

胆汁酸の腸肝循環と食餌性阻害因子

ENTEROHEPATIC CIRCULATION OF BILE ACIDS AND ITS AFFECTING DIETARY FACTORS

伊吹文男・北川 優・岩見公和（京都府立大学農学部）

Fumio IBUKI, Masaru KITAGAWA and Kimikazu IWAMI
Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto 606

ABSTRACT

Rats under various feeding conditions were examined for enterohepatic circulation of bile acids, especially their intestinal absorption with isolated epithelial cells. Na^+ -dependent taurocholate absorption in the ileum was elevated by feeding high-fat diet over a period of 4 weeks or from its mid-period, while any diurnal variation was not observed in intestinal taurocholate absorption in meal-fed rats despite of a postprandial increase in the intestinal leucine absorption in the same rats. On the other hand, there was a reverse relationship between the serum glucose level in alloxane-diabetic rats with glucose load and the extent of taurocholate uptake into the ileal epithelial cells. In order to prove the possibility that soy protein may affect reabsorption of bile salts across the intestinal wall, $[^{14}\text{C}]$ -taurocholate was orally administered to rats together with soy protein or casein diet, followed by sacrifice of these animals as stated intervals. The maximal radioactivity was found to move into the ileum 100 and 150 min after administration of casein and soy protein diets, respectively, being less in the former than in the latter. A similar tendency was also observed for the movement of radioactivity into the caecum. On the contrary, radioactive taurocholate had more greatly accumulated in the ileal mucosa of casein-ingested rats. It is reasonable to consider that the intraluminal bile acids are much more adsorbed by soy protein and thereby prevented from their intestinal absorption than by casein. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **9**, 37-43, 1988.

胆汁酸に含まれる抱合胆汁酸の成分含量は、食餌組成の違いによって影響をうける¹⁾。一般にラット胆汁酸中の抱合胆汁酸は主としてタウロコール酸から構成されているといわれてきたが²⁾、最近、ペクチン食で飼育するだけでもタウリン、グリシン両抱合体の存在割合が変化することが報告された³⁾。我々も市販飼料で meal-fed したラット肝中の抱合胆汁酸を薄層クロマトグラフィーによって分別し、グリシン抱合体の方がむしろタウリン抱合体より多く存在することを認めている。肝から腸腔内に放出された胆汁酸は脂肪の消化吸収に関与したあと腸管から再吸収をうけ、いったん肝に戻され、再び胆汁成分の一員となる。このような

胆汁酸の“腸肝循環”は食餌の回数に応じて一日何度となく繰返されているが、回腸部における胆汁酸の再吸収は単純拡散の機構というより Na^+ 共輸送と連動した能動輸送の機構で行なわれることが知られている⁴⁾。

一方、植物たん白質とくに分離大豆たん白質摂取によって血清コレステロール値の低下現象がみられることは周知の事実であるが⁵⁾ その原因は腸腔内での消化・吸収を免れた疎水性ペプチドが胆汁中の酸性ステロイドや中性ステロイドと結合して腸管からの再吸収を妨げ、腸肝循環中の胆汁酸の損失を補うため血中ステロイドが肝に移行し、そのため血中コレステロール

値の低下がもたらされると解釈できるかもしれない⁹⁾。

本報告では、胆汁酸再吸収に及ぼす食餌たん白質(カゼインと分離大豆たん白質)の影響を、回腸粘膜からヒアウロニダーゼ処理によって分離調製した上皮細胞の系を用いて、またさらに $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸含有飼料摂取後の放射活性の腸腔内移動と粘膜蓄積の模様を *in vivo* の系によって調べた。

実験方法

分離上皮細胞による $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸の取込み

ラット小腸粘膜の擦過物を Kimmich⁷⁾ の方法に従ってヒアウロニダーゼで 37°C 、30分間処理した分離上皮細胞をタウロコール酸の吸収実験に用いた。タウロコール酸の吸収量は、異なったタウロコール酸濃度に対して 60 mM 塩化ナトリウム存在下、 37°C 、1分間インキュベーション後の上皮細胞に取込まれた放射活性から算出した。

