

学 位 論 文 題 名

口腔内における *Helicobacter pylori* の存在と
上部消化管の感染および歯周炎との関連

学位論文内容の要旨

緒 言

Helicobacter pylori (*H. pylori*) は強酸性状態の胃内より 1983 年に Marshall と Warren によりヒト胃粘膜から分離、同定されたグラム陰性の微好気性螺旋状細菌である。胃や十二指腸などの上部消化管に棲息し、長期間の感染により慢性胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、低悪性度胃 MALT リンパ腫、胃過形成性ポリープ、さらには胃癌などを誘発するといわれている。現在、*H. pylori* の除菌治療として胃酸分泌抑制剤に加えて 2 種の抗菌剤を投与する PPI-triple therapy が行なわれており、除菌に成功すると消化性潰瘍の再発はほとんどなくなると報告されているが、除菌治療後の再感染や除菌治療の不成功例の存在が問題となっている。近年、歯垢などの口腔内バイオフィルムから *H. pylori* が検出されたと報告されているが、プラークは細菌性バイオフィルムを形成することから抗菌剤が著効しがたいとされ、このプラーク中の *H. pylori* が胃へ感染したり、除菌治療後の再感染の原因のひとつとして関与する可能性が指摘されている。しかし一方、口腔内から *H. pylori* は検出されなかったとする報告もあり、未だ解明されていない。歯周病に罹患していると健康な口腔内と比較して、セルフプラークコントロールが難しい環境となり、バイオフィルムの存在部位が多くなるために *H. pylori* が棲息しやすい環境となっている可能性が考えられる。

本研究では、上部消化管の *H. pylori* 感染者と非感染者について歯周病の状態を把握したうえで、プラーク中 *H. pylori* 存在の有無を検索し、プラーク中 *H. pylori* の存在と胃内の *H. pylori* 感染および歯周炎との関連について検討した。

方 法

被験者は、北海道大学病院光学医療診療部通院中で、歯周組織検査で 4mm 以上の歯周ポケットを有する患者 77 名とした。胃内の *H. pylori* 感染の陽性は、胃生検検体による迅速ウレアーゼ試験、組織鏡検法、培養法および非侵襲法である C^{13} 尿素呼気試験のうち 2 つ以上の検査で陽性と判定されたものとした。これらをもとにして、胃内 *H. pylori* の陽性者は 38 名、陰性者は 39 名と区分された。さらに胃内 *H. pylori* 陽性者のうち、10 名に対しては除菌治療を行ない、2 ヶ月以上経過した後に、再度口腔内 *H. pylori* を検索し、治療前後の口腔内 *H. pylori* の存在を検索した。除菌治療は PPI である、ランソプラゾール 60mg/day と抗菌剤アモキシシリン 1500mg/day とクラリスロマイシン 4300mg/day を 1 週間投与する 3 剤併用療法で行なった。

臨床診査項目は、probing pocket depth, bleeding on probing (BOP), plaque index (PII), gingival index (GI) の 4 項目とした。口腔内バイオフィルムの採取部位は各被験者から 5 部位、すなわち最も深い歯周ポケット上下顎各 1 ヶ所、歯肉縁上部上下顎各 1 ヶ所および舌体中央部とした。歯周ポケット内部の縁下プラークは、歯周ポケット深さが上下顎各 1 ヶ所の最も深い部位に滅菌ペーパーポイントを用いて 1 分間歯周ポケットに挿入するとともに、滅菌ポケット探針にて歯周ポケット内部のプラークを可及的に掻きだして採取した。歯肉縁上プラークは上下顎各 1 ヶ所の歯肉辺縁から、歯肉縁下プラークを採取した歯を除外して滅菌ポケット探針にて採取した。舌体は舌背中央部より滅菌鍊成充填器にて採取した。採取したバイオフィルムは、それぞれ直ちに 1ml 滅菌生理食塩水に浸漬し、 -80°C で保存した。サンプルからの遺伝子の検出は、各サンプルから DNA 抽出キットである核酸抽出剤 SepaGene を用いて DNA を抽出後、16S rRNA の塩基配列に基づいたプライマーを用いて nestedPCR 法にて遺伝子を増幅し、1.5% アガロースゲル電気泳動で分離し、UV トランスイルミネーターにて検出した。口腔内 *H. pylori* の陽性は、採取した 5 ヶ所より少なくとも 1 ヶ所以上が検出された場合とした。なお、本研究にあたっては本学倫理委員会の承認を得て実施した。

結果・考察

口腔内の *H. pylori* は PCR 法により、全被験者の 26% から検出された。胃内陽性者では 12.9%、陰性者では 12.9% と胃内 *H. pylori* 陽性者と陰性者間での検出率に有意な差は認められなかった。また、胃内 *H. pylori* 陰性者では、非除菌者は 35.9% と除菌治療経験者では

