

令和 5 年度 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ヘリコバクター属菌の薬剤耐性の対策に資する研究

研究分担者

大崎 敬子

（杏林大学・医学・教授）

Helicobacter pylori の薬剤感受性試験法の国内標準化を目指して、除菌治療に用いられる抗菌薬に対する薬剤感受性試験に利用可能な、日本人由来 *H. pylori* 株の薬剤耐性菌基準パネルを構築した。その後、日本ヘリコバクター学会の会員および非会員が利用に対応できる体制が整備された。令和 5 年度は国内の検査機関で実施されている薬剤感受性試験の実態を把握するために、日本ヘリコバクター学会会員を対象とするアンケートを実施した。282 名の回答結果からは、薬剤感受性試験の実施率が低いこと、感受性試験の実施法は寒天平板希釈法と微量液体希釈法に分かれることなどの問題点が示された。今後も薬剤感受性試験の普及とともに、耐性菌パネル菌株の利用を含めた標準化を推進させる必要性が示唆された。

A. 研究目的

H. pylori の薬剤感受性試験の普及と国内で行われる薬剤感受性試験法の標準化のために、*H. pylori* の抗菌薬感受性試験用として、耐性菌基準パネルを構築した。さらに国内で実施されている薬剤感受性試験の実態把握のためにアンケートを計画し、今後の問題点を整理する。

B. 研究方法

アンケートを実施するため、日本ヘリコバクター学会の薬剤耐性菌サーベイランス委員会と薬剤感受性試験国内標準化検討部会の協力を得た。

アンケートの対象は日本ヘリコバクター学会全員とし、30 問の質問フォームを作成し、Web アンケートにて回答を収集した。同一施設からの回答の重複に対する制限は設けずに行った。

倫理面への配慮

本研究計画の実施前に、日本ヘリコバクター学会倫理委員会に対して研究計画申請をした。審査委員会より、本研究は人を対象とする生命科学・医学系研究ではない研究に分類されるとの評価をうけ、研究計画の承認をうけた（承認番号 23002）。

C. 研究結果

282 名から回答を得た。回答者の所属の内訳は診療所 37%、私立病院 25%、公的病院 22%、大学病院 16%であり、所属施設の病床数は 400 床未満 70%、400 床以上 30%であった。直近 1 年間で 11 から 50 例に対して除菌治療を行ったと回答したものが全体の 44%、50-100 例が 28%、100-200 例が 9%、200 例以上が 4%あった。

治療レジメンの実際についての質問から、一次除菌

薬はボノサップが選択される例が全体の 83%、ボノプラザン(VPZ)+アモキシシリン (AMPC) +クラリスロマイシン (CAM) 11%で使われていた。薬剤感受性試験の結果を得て、レジメンを選定しているとの回答は 4%であった。さらに、二次除菌薬はボノピオンパック 80%、VPZ+AMPC+メトロニダゾール (MNZ) 17%、三次除菌薬は（複数選択可）VPZ+AMPC+シタフロキサシン (STFX) 49%、VPZ+MNZ+STFX 32%、他院へ紹介 32%、薬剤感受性試験の結果を得て選定するが 9%であった。

一次除菌成功率は総じて高い傾向が続いており、90%前後と回答した者が、全体の 68%、80%前の回答が 20%、次いで 100%と回答したものが 8%となっていた。二次除菌成功率はさらに高い割合で、90%前後の回答が最も多い 58%、100%の回答が 33%、80%前後の回答が 8%であった。これに対して、三次除菌以降の除菌成功率は 100%および 90%前後とする回答の率は低く、それぞれ 18%と 15%に留まっていた。また、3 次除菌が施行されていないとの回答が 49%にのぼり、約半数となっていた。

厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 検査部門に参加しているとの回答は 18%、参加していない、60%、不明、22%であった。

薬剤感受性試験の実施については全体の 19%の回答であり、そのうちの試験対象抗菌薬は CAM96%、AMPC 86%、MNZ 78%、STFX 45%となった（複数選択可）。

薬剤感受性試験法は寒天平板法 40%、微量液体希釈法 7%、不明 48%であり、薬剤感受性検査の実施時期は一次除菌前 39%、三次除菌前 61%の結果であった。

D. 考察

日本ヘリコバクター学会会員における、薬剤感受性試験の実施率は回答者の 19%と低かった。このようなアンケートはこれまで実施されてこなかったため、

過去との比較はできていないが、現在は感受性試験の実施に対して何らかの障壁が存在することが示唆された。

一方に、1 次除菌前の薬剤感受性試験の実施者の割合に対して、3 次除菌前に実施者の数が増えたことは、3 次除菌レジメンを選択するために、感受性試験重要性が認識されている結果と考えられた。今後は薬剤感受性試験の実施における問題点を明らかにして、普及活動を継続する必要性が示唆された。

また、薬剤感受性を実施している機関においても、担当医師が感受性試験の実施方法を把握していない例が少なからず存在することが示された。従って、標準化に向けては、医師のみならず、検査機関に対してのアプローチが必要とみなされる結果であった。

