

FIG. 6. Acidification of *EhRab5/EhRab7A*-associated PPV and phagosomes. *A*, localization of *EhRab5* (green) and LysoTracker (red) (left panel), and *EhRab7A* (green) and LysoTracker (red) (right panel) in the absence of red blood cells. Amoebae were pulsed with LysoTracker overnight and subjected to immunofluorescence assay with anti-HA (for *EhRab5*) or anti-Myc (for *EhRab7A*) monoclonal antibody. *B*, localization of *EhRab7A* (green) and LysoTracker (red) at 5 and 30 min of red blood cell incubation. White arrowheads (5 and 30 min) indicate *EhRab7A*-positive PPV that do not contain LysoTracker. Yellow arrowheads (30 min) indicate *EhRab7A*-positive PPV containing LysoTracker. White arrows indicate phagosomes that contain LysoTracker and are also associated with *EhRab7A*. Yellow arrows indicate phagosomes containing LysoTracker, but not associated with *EhRab7A*. Bars, 10 μ m. *C*, quantitative analysis of PPV acidification. The number of LysoTracker-associated (filled bars) or non-associated PPV (open bars) per amoeba is shown together with the percentages of the acidified PPV (circles and a line). Error bars represent S.D. of three independent experiments.

min), suggesting that both amoebapore and CP2 were contained in the lysosomes at steady state. The subcellular localization of both amoebapore and LysoTracker changed during erythrophagocytosis. At 10 min, 80% of acidified *EhRab7A*-

positive PPV were associated with amoebapore (Fig. 7, *A*, 10 min, and *C*). At 30 min, all acidified *EhRab7A*-positive PPV remained amoebapore-positive (Fig. 7*C*, 30 min). In contrast, amoebapore and LysoTracker did not perfectly overlap on phagosomes at 30 min; all combinations of amoebapore and LysoTracker positive or negative phagosomes were seen (Fig. 7*A*, 30 min). As the number of total phagosomes increased during incubation with red blood cells, the number of amoebapore- or LysoTracker-positive phagosomes increased in parallel (Fig. 7*D*). However, the number of *EhRab7A*-associated phagosomes did not increase after 30 min; the percentage of *EhRab7A*-positive phagosomes transiently increased at 20 min and then decreased (i.e. 20, 31, 25, and 19% at 10, 20, 30, and 50 min), consistent with the notion that *EhRab7A* was dissociated from phagosomes at this stage. The kinetics of CP2 was indistinguishable from that of amoebapore (data not shown). These results indicate that amoebapore and CP2 were transported from lysosomes to phagosomes via PPV.

We noticed that amoebapore was concentrated in the peripheral part of PPV, and not evenly distributed in the vacuole (e.g. Fig. 7*A*, 10 min). An immunoelectron micrograph using an anti-amoebapore A antibody further documented detailed localization of amoebapore in the PPV (Fig. 7*B*). At the 10-min addition of red blood cells, gold particles were detected on an amorphous structure that partially occupies the lumen. Furthermore, the amoebapore-containing vacuole included membrane structures (Fig. 7*B*, arrow). The concentrated localization of amoebapore within PPV was similar to that observed for endocytosed FITC-dextran (Fig. 4*B*).

Expression of *EhRab5* Wild Type or Mutants Influences Cell Growth, Ingestion of Red Blood Cells, and Amoebapore Transport to Phagosomes but Not Endocytosis.—To further examine the specific role of *EhRab5* and PPV, we introduced a constitutively active GTP form (*EhRab5Q67L*) or an inactive GDP form (*EhRab5S22N*) mutant of *EhRab5* into wild-type amoeba. Introduction of neither wild-type *EhRab5* nor *EhRab5S22N* affected the amoeba growth compared with the vector control independent of coexpression of *EhRab7A* (Fig. 8*A*). In contrast, expression of *EhRab5Q67L* unexpectedly caused a severe growth defect. This is the first case of a growth defect caused by the expression of a mutant Rab5.

We also studied the effects of expression of wild-type and mutant *EhRab5* on phagocytosis of red blood cells. The number of red blood cells engulfed by the amoebae at 10, 20, or 30 min was counted (Fig. 8*B*). Expression of wild-type *EhRab5* accelerated engulfment of red blood cells by 1.4–2.2-fold, whereas expression of either the *EhRab5Q67L* or *EhRab5S22N* mutant inhibited the efficiency of phagocytosis by 50–70% compared with the control transformant.

Next, we assessed whether expression of *EhRab5* wild-type or mutants influences the transport of cargo proteins, e.g. amoebapore, to phagosomes. Efficiency of the amoebapore transport was evaluated by calculating percentages of phagocytosed red blood cells that colocalized with amoebapore (Fig. 8*C*). In the control transformant cells, $67.0 \pm 7.5\%$ of engulfed red blood cells colocalized with amoebapore at 30 min of incubation, whereas $87 \pm 2.3\%$ of the ingested red blood cells colocalized with amoebapore in wild-type *EhRab5*-expressing cells ($p < 0.01$). In contrast, the expression of *EhRab5Q67L* reduced efficiency of the amoebapore transport to $45 \pm 3.0\%$ ($p < 0.05$), whereas no significant change was observed in the *EhRab5S22N*-expressing transformant ($58 \pm 2.8\%$, $p > 0.1$). These data indicate that overexpression of wild-type *EhRab5* or the *EhRab5Q67L* mutant increased or interfered with the amoebapore transport to phagosomes, respectively. Neither fluid-phase nor receptor-mediated endocytosis (56), as indi-

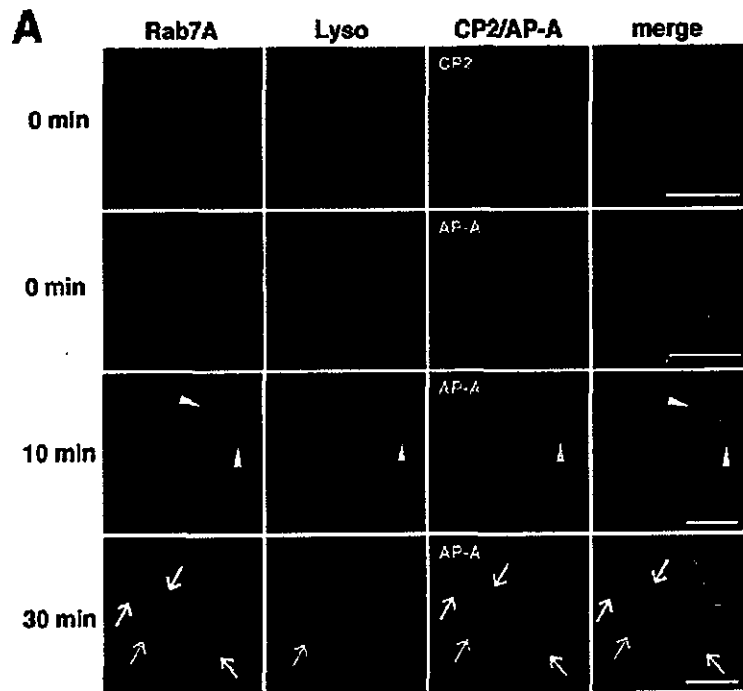
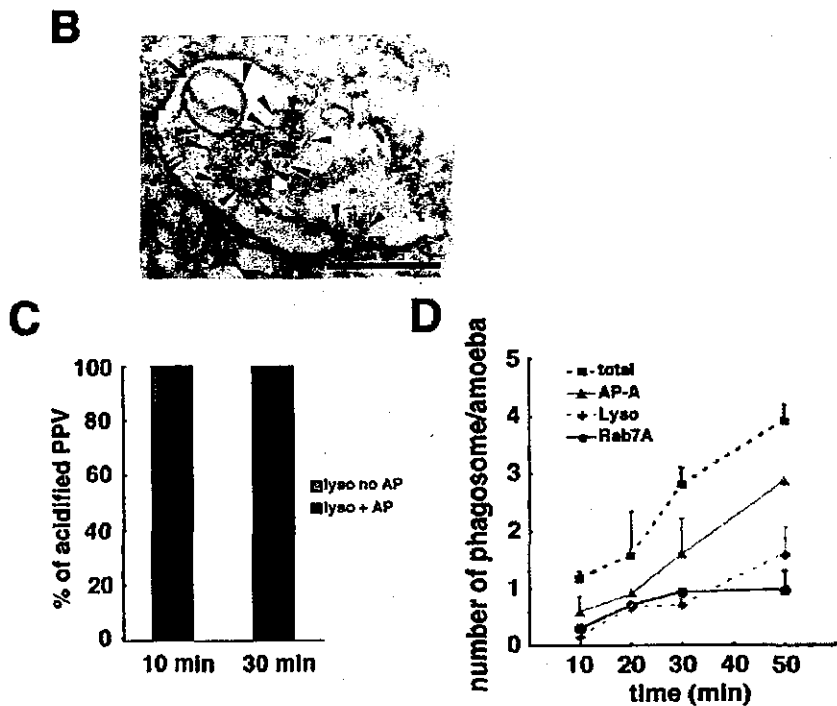


FIG. 7. Amoebapore A (AP-A) and cysteine proteinase 2 (CP2) were transported to the red blood cell-containing phagosomes via PPV. **A**, subcellular localization of *EhRab7A* (green), LysoTracker (red), and CP2 or AP-A (blue) in the absence (0 min) or presence of red blood cells (10 and 30 min). White arrowheads indicate *EhRab7A*-positive PPV that contain neither LysoTracker nor AP-A. Yellow arrowheads indicate PPV containing both LysoTracker and AP-A. White arrows indicate phagosomes associated with AP-A, but not with LysoTracker. Yellow arrows indicate phagosomes that contain both LysoTracker and AP-A. Bars, 10 μ m. **B**, an immunoelectron micrograph using the amoebapore antibody after a 10-min incubation of red blood cells. Localization of amoebapore indicated by 5-nm of gold particles (arrowheads) was partially localized in the vacuole of 2.5 μ m in diameter. Luminal membrane structure found in the vacuole was indicated with an arrow. Bar, 1 μ m. **C**, colocalization of LysoTracker and AP-A on PPV. The percentages of PPV that contained both LysoTracker and AP-A (filled bars), or LysoTracker only (gray bars) at 10 and 30 min of red blood cell incubation are shown. **D**, quantitative analysis of phagosome maturation. The number of total phagosomes, and the AP-A-, LysoTracker-, or *EhRab7A*-associated phagosomes is shown at 10–50 min of red blood cell incubation.



cated by FITC-dextran (Fig. 8D) or lactoferrin (data not shown) internalization, respectively, was influenced by expression of wild-type or mutant *EhRab5* up to 3 h. Together with the lack of colocalization of *EhRab5* and FITC-dextran shown above (Fig. 4A), these results also support the premise that *EhRab5* is unlikely involved in endocytosis. In addition, the efflux of the internalized fluid-phase marker was not affected in *EhRab5* mutants (data not shown).

