

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11839

研究課題名(和文) H.pylori菌体成分の口腔粘膜炎症誘導機構と胃癌患者の口腔内細菌叢変化

研究課題名(英文) Oral mucosal inflammation induction mechanism of H. pylori bacterial components and oral microflora change in gastric cancer patients

研究代表者

西 裕美 (Nishi, Hiromi)

広島大学・病院(歯)・助教

研究者番号：70403558

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：H. pyloriに対する口腔粘膜の感染免疫応答機構の解明とH. pylori感染胃癌患者における胃粘膜病原菌、口腔常在菌が各々の粘膜に及ぼす影響を明らかにした。今回、申請者らは、口腔粘膜上皮細胞をH. pylori LPSで刺激すると、大腸菌 LPS刺激とは異なる炎症性関連遺伝子が誘導されることを発見した。さらに、胃癌患者の手術前後における唾液サンプルと胃粘膜組織から採取した検体をH. pylori 口腔内血清陽性群、口腔内血清陰性群に分類し、年齢、性別の類似する群を抽出、16Sr RNA アレイにて口腔内細菌叢と胃粘膜細菌叢を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年口腔内細菌叢の変化と消化器癌の関与が報告されるようになった。しかし、口腔内細菌叢に対するH. pylori感染の影響や胃粘膜細菌叢に対する口腔内細菌叢の関与を示す報告は国内外でもない。口腔粘膜におけるH. pyloriの感染免疫応答機構の解明と、H. pylori感染胃癌患者における口腔内細菌叢、胃粘膜細菌叢を解析することによって、胃粘膜病原菌、口腔常在菌がそれぞれの粘膜に及ぼす影響を明らかにし、口腔感染症や胃癌の新しい検査法を検討する事は、大変意義深い。

研究成果の概要(英文)：We elucidated the mechanism of the immune response of oral mucosa to H. pylori and clarified the effects of gastric mucosa pathogens and oral indigenous bacteria on each mucosa in H. pylori-infected gastric cancer patients. Here, we found that stimulation of oral mucosal epithelial cells with H. pylori LPS induces inflammatory-related genes that are different from E. coli LPS stimulation. Furthermore, the saliva samples of gastric cancer patients before and after surgery and samples collected from gastric mucosal tissues were classified into H. pylori oral serum positive group and oral serum negative group, and groups similar in age and sex were extracted. The flora and gastric mucosal flora were analyzed.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔内細菌叢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、口腔内環境と全身疾患の関連を示す報告から、医歯連携に伴う治療支援が推進されるようになった。申請者らは当大学病院消化器外科における胃癌患者の口腔環境リスク評価を行った結果、健常者に比較して、胃癌患者の歯周病罹患率が高かったことを報告している(第38回広島感染症研究会,11/7,2015,広島)。興味深いことに、その結果の中で胃癌患者の中でも歯周病罹患患者には *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の感染率が高いことを発見した。*H. pylori* は胃粘膜に生息するグラム陰性らせん桿菌であるが、胃粘膜に炎症を惹起し、胃潰瘍や胃癌の発症に関係していることが知られている。*H. pylori* は胃粘膜だけでなく、歯垢、唾液からも検出されている。以前申請者らはグラム陰性菌外膜構成成分であるリポポリサッカライド (LPS) が口腔粘膜上皮細胞の TLR4 を介して IL-8 などの炎症性サイトカインを誘導することを報告しているが、今回の予備実験において *H. pylori* LPS を口腔粘膜上皮細胞に添加した際に、大腸菌 LPS とは異なった炎症関連遺伝子を誘導することを発見した。*H. pylori* の LPS は通常のグラム陰性菌 LPS とは異なった免疫応答を歯肉、口腔粘膜に誘導することで、口腔内環境を変化させている可能性がある。しかしながら *H. pylori* が歯肉、口腔粘膜に及ぼす影響は国内外でも報告されていない。

一方、近年口腔内細菌叢の変化と消化器癌の関与が報告されるようになった。Farrell らは膵臓癌患者の唾液で 16sRNA 次世代シーケンスを行ったところ、膵臓癌患者と健常人では常在細菌叢が異なり、膵臓癌患者から特定の歯周病原細菌が有意に検出されたことを報告している。しかし彼らの結果では、口腔内細菌叢が消化器癌の病因に影響するのか、消化器癌が口腔内環境を変化させるかは分かっていない。

申請者らは興味深いことに、胃癌患者の血清から歯周病原菌 5 菌種の抗体価を測定した結果、*H. pylori* に感染している患者は非感染者と比較して歯周病原菌抗体価の陽性率が高い結果を予備実験で得ている。これらの結果から申請者らは、*H. pylori* 等の胃粘膜病原菌が口腔内細菌叢の変化や歯周感染の悪化に影響している可能性、あるいは歯周病原菌等の口腔内細菌が *H. pylori* を伴う消化管の悪性病変や炎症性病変の増悪に関与している可能性を考えている。口腔内細菌叢に対する *H. pylori* 感染の影響や胃粘膜細菌叢に対する口腔内細菌叢の関与を示す報告は国内外でもない。