動物実験 I

初体重 50 g 前後のウィスター系雄ラットを高脂肪食(45%ラード, 20% α -澱粉)と高澱粉食(0%ラード, 65% α -澱粉)で4週間通して飼育したもの、2週間目に交互に入れ換えたものの4群($n=8$)に分け、一夜絶食後屠殺し血液および各臓器を集めた。

動物実験 II

幼ラットを摂食時刻 $9:00\sim 11:00$ に40%カゼイン食を、摂食時刻 $20:00\sim 22:00$ に無たん白食を、または定刻にその逆の組成の飼料で4週間飼育した。実験当日 $9:00$, $11:00$, $14:00$, $18:00$ に屠殺し、直ちに小腸粘膜から分離上皮細胞を調製してタウロコール酸とロイシンの吸収能を調べた。

動物実験 III

固形飼料で飼育した体重 150 g 前後のラットにアロキサン 100 mg/kg B. W. を3日間腹腔内に注射し、10日目に実験に供した。アロキサン投与による腸粘膜吸収阻害の可能性を補正するため、アロキサン投与にもかかわらず糖負荷後血糖値の増加のみられないものを対照においた。

動物実験 IV

あらかじめ市販固型飼料で meal-feeding の条件に馴らしたラットに $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸を含むカゼイン食または分離大豆たん白質食を与え、摂食後各時間の胃腸管内、腸粘膜、肝、腎における残存放射活性を測った。

結果と考察

回腸胆汁酸吸収能の食餌性適応

Fig. 1 は、高脂肪食または高澱粉食で4週間飼育したA、B群、2週間目に飼料組成をAからBへ入れ換え

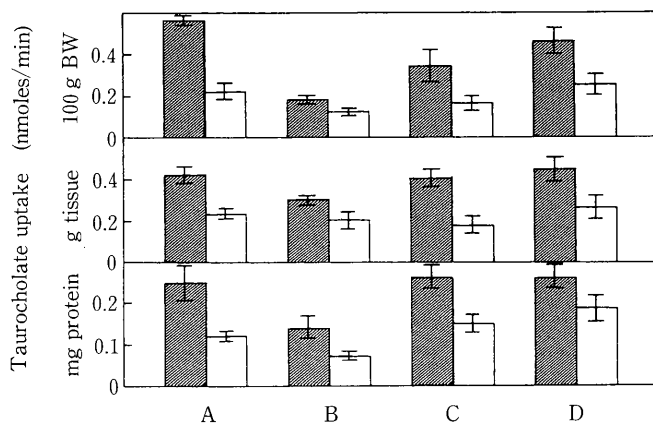


Fig. 1. Dietary adaptation of taurocholate uptake in small intestine (epithelial cells) of rats fed *ad libitum*: (A) high-fat (45% lard) diet through the feeding period, (B) high-starch (0% lard) diet through the feeding period, (C) high-fat diet in the first half and high-starch diet in the latter half, and (D) vice versa; $\text{hatched bar} = +\text{NaCl}$, $\text{white bar} = -\text{NaCl}$

たC群, BからAへ入れ換えたD群の各ラットの回腸について胆汁酸吸収能の変化を調べたものである。飼育期間を通し, あるいは飼育期間の途中に高脂肪食を与えたA, C, D群で, 高澱粉食を続けたB群に比べ高いタウロコール酸の吸収能が認められた。高脂肪食摂取によって腸肝循環の機能に何らかの変化が生じ, 腸相での胆汁酸再吸収能にも食餌性の適応が起きたと考えられる。

回腸胆汁酸吸収能の日内リズム

糖やアミノ酸の腸管吸収能には摂食時刻に対応した日内リズムの存在が知られているので⁸⁾, Fig. 2では, 回腸における胆汁酸吸収能にそのような変化がみられるかどうかについて検討した。ラットの飼育条件は実験方法に記述の通りである。タウロコール酸の吸収能は摂食後若干高くなる傾向がみられたものの, アミノ酸(この場合, ロイシン)吸収能で観察されたほどの顕著な変化は示されなかった。小腸粘膜上皮細胞は, ふつう2日以内に腺窩から絨毛先端に移動し, そこで剥落するといわれているが, 物質輸送に限らず消化吸収に関与する膜結合性酵素の活性変化に比べても, 胆汁酸吸収に関与する“輸送担体”の量的あるいは質的な変動はきわめて少ないようである。

