

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 14 日現在

機関番号：43107

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590720

研究課題名（和文）ヘリコバクター・ピロリ初感染時期の実態調査と口腔内ケアによる感染
予防対策

研究課題名（英文）Primary Infection with *Helicobacter pylori* in Japanese Kindergarten
Children

研究代表者

柴崎 浩一（SHIBASAKI KOICHI）

日本歯科大学新潟短期大学・学長

研究者番号：30018882

研究成果の概要（和文）：

*H. pylori*の初感染時期を推測する目的で、園児とその両親を対象に唾液中の*H. pylori* DNAの検出を行った。園児の*H. pylori* DNA検出率は年齢とともに上昇する傾向がみられ、4歳児と5歳児の間で有意に上昇していた。*H. pylori*陽性であった園児の母親の*H. pylori*陽性率は陰性児の母親の陽性率に比し有意に高率であった。これらは園児における初感染は3歳未満で起こっており、4-5歳間でも感染の危険性が高いことを示している。さらに、*H. pylori*陽性児の母親の陽性率が高かったことは母親から園児への感染が最も重要であることを示している。

研究成果の概要（英文）：

For the purpose of estimating the timing of primary infections by *H. pylori*, *H. pylori* DNA in saliva of kindergartners and their parent was detected. An infection rate of *H. pylori* tended to go up with age, and was significantly different between 4- and 5-years-old. Furthermore, *H. pylori*-positivity rates for the mothers of children who were *H. pylori*-positive were significantly higher than the mothers of *H. pylori*-negative children. These findings support the notion that primary infection occurs in children under 3 years of age, and the risk of *H. pylori* infection may be high in the children at 4-5 years. In addition, the fact that rates of *H. pylori* positivity are high in the mothers of *H. pylori*-positive children suggests that infection to a child from a mother is the most important factor.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学、公衆衛生学・健康科学

キーワード：感染症・ピロリ菌 (*H. pylori*) ・口腔衛生・幼児

1. 研究開始当初の背景

1983年にヘリコバクター・ピロ (*H. pylori*) が発見され、慢性胃炎や胃・十二指腸潰瘍の成因に大きく関与していることが報告された (Warren JR and Marshall BJ: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1: 1273-1275, 1983)。さらにその後の広範な疫学的研究により、胃癌や低分化型胃 MALT リンパ腫の発生にも深く関与していることが明らかにされ、胃疾患の多くは *H. pylori* 感染症として扱われる新しい時代に入ったといえる。

H. pylori 感染と胃炎や胃潰瘍の発生機序に関する基礎的研究も成果をあげており、臨床面ではプロトンポンプ阻害剤に2種類の抗生剤を加えた3剤併用の一次除菌療法で、除菌率は約80%とされている。さらに、一次除菌不成功でクラリスロマイシン耐性と考えられる患者には、2007年8月からクラリスロマイシンに換えてメトロニダゾールを加えた二次除菌療法が保険適応になり、これにより約90%の患者が除菌できるようになった。しかし、感染予防に関する予防医学的見地からの研究は少ない。わが国における *H. pylori* の感染率は40歳以上の人で70-80%、小児でも10%前後と報告されているが、幼小児における初感染時期についての詳細な報告は少ない。我々は、これまでに幼小児における *H. pylori* 感染の有無は唾液中の *H. pylori* DNA の検出によって可能であり、

唾液中の *H. pylori* DNA は胃内の *H. pylori* DNA と同じサブタイプであることを報告してきた。この手法を用い、幼小児 (平均年齢8.4歳)、92例を対象に *H. pylori* 感染の実態を調査した結果、12%がすでに *H. pylori* に感染していることが明らかとなり、さらに感染児およびその両親の唾液中の *H. pylori* DNA のサブタイプをPCR-RFLP法で検討した結果、母親と児が同じサブタイプを示したものが約60%、父親と同じであったものが約20%であったことから、幼小児期における *H. pylori* の初感染は母親からが最も多いことを報告してきた (杉浦宏樹、山口 晃、柴崎浩一：小児における *Helicobacter pylori* DNA の検出からみた感染経路の検討. 日科誌 55: 108-112, 2006)。

この結果は児との接触時間の長さ依存性のもと考えられ、日常生活において母親から児に口移しで食物を与えることによる口-口感染の可能性を強く示唆するものである。したがって幼小児期においては両親からの口移しによる食物の投与を避けるとともに、幼小児の食後の歯磨きやうがいなどの口腔内清掃 (口腔ケア) が最も効果的な感染予防対策になると考えた。そのためには、歯磨剤や含嗽剤の *H. pylori* 感受性を検討し、有効な口腔ケアの方法を確立する必要がある。しかし、これまでに日常用いられている歯磨剤や含嗽剤について *H. pylori* 感受性を検討した研究はない。我々はこの点に着目し、数種の含嗽剤について

