

成熟マウスに対する Manson 裂頭条虫 擬充尾虫の成長促進作用

——擬充尾虫感染数と成長促進作用の関係——

塩 飽 邦 憲 平 井 和 光 鳥 居 本 美

(昭和57年6月23日 受領)

Key words: *Spirometra erinacei*, mice, body weight, organ weight, growth factor

緒 言

Spirometra mansonioides 擬充尾虫のマウスに対する体重増加作用が Mueller (1963) によつて発見されて以来, この擬充尾虫の成長促進作用について数多くの報告がなされている. *S. mansonioides* 擬充尾虫感染が下垂体摘除ラットの成長を促進させ (Mueller, 1968; 1970; 1972; Steelman *et al.*, 1970), 血中 somatomedin 濃度を上昇させ (Garland *et al.*, 1971), そして擬充尾虫の培養液中にウサギ肝細胞膜の成長ホルモンレセプターに対して成長ホルモンと競合する物質が存在する (Tsushima *et al.*, 1974) ということから, *S. mansonioides* 擬充尾虫は宿主内において成長ホルモン様物質を分泌していることが示唆されている (Stelman *et al.*, 1971; Mueller, 1974).

ところで, 日本では *S. mansonioides* の分布は確認されておらず, 近縁種と考えられる Manson 裂頭条虫 *S. erinacei* (Rudolphi, 1819) が分布している. Hirai *et al.* (1978) は Manson 裂頭条虫擬充尾虫のマウスに対する体重増加作用を最初に報告した. その後, Shiwaku and Hirai (1982) はこの擬充尾虫感染が, 幼若な雄マウスの主として骨格筋, 肝臓及び骨端軟骨の細胞増殖によつて体重と頭胴長を増加させることを明らかにした. しかし, *S. mansonioides* 擬充尾虫感染で認められる白色脂肪組織重量の増加は, Manson 裂頭条虫擬充尾虫では認められず, 両者の作用に相違点が存在する可能性を示唆した.

そこで, Manson 裂頭条虫擬充尾虫の成長促進の作用機序の解明を今一步進める目的で, 成長のほぼ停止した

成熟マウスにおける擬充尾虫感染数と成長促進作用との関係について, 体重, 頭胴長, 諸臓器重量及び骨端軟骨幅の変動を指標に検討を行なつた.

材料及び実験方法

Manson 裂頭条虫擬充尾虫は, 愛媛県北宇和郡広見町で採取したシマヘビ *Elaphe quadrigata* とヤマカガシ *Rabdophis tigrinus* の皮下より取り出し, ゴールデンハムスターまたはマウスの皮下に感染させておいたものを使用した.

10週齢の ICR 系雄マウスは, 日本クレア 株式会社 (東京) より購入した. マウスは5匹ずつをおが屑をしいたケージに入れ, ペレット状のマウス用飼料 (MF, オリエンタル酵母株式会社) と水を自由に摂取させて飼育した.

実験 I

10週齢の ICR 系雄マウスの背部皮下に10頭節の擬充尾虫を1,000U/ml のペニシリンGと0.5mg/ml のストレプトマイシンを含む生理的食塩水とともに注入し感染させた. 対照群には抗生物質添加生理的食塩水のみを皮下に注入した. 感染前, 感染1週後, 2週後, 3週後, 4週後, 5週後, 6週後に実験群と対照群をそれぞれ5匹ずつ, エーテル麻醉下に体重及び頭胴長を測定し, その後断頭によつて屠殺した. そして速やかに取り出した擬充尾虫, 両前脛骨筋, 肝臓, 両腎臓, 脾臓, 両副睾丸脂肪組織及び両睾丸の湿重量を測定した.

