

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09361

研究課題名(和文)ピロリ菌除菌後のハイルマニイ菌感染の新興再興感染症としての意義

研究課題名(英文)Significance of *Helicobacter heilmannii* infection after *Helicobacter pylori* eradication

研究代表者

中村 正彦 (Nakamura, Masahiko)

北里大学・薬学部・研究員

研究者番号：30155858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：Hp陰性の胃疾患症例におけるNHPH感染のPCR陽性率を調査した。2013年9月から2019年6月に17病院からHp陰性の296症例の胃粘膜生検組織を集めた。296例中、236例はHp非除菌群で、そのうち49例がNHPH陽性だった。20例は*Helicobacter suis*、7例は*Helicobacter heilmannii sensu stricto*陽性で、22例は同定できなかった。Hp除菌法で治療された全例がPCRによる診断では陰性化した。除菌後Hp陰性29例のうち、3例がNHPH陽性だった。以上より、Hp陰性症例の約20%がNHPH陽性で、除菌後群では10%がNHPH陽性だった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、10年以上にわたりNHPHの特徴、疾患形成との関連についての検討をカニクイザルおよびヒト由来菌のマウス感染モデルを用いて行ない、ピロリ菌との混合感染ではなくピロリ菌陰性者にNHPH感染例が多いことを見出した。今回の検討でも、さらに明確に認められたことから、ピロリ菌陰性の胃MALTリンパ腫、鳥肌胃炎、慢性胃炎、胃十二指腸潰瘍の20%にNHPHが関与することが明らかとなった。さらに、除菌後Hp陰性の症例で胃疾患が認められる場合、その10%にNHPHが陽性であることが示された。一方、除菌療法との関連ではHpと同様の薬剤の組み合わせによる除菌療法で全例が陰性化し、診断の重要性が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The clinical significance of non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* (NHPH) is still unknown. There are many reports of NHPH-infected patients suffering from gastric diseases. Here we investigated the polymerase chain reaction (PCR) positivity of NHPH infection in gastric disease patients who were negative for *Helicobacter pylori* (Hp). Materials and Methods: We collected the 296 gastric mucosal samples of Hp-negative gastric disease patients from 17 hospitals in Japan from Sept 2013 to June 2019, and analysed the existence of Hp and NHPH by PCR. Results: Among the 236 non-Hp-eradicated cases, 49 cases (20.8%) were positive for NHPH. In all of these cases the NHPH diagnosed by PCR was successfully eradicated. Among the 29 post-Hp eradication cases, three were NHPH-positive. Thus, approx. 20% of the Hp negative non-Hp-eradicated gastric disease patients treated at 17 hospitals in Japan were infected with NHPH.

研究分野：NHPHの疫学、病態解析および治療法

キーワード：NHPH *Helicobacter suis* *Helicobacter heilmannii* PCR 免疫組織化学 鳥肌胃炎 胃MALTリンパ腫

様式 C-19, F-19-1, Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Helicobacter pylori (Hp)が胃、十二指腸潰瘍、萎縮性胃炎、胃癌、胃マルトリンパ腫の形成あるいは進展に関係することは、Warren、Marshallのノーベル賞受賞を引き合いに出すまでもなく、多くのエビデンスが蓄積され、Hpの除菌療法も広くおこなわれ、さらに2007年8月には二次除菌も認可される時代となった。除菌や環境の改善により本邦でも若年層ではHpの感染率は欧米並に低下してきた。そこで問題となるのが、*Helicobacter*属の再感染あるいは再燃の問題である。すでに除菌後の再感染症例の中にHpの類縁菌であるnon-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* (NHPH)の一種の*Helicobacter heilmannii* (*H. heilmannii*)感染小児例が散見されることが報告された (Kato, S., et al., *J Gastroenterol.*, 40:94-97, 2005)。また、MALTリンパ腫症例のなかにHpに加えて*H. heilmannii*陽性症例が含まれ、*H. pylori*よりも感染症例の中における割合は有意に高いことも明らかとなった(Morgner, A., et al., *Gastroenterology* 118, 821-828, 2000)。

