

致病性的 *Entamoeba histolytica* 與非致病性的 *Entamoeba Dispar*

張恭寧 何信重

馬偕紀念醫院 醫事檢驗科

摘要

致病性的痢疾阿米巴 (*Entamoeba histolytica*) 與非致病性的類痢疾阿米巴 (*Entamoeba dispar*) 兩者無法以型態學區分，只能以 Antigen analysis、Isoenzyme analysis 或 PCR 才得以區別。痢疾阿米巴致病相關的分子主要有四種：(1) Galactose specific lectin (2) Amoebic cysteine proteinase (3) Amoebapore (4) lipophosphoglycan。類痢疾阿米巴為共生性原蟲，不需積極治療；而痢疾阿米巴感染即使是無症狀也需要積極治療。

關鍵詞：痢疾阿米巴 (*Entamoeba histolytica*)

類痢疾阿米巴 (*Entamoeba dispar*)

阿米巴痢疾 (Amoebiasis)

半乳糖凝集素 (Gal-lectin)

前言

根據世界衛生組織的統計，全世界腸道原蟲與蠕蟲的感染人數約 35 億人口，造成 4 億五千萬人發病，兒童為主要對象。在開發中國家每年約有七萬人死於痢疾阿米巴，六萬五千人死於鉤蟲，六萬人死於蛔蟲⁸。感染人數更為可觀；被痢疾阿米巴 (*E. histolytica*) 與類痢疾阿米巴 (*E. dispar*) 所感染的人數約佔世界人口的十分之一；經 PCR 鑑別後發現，其中類痢疾阿米巴約佔感染人數的九成；痢疾阿米巴只佔一成，約四千五百萬人，不到世界人口的百分之一。由於類痢疾阿米巴為共生性原蟲，確定不需積極治療；痢疾阿米巴具有致病性，即使無症狀也需要積極治療^{1,4,8,9}，故認識兩者的區別是很重要的。

從民國 89 年起疾管局要求各醫療院所必須對寄生蟲及阿米巴原蟲的檢驗方法採取標準作業，使得痢疾阿米巴原蟲的陽性數大幅增加。根據衛生署疾病管制局的統計，台灣地區最近三年的陽性數分別為：民國 89 年 323 例，90 年 304 例，91 年 289 例。以 91 年為例，感染痢疾阿米巴的病例有 289 名，其中 179 名外勞，12 名外籍新娘，35 名外籍人士，63 名本國人¹⁵。於民國 92 年 4 月起疾病管制局開始作痢疾阿米巴的 PCR 鑑定，相信真正感染痢疾阿米巴人數將會下降。值得注意的是根據台大洪健清醫師的統計，從 1995 年起陸續有愛滋病患者被鑑定出染上阿米巴性痢疾¹⁴。

痢疾阿米巴的感染途徑

當人類吃下含有四核的痢疾阿米巴成熟囊體所污染的食物或水時就會被感染。痢

疾阿米巴囊體經胃腸道消化液的作用後在小腸出囊，隨後在大腸形成活動體並聚集在大腸。痢疾阿米巴活動體有兩種可能的發展途徑：(1) 自我限制，在大腸腸道中行無症狀的感染。(2) 約有 10% 成爲侵入性疾病，造成阿米巴腸炎、肝膿瘍或甚至經血流轉移它處，造成肺、心臟、腦及其他組織的阿米巴膿瘍 4。

痢疾阿米巴與腸黏膜細胞

侵入性痢疾阿米巴活動體利用其細胞表面所含有的 D-galactose/N-acetyl-D-galactosamine 的 specific lectin (簡稱 Gal-lectin) 黏附到大腸的黏膜細胞或其他靶細胞表面，展開致病的開端 4-5,9。Lectin 的種類很多，由一群具有相同機能的特殊蛋白分子所組成，可以從植物、細菌或哺乳動物中取得 12。Lectin 是一種醣蛋白 (glycoprotein)，可以和帶有某些特殊糖分子的細胞凝集，這種凝集並非抗原抗體反應後所發生的凝集，稱爲凝集素；應用在血庫上的 Lectin 有 7 種糖分子構造，包括 D-galactose、D-mannose、L-fucose、D-glucose、N-acetylglucosamine、N-acetyl-D-galactosamine 及 N-acetylneuraminic acid 等分佈在各種血球或細胞表面 12。