実験 II

10週齢の ICR 系雄マウスを7匹ずつ6群に分け, 各群のマウスに擬充尾虫をそれぞれ1, 5, 10, 20, 30頭節ずつ皮下に注入して感染させ, 抗生物質添加生理的食

塩水のみ皮下に注入した群を対照群として観察した。毎週体重を測定し、感染6週後にエーテル麻醉下に体重及び頭胴長を測定した後、断頭によつて屠殺した。そして速やかに取り出した両前脛骨筋、肝臓、脾臓、両副睾丸脂肪組織、脳、心臓、両腎臓、両睾丸、脳下垂体の湿重量を測定した。また、脛骨を取り出し、前報 (Shiwaku and Hirai, 1982) の方法によつて、脛骨近位端の軟骨幅を測定した。

以上の測定値の検定には、Student's *t*-test を用いた。

結 果

実験 I

擬充尾虫重量とマウスの体重、頭胴長及び諸臓器の重量を経時的に、感染前、感染1、2、3、4、5、6週後に測定した (Fig.1)。1頭節の擬充尾虫重量は感染6週後に13.2mgとなり、1匹のマウスに感染させた10

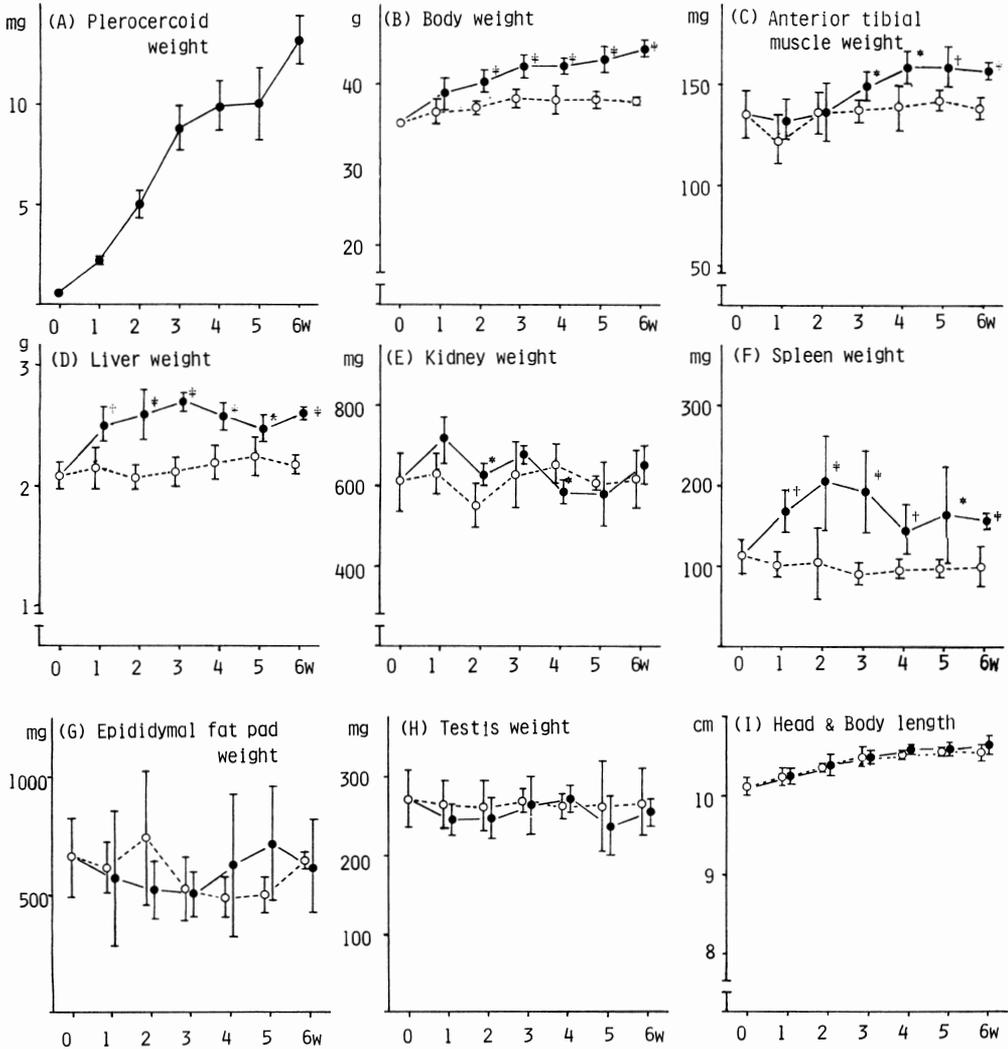


Fig. 1 Effects of plerocercoid infection on organ weights in mice
 ○---○ Control group ●—● Experimental group
 Vertical lines represent standard deviations.

