

# 大腸疾患と腸内細菌代謝物

横浜市立大学第2外科

福島 恒男 川本 勝  
久保 章 土屋 周二

## COLONIC DISORDERS AND BACTERIAL METABOLITES

Tsuneo FUKUSHIMA, Masaru KAWAMOTO, Akira KUBO and Shuji TSUCHIYA

索引用語：腸内細菌，短鎖脂肪酸，フェノール類

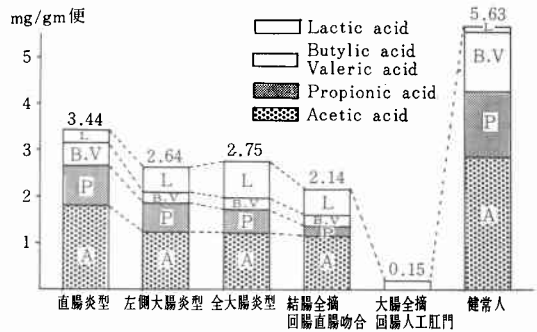
下部消化管には多数の腸内細菌が常在している。腸内細菌と宿主との関係は、ビタミンや蛋白合成，消化，吸収の補助のような宿主にとって有用な作用，腸内腐敗，発癌物質産生，毒素産生のような宿主にとって有毒な作用，腸内細菌による感染症がある。最近嫌気性菌の培養法の進歩により腸内菌叢の全体像が明らかになってきたと同時に，それらの代謝物が大腸粘膜に与える影響も次第に明らかになってきている。われわれは大腸疾患のうち潰瘍性大腸炎と大腸癌症例の便中細菌とその代謝産物を測定し，大腸粘膜病変と代謝産物の関係について検索したので報告する。

### (1) 潰瘍性大腸炎と短鎖脂肪酸

潰瘍性大腸炎症例は31例で，その内訳は全大腸炎型9例，左側大腸炎型5例，直腸炎型6例，結腸全摘兼回腸直腸吻合10例，大腸全摘兼回腸人工肛門1例である。

これら症例の早朝の便を採取し，ただちに細菌培養を行い，一部を用いて短鎖脂肪酸を測定した。測定法はガスクロマトグラフィー法と酵素法を用いた。正常対照群の便中総短鎖脂肪酸濃度の平均は5.63mg/gmであったが，潰瘍性大腸炎症例ではすべて減少しており，直腸炎型症例3.44mg/gm，左側大腸炎型2.64mg/gm，全大腸炎型2.75mg/gm，結腸全摘兼回腸直腸吻合例2.14mg/gm，大腸全摘兼回腸人工肛門0.15mg/gmであった(図1)。直腸炎症例の平均濃度がいちばん高く，左側大腸炎と全大腸炎ではほとんど差が認められなかった。それぞれについて短鎖脂肪酸組成をみると正常対照群では揮発性分画である酢酸，プロピオン酸，酪酸が全体の97%を占めた。しかし潰瘍性大腸炎では

図1 潰瘍性大腸炎の病型による便中短鎖脂肪酸濃度および分画



これらの和は罹患範囲が広がるにつれて減少し，非揮発性分画である乳酸の濃度が罹患範囲が広がるにつれて増加し，罹患範囲と短鎖脂肪酸分画に一定の規則性があることが分った。結腸全摘兼回腸直腸吻合例はほぼ左側大腸炎と全大腸炎の値と等しかったが，回腸人工肛門では正常対照群の1/10以下であった。本症の罹患範囲別に顕出血の有無で活動期と緩解期に分けて測定した短鎖脂肪酸濃度と分画を図2に示した。

直腸炎の緩解期は5.51mg/gm，と正常対照群とほぼ等しい値であるが，活動期では2.41mg/gmと濃度は半減した。しかし左側大腸炎と全大腸炎型では緩解期と活動期との間に濃度差はみられなかった。分画についてみると罹患範囲別に活動期では揮発性分画である酢酸，プロピオン酸，酪酸の和が減少し，非揮発性分画である乳酸が罹患範囲が広がるにつれて増加した。

この結果を非揮発性短鎖脂肪酸を分母に揮発性短鎖脂肪酸を分子とした比 (volatile/non volatile) として図3に示した。正常対照群の平均値は45であったが，

