

脂肪酸や胆汁酸のメタボローム解析

研究分担者 窪田 哲也
国立研究開発法人理化学研究所

研究要旨

＜目的＞環境因子の一つとして注目されている腸内細菌は、食事によりダイナミックにその組成が変化し、肥満・2型糖尿病をはじめとする生活習慣病やアレルギー性疾患との関連性が指摘されている。特に食事に含まれる脂質や食後分泌される胆汁酸は腸内細菌によって分解され吸収されるが、食事や腸内細菌の変化によって分解や吸収が異なることが知られている。そこで血漿中や糞便中の脂肪酸、胆汁酸、短鎖脂肪酸の測定系を確立する。

＜方法＞1. 脂肪酸の測定: サンプルに誘導化試薬と内部標準液を添加して、遠心分離にて分離した上清をサンプル管に分注し、GC-ESIを用いて脂肪酸24種類について測定した。

2. 糞便中の短鎖脂肪酸の測定: 糞便サンプル5-10mgを用いて、ミリQと内部標準液を混合した後、塩酸とジエチルエーテルを入れ、誘導化試薬を混合し、GC-MSを用いて解析した。

3. 胆汁酸の測定: 血漿と糞便サンプルからカラムなどを用いて抽出し、MRM法を用いてLC-MS/MSで測定した。

＜結果＞腸内細菌や疾患の発症に深く関与する脂肪酸24種類についてGC-ESIを用いて測定を行い、434名の血漿サンプルの分析が完了した。男性では善玉の脂肪酸であるn-3系が低く、n-6/n-3系の比率は男性の方が有意に高かった。年齢を3群に分類すると若い人ほどn-6系の方が高く、n-6/n-3系の比率は年齢の増加とともに有意に低下することが明らかとなった。さらに血中n-3系脂肪酸はn-3系脂肪酸摂取量と魚介類と正の相関を示した。一方血中n-6系脂肪酸は、n-6系脂肪酸摂取量とは相関を示さなかった。次に血漿中の胆汁酸438名分と糞便中71名分について18種類の胆汁酸の測定を完了した。血中と糞便中の相関解析を行ったところ、リトコール酸やデオキシコール酸といった2次胆汁酸で有意な相関関係を認めた。最後にGC-MSを用いて糞便中の短鎖脂肪酸の測定系を確立し237名について解析した。その結果アセテート、プロピオン酸、吉草酸は有意に男性で高く、乳酸は女性で上昇していた。

＜まとめ＞GC-MSやLC-MS/MSを用いて、血漿中の脂肪酸24種類、血漿中と糞便中の胆汁酸18種類、糞便中の短鎖脂肪酸10種類の測定系を確立することが出来た。今後測定できた代謝産物と食事摂取、女性ホルモンや腸内細菌の影響などの因子を考量しながら解析していく。

A. 研究目的

肥満・2型糖尿病といった生活習慣病やアトピー性皮膚炎といったアレルギー性疾患は、近年増加の一途を辿っている。これらの疾患の増加は、遺伝素因と高脂肪食といったエネルギー過剰や車社会といった身体活動・運動不足といった環境因子の相互作用に起因すると考えられている。特に環境因子の一つとして最近腸内細菌は注目されており、食事によりダイナミックにその組成が変化し、肥満・2

型糖尿病をはじめとする生活習慣病やアレルギー性疾患との関連性が指摘されている。従って腸内細菌を含む環境因子と遺伝素因の相互作用を明らかにしていくことが極めて重要である。しかしこれまでの腸内細菌に関連した多くの研究は、欧米によるデータであり、欧米とは遺伝的背景や食事・運動といった身体活動も異なっていることから、日本人のデータが必須である。そこで食事・栄養摂取状況や身体活動・運動と生活習慣病との関連について、コホート研究から得られたヒト試料

