

20010727

わが国におけるアメーバ症の実態の解明と
対策確立に関する研究 (H-11-新興5)

厚生科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業
平成13年度 総括・総合研究報告書

主任研究者 竹内 勤

(慶應義塾大学)

平成14年4月

目 次

1	総括研究報告	
	わが国におけるアメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究	1
	竹内 勤	
2	分担研究報告	
	アメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究、及び諸診断法の応用 に関する研究	16
	竹内 勤	
	アメーバ症の新規免疫診断法の開発および遺伝子組み替え抗原等による 予防法開発	21
	橋 裕司	
	アメーバ症の化学療法剤の標的に関する研究	25
	牧岡朝夫	
	わが国におけるアメーバのサブポピュレーションの同定に関する研究	30
	野崎智義	
3	総合研究報告	
	わが国におけるアメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究	44
4	研究成果の刊行に関する一覧	51
5	研究成果の刊行物、別冊	51

様式A(4)

厚生科学研究費補助金研究報告書

平成14年4月10日

厚生労働大臣 坂口 力殿

住所

〒110 竹内 勤

氏名 竹内 勤



所属機関 慶応義塾大学医学部

平成13年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）に係る研究事業を完了したので次のとおり報告する。

研究課題名（課題番号）：わが国におけるアメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究（H-11-新興5）

国庫補助金精算所要額：金20,000,000円也

1. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版及びこれを入力したフロッピーディスク
(別添1のとおり)
2. 厚生科学研究費補助金研究報告書表紙（別添2のとおり）
3. 厚生科学研究費補助金研究報告書目次（別添3のとおり）
4. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書（別添4のとおり）
5. 厚生科学研究費補助金分担研究報告書（別添5のとおり）
6. 研究成果の刊行に関する一覧表（別紙参照）
7. 研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況
8. 健康危険情報（総括研究報告書に記載）

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
総括研究報告書

わが国におけるアメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究

主任研究者 竹内 勤（慶応義塾大学医学部教授）

研究要旨

本研究では1980年以来増加傾向にあり、またいわゆる感染症新法施行以来、届け出で数が一段と増加しているアメーバ症のわが国における実態の解明のため、知的障害者更正施設を含む、施設内アメーバ感染に焦点をあてて疫学調査を実施し、施設内感染制圧に関する指針作成を行い、更に対策確立に資するため、診断・治療にかかわる新技術を開発しようと試みる事を目的としている。今年度はまず異なる3施設（4グループ）の入所者325名、職員131名を対象として集団治療、衛生対策実施後のフォローアップ調査した結果、知的障害者更正施設3カ所、3グループでは全ての陽性者が陰転していると判定された。各1カ所の重症障害者施設、及び精神科患者療養施設では依然陽性者が検出され、追加治療が行なわれた。わが国ではアメーバの施設内感染は広範囲に拡がっているが、一部施設では集団治療と環境衛生対策によって抑圧に成功した。この環境衛生対策はガイドラインとして発表された。Entamoeba histolytica/E. disparの鑑別に必要なE. disparの無菌培養系の作成では葉肉細胞より高い増殖促進効果を有する分子量5,000の鉄蛋白を同定した。またE. disparとE. moshkovskiiのperoxiredoxinの組み替え蛋白に対するモノクロナル抗体による両種アメーバの鑑別法を確立した。更にワクチン候補としてE. histolyticaの150-kDaの表面レクチンの遺伝子解析を行い、2つの遺伝子が存在することを見いだした。新規化学療法剤開発のためE. histolyticaの増殖阻害剤の探索とE. invadensをモデルとして嚢子形成及び脱嚢機序の解明と阻害剤探索を試みた。その結果Ca²⁺機能阻害剤、プロテアソーム阻害剤の有用性が示された。障害者施設等より分離した30株のE. histolyticaに対し、Locus1-2等、多形性の知られる4つのDNA領域の塩基配列の決定を行い、同一の施設から得られた株は同一の遺伝子タイプを示すことが判明し、変異の多い同性愛者から分離された株と対比をなすことを見いだした。

研究分担者

橋 裕司・東海大学医学部助教授
牧岡朝夫・東京慈恵会医科大学助教授
野崎智義・国立感染症研究所室長

A. 研究の目的

わが国においてはアメーバ感染は1970年代後半より明瞭な増加傾向を示しているが、その対策策定には困難な点が多い。その理由としては、①ハイリスク集団が同性愛者や知的障害者施設等の入所者であり、疫学調査が難しい。②また赤痢アメーバが病原性の異なる二種の原虫、すなわちEntamoeba hist-

olytica、E. disparに分けられたため、各々に対する臨床的対応、診断法、疫学的側面が再検討されなければならなくなった。③副作用の少ない薬剤の開発が進んでいない、等が挙げられる。特に①に関連した事項のうち施設内感染は重要で、わが国の福祉・衛生行政面で提起している問題は大きい。以上より本研究においては、①ハイリスク集団のうち諸種施設における施設内アメーバ感染の疫学調査を実施してその実態を明らかにし、制圧対策モデル化と実施、及び感染予防ガイドライン作成を行なうこと、②合わせて無菌培養

系の確立を通して両種アメーバの鑑別法確立に資すること、③E. histolytica、E. disparの鑑別法、サブポピュレーションの同定法の開発を行い、迅速化を計ったうえで個々の症例への対応のプロトコール作成及び疫学調査に応用すること、④アメーバ表面レクチンのワクチンとしての評価を行なうこと、⑤新規薬剤開発のため標的およびその阻害剤を探索すること、を目的としている。しかしこれまでの研究によって、わが国の知的障害者更正施設においてアメーバ感染が拡大している事が明らかになりつつあるため、更に調査規模を拡大し、制圧対策を実施した施設のフォローアップも行ない、対策の評価を試行する事とした。調査対象を施設内アメーバ感染に絞り込んだが、これにより実態が明らかでなかったためこれまで福祉・衛生行政面での対応策が効果的に実施されなかった諸種施設におけるアメーバ感染抑圧の途を開く事が期待できる。また本研究によって、両種アメーバの抗原・抗体レベルあるいは遺伝子レベルでの新しい鑑別、サブポピュレーションレベルの同定が可能となり、かつ薬剤開発に新しい指標を与えることも期待され、臨床に有意義な影響を及ぼすものと思われる。

