid sulfates: a new pathway of bile acid metabolism in humans, *Proc Natl Acad Sci USA*, **58**, 1047-1050 (1967)
- 11) Back P, Spaczynski K and Gerok W: Bile-salt glucuronides in urine, *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, **355**, 749-752 (1974)
- 12) Matern H, Matern S and Gerok W: Formation of bile acid glucosides by a sugar nucleotide-independent glucosyltransferase isolated from human liver microsomes, *Proc Natl Acad Sci*, **81**, 7036-7040 (1984)
- 13) Marschall H-U, Matern H, Wiethroitz H, et al: Bile acid N-acetylglucosaminidation. In vivo and in vitro evidence for a selective conjugation reaction of 7 $\beta$ -hydroxylated bile acids in human, *J Clin Invest*, **89**, 1981-1987 (1992)
- 14) Yamaga N and Kohara H: Conjugation types of 7 $\beta$ -hydroxylated bile acids detected in healthy human urine, *J Biochem*, **116**, 1123-1126 (1994)
- 15) Goto T, Shibata S, Sasaki D, et al: Identification of a novel conjugate in human urine: bile acid acyl galactosides, *Steroids*, **70**, 185-192 (2005)
- 16) Goto J, Murao N, Nakada C, et al: Separation and characterization of carboxyl-linked glucuronides of bile acids in incubation mixture of rat liver microsomes, *Steroids*, **63**, 186-192 (1998)
- 17) Makino I, Shinosaki K and Nakagawa S: Sulfated bile acid in urine of patients with hepatobiliary diseases, *Lipids*, **3**, 47-49 (1973)
- 18) Makino I, Hashimoto H, Shinozaki K, et al: Sulfated and nonsulfated bile acids in urine, serum and bile of patients with hepatobiliary diseases, *Gastroenterology*, **68**, 545-553 (1975)
- 19) Stiehl A, Eamest DL and Admirant WH: Sulfation and renal excretion of bile salts in patients with cirrhosis of the liver, *Gastroenterology*, **68**, 534-544 (1975)
- 20) Takikawa H, Beppu T and Seyama Y: Profiles of bile acids and their glucuronide and sulphate conjugates in the serum, urine and bile from patients undergoing bile drainage, *Gut*, **26**, 38-42 (1984)
- 21) Radomska A, Comer K, Zimniak P, et al: Human liver steroid sulphotransferase sulphates bile acids, *Biochem J*, **272**, 597-604 (1990)
- 22) Zimniak P, Radomska A, Zimniak M, et al: Formation of three types of glucuronides of 6-hydroxy bile acids by rat liver microsomes, *J Lipid Res*, **29**, 183-190 (1988)
- 23) Radomińska-Pyrek A, Zimniak P, Irshaid YM, et al: Glucuronidation of 6 $\alpha$ -hydroxy bile acids by human liver microsomes, *J Clin Invest*, **80**, 234-241 (1987)
- 24) Parqiet M, Pessah M, Sacquet E, et al: Effective glucuronidation of 6 $\alpha$ -hydroxylated bile acids by human hepatic and renal microsomes, *Eur J Biochem*, **171**, 329-334 (1988)
- 25) Radomska A, Little J, Pyrek JS, et al: A novel UDP-Glc-specific glucosyl-transferase catalyzing the biosynthesis of 6-O-glucosides of bile acids in human liver microsomes, *J Biol Chem*, **268**, 15127-15135 (1993)
- 26) Marschall H-U, Griffiths WJ, Zhang J, et al: Positions of conjugation of bile acids with glucose and N-acetylglucosamine in vitro, *J Lipid Res*, **35**, 1599-1610 (1994)
- 27) Niwa T, Fujita K, Goto J, et al: Separation and characterization of ursodeoxycholate 7-N-acetylglucosaminides in human urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J Liquid Chromatogr*, **16**, 2531-2544 (1993)
- 28) Stiehl A, Raedsch R, Rudolph G, et al: Biliary and urinary excretion of sulfated, glucuronidated and tetrahydroxylated bile acids in cirrhotic patients, *Hepatology*, **5**, 492-495 (1985)

