慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	メタボリックシンドロームに胆汁酸代謝を用いて新規治療アプローチで挑む
Sub Title	Challenge to the metabolic syndrome by new clinical strategy via bile acid metabolism
Author	渡辺, 光博(Watanabe, Mitsuhiro)
Publisher	慶應義塾大学湘南藤沢学会
Publication year	2015
Jtitle	Keio SFC journal Vol.15, No.1 (2015.) ,p.102- 131
JaLC DOI	10.14991/003.00150001-0102
Abstract	この10年間, 我々もその扇動者の一役を担い, 胆汁酸に関する研究は飛躍的な発展をなしえた。現在では胆汁酸はGタンパク質結合レセプターや核内受容体のリガンドになり, 生体内シグナル分子として生体恒常性に深く関与していることが示唆されている。我々はこれらの経路を明らかにし, その研究成果は脂肪肝, 高脂血症, 糖尿病, 動脈硬化の全く新しい治療ターゲットとなり, 1つの糖尿病薬としての認可, そしていくつかの薬剤開発へと進展している。
Notes	特集 世界を救え : SFCバイオの挑戦#招待論文#第2章 健康社会の実現に向けた生命科学
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=0402-1501-0102

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

［招待論文］

メタボリックシンドロームに胆汁酸代謝を用いて新規治療アプローチで挑む

Challenge to the Metabolic Syndrome by New Clinical Strategy via Bile Acid Metabolism

渡辺 光博
慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科教授 /
慶應義塾大学環境情報学部教授

Mitsuhiro Watanabe
Professor, Graduate School of Media and Governance, Keio University/
Professor, Faculty of Environment and Information Studies, Keio University

Abstract:　この 10 年間、我々もその扇動者の一役を担い、胆汁酸に関する研究は飛躍的な発展をなしえた。現在では胆汁酸は G タンパク質結合レセプターや核内受容体のリガンドになり、生体内シグナル分子として生体恒常性に深く関与していることが示唆されている。我々はこれらの経路を明らかにし、その研究成果は脂肪肝、高脂血症、糖尿病、動脈硬化の全く新しい治療ターゲットとなり、1 つの糖尿病薬としての認可、そしていくつかの薬剤開発へと進展している。

Bile acids (BAs), a group of structurally diverse molecules that are primarily synthesized in the liver from cholesterol, are the chief components of bile. Over 10 years, the field of BA research has undergone a considerable evolution. Besides their well-established roles in dietary lipid absorption and cholesterol homeostasis, it has recently been clarified that BA are also biologically signaling molecules. BAs are ligands for the G-protein-coupled receptor TGR5, and activate nuclear receptors such as farnesoid X receptor. Through activation of these diverse signaling pathways, BAs can regulate their own enterohepatic circulation, but also triglyceride, energy, and glucose homeostasis. Thus, BA-controlled signaling pathways are promising novel drug targets to treat common metabolic diseases, such as NAFLD, obesity, type II diabetes, hyperlipidemia, and atherosclerosis.

Keywords: 胆汁酸、肥満、脂肪肝、糖尿病、薬剤開発
bile acid, obesity, NAFLD, diabetes, drug

1　メタボリックシンドローム

1.1　世界に蔓延するメタボリックシンドローム

健康に寿命を全うするためにも、様々な疾患の原因となるメタボリックシンドロームを予防、治療することは重要である。かつて、メタボリックシンドロームは＜シンドローム X ＞＜死の四重奏＞＜インスリン抵抗性症候群＞＜内臓脂肪症候群＞など、様々な名称で呼ばれていたが、NIH が発表した National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III の中でメタボリックシンドロームと呼ばれ診断基準が示され注目を浴びることとなった [1]。

メタボリックシンドロームの上流部には内臓脂肪蓄積があり、肥満、耐糖能異常、高血圧、脂質代謝異常は、遺伝的要因、環境要因、また双方によって引き起こされる。メタボリックシンドロームは先進国において重要課題となっていることはいうまでもないことだが、近年、中国やインドなどこれまで肥満者が少ないとされてきた地域においても、食文化の変化や過栄養により肥満患者が増加することで、心血管疾患が急速に増加しており、2004 年 WHO は総会にて、全世界の病死者の約 60％に肥満が関与しており、その割合は、2020 年には約 73％にまで増加すると報告した。今やメタボリックシンドロームは全世界的な問題であり、その改善は人類の QOL（quality of life）向上に不可欠である。その中でも、内臓脂肪蓄積は特にアジア諸国において重要視されるべきである。

1.2　メタボリックシンドロームの診断基準

メタボリックシンドロームの診断基準によれば、内臓脂肪蓄積はメタボリックシンドロームの最も上流に位置し主要な役割を有するものであり、必須項目となっている。もちろん、動脈硬化症、心疾患において総コレステロール、LDL- コレステロールは最大の危険因子であるが、コレステロールの管理だけでは十分といえない結果が近年に行われた多くの大規模臨床試験により明らかとなった。スタチン製剤を用いた大規模臨床試験では、コレステロールを管理することにより冠動脈疾患の発症を約 30％低下させたが、残り約 70％はスタチン製剤治療を受けているにもかかわらず冠動脈疾患を発症し、十分

に抑えることができなかった。つまり、コレステロール管理は十分に行われなければならないが、それだけでは冠動脈疾患の発症を抑制することはできないことを示唆しており、近年増加した内臓肥満に起因し冠動脈疾患の発症リスクを上昇させる糖尿病、高トリグリセライド血症、高血圧症を予防することが重要であると考えられ、メタボリックシンドロームの診断基準が制定された。

1.3　メタボリックシンドロームと高コレステロール血症の併発

総コレステロールや LDL- コレステロールの増加が冠動脈疾患の危険因子であり、糖尿病との合併はそのリスクをさらに上昇させることが、これまでの大規模臨床試験により明らかにされている[2]。また、米国の大規模臨床試験である Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) では、1973 ～ 75 年に検診を受けた 35 ～ 57 歳の男性　347,978 人を対象に 12 年間の追跡調査を行い、糖尿病が冠動脈疾患にどのように影響するか検討した[3] (図 1)。

現在、わが国の高コレステロール血症患者は約 2500 万人と推定され、

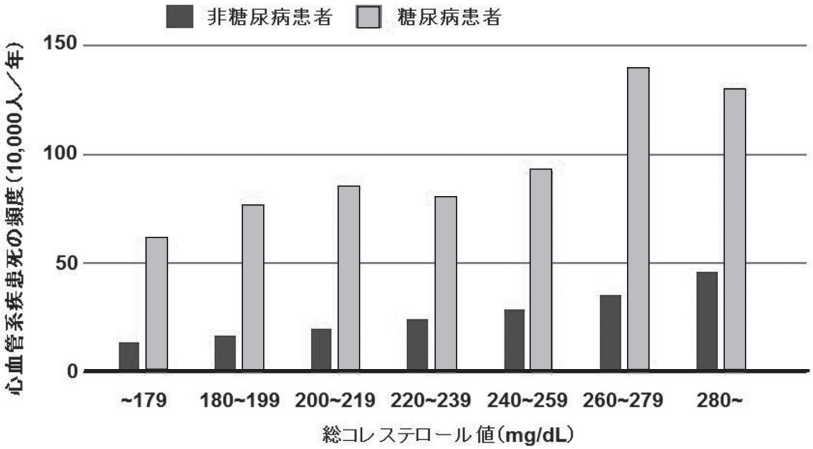


図 1　MRFIT：2 型糖尿病患者と心血管系疾患リスク
（文献 1 より引用改変）

2002 年糖尿病実態調査によると、2002 年において糖尿病が強く疑われる人は 740 万人、糖尿病の可能性が否定できない人は 880 万人で、両者合わせて 1620 万人となることが報告されている。また、糖尿病における高コレステロール血症の合併率は約 4 割という報告や、男性糖尿病患者の 45％、女性糖尿病患者の 65％が LDL- コレステロール 120 mg/dL 以上であり、高コレステロール血症を合併する糖尿病患者は非常に高率であり冠動脈疾患のリスクが 2 倍以上に上昇することが示された [4]。このように、高コレステロール血症と糖尿病・糖尿病境界型の心血管疾患高リスク合併患者は約 450 万～ 550 万人いると推定され、このような患者への早期治療介入は今後の重要な課題となっている（図２）。

1.4　メタボリックシンドロームにおける脂質代謝異常と非アルコール性脂肪性肝疾患

メタボリックシンドロームの増加に伴い、飲酒歴が乏しいにもかかわらず、脂肪肝を呈する非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が増加している。

