

CAPTIONS

Fig. 1. Profile of the nucleotide sequence of the small subunit rRNA of the Entamoeba histolytica-like variant (JSK2004 cl2) from a De Brazza's guenon.

E. histolytica:Entamoeba histolytica (HM-1:IMSS cl6); E. dispar:Entamoeba dispar (SAW1734R clAR)

Fig. 2. Isoenzyme patterns of 4 enzymes in the freeze-thawed lysate of the Entamoeba histolytica-like variant (JSK2004).

Lane 1: a clinical isolate (xenic) (Z-II); lane 2: HM-1:IMSS cl6 (axenic) (Z-II); lane 3: SAW1453 (xenic) (Z-XIV); lane 4: SAW1734R clAR (axenic) (Z-I); lane 5: JSK2004 (axenic); lane 6: JSK2004 (xenic); lanes 1, 2, and 3: Entamoeba histolytica (E.h); lane 4: Entamoeba dispar (E.d); lanes 5 and 6: JSK2004; α , β , and γ : α , β , and γ bands.

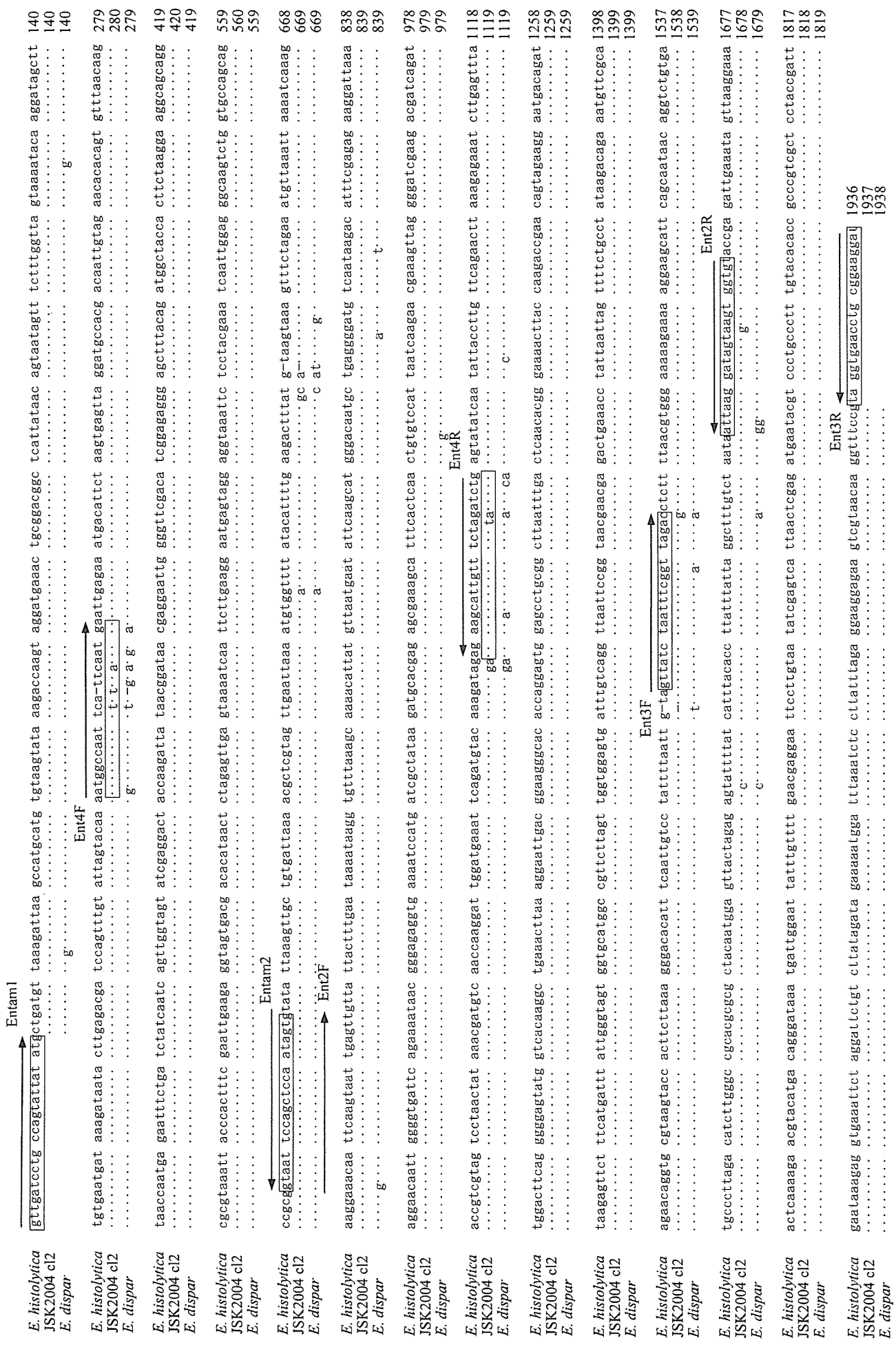


Fig. 1.