このように新興感染症の一つとして今後の展開が危惧されるNHPH感染は、人獣共通感染症あるいは動物由来感染症のひとつであることは知られているが、その感染実態および疾患との関連は不明である。これは、NHPHは純粋培養が2008年にはじめて報告されたが (Baele, M., et al *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1350-1358, 2008)、colonyの形成まではいならず、培養が可能なHpとは異なり詳細な評価が不可能であったためである。しかし、近年NHPHの16S rDNA配列が報告されたことから、PCRによる検討はある程度可能となった。

2. 研究の目的

そこでわれわれは過去3年間にわたり、MALTリンパ腫を含めた各種胃疾患症例におけるNHPHの陽性率を検討し、約120例の検討ではMALTリンパ腫症例に高率に陽性であることがわかった (Øverby, A., et al. *Digestion*, 95(1), 61-66, 2017)。この点は、さらに症例数および対象とする疾患を増やす、あるいは集団検診時における検討などにより、より正確に陽性症例の特徴、地域差などを明らかにする必要があると考えられる。そこで、われわれは、迅速ウレアーゼテストと病理学的観察でHp陰性の胃疾患症例におけるNHPH感染のPCR陽性率について調査した。さらに、*H. suis*に対する特異抗体を用いた免疫組織化学による生検組織の観察を行い、PCRの結果と比較検討した。

3. 研究の方法

われわれは、2013年9月から2019年6月にかけて、日本国内の17病院から迅速ウレアーゼテスト陰性で病理学的にもHp陰性の296症例の内視鏡による胃粘膜生検組織を集めた(図1)。

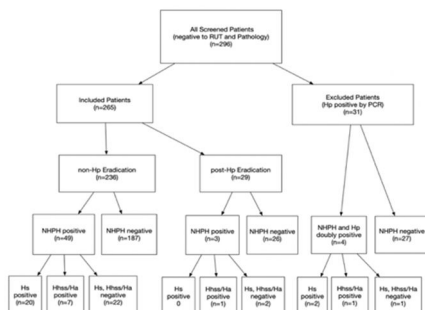


図1

表 1

Primer	Sequence (5'-3')	Target	Target	Amplicon	Reference
		(bp)	(bp/nt)	(bp)	(bp)
HpIF	ANGTGAACGATGAGCCCA	16S DNA	NHPH	112	Diagn Microbiol Infect Dis 46:17, 2003
HpIR	ATTGGTATATCAACATTTC	16S DNA	NHPH		Diagn Microbiol Infect Dis 46:17, 2003
VACN2F	GAGCGAGCATGATGATGAC	vacA	<i>H. pylori</i>	229	Diagn Microbiol Infect Dis 46:17, 2003
VACN1R	ACTCCGACATCATATAGA	vacA	<i>H. pylori</i>	2	J Clin Microbiol 39:1217-1221, 2001
Hs-vacA-8F	GATGGGGCTCTGGTTTA	omp	<i>H. suis</i>	149	present study
Hs-vacA-8R	CTGGTATGCTATTGAGCAAAA	omp	<i>H. suis</i>		present study
Hs-vacA-F	SATACATGACAGC ZEN CAACACGATGAGGCTT BARRHQ	omp	<i>H. suis</i>		present study
Hsua-F	CTCTCTCTGGGAGGATGCTCTC	omp	<i>H. heilmannii</i> s.s.	308	Helicobacter 20:242/90, 2014
Hsua-R	CAGTGTGAGTGTCCAGAG	omp	<i>H. heilmannii</i> s.s.		Helicobacter 20:242/90, 2014
Hsua-F	CGCTTGAACCCGGTGAAGAAA	omp	<i>H. aalborgensis</i>	172	Helicobacter 20:242/90, 2014
Hsua-R	TATCCACCCCAATTCACACA	omp	<i>H. heilmannii</i>		Helicobacter 20:242/90, 2014
23E3FD	AGAGTTTGATCCGCTGAC	16S DNA	universal		Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, 54, 2303-2311
8036R	ATTCACACTCCCTCCCA	16S DNA	<i>Helicobacter</i> spp.		Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, 54, 2303-2311
149RUBPH	TACCGACTCTTGTACAG	16S DNA	universal		Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, 54, 2303-2311
8279F	CTATGAGGGTATCCGGC	16S DNA	<i>Helicobacter</i> spp.		Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, 54, 2303-2311
1430F	GCGAATGATGACAGAGG	omp	<i>Helicobacter</i> spp.		Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, 54, 2303-2311

