

# 腸内細菌は創薬開発に有益なヒントを与える

富山大学・和漢医薬学総合研究所

服部征雄

はじめに

ヒトの消化管内には 100 兆個の細菌が生息しており、宿主と密接な関係を維持している。宿主の食生活、健康状態、生活習慣は腸内細菌叢に影響を及ぼし、逆に腸内細菌叢の変動は宿主に影響を及ぼすとされている。我々の消化管に生息する腸内細菌の 99% 以上が偏性嫌気性菌であり、嫌気的環境でのみ生育が可能である。それらの細菌は互いに協調或いは拮抗関係にあるが、成人においては比較的安定した細菌叢を形成していると言われている。外来薬物が経口投与された場合、小腸上部で吸収される場合は腸内細菌叢による影響を受けにくい、比較的分子量の大きな化合物は消化管下部まで輸送され、腸内細菌による代謝を受け様々な代謝物に変換される。この過程で薬物の活性化、あるいは賦活化、さらには発癌物質に変換される場合がある。以下、腸内細菌が行なう特異的反応の幾つかを概説する。

1. C-C 結合の開裂反応 Sennoside 類は腸内細菌により、還元的開裂を受けて真の活性成分である rheinanthrone に変換されるが、この anthrone 二量体の単量体への開裂は *Peptostreptococcus intermedius* などの多くの嫌気性菌が関与し、菌体内に存在するフラビン補酵素により行われる反応である。C-C 結合の開裂の容易さは二量体の酸化還元電位と良く相関し、sennoside (配糖体) より sennidin (アグリコン) の方が単量体への開裂がしやすい。

Anthrone C-配糖体である barbaloin は *Eubacterium* sp. BAR により C-配糖体が開裂し、aloe-emodin anthrone となり、瀉下活性が発現される。同じく、大黄に含まれる rheinoside C, D などの C-配糖体も腸内嫌気性菌により、rheinanthrone に変換される。

さらに、天然に存在する各種 C-配糖体の開裂を検討し、フラボン C-配糖体、クロモン C-配糖体、キサントン C-配糖体、没食子酸 C-配糖体の何れも腸内嫌気性菌によって C-C 結合が開裂することを示した。Mangiferin に関しては、*Bacteroides* sp. MANG を単離し、この細菌は誘導型の C-配糖体開裂酵素を産生すること、この酵素活性発現には 2 つのペプチド、低分子因子、Mn<sup>2+</sup>を必要とする事が明らかになった。また、puerarin の C-配糖体結合は *Bacteroides* sp. PUE によって開裂することが判明した。

単離した C 配糖体開裂活性のある菌株および酵素は基質特異性が高く、アグリコンが異るとその C 配糖体開裂活性を有する菌種も異なる結果となっている。C 配糖体開裂酵素はこれまで報告例の無い新規酵素である。

2. O 配糖体の開裂反応 Sennoside などの biantrone 配糖体は *Bifidobacterium* sp. SEN 等の誘導酵素によってのみアグリコンである sennidin に変換されることを明らかにした。この菌株から  $\beta$ -glucosidase 遺伝子を同定し、大腸菌で発現させた結果、この酵素は B タイプに属する  $\beta$ -glucosidase であることがわかった。また、paeoniflorin も通常の  $\beta$ -glucosidase ではアグリコンに加水分解されないが、種々の腸内細菌はこの配糖体を容易に加水分解し、骨格の異なる paeonimetabolin (PM) を生成する事を見出した。この反応過程に SH 基を有する化合物が共存すると付加体を形成し、種々の PM 誘導体に導くことができる。これら化合物は抗痙攣作用を有し、なかでも (7S)-hexylthio-PM は、valoproate より強い抗痙攣作用を示した。なお、(7R)-hexylthio-PM は筋弛緩作用を示すことが明らかになった。この SH 基の付加反応を利用して、PM の酵素免疫測定法を開発し、paeoniflorin あるいは芍薬を含む処方を経口投与した場合、血中の主成分は paeoniflorin ではなく、その代謝物 PM であることがわかった。

