

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460518

研究課題名(和文) トキソカラ症の実態解明～多彩な臨床像とその病態に関連する諸因子の基礎的検討～

研究課題名(英文) Investigation of a comprehensive picture of toxocariasis.

## 研究代表者

中村 ふくみ (NAKAMURA-UCHIYAMA, Fukumi)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90295204

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：多彩な臨床像を呈するトキソカラ症について、臨床的特徴の解析とその病態に関連する因子について検討の検討を試みた。しかし感染源となる牛レバーの生食が禁止された影響か、症例の登録はわずか1例に留まった。一方でトキソカラ症類似の慢性好酸球性肺炎の患者を診断し、新たな鑑別疾患の存在が明らかとなった。また従来使用していたToxocaraCHEKが製造中止となり、同等あるいはそれ以上の感度と特異性を持つ診断キットの開発が必要となった。新たにToxocaralCAを試作し、ToxocaraCHEKと同等の感度を有していることを確認した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was investigation of a comprehensive picture of toxocariasis. Only one case enrolled in the study affected prohibition of raw beef distribution. We diagnosed chronic eosinophilic pneumonia mimicking toxocariasis. A patient having peripheral eosinophilia with multiple lung nodules should consider not only toxocariasis but also eosinophilic pneumonia. We developed new rapid diagnostic kit named ToxocaralCA instead of ToxocaraCHECK. ToxocaralCA had similar sensitivity of ToxocaraCHECK.

研究分野：寄生虫学

キーワード：トキソカラ症 内蔵型トキソカラ症 眼型トキソカラ症 免疫診断

1. 研究開始当初の背景

(1) トキソカラ症はイヌ回虫 *Toxocara canis* あるいはネコ回虫 *Toxocara cati* の幼虫がヒトに感染して引き起こされる人獣共通寄生虫症である。トキソカラ症の典型的な病型は内蔵型、神経型、眼型、潜在型の4つに分けられる。内蔵型では肝臓や肺臓に病変を形成し、肝がんや肺がんとの鑑別が問題になったり、網膜に寄生する眼型では失明の原因になったりする。また慢性蕁麻疹、痒疹、血球貪食症候群<sup>1)</sup>、好酸球性胆嚢炎<sup>2)</sup>、慢性関節リウマチ患者の病態増悪に関連した症例<sup>3)</sup>など日典型例の報告があり、トキソカラ幼虫の感染によって他疾患を修飾する病態が存在すると考えられる。このような多彩な臨床像を規定する病原体側、宿主側の因子について解明は進んでいない。

(2) 診断に関しては、人体に寄生する幼虫は体長300μm、体幅20μm程度の非常に小さく、病理組織学的に検出されることはまれであり、血清抗体検査が広く行われている。われわれはこれまでイヌ回虫幼虫排泄(トキソカラ LES)抗原を用いた迅速抗体検出キット(ToxocaraCHEK)を開発し<sup>4)</sup>、臨床の場でもその有用性が確認されてきた<sup>5)</sup>。ところが、3年前にこれまで製造を委託していた業者から製造中止の連絡があり、ToxocaraCHEKと同等あるいはそれ以上の感度と特異性を持つ診断キットの開発が必要となった。

2. 研究の目的

(1) トキソカラ症例を蓄積し、典型的病型および非典型的病型の頻度を明らかにすること、さらに病型別に臨床的解析(年齢、性別、食嗜好、基礎疾患の有無、検査所見、サイトカインプロファイルの解析など)を行い、病型別の差異について明らかにすることを目的とした。

(2) トキソカラ症の抗体検査のために、新しい迅速抗体検査試薬の開発とキット化を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) トキソカラ症例の蓄積

奈良県立医科大学附属病院・寄生虫症専門外来や感染制御内科外来を受診した患者のうち、血清学的にトキソカラ症と診断された者に研究の目的・検体の保存や解析方法・個人情報取り扱いなどの説明を行い、同意を得られた者を対象とする。また安定的に免疫診断を行うため、トキソカラ LES 抗原採取(3期幼虫飼養)の環境を整備した。

(2) 迅速抗体検査試薬の開発とキット化  
 デングウイルス抗体検査キットや同抗原検出キットの開発を手がけてきた株式会社バイオメディカル研究所(代表 宮崎功、横浜市)との間でイムノクロマト方式によるイヌ

回虫幼虫排泄物抗原に対する抗体検出キットの開発・作製に関する契約を結び、2015年8月6日と2016年2月17日に試作品(Toxocara Immuno-Chromatographic Assay; 以後、ToxocaraICA と略)の提供を受けた。ToxocaraICA 試作品と従来使用していたToxocaraCHEK との比較検討を行った。

4. 研究成果

(1)

