

Helicobacter pylori に対する水酸化アルミニウム・水酸化マグネシウム 配合制酸剤と抗菌薬との *in vitro* 併用効果

藤岡 利生¹⁾・那須 勝¹⁾・長谷川美幸²⁾・戸田 陽代²⁾
原田由紀子²⁾・小林 寅詰²⁾・成宮 徳親³⁾・田中 照二³⁾

¹⁾ 大分医科大学第二内科*

²⁾ 三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

³⁾ 東京慈恵会医科大学附属第三病院内科学第一

(平成9年2月13日受付・平成9年4月2日受理)

マーロックス®懸濁内服用 (MLX-G) は世界的に繁用されている制酸剤であるマーロックス®の用時懸濁用顆粒剤である。今回我々は酸性領域における MLX-G 存在下での臨床分離 *Helicobacter pylori* に対する抗菌薬と MLX-G の併用効果を *in vitro* で検討した。その結果 MLX-G の sub-MIC 存在下で clarithromycin の MIC が低くなる傾向が認められた。特に clarithromycin 耐性株にその傾向は顕著で、そのうちの 1 株である OTR 10 株の MIC は 32 µg/ml から 0.5 µg/ml まで低下した。また、amoxicillin の MBC についても MLX-G の存在によって低くなる成績が得られた。今回の検討で認められた MLX-G の sub-MIC 存在下での抗菌薬の生活増強効果は、MLX-G 添加による pH の上昇が主な原因と考えられた。しかし、amoxicillin との増強効果に関しては他の要因の関与も示唆された。

Key words: *Helicobacter pylori*, Maalox dry suspension granule, Clarithromycin, Amoxicillin, pH

Helicobacter pylori の除菌療法は抗潰瘍薬と抗菌薬による多剤併用療法が主流となっている。しかしながら、多くの抗菌薬の抗菌力は胃内酸度の影響を受けて低下することが知られており¹⁻³⁾、その抗菌力低下を防止したり、抗菌力を増強させることが可能であれば投与量の減量や副作用の軽減につながると思われる。

そこで今回我々は、制酸剤として世界的に繁用されているマーロックス® (以下 MLX) の懸濁用顆粒剤であるマーロックス®懸濁内服用 (以下 MLX-G) による抗菌薬の MIC におよぼす影響を *in vitro* (酸性領域) において検討した。

I. 材料と方法

1. 試験菌株

胃・十二指腸潰瘍患者胃粘膜由来 *H. pylori* 臨床分離株 9 株 (うち 5 株は clarithromycin 中等度耐性菌) および ATCC 43504 1 株の計 10 株を用いた。臨床分離株は試験直前まで DMSO および馬血清を 10% 添加した Brucella broth (Difco) 中で -80℃ において保存した。解凍後コロンビア羊血液寒天培地 (BBL) に塗抹し、3 日間 CO₂ (10%) 培養したものを使用した。

2. 試験薬剤

マーロックス®懸濁内服用 (MLX-G: 1g中に乾燥水酸化アルミニウムゲル 448 mg, 水酸化マグネシウム 400 mg 含有, ローヌ・プーラン ローラー株式会社), amoxicillin (AMPC: 藤沢薬品工業株式会社), clar-

ithromycin (CAM: 大正製薬株式会社) を使用した。

3. MLX-G の MIC 測定

日本化学療法学会標準法を応用した Semi-solid agar を用いる方法⁴⁾ により行った。すなわち 10%馬血清加 Mueller Hinton broth (Difco) に 0.2%の Bacto Aga (Difco) を加え、MLX-G を 6,400 µg/ml から 25 µg/ml の 2 倍希釈系列となるように調整した。これに各試験菌とも 10⁷ CFU/ml となるように調整し、35℃、72 時間好気培養を行った。培養後その 50 µl を採取し、コロンビア羊血液寒天培地 (BBL) にコンラージ塗抹し、35℃ 72 時間 CO₂ (10%) 培養を行った。発育したコロニーをカウントし、接種菌量の 10 倍を超えない濃度を MIC とした。また、カウントしたコロニーに対し、所定の方法で *H. pylori* の確認を行った。

4. MLX-G sub-MIC 存在下での CAM および AMPC の抗菌活性の測定

あらかじめ pH 6.0 に調整した前述の Semi-solid agar に CAM および AMPC を 32 µg/ml から 0.03 µg/ml の 4 倍希釈系列となるように加え、各々の薬剤濃度に MLX-G を 6,400, 1,600, 400, 100 および 25 µg/ml となるように調整した。試験菌をそれぞれ 10⁷ CFU/ml となるよう接種し、前述と同様に培養後、接種菌量の 10 倍を超えない最小濃度を MIC, 菌の検出限界以下となる濃度を MBC とした。