The significance of differences between means for experimental and control groups was tested by Student's *t*-test.

* $P < 0.05$ † $P < 0.01$ ‡ $P < 0.001$

Table 1 The mean and S.D. of body weight gain at period in weeks after infection

Group	Weight gain (g)					
	1 w	2 w	3 w	4 w	5 w	6 w
Control	1.8±1.1	2.6±1.7	3.3±1.6	3.6±1.6	3.8±1.5	4.4±1.5
1 plerocercoid	1.7±0.9	3.1±1.4	4.4±1.3	5.1±1.6	5.3±1.8	6.0±1.8*
5 plerocercoids	2.6±0.8	5.0±1.1†	6.4±1.5‡	7.2±1.7‡	8.1±2.2‡	8.8±1.8‡
10 plerocercoids	1.8±1.1	4.0±1.7	6.9±1.8‡	7.6±2.2‡	8.8±1.8‡	9.3±2.4‡
20 plerocercoids	2.4±0.5	5.9±1.0‡	8.6±1.0‡	9.6±1.6‡	10.6±1.5‡	11.4±1.5‡
30 plerocercoids	3.3±1.7*	7.0±2.1‡	9.5±2.1‡	11.0±2.1‡	12.1±2.0‡	13.0±1.9‡

The significance of the differences between the means for experimental groups and control group was tested using Student's *t*-test. * P<0.05 † P<0.01 ‡ P<0.001

頭節では132mgの重量となることを意味する。これは、実験群と対照群の体重差6.3gの2.1%に相当していた (Fig. 1A)。対照群の体重は、実験期間中3.0gしか増加しなかったが、実験群の体重は感染2週後から対照群に比較して有意に増加し (P<0.001)、感染6週後には対照群より6.3g増加していた (Fig. 1B)。骨格筋である前脛骨筋の重量については、実験期間中に対照群の重量増加は認められなかったが、実験群は対照群より感染3週後から有意に増加した (P<0.05) (Fig. 1C)。肝臓重量についても、対照群の有意な変動は認められなかったが、実験群は感染1週後より有意な増加が認められた (P<0.001) (Fig. 1D)。腎臓重量は、実験群と対照群の間に有意な変化は認められなかった (Fig. 1E)。脾臓重量は、対照群では実験期間中の有意な変動は認められず、実験群では感染1週後より有意な増加が認められた (P<0.01)。しかし、感染2週後の値を頂点として、感染期間の経過とともに重量が減少した (Fig. 1F)。白色脂肪組織である副睾丸脂肪組織重量は、実験期間を通じて実験群と対照群の間に有意な差は認められなかった (Fig. 1G)。睾丸重量も同様に両群間に有意な差は認められなかった (Fig. 1H)。頭胴長では、対照群は実験期間中に0.4cmしか増加しなかった。実験群と対照群の間に有意な差は認められなかったが、感染6週後に実験群の頭胴長が対照群より0.1cmだけ増加していた (Fig. 1I)。

実験II

感染擬充尾虫数と宿主の成長促進作用との関係を明らかにするために、対照群と1, 5, 10, 20, 30頭節の擬充尾虫を感染させた各群の体重、頭胴長、諸臓器重量および骨端軟骨幅を感染6週後に観察した。対照群の体重増加は6週間で4.4gであったが、1頭節感染群で6.0g