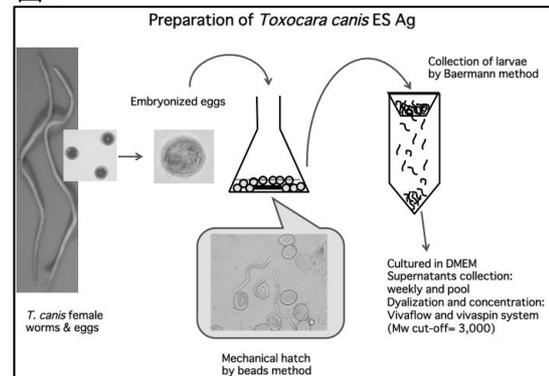
トキソカラ症例の蓄積

研究期間中、平成26年度に1例を登録するに留まった。平成24年に牛レバーの生食が禁止された影響が大きいと考えられた。一方で内蔵型トキソカラ症類似の肺病変と末梢血好酸球増多が見られた症例を、最終的に慢性好酸球性肺炎と診断した。慢性好酸球性肺炎で胸部CT上の多発性の小結節影を呈するものは稀であり、症例報告を作成中である。

トキソカラ LES 抗原採取環境の整備

図1に示す手順でLES採取が行えるよう使用物品を準備した。イヌ回虫成虫の入手が困難を極め、診断用抗原を安定的に確保することはできなかった。

図1



(2)

既陽性検体を用いた検討

イヌ回虫幼虫排泄物抗原を用いた ELISA 法ですでに抗体が陽性と判明している血清6検体、陰性血清3検体を用いて ToxocaraICA の取り扱いと特異性について検討した(図2)。

図2



検査手順：プラスチック小試験管に付属の展開液 50 $\mu$ L に検体 2 $\mu$ L (1:25) を加える。抗原を塗布した strip を小試験管に立て、希釈検体液が完全に吸収されるのを待つ(約 10 秒)。次に展開液を 100 $\mu$ L 追加して 15 分間放置する。抗体が陽性の場合、写真 1 のように陽性対照バンドの下にさらにもう 1 本のバンドが確認される。検体の添加から陽性バンドの確認までに要する時間は 20 分以内であった。

#### ToxocaraCHEK との比較

2015 年 6 月から 2016 年 3 月 30 日までに眼トキソカラ症あるいは内臓トキソカラ症を疑われ東京医科歯科大学に抗体検査の依頼のあった 8 例について、ToxocaraCHEK と ToxocaralCA を同時に実施して、結果の一致率を検討した(表 1)。その結果、両者の結果は完全に一致し、ToxocaralCA は ToxocaraCHEK と同等の感度を有していると考えられた。

表 1

		ToxocaraCHEK		
		陽性	陰性	計
ToxocaralCA	陽性	2	0	2
	陰性	0	6	6
	計	2	6	8

#### < 引用文献 >

Ahn T, Houki N, Ohkura Y, Masui K, Fukui H, Shimada K, Yamasaki H, Nakamura-Uchiyama F, Yoshikawa M. Serologically diagnosed toxocariasis with hemophagocytic syndrome in a patient with primary biliary cirrhosis. Intern Med. 2006; 31-2.

Yoshiji H, Yoshikawa M, Kaji K, Fukui H. Eosinophilic cholecystitis as a rare manifestation of visceral larva migrans. World J Gastroenterol 2007; 3:6119.

吉川正英, 石坂重昭, 大森佐和子, 中谷公彦, 西野俊彦, 吉本宗平, 椎木英夫, 斉藤能彦, 中村(内山)ふくみ, 名和行文. 慢性関節リウマチ(RA)類似の臨床経過中に下腿浮腫, 好酸球増多, 低蛋白血症が出現しイヌ回虫幼虫 ES 抗原に対して高い抗体価を示した 1 例. Clin Parasitol 2003; 74-76.

Akao N, ChuAlbert E, Tsukidate S, Fujita K. A rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-Toxocara larval ES antigens. Parasitology International. 1997; 46: 189-95.

田口千香子, 杉田直, 棚成都子, 浦野哲, 吉村浩一, 疋田直文, 山川良治, 高瀬博, 望月學, 赤尾信明. 眼トキソカラ症における ToxocaraCHEK の有用性. 臨床眼科 (0370-5579); 2000. p. 841-845.

#### (雑誌論文)(計 17 件)

Ochi S, Kato S, Nakamura-Uchiyama F, Ohnishi K, Saito Y. Pseudo-SLE by human immunodeficiency virus infection. Mod Rheumatol 査読あり. 2015; 1: 1-3.

Kobayashi T, Hayakawa K, Mawatari M, Itoh M, Akao N, Yotsu RR, Sugihara J, Takeshita N, Kutsuna S, Fujiya Y, Kanagawa S, Ohmagari N, Kato Y. Loiasis in a Japanese Traveler Returning from Central Africa. Tropical Medicine and Health. 査読あり. 2015; 43: 149-53.