本アンケートの結果からは、国内の除菌治療の全数やその変動傾向は把握できていないものの、年間 200 症例以上もの除菌治療を実施する施設が存在していること、さらに、1 次除菌、2 次除菌の成功率は高いとの回答が多い一方で、3 次除菌における除菌成功率が 1, 2 次除菌と比べて低くなる傾向が見られた。さらに 3 次除菌を行っていないとする回答も半数程度になった。以上のことから、2 次除菌までに除菌できない症例が存在し、その除菌は困難であることが示唆されており、*H. pylori* 薬剤耐性菌の発生動向には引き続き注意していく必要がある。

E. 結論

薬剤感受性試験の国内標準化に向けていくつかの課題が示された。薬剤感受性試験の現在の国内実施率が低いこと、感受性試験の検査法は寒天平板希釈法と微量液体希釈法が行われているなどが明らかになった。

H. pylori 薬剤耐性菌の発生動向には引き続き注意する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Okimoto T, Ando T, Sasaki M, Ono S, Kobayashi I, Shibayama K, Chinda D, Tokunaga K, Nakajima S, Osaki T, Sugiyama T, Kato M, Murakami K. Antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* in Japan: Report of nationwide surveillance for 2018-2020. *Helicobacter*. 2023 Oct 12:e13028.
- Yamaguchi H, Okubo T, Nozaki E, Osaki T. Differential impact of environmental factors on airborne live bacteria and inorganic particles in an underground walkway. *PLoS One*. 2024;19(3):e0300920. Published 2024 Mar 21. doi:10.1371/journal.pone.0300920
- 徳永 健吾, 井田 陽介, 三好 佐和子, 林原 絵美子, 松井 英則, 鈴木 仁人, 柴山 恵吾, 大崎 敬子, 大野 亜希子, 久松 理一. NHPH の最新の診断と治療の問題点 東京都内の検診受診者における Non-*Helicobacter pylori*

Helicobacter species 感染の実態調査. 日本消化管学会雑誌. 2024. 8. Suppl. 233-233

- 徳永 健吾, 井田 陽介, 三好 佐和子, 大野 亜希子, 久松 理一, 林原 絵美子, 松井 英則, 鈴木 仁人, 柴山 恵吾, 大崎 敬子. 【上部消化管疾患の残された課題】NHPH による胃疾患の疫学と病態. *Progress in Medicine*. 2023. 43. 9. 813-815

2. 学会発表

- 北条史, 米澤英雄, 岡健太郎, 高橋志達, 蔵田訓, 花輪智子, 神谷茂, 三戸部治郎, 大崎敬子, MPS マウスを用いた *Helicobacter pylori* 感染モデルにおける消化管内細菌叢の変化について、第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月 30 日-7 月 2 日
- 徳永健吾, 三好佐和子, 北条史, 米澤英雄, 井田陽介, 神谷 茂, 三好 潤, 久松理一, 大崎敬子, 泥沼除菌を受けた自己免疫性胃炎における胃内 microbiota、第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月 30 日-7 月 2 日
- 大崎敬子, はじめに～ピロリ菌はどのように感染するの？第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会市民公開講座、受けようピロリ菌検診～子の世代へ感染を引き継がないために～、2023 年 7 月 1 日-7 月 30 日 (Web 配信)
- 北条史, 米澤英雄, 岡健太郎, 高橋志達, 蔵田訓, 神谷茂, 三戸部治郎, 大崎敬子, MPS マウスを用いたヘリコバクターピロリ感染に関連する消化管内細菌叢の変化について第 56 回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会、2024 年 1 月 19 日 20 日
- 小牧すずほ, 大崎敬子, 石井さなえ, 授乳期の慢性鼻腔炎症に誘導される腸内細菌叢の一過性および長期的変動、第 56 回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会、2024 年 1 月 19-20 日
- 北条史, 米澤英雄, 岡健太郎, 高橋志達, 蔵田訓, 花輪智子, 神谷 茂, 三戸部治郎, 大崎敬子, MPS マウスを用いた *Helicobacter pylori* 感染モデルにおける消化管内細菌叢の変化について、第 96 回日本細菌学会総会、2023 年 3 月 16-18 日
- 大崎敬子, 北条史, 米澤英雄, 岡健太郎, 高橋志達, 花輪智子, 三戸部治郎, 神谷茂, 自己免疫性胃炎患者の胃内細菌叢の解析、第 96 回日本細菌学会総会、2023 年 3 月 16-18 日
- その他
第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会開催 2023 年 6 月 30 日-7 月 2 日 (東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし

令和5年度 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ヘリコバクター属菌の薬剤耐性の対策に資する研究

研究分担者 加藤 元嗣（国立病院機構函館病院・名誉院長）

同一日検査者から胃内液および糞便検体を用いた *H. pylori* 遺伝子およびクラリスロマイシン耐性遺伝子変異を自動 PCR 判定器(スマートジーン)で測定して両者を比較した。一致率は 97.3%で、両検査ともに、*H. pylori* 感染診断と適正な治療薬の選択に有用である。

