

図① *M. pneumoniae* のコロニー形態 (PPLO 培地)  
「目玉焼き状」に観察される。

表① ヒト系マイコプラズマの性状

菌名	性状				存在部位 (病原性)
	ブドウ糖分解	アルギニン分解	モルモット血球吸着性	ウレアーゼ活性	
<i>M. pneumoniae</i>	+	-	+	-	口腔咽頭 (原発性異型肺炎)
<i>M. orale</i>	-	+	-	-	口腔咽頭
<i>M. salivarium</i>	-	+	-	-	口腔咽頭
<i>M. buccale</i>	-	+	-	-	口腔咽頭
<i>M. faucium</i>	-	+	-	-	口腔咽頭
<i>M. lipophilum</i>	-	+	-	-	口腔咽頭
<i>M. hominis</i>	-	+	-	-	口腔咽頭, 泌尿生殖器 (上気道炎*, 流産後発熱*)
<i>M. fermentans</i>	+	+	-	-	口腔咽頭, 泌尿生殖器
<i>M. genitalium</i>	+	-	+	-	泌尿生殖器 (尿道炎*)
<i>M. primatum</i>	-	+	-	-	泌尿生殖器
<i>U. urealyticum</i>	-	-	-	+	泌尿生殖器 (尿道炎*)

\*: ヒトへの病原性はいまだ確定されていない。

(田口晴彦ら, 2007<sup>1)</sup> より引用)

*M. pneumoniae* のゲノムがコードする蛋白質は 677 ほどしかないと考えられている。

*M. pneumoniae* は、通常飛沫感染によりマイコプラズマ肺炎を引き起こす。市中肺炎の約 20% は本菌による。潜伏期は約 2~3 週間で発熱、咳嗽、喀痰などの症状が認められ、胸部 X 線で下肺野にスリガラス状陰影を検出することが多い。好発年齢は 5~19 歳で秋から冬にかけての流行がみられる。近年、5 歳以下の小児や高齢者における発症が増加している。肺炎のほかに気管支炎、皮

膚発疹症、鼓膜炎、関節炎、髄膜炎、脳炎などを併発することがある。ヒトから分離されるマイコプラズマとして *M. pneumoniae* のほかに *M. hominis* (咽頭炎・扁桃炎や流産・分娩後の発熱を起こす可能性あり)、*M. genitalium* (尿道炎の原因となる可能性あり)、*M. salivarium*, *M. orale*, *M. fermentans* やウレアーゼ活性をもつ *Ureaplasma urealyticum* (尿道炎の原因となる可能性あり) などがあげられる (表①)<sup>1)</sup>。

## 2. 韓国人胃粘膜からのマイコプラズマの検出と *H. pylori* 感染との関連

Kwon ら<sup>2)</sup> は 57 例の慢性胃炎患者の胃粘膜生検材料 (51 例, 前庭部; 5 例, 胃体部) を対象として、マイコプラズマ特異的 16S rDNA に対するプライマーを用いた PCR 法によりマイコプラズマの検出を試みた。マイコプラズマ DNA が増幅されたのは 57 例中 23 例 (41.1%) であった (22 例, 前庭部材料; 1 例, 胃体部材料) (表②)。増幅された DNA の塩基配列シーケンシング解析の結果、12 例は *M. faucium* (100% homology), 1 例は *M. salivarium* (100% homology), 2 例は *M. fermentans* (98.7% homology), 1 例は *M. orale* (88.0% homology), 1 例は *M. spermatophilum* (100% homology) と *M. salivarium* (100% homology) の混合, 1 例は *M. fermentans* (98.7% homology) と *M. faucium* (100% homology) の混合であることが明らかになった。残り 5 例では DNA シーケンシングがおこなわれなかった。

マイコプラズマ陽性検体と陰性検体とにおける炎症度 (リンパ球浸潤度), 炎症活性 (好中球浸潤度), 萎縮, 化生および定着 *H. pylori* 量についての比較検討がなされた (表③)。マイコプラズマ陽性症例では陰性症例にくらべて有意に炎症活性が高値を示したが ( $p < 0.005$ ), 炎症度, 萎縮, 化生, 定着 *H. pylori* 量においてはマイコプラズマ検出の有無とは関連しなかった。

## 3. 中国人胃癌患者からのマイコプラズマの検出

Huang ら<sup>3)</sup> は胃癌組織におけるマイコプラズマ感染についての検索をおこなった。彼らが作製した *M. hominis* に対するモノクローナル抗体 PD4 を用いて、組織染色法により胃癌症例 90 例のマイコプラズマ感染率

表② マイコプラズマ陽性胃炎症例

症例番号	マイコプラズマ種	炎症 (0~3)	好中球浸潤 (0~3)	萎縮 (0~3)	化生 (0~3)	<i>H. pylori</i> (0~3)
CG 5	<i>M. faucium</i>	3	1	0	0	1
CG 13	<i>M. faucium</i>	2	1	0	0	2
CG 14	NS*	1	0	1	0	1
CG 16	<i>M. faucium</i>	2	2	0	0	2
CG 17	<i>M. faucium</i>	1	1	0	0	2
CG 20	<i>M. faucium</i>	2	1	0	0	1
CG 28	<i>M. salivarium</i>	1	0	1	0	2
CG 30	<i>M. faucium</i>	1	1	3	2	2
CG 31	<i>M. spermatophilum/M. salivarium</i>	1	1	3	0	1
CG 34	<i>M. orale</i>	1	0	1	0	1
CG 36	<i>M. faucium</i>	3	3	0	0	1
CG 37	NS	2	1	2	0	3
CG 41	<i>M. faucium</i>	1	2	0	0	1
CG 43	<i>M. faucium</i>	2	3	0	0	1
CG 47	NS	1	1	0	0	0
CG 53	NS	1	0	1	2	1
CG 97	<i>M. faucium</i>	3	1	2	0	2
CG 104	<i>M. fermentans/M. faucium</i>	2	2	3	0	0
CG 105	<i>M. faucium</i>	2	1	0	0	1
CG 106	<i>M. fermentans</i>	3	3	0	1	2
CG 108	NS	2	1	0	0	1
CG 111	<i>M. faucium</i>	3	3	0	0	2
CG 113	<i>M. fermentans</i>	3	3	0	0	2

\* : Not sequenced

(Kwon H-J et al, 2004<sup>2)</sup>より改変引用)

表③ マイコプラズマ陽性および陰性症例間における炎症, 好中球浸潤, 萎縮, 化生および *H. pylori* 菌量の比較

	probability	有意差
炎症	0.2245 ( $p > 0.05$ )	なし
好中球浸潤	0.0135 ( $p < 0.05$ )	あり
萎縮	0.4142 ( $p > 0.05$ )	なし
化生	0.7425 ( $p > 0.05$ )	なし
<i>H. pylori</i> 菌量	0.6089 ( $p > 0.05$ )	なし

(Kwon H-J et al, 2004<sup>2)</sup>より改変引用)

表④ 胃癌分化度とマイコプラズマ感染との関連

分化度	総症例数	マイコプラズマ陽性症例		
		(+)	(++)	合計 (%)
I-II	23	12	8	20 (87)
II-III	18	9	2	11 (61)
III	49	14	5	19 (39)
計	90	35	14	50 (56)

(Huang S et al, 2001<sup>3)</sup>より改変引用)

(組織染色陽性のこと)を調べた(表④)。PD4抗体染色陽性例は50例であり、陽性率は56%を示した。組織学的な胃癌分化度とマイコプラズマ染色性とを比較した結果、分化度I-II群, II-III群およびIII群でのマイコプラズマ陽性率はそれぞれ87%, 61%および39%であり、高分化度を示す胃癌組織においてマイコプラズマ染色性が高いことが明らかにされた。加えて、慢性表層性胃炎(n=49), 胃潰瘍(n=46)および腸上皮化生(n=49)

を有する患者胃粘膜におけるマイコプラズマ感染率(組織染色陽性率)が調べられた(表⑤)。上記疾患患者の胃粘膜における*M. hyorhinis*の陽性率は28%, 37%および30%であり、胃癌患者での陽性率にくらべ低値であった。Huangら<sup>3)</sup>はさらに他の腫瘍性病変における同マイコプラズマの感染率についても組織染色法により評価した。大腸癌(n=58), 腺腫ポリープ(n=49), 食道癌(n=53), 肺癌(n=59), 乳癌(n=63)およびグリオー

表⑥ 胃癌患者および多種胃疾患患者におけるマイコプラズマ感染

	マイコプラズマ感染			
	陰性例	陽性例	総症例数	陽性率 (%)
慢性表層性胃炎	34	13	47	28
腸上皮化生	31	18	49	37
胃潰瘍	32	14	46	30
胃癌	40	50	90	56
総症例数	137	95	232	41

(Huang S *et al*, 2001<sup>3)</sup>より改変引用)

マ (n=91) でのマイコプラズマ陽性率は 55%, 20%, 51%, 40% および 41% であり, 胃癌のみならず多くの腫瘍病変において *M. hyorhinitis* の感染が認められた. 上記の染色陽性および陰性症例, 各 3 例を選んでマイコプラズマ 16SrDNA プライマーを用いた PCR 法により, その特異性を調べた結果, PD4 染色陽性例のみが増幅バンドを複製することが確認された. 本研究では *H. pylori* の感染については検討されていないため, マイコプラズマと *H. pylori* との重複感染の有無については明らかでない.

本論文では抗 *M. hyorhinitis* 抗体としてモノクローナル抗体 PD4 が使用されているが, 本抗体の作製は抗原としてヒト胃癌樹立細胞株 MGC803 が用いられた<sup>4)</sup>. PD4 抗体が認識する 40 kDa 蛋白 (P40) の N 端の 16 種のアミノ酸配列は *M. hyorhinitis* 由来の蛋白 P37 の N 端と同一であったことより, PD4 抗体は胃癌細胞に対する抗体ではなく, *M. hyorhinitis* に対する抗体であると Huang ら<sup>3)</sup> は強調する. 加えて, 本抗体 PD4 はマイコプラズマ汚染胃癌 MGC803 細胞の増殖を抑制するが, マイコプラズマ非汚染同細胞の増殖を抑制しないことが記載されている<sup>3)</sup>. しかしながら, これらの所見は論文発表されておらず, 本研究に使用された PD4 モノクローナル抗体が *M. hyorhinitis* 特異的であることは示されていない. ちなみにマイコプラズマの培養細胞へのトランスフォーム能については多くの報告があり<sup>5)~7)</sup>, 胃癌とマイコプラズマ感染との関連性を評価した Huang ら<sup>3)4)</sup> や Kwon らの研究<sup>2)</sup> の拠り所になっている.