B. 研究方法及び倫理面への配慮

(1)施設内アメーバ感染の実態の把握：これまでの成果に基づいて、各種施設におけるアメーバ感染を対象として実態調査を継続実施した。調査は糞便検査、血清学的検査、E. histolytica II kit (TechLab Inc., USA)による抗原検査を併用して行った。陽性者には施設嘱託医によって化学療法、環境衛生対策、及びその後のフォローアップを実施した。また新しく集団感染が疑われる施設がかなり多いと云う疫学的な状況に鑑み、実施した環境衛生対策に基

づいた感染予防策の立案を行い、ガイドラインとして福祉・衛生行政に還元する事も行なった。

(2)アメーバの免疫学的・遺伝学的同定法の開発と応用：今年度は従来より本研究班にてアメーバの鑑別の標的としてきたperoxiredoxin遺伝子を取り上げ、E. histolyticaに近縁のE. moshkovskiiとE. disparの遺伝子を発現ベクターに組み入れ、大腸菌にて組み替え蛋白を作成した。組み替え蛋白を精製後、マウスミエローム細胞を用いてモノクロナル抗体を作成し、免疫学的なアメーバ同定に適用した。

アメーバ種の鑑別法作成などのためのE. disparの無菌培養系は初年度開発したYIGADHA-S mediumと植物由来の増殖促進物質との組合せを更に検討し、最適な培養系の開発を試みた。使用したE. dispar株はSAW1734cloneAR, AS21R, AS161R, CYN0009:TPC, CYN016:TPCの5株である。増殖促進物質の精製はツユクサの葉肉細胞から、アセトン抽出、SDS及びNative電気泳動、分離用ディスク電気泳動により行なった。

(3)アメーバのレクチンのワクチンとしての可能性の検討：今年度は150-kDaレクチン遺伝子のクローニングをE. histolyticaより試みた。まずアフィニティークラムにて精製した150-kDaのレクチンのN末端のアミノ酸配列を決定し、その配列に基づいてdegenerateプライマーを作成し、ゲノムDNAを標的としてPCRにて増幅した。得られた産物をプローブとしてcDNAライブラリーの検索を行ない、最長のクローンを更にサブクローニングして塩基配列を決定した。150-kDaレクチンの局在は免疫蛍光染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察して行なった。

(4)サブポピュレーション特定化の方法の開発：4種類の異なるプライマーを使用してPCRによるタイピングの方法を開発した。使用したプライマーは非翻訳

領域のLocus 1-2、Locus 5-6、及びSR EHP (serine-rich *E. histolytica* protein)、chitinase遺伝子に基づいて設計したものである。塩基配列はアガロースゲル上で単一のバンドを示す場合は直接シーケンスにより、また複数のバンドの場合はアガロースゲルにて分離後、精製したうえでシーケンスを行なった。

(4)新規薬剤の開発研究：今年度は一連のカルシウム機能阻害剤とプロテアソーム阻害剤を使用して、*E. histolytica*の増殖阻害、及びモデルとして*E. invadens*を使用した*in vitro*での嚢子形成、脱嚢阻害作用を検索した。

倫理面への配慮

知的障害者収容施設での調査における倫理面にはこれまでと同様の注意を払った。特に入所者の家族には説明を十分に行なったが、加えて施設職員からも同意を得てから調査を進めた。また施設の性格上、関連する地方自治体の保健所、あるいは該当施設の囑託医にも説明を行ない協力体制を作った。本研究遂行に際してはこれまでも調査の際主任研究者自身が現地に出向いて説明を行なって同意を求めたが、更に施設側関係者や第三者の意見を求め改善を試みた。調査対象施設にガイドラインや倫理委員会が存在する場合には、それらをクリアーして後に調査を開始した。動物実験に関してはそれぞれが所属する施設の動物実験委員会の指針にのっとり行なわれた。また今後の調査は疫学調査に関して、検査担当施設の倫理委員会の承認を得てから進めるべく準備中である。

C. 研究結果

(1)ハイリスク集団におけるアメーバ感染の実態調査

これまでの調査で赤痢アメーバ感染が確認された更正施設3ヵ所の治療後のフ

ォローアップでは抗原検索を含む糞便検査で全ての感染者の陰転が確認され、その後6~12ヵ月を経てからの再フォローでも陰性が確認された。しかし重症障害者施設では依然として11名の糞便検査、抗原検査陽性者が確認され、うち6名は新感染者であることが確認された。現在化学療法と衛生対策を実施しつつあり、終了後数ヵ月でフォローアップに入る予定である。また精神科患者療養施設1ヵ所からは17名の検査対象者中からELISAによって9名の陽性者が検出された。現在抗原検索を併せて進めており、上記同様の対策も実施しつつある。

今回の研究では*E. histolytica* II kitを大幅に導入したが、その信頼度、簡便性が優れているのは明らかであり、今後各施設レベルでの導入を企図する価値のあるものと判断された。今後の調査研究の展開に応じて、この方向を取り入れたい。また施設でのアメーバ感染制圧手段の一環としてメトロニダゾールでの集団治療を2クールにわたって行なったが、有効であることがこれまでと同様確認された。また昨年度より継続調査の対象となっている施設での疫学調査・集団治療・衛生対策の結果に基づいて、CDCの種々のガイドラインを参考として施設内アメーバ感染予防のためのガイドラインを新興・再興感染症研究事業の他の研究班と共同で作成した。これは今年度既にも出版されている。

(2)アメーバの免疫学的、遺伝学的な同定法の開発と応用

今年度は*E. histolytica*に近縁の*E. moshkovskii*、*E. dispar*のperoxiredoxin遺伝子を使用して組み替え蛋白を作成し、それに対する一連のモノクロナル抗体を作成し、反応性を検索した。その結果EM147は*E. moshkovskii*に特異的に反応する事が判明した。またED48は*E. histolytica*を含む三種のアメーバ

