

## 【原著・基礎】

Rifampicin 服用患者における *Helicobacter pylori* の保菌状況藤村 茂<sup>1,4)</sup>・川村 武<sup>2)</sup>・麻生 昇<sup>3)</sup>・高橋 洋<sup>4)</sup>・渡辺 彰<sup>4)</sup><sup>1)</sup>宮城大学看護学部微生物学\*, <sup>2)</sup>同 消化器病態学<sup>3)</sup>宮城県立瀬峰病院内科<sup>4)</sup>東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野

(平成 12 年 8 月 29 日受付・平成 12 年 9 月 26 日受理)

*Helicobacter pylori* 除菌療法として、本邦では clarithromycin, amoxicillin と proton pump inhibitor の 3 剤併用療法が検討されているが、これら薬剤の耐性菌が報告され問題になりつつある。われわれは、臨床分離 *H. pylori* 25 株を用いて各種抗生物質の薬剤感受性測定を行い、あわせて感受性薬剤の耐性獲得試験を実施した。この基礎的検討から rifampicin (RFP) が *H. pylori* に感受性を示し、かつ耐性獲得を示しにくいことを確認した。これらの成績をもとに、結核および非定型好酸菌症治療のため RFP を服用している患者 40 名を対象に *H. pylori* 血清 IgG 抗体価測定と [<sup>13</sup>C] urea breath test を実施した。血清抗体価からみた RFP 服用患者の *H. pylori* 保菌率は 65% であると共に、RFP 服用による *H. pylori* の菌陰性化率は 23.1% であった。現在、3 剤併用療法のうちの 2 剤として検討されているものの、耐性化が懸念されている clarithromycin と amoxicillin の代替薬剤としての RFP の有効性が示唆された。

**Key words:** rifampicin, *Helicobacter pylori*, <sup>13</sup>C-尿素呼気試験, 除菌

1983 年に Warren と Marshall<sup>1)</sup>により *Helicobacter pylori* が胃内に棲息していることが明らかにされたが、*H. pylori* の除菌により消化性潰瘍の再発が抑制された<sup>2)</sup>ことなどから消化性潰瘍の病態における *H. pylori* 感染の関与が明らかにされてきた。その後、消化性潰瘍の治療法として *H. pylori* の除菌療法が確立されつつあり、proton pump inhibitor (PPI) をベースに clarithromycin (CAM) と amoxicillin (AMPC) の 2 剤を併用投与する 3 剤併用療法を中心に検討が進められている<sup>3)</sup>。現在、除菌療法として考えられている化学療法剤は CAM と AMPC の他に minocycline (MINO) と metronidazole (MTZ)<sup>4)</sup>があるが、一方では耐性菌の出現問題も報告されており、除菌療法を進める上で大きな課題となってきた。そこでわれわれは、現在 *H. pylori* の除菌に用いられている各種抗生物質の他に抗結核剤も含めて *H. pylori* に対する薬剤感受性試験などの基礎的検討を行い、rifampicin (RFP) の *H. pylori* に対する有用性が示唆されたため、臨床的に RFP が常用量において *H. pylori* にどのような効果を示すかについて RFP 投与患者を対象とし、*H. pylori* 感染に関する若干の検討を行った。

## I. 材料と方法

## 1. 使用菌株

菌株は仙台社会保険病院で 1998 年 2 月から 7 月に臨床分離された *H. pylori* 25 株を使用した。この 25 株は、すべて除菌療法を受ける前の胃潰瘍患者の胃内から分離された株である。

## 2. 薬剤感受性

各菌株に対する抗生物質の最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration; MIC) は E-test (アスカ純薬) にて測定した<sup>5)</sup>。純培養された菌株を McFarland 0.5 の菌液に調整後、10% 馬血液寒天培地に塗布し、37℃ の好気条件下で 72 時間培養後、判定した。

## 3. 耐性獲得試験

2. で感受性が確認された 4 薬剤に関し、CAM に中等度耐性を示した 1 株を除き、感受性を示した *H. pylori* 24 株を使用した。すなわち各薬剤の 1 MIC の 1/2 濃度で 37℃、72 時間好気培養後、生残した菌液を、さらに 72 時間毎に新しい薬剤希釈系列 (128~0.031 μg/mL の倍数希釈) に 1/2 MIC 濃度で植え継ぐ操作を繰り返した<sup>7)</sup>。MIC の変化を毎回観察して 10 回継代した。