5. MLX-G 添加時の培地 pH の測定

MLX-G の添加が培地 pH に与える影響を検討するため、前述の培地に MLX-G を 6,400, 1,600, 400, 100 および、25 $\mu\text{g/ml}$ になるよう添加し、それぞれ 30 分、1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 時間後の pH を測定した。

II. 結 果

1. *H. pylori* に対する MLX-G の MIC

H. pylori 各菌株に対する MLX-G の MIC を Table 1 に示した。いずれの *H. pylori* 菌株に対しても本葉の MIC は 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 以上で、6,400 $\mu\text{g/ml}$ を超える株が 5 株存在した。ATCC 43504 株に対しては 1,600 $\mu\text{g/ml}$ で臨床分離株の中でも低値を示した No. 3 および No. 4 と同値であった。

2. MLX-G sub-MIC 存在下での *H. pylori* に対する

CAM および AMPC の抗菌活性

CAM に感受性を示す臨床分離株 (No. 3, 4, 6, 7) および ATCC 43504 株において MLX-G の存在下で一部の株に MIC, MBC が低値化する傾向が見られた (Table 2)。一方, CAM に耐性の 5 株 (OTR 7, 10, 11, 24, 41) に対し MLX-G の濃度の増加に伴い MIC は低値化する傾向が認められた。特に OTR 10 株および OTR 24 株はその傾向が顕著であった。MBC においても OTR 11 株を除き低値化した。MIC ほどではなかった (Table 2)。

AMPC の結果を Table 3 に示した。*H. pylori* に対する AMPC の MIC はいずれの試験菌株に対しても ≤ 0.031 と高感受性で、MLX-G の存在によって MIC の変動は見られなかった。しかし、MBC においては臨床分離 4 株すべてに対し MLX-G の濃度の増加に伴い低値化する傾向が認められた。

3. MLX-G の添加による培地 pH への影響

MLX-G 添加時の培地 pH の測定結果を Table 4 に示した。MLX-G 添加により経時的に培地 pH の上昇が確認され、MLX-G の添加量が多いほど pH の上昇は速く、より高い pH になる傾向が認められた。

III. 考 察

現在 *H. pylori* の除菌療法として抗菌薬とプロトンポンプインヒビター (PPI) など消化器用剤との併用が検討されている。これらの消化器用剤の中には抗菌薬と同程度の抗菌力を持つ薬剤もある⁵⁾。今回我々は臨床の

Table 1. MIC of MLX-G for *Helicobacter pylori* in semi-solid agar

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
No. 3	1,600
No. 4	1,600
No. 6	>6,400
No. 7	3,200
OTR 7	>6,400
OTR 10	>6,400
OTR 11	>6,400
OTR 24	6,400
OTR 41	>6,400
ATCC 43504	1,600

Table 2. MIC and MBC of clarithromycin for *Helicobacter pylori* with MLX-G in semi-solid agar

Strain	Concentration of MLX-G ($\mu\text{g/ml}$)						
	0	25	100	400	1,600	6,400	
MIC	No. 3	0.125	0.125	≤ 0.031	≤ 0.031	<0.031*	-
	No. 4	0.125	0.125	0.125	0.125	<0.031*	-
	No. 6	≤ 0.031					
	No. 7	≤ 0.031	<0.031*				
	OTR 7	8	8	8	8	2	0.125
	OTR 10	32	32	32	8	0.5	0.5
	OTR 11	8	8	8	8	8	0.5
	OTR 24	32	32	32	8	2	<0.031*
	OTR 41	32	32	32	32	8	2
	ATCC 43504	0.125	0.125	0.125	≤ 0.031	<0.031*	-
MBC	No. 3	0.125	0.125	0.125	0.125	<0.031*	-
	No. 4	0.5	0.5	0.5	0.125	<0.031*	-
	No. 6	0.125	0.125	0.125	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031
	No. 7	0.125	0.125	0.125	0.125	≤ 0.031	<0.031*
	OTR 7	32	32	32	32	8	0.125
	OTR 10	32	32	32	32	8	0.5
	OTR 11	32	32	32	32	32	0.5
	OTR 24	32	32	32	8	2	0.125
	OTR 41	32	32	32	32	8	2
	ATCC 43504	0.125	0.125	0.125	0.125	<0.031*	-

-: Not tested

*Growth of *H. pylori* inhibited by MLX-G alone

Table 3. MIC and MBC of amoxicillin for *Helicobacter pylori* with MLX-G in semi-solid agar