H. pylori 感受性を *in vitro* で検討し、その成績を報告してきた (山脇 敏裕、山口 晃、柴崎浩一: 各種含嗽剤による *Helicobacter pylori* の発育阻止効果に関する研究. 日口診誌, 33-39, 2008)。

2. 研究の目的

H. pylori が発見されて以来、胃炎、消化性潰瘍、胃癌に至る多くの胃疾患は *H. pylori* 感染症であると考えられるようになってきた。しかし、感染予防に関する研究は少ない。乳幼児期において *H. pylori* 感染を予防できれば、わが国の胃癌の罹患率を低下させることも可能と考えられる。今回の研究の目的は2つある。第1は保育園や幼稚園などに通う3歳児から6歳児までの幼小児を対象に、3年間のコホート研究を行い感染時期を明らかにするとともに、*H. pylori* 陽性の児については、その両親の *H. pylori* 感染の有無を検討し、感染経路を推定すること。第2は感染源となる母親または父親と児に対して口腔ケアの重要性を啓蒙し、励行させることによって *H. pylori* 感染を予防することである。口腔ケアは食後の含嗽やブラッシングを徹底することとし、両親から口移しに食べ物を与えることを極力禁止した。

3. 研究の方法

倫理委員会の承認を得た上で、3歳児から6歳児までの幼小児が通う保育園や幼稚園をコホートとして選び、十分なインフォームドコンセントを行った後、ロールワッテを用いて児から混合唾液を採取し、PCR法によって *H. pylori* DNA を検出し感染状況を検討するとともに、3年間の追跡研究により初感染の時期および各年齢層の感染率を推定した。次に、*H. pylori* 感染を予防するためには口腔内清掃が重要であることを児と両親、施設の職員などに啓蒙し、食後の含嗽やブラッシングを励行させることによって年間感染率を減少させるか否かについても検討した。

コホートとして抽出したのは、新潟市内にある1か所の私立保育園と2か所の私立幼稚園、計3施設である。園の職員、園児ならびに主として母親に研究内容について十分に説明した上で、賛同

を得た園児ならびに両親から唾液の採取を行った。各年齢層の園児およびその両親からロールワッテを用いて混合唾液を採取し、シリンジで圧搾して試験管に取り、測定まで -80°C で保存した。個人情報については個人情報保護法にしたがって個人が特定されない方法を取り、厳重に管理した。

具体的には、採取した唾液サンプルをreal-time PCR法を用いて *H. pylori* DNA を検出し、*H. pylori* の感染状況を検討するとともに、各年齢層の園児ならびにその両親における *H. pylori* の年次的感染率を算出した後、1年目から3年目までの研究結果に基づいて3年間の総括を行った。

園児およびその両親、さらに保母さんをはじめとする施設の職員に対し、*H. pylori* 菌感染の臨床的意義および感染予防としての口腔内ケアの重要性を説明し、食後の含嗽やブラッシングを徹底させるとともに、両親からの口移しによる食べ物の投与禁止と、口腔衛生の徹底が *H. pylori* 感染率を減少させ得たか否かについても3年間の総括を行った。

4. 研究成果

(1) 1年目の成果

園児174名、その母親129名、父親119名から唾液を採取した。DNAの抽出は $100\mu\text{l}$ の唾液を用いてQIA amp DNA Mini kitで行った。抽出したDNAをreal time PCRを用いて増幅し、Taqman methodで *H. pylori* DNA の同定を行い陽性であったものを感染者とした。園児の *H. pylori* DNA 感染率は3歳児で5.4%(2/37)、4歳児で6.3%(6/95)、5歳児で7.1%(3/42)、6歳児で8.3%(1/12)であり、年齢とともに上昇傾向を示したが、有意差はなかった。園児の母親の *H. pylori* 感染率は、20歳代で28.6%(2/7)、30歳代で20.2%(17/84)、40歳代で15.6%(6/38)であり、各年代間で有意差は見られなかった。一方、父親の *H. pylori* DNA 感染率は、20歳代0%(0/3)、30歳代8.5%(6/71)、40歳代6.7%(3/45)であり、各年代間で有意差は見られなかった。これらの結果を詳細に検討すると、*H. pylori* DNA が陽性であった園児11名中

5名(45.5%)で母親のみが*H. pylori* DNAが陽性であり、父親のみが陽性であったものは1名で、両親ともに陽性であった者はいなかった。このことから*H. pylori* DNAが陽性であった園児11例中6例(54.5%)で両親のいずれかが*H. pylori* DNAが陽性であることが確認された。さらに、*H. pylori* DNAが陽性であった園児11名の母親の45.5%(5名)が*H. pylori* DNA陽性であったのに対し、陰性の園児118名の母親は16.9%(20名)と低く、両群間で有意差を認めた($p < 0.05$)。