に同等に反応した。これらの抗体パネルを使用することによってアメーバの簡易な診断法の開発が促進されるものと考えられた。

アメーバの鑑別に広く応用可能なE. disparの無菌培養系の作成はより確実な進展をみた。これまでに植物細胞より分離したフェレドキシンを含む分画がE. disparの無菌的な増殖に良好な促進作用を持つことを見だし、特に iron-sulfur cluster が decompose された標品が有効であることを明らかにしたが、今年度はこれまでに検索したなかで最も優れた増殖促進作用を有していたツククサの促進因子の同定を試みた。その結果この因子はアセトンなどの有機溶媒、あるいは 2-mercaptoethanol / SDS 等でも抽出でき、SDS-PAGE による解析では葉緑素に結合している蛋白であることが明らかになった。分離用ディスク電気泳動の結果は分子量約 5,000 の鉄を含む蛋白が増殖促進因子である可能性を示した。

(3) アメーバのレクチンのワクチンとしての可能性の検討

今年度は 150-kDa のレクチン遺伝子の解析を試みた。その結果 cDNA ライブラリーよりクローニングされた遺伝子は 1101 個のアミノ酸をコードしており、予想分子量は 119,512Da であった。興味あることにシステインが 12% もの率で含まれており、CXXC という配列が 45カ所も存在した。また精製蛋白の N 末端と中間部分のアミノ酸配列に基づいて、別個の遺伝子のクローニングを行い、1105 個のアミノ酸をコードしている遺伝子を得た。予想分子量は 120,386Da であった。これらの遺伝子間にはアミノ酸レベルで約 81% の相同性が認められた。二つの異なる遺伝子の存在はサザンプロット解析によっても確認された。局在に関しては 150-kDa のレクチンと 260-kDa レクチンは同じ部位に存在することが示唆された。

(4) サブポピュレーションの同定方法の開発と応用

Locus 1-2、Locus 5-6、SREHP、chitinase を標的にした PCR 産物をアガロースゲル電気泳動した結果、何れの場合も一あるいは二本のバンドが株間で異なったパターンとして認識された。このうち Locus 1-2 の多型性は反復配列の種類、位置などによっていたが、わが国の 30 株は 6 種類の独立したタイプに分けられる事が判明した。一方 Locus 5-6 における多型性は特定の 16ヌクレオチドの反復配列の有無などによっていた。SREHP、chitinase などの蛋白質コード領域のマーカーの多型性もやはり特定の反復領域の種類、場所などによっていることも明らかになった。このような所見に基づいてわが国で男性同性愛者及び施設入所者から分離された赤痢アメーバ株を調べた結果、同性愛者より分離された株は施設入所者からの株よりも明らかに高度の多型性を示した更に施設内でのみみられたタイプ、同性愛者のみに見られたタイプが存在する事も明らかになった。例えば施設内感染の場合、Locus 1-2 に関してはタイプ C、タイプ F のみが検出されている。また同一の施設に関してみると、ほぼ単一のタイプのみが検出されており、おそらく同一の感染源から施設内に感染が拡がっていった事が強く示唆された。

(5) 新規薬剤の開発研究

新しい標的を探求する作業は Entamoeba invadens をモデルとした嚢子形成・脱嚢阻害と E. histolytica の増殖阻害をマーカーとして行なわれてきた。今年度はカルシウム機能阻害剤とプロテアソームの阻害剤を中心に検討した。その結果、カルシウムキレート剤やカルシウム flux の阻害剤 TMB-8 などがアメーバの増殖及び嚢子形成を阻害する事が明らかになった。またプロテアソーム阻害剤では lactacystin、 β -lactone

によるアメーバ増殖、嚢子形成阻害が見いだされた。プロテアソーム阻害剤の影響の程度は嚢子形成に対してより強い事が明らかになった。

D. 考察

急速に届け出で数が増加傾向にある赤痢アメーバ症のわが国での疫学的実態の解明と対策確立に資するための基礎・応用研究を目的としたものである。

*E. histolytica*はこれまでのわれわれの研究で欧米諸国と異なり、男性同性愛者間に高率に分布していたり、また想像以上に各種施設内での感染が広がっていることが明らかになっている。これらの実態はわが国の衛生行政上、アメーバ感染症が無視できない問題である事を示している。

今回の研究では初年度の調査で知的障害者更正施設における感染率が高かった事から、施設内感染を主な調査対象として取り上げるに至った。今年度の調査はこれまでに疫学調査が実施され、集団化学療法や各種環境衛生対策が実施された3カ所の知的障害者更正施設のフォローアップ調査を実施し、対策の実効性の確認を試みた。その結果アメーバ感染は制圧された事が示唆される所見が得られたが、今後更にフォローアップを継続する必要があるものと認識される。また重症の障害者施設では高度な感染が昨年度に確認されたが、依然として新しい感染が起こっている事を示すデータが得られ、加えるに精神障害者施設においても同様感染が拡大している事が示唆された。このような施設内感染の実態は今後のわが国の衛生行政・福祉行政を考える上で極めて重要であろう。今後も検索を継続して、わが国での実態を解明し、効果的な対策を立案してゆく必要があるものと思われる。

また興味ある施設内感染の特徴は昨年

度も指摘したが、*E. histolytica*感染が確かに存在するにもかかわらず、事実上殆ど全ての感染者が無症状で推移していると云う事実である。しかし今年度分離株を無菌株化してハムスター肝に接種したところ肝膿瘍が形成され、virulenceは保持されており、施設内感染の疫学的、臨床免疫学的な検索が必要となるものと思われる。施設内感染が拡大している原因として無症候性感染が重要な位置を占めることは間違いなく、*E. histolytica*感染の特徴として持続的な慢性感染が実際に存在するののかも含めアメーバ症の病態生理を考える上でも大きな問題として残っている。

以上に加え、これまでの調査に基づいて作成した施設内アメーバ感染予防に関する施策を新興・再興感染症研究事業の他の研究班と協調してガイドライン化を試みた。今年度に既に出版されており、今後の調査の拡大によって改編される可能性はあるものの、対策確立に効果的に活用される事が期待される。また*E. histolytica* kitの有用性に鑑み、施設の職員レベルでも確実に実施できるようにすればより一層実態把握が容易に行なえるものと思われる。今後この方向を推進したい。