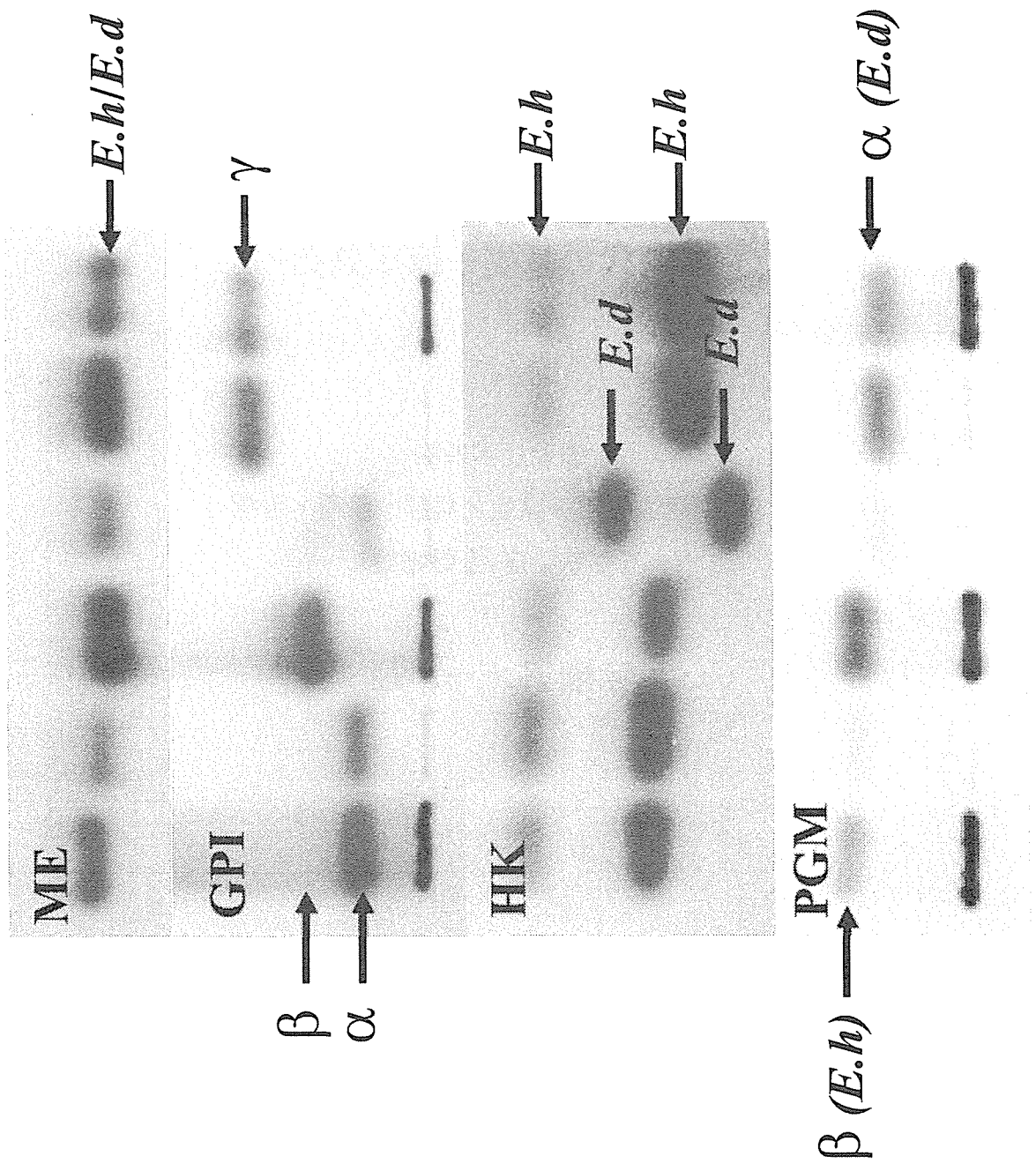


Fig. 2.

日本臨牀 65 卷 増刊号 3 (2007 年 3 月 28 日発行) 別刷

新感染症学 下

—新時代の基礎・臨床研究—

感染症学各論

II. 感染症法分類—発症・病態・診断・治療—

五類感染症(全数把握)

赤痢アメーバ症

小林正規 鈴木 淳 竹内 勤

五類感染症(全数把握)

赤痢アメーバ症

Amebiasis

小林正規¹ 鈴木 淳² 竹内 勤¹**Key words** : 赤痢アメーバ, 腸アメーバ症, 抗アメーバ薬

はじめに

感染症発生動向調査(国立感染症研究所)¹⁾による, 我が国の赤痢アメーバ症(五類感染症)の年間届出数は, ここ数年, 連続して顕著な増加傾向を示している[378例(2000年度)~688例(2005年度)]. 報告された症例をみると, 国内感染例が大半を占め, その多くが, 性感染症(男性同性愛者間の感染が依然多数を占めるが, 不特定多数の異性交遊によると推定される感染症例も増加し始めている)による. しかし著者の調査によれば, 各種施設内にも集団感染と思われる例がかなり多くみられる.

赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)の病原性は, 栄養型が大腸粘膜上皮へ接着, 侵入, 増殖することに起因する. 病型には腸アメーバ症[アメーバ赤痢, アメーバ性大腸炎, 結節状病変(ameboma)など], 腸管外アメーバ症[アメーバ性膿瘍(肝, 肺, 脳など), 皮膚アメーバ症など]があるが, 実際には無症候性の持続性感染も多く, 発症には赤痢アメーバ株の virulence, 腸内環境や宿主免疫因子などが絡み合って影響していると考えられる. 赤痢アメーバの病原因子については, 栄養型の腸粘膜への接着, 細胞融解や組織内侵入を容易にする蛋白[GalNAc adherence lectin, amoebapores, cysteine pro-

teinases]²⁾などが分子生物学的研究により, 同定されてきている. また, 遺伝子多型の解析からは個々の株の遺伝子的識別が可能となってきた³⁾. 集団感染がみられた知的障害者更生施設5施設のうち, 異なる遺伝子多型のパターンを示した3施設から分離した株について, ハムスターでの肝膿瘍形成能を指標とした virulence 比較実験を行った結果からは, 赤痢アメーバ株の中に, 臨床的にも無症候で virulence も極めて弱い株が見いだされており⁴⁾, 赤痢アメーバ株間の virulence の違いについても言及ができるようになってきている.

本稿では, 赤痢アメーバの本来の寄生部位であり, 感染力のある嚢子排出を伴う腸アメーバ症に焦点を絞り, 赤痢アメーバのマウス持続性感染モデルの病理と治療実験, および治療に困難が伴った施設内集団感染の治療成績など, 著者らの最近の調査研究所見に集中して記載する.

1. 腸アメーバ症

a. 腸アメーバ症における感染部位と無症候性持続感染

Clark⁵⁾はパナマ運河地帯で18年間にわたり, アメーバ赤痢死亡患者解剖例186例について, マクロ病理組織学的に統計的観察を行った. その結果, 潰瘍が局在性を示した63例の潰瘍形

¹Seiki Kobayashi, Tsutomu Takeuchi: Department of Tropical Medicine and Parasitology, School of Medicine, Keio University 慶應義塾大学医学部 熱帯医学・寄生虫学 ²Jun Suzuki: Department of Microbiology, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health 東京都健康安全研究センター 微生物部

成好発部位は、盲腸(87.3%)、上行結腸(57.1%)、直腸(39.6%)、S字状部(33.3%)、虫様突起(33.3%)と、糞便停滞部位に潰瘍性病変ができやすいことを報告している。赤痢アメーバの持続性感染は極めて興味ある感染状況であるが、実験的にC3H/HeJマウスを用いた持続感染モデル⁶⁾においても、糞便が最も停滞する盲腸に限局することが知られている。このような長期持続感染メカニズムの解析を目的とした著者らのマウス感染実験結果からは、外見上は無症状でも、病理組織学的には、粘膜上皮へ接着して増殖する栄養型、多数の栄養型が付着する剥離した粘膜上皮細胞、細胞剥離に伴うびらん、出血や粘膜の肥厚など、慢性的な大腸炎所見が観察されている。また、実験を通じて、明らかな潰瘍形成はみられなかったが、限局性の結節状病変(ヒトにおけるamoebomaに類似の病変)がみられた(頻度は低い)。