\*第20回日消外会総会シンポジウム

外科的消化器疾患と腸管内細菌

図2 潰瘍性大腸炎症例の病型、病期別における便中短鎖脂肪酸濃度および分画

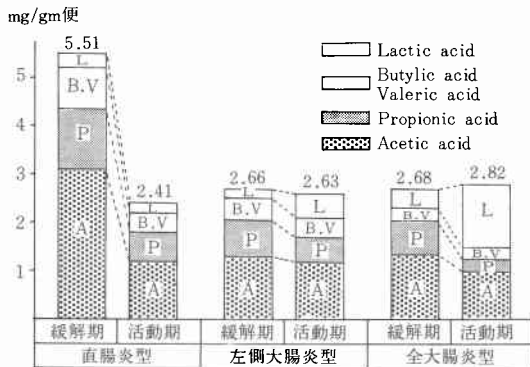
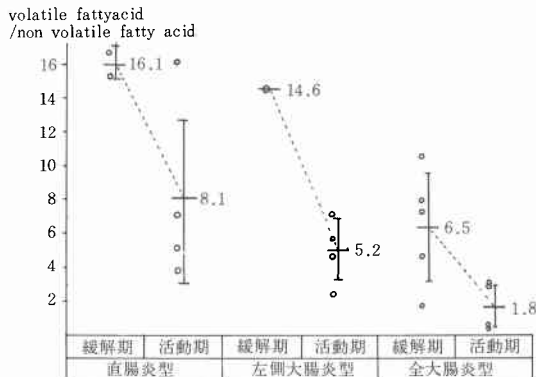


図3 潰瘍性大腸炎症例の病型・病期別における便中の揮発性短鎖脂肪酸濃度/非揮発性短鎖脂肪酸濃度(乳酸)比



潰瘍性大腸炎症例ですべて低下していた。そして同じ罹患範囲では活動期で低下し、罹患範囲が広い程低下していた。

この volatile/non volatile ratio と排便回数との相関をみると、図4のごとく、排便回数が増加するにつれて、この比が低下すると言う有意な負の相関関係が見出された。

以上のように潰瘍性大腸炎の排便回数と短鎖脂肪酸の組成比とは一定の規則性があることが判明した<sup>1)</sup>。

潰瘍性大腸炎症例の便中細菌を培養、同定してみると総菌数は正常対照群で平均 $10^{11.2 \pm 0.2}$ /gm あるが、本症ではすべて減少していた(図5)。

どの罹患範囲をとってみても、活動期で菌数の減少は著明であった。とくに結腸全摘兼回腸直腸吻合症例は $10^{9.3 \pm 0.5}$ /gm と著明に減少していた。この総菌数の減少を細かくみると嫌気性菌である Bacteroidaceae,

図4 潰瘍性大腸炎症例における便中の揮発性短鎖脂肪酸濃度/非揮発性短鎖脂肪酸濃度(乳酸)比に対する排便回数

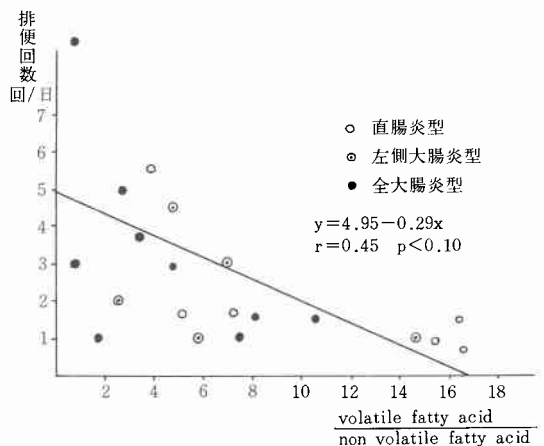
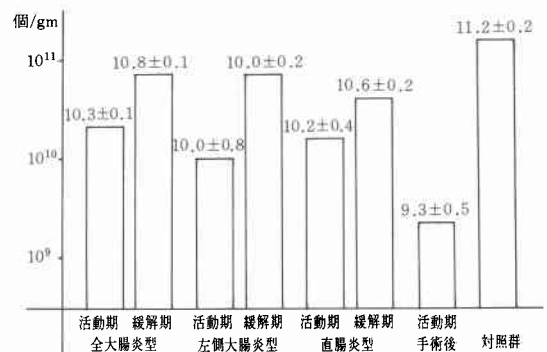