A. 研究目的

H. pylori 感染に対する最適な治療薬の選択には感受性試験が重要となる。簡易な検査法として、胃内液および便を用いた *H. pylori* 遺伝子検出が開発された。今回は同一被験者からの両検査法による *H. pylori* 遺伝子およびクラリスロマイシン耐性遺伝子変異の検出について臨床的評価を実施した。

B. 研究方法

2021 年 8 月～2022 年 11 月に国立病院機構函館病院にて *H. pylori* 感染が疑われた 75 名を解析対象とした。胃内液と糞便を用いてスマートジーン測定を行った。また同時に両検体に対して RT-PCR を施行した。

倫理面への配慮

本研究は、国立病院機構函館病院、および聖マリアンナ医科大学の倫理委員会による承認を受け、すべての患者からインフォームドコンセントを得て実施した。

C. 研究結果

胃内液と便との一致率は 97.3%(73/75)であった。不一致 2 例は胃内液では陽性で便では陰性であり、結果的に便キットでの偽陰性であった。胃内液と便での *H. pylori* DNA のコピー数は $10^5 \sim 10^6$ の違いで便の *H. pylori* DNA は少なく、不一致 2 例は糞便中の *H. pylori* DNA のコピー数が検出限界付近であったためと考えられた。偽陰性 2 例を除いた薬剤感受性試験は一致していた。

D. 考察

H. pylori 除菌の成否は CAM に対する感受性に依存する。培養法において薬剤感受性試験を実施には 1 週間程度を要することから、より短時間で薬剤感受性が判定できる検査法が切望されていた。胃内液および便を用いた *H. pylori* 遺伝子検出法は Qprobe 法でクラリスロマイシン耐性遺伝子変異の検出も可能で、胃内液キットは「スマートジーン *H. pylori* G」

として、体外診断用医薬品製造承認と保険適用が得られた。しかし、胃廃液を回収するためには胃内視鏡検査が必要であり。非侵襲的な方法として糞便検体を用いた *H. pylori* 遺伝子検出法が開発され、良好な成績が得られた。糞便中の *H. pylori* コピー数は胃液中のコピー数とは 10^5 の違いがあり、糞便中の遺伝子検出感度向上のため、糞便からの蛋白抽出法と PCR 法の工夫がなされている。

E. 結論

胃内液および糞便を用いる新たな自動 PCR 判定器(スマートジーン)は *H. pylori* 判定・CAM 耐性変異判定ともに良好な結果を示し、約 1 時間で簡便に実施できるという点で有用である。

F. 健康危険情報

被験者において健康被害の報告はない。

G. 研究発表

- 論文発表
 - 1) Tsuda M, Watanabe Y, Oikawa R, Watanabe R, Higashino M, Kubo K, Yamamoto H, Itoh F, Kato M, Tsuda M, Watanabe Y, Oikawa R, Watanabe R, Higashino M, Kubo K, Yamamoto H, Itoh F, Kato M. Impact of mixed-infection rate of clarithromycin-susceptible and clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains on the success rate of clarithromycin-based eradication treatment. *Helicobacter*. 2024 Mar-Apr;29(2):e13062.
 - 2) Kobayashi M, Fujisaki J, Namikawa K, Hoteya S, Sasaki A, Shibagaki K, Yao K, Abe S, Oda I, Ueyama H, Isomoto H, Ito M, Sugimoto M, Kawai T, Kodama M, Murakami K, Adachi K, Matsuhashi N, Ohata K, Ushijima T, Kato M, Miyamoto S, Yoshimura D, Yao T, Yagi K, Iwaizumi M, Uemura N. Multicenter study of invasive gastric cancer detected after 10 years of *Helicobacter pylori* eradication in Japan: Clinical, endoscopic, and histopathologic characteristics. *DEN Open*. 2024 Mar 2;4(1):e345.
 - 3) Kubo M, Ono S, Dohi O, Fukui H, Hikichi T, Kato

T, Tsuda M, Matsumoto M, Kato S, Mukai R, Yagi N, Takagi R, Sakamoto N, Kato M; LAN Trial Group. Surveillance esophagogastroduodenoscopy using linked color imaging and narrow-band imaging: A multicenter randomized controlled trial. J Gastroenterol Hepatol. 2024 Feb 25.

- 4) Kubo K, Mabe K, Kikuchi S, Kato M. Diagnostic Accuracy of a Novel Stool Antigen Test for *Helicobacter pylori* Infection in a Medical Checkup Setting: A Prospective Cohort Study. Intern Med. 2023 Nov 6.
- 5) Okimoto T, Ando T, Sasaki M, Ono S, Kobayashi I, Shibayama K, Chinda D, Tokunaga K, Nakajima S, Osaki T, Sugiyama T, Kato M, Murakami K. Antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* in Japan: Report of nationwide surveillance for 2018-2020. *Helicobacter*. 2023 Oct 12:e13028.

