

ピロリ菌の新しい検査「ヘリコバクター・ピロリ核酸およびクラリスロマイシン耐性遺伝子検出」について

Novel genetic diagnostic of *H. pylori* infection and its clarithromycin susceptibility

ふる た たか ひさ
古田隆久
Takahisa FURUTA

はじめに

本邦の *H. pylori* の一次除菌療法は、胃酸分泌抑制薬である PPI (プロトンポンプ阻害剤) や Vonoprazan (VPZ) とアモキシシリン (AMPC) とクラリスロマイシン (CAM) の三剤療法が標準である。VPZ の胃酸分泌抑制作用は PPI よりも強力で、除菌率も PPI の場合よりも高いため、VPZ と AMPC と CAM の三剤で行われることが多い。この除菌療法の成否に関わる要因に *H. pylori* の CAM 耐性がある。治験の成績では CAM 感受性では 97.6%であった除菌率が、CAM 耐性では 82.0%と有意に低くなる¹⁾。興味深いことは、CAM 感受性菌であれば、PPI でも同程度 (97.3%) の除菌率が達成できるのであった。

この CAM 耐性の問題は VPZ が出現する前から議論がされてきた。ただ、二次除菌療法である三剤 PPI or VPZ/AMPC/メトロニダゾール (MNZ) 療法の除菌率が 90%以上を達成できるため、一次除菌、二次除菌の二段階の除菌を経れば、最終的な除菌率は 95%以上を達成できることとなり、除菌前の耐性の有無の検査の必要性は必ずしも高いものではなかった。しかし、海外では一次除菌療法の除菌率を高める取り組みがされ、また、研究レベルでは、一次除菌から感受性試験の結果に応じた抗菌薬の選択を行うことで、一次除菌でも 90%以上の除菌率が得られることが示されており²⁻⁴⁾、一次除菌率の向上のために除菌療法前の感受性試験の重要性は常に言われてきたことである。そして、2022 年 11 月に「ヘリコバクター・ピロリ核酸及びクラリスロマイシン耐性遺伝子検出」が保険収載となった。そこで、

この検査の臨床的な意義について私見とともに概説する。

I. CAM耐性検査の従来からの問題点

H. pylori の感受性試験の保険収載に関しては非常に曖昧な点が多い。クラリスロマイシンの添付文書⁵⁾には「用法・用量に関連する使用上の注意」のところに「本剤の使用にあたっては、耐性菌の発現等を防ぐため、原則として感受性を確認し、疾病の治療上必要な最小限の期間の投与にとどめること」とあり、添付文書上でも感受性試験が推奨されている。しかし、本邦では感受性試験の結果に関わらず、一次除菌療法で使用可能な抗生物質は決められており、感受性試験をしても抗菌薬の選択の余地がなく、また、MNZ も一次除菌での使用は原則保険適応外であり、一次除菌で用いることは容易ではない。こうしたこともあり、*H. pylori* の抗菌薬感受性試験は診療報酬上は D019 (01) 1 菌種 180 点として算定可能なはずであるが、各都道府県の社会保険事務所の判断によって、認められない場合があるようである。しかし、日本ヘリコバクター学会のガイドライン⁶⁾ や日本消化器病学会のステートメント⁷⁾ では、CAM 耐性状況を検査して適切な抗菌薬を選択することが繰り返し提唱されてきたのであった。そして、今回ついに、遺伝子検査であるが、CAM 耐性検査が可能となったのである。

II. CAM耐性の検査方法 培養法とPCR検査

H. pylori の抗菌薬感受性試験は培養法による方

法が一般的であり、培養検査ではCAMのみならず、AMPC、MNZ、minocycline (MINO)、sitafloxacin (STFX) に対する感受性試験が行われる。しかし、本邦でのAMPCの耐性はまれであり、MNZの耐性も低いと言われている。そのため、一次除菌療法で最も有用なものは、CAM耐性である。

