

表2 施設 G, H, L, M, N の年代, 性別における腸管寄生原虫の感染状況

年 代	検査件数 (男性)	男 性				女 性			
		<i>E. dispar</i>	大腸ア メーバ	小形ア メーバ	ジアル ジア	<i>E. dispar</i>	大腸ア メーバ	小形ア メーバ	ジアル ジア
20歳未満	44 (28)	-	-	-	-	-	-	1	-
20歳代	81 (59)	3	7	5	-	-	1	1	-
30 "	107 (70)	-	4	1	-	-	1	2	-
40 "	108 (74)	-	7	5	1	-	-	-	-
50 "	120 (72)	-	7	7	-	-	1	-	-
60 "	68 (41)	-	-	2	-	-	-	-	-
70歳以上	17 (10)	-	-	-	-	-	-	1	-
不 明	4 (4)	-	-	-	-	-	-	-	-
計	549 (358)	3	25	20	1	0	3	5	0

結果および考察

今回、感染実態調査を行った8施設、667名の結果を表1に示す。

ホルマリン・エーテル法による顕微鏡検査、*E. histolytica* IIキットを用いた赤痢アメーバ特異抗原検出検査およびPCR法を用いた赤痢アメーバの遺伝子検出検査を行った結果、施設Gにおいてジアルジア感染者が1名認められたが、8施設いずれからも赤痢アメーバは認められなかった。しかし、PCR法を用いた確認検査(図1)により、施設Nにおいて病原性はないが形態学的に赤痢アメーバに酷似した*E. dispar*の感染が3名に認められた。さらに赤痢アメーバと同一の感染経路をとると考えられる非病原性の大腸アメーバ、小形アメーバの感染が6施設(施設G, H, I, L, M, N)、計53名から検出された。施設Hでは男性13名中6名の利用者到大腸アメーバの感染が認められた。また、施設G, Nにおいて大腸アメーバ、小形アメーバの感染が認められた利用者は同一の生活棟であると報告された。

表2に示したように*E. dispar*の感染が認められた施設利用者は3例共に20歳代男性であったが、大腸アメーバ、小形アメーバの感染が認められた施設利用者の年齢は20歳代~60歳代と様々な年代で感染が認められた。また、性別は84.9%(45/53)が男性であった。

今回の調査において赤痢アメーバ抗原検出検査

(*E. histolytica* IIキット)で陽性であったが、その後の複数回の検便検査および赤痢アメーバ抗体検査で陰性を示す例が計7例(施設G:2例, 施設K:2例, 施設L:1例, 施設N:2例)に認められた。いずれも同一ロットの*E. histolytica* IIキットを使用していたが、施設Nの2例について別ロットによる検査では陰性であったことから、*E. histolytica* IIキットはロットにより偽陽性を示す場合があることが示唆された。

ジアルジアの遺伝子型を検討するため、GDH遺伝子を標的としたPCRを行い、得られたPCR増幅産物の塩基配列について解析したところ、施設Gで認められたジアルジアの遺伝子型はAssemblage Aであった。また、ジアルジア感染者は無症状感染者であると報告されたが、施設担当医の判断により駆虫がなされたため、フォローアップの検査を行った結果、陰性であった。

今回の調査により、*E. dispar*の施設内感染が確認され、*E. histolytica* IIキットの使用で偽陽性を示す場合があることから、赤痢アメーバの検査においては、顕微鏡検査とPCR法による遺伝子検査など複数の検査法を組み合わせる必要があると考えられた。また、同一の生活棟において大腸アメーバ等の感染が認められたことから、施設利用者の中に赤痢アメーバ等の腸管寄生原虫感染者がいた場合、他の施設利用者への感染拡大が危惧される。したがって、今後もこのような調査を継続していくことが重要である。

文 献

- 1) 鈴木 淳, 他 (2005) : 知的障害者厚生施設における赤痢アメーバ等腸管寄生原虫の感染実態調査. Clin Parasitol, 16 (1), 50-52.
- 2) Evangelopoulos, A. *et al.* (2000) : A nested, multiplex, PCR assay for the simultaneous detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in faeces, Ann Trop Med Parasitol, 94 (3), 233-240.
- 3) 国立感染症研究所 (2003) : 病原体検出マニュアル. 233-234.
- 4) Abe, N. *et al.* (2003) : Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* isolates from dogs in Japan by direct sequencing of the PCR amplified glutamate dehydrogenase gene. J Vet Med Sci, 65 (1), 29-33.

神奈川県におけるアライグマの駆除と アライグマ回虫の調査

国立感染症研究所 寄生動物部

川中正憲・荒川京子・杉山 広・森嶋康之

Key Words : アライグマ, アライグマ回虫, 神奈川県, 外来生物法, 監視体制

はじめに

アライグマ回虫 (*Baylisascaris procyonis*) は、アライグマの原産地である北米大陸において普通に認められる腸管内寄生虫で、基本的にアライグマ以外の動物では成虫になることはないが、ヒトがその虫卵を経口摂取すると幼虫移行による致死的な中枢神経障害を引き起こすことがある。米国では、1984年と1985年に相次いで幼児死亡例が確認され、最悪の「動物由来寄生虫症」と目されており、現在までに5名の死亡例を含む少なくとも13名の重症例が報告されている¹⁾。

近年、わが国では展示用動物やペットに由来するアライグマの野生化が、農業被害や在来種の絶滅危惧(生物多様性に及ぼす悪影響)などの問題を引き起こし、特に、北海道、神奈川、岐阜、愛知、和歌山などの各県では深刻な事態となっている。このような状況から、2005年6月に施行された「外来生物法」ではアライグマを「特定外来生物」に指定し、野生

個体の積極的な駆除と、輸入、飼育、販売の原則禁止が求められることとなった。それと共に、野生アライグマの駆除作業に伴うアライグマ回虫による健康被害の予防対策も重要となっている。

われわれは1999年からアライグマ回虫に関する全国調査を開始し、動物園等の展示施設のアライグマ、ならびに捕獲された野生アライグマについての調査報告の収集や糞便検査等を実施した²⁾³⁾。その結果、動物園等での飼育群からはアライグマ回虫の寄生例が少なからず確認されたが、全国の野生アライグマからは、現在のところアライグマ回虫の寄生例は発見されていない。神奈川県は、首都圏にあって最も野生アライグマ問題が先鋭化している地域であることから、この調査を開始して以来7年間にもわたりアライグマの生息状況をフォローすると共に、直接アライグマ回虫の検査を実施してきた。「外来生物法」の施行に伴って野生アライグマの駆除が全国的に実施されつつある現在、神奈川県を国内でのアライグマ回虫問題の一典型として、現在の問題

Surveillance of *Baylisascaris procyonis* Infection among Wild Raccoons in Kanagawa Prefecture, Japan

Masanori Kawanaka Kyoko Arakawa Hiromu Sugiyama Yasuyuki Morishima

Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases

論文連絡先: 川中正憲 〒162-8640 新宿区戸山1-23-1 国立感染症研究所 寄生動物部

赤痢アメーバ, クリプトスポリジウム

NAKAMOTO KENTARO/TOKORO MASA HARU

仲本賢太郎/所 正治

◎金沢大学大学院医学系研究科寄生虫感染症制御学

要旨 赤痢アメーバ、クリプトスポリジウムはともに日和見感染症の原因原虫として、また施設内や水道水を通じた地域のアウトブレイクの原因原虫として重要だが、通常の検査において赤痢アメーバに対する血清抗体以外の検出法が使えないために、多くの症例が見逃されている可能性が指摘されてきた。検査法としては顕微鏡的検査とともにPCR法や各種のキットが使用可能だが、いずれも現在のところ保険適応外であり、早期治療や感染拡大防止の観点から早期の承認が望まれる。