2. 学会発表

- 1) A Novel Diagnostic Method for *Helicobacter*

pylori: Clinical evaluation of a novel molecular diagnosis kit for detecting *H. pylori* using intragastric fluid or stool. The 32th Annual Meeting of the Korean College of *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Research Mar 14, 2024. Seoul, Korea

2) The impact of co-infectious rate of clarithromycin-susceptible and resistant *H. pylori* strains for the efficacy eradication treatment including clarithromycin. XXXVIth Workshop of the European *Helicobacter* and Microbiota Study Group. September 8, 2023, Antwerp, Belgium

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

令和 5 年度 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ヘリコバクター属菌の薬剤耐性の対策に資する研究

研究分担者 杉山 敏郎 （北海道医療大学先端研究センター・客員教授）

ヘリコバクター・ピロリ（Hp）は胃がん、胃マルトリリンパ腫、胃潰瘍・十二指腸潰瘍等の多くの上部消化管疾患の原因菌であり、Hp 除菌はこれら疾患の予防および治癒に画期的な効果を示すことが、わが国を含む各国の大規模臨床研究から明らかにされてきた。わが国においては平成 25 年から、これら疾患、特に悪性疾患の基盤をなすヘリコバクター・ピロリ感染胃炎に対する除菌治療が世界で唯一、保険診療下で可能となっており、既に胃潰瘍・十二指腸潰瘍患者は最大患者数（1996 年）の 4 分の 1 まで減少し、また、永年、全く減少しなかった年間 5 万人の胃がん死亡者数も徐々に低下傾向を示しており、疾患原因菌の除去が、がん死亡者数の低減にまで効果を示す、わが国から世界に発信できる顕著な例となりつつある。他方、除菌治療の普及に伴い、抗菌薬耐性 Hp も増加しつつあり、今後の除菌効果の低下が危惧される。そこで 2019 年度から厚生労働科学研究費補助金（19HA1007：研究代表者：杉山敏郎）と日本ヘリコバクター学会（当時の理事長：杉山敏郎）の共同研究として、全国的な耐性菌サーベイランス体制の構築を目的に本研究がスタートした。さらに 2021 年度からは新規ヘリコバクター属菌研究も追加した厚生労働科学研究費補助金研究班（21HA1005：研究代表者：柴山恵吾）に引き継がれ、現在まで本研究が継続されてきた。

A. 研究目的

- 1) 全国的な Hp 菌の抗菌薬耐性菌サーベイランス体制の構築と、その課題（日本ヘリコバクター学会耐性菌サーベイランス委員会との共同研究）
- 2) 新規ヘリコバクター属菌の病態形成に関わる基礎的研究

B. 研究方法および研究成果

- 1) 寒天平板希釈法で実施された全国サーベイランス成績は2018 年-2020 年のCAM 耐性菌は35.5%、MNZ 耐性菌：4.2%であり、同じく寒天平板希釈法で2002-2005年に実施された全国サーベイランス成績に比較して、CAM 耐性菌（22.7%）の増加が顕著であり、MNZ 耐性菌は微増傾向であった（報告2）。本研究過程で耐性菌検査法、標準菌株の統一（報告1）、報告体制の構築が課題であることも明らかにされた。
- 2) 新規ヘリコバクター属であるヘリコバクター・スuis菌も（Hs）低頻度ながらヒト胃から分離されるが、臨床病態特に、悪性マルトリリンパ腫との関連は明らかでない。そこでC57BL/6J

マウスにHs菌を感染させ、胃リンパ濾胞形成の機序を検討した。その結果、Hs菌は胃粘膜炎症を惹起し、Bリンパ球を中心としたリンパ濾胞を形成させた。さらに免疫組織学的検討、FACS解析等から、Hs菌はTLR4を介して胃上皮細胞からタイプ1-IFNを産生、Bリンパ球を活性化、さらにIFN- γ 産生を誘導し、著明な胃粘膜リンパ濾胞を形成させる機序を明らかにした。しかしながら、Bリンパ球のmonoclonalityは確認できず、胃マルトリリンパ腫形成への直接的関与は現時点では明らかでない（報告3, 4）。

C. 考察および結論

- 1) 2018 年-2020 年の全国サーベイランスからCAM 耐性菌の増加が顕著であり、耐性菌頻度の低いMNZ 及びAMPCを中心としたHp除菌法の一次除菌適用の拡大が望まれる。
- 2) 各施設あるいは臨床検査会社の耐性菌検査法が統一されておらず、早急な標準化が必須である。その一環として、本研究班では耐性評価標準菌株を確立、報告しており、本菌株の普及が望まれる。さらに、サーベイランス体制（JANISシステムの活用など）の確立も今後の課題である。

D. 健康危険情報

本研究は保険診療で承認済みの臨床菌株の収集のため、ヒト健康への危険を及ぼす研究は含まれていない。

E. 報告論文

1. Yokota K, Osaki T, Sugiyama T, et al. Establishment of a reference panel of *Helicobacter pylori* strains for antimicrobial susceptibility testing, *Helicobacter* 2022, e12874. doi: 10.1111/hel.12874.
2. Okimoto T, Osaki T, Sugiyama T, et al. Antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* in Japan: Report of nationwide surveillance for 2018–2020, *Helicobacter* 2023, DOI: 10.1111/hel.13028
3. Yamamoto K, Sugiyama T et al. The TLR4–TRIF–type 1 IFN–IFN- γ pathway is crucial for gastric