## 4. 対象

結核および非定型好酸菌症治療のため、RFP を 2 週間以上服用しており、かつ *H. pylori* 除菌療法剤として検討されている PPI, CAM, AMPC を服用したことの無い 30 歳以上の患者とした。実施症例 40 名のうち男性 28 名、女性 12 名で平均年齢は 60.8 歳であった。さらに対象患者の症例については消化性潰瘍既往の有無、服薬の既往、その他の病歴についても問診を実施した。

5. *H. pylori* 保菌と菌陰性化

*H. pylori* の保菌の既往は *H. pylori* 血清 IgG 抗体の測定 (SRL 社) により確認<sup>8)</sup>し、検査時点での保菌状況は [<sup>13</sup>C] urea breath test (UBT) により確認した<sup>9)</sup>。UBT は最初に呼気を採取し、その後、試験薬である [<sup>13</sup>C] urea

100 mg を 100 mL の水に溶解して服用した。服用後ただちに口腔内洗浄を行い 20 分後、再び呼気を取扱した。各々の呼気中<sup>13</sup>C を測定 (大塚アッセイ研究所) し、増加率を算出した。判定は  $\Delta^{13}\text{C}$  値が 2.5% 以上を陽性とした。*H. pylori* 血清 IgG 抗体陽性者でかつ UBT 陰性例は、RFP 投与に伴って菌が陰性化した可能性があるものと判断した。

## II. 結 果

### 1. 薬剤感受性

被検菌株の各種抗生物質に対する MIC を Table 1 に示した。isoniazid の MIC は、被検菌株すべてが >256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の高度耐性を示したが、RFP を含む他の 4 剤については、その MIC<sub>90</sub> が RFP; 0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , CAM; 0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , AMPC; 0.064  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , MINO; 0.047  $\mu\text{g}/\text{mL}$  といずれも感受性を示した。

### 2. 耐性獲得試験

継代ごとの RFP, CAM, AMPC, MINO の 4 剤の MIC 90 の成績を Fig.1 に示した。AMPC と MINO は継代 4 回目より MIC の上昇が認められたが、RFP と CAM は継代による MIC の変化は認められなかった。

### 3. *H. pylori* 保菌と菌陰性化率

*H. pylori* 血清 IgG 抗体価を測定した 40 例における陽性例の年代別の成績を Fig. 2 に示した。40 歳以上の抗体陽性率は 69% であった。

*H. pylori* 保菌状況と菌陰性化の成績を Table 2 に示した。*H. pylori* 血清 IgG 抗体陽性例、すなわち *H. pylori* 保菌既往例は、40 例中 26 例 (65%) であった。その 26 例中 UBT 陰性例、すなわち RFP 服用によって菌が陰性化したと考えられる例は、6 例 (23.1%) であ

った。

## III. 考 察

*H. pylori* の胃内感染が消化性潰瘍の主因として認識されるようになってきている。今回のわれわれの検討でも RFP を服用している患者のなかで問診によって胃潰瘍治療歴を有する患者は 40 例中 7 例 (17.5%) 確認された。この 7 例中 *H. pylori* 血清 IgG 抗体陽性例は 6 例 (85.7%) であり、これは胃潰瘍の既往がなく抗体陽性を示した、33 例中 20 例 (60.6%) と比較しても高く、胃潰瘍と *H. pylori* の関連性を支持するものと考えられた。この成績からも *H. pylori* の除菌は胃潰瘍発現防止に重要であると考えられる。

本邦において *H. pylori* 除菌療法が新たな潰瘍治療になりつつあるが、一方においては耐性菌の出現が問題になってきている<sup>4</sup>。現在、PPI に抗生物質 2 剤を併用する 3 剤併用療法を中心に検討されているが、日本国内分離株では、Gotoh らは *H. pylori* の AMPC 耐性は認められないものの、CAM には 9.5%、MTZ に 7.9% の耐性を報告している<sup>10</sup>。われわれが本検討で使用した臨床分離株の調査では CAM の MIC が 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の中等度耐性株を 25 株中 1 株 (4%) に認めた。一方、国外