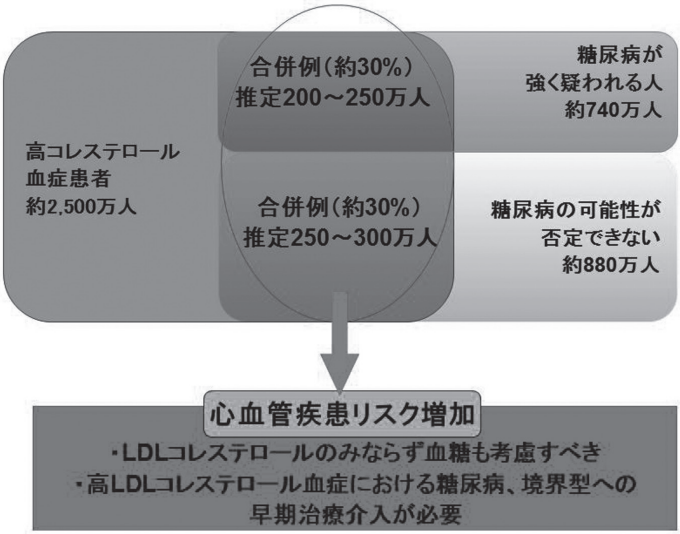


図２　高コレステロール血症を合併する糖尿病患者

NAFLD が進行し、アルコール性肝炎（ASH）と酷似する脂肪性肝炎や肝硬変への進行や肝癌を合併しうる病態になったときに、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）と呼ばれる。NASH の存在は 1960 年代より知られていたが 1980 年に Ludwig らにより概念が提唱された。1990 年代後半に疾患として肥満が認識され、日本では成人の約 20 ～ 30％が NAFLD であることが判明し、およそ 3000 万人が NASH 予備軍であり、近年、注目を浴びている。メタボリックシンドロームに起因する新しい現代の疾患 NASH を予防・治療するためには、食生活や運動など生活習慣の改善が重要であるが、今後、肝臓での脂肪蓄積、肥満をターゲットにした薬剤による積極的な治療が必須になると思われる。最近になり様々な角度から NAFLD、高 TG 血症に対する薬剤治療の可能性が示唆されているがコレステロール治療薬のように薬効が十分とはいえず、新規治療メカニズムに基づく薬剤開発が望まれている。NASH や他の生活習慣病の原因となる肥満を治療するエネルギー代謝改善薬の研究が、これまで莫大なお金・ヒト・時間を費やして行われているにもかかわらず、副作用が懸念される薬剤しかないのが現状である。エネルギー代謝改善薬が見出されれば、メタボリックシンドロームにより悪化した NAFLD・糖代謝・インスリン抵抗性を改善することが期待でき、対症療法ではなくメタボリックシンドロームに起因するあらゆる疾患を原因療法で治療することができ、今日、最も望まれる薬剤の一つとなるはずである。我々は、メタボリックシンドロームに起因するさまざまな病態を別々に考えるのではなく、エネルギー代謝疾患としてとらえ、新たな制御メカニズムを明らかにし、メタボリックシンドロームの根幹に近い原因解明、そして新規治療法開発を見出し、臨床応用へと推進していきたいと胆汁酸からのアプローチを考えた。本稿では胆汁酸代謝の視点から、肥満、高 TG 血症、糖尿病を考え、これまで我々が提唱してきた新たな治療戦略を中心に概説する [5]。

2　胆汁酸

2.1　胆汁酸の生合成と役割

胆汁酸は、肝臓においてコレステロールより一次胆汁酸と呼ばれるコール酸（CA）とケノデオキシコール酸（CDCA）が cholesterol 7α

-hydroxylase(Cyp7a1) が律速酵素となり合成され、通常胆嚢にプールされている。胆汁酸は基質であるコレステロールのステロイド骨格に起因する疎水性作用と水酸基とカルボキシル基の親水性作用を有する両親性物質で界面活性化作用を有し、食事性の脂質が高濃度に存在する腸管において腸管壁に脂質が吸着するのを防ぎ（このため腸内の石鹸とも呼ばれている）、かつ、生体内に効率よく脂質を取り込む際に重要な役割を担っている。これらのメカニズムにより胆汁酸は、食事により摂取されたコレステロール・脂質をミセル化し消化・吸収に重要な分子として良く知られている [5]（図 3）。

2.2　胆汁酸の生合成制御

腸管と肝臓の間を物質が循環する腸肝循環から逃れ、糞便に排出される１日約 500 mg の胆汁酸とほぼ同量の胆汁酸が肝臓で合成され胆汁酸プールが一定に保たれる。胆汁酸合成は胆汁酸により制御調節されていることは古くより知られていたが、詳細は明らかにされていなかった。現在では分子生物

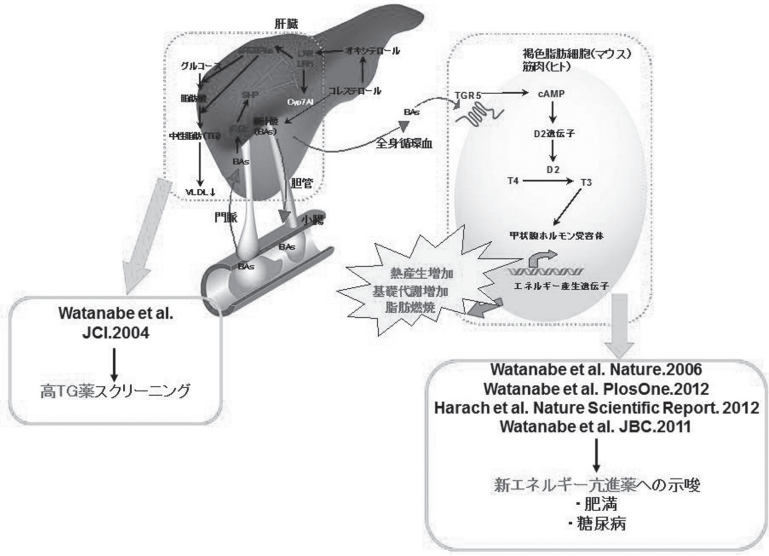


図３　シグナル伝達分子としての胆汁酸研究と薬剤開発

学の進歩により複数の遺伝子発現による調節が示唆されている。1995 年に見出された 48 番目の核内受容体である farnesoid X receptor（FXR）が見出され[6]、胆汁酸がそのリガンドとなることが示され[7, 8, 9]研究が飛躍的に進んだ。FXR のターゲット遺伝子であり、DNA 結合領域をもたず多くの核内受容体に結合し転写活性を抑制する核内受容体 SHP を介した経路と SHP を介さない経路により制御されていることが示唆されている。胆汁酸は脂質や脂溶性ビタミンの吸収において必須な分子であるが、胆汁酸はホルモンなどの基になるステロイド骨格を有しており、これらの物質を体外に排出させてしまう可能性のある唯一の経路である。生命の歴史において大部分を占める飢餓の歴史においては、むやみに貴重なステロイドを異化させるわけにもいかず、そのような理由からも胆汁酸の生合成、分泌、取り込みは厳密且つ巧妙に制御されている[5]。

2.3　胆汁酸の腸肝循環（図３）

腸肝循環により生理的に重要な物質を再循環させ、有効に利用することができ、生体内のホメオシタシスの維持に極めて重要な役割を果たしている。その中でも胆汁酸は生体に重要なステロイド骨格を有し、生命の歴史の大部分を占める飢餓の歴史において、様々なホルモンの骨格となるステロイド骨格を有するコレステロールの損失は大きく、生体が少しのステロールも無駄にすることなく高率に再吸収し利用している。胆汁酸の腸肝循環は、図３のように肝細胞における合成と分泌、胆嚢による貯蔵、食事を摂取することによる胆嚢の収縮による胆管を通じての腸管内への放出、腸管による吸収、門脈を通じての肝臓への輸送、肝細胞への取り込み、肝臓からの再分泌という閉鎖回路であり、その多くは FXR により調節を受けている[10, 11, 12, 5]。

肝臓で合成された胆汁酸の大部分はタウリンまたはグリシンに抱合され、胆汁酸輸送タンパクにより能動的に輸送され毛細胆管へ排泄される[13]。肝臓から分泌された胆汁は胆嚢にプールされ、食事を摂取すると胆嚢は収縮され、胆管より十二指腸と小腸に分泌される。脂肪の消化吸収に携わった後、その約 95％は terminal ileum（回腸下部）より再吸収され[14]、門脈へと排出される。小腸で吸収されなかった胆汁酸は回盲弁を通過した後、腸内細菌の作用によ

り抱合型胆汁酸の非抱合体への加水分解、7αの脱水酸基反応による CA の DCA への変換・CDCA から LCA への変換、CDCA から 7-ケト LCA への酸化さらに UDCA への還元がおこなわれ、胆汁酸は非抱合型の二次胆汁酸となり、一部は大腸粘膜より吸収される。腸管から吸収されなかった胆汁酸は糞便に排出され、この胆汁酸排泄システムは生体にとってコレステロールが異化され体外に排出される唯一の経路であり、高コレステロール血症が問題にされている現代の飽食の時代においては重要であるといえる[15]。糞便中に排出され失われた 5%（およそ 1 日 0.5 g）の胆汁酸とほぼ同量の胆汁酸が肝臓で合成され胆汁酸プールは前述のように厳密かつ巧妙に制御されている。FXR を中心とした制御は胆汁酸の過剰な合成や蓄積による肝臓や腸管の障害を防ぎながら腸肝循環を効率的に作動させ、生体に重要な脂溶性ビタミンや脂質を取り入れている。このような腸肝循環を 1 日に 4 ～ 12 回繰り返しており、その量は成人で約 30 g と報告されている。

3　シグナル伝達分子としての胆汁酸

脂質の消化吸収に重要な胆汁酸であるが、注意深く検索してみると、胆汁酸には単なる消化吸収にとどまらない作用を有していることが古くより示唆されてきたことがわかる。例えば約 2400 年もの昔、ギリシャ時代に胆汁酸は哲学と医学の分野に登場していたことは驚きである。西洋医学の父と称されるヒポクラテスは、人体における体液の基本組成を「血液」、「粘液」、「黄色胆汁」、「黒色胆汁」の 4 つに分類し、そのいずれかが過剰になると性格を左右すると記している。例えば、黒色胆汁過剰の場合、暗い気質、憂鬱、非社交的、感受性が強くなり、黄色胆汁過剰の場合、怒りやすい、短絡的な性格、良くいえばエネルギッシュで活動的になる、と記している。インドの伝統的医学、アーユルヴェーダにも胆汁酸は登場し、その後シルクロードを経て中国、更には日本へと伝来され、動物の肝臓、胆嚢に含まれる胆汁酸は医薬品として約 1500 年前から今日まで用いられており、正倉院の宝物殿にも医薬品として胆汁酸は存在する。このように様々な働きをすることが古来より示唆されていた胆汁酸であるが、その機能解明は今世紀に至るまで進められてこなかったことは驚きである。

3.1　胆汁酸による分子制御

長い間、胆汁酸研究は、肝臓、胆嚢、腸管を中心とした生成機序や腸肝循環による吸収・排泄の調節メカニズムについて、脂質の消化吸収についての臨床研究や動物実験が主に行われており、分子生物学を用いた解析は遅れていた。しかし、1999 年に胆汁酸は核内受容体である FXR のリガンドとなることが報告され[7-9]、その後、分子生物学的手法の使用により胆汁酸研究は急速に進展した。胆汁酸は、食事による脂質吸収とコレステロールホメオスタシス以外にも、現在、主に肝臓や小腸において 3 つの主要なシグナルに関与していることが報告されている。① MAPK pathway[16, 17] ② G protein-coupled receptor 5 (TGR5)/ membrane-type receptor for bile acids (M-Bar) など G protein-coupled receptor(GPCR) を介する経路[18, 19]、③胆汁酸をリガンドとする核内受容体 FXR を介する経路である[7-9]。