### 3. 脱水酸基反応および酸化的ラクトン形成反応に於ける鏡像体選択性 (enantioselectivity)

Secoisolariciresinol (SDG) などのリグナンが enterodiol, enterolactone などのエストロゲン活性を有する化合物への変換過程には脱メチル反応、脱水酸基反応、ジオールからラクトンへの酸化的閉環反応などが含まれ、夫々の反応に関与する嫌気性菌の単離が行われた。特に脱水酸基反応はカテコール型の 4-位の水酸基を選択的に脱離させるもので極めて興味ある反応である。この場合前駆体の立体配置が重要で (+)-dihydroxyenterodiol は *Eggerthella* sp SDG-2 により (+)-enterodiol に変換され、鏡像体の (-)-dihydroxy 体は strain ARC-1 により (-)-enterodiol に変換されるが、夫々の菌体は鏡像異性体を用いた場合には反応は進行しない (図 1)。また、ジオール体の 5 員環ラクトンへの酸化的閉環反応にも鏡像異性体選択性が認められた。すなわち、(+)-enterodiol は strain END により (+)-enterolactone に変換されるが、(-)-enterodiol は *Ruminococcus* sp. END-1 によって (-)-enterolactone に変換される。この時も、鏡像異性体を用いた場合は夫々の菌種による反応は進行しない。これまでのところ、両鏡像異性体とともに基質とする菌種は単離されていない。

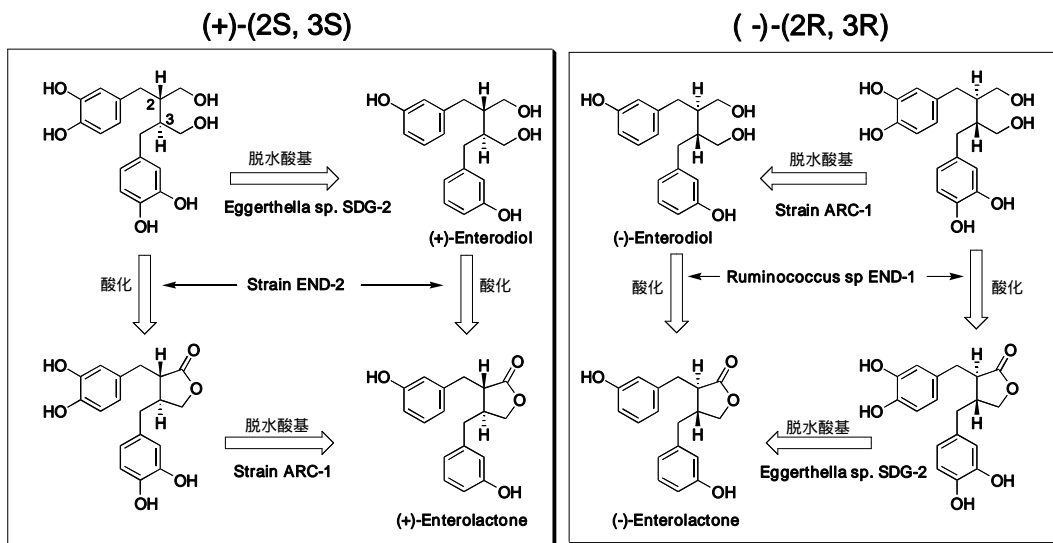


図 1 鏡像体選択性を有するヒト腸内細菌反応

#### 4. 脱メチル化反応

リグナンの脱メチル化反応に關する嫌気性菌として、2 菌種を単離している。すなわち、*Peptostreptococcus* SDG-1 は secoisolariciresinol などの様な 4-hydroxy-3-methoxyphenyl 基の脱メチル化反応を行なう菌種である。この場合、3-hydroxy-4-methoxyphenyl 基、あるいは 3,4-dimethoxyphenyl 基には作用せず脱メチル化反応は行われない。一方、arctigenin 代謝に關する *Eubacterium* sp. ARC-2 は *Peptostreptococcus* SDG-1 の様な基質に対する構造的な制約はなく 3,4-dimethoxyphenyl 基あるいは 3-hydroxy-4-methoxyphenyl 基も容易に脱メチル化反応が進行し共に 3,4-dihydroxyphenyl 基に変換される。この脱メチル化反応は鏡像異性体間の選択性は無く、(+)-或いは(-)-secoisolariciresinol はともに(+)-或いは(-)-dihydroxyenterodiol に変換される。脱メチル化反応はテトラヒドロキシ葉酸依存性のメチルとランスフェラーゼによるものと思われる。