このCAM耐性は23S rRNAの2142と2143位のAからGへのSNPによることが分かっており、その変異の有無を検査することでCAM耐性は判別可能である⁸⁻¹⁰。そして、迅速にこのSNPを検査する方法が開発されており、内視鏡検査を施行した当日にSNPに応じた除菌薬の処方が可能となる¹¹⁻¹³。実際、迅速検査による個別化療法の実例が報告されている¹⁴。

Ⅲ. 保険になった *H. pylori* のCAM耐性変異の検出

H. pylori のCAM耐性変異を含めての感染診断方法が「ヘリコバクター・ピロリ核酸及びクラリスロマイシン耐性遺伝子検出」として2022年11月に保険収載となった。この検査はPCR法によるもので、胃内容液（胃液）を検体としている。胃液中から*H. pylori* がPCR法でCAM耐性の有無とともに検出可能であることはすでに報告されている^{8, 9, 11, 15, 16}。今回、研究レベルではなく実臨床の検査方法として認められた点が重要であると考えられる。

H. pylori のPCR診断を可能としたミズホメディー社のスマートジーンは、医療現場でのPCR診断のための機器であり、既にインフルエンザ、クロストリジウム・ディフィシル、マイコプラズマ、SARS-CoV-2のPCR診断を可能としてきたもので、今回*H. pylori* のPCR診断キットが保険収載されたのである。研究室で行うようなピペット操作等は一切不要で、全自動でPCR解析が可能であり、研究用ではなく医療用の検査機器である。

実際の内視鏡検査現場での検査方法であるが、上部消化管内視鏡検査中に吸引ラインと内視鏡の間に胃液採取用のトラップを装着し、胃液が吸引されたらトラップを外し、採取された胃液から専用の綿棒を用いて粘液（濁って見える部分）を絡み取るように採取し、それを専用のDNA抽出液の入ったチューブに移し、チューブごと揉むことでDNA抽出を行

い、その液を専用のカートリッジに滴下して、スマートジーン本体にセットしてスタートボタンを押すだけである（図1）¹⁷。

筆者らのクリニックでは実際に使用している。操作は看護師に任せているが、内視鏡検査中の胃液の採取からその後の操作まで特に問題なく行われており、慣れてしまえば胃液採取後1-2分でスマートジーン本体のスタートボタンが押せるのである。検体採取後40-50分で結果が得られる。結果は機械本体のディスプレイに表示されるとともに、カートリッジに記載した患者ID等と一緒にロール紙に印字されて出てくる。鎮静をかけて内視鏡検査をした場合には、鎮静から覚める頃には結果が判明している。

この検査方法のメリットであるが、胃液を検体とするため、生検の必要はなく、抗血栓薬を内服している症例でも安全に検体採取ができる点あげられる。検査のためとはいえ、胃粘膜を生検されることに若干の抵抗感を感じる症例もいるが、本方法はそうした患者でも受け入れ可能と考えられる。

Ⅳ. スマートジーンでの *H. pylori* 検出感度

Tsudaら¹³の報告によれば、培養法を基準とした場合の感度は100.0%とのことであり、従来から言われているPCR法の高感度が再現されている。特異度が95.9%との事であるが、培養法を基準としているため培養法の偽陰性が考えられる。そして、CAM耐性の有無に関して、培養法での結果に対して67例中の65例で一致しており（97.0%）、きわめて信頼性が高いと考えられる。*H. pylori* のCAM感受性菌とCAM耐性菌が混在することは以前からも報告されていたが¹⁸、スマートジーンの検出能は耐性菌率が20%程度までとのことである。Tsudaら¹³の報告の、不一致の2例の耐性菌率は13%と23%であったとのことである。

筆者のクリニックでも使用しているが、内視鏡的に現感染と判断された症例にてCAMへの感受性とともに非常に高い感度で*H. pylori* の検出が可能である（表1）。偽陰性を1例で経験したが、その原因は至って単純であった。上部消化管内視鏡検査時には、食道の観察から始めるため唾液等が付着している場合には水洗をするが、その洗浄液は胃内に落ち込んでしまう。その時は、内視鏡が胃内に入った直

