

## マンソン裂頭条虫擬充尾虫が産生する 成長ホルモン様物質の特性

平井和光<sup>1)</sup> 坪井敬文<sup>2)</sup> 鳥居本美<sup>2)</sup>

(掲載決定:平成5年3月12日)

**Key words:** *Spirometra erinacei*, plerocercoid, growth factor, growth hormone

寄生虫は、寄生生活を維持するために、即ち宿主の消化液から、また宿主の免疫攻撃から逃れ、そして栄養物を奪取するために種々の生理活性物質を産生、分泌し、さらに宿主の代謝、特にホルモン分泌に影響を及ぼしている。これらのことによって宿主は種々の臓器障害や発育障害を生ずることが多い。しかし、ある種の寄生虫は、寄生することによって宿主の発育を促進することが観察されている。例えば *Nosema* sp. に寄生されたコクヌストモドキ *Tribolium* の幼虫は、*Nosema* sp. が分泌する幼若化ホルモン juvenile hormone-like substance によって成長が促進し (Fisher, 1963), *Trichobilharzia ocellata* に寄生された巻き貝 *Lymnaea stagnalis* は大きく成長することが知られている (McClelland and Bourns, 1969)。そして、*Trypanosoma lewisi* が感染したラットや *Trypanosoma musculi* が感染したマウスの体重増加が促進される (Lincicom, 1963)。また、種々の線虫、吸虫、条虫類は ecdysteroid を (Spindler, 1988), *Taenia taeniaeformis* は gastrin-like substance を分泌し (Blais and Williams, 1983), 宿主の種々のホルモン分泌に干渉している。このような寄生虫による宿主のホルモン分泌への影響において興味ある作用を示すものに *Spirometra* 属条虫の擬充尾虫がある。Mueller (1963) は、*Spirometra mansonioides* の擬充尾虫をマウスに感染させるとマウスの成長が促進され、肥満することを見出した。さらに甲状腺摘出ラット、下垂体摘出ラット、アロキサン糖尿病ラットなど成長に関与するホルモンの分泌不全を生じた宿主の成長をも促進することを報告した

(Mueller, 1968; Ruegamer and Mueller, 1973)。この擬充尾虫による成長促進作用は、本虫が分泌する成長ホルモン様物質によって宿主のソマトメジン活性が促進されることに起因することが見出された (Garland *et al.*, 1971)。一方、日本には *S. mansonioides* の近似種であるマンソン裂頭条虫 *S. erinacei* が分布している。マンソン裂頭条虫の擬充尾虫にも *S. mansonioides* の擬充尾虫と同様に宿主に成長促進作用を発現させるなどの生理学的作用があるか否か、また、その相違点を明らかにすることを目的として研究を行った。

### I. マンソン裂頭条虫擬充尾虫の宿主に対する成長促進作用

#### 1) 体重・内臓諸臓器重量に対する作用

マンソン裂頭条虫擬充尾虫の頭部をマウスの背部皮下に接種すると、実験群は対照群に比較して体重増加量が促進し、そしてその増加量は、接種頭部数の増加に伴って増加した。また、これらのマウスの内臓諸臓器の湿重量を比較すると、実験群の肝臓、前脛骨筋、脾臓重量が対照群に比較して増加し、頭胴長の伸長も促進したが、体脂肪量および副腎脂肪組織重量には差を認めなかった (Shiwaku and Hirai, 1982; 塩飽ら, 1982)。このような体重・内臓重量の増加は、チャイニーズ・ハムスターにおいても観察されたが、しかし、ゴールデン・ハムスターでは増加傾向は示すものの有意差は認められず、ラットでは前脛骨筋重量の増加のみが観察され、下垂体摘出ラットは擬充尾虫感染にまったく反応しなかった (Hirai *et al.*, 1983)。

一方、先天性下垂体前葉不全で成長ホルモン分泌が抑制されているスネル侏儒マウスは、正常マウスと同様に肝臓、前脛骨筋、脾臓重量及び頭胴長が増加し (Shiwaku *et al.*, 1983), そしてプロピール・チオウラシル甲状腺機能低下マウス (Hirai *et al.*, 1988), スト

<sup>1)</sup> 鳥取大学医学部医動物学教室

<sup>2)</sup> 愛媛大学医学部寄生虫学教室

本研究は、文部省科学研究費(課題番号:60570174; 63570175)の助成により行ったものである。

レプトゾトシン糖尿病マウスも同様の重量増加を示した(平井ら, 1984)。さらに, 擬充尾虫感染マウス血清の接種によっても(Shiwaku, *et al.*, 1986), また, 擬充尾虫の体部の接種によっても同様に体重, 内臓重量の増加が認められた(坪井ら, 1984)。よってマンソン裂頭条虫擬充尾虫感染は, マウスの体重増加を促進させ, それは頭胴長, 肝臓, 脾臓, 前脛骨筋など骨格筋の重量増加に起因するものであり, 貯蔵脂肪の増加に基づく肥満によるものではないことが示唆された。そして, これらの重量増加の現象は, 擬充尾虫の虫体から血清中に分泌された物質の作用によることが推測された。