MALT lymphoma formation after *Helicobacter suis* infection.

iScience 24, 103064 doi:https://doi.org/10.1016/j.isci.2022

4. Yamamoto K, Sugiyama T, et al. Protocol for generating a mouse model of gastric MALT lymphoma and the identification of MALT lymphoma cell populations by immunostaining. STAR Protoc. 2022 Feb 3;3(1):101155

5. Sugiyama T, Nanjyo S, et al. *Helicobacter pylori* re-infection diagnosed by endoscopic and histologic recurrence in a patient with gastric MALT lymphoma, Case Rep Gastroenterol. 17:47–54, 2023

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

令和5年度 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ヘリコバクター属菌の薬剤耐性の対策に資する研究

研究分担者

村上 和成

（大分大学・医学部・教授）

国民への胃がんの予防啓発がより深くなされることを目指し、胃がんの原因の98%を占めるピロリ菌感染症について、国が発生動向調査を行う感染症法上の「5類」への指定を厚生労働省に求める要望を提出した。ピロリ菌感染に対してこれまで学会単位で行っていた対策が、「5類」指定により国の管理の下で行われることにより一層正確性が向上し信頼度が増すことになり、更なる胃がん予防に繋がることを望む。

A. 研究目的

胃がんの予防について、ピロリ菌感染症の現状把握がより深い啓発へつながることを示し、国全体として取り組む働きかけを行う。

B. 研究方法

ピロリ菌感染症が、胃がんの経済的負担においてどの程度予防可能なリスク因子であるかを示し、同感染症の状況や感染予防の方策が国によって把握、実施されることを目指す。

倫理面への配慮

学会主導で実施したサーベイランスを国の事業にどのように組み込むかを検討する研究であり、指針適用外に該当する。また、本研究に関連して開示すべき利益相反関係等はない。

C. 研究結果

日本において部位別に見た予防可能なリスク要因に起因するがんの経済的負担において男女ともに胃がんの経済的負担が最も高かった。また5つ（感染・能動喫煙・飲酒・運動不足・過体重）の予防可能なリスク要因のうち、「感染」による経済的負担が最も高く、そのうちの約44%がピロリ菌関連胃がんであることを引用紹介した。

これらを整理したうえで、胃がんの原因の98%を占めるピロリ菌による感染症について、国が発生動向調査を行う、感染症法上の「5類」への指定を求め、日本ヘリコバクター学会名において厚生労働省に要望書を提出した。

D. 考察

ピロリ菌除菌による胃がん撲滅の啓発活動は主として日本ヘリコバクター学会を中心とした関連学会によって推進されてきたが、国全体として取り組

むことがより重要であり、今回正式に厚生労働省に要望書を提出することで新たな足跡を残すことが出来た。今後も継続して働きかけていきたいと考える。

E. 結論

胃がんの予防について国民への啓発がより深くなされるためにも、感染の状況や感染予防の方策が国によって把握、実施されることが大切である。ピロリ菌感染症の「5類」指定に向けて今後も継続的に働きかけていきたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 論文発表

- 1) Kodama M, Mizukami K, Hirashita Y, Okimoto T, Wada Y, Fukuda M, Ozaka S, Kudo Y, Ito K, Ogawa R, Okamoto K, Fukuda K, Murakami K. Differences in clinical features and morphology between differentiated and undifferentiated gastric cancer after *Helicobacter pylori* eradication. PLoS One. 2023 Mar 31;18(3)
- 2) Okimoto T, Ando T, Sasaki M, Ono S, Kobayashi I, Shibayama K, Chinda D, Tokunaga K, Nakajima S, Osaki T, Sugiyama T, Kato M, Murakami K. Antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* in Japan: Report of nationwide surveillance for 2018-2020 *Helicobacter*. 2023 Oct 12
- 3) Mizukami K, Kodama M, Fukuda M, Hirashita Y, Tsutsumi K, Fukuda K, Ogawa R, Okamoto K, Okimoto T, Murakami K. Comparison of the improvement in gastric mucosal tissue after *Helicobacter pylori* eradication between young and elderly people. Arab J Gastroenterol. 2023 May;24(2):98-103.

2. 学会発表

- 1) 特別講演「ピロリ菌と胃炎と胃がん」第 130 回日本消化器内視鏡学会中国支部例会
- 2) 「The 19th Korea-Japan Joint Symposium 1. Medical Concerns and Strategies in the Era of Active Eradication for H. pylori Infection」 The 31st Annual Meeting of the Korean College of Helicobacter and Upper Gastrointestinal Research & International Symposium on Helicobacter and Upper Gastrointestinal Diseases & The 19th Korea-Japan Joint Symposium

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他

令和5年度 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ヘリコバクター属菌の薬剤耐性の対策に資する研究