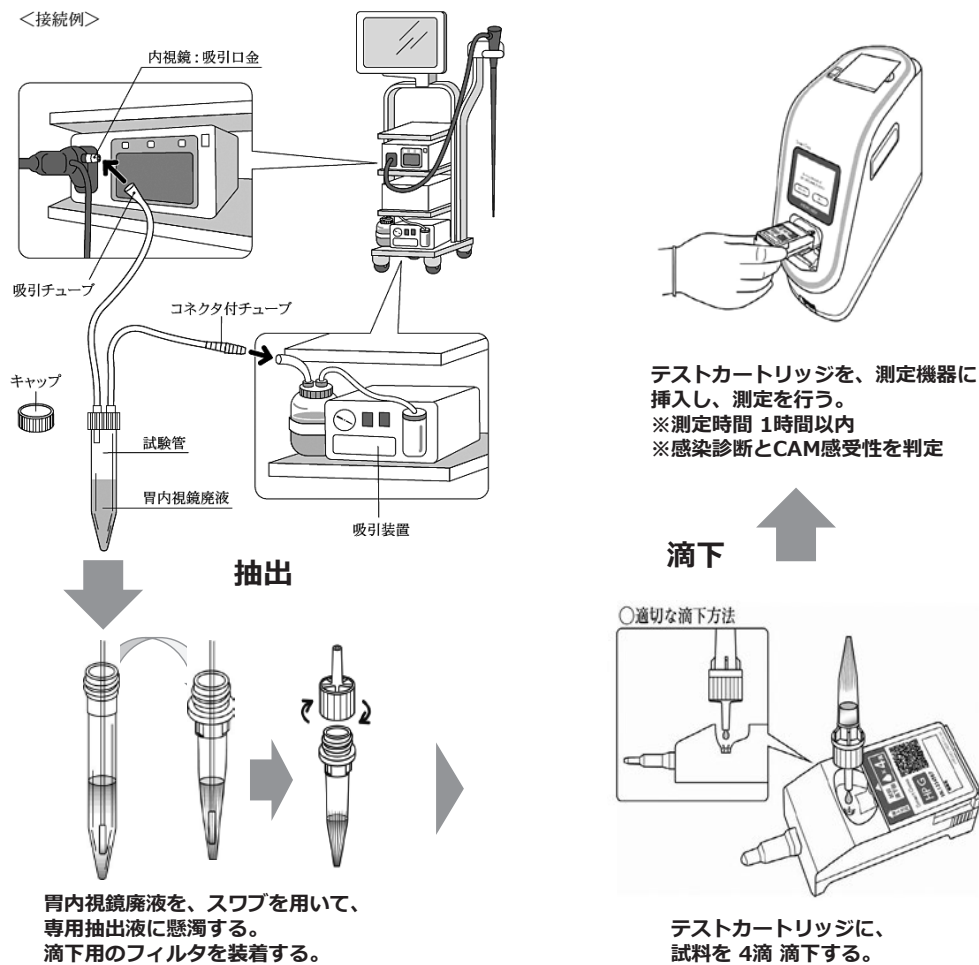


図 1 スマートジーンでの *H. pylori* 検査の流れ
(文献17)を参照)

表 1 上部消化管内視鏡検査中の迅速ウレアーゼ試験とスマートジーン結果の相関 (ふるた内科クリニック)

		スマートジーン核酸検出			合計
		陽性 CAM感受性	陽性 CAM耐性	陰性	
迅速 ウレアーゼ試験	陽性	41	33	1	75
	陰性	5	2	72	79
合計		46	35	73	154

後に穹窿部の貯留液を吸引してしまったため、食道洗浄液を吸引してしまった可能性が高い。この経験から、胃液の採取のタイミングは、ある程度の胃内の観察を行い、胃粘液を洗浄で剥がしとったり、スコープの操作である程度スコープが胃壁を擦った後に胃液を採取することとしている。それ以降は、偽陰性は経験していない。