Houptら⁶⁾によれば、無菌培養した赤痢アメーバ栄養型をいったん、ある特定の腸内細菌群と培養した後、マウス盲腸に接種した場合の栄養型の定着率は60%程度であり、感染成立には、下記の3つの因子に大きく影響を受けるとしている。すなわち、①マウスの感染感受性、②赤痢アメーバ株のvirulence、③盲腸内での増殖、粘膜上皮への接着を助長する、あるgroupの細菌種の存在である。ヒトの場合でも、自然感染抵抗性に赤痢アメーバの接着因子(GalNAc adherence lectin)に対するIgA抗体が関与することがバングラデシュの疫学調査をもとに報告されている⁷⁾。また、無症候性持続感染が多いベトナムの流行地において、無作為に抽出された赤痢アメーバ感染者383人を対象に、遺伝子多型解析(finger print法)手法を用いて、同じ遺伝子パターンを示す株の感染持続期間についての追跡調査が行われた⁸⁾。その結果、15カ月後には感染持続率は50%にまで低下することが示され、特徴的な病態である無症候性感染の種々の病態生理学的な側面が明らかになって来つつある。

b. 腸アメーバ症の治療の進歩

1) Metronidazole

metronidazoleは腸粘膜から組織内に吸収されやすく、組織内アメーバには著効を示すが、腸管腔内に寄生するアメーバには効果を期待しにくい薬剤である。ただし、赤痢アメーバ感染の場合、投与量の増量、長期間投与、そして腸管内アメーバに有効な抗生剤を併用することなどで、治癒する腸アメーバ症例が多いことも経験的に知られている。

2) Paromomycin (luminal drug)

paromomycinは経口投与された場合、腸粘膜組織に吸収されにくい抗アメーバ薬で、腸管腔内の赤痢アメーバ栄養型に有効なluminal drugである。従来、輸入治験薬(厚生労働省科学研究費補助:「熱帯病に対するオーファンドラッグ開発研究」班供給)として有用であったluminal drugのdiloxanide furoateが現在、製造中止であるため、同等の効果が期待されるparomomycinが、治験薬として輸入されることとなった経緯がある。次に述べるように無症候性持続性感染の治療にはこのようなluminal drugが必須のものと著者らは考えている。

c. 施設内赤痢アメーバ集団感染の治療

多くが無症候性持続性感染の形を取る施設内赤痢アメーバ感染の集団治療には、最終的にmetronidazole(1.5g/日×10日)投与に引き続いて、diloxanide furoate(1.5g/日×10日)の投与が有効であることを著者らは見いだしている。以下にこのような感染を終息させることができた知的障害者更生施設内集団感染例について紹介する。調査対象となったある施設では、感染者に約1年間、適切な間隔を置いて繰り返されたmetronidazole単剤の治療では、糞便から赤痢アメーバ嚢子や赤痢アメーバ特異抗原(GalNAc adherence lectin)[*E. histolytica* II kit (TechLab, VA, USA)により検査]は一時的に消失するが、3カ月後には行動範囲が広く、かつ便弄癖を有する利用者の周辺から感染の拡大が再び確認され、血清抗体価(ELISA法⁹⁾)は下降することなく、かえって上昇傾向を示した(図1-a)。抗体価上昇の原因としては、治療に

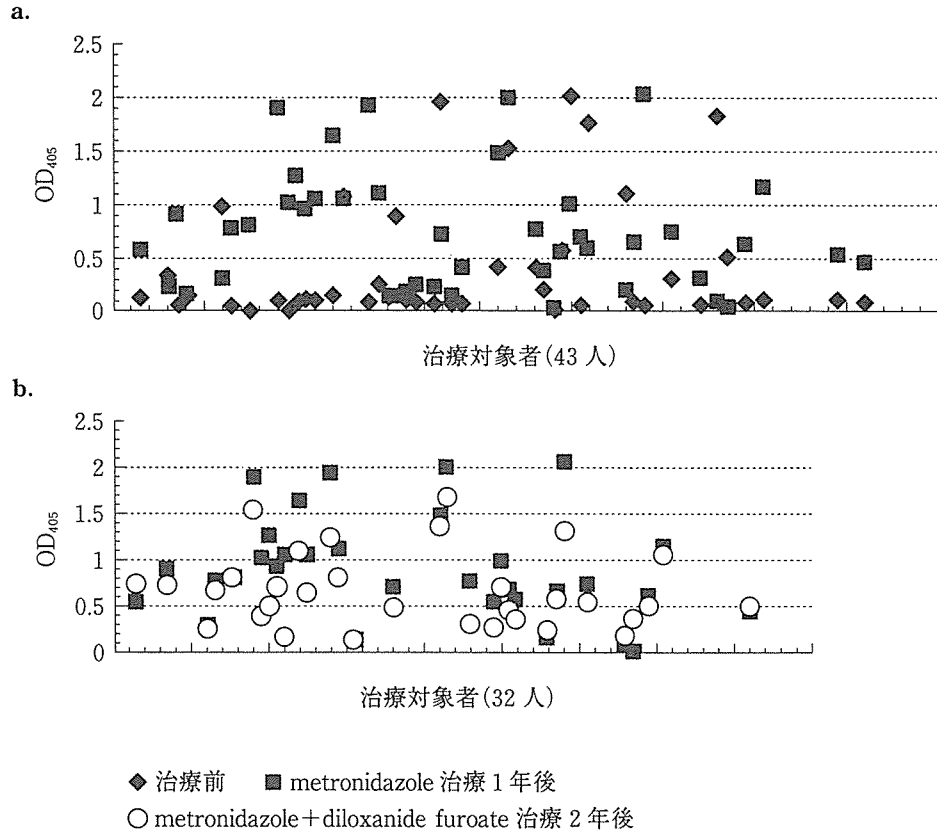


図1 施設内赤痢アメーバ集団感染治療における metronidazole 単独, および metronidazole と diloxanide furoate 併用投与後の血清抗体価 (ELISA 法) の変動

糞便検査および血清学的検査陽性者における metronidazole 投与前と投与後(a), および引き続き実施された metronidazole と diloxanide furoate 併用投与後(b)の, 治療対象者(横軸)個々についての赤痢アメーバ血清抗体価 (ELISA 法) (縦軸) の変動を示している。