を用いて、バイオインフォマティクス手法などを駆使し、腸内細菌を含めた食・栄養による免疫と代謝の相互メカニズムを踏まえつつ、生活習慣病やアレルギー疾患の新しい予防法確立に資する健康な日本人の腸管免疫と腸内細菌データベースを構築する必要がある。また、そのデータベースを横断的に分析することにより、生活習慣、腸内細菌叢、腸管免疫、疾患発症との相互関係を明らかにすることも目的とする。具体的には、国立健康・栄養研究所が確立し運営している既存のコホート研究 (NEXIS) に対し、1) 腸内細菌叢のメタゲノム解析、2) 腸管免疫指標、3) メタボローム解析、4) 詳細かつ標準的な生活習慣、5) 動脈硬化度、体格、身体組成、体力などの生理指標、6) GWASとインピュテーション法の併用による網羅的遺伝子多型解析する。遺伝子やパスウェイ情報を鍵とし、すでに構築しているデータベースに独自のデータウェアハウス技術等を用い新たな情報を追加した基盤データベースを設計する。特に食事に含まれる脂質や食後分泌される胆汁酸は腸内細菌によって分解され吸収されるが、食事や腸内細菌の変化によって分解や吸収が異なることが知られている。そこで本研究では血漿中や糞便中の代謝産物である短鎖脂肪酸を含む脂肪酸や胆汁酸を測定する方法を確立する。

B. 研究方法

国立健康・栄養研究所がすでに確立し運営している大規模介入研究の参加者を対象とし、20~80歳までの男女の血漿と糞便を用いて、脂肪酸や胆汁酸を測定する。

1. n-3やn-6を含む脂肪酸の測定

血漿サンプル400 μ lに誘導化試薬と内部標準液を添加して攪拌後に加温する。その後NaOHとn-ヘキサンを添加し振盪後、遠心分離にて分離した上清をサンプル管に分注し、GC-ESIを用いて脂肪酸24種類について測定した(図1)。

2. 血漿と糞便中の胆汁酸の測定

血漿サンプル100 μ lを用いて3mlのアセトニトリルと10 μ lの内部標準液を混合し抽出した。糞便サンプル(71名分)に関しては20-30mgを用いて230 μ lの水、1N NaOH、メタノールと内部標準液を混合し、さらにODSカラムを用いて抽出した。LC条件としては、カラムはInertSustainSwift C18を用い、移動

相は0.2%のギ酸を含むメタノールと水を用いてグラジエント条件で18種類の胆汁酸を分離した。MS条件としては、イオン化はESIによるネガティブモードで行い、MRM法で測定し、18種類の胆汁酸についてMRM設定を行った(図1,2)。

3. 糞便中の短鎖脂肪酸の測定

糞便サンプル5-10mgを用いて、90 μ lのミリQと内部標準液を混合した後、塩酸とジエチルエーテルを入れる。その後誘導化試薬であるMTBSTFAを混合し、80°Cで20分間インキュベートする。48時間後GC-MSを用いて解析した(図3)。

(倫理面への配慮)

提供された血漿サンプルは、鍵付きの-20°Cで保存する。当研究室ではヒトゲノムを扱わないが、本研究ではヒトゲノムを扱うことから、当研究所ではヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則って申請し、倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

腸内細菌や疾患の発症に深く関与する脂肪酸24種類についてGC-ESIを用いて測定を行い、434名の血漿サンプルの分析が完了した。男性では善玉の脂肪酸であるn-3系が低く、n-6/n-3系の比率は男性の方が有意に高かった(図4)。年齢を3群に分類すると若い人ほどn-6系の方が高く、n-6/n-3系の比率は年齢の増加とともに有意に低下することが明らかとなった(図5)。さらに血中n-3系脂肪酸はn-3系脂肪酸摂取量と魚介類と正の相関を示した。一方血中n-6系脂肪酸は、n-6系脂肪酸摂取量とは相関を示さなかった。次に血漿中の胆汁酸438名分と糞便中71名分について18種類の胆汁酸の測定を完了した(図6-9)。血中と糞便中の相関解析を行ったところ、リトコール酸やデオキシコール酸といった2次胆汁酸で有意な相関関係を認めた。最後にGC-MSを用いて糞便中の短鎖脂肪酸の抽出方法と測定系を確立し、237名について解析した。アセテート、プロピオン酸、吉草酸は有意に男性で高く、乳酸は女性で上昇していた(図10)。年齢別では3群間で差を認めなかった(図11)。

