

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10657

研究課題名(和文) 胃内環境の変化が腸内細菌叢を介して糖代謝に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effect of Helicobacter pylori infection on the metabolism of glucose through modulating gut microbiota

研究代表者

下山 克 (Shimoyama, Tadashi)

弘前大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：50312492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：岩木健康増進プロジェクト健診受診者について種々の検討を行った。H. pylori感染者と非感染者、さらに感染者について胃粘膜高度萎縮者と非萎縮者の腸内細菌叢を比較検討し、H. pylori感染者と非感染者の比較では、門レベルで3、網で3、目で3、科で9、属では18種の存在率に有意差を認めた。また、新規の便中H. pylori抗原測定法である生物化学発光法を使用したBLEIA栄研H.ピロリの感染診断におけるBLEIAの診断精度を検討したところ、感度92.9%、特異度99.8%、陽性的中率97.5%、陰性的中率99.3%であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

H. pylori感染による腸内細菌の変化は、H. pylori感染者の中でも胃粘膜高度萎縮者で顕著であり、胃酸抑制剤のプロトンポンプ阻害剤の長期内服で増加するとされる細菌はいずれも割合が増加していた。H. pyloriによる腸内細菌叢の変化が除菌治療により変化するのかどうか検討する必要がある。

BLEIAはH. pyloriのカタラーゼを認識する複数のモノクローナル抗体を使用しており、高い精度で感染診断を行うことが可能である。BLEIAは全自動であり、測定が簡便であるため、検診でのH. pylori検査への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Several studies were conducted with subjects who participated Iwaki project health survey. In the analysis of gut microbiota, a significant increase in the relative abundance of several taxa was observed in gut microbiota of Japanese subjects with H. pylori infection. Among the subjects with severe atrophic gastritis, the increase in the genus Streptococcus is a remarkable characteristic. In the examination of a new H. pylori stool antigen test, BLEIA Eiken H. pylori antigen which uses bioluminescent enzyme immunoassay, the kit showed high accuracy. BLEIA can measure a large number of specimens in a fully automated manner, which is easier than EIA. BLEIA could be useful for H. pylori testing in health check-up. Serum anti-H. pylori antibodies based on latex-aggrigation method remains higher than cut-off values for more than several years after successful eradication.

研究分野：消化器内科

キーワード：Helicobacter pylori 腸内細菌叢 萎縮性胃炎 血清抗体

1. 研究開始当初の背景

H. pylori 感染による慢性胃炎は胃がん、消化性潰瘍などの疾患と密接な関連があり、我が国は世界で唯一全感染者に保険診療で除菌ができる国となった。一方で、*H. pylori* の除菌により体重の増加、糖質・脂質の代謝に変化が見られることが報告されてきた。しかし、*H. pylori* の除菌・胃粘膜萎縮などの胃内環境に関連するどのような腸内細菌叢の変化が糖質・脂質代謝に影響しているのかは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、日本人の *H. pylori* 感染者での胃粘膜萎縮の進展と除菌が腸内細菌叢にどのように影響するのか、胃内環境の変化によっておきるどのような腸内細菌叢の変化が脂質・糖質代謝に影響するのか、また胃・腸内細菌叢の変化はインスリン抵抗性に関連する因子に影響するのかどうかを明らかにすることであった。しかしながら Covid-19 のパンデミックにより、予定されていた標本数、検査項目の達成が得られなかったために、可能な範囲で既存の結果を用いながら、副次的な評価も行うこととなった。便中抗原測定法は内視鏡を必要としない非侵襲的検査法で、*H. pylori* 由来の抗原を直接検出することが特徴である。そのため診断精度は高く、我が国を含む世界中のガイドラインにおいて除菌判定に用いられるべき検査として推奨されている。2020 年に保険適用となった新規の国産キットとして生物発光酵素免疫測定法による BLEIA 栄研 *H.ピロリ* (以下 BLEIA ; 栄研化学) の診断精度についても検討した。