また、胆汁酸の血中濃度は食間では約 5 μM 程度であるが、食事後、肝臓や門脈中だけではなく全身血中に大量に漏れ出し[20, 21]、約 15 μM にまで上昇する[22]。さらに、FXR や TGR5 は肝臓や小腸だけでなく様々な組織で発現が認められ[18, 23]、これらのことは胆汁酸が単に消化のために存在するのではなく、食事とリンクする全身のシグナル伝達分子として重要であることを示唆している。最近我々の研究により、胆汁酸は胆汁酸特異的受容体に結合し、胆汁酸生合成、胆汁酸吸収・排泄などだけではなく、糖代謝[24, 25, 26]、脂質代謝[27, 28, 29, 30]、エネルギー代謝[31, 32]、癌[33]、タウリン生合成[34]、免疫[35]をも制御していることが明らかにされている。これらの研究の推進は、新しいアプローチによるメタボリックシンドロームにより悪化した肥満・NAFLD・糖尿病だけでなく様々な疾患の治療になる可能性がある[12, 36, 5]。実際に我々が明らかにした経路を基に、1 つがメカニズム解析により米国 FDA により糖尿病薬として認可され、2 つが世界中で臨床治験進行中である。

3.2　胆汁酸による脂質代謝調節

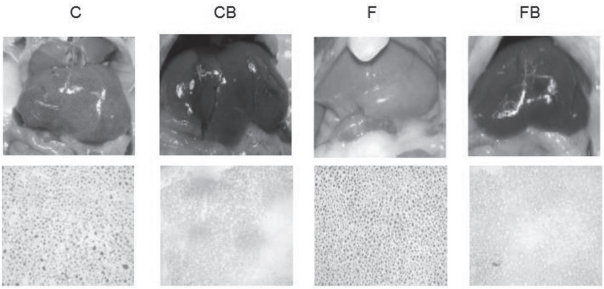
3.2.1　胆汁酸 ·FXR アゴニストを用いた動物モデルでの解析

Cyp7a1 欠損患者[37] や FXR 欠損マウス[38] では VLDL-TG が高いこと、胆石の患者に胆汁酸を投与すると血中 VLDL-TG が低下することなど、胆汁酸

が血中 TG に影響を与えることは古くから知られていたが、メカニズムは不明であった[39, 40, 41, 42]。我々は新規の NAFLD、高 TG 血症治療ターゲットの発掘を目指し、そのメカニズム解析を行った[27]。肥満・高 TG 血症モデルマウス KK-Ay に、コントロール食、高脂肪食にそれぞれ胆汁酸を添加して与えた結果、肝臓 TG、血清 TG の低下が確認され、その低下は、リポタンパクプロファイルを解析した結果、VLDL-TG 低下によることが確認された。同様に FXR 合成アゴニスト・GW4064 を用い検討した結果、KK-Ay マウス、Ob/Ob マウスの血清 TG を下げ、VLDL 分泌抑制が確認された。これらの結果から、胆汁酸の脂肪肝抑制作用（図 4）は、FXR を介していることが予想され肝臓の遺伝子発現解析を行った。その結果、胆汁酸混餌投与により転写調節因子では SHP の亢進、SREBP1c 発現の抑制が観察され、FAS、AceCS、SCD、ME 等の脂肪酸合成に重要な遺伝子の発現が低下していることが確認された。

3.2.2　遺伝子発現制御解析

SREBP1c は LXR によりその発現がコントロールされ、脂肪酸合成に重要な遺伝子の発現をコントロールしている[43]。我々は、胆汁酸混餌により SHP 発現量の亢進、SREBP1c の発現量の抑制と LXR の関係を明らかにする目的



C：　コントロール食　　F：　高脂肪食
CB：　コントロール食＋胆汁酸　　FB：　高脂肪食＋胆汁酸

図 4　胆汁酸による脂肪肝改善作用
（文献 27 より引用改変）

で、マウス SREBP1c プロモーター領域をクローニングし、ルシフェラーゼ遺伝子の上流につないだレポーター遺伝子を作成し肝臓由来の細胞に導入した。その結果、SREBP1c プロモーター領域は、LXR、LRH-1 によって発現が調節されており、それらによる発現促進作用は SHP により抑制されていることが示唆された。つまり、マウス肝臓において、胆汁酸は FXR を介し発現が亢進した SHP が、SREBP1c のプロモーター領域において LRH、LXR の転写活性を低下させ、脂肪酸合成遺伝子の発現を抑制し脂質の合成を抑制していることが示唆された（図３）。

3.2.3　FXR 経路による NAFLD・高 TG 血症治療薬開発への可能性（図３）

我々の検討により、胆汁酸または FXR 合成アゴニストは、FXR を活性化し、発現誘導された核内受容体 SHP が LXR の転写活性を低下させ SREBP-1c の発現を抑制し、脂肪酸合成酵素遺伝子の発現を低下させ、TG 合成を抑制し、血中への VLDL 分泌を低下させるという経路が明らかになった。これらの検討により FXR をターゲットにした高 TG 血症治療薬の開発の可能性が示唆され、実際に化合物がスクリーニングされ薬剤の臨床開発研究が世界中で進められている。臨床的な知見として、FXR のアゴニストは半合成物質の INT-747 が最も使用されている。INT-747 投与により肝線維化や胆汁うっ滞、そしてインスリン抵抗性、脂肪肝などを抑制する働きが報告された[44, 45, 46, 47]。第三相試験によると、12 ヶ月にわたって胆汁性肝硬変（PBC）の患者に INT-747 を投与したところ、PBC の診断要素となるアルカリフォスファターゼや総ビリルビン値が有意に改善されたという結果が得られた。また、INT-747 は NASH の治療薬としての臨床試験も進んでおり、現在第二相試験まで完了し、薬剤を投与した患者では有意な改善が見られた。

INT-747 などのステロイド系 FXR リガンドは腸肝循環のサイクルに入り二次胆汁酸に代謝されたりしてしまう可能性がある。従って、このような代謝作用がない非ステロイド系の化合物への関心が高まっており GW4064 が注目されている。マウスに GW4064 を投与すると血漿 TG 値、コレステロール値の低下やインスリン抵抗性の改善が報告されている[27, 48, 49]。また、非ステロイド系の化合物の Px-102 は第一相試験が完了し、安全性が確かめられてお

り高 TG 血症・インスリン抵抗性・NASH に効果的かどうかの第二相試験が計画されている。動物試験においては、Px-102 によりコレステロール値が低下しアテローム性動脈硬化が抑制されたという報告や、癌誘発モデルにおいて腫瘍形成が抑えられたという報告もある。

3.3　胆汁酸によるエネルギー代謝調節

3.3.1　胆汁酸投与による動物モデルの解析

日本の医療費は、およそ 40 兆円であり、その約 1/3 が老人医療費で毎年約 8％増加が見込まれ、中高年の約 1/4 人は糖尿病が疑われ糖尿病患者は動脈硬化疾患のリスクが約 2 倍になる事が知られている。糖尿病を原因治療するためにはエネルギー代謝を亢進させることが良いと考えられて、多くの製薬企業が研究開発を行っているにもかかわらずそのような薬剤を見出すことができていない。これまでにないアプローチが必要と考え、我々は代謝亢進など様々な角度から研究を推進してきた [50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 15, 57, 58]。その中でも食事により影響を受け、成人で 1 日 30 g と大量に体内を循環する胆汁酸は、食事と深く関わるエネルギー代謝と関係があるのではないかという考えにより詳細に検討を行った [31]（図 3）。高脂肪食負荷により肥満、糖尿病を誘発した C57BL/6J マウス、遺伝的肥満糖尿病モデルマウス KK-Ay に胆汁酸を混餌投与した結果、脂肪蓄積低下に伴う体重増加抑制、糖尿病改善（血糖、インスリン、経口糖付加試験、インスリン付加試験の改善）が観察された。マウスの酸素消費量を測定した結果、投与群ではエネルギー消費亢進が確認され、組織の病理観察、組織電顕解析により脂肪細胞の小型化が観察された。特に褐色脂肪組織（BAT）での変化が顕著であり、組織の褐色化、細胞内の脂肪蓄積低下、ミトコンドリアのクリステの増加等が観察された。

3.3.2　遺伝子発現による解析

胆汁酸による代謝亢進作用の標的臓器とメカニズムを明らかにする目的で、DNA マイクロアレイ、mRNA 解析を行った結果、エネルギー代謝に重要な遺伝子（PGC-1α , PGC-1β , UCP-1, UCP-3, ACO, CPT-1 等）の発現は、筋肉、肝臓では変化せず、BAT において顕著に増加した。このことは、胆汁酸が何

らかの働きにより BAT のエネルギー代謝に重要な遺伝子群の発現を亢進させ、エネルギー産生を亢進させた結果、肥満が抑制され糖尿病が改善したことを示唆している。

当初、前述の脂質代謝調節と同様に FXR からの経路を重要視し、FXR-SHP 経路からの検討を行ったが、FXR, SHP 共に BAT での発現量が生理的に影響を与えるには低く検討を断念した。また、FGF-19（マウスは FGF-15）は FXR の標的遺伝子でありエネルギー産生に重要な働きを担っているとの報告があるが､成体 BAT ではその受容体 FGFR4 の発現が低く検討を中止した。また、FXR 合成アゴニストを投与した結果、胆汁酸投与で見られた体重増加抑制作用が観察されず、このことは胆汁酸が FXR 以外の経路でエネルギー産生作用に関与していることを強く示唆している。

3.3.3　胆汁酸による細胞内甲状腺ホルモン制御

我々は、DNA マイクロアレイや DNA 発現解析の結果から発現増加した遺伝子群のなかでも、代謝調節上流にかかわる遺伝子 D2 [59]（type 2 iodothyronine deiodinase: 細胞内で甲状腺ホルモン T4 を活性化型の T3 に変換する酵素）の発現亢進に着目した。T3 はエネルギー代謝亢進作用を有することが古くより知られている。D2 欠損マウスでは高脂肪食下、胆汁酸による体重増加抑制効果、BAT の機能亢進が観察されず、胆汁酸と D2 が関与している可能性が示唆された（図３）。また、胆汁酸投与群の BAT で D2 発現を制御している cAMP 濃度亢進が認められ、胆汁酸→？→ cAMP → D2 の経路が示唆された。