## 2) 骨軟骨細胞に対する擬充尾虫感染の影響

正常マウスやスネル侏儒マウスの頭胴長の伸長が擬充尾虫の感染によって促進されるので, 擬充尾虫感染が宿主の骨端軟骨の細胞増殖を促進することが推測された。擬充尾虫感染マウスの脛骨骨端軟骨幅を観察すると, 対照群に比較して感染2週後の実験群に有意な拡大が観察された。さらに, van Buul and Van den Brande (1978) の変法により somatomedin bioassay を行った。擬充尾虫感染スネル侏儒マウスの肋軟骨を [<sup>3</sup>H]-thymidine, [<sup>35</sup>S]-sulfate とともに培養した場合, またスネル侏儒マウスから取り出した肋軟骨を感染血清と共に培養し, さらに [<sup>3</sup>H]-thymidine, [<sup>35</sup>S]-sulfate を添加して培養する時, 肋軟骨へのこれらアイソトープの取り込みが促進された(Shiwaku, *et al.*, 1986)。よって, 擬充尾虫感染は, 肋軟骨細胞の核酸合成および細胞質のコンドロイチン硫酸合成を促進することが示された。これらの結果から擬充尾虫感染は, 宿主のソマトメジン活性を増加させることによって骨格成長を促進することが明らかとなった。ソマトメジン活性は主として成長ホルモンによって調節されているので, 擬充尾虫が成長ホルモン様物質を分泌することが示唆された。Tsushima *et al.* (1973) の方法を用いて Radio-receptor assay (RRA) により擬充尾虫抽出液の成長ホルモン活性を測定した。Phares (1984) の方法にて調整された抽出液の置換反応曲線とヒト成長ホルモン(h-GH)を標準とした置換反応曲線の Logit-log 回帰分析において, 2つの回帰直線の勾配に有意差を認めなかった。よって, 抽出液は, GH 受容体に対して h-GH と同様に競合関係をもって [<sup>125</sup>I] h-GH と置換すると考えられ, GH 活性を有することが示された(平井ら, 1985)。これらの結果から, マンソン裂頭条虫擬充尾虫感染による骨格成長の促進は, 擬充尾虫が産生する GH 様物質によって宿主のソマトメジン活性が増加するために生ずることが明らかとなった。

## 3) 成長ホルモン様物質の精製と特性

GH 様物質を精製するために Tsushima, *et al.* (1973) の方法にて妊娠家兎肝臓から可溶性 GH 受容体を調整し, Shui, *et al.* (1974) の方法で精製した GH 受容体をリガントとして Affi-gel 10 (Bio-Rad) に結合させ, GH 受容体アフィニティ・クロマトカラムを調整し, 虫体抽出液を分画した。RRA によって測定した GH 活性は排除分画が流出し終わる直前の分画(A分画)と5M MgCl<sub>2</sub>にて溶出する分画(B分画)に検出された。A分画を Fast Protein Liquid Chromatography System (Pharmacia) を用いて MonoQ HR 5/5 (Pharmacia) カラムにてイオン交換クロマトグラフィ, 次に Superose HR 12 (Pharmacia) でゲル濾過分画すると単一ピークに精製された。この分画を SDS-polyacrylamide gel 電気泳動 (SDS-PAGE) すると1つのバンドに収斂し, 分子サイズは27KDであった。B分画は Superose HR 12にてゲル濾過すると単一ピークに精製され, 同様に16KDの分子サイズであった。これらのGH受容体に対してh-GHと競合置換する27KD及び16KD蛋白の性状を検討するために抗h-GHマウスモノクローナル抗体を用いて Immunoblot 分析を行った。虫体培養液を MonoQ HR 5/5 で分画した画分を SDS-PAGE 後 Vectastain ABC Kit (Vector Lab.) を用いて行ったところ, 抗h-GHマウスモノクローナル抗体と交叉反応する多数のバンドが認められた。それらのバンドは, 13KD, 27KD (13×2), 54KD (27×2), 16KD, 32KD (16×2) そして22KD, 44KD (22×2) の3種類に分類された。そして16KD蛋白が最も強い反応を示した。この結果, 27KD及び16KD蛋白はh-GHと共通の抗原決定基をもつことが示唆された。(平井ら, 1990)。

次に27KDをSDS-PAGE後PAS染色すると, この蛋白は陽性を示し, 糖蛋白であることが示唆された。さらに, この蛋白をリジン・エンドペプチダーゼ処理後, ペプチド断片を逆相カラム (Aquapore RP 300, Brownlee Lab.) にて分画し, 分画された1つのピークのアミノ酸配列を観察した。15個のアミノ酸配列はカテプシン-Lと67%の相同性が認められた。(坪井ら, 1990)。