#### 4. 日本人胃癌患者からのマイコプラズマ検出の試み

*M. hyorhinitis* はブタの鼻腔や上気道など常在する細菌

である. これまでにヒトから本菌が分離されたとの報告はない. Huang ら<sup>3)</sup> の胃癌組織からの *M. hyorhinitis* 検出の報告は多方面より注目された. われわれは, 胃癌患者胃組織よりの *M. hyorhinitis* 検出を試みた.

腫瘍性病変 (胃癌) を有する患者ならびに対照群としての非腫瘍性疾患患者由来の検体からマイコプラズマの分離および検出をおこなった. 胃癌患者組織 10 検体を PPLO 液体培地で 4 週間培養し, PPLO 平板培地に滴下, さらに培養を 2 週間つづけたが, マイコプラズマ特有の目玉焼き状, 桑実状のコロニーを顕微鏡下で観察することはできなかった. また, 患者検体および, 検体を 4 週間培養した後の液体培地沈渣から DNA を抽出し, 11 菌種のマイコプラズマ属および 1 菌種のウレアプラズマ属細菌の特異的な DNA 配列を, 16S リボソーム, 23S リボソームおよびそのスペーサー領域をターゲットとした 2 段階の nested PCR 法により増幅を試みた. その結果, 2 名の患者検体からマイコプラズマ属細菌の DNA 増幅が確認されたが, 2nd PCR 法により増幅された DNA サイズの検討により, 口腔内常在菌叢の構成菌種である *M. salivarium* の可能性が考えられた. 今回の胃癌患者 10 検体からは, *M. hyorhinitis*, *M. fermentans*, *M. faucium* などのマイコプラズマ属細菌の検出を確認することはできなかった.

#### 5. その他の報告 (*M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *H. pylori*)

Annagur ら<sup>8)</sup> は 79 名の喘息患児 (男児 46 名, 女児 33 名, 年齢 5~15 歳) を対象として喘息発作と 3 種の細菌感染症 (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *H. pylori*) との関連性について検討を加えた (表⑥). 対象患児は喘息発

表⑥ 喘息患者における *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* および *H. pylori* 感染

	喘息患者群 (発作時) (n=37)	喘息患者群 (非発作時) (n=42)	健常者群 (n=36)	p
<i>M. pneumoniae</i>				
IgM	3 (8.1%)	0 (0%)	0 (0%)	0.031
IgG	2 (5.4%)	2 (4.8%)	4 (11.1%)	0.517
<i>C. pneumoniae</i>				
IgM	5 (13.5%)	0 (0%)	0 (0%)	0.003
IgG	7 (18.9%)	17 (40.5%)	8 (22.2%)	0.071
<i>H. pylori</i>				
IgM	14 (37.8%)	11 (26.2%)	10 (27.8%)	0.494
IgG	12 (32.4%)	8 (19%)	6 (16.7%)	0.227

作のある患児群 (グループ 1; n=37) と喘息発作のない患児群 (グループ 2; n=42) とに分けて、それぞれの病原細菌に対する抗体陽性率を比較検討した。なお、健常児を対照群 (n=36) とした。喘息発作のあるグループ 1 の患児では抗 *M. pneumoniae* IgM 抗体および抗 *C. pneumoniae* IgM 抗体の陽性率 (8.1% および 13.5%) が喘息発作のないグループ 2 や対照群でのそれらにくらべ統計学的有意差をもって高値を示した。しかし、*H. pylori* の抗 IgM および抗 IgG 抗体陽性率について上記 3 群において有意な差は認められなかった。本研究は喘息と 3 種の病原細菌の感染との関連性を検討する目的で実施されたものであり、各患児における *H. pylori* と *M. pneumoniae* との感染状況に関するデータの提示はおこなわれていない。

*H. pylori* と呼吸器系疾患との関連性についての総説が報告されている<sup>9)</sup>。Rosenstock ら<sup>10)</sup>は 3,608 名のデンマーク成人を対象とした疫学検索の結果、慢性気管支炎が *H. pylori* 陽性女性で有意に高く発症していることを明らかにした (オッズ比 1.6; 95%信頼区間 1.1~2.5)。Roussos ら<sup>11)</sup>も 264 名のギリシャ人を対象として、慢性気管支炎患者 (n=144) での *H. pylori* 抗体陽性率 (83.3%) は健常人 (n=120) でのそれ (60%) にくらべ有意に高いことを報告した (p=0.007)。*H. pylori* 感染による炎症性メディエータの産生誘導が慢性気管支炎などの非特異的な炎症性病変の進展を誘導している可能性が考察された<sup>11)</sup>。Mitchell ら<sup>12)</sup>は中国人を対象とした疫学検索の結果、結核の既往と *H. pylori* の感染率が正の相関を示すこ

とを報告した。Woeltje ら<sup>13)</sup>の 346 名の新規入院患者を対象としたコホート研究より、消化性潰瘍の既往がツベルクリンテスト陽性のリスク因子のひとつとなることが示された (オッズ比 4.53; p=0.017)。抗結核薬の投与の有無が *H. pylori* 陽性率に関与することが考えられる。Filippou ら<sup>14)</sup>は抗結核薬治療前の 80 名の結核患者、年齢、性、経済・社会状態をマッチさせた健常人 70 名を対象として *H. pylori* 感染と結核との関連を調べた。その結果、結核患者での *H. pylori* 陽性率は対照群での陽性率にくらべ有意に高率であった (87.5% vs 61.4%, p=0.02)。

Weiss ら<sup>15)</sup>は動脈硬化症患者における *H. pylori* と *M. pneumoniae* との関連についての研究結果を報告した。36 名の頸部大動脈狭窄症患者の動脈内膜切除標本を使用して、PCR 法により *H. pylori* および *M. pneumoniae* の検出をおこなった。動脈硬化性プラークにおける *M. pneumoniae* 特異的 DNA の検出率は 36.1% (13 例/36 例)、また伏在静脈および白血球での *M. pneumoniae* 特異的 DNA 検出率は 25% (9 例/36 例) および 75% (27 例/36 例) であった。一方、狭窄のない患者由来の白血球での *M. pneumoniae* 特異的 DNA の検出率は 48% (12 例/25 例) であった。それぞれの標本からの *M. pneumoniae* 特異的 DNA の検出と炎症性マーカー値 (CRP, E-selectin, ICAM-1 など) および抗 *M. pneumoniae* 抗体の検出とは関連しなかった。*H. pylori* 特異的 DNA は動脈硬化性プラーク、伏在静脈および白血球のすべてにおいて検出されなかった。これらの結果より、動脈硬化性病変の発

現には *H. pylori* よりも *M. pneumoniae* が関与することが示唆された。

## おわりに

ヒトにおける *H. pylori* とマイコプラズマとの重複感染に関するいくつかの報告を紹介した。胃癌組織より高率にマイコプラズマが検出されたという Huang ら<sup>3)</sup>の報告は使用モノクローナル抗体の特異性が問題であると考えられる。加えて検出された *M. hyorhinis* がブタ由来のマイコプラズマであり、自験例での陰性結果とを合わせて、彼らの研究結果の再現性は低いものと想定される。ヒト慢性胃炎組織より高率 (41.1%) に各種のマイコプラズマが検出されたことは興味深い。検出されたマイコプラズマの多くは口腔由来のものであり、これらのマイコプラズマが胃内に持続感染しているという確認が必要となろう。マイコプラズマと *H. pylori* の重複感染が胃粘膜における炎症反応を促進させる可能性については今後の検討が期待される。マイコプラズマ感染と喘息発作や動脈硬化症などとの関連性が報告されているが、*H. pylori* の重複感染が病態にどんな影響を与えるかについては不明である。しかし、*H. pylori* もマイコプラズマもヒトに慢性持続感染を引き起こす病原細菌であるため、両菌の重複感染が生体に及ぼす効果については今後更なる検討が期待される。



## 文献

- 1) 田口晴彦, 神谷茂: マイコプラズマ肺炎の発症メカニズム. 臨床画像 23 : 642-646, 2007
- 2) Kwon H-J, Kang J-O, Cho S-H *et al* : Presence of human mycoplasma DNA in gastric tissue samples from Korean chronic gastritis patients. *Cancer Sci* 95 : 311-315, 2004
- 3) Huang S, Li JY, Wu J *et al* : Mycoplasma infections and different human carcinomas. *World J Gastroenterol* 7 : 266-269, 2001
- 4) Dong ZW, Wei SM, Mu ZY : Monoclonal antibodies against human gastric cancer. *Zhonghua Zhongliu Yanjiu* 1 : 1-6, 1989
- 5) Tsai S, Wear DJ, Shir JW *et al* : Mycoplasmas and oncogenesis : persistent infection and multistage malignant transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 : 10197-10201, 1995
- 6) Zhang B, Shih JW, Wear DJ *et al* : High-level expression of *H-ras* and *c-myc* oncogenes in mycoplasma-mediated malignant cell transformation. *Proc Soc Exp Biol Med* 214 : 359-366, 1997
- 7) Feng SH, Tsai S, Rodriguez J *et al* : Mycoplasma infections prevent apoptosis and induce malignant transformation of interleukin-3-dependent 32D hematopoietic cells. *Mol Cell Biol* 19 : 7995-8002, 1999
- 8) Annagur A, Kendirli SG, Yilmaz M *et al* : Is there any relationship between asthma and asthma attack in children and atypical bacterial infections ; *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* and *Helicobacter pylori*. *J Trop Pediatr* 53 : 313-318, 2007
- 9) Roussos A, Philippou N, Gourgoulianis KI : *Helicobacter pylori* and respiratory disease : a review. *World J Gastroenterol* 9 : 5-8, 2003
- 10) Rosenstock SJ, Jørgensen T, Andersen LP *et al* : Association of *Helicobacter pylori* infection with lifestyle, chronic disease, body indices and age at menarche in Danish adults. *Scand J Public Health* 28 : 32-40, 2000
- 11) Roussos A, Tsimpoukas F, Anastasakou E *et al* : *Helicobacter pylori* seroprevalence in patients with chronic bronchitis. *J Gastroenterol* 37 : 332-335, 2002
- 12) Mitchell HM, Li YY, Hu PJ *et al* : Epidemiology of *Helicobacter pylori* in southern China : identification of early childhood as the critical period for acquisition. *J Infect Dis* 166 : 149-153, 1992
- 13) Woeltje KF, Kilo CM, Johnson K *et al* : Tuberculin skin test of hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 18 : 561-565, 1997
- 14) Filippou N, Roussos A, Tsimpoukas F *et al* : *Helicobacter pylori* seroprevalence in patients with pulmonary tuberculosis. *J Clin Gastroenterol* 34 : 189-190, 2002
- 15) Weiss TW, Kvakan H, Kaun C *et al* : No evidence for a direct role of *Helicobacter pylori* and *Mycoplasma pneumoniae* in carotid artery atherosclerosis. *J Clin Pathol* 59 : 1186-1190, 2005

