



2017年10月18日放送

「ピロリ菌感染と胃内常在細菌叢」

杏林大学 感染症学教授 神谷 茂

はじめに

ピロリ菌、正式にはヘリコバクター・ピロリという名称の細菌が胃に棲みついていることを初めて発見したのはオーストラリアの病理学者 Warren 博士と消化器内科医 Marshall 博士であり、論文は1983年にLancet誌に報告されました(1)。その後、ピロリ菌感染が急性胃炎および慢性胃炎を引き起こすとともに、胃潰瘍、十二指腸潰瘍の再発因子および治癒遷延因子として作用すること、更に胃癌、胃 MALT リンパ腫の発症にも密接に関連することが明らかにされました。最初の発見者、Warren 博士と Marshall 博士に対して2005年にノーベル生理学・医学賞が授与されました。

さて、ヒトの体内には種類にして500種以上、数にして100-1,000兆個におよぶ細菌が棲みつき、口腔、消化器、上気道、皮膚、泌尿・生殖器などに常在細菌叢を形成しています。ヒトの身体を構成する総細胞数は37兆個であり、常在細菌叢構成菌の数はヒトの身体の総細胞数を凌駕しています。常在細菌叢はエネルギー産生、蠕動運動・消化吸収の促進、物質代謝の調節、感染防御、免疫能活性化、発癌への関与など生体にさまざまな作用を有することが知られています(表1)(2)。本日はピロリ菌感染と胃内常在細菌叢との関連性について解説いたします。

表1.常在細菌叢の生体への作用

1. エネルギー産生
 - 1) 短鎖脂肪酸
 - 2) エタノール
 - 3) ガス
2. 蠕動運動・消化吸収の促進
3. 物質代謝の調節
 - 1) 胆汁酸代謝
 - 2) コレステロール代謝
 - 3) ステロイド代謝
 - 4) 尿素・アンモニア代謝
 - 5) 薬物の活性化
 - 6) 薬物の不活化
 - 7) 毒性代謝物の産生
4. 感染防御
5. 免疫能の活性化
6. 発癌への関与(促進・抑制)

胃内常在細菌叢の構成

まず胃内常在細菌叢の構成についてお話しいたします。細菌の分類法では、上位の門(Phylum)から綱(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、種(Species)の順に規定

されています。強酸下の胃内にはピロリ菌以外にも多数の常在細菌が棲みついでおり、胃内常在細菌叢を形成しています。

培養法に基づいた胃内常在細菌叢の解析結果が報告されています(3)。主たる細菌門として Firmicutes、Proteobacteria、Bacteroidetes、Actinobacteria が検出されます。また主たる細菌属として *Streptococcus*、*Lactobacillus*、*Veillonella*、*Bacteroides*、*Clostridium*、*Staphylococcus*、*Enterococcus* などが検出されます。

Zilberstein ら(4)が報告した培養結果を紹介いたします(表 2)。検出率では *Lactobacillus* 属が 42%、*Veillonella* 属が 42%、*Clostridium* 属が 33% の高頻度で検出され、菌数では *Enterococcus* 属と *Enterobacter* 属が 10^7 レベル、*Escherichia coli*、*Peptostreptococcus* 属、*Proteus* 属が 10^5 レベルで検出されました。

表2. ヒト胃内常在細菌の培養結果(文献4より改変引用)

細菌	菌数*	検出率(%)	*平均菌数 (log ₁₀ CFU/g)
<i>Bacteroides</i> spp.	2	16	
<i>Clostridium</i> spp.(gel-)	4	33.3	
<i>Corynebacterium</i> spp.	3	25	
<i>Escherichia coli</i>	5.5	16	
<i>Enterococcus</i> spp.	7	8.3	
<i>Enterobacter</i> spp.	7	8.3	
<i>Fusobacterium</i> spp.	2	8.3	
<i>Klebsiella</i> spp.	3.5	16	
<i>Lactobacillus</i> spp.	4	41.6	
<i>Peptococcus</i> spp.	3.5	16	
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	5	8.1	
<i>Propionibacterium</i> spp.	3	8.1	
<i>Proteus</i> spp.	5	8.1	
<i>Rodothorula</i> spp.	4	8.1	
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	8.1	
<i>Streptococcus</i> spp.	4	2.5	
<i>Veillonella</i> spp.	4	41.6	