***EhRab5* Plays an Essential Role in the Formation of PPV.**—Subcellular localization of *EhRab5* mutants was examined to

assess possible reasons for a defect in growth, phagocytosis, and amoebapore transport to phagosomes. Confocal immunofluorescence micrographs showed that both *EhRab5Q67L* and *EhRab5S22N*, probed with anti-*EhRab5* antibody, were localized to small vesicular-like structures that resemble those observed for wild-type *EhRab5* and *EhRab7A* at steady state (data not shown). After a 10-min incubation with red blood cells, in contrast to wild-type *EhRab5*, *EhRab5Q67L*- or *EhRab5S22N*-associated vacuoles were not observed; their localization appeared to be identical to that at steady state (Fig.

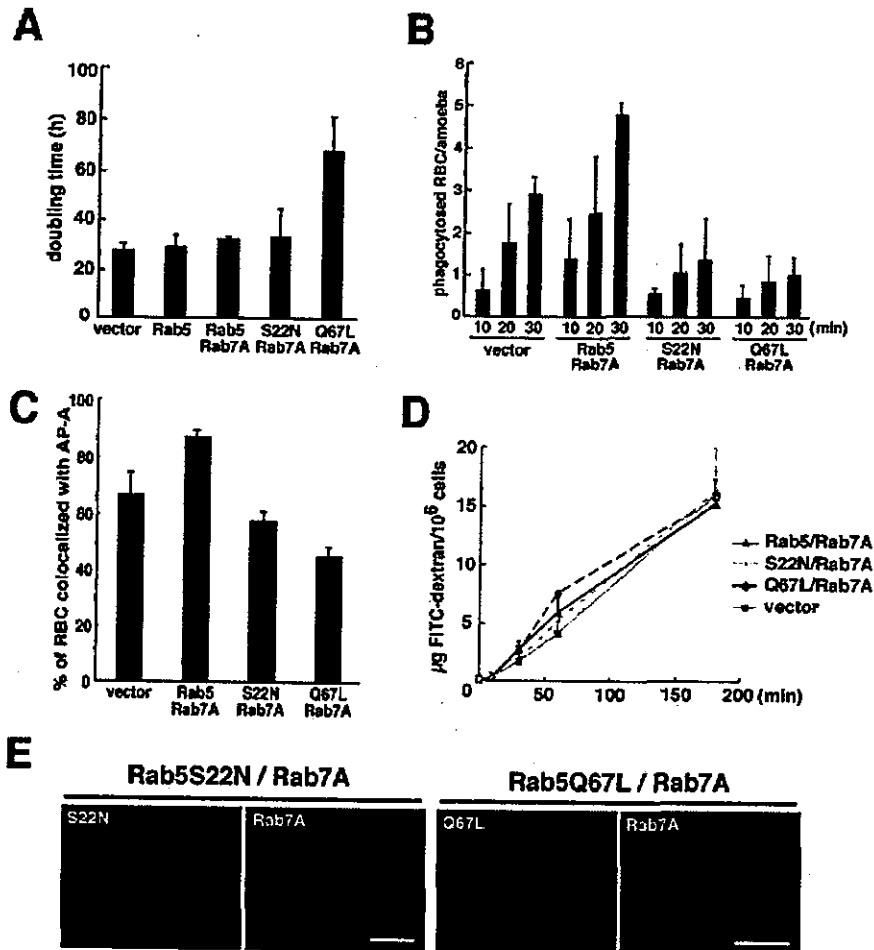


FIG. 8. Effects of expression of *EhRab5* wild-type and mutants. **A**, population doubling times of the transformants. *E. histolytica* transformants expressing *EhRab5* (*Rab5*), *EhRab5/EhRab7A* (*Rab5 Rab7A*), *EhRab5S22N/EhRab7A* (*S22N Rab7A*), *EhRab5Q67L/EhRab7A* (*Q67L Rab7A*), and the control transformant with a mock vector (*vector*) were cultured in the presence of 20 μ g/ml Geneticin. Doubling times were calculated from three independent experiments performed in triplicate. **B**, overexpression of *EhRab5* wild-type and mutants influenced by phagocytosis of red blood cells. *E. histolytica* transformants overexpressing *EhRab5/EhRab7A*, *EhRab5S22N/EhRab7A*, or *EhRab5Q67L/EhRab7A* and the control transformant were incubated with red blood cells for the indicated times. Phagocytosed red blood cells in these transformants were counted under a microscope. **C**, the transport of AP-A to red blood cell-containing phagosomes was affected by the overexpression of *EhRab5* wild-type and *EhRab5Q67L*. The efficiency of AP-A transport was evaluated by calculating percentages of phagocytosed red blood cells colocalizing with AP-A. Two hundred phagosomes containing red blood cells were examined. $p < 0.01$ (*Rab5* versus control), $p > 0.1$ (*Rab5S22N* versus control), according to Student's *t* test are shown. **D**, endocytosis of a fluid-phase marker was not affected in the transformants overexpressing *EhRab5* wild-type and mutants. *E. histolytica* transformants were incubated in BI-S-33 medium containing 2 mg/ml FITC-dextran, and endocytosed FITC-dextran was measured using a fluorometer. Error bars in **A–D** represent S.D. of three independent experiments. **E**, distribution of *EhRab5S22N*, *EhRab5Q67L* (green), and *EhRab7A* (red) after a 10-min incubation with red blood cells. Bars, 10 μ m. Localization of *EhRab5* and *EhRab7A* was examined with anti-*EhRab5* and anti-Myc monoclonal antibody, respectively.

8E). These results, together with the data shown above, suggest that *EhRab5* is essential for the formation of PPV, which is required for the efficient phagocytosis and transport of the degradative proteins to phagosomes.

DISCUSSION

Although *EhRab5* showed about 50% identity to the mammalian and yeast counterparts and the putative effector domain is very similar between *E. histolytica* and other organisms, the function of the amoebic *Rab5* appears to be divergent from that of the mammalian and yeast homologues. First, whereas the mammalian and yeast *Rab5/Ypt51p* play a role in endocytosis, *EhRab5* is involved exclusively in phagocytosis, but not in endocytosis. This has been shown by the absence of colocalization of *EhRab5* and the endocytosed FITC-dextran (Fig. 4), and also by a lack of augmented uptake of the endocytosis marker by expression of wild-type or the dominant active *EhRab5* mutant (Fig. 8D). Second, the localization of

EhRab5 and its association to 3–5- μ m translucent PPV, which has not been described in other organisms, are unique to this organism. In the mammalian cells, *Rab5* is localized to the early endosomes, and early endosomes directly fuse with primary phagosomes during phagocytosis (4, 7), whereas *EhRab5* is not localized to phagosomes at any stages of phagocytosis in the amoeba (Fig. 3). Instead, *EhRab5* is localized, in conjunction with *EhRab7A*, to PPV before these vacuoles fuse with phagosomes containing red blood cells. Third, in contrast to mammals, where similar phenotypes were observed in transformants expressing wild-type and GTP-mutant *Rab5* and opposite phenotypes were observed in the GDP-mutant *Rab5*-expressing transformants (5), expression of *EhRab5* GTP or GDP mutant showed a similar defect in erythrophagocytosis and PPV formation (Fig. 8). This may indicate that requirement of GTP hydrolysis by *Rab5* for membrane fusion may differ between the amoeba and other organisms. Fourth,

EhRab5 does not functionally complement the yeast *Ayp151* mutant. This is in good contrast to the yeast and mammalian counterparts, which are virtually interchangeable; *Ypt51p* expressed in a mammalian cell was properly localized to endosomes and accelerated endocytosis (6). Fifth, compared with other organisms including mammals, plants, yeasts, and a parasitic protist *Trypanosoma brucei*, which have been shown to possess 2–5 *Rab5* isoforms with distinct tissue and organelle distribution or developmental stage-specific expression (46, 57–59), *E. histolytica* possesses only a single *Rab5* gene based on our thorough search of the genome data base (data not shown). Altogether, *EhRab5* represents a unique *Rab5* showing diverse localization and functions.

We have identified and characterized an unprecedented vacuole "PPV," which is coassociated with *EhRab5* and *EhRab7A* at the early stage of its formation and becomes dissociated by *EhRab5* during maturation. We have shown that PPV were formed *de novo* in a very short time, and then acidified, in a time-dependent fashion during phagocytosis, by the fusion of lysosomes, which contain at least two independent degradative proteins, i.e. CP2 and amoebapore A (Figs. 5–7). We propose that PPV serves as a compartment for the temporal storage, processing, and/or activation of hydrolytic enzymes and lytic peptides before fusion with phagosomes containing ingested host cells and microorganisms. In mammalian cells, a newly formed phagosome is subjected to gradual maturation by continuous exchange of their contents via sequential fusion with the early and late endosomal compartments, leading to the formation of acidified phagolysosome (60). In contrast, in the amoeba, PPV apparently serves as a reservoir of digestive enzymes (Fig. 7) and endosomal content (Fig. 4) prior to fusion with phagosomes (Fig. 7). An immunoelectron micrograph showed that the vacuole containing amoebapore were enclosed by another membrane structure (Fig. 7B). Although multivesicular vacuoles have been previously reported in *Entamoeba* (61), this is the first demonstration of a particular protein within these multivesicular vacuoles. In mammalian and yeast cells, multivesicular bodies have been regarded as late endosomes, in which proteins to be transported to lysosomal lumen are selectively packed into internal vesicles (62). These observations imply that some proteins targeted to phagosomes are selectively included in PPV. We have recently identified the homologue of retromer, which functions in retrieval of receptor proteins from late endosomes to the trans-Golgi network (63).³ The observation that one of retromer components, *EhVps26*, is localized on PPV might imply that PPV had a similar function to late endosomes/multivesicular bodies. As far as we are aware, such a "preparatory" organelle has not previously been described and may represent a novel cellular compartment.

The formation of PPV was induced most efficiently by interaction with red blood cells. A membrane ghost, but not a soluble fraction, of red blood cells also induced the formation (data not shown). However, latex beads, yeasts, and *Escherichia coli* cells induced the formation of PPV to a much lesser extent (data not shown). Thus, *Rab5* recruitment to PPV in this parasite may occur predominantly in a case of the engulfment of red blood cells. PPV were also observed in cells that did not initiate engulfment of red blood cells (Fig. 3, E–L). These findings suggest that interaction with red blood cells, but not engulfment *per se*, is sufficient for the induction of PPV formation. One intriguing hypothesis to explain why PPV formation is specifically induced by red blood cells is that PPV is required for the degradation and/or detoxification of the content of red

blood cells. It was previously reported that amoebae recognizes surface glycans with Gal β 1–4GlcNAc terminal glycosphingolipid on red blood cells (64) by a Gal/GalNAc-inhibitable lectin (21, 22). The Gal β 1–4GlcNAc terminal glycosphingolipid is absent on the surface of latex beads, yeast, and *E. coli* (65, 66). It has also been demonstrated in macrophages that the phagocytosis-induced response also depends on receptors (67). For example, phagocytosis via the Fc receptor lead to the production of proinflammatory molecules such as reactive oxygen intermediates, whereas phagocytosis involving mannose receptor produced proinflammatory cytokines including interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α (68). In contrast, phagocytosis via the complement receptor did not elicit release of inflammatory mediators (69). Actin and microtubules were shown to be important for the complement receptor system, whereas two regulatory proteins of actin cytoskeleton, vinculin and proxilin, were not necessary for the mannose receptor system, indicating diversity of the receptor-response relationship during phagocytosis (70).