## *Helicobacter pylori* 感染症に対するプロバイオティクスの効果

神谷 茂\*

\*杏林大学医学部感染症学

### Effect of probiotics on *Helicobacter pylori* infection

Shigeru KAMIYA\*

\*Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine

**要旨** プロバイオティクス (probiotics) の投与が *Helicobacter pylori* 感染症に有用であることが報告されている。 *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Saccharomyces* などのプロバイオティクスは *in vitro* にて *H. pylori* の付着や増殖を抑制する。また、無菌マウス、スナネズミなどの実験動物を使用した *in vivo* 研究において、各種のプロバイオティクスは *H. pylori* の胃内定着を抑制することが明らかにされている。メタ解析を含む多数の臨床研究からもプロバイオティクスの *H. pylori* 持続感染菌量の低減作用、除菌率向上作用および抗菌薬による副作用防止効果が示されている。副作用の殆どないプロバイオティクスを *H. pylori* 感染症の除菌治療の際に有効に使用していくことが今後期待されている。

**Abstract** It has been reported that probiotic treatment is useful for *Helicobacter pylori* infection. In *in vitro* studies, probiotic bacteria including *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Clostridium* and *Saccharomyces* inhibited adhesion and growth of *H. pylori*. In addition, various probiotic bacteria inhibited colonization of *H. pylori* in gastric mucosa in *in vivo* studies using germ-free mice, Mongolian gerbils etc. According to many clinical studies including meta-analysis, it has been shown that probiotic treatment decreases the number of *H. pylori* bacteria increases the eradication rate by inhibiting the proton-pump with antibiotics and prevents various side effects caused by eradication therapy. Use of probiotics, which are very safe for humans, is expected to assist with the eradication of *H. pylori* infection.  
**Key words**: *Helicobacter pylori*; probiotics; eradication therapy

### はじめに

*Helicobacter pylori* はグラム陰性らせん状微好気性細菌であり、ヒトの胃粘膜に棲息する (36, 68)。 *H. pylori* の感染率は地域により異なるが、世界の約半数の人口に感染しているものと考えられている。本菌は胃炎を惹起し、胃・十二指腸潰瘍の再発因子および治癒遷延化因子として作用するとともに、胃癌や胃 MALT リンパ腫などの悪性疾患と関連することが知られている (6, 10, 40)。1994年、*H. pylori* は胃癌の definite carcinogen group1 として WHO により認定されるに至った。2008年、Fukase ら (17) は早期胃癌の内視鏡的切除を行った患者を対象として除菌群 (n = 272) および非除菌群 (n = 272)

とに分け、3年間のフォローアップを行った。その結果、フォローアップ間に胃粘膜における異時性発癌を示した患者は除菌群で9名であったのに対し、非除菌群で24名であった (intention-to-treat 解析による異時性発癌のオッズ比 = 0.353, p = 0.009)。この結果より、*H. pylori* の除菌が胃癌の発生を予防することが示された。加えて *H. pylori* 感染が胃・十二指腸以外の疾患 (慢性蕁麻疹、特発性血小板減少性紫斑病、鉄欠乏性貧血、動脈硬化症など) の発症とリンクすることが報告されている (2, 15, 18, 21, 22, 29, 39, 50)。

プロバイオティクス (probiotics) の効果が腸管感染症、炎症性腸疾患、アレルギー疾患、細菌性陰症などの様々な疾患を対象に報告されている (13, 28, 34, 35, 54, 57, 60, 63, 69)。 *H. pylori* 感染症に対しても各種のプロバイオティクスが本菌に殺菌的に作用することや除菌率の向上や副作用の予防に有用であることが明らかにされている。 *H. pylori* 感染症に対して抗菌薬2剤 (アモキシ

2010年1月20日受付

\* 〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2 6-20-2 Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan

シリン、クラリスロマイシンが主体となる)とプロトンポンプインヒビター(オメプラゾール、ランソプラゾールなど)を組み合わせた三剤併用療法が確立され、その除菌率は80-90%と高い(5, 45)。しかし、除菌療法には投与薬剤の副作用や薬剤耐性菌の出現などの問題点がある(25, 47)。このため、新規の抗*H. pylori*剤の開発を含めて、プロバイオティクスや食品中の抗*H. pylori*物質の併用等の可能性が議論されている。

プロバイオティクスの作用に関する基礎的事項を解説するとともに *in vitro*, *in vivo* および臨床試験でのプロバイオティクスの*H. pylori*に対する効果を紹介する。

### プロバイオティクスの作用

様々な病原細菌に対してプロバイオティクスは抑制効果をもつ(4, 19, 56)。プロバイオティクスは病原菌に対して栄養素を競合的に取り込み、病原菌に対して相対的に栄養素の摂取を抑制する。プロバイオティクスは短鎖脂肪酸を産生することにより、腸管内pHを低下させ、外来性病原微生物の増殖を抑制する。また、プロバイオティクスは病原細菌と競合的に宿主細胞への付着性を有するため、結果的に病原細菌の宿主細胞への付着を抑制することとなる(7)。

プロバイオティクスは宿主細胞に対しても様々な作用を有する。プロバイオティクスは腸管蠕動運動を亢進させ、病原微生物の腸管外への排出を促す。また、病原微生物により引き起こされた上皮細胞傷害を治癒し、腸管透過性を正常化させる(41)。プロバイオティクスによる粘液産生の亢進は腸管上皮細胞の傷害を軽減させる。

免疫能に対するプロバイオティクスの効果について多数の研究結果が報告されている。プロバイオティクス構成細菌の菌体抗原は液性免疫能および細胞性免疫能を活性化する(33, 55)。また、細胞壁中の内毒素(LPS)やペプチドグリカンがサイトカイン産生誘導能を有するとともに腸管系リンパ組織を刺激し、IgA抗体産生を亢進させる他、マクロファージ貪食能を活性化する。更に、プロバイオティクスによる自然免疫の活性化も報告されている(20)。近年、Hoarauら(24)は*Bifidobacterium breve*C50株の培養上清が細胞内シグナル伝達に作用することを示した。培養上清はMAPK (mitogen-activated protein kinases), GSK3 (glycogen synthase kinase-3), PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)を活性化することにより、樹状細胞の成熟を促進するとともに、IL (interleukin)-10産生を刺激し、樹状細胞の生残を延長することが明らかにされた。

### プロバイオティクスの副作用

プロバイオティクスは殆ど副作用をもたないが、少数例の副作用が報告されている。肝移植のための術前選択的腸内除菌療法を受けた患者に*Lactobacillus*を含むプロバイオティクスを投与した結果、*Lactobacillus*敗血症と心内膜炎が認められた(51)。*S. boulardii*の経口投与を受けた1歳児に播種性の真菌血症と重症の下痢が認められた(53)。

プロバイオティクス (Ecologic 641: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. salivarius*, *L. Lactis*, *B. bifidum*, *B. lactis*含有)の劇症急性膵炎患者への効果を調べるため、オランダのユトレヒト大学の研究グループが中心となり、多施設二重盲検プラセボコントロール臨床試験が行われた(9)。プロバイオティクス群(n=153, 4週間投与)およびプラセボ群(n=145)での合併感染症の発生率には両群に差は認められなかった。しかし、大腸虚血症例はプロバイオティクス群で9例認められたのに対し、プラセボ群ではまったく認められなかった。更に、死亡率はプラセボ群の6% (9/145例)に対し、プロバイオティクス群では16% (24/153例)を示し、有意に高値であった。本報告は大きな反響を呼んだが、いくつかの問題点が提起されている。すなわち①臓器不全(プロバイオティクス群5例、プラセボ群1例)および多臓器不全(プロバイオティクス群9例、プラセボ群5例)を有する患者数に差があった。②使用 probioticsに関する安全性についての報告がない、③治療に関する記載がない。治療法の違いが死亡率を左右しなかったのか、④試験監視委員会は中間解析時点で臨床研究の中止を勧告すべきではなかったか、などが慎重に検討されるべきであろう。

プロバイオティクスの副作用の報告例はきわめて少ないが、プロバイオティクスが安全であると盲信することはできない。特に新生児や免疫能の低下した易感染性患者に対してのプロバイオティクスの投与は慎重に行うべきである。

### プロバイオティクスの*H. pylori*への効果

プロバイオティクスが胃粘膜に持続感染する*H. pylori*に対して抑制的に作用することが培養細胞レベル、動物実験レベル、さらには臨床研究レベルにおいて報告されている。

#### 1) *in vitro* 研究

これまでにプロバイオティクスの*H. pylori*に対する *in vitro*での効果に関する研究結果が多数報告されている。Lopez-Breaら(44)はグラム陽性および陰性細菌

Table 1. Inhibitory effects of various bacteria on the growth of *H. pylori*

Genus	Species	No. of inhibitory strais/No. of strains tested (%)
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i> spp.	5/30 (16.6 %)
	<i>Lactobacillus</i> spp.	6/30 (20 %)
	<i>Lactobacillus</i> spp.	0/27 (0 %)
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	0/30 (0 %)
<i>Streptococcus</i>	<i>S. anginosus</i>	0/27 (0 %)
	<i>S. acidophilus</i>	0/27 (0 %)
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i> spp.	11/27 (40.7 %)
	<i>B. cereus</i>	0/27 (0 %)
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i>	0/27 (0 %)
	<i>E. faecium</i>	1/27 (3.7 %)
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>	7/27 (25.9 %)
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. hominis</i>	5/35 (14.3 %)
	<i>S. auricularis</i>	37/37 (100 %)
	<i>S. epidermidis</i>	35/35 (100 %)
	<i>S. aureus</i>	6/35 (17.1 %)
Gram-negative bacilli	<i>E. coli</i>	1/25 (4 %)
	<i>K. pneumoniae</i>	4/25 (16 %)
	<i>K. oxytoca</i>	0/25 (0 %)
	<i>E. cloacae</i>	14/25 (56 %)
	<i>Salmonella</i> spp.	4/25 (16 %)
	<i>P. aeruginosa</i>	0/25 (0 %)
	<i>A. baumannii</i>	4/25 (16 %)
	<i>S. maltophilia</i>	14/25 (56 %)

cited from Ref. (44)

の *H. pylori* の増殖に対する効果を調べた (Table 1)。寒天培地に *H. pylori* 菌液を塗布した後、被検菌株を1滴 (10 µl) 滴下してから微好気培養を行い、増殖阻止円の形成を観察して抗 *H. pylori* 活性を評価した。*H. pylori* の増殖を抑制する菌種として、*S. auricularis* (100%)、*S. epidermidis* (100%)、*E. cloacae* (56%)、*S. maltophilia* (56%)、*Bacillus* spp. (40.7%)、*S. cerevisiae* (25.9%) などが明らかとなった。一方、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*、*S. anginosus*、*S. salivarius*、*B. cereus*、*E. faecalis*、*K. oxytoca*、*P. aeruginosa* などでは被検菌株に抗 *H. pylori* 活性は全く認められなかった。これらの結果より、抗 *H. pylori* 活性の高い菌株より新たなプロバイオティクスが開発されていくことが期待される。