## 4) 肝臓に対する擬充尾虫感染の影響

マンソン裂頭条虫擬充尾虫感染マウスは, 対照群に比較して肝臓重量が増加することを前述した。この肝臓重量の増加が間質組織の増加か否かを確認するために組織切片像を観察したところ間質組織の増殖は認められなかった。よって肝実質組織の増殖によって肝重量の増加が生じていることが推測された。そこで, 肝細胞増殖が惹起されているか否かを明らかにするために [<sup>3</sup>H] -

thymidine を腹腔内接種し、2 時間後に屠殺して肝臓 DNA への取り込みを測定した。実験群の肝臓 DNA への [ $^3\text{H}$ ] -thymidine の取り込みは、感染 1 週後、対照群  $2.55 \pm 0.43$  dpm/mgDNA/min. に対して実験群は  $5.46 \pm 1.02$  dpm/mgDNA/min., 2 週後には対照群  $3.00 \pm 0.54$  dpm/mgDNA/min., 実験群  $5.02 \pm 1.56$  dpm/mgDNA/min. と有意に増加した。従って、擬充尾虫感染による肝臓重量の増加は肝細胞の肥大によるものではなく増殖によるものであることが示唆された。

次に、この肝細胞増殖は擬充尾虫感染による肝細胞増殖因子、上皮成長因子、ソマトメジンなどの誘導に起因するものか、また擬充尾虫が産生する GH 様物質による直接的作用か否かを明らかにするために初代培養マウス肝細胞に対する感染血清及び虫体培養液の細胞増殖活性を観察した。初代培養マウス肝細胞は Seglen (1976) の two-step *in situ* collagenase perfusion 法をマウス用に改変した方法により調整し、増殖活性は Nakamura, *et al* (1986) の方法により測定した。初代培養マウス肝細胞に感染血清及び虫体培養液を添加すると肝細胞 DNA の合成を促進した。さらに、GH 受容体結合アフィニティ・クロマトグラフィにて部分精製した 5 M MgCl<sub>2</sub> 溶出 GH 様物質及び 27 KD 糖蛋白のいずれも培養肝細胞 DNA 合成活性を増加させた (平井ら, 1989; 坪井ら, 1989)。従って、虫体抽出液に存在する GH 受容体に結合し、抗 h-GH マウス・モノクローナル抗体と交叉反応する GH 様物質は肝細胞増殖因子活性を有することが明らかになった (平井ら, 1990)。また、27 KD 糖蛋白は、カタプシン-L と相同性を持つことを前述したが、カタプシン-L が肝細胞増殖活性を発現するという報告 (Yoshikawa and Teyayama, 1984; Teyayama, *et al.*, 1989) に一致する所見であった。

## II. 糖質代謝に対する擬充尾虫感染の影響

擬充尾虫感染は、ゴールデン・ハムスターに対して絶食時及び糖負荷時に血糖値を低下させた。この血糖値の低下は糖新生系の抑制か、解糖系の促進のいずれかが生じていることが考えられた。そこで糖新生系の律速酵素である肝臓の glycogen phosphorylase, glucose-6-phosphatase, そして glucagon を、また解糖系においては immunoreactive insulin, somatomedin 活性を測定し、そして *in vivo* で 2-deoxy-D- [1, 2- $^3\text{H}$ ] -glucose の種々の臓器への取り込み、さらに *in vitro* での [ $^{14}\text{C}$ ] -glucose の遊離脂肪細胞への取り込みに対する擬充尾虫感染血清の影響について観察した。その結果、擬充尾虫感染は、心筋、大脳への 2-deoxy-D- [1, 2- $^3\text{H}$ ] -glucose の取り込みを有意に促進させ、そして白色脂肪及び褐色脂肪組織、骨格筋、腎臓では取り込みの増加傾向が観察された。また、感染血清は遊離脂肪細

胞への [ $^{14}\text{C}$ ] -glucose の取り込みを促進させた。一方、解糖系においては glucagon を増加させ、glucose-6-phosphatase 活性を増加させたが、glycogen phosphorylase 活性には変化が認められなかった。これらの結果から、擬充尾虫感染は、解糖系を糖新生以上に促進させるため低血糖が生ずることが示唆された (Hirai *et al.*, 1987 a)。さらに低血糖ために生ずる glucagon の増加が肝臓 glycogen synthase 活性を抑制するために肝臓 glycogen 量は低下していた。そして、肝臓 glycogen の低下が解糖系の促進を充足するだけの糖新生を不可能にしているため低血糖を生じさせているということも示唆された (Tsuboi, *et al.*, 1991)。また、immunoreactive insulin, somatomedin 活性には対照群と実験群の間に変化を認めなかったことから、擬充尾虫感染による低血糖は、擬充尾虫の直接的インスリン様作用であることが示唆された。