RT-PCR 法により表 2 の primer を用いて NHPH の有無 2 月検討した。

また、この検体の一部に、*Helicobacter* 抗体あるいは *Helicobacter suis* VacA paralog 抗体を用いた蛍光抗体間接法を施行し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

4. 研究成果

1) Hp 非除菌後群における NHPH 陽性率と地域差

296 例中、236 例は Hp 非除菌群で、そのうち 49 例が NHPH 陽性だった。そのうち 20 例は *Helicobacter suis*, 7例は *Helicobacter heilmannii* sensu stricto/*Helicobacter ailurogastricus* 陽性で、残り 22 例は同定できなかった。

感染率の地域差には有意差が認められた(図2、表1)。

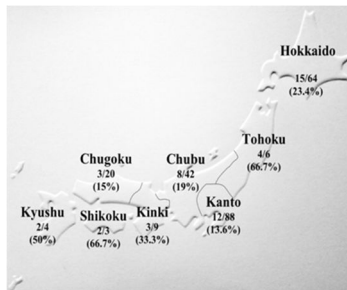


図2 地域別の NHPH 陽性率

表 2

Area	Main Hospital	total	NHPH	%	HPHs	undetermined
Hokkaido		64	15	(23.4%)	5	3
Chugoku	Hokkaido University Hospital	20	3	(15.0%)	3	1
Chubu	National Hospital Organization Hokkaido National Hospital	34	5	(14.7%)	2	1
Tohoku	Hiroaki University Hospital	6	4	(66.7%)	2	0
Kanto		88	12	(13.6%)	6	1
Tokyo	Kyoto University Hospital, Tokyo Metropolitan Center and Infectious Disease Center, Keio University Hospital, Tokyo Daigaku Central Hospital	44	6	(13.6%)	3	0
Kansai	Miyagi University Hospital, Nippon Kyoiku Hospital	28	4	(14.3%)	3	0
Chugoku	Tokyo Medical University Shinjuku Medical Center, Tohoku University Hospital	16	2	(12.5%)	0	1
Chubu	Keio Medical University	42	8	(19%)	3	1
Kinki	Japan Community Health Organization Shiga Hospital	9	3	(33.3%)	2	0
Chugoku	Kanagawa Central City Hospital, Kawasaki Medical School Hospital, Wakayama Pref. Univ. Hospital & Memorial Center, Saitama Hospital	20	3	(15%)	1	1
Shikoku	Matsuyama Pref. Univ. Hospital	3	2	(66.7%)	0	1
Kyushu	Osaka Univ. Hospital	4	2	(50%)	1	0
total		296	49		20	7

表2 NHPH の種ごとの地域別分布

2) 疾患との関係

疾患との関連では、鳥肌胃炎の 40%、MALT リンパ腫の 24%、慢性胃炎の 17%、胃十二指腸潰瘍の 33% が NHPH 陽性だった(表3)。

表 3

Diseases	Number of Cases	Positive Cases
total	236	49 (20.8%)
gastric MALT lymphoma	46	11 (23.9%)
chronic gastritis	162	28 (17.3%)
nodular gastritis	15	6 (40.0%)
gastroduodenal ulcer	9	3 (33.3%)
gastric cancer	1	0
polyp	2	0
SS	1	1 (100%)
duodenal follicular lymphoma*	4	0
colon MALT Lymphoma*	4	0

* not included in the total number

3) 除菌法との関連

45 例が PPI と抗生剤 2 種類を組み合わせた 4 種類の除菌法で治療され、全ての例が PCR による診断では陰性化した (表 4、表 5)。現時点では、Hp の除菌療法が有効であると考えられた。

表 4

eradication regimen	PPI (bid)	Antibiotics (bid)	Duration
lansoprazole-based triple therapy	lansoprazole (30mg)	amoxicillin (750 mg) and clarithromycin (200 mg)	seven days
rabeprazole-based triple therapy	rabeprazole (10mg)	amoxicillin (750 mg) and clarithromycin (200 mg)	seven days
vonoprazan-based triple therapy	vonoprazan (20mg)	amoxicillin (750 mg) and clarithromycin (200 mg)	seven days
esomeprazole-based triple therapy	esomeprazole (20mg)	amoxicillin (750 mg) and metronidazole (250 mg)	ten days