アロキサン糖尿病の回腸胆汁酸吸収に及ぼす影響

高脂肪食で胆汁酸吸収能の高まる傾向がみられたので, さらにホルモン(インスリン)レベルとの関連性を探るため, アロキサン投与したラットの胆汁酸吸収能について検討を加えた。Fig. 3は, その結果をまとめたものである。グルコース負荷後, 正常群と類似の低い血糖値しか示さなかった対照群, 明らかに高い血糖値を示し糖尿病をきたす糖尿病群をまとめて Na^+ イオン存在下でのタウロコール酸吸収能を比較すると, 回腸湿重量(g)当たりで表示した場合, 血糖値の程度が高くなるにつれ, タウロコール酸吸収能はむしろ低くなる傾向が認められた。これに対し, ロイシン吸収能は血糖値の高低にかかわらず, ほぼ一定であった。インスリンが胆汁酸の“輸送担体”のレベル維持に密接に関係しているとすれば, 胆汁酸吸収能の高脂肪食摂取による増加と実験的糖尿病による低下は矛盾することになる。しかし, 投与したアロキサンが直接小腸粘膜に作用して吸収能に影響を与えた可能性もあり, インスリン関与の有無を確立するためにはもう少し詳しい検討が必要である。

胆汁酸吸収に対する食餌性障害因子

抱合胆汁酸の構成成分であるタウリンやグリシンを食餌と共に与え続けると, 次第に血清コレステロール値が低下する⁹⁾。Fig. 4はタウロコール酸吸収に対す

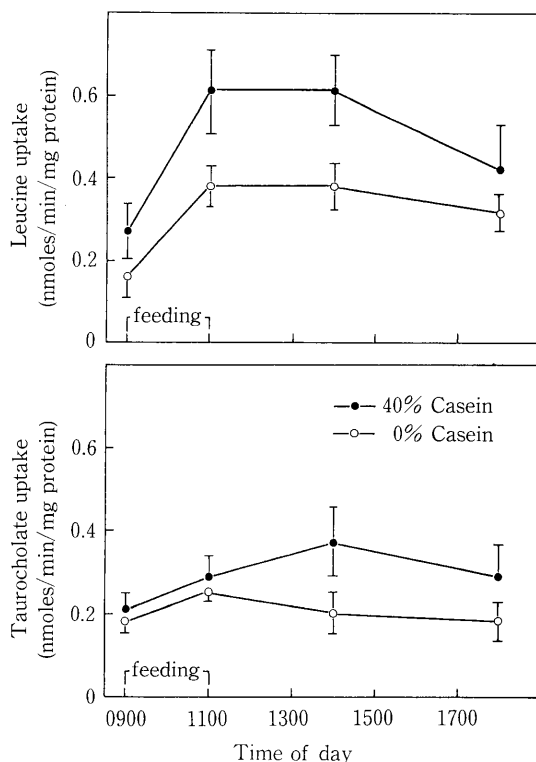


Fig. 2. Diurnal changes in taurocholate or L-leucine uptake in isolated intestinal epithelial cells from rats meal-fed on high-protein diet at 9:00 ~11:00 and non-protein diet at 20:00~22:00 (in open circle) or vice versa (in closed circle) twice a day for 4 weeks.

