

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08009

研究課題名(和文) 劇症型アニサキス症における発症要因・メカニズムの解明とリスク管理の構築

研究課題名(英文) Elucidation of onset factors and mechanisms in fulminant anisakiasis and establishment of risk management

研究代表者

水上 一弘 (Mizukami, Kazuhiro)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：60548139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アニサキス症は、生魚を食べた時、アニサキス幼虫が胃腸粘膜に穿入して激しい腹痛を起こす寄生虫症だが、無症状の症例もある。我々は劇症化の原因が、繰り返し感染することで引き起こされるアレルギー反応によるものだと考えた。しかし、すり潰したアニサキス幼虫をマウスに経口投与してもアレルギーは起こらなかったが、生きたアニサキス幼虫を繰り返し経口感染させるとIgEや好酸球の増加が認められたので、幼虫が繰り返し粘膜に穿入することが必須であると考えられた。アニサキス幼虫の反復感染により炎症やアレルギーに関与する自然免疫細胞(ILC2など)やサイトカイン(IL-4やIL-5)が増加することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アニサキス症は、魚を生で食べる日本人特有の寄生虫症で、年間約7000例も発症するとされている。本研究により、アニサキス症の劇症化は知らない間に何度かアニサキス幼虫に噛みつかれて、ある時を契機にアレルギーが起こり激しい腹痛になるという可能性が示された。また、それには生きたアニサキスの感染が重要で、加熱処理や冷凍処理によって死滅したアニサキス幼虫ではアレルギー反応は起きないことが予想されたことは安心材料となる。今回、アニサキス感染により胃の組織内にアレルギーに関連する免疫細胞やサイトカインが誘導されていることが初めて示されたのは、今後のアニサキス症の劇症化を解明する上で重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：Anisakiasis is a fish-borne parasitic disease caused by the accidental ingestion of Anisakis larvae. The larvae penetrate the gastric mucosa resulting in acute epigastralgia, while some cases of asymptomatic anisakiasis have been reported. We assumed that the fulminant form of anisakiasis is caused by acute allergic reactions to Anisakis larvae due to repeated infections of the larvae. Although mice orally and repeatedly administered with larval homogenate showed no allergic reactions, mice orally and repeatedly infected with Anisakis larvae exhibited increased levels of IgE in the serum as well as an increase in number of eosinophils in the gastric mucosa, suggesting that repeated penetrations of the larvae in the gastric mucosa are required to induce the reactions. In addition, repeated infection with Anisakis larvae increased the number of innate immune cells associated with allergy such as ILC2 in the gastric mucosa accompanied by the elevation of cytokines such as IL-4 and IL-5.

研究分野：消化器内科

キーワード：アニサキス症 アナフィラキシー 無症候型アニサキス症

1. 研究開始当初の背景

アニサキス症は、推計では年間約 7000 例も発症するとされる重要な消化器寄生虫性疾患である。アニサキス第 3 期幼線虫が寄生した魚介類をヒトが生食することで、幼線虫が胃や腸に穿入し激しい腹痛を引き起こす (図 1)。一方、近年の健康管理ブームにより、検診目的に上部消化管内視鏡検査を受ける国民が増加しているが、それに伴い無症状で偶発的に発見される症例 (無症候型アニサキス感染)が増加している。しかし、アニサキス症の劇症化の機序については、ほとんど研究されていないのが現状である (図 1)。