*E. dispar*の無菌培養系の作成や、種・サブポピュレーション同定法の確立についても新しい展開が見られた。特にツクサの有する*E. dispar*の増殖促進因子が初めて具体的に同定されつつある事、サブポピュレーションの同定が進行し、同性愛者、施設内居住者が対照的なアメーバの分布状態を示した事など、今後アメーバ感染の診断法の確立、あるいは疫学的実態解明に大きな示唆を与えるものと云える。アメーバ表面のレクチンのワクチンとしての可能性の検討も遺伝子レベルに及び、今後の発展が期待される。

薬剤開発のための標的あるいは阻害剤の研究は前年度と同様囊子形成・脱囊過程、及び増殖阻害をマーカーとして継続し、幾つかの特徴を明らかにした。今後これらの成果に基づき、阻害剤の検索の範囲を拡大するのみならず、リード化合物の絞り込みを行なう予定である。

E. まとめ

これまでの調査研究によって、わが国の施設内アメーバ感染が当初予測した以上に拡大していることが明らかになったが、集団治療及び関連する環境衛生施策の実施によって、一部では確実に抑圧できる見通しが立ちつつあることは重要と思われた。今後更に規模を拡大しつつ実態を明らかにする必要があるが、知的障害者更正施設のみならず精神科患者施設にも感染が広がっている可能性が指摘されたことは注意に値しよう。新規導入された抗原定量キットの有用性も確認され、今後現場での一般的な使用を目標として拡充したい。作成した感染予防ガイドラインは今後種々改編される可能性はあるものの有効に活用される事が期待される。その他の対策確立のための基礎・応用研究も着実な進展を見せた。特にE. disparの増殖因子の特定化とサブポピュレーションの同定法の確立、及び施設内感染は単一の株によっていると云う所見は今後に資するところが大きいと思われる。

F. 健康危険情報

施設内感染としてのアメーバ症は衛生・福祉行政上注意を払うべき存在である事はすでに明確になったといえる。今後の調査が対象を精神科患者施設などにも拡大しつつあるところ、その動向を常に念頭に置いておくべきであろう。職員など周辺への感染にも注意を払うべきであろう。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hamano S, Horio M, Miura S, Higo H, Iihoshi N, Noda K, Tada I & Takeuchi T : Detection of kinetoplast DNA of Trypanosoma cruzi from dried feces of triatomine bugs by PCR. *Parasitol Int.*, 2001, 50, 135-138.

Fukao T, Yamada T, Tanabe M, Terauchi Y, Ota T, Takayama T, Asano T, Takeuchi T, Kadowaki T, Hata J & Koyasu S : Selective loss of gastrointestinal mast cells and impaired immunity in PI3K-deficient mice. *Nature Immunol*, 2002, 3, 295-304.

Cheng X-J, Huges MA, Huston CD, Loftus B, Gilchrist CA, Lockhart LA, Ghosh S, Miller-Sims V, Mann B, Petri, WA Jr & Tachibana H : Intermediate subunit of the Gal/GalNAc lectin of Entamoeba histolytica is a member of a gene family containing multiple CXXC sequence motifs. *Infect Immun*, 2001, 69, 5892-5898.

Tanyuksel M, Tachibana H & Petri WA Jr : Amebiasis, an emerging disease. In: *Emerging Infections 5*, Scheld WM, Craig WA & Huges JM eds, ASM Press, Washington DC, 2001, pp 197-212.

Tachibana H, Cheng X-J, Kobayashi S, Matsubayashi N, Gotoh S & Matsubayashi K : High prevalence of infection with Entamoeba dispar, but not E. histolytica, in captive macaques. *Parasitol Res*, 2001, 87, 14-17.

Cheng X-J & Tachibana H : Protection of hamsters from amebic liver abscess formation by immunization with the 150- and 170-kDa surface antigens of Entamoeba histolytica. *Parasitol Res*, 2001, 87, 126-130.

Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S & Takeuchi T : Possible role of calcium ion, calcium channel and calmodulin in excystation and metacystic development of Entamoeba invadens. *Parasitol Res*, 2002, in press.

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T : Effect of proteasome inhibitors on the growth, encystation, and excystation of Entamoeba histolytica and Entamoeba invadens. *Parasitol Res*, 2002, in press.

Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S & Takeuchi T : Inhibition of excystation and metacystic development of Entamoeba invadens by the dinitroaniline herbicide oryzalin. *J Parasitol*, 2002 in press.

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T : Effect of jasplakinolide on the growth, encystation, and actin cytoskeleton of Entamoeba histolytica and Entamoeba invadens. *J Parasitol*, 2001, 87, 399-405.

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T : Inhibition of encystation of Entamoeba invadens by wortmannin. *Parasitol Res*, 2001, 87, 371-375.

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T : Entamoeba invadens: Enhancement of excystation and metacystic development by cytochalasin D. *Exp Parasitol*, 98, 145-152

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T : Effect of calcium antagonists, calcium channel blockers and calmodulin inhibitors on the growth and encystation of Entamoeba histolytica and E. invadens. *Parasitol Res*, 2001, 87, 833-837.

Sanuki J, Tokoro M, Nozaki T, Okuzawa E & Asai T : Purification and characterization of a major soluble 40-kDa antigen from Entamoeba histolytica and its use for serodiagnosis of chronic amebiasis. *Parasitol Int*, 2001, 50, 73-80.

Nozaki T, Shigeta Y, Saito-Nakano Y, Imada M & Kruger WD : Characterization of transsulfurylation and cysteine biosynthetic pathway in the protozoan haemoflagellate, Trypanosoma cruzi: Isolation and molecular characterization of cystathionine acetyltransferase from trypanosoma. *J Biol Chem*, 2001, 276, 6516-6523.

Saito-Nakano Y, Nakazawa M, Shigeta Y, Takeuchi T & Nozaki T : Identification and characterization of genes encoding novel Rab proteins from Entamoeba histolytica. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, 116, 219-222.

竹内 勤、小林正規、今井栄子 : 施設内感染の問題、特に寄生虫感染について。薬理と治療、2001, 29, 684-687.

竹内 勤、小林正規、今井栄子 : 寄生虫の院内(施設内)感染対策。エビデンスに基づいた感染制御、小林寛伊、吉倉 廣、荒川宣親編集、メジカルフレンド社、2002、pp141-148. 151.

