●〈臨床研究〉

Rabeprazole と胃液を用いた *Helicobacter pylori* 阻止円作製に 関する基礎的検討

大和宣介¹⁾ 小田常人 堀部俊哉 鈴木孝典
杉浦弘和 原田容治 大和明子²⁾ 田村俊明

¹⁾戸田中央総合病院／消化器内科, ²⁾同／内科

〔Key Words〕 *Helicobacter pylori*, 阻止円

はじめに

近年、胃・十二指腸潰瘍において、*Helicobacter pylori* (以下 *H. pylori*) の除菌を目的に Proton Pump Inhibitor (以下 PPI) と抗生剤を中心とした治療が行われる¹⁾ ようになった。しかしながら、内服した薬剤の胃粘膜あるいは胃液中での *H. pylori* 抑制効果を直接検討した報告は少ない。そこで今回われわれは PPI の一つである Rabeprazole (以下 RPZ) を用いて、胃粘膜での濃度測定を目的に *H. pylori* 培地上で阻止円と検量線の作製を試みた。

対象および方法

1. 薬剤濃度別阻止円径の測定：

試験薬剤は RPZ を、*H. pylori* は臨床株 12 株を、検定培地は Blood Agar Base No. 2 と馬血清を混合した培地を用いた。検定菌の調整は、報告した方法²⁾ に従い Columbia Ager で 35°C 48 時間炭酸ガス培養後、検定培地に接種しシャーレに分注・固定・乾燥した。標準希釈溶液は 1/15M リン酸 Buffer (pH7.0) で希釈し、RPZ の薬剤濃度が 100 から 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調整した。阻止円の作製は直径 8 mm 薄層ディスク上に標準希釈溶液を接種後、検定培地上に貼りつけ 35°C、72 時間、炭酸ガス培養を行い阻止円径測定を行った。各菌株、各標準希釈溶液濃度に対し 3 回ずつ施行し平均値を算出した。*H. pylori* 培地に見られた実際の阻止円を Color 1 に示す。

2. 胃液の *H. pylori* に対する影響：

胃粘膜内の薬剤濃度を検討する上で胃液の影響は重要な問題といえる。そこで胃液の *H. pylori* に対する影響を検討する目的で、上部内視鏡検査施行時に得られた胃液を標準希釈溶液に添加し同様の方法による阻止円径で評価した。

3. 胃液中の *H. pylori* 抑制因子の検討：

1) 胃液の種々の処理における *H. pylori* への影響：胃液を遠心分離、熱処理、透析濾過、乾固処理し

Fig. 1 Straight line observed with RPZ concentrations of 0.78~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Fig. 2 Straight line could be obtained by adding gastric juice to standard dilution solutions. Gastric juice also had an effect.

た後、同様の方法で得られた阻止円径から抗菌活性を評価した。

2) 内視鏡検査の前処置薬の影響：キシロカインスプレー、キシロカインビスカス、ガスコンドロップについて同様の培地、同様の培養条件を用い、試験管内で *H. pylori* 発育の有無を検討した。

3) 無処置の胃液の *H. pylori* への影響：前処置薬を用いなく、経鼻胃管挿入により得られた胃液 2 検体を用い、同様のディスク法にて阻止円作製を行なった。

結 果

1. RPZ の検量線：

12 菌株中 3 株で薬剤濃度 0.78~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に良好な直線性が得られた (Fig. 1)。

2. 胃液の *H. pylori* に対する影響：

胃液を標準希釈溶液に添加した結果、Fig. 2 に示すごとく、良好な直線性が得られた。しかしながら、胃液の添加により阻止円径が著明に拡大する例がみられた。

Table 1 The pre-treatment drugs xylocaine and gascon inhibited *H. pylori*.

	×10	×20	×40	×80	×160	×320	×640	×1280
8% Xylocaine pump Spray	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2% Xylocaine viscous	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
Gascon drop	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)

(+): *H. pylori* well growth
(-): *H. pylori* poor growth

Table 2 Untreated gastric juice did not have an effect on *H. pylori*.