申請者は、アニサキス症劇症化の原因を明らかにするために、以下の 3 点について解析を行ってきた。

**アニサキス症**  
魚介類の経口摂取によりヒトへ感染し、アニサキスが胃壁や腸壁に穿入して引き起こす寄生虫症である

- ・ 劇症型  
アニサキス感染後、数時間後に激しい心窩部痛、悪心、嘔吐を呈する
- ・ 無症候型  
軽傷、自覚症状を欠き、内視鏡検診時に発見される

効果的な駆虫薬はなく、内視鏡による虫体の摘出が有効

**アニサキスは、寄生虫だけでなく食中毒としても注目されている!**



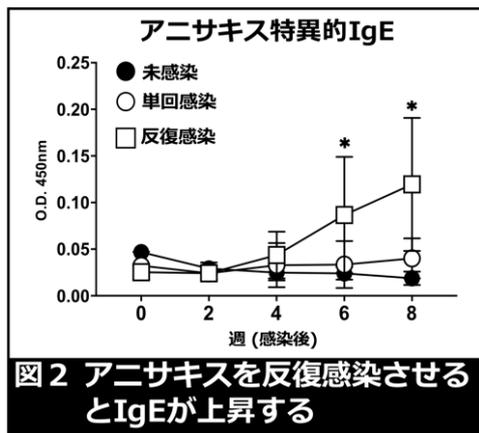
**図1 アニサキス症の背景**

- アニサキスが多く寄生している日本近海のサバには、主に 2 種類のアニサキスが寄生している。そのうち *Anisakis simplex sensu stricto* が劇症化した患者からよく摘出されることから、アニサキス症の劇症化はアニサキスの種に依存することを明らかにした (表 1)。
- アニサキス症患者のうち、劇症化した患者の 1/3 は罹患歴があるが、無症候の患者にはないことから、アニサキスに反復感染することで劇症化する可能性が示唆された(表 1)。

	アニサキス種	大分	長崎	計	罹患率
劇症型	<i>A. simplex ss</i>	74	12	86	26.6%
	<i>A. pegreffii</i>	9	6	15	
	<i>A. typica</i>	1	0	1	
無症候型	<i>A. simplex ss</i>	16	0	16	0%
	<i>A. pegreffii</i>	1	1	2	
	<i>A. typica</i>	1	0	1	

表1 発症形式・地域別で分類したアニサキスの種類と罹患率  
両県のアニサキス症患者で *A. simplex ss* が多く感染していた。また、罹患歴が無症候型患者では見られなかった

- 生きたアニサキスを単回あるいは反復してマウスに経口感染したところ、反復感染させた場合に血中のアニサキス特異的 IgE 抗体価が上昇した (図 2)。
- 以上の結果から、アニサキスが繰り返し胃に穿入することが、アニサキス症劇症化の一因となるのではないかと考えた。



## 2. 研究の目的

我々は先行研究で、アニサキス症の症状を規定する、つまり劇症型と無症候型を規定する因子はアニサキスの種類ではなく、宿主側(患者側)の感受性の問題である可能性を示してきた。

そこで、本研究では、アニサキス症の劇症化を誘導する因子の同定やそのメカニズムを明らかにするために、以下の疑問点について解析を行なった。

- (1) アニサキスの感作経路およびアニサキス種の違いによってアレルギー誘導能が異なるのか？
- (2) アニサキスの反復感染により上昇したアニサキス特異的 IgE 抗体がアナフィラキシー反応を誘導するのか？
- (3) 胃のアニサキスの穿入部位にどのような細胞が浸潤しているのか？

## 3. 研究の方法

サバに寄生しているアニサキスを摘出し、ゾンデを用いて生きた状態のアニサキスを BALB/c マウスへ毎週 2 隻、計 7 回経口感染させた(図 3)。また、摘出したアニサキスをホモジナイズしたものをアニサキスホモジネートとして、ゾンデを用いて経口投与した (図 3)。



能動型皮膚アナフィラキシー(ACA)の誘導実験では、アニサキスあるいはアニサキスホモジネートを反復感染後 13 週目に、マウスの耳介にアニサキスホモジネートを投与した。その後、エバンズブルーを静脈注射し耳介に漏出したエバンズブルー量を測定した。胃のアニサキスの穿入部位にどのような細胞が浸潤しているのか明らかにするため、アニサキス感染マウスから胃を摘出し粘膜固有層から細胞を単離して、胃に浸潤した 2 型自然リンパ球(ILC2)や好酸球、好中球、T 細胞、B 細胞などの割合や細胞数を、フローサイトメトリー法を用いて解析した。

## 4. 研究成果

(1) アニサキス特異的 IgE 抗体の誘導にはアニサキスの胃への穿入が不可欠なのか、それともアニサキス抗原が消化管を通過するだけで十分なのか明らかにすることとした。BALB/c マウスに、生きたアニサキスの経口感染とアニサキスホモジネートの経口投与とで、産生される IgE 抗体価を比較した。その結果、アニサキス特異的 IgE 抗体価は、ホモジネートの経口投与では上昇せず、生きたアニサキス幼虫の反復経口感染で上昇した (図 4)。