In view of the signals necessary for PPV formation, we also noted that a phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, wortmannin at 100 nM, abolished both ingestion, as previously reported (71), and PPV formation (data not shown). This finding also supports a tight correlation between ingestion of red blood cells and formation of PPV. The fact that expression of wild-type or GTP mutant *EhRab5* resulted in augmented or diminished ingestion of red blood cells, respectively, also supports the premise that signal transduces from PPV to an initial site of engulfment. However, whether a phagosome-associated phosphatidylinositol 3-kinase is present in the amoeba, as shown in mammals (*Vps34*) (12) and what effector proteins (e.g. EEA1 in mammals) (72, 73) are recruited to the phagosomes of the amoeba in a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent manner remain unknown.

We have shown detailed quantitative data on how the maturation of PPV and phagosomes occur during erythrophagocytosis (Figs. 3Q, 6C, and 7, C and D). In contrast to the gradual and continuous acidification of PPV, which occurs in parallel with recruitment of digestive enzymes to PPV, acidification of phagosomes appears to be interrupted or, more likely, reversed by neutralization, which synchronizes with the dissociation of *EhRab7A* from phagosomes (Fig. 7D). A few lines of evidence suggest that neutralization of phagosomes takes place soon after the content of PPV is transported to phagosomes. First, the percentage of acidified phagosomes remained unchanged between 20 and 50 min after ingestion (e.g. 43 and 38%, at 20 and 50 min, respectively). Second, the percentage of acidified phagosomes was significantly lower than that of amoebapore-containing phagosomes at all time points (e.g. 58 and 71% at 20 and 50 min).

We propose here a model by which *EhRab5* and *EhRab7A* coordinately regulate membrane fusion during phagocytosis. Upon the interaction of red blood cells with the amoeba plasma membrane, independent *EhRab5*- or *EhRab7A*-associated vesicles receive a signal, in a phosphatidylinositol 3-phosphate-dependent manner, presumably from the Gal/GalNAc-specific surface lectin or a not yet identified plasma membrane receptor, which initiates subsequent sorting and reorganization of these compartments. *EhRab5* vesicles start to heterotypically fuse with *EhRab7A*-associated vesicles, and then form PPV. PPV simultaneously fuse with lysosomes containing amoebapore and hydrolases. *EhRab5* is then dissociated from PPV before the content of *EhRab7A*-associated PPV is targeted to phagosomes. Because the size of phagosomes did not increase after *EhRab7A* was transported from PPV to phagosomes, the direct fusion between PPV and phagosome likely does not oc-

³ K. Nakada-Tsukui, Y. Saito-Nakano, V. Ali, and T. Nozaki, manuscript in preparation.

cur. We propose that transfer of the content of PPV involves vesicular trafficking, i.e. budding from PPV followed by fusion of these vesicles to phagosomes. Once the content of PPV is transferred to phagosomes, *EhRab7A* is dissociated from phagosomes, whereas digestive proteins remain in phagosomes. Neutralization of phagosomes also takes place in close timing with *EhRab7A* dissociation. After degradation of internalized materials, membrane recycling from phagosomes also likely occurs via the budding of recycling vesicles (74). Finally, the molecular dissection of a unique function of *EhRab5* and a novel *EhRab5*-associated compartment in this parasite may shed light on the *Entamoeba*-specific phagocytic mechanisms closely related to its virulence competence.

Acknowledgments—We are grateful to John Samuelson for providing the genomic library, Iris Bruchhaus and Egbert Tannich for providing CP2 antibody, Barbara J. Mann and William A. Petri, Jr. for providing GFP-expressing plasmid, Yuichi Takakuwa for providing anti-band 3 antibody. We thank Marino Zerial and Akihiko Nakano for their plasmids and yeast strains. We also thank Mami Okada, Mai Nudajima, Yasuo Shigeta, Fumie Tokumaru, Osamu Fujita (NIID), and Shin-ichiro Kawazu, (IMCJ) for technical assistance.

REFERENCES

- Tjelle, T. E., Lovdal, T., and Berg, T. (2000) *Bioessays* **22**, 265–263
- Greenberg, S., and Grinstein, S. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* **14**, 135–145
- Novick, P., and Zerial, M. (1997) *Curr. Opin. Cell Biol.* **9**, 496–504
- Deajardins, M., Celia, J. E., van Meer, G., Dieplinger, H., Jahraus, A., Griffiths, G., and Huber, L. A. (1994) *J. Biol. Chem.* **269**, 32194–32200
- Stenmark, H., Parton, R. G., Steels-Mortimer, O., Lutcke, A., Gruenberg, J., and Zerial, M. (1994) *EMBO J.* **13**, 1287–1296
- Singer-Kruger, B., Stenmark, H., and Zerial, M. (1995) *J. Cell Sci.* **108**, 3509–3521
- Jahraus, A., Tjelle, T. E., Berg, T., Habermann, A., Storrie, B., Ulrich, O., and Griffiths, G. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 30379–30390
- Duclos, S., Diez, R., Garin, J., Papadopolou, B., Descoteaux, A., Stenmark, H., and Deajardins, M. (2000) *J. Cell Sci.* **113**, 3581–3541
- Alvarez-Dominguez, C., and Stahl, P. D. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 11459–11462
- Stenmark, H., Vitale, G., Ulrich, O., and Zerial, M. (1995) *Cell* **83**, 423–432
- Christoforidis, S., and Zerial, M. (2000) *Methods* **20**, 403–410
- Vieira, O. V., Botelho, R. J., Rameh, L., Brachmann, S. M., Matsuo, T., Davidson, H. W., Schreiber, A., Backer, J. M., Cantley, L. C., and Grinstein, S. (2001) *J. Cell Biol.* **155**, 19–25
- Vieira, O. V., Bucci, C., Harrison, R. E., Trimble, W. S., Lanzetti, L., Gruenberg, J., Schreiber, A. D., Stahl, P. D., and Grinstein, S. (2003) *Mol. Cell Biol.* **23**, 2501–2514
- Wichmann, H., Hengst, L., and Gallwitz, D. (1992) *Cell* **71**, 1131–1142
- Via, L. E., Deretic, D., Ulmer, R. J., Hibler, N. S., Huber, L. A., and Deretic, V. (1997) *J. Biol. Chem.* **272**, 13326–13331
- Hashim, S., Mukherjee, K., Raje, M., Basu, S. K., and Mukhopadhyay, A. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 16281–16288
- Harrison, R. E., Bucci, C., Vieira, O. V., Schroer, T. A., and Grinstein, S. (2003) *Mol. Cell Biol.* **23**, 6494–6506
- Petri, W. A., Jr. (2002) *Curr. Opin. Microbiol.* **5**, 443–447
- W.H.O./PAHO/UNESCO (1997) *Epidemiol. Bull.* **18**, 13–14
- Orozco, E., Guarneroa, G., Martinez-Palomo, A., and Sanchez, T. (1983) *J. Exp. Med.* **158**, 1511–1521
- Vines, R. R., Ramakrishnan, G., Rogers, J. B., Lockhart, L. A., Mann, B. J., and Petri, W. A., Jr. (1998) *Mol. Biol. Cell* **9**, 2069–2079
- Cheng, X. J., Tsukamoto, H., Kaneda, Y., and Tachibana, H. (1998) *Parasitol. Res.* **84**, 632–639
- Voigt, H., Olivo, J. C., Sansonetti, P., and Guillen, N. (1999) *J. Cell Sci.* **112**, 1191–1201
- Guillen, N., Boquet, P., and Sansonetti, P. (1998) *J. Cell Sci.* **111**, 1729–1739
- Labryere, E., Zimmer, C., Galy, V., Olivo-Marin, J. C., and Guillen, N. (2003) *J. Cell Sci.* **116**, 61–71
- Que, X., and Reed, S. L. (2000) *Clin. Microbiol. Rev.* **13**, 196–206
- Leippe, M. (1999) *Dev. Comp. Immunol.* **23**, 267–279
- Saito-Nakano, Y., Nakazawa, M., Shigeta, Y., Takeuchi, T., and Nozaki, T. (2001) *Mol. Biochem. Parasitol.* **116**, 219–222
- Rodriguez, M. A., Garcia-Perez, R. M., Garcia-Rivera, G., Lopez-Reyes, I., Mendoza, L., Ortiz-Navarrete, V., and Orozco, E. (2000) *Mol. Biochem. Parasitol.* **108**, 199–206
- Temesvari, L. A., Harris, E. N., Stanley, S. L., Jr., and Cardelli, J. A. (1999) *Mol. Biochem. Parasitol.* **103**, 225–241
- Juarez, P., Sanchez-Lopez, R., Stock, R. P., Olvera, A., Ramos, M. A., and Alagon, A. (2001) *Mol. Biochem. Parasitol.* **116**, 223–228
- Diamond, L. S., Mattern, C. F., and Bartgis, I. L. (1972) *J. Virol.* **9**, 326–341
- Diamond, L. S., Harlow, D. R., and Cunnick, C. C. (1978) *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **72**, 431–432
- Tanaka, T., Tanaka, M., and Mitsu, Y. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **236**, 611–615
- Nozaki, T., Asai, T., Kobayashi, S., Ikegami, F., Noji, M., Saito, K., and Takeuchi, T. (1998) *Mol. Biochem. Parasitol.* **97**, 33–44
- Hamann, L., Buse, H., and Tannich, E. (1997) *Mol. Biochem. Parasitol.* **84**, 83–91
- Landt, O., Grunert, H. P., and Hahn, U. (1990) *Gene (Amst.)* **96**, 125–128
- Ramakrishnan, G., Rogers, J., Mann, B. J., and Petri, W. A., Jr. (2001) *Parasitol. Int.* **50**, 47–50
- Nozaki, T., Asai, T., Sanchez, L. B., Kobayashi, S., Nakazawa, M., and Takeuchi, T. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 32445–32452
- Hellberg, A., Leippe, M., and Bruchhaus, I. (2000) *Mol. Biochem. Parasitol.* **105**, 305–309
- Tomishige, M., Sako, Y., and Kusumi, A. (1998) *J. Cell Biol.* **142**, 989–1000
- Leippe, M., Ebel, S., Schoenberger, O. L., Horstmann, R. D., and Muller-Eberhard, H. J. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **88**, 7659–7663
- Novikoff, A. B., Novikoff, P. M., Davis, C., and Quintana, N. (1972) *J. Histochem. Cytochem.* **20**, 1006–1023
- Jainin, F., Burns, K., Tschopp, J., Martin, T. E., and Fakan, S. (1998) *Exp. Cell Res.* **243**, 67–75
- Stenmark, H., and Olkkonen, V. M. (2001) *Genome Biol.* **2**, Reviews 3007
- Singer-Kruger, B., Stenmark, H., Dnsterhoff, A., Philippsen, P., Yoo, J. S., Gallwitz, D., and Zerial, M. (1994) *J. Cell Biol.* **125**, 283–298
- Horazdovsky, B. F., Busch, G. R., and Emr, S. D. (1994) *EMBO J.* **13**, 1297–1309
- Jay, D. G. (1996) *Cell* **86**, 853–854
- Rupper, A., Grove, B., and Cardelli, J. (2001) *J. Cell Sci.* **114**, 2449–2460
- Araki, N., Hatae, T., Furukawa, A., and Swanson, J. A. (2003) *J. Cell Sci.* **116**, 247–257
- Henry, R. M., Hoppe, A. D., Joshi, N., and Swanson, J. A. (2004) *J. Cell Biol.* **164**, 185–194
- Hackam, D. J., Rotstein, O. D., Zheng, W. J., Demsurex, N., Woodside, M., Tsai, O., and Grinstein, S. (1997) *J. Biol. Chem.* **272**, 29810–29820
- Bucci, C., Thomsen, P., Nicoziani, P., McCarthy, J., and van Deurs, B. (2000) *Mol. Biol. Cell* **11**, 467–480
- Nickel, R., Jacobs, T., and Leippe, M. (1998) *FEBS Lett.* **437**, 153–157
- Vargas-Villarreal, J., Olvera-Rodriguez, A., Mata-Cardenas, B. D., Martinez-Rogriguez, H. G., Said-Fernandez, S., and Alagon-Cano, A. (1998) *Parasitol. Res.* **84**, 310–314
- Batista, E. J., de Menezes Feitosa, L. F., and de Souza, W. (2000) *Parasitol. Res.* **86**, 881–890
- Ueda, T., and Nakano, A. (2002) *Curr. Opin. Plant Biol.* **5**, 513–517
- Field, H., Farjah, M., Pal, A., Guil, K., and Field, M. C. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 32102–32110
- Bucci, C., Lutcke, A., Steele-Mortimer, O., Olkkonen, V. M., Dupree, P., Chiarriello, M., Bruni, C. B., Simons, K., and Zerial, M. (1995) *FEBS Lett.* **366**, 65–71
- Deajardins, M. (1995) *Trends Cell Biol.* **5**, 183–186
- Mazzucco, A., Benchimol, M., and De Souza, W. (1997) *Micron* **28**, 241–247
- Otorizzi, G., Babst, M., and Emr, S. D. (1998) *Cell* **95**, 847–858
- Seaman, M. N., McCaffery, J. M., and Emr, S. D. (1998) *J. Cell Biol.* **142**, 665–681
- Bailey, G. B., Nudelman, E. D., Day, D. B., Harper, C. F., and Gilmour, J. R. (1990) *Infect. Immunol.* **58**, 43–47
- Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., and Brul, S. (2002) *FEMS Microbiol. Rev.* **26**, 239–256
- Silver, L. L. (2003) *Curr. Opin. Microbiol.* **6**, 431–438
- Aderem, A., and Underhill, D. M. (1999) *Annu. Rev. Immunol.* **17**, 593–623
- Ravetch, J. V., and Clynes, R. A. (1998) *Annu. Rev. Immunol.* **16**, 421–452
- Pommier, C. G., Inada, S., Fries, L. F., Takahashi, T., Frank, M. M., and Brown, E. J. (1983) *J. Exp. Med.* **157**, 1844–1854
- Allen, L. A., and Aderem, A. (1996) *J. Exp. Med.* **184**, 627–637
- Ghosh, S. K., and Samuelson, J. (1997) *Infect. Immunol.* **65**, 4243–4249
- Fratti, R. A., Backer, J. M., Gruenberg, J., Corvera, S., and Deretic, V. (2001) *J. Cell Biol.* **154**, 631–644
- Simonsen, A., Lippe, R., Christoforidis, S., Gaullier, J. M., Breech, A., Callaghan, J., Toh, B. H., Murphy, C., Zerial, M., and Stenmark, H. (1998) *Nature* **394**, 494–498
- Damiani, M. T., and Colombo, M. I. (2003) *Exp. Cell Res.* **289**, 152–161