## III. 脂質代謝に対する擬充尾虫感染の影響

擬充尾虫感染は、マウス、チャイニーズ・ハムスター、ゴールデン・ハムスターの貯蔵脂肪重量に影響を与えないが、血清中性脂肪量の顕著な増加を惹起させる。特に、ゴールデン・ハムスターにおいては、絶食時血清中性脂肪濃度は対照群  $215 \pm 45$  mg/dl に対して実験群は  $559 \pm 158$  mg/dl と増加し、この増加は、超低比重リポ蛋白分画の増加に起因し、そして血清遊離脂肪酸の増加を伴っていた。この血清中性脂肪の増加の機序を明らかにするために Bar-Tana, *et al.* (1971) の方法により肝臓の acyl-CoA synthase 活性, Baker, *et al.* (1978) の方法にて acetyl-CoA carboxylase 活性を測定するとともに Holt and Dominguez (1980) の方法にて肝臓からの中性脂肪分泌率, post-heparin プラズマを用いてリポ蛋白リパーゼ活性を測定した。実験群は、対照群に比較して脂肪合成系酵素である acyl-CoA synthase, acetyl-CoA carboxylase 活性, および中性脂肪分泌率には差を認めなかったが、リポ蛋白リパーゼ活性は抑制された。

一方、インスリン、サイロキシンの低下によって高中性脂肪血症が引き起こされる。そこで、これらのホルモンを測定したところインスリン濃度には差を認めなかったが、サイロキシンは実験群において低下していた。サイロキシン濃度を実験群と対照群で等しくするために L-サイロキシンを腹腔内投与し、血清中性脂肪濃度を測定した。サイロキシン投与実験群はサイロキシン濃度が対照群と同じレベルに維持されているのにもかかわらず、依然として血清中性脂肪濃度は対照群に比較して高値を示した (Tsuboi and Hirai, 1986)。さらに、擬充尾虫感染によって誘導されるマクロファージから分泌される tumor necrosis factor によるリポ蛋白リパーゼ活性

の抑制が生ずることが推測された。そこで 3T3-L1 cell から生ずる adipocyte のリポ蛋白リパーゼ活性に対する虫体培養液の影響を *in vitro* にて観察した。3T3-L1 cell を confluent 状態になるまで培養して adipocyte に変換した段階で虫体培養液を添加し一夜培養後 adipocyte 中のリポ蛋白リパーゼ活性を測定した。この *in vitro* 系において虫体培養液は、リポ蛋白リパーゼ活性を抑制した。従って、擬充尾虫感染による高中性脂肪血症は、中性脂肪合成および分泌の促進によるものではなくリポ蛋白リパーゼの抑制による血清中性脂肪の組織への移行が抑制された結果であり、それは擬充尾虫の直接的作用であることが示唆された。一方、虫体産生物質のホルモン感性リパーゼに対する影響を観察するために、Rodbell (1964) の方法にて調整した遊離脂肪細胞に虫体培養液を添加して、その脂肪酸放出を測定した。その結果、培養液は epinephrin-induced lipolysis を促進し、ホルモン感性リパーゼを活性化することが示唆された (Hirai, *et al.*, 1978)。このことは、ゴールデン・ハムスターの血清遊離脂肪酸が増加することに一致する結果であった。そして、このようにリポ蛋白リパーゼ活性を抑制し、かつホルモン感性リパーゼ活性を促進することは GH の生理学的作用に一致するものである。しかしながら、擬充尾虫感染がゴールデン・ハムスターの脂質代謝においてリポ蛋白リパーゼ活性を抑制し、ホルモン感性リパーゼ活性を促進すれば貯蔵脂肪、例えば副腎脂肪組織の重量は減少するはずであるが、実験群と対照群の副腎脂肪組織重量に差を認めなかった。これらの事象は、糖質代謝の項で述べたように、擬充尾虫によって産生されるインスリン様物質によって糖からの脂肪合成の促進によって補充される結果と推測された。

#### IV. その他の宿主ホルモンに対する擬充尾虫感染の影響

擬充尾虫感染マウス及びゴールデン・ハムスターの血清サイロキシン ( $T_4$ )、トリヨードサイロニン ( $T_3$ ) 濃度、Free  $T_4$  Index は対照群に比較して低値を示し、 $^{125}$ I- $T_3$  摂取率は上昇し、 $T_3/T_4$  値には差を認めなかった。さらに、甲状腺濾胞細胞の細胞高を測定すると、実験群は対照群に比較して細胞高が低値を示した。これらの結果から、擬充尾虫感染は宿主の  $T_4$  結合蛋白を抑制するとともに甲状腺刺激ホルモン (TSH) を抑制することが示唆された (Hirai, *et al.*, 1987b; Hirai, *et al.*, 1988)。さらに、マウス下垂体の GH 含有量を RRA によって測定すると、擬充尾虫感染は、感染 2 週後で下垂体 GH 含有量を低下させたが、4 週後には正常に回復した。このような宿主の TSH, GH の抑制は、擬充尾虫が産生する GH 様物質がソマトスタチンを誘導することによって惹起されることが推測された。