我々は胆汁酸投与群で、血中胆汁酸のなかでも顕著に増加した胆汁酸をリガンドとし BAT に高発現している細胞膜表面 GPCR（TGR5/M-Bar）[19, 18] への結合により、細胞内 cAMP を増加させていることを明らかにした。更に、エネルギー消費に重要な臓器、BAT（マウス）、骨格筋（ヒト）に D2・TGR5 が発現していることを確認し、飽食時の生理的血清濃度に相当する胆汁酸（～ 15 μM）または、TGR5 合成アゴニストが、細胞内 cAMP を増加させ D2 発現・D2 活性を亢進させていることをマウス褐色脂肪細胞培養細胞、ヒト骨格筋初代培養細胞にて明らかにした。非常に興味深いことに、通常食よりも

高脂肪食を与え採取した BAT の方が、胆汁酸に対する D2 反応性が高く、このことは、通常食マウスでは胆汁酸による体重増加抑制作用が観察されなかった結果と一致している。胆汁酸は生体にエネルギーが過剰に存在する時のみ D2 を介してエネルギー代謝亢進作用があるものと思われる。食事後、胆汁酸は門脈のみならず末梢血に大量に存在する。食餌中の脂質をミセル化するという本来の役割から、食事のシグナル伝達という役割を獲得し、生体内エネルギー恒常性に重要な役割を果たしていると考えられる。

個体において適応熱産生 (adaptive thermogenesis) における D2 の役割は重要であり [60]、T3 に応答する遺伝子は UCP-1 をはじめ熱産生に関与する遺伝子がある。血中の T3 濃度を変化させることなく細胞核内の T3 濃度が D2 により産生され、局所的に必要組織の熱産生を亢進させる。T4 はその全てが甲状腺で産生され分泌されるが、ヒトにおいて T3 は生体内全体の約 20％しか分泌されず (ラットは約 40％)、その他は脱ヨード化酵素により甲状腺以外で生成されることが最近になり明らかにされている。その経路の中でも T4 を選択的に T3 に変換する D2 の役割は重要であることが研究により示されており、BAT など D2 が発現する細胞核の T3 のおよそ 50％供給している [61]。D2 のプロモーター領域には CRE (cAMP responsive element) が存在し、寒冷曝露などで増加した norepinephrine (NE) が β-adrenergic receptor (β AR) を介し増加した cAMP により m RNA 発現は亢進することが知られていたが、胆汁酸が GPCR である TGR5 を介した cAMP 増加によっても D2 遺伝子発現が亢進することが明らかにされた [31]。

BAT の活性化による熱産生では脂肪酸の酸化分解のみならずグルコースの利用も亢進することが、寒冷曝露における非代謝性グルコース誘導体 2- デオキシグルコースの BAT への取り込みが亢進することから明らかにされている [62]。また、D2 の SNPs 解析の結果 Thr92Ala で空腹時インスリン値が高く、グルコースクランプにおいて有意に糖の消費が低下していた [63] という報告もあり、肥満、糖尿病の標的因子として重要であることが示唆されている。しかし成人ヒトにおいて BAT はげっ歯類と比較し顕著に観察されないため、その重要性が疑問視されてきた。新生児の頸部、肩周辺、腎周囲などには、BAT が存在していることが認められているが、成人ではわずかにしか観察さ

れない。しかし、最近になり成人においても十分な BAT が存在することがカテコールアミンを分泌する神経内分泌腫瘍により脂肪組織の cAMP を増加させ、褐色細胞腫を惹起する臨床例などから示唆されている[64]。また最近、フルオロデオキシグルコース（FDG）を用いた PET スキャンで糖の利用を可視化することにより、成人における褐色脂肪組織が寒冷条件下で頸部、肩部に認められている[65, 66]。

3.3.4　胆汁酸による肥満・糖尿病治療への可能性

胆汁酸は、胆汁酸→ TGR5/M-Bar → cAMP → D2 経路により、エネルギー消費に重要な臓器の細胞内 T3 濃度を増加させエネルギー消費に関する遺伝子発現を誘発し、エネルギー消費を高めている。マウスの筋肉では *D2* 発現は低値であったが、ヒトでは認められ、実際にヒト骨格筋細胞に胆汁酸を添加し T3 と同様な酸素消費量の増加を確認した。T3 にはエネルギー代謝亢進作用があることが古くより臨床で知られているが、血中 T3 の増加は種々の副作用を引き起こす為、肥満治療には用いることができない。しかし、我々の発見は、血中 T3 には影響を及ぼさず、必要組織の細胞内だけで T3 を増加させエネルギー消費を高めることを可能にし、副作用の危険性が少なく肥満・糖尿病治療薬の新しいターゲットになることが期待されている。その後、抗肥満薬サプリメントの原料となっているオリーブの葉の抽出物であるオレアノール酸[67] や INT-777(6α-ethyl-23(S)-methyl-cholic acid) などの胆汁酸誘導体に TGR5 特異的な活性が見出され、マウスでの検討が行われた結果、体脂肪の減少、エネルギー代謝の亢進、耐糖能やインスリン抵抗性の改善作用が確認されている[68]。また、TGR5 は肝臓の脂質代謝にも重要である。TGR5 を欠損させたマウスは肝臓の脂質重量が増加する[69]。また、TGR5 が活性化されると脂肪肝が改善し、線維化が抑えられ肝機能が改善する。さらに、TGR5 の活性化によって血漿 TG と非エステル型の脂肪酸濃度も低下する[68]。以上から、TGR5 の活性化も NAFLD（非アルコール性脂肪性肝疾患）の治療にも効果的である。胆汁酸代謝調節は全く新しい作用メカニズムを持つ、エネルギー消費亢進による肥満、糖尿病治療を副作用なく行えるアプローチへと発展してきている。

４　胆汁酸代謝調節と GLP-1 を介した肥満・糖尿病治療への新規アプローチ

その他の代謝における TGR5 に関して重要な知見は、腸管 L 細胞においての働きが挙げられる。TGR5 は腸管 L 細胞に存在し、TGR 5 アゴニストは L 細胞からの GLP-1（Glucagon-like peptide-1）分泌を亢進させる [70]。GLP-1 は膵β細胞においてβ細胞増殖やアポトーシス低下により機能維持に重要であるほか、中枢に作用し食欲を低減させるなどの報告があり、糖尿病治療に有益なタンパクと考えられ最近注目を浴びている。TGR5 遺伝子欠損マウスやトランスジェニックマウスを用いた検討でも TGR5 が食後の GLP-1 分泌、血糖低下作用に関与していることが報告された [25]。さらに INT-777 の肥満糖尿病モデルマウスへの投与により、そのエネルギー産生亢進作用に加え、GLP-1 を介した抗糖尿病効果が報告され [68]、糖尿病治療薬の新たな戦略として重要であると考えられる。

最近、50 年以上も糖尿病治療薬として使用されているメトホルミン自体に血中 GLP-1 を増加させる作用があり血糖降下の一作用機序である可能性が報告され注目を浴びている [71, 72]。その作用メカニズムとして、メトホルミンが腸管の胆汁酸トランスポーターを阻害し腸管における胆汁酸濃度を増加させ、L 細胞の TGR5 を介した GLP-1 直接分泌亢進作用が報告されている。古くて新しいメトホルミンの新規作用メカニズム解明により胆汁酸を介した新しい作用機序を有する糖尿病治療薬開発の可能性が広がり、今後の研究の進展が期待される。

さらに減量外科手術の血糖低下作用に胆汁酸が関与している可能性が示唆され注目されている。その中でも腹腔鏡下ルーワイ胃バイパス術（LRYGB）は米国で 80％を占め他の方法より優れている。２型糖尿病に対しても LRYGB では約 75％で改善がみられ、約 50％の改善であったラップバンド法よりも有効であった [73]。また、食事療法や腹腔鏡下袖状胃切除術と比較しても LRYGB は糖尿病の改善 93％と良好な結果が得られている [74]。その詳細なメカニズムは明らかにされていないが、LRYGB で血中胆汁酸や GLP-1 の顕著な増加が確認されており、胆汁酸によるエネルギー代謝亢進と TGR5 を介した GLP-1 分泌増加が耐糖能改善やインスリン抵抗性改善の一部に寄与して

いることが明らかとなっている[26]。

5　胆汁酸吸着レジンの肥満・糖尿病治療への新規アプローチ

5.1　胆汁酸吸着レジンの血清コレステロール低下作用

胆汁酸を腸管内で吸着し糞便への排出を促進する陰イオン交換樹脂製剤は主に高コレステロール血症を対象に用いられている。これらの薬剤は腸管において胆汁酸を吸着し、回腸下部からの胆汁酸の再吸収を阻害し糞便への排出を促進する。この胆汁酸の腸管循環阻害により肝臓での胆汁酸濃度や胆汁酸プール量が低下するため、胆汁酸をリガンドとする FXR は活性化されず SHP の発現量は低下し、胆汁酸合成律速酵素である Cyp 7 A1 の遺伝子発現･活性は亢進し、胆汁酸プールを維持するために肝臓内でコレステロールから胆汁酸への異化が促進する。その結果、肝臓内のコレステロールプールが減少し、SREBPs の転写活性が亢進し、LDL 受容体の発現を亢進させ、血中からの LDL-コレステロール取り込みが促進して血中コレステロールが低下する。

5.2　胆汁酸吸着レジンの胆汁酸代謝・糖代謝への影響

我々が明らかにした胆汁酸のエネルギー代謝亢進作用メカニズムの臨床応用として、人に CA を投与することは、コレステロールの増加を引き起こすなどの問題があり残念ながらできない。しかし、このような新しい胆汁酸の機能を臨床に還元する知見が胆汁酸吸着レジンを用いた検討により、我々のデータも含め複数のグループより報告されている[75]。我々は、高コレステロール血症治療薬として使用されている胆汁酸吸着レジンが肝臓での胆汁酸合成を亢進させ、生体内の胆汁酸組成を変化させることに着目し検討を行った。BABR を投与した群は胆汁酸を投与した群と同様にエネルギー代謝が亢進し、肥満・糖尿病が改善された[24]。さらに、血糖とインスリン値が減少し、糖尿病の改善も見られた。SHP の有意な低下や Cyp7a1 の有意な増加が観察され、肝臓内の胆汁酸生産が増加したという結果から、BABR により古い胆汁酸が排泄され、肝臓で新しい胆汁酸合成が亢進したと考えられる (図 5)[24, 32]。