V. CAM感受性・耐性の結果をどのように除菌レジメンに反映させるべきか

除菌療法前に CAM 耐性と判明した場合には、除菌レジメンから CAM は除くべきであろう。実際、CAM 耐性の場合には、三剤 VPZ/AMPC/CAM 療法が 76.2%であったのに対し、CAM を除いた二剤 VPZ/AMPC 療法の除菌率は 92.3%であり、三剤療法よりも除菌率が高いことが報告されている¹⁹⁾。また、二剤 VPZ/AMPC 療法において AMPC を分 3

表2 クラリスロマイシン耐性に応じた個別化療法の除菌率の報告

標準治療レジメン	標準治療除菌率	個別化治療レジメン	個別化治療除菌率	P	報告者
LPZ/AMPC/CAM	71.40%	CAM耐性でMNZ使用	94.3% (33/35)	<0.05	Kawai, T (4)
LPZ/AMPC/CAM	70.0% (105/150)	CAM耐性で高用量PPI/AMPC療法	96.0% (144/150)	<0.001	Furuta, T (3)
VPZ/AMPC/CAM	93.3% (514/551)*	CAM耐性でMNZ使用	98.0% (145/148)	<0.05*	佐々木 (21)
VPZ/AMPC/CAM	94.0% (349/371)*	CAM耐性でMNZ使用	98.5% (134/136)	0.053*	安藤 (20)
PPI/AMPC/CAM	71.9% (41/57)	感受性試験に応じたレジメン	94.7% (54/57)	0.002	Park, et al. (2)

投与することで、十分な除菌率が得られることも報告されている²⁰⁾。以上より、二剤 VPZ/AMPC 療法は CAM 耐性の場合の選択肢の一つである。CAM には、CYP3A4 や p 糖蛋白の阻害作用があったり、QT 延長のリスクもある。そうした観点からも CAM 耐性と判明した場合には、CAM を除菌レジメンから削除することを強く推奨する。

もう一つの選択肢は、CAM の代わりに MNZ を使用することである。この考え方は以前からあり、PPI 時代にも 90% 以上の除菌率が達成されており²⁻⁴⁾、VPZ 時代になっても CAM を MNZ への変更で有意に除菌率が改善することが報告されている(表 2)^{21, 22)}。MNZ は、二次除菌療法での抗菌薬であるため、一次除菌での使用は困難であるが、消化器病学会からの 2014 年のステートメントでも、症状詳記に記載することで使用することを提唱している。また、二次除菌レジメンでは VPZ と PPI で除菌率に差が無いことが報告されているため、三剤 VPZ/AMPC/MNZ 療法に加えて三剤 PPI/AMPC/MNZ 療法も選択肢になり得ると考えられる(図 2)。

CAM 感受性菌の場合では、CAM の使用に問題がない限り、VPZ/AMPC/CAM 療法が選択される。なお、治験の成績では PPI でも 97.3% の除菌率が達成されており、こちらも VPZ/AMPC/CAM に加えて、VPZ よりも安価な PPI を用いた PPI/AMPC/CAM 療法も選択肢になると考えられる(図 2)。なお、併用薬や不整脈のリスクで CAM や MNZ の服用に懸念があれば、二剤 VPZ/AMPC 療法が推奨される。