研究分担者 林原 絵美子

（国立感染症研究所・細菌第二部・室長）

近年、ヘリコバクター・スuisなどのヘリコバクター・ピロリ以外のヘリコバクター属菌が胃マ
ルトリンパ腫や胃潰瘍などの原因になることがわかってきた。ヘリコバクター・ピロリ以外のヘリ
コバクター属菌の薬剤耐性については現在のところほとんど情報が無い。この研究では分担者林
原が代表を務める研究班（AMED 林原班、新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究
事業、ヘリコバクター感染の診断法開発と感染実態、感染病態に寄与する因子の解明）と連携し、
実態調査を進めるとともに、耐性メカニズムの解明、検査法の開発と整備を行う。また、今後のサ
ーベイランスのあり方についても検討し、提案を行う。

A. 研究目的

近年ヘリコバクター・ピロリ（ピロリ菌）以外のヘリコバクター属菌（Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* species: NHPH）について胃の様々な疾患の発症に関連することが明らかになっているが、その薬剤耐性の実態は不明である。この研究では、NHPH の薬剤耐性の検出方法を開発して、国内での薬剤耐性の実態を調べることを目的とする。

B. 研究方法

AMED 林原班と連携し、ヒト胃から NHPH 菌株を収集し薬剤感受性試験を実施し、最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。また、ドラフトゲノムを得て菌種の同定や薬剤耐性メカニズムの解析等を行った。

倫理面への配慮

NHPH 菌株を分離培養するためのヒト胃生検組織の採取および臨床情報の収集について、国立感染症研究所および各医療機関の倫理委員会で承認を得たのち進めている。被験者には十分な説明を行ったのち、研究への参加について文章で同意を得ている。

C. 研究結果

2023 年 7 月までに分離した 30 株のうち、28 株は豚や猿を自然宿主とする *Helicobacter suis*、2 株は *H. suis* 以外の NHPH 株であった。*H. suis* 以外の NHPH 2 株について、様々な NHPH 菌種との Average Nucleotide Identity (ANI) を調べた結果、1 株は *Helicobacter ailurogastricus* ASB7^T との ANI 値が 98% 以上であり、*H. ailurogastricus* と同定された。もう一株についてはいずれの既知のヘリコバクター属菌種とも ANI 値が 95% 以下であ

ったが、猫より近年分離した新種の *Helicobacter* sp. NHP21-005 株（論文投稿準備中）との ANI 値が 95.7% であったことから同一菌種と考えられた。

ヒト由来 NHPH 30 株について、薬剤感受性試験を行った結果、MIC₉₀ はアモキシシリンが 2 μ g/ml、クラリスロマイシンが 0.5 μ g/ml、メトロニダゾールが 32 μ g/ml、ミノサイクリンが 4 μ g/ml、レボフロキサシンが 16 μ g/ml であった。アモキシシリンの MIC が高値（16 μ g/ml）であった株はペニシリン結合たんぱく質のうち PBP2 と PBP3 に変異があったが PBP1 には変異はなかった。ミノサイクリンの MIC が高値（MIC range: 4 - 8 μ g/ml）であった株は 16S rRNA の 927-929 位に AGA から TGT の変異をもっていた。レボフロキサシンの MIC が高値（MIC range: 4 - $\geq$ 16 μ g/ml）であった *H. suis* 5 株と *H. ailurogastricus* 1 株について、GyrA 変異の有無を解析したところ、*H. suis* 5 株には Quinolone resistance-determining region (QRDR) 内の 78 位に Ser から Arg (S78R) あるいは Ile への変異、もしくは 82 位に Glu から Lys への変異が認められ、ヘリコバクター・アイルロガストリカス株には、S78R 変異が認められた。

D. 考察

ヒト由来 NHPH の菌種は多くが *H. suis* であるが、犬や猫を自然宿主とする NHPH 菌種もヒト胃に感染することが示された。犬や猫の NHPH 菌種はこれまでに 6 菌種が報告されているが、我々は新たに日本の犬猫から 3 種の新種を分離しており（論文投稿準備中）、そのうちの 1 菌種がヒト胃からも分離された。NHPH 菌種に関する情報は感染経路を明らかにするために重要な情報であり、今後もヒト由来 NHPH 株の菌種同定を行い、菌種ごとの薬剤感受性傾向を明らかにしていく必要が

あると考えられた。NHPH 菌株はピロリ菌と比較して MIC が高値となるため、遺伝子変異情報なども考慮して薬剤感受性試験の結果を解釈していく必要がある。これまでに分離されたミノサイクリンおよびレボフロキサシン耐性 NHPH 株はピロリ菌で報告されている遺伝子変異と同様な遺伝子変異を保有しており、NHPH はピロリ菌と同様な薬剤耐性機構により薬剤耐性化していると考えられた。ピロリ菌で問題となっているクラリスロマイシン耐性株は分離されていないが、引き続き薬剤感受性を注視していく必要がある。

E. 結論

最適な NHPH の除菌治療法を提言するためには、今後も NHPH の薬剤感受性情報および薬剤耐性に関する遺伝子変異の有無に関する情報を蓄積していく必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsui H, Suzuki M, Aoki S, Shibayama K, Tokunaga K, Suzuki H, Mabe K, Kenri T, Rimbara E. Protocol for detecting *Helicobacter suis* infection in gastric biopsies and serum by PCR and ELISA. STAR Protoc. 2023 Dec 15;4(4):102556.
- 2) Matsui H, Rimbara E, Suzuki M, Tokunaga K, Suzuki H, Sano M, Ueda T, Tsugawa H, Nanjo S, Takeda A, Sasaki M, Terao S, Suda T, Aoki S, Shibayama K, Ota H, Mabe K. Development of serological assays to identify *Helicobacter suis* and *H. pylori* infections. iScience. 2023 Mar 29;26(4):106522.