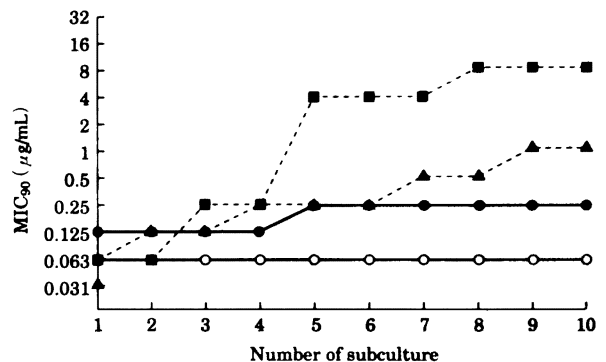


Fig. 1. *In vitro* development of drug resistance. ○: clarithromycin, ●: rifampicin, ▲: amoxicillin, ■: minocycline

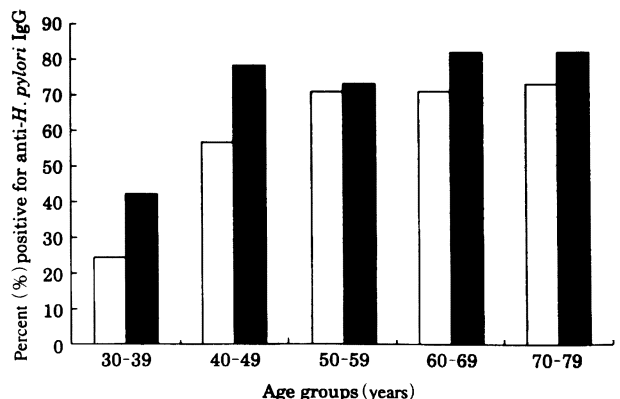


Fig. 2. *Helicobacter pylori* infection rate of patients treated with rifampicin according to age.

Table 1. MICs of five antibiotics against 25 isolates of *Helicobacter pylori*

Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
	range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Isoniazid	>256	>256	>256
Rifampicin	0.125- 0.75	0.125	0.125
Clarithromycin	0.125-16	0.125	0.125
Amoxicillin	0.064- 0.5	0.064	0.064
Minocycline	0.047- 0.5	0.047	0.047

Table 2. Conversion to *Helicobacter pylori* negative by patients treated with rifampicin

		UBT**	
		positive	negative
Total	40	25	15
IgG-Ab*	positive	26	6
	negative	14	9

\*Serum anti-*H. pylori* IgG antibody

\*\*The [<sup>13</sup>C] urea breath test was used to detect *H. pylori* status

の報告では、薬剤の使用頻度の違いなどから耐性の出現頻度は国内の報告と若干異なるが<sup>11)</sup>、3剤併用療法によっても除菌されなかった株では耐性の上昇が有意に認められた<sup>12)</sup>。このことから今後本邦で除菌療法が一般化されれば耐性獲得は重要な課題になることは必至であり、慎重な薬剤投与が要求されると共に他の薬剤の適応についても検討すべきと考えられる。今回われわれは *H. pylori* が酸性環境下に常在していることから抗酸菌との類似性に着目し、抗酸菌病治療薬の代表である INH と RFP の *H. pylori* に対する抗菌作用を検討した。臨床分離 *H. pylori* 25 株は、INH には高度耐性を示したが、RFP には感受性を示し、かつ耐性を獲得しにくいことが確認され、除菌療法剤としての有用性が示唆された。RFP は、抗酸菌に対して単独使用すると耐性を獲得しやすいことが知られているが、今回の耐性獲得試験では約 1 か月の薬剤接触においても耐性を獲得しなかった。次にわれわれは、RFP が *H. pylori* に抗菌力を示したことを受けて、RFP 服用中の患者における *H. pylori* 保菌状況を検討した。