おわりに

2022 年 11 月に保険収載となった「ヘリコバクター・

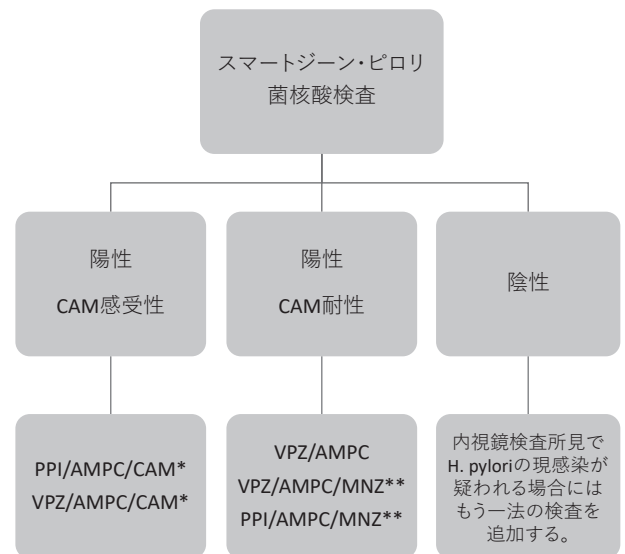


図2 CAM耐性有無別の除菌レジメン

*CAM 感受性の場合でも CAM 使用が懸念される場合には、二剤 VPZ/AMPC 療法を推奨する。
**CAM 耐性の場合でも MNZ の使用が懸念される場合には、二剤 VPZ/AMPC 療法を推奨する。

ピロリ核酸及びクラリスロマイシン耐性遺伝子検出」について、これまでの *H. pylori* の CAM 耐性検査に関する問題点を含めて概説した。新しい遺伝子検査は、高感度で *H. pylori* の感染診断が可能であり、しかも、CAM 耐性か否かも判明するため *H. pylori* の個別化除菌療法に貢献でき、一次除菌率の向上に貢献できると考えられる。一次除菌での MNZ の使用の是非もあるが、二剤 VA 療法での除菌も可能である。個別化療法をすることで、VPZ ではなく PPI でも十分に除菌できる場合もあり、除菌薬の選択肢の幅が広がることも考えられる。また、胃液を検体とするため、検体採取の安全性も高い。従って、本検査は今後の *H. pylori* 感染症の診療の質的向上に大きく役立つと考えられる。本検査を施行するには、スマートジーン本体の購入が必要であるが、他のい