- 29) Kinugasa T, Uchida K, Kadowaki M, et al: Effect of bile duct ligation on bile acid metabolism in rats, *J Lipid Res*, **22**, 201-207 (1981)
- 30) De Witt and Lack L: Effects of sulfation patterns on intestinal transport of bile salt sulfate esters, *Am J Physiol*, **238**, G34-39 (1980)
- 31) Takikawa H, Sano N, Ohki H, et al: Comparison of biliary excretion and metabolism of lithocholic acid and its sulfate and glucuronide conjugates in rats, *Biochim Biophys Acta*, **1004**, 147-150 (1989)
- 32) 平野清寿、益田典幸、向井 洋、他：ヒト腸管より分離した*Bacteroides fragilis*菌株による胆汁酸代謝、日本細菌学雑誌、**34**, 403-411 (1979)
- 33) Macdonald IA, Jellet JF, Mahony DE, et al: Bile salt 3 $\alpha$ - and 12 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase from *Eubacterium lentum* and related strains. *Appl Environ Microbiol*, **37**, 992-1000 (1979)
- 34) Bortolini O, Medici A and Poli S: Biotransformations on steroid nucleus. *Steroids*, **62**, 564-577 (1997)
- 35) Lepercq P, Gérard P, Béguet F, et al: Isolates from normal human intestinal flora but not lactic acid bacteria exhibit 7 $\alpha$ - and 7 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activities, *Microbial Ecology in Health and Disease*, **16**, 195-201 (2004)
- 36) Macdonald IA, Bokkenheuser VD, Winter J, et al: Degradation of steroids in the human gut, *J Lipid Res*, **24**, 675-700 (1983)
- 37) Midtvedt T and Norman A: Bile acid transformations by microbial strains belonging to genera found in intestinal contents, *Acta Pathol Microbiol Scand*, **71**, 629-638 (1967)
- 38) Ridlon JM, Kang D-J and Hylemon PB: Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria, *J Lipid Res*, **47**, 241-259 (2006)
- 39) Kobashi K, Nishizawa I, Yamada T, et al: A new hydrolase specific for taurine-conjugates of bile acids, *J Biochem*, **84**, 495-497 (1978)
- 40) Nair PP, Gordon M and Reback J: The enzymatic cleavage of the carbon-nitrogen bond in 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -trihydroxy-5 $\beta$ -cholan-24-oylglycine, *J Biol Chem*, **242**, 7-11 (1967)
- 41) Masuda N: Deconjugation of bile salts by *Bacteroides* and *Clostridium*. *Microbiol Immunol*, **25**, 1-11 (1981)
- 42) Gopal-Srivastava R and Hylemon PB: Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Clostridium perfringens*, *J Lipid Res*, **29**, 1079-1085 (1988)
- 43) Kawamoto K, Horibe I and Uchida K: Purification and characterization of a new hydrolase for conjugated bile acids, chenodeoxycholytaurine hydrolase, from *Bacteroides vulgatus*, *J Biochem*, **106**, 149-1053 (1989)
- 44) Kayahara T, Tamura T, Amuro Y, et al:  $\Delta^{22}$ - $\beta$ -Muricholic acid in monoassociated rats and conventional rats, *Lipids*, **29**, 289-296 (1994)
- 45) Setchell KDR, Yamashita H, Rodrigues CPM, et al:  $\Delta^{22}$ -Ursodeoxycholic acid, a unique metabolite of administered ursodeoxycholic acid in rats, indicating partial  $\beta$ -oxidation as a major metabolic pathway for bile acid metabolism, *Biochemistry*, **34**, 4169-4178 (1995)
- 46) Rodrigues CMP, Kren BT, Steer CJ, et al: Formation of  $\Delta^{22}$ -bile acids in rats is not gender specific and occurs in the peroxisome, *J Lipid Res*, **37**, 540-550 (1996)
- 47) Thompson MB, Davis DG and Morris RW: Taurine conjugate of 3 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\beta$ -trihydroxy-5 $\beta$ , 22-cholen-24-oic (tauro- $\Delta^{22}$ - $\beta$ -muricholate) : the major bile acid in the serum of female rats treated with  $\alpha$ -naphthylisothiocyanate and its secretion by liver slices, *J Lipid Res*, **34**, 553-561 (1993)