はじめに

赤痢アメーバ症およびクリプトスポリジウム症は感染症法の五類感染症（全数把握届出疾患）に分類され、AIDS、先天性免疫不全における日和見感染症として重要な感染症であり、また、性行為感染症として同性愛者にしばしばみられる。さらに、両原虫は旅行者下痢症の原因原虫でもあり、発展途上国からの帰国者による輸入症例が報告される一方で、赤痢アメーバの障害者施設等における集団発生や、クリプトスポリジウムによる水道水を通じたアウトブレイクが国内においても知られている。

従来、これらの原虫は、糞便中に排出されたシスト/オーシストおよび腸粘膜生検材料中の栄養型の顕微鏡的検査によって検出されてきた。しかし、顕微鏡的検査には熟練が必要であり、実際、対応可能な検査機関は限られ、通常の検査メニューにこれらの原虫検出のための糞便検査が含まれ

ていないばかりか、しばしば検査自体が実施されていない現状がある。したがって、2006年の国内での報告数は赤痢アメーバ738例、クリプトスポリジウム14例だが¹⁾、他の先進国におけるクリプトスポリジウムが年間数千例に及ぶことも考慮すると、多くの症例が未検出のまま見過ごされている可能性があるものと考えられる。

近年、分子疫学の進歩に伴い、polymerase chain reaction (PCR) 法による遺伝子型同定を含めた高感度な検出法や特異抗体を用いた便中抗原検出をベースとした各種キットが、これらの原虫検出に使用可能となってきた。そこで本稿では、一般検査室においても利用可能なPCRとキットによる赤痢アメーバおよびクリプトスポリジウム検出の利点と問題点についてまとめる。

■赤痢アメーバ症

赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) は腸管

表1 各種原虫診断用キット

製品名	検出原虫	会社名	原理
<i>E. HISTOLYTICA</i> II	Eh* ¹	TechLab	ELISA
Triage [®] Parasite Panel	Eh*/Cp**/Gi** ³	Biosite Diagnostics	EIA
ProSpecT [®] Entamoeba histolytica Microplate Assay	Eh	Remel	ELISA
ProSpecT [®] Cryptosporidium Microplate Assay	Cp	Remel	ELISA
CRYPTOSPORIDIUM II	Cp	TechLab	ELISA
ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia	Cp/Gi	Meridian Bioscience	イムノクロマトグラフ
MERIFLUOR [®] Cryptosporidium/Giardia	Cp/Gi	Meridian Bioscience	直接蛍光抗体法
Crypto/Giardia Cel	Cp/Gi	Cellabs	直接蛍光抗体法
EasyStain [™] C&G FITC	Cp/Gi	BTF	直接蛍光抗体法
Aqua-Glo G/C Direct	Cp/Gi	Waterbome	直接蛍光抗体法
Aqua-Glo G/C Indirect	Cp/Gi	Waterbome	直接蛍光抗体法

*1: 赤痢アメーバ, *2: クリプトスポリジウム, *3: ジアルジア, *: 赤痢アメーバと *E. dispar* の鑑別不可

表2 赤痢アメーバの検出および非病原種との鑑別に用いられるプライマー

標的遺伝子	方法	プライマー配列	増幅サイズ(bp)	参考文献
SSurRNA	マルチプレックス PCR	EhL ACATTTTGAAGACTTTATGTAAGTA	427	3)
		EhR CAGATCTAGAAACAATGCTTCTCT		
		EdL GTTAGTTATCTAATTTTCGATTAGAA	195	
		EdR ACACCACTTACTATCCCTACC		

寄生原虫であり、シスト（嚢子）に汚染された飲食物等の経口摂取により感染が成立する。摂取されたシストは胃を経て小腸にて脱嚢し栄養型となり、その栄養型が大腸組織内に侵入することで赤痢アメーバ症を引き起こす。その病型はアメーバ赤痢、アメーバ性大腸炎などの腸アメーバ症と肝、肺、脳膿瘍などの腸管外アメーバ症に大別される。しかしながら、感染者のすべてが発症するわけではなく、その一部は無症候性のシストキャリアとして存在するため他者への感染源となる。感染者のほとんどは発展途上国に集中し、全世界では毎年5億人が本原虫に感染し、そのうち4万人が死亡すると見積もられている。一方、わが国における感染者数は年々増加し、発展途上国からの帰国者や男性同性愛者が主なハイリスクグループとなっている。

1. 病原種および非病原種の鑑別

従来、赤痢アメーバとして同定されていた原虫は、病原種の赤痢アメーバ (*E. histolytica*) と組

織侵入性がない非病原種 (*E. dispar*) の異なる2種に分類されるようになった²⁾。糞便中に排出された12~15 μmのシストおよび栄養型を検出した場合、非病原種と無症候性のシストキャリアとの鑑別が重要となるが、両種は形態的に鑑別することができない。このため、アイソザイムパターンやPCRによる遺伝学的診断法、あるいは市販の検出キット (表1) を用いた両種の鑑別が必要となる。

2. 遺伝学的診断法

遺伝学的に *E. histolytica* を検出、もしくは *E. dispar* との鑑別を行うには小亜粒子リボソームRNA (small subunit of ribosomal RNA: SSURRNA) 遺伝子を標的とした、マルチプレックスPCR法が用いられる³⁾ (表2)。本法で用いられるEhLとEhRプライマーセットは *E. histolytica* のDNAを、EdLとEdRプライマーセットは *E. dispar* のDNAを1反応液中でそれぞれ特異的に増幅する。反応により得られる増幅産物は *E.*

表3 クリプトスポリジウムの検出および種鑑別に用いられるプライマー

標的遺伝子	方法	プライマー配列	増幅サイズ(bp)	参考文献			
SSurRNA	Directsequence	18SiF	AGTGACAAGAAATAACAATACAGG	300	9)		
		18SiR	CCTGCTTTAAGCACTCTAATTTTC				
	nestedPCR-RFLP	SSU-F2	TTCTAGAGCTAATACATGCG	1,325	10)		
		nestedPCR-sequence	SSU-R2			CCCATTTCCTTCGAAACAGGA	
	COWP	PCR-RFLP	SSU-F3	GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG	820		
			SSU-R3	AAGGAGTAAGGAAACAACCTCCA			
cry15			GTAGATAATGGAAGAGATTGTG				
COWP	directPCR-RFLP	cry9	GGACTGAAATACAGGCATTATCTTG	580	11)		
	nestedPCR-RFLP	BCOWPF	ACCGCTTCTCAACAACCATCTTGTCCTC			769	12)
		BCOWPR	CGCACCTGTTCCCACTCAATGTAAACCC				
		cry15	GTAGATAATGGAAGAGATTGTG				
		cry9	GGACTGAAATACAGGCATTATCTTG			580	

histolytica が 427bp, *E. dispar* が 195bp であり、サイズにより両種を鑑別可能である。

本法における *E. histolytica* 特異的プライマーセットは 10pg/mL のテンプレート DNA から、*E. dispar* 特異的プライマーセットは 100pg/mL の DNA から明瞭な増幅産物を得ることができ、クリプトスポリジウム、ジアルジア (ランブル鞭毛虫)、およびプラストシスチスなどの他の腸管寄生原虫由来の DNA と交差反応を示さないことが確認されている⁴⁾。

