

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：15201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K23945

研究課題名(和文)逆流性食道炎と口腔内細菌叢との関連に関する研究

研究課題名(英文)Study on the association of reflux esophagitis and oral microbiota

研究代表者

三代 剛 (Mishiro, Tsuyoshi)

島根大学・医学部・特別協力研究員

研究者番号：20599427

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：健康ボランティア及び逆流性食道炎(RE)患者の唾液及び食道炎症部位のブラシ擦過検体を齶蝕の主な口腔内病原細菌であるコラーゲン結合蛋白発現型Streptococcus mutans(Cnm-S)の有無について特異的プライマーを用いたPCR検査を行った。両群からCnm-S自体はほとんど検出されず統計学的な検討は出来なかったが、専用寒天培地で増殖したコロニーからのシーケンシングによってStreptococcus anginosusという菌種が同定された。この菌種はラミニンやフィブロネクチンと結合し、心内膜炎や誤嚥性肺炎などの関連が報告されており、今後も病態との関連性について検討予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は唾液と共に嚥下される口腔内細菌が直接食道粘膜へ付着、更に粘膜内へ侵入することで炎症反応を増幅させ、実際のRE発症へ関与するか否か、或いは既にREと診断された患者の治療抵抗性に関与するか否かについて検討を行った。RE発症や治療抵抗性と酸逆流との関連から見た研究は数多くの報告があったが、本研究の如く、特に唾液と共に嚥下される口腔内細菌或いはその代謝産物の変化が、REの発症や増悪に着目した先行研究は今まで全く皆無であった。この点が本研究の特色、極めて独創的な点であり、本研究で得られる成果はこれまでに検討されてきた酸関連疾患概念とは全く異なる治療法の開発に結び付く可能性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：Streptococcus mutans (Cnm-SM) are collagen-binding protein expressing bacterium that is a major oral pathogen of dental caries. We collected brush-scraped specimens of esophageal inflammation sites through saliva and endoscopy from healthy volunteers and RE patients. We checked by PCR using a specific primer for detecting Cnm-SM. Cnm-SM itself was hardly detected in both groups examined this time, and statistical examination could not be performed, but a strain called Streptococcus anginosus was found by sequencing from colonies grown on a special agar medium. This bacterial species binds to laminin and fibronectin, which has been reported to be associated with endocarditis and aspiration pneumonia. We will further investigate the association Streptococcus anginosus with pathological conditions.

研究分野：消化器内科

キーワード：逆流性食道炎 口腔内細菌 齶蝕菌 胃酸分泌抑制薬 逆流性食道炎モデルラット

1. 研究開始当初の背景

人体には口腔、鼻腔、消化管、皮膚、膣、尿道などに約 1000 種の細菌が、人体を構成する細胞数をはるかに凌駕する数百兆個も生息しており、固有の常在細菌叢を形成している。この常在細菌叢の存在がエネルギー産生、物質代謝の調節、感染症防御、免疫賦活化など個体の成熟化や恒常性の維持に必須である事が明らかとなりつつある。一方で、その破綻が発癌や慢性炎症性腸疾患、肥満や心疾患など全身疾患までも含めた様々な疾患発症とも関連していると近年考えられている。

我々が以前より研究及び報告を行ってきた逆流性食道炎(以下 RE)は、中年男性や高齢女性に多くみられ、主に酸性の胃液が食道内へ逆流し食道粘膜が損傷を受けて発症する疾患である。「胸焼け」や「呑酸」症状が主体であり、治療には胃酸分泌抑制薬が頻用されているが、およそ 10~20%の症例ではこれらの治療に抵抗性を示す。更に薬物治療によって一旦改善しても、治療を中止すると再発・再燃するケースも散見され、その場合には長期の維持療法が必要となってくる事が多い。