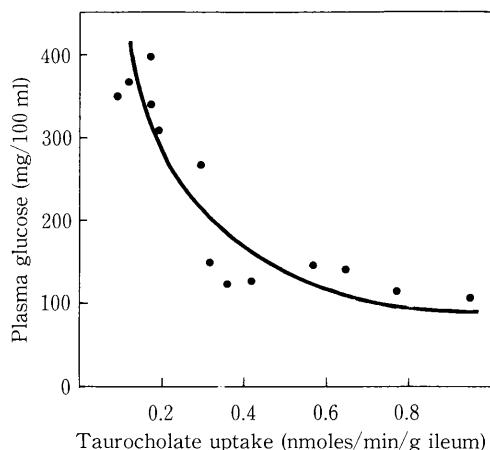


Fig. 3. Relations between diabetic symptom and taurocholate uptake in intestinal epithelial cells from rats intraperitoneally injected with alloxane (100 mg/kg B. W.).

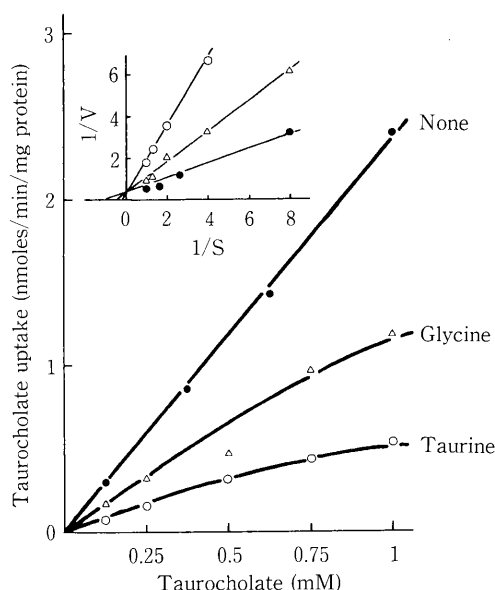


Fig. 4 Inhibition by taurine or glycine of taurocholate uptake in isolated intestinal epithelial cells from normal rats.

るタウリンおよびグリシンの阻害効果を調べた結果である。経口投与された食塊は、胃から十二指腸に送られた後、比較的すみやかに小腸上部を通過、小腸中・下部に暫時滞留してその間消化吸収をうけると考えられる。食餌成分として摂取されたグリシンやタウリンも空腸をすみやかに通過してかなりの量が回腸に達するとすれば、胆汁酸吸収にも影響が及ぶことになる。*in vitro* 実験で調べたタウロコール酸に対するアミノ酸の阻害効果はタウリンの方が強く、血清コレステロール値低下作用からみた両アミノ酸の投与効果の違いとも符号する。

カゼインまたは分離大豆たん白質消化産物存在下で

タウロコール酸の分離上皮細胞への取込み実験を行なうと、むしろ後者に高い放射活性が検出された。これは、タウロコール酸を吸着した消化産物がろ過（ミリポアフィルター）によって除かれず、必ずしも $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸を取込んでいない上皮細胞画分の測定値を高めたためと考えられる。そこで *in vitro* 系による吸収実験の代わりに $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸を飼料と共に与え、*in vivo* 消化管における胆汁酸吸収の実態を調べることにした。

Figs. 5, 6 は、カゼイン食と分離たん白質を与えたラットの胃腸管内容物中の $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸の動きとレベル変化および小腸粘膜各部位（上、中、下）へのタウロコール酸取込みの時間的経過について検討を加えたものである。胃内からの $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸の消失速度は、カゼイン食、分離大豆たん白質食のいずれの場合もほぼ類似の経過をたどり、投与した食餌たん白質の種類が異なってもそれほど著しい違いは観察されなかった。一方、食塊の腸腔内の移動速度は両飼料間で若干異なり、カゼイン食投与後100分で小腸下部内容物中に最も高い $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸の滞留がみられたのに対し、大豆たん白質を与えた場合は、摂食後150分で最大となりそのときの放射活性はカゼイン食の場合より高かった。小腸粘膜への $[^{14}\text{C}]$ タウロコール酸の取込み量は、両飼料群共、小腸中、下部で高く、とくにカゼイン食投与群においては大豆たん白質食投与群より小腸下部で高くなる傾向がみられた。大豆たん白質を与えたラット回腸腸腔内容物中の高い放射活性とカゼイン食を与えたラット回腸粘膜中の高い放射活性を考慮すると大豆たん白質消化産物が、カゼイン消化産物より多くの胆汁酸を吸着することによって直接あるいは間接に腸管吸収の段階で、胆汁酸再利用を低下させていることが推察された。