D. 考察

脂肪酸では男性において善玉の脂肪酸と考えられるn-3系が低く、n-6/n-3系の比率が有意

に増加していた。男性では女性に比べて心血管イベントが低いことがよく知られており、その大きな原因として女性ホルモンであるエストロゲンの影響と考えられている。本研究においても血中のn-3系が低い理由の一旦にエストロゲンなどのホルモンが関与している可能性が考えられた。さらに年齢を3群に分類すると若い人ほどn-6/n-3系の比率が高いことが明らかとなり、これは大塚らが無作為に抽出した一般住民における年齢群別血清脂肪酸構成比率における横断研究で報告した結果と一致した。このことからおそらく年齢に伴い食事摂取の内容が変化したことにより、血漿中の脂肪酸構成比率が変化したのではないかと考えられた。また血中n-3系脂肪酸はn-3系脂肪酸摂取量と魚介類と正の相関を示したが、血中n-6系脂肪酸は、n-6系脂肪酸摂取量とは相関を示さなかった。これは同じ代謝酵素を用いてn-3系とn-6系が代謝されているためではないかと考えられた。すなわちn-3系の脂肪酸をより多く摂取するとn-3系を代謝するために代謝酵素が使用されてしまい、n-6系の代謝が起こらない。実際血中n-3系が増えると血中のn-6系が減少していた。また血中においてn-6系ではリノール酸が多く、n-3系では最終代謝産物であるドコサヘキサエン酸(DHA)が最も高かった。

血漿中の胆汁酸については抽出方法を変更したことにより前年と比較して感度以下のサンプルがかなり減少したが、それでも感度以下になり測定できない検体が存在した。胆汁酸は肝臓においてコレステロールから合成され一次胆汁酸が胆嚢に蓄えられる。その後食事により腸管に分泌され、腸内細菌によって2次胆汁酸に代謝され、95%が肝臓に再吸収、4%が糞便とともに排出、1%が血中に吸収される。従って血漿中に存在する胆汁酸はかなり低いことが予想され、そのため感度以下となり測定できなかった可能性が高いと考えられた。面白いことに2次胆汁酸は血中と糞便中で正の相関を示し、血中の2次胆汁酸を測定することにより糞便中の産生量を予測できる可能性が示唆される。また糞便中の短鎖脂肪酸、特にアセテート、プロピオン酸、吉草酸、乳酸に男女の違いを認めることから、食事の質や量の違い、腸内細菌叢の違いが関与しているのではないかと考えられた。

E. 結論

GC-MSやLC-MS/MSを用いて、血漿中の脂肪酸24

種類、血漿中と糞便中の胆汁酸18種類、糞便中の短鎖脂肪酸10種類の測定系を確立することが出来た。今後食事摂取内容、女性ホルモンや腸内細菌の影響などの因子を考量しながら解析していく必要があると考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

榎木喜久江、窪田哲也、大野治美、村上晴香、宮地元彦、窪田直人 健常人302名における血漿中脂肪酸及び胆汁酸濃度の性別や年齢別解析 第26回日本脂質栄養学会 東京 2017.09.22

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

図1

血漿中の脂肪酸の測定

測定項目(24項目)		測定項目(18項目)		
脂肪酸	ラウリン酸	C12:0	胆汁酸	コール酸(CA)
	ミリスチン酸	C14:0		タウロコール酸(TCA)
	ミリスチレン酸	C14:1 ω5		グリココール酸(GCA)
	パルミチン酸	C16:0		ケノデオキシコール酸(CDCA)
	パルミトレン酸	C16:1 ω7		タウロケノデオキシコール酸(TGDCA)
	ステアリン酸	C18:0		グリコケノデオキシコール酸(GCDCA)
	オレイン酸	C18:1 ω9		ウルソデオキシコール酸(UDCA)
	リノール酸	C18:2 ω6		タウロウルソデオキシコール酸(TUDCA)
	γ-リノレン酸	C18:3 ω6		グリコウルソデオキシコール酸(GUDCA)
	リノレン酸	C18:3 ω3		デオキシコール酸(DCA)
	アラキジン酸	C20:0		タウロデオキシコール酸(TDCA)
	エイコセン酸	C20:1 ω9		グリコデオキシコール酸(GDCA)
	エイコサジエン酸	C20:2 ω6		リトコール酸(LCA)
	5-8-11エイコサトリエン酸	C20:3 ω9		タウロリトコール酸(TLCA)
	ジホモ-γ-リノレン酸	C20:3 ω6		グリコリトコール酸(GLCA)
	アラキドン酸	C20:4 ω6		ヒオデオキシコール酸(HDCA)
	エイコサペンタエン酸	C20:5 ω3		タウロヒオデオキシコール酸(THDCA)
	ベヘニン酸	C22:0		グリコヒオデオキシコール酸(GHDCA)
	エルシン酸	C22:1 ω9		
	ドコサテトラエン酸	C22:4 ω6		
	ドコサペンタエン酸	C22:5 ω3		
	リグノセリン酸	C24:0		
	ドコサヘキサエン酸	C22:6 ω3		
	ネルボン酸	C24:1 ω9		