2. 学会発表

- 1) Rimbara E, Matsui H, Suzuki M, Tokunaga K, Suzuki H, Sano M, Ueda T, Tsugawa H, Nanjo S, Takeda A, Sasaki M, Terao S, Suda T, Aoki S, Shibayama K, Ota H, Mabe K. Development of serological assays to identify *Helicobacter suis* infections and whole genome-based phylogeny of *H.*

suis isolates. ASM Microbe, 2023 年 6 月, Houston, TX.

- 2) 佐野正弥、林原絵美子、平井美和、鈴木仁人、寺邑英里香、佐藤博彦、金子元基、森英毅、松井英則、青木沙恵、柴山恵吾、中村正彦、鈴木秀和。

Helicobacter ailurogastricus のヒト胃からの初めての分離培養。第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月、東京。

- 3) 松井英則、林原絵美子、鈴木仁人、徳永健吾、鈴木秀和、佐野正弥、上田孝、津川仁、南條宗八、武田章、佐々木誠人、寺尾秀一、須田烈史、青木沙恵、柴山恵吾、太田浩良、間部克裕。世界初の *Helicobacter suis* および *Helicobacter pylori* 感染を診断する血清学的検査法の開発。第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月、東京。
- 4) 徳永健吾、塚平俊久、間部克裕、鈴木秀和、下山 克、杉本光繁、沖本忠義、松井英則、柴山恵吾、太田浩良、加藤元嗣、林原絵美子。日本における Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* species 感染の実態調査～中間報告。第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月、東京。
- 5) 林原絵美子。ヒト胃に感染するピロリ菌以外のヘリコバクター属細菌の細菌学的特徴と生存戦略。The 36th JSME & 13th ASME、2023 年 11 月、浜松。招待講演。
- 6) 林原絵美子。ヒトに感染するピロリ菌以外のヘリコバクター属菌について GI Week2024, 2024 年 2 月、沖縄。基調講演。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

令和5年度 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ヘリコバクター属菌の薬剤耐性の対策に資する研究

研究分担

徳永 健吾

(杏林大学・医学部・准教授)

胃疾患は *Helicobacter pylori* が原因であることが多いが、一部の胃疾患では *Helicobacter pylori* 以外のヘリコバクター属菌が関与し、除菌治療により病態が改善する報告が近年散見される。そのため今後は最適な除菌治療の開発が必要であるが、ヘリコバクター属菌は細菌であるため薬剤感受性試験に基づいた治療法を確立することが求められる。そこでヘリコバクター属菌の薬剤感受性試験の結果を取集し、最適な除菌治療法の提言を行う。

A. 研究目的

胃疾患の原因となる *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 以外の *Helicobacter* 属菌 (Non-*Helicobacter pylori Helicobacter* species: NHPH) の除菌治療法は確立していない。そこで NHPH の薬剤感受性試験の結果を取集し、最適な除菌治療法の提言を行うことを目的とする。

B. 研究方法

ヒト胃から NHPH 菌株を収集し微量液体希釈法による薬剤感受性試験を実施し、最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。本研究は分担者徳永が部会長を務める日本ヘリコバクター学会の NHPH 研究推進部会と分担者林原が代表を務める研究班 (AMED 林原班、新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業、ヘリコバクター感染の診断法開発と感染実態、感染病態に寄与する因子の解明) と連携および協力を得て進めた。

なお NHPH 菌株収集は、上記部会所属施設、および協力病院となる日本全国各地から行った。

倫理面への配慮

本研究は人を対象とする生命科学・医学系研究として、杏林大学医学部、日本ヘリコバクター学会、各参加施設の倫理委員会に申請し承認を受けた。内視鏡下生検法を行うため、被験者には十分な説明を行い、研究への参加について書面による同意を得た。

C. 研究結果

2023年7月までに分離した28株の *Helicobacter suis* について、薬剤感受性試験を行った。結果、MIC₉₀ はアモキシシリンが 2 μ g/ml、クラリスロマイシンが 0.5 μ g/ml、メトロニダゾールが 32 μ g/ml、ミノサイクリンが 4 μ g/ml、レボフロキサシンが 16 μ g/ml であった。

アモキシシリンの MIC は 1 μ g/ml 以上 14 株、0.5 μ g/ml 以上 1 μ g/ml 未満は 10 株、0.5 μ g/ml 未満は 4 株、クラリスロマイシンの MIC は 1 μ g/ml 以上は 1 株、0.5 μ g/ml は 8 株、0.5 μ g/ml 未満は 19 株、またメトロニダゾールの MIC は 32 μ g/ml 以上 14 株、16 μ g/ml は 10 株、4 μ g/ml 以上、16 μ g/ml 未満は 4 株の結果であった。