生体内に棲みつく常在細菌の約 8 割は培養できない細菌であるため、従来の培養法では常在細菌叢の全貌を明らかにすることは困難でした。近年、細菌の 16S リボソーム RNA 遺伝子を対象としたゲノム解析法が常在細菌叢研究に適用され、多くの新知見が報告されてきました。

Li ら(5)はピロリ菌感染のない非ステロイド性消炎鎮痛剤(NSAID)内服患者での胃内常在細菌叢を 16S リボソーム DNA クローンライブラリー作成およびゲノムシーケンシングにより解析しました。検出菌のうち Firmicutes、Bacteroidetes、Actinobacteria、Proteobacteria、Fusobacteria の 5 門がこの順で優勢を示し 99% を占めました。Firmicutes 門では *Streptococcus* 属が優勢菌でした。他の優勢な細菌属として *Prevotella*、*Neisseria*、*Haemophilus*、*Porphyromonas* が検出されました。松本と山岡(6)は、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA メタゲノム解析の結果、ピロリ菌感染のない胃粘膜では細菌門レベルでは、Firmicutes、Bacteroidetes、Proteobacteria、Actinobacteria、

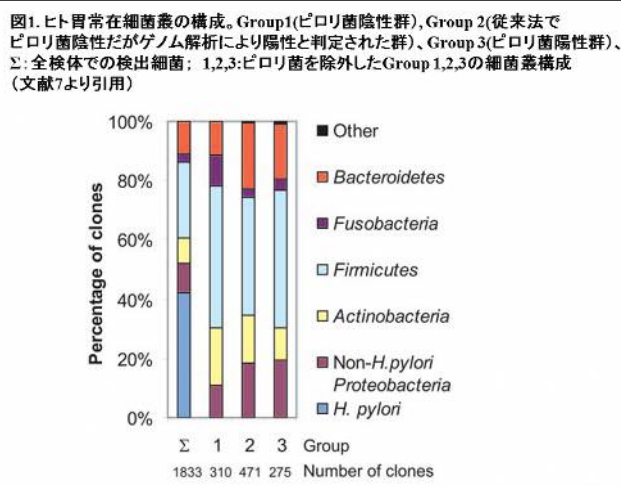
Fusobacteria の順で多く検出されることを示しました。細菌科のレベルではストレプトコッカス科が 22% と最も多く、次いでプレボテラ科が 13%、ベーヨネラ科が 10% と優勢菌であることを明らかにしました(表 3)。

表3. ヒト胃内常在細菌叢の優勢菌。(文献6より引用)

Firmicutes / Bacilli / Lactobacillales / Streptococcaceae	22%
Bacteroidetes / Bacteroidia / Bacteroidales / Prevotellaceae	13%
Firmicutes / Clostridia / Clostridiales / Veillonellaceae	10%
Bacteroidetes / Bacteroidia / Bacteroidales / [Paraprevotellaceae]	8%
Proteobacteria / Betaproteobacteria / Neisseriales / Neisseriaceae	6%
Proteobacteria / Gammaproteobacteria / Pasteurellales / Pasteurellaceae	6%
Actinobacteria / Actinobacteria / Actinomycetales / Micrococcaceae	4%
Bacteroidetes / Bacteroidia / Bacteroidales / Porphyromonadaceae	4%
Fusobacteria / Fusobacteriia / Fusobacteriales / Fusobacteriaceae	3%
Actinobacteria / Actinobacteria / Actinomycetales / Actinomycetaceae	3%