(P<0.05)、5頭節感染群で8.8g (P<0.001)、10頭節感染群で9.3g (P<0.001)、20頭節感染群で11.4g (P<0.001)、30頭節感染群で13.0g (P<0.001)と対照群に比較して有意な体重増加が認められた (Table 1, Fig. 2A)。また、30頭節感染群では感染1週後より、5, 20頭節感染群では感染2週後より、10頭節感染群では感染3週後より、1頭節感染群では感染6週後のみ有意な体重増加が認められた。そして、感染3週後より感染させた擬充尾虫数と体重増加量との間には量反応関係が認められた。

感染6週後の対照群と各感染群の体重、頭胴長、骨端軟骨幅と各臓器重量を Fig. 2 に示した。頭胴長と骨端軟骨幅については、対照群と各感染群との間に有意な差は認めなかったが、感染群は対照群よりやや増加していた (Fig. 2B, C)。前脛骨筋重量は対照群に比較して、10, 20, 30頭節感染群で有意な増加を認めた (P<0.01) (Fig. 2D)。肝臓重量は、対照群に対して5, 20, 30頭節感染群で有意に増加し (P<0.001)、1, 10頭節感染群で有意差はないが増加していた (Fig. 2E)。脾臓重量は、20, 30頭節感染群で有意に増加し (P<0.001) 1, 5, 10頭節感染群は対照群に比較して有意差はないが増加していた (Fig. 2F)。副睾丸脂肪組織、脳、心臓及び脳下垂体の重量は、対照群と各感染群で有意な差を認めなかった (Fig. 2G, H, I, L)。腎臓重量は、20頭節感染群だけが、対照群より有意な増加を認めたが (P<0.05)、他の感染群では有意差は認められなかった (Fig. 2J)。睾丸重量は、5, 10, 20, 30頭節感染群で対照群より有意な減少が認められたが (P<0.05)、感染擬充尾虫数との間に量反応関係は認められなかった (Fig. 2K)。したがって、今回測定した項目の中で体重、骨格筋、肝臓及び脾臓の重量と感染擬充尾虫数との間に量反応関係が成立した。