#### V. *S. mansonoides* 擬充尾虫が産生する GH 様物質との相違点

*S. mansonoides* 擬充尾虫は、宿主のソマトメジン活性を増加させることによってマウスのみならず下垂体摘出ラット、甲状腺摘出ラット、ゴールデン・ハムスターの成長促進をも惹起させることは、*S. erinacei* との相違点である。そして、下垂体摘出ラットの肝臓、骨格筋重量、脛骨骨端軟骨幅を増加させ、さらに、副腎脂肪組織重量を増加させることによって肥満を引き起こす点も特異的である (Steelman, *et al.*, 1971)。さらに、*S. mansonoides* 擬充尾虫の抽出液は RRA において家兔肝臓 GH 受容体のみならず h-IM9 lymphocyte の h-GH 特異的受容体に対して h-GH と競合置換する GH 様活性を示し、そして pigeon crop sac assay において lactogenic 活性を有することは、h-GH 活性に類似していることが示された (Phares, 1987)。

一方、*S. mansonoides* 擬充尾虫感染ゴールデン・ハムスターは、*S. erinacei* と同様に血清中性脂肪が増加する。しかし、その機序は、*S. erinacei* と著しい相違が示されている。擬充尾虫感染は、*in vivo* でゴールデン・ハムスターの acetyl-CoA carboxylase, fatty acid synthase 活性を促進し (Phares and Carroll, 1984)、そして、*in vitro* で擬充尾虫の抽出液から部分精製された GH 様物質は、脂肪細胞へ [ $^{14}$ C]-glucose の取り込みおよびその  $CO_2$  への酸化を促進することから、脂肪合成を促進することが示された (Salem and Phares, 1987)。さらに、この脂肪合成の促進は、GH 様物質が脂肪細胞の GH 受容体に結合し、直接的にインスリン作用を発現することが明らかにされた (Salem and Phares, 1989)。また、この GH 様物質は、*in vitro* で横隔膜筋組織において [ $^{14}$ C]-leucine の蛋白への取り込みとその  $CO_2$  への酸化を促進することも見出されている。糖質代謝に対する擬充尾虫感染の影響は、ゴールデン・ハムスターにおいて観察され、本虫は、*S. erinacei* とは相違して血糖値には影響しないが、glycogen synthase 活性を促進させ肝臓グリコーゲン含有量を増加させることが示された (Phares and Ai, 1982)。このように、*S. mansonoides* の擬充尾虫は、GH 様活性と同時に顕著なインスリン活性を有することに *S. erinacei* との相違点が認められた。一方、本虫の宿主ホルモンに対する作用について Phares (1982; 1986) は、下垂体 GH 含有量、血清 GH 濃度、 $T_4$ 、 $T_3$  濃度の減少、さらに肝臓の GH、プロラクチン、エストロゲン受容体を抑制することを報告している (Phares and Hirai, 1990)。

また、欧州の *Spirometra* 属条虫について、Odening and Bockhardt (1982) は、ポーランド及びブルガリアの *Spirometra* 属擬充尾虫の宿主に対する成長促進

作用を観察し、ポーランドの擬充尾虫は、*S. erinacei*と同様にマウスの成長を促進するが、下垂体摘出ラットの成長には影響を及ぼさず、しかし、ブルガリアの擬充尾虫は *S. mansonioides* と同様に下垂体摘出ラットの成長を促進することを報告している。

#### VI. 宿主-寄生体関係における GH 様物質の意義

免疫系の制御に各種ホルモンは重要な役割を果たしていることが知られている。特に、GH、グルココルチコイド、TSH、甲状腺ホルモンは、免疫系の種々の局面に影響を及ぼしている (Kruger, *et al.*, 1989)。例えば、先天的下垂体不全のあるスネル侏儒マウスでは免疫能が未発達であるが、GH あるいはサイロキシンの投与により免疫能が回復すること (Fabris, *et al.*, 1971)、抗原刺激によりサイロキシンの血清レベルが上昇すること (Besedovsky, *et al.*, 1975) など下垂体ホルモン、甲状腺ホルモンと免疫系の緊密な関係が報告されている。よって、擬充尾虫が宿主の GH、TSH、 $T_4$  及び  $T_3$  濃度を抑制することは、宿主の免疫系を抑制することによって擬充尾虫の感染に有利な状況を形成することが推測される。事実、*S. mansonioides* の擬充尾虫は、液性免疫能を抑制し、 $T_4$  投与により液性免疫能の回復が生ずることが報告されている (Sharp, *et al.*, 1982)。

一方、*S. mansonioides* の擬充尾虫は、*de novo* 脂肪酸合成及び不飽和化能を持たず脂肪酸を宿主に依存していることが知られている (Meyer, *et al.*, 1966)。また、*S. erinacei* の擬充尾虫も同様に脂肪酸を宿主に依存していると考えられている。そこで、擬充尾虫は宿主脂肪組織から脂肪酸を奪取するために脂肪分解を促進する必要がある。*S. erinacei* の擬充尾虫が産生する GH 様物質は、前述したように脂肪分解を促進し、血清遊離脂肪酸量を増加させ、そして、一方では脂肪合成を促進しているように見受けられる。このことは、擬充尾虫が宿主の脂肪酸を利用しつつ宿主の脂肪を補充するというきわめて合理的な宿主-寄生体関係が存在するように思われた。