Strain	Concentration of MLX-G ($\mu\text{g/ml}$)						
	0	25	100	400	1,600	6,400	
MIC	No. 3	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	$< 0.031^*$	-
	No. 4	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	$< 0.031^*$	-
	No. 6	≤ 0.031					
	No. 7	≤ 0.031	$< 0.031^*$				
	ATCC 43504	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	$< 0.031^*$	-
MBC	No. 3	0.5	0.5	0.125	≤ 0.031	$< 0.031^*$	-
	No. 4	0.125	0.125	≤ 0.031	≤ 0.031	$< 0.031^*$	-
	No. 6	2	2	2	2	≤ 0.031	≤ 0.031
	No. 7	0.5	0.5	0.5	0.125	≤ 0.031	$< 0.031^*$
	ATCC 43504	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	$< 0.031^*$	-

-: Not tested

*Growth of *H. pylori* inhibited by MLX-G alone

Table 4. Change in medium pH with the addition of MLX-G

MLX-G ($\mu\text{g/ml}$)	Time (h)								
	0	0.5	1	2	4	8	24	48	72
1,600	6.0	6.9	6.9	7.0	7.0	7.1	7.1	7.3	8.0
400	6.0	6.5	6.5	6.6	6.6	6.6	6.6	6.7	7.5
100	6.0	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.3	6.4
25	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.2	6.2
0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.1	6.1

場で常用されている胃炎・消化性潰瘍治療剤である MLX-G の抗菌力を検討した。

Hirschl A らは MLX を含む制酸剤のいくつかは *H. pylori* に対して抗菌作用を有すると報告しているが⁶⁾、今回我々の試験結果からは、MLX-G は抗菌作用を有するが、その活性は単剤で除菌が期待できるほど強くないことが確認された。

しかし、我々の検討においては、MLX-G の添加により *H. pylori* に対する CAM の MIC, MBC および AMPC の MBC は低くなり、抗菌薬との併用効果が確認された。今回用いた試験菌株は AMPC に対していずれも高感受性であり、MLX-G との併用によって MIC への増強効果はあまり確認できなかったが、MBC については優れた相乗効果が認められた。

一部の抗菌薬の抗菌力は pH の低下に伴い低下することがあり、*H. pylori* の除菌に用いられる CAM や AMPC も pH の影響を受けることが知られている¹⁻³⁾。結果には示さなかったが、今回我々も臨床分離株 4 株および ATCC43504 1 株を用いて各種 pH における CAM および AMPC の抗菌力を測定したところ、pH が高くなるにつれ感受性化する成績を得ている。また、MLX-G 添加により培地の pH が上昇していることから、今回得られた併用効果は、MLX-G 添加による培地 pH の上昇が主な要因と考えられる。また、CAM 中等度耐性菌に対する併用効果が感受性菌よりも顕著に見

られたことから、耐性菌は感受性菌より pH の影響を受けやすいことが考えられる。

一方、Cederbrant G らによって AMPC は CAM ほど pH の影響を受けないことが報告されており³⁾、我々の結果と一致している。したがって AMPC の抗菌力が増強された要因としては、単なる pH の変動だけでなく MLX-G そのものの作用も考えられる。

また、MLX-G と同様にアルミニウムを含有する薬剤が *H. pylori* に対していくつかの作用を有することも報告されており⁷⁻⁹⁾、これらが今回の結果になんらかの影響をおよぼした可能性も考えられる。著者らは感受性測定上における問題点としてマクロライド系抗菌薬の酸性領域での力価の低下を指摘しているが、今回得られた成績ほど顕著な例は認めていない。これらのことから今回確認された併用効果には MLX-G による pH 上昇以外の作用も推測される。我々は MLX-G がウレアーゼ活性阻害作用を有することも報告しており、本薬剤の *H. pylori* に対する作用機序には非常に興味深いものがある。

H. pylori の除菌療法は世界各国で検討されているが、我が国においてはビスマス製剤や抗原虫薬が使用しにくい状況もあり、これに代わる薬剤の検討が進められている。CAM, AMPC は、*H. pylori* に対して強い抗菌活性を有する薬剤として知られているが、単独では除菌率が低い¹⁰⁾ことや、高い除菌率を得るために、

通常より多量投与が必要となり、コンプライアンスの低下や副作用が発生しやすいという問題¹¹⁾がある。現在ではこれらを中心とした多剤併用療法が種々検討されているが^{10)~12)}、除菌率の向上と副作用の軽減が、解決すべき問題点であることには変わりはない。また、近年では CAM 耐性菌の出現も大きな問題となっている¹³⁾。

今回、臨床的に繁用されている MLX-G と、これらの抗菌薬との併用効果が認められたこと、特に CAM 中等度耐性菌における併用効果が顕著であったことは、抗菌薬の減量による副作用の軽減を考えるうえで、非常に有意義な結果である。

H. pylori の除菌療法に適切な薬剤は、本菌に対する作用を有する他に、安全性が高く、コストパフォーマンスに優れる等の条件を兼ね備えることも必要である。今後 MLX-G の *H. pylori* に対する作用およびその機序の検討が進められることを期待する。