(μg/mL) (ng/mL)

図2

血漿中胆汁酸抽出方法

0.3ml 血漿
 90μl 1N HCl
 3ml アセトニトリル

↓ vortex for 30sec
 ↓ centrifuge for 10 min at 2000g

Supernatant
 ↓ Filter (0.45μm)
 ↓ Dry by Speedvac

Residue
 ↓ 50μl MeOHで再懸濁
 ↓ LC-MS/MS解析

糞便中胆汁酸抽出方法

20-40mgの糞便
 230μl H₂O
 20μl 1N NaOH
 250μl MeOH
 内部標準液(d⁴-DCA, d⁴-TDCA, d⁴-GDCA, 500μg each)

↓ vortex for 1 hr
 ↓ centrifuge for 5 min at 2000g

100μl Supernatant
 200μl H₂O
 ↓ ODS spincolumn
 ↓ Wash with 300μl H₂O

BA fraction
 ↓ 100μl MeOHで再懸濁
 ↓ Filter (0.45μm)
 ↓ LC-MS/MS解析

図3

短鎖脂肪酸抽出方法

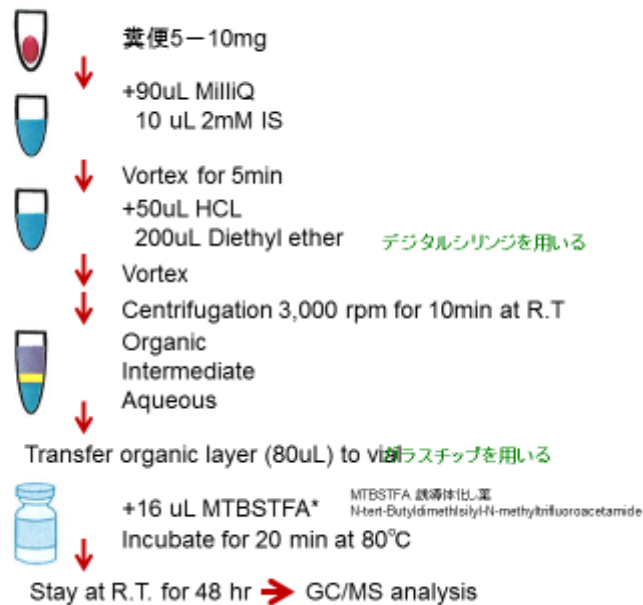


図4

女性と男性における血漿中の脂肪酸濃度

	Female		Male		Mann-Whitney U test P-Value
	FA concentration (µg/ml plasma)	Sample number (n/265)	FA concentration (µg/ml plasma)	Sample Number (n/70)	
Age	62 ± 10	265	59 ± 13	70	0.133
BMI	23 ± 3	265	24 ± 3	70	0.0000
ラウリン酸	2.3 ± 2.0	264	2.7 ± 5.1	69	0.2432
ミリスチン酸	26.0 ± 12.0	265	30.0 ± 48.1	70	0.1526
パルミチン酸	710.7 ± 145.0	265	745.0 ± 461.1	70	0.1702
ステアリン酸	241.2 ± 40.4	265	233.8 ± 115.7	70	< 0.0001
アロキジン酸	9.2 ± 1.6	265	8.3 ± 2.9	70	< 0.0001
ペヘニン酸	22.5 ± 4.3	265	19.3 ± 3.6	70	< 0.0001
リグロリン酸	21.7 ± 4.1	265	19.5 ± 3.6	70	< 0.0001
ミスチリン酸	1.6 ± 1.0	263	1.8 ± 3.9	69	0.0230
パルミトリン酸	56.8 ± 24.1	265	59.6 ± 67.0	70	0.1384
オレイン酸	605.8 ± 150.1	265	691.9 ± 627.5	70	0.9762
エイコセン酸	4.6 ± 1.4	265	5.8 ± 5.4	70	0.0105
エルシン酸	1.3 ± 0.3	70	1.5 ± 0.7	17	0.5011
ネルボン酸	41.0 ± 6.8	265	36.1 ± 5.9	70	< 0.0001
5-8-11エイコサトリエン酸	2.7 ± 1.6	256	2.6 ± 2.5	69	0.1042
リノレン酸	26.1 ± 11.6	265	28.6 ± 25.8	70	0.2802
エイコサペンタエン酸	90.3 ± 59.4	265	71.7 ± 44.4	70	0.0016
ドコサペンタエン酸	22.1 ± 8.9	265	20.5 ± 9.7	70	0.0419
ドコサヘキサエン酸	168.2 ± 51.5	265	148.3 ± 52.3	70	0.0016
リノール酸	963.7 ± 174.0	265	961.2 ± 250.7	70	0.0324
γリノレン酸	11.5 ± 7.0	265	10.3 ± 7.4	70	0.1067
エイコサジエン酸	7.3 ± 1.5	265	7.9 ± 3.6	70	0.184
ジホモγリノレン酸	39.7 ± 12.3	265	38.7 ± 13.8	70	0.4874
アラキドン酸	224.7 ± 48.4	265	209.0 ± 59.3	70	0.0136
エイコサトリアエン酸	4.9 ± 1.5	265	5.3 ± 3.2	70	0.1062
Total FA	3324.6 ± 560.7	265	3357.9 ± 1686.3	70	0.0107
SFA	1033.4 ± 195.8	265	1058.4 ± 633.2	70	0.0048
MUFA	710.1 ± 170.5	265	795.4 ± 702.8	70	0.0253
PUFA	1581.2 ± 244.0	265	1504.0 ± 382.7	70	0.0002
n9	654.3 ± 152.5	265	736.6 ± 635.7	70	0.8001
n6	1271.8 ± 203.3	265	1252.4 ± 318.9	70	0.005
n3	306.8 ± 109.7	265	269.1 ± 112.2	70	0.0016
n6/n3	4.61 ± 1.65	265	5.15 ± 1.72	70	0.0077

Results are expressed as mean ± SD.