成人が分泌する唾液量は 1 日当たり約 1L であるが、特にこの唾液と共に嚥下される口腔内細菌もしくはその代謝産物の変化が、逆流性食道炎(以下 RE)や食道癌を含めた種々の食道疾患に何らかの形で関与することも十分に考慮される。これら口腔内細菌の中で、特に齶蝕の主要な口腔内病原細菌であるコラーゲン結合型 *Streptococcus mutans* 菌(以下 Cnm-SM)は、以前より菌血症及び感染性心内膜炎の起炎菌として知られてきたが、最近では脳出血モデルマウスにおいて、脳出血部局所での血小板凝集抑制作用及び血管内皮細胞における MMP-9 活性化などを介した脳出血を増悪・助長させるメカニズムへの直接的な関与も示唆されている。更にコラーゲン結合蛋白(Cnm)自体についても様々な構造及び機能解析が行われており、SM が血管内皮細胞へ付着及び侵入する際に重要な役割を果たすと考えられている。

本研究は、齶蝕以外にも多くの疾患に関係すると考えられている口腔内病原細菌である Cnm-SM が食道粘膜へ直接付着及び侵入することで炎症反応を惹起し、逆流性食道炎の発症あるいは治療抵抗性に関与するかについて検討を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究は、唾液と共に嚥下される口腔内細菌の中で、特に齶蝕以外にも多くの疾患に関係すると考えられている Cnm-SM が直接食道粘膜へ付着、更に粘膜内へ侵入することで炎症反応を増幅させ、実際の RE 発症へ関与するか否か、あるいは既に RE と診断された患者の治療抵抗性に関与するか否かについて検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

健常ボランティア及び RE 患者から、唾液(口腔内洗浄液)及び内視鏡検査を介した食道炎症部位のブラシ擦過によって検体回収を行った後、齶蝕の主要な口腔内病原細菌であるコラーゲン結合蛋白発現型 Cnm-SM の有無について特異的プライマーを用いた PCR 検査を行い、Cnm-SM と RE 発症との関連及び RE 難治化予測について統計学的検討を進める。

また各検体を専用寒天培地に直接塗布して培養を行い、増生したコロニーからシーケンシングによって Cnm-SM 以外の菌種同定も併せて行っていく予定である。培養検査からも Cnm-SM (あるいは他の優勢菌)が同定された場合、この優勢菌を RE モデルラットへ直接経口投与を行い、頻用される胃酸分泌抑制薬治療に対して実際に抵抗性を示すか実証を進めていく。

さらにこの動物実験において RE 発症あるいは治療抵抗性に Cnm-SM (あるいは他の優勢菌)が関与する可能性が示唆された場合、Cnm-SM (あるいは他の優勢菌)に特異的な内服薬(治療に伴う、より副作用の少ない)による治療介入まで行っていく計画である。

4. 研究成果

本研究にて齶蝕以外にも多くの疾患に関係すると考えられている口腔内病原細菌であるコラーゲン結合型 *Streptococcus mutans* 菌が食道粘膜へ直接付着及び侵入するこ

とで炎症反応を惹起し、逆流性食道炎（RE）の発症あるいは治療抵抗性に関与するかについて検討を行った。健常ボランティア及び RE 患者から、唾液（口腔内洗浄液）及び内視鏡検査を介した食道炎症部位のブラシ擦過によって検体回収を行った後、齶蝕の主要な口腔内病原細菌であるコラーゲン結合蛋白発現型 Cnm-SM の有無について特異的プライマーを用いた PCR 検査を行い、Cnm-SM と RE 発症との関連及び RE 難治化予測について統計学的検討を進めた。

残念ながら予定していた期間内でコラーゲン結合蛋白発現型 Cnm-SM 自体が、今回検討をすすめた両群からほとんど検出されなかったために統計学的な検討が行うことが十分に出来なかった。ちょうどコロナ禍も重なってしまい、この影響で予定された健常ボランティア及び RE 患者の登録者数自体が少数例に留まってしまったことも、この結果に至ってしまった可能性が高かった。