図5 潰瘍性大腸炎の罹患範囲別の活動期、緩解期の便中細菌数

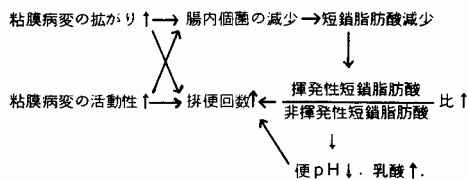


Eubacterium, Peptococcaceae, Bifidobacterium などが減少しており、これに反して好気性菌では、いくつかの菌種が増加していたが、有意な変動ではなかった。

個々の症例の便中細菌数と短鎖脂肪酸濃度を半対数座標に plot してみると、両者は正の相関を示した。

以上の結果から、潰瘍性大腸炎における短鎖脂肪酸は図6の様には作用しているものと考えられた。すなわち、潰瘍性大腸炎の罹患範囲が広がるか、または活動期になると腸内細菌が減少し、排便回数は一般的に増加することが多い。腸内細菌の減少は短鎖脂肪酸濃度を減少させ、volatile/non volatile ratio は上昇している。便中の乳酸が増加してくると乳酸は比較的吸収されにくく、腸管内 pH を低下させ、このために排便回数が増加してくる。このように潰瘍性大腸炎では短鎖脂

図6 潰瘍性大腸炎と短鎖脂肪酸の関係



脂肪酸が病態に密接に関連していることが判明した。

短鎖脂肪酸は小腸内で消化吸収されなかった cellulose, hemicellulose, pectin などのような多糖質を基質として腸内細菌から生成される炭素数 1—6 までのカルボン酸である。ヒトの結腸内では酢酸、プロピオン酸、酪酸が主なものである。Rubinstein<sup>2)</sup>によれば便中の平均有機酸量は 172mEq/l で、主なものは酢酸 40mEq/l (2.4mg/ml)、プロピオン酸 17mEq/l (1.2mg/ml)、酪酸 15mEq/l (1.3mg/ml) で、短鎖脂肪酸は有機酸量の 53% を占めたという。われわれの測定の結果では酢酸  $3.1 \pm 0.8$ mg/gm (mean  $\pm$  s.d.)、プロピオン酸  $1.5 \pm 0.6$ mg/gm、酪酸  $1.0 \pm 0.6$ mg/gm であり、彼等の値とはほぼ等しかった。

短鎖脂肪酸は便中の水分の主要な溶質であり、便中の水分および電解質の喪失に大きく関与している<sup>3)</sup>。炭水化物の吸収障害による下痢症では短鎖脂肪酸の大量の排出が認められている。Montgomery<sup>4)</sup>、下山<sup>5)</sup>らは、潰瘍性大腸炎症例の便中短鎖脂肪酸を測定しているが、一日排泄された短鎖脂肪酸量、とくに非揮発性短鎖脂肪酸の増加を報告している。本症では揮発性短鎖脂肪酸が減少し、非揮発性短鎖脂肪酸が増加して、腸粘膜傷害性に働かし、浸透圧性および滲出性下痢の原因になり、排便回数の増加に関与していると考えられている<sup>1)</sup>。短鎖脂肪酸のうち、大腸粘膜は酪酸とプロピオン酸を代謝しており、それと同時にこれらは大腸粘膜の上皮細胞の発達に対して促進的に作用しているといわれている<sup>6)</sup>。

ヒトの結腸とくに結腸後半の粘膜はエネルギー源として酪酸に依存している。Roediger<sup>7)</sup>は、潰瘍性大腸炎症の結腸粘膜細胞における酪酸の uptake を測定し、健常対照群の結腸粘膜細胞に比べて減少していることを報告した。そして彼は酪酸の取り込み障害が潰瘍性大腸炎の病因であると推定している。

われわれの結果でも健常対照群に比較して酪酸の濃度は著明に減少しており、さらに罹患範囲が広いほど減少していた。結腸における酪酸生成の低下もその uptake の低下とともに粘膜を傷害し潰瘍性大腸炎の

発生要因の 1 つになると推定される。

次に乳酸の変動について述べてみたい。乳酸は多数の腸内嫌気性菌により pyruvate から生成され、pyruvate は発酵反応の主要な代謝産物であるが、生成されるとただちに酢酸、プロピオン酸、酪酸、乳酸、炭酸ガス、水素、メタンなどに交換される。乳酸は発酵過程の中間代謝物のなかでは重要な位置を占めず、ヒトや他の動物の腸管内で多量にみとめられることはまれである。しかし溶解し、発酵される多量の炭水化物が存在し、解糖が亢進している時には乳酸生成は増加する。