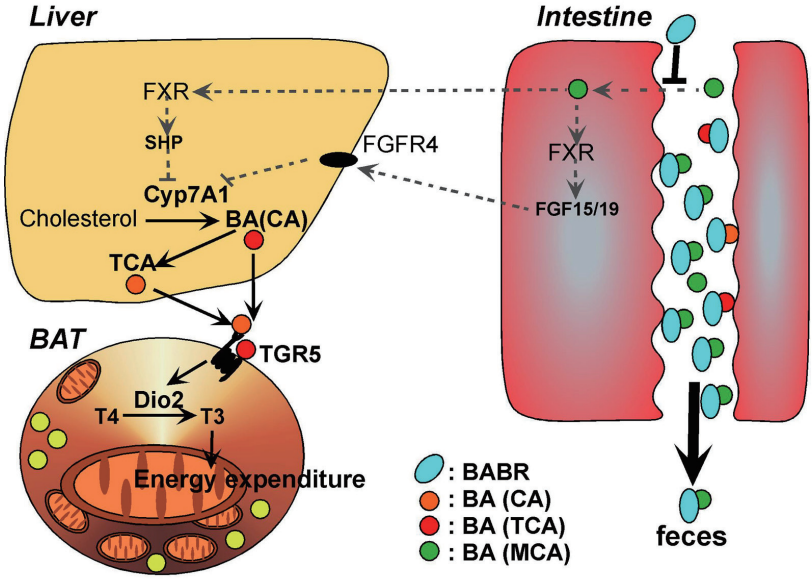


図 5　胆汁酸吸着レジンによる胆汁酸合成とエネルギー代謝亢進メカニズム
（文献 24 より引用改変）

5.3　臨床検討における胆汁酸吸着レジンの糖尿病への影響

わが国を中心に、近年、胆汁酸吸着レジンの高コレステロール血症に対する臨床試験のほかに、糖尿病を中心とするエネルギー代謝疾患に対する検討が行われ報告されている[75]。2 型糖尿病合併高コレステロール血症患者にコレスチミドを 2 週間投与したところ、空腹時血糖値、食後 2 時間血糖値が有意に低下した。さらに、肥満合併高コレステロール血症患者を対象にした 6 ヵ月のコレスチミド投与により、空腹時血糖値、HbA1c（7.3％± 2.1％→ 5.6 ± 0.8％）、body mass index（BMI）、腹腔内内臓脂肪面積の有意な低下が観察された。さらに脂質異常症を合併した 2 型糖尿病患者で血清 GLP-1 濃度を上昇させ血糖を改善する効果を示すこと[76]が報告されている。最近報告された山川らの検討では、2 型糖尿病合併高コレステロール血症患者 70 人をプラバスタチンとコレスチミド投与群の 2 グループに分け、それぞれ 3 週間投与

し経過を観察した。その結果、両群ともに総コレステロール値および LDL-コレステロール値が有意に低下したが、空腹時血糖値および HbA1c（7.7 ± 0.7％→ 6.8 ± 0.5％）はコレスチミド投与群のみ有意に低下した（図６A）[77]。

さらに、コレスチミドとは異なる胆汁酸吸着レジンであるコレセベラムを用いた、2 型糖尿病効果に対するプラセボコントロールを置いた無作為二重盲検試験：The Glucose Lowering Effect Of WelChol Study(GLOWS) が米国で行われた[78]。2 型糖尿病患者 65 人をプラセボ群とコレセベラム投与群の 2 グループにランダムに分け、それぞれ 1 日 3.75 g を 12 週間投与した。プラセボ群と比較し総コレステロールは 11.7％、LDL コレステロールは 7.3％、ApoB は 11.8％の有意な低下が観察された。HbA1c は 0.5％の有意な低下が観察され、注目すべきは投与開始前の HbA1c が 8％以上であった場合、コレセベラム投与群はプラセボ群に対し 1.0％の有意な低下を示し、8％以下の場合は 0.2％の低下で有意な低下は観察されなかったことである（図６B）。この結果は、我々が日本で行ったコレスチミドの臨床データを詳細に検討し、コレスチミド投与により空腹時血糖値 126 mg/dL 以下の正常血糖者では約 2 mg/dL の低下しか観察されず有意な血糖の低下が観察されなかったが、126 mg/dL 以上の高血糖患者では約 20 mg/dL の有意な低下が観察された結果と一致している。コレスチミドを用い、糖尿病治療薬を目指した PII 臨床試験がわが国で行われた。コレスチミドの 12 週間投与により、LDL コレステロールは 22.5% の有意な低下、HbA1c は 0.9% の有意な低下が認められた[79]。これらの検討から、胆汁酸吸着レジンは血糖が高いときのみ血糖を低下させ正常時は影響を与えず、低血糖を引き起こす可能性のないこと、体内に吸収されず重篤な副作用が少なく、肥満･糖尿病治療薬として将来の期待がもてるものと考えられ、2008 年 1 月、本薬剤は米国 FDA より糖尿病治療薬としての適応追加の承認を得た（図６）[80, 78, 81, 82, 83]。我々の、通常食マウスに胆汁酸を与えた場合における、体重、脂肪組織重量、エネルギー代謝に胆汁酸は影響を与えなかったという結果との関連性が興味深い。

5.4　胆汁酸吸着レジンのメタボリックシンドローム治療薬の可能性

最近の臨床試験では、治療中の 2 型糖尿病症例への胆汁酸吸着レジン

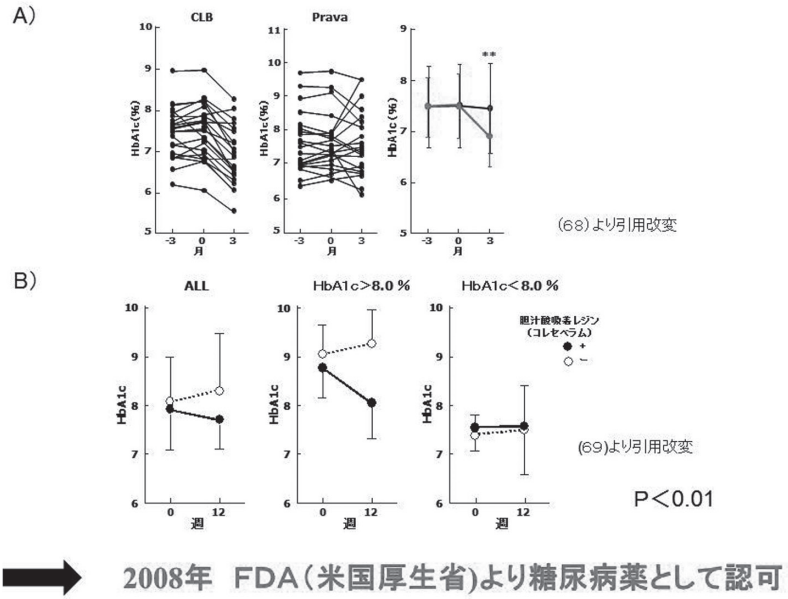


図６　胆汁酸吸着レジンによる血糖降下作用
（文献 68, 69 より引用改変）

colesevelam の併用は、先行する糖尿病治療内容（metformin・sulfonylurea・insulin のいずれか、単剤・多剤のいずれか）を問わず HbA1c を改善し、あわせて LDL コレステロールを減少させる効果を発揮することが示された。2 型糖尿病の血管合併症には微小血管病変（microvascular disease：網膜症・腎症・神経症を惹起）と大血管病変（macrovascular disease：心血管病変や脳卒中を惹起）が含まれ、前者は血糖管理による進展抑制のエビデンスが示されているが、後者については心疾患や脳卒中をきたし 2 型糖尿病症例における全死亡の約 65% に関与が指摘されるなど生命予後を左右する因子として重要であるにも拘らず、血糖管理単独での進展抑制効果は未確立である [84]。一方、高血糖・脂質異常症・高血圧という複数の因子への介入では大血管病変の進展を抑制可能であることが示されており [85]、脂質異常症と高血糖の双方を改善する胆汁酸吸着レジンは糖尿病の生命予後改善が期待される。コレステロー

ルが正常でも糖尿病患者はコレステロール 280 mg/dL 以上のヒトと同じ心血管疾患の発症リスクをもち（図１）、高コレステロール血症に糖尿病を合併すると心血管疾患の発症リスクが非常に高くなることが報告されている。わが国も含め、最近、高 LDL-コレスレロール血症と糖尿病を合併する患者が増加し、高コレステロール血症における糖尿病への早期治療介入が重要な課題となっている。胆汁酸吸着レジンは高コレステロール血症治療薬であり、コレステロールを低下させ、さらに最近の臨床試験により血糖改善の可能性が明らかにされ[75]、両者の低下により心血管疾患予防に有効な薬剤と考えられる。

６　胆汁酸排出に効果的な食品

胆汁酸を効率よく働かせるためには、古い胆汁酸を排出することが重要である。胆汁酸排出に効果的に働く食物成分は食物繊維である。日本人の食物繊維の摂取量は近年減少傾向にあり、一日に必要な食物繊維の摂取量は、成人で 20 ～ 25 g であるが、現在大人一日の平均摂取量は 15 ～ 16 g 程度で、推奨量の 7 割程度の摂取にとどまっている[86]。胆汁酸排泄に特に効果的な食材として、大麦、マイタケ、海藻類、こんにゃく、杜仲茶が挙げられる。大麦は水溶性・不溶性両方の食物繊維を豊富に含み、かつ水溶性の比率が高く、胆汁酸排出に最適な食材である[87]。また、大麦には水溶性食物繊維であるβ-グルカンが含まれており、血糖値の上昇抑制、コレステロール抑制、肥満細胞抑制、糖尿病改善が期待できる。β-グルカンを投与したマウスでの動物試験では、FAS (fatty acid synthase) 遺伝子の発現低下、また胆汁酸合成の律速酵素である Cyp7A1 の発現上昇が確認されており、胆汁酸経路を介したエネルギー代謝調節の可能性が示唆される[88]。2015 年春に国民にもっと手軽に食物繊維を採って頂けるように（株）プロントコーポレーションと共同開発で、パスタ一皿でレタス 2.5 個分の食物繊維を含むファイバーパスタを開発し試験的に販売をしている[89]。また、マイタケやアガリスクなどのキノコ類も良質な水溶性食物繊維を含み、血中コレステロールや血中の余分な脂肪を排出し、体重抑制、内臓脂肪抑制、血糖値抑制作用、免疫活性化作用があるとされている[86, 90-92]。さらに海藻類も食物繊維が豊富に含まれており高い胆汁酸