(2) 2年目の成果

園児232名、その母親209名、父親165名から唾液を採取した。*H. pylori* DNAの検出は前回と同様にQIA amp DNA Mini kitでDNAを抽出した後、real time PCRを用いて行った。園児の*H. pylori* DNA感染率は3歳児で2.8%(1/36)、4歳児で3.3%(3/90)、5歳児で11.4%(10/88)、6歳児で16.7%(3/18)であり、年齢とともに上昇する傾向がみられたが、とくに4歳児と5歳児の間で有意差を認めた($p < 0.05$)。園児の母親の*H. pylori* 感染率は、20歳代で16.7%(1/6)、30歳代で23.5%(35/149)、40歳代で11.5%(6/52)であり、各年代間で有意差は見られなかった。一方、父親の*H. pylori* DNA感染率は、20歳代0%(0/2)、30歳代8.4%(9/107)、40歳代7.5%(4/53)であり、各年代間で有意差はなかった。これらの結果を詳細に検討すると、*H. pylori* DNAが検出された園児14名中8名(57.1%)で母親のみが*H. pylori* DNAが陽性であり、父親のみ陽性であったものは2名(14.3%)、両親ともに陽性であったものが1名(7.1%)であった。このことから*H. pylori* DNAが陽性であった園児14例中11例(78.6%)で両親のいずれかが*H. pylori* DNAが陽性であった。さらに、*H. pylori* DNAが陽性であった園児14名の母親の64.3%(9名)が*H. pylori* DNA陽性であったのに対し、陰性の園児195名の母親は17.4%(34名)と低く、両群間に明らかな有意差を認めた($p < 0.01$)。

(3) 3年目の成果

園児258名、その母親243名、父親201名から唾液を採取した。園児の*H. pylori* DNA感染率は3歳児で6.7%(2/30)、4歳児で5.2%(5/96)、5歳児で8.4%(8/95)、6歳児で8.7%(2/23)であった。昨年までと異なり年齢とともに上昇する傾向はみられず、昨年みられた4歳児と5歳児の間での陽性率の差もみられなかった。一方、園児の母親の*H. pylori* 感染率は、20歳代で0%(0/5)、30歳代で8.7%(15/173)、40歳代で4.6%(3/65)であり、昨年に比し各年代で低率であった。一方、父親の*H. pylori* DNA感染率は、20歳代0%(0/1)、30歳代12.0%(14/117)、40歳代5.4%(4/74)、50歳以上11.1%(1/9)であり、30歳代で有意に高い陽性率を示した($p < 0.05$)。これらの結果を詳細に検討すると、*H. pylori* DNAが検出された園児17名中4名(23.5%)で母親のみが*H. pylori* DNAが陽性であり、父親のみ陽性であったものが5名(29.4%)で昨年より高率であった。また、両親ともに陽性であったものが1名(5.9%)であり、このことから*H. pylori* DNAが陽性であった園児17例中10例(58.8%)で両親のいずれかが*H. pylori* DNAが陽性であった。13名の母親の23.1%(3名)が*H. pylori* DNA陽性であったのに対し、陰性の園児250名の母親は6.4%(16名)と低く、両群間に明らかな有意差を認めた($p < 0.01$)。

(4) 4年間の総括

3年間に3つのコホートから唾液を採取した園児、母親、父親の延べ人数は、園児664名、母親581名、父親485名である。園児の各年齢層における陽性率は、3歳児で4.9%(5/103)、4歳児で5.0%(14/281)、5歳児で9.3%(21/225)、6歳児で8.7%(2/23)であり、年齢とともに上昇する傾向はみられなかったが、4歳児と5歳児の間で陽性率が上昇する傾向を認めた。母親の*H. pylori* 感染率は、20歳代で16.7%(3/18)、30歳代で16.2%(67/414)、40歳代で9.6%(15/156)であり、各年齢層間に有意差は認められなかった。父親の