痢疾阿米巴活動體所含有的 Gal-lectin 是利用雙硫鍵以 O-linked 或 N-linked 與靶細胞黏連 3,8。Gal-lectin 分子量約 260kD，具有兩個次單元包括 170kD 的 Heavy chain (hgl) 和 35kD 之 Light chain (lgl) 的 heterodimer 蛋白分子。當哺乳動物細胞表面缺乏 D-galactose 與 N-acetyl-D-galactosamine residue 時，就具有抗痢疾阿米巴活動體的黏附作用，可避免被痢疾阿米巴攻擊 8。紅血球表面具有 D-galactose 與 N-acetyl-D-Galactosamine 的糖分子，所以容易成爲痢疾阿米巴活動體黏附的對象而被吞食 10。

阿米巴原蟲的生理代謝

阿米巴原蟲的代謝史非常簡單，不論是在具有感染力的囊體階段或發病時的活動體時期，都是利用葡萄糖或 Pyruvate 作爲能量來源；在厭氧環境下將葡萄糖或 Pyruvate 分解成乙醇 (Ethanol) 與二氧化碳以獲取能量，在微氧環境則代謝成醋酸 (acetic acid)。痢疾阿米巴缺乏粒腺體、高基氏體及粗內質網，所有粒腺體系統的酵素都缺乏，但是事實上痢疾阿米巴活動體仍有許多原核生物的代謝所需的酵素，這些酵素有可能需要取自於腸內細菌的基因。痢疾阿米巴活動體必須吃下細菌和其他細胞碎片食物以取得所需營養。

痢疾阿米巴的急性感染

急性感染時，痢疾阿米巴活動體產生的毒性因子至少有四種：(1) Gal-lectin (2) Amoebic cysteine proteinase (3) Pore-forming protein：Amoebapore (4) Surface lipophosphoglycan⁷。分別敘述如下：

一、當腸黏膜細胞被痢疾阿米巴活動體透過 D-galactose/N-acetyl-D-galactosamine 的 specific lectin 黏附侵入時，宿主立即啓動防衛系統，包括 Neutrophil 或 Macrophage 所釋放的蛋白分子如 Tumor necrosis factor α 或 Interferon γ 都可以殺死痢疾阿米巴活動體，也用這種方法限制肝膿瘍的範圍 4,9。在感染初期，免疫反應非常劇烈。垂死的腸黏膜細胞會分泌 Interleukin-1 α 和 Interleukin-1 β 的前趨

物質，這些 Cytokine 產生多種結果包括引來更多的 Neutrophil 與 Macrophage 的參與攻擊入侵的阿米巴。

在人類腸黏膜培養液中發現 Neutrophil 具有減少腸黏膜傷害的功能。感染初期 Neutrophil 常被耗盡，導致腹瀉與組織傷害物質（媒介物）被大量釋放出，在病變組織切片或患者糞便中甚少有 Neutrophil。被活化後的腸黏膜細胞產生多種發炎媒介物包括 IL-1 β 、COX-2 與 Nuclear factor- κ B (NF- κ B)，其中 NF- κ B 可以阻斷阿米巴的毒性反應；由於 Corticosteroid 是抑制 NF- κ B 的機能，所以在類固醇使用者或誤用者都會加重病情，增加腸穿孔與肝膿瘍的機會 4,9。

二、痢疾阿米巴活動體會釋放毒素 Amoebic cysteine proteinase 殺死或破壞來犯的宿主防衛系統，在肝膿瘍的細胞溶解液中含有大量的 Amoebic cysteine proteinase，它是一種非常有效率的蛋白溶解劑。利用電子顯微鏡觀察痢疾阿米巴活動體，它從接觸、黏附到殺死 Neutrophil 瞬間完成，在不到 70 秒的時間內 Neutrophil 細胞內的顆粒就開始溶解 3。