- 48) Guitaoui M, Parquet M, Aubert C, et al: Conjugation with taurine prevents side-chain desaturation of ursodeoxycholic and  $\beta$ -muricholic acids in bile fistula rats, *Fundamental & Clinical Pharmacol*, **18**, 457-464 (2004)
- 49) Imperato TJ, Wong GC, Chen LJ, et al: Hydrolysis of lithocholate sulfate by *Pseudomonas aeruginosa*, *J Bacteriol*, **130**, 545-547 (1977)
- 50) Borriello SP and Owen RW: The metabolism of lithocholic acid and lithocholic acid-3 $\alpha$ -sulfate by human fecal bacteria, *Lipids*, **17**, 477-482 (1982)
- 51) Robben J, Parmentier G and Eyssen H: Isolation of a rat intestinal *Clostridium* strain producing 5 $\alpha$ - and 5 $\beta$ -bile salt 3 $\alpha$ -sulfatase activity, *Appl Environ Microbiol*, **51**, 32-38 (1986)

- 52) Van Eldere J, Robben J, De Pauw G, et al: Isolation and identification of intestinal steroid-desulfating bacteria from rats and humans, *Appl Environ Microbiol*, **54**, 2112-2117 (1988)
- 53) Robben J, Janssen G, Mercky R, et al: Formation of  $\Delta^2$ - and  $\Delta^3$ -chenodeoxycholic acids from bile acid 3-sulfates by human intestinal *Fusobacterium* strain, *Appl Environ Microbiol*, **55**, 2954-2959 (1989)
- 54) Kelsey MI, Molina JE, Huang S-K S, et al: The identification of microbial metabolites of sulfolithocholic acid, *J Lipid Res*, **21**, 751-759 (1980)
- 55) Pacini N, Albini E, Ferrari A, et al: Transformation of sulfated bile acids by human intestinal microflora, *Arzneim-Forsch/Drug Res*, **37** (II), 983-987 (1987)
- 56) Huijghebaert SM, Parmentier G and Eyssen HJ: Specificity of bile salt sulfatase activity in man, mouse and rat intestinal microflora, *J Steroid Biochem*, **20**, 907-912 (1984)
- 57) Eyssen H, Van Eldere J, Parmentier G, et al: Influence of microbial bile salt desulfation upon the fecal excretion of bile salts in gnotobiotic rats, *J Steroid Biochem*, **22**, 547-554 (1985)
- 58) Momose T, Maruyama J, Iida T, et al: Comparative abilities and optimal conditions for  $\beta$ -glucosidase enzymes to hydrolyze the glucuronide, glucoside, and N-acetylglucosaminide conjugates of bile acids, *Biol Pharm Bull*, **20**, 828-833 (1997)
- 59) Tochikura T, Sakai K, Fujiyoshi T, et al: p-Nitrophenyl glycoside-hydrolyzing activities in bifidobacteria and characterization of  $\beta$ -D-galactosidase of *Bifidobacterium longum* 401, *Agric Biol Chem*, **50**, 2279-2286 (1986)
- 60) Saishin N and Yamamoto I:  $\alpha$ -Galactosidase purified from *Bifidobacterium longum* JCM 7052 grown on gum Arabic, *J Biol Macromol*, **9**, 73-81 (2009)
- 61) Kitahara M, Takamine F, Imamura T, et al: Assignment of *Eubacterium* sp. VPI 12708 and related strains with high bile acid 7 $\alpha$ -dehydroxylating activity to *Clostridium* scindens and proposal of *Clostridium hylemonae* sp. nov., isolated from human faeces, *Int J Syst Evol Microbiol*, **50**, 971-978 (2000)
- 62) Wells JE, Williams KB, Whitehead TR, et al: Development and application of a polymerase chain reaction assay for the detection and enumeration of bile acid 7 $\alpha$ -dehydroxylating bacteria in human feces, *Clin Chim Acta*, **331**, 127-134 (2003)
- 63) Hepner GW, Hofmann AF and Thomas PJ: Metabolism of steroid and amino acid moieties of conjugated bile acids in man, *J Clin Invest*, **51**, 1889-1897 (1972)