Kabirら (32) は *L. salivarius* WB1004 株が *H. pylori* の宿主細胞への付着性および胃上皮細胞による IL-8 産生誘導能を抑制することを報告した。Pinchukら (52) は *B. subtilis* の培養上清が *H. pylori* の増殖を抑制することを示すとともに、この抑制効果が pH および有機酸の産生に基づくものではなく、*B. subtilis* が産生する抗菌物質の作用に依ることを明らかにした。Takahashiら

Table 2. The effect of culture supernatant of *C. butyricum* MIYAIRI588 on the growth of *H. pylori* TK1402 strain\*

Conc. (%)	pH	No. of <i>H. pylori</i> TK1402 strain (log <sub>10</sub> CFU/ml)		
		24 hr	48 hr	72 hr
100 %	4.8	ND**	ND	ND
	7.2	3.2	ND	ND
25 %	5.8	6.8	6.7	7.1
	7.2	6.3	6.8	6.9
0 %	7.2	7.1	7.8	8.0

\* inoculated No. of *H. pylori* TK1402 strain; 10<sup>5.1</sup> CFU/ml

\*\*Not detected

cited from Ref. (64)

(64) は *C. butyricum* MIYAIRI588 株の *H. pylori* に対する効果を調べた。*C. butyricum* の培養上清は *H. pylori* の増殖を抑制したが、この抑制効果は培養上清を pH7 に調整しても認められ、産生される酪酸に依存することが明らかにされた (Table 2)。Namら (48) は *W. confusa* PL9001 株の培養上清の *H. pylori* に及ぼす効果を調べ、本菌株の培養上清は *H. pylori* の細胞壁に傷害を与えることを明らかにした。また *W. confusa* PL9001 株は



*H. pylori*の胃上皮細胞への付着を90%以上阻害することも報告された。Bergonzelliら(8)は*L. johnsonii* Lal株の熱ショック蛋白の一種GroEL (HSP60)は胃粘膜に効率良く付着するとともに選択的に*H. pylori*の凝集を引き起こすことを報告した。Linら(42)は乳酸産生菌10株の*in vitro*における*H. pylori*への効果を比較検討した結果、*H. pylori*への殺菌効果が最も顕著であったのは*L. acidophilus* LGG株および*L. plantarum* R1であることを明らかにした。

Kimら(37)は*Lactobacillus*の培養上清の*H. pylori*感染胃粘膜上皮細胞における炎症反応への効果を調べた。同培養上清には抱合型のリノール酸が含まれ、このリノール酸は*H. pylori*感染により誘導されたI $\kappa$ B kinase (IKK)活性を抑制することが示された。*H. pylori*感染は胃粘膜上皮細胞におけるIKK活性を刺激し、インターロイキン-8の産生を誘導することにより、粘膜組織に炎症反応を引き起こすことが知られている。本論文の結果より、プロバイオティクス細菌は*H. pylori*感染に基づく炎症を沈静化する作用があることが想定された。また、Zhouら(70)は*L. bulgaricus*の培養上清は胃上皮細胞における*H. pylori*LPS誘導性のIL-8産生を抑制することを報告した。

## 2) *in vivo*研究

実験動物を使用したプロバイオティクスの*H. pylori*感染に及ぼす効果について多数の研究報告がなされている。Kabirら(32)は無菌マウスへの感染実験により、*L. salivarius*WB1004株の投与は*H. pylori*定着菌数を1/100以下に低下させ、抗*H. pylori*抗体価も検出限界以下となることを明らかにした。Aibaら(1)は乳酸産生量の多い*L. salivarius*WB1004株を用いて*H. pylori*への効果を調べた。*L. salivarius*WB1004株は*H. pylori*感染ノットバイオームマウスにおいて*H. pylori*を完全に除菌し、胃粘膜の炎症反応も著明に低下させることが報告された。Takahashiら(64)は*H. pylori*感染ノットバイオームマウスへ*C. butyricum*を接種することにより、*H. pylori*の菌数が1/100以下に低下することを報告した。

Sgourasら(61)はC57BL/6マウスを用いて*L. casei* Shirota株の*H. pylori*SS1株への効果を調べた。*H. pylori*持続感染マウスへ*L. casei*含有水(10<sup>8</sup> cfu/ml)を9ヶ月にわたり与え、定着*H. pylori*を定量した。感染2, 4, 6, 8, 9ヶ月後いずれも*L. casei*投与により*H. pylori*菌数の低下(1/10-1/100)が認められ、胃粘膜の炎症スコアも低下した。Jonson-Henryら(31)は2種類のプロバイオティクス(*L. rhammosus* R0001株、

*L. acidophilus* R0052株)の*H. pylori*に対する効果を調べた。*H. pylori*感染前1週から飲用水に*L. rhammosus* R0001株および*L. acidophilus* R0052株を入れ(各々10<sup>9</sup> cfu/ml)、9週まで被験マウスに投与した。被験マウス10匹中5匹で*H. pylori*は除菌され、7匹中5匹は炎症反応の軽快化が認められた

## 3) 臨床研究

プロバイオティクスの*H. pylori*に及ぼす効果に関する臨床研究が多数報告されている。これらの研究にはプロバイオティクス単独投与の*H. pylori*への効果のみならず、プロバイオティクスの他剤との併用効果および*H. pylori*除菌治療薬との併用効果が含まれる。

### i) プロバイオティクス単独投与の効果

Sakamotoら(59)は*L. gasseri*LG21株の*H. pylori*持続感染への効果を調べた。31名の*H. pylori*陽性の健康成人にヨーグルトを8週間(2回/日)さらに*L. gasseri*含有ヨーグルトを8週間(2回/日)投与してから2週間後に尿素呼気テスト(UBT)を実施した(Fig. 1)。*L. gasseri*LG21含有ヨーグルト飲用後のUBT値(20.9 permili)はヨーグルト単独飲用後のそれ(26.6 permili)に比べ有意に低値であり、*L. gasseri*LG21株の投与は胃粘膜に持続感染する*H. pylori*菌数の低下に役立つこととともに胃粘膜炎症の軽減を引き起こすことが示された。

Linsalataら(43)は*L. brevis*の*H. pylori*持続感染および胃粘膜上皮細胞の増殖能に及ぼす効果を調べた。

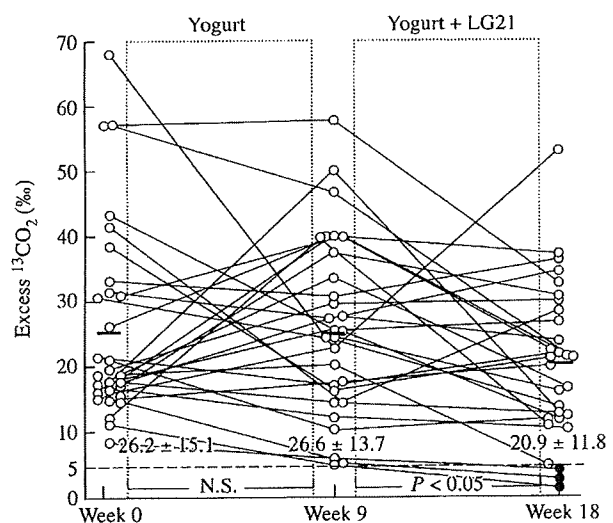


Fig. 1. The effect of *L. gasseri* LG21 strain on *H. pylori* cited from Ref. (59)

*H. pylori*陽性の消化不良症患者に *L. brevis* (n = 11) もしくはプラセボ (n = 11) を3週間投与して、UBTおよび胃生検材料中の ornithine decarboxylase activity (ODC) とポリアミン量 (いずれも胃上皮細胞増殖能を評価する) の定量を行った。 *L. brevis* 投与は *H. pylori* を除菌することはできなかったが、UBT値の有意な低下と胃前庭部粘膜中のODCとポリアミン量の有意な減少が認められ、 *L. brevis* は胃粘膜上皮細胞の増殖能を調節し得ることが明らかにされた。

Wangら (67) は *L. acidophilus* と *Bifidobacterium* を含むヨーグルトを59名の *H. pylori* 陽性ボランティアに6週間投与した (コントロール11名にはプラセボ投与)。プロバイオティクス投与終了2週間後のUBT値は投与前に比べ有意に低下していた。更に投与6週間後の前庭部胃生検材料における *H. pylori* 密度および炎症スコアの低下が認められた。

近年、 *H. pylori* の再感染と食事・社会・経済要因との関連性を調査した研究結果が報告された (30)。食事要因と *H. pylori* 感染との関連性についての調査結果をTable 3に示す。「自炊をする」「乳製品の摂取」「発酵乳の摂取」「野菜の摂取」および「果物の摂取」は統計

学的有意差をもって *H. pylori* 陰性者において多くの回答が得られた。一方、「食事の規則性」「調理品への油の添加」「サラダへのドレッシングの添加」「パンへのマーガリン・バターの添加」「食肉の摂取」「脂肪分の摂取」「魚の摂取」「スイーツの摂取」「コーヒー・紅茶への砂糖添加」「アルコール摂取」「塩分の摂取」「調理品への食塩添加」については *H. pylori* 陽性者と *H. pylori* 陰性者において統計学的有意差は認められなかった。

Boonyaritichakijら (11) は Sakamotoら (59) が示した抗 *H. pylori* 作用を有する *L. gasseri* LG21株を用いて、タイの小児における *H. pylori* の除菌および感染予防における効果を調べた (Table 4)。5-7歳の無症状の幼稚園に通園している小児、440名がリクルートされ、このうち132名が *H. pylori* 陽性、残り308名が *H. pylori* 陰性であった。 *L. gasseri* LG21株含有チーズ (プロバイオティクス群) および非含有チーズ (プラセボ群) が12ヶ月間摂食された。 *L. gasseri* LG21株もチーズも与えなかった群を対照群とした。 *H. pylori* の検出は糞便内 *H. pylori* 抗原検出試験 (HpSA試験) により行われた。除菌研究では82名の *H. pylori* 陽性児のうち、プロバイオティクス群 (n = 82) では24名が除菌された (除

Table 3. Comparison of selected dietary factors in the examined groups

Factors*	Response	HP** (+) Group (n = 111)	HP (-) Group (n = 175)	p
Meals prepared on their own	Yes	55 (52%)	105 (60%)	0.02
	Sometimes	18 (16%)	33 (19%)	
	No	40 (36%)	37 (21%)	
Eating dairy products	Frequently	45 (41%)	154 (89%)	< 0.0001
	With moderately frequency	30 (27%)	9 (5%)	
	Rarely	36 (32%)	11 (6%)	
Eating fermented milk drinks	Frequently	48 (43%)	166 (95%)	< 0.0001
	Rarely	63 (57%)	9 (5%)	
Eating vegetables	Frequently	82 (74%)	152 (87%)	0.02
	With moderate frequency	21 (19%)	17 (10%)	
	Rarely	8 (7%)	6 (3%)	
Eating fruits	Frequently	65 (58%)	133 (76%)	0.008
	With moderate frequency	24 (22%)	23 (13%)	
	Rarely	22 (20%)	19 (11%)	

\*No significant difference in other factors (regularity of eating meals, adding fat to stewed, fried and baked dishes, adding fat or dressing to salads, using fats to spread on bread, eating meat products and dishes, types of meat products and dishes eaten, eating sweets, sweetening of drinks, alcoholic drinks consumption, eating salty dishes, additional salting of products and dishes eaten) was detected between HP (+) and HP (-) groups.