図5

年齢別における血漿脂質中の脂肪酸濃度

	< Age 50		Age 51-59		Age 70 ≤		Kruskal-Wallis P-Value	Steel-Dwass test		
	FA concentration (µg/ml plasma)	Sample number (n/46)	FA concentration (µg/ml plasma)	Sample number (n/184)	FA concentration (µg/ml plasma)	Sample number (n/67)		<Age50 v.s. Ag. 51-59	<Age50 v.s. Age70 ≤	Age51-59 v.s.Age70 ≤
Age	43 ± 8	62	62 ± 6	195	74 ± 3	78	0.3154			
FBI	46.17		198.36		61.17		0.0207	0.0056	0.0361	0.8967
BMI	22 ± 1	62	23 ± 0	199	23 ± 0	67				
ラウリン酸	2.6 ± 5.5	61	2.3 ± 1.9	194	2.3 ± 2.0	78	0.3199			
ミリスチン酸	26.8 ± 51.2	62	26.8 ± 12.3	195	26.9 ± 10.9	78	<0.001	<0.001	0.0004	0.9672
パルミチン酸	679.6 ± 485.2	62	725.1 ± 148.4	195	729.9 ± 141.4	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9564
ステアリン酸	222.4 ± 121.5	62	243.5 ± 41.2	195	243.7 ± 36.8	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9678
アラキジン酸	8.2 ± 3.1	62	8.2 ± 1.6	195	8.2 ± 1.6	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9465
ペルリン酸	19.4 ± 4.1	62	22.6 ± 4.3	195	21.7 ± 3.8	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.1977
リグノリン酸	18.6 ± 3.7	62	22.0 ± 4.0	195	21.4 ± 3.8	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.3565
ヨリスチレン酸	1.7 ± 4.2	61	1.6 ± 1.0	194	1.6 ± 0.9	77	0.0024	0.0019	0.0173	0.9658
パルトリレン酸	54.4 ± 71.9	62	57.1 ± 23.1	195	60.4 ± 24.0	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.4981
オレイン酸	603.4 ± 661.1	62	627.1 ± 161.9	195	631.9 ± 150.6	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9443
エイコシエン酸	4.9 ± 5.7	62	4.8 ± 1.6	195	5.0 ± 1.4	78	0.0011	0.0276	0.0005	0.1726
エルシエン酸	1.5 ± 0.9	15	1.3 ± 0.3	55	1.2 ± 0.1	21	0.5631			
エイコサトレン酸	35.7 ± 8.1	62	40.6 ± 6.8	195	41.7 ± 7.2	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.4498
5-8-11-エイコサトレン酸	2.6 ± 3.1	60	2.7 ± 1.4	190	2.7 ± 1.4	75	0.0595			
リノレン酸	22.3 ± 21.0	62	27.4 ± 12.5	195	28.0 ± 17.3	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.967
エイコペンタエン酸	57.4 ± 38.0	62	89.6 ± 59.9	195	101.6 ± 54.8	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.0159
ドコサヘキサエン酸	17.8 ± 9.3	62	22.1 ± 8.8	195	24.1 ± 8.6	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.042
ドコサヘキサエン酸	132.3 ± 47.8	62	166.5 ± 48.1	195	183.4 ± 52.3	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.019