胃内常在細菌叢とピロリ菌感染との関連

次に胃内常在細菌叢とピロリ菌感染との関連についてお話いたします。Bik ら (7) は健常人胃粘膜を対象として胃内常在細菌叢を 16S リボソーム DNA クローンライブラリー作成およびゲノムシーケンシングにより解析しました。グループ 1 はピロリ菌陰性群、グループ 2 は従来法でピロリ菌陰性とされたがゲノム解析でピロリ菌陽性とされた群、グループ 3 はピロリ菌陽性群です。全検体から優勢細菌門として Proteobacteria、Firmicutes、Bacteroidetes、Actinobacteria、Fusobacteria の順で検出されました。Proteobacteria 門に含まれるピロリ菌が最も多く検出され、全体の 42%を占めました (図 1 左)。グループ間の比較では



ピロリ菌陽性群ではピロリ菌陰性群に比べ Proteobacteria 以外の門、特に Bacteroidetes 門の減少が認められました。ピロリ菌を除外した場合の 3 群における細菌門の相対的比率が比較されました (図 1 右 3 つ)。ピロリ菌陰性群に比べて他の群ではピロリ菌以外の Proteobacteria 門および Bacteroidetes 門細菌の増加と Fusobacteria 門細菌の減少の傾向が認められました。

Maldonado-Contreras ら (8) はピロリ菌陽性 (n=8) および陰性 (n=4) の健常者の胃生検材料を用いて 16S rRNA 遺伝子マイクロアレイ法により胃内常在細菌叢を調べました。ピロリ菌陽性者では *Helicobacter* 以外の Proteobacteria 門、Spirochetes 門、Acidobacteria 門の増加ならびに Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門、Firmicutes 門の減少が認められました。また、多くの論文ではピロリ菌陽性者ではピロリ菌陰性者に比べ胃内常在細菌叢の多様性が低下していることが報告されています。ピロリ菌感染により、胃内常在細菌叢の殆どがピロリ菌に占められ、従来の常在細菌の種類が減少して多様性が低下すると考えられます。

胃粘膜病変とピロリ菌感染および胃内常在細菌叢の関連

次に胃粘膜病変とピロリ菌感染および胃内常在細菌叢の関連についてお話します。Schulz ら (9) は慢性胃炎患者 (n=24) の胃生検材料および胃液材料を用いて、次世代シーケンサーによる 16S rRNA メタゲノム解析を行いました。胃生検材料を用いた場合、ピロリ菌陽性者の胃内常在細菌叢構成はピロリ菌陰性者のそれに比べ、ピロリ菌を含む Proteobacteria 門細菌および *Helicobacter* 属細菌が過半数を占めていました (図 2)。一方、胃液を対象とした解析結果では両者に著明な相違は検出されませんでした。また

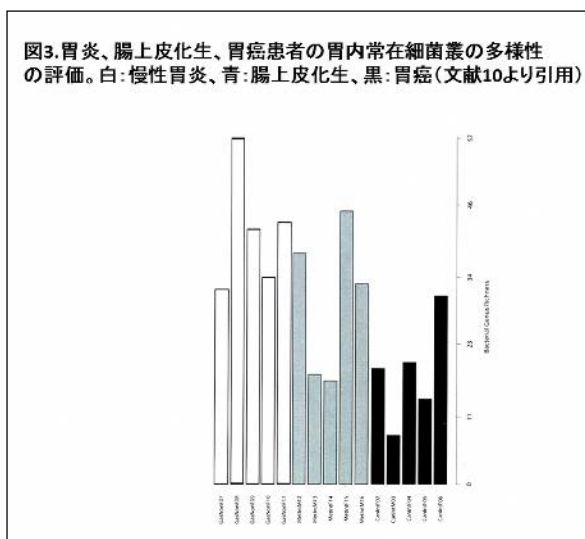
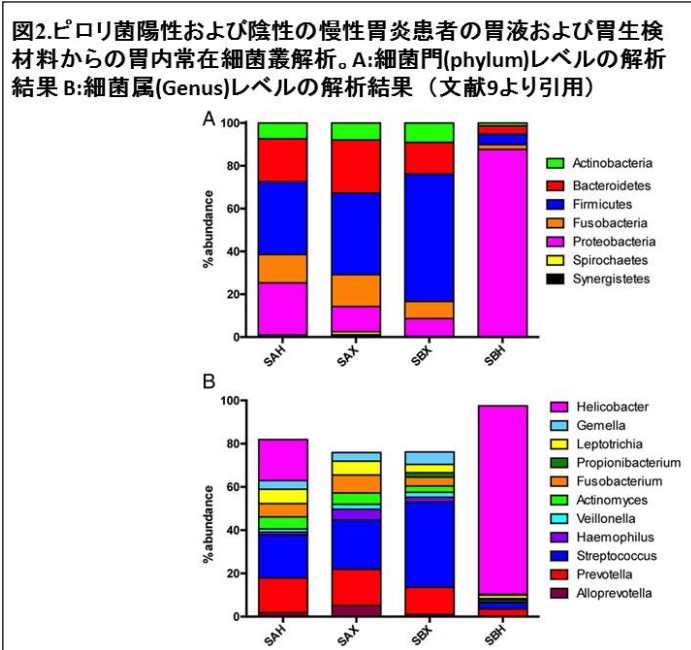
ピロリ菌陽性患者の胃生検材料では陰性患者に比べ *Haemophilus* 属細菌および *Campylobacter concisus* の菌数の減少が認められました。