竹内 勤 : 原虫・寄生虫感染症。エクセルナース(感染症編)、永武 毅、小林初子編集、メジカルビュー社、2002、pp80-88.

竹内 勤 : 原虫・寄生虫。看護のための最新医学講座、第10巻、微生物と感染症、岩本愛吉編集、中山書店、2001、pp12-25.

竹内 勤 : 血中赤痢アメーバ抗体価(間接蛍光抗体法)。臨床検査ガイド、文光堂、2001、pp898-902.

野崎智義、竹内 勤 : 寄生性原虫における硫黄含有アミノ酸生合成・分解経路—新しい抗原虫感染症薬剤の開発標的。蛋白質核酸酵素、2002、47、21-29.

2. 学会発表

竹内 勤、高木正洋 : 寄生虫における衛生動物・衛生動物における寄生虫—両学会にブリッジをかける。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、合同パネルディスカッション、山形、2001年4月

宮平 靖、片江正治、竹内 勤、青木孝 : Trypanosoma cruzi感染経過に及ぼす補助刺激分子の役割。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、ワークショップ1 感染症免疫における寄生虫の特異性、山形、2001年4月

中野由美子、保田友義、繁田泰男、竹内 勤、野崎智義：赤痢アメーバが貪食する際のRab5の機能解析。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、ワークショップ4 生化学・細胞生物学はどのように寄生虫感染症の理解に役立つのか？ 山形、2001年4月

浅井隆志、三浦 恵、所 正治、斎藤智也、前田卓哉、竹内 勤：トキソプラズマNTPaseの反応解析。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、ワークショップ4 生化学・細胞生物学はどのように寄生虫感染症の理解に役立つのか？ 山形、2001年4月

鈴江一友、小林正規、竹内 勤、小安重夫：Leishmania major感染におけるTh1/Th2のバランスは樹状細胞が決定する。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、ワークショップ5 寄生虫の感染防御を担う細胞を巡って、山形、2001年4月。

大友弘士、木村幹男、狩野繁之、竹内勤、早野真史：最近の輸入マラリアの現状。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、ワークショップ6 輸入寄生虫症の症例・疫学、山形、2001年4月。

小林正規、今井栄子、田辺将信、竹内勤：植物葉肉細胞から抽出されたEntamoeba dispar増殖促進因子の精製。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、山形、2001年4月。

牧岡朝夫、熊谷正広、大友弘士、小林正規、竹内 勤：プロテインキナーゼC阻害剤によるEntamoeba invadensの増殖およびシスト形成の抑制。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、山形、2001年4月。

牧岡朝夫、熊谷正広、大友弘士、小林正規、竹内 勤：Entamoeba invadensの増殖、シスト形成及び細胞骨格に及ぼすアクチン重合促進・安定化剤Jasplakinolideの効果。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、山形、2001年4月。

所 正治、浅井隆志、小林正規、斎藤智也、前田卓哉、中沢 幹、竹内 勤、野崎智義：赤痢アメーバにおけるメチオニンガンマリアーゼの解析。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、山形、2001年4月。

橋 裕司、渡辺勝臣、程 訓佳、金田良雅：無症候性嚢子排出者の抗赤痢アメーバ人工抗体の作製。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、2001年4月。

程 訓佳、金田良雅、橋 裕司：ハムスターのアメーバ性肝臓瘍形成に対する赤痢アメーバ150-および170k-Da表面抗原のワクチン効果。第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、2001年4月。

Cheng X-J, Yoshihara E, Kaneda Y & Tachibana H: Cloning, expression and characterization of a peroxi-redoxin from Entamoeba moshkovskii. XI International Congress of Protozoology, Salzburg, 2001, July.

Tachibana H, Cheng X-J, Watanabe J & Kaneda Y : Recombinant monoclonal antibody Fab fragmentd specific for Entamoeba histolytica from peripheral lymphocytes of an symptomatic cyst carrier. XI International Congress of Protozoology, Salzburg, 2001, July

橋 裕司、中田雄太、程 訓佳、金田良雅、竹腰正隆 : 赤痢アメーバに特異的でアルカリフォスファターゼ活性を有する組み替え型ヒトモノクロナル抗体の作製. 第42回日本熱帯医学会大会、2001年9月.

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T : Enhanced excystation and metacystic development of Entamoeba invadens by cytochalasin D. XI International Congress of Protozoology, Salzburg, 2001, July.

牧岡朝夫、熊谷正広、大友弘士、小林正規、竹内 勤 : Cytochalasin DによるEntamoeba invadensの脱嚢促進. 第41回日本熱帯医学会大会、東京、2001年9月.

牧岡朝夫、熊谷正広、大友弘士、小林正規、竹内 勤 : Entamoeba invadensの増殖及び嚢子形成へのシグナル伝達分子の関与. 第41回日本熱帯医学会大会、東京、2001年9月.

牧岡朝夫、熊谷正広、大友弘士、小林正規、竹内 勤 : Entamoebaの増殖及び嚢子形成へのカルシウムイオンの関与. 第61回日本寄生虫学会東日本大会、東京、2001年10月.

牧岡朝夫、熊谷正広、大友弘士、小林正規、竹内 勤 : Cytochalasin DによるEntamoeba invadensの脱嚢促進. 第34回日本原生動物学会大会、神戸、2001年11月.

Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S & Takeuchi T : Inhibition of excystation and metacystic development of Entamoeba invadens by the dinitroaniline herbicides oryzalin. International Conference for Amebiasis and the Biology of Entamoeba histolytica, Agra, 2002, February.

Kumagai M, Makioka A, Takeuchi T & Nozaki T : Molecular characterization of farnesyltransferase of Entamoeba histolytica. International Conference on Amebiasis and the Biology of Entamoeba histolytica, Agra, 2002, February.

野崎智義 : 原虫における硫酸含有アミノ酸の生合成の多様性と意義. 第70回日本寄生虫学会、第53回日本衛生動物学会合同大会、シンポジウム、2001年4月.

Nozaki T : Functional analysis of sulfur-containing amino acid metabolism in Entamoeba histolytica. 36th Joint Conference on Parasitic Diseases, Japan-US Cooperative Science Program, Bethesda, USA, 2001, August.