20. 2%と両者間での検出率に有意な差は認められなかった。これより、胃内と口腔内に存在する *H. pylori* の有無の関連性は低いと考えられる。

口腔内 *H. pylori* の部位別の検出率に関しては、上下顎歯肉、縁上縁下、舌間に有意な差は認められなかった。

さらに、10名の胃内 *H. pylori* 陽性者に除菌治療をおこなったところ、胃内の *H. pylori* 検出率は10%に低下したが、口腔内の *H. pylori* 検出率は除菌治療前後では、いずれも20%と *H. pylori* 検出率に変化が認められなかったことより、胃の *H. pylori* 除菌治療は口腔内 *H. pylori* の存在に対して影響が少ない可能性が示唆された。歯周炎のパラメーターとの関連に関しては、口腔内の *H. pylori* の有無にかかわらず、GI と PII では有意な差は認められなかったことより、口腔内 *H. pylori* は歯肉縁上に付着するプラークの量や歯肉辺縁部の炎症とは関連が少ない可能性が示唆された。しかし、口腔内 *H. pylori* 陽性者では BOP 陽性のポケットを有する率および 5mm 以上のポケットを有する率が陰性者に比べて有意に高かったことから、口腔内 *H. pylori* 陽性者の方が、歯周炎の罹患程度が高い可能性が示唆された。また、口腔内 *H. pylori* が検出された歯周ポケットは 5mm 以上の深い部位や BOP 陽性のものが有意に多く認められた。このことから口腔内 *H. pylori* の存在は歯周炎罹患状態と関連している可能性が示唆された。これは、歯周ポケット内の細菌叢や歯肉縁下歯石、炎症反応などによって、*H. pylori* が存在しやすい環境になるためではないかと考えられる。

結 論

口腔内と胃内の *H. pylori* の存在の関連性は見出せなかった。口腔内における *H. pylori* の存在は、歯周炎罹患状態と関連する可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 浪 雅 光
副 査 教 授 柴 田 健一郎
副 査 教 授 鈴 木 邦 明
副 査 教 授 加 藤 元 嗣

学 位 論 文 題 名

口腔内における *Helicobacter pylori* の存在と 上部消化管の感染および歯周炎との関連

審査は主査、副査全員が一同に会して口頭で行った。はじめに申請者に対し本論文の要旨の説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

本研究では、抗菌剤が奏効しがたいとされるプラークなど口腔内バイオフィルム中の *Helicobacter pylori* が胃へ感染したり、除菌治療後の再感染源となっている可能性が考えられていることから、口腔内と胃や十二指腸など上部消化管内の *Helicobacter pylori* の存在の関連性を検索した。また、健康な口腔内と比較して、バイオフィルムの存在部位が多くなっていると考えられる歯周炎の罹患と口腔内の *Helicobacter pylori* との関連についても検索した。

被験者は北海道大学病院光学医療診療部に通院中で、上部消化管内 *Helicobacter pylori* 感染の検査により陽性と判定した 38 人、および陰性と判定した 39 人の計 77 人の患者とした。なお、上部消化管 *Helicobacter pylori* 陽性者のうちの 10 人はプロトンポンプインヒビターと 2 種の抗菌剤による除菌治療をおこなった後の口腔内の *Helicobacter pylori* の変化について追跡調査した。

被験者の口腔内を診査し、歯周病の臨床診査項目すなわち probing pocket depth、bleeding on probing、plaque index、gingival index にて歯周病の状態を記録した。その後各々被験者の最も深い歯周ポケット上下顎各 1 ケ所、歯肉縁上部上下顎各 1 ケ所、舌体中央部の 5 部位から口腔内バイオフィルムを採取した。

採取した口腔内バイオフィルムから、DNA を抽出し、*Helicobacter pylori* に特異的な 16SrRNA を標的としたプライマーを用いて、nested PCR 法にて遺伝子を増幅し、アガロースゲル電気泳動で分離し、UV トランスイルミネーターで分離、検出した。

その結果、口腔内 *Helicobacter pylori* の検出者率は全被験者の 26%であった。口腔内の *Helicobacter pylori* は上部消化管の *Helicobacter pylori* の存在の有無に関係なく同一の割合で認められた。また、除菌治療前後で追跡調査をおこなった 10 人に関しては、上部消化管内の *Helicobacter pylori* は減少したが、口腔内の *Helicobacter pylori* の検出率は変化が認められなかった。これらの結果から、口腔内に *Helicobacter pylori* が存在するが、口腔内と上部消化管内の *Helicobacter pylori* の存在の関連は低い可能性が示唆された。また、口腔内の *Helicobacter pylori* は probing pocket depth の深い部位や bleeding on probing 陽性部位でより多く検出されたことから、口腔内における *Helicobacter pylori* の存在は歯周炎罹患状態と関連する可能性が示唆された。

引き続き審査担当者と申請者の間で、論文内容および関連事項について質疑応答がなされた。

主な質問事項として、

- (1) *Helicobacter pylori* の好適環境について
 - (2) バイオフィルムの概念について
 - (3) 被験者の全身疾患の有無と種類について
 - (4) 胃 *Helicobacter pylori* の陽性判定の診断法およびその精度について
 - (5) 口腔内バイオフィルムのサンプリング法について
 - (6) 用いた、16SrRNA が他の口腔内細菌を検出する可能性について
 - (7) 除菌治療としての投薬の期間や種類について
- などであった。

これらの質問に対し、申請者は適切な説明によって回答し、本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野についても十分な理解と学識を有していることが確認された。

本研究では、口腔内と上部消化管内の *Helicobacter pylori* の存在の関連性は低いことを示したが、歯周疾患に罹患していると口腔内に *Helicobacter pylori* が存在しやすい可能性があることを示唆したことが高く評価された。

本研究の内容は、歯学医学の発展に十分貢献するものであり、審査担当者全員は学位申請者が博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認めた。