3. 各種診断キットを用いた

赤痢アメーバの検出

1) *E. HISTOLYTICA* II (TechLab)

E. histolytica および *E. dispar* に共通の adhesin (腸粘膜) 接着因子抗原に特異的なポリクローナル抗体を反応ウェル内に固着させた Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 用プレートにペルオキシターゼ標識した *E. histolytica* 特異的な抗接着因子モノクローナル抗体と検体溶解液を加える。室温で 2 時間反応させて、洗浄後に発色基質を加える。判定は 450nm で吸光度を測定し陰性コントロールの吸光度と比較することで行う。

本キットの検出感度は、0.2~0.4ng/ウェルの接着因子抗原が検出可能とされる。抗原として無

菌培養した赤痢アメーバ栄養型 (HM1-MISS cl-6 株) を用いた実験結果では、1 ウェルあたり 20~25 個以上の栄養型で肉眼的に明瞭な呈色反応を示すことが報告されている。標識抗体には *E. histolytica* 接着因子特異的モノクローナル抗体を使用しているため特異性は高い⁵⁾。

2) Triage® Parasite Panel

(Biosite Diagnostics)

パネル中央の反応層には *E. histolytica/dispar* に特異的な 29kDa 抗原、ジアルジアに特異的な α -1-giardin 抗原、クリプトスポリジウムに特異的な protein disulfide isomerase 抗原のそれぞれに対して特異的に結合する抗体が所定の位置に太線状に固着させてある。この反応層に糞便検体懸濁濾過液を加えて反応させる。次に、アルカリフォスファターゼ標識してある上記 3 種の抗原に対する抗体混合液を加え、反応層に捕捉されている特異抗原と結合させる。洗浄後、発色基質液を加え、暗紫色の呈色反応を肉眼的に観察し、3 種それぞれの原虫について抗原の有無を判定する。

各抗原の検出感度は、*E. histolytica/dispar* ; 4ng/mL, ジアルジア ; 3ng/mL, クリプトスポリジウム ; 6ng/mL が検出可能とされる。固着抗体、標識抗体ともにポリクローナル抗体ではあるが、精製されたそれぞれの組換え蛋白抗原を免疫しているために特異性は高い。判定までの所要時

間は20分程度で (*E. HISTOLYTICA II* は2時間半), 迅速診断が可能であり, 3種の原虫を同時に検出することができるため, スクリーニングに有用である。しかしながら, *E. histolytica/dispar* の共通抗原を使用するため両種の鑑別はできない。また, 1検体あたりのコストは *E. HISTOLYTICA II* が830円であるのに対し2,500円とかなり高額になる。

■クリプトスポリジウム症

病原性腸管寄生原虫クリプトスポリジウムはオーシストの経口摂取により感染し, オーシストから脱嚢したスポロゾイトが小腸の絨毛上皮細胞内に侵入することにより激しい水様下痢と腹痛を引き起こす。オーシストの感染力は非常に強く, 数個のオーシストの摂取でも感染が成立し, 通常の水道水に使用されている濃度の塩素には強い耐性を示すためプールや水道水汚染による集団感染の原因としても重要である。また, AIDSなどの免疫不全患者においては症状が慢性化, 重症化し死の転帰をとりうる。本原虫症のわが国における届出数は2000~2005年までの5年間でわずか230例余りである¹⁾。しかし, 本原虫のオーシストは直径5 μ mと顕微鏡検査での検出が非常に困難なため, 赤痢アメーバ以上に検査体制の保持が困難であり, また, 健常人が感染した場合, 10日程度で自然治癒することから, 多くの症例が見逃されている可能性がある。

1. クリプトスポリジウムの種および遺伝子型

本原虫はこれまでに, 哺乳類をはじめさまざまな生物から分離されているが, ヒトへの感染性は種および遺伝子型により異なる。ヒトから分離される種としては, ヒトのみを宿主とする *C. hominis* と幅広い哺乳類を宿主とする *C. parvum* の2種が健常人症例全体の97%以上を占めることが知られている⁶⁾。診断には糞便中のオーシストを顕微鏡下で検出するシヨ糖遠心浮遊法および抗酸性染色法が用いられているが, 熟練を要する。

一方, 遺伝学的診断法および標識抗体を用いた免疫染色, あるいは特異抗原を検出する診断キットが, 水道水を介したアウトブレイクや, 米国CDCによるテロに使用される危険性の指摘に伴って開発されてきた⁷⁾。

2. 遺伝学的診断法

遺伝学的診断には種および遺伝子型に共通な配列をプライマーとし, オーシストから抽出したゲノムDNAを鋳型としてPCRを実施後, 増幅産物を制限酵素処理して断片サイズを解析する restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法やシーケンス法が用いられている。診断に用いられるターゲット遺伝子では特に小亜粒子リボソームRNA遺伝子, オーシスト壁蛋白質 (*Cryptosporidium* oocyst wall protein: COWP) 遺伝子について, ほぼすべての種, および遺伝子型が網羅的に報告されており, 標準法となっている⁸⁾ (表3)。感度としては両者とも10個程度のオーシストからの検出が可能であり, ネステッドPCRを用いた場合には1個のオーシストからでも増幅産物を得ることが可能である。

3. 各種キットを用いたクリプトスポリジウムの検出

1) 蛍光抗体法

市販されている5種の蛍光抗体法を用いた検出キット (表1) はクリプトスポリジウムとジアルジアに特異的な蛍光標識モノクローナル抗体を用いており, 反応時間は室温もしくは37°C下において約20~40分である。

これらのキットは主に環境水からのオーシスト/シストの検出を目的としており, まれに環境水中に含まれる酵母や藻類 (種は不明) と交差反応を起こすことが知られているが, 他の定性キットと比較して検出感度は高く, MERIFLUOR[®] *Giardia/Cryptosporidium* を用いた調査では, 2.5 \times 10²個/mL以下のオーシストしか含まないサンプルからも検出が可能であると報告され¹³⁾, 通常糞

便内に患者から排出されるオーシスト/シスト数ははるかに多量であるため臨床診断にも十分利用できる。また1検体あたりの費用は Aqua-Glo G/C Direct (730 円) から EasyStain™ C&G FITC の 2,100 円までさまざまである。

2) 酵素抗体法

CRYPTOSPORIDIUM II (TechLab) および ProSpecT® *Cryptosporidium* Microplate Assay (Remel) (表1) はともに *E. HISTOLYTICA II* と同様に 96 ウェルの ELISA 用プレートを用いた酵素抗体法によってクリプトスポリジウムを検出する。ウェル内には *CRYPTOSPORIDIUM II* ではオーシスト壁抗原に対する抗体を、ProSpecT® *Cryptosporidium* Microplate Assay では本原虫が宿主の腸管内で増殖する際に産生するクリプトスポリジウム特異抗原 (*Cryptosporidium* specific antigen: CSA) に対する抗体が固着させてある。判定までの所要時間は両キットともに2時間半程度である。