4. 免疫学的検査/C. 感染症・免疫血清診断

血中赤痢アメーバ抗体価(間接蛍光抗体法)

竹内 勤

■ デシジョンレベル (表1)

表1 間接蛍光抗体法(拡大法)による血中抗赤痢アメーバ抗体のデシジョンレベル

抗体価 (血清希釈倍数)	方針	高頻度に見られる疾患	否定できない主要疾患
×64未満 (陽性下限未満)	糞便検査を併用して感染の有無を決める	赤痢アメーバ感染なし またはキャリア(感染があってもごく早期では上昇していないことがある)	なし(ただし、以前のアセトン固定抗原を使用すると、特に腸アメーバ症の場合偽陰性として現れることがあった)
×64	糞便検査と臨床症状の観察が必要	キャリアの一部および腸アメーバ症の一部	やはり上記の可能性がある
×256~1,024	糞便検査、内視鏡などを併用して診断し、治療を実施する。原則として入院加療が必要	腸アメーバ症	なし
×1,024~4,096	早期に化学療法を開始する。入院が必要	腸アメーバ症の一部 肝臓痛	なし
×4,096以上	緊急に治療に踏み切る必要があれば化学療法と同時にドレナージなど行う。できるだけ早期に入院させ処置を行う	肝臓痛を主体とする転移性アメーバ症	なし

■ 間接蛍光抗体法による抗体値の正常値

表2にはわが国において実施されている赤痢アメーバ症の血清診断に用いる間接蛍光抗体法(IFA)の陽性下限の血清希釈倍数値を記した。わが国においては本法のキットがそれほど広く流通していないため、多くの場合抗原としては赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)無菌培養株(HM-1:IMSS, HK-9など)を適当な方法で固定して調製しなければならないが、筆者らのところで行っているシャウジン固定によると、×64以上が陽性と判定される¹⁾。永倉ら²⁾が実施したフォルマリン固定による方法でも同様×64が陽性下限である。一方、わが国で現在唯一と思われる市販の間接蛍光抗体法キット(Bio MérieuxアメーバスポットIFセット、輸入発売元株式会社シンテック)については筆者らは使用したことはない

表2 間接蛍光抗体法による抗赤痢アメーバ抗体の正常値(陽性下限)

正常値	抗原調整法	実施または製造機関
×64*(陽性下限)	シャウジン液	慶応大医学部
×64(//)	3%PBS-フォルマリン	東海大医学部
×100(//)		Bio Mérieux

*血清の希釈倍数をもって抗体値としている。

が、×100以上の場合陽性と判定される。

■ 測定上の注意

1. 患者の前処置

食事の影響は原則的に無視しうるので、採血は空腹時でなくてもよい。その他、特に前処置は必要としない。

2. 採血と検体保存上の注意

採血後、血清分離については特に注意すべき点はなく、通常分離操作でよい。溶血は判定に影響を与えることがあるので、可能な限り避けた方がよい。血清分離後は原則として -20°C 、あるいは -70°C (deep freezer) にて保存する。各検査機関に送付される場合は血清分離後そのまま直ちに送付するか、いったん冷凍したら、特に夏季にはice boxを用いて送付する方がよい。要するに、何度も凍結・融解を繰り返した血清の場合には偽陽性または偽陰性反応がより出現しやすくなる。

■ 検査によって何がわかるか

厳密に言えば、このIFAを実施してわかることは血中に抗赤痢アメーバ抗体が存在するというのみであって、それが赤痢アメーバ症として治療の必要性に即時直結するわけではない。IFAが陽性下限以上の抗体値を示す場合にもさまざまな病態があることを理解すべきである。

まず、赤痢アメーバ感染において発症に至るためにはアメーバ栄養型の組織内侵入が必要となる。アメーバの組織内侵入がない場合は通常キャリア (asymptomatic cyst carrier) として存在するわけであるが、このキャリア (いわゆる一度も発症したことのない carrier、従来はこれを contact carrier といった) も非病原性 (nonpathogenic) の赤痢アメーバ (これを現在は *Entamoeba dispar* とし、病原性を有する赤痢アメーバすなわち *E. histolytica* と別種として扱う) 感染によるものと、*E. histolytica* に感染しているが、無症状のまま推移しており、何らかの理由で抗体産生に至っていないものがあることを理解する必要がある。頻度からみれば前者の方が明らかに多い。後者は発症に至る可能性がある。ただし、最近では抗体値が陽性でも長期間無症状のままで一度も発症せず persistent の感染として存在する場合もかなりあることがわかっている。このようなケースは感染株の病原性の判定では前述のように病原性である *E. histolytica* による感染とされる

ものである。一方、*E. dispar* 感染では発症しない。したがって治療の必要はない。

また、キャリアの一部には以前発症したことがあるが、次第に症状が消失して、キャリアとなった例 (convalescent carrier と呼ばれた) があるが、鋭敏な方法ではこの場合も多く抗アメーバ抗体陽性となる。一般に IFA は赤痢アメーバ症の標準的な血清診断法として用いられているゲル内沈降反応 (gel diffusion precipitation test: GDP) より鋭敏で、上記の可能性は高い。このようないったん症状が消失したキャリアにおいて再度発症するかどうかについては現在の段階では IFA によっては明らかに予測することはできない。

IFA によって symptomatic なアメーバ症のケースを診断する場合、病型によって抗体値の分布域に差がみられることには注意するべきである。陽性率そのものも病型によってやや異なることが明らかとなっている (後述)。

■ どういうときに検査するか

本法は赤痢アメーバ症の確定診断の一助として用いるものであるから、どのような場合に赤痢アメーバ症を疑うか、およびそれを疑って診断を進めるとき、どのようなタイミングで IFA を実施するかという二つの問題が考えられる。

まず、最近のわが国における赤痢アメーバ症の疫学的状況をみると、感染を疑うための危険因子は概略以下のようにまとめることができる。

- (1) 開発途上国への旅行。
- (2) 男性同性愛歴。
- (3) 施設内感染。

臨床的には腸アメーバ症として、腹痛、下痢などの初発症状をもって発症するわけであるが、注意する必要があるのは全身状態が腸アメーバ症の場合は比較的良好に保たれることで、発熱をみず、多核白血球の増加も観察されない。一方、赤痢アメーバの転移による肝臓病においては肝腫大などのほか、中等度発熱、末梢血中の多核白血球増加もみられる。また、腸