Saito-Nakano Y, yasuda T, Shigeta Y, Nakazawa M, Takeuchi T & Nozaki T : The mechanism of phagosome formation in Entamoeba histolytica. Molecular Parasitology Meeting, Woods Hole, 2001, September.

Tokoro M, Asai T, Kobayashi S, Takeuchi T & Nozaki T : Sulfur amino acid metabolism of Entamoeba histolytica: characterization of two isozymes of methionine gamma-lyase. Molecular Parasitology Meeting, Woods Hole, 2001, September.

Bhattacharya A, Clark G, Guillen N, Nozaki T, Samuelson J, Singh U & Tannich E : The Entamoeba histolytica genome project: progress and new directions. 50th Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2001, October.

野崎智義 : 寄生性原虫における硫黄含有アミノ酸生合成経路の多様性. 第24回日本分子生物学会年会、ワークショップ.

Saito-Nakano Y, Yasuda T, Shigeta Y, Takeuchi T & Nozaki T : The mechanism of phagosome formation in Entamoeba histolytica. International Conference on Amebiasis and the Biology of Entamoeba histolytica, Agra, 2002, February.

Tokoro M, Asai T, Kobayashi S, Tanabe M, Takeuchi T & Nozaki T : Characterization of methionine gamma-lyase from Entamoeba histolytica: a key enzyme of sulfur-containing amino acid degradation. International Conference on Amebiasis and the Biology of Entamoeba histolytica, Agra, 2002, February.

Hagigi A, Kobayashi S, Takeuchi T, Masuda G & Nozaki T : Analysis of highly polymorphic DNA of the Entamoeba histolytica isolates from Japan. International Conference on Amebiasis and the Biology of Entamoeba histolytica, Agra, 2002, February.

H. 知的所有権の取得状況
なし

別紙 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
竹内 勤 小林正規 今井栄子	寄生虫の院内(施設内)感染対策	小林寛伊 吉倉 廣 荒川宣親	Eビデンスに基づいた 感染制御	メジカルフレンド社	東京	2002	pp141~ 148
竹内 勤	原虫・寄生虫感染症	永武 毅 小林初子	エクセルナース (感染症編)	メジカルビュー社	東京	2002	pp80~88
竹内 勤	原虫・寄生虫	岩本愛吉	看護のための最新医学講座 第10巻、微生物と感染症	中山書店	東京	2001	pp12~25
竹内 勤	血中赤痢アメーバ抗体価 (間接蛍光抗体法)		臨床検査ガイド	文光堂	東京	2001	pp898~ 902
竹内 勤	消化器・生殖器・泌尿器寄生の原虫症	多賀須幸男、尾形悦郎 、山口徹、北原光夫	今日の治療指針、2001	医学書院	東京	2001	pp199~ 200

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hamano S, Horio M, Miura S, Higo H, Iihoshi N, Noda K, Tada I & Takeuchi T	Detection of keinetoplast DNA of <u>Trypanosoma cruzi</u> from dried feces of triatomine bugs by PCR	Parasitol Int	50	135- 138	2001
Fukao T, Yamada T, Tanabe M, Terauchi Y, Ota T, Takayama T, Asano T, Takeu- chi T, Kadowaki T, Hata J & Koyasu S	Selective loss of gastro- intestinal mast cells and impaired immunity in PI3K -deficient mice	Nature Immunol	3	295- 304	2002
Cheng X-J, Hughes MA, Huston CD, Lof- tus B, Gilchrist CA, Lockhart LA, Ghosh S, Miller- Sims V, Mann B, Petri, WA Jr & Tachibana H	Intermediate subunit of the Gal/GalNAc lectin of <u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u> is a member of a gene family containing multi- ple CXXC sequence motifs	Infect Immun	69	5892~ 5898	2001

Tanyuksel M, Tachibana H & Petri WA Jr	Amebiasis, an emerging disease	Emerging Infections		197~ 212	2001
Tachibana H, Cheng X-J, Kobayashi S, Matsubayashi N, Gotoh S & Matsubayashi K	High prevalence of infection with <u>Entamoeba dispar</u> , but not <u>Entamoeba histolytica</u> , in captive macaques	Parasitol Res	87	14~ 17	2001
Cheng X-J & Tachibana H	Protection of hamsters from amebic liver abscess formation with the 150- and 170-kDa surface antigens of <u>Entamoeba histolytica</u>	Parasitol Res	87	126~ 130	2001
Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S, & Takeuchi T	Possible role of calcium ion, calcium channel and calmodulin in excystation and metacystic development of <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res		in press	2002
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of proteasome inhibitors on the growth, encystation, and excystation of <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res		in press	2002
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Inhibition of excystation and metacystic development of <u>Entamoeba invadens</u> by the dinitroaniline herbicide, oryzalin	J Parasitol		in press	2002
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of jasplakinolide on the growth, encystation and actin cytoskeleton of <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>Entamoeba invadens</u>	J Parasitol	87	399~ 405	2001
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Inhibition of encystation of <u>Entamoeba invadens</u> by wortmannin	Parasitol Res	87	371~ 375	2001

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	<u>Entamoeba invadens</u> : Enhancement of excystation and metacystic development by cytochalasin D	Exp Parasitol	98	145~152	2001
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of calcium antagonists, calcium channel blockers and calmodulin inhibitors on the growth and encystation of <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>E. invadens</u>	Parasitol Res	87	833~837	2001
Sanuki J, Tokoro M, Nozaki T, Okuzawa E, Kobayashi S & Asai T	Purification and characterization of a major soluble 40-kDa antigen from <u>Entamoeba histolytica</u> and its use for serodiagnosis of chronic amebiasis	Parasitol Int	50	73~80	2001
Nozaki T, Shigeta Y, Saito-Nakano Y, Imada M & Kruger WD	Characterization of transsulfurylation of cysteine biosynthetic pathway in the protozoan haemoflagellate, <u>Trypanosoma cruzi</u> : Isolation and characterization of cystathionine acetyltransferase from <u>trypanosoma</u>	J Biol Chem	276	6516~6523	2001
Saito-Nakano Y, Nakazawa M, Shigeta Y, Takeuchi T & Nozaki T	Identification and characterization of genes encoding novel Rab proteins from <u>Entamoeba histolytica</u>	Mol Biochem Parasitol	116	219~222	2001
竹内 勤、小林正規、今井栄子	施設内感染の問題、特に寄生虫感染について	薬理と治療	29	684~687	2001
野崎智義、竹内 勤	寄生性原虫における硫黄含有アミノ酸生成・分解経路 - 新しい抗原虫感染症薬剤の開発標的	蛋白質核酸酵素	47	21~29	2002