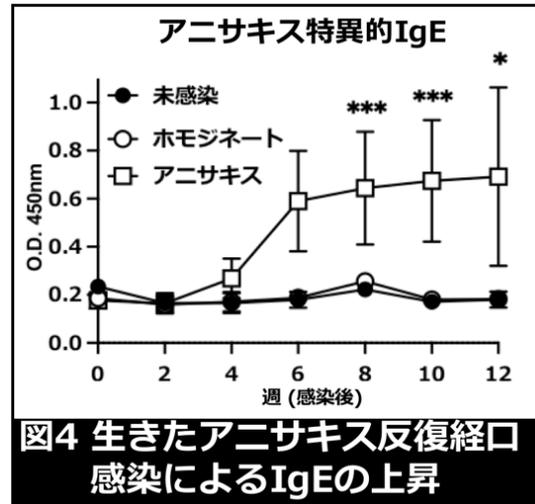


図4 生きたアニサキス反復経口感染によるIgEの上昇

以上より、アニサキス幼虫が繰り返し胃壁に穿入することで IgE が上昇しアレルギーが惹起され劇症化する可能性が示唆された。次に、生きたアニサキスの経口感染を *A. simplex ss* あるいは *A. pegreffii* に分けてそれぞれ経口感染を行い、アニサキス種の違いによってアニサキス特異的 IgE 抗体価に違いが出るのかどうか解析したところ、どちらのアニサキス種の経口感染でもアニサキス特異的 IgE 抗体価の上昇が認められ、その産生量に顕著な差は認められなかった(図 5)。

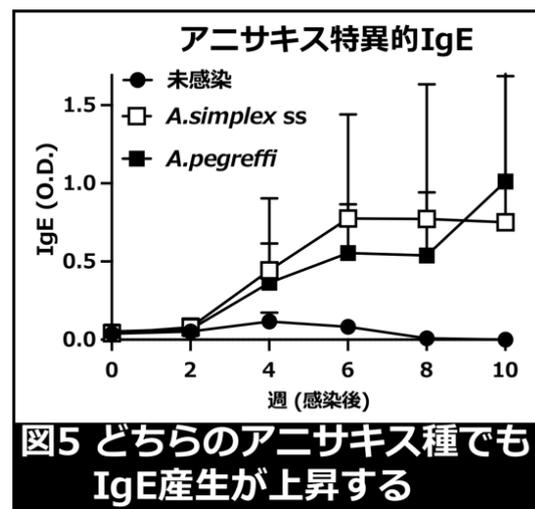


図5 どちらのアニサキス種でもIgE産生が上昇する

(2) アニサキスの反復感染により上昇したアニサキス特異的 IgE 抗体がアナフィラキシー反応を誘導するのか検討した。BALB/c マウスにアニサキスを経口感染させ、13 週間後にアニサキスホモジネートを耳介に曝露したところ、反復感染を行なったマウスで能動のアナフィラキシー反応が誘導され、未感染やホモジネート投与マウスに比べて有意にエバンズブルーの漏出量が増加し血管透過性が亢進することが観察された。以上より、アニサキス幼虫が繰り返し胃壁に穿入することで IgE が上昇しアナフィラキシー反応が惹起され劇症化する可能性が示唆された(図 6)。