H. pylori DNA 感染率は、20 歳代 0% (0/5)、30 歳代 9.7%(29/299)、40 歳代 6.3%(11/176)、50 歳以上 7.7%(1/13)であり、ここでも各年齢層間で有意差は見られなかった。

これらの結果を詳細に検討すると、*H. pylori* DNA が検出された園児 42 名中 17 名 (40.5%) で母親のみが *H. pylori* DNA が陽性であり、父親のみ陽性であったものが 8 名 (19.0%)、両親ともに陽性であったものが 2 名 (4.8%) であった。このことから *H. pylori* DNA が陽性であった園児 42 例中 27 例(64.3%)で両親のいずれかが *H. pylori* DNA が陽性であった。なお、両親の *H. pylori* 陽性率は全体では、母親 14.6% (86/590)、父親が 8.3% (41/493) で母親が有意に高かった ($p < 0.01$)。さらに、*H. pylori* DNA が陽性であった園児の母親の *H. pylori* DNA 陽性率は、陰性の園児の母親に比し明らかに高率 ($p < 0.01$) であったことから、乳幼児期の児への *H. pylori* 感染は母親を介した感染経路が主であると考えられた。

(5) 考案ならびに結語

3 歳児ですでに 4.9%が *H. pylori* DNA が陽性であったことから、*H. pylori* 感染は生後早い時期で成立するものと推測され、生後間もなくからの感染予防対策の必要性が示唆された。しかも、感染児の半数以上の母親が *H. pylori* 陽性者であったことは、接触時間の最も長い母から子への感染を強く示唆する事実であり、父親も含めた両親からの感染経路を可能な限り断つことが、感染防止の最も基本的な対策と考えられる。そのためには、口移しに児に食べ物を与えない、食後の含漱やブラッシングを徹底し口腔内を清潔に保つなど、口腔ケアについての啓蒙活動を広げていく必要がある。4 歳児から 5 歳児で感染率が上昇する傾向がみられた意義については、今後さらに検討する必要があるが、この頃になると活動の場が家庭内に留まらず、近所の子供たちや保育園・幼稚園などにも広がっていくことから、家庭以外での感染の危険性が高くなることは容易に考えられる。今後は研

究対象をさらに広げ詳細な感染経路を解明する必要がある。次に、母親の *H. pylori* 感染率が父親に比し有意に高かったが、一般的に *H. pylori* 感染率に性差はないといわれている。本研究では、唾液採取が朝の起床時でうがいや歯磨きをする前の 2 分間を原則としていたため、多忙な父親からは十分な唾液採取が困難であった可能性などが考えられるが詳細な理由については不明である。本研究で最も問題となる点は、個人情報保護の観点から、施設名や対象者を番号化し匿名化したため、特定検体の追跡調査を行うことが出来ず、各年度における受検者の詳細が把握できなかったことである。したがって、1 年目のデータはそのまま信頼のおける結果であるが、2 年目以降に関しては、新規の受診者か再受診者かの特定ができず、データがダブって取り扱われている可能性がある。いろいろな情報から可能な限り個人を特定しようと試みたが、約半数しか把握できなかった。今後は何らかの形で個々の対象者を特定できるよう、検体の採取法や匿名化の方法を検討する必要がある。したがって、今回の研究結果からは、口腔衛生の徹底が児の *H. pylori* 感染率を減少させたか否かについての結論を導き出すことはできなかった。しかし、何回か 3 つのコホートに足を運び、施設の職員、園児やその保護者などと話し合う機会が持てたことは、今後の保健衛生活動の輪を広げる意味でも重要な意義をもつ研究であった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 3 件)

- ①上田潤、五十嵐隆一、山口晃、佐野公人、永合徹也、柴崎浩一、Primary Infection with *Helicobacter pylori* in Japanese Kindergarten Children、日中歯科医学大会 2012、2012 年 4 月 27 日、中国 成都
- ②J. Ueda, R. Ikarashi, T. Kitagawa, A. Yamaguchi, K. Shibasaki、Primary Infection with *Helicobacter pylori* in Japanese Kindergarten Children、88th General Session&Exhibition of the IADR、2010 年 7 月 16 日、Barcelona, Spain
- ③上田潤、五十嵐隆一、北川哲太郎、山口晃、

柴崎浩一、幼稚園児を用いたヘリコバクター・ピロリ初感染時期に関する研究、第 64 回日本口腔科学会学術集会、2010 年 6 月 24 日、札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴崎 浩一 (SHIBASAKI KOICHI)
日本歯科大学新潟短期大学・学長
研究者番号：30018882

(2) 研究分担者

渡辺 卓也 (WATANABE TAKUYA)
日本歯科大学新潟生命歯学部・准教授
研究者番号：00440066
(H22→H23：連携研究者)

長谷川 勝彦 (HASEGAWA KATSUHIKO)
日本歯科大学新潟生命歯学部・准教授
研究者番号：60328870
(H22→H23：連携研究者)

山脇 敏裕 (YAMAWAKI TOSHIHIRO)
日本歯科大学新潟生命歯学部・助教
研究者番号：00508492
(H22→退職のため分担者から外す)

(3) 連携研究者

()
研究者番号：