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

アメーバ症の実態の解明と対策確立に関する研究、及び諸診断法の応用に関する研究

分担研究者 竹内 勤 慶應義塾大学医学部熱帯医学・寄生虫学教室教授

研究要旨 1) 知的障害者更正施設3施設（4グループ）の園生325名及び職員131名を対象として赤痢アメーバ集団感染の治療後の実態調査を行った。また新たに精神科患者療養施設1施設について血清学的検査による赤痢アメーバ集団感染の実態調査を行った。その結果、知的障害者更正施設3施設、3グループからは赤痢アメーバ嚢子、栄養型或いは抗原 (*E. histolytica* II kit; TechLab Inc., USA により検出) 全ての陽性者について陰転が確認された。重症障害者更生施設（1グループ）からは、11名の赤痢アメーバ、或いは抗原陽性者が見出された。これらの陽性者に対し陰転が確認されるまで治療を実施した。治療はメトロニダゾールにより行い治療効果判定は糞便検査法により行った。精神科患者療養施設1施設の園生17名について行った血清学的検査からは9名の抗赤痢アメーバ抗体陽性者が検出された。2) 植物（ツユクサ）葉肉細胞から非病原性の *Entamoeba dispar* の増殖促進因子として、アセトン抽出法により分子量5,000前後の鉄を含む蛋白構成成分が同定された。還元剤処理によっても、この成分が抽出されることからアメーバのエネルギー代謝にも重要な役割を担う鉄-硫黄蛋白（フェレドキシン）の鉄-硫黄中心のような安定した成分と推定された。

A. 研究目的

1) 現在諸種の施設で深刻な問題となっている赤痢アメーバ集団感染の実態調査を行い、その結果をもとに赤痢アメーバ症のより効果的な予防対策を立案し実際に試みる。そしてその予防対策をマニュアル化し、他施設へ還元すること及び今後の厚生・福祉行政へ反映させることを目的とする。

2) 赤痢アメーバと近縁種で非病原性という特徴以外は遺伝子的にも類似点の多い *Entamoeba dispar* の培養系を確立し、免疫診断、遺伝子診断への応用、或いは毒力の検査に応用することを目的とする。

B. 研究方法

1) 治療後の赤痢アメーバ施設内集団感染状況の実態調査：知的障害者更正施設3施設（4グループ）の園生325名及び職員131名を対象とし

て治療の有無にかかわらず調査を行った。施設園生、職員全員の糞便の顕微鏡的検査と赤痢アメーバ抗原の有無を *E. histolytica* II kit (TechLab Inc., USA) を用いて検査した。糞便検査陽性者に対しては施設嘱託医によりメトロニダゾールによる治療が行われた。一部では衛生教育、環境衛生対策などをも実施した。治療は赤痢アメーバ嚢子、栄養型、抗原が陰性になるまで繰り返し行われた。治療効果判定は治療（1クール）後2週間以上を経た後糞便検査により行った。

2) 診断に応用するための *E. dispar* の確実な無菌培養法の確立：① SAW1734RcloneAR ② AS2IR ③ AS16IR ④ CYN009:TPC ⑤ CYN016:TPC の *E. dispar* 5株を使用した。これらの株は昨年度の成果として新たに見いだした *E. dispar* の増殖促進因子であるツユクサの葉肉細

胞超音波処理抽出液を加えることで無菌的に培養維持されている。培地は我々が考案した YIGADHA-S 培地にグラム陰性菌などの膜成分にもみられるウロン酸のうちガラクトuron酸 (0.02%) を新たに培地組成に加えたものである。

i) 植物 (ツユクサ) の葉からのアセトン、エタノール等の有機溶媒を用いた *E. dispar* 増殖促進因子の抽出: ① ツユクサの葉を破碎して得られた葉肉細胞/Dulbecco's PBS, pH 7.4 懸濁液を凍結乾燥した。②20mg/ml になるよう各種濃度のアセトン (エタノール) を加え氷上で 30 分抽出した。10,000g、10分 (4℃) 遠沈し、その上清を乾燥重量の 120 倍になるよう 2.4 倍の蒸留水で希釈し、分子量 3,000 或いは 10,000 cut off の透析チューブに入れ 2 日間 4℃ で蒸留水に対し透析した。透析後その上清分画を 0.2 μm pore size のメンブラン・フィルターで濾過して培地に 0.1-0.4ml/6ml になるよう添加した。

ii) SDS 及び Native 電気泳動法 (SDS PAGE, Native PAGE) による増殖促進物質の解析: ① 7%, 12%, 20% の Tris-glycine gel 及び 4-12% Bis-Tris gradient gel (NuPAGE Novex precast gel system) を用い、それぞれ Laemmli (Tris-Glycine) system 及び NuPAGE (Tris-MOPS/MES) system により電気泳動を行った。②泳動材料はツユクサ葉肉細胞凍結乾燥標品を 0, 20, 80, 100% のアセトン (20mg/ml) で抽出後、10,000g、10分 (4℃) 遠沈し、その上清分画の 20μl をエバポレーターにより乾燥後 10% アセトンにより (Native PAGE)、或いは 4% 2-mercaptoethanol (2ME) or 50mM DTT/1.6% SDS を終濃度とするサンプルバッファー (SDS PAGE) に溶解させることで調製した。③染色は蛋白染色 (Coomassie R-250、銀染色; 2D-銀染色試薬・II「第一」、第一化学薬品 K.K) 及び鉄-蛋白染色 (Kuo C-F and Fridovich I, 1987) を行った。