アメーバ症による症状が全く欠如している肝臓癌例もかなりの頻度で見られることにも留意するべきである。

IFAを実施する時期およびその意義は腸アメーバ症と肝臓癌では少し異なっている。一般的には腸アメーバ症の場合は糞便検査(可能であれば抗原検査を含む)、内視鏡およびそれによる生検などを先行させるか、同時に行えばよい。異なった方法で血清抗体を検査できれば信頼度は上がる。また、腸アメーバ症診断におけるIFAの意義はどちらかといえば補助的なもので、IFAのデータのみで確定診断を下すことは慎重に行うべきである。形態的な同定を繰り返してもアメーバが検出されない場合、上に述べたように筆者らはIFAだけではなく、何種類かの方法を併用するとか、PCRと対比させるなどしてより確実を期している。

表1に示したように、腸アメーバ症においてはIFAによる抗体価は肝臓癌におけるよりも低く、 $\times 256$ 前後に分布していることが多い。これは他の血清学的方法についても同様である。陽性率もだいたい85~90%程度で、肝臓癌の場合より低く、特に以前実施されていたアセトン固定によるIFAでは40~50%程度の陽性率しか得られていなかった。

一方、転移性アメーバ症(アメーバ性肝臓癌)の場合は臨床症状から現在では直ちにCT、エコーなどの画像診断が行われることが多いが、これらの検査によって肝臓癌が鑑別診断の対象となったら、直ちにIFAを含む血清学的診断を実施すべきである。アメーバ性肝臓癌の確定診断にも、またそれをrule outするにも有用である。上記のアセトン固定による方法でもアメーバ性肝臓癌診断には100%の陽性率が示されている。筆者らの方法¹⁾でもほぼ同様の結果が得られている。

肝臓癌の場合、糞便検査によってもアメーバが検出できないこともあり、したがってアメーバ検出にいたずらに時間を費やさず、画像および血清診断を重視し、血清診断が例えばIFAでは表1に示したように $\times 4,096$ などと高い値を示し、肝臓癌の定型的な画像診断上の特徴が

見出されたら、時期を失せず積極的な治療に踏み切るべきである。換言すれば、IFAを含む現行のアメーバ症の血清学的診断法の多くはアメーバ性肝臓癌に対しては確定診断法としての意義を有している。

以上を要するに、赤痢アメーバ症の場合は病型によってIFAを含む血清学的診断法の意義が異なり、実施する時期もそれぞれ限定される。

ここで関連検査項目を含め、選択の基準をまとめると以下ようになる。

まず腸アメーバ症を疑った場合は糞便検査と内視鏡検査(生検を含む)が関連検査項目としてあげられる。この中でまず実施すべきは抗原定量を含む糞便検査である。ついて血清反応、内視鏡検査、PCRなどが次に行う項目となる。この三種類の検査のうちどれを優先させるかはそのときの状況にもよるが、筆者らは血清反応を優先させて使用している。

腸管外アメーバ症(アメーバ性肝臓癌)を疑った場合はまずCT、エコーなどで癌の存在を確認し、直ちに血清反応を行う。糞便検査、内視鏡検査、PCRは強いて実施しなくても確定診断は可能であるが、補助的な意味合いを有する検査として実施することもある。

アメーバ性肝臓癌に腸アメーバ症が合併したと思われるときは肝臓癌に準じて検査項目の選択を行えばよい。

■ IFAが異常となる疾患

本法のような感染症に対する血清学的診断法は特異性が最も重要な利点の一つであって、他の一般的な病態を表すマーカーと異なり、アメーバ症のときにのみ陽性となることが期待される。したがって、IFAが異常値を示す場合(陽性化)は原則的に赤痢アメーバ症に限るが、前述のように病型に応じて異常値のレベルが異なること、あるいは臨床的に無症状であっても異常値を呈する場合があることなどを念頭におく必要がある。

また、このような血清反応の場合常に考慮しなければならないのは特異性に関連した偽陽性

(false positive), 偽陰性 (false negative) の出現である。false positive が出現することは筆者らが実施してきた IFA の場合は比較的少なく、特定の因子が影響を及ぼすという傾向はみられなかったが、きわめて明確に false positive が観察された結節性動脈周囲炎 (PN) の症例を経験したことがある。この後、PN のケースを少数ではあるが集め、同様の検査を試みたが、同じ結果は得られなかった。

false negative の出現について正確な原因はあまり知られていない。前述のように、腸アメーバ症においては血清診断の陽性率が一般に低く、したがって、確かに陰性例は散見されるが、筆者らの経験では現在実施されている方法自体の欠点というより、感染を受けた個体の側の免疫応答の強弱に依存しているとの印象を得ている。例えば、*E. histolytica* が内視鏡下生検によって大腸組織内に検出されているにもかかわらず、血清中の抗アメーバ抗体値は数ヶ月間のフォロー中、IFA、GDP を含むどの方法によっても陰性であったという症例を経験したことがあるが、主治医側の詳細な検討によれば、この症例は低 IgM 血症であって、加うるにその他の 1~2 の免疫応答性が低下していた。さらに、HIV と *E. histolytica* との合併例の調査では、高率に GDP などの false negative の例が見られた。詳細は明らかではないが宿主側の免疫不全がこのような反応に影響することは確かなものと思われる。

■ IFA が異常となる薬物

現在までのところ、IFA の異常を起こす具体的な薬物は知られていない。

■ 検査の総合評価

1. 腸アメーバ症

腸アメーバ症に対して検査データの評価をする際はおのおの方法の特質をよく認識したうえで行う必要がある。まず糞便検査の場合、特異性は高いが、感度は低い。嚢子が糞便中に検出されれば、感染を確定しうるが、*E. histolytica* か *E. dispar* かの鑑別が必要になる。この

ことは糞便を材料とした特異的抗原定量法を実施すればクリアできる。一方、下痢便中に栄養型を検出すればほぼ *E. histolytica* の感染として確定診断につながる。上述のように嚢子が有形便に検出され、かつ認めうるべき症状のないときは特異抗原検出 (後述) を含む免疫学的方法や内視鏡検査 (生検を含む)、または PCR を行って評価せざるを得ない。また糞便検査の感度の悪さ (約 1/2 は見逃される) を考えると、嚢子が検出されずとも何らかの疑わしい症状があった場合は血清診断や内視鏡検査を実施する方がよい。血清反応と内視鏡下生検の意義はアメーバの組織内侵入に伴うもの、すなわち病原性である *E. histolytica* による invasive amebiasis の診断にあり、一方、形態的な糞便検査は多くの場合単に感染が起こっていることを意味しているにすぎない。すなわち感染株の病原性に関連した *E. histolytica*/*E. dispar* の確定ができない。このような差異をよく考慮に入れて総合的評価を行うべきである。

2. 腸管外アメーバ症

腸アメーバ症の合併の有無にかかわらず、画像診断にて腸管外アメーバ症 (アメーバ性肝臓病) が疑われたら、血清反応の結果を重視して評価を行えばよい。他の臓器に転移性病巣が形成された場合もアメーバによると疑ったときは血清反応の結果を重視して考える。

■ 予想外の値が得られたときにどうするか

前述のように腸アメーバ症の場合は 10% 前後の IFA の陰性例が存在する。このような場合は 2~3 週間の間をおいてペア血清として再検するか、他の GDP などの方法をも考慮してみる必要がある。それと同時に大切なことは糞便検査、内視鏡下生検など、他の方法を併用して診断を早期に確定するよう試みることである。特に最近特異抗原検出、PCR の信頼性が高いことがわかってきているので、実施機関へ依頼を出しても良い。筆者の教室および東海大医学部にて実施できる。

一方、肝臓病の場合は前述のように false negative が出現することはほとんどなく、症

状が疑わしくとも IFA が陰性であれば、まず他の疾患を考える方がよい。同時に 1~2 の異なる方法、特に GDP を併用し、同様に陰性となれば結論はより確実となる。

以上のほか、検体の保存状況、運搬方法、その他について基本的なチェックは怠るべきではない。

赤痢アメーバ症を疑って、PCR まで行っても診断がつかないという事態はまずないが、そのようなときは現時点での第一選択薬剤であるメトロニダゾールを試験的に投与してみるのも一つの方法ではある。肝臓癌の場合でなかなか確定診断できない場合には薬剤投与のほか、外科的にドレナージを施行してもよいが、いずれにしる現時点では確定診断に困るという症例は少ない。

■ 異常値がみられた場合の検査の進めかたと治療的対応

病型にかかわらず、IFA を含む血清反応はある程度臨床症状などによって診断が絞込まれた段階で実施されることが多く、特に肝臓癌では確定診断法としても用いられるので、現実にはそれ以上の検査を必要とすることは少ない。

ただ、臨床的には合致しているのに IFA が陰性となった場合の対応に注意する必要がある(前述)。

赤痢アメーバ症は原則的には全病型とも化学療法によって治療を行う。巨大な肝臓癌では種々の圧迫症状などがあった場合、外科的に aspiration を試み、減圧を図ることがあるが、ドレインに感染が起こったこともあり、このような危険性を勘案したうえで判断する。

第一選択の薬剤は 5-ニトロイミダゾール製剤であるメトロニダゾール(商品名フラジールほか)である。同系統のチニダゾールも同じように使用できる。これらの薬剤は強い殺アメ

ーバ作用を有するが、実験的に発癌性や変異原性があることも確認されており、投与対象に注意をはらうとともに、今後標準的な投与量も改変される可能性があることにも留意する必要がある。

■ 新しい抗原検査キットの動向

前述のように抗原を detect して診断する方法もキットとして確立された。例えばわが国では CELLABS (オーストラリア) によって作製された ENTAMOEBA CELISA-SCREEN と ENTAMOEBA CELISA-PATH の二種のキットが輸入可能である(株エスアンドエイチ、TEL 048-432-1446)。この方法はアメーバが大腸粘膜上皮細胞を認識するのに必要な adhesin をモノクローナル抗体を用いて ELISA で定量するもので、前者は *E. histolytica* と *E. dispar* 両者の adhesin を定量し、アメーバ感染のスクリーニングに使用する。後者は病原性である *E. histolytica* の adhesin のみを標的としたもので、臨床診断に使用できる。また、同様のキットが TECHLAB (アメリカ) からも発売されており、輸入可能である。

文 献

- 1) 竹内 勤, 小林正規, 三浦左千夫ほか: 赤痢アメーバ症血清診断法の検討—138 例を対象として, 感染症学雑誌 59(臨時増刊): 167-168, 1985
- 2) Nagakura, K., Tachibana, H., Tanaka, T. et al.: An outbreak of amebiasis in an institution for the mentally retarded in Japan. Jpn J Med Sci Biol 42: 63-76, 1989
- 3) Sargeant, P. G.: The reliability of *Entamoeba histolytica* zymodemes in clinical diagnosis. Parasitol Today 3: 40-43, 1987
- 4) 奥沢英一, 小林正規, 竹内 勤: 抗赤痢アメーバ抗体測定用間接赤血球凝集反応キット(赤痢アメーバ HA®) の評価, 寄生虫学雑誌 42: 227-233, 1993