より破壊された赤痢アメーバ栄養型から抗原成分が曝露されたことに加え, 生残あるいは再感染した赤痢アメーバが抗原刺激となったことなどが考えられる。そのため, metronidazole と luminal drug である diloxanide furoate の併用投与療法が採用され, その結果, 現在4年近くを経過するが, 定期的実施された集団検査からは, 1例の赤痢アメーバ感染も確認されておらず, 血清抗体価も徐々にではあるが減少傾向を示している(図1-b)。この結果は, 便弄癖のある知的障害者を含む集団生活者という高い感染のリスクを有するグループの持続性感染の治療に metronidazole と luminal drug の併用投与が有効であったことを示すとともに, 感染終息にも有効であることを示した。

d. 赤痢アメーバ腸管持続感染マウス (C3H/HeJ) モデルを用いた metronidazole 治療実験

予備的ではあるが, 赤痢アメーバ感染(盲腸) C3H/HeJ マウスを用いて, 異なる2つの投与方法(経口および腹腔投与)により, metronidazole 投与(12.5 mg/kg×7日: 腸管アメーバ症に適応される最少投与量)を行った治療実験結果 [*E. histolytica* II kit (TechLab, VA, USA) により評価] からは, 腸管腔内アメーバに直接作用しにくい腹腔投与群の治療率(75%)の方が, 経口投与群の治療率(33%)よりも高いことが示された。腹腔投与した metronidazole の作用機序として, 吸収された metronidazole がマウス腸管腔内の腸粘膜上皮に接着, 増殖している栄

養型に対して、粘膜上皮の組織側から作用した可能性と腸管腔内のアメーバについては便とともに自然排出した可能性が示された。

e. 腸内嫌気性菌の赤痢アメーバ増殖促進効果

赤痢アメーバの増殖促進効果をもつ、腸内嫌気性菌群 (*Clostridium symbiosum*; ATCC 14940 など¹⁰⁾) が分離されて以来、赤痢アメーバや非病原性の *Entamoeba dispar* の monoxenic culture のための共棲細菌としても応用されてきた^{11,12)}。著者らも繰り返しの metronidazole 治療により、治癒しなかった腸アメーバ症患者の便から分離した *Bacteroides fragilis* に、類似の赤痢アメーバ増殖促進効果を見いだした。更に、この分離した *B. fragilis* 株とともに赤痢アメーバ栄養型をマウス盲腸に passage することで盲腸での増殖適応性を高めた再分離培養株を、あらかじめ感染7日前より2日ごとに3回経口的に *B. fragilis* を投与した C3H/HeJ マウスに、*B. fragilis* とともに、マウス盲腸に接種すると赤痢アメーバの盲腸内持続感染率が大きく上昇することも見いだしている。

また *B. fragilis* を含め腸内嫌気性菌の多くは、metronidazole に感受性があり、これら嫌気性菌に metronidazole が代謝され、薬剤効率の低下をもたらす可能性が考えられている。更に、赤痢アメーバ自身の metronidazole 代謝も、細菌の代謝に影響を受けやすい腸内環境では、組織内環境と比べ metronidazole 感受性が低下している可能性がある。実際、*in vitro* 薬剤感受性試験において、赤痢アメーバの metronidazole 感受性は細菌共棲条件下では無菌条件下に比べ2~3倍程度低下する。

2. 腸赤痢アメーバ感染から腸管外アメーバ症へ

スナネズミ盲腸に virulence の高い赤痢アメーバ栄養型 (10^6 個~) を接種すると、速やかに組織に侵入し、潰瘍を形成する。多くの場合、10日以内に劇症の大腸炎により死に至るが、25日以上生存すると、門脈を経て転移した栄養型による肝膿瘍形成がみられる。この時期、

興味あることに腸管内から栄養型は消失し、潰瘍も治癒する。ヒトの場合でも赤痢アメーバ栄養型や嚢子が糞便内から検出されず、腸の原発病巣も確認されない、アメーバ性肝膿瘍や脳膿瘍症例をみることがある。

C3H/HeJ マウスとスナネズミの赤痢アメーバに対する感染感受性の違いは主に免疫システムの違いによると考えられるが、T-cell と B-cell の産生が抑制される免疫不全の rag 遺伝子ノックアウトマウス (C3H rag^{-/-}) で行った著者らの感染実験からは、盲腸に赤痢アメーバの感染を成立させることができず、液性・細胞性免疫の代償的に働く免疫系 (natural killer cell など) が感染排除へ働いた可能性が考えられた。ヒトの場合でも免疫不全者に合併したアメーバ症が必ずしも重症化しないことが知られているが、他方潰瘍性大腸炎、癌、白血病などに合併した赤痢アメーバ症患者が、副腎皮質ステロイドや抗癌剤投与後、重症化することや妊娠によって症状が増悪することも知られており、ヒトのアメーバ症の臨床免疫学的側面は今後とも検討が必要である。少なくとも、現時点では免疫能の低下や免疫抑制する治療がアメーバ症を増悪させる可能性があることには注意が必要である。

おわりに

赤痢アメーバ症は無症候性感染から致死的な劇症型まで病態は多様であり、また他の疾病との合併症例もあるため診断と治療には注意を要する。我が国における赤痢アメーバ症は、一般に比較的限られた population (便弄癖者、男性同性愛者、不特定多数を相手とする男性および女性風俗従事者と客) が感染ハイリスクグループである。感染は嚢子排出を伴う赤痢アメーバ腸持続性感染者が原因となることが強く示唆されるため、このようなハイリスクグループを対象とした定期検査を行うことで、実際の感染の動向の把握と予防ができる可能性がある。腸アメーバ症治療には流行の終息のためにも metronidazole と luminal drug の併用投与が望ましく、引き続き paromomycin などの luminal drug の安定した供給が望まれる。

■ 文 献

- 1) 国立感染症研究所: IDWR; 感染症情報センター 感染症報告数一覧. (<http://idsc.nih.go.jp/idwr/ydata/report-Ja.html>)
- 2) Ramakrishan G, Petri WA Jr: Pathogenesis and molecular biology. In: Amebiasis (ed by Ravdin JI), p91-112, Imperial College Press, London, 2000.
- 3) Haghighi A, et al: Remarkable genetic polymorphism among *Entamoeba histolytica* isolates from a limited geographic area. J Clin Microbiol 40: 4081-4090, 2002.
- 4) Nozaki T, et al: Diversity of clinical isolates of *Entamoeba histolytica* in Japan. Arch Med Res 37: 276-278, 2006.
- 5) Clark HC: The distribution and complications of amoebic lesions found in 186 postmortem examinations. Am J Trop Med 5: 157, 1925.
- 6) Houpt ER, et al: The mouse model of amoebic colitis reveals mouse strain susceptibility to infection and exacerbation of disease by CD4+ T cells. J Immunol 169: 4496-4503, 2002.
- 7) Haque R, et al: Amebiasis and mucosal IgA antibody against the *Entamoeba histolytica* adherence lectin in Bangladeshi children. J Infect Dis 183: 1787-1793, 2001.
- 8) Blessman J, et al: Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. J Clin Microbiol 41: 4745-4750, 2003.
- 9) Takeuchi T, et al: Application of a micro enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detection of anti-amoebic antibody in various forms of amoebic infection. Jpn J Exp Med 58: 229-232, 1988.
- 10) Shaffer JG, Frye WW: Studies on the growth requirements of *Entamoeba histolytica*. I. Maintenance of a strain of *E. histolytica* through one hundred transplants in the absence of an actively multiplying bacterial flora. Am J Hyg 47: 214-221, 1948.
- 11) Diamond LS: A new liquid medium for xenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other lumen-dwelling protozoa. J Parasitol 68: 958-959, 1982.
- 12) Vargas MA, et al: Non-pathogenic *Entamoeba histolytica*: functional and biochemical characterization of a monoxenic strain. Mol Biochem Parasitol 40: 193-201, 1990.