Gastric Juice No.	×1	×2	×4	×8
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+

+: *H. pylori* well growth

3. 胃液中の *H. pylori* 抑制因子:

1) 各処理での影響: いずれの処理においても *H. pylori* 抑制因子の存在が示唆された。

2) 前処置薬の影響: いずれの薬剤も *H. pylori* 抑制効果が示された (Table 1)。

3) 無処置の胃液の影響: 今回の実験条件では *H. pylori* 抑制効果は見られなかった (Table 2)。

考 察

今回の検討から、ディスク法を用いることにより、胃液中での PPI の定量が可能で、*in vitro* での PPI の抗菌活性が直接示された。しかしながら、PPI 投与により、*H. pylori* が coccoid form に変形することも報告³⁾されており、cocoid が菌の生存可能な状態か、それとも死菌状態なのか現在では明確にされておらず、阻止円と抗菌作用にはさらなる検討が必要である。また、胃液の添加による阻止円径の拡大例より、胃液中に *H. pylori* 抑制因子の存在が疑われたことは興味ある結果である。矢部ら⁴⁾も胃液中に抑制する要素を指摘しているが、透析処理の結果からは高分子蛋白は否定的と思われる⁵⁾。今回の結果ではキシロカイン等の前処置薬に *H. pylori* 抑制作用が認められたが、その作用機序については不明であり、今後の検討が必要である。また、無処置の胃液には明らかな *H. pylori* 抑制が見られず、薬剤濃度定量に用いる胃粘膜標本の採取方法には十分な注意が必要と考えられる。今後、本法を用いることで除菌成功例および不成功例の胃粘膜

中の PPI 等の薬剤濃度が直接定量できれば、より優れた除菌療法の開発に役立つものと期待される。

文 献

- 1) 青山伸朗, 里中和廣, 吉田 寛: 除菌療法の変遷・歴史. Medical Practice 13: 1895—1900, 1996.
- 2) 大和宣介, 月岡佳久, 鈴木孝典, 他: 第1回埼玉 *H. pylori* 研究会記録集: 9, 1998.
- 3) 溝口博本, 藤岡利生: コッコイドフォームの出現とその対策: Journal of *Helicobacter* Research 1: 467—472, 1997.
- 4) 矢部 諭, 藤原研司: *H. pylori* 陽性者の胃液 pH が胃液蛋白, 特に免疫グロブリンに与える影響. 胃分泌研究会誌 30: 85—88, 1998.
- 5) 吉山直樹, 丸茂文昭: 限外濾過—血液濾過, 腹膜透析—. 日本臨床 49: 18—22, 1991.

Production of *Helicobacter pylori* Inhibition Zones using Rabeprazole and Gastric Juice

Nobusuke Yamato¹⁾ Tsunehito Oda
Toshiya Horibe Takanori Suzuki
Hirokazu Sugiura Youji Harada
Akiko Yamato²⁾ Toshiaki Tamura

Rabeprazole (RPZ) concentrations were measured in gastric mucosa from inhibition zones on *H. pylori* culture medium and calibration curves.

The proton pump inhibitor (PPI) RPZ and *H. pylori* were used to measure inhibition zone diameters. The methods were prepared according to previously described. RPZ standard dilution solution was used to make drug concentrations of 0.05~100 µg/ml. The diameters of inhibition zones were measured with discs method (72 hours, 35°C, in CO₂). The effects of gastric juice on *H. pylori* were assessed by adding gastric juice obtained during upper gastric endoscopy to the standard dilution solution. Gastric juice was also centrifuged, heat-treated, filtered by dialysis, and dried, and the antibacterial activity evaluated. *H. pylori* growth was examined using the pre-endoscopy drugs xylocaine spray, xylocaine jelly, gascon drops, and untreated gastric juice.

A linear curve was obtained for drug concentrations of 0.78~100 µg/ml, however, marked increases in inhibition zone diameter were seen with gastric juice addition, suggesting the existence of a substance of suppressed *H. pylori*. The substance seemed to exist for all treatments, with the pre-endoscopic drugs having the greatest inhibitory effect. Untreated gastric juice did not possess the inhibitory effect.

It is hoped that in the future this method can be used directly assay the concentrations of PPIs and other drugs in the gastric mucosa in successful and unsuccessful *H. pylori* eradication cases.

¹⁾Departments of Gastroenterology, ²⁾Internal Medicine, Toda Central General Hospital

<カラーは4頁に掲載>