リノール酸	920.2 ± 289.8	62	1005.9 ± 175.4	195	958.3 ± 154.7	78	<0.001	<0.001	0.0845	0.0032
γ-リノレン酸	8.9 ± 7.1	62	11.8 ± 7.1	195	11.5 ± 7.1	78	0.0012	0.0008	0.0157	0.9012
エイコサジエン酸	7.0 ± 3.6	62	7.6 ± 1.6	195	7.6 ± 1.5	78	0.0001	0.0001	0.0012	0.9651
ジヘキサリノレン酸	35.5 ± 13.0	62	40.3 ± 12.3	195	40.6 ± 12.5	78	0.0109	0.0116	0.0298	0.993
アラキジン酸	208.9 ± 61.0	62	224.0 ± 47.3	195	225.0 ± 51.3	78	0.0081	0.0079	0.0298	0.9385
ドコサトレン酸	5.2 ± 3.3	62	5.0 ± 1.5	195	4.9 ± 1.6	78	0.8718			
Total FA	3096.0 ± 1772.8	62	3385.7 ± 562.9	195	3383.5 ± 532.7	78	<0.001	<0.001	<0.001	1
SFA	977.6 ± 667.1	62	1051.4 ± 198.4	195	1055.1 ± 189.0	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9689
MUFA	700.4 ± 741.7	62	731.5 ± 180.1	195	740.8 ± 170.9	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.8964
PUFA	1418.0 ± 398.9	62	1602.8 ± 238.9	195	1587.6 ± 222.5	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9602
n9	646.9 ± 669.9	62	675.4 ± 163.7	195	681.4 ± 151.8	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.9218
n6	1185.6 ± 338.0	62	1294.6 ± 203.9	195	1247.9 ± 179.8	78	<0.001	<0.001	0.0236	0.2063
n3	229.8 ± 100.1	62	305.6 ± 107.5	195	337.1 ± 105.3	78	<0.001	<0.001	<0.001	0.017
n6n3	5.7 ± 1.8	62	4.7 ± 1.5	195	4.1 ± 0.2	78	<0.001	0.0017	<0.001	0.0006

Results are expressed as mean ± SD.

図6

血漿中胆汁酸と性差の関係

血漿中胆汁酸	女性		男性		p値
	平均 (ng/ml)	数	平均 (ng/ml)	数	
DCA	146.6 ± 177.3	315	153.0 ± 118.1	90	0.2037
CDCA	113.6 ± 185.8	292	165.0 ± 242.8	88	0.0617
HDCA	7.0 ± 11.3	21	4.6 ± 2.5	5	1
UDCA	151.7 ± 241.0	283	152.9 ± 186.6	82	0.1851
CA	59.3 ± 141.9	310	61.7 ± 120.0	91	0.2896
GCA	56.4 ± 133.7	246	156.5 ± 974.5	80	0.0269
TCA	55.5 ± 450.8	238	61.5 ± 397.3	71	0.5001
LCA	5.2 ± 4.2	226	6.0 ± 6.1	66	0.6558
TLCA	12.4 ± 9.7	20	23.5 ± 35.7	11	0.7568
GLCA	8.7 ± 11.3	94	8.7 ± 7.4	19	0.7529
TDCA	43.5 ± 367.4	280	31.1 ± 165.6	80	0.6517
TCDC	125.5 ± 1158.3	316	106.5 ± 540.5	95	0.6051
THDCA	4.9 ±	1	±	0	
TUDCA	16.8 ± 19.4	74	27.1 ± 45.4	18	0.9216
GDCA	144.0 ± 230.6	306	173.7 ± 567.1	90	0.7717
GCDCA	277.8 ± 338.7	332	431.3 ± 1127.1	97	0.0428
GHDCA	0.8 ±	1	±	0	
GUDCA	130.1 ± 233.9	287	127.7 ± 190.6	84	0.8409

Results are expressed as mean ± SD.