I - 4 ジアルジア症(ランブル鞭毛虫症) Giardiasis

概要

ジアルジア症(ランブル鞭毛虫症ともいう)は、ランブル鞭毛虫(小種名は未だ国際的に統一されておらず、*Giardia intestinalis*、*G. duodenalis*または*G. lamblia*の3つが使用されている)の嚢子の経口摂取によって感染し、十二指腸と空腸上部あるいは胆道系への栄養型の定着により、下痢を主とした病態を示す。本症は世界中に分布し、小児下痢症および旅行者下痢症の原因として、また小児や高齢者では、施設内での集団感染を起こしやすい原虫症として注目されている。宿主免疫と病像の関連については、低γグロブリン血症での慢性化・劇症化が知られており、再発を繰り返す難治症例においては基礎疾患の有無の確認が必要である。一方、AIDSでの劇症化についてのエビデンスはないが、しばしば難治である。感染症法では5類届出疾患(全数把握)に指定されている。

症状・徴候

感染者の大部分は無症候性嚢子排出者となるが、嚢子は排出直後から高い感染性を示すので、感染源として注意が必要である。本症の徴候は、無症候性から劇症の下痢症、吸収不良症候群まで幅広い。発症すると、泥状もしくは水様の下痢(しばしば脂肪性下痢)、腹痛、鼓腸、おくび・放屁(強い硫化水素臭)とともに悪心、嘔吐が認められる。胆道感染による胆管・胆嚢炎、また慢性感染においては、腸管上皮絨毛の平坦化、吸収不良に起因する低栄養・体重減少をみることがある。栄養型は腸管腔に留まり、組織への浸潤はないため、血便や高熱は通常認められない。

検査・診断

新鮮な下痢便や十二指腸液では、直接鏡検によって活発に運動する栄養型が検出される。嚢子は下痢・有形便ともに検出可能であり、集嚢子法/ヨード染色法/特異蛍光抗体法によって検出される。嚢子の排出は間欠的なため、複数回の糞便検査が望ましい。また、便中抗原検出のためのキットが各種発売されているが、診断薬としては国内未承認である。血清特異抗体価の測定、PCRによる特異検出は通常実施されていない。

治療方針

ニトロイミダゾール系薬剤単剤をベースに、以下の治療が行われるが、薬剤耐性株がしばしばみられるため、①②において効果が認められない場合には、即座に他薬へと切り替える。また、海外ではこの他にキナクリン(300 mg/日、分3、5日間)、フラゾリドン(400 mg/日、分4、7日間)なども使用されている。

- ① メトロニダゾール（製品は複数）（保険適応外）
750 mg/日 分3 5～10日間
- ② チニダゾール（ハイシジン 200 mg および 500 mg 錠：富士）（保険適応外）
400 mg/日 分2 7日間 または 2 g の単回服用
- ③ ニタゾキサニド（研究班保管）
1 g/日 分2 3日間
- ④ アルベンダゾール（エスカゾール 200 mg 錠：グラクソ・スミスクライン）（保険適応外）
400 mg/日 分2 5～10日間
- ⑤ パロモマイシン（研究班保管）
2 g/日 分4 7日間

ニトロイミダゾール系薬剤は、妊娠、血液疾患、器質的中枢神経疾患などでは禁忌である。副作用としては消化器症状、頭痛、眩暈、振戦、黒色尿、味覚異常(金属味)があり、またアンタビユース様作用を生ずるため、飲酒は禁止する。ニタゾキサニドでは腹痛、悪心、嘔吐などの消化器症状がみられることがあるが、重篤な副作用は報告されておらず、海外では1歳以上の小児を含むジアルジア症に対する適応が確立している。アルベンダゾールでは肝機能障害、消化器症状、眩暈、頭痛、発疹、貧血、汎血球減少症に要注意である。妊婦での安全性はいずれの薬剤においても未確立であり、やむを得ず使用する場合には非吸収性のパロモマイシンが用いられる。

I - 5 クリプトスポリジウム症 *Cryptosporidiosis*

概要

病原性腸管寄生原虫クリプトスポリジウム *Cryptosporidium* spp. は、経口摂取されたオーシストから脱嚢したスポロゾイトが小腸上皮細胞の微絨毛に侵入して、分裂増殖することによって激しい下痢症を引き起こす。世界中に分布し、小児の下痢症、旅行者下痢症の原因として、また感染源であるオーシストが通常の塩素殺菌に対して強い耐性を持っていることから、水道水汚染による集団下痢症の原因としても知られ、感染症法の 5 類届出疾患（全数把握）である。一方、先天性免疫不全、AIDS、移植手術後、抗癌剤治療時等の免疫不全状態の宿主においては慢性化・重症化し、時に死の転帰を取りうる危険な日和見感染症でもあり、AIDS 診断の指標疾患である。したがって、免疫不全にともなう原因不明の下痢症においてはまず念頭におくべき原虫症であり、また、本症の慢性化例では患者の免疫学的背景のチェックは不可欠である。

症状・徴候

4～7 日程度の潜伏期を経て、1 日十数リットルに及ぶこともある激しい水様性下痢、腹痛、悪心、倦怠感をみる。発熱は時にみられるが、高熱となることは少ない。正常人においては、これらの症状は 10 日前後、長くても 1 ヶ月程度で自然治癒する。一方、免疫不全の患者では上記症状が慢性化し、再発を繰り返し、体重減少をみる他、胆管炎・胆嚢炎、気管支炎・肺炎をみることがある。