4) 分離用ディスク電気泳動法による増殖促進物質を含む分画の分取: Mini Prep Cell

(BIO-RAD, 170-2908) 電気泳動装置を用い ツユクサ葉肉細胞アセトン抽出液を泳動し泳動分画を分取し増殖促進活性の有無を調べた。

5) *E. dispar* 栄養型の増殖促進効果の判定: YIGADHA-S 培地以外に増殖促進効果のある物質を何も加えないで無菌培養した AS16IR 株栄養型に増殖促進活性が期待される物質を加え、その増殖曲線と試験物質を加えないコントロールの増殖曲線とを比較することでその効果を判定した。

C. 研究結果

1) 知的障害者更正施設 3 施設 (3 グループ) の治療後の実態調査結果からは、赤痢アメーバ嚢子、栄養型或いは抗原 (*E. histolytica* II kit; TechLab Inc., USA により検出) 全ての陽性者について陰転が確認され、治療後 6~12 ヶ月を経た後も新たな感染者も見られなかった。しかし、重症障害者厚生施設 (1 グループ) からは、11 名の赤痢アメーバ、或いは抗原陽性者が見い出された。このうち 6 名は新たに見い出された感染者であり、何れも血清学的には陰性であったため糞便検査を行っていなかった園生であった。これらの陽性者に対しさらに陰転が確認されるまで治療を実施している。治療はメトロニダゾールにより行い治療効果判定は糞便検査法により行った。精神科患者療養施設 1 施設の園生 17 名について行った ELISA 法による血清学的検査からは 9 名の抗赤痢アメーバ抗体陽性者が検出された。また検査のために昨年度より導入された *E. histolytica* II kit は遠隔の地からの検体でも冷蔵 (或いは冷凍) 保存してあれば検査が可能であるため、このキットを使用することで実態調査における検査の信頼度が向上したが、さらに本年度の成果として便をエタノールで保存することで、その期間についてはまだ詳しく検討していないが赤痢アメーバ栄養型或いは嚢子陽性者の PCR 検査が可能となることがわかった。そして施設で集団感染している赤痢アメーバの virulence について 1 施設の無症候であった園生から分離された赤痢アメーバ株 1 株

を無菌培地で *Crithidia* と共棲培養(monoxenic culture)した後、スナネズミの肝左葉に接種し膿瘍の形成能をみた。その結果、2週間後には肝の左葉の殆どは膿瘍に置き換えられていた。

2) ツユクサの葉肉細胞の凍結乾燥標品からは超音波処理による以外にアセトン、エタノールなどの有機溶媒や2-mercaptoethanol /SDS や DTT/SDSなどの還元剤/界面活性剤によっても抽出できることがわかった。0, 20, 40, 80, 100%アセトン抽出試料のSDSPAGE

(4-12%Bis-Tris gradient gel, NuPAGE Novex precast gel system) (銀染色) の結果からは80%,100%アセトン抽出試料では蛋白は葉緑素とcomplexを形成していると考えられる分子量3,500~6,000の蛋白バンド以外は殆ど見られなくなっていることがわかり、分離用ディスク電気泳動法により分取したこの葉緑素を含む約分子量6,000 \geq の分画に増殖促進物質が含まれていることも確認された。また0%, 20%, 40%, 80%, 100%アセトン抽出分画を透析後、増殖促進効果を調べた結果80%,100%アセトン抽出分画とともに0%アセトン(蒸留水)抽出分画ではみられない約分子量5,000の蛋白バンドが出現している 20%アセトン抽出分画にも80%アセトン抽出分画に匹敵する増殖促進効果がみられた。そしてこの蛋白バンドが濃く出現している分画ほど増殖促進効果が高いことがわかった。これらの結果からこの約分子量5,000の蛋白が増殖促進物質である可能性が示唆された。またこの蛋白と葉緑体バンドしか見られない80%と100%アセトン分画に鉄が含まれているらしいことがdiaminobenzoateの H_2O_2 による酸化を触媒する鉄の性質を利用した反応から示唆された。さらに4% 2-ME / 1.6% SDSでも増殖促進物質が抽出されこの分子量5,000前後のバンドも出現することがわかった。NativePAGEの結果からは鉄-硫黄蛋白であるハウレンソウの精製されたフェレドキシン(Sigma Chem. Co., USA. F-3013)とツユクサ葉肉細胞凍結乾燥標品の80%抽出分画ではフェレドキシンと推定される

バンドの消失がみられた。これらの結果から分子量 5,000 前後の蛋白はintactな蛋白というよりはアセトン処理により修飾され低分子化されたその構成(蛋白)ユニットと考えられ、アメーバのエネルギー代謝にも重要な役割を担う鉄-硫黄蛋白(フェレドキシン)の鉄-硫黄中心のような安定した成分ではないかと現在推定している。

D. 考察

1) H.13年度は主として知的障害者更正施設3施設(4グループ)を対象として赤痢アメーバ集団感染の治療後の実態調査を行った。その結果、園生、職員全員を対象として糞便検査を行い、陽性者に対し陰転化するまで治療を繰り返し行った施設では、今回再度陽性となった者は見られず高い治療効果を示すことがわかった。一方、血清反応陽性者を対象としてのみ糞便検査を行った、1施設では治療後の検査にもかかわらず6名の新たな陽生者を含む11名の陽生者が見られた。この要因として血清反応陰性者に嚢子が存在したことが挙げられ、無症候の赤痢アメーバ感染者ではELISA法のような感度の高い方法でも必ずしも抗体が陽性にならないことが示された。また血清学的検査結果からだけではあるが、精神科患者療養施設1施設でも52.9%と高い抗体保有率を認めたことから、知的障害者更正施設に限らず他の諸種施設においても想像以上に高率の赤痢アメーバ感染があるらしいことがわかり改めて集団感染の深刻さを認識した。また赤痢アメーバの集団感染がみられる施設では職員の血清学的検査の陽性率が高く、感染が成立する例は少ないもののそこで働く職員にも感染する機会は少なからず存在することを調査の結果は示しているように思われた。今後さらに赤痢アメーバの施設内集団感染の実態を明らかにするため知的障害者更正施設以外の施設についても調査したいと考えている。

2) 本研究の成果において80,100%アセトン抽出分画のSDSPAGEと分離用ディスク電気泳動法の結果から増殖促進物質が葉緑素と約5,000の蛋白