- 64) Gustafsson BE, Midtvedt T and Norman A: Metabolism of cholic acid in germfree animals after the establishment in the intestinal tract of deconjugating and 7 $\alpha$ -dehydroxylating bacteria, *Acta Pathol Microbiol Scand*, **72**, 433-443 (1968)
- 65) Batta AK, Salen G, Arora R, et al: Side chain conjugation prevents bacterial 7-dehydroxylation of bile acids, *J Biol Chem*, **265**, 10925-10928 (1990)
- 66) Narushima S, Itoh K, Miyamoto Y, et al: Deoxycholic acid formation in gnotobiotic mice associated with human intestinal bacteria, *Lipids*, **41**, 835-843 (2006)
- 67) Van Eldere J, Celis P, De Pauw G, et al: Tauroconjugation of cholic acid stimulates 7 $\alpha$ -dehydroxylation by fecal bacteria, *Appl Environ Microbiol*, **62**, 656-661 (1996)
- 68) Itoh K and Mitsuoka T: Characterization of clostridia isolated from feces of limited flora mice and their effect on caecal size when associated with germ-free mice, *Lab Animals*, **19**, 111-118 (1985)
- 69) Uchida K, Satoh T, Narushima S, et al: Transformation of bile acids and sterols by clostridia (fusiform bacteria) in Wistar rats, *Lipids*, **34**, 269-273 (1999)
- 70) Takamine F and Imamura T: 7 $\beta$ -Dehydroxylation of 3,7-dihydroxy bile acids by a *Eubacterium* species strain C-25 and stimulation of 7 $\beta$ -dehydroxylation by *Bacteroides distasonis* strain K-5, *Microbiol Immunol*, **29**, 1247-1252 (1985)
- 71) Narushima S, Itoh K, Takamine F, et al: Absence of cecal secondary bile acids in Gnotobiotic mice associated with two human intestinal bacteria with the ability to dehydroxylate bile acids in vitro, *Microbiol Immunol*, **43**, 893-897 (1999)
- 72) Midtvedt T: Microbial bile acid transformation, *Am J Clin Nutr*, **27**, 1341-1347 (1974)
- 73) Edenharder R: Dehydroxylation of cholic acid at C12 and epimerization at C5 and C7 by *Bacteroides* species, *J*

- Steroid Biochem.*, **21**, 413-420 (1984)
- 74) Hayakawa S: Microbial transformations of bile acids, *Adv Lipid Res*, **11**, 143-192 (1973)
- 75) Owen RW and Bilton RF: The degradation of cholic acid by *Pseudomonas* sp. NCIB 10590 under anaerobic conditions, *Biochem J*, **216**, 641-654 (1983)
- 76) Tenneson ME, Owen RW and Mason AN: The anaerobic side-chain cleavage of bile acids by *Escherichia coli* isolated from human faeces, *Biochem Soc Trans*, **5**, 1758-1760 (1977)
- 77) Nakagaki M, Danzinger RG, Hofmann AF, et al: Hepatic biotransformation of two hydroxy-7-oxo-taurine-conjugated bile acids in the dog, *Am J Physiol*, **245**, G411-417 (1983)
- 78) Amuro Y, Yamada W, Maebo, A, et al: Reduction of 3-keto-5 $\beta$ -cholanoic acid to lithocholic and isolithocholic acids by human liver cytosol in vitro, *Biochim Biophys Acta*, **837**, 20-26 (1985)
- 79) Hirano S and Masuda N: Epimerization of the 7-hydroxy group of bile acids by the combination of two kinds of microorganisms with 7 $\alpha$ - and 7 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity, respectively, *J Lipid Res*, **22**, 1060-1068 (1981)
- 80) Fromm H, Sarva RP and Bazzoli F: Formation of ursodeoxycholic acid from chenodeoxycholic acid in human colon. Studies of the role of 7-ketolithocholic acid as an intermediate, *J Lipid Res*, **24**, 841-853 (1983)
- 81) Lepercq P, Gérard P, Béguet F, et al: Epimerization of chenodeoxycholic acid to ursodeoxycholic acid by *Clostridium baratii* isolated from human feces, *FEMS Microbiol Lett*, **235**, 65-72 (2004)