吸着作用を持つ。わかめや昆布に含まれる食物繊維のアルギン酸は、胆汁酸吸収抑制作用とともに古い胆汁酸を排泄し、コレステロールを下げ、腸内のナトリウムを吸着、排出する[86]。また、海藻全般に含まれるフコイダンは脂肪細胞における脂肪合成遺伝子発現の抑制、更に血中脂質・血圧・コレステロール値の抑制作用が確認されている[93, 94]。こんにゃくの成分である水溶性食物繊維のグルコマンナンは腸内で胆汁酸を抱合することで、小腸からの再吸収を抑制・排出を促進し、新たな胆汁酸の生成を促す作用をもつ。この他にも、余分なコレステロール・糖質の排出、コレステロール値の低下、中性脂肪減少、体重減少効果が観察されている[95]。最近我々はコレステロール排泄を促進することにより、肝臓内コレステロール量を低下させることによりインスリン抵抗性を改善するメカニズムを解明しており[58]、その関係が興味深い。また、杜仲茶に含まれるアスペルロシドは上述の水溶性食物繊維のように胆汁酸を吸着・排泄するのではなく、回腸下部での胆汁酸の再吸収を抑制する。古い胆汁酸の排出を促し、新たな胆汁酸の分泌量を増やし、血液中の胆汁酸比率を高める働きにより、基礎代謝の増加・内臓脂肪減少・体重増加抑制に寄与している。臨床試験においては、2 か月間杜仲茶エキスを摂取した群は、平均 35.4㎠の内臓脂肪断面積の減少が観察された[86]。今後、これらの食品による胆汁酸を介した詳細な分子機構の更なる解明に期待したい。

7　おわりに

胆汁酸という言葉を初めて聞いたのは中学生の頃、矢口高雄の漫画、マタギ列伝だった。その後研究対象として再会したのは 20 歳代。当時、動脈硬化の研究をしていた私は、胆汁酸を高脂肪食に添加してマウスに食させると太らないという現象に興味を持った。世界中の一流研究者に聞いて回ったがわからないという。そればかりか胆汁酸なんて研究してもだめだよ、という意見も多かった。それでも不思議に思った私は、仕事の傍ら研究を続け、胆汁酸の研究に専念するため最後には日本の職を辞して 35 歳で海外に渡った。その後、同僚にも恵まれ、多くの新しい経路を見出し、多くの薬剤開発に結び付いている。研究というのは不思議なものだと思う。

参考文献

[1] Grundy S.M., Brewer H.B., Jr., Cleeman J.I., Smith S.C., Jr. and Lenfant C., "Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition." *Circulation*, 109, 2004, pp.433-438.

[2] Kannel W.B., Castelli W.P. and Gordon T., "Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study." *Ann. Intern. Med.*, 90, 1979, pp.85-91.

[3] Stamler J., Vaccaro O., Neaton J.D. and Wentworth D., "Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial." *Diabetes Care*, 16, 1993, pp.434-444.

[4] Sone H., Mizuno S., Fujii H., Yoshimura Y., Yamasaki Y., Ishibashi S., Katayama S., Saito Y., Ito H., Ohashi Y., Akanuma Y. and Yamada N., "Is the diagnosis of metabolic syndrome useful for predicting cardiovascular disease in asian diabetic patients? Analysis from the Japan Diabetes Complications Study." *Diabetes Care*, 28, 2005, pp.1463-1471.

[5] Morimoto K., Itoh H. and Watanabe M., "Developments in understanding bile acid metabolism." *Expert Rev. Endocrinol Metab.*, 2013, p.8.

[6] Forman B.M., Goode E., Chen J., Oro A.E., Bradley D.J., Perlmann T., Noonan D.J., Burka L.T., McMorris T., Lamph W.W., Evans R.M. and Weinberger C., "Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites." *Cell*, 81, 1995, pp.687-693.

[7] Makishima M., Okamoto A.Y., Repa J.J., Tu H., Learned R.M., Luk A., Hull M.V., Lustig K.D., Mangelsdorf D.J. and Shan B., "Identification of a nuclear receptor for bile acids." *Science*, 284, 1999, pp.1362-1365.

[8] Parks D.J., Blanchard S.G., Bledsoe R.K., Chandra G., Consler T.G., Kliewer S.A., Stimmel J.B., Willson T.M., Zavacki A.M., Moore D.D. and Lehmann J.M., "Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor." *Science*, 284, 1999, pp.1365-1368.

[9] Wang H., Chen J., Hollister K., Sowers L.C. and Forman B.M., "Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR." *Mol. Cell*, 3, 1999, pp.543-553.

[10] Kalaany N.Y. and Mangelsdorf D.J., "LXRS and FXR: the yin and yang of cholesterol and fat metabolism." *Annu. Rev. Physiol.*, 68, 2006, pp.159-191.

[11] Lee F.Y., Lee H., Hubbert M.L., Edwards P.A. and Zhang Y., "FXR, a multipurpose nuclear receptor." *Trends Biochem. Sci.*, 31, 2006, pp.572-580.

[12] Houten S.M., Watanabe M. and Auwerx J., "Endocrine functions of bile acids." *Embo. J.*, 25, 2006, pp.1419-1425.

[13] Matsumoto K., Imasato M., Yamazaki Y., Tanaka H., Watanabe M., Eguchi H., Nagano H., Hikita H., Tatsumi T., Takehara T., Tamura A. and Tsukita S., "Claudin 2 deficiency reduces bile flow and increases susceptibility to cholesterol gallstone disease in mice." *Gastroenterology*, 147, 2014, pp.1134-1145 (e10).

[14] Chen F., Ma L., Dawson P.A., Sinal C.J., Sehayek E., Gonzalez F.J., Breslow J., Ananthanarayanan M. and Shneider B.L., "Liver receptor homologue-1 mediates species- and cell line-specific bile acid-dependent negative feedback regulation of the apical sodium-dependent bile acid transporter." *J. Biol. Chem.*, 278, 2003,

pp.19909-19916.
[15] Tamura A., Hayashi H., Imasato M., Yamazaki Y., Hagiwara A., Wada M., Noda T., Watanabe M., Suzuki Y. and Tsukita S., "Loss of claudin-15, but not claudin-2, causes Na+ deficiency and glucose malabsorption in mouse small intestine." *Gastroenterology*, 140, 2011, pp.913-923.
[16] Gupta S., Stravitz R.T., Dent P. and Hylemon P.B., "Down-regulation of cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) gene expression by bile acids in primary rat hepatocytes is mediated by the c-Jun N-terminal kinase pathway." *J. Biol. Chem*., 276, 2001, pp.15816-15822.
[17] Qiao L., Han S.I., Fang Y., Park J.S., Gupta S., Gilfor D., Amorino G., Valerie K., Sealy L., Engelhardt J.F., Grant S., Hylemon P.B. and Dent P., "Bile acid regulation of C/EBPbeta, CREB, and c-Jun function, via the extracellular signal-regulated kinase and c-Jun NH2-terminal kinase pathways, modulates the apoptotic response of hepatocytes." *Mol. Cell Biol*., 23, 2003, pp.3052-3066.
[18] Kawamata Y., Fujii R., Hosoya M., Harada M., Yoshida H., Miwa M., Fukusumi S., Habata Y., Itoh T., Shintani Y., Hinuma S., Fujisawa Y. and Fujino M., "A G protein-coupled receptor responsive to bile acids." *J. Biol. Chem*., 278, 2003, pp.9435-9440.
[19] Maruyama T., Miyamoto Y., Nakamura T., Tamai Y., Okada H., Sugiyama E., Itadani H. and Tanaka K., "Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR)." *Biochem. Biophys. Res. Commun*., 298, 2002, pp.714-719.
[20] Ho K.J., "Circadian distribution of bile acid in the enterohepatic circulatory system in hamsters." *J. Lipid Res*., 17, 1976, pp.600-604.
[21] Engelking L.R., Dasher C.A. and Hirschowitz B.I., "Within-day fluctuations in serum bile-acid concentrations among normal control subjects and patients with hepatic disease." *Am. J. Clin. Pathol*., 73, 1980, pp.196-201.
[22] Everson G.T., "Steady-state kinetics of serum bile acids in healthy human subjects: single and dual isotope techniques using stable isotopes and mass spectrometry." *J. Lipid Res*., 28, 1987, pp.238-252.
[23] Zhang Y., Kast-Woelbern H.R. and Edwards P.A., "Natural structural variants of the nuclear receptor farnesoid X receptor affect transcriptional activation." *J. Biol. Chem*., 278, 2003, pp.104-110.
[24] Watanabe M., Morimoto K., Houten S.M., Kaneko-Iwasaki N., Sugizaki T., Horai Y., Mataki C., Sato H., Murahashi K., Arita E., Schoonjans K., Suzuki T., Itoh H. and Auwerx J., "Bile acid binding resin improves metabolic control through the induction of energy expenditure." *PLoS One*, 7, 2013, e38286.
[25] Harach T., Pols T.W., Nomura M., Maida A., Watanabe M., Auwerx J. and Schoonjans K., "TGR5 potentiates GLP-1 secretion in response to anionic exchange resins." *Sci. Rep*., 2, 2013, p.430.
[26] Nakatani H., Kasama K., Oshiro T., Watanabe M., Hirose H. and Itoh H., "Serum bile acid along with plasma incretins and serum high-molecular weight adiponectin levels are increased after bariatric surgery." *Metabolism*, 58, 2009, pp.1400-1407.
[27] Watanabe M., Houten S.M., Wang L., Moschetta A., Mangelsdorf D.J., Heyman R.A., Moore D.D. and Auwerx J., "Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c." *J. Clin. Invest*., 113, 2004, pp.1408-1418.
[28] Obama T., Nagaoka S., Akagi K., Kato R., Horiuchi N., Horai Y., Aiuchi T., Arata

S., Yamaguchi T., Watanabe M. and Itabe H., "Dietary cholesterol reduces plasma triacylglycerol in apolipoprotein E-null mice: suppression of lipin-1 and -2 in the glycerol-3-phosphate pathway." *PLoS One*, 6, 2011, e22917.