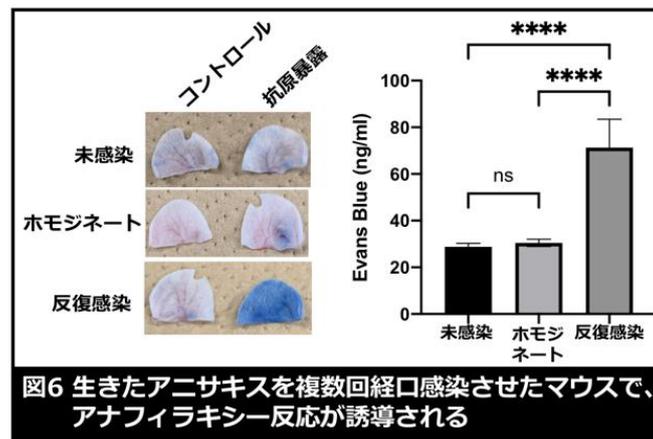
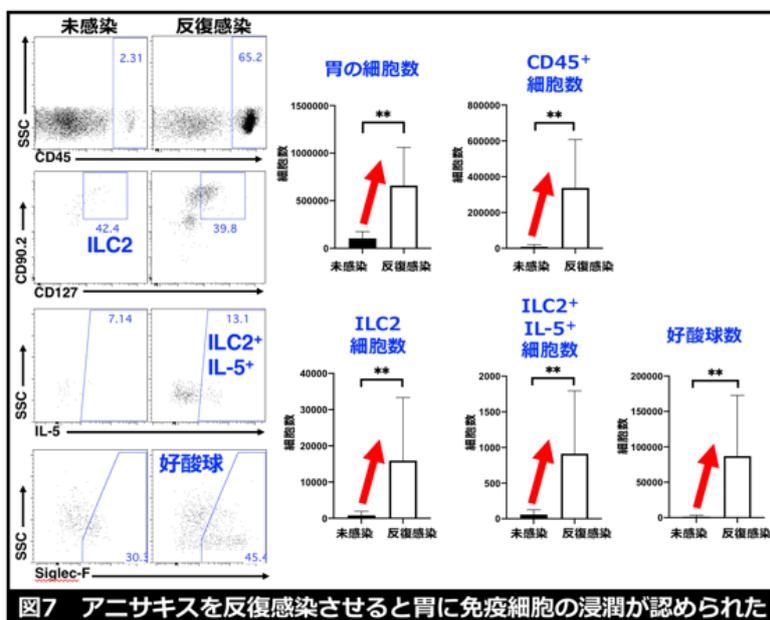
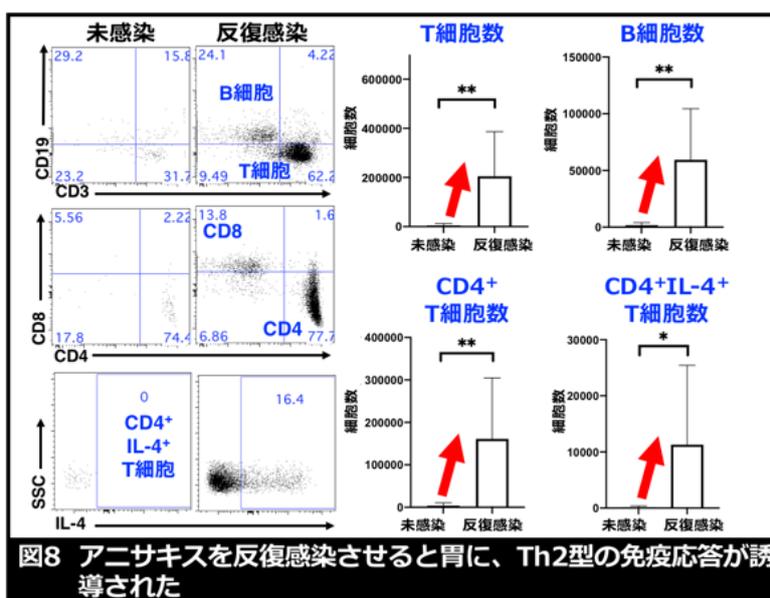


図6 生きたアニサキスを複数回経口感染させたマウスで、アナフィラキシー反応が誘導される

(3) アニサキスを反復感染させたマウスの胃の粘膜固有層に浸潤した総細胞数や CD45<sup>+</sup>の白血球数を測定したところ反復感染させたマウスでは有意に増加していた。そのうち、アレルギーの発症や病態形成に重要な 2 型自然リンパ球 (innate lymphoid cells 2: ILC2) の細胞数が反復感染させたマウスで増加し、ILC2 が産生する IL-5 により活性化する好酸球も増加していた (図 7)。



さらに、T細胞数やB細胞数の増加も認められ、Th2型反応を誘導する CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup> T細胞数も増加していた(図 8)。



このアニサキスの反復感染で認められた免疫細胞の胃への浸潤が、単回感染させたマウスやアニサキスのホモジネートを反復投与したマウスで認められるのかどうか解析を行った。その結果、これらマウスの胃の細胞数は、未感染のマウスと同様に反復感染マウスの胃の様な免疫細胞の浸潤が認められなかった。