図7

年齢別における血漿中の胆汁酸濃度

	< Age 50		Age 51-69		Age 70 ≧		Kruskal-Wallis	Steel-Dwas test		
	平均 (ng/ml)	数	平均 (ng/ml)	数	平均 (ng/ml)	数		<Age50 v.s. Age 51-69	<Age50 v.s. Age70 ≧	Age51-69 v.s. Age70 ≧
DCA	118.7 ± 90.6	99	154.0 ± 142.2	219	166.4 ± 259.4	87	0.098	0.0849	0.2864	0.968
CDCA	89.2 ± 124.0	91	127.3 ± 175.0	203	159.6 ± 298.1	86	0.0368	0.024	0.2292	0.9565
HDCA	9.4 ± 17.1	9	5.4 ± 3.6	11	4.3 ± 1.6	6	0.8519	0.8918	0.9105	1
UDCA	138.9 ± 198.0	86	151.2 ± 241.8	200	168.0 ± 231.9	79	0.9872	0.9893	0.9904	0.9982
CA	38.8 ± 110.6	98	55.0 ± 95.3	213	94.3 ± 218.5	90	0.0021	0.0023	0.0151	0.9844
GCA	37.0 ± 102.0	80	111.7 ± 665.5	178	52.1 ± 78.9	68	0.0057	0.0062	0.0326	0.9966
TCA	103.2 ± 777.8	77	50.6 ± 278.5	167	18.2 ± 35.2	65	0.1288	0.1487	0.2023	0.9989
LCA	4.6 ± 2.8	67	6.0 ± 5.6	153	4.9 ± 3.6	72	0.4779	0.6068	0.9941	0.5713
TLCA	8.4 ± 9.3	6	19.7 ± 25.9	22	7.0 ± 2.8	3	0.2526	0.3862	0.7949	0.4961
GLCA	8.3 ± 8.9	21	8.7 ± 12.7	65	8.9 ± 6.0	27	0.3987	0.963	0.5652	0.4078
TDCA	89.8 ± 660.8	85	29.9 ± 121.4	192	15.4 ± 25.5	83	0.7828	0.7691	0.9502	0.9455
TCDC	251.8 ± 2059.6	99	88.4 ± 376.4	222	58.1 ± 92.5	90	0.3549	0.5566	0.3168	0.821
THDCA	±		4.9 ±	1	±					
TUDCA	12.9 ± 12.5	15	21.3 ± 29.7	55	16.7 ± 24.9	22	0.257	0.5216	0.9626	0.3158
GDCA	116.6 ± 186.9	97	172.3 ± 431.1	210	137.0 ± 167.9	89	0.1738	0.1673	0.3247	0.9999
GCDCA	241.3 ± 307.0	103	337.8 ± 767.3	232	328.0 ± 406.9	94	0.1702	0.2175	0.2168	0.9441
GHDCA	0.8 ±	1	±		±					
GUDCA	88.2 ± 93.5	92	135.5 ± 185.8	198	162.0 ± 367.7	81	0.4594	0.5072	0.4973	0.9994

Results are expressed as mean ± SI

図8

糞便中胆汁酸濃度(性差)

	女性		男性		Mann-Whitney P-value
	ng/mg	N	ng/mg	N	
CA	282.7 ± 593.7	48	300.6 ± 510.3	15	0.7715
CDCA	233.4 ± 438.7	33	200.9 ± 247.0	11	0.946
DCA	1036.5 ± 1307.9	49	1354.9 ± 3055.8	14	0.1805
LCA	328.6 ± 327.7	50	357.6 ± 542.4	14	0.485
GCA	13.7 ± 25.7	19	5.0 ± 4.9	8	0.1674
GLCA	0.2 ± 0.1	3	0.4	1	0.1797
GDCA	2.8 ± 4.2	37	1.5 ± 2.2	12	0.0227
GCDCA	7.1 ± 21.1	36	3.4 ± 3.7	12	0.4605
GHDCA		0		0	
GUDCA	7.9 ± 10.4	10	0.9 ± 0.4	2	0.0317
TCA	5.2 ± 9.6	9	9.0 ± 10.2	2	0.4795
TLCA	4.1	1		0	
TDCA	9.8 ± 13.8	6	1.4	1	0.1336
TCDC	6.8 ± 5.1	7	9.9 ± 2.5	2	0.1432
THDCA		0		0	
TUDCA	5.0	1		0	
HDCA	5.0 ± 3.9	15	5.1 ± 4.3	5	0.9652
UDCA	150.8 ± 246.9	37	294.7 ± 540.2	12	0.8707

Results are expressed as mean ± SD.