[29] Anakk S., Watanabe M., Ochsner S.A., McKenna N.J., Finegold M.J. and Moore D.D., "Combined deletion of Fxr and Shp in mice induces Cyp17a1 and results in juvenile onset cholestasis." *J. Clin. Invest*., 121, 2010, pp.86-95.

[30] Park Y.J., Qatanani M., Chua S.S., LaRey J.L., Johnson S.A., Watanabe M., Moore D.D. and Lee Y.K., "Loss of orphan receptor small heterodimer partner sensitizes mice to liver injury from obstructive cholestasis." *Hepatology*, 47, 2008, pp.1578-1586.

[31] Watanabe M., Houten S.M., Mataki C., Christoffolete M.A., Kim B.W., Sato H., Messaddeq N., Harney J.W., Ezaki O., Kodama T., Schoonjans K., Bianco A.C. and Auwerx J., "Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation." *Nature*, 439, 2006, pp.484-489.

[32] Watanabe M., Horai Y., Houten S.M., Morimoto K., Sugizaki T., Arita E., Mataki C., Sato H., Tanigawara Y., Schoonjans K., Itoh H. and Auwerx J., "Lowering bile acid pool size with a synthetic FXR agonist induces obesity and diabetes through reduced energy expenditure." *J. Biol. Chem*., 286(30), 2011, pp.26913-26920.

[33] Matsuzaki J., Suzuki H., Tsugawa H., Watanabe M., Hossain S., Arai E., Saito Y., Sekine S., Akaike T., Kanai Y., Mukaisho K., Auwerx J. and Hibi T., "Bile acids increase levels of microRNAs 221 and 222, leading to degradation of CDX2 during esophageal carcinogenesis." *Gastroenterology*, 145, 2013, pp.1300-1311.

[34] Kerr T.A., Matsumoto Y., Matsumoto H., Xie Y., Hirschberger L.L., Stipanuk M.H., Anakk S., Moore D.D., Watanabe M., Kennedy S. and Davidson N.O., "Cysteine sulfinic acid decarboxylase regulation: A role for farnesoid X receptor and small heterodimer partner in murine hepatic taurine metabolism." *Hepatol. Res*., 44, 2013, pp.E218-228.

[35] Ichikawa R., Takayama T., Yoneno K., Kamada N., Kitazume M.T., Higuchi H., Matsuoka K., Watanabe M., Itoh H., Kanai T., Hisamatsu T. and Hibi T., "Bile acids induce monocyte differentiation toward interleukin-12 hypo-producing dendritic cells via a TGR5-dependent pathway." *Immunology*, 136, 2012, pp.153-162.

[36] Bouillon R., Carmeliet G., Lieben L., Watanabe M., Perino A., Auwerx J., Schoonjans K. and Verstuyf A., "Vitamin D and energy homeostasis: of mice and men." *Nat. Rev. Endocrinol*., 10, 2013, pp.79-87.

[37] Pullinger C.R., Eng C., Salen G., Shefer S., Batta A.K., Erickson S.K., Verhagen A., Rivera C.R., Mulvihill S.J., Malloy M.J. and Kane J.P., "Human cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype." *J. Clin. Invest*., 110, 2002, pp.109-117.

[38] Sinal C.J., Tohkin M., Miyata M., Ward J.M., Lambert G. and Gonzalez F.J., "Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis." *Cell*, 102, 2000, pp.731-744.

[39] Miller N.E. and Nestel P.J., "Triglyceride-lowering effect of chenodeoxycholic acid in patients with endogenous hypertriglyceridaemia." *Lancet*, 2, 1974, pp.929-931.

[40] Angelin B., Einarsson K., Hellstrom K. and Leijd B., "Effects of cholestyramine and chenodeoxycholic acid on the metabolism of endogenous triglyceride in

hyperlipoproteinemia." *J. Lipid Res*., 19, 1978, pp.1017-1024.
[41] Bateson M.C., Maclean D., Evans J.R. and Bouchier I.A., "Chenodeoxycholic acid therapy for hypertriglyceridaemia in men." *Br. J. Clin. Pharmacol*., 5, 1978, pp.249-254.
[42] Carulli N., Ponz de Leon M., Podda M., Zuin M., Strata A., Frigerio G. and Digrisolo A., "Chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid effects in endogenous hypertriglyceridemias. A controlled double-blind trial." *J. Clin. Pharmacol*., 21, 1981, pp.436-442.
[43] Repa J.J., Liang G., Ou J., Bashmakov Y., Lobaccaro J.M., Shimomura I., Shan B., Brown M.S., Goldstein J.L. and Mangelsdorf D.J., "Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta." *Genes Dev*., 14, 2000, pp.2819-2830.
[44] Pellicciari R., Fiorucci S., Camaioni E., Clerici C., Costantino G., Maloney P.R., Morelli A., Parks D.J. and Willson T.M., "6alpha-ethyl-chenodeoxycholic acid (6-ECDCA), a potent and selective FXR agonist endowed with anticholestatic activity." *J. Med. Chem*., 45, 2002, pp.3569-3572.
[45] Fiorucci S., Antonelli E., Rizzo G., Renga B., Mencarelli A., Riccardi L., Orlandi S., Pellicciari R. and Morelli A., "The nuclear receptor SHP mediates inhibition of hepatic stellate cells by FXR and protects against liver fibrosis." *Gastroenterology*, 127, 2004, pp.1497-1512.
[46] Fiorucci S., Clerici C., Antonelli E., Orlandi S., Goodwin B., Sadeghpour B.M., Sabatino G., Russo G., Castellani D., Willson T.M., Pruzanski M., Pellicciari R. and Morelli A., "Protective effects of 6-ethyl chenodeoxycholic acid, a farnesoid X receptor ligand, in estrogen-induced cholestasis." *J. Pharmacol. Exp. Ther*., 313, 2005, pp.604-612.
[47] Cipriani S., Mencarelli A., Chini M.G., Distrutti E., Renga B., Bifulco G., Baldelli F., Donini A. and Fiorucci S., "The bile acid receptor GPBAR-1 (TGR5) modulates integrity of intestinal barrier and immune response to experimental colitis." *PLoS One*, 6, 2011, e25637.
[48] Cariou B., van Harmelen K., Duran-Sandoval D., van Dijk T.H., Grefhorst A., Abdelkarim M., Caron S., Torpier G., Fruchart J.C., Gonzalez F.J., Kuipers F. and Staels B., "The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice." *J. Biol. Chem*., 281, 2006, pp.11039-11049.
[49] Zhang Y., Lee F.Y., Barrera G., Lee H., Vales C., Gonzalez F.J., Willson T.M. and Edwards P.A., "Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 103, 2006, pp.1006-1011.
[50] Picard F., Watanabe M., Schoonjans K., Lydon J., O'Malley B.W. and Auwerx J., "Progesterone receptor knockout mice have an improved glucose homeostasis secondary to beta -cell proliferation." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 99, 2002, pp.15644-15648.
[51] Koutnikova H., Cock T.A., Watanabe M., Houten S.M., Champy M.F., Dierich A. and Auwerx J., "Compensation by the muscle limits the metabolic consequences of lipodystrophy in PPAR gamma hypomorphic mice." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 100, 2003, pp.14457-14462.
[52] Tanaka T., Yamamoto J., Iwasaki S., Asaba H., Hamura H., Ikeda Y., Watanabe M., Magoori K., Ioka R.X., Tachibana K., Watanabe Y., Uchiyama Y., Sumi K.,

Iguchi H., Ito S., Doi T., Hamakubo T., Naito M., Auwerx J., Yanagisawa M., Kodama T. and Sakai J., "Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta induces fatty acid beta-oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 100, 2003, pp.15924-15929.

[53] Fajas L., Annicotte J.S., Miard S., Sarruf D., Watanabe M. and Auwerx J., "Impaired pancreatic growth, beta cell mass, and beta cell function in E2F1 (-/-) mice." *J. Clin. Invest.*, 113, 2004, pp.1288-1295.

[54] Mascrez B., Ghyselinck N.B., Watanabe M., Annicotte J.S., Chambon P., Auwerx J. and Mark M., "Ligand-dependent contribution of RXRbeta to cholesterol homeostasis in Sertoli cells." *EMBO Rep.*, 5, 2004, pp.285-290.

[55] Um S.H., Frigerio F., Watanabe M., Picard F., Joaquin M., Sticker M., Fumagalli S., Allegrini P.R., Kozma S.C., Auwerx J. and Thomas G., "Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity." *Nature*, 431, 2004, pp.200-205.

[56] Bai P., Houten S.M., Huber A., Schreiber V., Watanabe M., Kiss B., de Murcia G., Auwerx J. and Menissier-de Murcia J., "Poly(ADP-ribose) polymerase-2 [corrected] controls adipocyte differentiation and adipose tissue function through the regulation of the activity of the retinoid X receptor/peroxisome proliferator-activated receptor-gamma [corrected] heterodimer." *J. Biol. Chem.*, 282, 2007, pp.37738-37746.

[57] Mizuno Y., Ninomiya Y., Nakachi Y., Iseki M., Iwasa H., Akita M., Tsukui T., Shimozawa N., Ito C., Toshimori K., Nishimukai M., Hara H., Maeba R., Okazaki T., Alodaib A.N., Al Amoudi M., Jacob M., Alkuraya F.S., Horai Y., Watanabe M., Motegi H., Wakana S., Noda T., Kurochkin I.V., Schonbach C., Okazaki Y., "Tysnd1 deficiency in mice interferes with the peroxisomal localization of PTS2 enzymes, causing lipid metabolic abnormalities and male infertility." *PLoS Genet.*, 9, 2013, e1003286.

[58] Sugizaki T., Watanabe M., Horai Y., Kaneko-Iwasaki N., Arita E., Miyazaki T., Morimoto K., Honda A., Irie J. and Itoh H., "The Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) inhibitor ezetimibe improves metabolic disease via decreased liver X receptor (LXR) activity in liver of obese male mice." *Endocrinology*, 155, 2014, pp.2810-2819.

[59] Bianco A.C., Salvatore D., Gereben B., Berry M.J. and Larsen P.R.. "Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases." *Endocr. Rev.*, 23, 2002, pp.38-89.