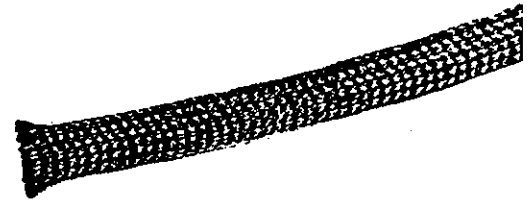
総編集

杉本恒明
小俣政男
水野美邦

編集

伊藤貞嘉
岡 芳知
萩原俊男
押味和夫
木村 哲
曾根三郎
永井良三
中尾一和
日比紀文
山本一彦

内
科
臨床



internal medicine

朝倉書店

4-11 原虫性疾患

1) 赤痢アメーバ症
amebiasis

【定義・概念】

根足虫綱に属する *Entamoeba histolytica* による消化器症状を主症状とする感染症である。従来、赤痢アメーバ (= *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903)

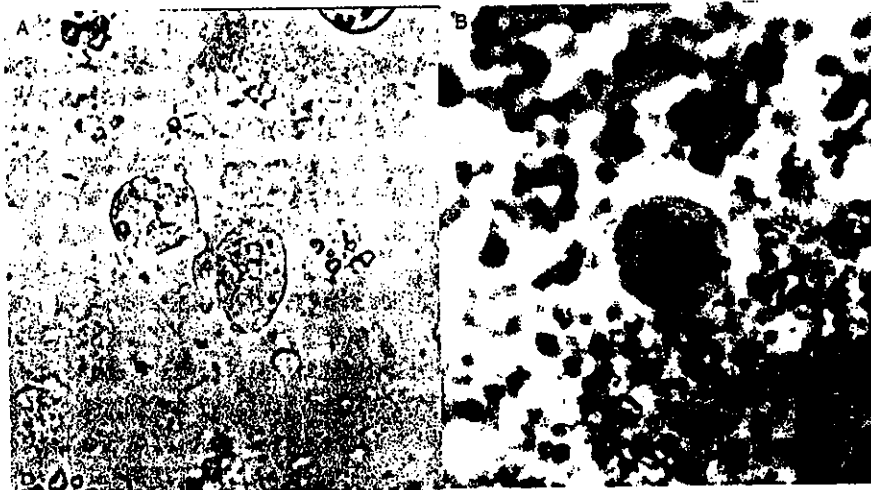
という種名でよばれた原虫は病原性の *E. histolytica* Schaudinn, 1903 (emended Walker, 1911) と非病原性の *E. dispar* Brumpt, 1925 との異なる2種の原虫に分けられている。これらは顕微鏡レベルでは区別がつかない。厳密に言えばこれらの両種に対応する和名はまだ確定していないが、わが国では病原種である *E. histolytica* 感染症を赤痢アメーバ症 (amebiasis) として慣用しているので本項もそれに従う。

【原因・病因】

E. histolytica の生活環は栄養型 (trophozoite, 図4-19 A) と嚢子 (シスト cyst, 図4-19 B) から構成される。栄養型は偽足をだして活発に運動し、赤血球、細菌などを捕食する。長径は30~45 μm 程度。核の中心には特徴的な点状のカリオソーム (karyosome) が存在する。嚢子は球形で直径は12~15 μm、大腸腔で形成され、多くの場合外界で4核の成熟嚢子となる。未成熟嚢子には両端が鈍円の類染色質体 (chromatoid body) やグリコーゲン胞 (glycogen vacuole) が存在するが、成熟嚢子ではみられない。成熟嚢子が経口摂取されたときのみに感染が成立しうる。未成熟嚢子には感染能力はない。

【疫学】

E. histolytica と *E. dispar* が別種と確定したため *E. histolytica* 感染の疫学的状況は明確になっていない。しかし、両種 (*E. histolytica*/*E. dispar*) を合わせれば約5億人の感染者が存在する。*E. histolytica* による年間推定死亡者数は75,000人と推定される。先進諸国では *E. histolytica*/*E. dispar* の感染率は第二次大戦後急速に減少した。ところが1970年代終わり頃から先進国の都市部で感染者の増加が観察され、その後この増加は男性同性愛者の性行為に伴う感染によるものであり、よって *E. histolytica*/*E. dispar* 感染が性感染症 (sexually transmitted disease; STD) の一つであることが明瞭になった。現在わが国では全数把握が必要な四類感染症となっている。



〈図4-19〉赤痢アメーバ
A: 栄養型虫体, B: 未成熟嚢子 (鉄ヘマトキシリン染色)。類染色質体を認める。



〈図 4-20〉腸アメーバ症病理組織像 (PAS 染色) 多数の赤痢アメーバ栄養型 (矢印) を認める。周囲の組織は壊死像を示すが、一般に多核白血球の浸潤はない。

【病理・病態生理】

E. histolytica 感染者は無症状の状態はあってもいずれは発症に向かうとされてきたが、無症状の持続性感染 (嚢子保有者 asymptomatic cyst carrier) のままで推移する場合も少なくないことが明らかになっている。一方 E. dispar 感染者は嚢子保有者となる。発症することはない。

発症するには栄養型が大腸組織内に侵入することが前提となる (invasive amebiasis)。侵入後はアメーバは宿主細胞を破壊し捕食するが、これが病原機構の根幹となる。これからわかるように、本症はまず大腸病変 (腸アメーバ症) から始まる (図 4-20)。好発部位は盲腸、上行結腸、横行結腸、S 状部、直腸の順である。アメーバは粘膜上皮細胞数個を変性・剝離させ、その結果できた狭い入口部から大腸組織内に侵入するが、粘膜下組織が広範囲に破壊されるので定型的な場合、壺型の潰瘍をつくる。大腸の病変を放置すれば種々の転帰をとる。最も多いのは慢性腸炎であるが、臨床的に重要なのは血行性にアメーバが大腸病変部から転移して起こる腸管外アメーバ症である。肝膿瘍 (図 4-21) が最も多い。わが国では赤痢アメーバ症例の 30~40% は肝膿瘍単独または腸アメーバ症に肝膿瘍が合併したものである。肝膿瘍でも腸管症状を伴わないことがある。そのほかに虫垂炎、腸管の穿孔による腹膜炎などがみられる。肝膿瘍はさらに肺、脳などへの二次的な転移、膿瘍の破裂による腹膜炎、後腹膜膿瘍の形成、さらに横隔膜下膿瘍、それに引き続く肺膿瘍への進展などいろいろな転帰をとる。

【臨床症状】

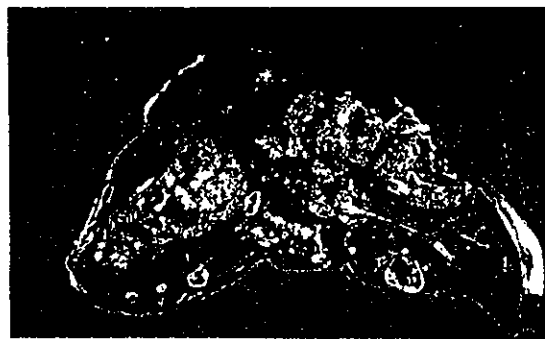
腸アメーバ症の病型は以下のように分けられる。①アメーバ赤痢 (amebic dysentery)、②赤痢症状を伴わない大腸炎 (non-dysenteric amebic colitis)、③赤痢後の慢性腸炎 (post-dysenteric ulcerative colitis)、④アメーバ腫 (ameboma)。アメーバ赤痢の場合は潜

伏期は 2~3 週間程度。急激に発症した場合は劇症化することがあるが、通常は下痢、腹痛をもって緩やかに発症する。下痢は粘液便、腹痛は右下腹部に多く、圧痛を伴う。下痢は 1 日数回から十数回、血液成分が糞便質によく混和し、それに粘液が付着したいわゆるイチゴゼリー状を呈する。テネズムスは軽度で、全身症状も比較的良好に保たれる。発熱はなく、末梢血に白血球の増加もない。アメーバ赤痢が慢性化した状態を post-dysenteric ulcerative colitis という。この場合下痢、腹痛は軽度となる。non-dysenteric amebic colitis でも下痢、腹痛が主症状となるが、下痢の回数は数回程度。性状は血便、粘液便、水様便、軟便など多様であるが、粘血便をみることはない。腹痛も軽度でテネズムスもみない。アメーバ腫では腹部不定愁訴を訴えるのみで、無症状のこともある。

肝膿瘍はまず肝腫大、同部の重圧感、自発痛、圧痛などで始まる。痛みは右肩に放射し、呼吸時に増強する。さらに倦怠感、食欲不振、悪心などを訴える。発熱と末梢血の多核白血球増加もみられる。発熱は中等度で 38~39℃ 前後、白血球は 10,000~15,000/μl 程度となる。さらに二次的に転移した場合はその臓器に応じて種々の症状を示す。たとえば肺膿瘍では咳、痰、発熱、呼吸困難などをみる。

【診断・鑑別診断】

診断はルーチンには糞便検査と抗体検出を目的とした免疫学的方法で行う。糞便検査の場合通常は下痢便中には栄養型を、有形便には嚢子を検出するが、E. histolytica と E. dispar の鑑別は光顕レベルでは困難である。しかし下痢便中の赤血球を捕食している栄養型は E. histolytica であると判定してよい。栄養型虫体は温度が低下すると運動しなくなるので、検査に際しては便を採取後直ちに検査するか、温度を保って検査する。嚢子の検出には多くの場合ホルマリソ-エーテル法などの集嚢子法を併用する。さらにヨード染色、トリクローム染色などを併用して確実を期す。免疫診断が高い抗体価を示して、明瞭に陽性であれば E. histolytica 感染を示すと一般的には考えてよい。



〈図 4-21〉アメーバ性肝膿瘍 (都立清瀬小児病院 増田剛太博士のご厚意による)

439
4
11
原虫性疾患

方法としてはゲル内沈降反応が標準的で、その他に間接蛍光抗体法、ELISAなどがよく用いられる。一般的には肝臓の方が抗体価、陽性率とも高い。

腸アメーバ症に対して内視鏡下生検も行われる。組織内にアメーバ栄養型虫体を見いだしたら組織侵入を考え、*E. histolytica*と判定してもよい。肝臓穿刺液からの栄養型検出は実際的ではない。また、糞便内嚢子DNAを標的にしたpolymerase chain reaction (PCR)や、*E. histolytica*の種々の抗原分子に特異的なモノクローナル抗体を利用したサンドイッチELISAなどによる診断法も確立されている。特にadhesinを標的とした*E. histolytica* IIキットは広く使用されている。

腸アメーバ症の場合に鑑別診断で注意を要するのは潰瘍性大腸炎、大腸癌、痔など腹痛と出血を伴う場合、および細菌性赤痢ほかの下痢を起こす感染症である。細菌性赤痢の臨床的な鑑別は困難ではない。