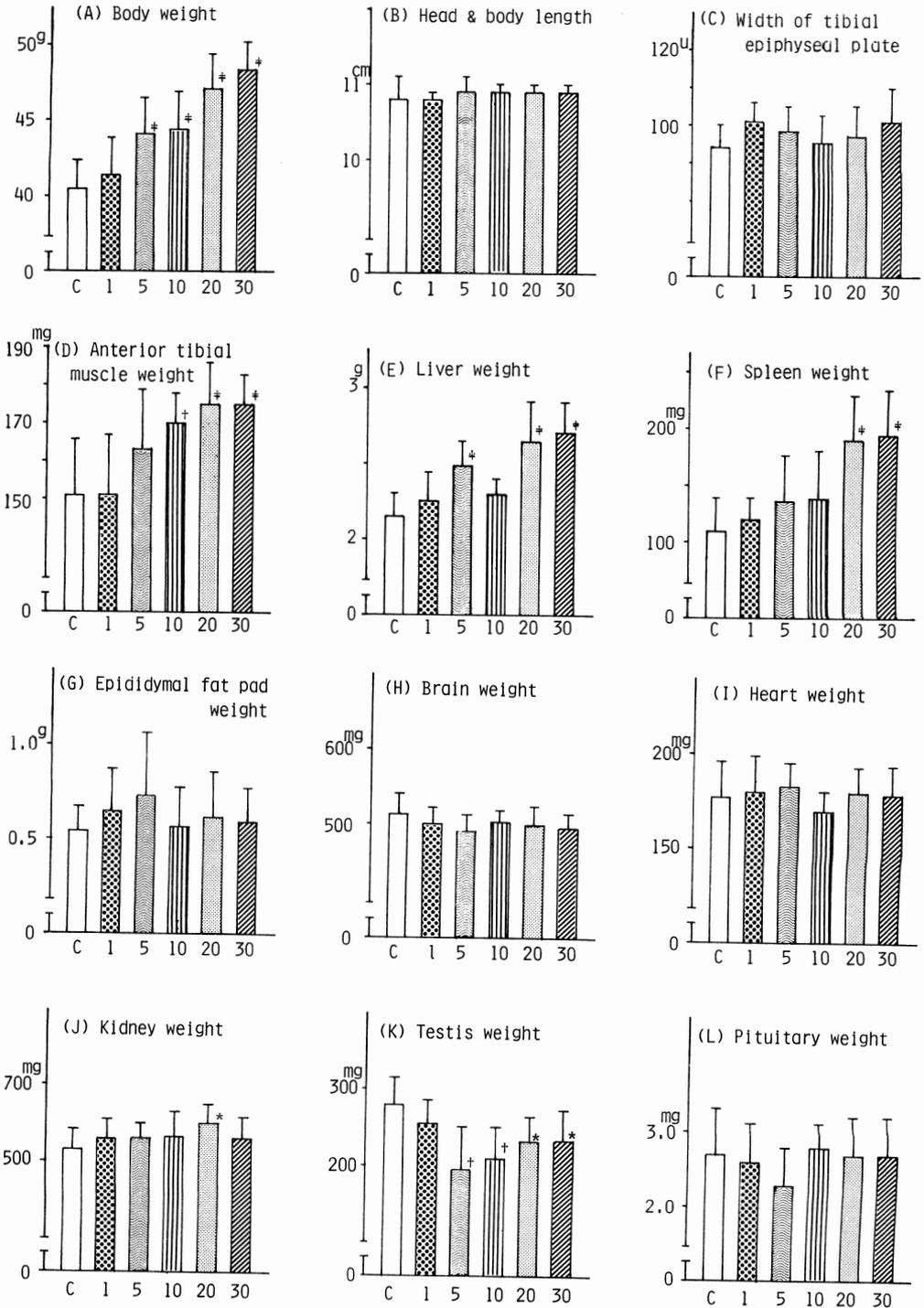


Fig. 2 Effects of varying number of plerocercoid infection on organ weight in mice. C: Control 1:1 plerocercoid 5:5 plerocercoids 10:10 plerocercoids 20:20 plerocercoids 30:30 plerocercoids, Vertical lines represent standard deviations. The significance of differences between means for experimental groups and control group was tested by Student's *t*-test. * $P < 0.05$ † $P < 0.01$ ‡ $P < 0.001$

考 察

近年、細胞培養法が癌や免疫など医学の研究方法として活用されるにつれて、細胞の増殖に関与する因子についての研究も盛んに進められている。特に、微量で強力な細胞増殖作用を発現する線維芽細胞増殖因子などの成長因子は多くの研究者の関心を集めている。また、成長因子が寄生虫によつて分泌されていることを示唆する報告もなされている (Fisher, 1963)。著者らは Manson 裂頭条虫擬充尾虫の宿主に対する成長促進作用に着目し、幼若マウスに対するこの擬充尾虫の成長促進の作用機構について研究を進めてきた (Hirai *et al.*, 1978; Shiwaku and Hirai, 1982)。この研究では、成熟マウスに対する擬充尾虫感染数と成長促進作用の関係について検討を行なった。