しかし各検体を専用寒天培地に直接塗布して培養を行い、増殖したコロニーから直接シーケンシングを行うことによって Cnm-SM 以外の菌種同定を併せて行っていた過程で、*Streptococcus anginosus* という菌種が同定されてきた。この菌種はラミニンやフィブロネクチンといった間葉系構成物と結合し、心内膜炎や誤嚥性肺炎などといった炎症性疾患との関連が報告されている菌種であった。

今後の課題として培養した同菌種を RE モデルラットへ直接経口投与を行い、RE を惹起するか検討を行う予定としている。また実際に炎症が惹起される場合には、実臨床で頻用される胃酸分泌抑制薬治療に対して治療抵抗性を示すか実証を進めていく予定としている。またこの動物実験において RE 発症あるいは治療抵抗性に、今回新規に同定された *Streptococcus anginosus* が関与する可能性が示唆された場合、*Streptococcus anginosus* に特異的な内服薬（治療に伴う、より副作用の少ない）による治療介入まで行っていく計画である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mishiro Tsuyoshi, Nagase Mamiko, Nagasaki Makoto, Adachi Kyoichi, Ishihara Shunji	4. 巻 -
2. 論文標題 Two Cases of Eosinophilic Gastroenteritis With Rare Manifestations Revealed in Medical Checkup Findings	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cureus	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7759/cureus.12118	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 Kotani Satoshi, Fukuba Nobuhiko, Kawashima Kousaku, Mishima Yoshiyuki, Sonoyama Hiroki, Okimoto Eiko, Tada Yasumasa, Oka Akihiko, Tamagawa Yuji, Oshima Naoki, Mishiro Tsuyoshi, Tobita Hiroshi, Shibagaki Kotaro, Moriyama Ichiro, Ishimura Norihisa, Kushiya Yoshinori, Fujishiro Hirofumi, Ishihara Shunji	4. 巻 55
2. 論文標題 Prevalence of functional dyspepsia-like symptoms in ulcerative colitis patients in clinical remission and overlap with irritable bowel syndrome-like symptoms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scandinavian Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 560 ~ 564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00365521.2020.1761998	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 Shibagaki Kotaro, Ishimura Norihisa, Yuki Takafumi, Taniguchi Hideaki, Aimi Masahito, Kobayashi Keita, Kotani Satoshi, Yazaki Tomotaka, Yamashita Noritsugu, Tamagawa Yuji, Mishiro Tsuyoshi, Ishihara Shunji, Yasuda Akira, Kinshita Yoshikazu	4. 巻 8
2. 論文標題 Magnification endoscopy in combination with acetic acid enhancement and narrow-band imaging for the accurate diagnosis of colonic neoplasms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endoscopy International Open	6. 最初と最後の頁 E488 ~ E497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-1068-2056	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 Shibagaki Kotaro, Yuki Takafumi, Taniguchi Hideaki, Aimi Masahito, Miyaoka Yoichi, Yuki Mika, Ishimura Norihisa, Oshima Naoki, Mishiro Tsuyoshi, Tamagawa Yuji, Mikami Hironobu, Izumi Daisuke, Yamashita Noritsugu, Sato Shuichi, Ishihara Shunji, Kinoshita Yoshikazu	4. 巻 32
2. 論文標題 Prospective multicenter study of the esophageal triamcinolone acetonide filling method in patients with subcircumferential esophageal endoscopic submucosal dissection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 355 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13496	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 沖本 英子, 三代 剛, 石村 典久, 石原 俊治	4. 巻 -