表 5

Eradication Regimen	Total	H. suis	H. heilmannii	Unidentified	failure
case number	45	18	6	21	0
lansoprazole-based triple therapy	16	6	2	8	0
rabeprazole-based triple therapy	7	5	0	2	0
vonoprazan-based triple therapy	18	5	3	10	0
esomeprazole-based triple therapy	4	2	1	1	0
failure	-	0	0	0	0

4) 免疫組織化学との対比

Helicobacter suis に特異的な HsvA 抗体を用いた免疫組織化学の結果は、PCR の結果と一致した (表 6)。

図 2 HsvA 抗体の *Helicobacter suis* および *Helicobacter heilmannii* 陽性症例胃底腺部における反応性

Helicobacter suis 陽性症例(a, b, c) のみ反応する。

表 6

Antibodies	Hs by PCR	Hhss/Ha by PCR	Hp by PCR
total cases	5	5	5
anti- <i>Helicobacter</i>	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)
anti-HsvA	5 (100%)	0	0

5) 除菌後 NPHH 陽性群の検討

除菌後 Hp 陰性 29 例のうち、3 例が NPHH 陽性であり、そのうち 1 例が *Helicobacter heilmannii* sensu stricto/*Helicobacter ailurogastricus* 陽性だった。以上より、Hp 陰性で、Hp 除菌療法を受けていない症例の約 20% が NPHH 陽性であり、除菌後群では 10% が NPHH 陽性だった (表 7)。

表 7

Diseases	Number of Cases	Positive Cases	Helicobacter Species
total	29	3 (10.3%)	
gastric MALT lymphoma	6	1 (16.7%)	unidentified
chronic gastritis	21	1 (4.8%)	<i>Helicobacter suis</i>
nodular gastritis	0	0	
gastroduodenal ulcer	1	0	
gastric cancer	1	1 (100%)	unidentified
polyp	0		