#### 4. 複素環の開裂反応

カテキンやエピカテキンなどのフラバン類は腸内細菌により容易に分解され種々のフェノール類や  $\gamma$ -ラクトン類が生成するが、*Eubacterium* sp. SDG-2 (*Eggerthella* sp. SDG-2)はフラバンの C-環の開裂を行なうことがわかった。この時、(+)-catechin, (+)-epicatechin は 1,3-diphenylpropan-2-ol に変換されるが (-)-catechin, (-)-epicatechin は、C-環の開裂が起こった後、さらに 3,4-dihydroxyphenyl 基の 4-位水酸基が脱離した化合物に変換される。この開裂反応後の脱水酸基反応には菌体内の酵素

が1,3-diphenylpropan-2-olの2位水酸基の絶対配置を認識していることが示唆された。(+)-Pinoresinolの5員環エーテルも *Enterococcus faecalis* sp. PDG-1 によって一方のテトラヒドロフラン(THF)環が開裂し、(+)-lariciresinol に定量的に変換されるが、この菌種はさらに THF 環を開裂し、(-)-secoisolariciresinol へと導くことは出来ない。しかしながら、(+)-pinoresinol とヒト糞便と培養すると(-)-secoisolariciresinol が生成することから(+)-lariciresinol のフラン環を開裂する活性を有する別の菌種の存在が予想される。

おわりに

光岡知足東京大学名誉教授らによる嫌気性菌の培養技術の確立によってヒト腸内細菌叢の全貌が明らかになるにつれ、ヒトの健康と腸内細菌叢との間には密接な関係があることが示唆された。また、漢方薬は多くが経口投与されることから、薬物成分は必然的に腸内細菌による代謝を受けることが明らかになり、薬物の腸内細菌による活性化の例が次々と明らかにされている。

一方、99%以上が偏性嫌気性菌に属する腸内細菌による反応は、これまで生物変換の手段として利用されてきた好気性菌とは非常に異なることが判明した。すなわち、腸内細菌は還元反応が主体であり、また種々の分解反応が特徴的である。これらの反応を利用した新しい薬物の開発の試みもなされつつある。

遺伝子を用いた菌の分類法が普及し、これまでの形態、グラム染色、種々の糖類の発酵能力を指標とした生化学的方法による分類との間に整合性が見られない例も有る一方、純粋に単一菌株をとり出すことが不可能な菌種も多数存在することが知られてきた。このような菌は他の菌との共生により生存できる菌種でもある。したがって、これらのことを考慮すれば、腸内細菌叢による反応はさらに多彩である。私達は身近にある腸内細菌叢を未利用資源と考え、さらなる有効な利用を目指すべきであろう。

謝辞

本研究は赤尾光昭教授（富山大学大学院医学薬学研究部）、中村憲夫助教授（同志社女子大薬学部）、その他多くの和漢薬研究所細胞資源工学及び薬物代謝工学に在籍した学生の方々による成果である。彼らの貢献に心から感謝する。

略歴 服部征雄 (富山大学・和漢医薬学総合研究所)  
昭和 19 年 4 月生まれ

昭和 42 年 3 月 大阪大学薬学部卒業  
昭和 47 年 3 月 同大学院博士課程修了 薬学博士  
昭和 47 -50 年 米国 NIH 客員研究員  
昭和 50 -52 年 西ドイツ・コンスタンツ大学客員研究員  
昭和 52 -54 年 国立遺伝学研究所特別研究員  
昭和 54 -平成 3 年 富山医科薬科大学・和漢薬研究所助教授  
平成 3 年 2 月～ 同研究所教授 この間 2 期 4 年間所長  
(平成 17 年 10 月から富山大学・和漢医薬学総合研究所)

賞罰 和漢医薬学会賞、日本生薬学会賞  
役員歴 和漢医薬学会理事・評議員、日本生薬学会評議員

その他 客員教授：北京大學、中国薬科大学、瀋陽薬科大学、  
遼寧中医学院、重慶市中薬研究院、大連  
大学、上海中医薬大学  
名誉教授：南京中医薬大学、内蒙古中医大学