- 82) Padan E, Zilberstein D and Rottenberg H: The proton electrochemical gradient in *Escherichia coli* cells, *Eur J Biochem*, **63**, 533-541 (1976)
- 83) Shimamoto T, Inaba K, Thelen P, et al: The NhaB Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter is essential for intracellular pH regulation under alkaline conditions in *Escherichia coli*, *J Biochem*, **116**, 285-290 (1994)
- 84) Ogura Y, Yamaga N, Kido Y, et al: Aerobic and anaerobic biotransformation of bile acids by *Escherichia coli* (I), *Bioscience Microflora*, **22**, 133-137 (2003)
- 85) Nakagawa S, Makino I, Ishizaki T, et al: Dissolution of cholesterol gallstones by ursodeoxycholic acid, *Lancet*, **II**, 376 (1977)
- 86) Poupon RE, Poupon R and Balkau B: Ursodiol for the long-term treatment of primary biliary cirrhosis. The UDCA-PBC Study Group, *N Engl J Med*, **330**, 1342-1347 (1994)
- 87) Mima S, Sekiya C, Kanagawa H, et al: Ursodeoxycholic acid (UDCA) therapy for autoimmune hepatitis, *Int Hepatol Commun*, **2**, 207-212 (1994)
- 88) Takano S, Ito Y, Yokosuka O, et al: A multicenter randomized controlled study of ursodeoxycholic acid for chronic hepatitis C, *Hepatology*, **20**, 558-564 (1994)
- 89) Puoti C, Pannullo A, Annovazzi G, et al: Ursodeoxycholic acid and chronic hepatitis C infection, *Lancet*, **341**, 1413-1414 (1993)
- 90) 木谷健一：胆汁酸とサイトプロテクション、胆汁酸と消化器病—最近の進歩、消化器病セミナー、**56**, 63-82 (1994)
- 91) Beuers U, Spengler U, Kruis W, et al: Ursodeoxycholic acid for treatment of primary sclerosing cholangitis: a placebo controlled trial, *Hepatology*, **16**, 707-714 (1992)
- 92) Harnois DM, Angulo P, Jorgensen RA, et al: High-dose ursodeoxycholic acid therapy for patients with primary sclerosing cholangitis, *Am J Gastroenterol*, **96**, 1558-1562 (2001)
- 93) Earnest DL, Holubec H, Wali RK, et al: Chemoprevention of azoxymethane-induced colonic carcinogenesis by supplemental dietary ursodeoxycholic acid, *Cancer Res*, **54**, 5071-5074 (1994)
- 94) Oyama K, Shiota G, Ito H, et al: Reduction of hepatocarcinogenesis by ursodeoxycholic acid in rats, *Carcinogenesis*, **23**, 885-892 (2002)
- 95) Ponz de Leon M, Carulli N, Loria P, et al: Cholesterol absorption during bile acid feeding. Effect of ursodeoxycholic acid (UDCA) administration, *Gastroenterology*, **78**, 214-219 (1980)
- 96) Hardison WG and Grundy SM: Effect of ursodeoxycholate and its taurine conjugate on bile acid synthesis and cholesterol absorption, *Gastroenterology*, **87**, 130-135 (1984)
- 97) Woollett LA, Buckley DD, Yao L, et al: Effect of ursodeoxycholic acid on cholesterol absorption and metabolism

- in humans, *J Lipid Res*, **44**, 935-942 (2003)
- 98) 川島卓治：プロバイオティクス、プロバイオティクス・プレバイオティクス・バイオジェニクス、(光岡知足編)、pp. 87-92 (2006)、財団法人日本ビフィズス菌センター
- 99) 内田清久、小倉嘉夫、伊藤喜久治、他：ウルソデオキシコール酸生成のプロバイオティクス。腸内細菌学会、(2009)
- 100) Macdonald IA, Hutchison DM and Forrest TP: Formation of urso- and ursodeoxy- cholic acids from primary bile acids by *Clostridium absonum*, *J Lipid Res*, **22**, 458-466 (1981)
- 101) 南部勝司、浪久利彦、及川洋子、他：ウルソデオキシコール酸服用者に検出された新しい胆汁酸、3β,7β-dihydroxy-5β-cholan-24-oic acid の代謝—尿中への排泄、肝臓、**22**, 914 (1981)
- 102) Maeda M, Ohama H, Takeda H, et al : Identification of 3β, 7β-dihydroxy-5β-cholan-24-oic acid in serum from patients treated with ursodeoxycholic acid, *J Lipid Res*, **25**, 14-26 (1984)