\*\*HP: *H. pylori*.  
cited from Ref. (30).

Table 4. The effect of *Lactobacillus gasseri* OLL2716 (LG21) on eradication and prevention of *H. pylori* infection

	probiotics group	placebo group	control group
Eradication study			
No. of subjects	82	6	18
No. of <i>H. pylori</i> -negative subjects	24	0	1
% of eradication (PP analysis)	29.3*	0	5.6*
% of eradication (ITT analysis)	24.7	0	
Prevention study			
No. of subjects	123	99	0
No. of <i>H. pylori</i> -positive subjects	5	8	ND**
Positive rate of <i>H. pylori</i> (PP analysis)	4.1	8.1	ND
Positive rate of <i>H. pylori</i> (ITT analysis)	3.2	6.6	ND

\*Significant between probiotics group and control group

\*\*Not done

cited from Ref. (11)

菌率29.3%, Per Protocol (PP) 解析; 除菌率24.7%, Intention-to-Treat (ITT) 解析). プラセボ群 (n=6) および対照群 (n=18) での除菌者はそれぞれ0名および1名 (除菌率5.6%, PP解析) であり, プロバイオティクス群および対照群とで統計学的有意差が認められた (p=0.038). 予防研究ではプロバイオティクス群 (n=123) およびプラセボ群 (n=99) での12ヶ月後の *H. pylori* 陽性児童数はそれぞれ5名 (感染率4.1%, PP解析) および8名 (感染率8.1%, PP解析) であった. 両群には統計学的有意差は認められず, プロバイオティクス投与は *H. pylori* 感染の予防には有効ではなかったことが示された.

Huttら (26) は53名の健常成人 (*H. pylori* 陽性率, 53%) を対象として, シンバイオティクス (*L. fermentum*, *L. paracasei*, *B. longum* を含むプロバイオティクスと *rafitlose* を含む) の効果を評価した. 被験者を2群に分け, シンバイオティクスまたはプラセボ投与を3週間, 2週間の washout の後, クロスオーバー試験を行った. シンバイオティクス投与により, *H. pylori* 陽性率に有意差は認められなかったが, 本菌陽性者では antioxidative marker である TAS (total antioxidative status) 値の上昇が認められた. これらの結果より, シンバイオティクスは *H. pylori* 感染が引き起こす酸化ストレスを軽減させる可能性が示唆された.

#### ii) プロバイオティクスと他剤との併用効果

*H. pylori* 感染者に対して単剤抗菌薬やプロトンポンプインヒビターとプロバイオティクスを組み合わせそ

の臨床効果を評価した研究報告がある. Michettiら (46) は *L. acidophilus* Lal株の培養上清とオメプラゾールとの併用投与 (2週間) を *H. pylori* 陽性ボランティア20名に対して行った. 投与終了直後および4週後のUBT値はプロバイオティクス投与により有意に低下した. また, Felleyら (16) は53名の *H. pylori* 陽性ボランティアを対象に *L. johnsonii* Lal株を含む酸性乳とクラリスロマイシン (CAM, 500 mg×2/日) との併用効果 (CAMは後半2週間投与) を調べた. 投与終了4-8週間後の胃生検材料における *H. pylori* 濃度および炎症スコアはコントロール (プラセボ投与) のそれらに比べ有意に低下していることが示された.

#### iii) 三剤除菌療法との併用効果

現在, *H. pylori* 感染に対して2種類の抗菌薬と1種類のプロトンポンプインヒビターを組み合わせた三剤除菌療法が用いられている. わが国では抗菌薬としてアモキシシリン, クラリスロマイシン, ニトロメタゾールが, プロトンポンプインヒビターとしてランソプラゾール, オメプラゾール, ラベプラゾールなどが使用されている. この三剤除菌療法とプロバイオティクスとを併用して除菌率の向上や副作用の軽減を評価した研究報告が多数ある.

#### ①除菌率に及ぼす効果

Canducciら (12) は *L. acidophilus* の不活化培養液 (凍結乾燥処理) の *H. pylori* 除菌治療への効果を検討した. 60名のRCAL群 (ラベプラゾール+クラリスロマイシン+アモキシシリン+*L. acidophilus*) における除

菌率はPP解析およびITT解析にて88% (52/59) および87% (52/60) であり、60名のプラセボ群におけるそれら (72%および70%) に比べ高値を示した。

Sheuら (62) は160名のH. pylori陽性者に対する三剤除菌療法 (ランソプラゾール+アモキシシリン+クラリスロマイシン) へのプロバイオティクス (Lactobacillus, Bifidobacterium含有ヨーグルト) の効果を調べた。プロバイオティクス群 (n=80) のITT解析による除菌率 (91.3% : 73名/80名) はプラセボ群 (n=80) のそれ (78.3% : 63名/80名) よりも有意に高値であったが、PP解析による除菌率では両群で有意な差は認められなかった。

Kimら (38) はL. acidophilus, L. casei, B. longum, S. thermophilusを含むプロバイオティクスヨーグルトの三剤除菌治療 (PPI, アモキシシリン, クラリスロマイシン使用) 時の効果を評価した (Table 5)。プロバイオティクス群 (3週間投与) のITT解析およびPP解析での除菌率はそれぞれ72.5%および87.5%であった。一方、コントロール群 (ヨーグルト投与なし) のITT解析およびPP解析での除菌率は72.1%および78.7%であった。PP解析ではプロバイオティクス群での除菌率が有意に高かったが、ITT解析の結果ではプロバイオティクス群とコントロール群の間に差は認められなかった。

Tongら (65) はプロバイオティクスの除菌率に及ぼす効果に関する11 randomized controlled trial (RCT) 研究を対象にしたメタ解析を行った (使用プロバイオティクス; Bacillus causii, Lactobacillus, Lactobacillus acidophilus, Saccharomyces boulardii, Bifidobacterium, Clostridium butyricum, Lactobacillus rhamnosus, Propionibacterium freudenreichii, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium animalis, Lactobacillus casei)。11研究のうち3研究においてプロバイオティクスの同時投与はH. pyloriの除菌率を有意に高めたが、残りの8

研究ではプロバイオティクス投与群と非投与群での除菌率は類似した数値を示した。全ての症例を対象とした除菌率が比較された。ITT解析でのプロバイオティクス群および非投与群での除菌率はそれぞれ83.6% (463例/554例) および74.8% (389例/520例) であった。オッズ比は1.84 (95%信頼区間=1.34-2.54) であり、プロバイオティクスの投与がH. pylori除菌に有用であることが示された。PP解析においても、プロバイオティクス群での除菌率 (85.4%) は非投与群でのそれ (77.6%) よりも高値を示した (オッズ比=1.82, 95%信頼区間=1.30-2.56)。

近年, Sachdeva & Nagpal (58) はプロバイオティクスの除菌率に及ぼす効果に関する10RCT研究を対象にしたメタ解析を行った (使用プロバイオティクス: Lactobacillus, Bifidobacterium, Lactobacillus acidobacillus, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus bulgaris, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus casei, Bifidobacterium animalis, Lactobacillus johnsonii, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum)。このうち1RCT研究では4剤治療, 5RCT研究では3剤治療, 1RCT研究では1剤治療とのcointerventionが行われ, 残り3RCT研究では除菌治療は行われなかった。ITT解析でのプロバイオティクス群および対照群での除菌率はそれぞれ67.7% (337例/498例) および58.1% (270例/465例) であった。オッズ比は1.91 (95%信頼区間=1.38-2.65) であり、プロバイオティクスの投与がH. pylori除菌に有用であることが示された。

これらの研究結果より三剤除菌療法にプロバイオティクスを併用投与した場合、除菌率が向上する可能性が示唆される。しかし、プロバイオティクスを併用せずとも現行の三剤除菌療法による除菌率は高く80-90%以上を示しているため、除菌率を向上させる意義については議論の分かれるところである。

Table 5. The effect of yogurt on eradication rate for H. pylori

Group	Eradication rate(%) (95% Confidence Interval)	
	ITT analysis*	PP analysis**
Triple therapy + yogurt	79.2%(133 of 168) (72.5-85.9)	87.5%(133 of 152)*** (82.3-92.7)
Triple therapy	72.1%(129 of 179) (64.7-79.5)	78.7% (129 of 164)*** (71.8-85.6)

\*intention-to-treat analysis.

\*\*per protocol analysis.

\*\*\*significantly different between two groups (p = 0.037).  
cited from Ref. (38).

