

IINO C, SHIMOYAMA T, CHINDA D, ARAI T, CHIBA D, NAKAJI S, FUKUDA S. Infection of *Helicobacter pylori* and Atrophic Gastritis Influence *Lactobacillus* in Gut Microbiota in a Japanese Population. *Front Immunol*. 2018 Apr 6;9:712. doi: 10.3389/fimmu.2018.00712. eCollection 2018.

Helicobacter pylori 感染と胃粘膜萎縮が腸内細菌の *Lactobacillus* に与える影響について

弘前大学医学部附属病院 消化器内科, 血液内科, 膠原病内科 助教
弘前大学大学院医学研究科 消化器血液内科学講座
飯野 勢

【要旨】

緒言：乳酸菌である *Lactobacillus* は、腸内環境を整えるプロバイオティクスとして、広く認識され普及している。*Lactobacillus* は、プロトンポンプ阻害剤(PPI)の服用で腸内細菌叢での増加が報告されており、胃酸の抑制が影響していると考えられている。胃酸の抑制は、*Helicobacter pylori* 感染や、それに伴う胃粘膜萎縮でも惹起される。本研究では、大規模に健診受診者の腸内細菌の解析を行い、*H. pylori* 感染と、*Lactobacillus* の関連を明らかにした。

方法：岩木健康増進プロジェクト参加者の1123例を対象とし、胃手術や *H. pylori* 除菌の既往者は除外した。*H. pylori* 感染は便中抗原と血清抗体で、胃粘膜萎縮は Pepsinogen にて判定した。腸内細菌は次世代シーケンサーにて 16SrRNA 解析をした。

結果：全腸内細菌に対する *Lactobacillus* の相対割合は *H. pylori* 感染者において、高度胃粘膜萎縮者は、軽度萎縮者や非萎縮者に比べ有意に高値を認めた (0.591% vs 0.068%, 0.033%, $p < 0.001$)。また、*H. pylori* 非感染者と比べても有意に高値であった。腸内細菌叢は性別や年齢での違いが存在するため、*H. pylori* 非感染者において、年齢と性別での検討を行い、*Lactobacillus* の割合は同等であった。そのため *Lactobacillus* の割合の違いは胃酸分泌を反映する胃粘膜の萎縮によるものと考えられた。また、腸内細菌の種の検討では、*H. pylori* 感染者は非感染者に比べ、*Lactobacillus* 属の中でも、口腔内常在菌の *Lactobacillus salivarium* の占拠割合が高く、胃酸の関与が強く疑われた。

結論：腸内細菌の *Lactobacillus* は *H. pylori* 感染と、引き続き胃粘膜萎縮の影響を強く受ける。

【緒言】*Lactobacillus* はプロバイオティクスとして広く知られており、多くの発酵食品にも使用されている。また、多数の報告で、*Lactobacillus* 属の中の *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus GG* といった種が抗菌薬関連下痢症や *Clostridium difficile* 関連疾患の予防に効果があることが示されている。

最近の研究では、Proton pump inhibitor (PPI) の使用が、人の腸内細菌に影響を与え、*Lactobacillus* 属の増加にも関わっていることが、報告されている^{1,2)}。これは PPI による胃酸の抑制のために生じる影響と考えられている。胃酸の分泌は、*Helicobacter pylori* 感染やそれに引き続いて起こる胃粘膜の萎縮においても生じる。過去に *H. pylori* の除菌後の腸内細菌の変化の報告は存在するが *H. pylori* 感染と胃粘膜萎縮との腸内細菌の関連を調査した研究はほとんど存在しない。本研究では、*H. pylori* 感染とそれに引き続く胃粘膜萎縮の進展が、腸内細菌の中で、種としての *Lactobacillus* の総量と多様性に影響を与えているのかを、次世代シーケンサーを用いて評価した。

【方法】対象者：2014年の岩木健康増進プロジェクトの参加者の1123人を対象とした。その中で、過去に *H. pylori* の除菌を行っていた207人、胃の手術歴のある12人、PPI を服用していた20人を除外し、884人に

ついて解析を行った。

H. pylori 感染診断：H. pylori 抗体は E-plate で、H. pylori 便中抗原は Testmate EIA で、測定した。便中抗原陽性かつ血清抗体価 ≥ 10 U/mL を H. pylori 感染者とし、便中抗原陰性かつ血清抗体価 < 3 U/mL を H. pylori 非感染者とした。