Aviles-Jimenez ら (10) は非萎縮性胃炎 (NAG)、腸上皮化生 (IM) および胃癌 (GC) 患者を対象として、16S リボソーム DNA の PCR 増幅産物を 16S rRNA 遺伝子マイクロアレイ法で解析し、胃内常在細菌叢を評価しました。全症例において Firmicutes および

Proteobacteria 門細菌が優位であり、合わせて全体の 70%以上を占めました。細菌叢の多様性は非萎縮性胃炎、腸上皮化生および胃癌の順で低下する傾向を示し、胃癌患者における多様性は非萎縮性胃炎患者のそれに比べ有意に低下していました (図 3)。胃癌患者で増加した菌として *Lactobacillus coleohominis*、*Lachnospiraceae* 科細菌、減少した菌として *Porphyromonas* 属、*Neisseria* 属細菌が挙げられました。

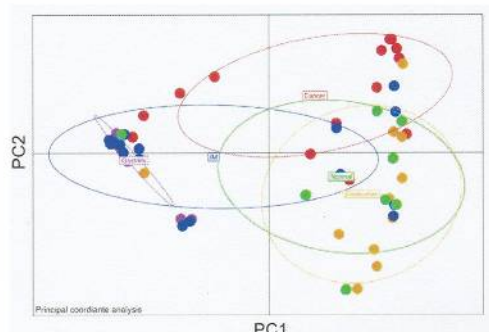
Eun ら (11) は胃癌 (n=11)、腸上皮化生 (n=10)、慢性胃炎患者 (n=10) の胃生検材料を対象に、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA メタゲノム解析を行いました。胃内常在細菌叢の多様性については Aviles-Jimenez らの結果と異なり、胃癌患者において増加していました。また胃癌群では慢性胃炎群に比べて Bacilli 綱が増加し、腸上皮化生群および慢性胃炎群に比べてヘリコバクター科細菌が減少し、ストレプトコッカス科細菌が増加していました。

Li ら (12) はピロリ菌陰性健常者、ピロリ菌陽性慢性胃炎患者、腸上皮化生患者、胃癌患者、ピロリ菌除菌者の胃生検材料を対象に、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA メタゲノム解析により胃内常在細菌叢を調べました。得られたデータの主座標分析 (principle coordinate analysis:PCoA) により、それぞれの疾患群の細菌叢の類似性が調べられました (図 4)。興味深いことに胃癌患者の細菌叢は慢性胃炎、腸上皮化生患者



のそれらに比べ、明らかに相違して独自のクラスターを形成していました。この傾向は細菌叢の約半数を占めるピロリ菌の検出データを除外した場合でも認められました。胃癌患者にて多く検出された細菌は、*Flavobacterium*、*Klebsiella*、*Serratia marcescens*、*Stenotrophomonas*、*Achrobacter*、*Pseudomonas* などでした。更にピロリ菌陰性者および除菌者の細菌叢は極めて類似し、胃癌、腸上皮化生、慢性胃炎患者とは異なるクラスターを形成していました。

