

マンソン裂頭条虫擬充尾虫のプロピールチオウラシル 処理マウスに対する成長促進作用

平井和光 坪井敬文 鳥居本美

(昭和58年8月29日 受領)

Key words: *Spirometra erinacei*, plerocercoid, propylthiouracil-treated mice, growth factor

緒言

マンソン裂頭条虫 *Spirometra erinacei* の擬充尾虫を感染させると、実験的中间宿主である ICR 系幼若および成熟マウス、チャイニーズハムスターのみならずスネル侏儒マウスの成長も促進することが明らかにされた (Hirai *et al.*, 1978; Shiwaku and Hirai, 1982; 塩飽ら, 1982; Hirai *et al.*, 1983; Shiwaku *et al.*, 1983). この成長促進作用は、ICR 系雄マウスにおいて主として肝臓、骨格筋および骨端軟骨の細胞増殖により体重、頭胴長が増加することに起因することが示された (Shiwaku and Hirai, 1982). また、脳下垂体前葉の成長ホルモン、プロラクチン、甲状腺刺激ホルモン産生細胞が先天的に欠損するスネル侏儒マウスに対しても ICR 系マウスと同様に頭胴長の伸長、体重、肝臓、骨格筋などの重量増加を引き起こすことからマンソン裂頭条虫擬充尾虫は、成長ホルモン様物質またはソマトメジン様物質を分泌することが示唆された (Shiwaku *et al.*, 1983).

一方、Hirai *et al.* (1978) は、この擬充尾虫感染がプロピールチオウラシル投与により甲状腺ホルモン合成を抑制された ICR 系マウスの体重増加を促進することについて報告したが、この課題をより詳細に観察し、甲状腺ホルモンとこの擬充尾虫が持つ成長促進作用との関連性について検討するために次の実験を行なった。

材料および方法

マンソン裂頭条虫擬充尾虫は、愛媛県広見町にて捕獲したヤマカガシ *Rhabdophis tigrinus*、シマヘビ *Elaphe quadrivirgata* より採取し、ゴールデンハムスターに感染させておいた虫体を用いた。

実験に供したマウスは、ICR 系の4週齢雄マウスで愛媛大学医学部寄生虫学教室

日本クレア株式会社(大阪)より購入したものである。マウスは、5頭ずつケージに入れ、ドラフト式飼育機内にて室温約25C に調整し、12時間の明暗サイクルでペレット状マウス飼料(オリエンタル酵母株式会社)と飲料水を自由に摂取させて飼育した。使用した飲料水は、蒸留水に6-n-propyl-2-thiouracil (Sigma Co. 以下 PTU と略記)を200mg/l の割合で溶解したものである。

実験群マウスには、背部皮下に10頭節の擬充尾虫を1000U/ml のペニシリンG (萬有製薬株式会社)と0.5 mg/ml のストレプトマイシン (明治製薬株式会社)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。感染後7日ごとに両群の体重を計測し、感染14日後および42日後に1夜絶食にして両群のマウスを断頭により屠殺して頭胴長、体重、両側の前脛骨筋、腎臓、辜丸、副辜丸脂肪組織と肝臓、心臓、脾臓、脳下垂体、脳、感染させた擬充尾虫を取り出し、それぞれの湿重量を測定した。また、200mg/l の割合で溶解した PTU を含有する飲料水を摂取したマウスの甲状腺機能が抑制されているか否かを確認するために、実験開始14日後に一夜絶食にした PTU 処理対照群と実験群および水道水を摂取した PTU 無処理群を断頭によって採血し、血清のサイロキシン (以下 T_4 と略記)を T_4 リアキット II (ダイナボット RI 研究所)にて測定した。

これらの測定値間の有意差の検定には、Student's *t*-test を用いた。

結果

水道水を摂取した PTU 無処理群と200mg/l の PTU 含有飲料水を14日間摂取した対照群及び実験群の血清 T_4 濃度を Table 1 に示した。水道水摂取群の血清 T_4 濃度の平均および標準偏差値は、 $2.8 \pm 0.5 \mu\text{g/dl}$ であつ

Table 1 T₄ concentration in the serum of the PTU-treated mouse

| | No. | Body weight (g) | T ₄ ($\mu\text{g}/\text{dl}$) |
|---------------------------|-----|-----------------|--|
| Tap water-drinked mouse | 13 | 31.9 \pm 1.1 | 2.8 \pm 0.5 |
| PTU-treated controls | 12 | 32.9 \pm 2.1 | 1.2 \pm 0.3* |
| PTU-treated experimentals | 12 | 35.8 \pm 1.9 | 0.9 \pm 0.3** |

Values are means \pm standard deviations.