三、Amoebapore 是由 77 個氨基酸組成約 5kD 的 Pore-forming protein，共有三種異構體（isoform）稱為 AmoebaporeA、B、C11。Amoebapore 具有在宿主細胞中形成 Oligomerization 的能力，影響細胞膜的機能，造成宿主細胞的溶解和死亡。它藉著活化人體 Caspase 3 以觸發細胞凋亡因子。隨後靶細胞的細胞質顆粒開始消失，細胞核溶解，最後宿主的 T-cell 或 NK cell 才將這個受損的細胞溶解 3,10。

四、在痢疾阿米巴和利什曼原蟲（Leishmania species）的細胞表面，廣佈著 Lipophosphoglycan (LPG) 分子；LPG 是利用 Glycosyl phosphatidylinositol (GPI) anchor 固定在痢疾阿米巴的細胞表面，其主要的功能與毒性有關。重點是 LPG 具有抗原性，可以誘發特異性抗體，用以檢測區別致病性的痢疾阿米巴（LPG 抗原陽性）與非致病性的類痢疾阿米巴（LPG 抗原陰性）。

痢疾阿米巴的慢性感染

當 Amoebiasis 由急性期轉成慢性時，痢疾阿米巴活動體為了躲避來自宿主的免疫攻擊，有下列方法逃脫：（一）Gal/GalNAc-specific lectin 具有類似 CD59 的分子結構。（二）Cysteine proteinase 銷毀補體活化產生的 Anaphylatoxin C3a 與 C5a。（三）Cysteine proteinase 可以破壞分泌型的 IgA 與血清型的 IgG 抗體。分別敘述如下：

（一）腸黏膜層所分泌 IgA 可以破壞痢疾阿米巴活動體的 Gal-lectin 的主要結構 Carbohydrate recognition site。痢疾阿米巴活動體所含有的 Gal-Lectin 分子結構中有一段序列有如宿主細胞膜上的 CD59，具有 CD59 的交叉反應。CD59 稱為 Membrane inhibitor reactive lysis (MIRL) factor 存在於所有的造血細胞、成熟的各類血球及多種組織細胞的細胞膜。CD59 利用 GPI anchor 固定在細胞表面，其主要的功能是解除補體活化反應中 C5b6-9 的連結，到攻膜複合物的形成，避免補體複合物由親水性轉變為疏水性，再穿入雙層脂細胞膜。當 polyC9 形成後細胞膜就會被貫穿，細胞立即溶解。

(二) 痢疾阿米巴活動體分泌的 Cysteine proteinase 可以快速的銷毀補體活化所生成的 C3a 與 C5a 等過敏毒素 (anaphylatoxin)。C3a 及 C5a 在血管上的作用具有增加血管通透性以及促進血管的擴張, 主要的機制是促進 Histamine 的釋放 13。

(三) Cysteine proteinase 也可以快速的破壞銷毀分泌型的 IgA 與血清型的 IgG 抗體以避免自身被調理化。最後痢疾阿米巴活動體呈現抑制 Macrophage 的攻擊, 再以類似 CD59 的分子結構騙過人類組織抗原 type II (MHC type II) 的作用以逃避殺害 9。

Entamoeba histolytica 與 *Entamoeba dispar* 的相似與相異

Brump 在 1925 年提出有兩種 *Entamoeba* 的假說, 並將 nonpathogenic 的 *Entamoeba* 稱為類痢疾阿米巴 (*E. dispar*)。歷經數拾年的探討, 於 1997 年世界衛生組織正式承認類痢疾阿米巴在腸道 colonization 時不需要治療。痢疾阿米巴與類痢疾阿米巴兩者在包括 morphological、ultrastructural、biochemical 與 molecular 上都非常類似。在試管內類痢疾阿米巴是無法殺死 Neutrophil, 也不會吞噬 RBC, 甚至讓 AIDS 患者吃下含類痢疾阿米巴成熟囊體, 依然不會致病, 完全證實類痢疾阿米巴為非致病性與共生性關係 (commensal)。就以 Gal-lectin 的分佈、Amoebapore 與 Amoeba cystine proteinase 而言兩者都有, 只是痢疾阿米巴所分泌的 Amoeba cystine proteinase 量約為類痢疾阿米巴的 10~1000 倍 8。痢疾阿米巴具有 LPG 抗原而類痢疾阿米巴則無。換言之, 類痢疾阿米巴是擁有致病的基因只是不表現而已。