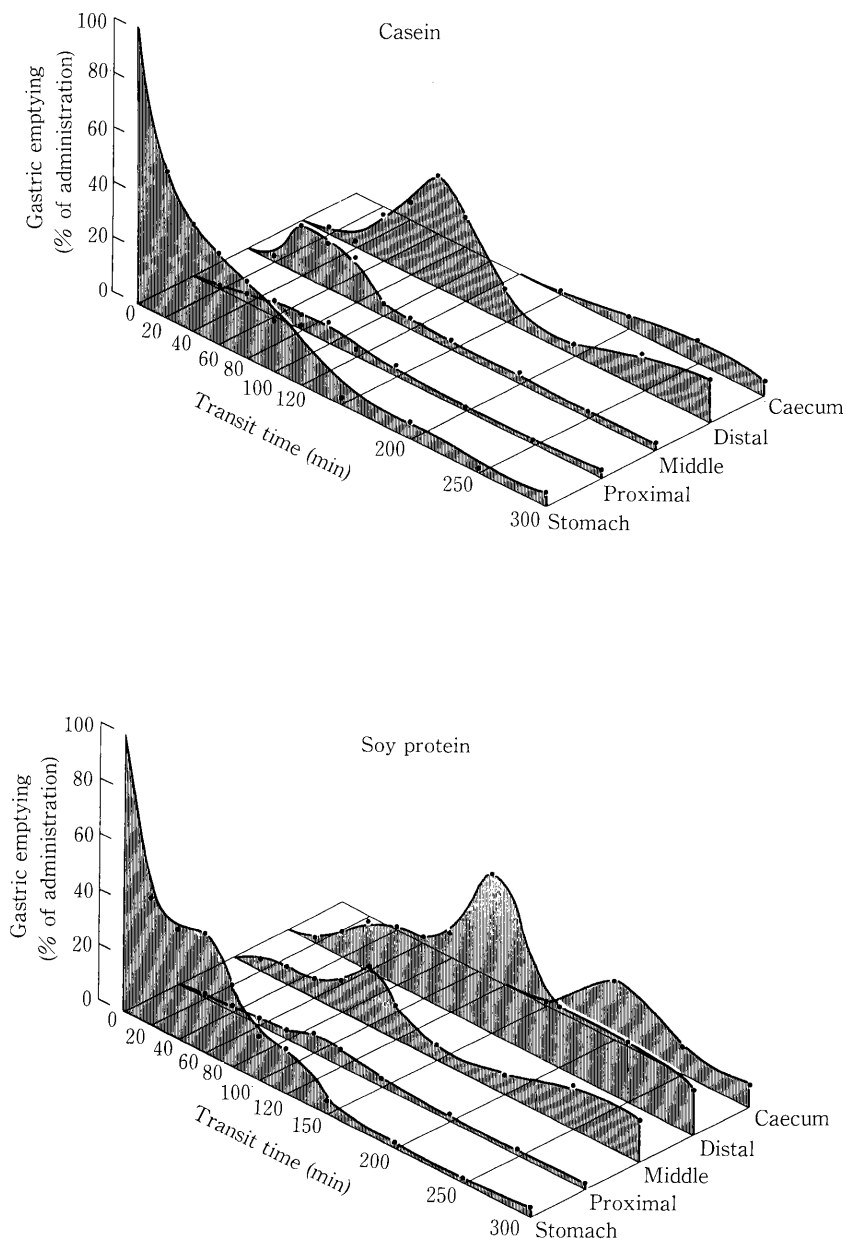


Fig. 5. Gastric emptying and intestinal transit of radioactive taurocholate in rats given (a) casein diet and (b) soy protein diet.