3. 研究の方法

弘前市岩木地区で行われた岩木健康増進プロジェクト健診の参加者を対象として *H. pylori* 感染者、非感染者の腸内細菌叢の *Lactobacillus* の割合を調べ、胃粘膜萎縮の影響についても検討した。*H. pylori* 感染者は、血清抗体 E-plate 10 U/ml 以上で便中抗原検査が陽性であるものとし、陰性者は、血清抗体 E-plate 3 U/ml 未満で便中抗原検査が陰性であるものとした。PG 値が PG I < 70 ng/ml かつ PG I/II < 3.0 を胃粘膜萎縮陽性とし、さらに PG I < 30 ng/ml かつ PG I/II < 2.0 を高度萎縮、それ以外を軽度萎縮とした。腸内細菌は、次世代シーケンサー Miseq を用い 16SrRNA 遺伝子塩基配列より便検体に由来する菌群の帰属を推定した。さらに、岩木健康増進プロジェクト健診 2017 年の参加者 1073 人を対象とし、制酸剤内服者 95 人、胃手術既往者 13 人、抗生剤内服者 41 人は除外した。2016 年に除菌を行った 25 例に対し、2015 年と 2017 年の腸内細菌叢の違いを比較した。腸内細菌に影響を与える因子である年齢、性別、BMI、喫煙歴、アルコール摂取量を傾向スコアにて調整し、腸内細菌の比較を行った。

2021 年の弘前市大規模健診に参加した 536 例 (男性 220 例、女性 316 例) を対象

とし、BLEIA の感度と特異度を検討した。PPI、P-CAB、抗生剤内服例、胃切除歴のある者は除外、除菌歴を確認し、E-plate‘栄研’H . ピロリ抗体 II (栄研 EIA、栄研化学) および血清ペプシノーゲン (PG) 濃度を測定し、BLEIA の結果と比較した。

血清亜鉛・銅濃度の関連を調べるために、2017 年の弘前市岩木健康増進プロジェクト健診受診者 1073 名を対象として、*H. pylori* 除菌成功者と *H. pylori* 感染に対する除菌治療を行っていない感染持続者で、亜鉛・銅の摂取量とともに比較検討した。血清の抗 *H. pylori*-IgG 抗体価 (E プレート) 及び亜鉛・銅濃度を測定し、便中 *H. pylori* 抗原をテストメイト EIA により測定した。過去に除菌歴があり、便中抗原が陰性の者を除菌成功者、過去に除菌歴がなく、便中抗原陽性かつ血清抗体価 10 U/mL 以上の場合に感染持続者とした。また、簡易型自記式食事歴法質問票に健診前 1 ヶ月間の食事を記入させ、1 日の亜鉛・銅摂取量を算出した。胃切除の既往のある者・PPI を内服している者は除外した。

4 . 研究成果

Lactobacillus の存在率は中央値で、*H. pylori* 陽性者 0.071%と陰性者 0.033%で陽性者に有意に高く ($p < 0.001$)、胃粘膜萎縮陽性者 0.125%と陰性者 0.033%で陽性者に有意に高く ($p < 0.001$)、高度萎縮者 0.384%と軽度萎縮者 0.067%で高度萎縮者に有意に高かった ($p < 0.001$)。 *Lactobacillus* の存在率は高度萎縮と萎縮無し、高度萎縮と軽度萎縮の比較において高度萎縮者に有意に高かった ($p < 0.001$)。 *Lactobacillus* の存在率と PGI 値とは有意な負の相関を認め ($p = 0.004$)、PG I/II 比も有意な負の相関を認めた ($p = 0.007$)。 *Lactobacillus* の属の割合は、*H. pylori* 感染者のうち胃粘膜高度萎縮者に有意に高く、PG I と負の相関を認めた。腸内細菌の *Lactobacillus* の存在率には、胃粘膜萎縮に伴う胃酸分泌低下が影響していると考えられた。