參考文獻

- 1.Bracha R, Nuchamowitz Y, Leippe M, Mirelman D. Antisense inhibition of amoebapore expression in *Entamoeba histolytica* causes a decrease in amoebic virulence. *Mol Microbiol* 1999; 34: 463-72.
- 2.Bruchhaus I, Jacobs T, Leippe M, Tannich E. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. Differences in numbers and expression of cysteine proteinase genes. *Mol Microbiol* 1996; 22: 255-63.
- 3.Gillespie SH, Pearson RD. Amebas. In: Upinder S, Willan A, Petri Jr. *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. John Wiley and Sons LTD, 2001; 197-213.
- 4.Haque R, Huston CD, Hughes M, et al. Amoebiasis. *N Engl J Med* 2003; 348: 1565-73.
- 5.Kain KC, Ravdin JI. Galactose-specific adhesion mechanisms of *Entamoeba histolytica*: model for study of enteric pathogens. *Methods Enzymol* 1995; 253: 424-39.
- 6.Katz U, Ankri S, Stolarsky T, Nuchamowitz, Mirelman D. *Entamoeba histolytica* expressing a dominant negative N-truncated light subunit of its gal-lectin are less virulent. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4256-65.
- 7.Petri WA Jr, Clark CG, Diamond LS. Host-parasite relationships in amebiasis: conference report. *J Infect Dis* 1994;169:483.

- 8.Schuster H, Chiodini PL. Parasitic infections of the intestine. *Cur Opin Infect Dis* 2001; 14: 587-91.
- 9.Stanley SL Jr. Amoebiasis. *Lancet* 2003; 361: 1025-33.
- 10.Zhai Y, Milton H, Saier Jr. The amoebapore superfamily. *Biophysica Acta* 2000; 1469: 87-99.
- 11.Molecular analysis of pathogenicity of amoeboid parasites and *Plasmodium falciparum*. <http://www.uni-wuerzburg.de/infektionsbiologie/ML-projects.htm>
- 12.Levine C, Levene NA, Buskila D, Manny N. Red cell polyagglutination. *Transfus Med Rev* 1982; 2: 175-85.
- 13.Morgan BP. Physiology and pathophysiology of complement: progress and trends. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995; 32: 265.
- 14.Hung CC, Chen PJ, Hsieh SM, et al. Invasive amoebiasis: an emerging parasitic disease in patients infected with HIV in an area endemic for amoebic infection. *AIDS* 1999; 13: 2421-8.
- 15.<http://www.doh.gov.tw/statistic/data/衛生統計年報 /91/5 疾病管制/表 78-1.xls>

Pathogenic *Entamoeba Histolytica* and Nonpathogenic *Entamoeba Dispar*

Gong-Ning Zhang, and Hsin-Tsung Ho

Department of Laboratory Medicine, Mackay Memorial Hospital

Nonpathogenic *E. dispar* cannot be distinguished from pathogenic *E. histolytica* based on the morphologic ground. Antigen analysis, isoenzyme analysis and PCR test on stool are helpful in differential diagnosis . There are mainly four virulence factors associated with the pathogenesis of amoebiasis caused by *E. histolytica*, including (1) galactose-specific lectin (2) amoebic cysteine proteinases (3) amoebapore (4) lipophosphoglycan. *E. dispar* infection is a commensalism which does not require treatment. Individuals infected with *E. histolytica*, even asymptomatic, should be treated with a luminal agent to eradicate the infection. (*J Intern Med Taiwan* 2004; 15: 61-64)