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 中村正彦、松井英則	4. 巻 45
2. 論文標題 non-Helicobacter pylori Helicobacter-friend or foe- 除菌後胃炎との関連	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ulcer Research	6. 最初と最後の頁 51-55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura, M., Overby, A., Uehara, A., Oda, M., Takahashi, S., Murayama, S.Y. and Matsui, H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Significance of cholinergic and peptidergic nerves in stress-induced ulcer and MALT lymphoma formation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Curr Pharm Des	6. 最初と最後の頁 3993, 3996
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2174/1381612823666170210144750.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Flahou, B., Rossi, M., Bakker, J., Nakamura, M., Overby, A.,	4. 巻 12
2. 論文標題 Evidence for a primate origin of zoonotic Helicobacter suis colonizing domesticated pigs.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The ISME Journal	6. 最初と最後の頁 77, 86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/ismej.2017.145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 中村正彦、児玉洋介、村山そう明、松井英則、織田正也	4. 巻 56
2. 論文標題 肝腫瘍、肺腫瘍と自律神経系、neuropeptideの関与 MALTリンパ腫から見たその特徴	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 226, 232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura M, Overby A, Michimae H, Matsui H, Takahashi S, Mabe K, Shimoyama T, Sasaki M, Terao S, Kamada T, Yanaka A, Iwamoto J, Tanabe S, Tari A, Nasu S, Suzuki H, and Murayama SY	4. 巻 25
2. 論文標題 PCR Analysis and Specific Immunohistochemistry Revealing a High Prevalence of Non-Helicobacter pylori Helicobacters in Helicobacter pylori-negative Gastric Disease Patients in Japan: High Susceptibility to an Hp Eradication Regimen	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Helicobacter	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura, M, Kodama Y, Overby A, Takahashi S, Ohshima K, Suzuki H, Murayama SY and Matsui H	4. 巻 26
2. 論文標題 Helicobacter heilmannii Infection in Mouse Induced not only Gastric, but Hepatic and Pulmonary MALT Lymphoma: Relation to Substance P	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr Pharm Design	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 岩本淳一、谷中昭典、中村正彦
2. 発表標題 茨城県内でのHelicobacter heilmannii like organism感染に関する検討。 Workshop 1:日本におけるgastric non-H. pylori Helicobacter感染研究と診療の動向
3. 学会等名 第24回日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村泰弘、新村哲也、吉峰 崇、足立和規、井澤晋也、山本さゆり、海老正秀、小笠原尚高、舟木 康、佐々木誠人、中村正彦、春日井邦生
2. 発表標題 当院におけるgastric non-Helicobacter pylori Helicobacter感染症の診断と病態の検討
3. 学会等名 第24回日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木志保、宮地英行、寺尾秀一、中村正彦
2. 発表標題 当院で経験したnon-Helicobacter pylori Helicobacter感染胃炎4例の検討
3. 学会等名 第24回日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井英則、高橋哲史、村山そう明、林原絵美子、鈴木仁人、柴山恵吾、松本竹久、太田浩良、寺尾秀一、田辺聡、岩本淳一、下山克、間部克裕、中村正彦
2. 発表標題 ヘリコバクタースイス感染の迅速検査法の開発
3. 学会等名 第24回日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東俊文、小野寺晶子、中村正彦、寺田総一郎
2. 発表標題 Gorlin症候群ゲノム解析と疾患iPS細胞による病態解析への応用。シンポジウム1 ゲノムで見える病態
3. 学会等名 第50回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村正彦、児玉洋介、村山そう明、松井英則
2. 発表標題 NHPH長期感染胃MALTリンパ腫形成に対する片側迷走神経切離術の効果—substance P, CGRPとの関連。シンポジウム3 自律神経と消化管臓器相関における自律神経の役割を考える
3. 学会等名 第71回日本自律神経学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村正彦
2. 発表標題 会長講演 動物のヘリコバクター friend or foe
3. 学会等名 第50回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura, M., Overby, A. and Matsui, H.
2. 発表標題 Vonoprazan induces parietal cell damage in the gastric non-Helicobacter pylori-Helicobacter infection in mouse
3. 学会等名 DDW2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura, M., Overby, A., Takahashi, S., Murayama, S. Y. and Matsui, H.
2. 発表標題 Parietal cell damage by Viable Helicobacter suis could be closely related to the formation of the gastric MALT lymphoma formation in C57BL/6 Infection Model
3. 学会等名 XXXIst International Workshop on Helicobacter and Microbiota inflammation and cancer (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura, M., Overby, A., Flahou, B., Haesebrouck, F., Tomita, T. and Matsui, H.:
2. 発表標題 Characteristics of cultured non-Helicobacter pylori Helicobacter and its relation to human gastric diseases
3. 学会等名 European Helicobacter Microbiota Study Group (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakamura M , Overby A, Murayama SY, Matsui H and Takahashi S
2. 発表標題 Non-Helicobacter pylori Helicobacters were found to be closely related to Helicobacter pylori-negative or post-eradication human gastric diseases in Japan
3. 学会等名 XXXIst International Workshop on Helicobacter and Microbiota inflammation and cancer (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村山そう明、松井英則、間部克裕、下山克、中村正彦
2. 発表標題 臨床検体からのPCR法によるHelicobacter属の検出と疫学解析
3. 学会等名 第25回 日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松井英則、林原絵美子、鈴木仁人、柴山恵吾、村山そう明、寺尾秀一、下山克、間部克裕、中村正彦
2. 発表標題 ヘリコバクター・スイス迅速診断法の開発II。パネルディスカッション1 日本におけるgastric NHPH感染研究の展開 培養、血清抗体を含めた新たな診断法
3. 学会等名 第25回 日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 中村正彦	4. 発行年 2018年
2. 出版社 知人社	5. 総ページ数 146
3. 書名 日本臨床分子形態学会 50周年記念誌	

1. 著者名 Nakamura, M., Overby, A. and Matsui, H.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 New Jersey : World Scientific	5. 総ページ数 355
3. 書名 Therapeutic targets for inflammation and cancer : novel therapies for digestive diseases	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Helicobacter heilmannii in Japan 日本におけるハイルマニイ菌研究 http://heilmannii.info

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----