

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K19250

研究課題名（和文）奈良県内の地域住民とその環境におけるピロリ菌の蔓延実態ならびに感染源の包括的解明

研究課題名（英文）Prevalence and infection source of *Helicobacter pylori* among residents and their environments in the Nara prefecture

研究代表者

堀内 沙央里（Horiuchi, Saori）

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：40794334

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：環境水29検体とイヌの糞便11検体の合計40検体を採取し、ピロリ菌の検出を行った。これら40検体からはピロリ菌は検出されなかった。一方、*Helicobacter* 16S ribosomal RNA遺伝子のシークエンス解析の結果、イヌの糞便検体11検体中3検体から*Helicobacter canis*が検出された。また、湖・沢・川から採取した水から分離した細菌を解析した結果、*Pseudomonas*属；*Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*等や *Aeromonas hydrophila*, *Rahnella aquatilis*等が検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イヌや水検体からピロリ菌が検出されたという報告もあるが、本研究においてはピロリ菌は検出されず、感染源を特定することはできなかった。一方で、イヌの糞便からピロリ菌と同属の*Helicobacter canis*が検出された。*Helicobacter canis*はヒトへ感染し、菌血症の原因菌となることから、ピロリ菌と合わせて人獣共通感染症の観点から更なる調査が必要である。

研究成果の概要（英文）：We collected 40 environmental samples (29 environmental water and 11 fecal samples from dogs) and analyzed. *Helicobacter pylori* was not detected in the 40 samples. We amplified the 16S rRNA gene in the 11 fecal samples from dogs. *Helicobacter canis* was detected in three of the 11 fecal samples from dogs.

Colonies of *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Rahnella aquatilis* were isolated from the environmental water samples which were collected from lake, stream, and river.

研究分野：地域看護学

キーワード：*Helicobacter pylori* 感染源 PCR

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦においては、胃がんの死亡率や罹患率は減少傾向にあるが、罹患者数は依然として12万人を超えており、地域差が見られる (https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/cancer/5_stomach.html)。 *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) の感染、特に病原遺伝子である *cagA* 遺伝子陽性株の慢性的な感染は胃がんの罹患リスクを高めるとされている。 *CagA* 遺伝子陽性株をはじめとするピロリ菌感染については、胃がん等の胃疾患を持つ患者を中心に臨床研究が多く実施されているが、地域住民については明らかにされていない。

さらに、ピロリ菌は経口感染し感染源の1つとして井戸水や河川等の水源、土壌、そして生野菜等の生活環境が疑われているが、未だ不明な点が多いのが現状である。このため、胃がんの制御にはピロリ菌の感染予防に向けた感染源の特定が急務である。

我々は、胃がんの標準化死亡比が高い地域において住民の便の20.0%からピロリ菌が持つ *glmM* 遺伝子を検出し、そのうち27.8%が病原遺伝子である *cagA* 遺伝子を保有していたことを明らかにした。同時に住民の生活環境(生活用水、生野菜、ペットや野生動物の糞便)を解析したが、ピロリ菌は検出されなかった。一方で質問紙調査の結果からは、動物、特にイヌに接触していた参加者の割合が *glmM* 遺伝子陽性群では陰性群と比較して優位に高い ($p < 0.05$) 状況にあった。さらに、有意差は見られなかったが、*glmM* 遺伝子陽性群では陰性群と比較して日常生活において水道水以外の水源を生活に使用していた参加者の割合が高い状況にあった (J Infect Public Health 14: 271-5, 2021)。

これらのことから感染源特定のためには *cagA* 遺伝子陽性株の蔓延実態も含め、ヒトとヒトが容易に接触可能なイヌを中心とした動物や水源等をはじめとする生活環境の調査が必要である。

2. 研究の目的

本研究では、ヒトやヒトが容易に接触可能な生活環境へのピロリ菌の蔓延実態を明らかにすることにより、ピロリ菌の感染源を追究し、包括的な視点から感染予防策を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

ピロリ菌の感染源を明らかにするため、日常生活環境のなかでもヒトが容易に接触可能な井戸・川・沢・湖・池等から採取した環境水(500ml)と公園等において採取したイヌの糞便を検体として用いた。ピロリ菌の検出には、培養法と遺伝子検査法(PCR法)を用いた。