【治療】

*E. dispar*のみの感染が確認されたら治療は必要ない。*E. histolytica*か*E. dispar*か判断がつかないときは症状にもよるが原則として治療せず、種の同定を先行させる。治療する場合は病型にかかわらず化学療法が主体となる。第一選択薬はメトロニダゾールである。同系統のチニダゾールも同様に使用できる(表4-38)。キャリアの治療が必要なときはメトロニダゾールもある程度の効果はあるが、ディオキサニドフロエイトを主に使用する。メトロニダゾールなど5-ニトロイミダゾール製剤には副作用として発癌性、変異原性が実験的に確認されている。

【予防】

嚢子の経口摂取を避けることにつきる。熱帯の流行地では一般の経口感染症の予防に準じる。同性愛者間では不潔な性行為を避けることも必要である。

〔竹内 勤〕

〈表4-38〉赤痢アメーバ症の投薬スケジュール(成人量)

1. 腸アメーバ症	
① アメーバ性大腸炎	
メトロニダゾール	1.0~1.25 g/日, 分3×7日
チニダゾール	1.2~1.4 g/日, 分3×7日
② アメーバ赤痢	
メトロニダゾール	1.25~1.5 g/日, 分3×10日
チニダゾール	2.0 g/日, 分3×7~10日
デヒドロエメチン	1 mg/kg(最大65 mg)/日×10日(最大投与量650 mg)
2. アメーバ性肝臓病	
メトロニダゾール	1.5 g/日, 分3×10日
チニダゾール	2.0 g/日, 分3×10日
デヒドロエメチン	アメーバ赤痢と同様

(竹内 勤: 赤痢アメーバ症. NEW 寄生虫病学(小島荘明編), 南江堂, 東京, 1993より一部改変して引用)

■文献

Martinez-Palomo A: Amebiasis, Elsevier Science, Amsterdam, 1986.

竹内 勤: 赤痢アメーバ. 日本における寄生虫学の研究, 第6巻, pp 545-561, 目黒寄生虫館, 東京, 1999.

竹内 勤: 赤痢アメーバ. 最新内科学大系, 感染症3, pp 155-160, 中山書店, 東京, 1993.

2分冊版

内科学

II

- 内科学総論
- 前編 造血器疾患
- 第一編 循環器系 1. 冠動脈疾患
- 第二編 呼吸器
- 第三編 消化器
- 第四編 泌尿器系 1. 腎臓病
- 第五編 内分泌系 1. 糖尿病
- 第六編 免疫系 1. 膠原病
- 第七編 感染症 1. 細菌性疾患
- 第八編 寄生虫による疾患

第2版

●編集主任

黒川 清
松澤佑次

●編集委員

名和田 新
池田康夫
富野康日己
辻 省次
岩本愛吉
森澤雄司
山本一彦

2080 第11章 感染症

が重要であり、特に酵素欠損の頻度が高い人種(黒人、地中海系や中国広東系民族)では投与前の検査が不可欠である。

c) 原虫治療の実際

上記薬剤の中で日本で認可されているのはファンシダール[®]、経口キニーネ、メフロキンである。他の薬剤については創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「熱帯病に対するオーファンドラッグ開発研究」班(班長:東京慈恵会・大友弘士客員教授)が保管している。

三日熱、四日熱、卵形マラリアではクロロキンを第1選択薬である。入手不可能の場合ファンシダール[®]等もあり得る。まれではあるが、三日熱マラリアでクロロキン耐性が報告されていることも念頭に置く。三日熱、卵形マラリアではその後根治療法として、プリマキンで肝細胞に潜む休眠原虫の治療を行う。

熱帯熱マラリアでは種々の選択肢があり、クロロキンは耐性のことも多いので、他の薬剤、すなわちファンシダール[®]、メフロキン、経口キニーネとドキシサイクリンの併用、マラローン[®]等を選択するのがよい。重症例ではキニーネ点滴静注や必要に応じてアーテミシニン誘導体が選ばれる。

d) 合併症の治療

以前、脳症における脳圧下降のためにステロイド薬、マンニトール等が使われたが、これらは今では不必要あるいは有害であるとされる。グリセオールについては意見が確立されていない。DIC様の検査所見がでることも多いが、通常のDICと機序は異なり、ヘパリンは投与すべきでないとの意見が支配的である。

肺水腫/ARDSでは薬物療法や機械的人工呼吸法、腎不全では場合により腹膜灌流や血液透析も必要となる。

(木村幹男)

B. 赤痢アメーバ

【疾患概念】

赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* とは、根足虫に属する人体寄生性原虫であり、消化器系感染症である赤痢アメーバ症の原因となる。

赤痢アメーバには病原性に種々変異があると従来思われてきたが、1970年代のSargeantの研究によって病原株、非病原株の間でのisoenzyme patternの差異が示されて以来、種々の研究が行われ、その結果、従来赤痢アメーバの病原株、非病原株といわれた原虫はそれぞれ別種であり、1920年代のBrumptの記載に基本的に従って前者を *Entamoeba histolytica*、後者を *Entamoeba dispar* とよぶことに決定された。あわせて、*E. dispar* のみの感染であることが確定されれば、治療は必要ないことも認められた。したがって臨床対応が必要なinvasive amebiasisは *E. histolytica* のみによると考えてよい。当面我が国でも、“赤痢アメーバ”は *E. histolytica* のみを指すと考えるべきであろう。また、単にアメーバ症あるいは赤痢アメーバ症といった場合は *E. histolytica* の感染を指すと解した方がよい。

【疫学】

WHOの推計によれば、*E. histolytica* と *E. dispar* の感染者は熱帯、亜熱帯の開発途上国を中心にして合わせて約5億人近くに現時点で達する。前者による年間の患者数は推定3,500万から5,000万人、推定死亡者数は75,000人とされている。地球上の140ヵ国以上でこれらの原虫の伝播が起こっている。感染率が特に高い地域はまずインド、パキスタン、バングラデシュ周辺の東南～西アジア、中央～南アフリカ、メキシコ以南からブラジル以北の中南米である。しかし、*E. histolytica* と *E. dispar* 各々の地理的分布、およびその差異については知れるところはまだ少ない。

E. histolytica、*E. dispar* の感染の要因は、我が国に関しては以下のようにまとめることができる。① 男性同性愛行為、またおそらく異性愛行為による感染、② 輸入感染、③ 施設内感染、④ その他。以上からわかるように、感染そのものは我が国に定着しており、ほとんど全例が輸入感染であるマラリア等とは事情が違っている。男性同性愛者間での性行為によるアメーバ感染症は、sexually transmitted amebiasis とよばれる。欧米では同性愛者に感染しているのはほとんどすべて *E. dispar* であるが、我が国では *E. histolytica* 感染が広がっている。最近では、男性同性愛者にHIVと *E. histolytica* の混合感染例も見出されている。我が国では、輸入感染症としての赤痢アメーバ症は想像されているほど多いものではない。むしろ *E. dispar* 感染例の方が多い。重症心身障害児等の種々の施設内での集団発生が我が国ではこれまでに数件知られているが、疫学的な状況把握あるいは予防対策実施には困難が少なくない。現在の感染症法(平成11年施行)では全数把握が必要な4類感染症に含まれている。

【赤痢アメーバの生物学】

生活環は栄養型(トロホゾイト trophozoite)(図II-5B-1)と嚢子(シスト cyst)(図II-5B-2)から構成される。栄養型は活発に偽足 pseudopodium を出して運動し、赤血球、細菌等を捕食する。長径は30-45 μm。嚢子は球形で直径は15-22 μm程度。大腸腔で形成されるものと思われるが、まず1核の未成熟嚢子、最終的に4核の成熟嚢子となる。未成熟嚢子には特徴的な両端が鈍円状の類染色質体 chromatoid body がある。グリコーゲン胞 glycogen vacuole も存在するが、これらは成熟型の嚢子ではみられない。

感染能力があるのは成熟嚢子のみで、栄養型も未成熟嚢子も感染能力はない。感染は経口感染のみで、他のルートからは感染しない。嚢子は胃液等の作用を受けた後、内部の虫体は小腸上部で脱嚢する。この虫体は細胞質の分割等の後、最終的には8個の栄養型となって、盲腸に至って成熟する。

【病態生理】

E. histolytica、*E. dispar* の種としての確定により以下のように考える。① *E. histolytica* 感染: 感染者の一部は発症するが、無症状のままキャリア(asymptomatic cyst carrier)として持続感染する場合もある。② *E. dispar* 感染: キャリアとして無症状のまま推移し発症しない。血清抗体もほとんど上昇しない。



図 II-5B-4 多発性のアメーバ性肝膿瘍の CT 像(都立清瀬小児病院 増田剛太先生の御提供による)

鑑別診断の対象としては従来細菌性赤痢が最も重要であったが、近年では潰瘍性大腸炎、大腸癌、あるいは他の原因による肝膿瘍等が鑑別の対象となる。

【治療】

病型にかかわらず化学療法が主体となる。現在の第1選択薬はメトロニダゾールである。同系統のチニダゾールも同様に使用できる。重症化した場合、あるいは巨大な肝膿瘍等の治療にはデヒドロエチンを用いてもよいが、心臓刺激伝導系等への副作用に注意する。現在は製造が行われておらず、入手はほとんどできない。メトロニダゾールはある程度効果はあるが、キャリアの確実な治療が必要な時はフロ酸ジロキサニドを使用する。また、重症赤痢や重篤合併症を伴った場合は、ヒューマンサイエンス総合研究事業「熱帯病に対するオーファンドラッグの開発研究班」よりメトロニダゾールの静注用製剤が無償で入手できる。

メトロニダゾールには副作用として実験的ではあるが、発癌性、変異原性が確認されている。しかし、人体例は確認されていない。他に、末梢神経炎等の副作用がある。血液疾患、中枢神経系疾患のある場合にも投与しない。

【予防】

糞子の経口摂取を避ける。熱帯の流行地では一般の経口感染症の予防に準じ、水、生野菜等に注意する。また、ハエ、ゴキブリ等、糞子を運ぶ可能性のある衛生害虫の駆除をも図る。不潔な性行為を避けることも必要である。

(竹内 勤)

文 献

- 1) Ravdin JI (ed): Amebiasis. John Wiley & Sons, New York, 1988
- 2) Farthing MJ, Cevallos A-M, Kelly P: Intestinal protozoa. Manson's Tropical Diseases, 20th ed (Cook GC ed), Saunders, London, 1996, p1255-1298
- 3) Martinez-Palomo A: Parasitic amebas of the intestinal tract. Parasitic Protozoa, 2nd ed, vol 3, Academic Press, San Diego, 1993, p65-141