発酵が亢進すると腸内の pH は低下し、それが乳酸を利用する細菌の代謝を抑制して乳酸濃度が上昇してくる。また小児の急性感染性下痢症や小腸の糖分解酵素欠損症などでは、乳酸濃度が 50mmol/l にも達したと報告されている<sup>8)9)</sup>。

潰瘍性大腸炎における乳酸の増加は食事内容の変化ではなく、恐らく炎症性滲出液、腸内への出血などにより、腸内の基質が変動したり、腸運動の変動、pH の変動などの腸内環境の変化が乳酸を増加させたと考えられた。消化器病学のなかで、この分野での研究は比較的少ないが、大腸疾患の病態解明のうえでは重要な問題と思われ、粘膜の変化に起因して変動する細菌および細菌代謝物の研究の進歩が望まれる。

## (2) 大腸癌と芳香族化合物

今回の対象となった大腸癌症例は 33 例の進行癌で、結腸癌は 7 例、直腸癌は 26 例で、大腸癌規約で分類すると Rs 3 例、Ra 9 例、Rb 14 例であった。入院翌朝前処置をしないうちに採取、細菌培養し、芳香族物質をガスクロマトグラフィー法で測定した。Phenol 類は tyrosine を基質として、腸内細菌から生成される代謝最終産物である。

便中 phenol は健常対照群では 15 例中 1 例も検出されなかったが、結腸癌 7 例中 1 例 (14%)、直腸癌 26 例中 7 例 (27%) に検出された。便中 phenol 濃度は直腸癌で  $15 \pm 30$ μg/gm、結腸癌では 1 例のみの濃度は 50 μg/gm であった。

便中 p-cresol は健常対照群で 15 例中 9 例 (60%) に検出されたが、結腸癌では 7 例中 7 例 (100%)、直腸癌のうち Rs は 3 例中 3 例 (100%)、Ra 9 例中 7 例 (77.8%)、Rb では 14 例中 14 例 (100%) に検出された。対照群と Rb との間には 5% 以下の危険率で有意差がみられた。

便中 p-cresol 濃度は対照群で  $50 \pm 60$ μg/gm であ

たが、結腸癌で $170 \pm 180$ 、直腸癌のうち Rs  $200 \pm 250$ 、Ra  $140 \pm 170$ 、Rb  $200 \pm 190 \mu\text{g}/\text{gm}$ であり、対照群と Rb との間には5%以下の危険率で有意差がみとめられた(図7)。

また4-ethyl phenolは検出されなかった。この結果、tyrosineよりphenol類に至る代謝経路は図8のようにtyrosineが脱アミノされてphloeric acidになり、脱炭酸されてp-hresol, phenol, 4-ethyl phenolが生成される。ヒトの結腸内では、主としてp-cresolが生成され、少量のphenolが生成されるが、4-ethyl phenolは見出しされなかった。また大腸癌ではこれらの検出率、濃度が増加していた。

大腸癌症例の便中短鎖脂肪酸濃度は健康対照群の $5.6 \pm 1.5 \text{mg}/\text{gm}$ に比べ、どの部位でもほぼ $2.0 \text{mg}/\text{gm}$ 前後と1/2以下に減少していた。また組成は健康人と比べ著変はみられなかった。

大腸癌の発生には腸内細菌が関与する物質が直接発癌物質または発癌促進物として作用しているといわれている。それらの物質としては二次胆汁酸、コレステロール代謝物、ニトロ化合物、アミノ酸代謝物など

がある。

われわれはtyrosineの代謝産物であるphenol類を大腸癌症例で検索し、大腸癌、とくに下部直腸癌症例の便中に有意なp-cresolの上昇を認めた。

正常人の尿中からは1日50~100mgの揮発性phenolがp-cresolとphenolの形で大部分、4-ethyl phenolで少量排泄されている<sup>10)</sup>。

これらは腸内細菌によって生成され、無菌動物の尿中には株出されないといわれている<sup>11)</sup>。

そして食物中の蛋白質を減少させると尿中phenol類も減少すると報告されている<sup>12)</sup>。

Boutwell Borch<sup>13)</sup>はdimethyl benzantraceneをinitiatorとしてマウスの皮膚癌発生に促進作用があることを報告した。