*: These values are statistically significant with an unpaired Student's *t*-test against the tap water-drinked mouse.

†: This value is statistically significant with an unpaired Student's *t*-test against the PTU-treated control group.

たが、PTU 処理対照群は $1.2\pm 0.3\mu\text{g}/\text{dl}$ 、PTU 処理実験群は $0.9\pm 0.3\mu\text{g}/\text{dl}$ であり、PTU 処理群の血清 T₄ 値が水道水摂取群と比較して低値であり ($p<0.001$)、かつ実験群は対照群より低下していた ($p<0.05$)。

このような T₄ 抑制マウスにおいて実験開始から終了までの42日間に獲得した対照群と実験群の体重増加量を Fig. 1 に示した。感染14日後において対照群の体重増加量 8.0g に比較して実験群は、10.7g と有意に増加し ($p<0.05$)、以後42日後まで週を追うごとに両群の体重増加量の差は顕著になった。実験終了時には、対照群の体重増加量は、16.8g であつたのに対し、実験群のそれは、21.8g の増加を認めた ($p<0.001$)。また、頭胴長は (Table 2) 感染14日、42日後とも対照群に比較して実験群の伸長が著しかった ($p<0.001$)。その他の諸臓器重量の変化は、Table 2 に示した。肝臓重量は、感染14日、42日後とも対照群より実験群が増加し ($p<0.05$) 脾臓重量も同様に実験群の増加が著しかった ($p<0.001$)。これらの臓器重量の両群間の差は、感染42日後に比較して14日後の方が大きい傾向を示した。骨格筋である前脛骨筋重量は、感染14日後では両群間に差異を認めなかつたが、感染42日後には、実験群が増加した ($p<0.05$)。しかし、辜丸重量は、感染42日後に実験群が対照群より減少し ($p<0.05$)、心臓、脳、脳下垂体、副辜丸脂肪組織重量には両群間に差を認めなかつた。感染させた擬充尾虫は、感染14日後には $5.6\text{mg}/\text{scolex}$ 、42日後で $11.8\text{mg}/\text{scolex}$ に成長した。

体重 g 当りに対するマウス諸臓器の相対的重量を Table 3 に示した。肝臓の相対的重量は、感染14日後では対照群と実験群の間に差を認めなかつたが、感染42日後には、対照群より実験群が低値であつた ($p<0.05$)。副辜丸脂肪組織は、感染14日後に対照群に比較して実験群の相対的重量が低値を示し ($p<0.05$)、心臓、脳は感染14

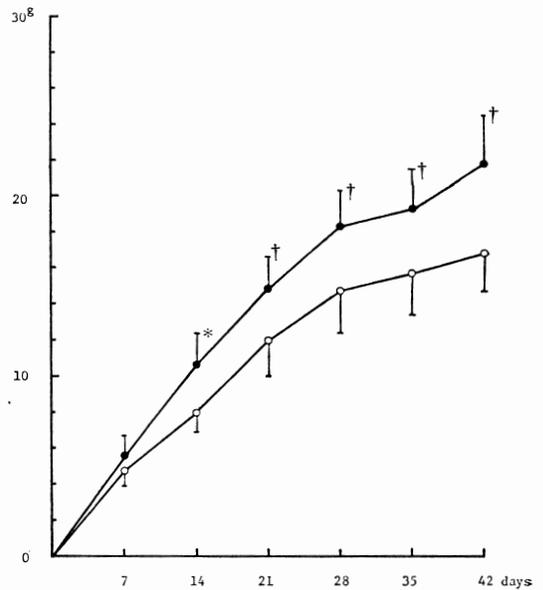


Fig. 1 Weight gain of propylthiouracil-treated mice infected with *Spirometra erinacei* plerocercoids.

○: Control PTU-treated mice, ●: Experimental PTU-treated mice.

Vertical lines represent standard deviations. *, †: These values are statistically significant (* $p<0.05$, † $p<0.001$) with an unpaired Student's *t*-test against the control group.