- 103) Beuers U, Fischer S, Spengler U, et al: Formation of iso-ursodeoxycholic acid during administration of ursodeoxycholic acid in man, *J Hepatol*, **13**, 97-103 (1991)
- 104) Shefer S, Salen G, Hauser S, et al: Metabolism of iso-bile acids in the rat, *J Biol Chem*, **257**, 1401-1406 (1982)
- 105) Marschall HU, Broomé U, Einarsson C, et al: Iso-ursodeoxycholic acid: metabolism and therapeutic effects in primary biliary cirrhosis, *J Lipid Res*, **42**, 735-742 (2001)
- 106) St. Pyrek J, Lester R, Adcock EW, et al: Constituents of human meconium-1. Identification of 3-hydroxy-etiamic acids, *J Steroid Biochem*, **18**, 341-351 (1983)
- 107) Lester R, St Pyrek J, Little JM, et al: What is meant by the term "bile acid"?, *Am J Physiol*, **244**, G107-G110 (1983)
- 108) Boberg KM, Lund E, Ölund J, et al: Formation of C21 bile acids from plant sterols in the rat, *J Biol Chem*, **265**, 7967-7975 (1990)
- 109) Carlström K, Kirk DN and Sjövall J: Microbial synthesis of 1β- and 15β-hydroxylated bile acids, *J Lipid Res*, **22**, 1225-1234 (1981)
- 110) Aringer L: 15-Hydroxylation of 5β-cholestan-3α-ol and 24α-ethyl-5β-cholestan-3α-ol in rat liver supernatant (18,000 x g), *J Biol Chem*, **257**, 13720-13725 (1982)
- 111) Salen G, Ahrens EH Jr and Grundy SK: Metabolism of β-sitosterol in man, *J Clin Invest*, **49**, 952-967 (1970)
- 112) Subbiah MTR and Kuksis A: Differences in metabolism of cholesterol and sitosterol following intravenous injection in rats, *Biochim Biophys Acta*, **306**, 95-105 (1973)
- 113) Boberg KM, Einarsson K and Björkhem I: Apparent lack of conversion of sitosterol into C<sub>24</sub>-bile acids in humans, *J Lipid Res*, **31**, 1083-1088 (1990)
- 114) Aringer L, Eneroth P and Nordström L: Side chain hydroxylation of cholesterol, campesterol, and β-sitosterol in rat liver mitochondria, *J Lipid Res*, **17**, 263-272 (1976)
- 115) Parmentier GG, Janssen G, Eggermont EA, et al: C<sub>27</sub> Bile acids in infants with coprostanic acidemia and occurrence of 3α,7α,12α-trihydroxy-5β-C<sub>29</sub> dicarboxylic bile acid as a major component in their serum, *Eur J Biochem*, **102**, 173-183 (1979)
- 116) Janssen G, Toppet S and Parmentier G: Structure of the side chain of the C<sub>29</sub> dicarboxylic bile acid occurring in infants with coprostanic acidemia, *J Lipid Res*, **23**, 456-465 (1982)
- 117) Goodman DS, Avigan J and Wilson H: The metabolism of desmosterol in human subjects during triparanol administration, *J Clin Invest*, **41**, 962-971 (1962)
- 118) Back P and Walter K: Developmental pattern of bile acid metabolism as revealed by bile acid analysis of meconium, *Gastroenterology*, **78**, 671-676 (1980)
- 119) 藤間貞彦、黒澤隆夫：胎児—新生児期における胆汁酸の体内動態と先天性代謝異常、薬物動態、**4**, 607-617 (1989)
- 120) Nakagawa M and Setchell KDR: Bile acid metabolism in early life: studies of amniotic fluid, *J Lipid Res*, **31**, 1089-1098 (1990)
- 121) Lavy U, Burnstein S, Gut M, et al: Bile acid synthesis in man. II. Determination of 7α-hydroxycholesterol, (22R)-22-hydroxycholesterol, and 26-hydroxycholesterol in human meconium, *J Lipid Res*, **18**, 232-238 (1977)

- 122) Sharp HL, Peller J, Carey JB Jr, et al: Primary and secondary bile acids in meconium, *Pediatr Res*, **5**, 274-279 (1971)
- 123) Courillon F, Gerhardt MF, Myara A, et al: Serum C24 bile acids in the developing human fetus, *Biol Neonate*, **73**, 76-88 (1998)