*H. pylori* 血清 IgG 抗体価は、*H. pylori* 除菌によって低下するが 1 年以上は血中に存在する<sup>13)</sup>ことから、*H. pylori* 血清 IgG 抗体陽性者は *H. pylori* 感染の既往を示しているものと解釈される。一方、UBT は、現時点での *H. pylori* 感染の確認をあらわすものであって、その感度および特異度は、それぞれ 98.2%、97.9% と高く、精密度も 98.1% と高いことから<sup>9)</sup>その陽性は、検査時点での胃内 *H. pylori* 生菌保菌を意味するものと考えられている。また、この UBT の *H. pylori* 血清 IgG 抗体価に対する感度および特異度は 92.5%、87.3% であり、正診率も 91.3% と高い一致率が示されている<sup>9)</sup>。したがって、これらの方法による *H. pylori* 胃内保菌状況の検討は、適正なものと考えられ、われわれも今回この 2 つの方法で検討した。その結果、Table 2 に示される成績を得たが、これは *in vitro* で得られた RFP の *H. pylori* に対する感受性の結果をほぼ裏づけているものと考えられる。すなわち RFP 服用患者における *H. pylori* 血清 IgG 抗体陽性者 26 例のうち 6 例 (23.1%) は UBT では陰性を示した。両測定法間の感度が 92.6% であることや自然除菌の頻度がきわめて少ないこと<sup>14)</sup>を考慮すると、このことは RFP 服用によって *H. pylori* の除菌が得られた可能性がきわめて高いものとする。また、日本における無症候者の *H. pylori* 保菌率は 40 歳以上の検討では約 80%<sup>9)</sup>と高率であるのに対し RFP 服用患者の 40 歳以上の *H. pylori* 保菌率は 69% と若干低い値を示したが、Fig. 2 に示される年代別な分布の差は、これまでの報告<sup>9)</sup>とよく似ており、今回の結果の安全性を示すものである。佐仲らは、結核患者では *H. pylori* 血清 IgG 抗体が低いことを報告<sup>15)</sup>しており、また腸管系結核患者では *H. pylori* の感染率も低いとの報

告<sup>16)</sup>があり、今回の検討結果を裏づけているものと思われる。いずれの場合も RFP は抗結核剤としての常用量で使用されているが、用法や用量、さらには他剤との併用などによる *H. pylori* 除菌を念頭においた投与法が検討されれば、除菌効果はさらに上昇するものと期待される。*H. pylori* 除菌の 3 剤併用療法が実施されている国外では、除菌失敗例における応急処置として CAM の代わりに RFP を入れた 3 剤併用療法で 74% の例で除菌が成功したとの報告もある<sup>17)</sup>。

RFP は、一般的には耐性を獲得しやすい薬剤であるが、現在 *H. pylori* 除菌療法は 1 週間投与で検討されており RFP への耐性獲得はあまり問題ないものと思われる。しかしながら、RFP は結核治療に欠かすことのできない数少ない貴重な薬剤であることから、難治例や除菌失敗例における緊急措置的意味合いでの臨床応用<sup>17)</sup>はもっと検討されてしかるべきものとする。

本論文は第 48 回日本化学療法学会総会に発表し、編集委員会より投稿推薦を受けたものである。

#### 謝 辞

本研究を終えるにあたり、宮城野病院内科荒井秀夫先生には症例検討におきましてご協力いただきました。また仙台社会保険病院消化器科大原正志先生には *H. pylori* 臨床分離株の提供をいただきました。心から感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) Warren J R, Marshall B J: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* I: 1273~1275, 1983
- 2) NIH consensus conference: *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 272: 65~69, 1994
- 3) The European *Helicobacter pylori* study group: Current European concept in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Gut* 41: 8~13, 1997
- 4) Borody T J, Brandl S, Andrews P, et al.: Use of high efficacy, lower dose triple therapy to reduce side effects of eradicating *Helicobacter pylori*. *Am. J. Gastroenterol.* 89: 33~38, 1994
- 5) Miyaji H, Azuma T, Ito S, et al.: Susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates to metronidazole, clarithromycin and amoxicillin *in vitro* and in clinical treatment in Japan. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 11: 1131~1136, 1997
- 6) Cederbrant G, Kahlmeter G, Ljungh A: The E test for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *J. Antimicrob. Chemother.* 31: 65~71, 1993
- 7) 青木泰子, 柏木平八郎: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 院内感染における医療従事者鼻腔保有株の意義に関する検討。感染症学雑誌 64: 549~556, 1990
- 8) Asaka M, Kimura T, Kudo M, et al.: Relationship of *Helicobacter pylori* to serum pepsinogens in an