くつかの感染症の診断にも応用可能であり、医療施設に設置して不利益はないと考えられる。

文 献

- 1) Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimura A, Asaka M. Vonoprazan, a novel potassium-competitive acid blocker, as a component of first-line and second-line triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a phase III, randomised, double-blind study. *Gut*. 2016; **65**(9): 1439-1446.
- 2) Park CS, Lee SM, Park CH, Koh HR, Jun CH, Park SY, et al. Pretreatment antimicrobial susceptibility-guided vs. clarithromycin-based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication in a region with high rates of multiple drug resistance. *Am J Gastroenterol*. 2014; **109**(10): 1595-1602.
- 3) Furuta T, Shirai N, Kodaira M, Sugimoto M, Nogaki A, Kuriyama S, et al. Pharmacogenomics-based tailored versus standard therapeutic regimen for eradication of *H. pylori*. *Clin Pharmacol Ther*. 2007; **81**(4): 521-528.
- 4) Kawai T, Yamagishi T, Yagi K, Kataoka M, Kawakami K, Sofuni A, et al. Tailored eradication therapy based on fecal *Helicobacter pylori* clarithromycin sensitivities. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008; **23** Suppl 2: S171-174.
- 5) 大正製薬株式会社 日マ. クラリスリッド錠200mg 添付文書(第35版). 2020.
- 6) 日本ヘリコバクター学会ガイドライン作成委員会. *H. pylori* 感染の診断と治療のガイドライン 2016改訂版. 先端医学社. 2016.
- 7) 日本消化器病学会 *H. pylori* 診断治療委員会. ヘリコバクター・ピロリ感染胃炎]に対する除菌治療に関する Q&A 一覧. https://www.jsge.or.jp/member/shikkan_qa/helicobacter_pylori_qa. 2014.
- 8) Furuta T, Soya Y, Sugimoto M, Shirai N, Nakamura A, Kodaira C, et al. Modified allele-specific primer-polymerase chain reaction method for analysis of susceptibility of *Helicobacter pylori* strains to clarithromycin. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; **22**(11): 1810-1815.
- 9) Nakamura A, Furuta T, Shirai N, Sugimoto M, Kajimura M, Soya Y, et al. Determination of mutations of the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* by allele specific primer-polymerase chain reaction method. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; **22**(7): 1057-1063.
- 10) Furuta T, Sagehashi Y, Shirai N, Sugimoto M, Nakamura A, Kodaira M, et al. Influence of CYP2C19 polymorphism and *Helicobacter pylori* genotype determined from gastric tissue samples on response to triple therapy for *H. pylori* Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005; **3**(6): 564-573.
- 11) Furuta T, Soya Y, Sugimoto M, Nishino M, Yamade M, Uotani T, et al. Rapid Automated Genotyping of CYP2C19 and *Helicobacter pylori* 23S rRNA Gene in Gastric Juice. *Journal of GHR*. 2013; **2**(4): 508-512.
- 12) ミズホメディー. 全自動遺伝子解析装置 Smart Gene®. https://www.medicco.co.jp/poc_web/products/equipment/em_47186677.html.
- 13) Tsuda M, Watanabe Y, Oikawa R, Watanabe R, Higashino M, Kubo K, et al. Clinical evaluation of a novel molecular diagnosis kit for detecting *Helicobacter pylori* and clarithromycin-resistant using intragastric fluid. *Helicobacter*. 2022; **27**(6): e12933.
- 14) 山出美穂子, 樋口友洋, 鈴木崇弘, 鏡卓馬, 魚谷貴洋, 古田隆久. Vonoprazan を用いた除菌治療における, 内視鏡下吸引胃液による Clarithromycin 耐性遺伝子変異検査の意義. *日本ヘリコバクター学会雑誌*. 2019; **20**(2): 69-70
- 15) Furuta T, Kaneko E, Suzuki M, Arai H, Futami H. Quantitative study of *Helicobacter pylori* in gastric mucus by competitive PCR using synthetic DNA fragments. *J Clin Microbiol*. 1996; **34**(10): 2421-2425.
- 16) Furuta T, Takashima M, Futami H, Arai H, Hanai H, Kaneko E. Amount of *Helicobacter pylori* in gastric mucus during anti-*H. pylori* treatment. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998; **13**(5): 511-515.
- 17) 株式会社ミズホメディー, ヘリコバクターピロリ核酸キット スマートジーン *H.pylori* G テストカートリッジ 添付文書 https://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/30300EZX00099000_A_01_03/30300EZX00099000_A_01_03?view=body
- 18) Matsuoka M, Yoshida Y, Hayakawa K, Fukuchi S, Sugano K. Simultaneous colonisation of *Helicobacter pylori* with and without mutations in the 23S rRNA gene in patients with no history of clarithromycin exposure. *Gut*. 1999; **45**(4): 503-507.
- 19) Suzuki S, Gotoda T, Kusano C, Ikehara H, Ichijima R, Ohyauchi M, et al. Seven-day vonoprazan and low-dose amoxicillin dual therapy as first-line *Helicobacter pylori* treatment: a multicentre randomised trial in Japan. *Gut*. 2020.
- 20) Furuta T, Yamade M, Kagami T, Uotani T, Suzuki T, Higuchi T, et al. Dual Therapy with Vonoprazan and Amoxicillin Is as Effective as Triple Therapy with Vonoprazan, Amoxicillin and Clarithromycin for Eradication of *Helicobacter pylori*. *Digestion*. 2019: 1-9.
- 21) 安藤貴志, 堀江隆介, 村上貴彬, 今本栄子, 大瀬琢也, 千藤麗, et al. PCAB時代における, ピロリ菌の薬剤感受性を考慮した一次除菌療法の有効性. *日本ヘリコバクター学会雑誌*. 2020; **21**(2): 74-77.
- 22) 佐々木誠人, 前川高天, 西林宏之, 安藤貴志, 赤松泰次, 須藤弘之, et al. クラリスロマイシン耐性がヘリコバクター・ピロリ除菌治療に及ぼす影響 一多施設共同レトロスペクティブ研究一. *日本ヘリコバクター学会雑誌*. 2018; **19**(2): 127-132.