さらに、*H. pylori* 除菌による腸内細菌の変化を評価した。岩木健康増進プロジェクト健診 2017 年の参加者 1073 人を対象とし、制酸剤内服者 95 人、胃手術既往者 13 人、抗生剤内服者 41 人は除外した。2016 年に除菌を行った 25 例に対し、2015 年と 2017 年の腸内細菌叢の違いを比較した。腸内細菌に影響を与える因子である年齢、性別、BMI、喫煙歴、アルコール摂取量を傾向スコアにて調整し、腸内細菌の比較を行った。*H. pylori* 感染者は、血清抗体と便中抗原が共に陽性である者とした。未感染者は、血清抗体価が 3 U/mL 未満かつ便中抗原が陰性である者とした。胃粘膜萎縮は、血清 PG 値により、PG I < 70 ng/ml かつ PG I/II < 3.0 を胃粘膜萎縮、PG I < 30 ng/ml かつ PG I/II < 2.0 を高度萎縮とした。腸内細菌は、便検体について次世代シーケンサーを用い 16SrRNA 遺伝子塩基配列より菌群の帰属を推定した。除菌前後の比較では、Linear discriminant analysis で違いを認めたが、1%以上の存在率を示すものは存在しなかった。*H. pylori* 感染者、未感染者、除菌者では腸内細菌叢の違いを認めたものの、除菌による腸内細菌叢の分布には違いを認めなかった。

現感染者 (除菌歴なし、E-plate 10 U/mL 以上、PG I/II 4.0 未満) は 42 例 (男性 16 例、女性 26 例)、未感染者 (除菌歴なし、E-plate 3.0 U/mL 未満) は 174 例 (男性 69 例、女性 105 例)、除菌成功者 (除菌歴あり、E-plate 3.0 U/mL 未満) は 235 例 (男性 90 例、女性 145 例) だった。現感染者における BLEIA の陽性率は 92.9% (39/42) で

あり、未感染者ではすべての症例で BLEIA は陰性であった。除菌成功者のうち、BLEIA の陽性率は 0.43% (1/235) であった。現感染者 42 例、現感染なし (未感染 + 除菌成功者) 409 例では BLEIA の感度 92.9%、特異度 99.8%、陽性的中率 97.5%、陰性的中率 99.3% であった。BLEIA は *H. pylori* のカタラーゼを認識するモノクローナル抗体を複数使用することで感度を高めているが、今回の結果からも高い精度で感染診断を行うことが可能であった。今後、胃がん検診の対象が 50 歳以上限定的となった場合、若年者の *H. pylori* 感染診断と除菌を行う一次予防の必要性が高まると考えられる。その中で、BLEIA は感染者の抽出に有効な検査の一つである。