2. 研究の目的

今回の計画は、口腔粘膜における *H. pylori* の感染免疫応答機構の解明と、*H. pylori* 感染胃癌患者における口腔内細菌叢、胃粘膜細菌叢を解析することによって、胃粘膜病原菌、口腔常在菌がそれぞれの粘膜に及ぼす影響を明らかにし、口腔感染症や胃癌の新しい検査法を検討する事である。

3. 研究の方法

1) 研究に用いた細胞

細胞は hTERT 遺伝子を導入することによって不死化させた口腔粘膜上皮細胞 RT7 を用いた。表皮角化基本培地で培養を行った。

2) 研究方法

消化器外科で胃癌により手術、もしくは化学療法を行った患者のピロリ菌に対する血清 IgG 抗体価、および歯周病原菌 3 菌種 5 菌体 (Pi26511, PgHW24D1, PgSU63, Pg381, Td) に対する血清 IgG 抗体価を ELISA 法により測定した。

また、口腔粘膜上皮細胞におけるピロリ菌 LPS 刺激による炎症応答性遺伝子，蛋白の発現を，Real time PCR 法，ELISA 法にて検討した。

4．研究成果

胃癌患者の中でも歯周病罹患者は *H. pylori* の感染率が高いこと，また *H. pylori* を有する患者は歯周原菌抗体価陽性率が有意に高いことを発見した。これらの結果から *H. pylori* を有する患者は胃粘膜だけでなく，口腔常在菌叢が変化している可能性が示唆された。

また、口腔粘膜上皮細胞を *H. pylori* LPS で刺激すると，大腸菌 LPS 刺激とは異なる炎症性関連遺伝子が誘導されることを発見した。本研究によって，口腔粘膜に対して *H. pylori* 細胞壁構成成分が，歯周病原菌や *C. albicans* など真菌とは異なった免疫応答を示す可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishida Y, Ohta K, Naruse T, Kato H, Fukui A, Shigeishi H, Nishi H, Tobiume K, Takechi M.	4. 巻 86
2. 論文標題 Candida albicans -glucan-containing particles increase H0-1 expression in oral keratinocytes via ROS/p38MAPK/Nrf2 pathway.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Infection and Immunity	6. 最初と最後の頁 1.2
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/IAI.00575-17	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 5件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西 裕美、太田耕司、重石英生、新谷智章、大林泰二、栗原英見、河口浩之
2. 発表標題 脳卒中患者の3か月後転帰に影響する口腔内細菌
3. 学会等名 第15回日本口腔ケア学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西 裕美、太田耕司、重石英生、新谷智章、大林泰二、栗原英見、河口浩之
2. 発表標題 Fusobacterium に対する血清抗体価は脳卒中患者の転帰予測因子となり得る
3. 学会等名 第28回日本口腔内科学会・第31回日本口腔診断学会合同学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西 裕美
2. 発表標題 「がん患者の合併症」～予防・治療に役立つ口腔アセスメント～
3. 学会等名 第10回 歯科・口腔外科インテンシブコース（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西 裕美
2. 発表標題 お口の健康で「脳卒中リスク減」～口から血管に拡散される細菌の話～
3. 学会等名 第15回広島脳卒中市民シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西 裕美
2. 発表標題 口腔管理の標準化にむけた口腔アセスメント
3. 学会等名 第32回日本環境感染学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西 裕美
2. 発表標題 治療支援に有効な口腔ケアと標準化を目指した取り組み
3. 学会等名 第49回日本動脈硬化学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西 裕美
2. 発表標題 歯科衛生士に求められる口腔管理の実際と今後
3. 学会等名 日本歯周病学会60周年記念京都大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 ICHG研究会 (波多江新平、栗原英見、佐和章弘、西 裕美)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 128
3. 書名 国際標準の感染予防対策 滅菌・消毒・洗浄ハンドブック：ICHG研究会編	

〔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
研究分担者	武知 正晃 (takechi masaaki) (00304535)	広島大学・医系科学研究科(歯)・准教授 (15401)	
研究分担者	太田 耕司 (ohta kouji) (20335681)	広島大学・医系科学研究科(歯)・教授 (15401)	
研究分担者	田邊 和照 (tanabe kazuaki) (40379847)	広島大学・医系科学研究科(保)・教授 (15401)	
研究分担者	久恒 順三 (hisatsune jyunzou) (40513180)	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・主任研究官 (82603)	