#### まとめ

マンソン裂頭条虫擬充尾虫感染によってマウスの成長が促進される。この成長促進の発現する機序を究明する過程において次のような点が明らかになった。

- 1) 正常マウスのみならず下垂体不全侏儒マウス、甲状腺機能低下マウス、糖尿病マウスなど GH-ソマトメジン系が抑制されたマウスの成長をも促進した。
- 2) 成長促進の要因の 1 つは、擬充尾虫感染によって生ずるソマトメジン活性の促進による骨成長の促進の結果であった。
- 3) 擬充尾虫は、家兎肝臓 GH 受容体に h-GH と競合

置換し、抗 h-GH マウス・モノクローナル抗体と交叉反応する GH 様物質を産生することが明らかとなった。

- 4) GH 様物質を GH 受容体アフィニティ・クロマトグラフィ、ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィなどにて精製を試みたところ、分子サイズ 16 KD 及び 27 KD の蛋白が精製され、27 KD 蛋白の一部のアミノ酸配列は、カテプシン-L と 67% の相同性を持つ糖蛋白であった。
- 5) 16 KD 及び 27 KD 蛋白は、いずれも初代培養マウス肝細胞の増殖を促進する肝細胞増殖因子活性を示した。
- 6) ゴールデン・ハムスターの糖質代謝に対して擬充尾虫感染は、血糖値および肝臓内グリコーゲン含有量を低下させた。その機序は、糖の末梢組織への移送を促進することによるものであった。
- 7) 脂質代謝に対しては、リポ蛋白リパーゼ活性を抑制することによって高中性脂肪血症を惹起させる一方、ホルモン感性リパーゼ活性を促進して、血清中の遊離脂肪酸を増加させた。
- 8) 宿主ホルモンに対して擬充尾虫感染は、下垂体 GH 含有量、血清  $T_3$ 、 $T_4$  及び TSH 濃度を低下させ、グルカゴン濃度を上昇させた。

これらの所見から、マンソン裂頭条虫擬充尾虫は、インスリン様活性と GH 様活性を持つ物質を産生していることが示唆された。

#### 文 献

- 1) Baker, N., Learn, D. B. and Bruckdorfer, K. R. (1978) : Re-evaluation of lipogenesis from dietary glucose carbon in liver and carcass of mice. *J. Lipid Res.*, 19, 879-893.
- 2) Bar-Tana, J., Rose, G. and Shapiro, B. (1971) : The purification and properties of microsomal palmitoyl-Coenzyme A synthetase. *Biochem. J.*, 122, 353-362.
- 3) Besedovsky, H. and Sorkin, E. (1975) : Changes in blood levels during the immune response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 150, 466-470.
- 4) Blaies, D. M. and Williams, J. F. (1983) : *Taenia taeniaeformis*: Gastrointestinal hyperplasia in chronically infected rats. *Exp. Parasitol.*, 55, 197-206.
- 5) van Buul, S. and Van den Brande, J. L. (1978) : The Snell-dwarf mouse II. Sulfate and thymidine incorporation in costal cartilage