検査・診断

クリプトスポリジウムのオーシストは、シヨ糖遠心浮遊法/抗酸染色法/特異的免疫蛍光抗体法などによる顕微鏡的検査によって、糞便・十二指腸液・喀痰検体から形態的に検出可能である。便中抗原検出のためのキットが各種販売されているが、診断薬としては国内未承認である。血清抗体価や生検による診断は困難であるが、PCR による検出は形態学的に鑑別不能な種や遺伝子型の同定には不可欠であり、専門の研究室では実施可能となっている。

治療方針

正常人においては、脱水に対する対症療法が基本である。病期短縮の効果が認められるとされるパロモマイシン、アジスロマイシン、ニタゾキサニドなどが用いられるが、いずれも免疫不全での効果は未確定である。したがって、免疫不全におけるクリプトスポリジウム症においては原疾患の治療が最善の方法であり、AIDS における HAART、また、先天性

免疫不全における骨髄移植等による免疫機能の回復はクリプトスポリジウム症を終息させることが知られている。

① ニタゾキサニド（研究班保管）

1～2 g/日 分2 3～14日間

② パロモマイシン（研究班保管）

1.5～2.25 g/日 分3 5～14日間

③ アジスロマイシン（ジスロマック 250 mg 錠、600 mg 錠：ファイザー）（保険適応外）

500 mg/日 分1 3～14日間

ニタゾキサニドをベースとした単剤、もしくは他の薬剤を加えたコンビネーション治療が行われる。治療期間については、正常人では上記の最短期間が基本である。一方、免疫不全症例では再発がしばしば認められるため、たとえ症状緩和が認められても1クール14日間の治療の完了と、再発の有無についてモニタリングの継続が望ましい。妊婦への安全性はいずれの薬剤においても確立されていないため、投与は極力避けるが、やむを得ず使用する場合には、非吸収性のパロモマイシンが用いられる。ニタゾキサニドでは腹痛、悪心、嘔吐などの消化器症状がみられることはあるが、重篤な副作用は報告されておらず、海外では1歳以上の小児を含む免疫正常人での本症に対する適応が確立している。

日本臨牀 65 卷 増刊号 3 (2007 年 3 月 28 日発行) 別刷

新感染症学 下

—新時代の基礎・臨床研究—

感染症学各論

II. 感染症法分類—発症・病態・診断・治療—

五類感染症(全数把握)

クリプトスポリジウム症

井関基弘 所 正治

五類感染症(全数把握)

クリプトスポリジウム症

Cryptosporidiosis

井関基弘 所 正治

Key words : クリプトスポリジウム症, *Cryptosporidium*, 届出感染症, 人獣共通感染症, 下痢症

はじめに

本症は消化管寄生原虫である *Cryptosporidium* spp. の感染による疾患で、激しい水様下痢を主徴とする。1976年に初めて人体症例が報告された新興感染症であり、世界で年間2.5億～5億人が感染すると推定されている。小児下痢症、旅行者下痢症の原因として、特にエイズなど免疫不全患者における致死性慢性下痢の原因として重要である。人獣共通感染症でもあり、水道水やスイミングプールでの集団感染が起こりやすいのも本症の特徴である。我が国では届出感染症(五類, 全数把握)およびエイズ診断の指標疾患に指定されている。

この10数年間で本症に関する研究は大いに進展した。特に分子・遺伝子領域の研究成果には目をみはるものがあり、本原虫の種や遺伝子型の分類・同定、糞便検査における非顕微鏡的迅速簡便な診断キットの開発、水・食品からの微量な虫体の検出、検出された虫体の生死判定などに広く適用されるようになった。また、2004年にはヒトの下痢の原因として重要な2種(*C. hominis*と*C. parvum*)の全ゲノム構造も開示された^{1,2)}。しかし、本症に確実に効く治療薬はまだ見つかっていないし、下痢発症のメカニズムなど病態生理の分子機構なども不明な点が多い。

本稿では、本原虫の分類に関する最近の知見を中心に、本症の概略を紹介する。

1. 病原体

a. *Cryptosporidium* の種と遺伝子型

近年、*Cryptosporidium* の分類は大きく変わりつつあり、新しい種名が次々登場している。現時点で16種が知られ、そのうちヒトから検出されているのは8種である(表1)。これ以外に、遺伝子型は異なるが種名がまだ付けられていないものも多数あり、今後も新種記載は次々と増えるであろう。

従来分類はオーシストの形態、宿主特異性、寄生部位特異性などでなされていた。しかし、直径5 μ m程度のオーシストに形態的有意差を見ついたり、感染実験で宿主特異性を証明することは難しく、1980年以前に報告されて現在も有効とされる種は5種にすぎない。例えば、ヒトを含む多種多様な哺乳類から検出され、オーシストの直径が5 μ m前後のものは、宿主特異性が証明されたネコとモルモット由来のものを除き、2000年まではすべて*C. parvum*として扱われてきた。

ところが1997年以降、*C. parvum*とされていた分離株の遺伝子型は宿主動物種によって異なることが明らかになってきた。当初はヒト型

表 1 *Cryptosporidium* の種と宿主, 寄生部位, オーシストの大きさ, ヒトへの感染性

種名	宿主	寄生部位	オーシストの大きさ(μm)	報告者	ヒト感染例
<i>C. andersoni</i>	ウシ	胃	7.4×5.6(7.9-6.6×6.5-5.3)	Lindsay ら, 2000	+
<i>C. baileyi</i>	ニワトリ	BF, 気管	6.2×4.6(6.3-5.6×4.8-4.5)	Current ら, 1986	
<i>C. bovis</i>	ウシ	腸	4.9×4.6(5.4-4.8×4.8-4.2)	Fayer ら, 2005	
<i>C. canis</i>	イヌ	腸	5.0×4.7(5.9-3.7×5.9-3.7)	Fayer ら, 2001	+
<i>C. felis</i>	ネコ	腸	5.0×4.5	Iseki, 1979	+
<i>C. galli</i>	ニワトリ, フィンチなど	前胃	8.3×6.3(8.5-8.0×6.4-6.2)	Pavlassek, 1999	
<i>C. hominis</i>	ヒト	腸	5.2×4.9(5.9-4.4×5.4-4.4)	Morgan-Ryan ら, 2002	+++
<i>C. meleagridis</i>	シチメンチョウなど	腸	5.2×4.6(6.0-4.6×5.3-4.2)	Slavin, 1955	++
<i>C. molnari</i>	海産魚	腸	4.7×4.5(5.5-3.2×5.0-3.0)	Alvarez-Pellitero ら, 2002	
<i>C. muris</i>	マウス	胃	7×4.5*	Tyzzer, 1907(1910)	+
	ドブネズミ	胃	8.4×6.3(9.8-7.5×7.0-5.5)	Iseki ら, 1986	
	ヒト	胃(?)	7.8±0.17×5.6±0.13	Katsumata ら, 2000	
<i>C. parvum</i>	ヒト, ウシ, ブタ, サルなど	腸	5.0×4.5(5.4-4.5×5.0-4.2)	Tyzzer, 1912	+++
(遺伝子型: ウシ型, シカ型, ブタ型, サル型, クマ型, マウス型, フェレット型, 有袋類型)					
<i>C. saurophilum</i>	トカゲ, ヤモリ	腸	5.7×4.7(5.7-5.3×5.7-4.2)	Koudela ら, 1997	
<i>C. scophthalmi</i>	海産魚(カレイ)	腸	4.4×3.9(5.0-3.7×4.7-3.0)	Alvarez-Pellitero ら, 2004	
<i>C. serpentis</i>	ヘビ	胃	6.2×5.3(6.6-5.6×5.6-4.8)	Levine, 1980	
<i>C. suis</i>	ブタ	腸	4.6×4.2(4.9-4.4×4.3-4.0)	Ryan ら, 2004	+
<i>C. wrairi</i>	モルモット	腸	5.4×4.6(5.6-4.8×5.0-4.0)	Vetterling ら, 1971	

