

Destructive effects of butyrate on cell envelope of *Helicobacter pylori*

米澤 英雄

杏林大学医学部感染症学教室

Helicobacter pylori は急性および慢性胃炎を惹起するとともに、胃十二指腸潰瘍の再発因子および胃 MALT リンパ腫や胃癌、特発性血小板減少性紫斑病などの疾患への関与が指摘されている。本菌は口腔内より主として PCR 法などによる DNA レベルにおいて検出されることがこれまで多く報告されてきている。これらの報告は、口腔は *H. pylori* の感染、および除菌後の再感染における *H. pylori* のリザーバーとしての役割を担っていることを示唆している。さらに歯周病患者のデンタルプラーク中に本菌が高頻度で検出されることが、多数の論文にて報告されている。しかしながら培養による生菌の検出は、報告が数件しかなく、難しいものであると認識されている。これは *H. pylori* は環境の変化により培養不可能な coccoid form に変化するためであると考えられている。その一方で口腔内は唾液中に含まれる、または口腔内細菌が産生する抗菌物質が多く存在しているため、*H. pylori* は口腔内には定着できないという報告も多数されてきている。しかしながらこれら抗菌物質の *H. pylori* に対する抗菌性などの詳細な解明はされていない。そこで本論文では、*H. pylori* は口腔内、特に歯周病患者口腔に定着できるのかについて明らかとするため、代表的な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* と *H. pylori* の相互作用について検討を行った。

H. pylori を走査型電子顕微鏡にて観察すると、菌体はらせん状で、一端に 4 本程度の鞭毛があり、菌体表層は境界が明瞭な像を認める。その一方で *P. gingivalis* 培養上清で処理した *H. pylori* は、菌体表層が破裂し、境界は不明瞭となり、菌の一部が膨化した像が認められた。この結果は *P. gingivalis* が菌体外に放出する物質が、*H. pylori* に対して抗菌的な作用を及ぼす物質を含んでいることを示唆している。以前われわれは、*Clostridium butyricum* が産生する酪酸が *H. pylori* に対して抗菌的に

働くことを報告している。*P. gingivalis* も同様に酪酸を産生することが報告されている。*H. pylori* を酪酸で処理すると、*P. gingivalis* 培養上清で処理した際と同様の形態変化を起こすことが確認できた。そこで *P. gingivalis* 培養上清で処理した *H. pylori* が受ける抗菌的な影響を、菌体外に放出される DNA 量を指標とすることで解析した。はじめに *H. pylori* を酪酸で処理すると、菌体外の DNA 量は、濃度依存的に増加した。そこで 2/3, 1/2, 1/3 vol/vol の *P. gingivalis* 培養上清で *H. pylori* を処理すると、酪酸で処理と同様に濃度依存的に菌体外 DNA 量は増加した。以上より *P. gingivalis* 培養上清に含まれる *H. pylori* への抗菌性物質は酪酸が関与していることが示唆された。

以上の結果から歯周病原細菌 *P. gingivalis* が産生する酪酸は *H. pylori* を破壊する殺菌的な作用を持つことが明らかとなった。*P. gingivalis* は実験室環境において、1mL の培養液中で約 20 mmol の酪酸を産生することが明らかとなっている。今回の結果から 20 mmol は *H. pylori* に対する抗菌性を示すのに十分な濃度である。さらに多くの歯周病原細菌は酪酸を産生する。実際歯周病患者のデンタルプラーク中には 15-20 mmol の酪酸が含まれていることが報告されている。これらの結果とわれわれの今回の結果から、歯周病患者のデンタルプラーク中においては *H. pylori* が定着生存するには厳しい環境であることが示唆された。ではなぜ歯周病患者で *H. pylori* が高頻度で検出されるのか、既述したようにこれまで *H. pylori* が口腔より検出されるのは、その大多数が PCR によるものである。歯周病原細菌である *P. gingivalis* や *Fusobacterium nucleatum* は *H. pylori* と強い凝集性を持っていることが報告されている。また *Streptococcus mutans* や *S. sanguinis* はどの口腔内細菌も *H. pylori* と強い凝集性を持つことが明らかとなっている。*H. pylori* が口腔

内に入り込むと、こうした *H. pylori* と凝集性を持つ細菌により *H. pylori* は口腔内細菌バイオフィルムに速やかに取り込まれることが推測できる。取り込まれた *H. pylori* は、デンタルプラーク中の酪酸などにより殺菌されるものの、その菌体物質や DNA は口腔バイオフィル

ムの構成物質として利用されている。その結果、生菌では *H. pylori* は検出できないものの、PCR では検出ができると考えられる。以上より、*H. pylori* は口腔内には定着するのではなく、あくまで一時的な存在であることが示唆された。