ピロリ菌の培養は、37度の微好気環境下でヘリコバクター寒天培地を用いて行った。遺伝子検査法では、各検体から抽出したDNAに対してPCR法を用い、ピロリ菌が保有する *glmM* 遺伝子と病原遺伝子である *cagA* 遺伝子の増幅を行った後、増幅産物をDNAシーケンシングにより解析した。水検体については、0.45µmのフィルターを使用する過後、フィルターをBrucella Brothで洗浄し、Brothから直接抽出したDNAを遺伝子検査に用いた。イヌの糞便検体については、キットを使用して抽出した細菌DNAを遺伝子解析に用いた。

さらに、湖・沢・川から採取した水3検体については、ヘリコバクター寒天培地に加えてDHL寒天培地において培養を行い、分離された細菌を質量分析装置(TOF-MS)にて解析した。イヌの糞便検体から抽出されたDNAに対しては *Helicobacter* 16S ribosomal RNA 遺伝子の増幅も行い、増幅産物をDNAシーケンシングにより解析した。

4. 研究成果

井戸・川・沢・湖・池等から採取した環境水29検体と公園等において採取したイヌの糞便11検体の合計40検体を対象とした。

遺伝子検査の結果、環境水およびイヌの糞便検体40検体からはピロリ菌が保有する *glmM* 遺伝子と *cagA* 遺伝子は検出されなかった。

イヌの糞便検体から抽出した細菌DNAに対する *Helicobacter* 16S ribosomal RNA 遺伝子のシーケンス解析の結果、11検体中3検体から *Helicobacter canis* が検出された。また、湖・沢・川から採取した水3検体から分離した細菌を解析した結果、*Pseudomonas* 属; *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa* 等や *Aeromonas hydrophila*, *Rahnella aquatilis* 等が検出された。

国内外における研究において、イヌや水検体からピロリ菌が検出されているが、今回解析した生活環境検体からは培養法、遺伝子検査法共にピロリ菌は検出されなかった。

一方で、イヌの糞便検体からピロリ菌と同属のヘリコバクター属遺伝子である *Helicobacter canis* が検出された。 *Helicobacter canis* はイヌやヒツジから検出されており、ヒトにも感染して (Vector Borne Zoonotic Dis. 16: 650-3, 2016) 菌血症の原因菌となる。ピロリ菌の宿主は

ヒト、ネコ、サルに限定されると考えられてきたが、イヌと飼い主間でのピロリ菌伝播の可能性を示唆した報告もある (Helicobacter 26: e1279, 2021)。以上より、ヒトと飼い犬に着目し、ピロリ菌を含む *Helicobacter* 属について人獣共通感染症の観点から更なる調査・解析が必要だと考えた。

<引用文献>

Horiuchi S, Nakano R, Nakano A, Hishiya N, Uno K, Suzuki Y, Kakuta N, Kakuta R, Tsubaki K, Jojima N, Yano H. Prevalence of *Helicobacter pylori* among residents and their environments in the Nara prefecture, Japan. J Infect Public Health. 14(2), 2021, 271-275.

Kubota-Aizawa S, Matsubara Y, Kanemoto H, Mimuro H, Uchida K, Chambers J, Tsuboi M, Ohno K, Fukushima K, Kato N, Yotsuyanagi H, Tsujimoto H. Transmission of *Helicobacter pylori* between a human and two dogs: A case report. Helicobacter. 26(3), 2021, e12798.

Sabry MA, Abdel-Moein KA, Seleem A. Evidence of Zoonotic Transmission of *Helicobacter canis* Between Sheep and Human Contacts. Vector Borne Zoonotic Dis. 2016 16(10),2016, 650-3.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Saori Horiuchi, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Naokuni Hishiya, Kenji Uno, Yuki Suzuki, Naoki Kakuta, Risako Kakuta, Kohsuke Tsubaki, Noriko Jojima, Hisakazu Yano
2. 発表標題 Molecular epidemiology of Helicobacter pylori among residents and their environments in areas with high gastric cancer morbidity in Japan
3. 学会等名 The 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2021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
研究協力者	矢野 寿一 (Yano Hisakazu)		
研究協力者	中野 竜一 (Nakano Ryuichi)		
研究協力者	中野 章代 (Nakano Akiyo)		
研究協力者	鈴木 由希 (Suzuki Yuki)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	城島 哲子 (Jojima Noriko)		

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