マウスの発育は、生後 6~7 週までは急速であるが、8 週以降は鈍化し成熟期に達することが知られている。そこで、成長のほぼ停止した 10 週齢の成熟マウスに 10 頭節の擬充尾虫を感染させ、経時的に体重、頭胴長及び臓器重量を測定した。今回得られた実験結果と既報 (Shiwaku and Hirai, 1982) の 4 週齢の幼若マウスに対する作用とを比較すると、感染 6 週後の実験群の対照群に対する体重増加量は、10 週齢マウスでは 6.3g であり、4 週齢マウスの 4.5g に比較して体重獲得が多かつた。感染 6 週後の対照群の体重に対する実験群の体重の比率も、10 週齢マウスで 116.5% と 4 週齢マウスの 111.7% よりも増加していた。このように幼若マウスよりも成熟マウスに対する成長促進作用が強い傾向は *S. mansonioides* 擬充尾虫でも認められている (Mueller, 1965)。臓器重量の変化については、4 週齢マウスの場合と同様に実験群は対照群よりも、前脛骨筋、肝臓及び脾臓の重量増加が認められた。これらの重量増加の認められた臓器は、成熟期以降も分裂能を保持していることが報告されている (Winik and Noble, 1965; Cheek *et al.*, 1968; Helwey-Larson, 1952)。しかも、擬充尾虫感染によつて重量増加を示す臓器では、重量に正比例して臓器の DNA 量が増加すること (Shiwaku and Hirai, 1982) から 10 週齢マウスの骨格筋、肝臓及び脾臓に対して擬充尾虫が細胞分裂を促進していることが示唆された。一方、4 週齢マウスで認められた実験群の頭胴長及び骨端軟骨幅の増加は、10 週齢マウスでは認められなかつた。成熟マウスにおいて擬充尾虫による骨格の成長促進作用が発現しなかつたのは、生理的骨端軟骨閉鎖が生じ (Winik and Noble, 1965)、骨端軟骨の反応性が低下したためと考え

られる。

次に、Manson 裂頭条虫擬充尾虫の感染数を変化させて成熟マウスに対する成長促進作用を観察したところ、宿主の体重増加は感染擬充尾虫数と量反応関係を示した。そして、1 頭節の感染によつても有意な体重増加が認められ、30 頭節感染で最も体重増加が顕著であつた。一方、Mueller (1965) の報告によると、約 20g の体重のマウスに 1~24 頭節の *S. mansonioides* 擬充尾虫を感染させた結果、12 頭節感染群の体重増加が最も顕著で、感染 10 週後では対照群より約 6g 増加し、24 頭節感染群では 12 頭節感染群より体重増加量は少なかつたとしている。この報告と今回の実験結果から、Manson 裂頭条虫擬充尾虫と *S. mansonioides* 擬充尾虫によるマウスの体重増加作用を比較すると、両者の約 10 頭節の感染による体重増加作用は同程度であると推定されるが、Manson 裂頭条虫擬充尾虫は *S. mansonioides* 擬充尾虫と異なり、20 頭節以上の多数感染によつても宿主の体重はより増加することが認められた。

また、Manson 裂頭条虫擬充尾虫感染の場合にはその感染数と宿主の骨格筋、肝臓及び脾臓の重量との間に量反応関係のあることが示されたことから、この擬充尾虫による宿主の体重増加は骨格筋、肝臓及び脾臓の重量増加が主な要因として関与していることがより明らかになつた。辜丸重量は、4 週齢マウスと同様に擬充尾虫感染マウスにおいて減少が認められたが、その減少と感染数との間に量反応関係は成立せず、経時的に辜丸重量を測定した実験 I では減少が認められなかつたことから、辜丸重量減少作用は不安定であり、擬充尾虫の直接作用ではなく脳下垂体の性腺刺激ホルモンなどを介した間接的な作用によることが推定される。また、*S. mansonioides* 擬充尾虫は、新生仔 hydrocortisone 処理ラットの脳の成長を促進させ (Noguchi *et al.*, 1980)、ラットの脳下垂体重量を減少させる (Garland and Daughaday, 1972) ことが報告されているが、今回の実験では、脳と脳下垂体の重量変化は認められなかつた。Manson 裂頭条虫擬充尾虫の脳と脳下垂体に対する作用については、今回の研究では *S. mansonioides* 擬充尾虫の場合と使用した動物及び実験期間が異なつているので、今後の詳細な研究が必要であらう。

以上のように、Manson 裂頭条虫擬充尾虫は、成熟マウスに対しては骨格の成長を促進しなかつたが、幼若マウスに対してと同様に、骨格筋、肝臓及び脾臓の成長を促進することが明らかになつた。また、擬充尾虫を多数感染させたマウスが、少数感染マウスよりも強い成長促