[60] Christoffolete M.A., Linardi C.C., de Jesus L., Ebina K.N., Carvalho S.D., Ribeiro M.O., Rabelo R., Curcio C., Martins L., Kimura E.T. and Bianco A.C., "Mice with targeted disruption of the Dio2 gene have cold-induced overexpression of the uncoupling protein 1 gene but fail to increase brown adipose tissue lipogenesis and adaptive thermogenesis." *Diabetes*, 53, 2004, pp.577-584.

[61] Bianco A.C. and Silva J.E., "Nuclear 3,5,3'-triiodothyronine (T3) in brown adipose tissue: receptor occupancy and sources of T3 as determined by in vivo techniques." *Endocrinology*, 120, 1987, pp.55-62.

[62] Shimizu Y., Nikami H. and Saito M., "Sympathetic activation of glucose utilization in brown adipose tissue in rats." *J. Biochem.*, 110, 1991, pp.688-692.

[63] Mentuccia D., Proietti-Pannunzi L., Tanner K., Bacci V., Pollin T.I., Poehlman E.T., Shuldiner A.R. and Celi F.S., "Association between a novel variant of

the human type 2 deiodinase gene Thr92Ala and insulin resistance: evidence of interaction with the Trp64Arg variant of the beta-3-adrenergic receptor." *Diabetes*, 51, 2002, pp.880-883.

[64] Ricquier D., Nechad M. and Mory G., "Ultrastructural and biochemical characterization of human brown adipose tissue in pheochromocytoma." *J. Clin. Endocrinol. Metab*., 54, 1982, pp.803-807.

[65] Cohade C., Mourtzikos K.A. and Wahl R.L., ""USA-Fat": prevalence is related to ambient outdoor temperature-evaluation with 18F-FDG PET/CT." *J. Nucl. Med*., 44, 2003, pp.1267-1270.

[66] Hany T.F., Gharehpapagh E., Kamel E.M., Buck A., Himms-Hagen J. and von Schulthess G.K., "Brown adipose tissue: a factor to consider in symmetrical tracer uptake in the neck and upper chest region." *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*., 29, 2002, pp.1393-1398.

[67] Sato H., Genet C., Strehle A., Thomas C., Lobstein A., Wagner A., Mioskowski C., Auwerx J. and Saladin R., "Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from Olea europaea." *Biochem. Biophys. Res. Commun*., 362, 2007, pp.793-798.

[68] Thomas C., Gioiello A., Noriega L., Strehle A., Oury J, Rizzo G., Macchiarulo A., Yamamoto H., Mataki C., Pruzanski M., Pellicciari R., Auwerx J. and Schoonjans K., "TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis." *Cell Metab*., 10, 2009, pp.167-177.

[69] Vassileva G., Hu W., Hoos L., Tetzloff G., Yang S., Liu L., Kang L., Davis H.R., Hedrick J.A., Lan H., Kowalski T. and Gustafson E.L., "Gender-dependent effect of Gpbar1 genetic deletion on the metabolic profiles of diet-induced obese mice." *J. Endocrinol*., 205, 2010, pp.225-232.

[70] Katsuma S., Hirasawa A. and Tsujimoto G., "Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. " *Biochem. Biophys. Res. Commun*., 329, 2005, pp.386-390.

[71] Maida A., Lamont B.J., Cao X. and Drucker D.J., "Metformin regulates the incretin receptor axis via a pathway dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in mice." *Diabetologia*, 54, 2011, pp.339-349.

[72] Mannucci E., Ognibene A., Cremasco F., Bardini G., Mencucci A., Pierazzuoli E., Ciani S., Messeri G. and Rotella C.M., "Effect of metformin on glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and leptin levels in obese nondiabetic subjects." *Diabetes Care*, 24, 2001, pp.489-494.

[73] Campos G.M., Rabl C., Roll G.R., Peeva S., Prado K., Smith J. and Vittinghoff E., "Better weight loss, resolution of diabetes, and quality of life for laparoscopic gastric bypass vs banding: results of a 2-cohort pair-matched study." *Arch. Surg*., 146, 2011, pp.149-155.

[74] Lee W.J., Chong K,, Ser K.H., Lee Y.C., Chen S.C., Chen J.C., Tsai M.H. and Chuang L.M., "Gastric bypass vs sleeve gastrectomy for type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial." *Arch. Surg*., 146, ?????, pp.143-148.

[75] Tagawa H., Irie J., Itoh A., Kusumoto Y., Kato M., Kobayashi N., Tanaka K., Morinaga R., Fujita M., Nakajima Y., Morimoto K., Sugizaki T., Kawano Y., Yamada S., Kawai T., Watanabe M. and Itoh H., "Bile acid binding resin improves hepatic insulin sensitivity by reducing cholesterol but not triglyceride levels in the liver." *Diabetes Res. Clin. Pract*., 109, 2015, pp.85-94.

[76] Suzuki T., Oba K., Igari Y., Matsumura N., Watanabe K., Futami-Suda S., Yasuoka H., Ouchi M., Suzuki K., Kigawa Y. and Nakano H., "Colestimide lowers plasma glucose levels and increases plasma glucagon-like PEPTIDE-1 (7-36) levels in patients with type 2 diabetes mellitus complicated by hypercholesterolemia." *J. Nippon Med. Sch*., 74, 2007, pp.338-343.
[77] Yamakawa T., Takano T., Utsunomiya H., Kadonosono K. and Okamura A., "Effect of colestimide therapy for glycemic control in type 2 diabetes mellitus with hypercholesterolemia." *Endocr. J*., 54, 2007, pp.53-58.
[78] Zieve F.J., Kalin M.F., Schwartz S.L., Jones M.R. and Bailey W.L., "Results of the glucose-lowering effect of WelChol study (GLOWS): a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study evaluating the effect of colesevelam hydrochloride on glycemic control in subjects with type 2 diabetes." *Clin. Ther*., 29, 2007, pp.74-83.
[79] Kondo K. and Kadowaki T., "Colestilan monotherapy significantly improves glycaemic control and LDL cholesterol levels in patients with type 2 diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled study." *Diabetes Obes. Metab*., 12, 2010, pp.246-251.
[80] Garg A. and Grundy S.M., "Cholestyramine therapy for dyslipidemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A short-term, double-blind, crossover trial." *Ann. Intern. Med*., 121, 1994, pp.416-422.
[81] Bays H.E., Goldberg R.B., Truitt K.E. and Jones M.R., "Colesevelam hydrochloride therapy in patients with type 2 diabetes mellitus treated with metformin: glucose and lipid effects." *Arch. Intern. Med*., 168, 2008, pp.1975-1983.
[82] Fonseca V.A., Rosenstock J., Wang A.C., Truitt K.E. and Jones M.R., "Colesevelam HCl improves glycemic control and reduces LDL cholesterol in patients with inadequately controlled type 2 diabetes on sulfonylurea-based therapy." *Diabetes Care*, 31, 2008, pp.1479-1484.
[83] Goldberg R.B., Fonseca V.A., Truitt K.E. and Jones M.R., "Efficacy and safety of colesevelam in patients with type 2 diabetes mellitus and inadequate glycemic control receiving insulin-based therapy." *Arch. Intern. Med*., 168, 2008, pp.1531-1540.
[84] Gerstein H.C., Miller M.E., Byington R.P., Goff D.C., Jr., Bigger J.T., Buse J.B., Cushman W.C., Genuth S., Ismail-Beigi F., Grimm R.H., Jr., Probstfield J.L., Simons-Morton D.G. and Friedewald W.T., "Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes." *N. Engl. J. Med*., 358, 2008, pp.2545-2559.
[85] Gaede P., Vedel P., Larsen N., Jensen G.V., Parving H.H. and Pedersen O., "Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes." *N. Engl. J. Med*., 348, 2003, pp.383-393.
[86] http://www.pronto.co.jp/pdf/press/press_20150227_pasta.pdf#search='%E3%83%97%E3%83%AD%E3%83%B3%E3%83%88+%E6%B8%A1%E8%BE%BA%E5%85%89%E5%8D%9A'
[87] Lia A., Hallmans G., Sandberg A.S., Sundberg B., Aman P. and Andersson H., "Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects." *Am. J. Clin. Nutr*., 62, 1995, pp.1245-1251.
[88] Choi J.S., Kim H., Jung M.H., Hong S. and Song J., "Consumption of barley beta-glucan ameliorates fatty liver and insulin resistance in mice fed a high-fat diet."

Mol. Nutr. Food Res., 54, 2010, pp.1004-1013.
[89]　渡辺 光博『糖尿病に効く！胆汁酸健康法』洋泉社、2013 年、p.189。
[90] Yamanaka D., Tada R., Adachi Y., Ishibashi K., Motoi M., Iwakura Y. and Ohno N., “Agaricus brasiliensis-derived beta-glucans exert immunoenhancing effects via a dectin-1-dependent pathway.” *Int. Immunopharmacol*., 14, 2012, pp.311-319.
[91] Yamanaka D., Motoi M., Motoi A. and Ohno N., “Differences in antioxidant activities of outdoor- and indoor-cultivated Agaricus brasiliensis, and protective effects against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice.” *BMC Complement. Altern. Med*., 14, 2014, p.454.
[92] Yamanaka D., Motoi M., Ishibashi K., Miura N.N., Adachi Y. and Ohno N., “Effect of Agaricus brasiliensis-derived cold water extract on Toll-like receptor 2-dependent cytokine production in vitro.” *Immunopharmacol. Immunotoxicol*., 34, 2011, pp.561-570.
[93] Kim K.J., Yoon K.Y. and Lee B.Y., “Fucoidan regulate blood glucose homeostasis in C57BL/KSJ m+/+db and C57BL/KSJ db/db mice.” *Fitoterapia*, 83, 2012, 1105-1109.
[94] Kim M.J., Jeon J. and Lee J.S., “Fucoidan prevents high-fat diet-induced obesity in animals by suppression of fat accumulation.” *Phytother. Res*., 28, 2014, pp.137-143.
[95] Sood N., Baker W.L. and Coleman C.I., “Effect of glucomannan on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure: systematic review and meta-analysis.” *Am. J. Clin. Nutr*., 88, 2008, pp.1167-1175.

〔受付日　2015. 2. 25〕