## ②副作用予防における効果

*H. pylori*感染症に対する三剤併用療法は臨床的に有用であることが示されているが、抗菌薬やプロトンポンプインヒビターの引き起こす副作用は無視できない。*H. pylori*除菌のための三剤療法にプロバイオティクスを併用して下痢などの副作用を予防する目的で多数の臨床研究が報告されている。

Armuzziら (3) は60名の*H. pylori*陽性患者に除菌療法(ラベプラゾール+クラリスロマイシン+チニダゾール)への*L. casei* GG株の併用効果を調べた。プロバイオティクス併用群 (n=30) およびプラセボ群 (n=30) における*H. pylori*除菌率はそれぞれ83.3%および80.0%であり、有意な差は認めなかった。しかし、悪心、味覚障害、下痢などの副作用の発生率はプロバイオティクス群で有意に低値であった(プロバイオティクス群 vs プラセボ群: 10.0%, 23.3%, 3.3% vs 36.6%, 50.0%, 26.6%)。Cremoniniら (14) は85名の*H. pylori*陽性の無症候性患者に三剤療法による除菌治療を行い、プロバイオティクスの副作用予防効果を調べた。プロバイオティクス (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *S. boulardii*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) の使用は下痢および味覚障害の発生率を有意に低下させることが明らかにされた (Table 6)。同様に *Bacillus clausii* (49) や *Lactobacillus/Bifidobacterium* 含有ヨーグルト (63) を用いたプロバイオティクス投与は三剤除菌療法における悪心、下痢、上腹部痛、味覚障害、便秘などの副作用の発生を有意に低下させることが報告されている。

一方、Kimら (38) は、三剤除菌治療時 (PPI, アモ

キシシリン、クラリスロマイシン使用) の副作用発現率をプロバイオティクス (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. longum*, *S. thermophilus*を含む) 含有ヨーグルト投与群とコントロール群 (除菌薬の投与のみ) とで比較した。副作用として金属のような味を感じる味覚障害 (11.8%) が最も多く、次いで下痢 (8.6%)、上腹部痛 (3.7%) などが認められた。興味深いことに副作用の発現率はそれぞれの群において41.1% (69/168) および26.3% (47/179) であり、プロバイオティクス群での副作用症例数が有意に多かった ( $p < 0.003$ )。副作用の検出のための問診が2度あったことや、ヨーグルト中の *Lactobacillus* が抗菌薬に作用して味覚障害を引き起こし易くしたことなどが考察されたが、プロバイオティクス群において種々の副作用が多発した原因は不明であった。

Tongら (65) はプロバイオティクスの*H. pylori*除菌治療時の副作用予防効果に関する7RCT研究についてのメタ解析を行った (使用プロバイオティクス: *Lactobacillus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Clostridium butyricum*等)。このうち4RCT研究においてプロバイオティクス投与は投与薬剤による副作用の発生率を有意に低下させた。全ての症例を対象とした副作用の発生率が比較された。プロバイオティクス群での副作用の発生率は24.7% (81例/328例) であり、対照群のそれ (38.5%: 114例/297例) よりも低率であった (オッズ比 = 0.44: 95%信頼区間 = 0.30-0.66)。副作用の中で下痢 (プロバイオティクス群 6.0% vs 対照群 16.1%; オッズ比 = 0.34)、味覚障害

Table 6. Side effect frequencies during eradication week

Symptom	Group 1 (%)*	Group 2 (%)	Group 3 (%)	Group 4 (%)	p value**
Nausea	9.5	5	9.5	15	0.75
Vomiting	0	0	0	5	0.36
Diarrhea	5	5	5	30	0.018***
Constipation	19	14.2	9.5	20	0.77
Loss of appetite	0	9.5	5	15	0.28
Taste disturbance	9.5	5	5	40	0.0027**
Epigastric pain	14.2	14.2	5	14.2	0.7
Bloating	19	19	9.5	19	0.77
Belching	5	0	9.5	0	0.29
Skin rash	0	0	5	0	0.39

\*Triple therapy for eradication was performed to 85 *H. pylori*-positive asymptomatic patients. In addition to the triple therapy, the following treatment was taken; Group 1, *Lactobacillus* GG; Group 2, *S. boulardii*; Group 3, *Lactobacillus* + *Bifidobacterium*; Group 4, placebo.

\*\*Values based on kai-square analysis.

\*\*\*Significant.

cited from Ref. (14).

Table 7. The effect of *L. casei* on eradication rate for *H. pylori* infection

Therapy	Eradication rate		No. of cases positive for side effects		
	PP analysis	ITT analysis	mild**	moderate	severe
QT* + <i>L. casei</i>	97.1 % (33/34)	94.3 % (33/35)	0	0	4
QT + placebo	93.8 % (30/32)	85.7 % (30/35)	5	6	2

\*quadruple therapy.

\*\*mild: tarry stool, nausea, gastric discomfort. moderate: diarrhea, candidiasis, abdominal pain. severe: nausea, vomiting, abdominal pain.

cited from Ref. (66).

(プロバイオティクス群26.0% vs 対照群46.0%；オッズ比=0.38)，悪心（プロバイオティクス群15.6% vs 対照群25.2%；オッズ比=0.58），上腹部痛（プロバイオティクス群16.3% vs 対照群23.0%；オッズ比=0.62）などにおいて，プロバイオティクス投与群での発生率が低値を示した。

Sachdeva & Nagpal (58) はプロバイオティクスの *H. pylori* 除菌治療時の副作用予防効果に関する6RCT研究についてのメタ解析を行った（使用プロバイオティクス：*Lactobacillus*，*Bifidobacterium*，*Lactobacillus acidobacillus*，*Bifidobacterium lactis*，*Lactobacillus bulgaris*，*Streptococcus thermophilus*，*Lactobacillus casei*，*Lactobacillus johnsonii*）。全ての症例を対象としたITT解析の結果，副作用の発生率はプロバイオティクス群で31.5%（118例/375例），対照群で45.9%（158例/344例）であり（オッズ比=0.51；95%信頼区間=0.10-2.58），プロバイオティクス投与が除菌治療剤による副作用の発生を予防する効果があることが示された。

### ③二次除菌療法における効果

第1回目の除菌療法を一次除菌療法とよび，高い除菌率が報告されている。しかし，一次除菌療法が奏功せず，依然 *H. pylori* の感染が陽性のままとなる感染者が少数存在する。一次除菌療法に失敗した *H. pylori* 感染者に対して再度の除菌療法（二次除菌療法とよぶ）が行われる。二次除菌療法におけるプロバイオティクスの併用効果に関する臨床研究が報告されている。

Tursiら(66)は一次除菌に失敗した70名の *H. pylori* 陽性患者に対する二次除菌療法（ラニチジンピスマスクエン酸塩+アモキシシリン+チニダゾール+パントプラゾールまたはエソメプラゾール）におけるプロバイオティクス（*L. casei* DG株）の効果を調べた（Table 7）。プロバイオティクス群（n=35）およびプラセボ群（n=35）における除菌率（PP解析，97.1% vs 93.8%；ITT解析，94.3% vs 85.7%）に有意な差はなかった。しかし，悪心，嘔吐，腹痛，下痢，カンジダ症，黒色便などの副作用の発生はプロバイオティクス群において有意

に低率であった。

### おわりに

各種のプロバイオティクス構成菌は *in vitro* および *in vivo* 研究において *H. pylori* の増殖抑制，胃上皮細胞付着抑制，凝集誘導などを引き起こすことが示された。しかし，プロバイオティクス単独で *H. pylori* を完全に除菌することは困難であるが，*H. pylori* 除菌治療に際して除菌率の向上や副作用予防の点からプロバイオティクスの使用は有用である（23, 27）。*H. pylori* 除菌治療に際して，近年薬剤耐性菌（特にクラリスロマイシン耐性菌）の増加が大きな問題となっている。薬剤耐性菌にも抗菌作用をもつプロバイオティクスが補助的な除菌治療法の一つとして今後広く使用されることが期待される。

### 引用文献

- (1) Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM, Takagi A, Koga Y. 1998. Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol* 93: 2097-2101.
- (2) Annibale B, Marignani M, Monarca B, Antonelli G, Marcheggiano A, Martino G, Mandelli F, Caprilli R, Delle Fave G. 1999. Reversal of iron deficiency anemia after *Helicobacter pylori* eradication in patients with asymptomatic gastritis. *Ann Intern Med* 131: 668-672.
- (3) Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Ojetti V, Cammarota G, Anti M, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 2001. The effect of oral administration of *Lactobacillus* GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 15: 163-169.
- (4) Asahara T, Nomoto K, Shimizu K, Watanuki M, Tanaka R. 2001. Increased resistance of mice to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection by synbiotic administration of Bifidobacteria and transgalactosylated oligosaccharides. *J Appl Microbiol* 91: 985-996.
- (5) Asaka M, Kato M, Sugiyama T, Satoh K, Kuwayama H, Fukuda Y, Fujioka T, Takemoto T, Kimura K, Shimoyama T, Shimizu K, Kobayashi S; Japan Helicobacter pylori

- Eradication Study Group. 2003. Follow-up survey of a large-scale multicenter, double-blind study of triple therapy with lansoprazole, amoxicillin, and clarithromycin for eradication of *Helicobacter pylori* in Japanese peptic ulcer patients. *J Gastroenterol* 38: 339-347.
- (6) Bayerdorffer E, Neubauer A, Rudolph B, Thieda C, Lehn N, Eidt S, Stolte M. 1995. Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 345: 1591-1594.
- (7) Bernet MF, Brassart D, Nesser JR, Servin AL. 1994. *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut* 35: 483-489.
- (8) Bergonzelli GE, Granato D, Pridmore RD, Marvin-Guy LF, Donnicola D, Corthesy-Theulaz IE. 2006. GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun* 74: 425-434.
- (9) Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. 2008. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 371: 651-659.
- (10) Blaser MJ, Atherton JC. 2004. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 113: 321-333.
- (11) Boonyaritichai S, Kuwabara K, Nagano J, Kobayashi K, Koga Y. 2009. Long-term administration of probiotics to asymptomatic pre-school children for either eradication or the prevention of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 14: 202-207.
- (12) Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 2000. A lyophilized inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther* 14: 1625-1629.
- (13) Clements ML, Levine MM, Ristaino PA, Daya VE, Hughes TP. 1983. Exogenous lactobacilli fed to man. Their fate and ability to prevent diarrheal disease. *Prog Food Nutr Sci* 7: 29-37.
- (14) Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli L, Nista EC, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 2002. Effect of different probiotic preparations on anti-*Helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 97: 2744-2749.
- (15) Emilia G, Longo G, Luppi M, Gandini G, Morselli M, Gerrera L, Amarri S, Cagossi K, Torelli G. 2001. *Helicobacter pylori* eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 97: 812-814.
- (16) Felley CP, Corthesy-Theulaz I, Rivero JL, Sipponen P, Kaufmann M, Bauerfeind P, Wiesel PH, Brassart D, Pfeifer A, Blum AL, Michetti P. 2001. Favourable effect of an acidified mild (LC-1) on *Helicobacter pylori* gastritis in man. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 13: 25-29.
- (17) Fukase K, Kato M, Kikuchi S, Inoue K, Uemura N, Okamoto S, Terao S, Amagai K, Hayashi S, Asaka M; Japan Gast Study Group. 2008. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 372: 392-397.
- (18) Fukuda S, Shimoyama T, Umegaki N, Mikami T, Nakano H, Munakata A. 2004. Effect of *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of Japanese patients with chronic idiopathic urticaria. *J Gastroenterol* 39: 827-830.
- (19) Gan BS, Kim J, Reid G, Cadieux P, Howard JC. 2002. *Lactobacillus fermentum* RC-14 inhibits *Staphylococcus aureus* infection of surgical implant in rats. *J Infect Dis* 185: 1369-1372.
- (20) Galdeano CM, Perdigon G. 2006. The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clin Vaccine Immunol* 13: 219-226.
- (21) Gasbarrini A, Carloni E, Gasbarrini G, Chisholm SA. 2004. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases — other Helicobacters. *Helicobacter* 9(Suppl 1): 57-66.
- (22) Gasbarrini A, Franceschi F. 2005. Does *H. pylori* infection play a role in idiopathic thrombocytopenic purpura and in other autoimmune diseases? *Am J Gastroenterol* 100: 1271-1273.
- (23) Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. 2006. Systemic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther* 23: 1077-1086.
- (24) Hoarau C, Martin L, Faugaret D, Baron C, Dauba A, Aubert-Jacquin C, Velge-Roussel F, Lebranchu Y. 2008. Supernatant from *Bifidobacterium* differentially modulates transduction signaling pathways for biological functions of human dendritic cells. *PLoS ONE* 3: e2753.
- (25) Hoffman JS, Cave DR. 2001. Treatment of *Helicobacter pylori*. *Curr Opin Gastroenterol* 16: 30-34.
- (26) Hutt P, Anderson H, Kullisaar T, Vihalemm T, Unt E, Kals J, Kampus P, Zilmer M, Mikelsaar M. 2009. Effects of a symbiotic product on blood antioxidative activity in subjects colonized with *Helicobacter pylori*. *Lett Appl Microbiol* 48: 797-800.
- (27) Hutt P, Shchepetova J, Loivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. 2006. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against enter- and uropathogens. *J Appl Microbiol* 100: 1324-1332.
- (28) Isolauri E. 2003. Probiotics for infectious diarrhoea. *Gut* 52: 436-437.
- (29) Jackson S, Beck PL, Pineo GF, Poon MC. 2005. *Helicobacter pylori* eradication: novel therapy for immune thrombocytopenic purpura? A review of the literature. *Am J Hematol* 78: 142-150.
- (30) Jarosz M, Rychlik E, Siuba M, Respondek W, Ryzko-Skiba M, Sajor I, Gugala S, Blazejczyk T, Ciok J. 2009. Dietary