図4. 胃内常在細菌叢データの主座標分析。赤:胃癌、青:腸上皮化生、紫:慢性胃炎、緑:正常粘膜、黄:除菌者 (文献12より引用)



おわりに

胃に定着するピロリ菌は他の胃内常在細菌叢と相互作用を示すものと考えられます(13)。ピロリ菌感染が引き起こす胃粘膜病変と胃内常在細菌叢との関連性についての報告が多数なされていますが、解析法の相違、被験材料数の不十分性などの点から十分解明されるには至っていません。加えて、ピロリ菌感染では胃酸分泌が低下し低酸状態となるため、通常の胃粘膜では棲みつくことのできない細菌が定着することとなります。ガストリン分泌亢進を示す遺伝子改変無菌マウスを用いた実験では、*Clostridium* 属、*Lactobacillus* 属、*Bacteroides* 属の3種の菌株とピロリ菌との混合感染が胃上皮内腫瘍を形成することが報告されています(14)。興味深いことに、この実験より *Lactobacillus* 菌株の腫瘍促進性、*Clostridium* および *Bacteroides* 菌株の腫瘍抑制性が示唆されました。ヒトにおいても、ピロリ菌と胃内常在細菌叢および胃内病変についての研究が進展し、今後胃癌を抑制し得る胃内細菌の存在が特定されることが期待されます。またピロリ菌陰性胃癌を対象とした胃内常在細菌叢の研究により、ピロリ菌以外の胃癌関連細菌が特定されることも期待されます。

文献

- 1) Warren JA, Marshall BJ: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in chronic gastritis. *Lancet* i:1272-1275, 1983.
- 2) 神谷 茂: 腸内細菌叢総論、プロバイオティクスと腸内細菌叢. *臨床検査* 2011;55:121-127.
- 3) Sheh A, Fox JG: The role of the gastrointestinal microbiome in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Gut Microbes* 4:505-531, 2013

- 4) Zilberstein B et al.: Digestive tract microbiota in healthy volunteers. *Clinics* 62:47-54, 2007
- 5) Li X-X et al.: Bacterial microbiota profiling in gastritis without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS ONE* 4:11, e7985, 2009
- 6) 松本 昂、山岡吉生: 胃内細菌叢と *Helicobacter pylori* 感染、*Helicobacter Research* 21:235-239, 2017
- 7) Bik EM et al.: Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:732-737, 2006
- 8) Maldonado-Contreras A et al.: Structure of the human gastric bacterial community in relation to *Helicobacter pylori* status. *ISME J* 5: 574-579, 2011
- 9) Schulz C, Schutte K, Koch N, Vilchez-Vargas R, Wos-Oxley ML, Oxley APA, Vital M, Malfertheiner P, Pieper DH: The active bacterial assemblages of the upper GI tract in individuals with and without *Helicobacter* infection. *Gut* 2016 Dec 5. pii: gutjnl-2016-312904. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312904. [Epub ahead of print] PMID:27920199
- 10) Aviles-Jimenez F et al.: Stomach microbiota composition varies between patients with non-atrophic gastritis and patients with intestinal type of gastric cancer. *Sci Rep* 4:4202, 2014
- 11) Eun CS et al.: Difference in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. *Helicobacter* 19:407-416, 2014
- 12) Li TH, Qin Y, Sham PC, Lau KS, Chu K-M, Leung WK: Alteration in gastric microbiota after *H. pylori* eradication and in different histological stages of gastric carcinogenesis. *Sci Rep* 7:44935, DOI 10.1038, 2017
- 13) Ianiro G et al.: Gastric microbiota. *Helicobacter* 20(Suppl S1): 68-71, 2015
- 14) Lertpiriyapong K et al.: Gastric colonisation with a restricted commensal microbiota replicates the promotion of neoplastic lesions by diverse intestinal microbiota in the *Helicobacter pylori* INS-GAS mouse model of gastric carcinogenesis. *Gut* 63:54-63, 2014