男女別・年代ごとで除菌成功者と感染持続者の血清亜鉛、銅濃度を比較検討した。1 日当たりの亜鉛・銅摂取量は、30~40 歳代で高齢者に比べて少ない傾向にあり、血中亜鉛・銅濃度も低い傾向にあったが、除菌成功者と感染持続者の間には有意差はなかった。一方、高齢男性において、1 日当たりの亜鉛摂取量には違いがないにもかかわらず、血清亜鉛濃度が除菌成功者では 82.9 ± 12.6 mg/dL であったのに対し、感染持続者では 68.1 ± 8.0 mg/dL であり有意差を認めた ($p < 0.05$)。高齢男性の結果から、胃粘膜萎縮が高度で *H. pylori* 感染が持続していると血清亜鉛濃度が低くなることが考えられた。*H. pylori* 除菌の有無にかかわらず、比較的若い世代においては亜鉛、銅の摂取が少ないことが血清亜鉛・銅濃度が低い傾向にある原因と思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kajihara Y, Shimoyama T, Mizuki I.	4. 巻 24
2. 論文標題 Evaluation of the effects of a proton pump inhibitor on Helicobacter pylori stool antigen testing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Helicobacter	6. 最初と最後の頁 e12961
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hel.12961.	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 下山 克	4. 巻 4
2. 論文標題 ピロリ菌感染診断Up date	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 消化器内科	6. 最初と最後の頁 12-18
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 飯野勢、珍田大輔、下山克	4. 巻 24
2. 論文標題 Helicobacter pylori感染と腸管内細菌叢	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本ヘリコバクター学会誌	6. 最初と最後の頁 145-150
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 下山克、安田耕平、工藤沙映、珍田大輔	4. 巻 25
2. 論文標題 Helicobacter pylori除菌療法Update 2.便中抗原測定法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Helicobacter Research	6. 最初と最後の頁 201-204
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 Iino C, Shimoyama T	4. 巻 27
2. 論文標題 Impact of Helicobacter pylori infection on gut microbiota	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 6224-6230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v27.i37.6224.	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 安田耕平、珍田大輔、下山克、三上達也、新井徹、工藤沙映、佐々木義雄、駒井一雄、澤田美彦、齋藤吉春、千葉博信、櫻庭裕丈、福田眞作	4. 巻 43
2. 論文標題 Helicobacter pylori除菌によるFD症状の改善と体重変化には除菌前の胃炎の程度が関連する	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 消化と吸収	6. 最初と最後の頁 165-169
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 下山克、飯野勢	4. 巻 34
2. 論文標題 胃がんと腸内細菌	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 腸内細菌学雑誌	6. 最初と最後の頁 159-163
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 秋田谷一輝、珍田大輔、下山克、新井徹、山居聖典、千葉大輔、安田耕平、工藤沙映、櫻庭裕丈、沢田かほり、中路重之、福田眞作	4. 巻 42
2. 論文標題 血清亜鉛および銅濃度に対し経口摂取量やHelicobacter pylori感染が与える影響についての検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 消化と吸収	6. 最初と最後の頁 208-213
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 Iino C, Shimoyama T, Chinda D, Nakagawa S, Satake R, Sakuraba H, Fukuda S, Nakaji S.	4. 巻 101
2. 論文標題 Influence of Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis on the gut microbiota in a Japanese population.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 422-432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000500634	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8件 (うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 下山 克
2. 発表標題 H. pylori 感染の非侵襲的検査における新規検査キットの位置づけ
3. 学会等名 第28回日本ヘリコバクター学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kohei Yasuda, Daisuke Chinda, Sae Kudo, Tadashi Shimoyama
2. 発表標題 Differences of serum antibody positivity measured by 4 different kits after H. pylori eradication
3. 学会等名 19th Kore-Japan Joint symposium on Helicobacter infection (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yasumitsu Araki, Norihiro Hanabata, Tadashi Shimoyama
2. 発表標題 Evaluation of seropositivity of E-plate and LZ-II in patients with successful H. pylori eradication according to the duration after eradication
3. 学会等名 第28回日本ヘリコバクター学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安田 耕平、珍田 大輔、工藤 沙映、櫻庭 裕丈、下山 克
2. 発表標題 生物化学発光法を用いた新規便中抗原測定キットと既存のEIA法を用いたキットとの相関
3. 学会等名 第18回日本消化管学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 下山克、珍田大輔、安田耕平、飯野勢、宮澤邦昭、福田眞作
2. 発表標題 種々の便中抗原測定キットによる診断精度と除菌判定の検討
3. 学会等名 日本ヘリコバクター学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 下山克、珍田大輔、三上達也
2. 発表標題 H. pylori除菌成功からの期間とEプレートとLZ-IIIによる血清抗H. pylori抗体価
3. 学会等名 日本消化器がん検診学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯野 勢、下山 克、珍田 大輔、福田 眞作
2. 発表標題 Helicobacter pylori感染による胃粘膜萎縮と胃手術が腸内細菌Streptococcusに与える影響
3. 学会等名 日本ヘリコバクター学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋田谷一輝、下山克、珍田大輔、新井徹、福田眞作
2. 発表標題 H. pylori感染胃炎の持続または改善と血中銅・亜鉛濃度の関連についての検討
3. 学会等名 日本消化吸収学会
4. 発表年 2019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
研究分担者	丹藤 雄介 (Tando Yusuke) (00332495)	弘前大学・保健学研究科・教授 (11101)	
研究分担者	中路 重之 (Nakaji Shigeyuki) (10192220)	弘前大学・医学研究科・特任教授 (11101)	
研究分担者	珍田 大輔 (Chinda Daisuke) (60637544)	弘前大学・医学部付属病院・准教授 (11101)	

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
---------	---------