

# 自然深層地下水における *Helicobacter pylori* の 超微形態学的変化および増殖能

## 学位論文内容の要旨

【背景】 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) は、1980年代に初めて同定され、人間の胃に感染し胃や十二指腸に良、悪性を問わず様々な疾患を引き起こす微好気性菌である。その感染経路に関しては、口-口感染、糞-口感染、水系感染等が考えられているものの、自然界での水中の *H. pylori* に関する研究は殆ど行われていない。現在まで、その水系感染についての具体的な報告は数カ国から数件程度である。我が国においては、井戸水中から *H. pylori* の DNA を同定したという報告があるが、実際に *H. pylori* そのものを同定したのかは明らかではなく、水中での *H. pylori* の様態も不明である。*H. pylori* の自然界、殊に水中での様態を解明できれば、*H. pylori* 感染を予防できる可能性がある。

通常の液体培養下で *H. pylori* を観察すると、その形態は螺旋状から球形へと変化していく事から *H. pylori* は人為的に造られた菌体周囲の環境条件の悪化により螺旋状から球形に変化すると考えられている。しかし、自然界における水中での *H. pylori* の形態学的変化や増殖能に関しては殆ど知られていない。

【材料と方法】自然深層地下水中で *H. pylori* を一週間保存し、その形態を走査、透過、免疫電子顕微鏡で観察し、更に増殖能の経時的変化も観察し解析を行った。また、対照として *H. pylori* を通常の液体培地下で一週間連続培養し同様の観察を行い比較検討した。

【結果】自然深層地下水中で保存した群は螺旋形態の保持能力及び、増殖能の維持能力共に液体培地培養群よりも明らかに優れていた。これらの結果から、*H. pylori* を含んだ生水を摂取する事により *H. pylori* に感染する可能性が考えられた。

【考察】我が国のように周囲を海に囲まれ、内陸にも湖沼や河川が豊富な環境下では、より感染の機会に曝される頻度が高い事も容易に予測され、高齢者の実に70%以上が *H. pylori* に感染しているという事実はこのような理由によると考えられる。今後は、我々日本人の *H. pylori* 感染率が欧州やアメリカ及び中国の人々より高い理由を明らかにする為に、水を用いての更なる研究を行う必要があるものと思われる。

地下水中に保存した群に比べ、培養群において *H. pylori* が早期に球形に変化する理由に関しては明らかではない。我々が *H. pylori* の微細構造を詳細に検討した結果、連

続培養の過程で *H. pylori* が螺旋状態から球形に変化する際に、明らかに異なる2通りの変化を認めた。液体培地培養群では本研究での4日目における球状菌体の比率は高いものの、表面の構造及び細胞内の微細構造はそれ以前の培養日のものと同様であり、その増殖能もある程度保たれていたが同群の7日目における球状菌体では膜構造が破綻し、増殖能も失われていた。即ち、球状菌体には膜構造及び細胞内の微細構造が保たれ増殖能を保持しているものと膜構造及び細胞内の微細構造に破綻を来し増殖能も失われたもの、更に VNC の状態のもの3種類があると考えられる。

*H. pylori* が感染する際に螺旋状態、球形のどちらの状態でも感染するかは明らかではないが、マウスを用いた研究では *H. pylori* は螺旋状態、球形どちらの状態でもマウスの胃粘膜細胞に感染しうるとの報告があり、これは人間に対しても同様であることが予測され、今後更なる検討を要すると思われる。

**【結語】** 自然深層地下水中には *H. pylori* の生存にとって適した環境であるといえる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 浅 香 正 博  
副 査 教 授 今 村 雅 寛  
副 査 教 授 武 蔵 学

学 位 論 文 題 名

## 自然深層地下水における *Helicobacter pylori* の 超微形態学的変化および増殖能

本研究は、自然界における生態が未だ明らかになっていない *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) を深層地下水中で培養し、その経時的な形態や増殖能の推移を観察する事により水中での性状を解明しようとして試みたものである。方法としてはまず、*H. pylori* を通常の液体培地を用いて1日培養し、培養液を深層地下水で置換し7日間保存した。1日毎に *H. pylori* を取り出し電子顕微鏡観察の為に処理を施し、観察を行った。細菌の形状を観察する事に適した走査電子顕微鏡でその形態を観察し菌体1000個中の螺旋状態の *H. pylori* の比率を1日毎に5回以上計測し統計学的手法を用いて解析しグラフ化した。また細菌の内部構造を観察する事に適した透過電子顕微鏡で細胞壁や細胞質の内部構造に関し観察した。また、観察した細菌が確実に *H. pylori* である事を証明する為、抗 *H. pylori* 抗体を用いて菌体を染色し免疫でなし顕微鏡で観察した。また増殖能を調べる為、1日毎に菌液を血液寒天培地に塗末し7日間培養した後、コロニー数を計測する菌数定量を5回以上行い統計学的手法を用いて解析しグラフ化した。また対照群として通常の液体培養による同様の実験も行っている。その結果、深層地下水中で培養した *H. pylori* は7日目でも螺旋形態を保つ菌体の比率が高く、増殖能も保持されていた。一方、通常液体培地で培養した群では3日目からその大多数が球形に変化し増殖能は5日目から完全に失われていた。以上の結果から *H. pylori* は深層地下水中で生存可能であると考えられた。

公開発表にあたって副査の武蔵教授から深層地下水及び通常液体培地の pH の経時的変化に関する質問があった。申請者は地下水の pH に関する検討は行っていないと回答した。また、通常培養群で培養液の交換は行ったかという質問に対しては、本研究では連続培養中に培養液の交換は行っていないと回答した。

続いて副査の今村教授から球状に変化した *H. pylori* を至適培地に戻して培養すると螺旋

形に戻るかとの質問があり、血液寒天培地に塗末し増殖した菌体を観察した際、その殆どが螺旋形であったと回答した。また、地下水を用いた経緯に関しての質問に対しては、*H. pylori* は水を媒介し感染するといわれているが、水中の *H. pylori* を電子顕微鏡を用い詳細に観察した報告が乏しいため行ったと回答した。

最後に主査の浅香教授から球形の *H. pylori* の生物学的活性の有無に関し質問があり、球形の *H. pylori* には増殖能を有することより、生物学的活性はあると思われると回答した。また、今回用いた地下水以外で検討を行っているかとの質問に対しては、そのデータは持っておらず今後の研究テーマとして扱っていきたいと回答した。水道水中ではどうかとの質問に対しては、*H. pylori* は水道水中では生存不能という結果を当グループにおいて過去に得ていると回答した。

本研究は、*H. pylori* の水を媒介とした感染経路の解明の基礎研究として高く評価され、今後更なる研究の発展が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院過程における研鑽や取得単位等も併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。