3) イムノクロマトグラフ法

ImmunoCard STAT! (Meridian Bioscience) は、前述した Triage® Parasite Panel 同様に、窓状の反応槽に露出させた膜上で反応を行い、クリプトスポリジウムおよびジアルジアを特異的に検出可能なイムノクロマトグラフ法である。反応槽には両原虫抗原に対する特異抗体が太線状に固着させてあり、検体懸濁液とコロイド色素結合抗体を反応させ膜上に展開することで、抗原とコロイド色素が結合した抗原抗体複合体が膜上の固着抗体と結合し、灰黒色のバンドとして可視化される。判定までの所要時間はおよそ15分であり、迅速診断が可能である。

246 検体のヒト糞便検体のオーシストを用いた評価では、ProSpecT® *Cryptosporidium* Microplate Assay, ImmunoCard STAT! ともに感度は高く、 1.75×10^4 個/mL 以上のサンプルで検出が可能であり、特異性においても99%以上と報告されている¹³⁾。 *C. parvum* を感染させた重症複合免疫不全 (SCID) マウス糞便のオーシス

トを材料にして、筆者らが行った ProSpecT® *Cryptosporidium* Microplate Assay の評価では、検出感度は 1.0×10^4 個/mL 以上となり、病期の患者便に通常排出される 10^5 個/mL 以上のオーシストは十分に検出可能である。

原虫検査において基本となる、顕微鏡を用いて糞便中のオーシスト/シストを検出する方法は1検体あたりの費用が300円以下と安価であるが熟練を要す。また、PCR法についてはサーマルサイクラーなどの設備の他、精度管理のための陽性コントロールが必要なため、一般検査室での実施にはしばしば困難が伴う。これらと比較すると、各種診断キットは、1検体あたりのコストがかかるのが難点だが、利用価値は高いものと考えられる。残念ながら、本稿で取り上げた赤痢アメーバ症、クリプトスポリジウム症の検出のための各種キットは、すべて臨床診断用としての保険適応が認められていないため、研究用として購入し使用する必要がある。保険適応が認められていない点は、赤痢アメーバの治療薬である metronidazole についても同様だが、いずれも早急な承認が望まれる。

文 献

- 1) 感染症発生動向調査
- 2) WHO: Amebiasis. *Weekly Epidemiol Rec* 72: 97-99, 1997.
- 3) Evangelopoulos A, Spanakos G, Patsoula E *et al.*: A nested, multiplex, PCR assay for the simultaneous detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in faeces. *Ann Trop Med Parasitol* 94: 233-240, 2000.
- 4) 阿部仁一郎, 木俣 勲, 井関基弘: 赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* と *Entamoeba dispar* の鑑別診断における Multiplex-PCR 法の有用性. *感染症学雑誌* 76: 921-927, 2002.
- 5) 小林正規, 鈴木 淳, 竹内 勤: 腸管原虫症の迅速診断. *化学療法の領域* 23(S-1): 141-147, 2007.
- 6) Caccio SM, Thompson RC, McLauchlin J *et al.*: Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol* 21: 430-437, 2005.
- 7) CDC: Biological and chemical terrorism: strategic plan for preparedness and response. Recommendations of the CDC Strategic Planning Workgroup.

- MMWR Recomm Rep 49(RR-4) : 1-14, 2000.
- 8) 所 正治, 井関 基弘 : クリプトスポリジウム症. *GI Research* 14 : 336-341, 2006.
- 9) Morgan UM, Constantine CC, Forbes DA *et al.* : Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using rDNA sequencing and direct PCR analysis. *J Parasitol* 83 : 825-830, 1997.
- 10) Xiao L, Escalante L, Yang C *et al.* : Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. *J Parasitol* 83 : 825-830, 1999.
- 11) Spáno F, Putignani L, McLauchlin J *et al.* : PCR-RFLP analysis of the *Cryptosporidium* oocyst wall protein (COWP) gene discriminates between *C. wrairi* and *C. parvum*, and between *C. parvum* isolates of human and animal origin. *FEMS Microbiol Lett* 150 : 209-217, 1997.
- 12) Pedraza-Díaz S, Amar C, Nichols GL *et al.* : Nested polymerase chain reaction for amplification of the *Cryptosporidium* oocyst wall protein gene. *Emerg Infect Dis* 7 : 49-56, 2001.
- 13) Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ *et al.* : Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 41 : 623-626, 2003.

* * *

予防接種の手びき〈第11版〉

木村三生夫／平山宗宏／塚 春美 編著

A5判 610頁 定価6,825円 (本体6,500円+税5%) 表98点 図65点

関係方面の要望に応え、麻疹および風疹の定期予防接種実施の細目、インフルエンザ実施要領改正など、最新の動きを入れた第11版。

■主な目次

わが国の予防接種の歴史／予防接種法における接種年齢の解説／定期予防接種／予防接種制度／接種部位と皮下注射の手技／現行の予防接種まとめ／予防接種不適合者、接種要注意者／予防接種後健康状況調査・予防接種後副反応報告／予防接種健康被害救済制度／健康障害事例発生時の対応／副反応と因果関係／ワクチン、免疫グロブリン製剤、抗毒素ワクチンの添加物含有量／ワクチンの製造元・販売元一覧 (添加物含有量などのデータはすべて2006年6月1日に更新)

ワクチン接種の実際：百日咳、ジフテリア、破傷風／破傷風単独／麻疹／風疹／麻疹風疹混合ワクチン／おたふくかぜ／ポリオ／インフルエンザ／インフルエンザ生ワクチン／日本脳炎／BCG／ウイルス肝炎／A型肝炎／B型肝炎／水痘／肺炎球菌多糖体ワクチン／狂犬病／黄熱／コレラ／ワイル病、秋やみ／インフルエンザb菌結合型ワクチン／髄膜炎菌性髄膜炎 (流行性髄膜炎)／腸チフス／ペスト／ライム病ワクチン／ロタウイルスワクチン海外渡航時の予防接種／WHOの拡大予防接種計画、米国の予防接種

■付 録

予防接種法／定期の予防接種実施要領／インフルエンザ予防接種実施要領／予防接種後健康状況調査／予防接種法改正関連通知／結核予防法／学校保健法／感染症法／予防接種法による救済制度／医薬品副作用被害救済制度／ポリオ生ワクチン二次感染対策事業医薬品医療機器総合機構法による救済／B型肝炎母子感染防止事業関連統計／予診票



近代出版

〒150-0002 東京都渋谷区渋谷2-10-9
TEL 03-3499-5191 FAX 03-3499-5204
<http://www.kindai-s.co.jp>

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、治療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

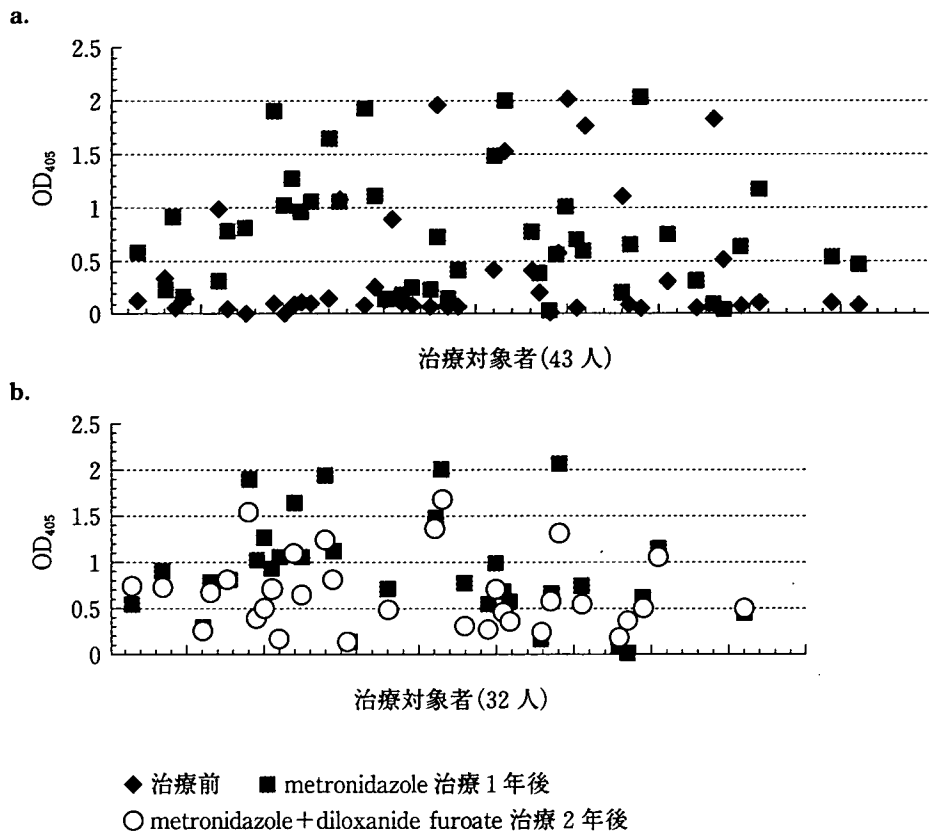


図1 施設内赤痢アメーバ集団感染治療における metronidazole 単独, および metronidazole と diloxanide furoate 併用投与後の血清抗体価 (ELISA 法) の変動

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癒率 (75%) の方が, 経口投与群の治癒率 (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 (10⁶ 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) Ramakrishnan G, Petri WA Jr: Pathogenesis and molecular biology. In: Amebiasis (ed by Ravdin JI), p91-112, Imperial College Press, London, 2000.
- 3) Haghghi 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.

病原微生物検出情報

月報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>

最近の赤痢アメーバ症について：都立墨東病院3, 施設内赤痢アメーバ症の治療と問題点4, 女性における赤痢アメーバ抗体保有率：東京都8, 女性のアメーバ性肝臓癌症例：都立駒込病院7, 赤痢アメーバの表面抗原多型解析と疫学的研究への応用8, 2007年2月に分離されたインフルエンザA/H1N1亜型ウイルスの抗原性9, 給食のパンが原因と考えられたノロウイルス食中毒：秋田県10, 乳児ボツリヌス症の発生原因と考えられた井戸水からの菌分離11, (通知) 井戸水を原因食品とする乳児ボツリヌス症の報告について12, *C. jejuni*による水系食中毒事例：福島県13, 牧場での「ふれあい体験」が感染源と示唆されるEHEC O157感染事例：青森県14, 保育園におけるEHEC O103による集団感染事例：宮崎県16, 保育園におけるEHEC O26による集団感染事例：宮崎県17, 2007/08インフルエンザシーズンに推奨されるワクチン株：WHO19

Vol.28 No. 4 (No.326)

2007年4月発行

国立感染症研究所
厚生労働省健康局
結核感染症課

事務局 感染研感染症情報センター

〒162-8640 新宿区戸山1-23-1

Tel 03(5285)1111 Fax 03(5285)1177

E-mail iasr-c@nih.go.jp

(禁、無断転載)

本誌に掲載された統計資料は、1)「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」に基づく感染症発生動向調査によって報告された、患者発生および病原体検出に関するデータ、2) 感染症に関する前記以外のデータに由来する。データは次の諸機関の協力により提供された：保健所、地方衛生研究所、厚生労働省食品安全部、検疫所、感染性腸炎研究会。

<特集> アメーバ赤痢 2003~2006

アメーバ赤痢は寄生性の原生生物である赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) の感染によって引き起こされ、嚢子 (シスト) を経口摂取することによって感染が成立する。シストは小腸で脱嚢して栄養型となり、大腸に寄生する。これら感染者の5~10%において栄養型が大腸上皮細胞を障害し、粘血便をはじめとし、下痢、テネスムス (便意があるが排便がない)、腹痛などの赤痢様症状を起こす (腸管アメーバ症)。さらに栄養型は血行性に転移して肝臓、肺、脳、皮膚などに潰瘍を形成し、重篤な症状を呈する (腸管外アメーバ症)。また大腸内でシスト化し、糞便中にシストが排出され、新たな感染源となる。

1999年4月に施行された「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 (感染症法)」に基づく感染症発生動向調査では、アメーバ赤痢は全数届出義務のある4類感染症とされ、2003年11月施行の感染症法一部改正により、5類感染症全数把握疾患に変更された。2006年4月からは、腸管アメーバ症と腸管外アメーバ症の病型を合わせて報告することとなった。一方で、無症状病原体保有者 (シストキャリア) の届出は不要である (届出基準は <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-01.html>)。

患者発生状況から見たわが国の状況：WHOによれば、世界人口の約1%に相当する5千万人が赤痢アメーバの感染者とされ、年間4~10万人がアメーバ赤痢により死亡していると推定されている。わが国では感染症法に基づく2000~2002年の年間届出患者数は377, 434, 457例であったが (IASR 24: 79-80, 2003), 2003~2006年に診断された患者数は521, 608, 698, 747例と上昇傾向が続いている (図1)。2003~2006年の患者の70%は国内での感染で、他は主に東南アジアを中心とした熱帯地域での感染が推定されている。患者の発生に季節や月ごとの消長はみられないが、これは本

図1. アメーバ赤痢患者月別・感染地別発生状況, 1999年4月~2006年12月

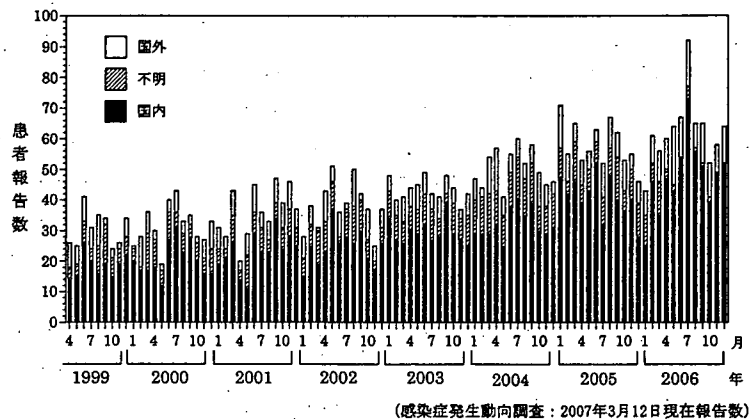
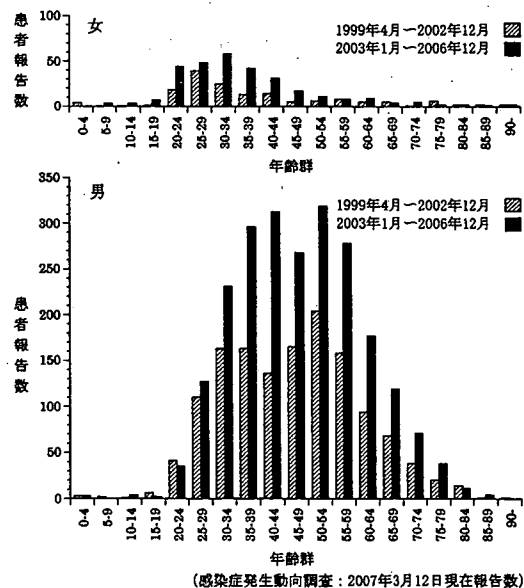


図2. アメーバ赤痢患者の性別年齢分布, 1999年4月~2006年12月



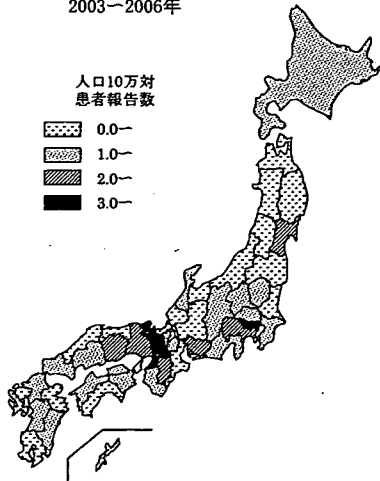
症が主に男性同性愛者間 (本号3ページ参照) ならびに知的障害者等の施設 (本号4ページ参照) において集団感染が見られることを反映していると考えられる。患者のおよそ90%は従来通り30~60代の男性が占め (図2), 届出数は1999~2002年の約1.7倍に増加した。一方、女性の感染者の年齢層は男性よりも若く、1999~2002年では25~29歳にみられたピークが、2003~

(2ページにつづく)

2 (104) 病原微生物検出情報 Vol. 28 No. 4 (2007. 4)

(特集つづき)

図3. 都道府県別アメーバ赤痢患者発生状況、2003-2006年



(感染症発生動向調査：2007年3月12日現在報告数)

2006年では20～39歳に広がっており、患者数も1.9倍に増えていた。以前から風俗業で働く女性 (CSW: commercial sex worker) における赤痢アメーバ患者の存在が指摘されていたが (IASR 24: 81, 2003), 東京都における調査ではさらに広まりつつあることが報告されている (本号6ページ参照)。2003～2006年に診断された患者のうち届出時点での死亡例は10例であり、そのうちの9例は30～80代の男性、1例は80代女性であった。

都道府県別患者発生状況：2003～2006年に診断された患者が届出された都道府県別にみると、まず東京都、京都府、大阪府、次いで宮城県、神奈川県、山梨県、愛知県、兵庫県、奈良県、岡山県などと、大都市を抱える都道府県に顕著な集積が見られる (図3)。

感染経路：1999～2002年 (IASR 24: 79-80, 2003) と2003～2006年を比べると (表1), 国内感染が1.8倍、輸入例が1.5倍と、海外に比べてむしろ国内での感染が増えていた。性的接触による感染が1.6倍、経口感染が1.4倍に増加した。男性における異性間性的接触を原因とするケースが2.1倍に増えたことが特筆される。併せて、症例数は少ないが性的接触による女性の感染者数が3.2倍と大幅に増加している。

診断, 病型, および治療：ヒトの腸管に寄生するアメーバのうち、非病原性の *E. dispar* は治療の必要は無く、*E. histolytica* との鑑別診断が重要であるが、形態学的鑑別は不可能である。現在、診断は①便、大腸粘膜組織、膿瘍液から栄養型あるいはシストを検出、②ELISAによる特異的抗原の検出、③PCRによる *E. histolytica* 特異的なDNAの検出 (本号8ページ参照)、④血清抗体検出、さらに、⑤大腸内視鏡や超音波診断法、CTスキャンなどの方法が用いられる。現在、*E. histolytica* を鑑別する最も信頼のある方法は②と③であり、②についてはELISAのキット (*E. histolytica* II kit, TechLab, USA) が市販されている。なお、④の血清反応は *E. histolytica* の感染既往を示すが、必

表1. アメーバ赤痢の感染地と感染経路

例数	2003年1月～2006年12月			1999年4月～2002年12月**		
	男	女	計	男	女	計
感染地						
国内	1,576	226	1,802	889	92	981
国外	349	45	394	222	42	264
不明	355	23	378	277	22	299
性的接触による感染	560	86	646	386	27	413
同性間*	326	1	327	298	1	299
異性間*	219	81	300	102	27	129
不明	26	4	30	-	-	-
経口感染 (飲食物から)	511	82	593	341	70	411

*同性間&異性間を含む, **IASR Vol. 24, No. 4

(感染症発生動向調査：2007年3月12日現在報告数)

ずしも現在の感染を示さないことに注意すべきである (診断法の詳細は病原体検出マニュアル, <http://www.nih.go.jp/niid/reference/pathogen-manual-60.pdf#218>参照)。

現在の届出基準では、上述の①～⑤のいずれかの方法で *E. histolytica* の存在を証明した場合に確定診断となるが、届出の半数程度は病原体診断を行うことなく臨床症状と血清診断によっていた。一方、特異的抗原の検出あるいは特異DNAの検出が行われた例はほとんどなく、また、形態観察と血清抗体検出が併用された例は全体のわずか20%程度にすぎなかった。興味深いことに、自覚症状はなくとも健康診断の便潜血陽性により、アメーバ症と診断された例が年に10数例を数えた。

2006年4月以降に報告された病型をみると、全体の19%が腸管外アメーバ症であり、女性患者の12%、男性患者の20%が腸管外アメーバ症で、女性よりも男性の方が腸管外症状が多かった (本号7ページ参照)。また、従来から指摘されていた通り、腸管外アメーバ症患者においては腸管症状はほとんど認められず、両者の症状を併発している例は腸管外アメーバ症患者の1～2割であった。また、腸管アメーバ症として届けられた患者の数が腸管外症状を併発していた。

アメーバ赤痢の治療には通常メトロニダゾールの経口投与が選択され、治療効果は高い (本号3ページ参照)。一方、シストキャリアや再感染を繰り返す施設内入所者にはメトロニダゾールに加え、消化管からの吸収が低いフロ酸ジロキサニドやパロモマイシンが併用される (本号4ページ参照)。

今後の対策：シストキャリアは届出が不要であるが、シストが感染源となることから、感染対策上はシストキャリアの診断・治療が重要である。さらに、国内でのアメーバ赤痢患者は男性同性愛者ならびに知的障害者施設での集団感染が注目されてきたが、最近CSWにも感染が拡大している。わが国では多くのアメーバ赤痢患者が梅毒、HIV、B型肝炎等の性感染症を合併していることから (本号3&7ページ参照)、アメーバ赤痢対策は総合的な性感染症対策の一環として行われるべきものと考えられる。

<特集関連情報>

東京都立墨東病院感染症科を受診した最近の赤痢アメーバ症について

序文

赤痢アメーバ症は赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) の感染症で、わが国においても消化管あるいは肝の感染症として重要な疾患である。しかし、患者数が少ないこともあり、臨床医の関心は高くない。東京都立墨東病院 (当院) は東京都の東南東部に位置し、病床数が729床の総合病院で感染症科を有していることもあり、赤痢アメーバ症の受診者数が比較的多い医療機関の1つである。当院を受診した最近の赤痢アメーバ感染者について調査を行ったので報告する。

方法

当院感染症科を2004年1月～2006年12月までの3年間に受診した赤痢アメーバ感染者の診療記録を基に、最近の赤痢アメーバ感染者の背景や診断方法、合併する感染症などについて分析した。

結果

1. 感染者の性別、国籍、推定感染地

表1に感染者の総数、性別、国籍、推定感染地を示した。全員が男性で、77%が日本国内で感染したと推定された。

2. 感染者の年齢

表2に感染者の年齢を示した。感染者数は多い順に50代、30代、40代で、40代と50代で総数の59%を占めていた。

3. 病型

赤痢アメーバ症は病巣形成部位によって腸管アメーバ症 (アメーバ腸炎) と腸管外アメーバ症に大別される。さらに腸管外アメーバ症は肝のアメーバ症 (肝膿瘍) と肝以外の腸管外アメーバ症に分けられる。当院初診時の時点で、腸炎患者10人、肝膿瘍患者が11人、無症候性嚢子保有者 (シストキャリア) が1人であった。腸炎と肝膿瘍を同時に呈している患者は0人であった。

4. 診断方法

他院から当院へ紹介された患者は腸炎で6人、肝膿瘍で8人で、そのうち既に前医で赤痢アメーバ症と診

表2. 患者の年齢

年齢(歳)	患者数	年齢(歳)	患者数
～19	0	50～54	6
20～24	0	55～59	2
25～29	0	60～64	0
30～34	5	65～69	2
35～39	1	70～74	1
40～44	3	75～	0
45～49	2		

断されて紹介された患者は腸炎で5人、肝膿瘍で5人であった。前医で赤痢アメーバ症と診断され紹介された腸炎の5人全員で、大腸内視鏡検査時の生検で大腸粘膜内に赤痢アメーバが確認されたことで診断されていた。当院で診断した腸炎は5人であったが、全員が顕微鏡を用いて便から赤痢アメーバの栄養型を確認することで診断された。肝膿瘍患者は、他院で赤痢アメーバ肝膿瘍と診断され紹介された患者も、当院で赤痢アメーバ肝膿瘍と診断した患者も、11人全員が腹部の画像検査 (CTあるいは超音波) 所見と血清の赤痢アメーバ抗体の上昇を確認して診断された。

5. 男性同性愛歴

男性同性愛歴については、男性同性愛歴を自認した人が男性同性愛歴あり、回答が得られなかった人と男性同性愛歴を否定したが結婚歴がない人は不明とし、男性同性愛歴を否定し、かつ結婚歴のある人を男性同性愛歴なしとした。男性同性愛歴ありが8人、不明が9人、なしが5人であった。

6. HIV抗体およびHCV抗体保有状況、梅毒抗体 (TPHA) 陽性状況

HIV抗体は14人中7人で陽性、HCV抗体は19人中3人で陽性、TPHAは19人中6人で陽性であった。表3に男性同性愛歴の有無とHIV抗体およびHCV抗体、TPHA陽性状況を示した。

7. 治療

治療に使用した薬剤を次ページ表4に示した。全員にメトロニダゾールが使用されていた。肝に膿瘍がある11人のうち、薬剤投与に膿瘍ドレナージを併用した症例は7人で、他の4人は薬剤投与のみで治療した。

表1. 赤痢アメーバ感染者の総数、性別感染者数、国籍、推定感染地

感染者総数:	22人 (男性22人、女性0人)
国籍:	日本21人、パキスタン1人、
推定感染地:	日本17人、パキスタン1人、タイ1人、中国1人、東南アジア地域1人、不明1人

表3. HIV抗体およびHCV抗体保有状況、TPHA陽性状況

患者数	HIV抗体陽性者			HCV抗体陽性者			TPHA陽性者		
	男性同性愛歴			男性同性愛歴			男性同性愛歴		
	有	無	不明	有	無	不明	有	無	不明
患者数	7	0	0	2	0	1	5	0	1

表 4. 病型と使用した薬剤(他院での治療を含む)

	MTZ	MTZ+DF	MTZ+PARM
腸炎	8	1	1
肝膿瘍	8	3	
シストキャリア			1
計	16	4	2

MTZ:メロニダゾール, DF:フロ酸ジロキサニド,
PARM:パロモマイシン

8. 再発あるいは再感染

今回の22人中, 赤痢アメーバ腸炎の1人と赤痢アメーバ肝膿瘍の1人は, 以前にそれぞれ赤痢アメーバ腸炎でメロニダゾール単剤による治療を受け改善した既往がある。そのうちの1人が約5年後に肝膿瘍を発症し, 他の1人が約5年後に腸炎を発症した。しかし, この2人のうちの1人は男性同性愛者を自認し, 他の1人は男性同性愛歴が不明である。この2人ともに再発か再感染かは不明であった。

まとめ

当院感染症科を受診した赤痢アメーバ感染者は, 国内で感染したと推定された症例が約80%で, 輸入感染症に重点を置いた従来の認識は改める必要がある。今回の調査結果で特異な点として, 女性患者がいないことが挙げられる。今回は男性同性愛歴の有無についても調査をしているが, 不明の患者のなかにも男性同性愛歴のある人が存在すると思われる。これらの結果から, 赤痢アメーバ症は日本国内で感染する疾患であり, 男性同性愛者間で感染が拡大している可能性が推測される。

赤痢アメーバ肝膿瘍患者の場合, 全例で受診時に腸炎はなく肝膿瘍のみであった。肝膿瘍患者の診療に際し, 受診時に臨床的な腸炎症状がない赤痢アメーバ肝膿瘍が存在する事実を改めて認識する必要がある。他の医療機関から赤痢アメーバによる腸炎として紹介された感染者では, 全員が大腸内視鏡検査時に行われた生検の病理検査で診断された症例であった。赤痢アメーバそのものを便から検出する方法は簡便で, 診断に直結し, かつ患者への肉体的負担もない。もし, 他の医療機関においても最初から赤痢アメーバによる腸炎の可能性を考えていれば, 大腸内視鏡検査よりも糞便の検査を優先するであろうと思われ, さらに当初から感染症指定医療機関へ診療を依頼することもあると推定される。赤痢アメーバ腸炎の主症状は粘血便であることや, 肉眼的な血便を伴わない下痢を呈する患者も多いことはよく知られている。前医で腸炎患者の全例で大腸内視鏡を利用しての診断が行われていたことは, 下痢や血便の患者に対し, 一般の医療機関では, 当初から赤痢アメーバ腸炎を疑って対応することはほとんどないことを示していると推測される。中年の男性が下痢や血便を主訴に医療機関を受診した場合は, 赤痢アメーバ腸炎も疑って対応するとよいと考えられる。

赤痢アメーバ感染者では HIV 陽性者の割合が高いことも特筆すべき事実である。1988~1995年の間に当院で診療した赤痢アメーバ感染患者のうち, 墨田区, 江戸川区, 江東区, 品川区, 港区, 目黒区, 中央区, 千代田区に居住している人を対象とした調査では, HIV 感染者は17人中0人, TPHA 陽性者は28人中17人であった¹⁾。今回の調査では, HIV 感染者は14人中7人(50%)を占めており, 7人すべてが男性同性愛歴を有していた。このことから, HIV 感染者数が男性同性愛歴のある赤痢アメーバ感染者間で増加していることが考えられる。このように, 検査が可能であった半数が HIV 抗体陽性者である事実を考慮すれば, 赤痢アメーバ症患者には HIV 検査を受けるように勧めることが重要である。

文献

- 1) Ohnishi K, Murata M, Epidemiol Infect 119: 363-367, 1997

東京都立墨東病院感染症科 大西健児

<特集関連情報>

施設内赤痢アメーバ症の治療と問題点

1. はじめに

施設内赤痢アメーバ症の問題点のひとつに感染, およびその経過の特徴に伴う治療の困難さがある。特に複数の便弄癖のあるような重度の知的障害者に赤痢アメーバが感染した場合には, 被治療者自身や, それ以外の感染者の便に含まれる嚢子(シスト)によって容易に起こる再感染の予防を考慮した治療が必要となる。本稿では, 組織侵入性の赤痢アメーバ症に有効なメロニダゾールと腸管腔のアメーバに特に有効なフロ酸ジロキサニドとの合剤, または併用で治療を行った2カ所の知的障害者更正施設での治療効果について述べる。

2. 施設内赤痢アメーバ集団感染者に対する治療の困難さの背景

赤痢アメーバの感染は感染者の便に排出される感染型のシストを経口摂取することによって起きる。知的障害者施設内で感染が容易に拡大する原因の主要なものに, 便弄癖者や便食者の存在がある。35名の赤痢アメーバ集団感染者がみられた1施設について実際に調査された結果でも, 便弄癖が見られた者16名(46%), 自立して排泄ができない者22名(63%)と, シストに汚染された便を経口摂取する確立の高い施設利用者に感染者が多いことがわかっている。この施設では当初, 施設内赤痢アメーバ集団感染を終息させることができた他の1施設で, 施設職員の経験をもとに策定された感染予防策¹⁾を実施するとともに, 感染者のメロニダゾールによる治療, そして治療後のフォローアップとして, 糞便検査で赤痢アメーバシストと特異抗原検出キット(*E. histolytica* II kit, TechLab, USA)で

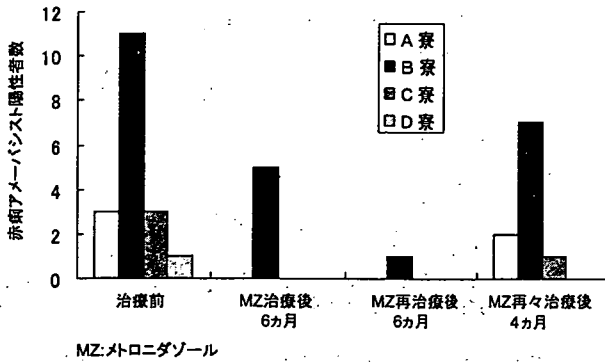


図1. 繰り返されたメトロニダゾール単独治療後に見られた赤痢アメーバ症の再流行

糞便検査で赤痢アメーバ原虫と抗原が陰性化するまで行われたメトロニダゾールの再々治療4か月後に、再び大きな赤痢アメーバ症の流行が起きていることがわかる。

陰性がいったん確認されるまで繰り返しメトロニダゾール治療を行った。しかしながら、集団生活を行う感染者と他の施設利用者が施設内で接触する場所や機会(食堂、浴場、作業場等)は多く、また腸からの吸収が速く腸管腔アメーバには効果が期待し難く、予防効果の小さいメトロニダゾール単独治療では感染を終息させることはできず、4か月後の検査では再び感染既往者が居住する寮を中心に糞便検査陽性者が確認された(図1)。

3. 施設内赤痢アメーバ集団感染者に対する治療方法

以上のような経験に基づいて、著者らが赤痢アメーバ集団感染に対して行った治療法は以下の通りである。

治療対象者：担当医の権限では赤痢アメーバに感染していない施設利用者に予防投薬を行うことが難しかったため、感染予防策の実行下で血清反応陽性者を含めすべての赤痢アメーバ感染が疑われる利用者を対象として集団治療を行った(*わが国ではメトロニダゾールはアメーバ治療には適応外であり、またフロ酸ジロキサニドは治験薬剤のため、投薬には被治療者本人の承諾が必要であるが、知的障害者の場合、親権者の同意が必要となるため、事前に保護者の理解を得ておく必要がある)。

治療薬：組織内アメーバに効果の高いメトロニダゾールと、腸管腔内アメーバに有効で、そのためシストの再感染の予防に効果があるフロ酸ジロキサニドの併用投与を行った。

4. 治療効果

メトロニダゾールとフロ酸ジロキサニドの合剤 Entamizole® 治療(メトロニダゾール1.2g+フロ酸ジロキサニド1.5g/日、3分服×5日)を行った1施設、そしてメトロニダゾール治療(1.5g/日、3分服×10日)に引き続きフロ酸ジロキサニド治療(1.5g/日、3分服×10日)を行った1施設ともに治療後、それぞれ9年と3年間にわたる長期のフォローアップ検査において新たな感染は確認されておらず、集団感染を終息

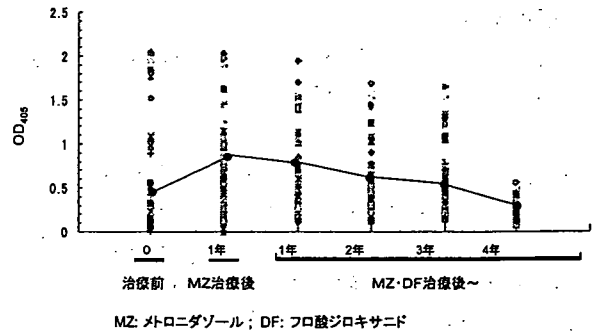


図2. 治療前・治療後の赤痢アメーバ血清抗体価の分布(ELISA法)

メトロニダゾール治療後、上昇傾向を示した抗体価の分布がメトロニダゾールとフロ酸ジロキサニド併用投与後からは徐々にではあるが減少傾向を示していることがわかる。

させることができたものと考えた。メトロニダゾール単独そしてメトロニダゾールとフロ酸ジロキサニドの併用投与を行った後者の施設の治療後のELISA法による抗体価の変遷を図2²⁾に示す。メトロニダゾール単独治療後では抗体価の上昇が見られるが、メトロニダゾールとフロ酸ジロキサニド併用投与後では徐々に下降傾向を示しており、この抗体価の変遷からも感染が終息したことがうかがえる。

5. おわりに

シスト排出を伴う腸持続性感染を主とする知的障害者更生施設内赤痢アメーバ集団感染の治療には、感染源となるシストを含む便による汚染を完全に予防することは難しい面があり、むしろ感染予防効果も期待される luminal drug であるフロ酸ジロキサニドやパロモマイシンの併用が推奨される。現在パロモマイシンが治験薬として「熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究」班(厚生労働科学研究費補助金創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)から入手可能である。また、感染予防策実施と定期的な糞便検査、そしてフォローアップ検査の重要性も明らかである。現在、感染症発生動向調査(国立感染症研究所)による赤痢アメーバ症の年間届出数はここ数年顕著な増加傾向を示しており、施設利用者への感染拡大が危惧されている。このため著者らも施設を対象として、引き続き赤痢アメーバを含めた腸管寄生原虫の感染実態調査を東京都健康安全研究センターの協力を得て継続している³⁾。

文 献

- 1) 竹内 勤, 他, 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-基礎編(改訂2版), メジカルフレンド社, 144-152, 2003
- 2) 小林正規, 他, 日本臨床 65 (増刊): 282-286, 2007
- 3) 鈴木 淳, 他, Clinical Parasitology 17, 2006
慶應義塾大学医学部熱帯医学・寄生虫学教室
小林正規 竹内 勤
東京都健康安全研究センター微生物部寄生虫室
鈴木 淳