- and socio-economic factors in relation to *Helicobacter pylori* re-infection. *World J Gastroenterol* 15: 1119-1125.
- (31) Johnson-Henry KC, Mitchell DJ, Avitzur Y, Galindo-Mata E, Jones NL, Sherman PM. 2004. Probiotics reduce bacterial colonization and gastric inflammation in *H. pylori*-infected mice. *Dig Dis Sci* 49: 1095-1102.
- (32) Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y. 1997. Prevention of *Helicobacter pylori* by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut* 41: 49-55.
- (33) Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. 1992. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res* 32: 141-144.
- (34) Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 357: 1076-1079.
- (35) 神谷 茂. 2003. 腸管感染症とプロバイオティクス. *医学のあゆみ* 207: 894-898.
- (36) 神谷 茂. 2005. *Helicobacter pylori* 感染とその病態. *感染・炎症・免疫* 35: 190-199.
- (37) Kim JM, Kim JS, Kim YJ, Oh YK, Kim IY, Chee YJ, Han JS, Jung HC. 2008. Conjugated linoleic acids produced by *Lactobacillus* dissociates IKK- $\gamma$  and Hsp90 complex in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *Lab Invest* 88: 541-552.
- (38) Kim MN, Kim N, Lee SH, Park YS, Hwang J-H, Kim J-W, Jeong S-H, Lee DH, Kim JS, Jung HC, Song IS. 2008. The effects of probiotics on PPI-triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter* 13: 261-268.
- (39) Kusters JG, Kuipers EJ. 1999. *Helicobacter* and atherosclerosis. *Am Heart J* 138: S523-S527.
- (40) Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev* 19: 449-490.
- (41) Lievin-Le Moal V, Amsellem R, Servin AL, Coconnier MH. 2002. *Lactobacillus acidophilus* (strain LB) from the resident adult human gastrointestinal microflora exerts activity against brush border damage promoted by a diarrhoeagenic *Escherichia coli* in human enterocyte-like cells. *Gut* 50: 803-811.
- (42) Lin W-H, Lin C-K, Sheu S-J, Hwang C-F, Ye W-T, Hwang W-Z, Tsen H-Y. 2009. Antagonistic activity of spent culture supernatants of lactic acid bacteria against *Helicobacter pylori* growth and infection in human gastric epithelial AGS cells. *J Food Sci* 74: 225-230.
- (43) Linsalata M, Russo F, Berloco P, Caruso ML, Matteo GD, Cifone MG, Simone CD, Ierardi E, Di Leo A. 2004. The influence of *Lactobacillus brevis* on Ornithine decarboxylase activity and polyamine profiles in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Helicobacter* 9: 165-172.
- (44) Lopez-Brea M, Alarcon T, Domingo D, Diaz-Reganon J. 2008. Inhibitory effect of Gram-negative and Gram-positive microorganisms against *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 61: 139-142.
- (45) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat, G; European *Helicobacter Pylori* Study Group (EHPG). 2002. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 16: 167-180.
- (46) Michetti P, Dorta G, Wiesel H, Brassart D, Verdu E, Herranz M, Felley C, Porta N, Rouvet M, Blum AL, Corthesy-Theulaz I. 1999. Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (johnsonii) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion* 60: 203-209.
- (47) Miwa H, Misawa H, Yamada T, Nagahara A, Ohtaka K, Sato N. 2001. Clarithromycin resistance, but not CYP2C-19 polymorphism, has a major impact on treatment success in 7-day treatment regimen for cure of *H. pylori* infection: a multiple logistic regression analysis. *Diag Dis Sci* 46: 2445-2450.
- (48) Nam H, Ha M, Bae O, Lee Y. 2002. Effect of *Weissella confusa* strain PL9001 on the adherence and growth of *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol* 68: 4642-4645.
- (49) Nista EC, Candelli M, Cremonini F, Cazzato IA, Zocco MA, Franceschi F, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 2004. *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: randomised, double-blind, placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 20: 1181-1188.
- (50) Pasceri V, Cammarota G, Patti G, Cuoco L, Gabarrini A, Fedeli P, Cremonini F, Fedeli G, Maseri A, Gasbarrini G. 1998. Association of virulent *Helicobacter pylori* strains with ischemic heart disease. *Circulation* 97: 1675-1679.
- (51) Patel R, Cockerill FR, Porayko MK, Osmon DR, Ilstrup DR, Keating MR. 1994. Lactobacilemia in liver transplant patients. *Clin Infect Dis* 18: 207-212.
- (52) Pinchuk IV, Bressollier P, Verneuil B, Fenet B, Sorokulova IB, Megraud F, Urdaci MC. 2001. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics. *Antimicrob Agent Chemother* 45: 3156-3161.
- (53) Pletincx M, Legein J, Vandenplas Y. 1995. Fungemia with *Saccharomyces boulardii* in a 1-year-old girl with protracted diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 21: 113-115.
- (54) Reid G, Bruce AW. 2003. Urogenital infections in women: can probiotics help? *Postgrad Med J* 79: 428-432.
- (55) Reid G, Charbonneau D, Gonzalez S, Gardiner G, Erb J, Bruce AW. 2002. Ability of *Lactobacillus* GR-1 and RC-14 to stimulate host defences and reduce gut translocation and infectivity of *Salmonella typhimurium*. *Nutraceut Food* 7: 168-173.
- (56) Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 16: 658-672.
- (57) Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M, Larsen CN, Moller PL, Tvede M, Weyrehter H, Valerius NH, Paerregaard A. 2002. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains on acute diarrhea in a cohort of nonhospitalized children attending day-care centers. *Pediatr Infect Dis J* 21: 417-419.
- (58) Sachdeva A, Nagpal J. 2009. Effect of fermented milk-



- based probiotic preparations on *Helicobacter pylori* eradication: a systemic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21 : 45-53.
- (59) Sakamoto I, Igarashi M, Kimura K, Takagi A, Miwa T, Koga Y. 2001. Suppressive effect of *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG21) on *Helicobacter pylori* infection in humans. *J Antimicrobial Chemother* 47 : 709-710.
- (60) Seki H, Shiohara M, Matsumura T, Miyagawa N, Tanaka M, Komiyama A, Kurata S. 2003. Prevention of antibiotic-associated diarrhea in children by *Clostridium butyricum* MIYAIRI. *Pediatrics Internat* 45 : 86-90.
- (61) Sgouras D, Maragkoudakis P, Petraki K, Martinez-Gonzalez B, Eriotou E, Michopoulos S, Kalantzopoulos G, Tsakalidou E, Mentis A. 2004. In vitro and in vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* Shirota. *Appl Environ Microbiol* 70 : 518-526.
- (62) Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD. 2002. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium* containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 16 : 1669-1675.
- (63) Steidler L, Hans W, Schotte L, Neiryck S, Obermeier F, Falk W, Fiers W, Remaut E. 2000. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science* 289 : 1352-1355.
- (64) Takahashi M, Taguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Kamiya S. 2000. Studies of the effect of *Clostridium butyricum* on *Helicobacter pylori* in several test models including gnotobiotic mice. *J Med Microbiol* 49 : 635-642.
- (65) Tong JL, Ran ZH, Shen J, Zhang CX, Xiao SD. 2007. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 25 : 155-168.
- (66) Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti G.M, Modeo ME. 2004. Effect of *Lactobacillus casei* supplementation on the effectiveness and tolerability of a new second-line 10-day quadruple therapy after failure of a first attempt to cure *Helicobacter pylori* infection. *Med Sci Monit* 10 : 662-666.
- (67) Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC, Jan CM, Lai CH, Wang TN, Wang WM. 2004. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *Am J Clin Nutr* 80 : 737-741.
- (68) Warren JR, Marshall BJ. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1 : 1273-1275.
- (69) Weston S, Halbert A, Richmond P, Prescott SL. 2005. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomized controlled trial. *Arch Dis Child* 90 : 892-897.
- (70) Zhou C, Feng-Zhen M, Deng X-J, Yuan H, Ma H-S. 2008. *Lactobacillus* inhibit interleukin-8 production induced by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide-activated Toll-like receptor 4. *World J Gastroenterol* 14 : 5090-5095.