胃粘膜萎縮の評価：血清 Pepsinogen I, II を胃粘膜の萎縮の指標として使用した。過去の報告に従い Pepsinogen I < 70 $\mu\text{g/L}$ かつ Pepsinogen I/II 比 < 3.0 を胃粘膜萎縮ありと定めた。その中で、Pepsinogen < 30 $\mu\text{g/L}$ かつ Pepsinogen I/II 比 < 2.0 を高度胃粘膜萎縮、それ以外を軽度胃粘膜萎縮者と定めた。

腸内細菌の解析：次世代シーケンサーの Illumina MiSeq system を使用し、16SrRNA 遺伝子の V3-V4 領域のシーケンシングを行い、腸内細菌の分類、同定を行った。個々の全菌量に対するそれぞれの菌の割合を、H. pylori 感染者と非感染者において比較を行った。

【結果】H. pylori 感染者は226人、非感染者は524人であった。Lactobacillus の存在率の中央値は、H. pylori 感染者で0.071 (IQR: 0.350)%, 非感染者で0.033 (0.143)%であった ($p < 0.001$) (Figure1)。H. pylori 感染者の中で、胃粘膜萎縮の陰性者は111人、軽度萎縮者は81人、高度萎縮者は34人であった。Lactobacillus の存在率は、高度萎縮者で軽度萎縮者や非萎縮者に比べ有意に高値を認めた [0.591 (IQR: 1.837)% vs 0.068 (0.258)%, 0.033 (0.205)% ; $p < 0.001$]。Lactobacillus の存在率は、軽度萎縮者、非萎縮者、H. pylori 非感染者で有意な違いを認めなかった。また、H. pylori 非感染者の中で、男性と女性での検討、各年代での検討において、Lactobacillus の存在率に大きな違いはなく、ほぼ同程度であった。

Lactobacillus の種についての検討では、Lactobacillus salivarius は、H. pylori 感染者で非感染者に比べ、高い割合を示した。一方、L. acidophilus は、H. pylori 感染者で非感染者に比べ、低い割合を示した (Figure2)。

【考察】本研究では、H. pylori 感染により腸内細菌の Lactobacillus の種の割合が変化していることが示された。高度胃粘膜萎縮者は、腸内細菌中の Lactobacillus の割合の上昇を認めた。また、腸内細菌中の Lactobacillus が、性別や年齢に影響を受けない事が示された。

ドイツでの除菌における腸内細菌の検討でも H. pylori 感染者では、Lactobacilli の増加を認めていたが、胃粘膜萎縮については調査されていなかった。本研究では、高度胃粘膜萎縮者で特に Lactobacillus の割合の増加を認める結果であった。従って、腸内細菌の Lactobacillus は、H. pylori 感染というより胃粘膜の萎縮に大きく影響されると考えられる。本研究で使用した Pepsinogen 法での胃粘膜萎縮の程度の評価は、胃酸の分泌と有意な相関があることが知られている。また、胃酸を抑制する PPI の使用が腸内細菌の Lactobacillus の増加に関わっていることから、高度胃粘膜萎縮による胃酸の減少が、Lactobacillus の増加に関わっていたと考えられる。

腸内細菌は年齢や、性別によって細菌叢の違いがあることが知られている。本研究では、これらの要因を除外するために H. pylori 非感染者で、評価を行った。H. pylori 感染者では、年齢や性別が萎縮の進展に大きな影響をあたえるため H. pylori 非感染者のみを対象とした。一般に、男性の胃粘膜萎縮の進行は、女性より若年で認められ、萎縮の程度は、H. pylori 感染期間である年齢に影響される。年齢や性別での影響を排除した検討で、Lactobacillus は年齢や性別による大きな影響は認めなかった。このことより、腸内細菌の Lactobacillus は年齢や性別より、胃粘膜の萎縮に強く影響をうけると考えられた。

胃酸の減少による腸内細菌の Lactobacillus の増加の原因の詳細は判明していない。本研究において、H. pylori 感染者は、腸内細菌叢の種レベルでは、Lactobacillus salivarius の割合の増加や L. acidophilus の割合の減少を認めた。H. pylori 感染者において、Lactobacillus の種の構成は、胃粘膜の萎縮の程度によらず、似通っていた。このことより、H. pylori 感染は初期においても、胃粘膜の萎縮進行の前に腸内細菌の Lactobacillus の種に影響を与えると考えられた。口腔内常在菌である L. salivarium の占拠割合が H. pylori 感染者で高いこと、酸性の環境下を好む L. acidophilus が胃酸分泌の正常な H. pylori 非感染者で多いこと