図9

糞便中胆汁酸と年齢の関係

	Spearman	P- value	N
CA	-0.0888	0.4887	63
CDCA	-0.3287	0.0294	44
DCA	-0.2306	0.069	63
LCA	-0.2058	0.1029	64
GCA	-0.2035	0.3086	27
GLCA	-0.7379	0.2621	4
GDCA	-0.3679	0.0093	49
GCDCA	-0.0898	0.5438	48
GHDCA	0	<.0001	0
GUDCA	-0.1716	0.5938	12
TCA	-0.3326	0.3176	11
TLCA			1
TDCA	-0.4505	0.3104	7
TCDCA	0.0167	0.9659	9
THDCA	0	<.0001	0
TUDCA			1
HDCA	-0.6292	0.003	20
UDCA	-0.2313	0.1098	49

図10

糞便中短鎖脂肪酸と性差の関係

	女性		男性		Mann-Whitney U test
	平均 (mol/g)	数	平均 (mol/g)	数	p値 (Prob>ChiSq)
Formate	3.05 ± 3.01	76	3.44 ± 3.38	24	0.226
Acetate	56.02 ± 17.29	207	63.27 ± 14.99	72	0.0002
Propionate	17.25 ± 9.12	207	23.86 ± 11.66	72	<.0001
Isobutyrate	1.70 ± 1.01	207	1.95 ± 1.62	72	0.9594
Butyrate	11.95 ± 7.57	207	13.27 ± 6.82	72	0.0896
Isovalerate	1.14 ± 0.78	206	1.33 ± 1.31	72	0.8461
Valerate(Pentanoate)	1.42 ± 1.09	207	2.01 ± 1.59	71	0.0058
Hexanoate	0.27 ± 0.70	207	0.33 ± 0.58	72	0.3802
Lactate	1.17 ± 1.82	25	0.18 ± 0.26	12	0.0322
Succinate	1.76 ± 6.40	175	2.82 ± 8.69	65	0.9833

Results are expressed as mean ± SD.

図11

糞便中短鎖脂肪酸と年齢の関係

	< Age 50		Age 51-69		Age 70 ≤		Kruskal-Wallis
	平均 (mol/g)	数	平均 (mol/g)	数	平均 (mol/g)	数	p値 (Prob> ChiSq)
Formate	2.75585 ± 2.28314	31	2.99204 ± 3.37898	52	4.30174 ± 3.30977	17	0.1257
Acetate	59.18936 ± 17.1397	74	57.57219 ± 16.97827	149	57.02171 ± 16.94878	57	0.7974
Propionate	18.58277 ± 9.64237	74	19.39579 ± 10.8485	149	18.17131 ± 9.33547	57	0.8977
Isobutyrate	1.8906 ± 1.50588	74	1.6693 ± 1.02776	149	1.82214 ± 1.17751	57	0.7833
Butyrate	12.509 ± 7.81199	74	11.81624 ± 6.82712	149	13.14582 ± 8.23924	57	0.5451
Isovalerate	1.28888 ± 1.20944	74	1.10873 ± 0.79123	149	1.26494 ± 0.9293	56	0.6624
Valerate (Pentanoate)	1.85253 ± 1.50016	73	1.3915 ± 1.11139	149	1.65337 ± 1.23358	57	0.0585
Hexanoate	0.40277 ± 1.07809	74	0.22636 ± 0.40394	149	0.26548 ± 0.48062	57	0.6757
Lactate	0.68929 ± 0.94187	12	1.14778 ± 2.02234	19	0.22055 ± 0.24914	6	0.5431
Succinate	0.63045 ± 2.09465	69	2.9339 ± 9.27063	123	1.75363 ± 4.52684	49	0.8065

Results are expressed as mean ± SD.