- 124) Kumagai M, Kimura A, Takei H, et al: Perinatal bile acid metabolism: bile acid analysis of meconium of preterm and full-term infants, *J Gastroenterol*, **42**, 904-910 (2007)
- 125) Harber LR, Vaupshaz , Vitullo BB, et al: Bile acid conjugation in organ culture of human fetal liver, *Gastroenterology*, **74**, 1214-1223 (1978)
- 126) Challacombe DN, Edkins S and Brown GA: Duodenal bile acids in infancy, *Arch Dis Child*, **50**, 837-843 (1975)
- 127) Lester R, Smallwood RA, Little JM, et al: Fetal bile salt metabolism. The intestinal absorption of bile salt, *J Clin Invest*, **59**, 1009-1016 (1977)
- 128) Little JM and Lester R: Ontogenesis of intestinal bile salt absorption in the neonatal rat, *Am J Physiol*, **239**, G319-G323 (1980)
- 129) Shoda J, Mahara R, Osuga T, et al: Similarity of unusual bile acids in human umbilical cord blood and amniotic fluid from newborns and in sera and urine from adult patients with cholestatic liver diseases, *J Lipid Res*, **29**, 847-858 (1988)
- 130) Shoda J, Tanaka N, Osuga T, et al: Altered bile acid metabolism in liver disease: concurrent occurrence of C-1 and C-6 hydroxylated bile acid metabolites and their preferential excretion into urine, *J Lipid Res*, **31**, 249-259 (1990)
- 131) 藤尾陽一、山本正博、内田清久、他：胆汁内瘻による胆道閉鎖解除後の胆汁分泌、胆汁酸代謝に関する実験的研究、*胆道*, **3**, 118-129 (1989)
- 132) Amuro Y, Endo T, Higashino K, et al: Serum, fecal and urinary bile acids in patients with mild and advanced liver cirrhosis, *Gastroenter Japon*, **16**, 506-513 (1981)
- 133) Ayaki Y, Kok E and Javitt NB: Cholic acid synthesis from 26-hydroxycholesterol and 3-hydroxy-5-cholestenic acid in the rabbit, *J Biol Chem*, **264**, 3818-3821 (1989)
- 134) Javitt NB: 25R, 26-Hydroxycholesterol revisited: synthesis, metabolism, and biologic roles, *J Lipid Res*, **43**, 665-670 (2002)
- 135) Mitropoulos KA and Myant NB: The formation of lithocholic acid, chenodeoxycholic acid and other bile acids from 3 $\beta$ -hydroxychol-5-enoic acid in vitro and in vivo, *Biochim Biophys Acta*, **144**, 430-439 (1967)
- 136) Délèze G, Karlaganis G, Giger W, et al: Identification of 3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenic acid in human amniotic fluid. In "Bile Acid Metabolism in Health and Disease", (Paumgartner G and Stiehl A, eds), pp.59-62. (1976) MTP
- 137) Makino I, Sjøvall J, Norman A, et al: Excretion of 3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenic and 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestanic acids in urine of infants with biliary atresia, *FEBS Lett*, **15**, 161-164 (1971)
- 138) Almé B, Bremmelgaard A, Sjøvall J, et al: Analysis of metabolic profiles of bile acids in urine using a lipophilic anion exchanger and computerized gas-liquid chromatography-mass spectrometry, *J Lipid Res*, **18**, 339-362 (1977)
- 139) Naqvi SH, Herndon BL, Kelley MT, et al: Detection of monohydroxy "bile acids" in the brains of guinea pigs afflicted with experimental allergic encephalomyelitis, *J Lipid Res*, **10**, 115-120 (1969)
- 140) Naqvi SH and Nicholas HJ: Conversion of 3-keto-5 $\beta$ -cholanoic acid to lithocholic acid by guinea pig brain tissue, in vitro, *Steroids*, **16**, 297-316 (1970)
- 141) Kok E, Burstein S, Javitt NB, et al: Bile acid synthesis. Metabolism of 3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenic acid in the hamster, *J Biol Chem*, **256**, 6155-6159 (1981)
- 142) Mano N, Goto T, Uchida M, et al: Presence of protein-bound unconjugated bile acids in the cytoplasmic fraction of rat brain, *J Lipid Res*, **45**, 295-300 (2004)