日、42日後いずれも実験群のそれが低値であつた ($p<0.001$)。脳下垂体、辜丸の相対的重量は、感染42日後に対照群より実験群が低値であつた ($p<0.001$)。しかし、脾臓のそれは、感染14日、42日後のいずれにおいても実験群が高値であつた ($p<0.001$)。前脛骨筋、腎臓の相対的重量は両群間に差を認めなかつた。

Table 2 Effect of plerocercoid infection on the weights of various organs in PTU-treated mice

| | Control group | | Experimental group | |
|--------------------------|---------------|-----------|--------------------|------------|
| | 14 days | 42 days | 14 days | 42 days |
| Number of animals | 12 | 12 | 12 | 15 |
| Weight gain(g) | 8.0±1.1 | 16.8±2.1 | 10.7±1.5‡ | 21.8±2.8‡ |
| Head-body length(cm) | 9.5±0.2 | 10.2±0.1 | 9.9±0.3† | 10.6±0.2‡ |
| Liver(g) | 1.51±0.28 | 1.62±0.15 | 1.81±0.40* | 1.76±0.16* |
| Spleen(mg) | 115±36 | 112±22 | 244±80‡ | 175±26‡ |
| Ant. tibial muscle(mg) | 114±10 | 143±14 | 119±12 | 154±11* |
| Heart(mg) | 156±20 | 196±16 | 152±12 | 199±18 |
| Kidney(mg) | 543±85 | 663±51 | 557±102 | 668±75 |
| Brain(mg) | 506±33 | 512±24 | 489±18 | 506±29 |
| Pituitary(mg) | 2.8±0.3 | 3.1±0.3 | 2.9±0.3 | 2.9±0.4 |
| Testis(mg) | 231±26 | 304±37 | 243±31 | 273±24* |
| Epididymal fat pad(mg) | 479±183 | 608±260 | 364±119 | 641±175 |
| Plerocercoid (mg/scolex) | — | — | 5.7±1.0 | 11.8±1.7 |

Values are means ± standard deviations.

, †, ‡: These values are statistically significant (p<0.05, † p<0.01, ‡ p<0.001) with an unpaired Student's *t*-test against the control groups.

Table 3 Effect of plerocercoid infection on relative weights of various organs in PTU-treated mice

| | Control group | | Experimental group | |
|--------------------|---------------|-------------|--------------------|--------------|
| | 14 days | 42 days | 14 days | 42 days |
| Number of animals | 12 | 12 | 12 | 15 |
| Liver | 46.3±8.0 | 38.7±2.5 | 50.4±9.8 | 36.2±2.7* |
| Spleen | 3.5±1.0 | 2.7±0.5 | 6.8±2.1‡ | 3.7±0.5‡ |
| Ant. tibial muscle | 3.5±0.2 | 3.4±0.2 | 3.3±0.2 | 3.3±0.4 |
| Heart | 4.7±0.3 | 4.7±0.4 | 4.2±0.2‡ | 4.3±0.4‡ |
| Kidney | 16.4±1.7 | 15.9±1.2 | 15.5±2.4 | 14.3±1.2 |
| Brain | 15.4±0.9 | 12.3±0.5 | 13.6±0.7‡ | 10.8±0.5‡ |
| Pituitary | 0.085±0.008 | 0.074±0.008 | 0.082±0.008 | 0.060±0.009‡ |
| Testis | 7.0±0.7 | 7.3±0.8 | 6.8±0.8 | 5.8±0.6‡ |
| Epididymal fat pad | 14.4±5.0 | 14.4±5.9 | 10.1±3.3* | 13.6±3.4 |

Relative weights represent the ratio of the organ weight to the body weight (mg/g).

Values are means ± standard deviations.

, †, ‡: These values are statistically significant (p<0.05, † p<0.01, ‡ p<0.001) with an unpaired Student's *t*-test against the control groups.

考 察

甲状腺ホルモンは、成長ホルモンと同様に宿主の成長に重要な役割を有するホルモンである。即ち、このホル

モンは、成長ホルモンの合成、分泌を調整し (Samuels *et al.*, 1979), 成長ホルモンによつて誘導されるソマトメジンの合成、分泌およびその軟骨における作用を増強することにより (Froesch *et al.*, 1976; Burstein *et*