2. 論文標題 消化管症候群(第3版)-その他の消化管疾患を含めて-】空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸(上) 炎症性疾患 アレルギー性腸炎	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨床別冊消化管症候群	6. 最初と最後の頁 220-223
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 柴垣広太郎, 三代 剛, 石村 典久, 長瀬真実子, 荒木亜寿香, 石川 典由, 丸山理留敬, 石原 俊治	4. 巻 32
2. 論文標題 【胃癌診断を極める】H.pylori未感染胃粘膜に生じる胃癌の内視鏡診断 H.pylori未感染胃粘膜に生じる ラズベリー様腺窩上皮型胃癌	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 消化器内視鏡	6. 最初と最後の頁 97-105
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 柴垣広太郎, 三代 剛, 川島 耕作, 石村 典久, 長瀬真実子, 荒木亜寿香, 石川 典由, 丸山理留 敬, 石原 俊治	4. 巻 55
2. 論文標題 【H. pylori未感染胃の上皮性腫瘍】H. pylori未感染胃上皮性腫瘍の内視鏡的特徴 ラズベリー様腺窩上 皮型胃癌	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 胃と腸	6. 最初と最後の頁 1043-1050
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 柴垣広太郎, 三代 剛, 川島 耕作, 荒木亜寿香, 丸山理留敬, 石原 俊治	4. 巻 2
2. 論文標題 【ピロリ菌未感染および除菌後の早期胃癌の診断】ラズベリー様腺窩上皮型胃癌	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 消化器内科	6. 最初と最後の頁 31-39
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 三代 剛, 川島 耕作, 石村 典久, 石原 俊治	4. 巻 126
2. 論文標題 便秘・下痢-医師必見のUp-to-Date 2020】便通異常をきたす病態 過敏性腸症候群による便通異常	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 内科	6. 最初と最後の頁 27-60
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 Shibagaki Kotaro, Fukuyama Chika, Mikami Hironobu, Izumi Daisuke, Yamashita Noritsugu, Mishiro Tsuyoshi, Oshima Naoki, Ishimura Norihisa, Sato Shuichi, Ishihara Shunji, Nagase Mamiko, Araki Asuka, Ishikawa Noriyoshi, Maruyama Riruke, Kushima Ryoji, Kinoshita Yoshikazu	4. 巻 7
2. 論文標題 Gastric foveolar-type adenomas endoscopically showing a raspberry-like appearance in the Helicobacter pylori-uninfected stomach	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endoscopy International Open	6. 最初と最後の頁 E784 ~ E791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-0854-3818	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oka Akihiko, Ishihara Shunji, Mikami Hironobu, Sonoyama Hiroki, Mishiro Tsuyoshi, Tobita Hiroshi, Kawashima Kousaku, Miyake Tatsuya, Ishimura Norihisa, Furuta Kenji, Kinoshita Yoshikazu, Nishina Masayoshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Retained Rice Cake: A Unique Upper Gastrointestinal Foreign Body: Case Report and a Literature Review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2485 ~ 2494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.2760-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mishiro Tsuyoshi, Kishimoto Kenichi, Hamamoto Wataru, Cho Yuumi, Mikami Hironobu, Ikuta Yukihiro, Yamashita Noritsugu, Moriyama Ichiro, Ishimura Norihisa, Sato Syuichi, Ishihara Shunji, Ishiguro Shingo, Kinoshita Yoshikazu	4. 巻 58