Kong Q, Fan L, Zhang J, Akao N, Dong K, Lou D, Ding J, Tong Q, Zheng B, Chen R, Ohta N, Lu S. Molecular identification of *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae in marine fishes from the East China Sea and the Pacific coast of central Japan. International Journal of Food and Microbiology. 査読あり. 2015; 199: 1-7.

Ohnishi K, Sakamoto N, Kobayashi K, Iwabuchi S, Nakamura-Uchiyama F, Ajisawa A, Yamauchi Y, Takeshita N, Yamamoto Y, Tsunoda T, Yoshimura Y, Tachikawa N, Uehira T. Subjective adverse reactions to metronidazole in patients with amebiasis. Parasitol Int 査読あり. 2014; 63: 698-700.

Sakamoto N, Maeda T, Mikita K, Kato Y, Yanagisawa N, Sukanuma A, Imamura A, Nakamura-Uchiyama F, Miyahira Y, Kawana A, Ohnishi K, Ajisawa A. Clinical presentation and diagnosis of toxoplasmic encephalitis in Japan. Parasitol Int 査読あり. 2014; 63: 701-4.

Ohnishi K, Sakamoto N, Kobayashi K, Iwabuchi S, Nakamura-Uchiyama F. Therapeutic effect of praziquantel against taeniasis asiatica. Int J Infect Dis 査読あり. 2013; 17: e656-7.

Sakamoto N, Nakamura-Uchiyama F, Kobayashi K, Takasaki T, Ogasawara Y, Ando S, Iwabuchi S, Ohnishi K. Severe murine typhus with shock and acute respiratory failure in a Japanese traveler after returning from Thailand. J Travel Med 査読あり. 2013; 20: 50-3.

Nakamura-Uchiyama F, Kobayashi K, Ohnishi K. In response. Am J Trop Med Hyg 査読あり. 2013; 89: 1034.

Ohnishi K, Kobayashi K, Iwabuchi S, Nakamura-Uchiyama F. Treatment of Japanese patients with enteric fever using azithromycin and MIC levels for causative organisms. Southeast Asian J Trop Med Public Health 査読あり. 2013: 44; 109-13.

Kobayashi K, Nakamura-Uchiyama F, Nishiguchi T, Isoda K, Kokubo Y, Ando K, Katurahara M, Sako Y, Yanagida T, Ito A,

Iwabuchi S, Ohnishi K. Rare case of disseminated cysticercosis and taeniasis in a Japanese traveler after returning from India. *Am J Trop Med Hyg* 査読あり. 2013; 89: 58-62.

Anyan WK, Seki T, Kumagai T, Obata-Ninomiya K, Furushima-Shimogawara R, Kwansa-Bentum B, Akao N, Bosompem KM, Boakye DA, Wilson MD, Karasuyama H, Ohta N. Basophil depletion downregulates *Schistosoma mansoni* egg-induced granuloma formation. *Parasitology International*. 査読あり. 2013; 62: 508-13.

宇野健司, 古西満, 春田匡平, 青井博志, 谷口美苗, 笠原敬, 中村(内山) ぶんくみ, 小川拓, 山田豊, 今井雄一郎, 梶田明裕, 今北菜津子, 米川真輔, 平田一記, 三笠桂一. 抗 HIV 治療中の HIV 感染者における甲状腺機能異常. *日本エイズ学会誌*. 査読あり. 2016; 18: 51-57.

吉本 昭, 中村(内山) ぶんくみ, 佐藤公俊, 福盛達也, 山田 豊, 菱矢直邦, 白石直敬, 小川 拓, 宇野健司, 笠原 敬, 前田光一, 古西 満, 吉川正英, 三笠桂一. 温熱療法が有効であった播種性皮膚 *Mycobacterium chelonae* 感染症の1例. *感染症誌*. 査読あり. 2015; 89: 410-415.

山崎 潤, 中嶋知子, 佐藤雄久, 銭谷慕子, 井上佑一, 中田顕子, 中村(内山) ぶんくみ, 大西健児, 井下聖司. 不明熱・意識障害を呈しクリプトコッカス髄膜炎と診断した血液透析患者の1例. *透析会誌*. 査読あり. 2014; 47: 151-157.

稲坂優, 常盤俊大, 赤尾信明, 臼田俊和. 浮腫性紅斑を呈した皮膚顎口虫症. *日本皮膚科学会雑誌*. 査読あり. 2014; 124: 840.

松尾典子, 谷口裕子, 大滝倫子, 赤尾信明. 両下腿に多発した creeping eruption の1例. *日本皮膚科学会雑誌*. 査読あり. 2014; 124: 1790.