- and somatomedin level before and during growth hormone and thyroxine therapy. *Acta Endocrinol.*, 89, 646-658.
- 6) Fabris, N. W., Pierpaoli, W. and Sorkin, E. (1971) : Hormone and the immunological capacity. IV. Restorative effects of developmental hormone or of lymphocytes on the immune deficiency syndrome of the dwarf mouse. *Clin. Exp. Immunol.*, 9, 227-240.
  - 7) Fisher, F. M. (1963) : Production of host endocrine substance by parasite. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 113, 63-73.
  - 8) 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.
  - 9) Hirai, K., Nishida, H., Shiwaku, K. and Okuda, H. (1978) : Studies on the plerocercoid growth factor of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) with special reference to the effect on lipid mobilization *in vitro*. *Jpn. J. Parasitol.*, 27, 527-533.
  - 10) 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.
  - 11) 平井和光・坪井敬文・鳥居本美 (1984) : マンソン裂頭条虫擬充尾虫のストレプトゾトシン糖尿病マウスに対する生物学的作用について. *寄生虫誌*, 33 (補), 61.
  - 12) 平井和光・坪井敬文・鳥居本美・田中盛重 (1985) : マンソン裂頭条虫擬充尾虫の成長促進因子の検出. *寄生虫誌*, 34 (増), 72
  - 13) Hirai, K., Tsuboi, T., Torii, M. and Nishida, H. (1987 a) : Carbohydrate metabolism in intact golden hamsters infected with plerocercoids of *Spirometra erinacei* (Cestoda : Diphyllbothriidae). *Parasitol. Res.*, 74, 183-187.
  - 14) Hirai, K., Tsuboi, T., Torii, M. and Nishida, H. (1987 b) : Suppressive effect of *Spirometra erinacei* plerocercoids on thyroid function in golden hamsters. *Jpn. J. Parasitol.*, 36, 405-409.
  - 15) Hirai, K., Tsuboi, T. and Torii, M. (1988) : Effect of infection with *Spirometra erinacei* plerocercoid on thyroid hormone in mice. *Parasitol. Res.*, 74, 262-266.
  - 16) 平井和光・坪井敬文 (1989) : マンソン裂頭条虫擬充尾虫由来の成長ホルモン様物質の精製とその特性. *寄生虫誌*, 38 (増), 87.
  - 17) 平井和光・坪井敬文 (1990) : マンソン裂頭条虫擬充尾虫が産生する成長ホルモン様物質の特性. *寄生虫誌*, 39 (増), 84.
  - 18) 平井和光・坪井敬文・鳥居本美・西田弘・佐伯修一・久野高義 (1990) : マンソン裂頭条虫の擬充尾虫が産生する肝細胞増殖因子. *愛媛医学*, 9, 525-532.
  - 19) Holt, P. R. and Dominguez, A. A. (1980) : Triton - induced hyperlipidemia : A model for studies of intestinal lipoprotein production. *Am. J. Physiol.*, 238, G 453-457.
  - 20) Kruger, T. E., Smith, L. R., Harbour, D. V. and Blalock, J. E. (1989) : Thyrotropin : an endogenous regulator of the *in vitro* immune response. *J. Immunol.*, 147, 744-747.
  - 21) Lincicom, D. R. (1963) : Chemical basis of parasitism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 133, 360-380.
  - 22) McClelland, G. and Bourn, T. K. R. (1969) : Effects of *Trichobilharzia ocellata* on growth, reproduction, and survival of *Lymnaea stagnalis*. *Exp. Parasitol.*, 24, 137-146.
  - 23) Meyer, F., Kimura, S. and Mueller, J. F. (1966) : Lipid metabolism in the larval and adult forms of the tapeworm *Spirometra mansonioides*. *J. Biol. Chem.*, 241, 4224-4232.
  - 24) Nakamura, T., Teramoto, H. and Ichihara, A. (1986) : Purification and characterization of a growth factor from rat platelets for mature parenchymal hepatocytes in primary cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 6489-6493.
  - 25) Odening, V. K. and Bockhardt, I. (1982) : Zwei europäische *Spirometra*-Formen (Cestodea: Diphyllbothriidae) mit unterschiedlichem Sparganum Growth Factor. *Angew. Parasitol.*, 23, 15-27.
  - 26) 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.
  - 27) Phares, C. K. and Ai, N. D. (1982) : *Spiro-*