2. 論文標題 A Simple Method for Measuring Adenosine Triphosphate in Acute Cholangitis Patients to Determine the Need for Emergency Biliary Drainage	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 3213 ~ 3217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.2569-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shibagaki Kotaro, Yuki Takafumi, Taniguchi Hideaki, Aimi Masahito, Miyaoka Yoichi, Yuki Mika, Ishimura Norihisa, Oshima Naoki, Mishihiro Tsuyoshi, Tamagawa Yuji, Mikami Hironobu, Izumi Daisuke, Yamashita Noritsugu, Sato Shuichi, Ishihara Shunji, Kinoshita Yoshikazu	4. 巻 32
2. 論文標題 Prospective multicenter study of the esophageal triamcinolone acetonide filling method in patients with subcircumferential esophageal endoscopic submucosal dissection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 355 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13496	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 福山知香、柴垣広太郎、三上博信、泉 大輔、山下詔嗣、三代 剛、大嶋直樹、石村典久、佐藤秀一、石原俊治、長瀬真美子、荒木亜寿香、石川典由、丸山理留敬、九嶋亮治、木下芳一	4. 巻 54
2. 論文標題 Helicobacter pylori未感染者の胃底腺粘膜に多発した低異型度胃型腺癌（腺窩上皮型）と腺窩上皮型過形成性ポリープの1例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 胃と腸	6. 最初と最後の頁 265-272
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 三代 剛、三上博信、木下芳一	4. 巻 108
2. 論文標題 【慢性便秘症の診療の進歩】慢性便秘の治療 大腸刺激性下剤の種類とその使い方	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本内科学会誌	6. 最初と最後の頁 40-45
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 三代 剛、石原俊治、木下芳一	4. 巻 77
2. 論文標題 【特集 機能性消化管疾患：下部 -最新の診断と治療-】下痢を起こす薬剤、便秘を起こす薬剤	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 1858-1862
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9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 飛田 博史, 矢崎 友隆, 三代 剛, 森山 一郎, 石村 典久
2. 発表標題 非アルコール性脂肪性肝疾患と内因性エタノール/腸内細菌との関係
3. 学会等名 第56回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 兒玉 康秀, 柴垣広太郎, 三代 剛, 藤井 雄介, 平原 典幸, 足立 経一, 石原 俊治
2. 発表標題 急激発症したHelicobacter pylori未感染スキルス胃癌の1例
3. 学会等名 第124回日本消化器内視鏡学会中国支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三代 剛, 柴垣広太郎, 山本 徹, 平原 典幸, 石原 俊治
2. 発表標題 ワークショップ: 中国地方の消化器内視鏡学のState of the art ; 当院での術後縫合不全及び難治性瘻孔症に対する内視鏡的閉鎖術について
3. 学会等名 第124回日本消化器内視鏡学会中国支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石村 典久, 沖本 英子, 三代 剛, 大嶋 直樹, 川島 耕作, 石原 俊治
2. 発表標題 ワークショップ: 好酸球性食道炎・GERD診療の最前線 ; 好酸球性食道炎の治療後経過に関する検討
3. 学会等名 第17回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三代 剛, 柴垣広太郎, 石原 俊治
2. 発表標題 パネルディスカッション：ヘリコバクターピロリ除菌後発見胃癌・未感染胃癌の病態と内視鏡診断；金ゲノム解析を行った低異形度胃型腺癌（腺窩上皮型）8症例の検討
3. 学会等名 第99回日本消化器内視鏡学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岸本健一、三代 剛、三上博信、山下詔嗣、原 和志、濱本 航、張 優美、生田幸広、長崎真琴
2. 発表標題 腹水ADAの測定が診断に有用であった結核性腹膜炎の一例
3. 学会等名 第111回日本消化器病学会中国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三代 剛、沖本英子、石村典久、足立経一、石原俊治
2. 発表標題 X線による胃がん検診を契機に診断された好酸球性胃腸炎の二例
3. 学会等名 第50回日本消化器がん検診学会中国四国地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野々村早弥、柴垣広太郎、古谷聡史、三代 剛、石村典久、石原俊治
2. 発表標題 H.pylori未感染胃粘膜に腺窩上皮型胃癌と胃底腺粘膜型胃癌が併発した1例.
3. 学会等名 第123回日本消化器内視鏡学会中国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三代 剛、黒木靖敏、岡健太郎、高橋志達、飛田博史、石村典久、木下芳一、石原俊治
2. 発表標題 健常ボランティアにおけるプロトンポンプ阻害薬内服時の常在細菌叢変化に関する検討
3. 学会等名 健常ボランティアにおけるプロトンポンプ阻害薬内服時の常在細菌叢変化に関する検討
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関