安部真由, 奥村陽子, 長野功, 赤尾信明, 清島真理子. 剛棘顎口虫による Creeping Disease の1例. *皮膚科の臨床*. 査読あり. 2014; 56: 269-74.

#### [学会発表](計8件)

赤尾信明, 石井美里, 太田伸生. 遺伝的背景の異なる広東住血線虫分離株における非好適宿主脳内虫体の崩壊過程の比較. 第85回日本寄生虫学会大会; 2016; 宮崎市民プラザ(宮崎県宮崎市). 中村(内山) ぶんくみ, 吉川正英, 三笠桂一, 加藤康幸, 古賀道子, 木村幹男, 丸山治彦. 最近の日本における肝蛭症の臨床的検討. 第89回日本感染症学会

学術講演会; 2015; 京都国際会議場(京都府京都市).

中村(内山) ぶんくみ, 吉川正英, 三笠桂一, 加藤康幸, 古賀道子, 木村幹男, 丸山治彦. 抗マラリア薬アールメター・ルメファントリン合剤の有効性と安全性の検討. 第26回日本臨床寄生虫学会大会; 2015; 栃木県総合文化センター(栃木県宇都宮市).

赤尾信明, 石井美里, 太田伸生. 非好適宿主における広東住血線虫の崩壊過程に関する研究. 第74回日本寄生虫学会東日本支部大会; 2015; LEN貸会議室御茶ノ水ニコライ堂前(東京都文京区).

赤尾信明, 太田伸生. 遺伝的背景の異なる広東住血線虫分離株に対するスナネズミの感染感受性についての検討. 第84回日本寄生虫学会大会; 2015; 杏林大学医学部三鷹キャンパス(東京都三鷹市).

中村(内山) ぶんくみ, 赤尾信明, 王寺幸輝, 三笠桂一, 吉川正英. 肺トキソカラ症類似の胸部CT所見が見られた慢性好酸球性肺炎の1例. 第70回日本寄生虫学会西日本支部大会; 2014; 兵庫医療大学(兵庫県神戸市).

赤尾信明, 村上舞, 太田伸生. 広東住血線虫感染によって惹起されるマウス髄膜炎の炎症性免疫応答. 第74回日本寄生虫学会東日本支部大会; 2014; 自治医科大学(栃木県下野市); 2014.

赤尾信明, 石井明, 常盤俊大, 太田伸生. 広東住血線虫感染マウスの重症度を反映する brain injury biomarkers の探索. 第83回日本寄生虫学会; 2014; 愛媛大学城北キャンパス(愛媛県松山市); 2014.

#### [図書](計11件)

赤尾信明. 原虫感染症の検査. 感染症専門医テキスト(第2版). 東京; 2016. 1201頁

赤尾信明. 寄生虫感染症の検査. 感染症専門医テキスト(第2版). 東京: 南江堂; 2016. 1021頁

赤尾信明. 寄生虫症. Qシリーズ 新微生物学. 東京: 日本医事新報社; 2016.

中村(内山) ぶんくみ. 蠕虫による感染症(幼虫移行症を含む)の検査・診断. 臨床検査 東京: 医学書院; 2015. 956-962頁.

中村(内山) ぶんくみ. 国内におけるトキソカラ症の実態. モダンメディア. 東京: 栄研化学; 2015. 18-26頁.

中村(内山) ぶんくみ. 肺寄生虫症. 新呼吸器専門医テキスト. 東京: 南光堂; 2015. 311-313頁.

中村(内山) ぶんくみ. 寄生虫感染による胸膜滲出液. 胸膜疾患のすべて(改訂第3版). 東京: 診断と治療社; 2015.

271-278 頁.

赤尾信明. 肝蛭、*Toxocara* 属、広東住血線虫、コスタリカ住血線虫、旋尾線虫、東洋眼虫、浮遊法. 南山堂医学大辞典. 東京: 南山堂; 2015. 3101 頁

中村(内山)ふくみ, 吉川正英. 回虫症. 日本臨床別冊 新領域別症候群シリーズ 24. 大阪: 日本臨床社; 2013. 681-683 頁.

吉川正英, 中村(内山)ふくみ. イソスポーラ症. 日本臨床別冊 新領域別症候群シリーズ 24 大阪: 日本臨床社; 2013. 670-673 頁.

吉川正英, 中村(内山)ふくみ. 旋尾線虫症. 日本臨床別冊 新領域別症候群シリーズ 24. 大阪: 日本臨床社; 2013. 684-687 頁.

〔産業財産権〕

○出願状況(なし)

○取得状況(なし)

〔その他〕

ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

中村(内山)ふくみ

(NAKAMURA-UCHIYAMA, Fukumi)

奈良県立医科大学・病原体・感染防御医学講座・准教授

研究者番号: 90295204

### (2)研究分担者

赤尾信明 (AKAO, Nobuaki)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号: 00126559