- asymptomatic Japanese population. *Gastroenterology* 102: 760~766, 1992
- 9) Ohara S, Kato M, Asaka M, et al.: Studies of <sup>13</sup>C-urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Japan. *J. Gastroenterol.* 33: 6~13, 1998
  - 10) Gotoh A, Kawakami Y, Akahane T, et al.: Susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates against agents commonly administered for eradication therapy and the efficacy of chemotherapy. *Microbiol. Immunol.* 41: 7~11, 1997
  - 11) Graham D Y: Clarithromycin for treatment of *Helicobacter pylori* infections. *European J. Gastroenterol & Hepatol.* 7 (Suppl 1): 55~58, 1995
  - 12) Moayyed P, Rangunathan P L, Mapstone N, et al.: Relevance of antibiotic sensitivities in predicting failure of omeprazole, clarithromycin, and tinidazole to eradicate *Helicobacter pylori*. *J. Gastroenterol.* 33 (Suppl X): 62~65, 1998
  - 13) Guillermo I P P, Alan F C, Martin J B: Value of serology as a noninvasive method for evaluating the efficacy of treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Clin. Infect. Dis.* 25: 1038~1043, 1997
  - 14) Bonatovola N, Kashiwagi S, Abdi Y, et al.: *H. pylori* seroconversion and seroreversion in an Okinawa cohort followed for 10 years. *Am. J. Gastroenterol.* 89: 1300 (abstract), 1994
  - 15) 佐仲雅樹, 平間才智生, 花田佳典, 他: 抗結核薬の *Helicobacter pylori* に対する *in vivo* 効果について。第 84 回日本消化器病学会抄録集。A 223, 1998
  - 16) 小松弘一, 今村清子, 増田英明, 他: *Helicobacter pylori* 関連胃粘膜病変に及ぼす抗結核療法の影響—特に病理組織学的改善効果について。日本消化器病学会雑誌 96 (臨): A 445, 1999
  - 17) Perri F, Festa V, Clemente R, et al.: Rifabutin-based 'rescue therapy' for *Helicobacter pylori* infected patients after failure of standard regimens. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 14: 311~316, 2000

### *Helicobacter pylori* infection rate in patients treated with rifampicin —Eradication effect of rifampicin on *Helicobacter pylori*

Shigeru Fujimura<sup>1,4)</sup>, Takeshi Kawamura<sup>2)</sup>, Noboru Asou<sup>3)</sup>,  
Hiroshi Takahashi<sup>4)</sup> and Akira Watanabe<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Microbiology, <sup>2)</sup>Department of Gastroenterology, School of Nursing, Miyagi University, 1 Gakuen, Taiwa-cho, Miyagi Pref. 981-3298, Japan

<sup>3)</sup>Department of Respiratory Medicine, Miyagi Prefectural Semine Hospital

<sup>4)</sup>Department of Respiratory Oncology and Molecular Medicine, Division of Cancer Control, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

Eradication therapy of *Helicobacter pylori* infection by standard proton pump inhibitor-based triple therapies (clarithromycin and amoxicillin) has been correlated with cure of peptic ulcer disease. On the other hand an increase in drug-resistant *H. pylori* has been reported to be a clinical problem. Thus, the aim of this study was to clarify the effect of rifampicin by susceptibility tests and *in vitro* inducement of drug resistance on *H. pylori*. In the *in vivo* study, anti-*H. pylori* IgG antibody and the [<sup>13</sup>C] urea breath test were used in a total 40 tuberculosis and atypical tuberculosis patients treated with rifampicin. The prevalence of *H. pylori* infection was low in the patients treated with rifampicin, and the eradication rate was 23.1%. The results of this study suggested that rifampicin eradicates *H. pylori* in tuberculosis and atypical tuberculosis patients treated with the drug.