BF: ファブリキウス嚢, *Tyzzer(1910)による. +++: 多い, ++: 少ない, +: まれ

(human genotype, または genotype 1)とウシ型(cattle genotype, または genotype 2)に大別されていたが, その後, イヌ型, ウシ型(A, B), ブタ型(I, II), サル型, クマ型, シカ型, マウス型など, 種々の新しい遺伝子型が報告されるようになった³⁾. 最近では, *C. parvum*のうち, 遺伝子型の違いと宿主特異性が証明されたものを独立種として扱うようになり, ヒト型は2002年に*C. hominis*, イヌ型は2001年に*C. canis*, ブタ型-Iは2004年に*C. suis*, ウシ型-Bは2005年に*C. bovis*と命名されている⁴⁻⁷⁾.

b. 感染と発症

ヒトから検出される種は*C. hominis*と*C. parvum*が大半で, 両種で95%以上(免疫機能正常者では98%, 免疫不全患者では80%)を占めるが, このほかに鳥類寄生性の*C. meleagridis*, ネコ寄生性の*C. felis*, イヌ寄生性の*C. canis*など6種と2遺伝子型の感染も知られている(表2)^{8,9)}. それぞれの種の宿主特異性は非常に高く, 例え

表 2 免疫機能正常者と免疫不全患者から検出された *Cryptosporidium* の種と遺伝子型(1999~2004)

種・遺伝子型	感染者数	
	免疫機能正常者	免疫不全患者
<i>C. hominis</i>	1,812 (52%)	140 (23%)
<i>C. parvum</i>	1,627 (46%)	341 (57%)
<i>C. meleagridis</i>	36 (1%)	64 (11%)
<i>C. felis</i>	11 (0.3%)	33 (6%)
<i>C. canis</i>	12 (0.3%)	15 (3%)
<i>C. suis</i>	1	1
<i>C. andersoni</i>	3	—
<i>C. muris</i>	—	3
シカ型	10 (0.3%)	—
サル型	2	—
総計	3,514	597

(文献^{8,9)}より改変)

ば *C. hominis* がヒト以外から検出されることは極めてまれである。一方、どの種に感染してもヒトは下痢を発症するが、感染に必要な摂取オーシスト数、下痢の強さ、有病期間など、種によるヒトへの病原性の違いの詳細はまだ明らかでない。

最近、*C. hominis* と *C. parvum* のウシ型については亜遺伝子型(subgenotype)まで解析されるようになり、詳細な分子疫学調査が可能になった^{10,11)}、水から検出されるオーシストについても1個からでも種と遺伝子型の判定ができるようになった¹²⁾。

感染は患者や感染動物の糞便に排出されるオーシストの経口摂取による。オーシストの内部にはバナナ状のスポロゾイトが4個包蔵されており、*C. hominis* や *C. parvum* のような腸管寄生種では、小腸で脱囊したスポロゾイトは粘膜上皮細胞に接着し、微絨毛に侵入して、無性生殖(シゾゴニー)と有性生殖を繰り返しながら増殖する。スポロゾイトは宿主細胞に侵入するための特殊なオルガネラ(apical complex)を有し、侵入に際して先端部から液を分泌する。この液の作用によって宿主細胞膜に接着し侵入するが、侵入後の虫体増殖に伴う激しい水様下痢発症の要因を含め、その分子レベルでのメカニズムはまだほとんどわかっていない。

c. オーシストの性状

感染極期の患者糞便には1日当たり数十億個のオーシストが排出される。感染力は非常に強く、1~数個の摂取でも感染し発症する。オーシストは水中や食品中で増殖することはない。徐々に弱って感染性を失うが、湿った状態で冷蔵すれば半年~1年程度は感染力を保つものもある。耐塩素性が強く、浄水場やスイミングプールで使用される塩素濃度では全く不活化されないため、水道水の飲用やプールでの集団感染が起こりやすい。また、病院で手指や器具の消毒に使われる各種消毒薬にも強い耐性を示すので院内感染の防止に留意する必要がある。70℃以上の加熱や乾燥では容易に死滅する。

2. 疫 学

1994~2003年に報告された16の疫学調査では、途上国の免疫機能正常な下痢患者における平均陽性率は12.7%で、更に無症候性感染者が4.5%みられるという¹³⁾。先進国における平均陽性率は2.2%と報告されているが、我が国の最近5年間(2001~2005年)の届出患者数の合計は224人と非常に少ない。少ない理由は、本症診断のための検査が各医療施設で十分に実施されていないからで、適切な検査を実施している都立駒込病院の4年間(1997~2000年)のまとめでは、同病院で検査した海外旅行帰国下痢患者における陽性率は平均5.2%(16/309)である。日本人海外渡航者数が年間1,700万人を超え、外国人入国者数も600万人を超える現在、輸入感染例だけでもかなり多いと思われる。もちろん国内感染もあり、水道水やスイミングプールが原因の集団感染も再三発生している。国内での流行実態を把握するには下痢患者の適切な検査が欠かせない。

3. 病 態

潜伏期間は4, 5日。激しい水様下痢が主症状で、腹痛、吐き気、嘔吐を伴い、約半数に38℃前後の発熱をみるが、下血はみられない。免疫機能が正常であれば下痢は1週間前後で治まるが、壮健な若者でも1日30回を超えるような下痢と強い腹痛、脱水などのために入院を余儀なくされる症例もある。免疫不全患者では、エイズのみならず免疫抑制療法を受けている患者や、先天性免疫不全症のX連鎖高IgM症候群などでも慢性化し重症になる。寄生部位は胃、胆嚢・胆管、膵管、呼吸器にまで広がり、慢性下痢に加えて硬化性胆管炎や呼吸器症状を呈する例もある。