- 143) Mano N, Sato Y, Nagata M et al: Bioconversion of 3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenic acid into chenodeoxycholic acid by rat brain enzyme systems, *J Lipid Res*, **45**, 1741-1748 (2004)
- 144) Shefer S, Cheng FW, Dayal B, et al: A 25-hydroxylation pathway of cholic acid biosynthesis in man and rat, *J Lipid Res*, **57**, 897-903 (1976)
- 145) Midtvedt T and Norman A: Adsorption of bile acids to intestinal microorganisms, *Acta Pathol Microbiol*

- Scand [B]*, **80**, 202-210 (1972)
- 146) 横田 篤: 腸内乳酸菌の新機能 —胆汁酸取り込み活性の発見と生活習慣病予防のプロバイオティクスへの応用—、*医学のあゆみ*, **207**, 862-866 (2003)
- 147) Kurdi P, van Veen HW, Tanaka H, et al: Cholic acid is accumulated spontaneously, driven by membrane  $\Delta$ pH, in many lactobacilli, *J Bacteriol*, **182**, 6525-6528 (2000)
- 148) Kurdi P, Tanaka H, van Veen HW, et al: Cholic acid accumulation and its diminution by short-chain fatty acids in bifidobacteria, *Microbiology*, **149**, 2031-2037 (2003)
- 149) Floch MH, Gershengoren W, Diamond S, et al: Cholic acid inhibition of intestinal bacteria, *Am J Clin Nutr*, **23**, 8-10 (1970)
- 150) Floch MH, Binder HJ, Filburn B, et al: The effect of bile acids on intestinal microflora, *Am J Clin Nutr*, **25**, 1418-1426 (1972)
- 151) Northfield TC and McColl I: Postprandial concentrations of free and conjugated bile acids down the length of the normal human small intestine, *Gut*, **14**, 513-518 (1973)
- 152) Trias X, Strebel HM, Paumbatner G, et al: Effects of bile acids on cultured human fibroblasts, *Eur J Clin Invest*, **7**, 189-194 (1977)
- 153) Vyvoda OS, Coleman R and Holdsworth G: Effects of different bile salts upon the composition and morphology of a liver plasma membrane preparation. Deoxycholate is more membrane damaging than cholate and its conjugates, *Biochim Biophys Acta*, **465**, 68-76 (1977)
- 154) 田妻 進、梶山悟朗: 細胞膜障害と胆汁酸、肝胆膵、**34**, 19-24 (1997)
- 155) Binder HJ, Filburn B and Floch M: Bile acid inhibition of intestinal anaerobic organisms, *Am J Clin Nutr*, **28**, 119-125 (1975)
- 156) 松岡圭介、師井義清: 胆汁酸塩のミセル形成とミセルへの可溶化 (コレステロール及びフォスファチジルコリン) —その2、表面、**41**, 357-369 (2003)
- 157) Heuman DM: Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions, *J Lipid Res*, **30**, 719-730 (1989)
- 158) Sacquet EC, Raibaud PM, Mejean C, et al: Bacterial formation of  $\omega$ -muricholic acid in rats, *Appl Environ Microbiol*, **37**, 1127-1131 (1979)
- 159) Sacquet EC, Gabelle DP, Riottot MJ, et al: Absence of transformation of  $\beta$ -muricholic acid by human microflora implanted in digestive tracts of germfree male rats, *Appl Environ Microbiol*, **47**, 1167-1168 (1984)
- 160) 穂下剛彦: 胆汁塩の比較生化学、代謝、**10**, 1070-1079 (1973)
- 161) 内田清久、門脇真澄: 胆汁と胆汁酸の比較生化学、代謝、**14**, 303-314 (1977)
- 162) Bergström S, Danielsson H and Göransson Å: On the bile acid metabolism in the pig. Bile acids and steroids **81**, *Acta Chem Scandinavica*, **13**, 776-783 (1959)
- 163) Uchida K, Kadowaki M, Nomura Y, et al: Effect of age on bile acid metabolism in rats. In "Liver and Ageing — 1978", (Kitani K ed) pp.223-238. (1978), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam · New York · Oxford.
- 164) 太田正道、角田 創、穂下剛彦: 胆汁酸の代謝 (第3報) ケノデオキシコール酸の代謝、*薬学雑誌*, **98**, 108-118, 1978.
- 165) Trunbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, et al: A core gut microbiome in obese and lean twins, *Nature*, **457**, 480-484 (2009)