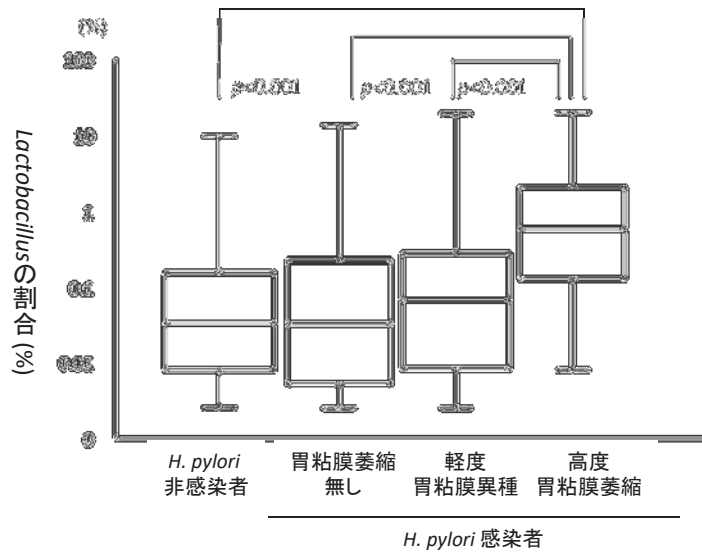


Figure 1 腸内細菌中の *Lactobacillus* の割合

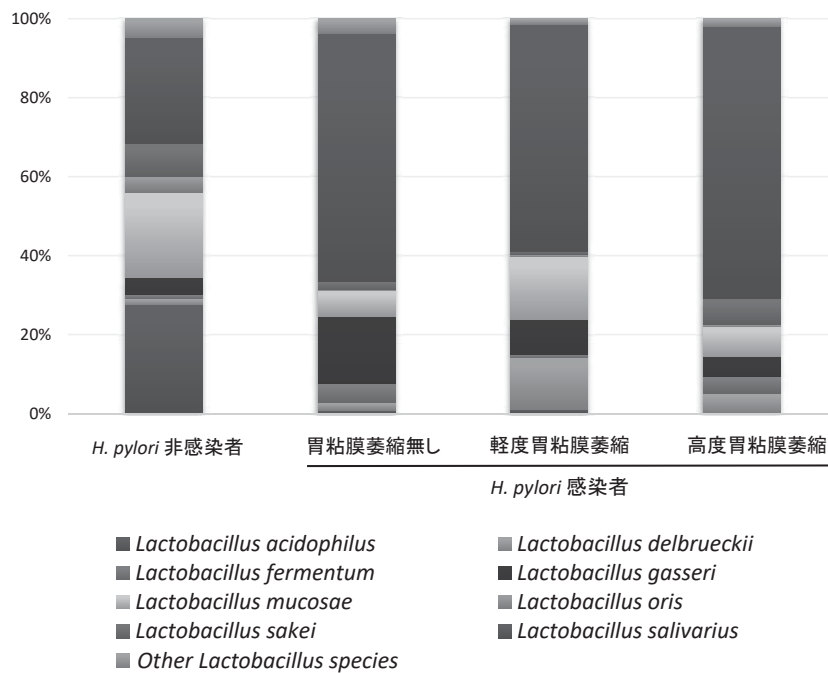


Figure 2 *Lactobacillus* の中の各種における割合

からも、胃酸が大きく関与していることが考えられる。

本研究には、いくつかの研究の限界が存在する。腸内感染を含めた、腸管内の慢性炎症の患者を除外していない。しかし、そのような病気の割合は少なく、参加者の数が非常に多いため、十分に影響はほぼないと考えられる。次に、胃酸のpHを測定する代わりに、PG IとPG I/II比を胃粘膜萎縮のマーカーとして使用したことが挙げられる。本研究は大規模調査であるために、個々の胃酸の産生と胃のpHを測定することはできなかった。しかし、血清PG値と胃酸の分泌は高い相関を認める事が報告されている。

結論として、*H. pylori* 感染と腸内細菌の *Lactobacillus* は関連を認めた。特に *Lactobacillus* の割合の増加は、胃粘膜萎縮の強い参加者に認められた。プロバイオティクスとしての *Lactobacillus* の効果は胃酸の減少と関連する *H. pylori* 感染とそれに引き続く胃粘膜萎縮に影響されると考えられる。

【参考文献】

- 1) Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, Fu J, Mujagic Z, Vork L, Tigchelaar EF, et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut*. 2016;65:740-8.
- 2) Jackson MA, Goodrich JK, Maxan ME, Freedberg DE, Abrams JA, Poole AC, Sutter JL, et al. Proton pump inhibitors alter the composition of the gut microbiota. *Gut*. 2016;65:749-56.