進を引き起こしたことは、成長促進物質をこの擬充尾虫が分泌しているという仮説 (Shiwaku and Hirai, 1982) を支持している。そして、この擬充尾虫が分泌していると考えられる成長促進物質は、骨端軟骨の細胞増殖を引き起こすこと (Shiwaku and Hirai, 1982)、擬充尾虫の培養液中にラット遊離脂肪細胞に対して脂肪動員作用を持つ物質が存在する (Hirai *et al.*, 1978) ことから、*S. mansonioides* 擬充尾虫と同様に、成長ホルモン様物質の可能性が示唆された。

ま と め

マンソン裂頭条虫擬充尾虫の10頭節を10週齢の ICR 系雄マウスの皮下に感染させて、体重、頭胴長、擬充尾虫および諸臓器の湿重量を6週間経時的に測定した。実験群は対照群と比較して、感染6週後で6.3gの体重増加が認められた。実験群の体重増加量に占める擬充尾虫重量は2.1%であり、実験群の体重増加には主要因として骨格筋、肝臓と脾臓の重量増加が関与すると考えられた。骨端軟骨幅の増加は、10週齢マウスでは観察されなかったが、これは生理的骨端軟骨閉鎖による軟骨細胞の反応性低下によると考えられる。

感染擬充尾虫数を1, 5, 10, 20, 30頭節と変化させて宿主の反応を観察したところ、体重、前脛骨筋、肝臓及び脾臓の重量増加が感染擬充尾虫数と量反応関係を示した。副睾丸脂肪組織、腎臓、心臓、脳、脳下垂体の重量と頭胴長、骨端軟骨幅は各感染群と対照群で有意差は認められなかった。睾丸重量は、感染群が対照群より減少していたが、感染数との間に量反応関係は認められなかった。したがって、マンソン裂頭条虫擬充尾虫は、生理活性物質を分泌することによって成長促進作用を宿主に及ぼしていると推測される。

謝 辞

稿を終るにあたり、御校閲を頂いた愛媛大学医学部寄生虫学教室 西田 弘教授、有益な御助言を頂いた第2生化学教室 奥田拓道教授に深謝いたします。なお、本研究の要旨は第37回日本寄生虫学会西日本支部大会(1981)において発表した。

文 献

- 1) Cheek, D. B., Brasel, J. A. and Graystone, J. E. (1968) : Muscle cell growth in rodents : sex difference and the role of hormones. Human growth. Lea & Febiger, Philadelphia, 306-325.
- 2) Fisher, F. M. (1963) : Production of host en-

- ocrine substances by parasites. Ann. N. Y. Acad. Sci., 113, 63-73.
- 3) Garland, J. T. and Daughaday, W. H. (1972) : Feedback inhibition of pituitary growth hormone in rats infected with *Spirometra mansonioides*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139, 497-499.
- 4) Garland, J. T., Ruegamer, W. R. and Daughaday, W. H. (1971) : Induction of sulfation factor activity by infection of hypophysectomized rats with *Spirometra mansonioides*. Endocrinology, 88, 924-927.
- 5) Helweg-Larsen, H. F. (1952) : Nuclear class series. Acta Path. Microbiol. Scand., (Supp.) 92, 11-139.
- 6) Hirai, K., Nishida, H., Shiwaku, K. and Okuda, H. (1978) : Studies of the plerocercoid growth factor of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) with special reference to the effect on lipid mobilization *in vitro*. Jap. J. Parasit., 27, 527-533.
- 7) Mueller, J. F. (1963) : Parasite-induced weight gain in mice. Ann. N. Y. Acad. Sci., 133, 216-233.
- 8) Mueller, J. F. (1965) : Further studies on parasitic obesity in mice, deer mice, and hamsters. J. Parasitol., 51, 523-531.
- 9) Mueller, J. F. (1968) : Growth stimulating effect of experimental sparganosis in thyroidectomized and hypophysectomized rats, and comparative activity of different species of *Spirometra*. J. Parasitol., 54, 795-801.
- 10) Mueller, J. F. (1970) : Quantitative relationship between stimulus and response in the growth-promoting effect of *Spirometra mansonioides* spargana on the hypophysectomized rat. J. Parasitol., 56, 840-842.
- 11) Mueller, J. F. (1972) : Further studies on sparganum growth factor in the hypophysectomized rat : response to large numbers of spargana. J. Parasitol., 58, 438-443.
- 12) Mueller, J. F. (1974) : The biology of *Spirometra*. J. Parasitol., 61, 3-14.
- 13) Noguchi, T., Sugisaki, T., Watanabe, M., Tsukada, Y. and Tanabe, M. (1980) : Brain development and growth factors. Growth and growth factors. 1st ed. University of Tokyo Press, Tokyo. 203-230.
- 14) Shiwaku, K. and Hirai, K. (1982) : Growth-promoting effect of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) plerocercoids in young mice. Jap. J. Parasit., 31, 183-193.
- 15) Steelman, S. L., Glitzer, M. S., Ostlind, D. A. and Mueller, J. F. (1971) : Biological prop-