- metra mansonioides* : effects of plerocercoid infection on glycogen deposition in rats. *J. Helminth.*, 56, 315-322.
- 28) Phares, C. K. (1984) : A method for solubilization of a human growth hormone analogue from plerocercoids of *Spirometra mansonioides*. *J. Parasitol.*, 70, 840-842.
- 29) Phares, C. K. and Carroll, R. M. (1984) : Insulin-like effects of fatty acids synthesis in liver of hamsters infected with plerocercoids of tapeworm, *Spirometra mansonioides*. *J. Parasitol.*, 55, 25-30.
- 30) Phares, C. K. and Booth, B. J. M. (1986) : Suppression of receptors for prolactin and estrogen in rat liver due to treatment with the growth hormone analogue produced by the tapeworm *Spirometra mansonioides*. *J. Receptor Res.*, 6, 425-446.
- 31) Phares, C. K. (1987) : Plerocercoid growth factor : a homologue of human growth hormone. *Parasitology Today*, 3, 346-349.
- 32) Rodbell, M. (1964) : Metabolism of isolated fat cells. *J. Biol. Chem.*, 239, 375-380.
- 33) Phares, C. K. and Hirai, K. (1990) : Evolutionary implications of a human growth hormone-like factor in the tapeworm genus *Spirometra*. In *Advances in invertebrate reproduction*, Vol., 5, Hoshi, M. and Yamashita, O., ed., Elsevier Science Publisher, Amsterdam, New York, Oxford, 169-174.
- 34) Ruegamer, W. R. and Mueller, J. F. (1973) : Growth responses in thyroidectomized hypophysectomized and alloxan diabetic rat infected with plerocercoids of the tapeworm, *Spirometra mansonioides*. *J. Nutr.*, 103, 1496-1501.
- 35) Salem, M. A. M. and Phares, C. K. (1987) : Insulin-like effects in rat of the purified growth factor from *Spirometra mansonioides* plerocercoids (42512). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 185, 31-38.
- 36) Salem, M. A. M. and Phares, C. K. (1989) : *In vitro* insulin-like actions of the growth factor from the tapeworm, *Spirometra mansonioides* (42851). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 190, 203-210.
- 37) Seglen, P. O. (1976) : Preparation of isolated rat liver cells. *Method Cell Biol.* 13, 29-83.
- 38) Sharp, S. E., Phares, C. K. and Heidrick, M. L. (1982) : Immunological aspects associated with suppression of hormone levels in rats infected with plerocercoids of *Spirometra mansonioides* (Cestoda). *J. Parasitol.*, 68, 993-998.
- 39) Shiwaku, K. and Hirai, K. (1982) : Growth promoting effect of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) plerocercoid in young mice. *Jpn. J. Parasitol.*, 31, 185-195.
- 40) 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との関係. *寄生虫誌*, 31, 353-360.
- 41) Shiwaku, K., Hirai, K., Torii, M. and Tsuboi, T. (1983) : Effect of *Spirometra erinacei* plerocercoid on the growth of Snell dwarf mice. *Parasitology*, 87, 447-453.
- 42) Shiwaku, K., Hirai, K., Torii, M. and Tsuboi, T. (1986 a) : Evidence of the growth factor in mouse serum infected with *Spirometra erinacei* plerocercoids. *Z. Parasitenkd.*, 72, 83-87.
- 43) Shiwaku, K., Hirai, K., Tsuboi, T. and Torii, M. (1986 b) : Enhancement of serum somatomedin activity and cartilage mitotic activity in Snell normal and dwarf mice infected with *Spirometra erinacei* plerocercoids. *Jpn. J. Parasitol.*, 35, 411-417.
- 44) Spindler, K. D. (1988) : Parasites and Hormone. In *Parasitology in Focus*, Mehlhorn, H., ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, 465-473.
- 45) Steelman, S. L., Glitzer, M. S., Ostlind, D. A. and Mueller, J. F. (1971) : Biological properties of the growth hormone-like factor from the plerocercoid of *Spirometra mansonioides*. *Recent Prog. Horm. Res.*, 27, 97-120.
- 46) Terayama, H., Morioka, M., and Koji, T. (1985) : Mitogenic effects of certain catepsins and calciferin on the intact liver *in vivo*. *Int. J. Biochem.*, 17, 949-955.
- 47) 坪井敬文・平井和光・鳥居本美・塩飽邦憲 (1984) : マンソン裂頭条虫断頭擬充尾虫の雄マウスに対する成長促進作用について. *寄生虫誌*, 33, 157-162.
- 48) Tsuboi, T. and Hirai, K. (1986) : Lipid me-

- tabolism in golden hamsters infected with plerocercoids of *Spirometra erinacei*. Parasitology, 93, 143–151.
- 49) 坪井敬文・平井和光・鳥居本美 (1990): マンソン裂頭条虫擬充尾虫由来の肝細胞増殖因子の精製. 寄生虫誌, 39 (増), 84.
- 50) Tsuboi, T., Hirai, K., Torii, M. and Nishida, H. (1991): Decrease of liver glycogen contents in golden hamsters infected with plerocercoids of *Spirometra erinacei*. Parasitol. Res., 77, 320–324.
- 51) Tsushima, T. and Friesen, H. G. (1973): Radioreceptor assay for growth hormone. J. Clin. Endocrinol. Metab., 37, 334–337.
- 52) Yoshikawa, T. and Terayama, H. (1984): Tissue producing the serum factor stimulating the release of cathepsin D from lysosomes *in vitro*. Comp. Biochem. Physiol, 77 A, 39–44.

[Jpn. J. Parasitol., Vol. 42, No. 3, 185–192, June, 1993]

Abstract

– A review –

CHARACTERISTICS OF THE GROWTH HORMONE-LIKE FACTOR  
PRODUCED BY PLEROCERCOIDS OF *SPIROMETRA ERINACEI*

KAZUMITSU HIRAI<sup>1)</sup>, TAKAFUMI TSUBOI<sup>2)</sup> AND MOTOMI TORII<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago 683, Japan

<sup>2)</sup>Department of Parasitology, Ehime University School of Medicine, Shigenobu-cho, 791-02, Japan

Plerocercoids of *Spirometra erinacei* produce a growth factor with characteristics similar to those of mammalian growth hormone (GH) as well as *S. mansonioides* plerocercoids. This growth factor stimulates growth by increasing the somatomedin activities and exhibits other actions of GH, but does not possess the diabetogenic activities intrinsic to mammalian GHs in the carbohydrate metabolism of golden hamsters. Furthermore, this growth factor possess the hepatocyte-proliferating activities and crossreactivity with the specific anti-human GH monoclonal antibody, plus displaces [<sup>125</sup>I]human GH from its receptors on hepatic membranes prepared from the rabbit. Moreover, this factor suppresses the serum levels of T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub>, and GH content in the pituitary. In this paper, we have discussed the significance of this growth factor and differences between the growth factors produced by *S. erinacei* and *S. mansonioides* plerocercoids.