HIV感染者の場合、CD4⁺T細胞数が100個以下の患者では重症になる。下痢は年余にわたって持続し、1日に70回とか1日に10~20回というコレラのような激しい下痢をみることもある。本症はエイズ診断の指標疾患の一つであり、HIV陽性者で本原虫感染による下痢が1カ月以

上持続した場合にはエイズと診断する。

の鑑別が感染源を特定するうえで重要である。

4. 診 断

診断には糞便の顕微鏡検査でオーシストを検出すればよいが、通常の原因・虫卵検査法では検出できない。シヨ糖遠心浮遊法、抗酸性染色法、蛍光抗体法などの実施が必須である。ELISA 法や免疫クロマトグラフィを利用して糞便から *Cryptosporidium* の抗原を検出する簡便な診断キットが各種市販されており、米国の検査室では普通に使用されている。数分で結果が得られ、肉眼で判定できるので非常に便利であるが、国内では未認可で価格も高い。今後は、患者から検出されたオーシストの種や遺伝子型

5. 治 療

確実に効く治療薬は見つかっていない。パロモマイシン、アジスロマイシン、アルベンダゾールなどが原虫の増殖をある程度抑制し、症状の改善をみる症例もあるが、全く反応しない症例もある。最近、ニタゾキサニドの有効性が注目され、米国では本症による小児の持続性下痢の治療薬として使用されており¹⁴⁾、エイズ下痢患者における有効性・安全性の評価試験は現在進行中である¹⁵⁾。エイズ患者では HAAT (highly active antiretroviral therapy) の実施によって免疫能が回復すれば本症も治癒する。

■ 文 献

- 1) Xu P, et al: The genome of *Cryptosporidium hominis*. *Nature* 431: 1107–1112, 2004.
- 2) Abrahamsen MS, et al: Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science* 304: 441–445, 2004.
- 3) Xiao L, et al: *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* 17: 72–97, 2004.
- 4) Morgan-Ryan UM, et al: *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *J Eukaryot Microbiol* 49: 433–440, 2002.
- 5) Fayer R, et al: *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *J Parasitol* 87: 1415–1422, 2001.
- 6) Ryan UM, et al: *Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in pigs (*Sus scrofa*). *J Parasitol* 90: 769–773, 2004.
- 7) Fayer R, et al: *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J Parasitol* 91: 624–629, 2005.
- 8) Caccio SM, et al: Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol* 21: 430–437, 2005.
- 9) Leoni F, et al: Genetic analysis of *Cryptosporidium* from 2414 humans with diarrhoea in England between 1985 and 2000. *J Med Microbiol* 55: 703–707, 2006.
- 10) Abe N, et al: Subgenotype analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from humans and animals in Japan using the 60-kDa glycoprotein gene sequences. *Parasitol Res* 99: 303–305, 2006.
- 11) Trotz-Williams LA, et al: Genotype and subtype analyses of *Cryptosporidium* isolates from daily calves and humans in Ontario. *Parasitol Res* 99: 346–352, 2006.
- 12) Hashimoto A, et al: Genotyping of single *Cryptosporidium* oocysts in sewage by semi-nested PCR and direct sequencing. *Water Res* 40: 2527–2532, 2006.
- 13) Bushen OY, et al: Cryptosporidiosis. In: *Tropical Infectious Diseases; principles, pathogens, & practice* (second ed) (ed by Guerrant RL, et al), p1003–1014, Elsevier/Churchill Livingstone, Philadelphia, 2006.
- 14) Cohen SM: Use of nitazoxanide as a new therapeutic option for persistent diarrhea: a pediatric perspective. *Curr Med Res Opin* 21: 999–1004, 2005.
- 15) Rossignol JF: Nitazoxanide in the treatment of acquired immune deficiency syndrome-related cryptosporidiosis: results of the United States compassionate use program in 365 patients. *Aliment Pharmacol Ther* 24: 887–894, 2006.

PCR 法によるサイクロスポーラの検出と種の同定

金沢大学大学院医学系研究科 寄生虫感染症制御学

所 正治・吉田知代・荒井朋子・井関基弘

藤田保健衛生大学病院 臨床検査部

古川 博

同 リウマチ感染症内科

小松八千代

PCR法によるサイクロスポーラの検出と種の同定

金沢大学大学院医学系研究科 寄生虫感染症制御学

所 正治・吉田知代・荒井朋子・井関基弘

藤田保健衛生大学病院 臨床検査部

古川 博

同 リウマチ感染症内科

小松八千代

Key Words : *Cyclospora cayetanensis*, cyclosporiasis, polymerase chain reaction

はじめに

従来、ヒトから検出されるサイクロスポーラ・カエタネンシス (*Cyclospora cayetanensis*) はヒトのみを宿主とすると考えられてきたが、同時に、他には乳類のリザーバーが存在する可能性も議論されてきた。はたしてヒトに感染するサイクロスポーラに zoonosis タイプが存在するのか。この問いへの答えには、ヒトのサイクロスポーラ症例から分離された原虫の遺伝子レベルでの種鑑別が必要となる。今回われわれは、インドネシアからの帰国者のサイクロスポーラ症例を経験し、治療前後の糞便検体を用いた PCR 法による完治の確認および種鑑別の評価を実施したので報告する。

症 例

患者：69歳，男性。

主訴：軟便・腹部不快感。

家族歴・既往歴：特記事項なし。

現病歴：2006年2月4日～3月5日までインドネシアのジャカルタに滞在。3月2日より水様下痢（2回/日程度）が発症。帰国後も軟便（1日1回）と腹部不快感が持続した。3月10日に近医受診。糞便寄生虫検査にて原虫様シスト/オーシストが検出され、また、便培養にて病原性大腸菌（+）。酪酸菌製剤（ビオスリー[®]）を処方されるが改善せず、3月16日藤田保健衛生大学大学病院紹介受診。

初診時検査所見：血液検査・生化学的検査・尿検

Detection and Identification of *Cyclospora cayetanensis* by a Nested-Multiplex PCR Analysis

Masaharu Tokoro* Hiroshi Furukawa** Yachiyo Komatsu*** Tomoyo Yoshida*
Tomoko Arai* Motohiro Iseki*

*Department of Parasitology, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University

**Department of Laboratory Medicine, Fujita Health University Hospital

***Division of Rheumatology and Infection Diseases, Department of Medicine, Fujita Health University

論文請求先：所 正治 〒920-8640 金沢市宝町13-1 金沢大学大学院医学系研究科 寄生虫感染症制御学