- erties of the growth hormonelike factor from the plerocercoid of *Spirometra mansonioides*. Recent Prog. Horm. Res., 27, 97-120.
- 16) Steelman, S. L., Morgan, E. R., Cuccaro, A. J. and Glitzer, M. S. (1970) : Growth hormone-like activity in hypophysectomized rats implanted with *Spirometra mansonioides* spargana. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 133, 269-273.
- 17) Tsushima, T., Friesen, H. G., Chang, T. W. and Raben, M. S. (1974) : Identification of sparganum growth factor by a radioreceptor assay for growth hormone. Biochem. Biophys. Res. Commun, 59, 1062-1068.
- 18) Winik, M. and Noble, A. (1965) : Quantitative changes in DNA, RNA, and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. Develop. Biol., 12, 451-466.

Abstract

GROWTH-PROMOTING EFFECT OF *SPIROMETRA ERINACEI*
(RUDOLPHI, 1819) PLEROCERCOIDS IN MATURE MICE
— RELATIONSHIP BETWEEN NUMBER OF INFECTED PLEROCERCOIDS
AND GROWTH-PROMOTING EFFECT —

KUNINORI SHIWAKU, KAZUMITSU HIRAI AND MOTOMI TORII
(Department of Parasitology, Ehime University School of Medicine,
Ehime 791-02, Japan)

Each intact male ICR mouse at 10 weeks of age was infected with 10 scoleces of *S. erinacei* plerocercoids collected in Ehime Prefecture, Japan, to investigate the mechanism of their effect on promoting growth. The body weight, weights of the main organs and head-body length were measured with time after infection. On week 6 after infection the average weight-gain of infected mice was 6.3 g more than that of control mice. Thus the growth-promoting effect in mature mice is stronger than that in young mice. After the same period of time, the average weight of plerocercoids was 132 mg, and was equivalent to only 2.1 % of the increased weight-gain of infected mice. The increase in body weight of infected mice was mainly due to increase in muscle, liver and spleen weights. The increase in head-body length and width of tibial epiphyseal plate, as observed in young mice infected with the plerocercoids, was not shown in infected mature mice. This reason is probably due to the low response of cartilage cells owing to physiological epiphyseal-closure.

Subsequently, intact male ICR mice at 10 weeks of age were infected with 1, 5, 10, 20 or 30 plerocercoids. The body, anterior tibial muscle, liver and spleen weights increased with number of infected plerocercoids. But, there was no increase in the epididymal fat pad, kidney, heart, brain and pituitary weights, head-body length and width of tibial epiphyseal plate of infected mice. The decrease in testis weight of infected mice showed no dose response for number of infected plerocercoids. This observation suggests that *S. erinacei* plerocercoids secrete a substance which promotes the growth of their hosts.