C. ランブル鞭毛虫, クリプトスポリジウム

1. ランブル鞭毛虫

【概 念】

ランブル鞭毛虫 *Giardia lamblia* (*G. intestinalis*) は単細胞微生物であって原生動物(原虫)に分類される。栄養型と嚢子の二つの形態をとり、前者は 12-15 μm の大きさで西洋梨型を呈し、小腸上部に寄生する。後者は 10 μm の大きさで小判型を呈し、感染者の糞便中に混じて外界に排泄される。人は嚢子に汚染された飲食物を経口的に摂取すると感染する。本原虫によって引き起こされる下痢性疾患はジアルジア症 giardiasis (ランブル鞭毛虫症) とよばれ、海外の衛生状態の悪い地域においてはしばしばみられる疾患である。ジアルジア症は平成 11 年に施行された感染症新法によって 4 類感染症(全数把握疾患)に指定され、患者の発生を確認した医師は保健所を通じて都道府県知事に届け出なければならない。

【疫 学】

本原虫は世界中に分布している。とりわけ、高温多湿の熱帯、亜熱帯地方には普通にみられ、感染率が数十% にのぼる地域も珍しくない。本原虫に感染しているにもかかわらず何ら症状のみられない、いわゆる健康保虫者が多数存在することは本症の疫学を考えるうえで忘れてはならない。国内における一般住民の感染率は不明であるが 0.9-0.1% 以下との調査報告がある。しかし、一部の精神病院、精神薄弱者施設等の特殊な生活環境下の人、および一部の男性同性愛者においてはより高い感染率が報告されている。2000 年と 2001 年に国内で報告された患者数は 93 例、および 135 例であった。旅行者下痢症の原因の一つとしても重要である。外国では上水道に嚢子が混入し、水道水による集団発生がみられている。

【病態生理】

本原虫が小腸上部の粘膜表面に吸着し機械的に粘膜を障害する、あるいは吸着部位に炎症を起こすことが本症発症の原因と考えられている。成人に比べ小児は発症しやすい。成人でも多数の感染を受けた場合、あるいは少数感染でも宿主の免疫機能が低下しているような場合には発症しやすい。宿主の免疫機能が本原虫に対する感染防御に何らかの役割を担っていることは明らかであるが、詳細は不明である。

【臨床症状、経過、予後】

潜伏期間は 1-2 週間である。下痢が主な症状であり急性期には非血性の水様性下痢、重症化すると脂肪性の下痢が特徴といわれている。その他、腹痛、悪心、嘔吐等の消化器系の症状がみられる。吸収不良症候群を起こし、栄養失調、小児では発育障害の原因にもなり得る。小腸粘膜以外に胆管、胆嚢内にも寄生することがあり、胆管炎、胆嚢炎の原因になることがある。慢性に経過し、間欠的に症状が出現することも多い。



図 II-5B-1 赤痢アメーバ栄養型のトリクローム染色標本
長径 30-45 μm 、核の中央に点状のカリオソーム karyosome がみられる。

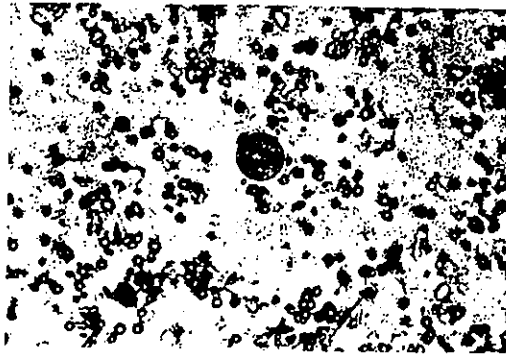


図 II-5B-2 赤痢アメーバ嚢子 cyst のヨード染色標本
径 15-22 μm で成熟嚢子は 4 核を有する。



図 II-5B-3 腸アメーバ症の内視鏡像

発症するには栄養型虫体が大腸組織内に侵入する必要がある。侵入後はアメーバの栄養型虫体は標的となる宿主細胞を破壊し捕食するが、これが赤痢アメーバの病原機構の根幹となる。赤痢アメーバ症はこのようにまず大腸病変から始まる(腸アメーバ症)(図II-5B-3)。最好発部位は盲腸である。栄養型虫体は通常、粘膜上皮細胞数個が剥離して形成されたごく狭い入口部から大腸組織内に侵入するが、粘膜下組織は広範囲に破壊されるので肉眼的にはフラスコ形の潰瘍像を呈する。この大腸病変を放置すれば種々の転帰をとる。最も多いのは慢性腸炎であるが、臨床的に重視すべきなのは血行性にアメーバ栄養型虫体が大腸病変部から転移して起こる肝膿瘍である(腸外アメーバ症)。我が国の場合では、赤痢アメーバ症例のうち 30-40% は肝膿瘍を伴っている。このうち半数前後は全く腸管症状を伴っていない。その他に、虫垂炎、腸管の穿孔による腹膜炎、皮膚への穿孔等がみられる。肝膿瘍(→p. 928)はさらに経過中に種々の転帰をとることがある。例えば、肺、脳等への 2 次的な転移、膿瘍の破裂による腹膜炎、後腹膜膿瘍の形成、さらに横隔膜下膿瘍の形成、およびそれに引き続く肺への直接進展、皮膚への穿通等があげられる。

【臨床症状、検査所見】

腸アメーバ症の主要病型はアメーバ赤痢 amebic dysentery と赤痢症状を伴わない大腸炎 nondysenteric amebic colitis である。アメーバ赤痢の場合は潜伏期は 2-3 週間程度。発症はゆるやかなことが多い。初発症状は下痢、腹痛で、下痢は粘血便、腹痛は右下腹部か回盲部に多い(全症例の 40% 程度)。下痢は 1 日数回から十数回、血液成分が糞便質によく混和し、それに粘液が付着する、いわゆるイチゴゼリー状を呈する。テネスマス tenesmus は軽度で、全身症状も比較的良好に保たれる。右下腹痛は同じ部分の圧痛を伴う。発熱はなく、末梢血に白血球の増加もない。この 2 点はアメーバ性肝膿瘍との症状、検査データの差異なので重要である。アメーバ性大腸炎では下痢、腹痛がやはり主症状となるが、下痢の回数は数回程度、性状は血便、粘液便、水様便、軟便等、多様である。粘血便をみることはない。腹痛も軽度でテネスマスもみない。

肝膿瘍は肝腫大、同部の重圧感、自発痛、圧痛等で始まる。痛

みは右肩に放散し、呼吸時に増強する。それとともに倦怠感、食欲不振、吐き気、嘔吐等を訴える。他覚的に注意しなければならないのは、発熱と末梢血の多核白血球増加である。症例の 80-90% にみられる。発熱は中等度で 38-40°C 程度、白血球は 15,000/ μL 程度まで上昇する。さらに、2 次的に転移した場合はその臓器に応じて種々の症状を示す。

【診断、鑑別診断】

(1) 形態的検出法：形態的に診断するには糞便検査で栄養型、または嚢子を検出する。通常、下痢便中には栄養型を、有形便には嚢子を検出する。栄養型の検査に際しては便を採取後直ちに検査する。下痢便中に赤血球を捕食している栄養型虫体を見出したら *E. histolytica* としてよい。嚢子を検出するには、多くはホルマリン-エーテル法等の濃縮法を併用する方がよい。さらに、ヨード染色、トリクローム染色等を併用して確実を期す。ただし、この方法で無症状例の有形便に嚢子が検出されても種の判定まではできない。我が国では、腸アメーバ症に対して内視鏡下生検もよく行われる。組織内に栄養型虫体を検出したら *E. histolytica* と判断する。肝膿瘍穿刺液からの栄養型検出は実際的ではない。

(2) 血清学的診断法：血清抗体を検出するのが最もふつうに行われている。臨床症状によく対応するのがゲル内沈降反応で、その他に間接蛍光抗体法、ラテックス凝集反応、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 等がよく用いられる。血清学的診断法の応用に際しては、腸アメーバ症と肝膿瘍では診断上の意義がやや異なるのに注意すべきである。一般的には肝膿瘍の方が抗体値も高く、陽性率も高い。

モノクローナル抗体を使用したサンドイッチ ELISA 等による特異抗原検出も最近頻用されている。アメーバ表面に局在する adhesin に対するモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA 等はキット化されている。

(3) 画像診断：技術の進歩によって肝膿瘍の画像診断は困難ではなくなってきた(図II-5B-4)。これに血清診断を併用すれば、アメーバ性肝膿瘍は高い確率で診断できる。

(4) 遺伝子診断：PCR法による診断法が実用化されている。PCRによって *E. histolytica*、*E. dispar* の鑑別もできる。

[改訂2版]

エビデンスに基づいた 感染制御 **第1集-基礎編**

編集＝小林寛伊・吉倉 廣・荒川宜親
編集協力＝厚生労働省医薬局安全対策課

9. 寄生虫の院内（施設内）感染対策

竹内 勤・今井栄子・小林正規

9-1 寄生虫の院内感染の定義と種類

わが国では寄生虫疾患は必ずしも頻度の高いものではなく、临床上しばしば問題視されるアニサキス症、多包虫症にしても、その原因となる寄生虫の生物学的特徴ゆえ、院内感染に直接関連する感染経路を取るわけではない。感染者の報告数が増加しつつあるアメーバ症にしても、わが国の通常の病院環境下では例え感染能力のある嚢子を含む糞便が排出されたとしても、処理は確実に行われているため、院内感染として問題となったことはない。欧米ではクリプトスポリジウムの院内感染の事例の報告^{1, 2)}があるが、わが国ではまだこのような例も知られていない。いずれにしても原虫・寄生虫感染は通常の意味での院内感染を起こす頻度は低い。

他方、1960年代より米国などでは報告があった知的障害者などの施設における感染³⁻⁷⁾（これを通常院内感染と区別し、施設内感染と呼ぶことにしたい）においては幾つかの原虫、寄生虫が問題となってきた。特に施設の利用（居住）者では経口感染する腸管寄生性原虫類の感染が、利用者の行動様式などの点に起因してとくに多いという事実がある。これはまた、腸管寄生性原虫類の感染が外界の物理的環境に比較的抵抗力のある糞便中の嚢子によるためでもあり、わが国においても1987年、神奈川県において施設内感染症としての赤痢アメーバ症の集団発生事例が初めて報告された^{8, 9)}。その後散発的にそのような事例が報告されてきた^{10, 11)}。

このような施設内感染の公衆衛生上の重要性は明らかであるにもかかわらず、わが国では通常院内感染ほど体系だっけとらえられていない。しかし一方では平成11年に「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（いわゆる感染症法）が制定され、赤痢アメーバ症は4類感染症に指定され、全数把握の対象となっている¹²⁾。このことからアメーバ感染症の公衆衛生上の重要性が認識できよう。またアメーバに関する最近の研究の進歩によって、病原性のある *Entamoeba histolytica* と非病原性の *Entamoeba dispar* が別種であることが確定し、臨床的な取り扱いがまったく異なることとなった¹³⁾。したがって種々の疫学調査でも両種の確定が必要となった。

筆者らはここ数年、上記のような施設内感染としての赤痢アメーバ症の実態の解