## 各論

## 2. 微生物別の種類別にみた施設内感染制御

## 1) 細菌

## クロストリジウム・ディフィシル

神谷 茂<sup>1)</sup>

**(KEYWORDS)** クロストリジウム・ディフィシル, トキシン, ディフィシル菌関連下痢症  
 [臨床検査 53 : 1355-1359, 2009]

## はじめに

ディフィシル菌(クロストリジウム・ディフィシル: *Clostridium difficile*)はグラム陽性の偏性嫌気性細菌であり, 当初培養が困難(difficult)なことより, *Clostridium difficile* と命名された。本菌はトキシン A, トキシン B, バイナリートキシンなどの種々の毒素を産生する。感染症治療の際に抗菌薬が投与され, 腸内フローラが攪乱されることにより, 本菌の異常増殖と上記トキシンの産生により, 抗菌薬関連下痢症(antibiotic-associated diarrhea; AAD)や偽膜性大腸炎(pseudomembranous colitis; PMC)などのディフィシル菌関連下痢症(*C. difficile*-associated diarrhea; CDAD)を引き起こす。

本稿ではディフィシル菌の細菌学的性状や同感染症の臨床を解説するとともに, 強毒型ディフィシル菌の欧米における流行を紹介し, 施設内感染対策を論じる。

## ディフィシル菌の細菌学的性状

ディフィシル菌は  $0.5 \times 6 \sim 8 \mu\text{m}$  大のグラム陽性偏性嫌気性細菌である(図1)。亜端在性の楕円

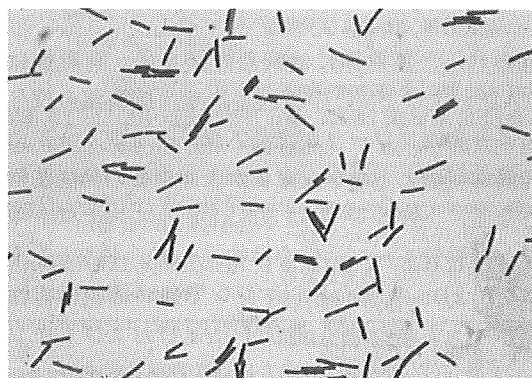


図1 ディフィシル菌のグラム染色像

形の芽胞を産生する。土壌, 干し草, 砂などの自然環境やヒト, 動物(ウシ, ウマ, イヌ, ネコなど)の腸管および糞に棲息する。ヒトでの本菌陽性率は年齢により大きく異なる。新生児では約半数において糞便より検出されるのに対して, 2歳以降になるとその検出率は5%以下とされる(報告では1.9~15.4%)。健康人に比べ, CDAD患者でのディフィシル菌検出率は高く, AAD患者では20~30%, PMC患者では95%以上を示す<sup>1)</sup>。新生児では本菌の検出率が極めて高いにもかかわらず, 症状は全く認められない。

## ディフィシル菌感染における病態

本菌はトキシン A, トキシン B の毒素を産生する有毒株とトキシン産生性のない無毒株とに分

1) KAMIYA Shigeru 杏林大学医学部感染症学・教授

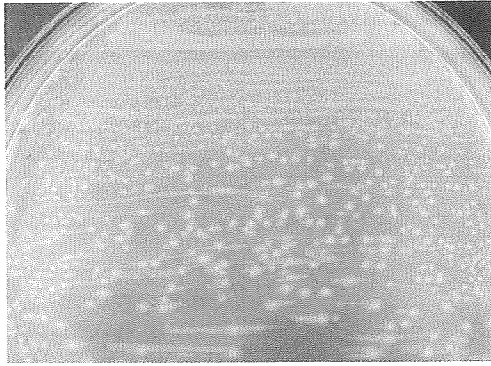


図2 ディフィシル菌のCCFA培地上でのコロニー

けられる。無毒株には病原性がない。有毒株はAADおよびPMCの原因となる。抗菌薬の投与により腸内フローラが攪乱され、ディフィシル菌の異常増殖とトキシン産生が上記疾患の発症基盤となる。トキシンAは308 kDaのエンテロトキシンで腸管ループ活性を示す。一方、トキシンBは270 kDaのサイトトキシンで強い細胞傷害性を示す。トキシンA遺伝子(*tcdA*)およびトキシンB遺伝子(*tcdB*)は19.6 kbの*PaLoc* (pathogenicity locusの意)と呼ばれる遺伝子領域に近接して存在している。この両遺伝子のほかに*tcdD* (positive regulator), *tcdE* (hollin-like protein), *tcdC* (negative regulator)の3つの遺伝子が存在し、*PaLoc*を形成する<sup>2)</sup>。

いずれのトキシンも低分子量GTP結合蛋白質の一種であるRho蛋白質を修飾して、腸管上皮細胞のアクチン骨格を傷害する<sup>3)</sup>。通常の有毒株は両トキシンを産生するが、atypicalな株はトキシンBのみを産生する(A<sup>-</sup>/B<sup>+</sup>株)。A<sup>-</sup>/B<sup>+</sup>株は病院内感染にリンクし、その分離頻度は5%前後であると報告されている<sup>4)</sup>。

## 診断

糞便からの*C. difficile*分離培養法と本菌の抗原およびトキシン検出法とに大別される。本菌の分離培養にはCCFA (cycloserin-cefoxitin fructose agar)培地が用いられる。コロニーは辺縁不整の菊花状を呈し(図2)、長波長(3,600 オングストローム)の紫外線照射により蛍光を発する。表に*C. difficile*抗原およびトキシン検出のために

わが国で市販されているキットを示す(発売予定品も含む)。C.D.チェックD-1は本菌の産生するグルタミン酸脱水素酵素を検出する。トキシンA検出用キットでは近年問題となっているA<sup>-</sup>/B<sup>+</sup>株の検出ができないため、トキシンA、トキシンBのいずれかを検出できる(両トキシンの同定はできない)キットの併用が推奨される。抗菌薬治療後の激しい下痢、腹痛、発熱などの臨床所見は本菌感染症の診断に有用である。PMCでは大腸内視鏡検査により大腸粘膜における偽膜形成を観察する<sup>5)</sup>。

## 治療および予防

ほとんどの分離株はペニシリン、エリスロマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、クリンダマイシンなどの抗菌薬に感受性であるが、臨床的にはバンコマイシンおよびメトロニダゾールが使用される。CDADを疑った場合は投与中の抗菌薬を早急に中止することが重要である。他の感染性腸炎を疑い、本菌に無効な抗菌薬の投与に切り替えることは患者の状態を増悪させるので、慎まなくてはならない。CDADにはバンコマイシンが最も著効を示す。メトロニダゾール投与も有効である。

プロバイオティクス(probiotics)は「生体内、特に腸管内の正常細菌叢に作用し、そのバランスを改善することにより生体に利益をもたらす生きた微生物」と定義されるが<sup>6)</sup>、プロバイオティクスのAAD予防効果について、これまでに多数の研究者により報告されている<sup>7-12)</sup>。*Saccharomyces boulardii*は非病原性の酵母で種々の下痢症の予防および治療に用いられる。*S. boulardii*の経口投与によりADDの発生率の低下と下痢持続日数の短縮化が明らかにされている。乳酸桿菌(*Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*)や腸球菌(*Enterococcus faecium*)などを用いたプロバイオティクスにもAAD予防効果がみられる。また、芽胞産生性の偏性嫌気性菌である*Clostridium butyricum*を用いたプロバイオティクスが抗菌薬投与後の小児(n=110)においてAADの発症率を低下させる(59% vs 5~9%)ことが報告されている<sup>13)</sup>。

表 ディフィシル菌抗原およびトキシン検出のための市販キット

検出対象	測定原理	製品名	メーカー	販売元	感度	備考
Toxin B	細胞培養法	C. DIFFICILE TOX-B Test	TechLab	—	Toxin B : 50 pg/ml	Cytotoxic activity (Toxin B) の検査. ゴールドスタンダード法であるが, 日数を要する, 手技煩雑.
Toxin A	ELFA 法	VIDAS CDA II	ビオメリュー	日本ビオメリュー	Toxin A : 1.25 ng/ml	大量処理が可能であり, 高感度であるが, 専用機が必要.
	イムノクロマト法	クロストリジウム ディフィシルトキシンA検出キット「ユニクイック」	OXOID	関東化学	Toxin A : 1.4 ng/ml	高感度であり, 簡便, 迅速. A <sup>-</sup> B <sup>+</sup> 株の検出ができない.
Toxin A/B	ELISA 法	C. DIFFICILE TOX A/B II	TechLab	—	Toxin A : 0.8 ng/ml Toxin B : 2.5 ng/ml	大量処理が可能であり, 高感度であるが, 時間がかかる.
	イムノクロマト法	TOX A/B QUIK CHEK	TechLab	日水製薬	Toxin A : 0.63 ng/ml Toxin B : 1.25 ng/ml	高感度であり, 簡便, 迅速. A <sup>-</sup> B <sup>-</sup> 株の検出が可能.
		X/Pect Clostridium difficile Toxin A/B	Remel	関東化学	Toxin A : 0.6 ng/ml Toxin B : 3.8 ng/ml	導入予定品. 高感度であり, 簡便, 迅速. A <sup>-</sup> B <sup>+</sup> 株の検出が可能.
抗原検出	EIA 法	イムノカード C. ディフィシル	Meridian	テイエフビー	125 ng/ml	毒素産生株, 非産生株の区別不能. 低感度.
	ラテックス凝集法	C.D. チェック D-1	三菱化学ヤトロン	塩野義製薬	500 ng/ml	非常に簡便であり迅速であるが, 毒素産生株, 非産生株の区別不能. 低感度.

AAD の予防のみならず, プロバイオティクスによる AAD 治療効果も知られている. *L. rhamnosus*, *E. faecium*, *S. boulardii*, *L. reuteri* などの投与は AAD 患者における下痢持続期間および入院期間を短縮するとともに, 体重増加の経過を早めることが明らかにされている.



### 強毒型ディフィシル菌

2002 年よりカナダ, 米国, 英国, オランダ, ベルギー, フランスなどの医療施設や高齢者施設などで免疫抵抗性が低下した宿主を中心に強毒型ディフィシル菌 (epidemic *C. difficile* strain とも呼ばれる) によるアウトブレイクが起きた<sup>14)</sup>. カナダのケベック地域のディフィシル菌腸炎の 2003~2004 年における発生率 (2,500~4,300 人/10 万人) は 1991 年に比べ 4 倍に増加し, 65 歳以上の年齢層ではその増加は 10 倍となった<sup>15)</sup>. この強毒株は制限酵素処理解析により BI 型, パルスフィールド電気泳動により North America PFGE

I 型, PCR-リボタイピングにより 027 型を示すため BI/NAP1/027 型と呼ばれている. ディフィシル菌はその PaLoc 構造の変異に従い, 通常型を 0 型として, 変異型が 24 型の toxinotype に分類されている. 本強毒株は toxinotype III の遺伝子型を示す.

この変異株では毒素の産生をネガティブに調節する *tcdC* の欠損があるため, 菌自体が毒素の産生をコントロールすることができず, トキシン A の産生性が 16 倍, トキシン B の産生性が 23 倍, 亢進している<sup>16)</sup>. さらに, 本強毒変異株では第 3 の毒素といわれる binary toxin の産生がみられる. この毒素は活性を担う A サブユニットと, 結合を担う B サブユニットの 2 つのコンポーネント (それぞれ *cdtA* および *cdtB* 遺伝子によりコードされる) から成り, ADP リボシル化作用および下痢惹起能をもつことが知られている. 加えて BI/NAP1/027 toxinotype III の強毒変異株はフルオロキノロン (シプロフロキサシン, ガチフロキサシンなど) に対する耐性を獲得しており, フ