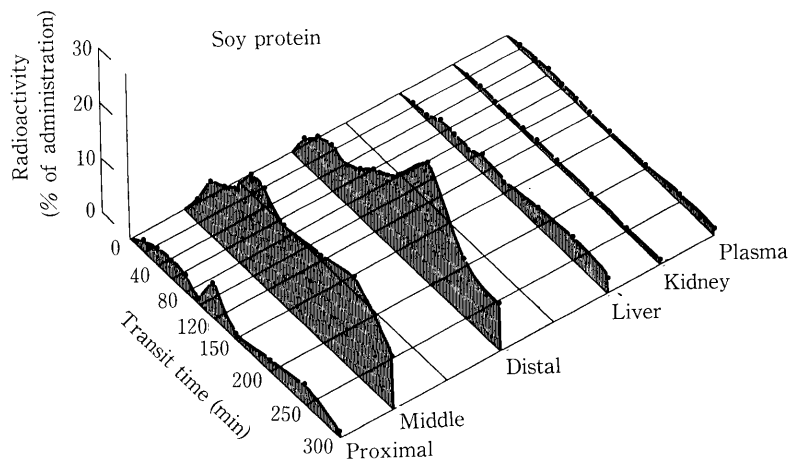
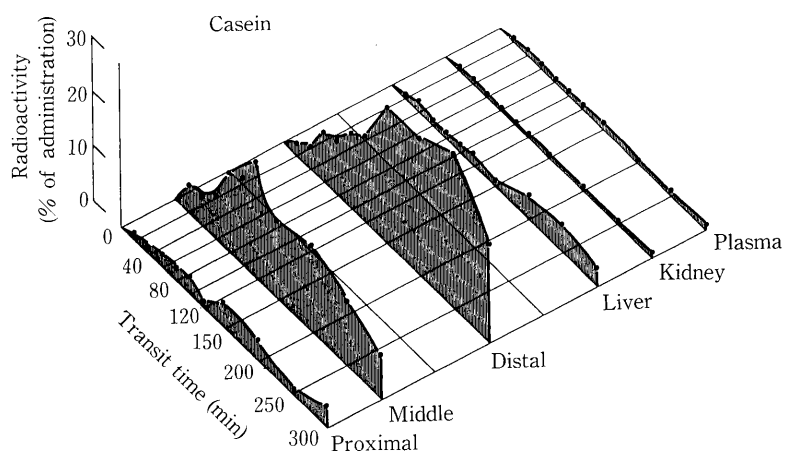


Fig. 6. Accumulation of radioactive taurocholate in intestinal mucosa, liver and kidney after ingestion of (a) casein diet and (b) soy protein diet. The experimental animals were the same as in Fig. 5.

文 献

- 1) 大菅俊明 (1972) : 肝の機能 (VI) 胆汁酸代謝. 代謝, **9**, 209-218.
- 2) 内田清久, 門脇眞澄 (1977) : 胆汁と胆汁酸の比較生化学. 代謝, **14**, 199-210.
- 3) 井出 隆, 小森靖之, 岡山聡子, 堀井正治 (1988) : ベクチンとコレステロールによるグリシン抱合型胆汁酸生成の亢進. 日本農芸化学会誌, **62**, 514.
- 4) Beesley, R. C. and Faust, R. G. (1979) : Sodium ion-coupled uptake of taurocholate by intestinal brush-border membrane vesicles. *Biochem. J.*, **78**, 299-303.
- 5) 菅野道廣 (1987) : 分離大豆たん白質—その特異的コレステロール低下作用. 大豆たん白質の栄養, 大豆たん白質栄養研究会. pp. 47-70.
- 6) Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F. (1986) : Involvement of post-digestion “hydrophobic” peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1217-1222.
- 7) Kimmich, G. A. (1970) : Preparation and properties of mucosal epithelial cells isolated from small intestine of the chicken. *Biochemistry*, **9**, 3659-3668.
- 8) Sigiyaama, K. and Yasumoto, K. (1981) : Daily rhythmic changes in amino acid transport in isolated intestinal epithelial cells from rats on restricted feeding regimen. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 167-175.
- 9) 杉山公男, 大石章夫, 大沼ゆかり, 村松敬一郎 (1988) : ラットのコレステロール代謝に及ぼす飼料添加グリシンとタウリンの影響. 日本農芸化学会誌, **62**, 513.