この論文は第 43 回日本化学療法学会東日本支部総会において発表し、座長より学会誌に投稿するよう推薦を受けたものである。

文 献

- Hardy D J, Hanson C W, Hensey D M, et al.: Susceptibility of *Campylobacter pylori* to macrolides and fluoroquinolones. *J Antimicrob. Chem.* 22: 631~636, 1988
- Malanoski G J, Eliopoulos G M, Ferraro M J, et al.: Effect of pH variation on the susceptibility of *Helicobacter pylori* to three macrolide antimicrobial agent and Temafloxacin. *Eur. J. Clin. Microbiol. infect. Dis* 12: 131~133, 1993
- Cederbrant G, Kahlmeter G, Schalen C, et al.: Additive effect of clarithromycin combined with 14-hydroxy clarithromycin, erythromycin, amoxicillin, metronidazole or omeprazole against *Helicobacter pylori*. *J. Antimicrob. Chem.* 34: 1025~1029, 1994
- 藤岡利生, 那須 勝, 戸田陽代, 他: *Helicobacter pylori* に対する Mueller Hinton 半流動培地を用いた新 MIC 測定法の有用性。日本化学療法学会雑誌 44: 867~873, 1996
- Fujioka T, Fujiyama K, Hiramatsu K, et al.: *In vitro* activity of novel proton pump inhibitors against *Helicobacter pylori*. Recent advances in chemotherapy (Einhorn J, Nord C E, Norbby S R, eds), p.613~621, American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1993
- Hirschl A, Stanek G, Pötzi R, et al.: Die Empfindlichkeit von *Campylobacter pyloridis* gegenüber antimikrobiellen Chemotherapeutika und ulcusterapeutika. *ZAC* 4 (2): 45~49, 1986
- Berstad K, Weberg R, Berstad A: Is there a place for antacids in the treatment of *Helicobacter pylori* Infection? *Scand J Gastroenterol* 27: 1006~1010, 1992
- Slomiany B L, Murty V L N, Piotrowski J, et al.: Glycosulfatase activity of *H. pylori* toward human gastric mucin: effect of sucralfate. *Am J Gastroenterol* 87 (9): 1132~1137, 1992
- Slomiany B L, Piotrowski J, Slomiany A: Effect of sucralfate on the degradation of human gastric mucus by *Helicobacter pylori* protease and lipases. *Am J Gastroenterol* 87 (5): 595~599, 1992
- Chiba N, Rao B V, Rademaker J W, et al.: Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 87 (12): 1716~1727, 1992
- Malfertheiner P: Compliance, adverse events and antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* treatment. *Scand J Gastroenterol* 28: suppl, 196: 34~37, 1993
- Soll A H: Medical treatment of peptic ulcer disease. *JAMA* 275 (8): 622~629, 1996
- 小林寅詰, 戸田陽代, 長谷川美幸, 他: 胃潰瘍患者胃粘膜より分離した *Helicobacter pylori* 新鮮株の各種抗菌薬感受性。日本化学療法学会雑誌 44: 719~722, 1996

Effect of concomitant use of a aluminum hydroxide/magnesium hydroxide combination with antibacterial drugs against *Helicobacter pylori* *in vitro*

Toshio Fujioka¹⁾, Masaru Nasu¹⁾, Miyuki Hasegawa²⁾,
Haruyo Toda²⁾, Yukiko Harada²⁾, Intetsu Kobayashi²⁾,
Teruji Tanaka³⁾ and Norichika Narimiya³⁾

¹⁾ Second Department of Internal Medicine, Oita Medical University, 1-1 Idaigaoka, Hazama-city, Oita, Japan

²⁾ Chemotherapy Division, Mitsubishi-Kagaku Bio-Clinical Laboratories

³⁾ Department of Internal Medicine (I), Daisan Hospital, The Jikei University School of Medicine

Maalox® dry suspension granule (MLX-G), a granular preparation of Maalox®, an antacid widely used all over the world, is suspended in water immediately before use. In this study, we investigated the effect of concomitant use of MLX-G and antibacterial drugs on clinical isolates of *Helicobacter pylori* under the acidic conditions. The result showed that the MIC of clarithromycin (CAM) tended to be decreased by MLX-G. This tendency was especially remarkable for CAM-resistant organisms, and the MIC of OTR 10, one of the strains, decreased from 32 µg/ml to 0.5 µg/ml. MBC of amoxicillin (AMPC) was also decreased by MLX-G. The enhanced effect of antibacterial drugs observed in this experiment was considered to be mainly attributable to the increase in pH due to the addition of MLX-G. However, the enhanced effect when used concomitantly with AMPC appeared to be related to other factors as well.