D. 考察

ヒト由来 NHPH は豚を宿主とする *H. suis* が最も多く、猫、犬、他を宿主とする *H. suis* 以外のヘリコバクター属菌も一定数存在するため、*H. suis* 以外のヘリコバクター属菌の薬剤感受性試験結果の集積が望まれる。

H. pylori の MIC はこれまでに多く蓄積されているが、*H. pylori* と *H. suis* の MIC を比較すると、*H. pylori* の除菌不成功の一番の原因であるクラリスロマイシンの MIC は *H. pylori* より低め、アモキシシリンとメトロニダゾールは高めであった。しかし *H. pylori* と *H. suis* では培養条件も異なり、また計測法も異なるため、単純な比較は困難である。

H. suis の除菌治療の論文は散見されるが、日本の *H. pylori* 除菌の保険診療で用いられているレジメンと同じボノプラザン 40 mg+アモキシシリン 1500 mg+クラリスロマイシン 400 mg、7 日間が用いられ、多くの症例において除菌が成功している。薬剤耐性菌を論じる場合に一番重要なことは、その計測法と MIC のブレイクポイントと言えるため、今後は AMED 林原班の特定臨床研究による除菌治療の結果を加味してブレイクポイントを検討していくことも重要な課題と言える。

E. 結論

最適な *H. suis* の除菌治療法を提言するために、*H. suis* の薬剤感受性試験結果を検討した。今後は

引き続き薬剤感受性情報を蓄積し、またブレイクポイントの検討も必要といえる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okimoto T, Ando T, Sasaki M, Ono S, Kobayashi I, Shibayama K, Chinda D, Tokunaga K, Nakajima S, Osaki T, Sugiyama T, Kato M, Murakami K. Antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* in Japan: Report of nationwide surveillance for 2018-2020. *Helicobacter*. 2023 Oct 12:e13028.
2. Matsui H, Suzuki M, Aoki S, Shibayama K, Tokunaga K, Suzuki H, Mabe K, Kenri T, Rimbara E. Protocol for detecting *Helicobacter suis* infection in gastric biopsies and serum by PCR and ELISA. *STAR Protoc*. 2023 Dec 15;4(4):102556.
3. Matsui H, Rimbara E, Suzuki M, Tokunaga K, Suzuki H, Sano M, Ueda T, Tsugawa H, Nanjo S, Takeda A, Sasaki M, Terao S, Suda T, Aoki S, Shibayama K, Ota H, Mabe K. Development of serological assays to identify *Helicobacter suis* and *H. pylori* infections. *iScience*. 2023 Mar 29;26(4):106522.
4. 徳永健吾、塚平俊久、間部克裕、鈴木秀和、下山 克、杉本光繁、沖本忠義、松井英則、柴山恵吾、太田浩良、村上和成、加藤元嗣、林原絵美子：日本における Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* species 感染の実態調査～中間報告. 日本ヘリコバクター学会誌 2024, 25, 60-62.
5. 徳永健吾、井田陽介、三好佐和子、大野亜希子、久松理一、林原絵美子、松井英則、鈴木仁人、柴山恵吾、大崎敬子：Non *Helicobacter pylori* *Helicobacter*(NHPH)による胃疾患の疫学と病態. *Progress in Medicine*: 43:813-5, 2023.

2. 学会発表

- 1) 徳永健吾、塚平俊久、間部克裕、鈴木秀和、下山 克、杉本光繁、沖本忠義、松井英則、柴山恵吾、太田浩良、加藤元嗣、林原絵美子。日本における Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* species 感染の実態調査～中間報告. 第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月 30 日、東京。
- 2) 松井英則、林原絵美子、鈴木仁人、徳永健吾、鈴木秀和、佐野正弥、上田孝、津川仁、南條宗八、武田章、佐々木誠人、寺尾秀一、須田烈史、青木沙恵、柴山恵吾、太田浩良、間部克裕。世界初の *Helicobacter suis* および *Helicobacter pylori* 感染を診断する血清学的検査法の開発. 第 29 回日本ヘリコバクター学会学術集会、2023 年 6 月 30 日、東京。
- 3) Rimbara E, Matsui H, Suzuki M, Tokunaga K, Suzuki H, Sano M, Ueda T, Tsugawa H, Nanjo S, Takeda A, Sasaki M, Terao S, Suda T, Aoki S, Shibayama K, Ota H, Mabe K. Development of serological assays to identify *Helicobacter suis* infections and whole genome-based phylogeny of *H. suis* isolates. *ASM Microbe*, 2023 年 6 月, Houston, TX.
- 4) 徳永健吾、井田陽介、三好佐和子、林原絵美子、松井英則、鈴木仁人、柴山恵吾、大崎敬子、大野亜希子、久松理一(ワークショップ)：東京都内の検診受診者における Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* species 感染の実態調査. 第 20 回日本消化管学会総会学術集会 (沖縄), 2023 年 2 月 9 日。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし