

厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書  
厚生労働科学研究補助金（エイズ対策政策研究事業）  
（総括・分担）研究年度終了報告書

臨床検体における赤痢アメーバ遺伝子検査  
研究分担者 八木田 健司 国立感染症研究所 寄生動物部

研究要旨

臨床糞便検体中の赤痢アメーバ検出を目的に、PCR による遺伝子検査を行った。総数 233 検体を検査した結果、5 検体より赤痢アメーバ特異的反応を認めた。他検査法ではアメーバ陰性であった検体でも PCR 陽性反応が見られ、診断法としての有用性が示された。

A) 研究目的

原虫性疾患において、遺伝子検査は高感度な検査法として多用されている。本研究では、研究班内で抗原検査の行われた臨床糞便検体につき、赤痢アメーバの検出を目的に、より感度の高いことが期待される遺伝子検査（PCR 検査）を行った。

B) 研究方法

研究班内 5 施設から送付された検体につき、Qiagen Stool Kit(Qiagen, )を用いて DNA の抽出を行い PCR 検査に供した。なお各検体につき 2 試料を個別に調製した。PCR は *E. histolytica* の 18SrRNA 遺伝子の部分領域を増幅する特異的プライマー EntaF および EhR を用いた( Hamzan Z., et al., J.Clin.Microbiol., 2006 )。増幅条件は、94 3分 94 15秒 60 30秒 72 30秒 72 5分とし、 から を 45 サイクル繰返し、電気泳動により赤痢アメーバ特異的 DNA 増幅の確認を行った。検体利用にあたっては国立感染症研究所の医学研究倫理審査の承認を得ている (No.921)

C) 研究結果

調べた検体は水様便から固形便まで、その性状は多様であり、検体によらず DNA 抽出効率を上げるため熱処理（90 ）を抽出条件に加えた。検査現況であるが、2019 年 3 月現在、共同研究施設から送付された

便検体総計 233 検体につき遺伝子検査を行った。調べた 233 検体中、赤痢アメーバ陽性と判断されたのは 5 検体で、赤痢アメーバ陽性率は 2.1% と算出された。

糞便の PCR 検査は、赤痢アメーバ検査について言えば、アメーバ性肝膿瘍の場合の膿瘍検体と異なり原虫数は少なく、DNA 抽出の難しいシスト（嚢子）で存在する可能性が高いこと、また PCR を阻害する物質が多量に含まれ、困難な部分が多い。本研究で市販 DNA 抽出キットにより調製した DNA を用いた PCR 検査は、抗原あるいは顕微鏡で陽性であった検体については陽性を確認し、さらにこれら検査法では非検出であった検体についても、わずかではあるが陽性例を検出した。これまで本研究における大規模な赤痢アメーバに関する糞便検査は、遺伝子検査を含めてその例はないものと考えられ、極めて貴重な調査データと考えられる。PCR による遺伝子検査は赤痢アメーバの証明に有用と考えられ、引き続き同検査による調査データを蓄積していく。

D) 研究発表

該当無し

E) 知的財産権の出願・登録状況

該当無し