al., 1979; Takano *et al.*, 1980; 高野, 1981), 正常な身体成長と骨格の成熟にとって不可欠なものである。よつて, 幼若マウスが PTU 投与によつて T_4 の合成および末梢での T_4 からトリヨードサイロニン (T_3) への変換が抑制されることは, 正常な成長を遅滞させることになる (Ingber and Woeber, 1981)。しかし, この研究によつて, マンソン裂頭条虫擬充尾虫は, PTU 投与による宿主の成長抑制をはねかえしてマウスの成長を促進することが示された。この成長促進作用を既報の4週齢 ICR 系雄マウスの結果 (Shiwaku and Hirai, 1982) と比較すると, PTU 無処理対照群は, 42日間に18.7g の体重増加を示したが, 本研究における PTU 処理対照群は, 16.8g と体重増加量が抑制されていた。しかし, PTU 処理実験群は, 21.8g の体重増加を示し, あたかも PTU 処理を受けなかつたかのように発育した。しかも本実験の PTU 処理実験群の頭胴長の伸長および諸臓器重量の変化は, 既報の4週齢および10週齢の ICR 系雄マウスを用いた PTU 無処理実験群において観察された結果 (Shiwaku and Hirai, 1982; 塩飽ら, 1982) とほぼ同様であつた。即ち, 骨格筋である前脛骨筋, 肝臓および脾臓重量の増加が促進され, 骨格成長の指標としての頭胴長の伸長が促進された。また, 前脛骨筋重量は, 体重増加とほぼ平行して重量増加を示し, 実験群の体重増加に占める擬充尾虫重量は, 0.5% でしかなかつた。これらの結果から, マンソン裂頭条虫擬充尾虫の PTU 処理マウスに対する成長促進作用は, 既報の4週齢および10週齢 PTU 無処理マウスと同様に主として骨格筋および骨格の発育が促進されたことに起因し, 感染初期においては, 肝臓, 脾臓の重量増加が関与しているものと考えられた。

このように甲状腺機能低下が存在するのにかかわらず骨格および骨格筋の発育が促進されるということは, この擬充尾虫が T_4 類似物質または, ソマトメジン誘導促進物質あるいはソマトメジン様物質を分泌しているなどの可能性が推測される。

しかるに, マンソン裂頭条虫の近縁種である *S. mansonioides* の擬充尾虫は, 成長ホルモン様物質を分泌し (Tsushima *et al.*, 1974), 下垂体摘出ラットのソマトメジンを誘導することが明らかにされ (Garland, *et al.*, 1971), また PTU 処理ラット, 甲状腺摘出ラット (Mueller, 1968a, b) の成長も促進し, ゴールデンハムスターの血中 T_4 濃度を抑制するにもかかわらず成長を促進することが報告されている (Phares, 1982)。マンソン裂頭条虫擬充尾虫もスネル侏儒マウスを用いて成長ホ

ルモン様物質またはソマトメジン様物質を分泌することを著者らは示唆した (Shiwaku *et al.*, 1983)。

これらの報告から, マンソン裂頭条虫擬充尾虫は, PTU 処理マウスにおいて甲状腺機能低下によつて生ずるソマトメジン合成の抑制に抗してソマトメジンを誘導するかまたはソマトメジン様物質を分泌して骨格筋および骨格成長を促進することが示唆された。一方, この幼虫も *S. mansonioides* 擬充尾虫と同様に血中 T_4 濃度を低下させることについては今後のより詳細な研究が必要である。

結 論

マンソン裂頭条虫擬充尾虫の10頭節を4週齢の ICR 系雄マウスの背部皮下に感染させ, 200mg/l の PTU を含有する飲料水を与え42日間実験を行ない, この擬充尾虫の宿主に対する成長促進作用を観察した。PTU 含有飲料水を14日間飲んだマウスの血清 T_4 濃度は, 正常マウスの約1/2となり甲状腺機能低下を生じた。これらのマウスの実験期間中の体重増加量は, 対照群が16.8g に対し実験群では, 21.8g の増加を示した。この実験群の体重増加の促進は, 肥満によるものではなく, 頭胴長の伸長促進および骨格筋, 肝臓, 脾臓の重量増加の促進によるものであつた。よつて, マンソン裂頭条虫擬充尾虫は, PTU 投与によつて生じた甲状腺機能低下による成長抑制をはねかえしてマウスの成長を促進し, この成長促進作用は, この擬充尾虫が宿主のソマトメジンを誘導するかまたはソマトメジン様物質を分泌することによつて主として骨格および骨格筋の成長を促進することによるものと推測された。

謝 辞

稿を終るにあたり, ご校閲をいただいた愛媛大学医学部寄生虫学教室, 西田 弘教授及び有益なご助言を得た第二生化学教室, 奥田拓道教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Burstein, P. J., Draznin, B., Johnson, C. J. and Don S. (1979): The effect of hypothyroidism on growth hormone-dependent somatomedin, insulin-like growth factor, and its carrier protein in rats. *Endocrinology*, 104, 1107-1111.
- 2) Froesch, E. R., Zapf, J., Audhya, T. K., Ben-Porath, E., Segen, B. J. and Gibson, K. D. (1976): Non-suppressible insulin-like activity and thyroid hormone: Major pituitary-