以上の結果から、アニサキスの反復感染により ILC2 による 2 型サイトカイン産生の亢進とともに Th2 型の免疫応答が誘導され、胃に好酸球や T 細胞などの免疫細胞が浸潤することが、アニサキス症劇症化の一因になるのではないかと示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mizukami Kazuhiro, Matsunari Osamu, Ogawa Ryo, Hirashita Yuka, Okamoto Kazuhisa, Fukuda Kensuke, Sonoda Akira, Akiyama Hidetoshi, Ozaka Sotaro, Kawahara Yoshinari, Okimoto Tadayoshi, Kodama Masaaki, Murakami Kazunari	4. 巻 2019
2. 論文標題 Examine the Availability and Safety of Mucosal Cutting Biopsy Technique for Diagnosis of Gastric Submucosal Tumor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastroenterology Research and Practice	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/3121695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kodama Masaaki, Okimoto Tadayoshi, Mizukami Kazuhiro, Fukuda Kensuke, Ogawa Ryo, Okamoto Kazuhisa, Matsunari Osamu, Kawahara Yoshinari, Hirashita Yuka, Murakami Kazunari	4. 巻 65
2. 論文標題 Differences in Helicobacter pylori and CagA antibody changes after eradication between subjects developing and not developing gastric cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 71~75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.19-30	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawahara Yoshinari, Kodama Masaaki, Mizukami Kazuhiro, Saito Tomoko, Hirashita Yuka, Sonoda Akira, Fukuda Kensuke, Matsunari Osamu, Okamoto Kazuhisa, Ogawa Ryo, Okimoto Tadayoshi, Murakami Kazunari	4. 巻 65
2. 論文標題 Endoscopic gastric mucosal atrophy as a predictor of colorectal polyps: a large scale case-control study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 153~159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.19-47	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inui Kazuo, Masamune A, Igarashi Y, Ohara Hi, Tazuma S, Sugiyama M, Suzuki Y, Miyoshi H, Yamamoto S, Takeyama Y, Nakano E, Takuma K, Sakagami J, Hayashi K, Kogure A, Ito T, Mukai T, Maetani I, Nagahama M, Serikawa M, Ueki T, Furuya K, Isayama H, Moriyama I, Shigeno M, Mizukami Kazuhiro, et al	4. 巻 47
2. 論文標題 Management of Pancreatolithiasis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 708-714
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000001071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Tomoko, Niida A, Uchi R, Hirata H, Komatsu H, Sakimura S, Hayashi S, Nambara S, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Tobo T, Nishida H, Daa T, Chiba K, Shiraishi Y, Yoshizato T, Kodama M, Okimoto T, Mizukami Kazuhiro, et al	4. 巻 9
2. 論文標題 A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2884
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-05226-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Noguchi Kaori, Kamiyama Naganori, Hidano Shinya, Gendo Yoshiko, Sonoda Akira, Ozaki Takashi, Hirose Haruna, Sachi Nozomi, Saechue Benjawan, Ozaka Sotaro, Eshita Yuki, Mizukami Kazuhiro, Kawano Kenji, Kobayashi Takashi	4. 巻 504
2. 論文標題 Autoimmune sialadenitis is associated with the upregulation of chemokine/chemokine receptor pairs in T cell-specific TRAF6-deficient mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 245-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.08.162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sonoda Akira, Kamiyama Naganori, Ozaka Sotaro, Gendo Yoshiko, Ozaki Takashi, Hirose Haruna, Noguchi Kaori, Saechue Benjawan, Sachi Nozomi, Sakai Kumiko, Mizukami Kazuhiro, Hidano Shinya, Murakami Kazunari, Kobayashi Takashi	4. 巻 23