WynderとHoffmann<sup>14)</sup>はさらにこの事実を確認した。Bone<sup>15)</sup>らは腸内細菌をin vitroでtyrosineを添加して培養し、主として好気性菌がphenolを生成し、嫌気性菌がp-cresolを生成することを見出した。そして正常人の尿中phenol排泄量は $9.8 \text{mg}/\text{日}$ で、p-cresol排泄量は $51.8 \text{mg}/\text{日}$ であったが大腸癌症例の尿中phenolは $4.3 \text{mg}/\text{日}$ 、p-cresolは $54.1 \text{mg}/\text{日}$ であった。このことから彼らは、大腸癌においてphenol類は主要な発癌促進作用はないと結論している。しかし彼らは腸内の濃度を測定していない。われわれの結果のみでは、発癌との関係を断定は出来ないが他の発癌を促進する腸内細菌代謝産物の研究の進歩を待ちつつ、これからも手術後の便中phenol類の変化などをさらに追求して行きたい。

文 献

- 1) 川本 勝, 福島恒男ほか: 潰瘍性大腸炎症例の便中細菌と短鎖脂肪酸. 日消病会誌 79: 193-198, 1982
- 2) Rubinstein R: In vivo dialysis of feces as a method of stool analysis. Clin Sci 37: 549-557, 1969
- 3) Wrong OM, Metcalfe-Gibson A: In vivo dialysis of feces as a method of stool analysis I. Technique and results in normal subject. Clin Sci 28: 357-375, 1965
- 4) Montgomery RD: Studies in the intestinal fermentation in ulcerative colitis. Gut 9: 521-525, 1968
- 5) 下山 孝: 腸内細菌叢とその病態像—大腸疾患を中心にして—. 最新医 33: 2047-2056, 1968
- 6) Cummings JH: Short chain fatty acid in the human colon. Gut 22: 763-779, 1981
- 7) Roediger WEW: The colonic epithelium in

図7 Fecal concentration of p-cresol in the colorectal carcinoma

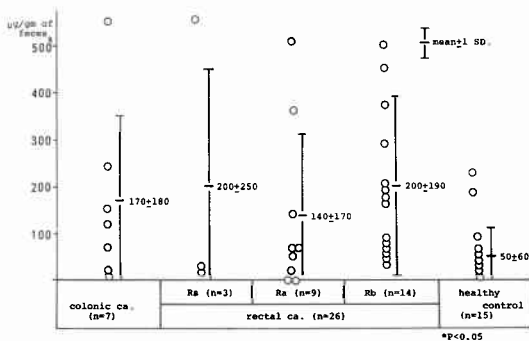
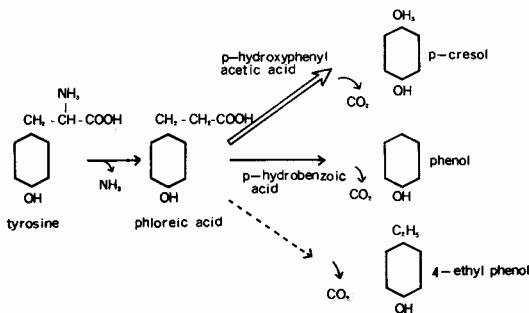


図8 大腸癌症例の便中phenol類の代謝経路



- ulcerative colitis: An energy deficiency disease? *Lancet* 2 : 712—715, 1980
- 8) Torres-Pinedo R: Studies on infant diarrhea I. A comparison of effects of milk feeding and intravenous therapy upon the composition and volume of the stool and urine. *J Clin Invest* 45 : 469—480, 1966
  - 9) Weijers HA, Van Deka JH: Etiology and diagnosis of fermentative diarrhea. *Acta Paediatr* 52 : 329—337, 1963
  - 10) Schmidt EG: Urinary phenols IV. The simultaneous determination of phenol & p-cresol in urine. *J Biol Chem* 179 : 211—216, 1949
  - 11) Bakke OM, Midtvedt T: Influence of germ-free status on excretion of simple phenols of possible significance in tumour promotion. *Experientia* 26 : 519—519, 1970
  - 12) Bakke OM: Studies on the degradation of tyrosine by rat caecal contents. *Scand J Gastroenterol* 4 : 603—608, 1969
  - 13) Boutwell RK, Bosch DK: The tumor promoting action of phenol and related compounds for mouse skin. *Cancer Res* 19 : 413—000, 1959
  - 14) Wynder EL, Hoffmann D: Experimental tobacco carcinogenesis. *Science* 162 : 862—871, 1968
  - 15) Bone E, Tamm A, Hill M: The production of urinary phenols by gut bacteria and their possible role in the causation of large bowel cancer. *Amer J Clin Nutr* 29 : 1448—1454, 1976
-