- dependent sulfation factors for chick embryo cartilage. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 2904-2908.
- 3) 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.
 - 4) 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.
 - 5) Hirai, K., Shiwaku, K., Tsuboi, T., Torii, M., Nishida, H. and Yamane, Y. (1983): Biological effects of *Spirometra erinacei* plerocercoids in several species of rodents. *Z. Parasitenkd.*, 69, 489-499.
 - 6) Ingbar, S. H. and Woeber, K. A. (1981): The thyroid gland. In *Textbook of Endocrinology*, 6 ed., ed. by Williams, R. H., Saunders W. B. Company, Philadelphia, London and Toronto, 193-194.
 - 7) Mueller, J. F. (1968a): Growth stimulation induced by infection with *Spirometra mansonioides* spargana in propylthiouracil-treated rats. *J. Parasitol.*, 54, 51-54.
 - 8) Mueller, J. F. (1968b): Growth stimulating effect of experimental sparganosis in thyroidectomized and hypophysectomized rats, and comparative activity of different species of *Spirometra*. *J. Parasitol.*, 54, 795-801.
 - 9) Phares, C. K. (1982): The lipogenic effect of the growth factor produced by plerocercoids of the tapeworm, *Spirometra mansonioides*, is not the result of hypothyroidism. *J. Parasitol.*, 68, 999-1003.
 - 10) Samuels, H. H., Stanley, F. and Sapiro, L. E. (1979): Control of growth hormone synthesis in cultured GH₁ cell by 3,5,3'-triiodo-L-thyronine and glucocorticoid agonists and antagonists: Studies on the independent and synergistic regulation of the growth hormone response. *Biochemistry*, 18, 715-721.
 - 11) Shiwaku, K. and Hirai, K. (1982): Growth-promoting effect of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) plerocercoids in young mice. *Jap. J. Parasit.*, 31, 185-195.
 - 12) 塩飽邦憲, 平井和光, 鳥居本美 (1982): 成熟マウスに対するマンソン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—。 *寄生虫誌*, 31, 353-360.
 - 13) Shiwaku, K., Hirai, K., Torii, M. and Tsuboi, T. (1983): Effects of *Spirometra erinacei* plerocercoid on the growth of Snell dwarf mice. *Parasitology*, 87, 447-453
 - 14) Sinha, Y. N., Salocks, C. B. and Vanderlaan, W. P. (1975): Pituitary and serum concentration of prolactin and GH in Snell dwarf mice. *Pro. Soc. Exp. Bio. Med.*, 150, 207-210.
 - 15) Takano, K., Hasumi, Y., Hizuka, N., Kogawa, M., Tsushima, T. and Shizume, K. (1980): Effect of thyroid hormone on the serum level of somatomedin A. *Endocrinol. Japon*, 27, 643-652.
 - 16) 高野加寿恵 (1981): Somatomedins. *医学のあゆみ*, 116, 932-936.
 - 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.

AbstractGROWTH-STIMULATING EFFECT OF *SPIROMETRA ERINACEI*
PLEROCERCOIDS IN PROPYLTHIOURACIL-TREATED MICE

KAZUMITSU HIRAI, TAKAFUMI TSUBOI AND MOTOMI TORII

*(Department of Parasitology, Ehime University School
of Medicine, Ehime 791-02, Japan)*

Observations were made of the growth-stimulating effect of infection with plerocercoids of *Spirometra erinacei* on propylthiouracil (PTU)-treated male ICR mice, 4 weeks old. The weight gain in the body, wet weights of the various organs and head-body length were measured on days 14 and 42 after infection. The body weight gain of the PTU-treated experimentals received 10 plerocercoids registered a weight increase of 21.8g over that of 16.8g in the control group on day 42 after infection, and head-body length in the experimental group showed a significant increase as compared with that in the control group. In the organs observed, the weights of the liver, anterior tibial muscle and spleen in the experimental group showed more significant increases than that in the control group. The increase in the body weight of experimental PTU-treated mice was mainly due to increase in the skeletal muscle, bone and liver weights, as reported for normal ICR mice by Shiwaku and Hirai. These results suggest that *S. erinacei* plerocercoid is possible to induce the somatomedins that are suppressed by PTU treatment, and to stimulate the growth of the skeletal muscle and bone.