2. 論文標題 Oral administration of antibiotics results in fecal occult bleeding due to metabolic disorders and defective proliferation of the gut epithelial cell in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 1043-1055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12649	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hidano Shinya, Mizukami Kazuhiro, Yahiro Takaaki, Shirakami Kohei, Ito Hideyuki, Ozaka Sotaro, Ariki Shimpei, Saechue Benjawan, Dewayani Astri, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Goto Mizuki, Sonoda Akira, Ozaki Takashi, Sachi Nozomi, Kamiyama Naganori, Nishizono Akira, Murakami Kazunari, Kobayashi Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Analysis of the prevalence and species of Anisakis nematode in Sekisaba, Scomber japonicus caught in coastal waters off Saganoseki, Oita in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2020.859	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shinya Hidano, Kazuhiro Mizukami, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Kazunari Murakami and Takashi Kobayashi.
2. 発表標題 Analysis of pathogenic mechanism in Anisakis infection
3. 学会等名 第13回寄生虫感染免疫研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 淵野貴文、阿部寿徳、水上一弘、有田桂子、沖本忠義、兒玉雅明、村上和成
2. 発表標題 当院における最近の胃アニサキス症についての検討
3. 学会等名 第113回日本消化器病学会九州支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 淵野貴文、阿部寿徳、水上一弘、有田桂子、小森陽子、白水章夫、沖本忠義、兒玉雅明、村上和成
2. 発表標題 内視鏡的に摘除した大腸アニサキス症の一例
3. 学会等名 第107回日本消化器内視鏡学会九州支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上一弘、福田昌英、岡本和久、村上和成
2. 発表標題 当院における小腸細菌異常増殖患者の検討
3. 学会等名 第114回日本消化器病学会九州支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 都甲和美、園田光、下森雄太、濱本真理奈、佐藤祐斗、福田健介、岡本和久、小川竜、水上一弘、沖本忠義、村上和成
2. 発表標題 当院における炎症性腸疾患患者へのNUDT15遺伝子多型検査の状況
3. 学会等名 第114回日本消化器病学会九州支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小坂聡太郎、有木晋平、園田光、Benjawan Saechue、Astri Dewayani、神山長慶、飛彈野真也、水上一弘、村上和成、小林隆志
2. 発表標題 抗生物質や抗菌ペプチドによる腸内環境の変化が腸内細菌叢に及ぼす影響
3. 学会等名 第10回癌・炎症と抗酸化研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小坂聡太郎、有木晋平、園田光、佐知望美、後藤美月、曾我泰裕、広瀬晴奈、尾崎貴士、Benjawan Saechue、Astri Dewayani、神山長慶、飛彈野真也、水上一弘、村上和成、小林隆志
2. 発表標題 抗生物質起因性大腸炎モデルマウスに対する柴苓湯の保護効果の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平下有香、水上一弘、沖本忠義、兒玉雅明、白下英史、猪股雅史、守山正胤、村上和成
2. 発表標題 RAS/BRAF変異型進行大腸癌における早期反応性マーカーを用いたtrametinib感受性予測法の検討
3. 学会等名 第61回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田健介、岡本和久、小川竜、松成修、水上一弘、沖本忠義、兒玉雅明、村上和成
2. 発表標題 H. pylori除菌前後の血清学的、組織学的变化の検討
3. 学会等名 第61回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 KodamaM, Okimoto T, Mizukami K, Ogawa R, Okamoto K, Matsunari O, Fukuda K, Murakami K.
2. 発表標題 Differences of Gastric Cancer Characteristics Between With and Without Helicobacter pylori Eradication.
3. 学会等名 第84回米国消化器病学会議（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawahara Y, Kodama M, Mizukami K, Saito T, Hirashita Y, Sonoda A, Fukuda K, Matsunari O, Okamoto K, Ogawa R, Okimoto T, Murakami K.
2. 発表標題 Helicobacter pylori Infection Increases the Risk of Colorectal Polyps: A Large Scale Case-Control Study.
3. 学会等名 第84回米国消化器病学会議（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上一弘、勝田 真琴、広島 康久、淵野 貴文、坂本 佳菜子、平下 有香、園田 光、福田 健介、首藤 充孝、岡本 和久、小川 竜、沖本忠義、兒玉 雅明、瀧上 茂、藤岡 利生、村上 和成
2. 発表標題 Helicobacter pylori陽性機能性ディスぺプシアを対象としたアコチアミドの感染判定への影響と腹部症状改善効果の検討
3. 学会等名 第60回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	杉山 広 (Sugiyama Hiromu)  (00145822)	国立感染症研究所・寄生動物部・主任研究官  (82603)	
研究分担者	村上 和成 (Murakami Kazunari)  (00239485)	大分大学・医学部・教授  (17501)	
研究分担者	飛弾野 真也 (Hidano Shinya)  (80516386)	大分大学・医学部・助教  (17501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------