

研究のトピックス

マンスン裂頭条虫擬充尾虫が産生する
成長ホルモン様因子(Plerocercoid Growth Factor)の
宿主-寄生体関係における意義

鳥取大学医学部医動物学講座 (主任 平井 和光教授)

平井和光, 王 浩然, 福本宗嗣, 蓼本早百合, 三浦憲豊

Role of the growth hormone-like factor
(Plerocercoid Growth Factor) produced
by plerocercoids of *Spirometra erinaceieuropaei*
in the host-parasite relationship

Kazumitsu HIRAI, Haoran WANG, Soji FUKUMOTO,
Sayuri TADEMOTO and Kazutoyo MIURA

Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Tottori University

ABSTRACT

Spirometra erinaceieuropaei is extensively distributed in the world and infects domestic and wild cats and dogs. Plerocercoids are able to infect species of all classes of vertebrates except fishes and cause important zoonoses in the human, but have been noticed because of their ability to produce and release a substance, plerocercoid growth factor (PGF), which binds and activates growth hormone (GH) receptors, resulting in accelerated growth of the host. The mice, including Snell dwarf mice, hypothyroid mice, which were infected with plerocercoids had accelerated growth with an increase in the number of the infected plerocercoids. Plerocercoid infection stimulated the incorporation of ³H-thymidine and ³⁵S-sulfate in costal cartilages of Snell dwarf mice, resulting in the proliferation of the cartilage. Plerocercoids, however, decrease in the GH content in the hypophysis and the thyroxine and triiodothyronine levels in the serum of mice. Furthermore, the serum from plerocercoid-infected mice increased in the incorporation of ³H-thymidine in cultured mouse parenchymal hepatocytes and the extract of plerocercoids displaced ¹²⁵I-human GH from its receptor on hepatic membranes prepared from a pregnant rabbit. Therefore, PGF produced by plerocercoids was considered to mimic the physiological actions of GH in the host. This PGF was purified from the extract of plerocercoids as 27 kDa glycoprotein, using GH

receptor-affinity chromatography and gel filtration, and then cross-reacted against the anti-human GH (hGH) monoclonal antibody. A partial amino acid sequence of this protein showed the homology of 67% to cathepsin-L. In addition, this protein stimulated proliferation of the cultured mouse parenchymal hepatocytes and this ability was inhibited by the addition of E64 which was a specific cystein proteinase inhibitor. We are investigating functions of this 27 kDa glycoprotein in host-parasite relationship. Our findings on the role of 27 kDa glycoprotein clarified are as follows;

1. The cDNA of 27 kDa protein was constituted with 1085-bp in length containing an open reading frame of 1008-bp encoding 336 amino acids. The amino acids sequence predicted from the cDNA did not show the homology to that of hGH but showed the homology of 65% to that of mouse cathepsin-L.
2. 27 kDa protein cleaved human IgG and then the worm extract containing this protein also cleaved anti-27 kDa protein polyclonal antibody.
3. 27 kDa protein showed the trypsin inhibitory activity.
4. 27 kDa protein was extensively distributed over the surface of the plerocercoid body, and therefore, it has roles to evade from the attack of the antibody and digestion in the host intestine. Furthermore, this protein must be useful to penetrate tissues for invasion into their hosts. (Accepted on June 3, 1999)

Key words : growth hormone, cystein proteinase, trypsin inhibitor, plerocercoid, *Spirometra erinaceieuropaei*

はじめに

マンソン裂頭条虫 *Spirometra erinaceieuropaei* は、わが国をはじめ広くアジア、ヨーロッパ、オーストラリア大陸に分布する *Spirometra* 属条虫である。また、アメリカ大陸の一部には、*S. mansonioides* が分布する。この条虫の第3期幼虫である擬充尾虫 (Fig. 1) は、ヒトがカエル、ヘビ、ニワトリ肉などを生食することによって感染し、幼虫移行症を惹起させる。一方、擬充尾虫を

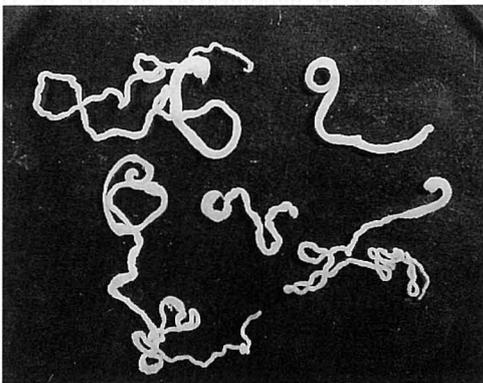


Fig. 1. Plerocercoids of *Spirometra erinaceieuropaei*

実験的にマウスに感染させると、感染擬充尾虫数と量反応関係をもってマウスの成長が促進される^{1,2)}。この成長促進作用は、成長ホルモン分泌不全のスネル侏儒マウス³⁾、プロピールチオウラシル処理甲状腺機能低下マウス⁴⁾などのホルモン分泌不全マウスでも惹起され、さらに、感染マウス血清を接種しても同様の成長促進作用が発現する⁵⁾。擬充尾虫感染マウスの成長促進の機序を追求するために骨成長について観察すると、形態学的に骨端軟骨細胞の増殖促進が認められた。そして、in vitro で van Buul and Van den Brande (1978)⁶⁾の変法で somatomedin bioassay を行ったところ、感染血清は、スネル侏儒マウスの肋軟骨へ³H-thymidine, ³⁵S-sulfateの取り込みを促進し、擬充尾虫感染が血清中のIGF-1活性を増加させ、軟骨細胞の増殖を促進することが明らかとなった⁷⁾。IGF-1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因子を分泌していることが示唆された。Tsushima, et al. (1973)の方法⁸⁾で radioreceptor assay を用いて、擬充尾虫抽出液中の成長ホルモン活性を測定したところ、抽出液は、ヒト成長ホ

ルモン(^{125}I -hGH)と成長ホルモン受容体に対して競合置換した。よって、擬充尾虫感染による成長促進作用は、本虫が産生する成長ホルモン様因子, plerocercoid growth factor (PGF)によって生ずることが示唆された。さらに、感染血清および虫体培養液は、Seglen (1976)⁹⁾のtwo-step in situ collagenase perfusion法で調製した初代培養マウス肝実質細胞の増殖を促進した^{10, 11)}。これらの生理活性を発現するPGFを精製するために、Shui, et al. (1974)¹²⁾の方法で妊娠家兎肝臓より調製した可溶化成長ホルモン受容体を用いて、成長ホルモン受容体結合アフィニティ・クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ(MonoQ)及びゲル濾過法(Superose HR12)にて虫体抽出液を精製した。成長ホルモン受容体に結合する物質は、SDS-polyacrylamide gel電気泳動(SDS-PAGE)で27 kDaの分子サイズを持つ糖蛋白であった。この27 kDa糖蛋白は、immunoblot分析で抗-hGHモノクローナル抗体と交叉反応することが認められ、そして初代培養マウス肝実質細胞の増殖を促進した。27 kDa糖蛋白の部分的アミノ酸配列を明らかにするために、リジン・エンドペプチダーゼ処理後、逆相カラムにてペプチド断片を精製し、分画されたペプチド断片をエドマン分析にてアミノ酸配列を観察した。15個のアミノ酸の配列は、cathepsin-Lと67%の相同性が認められたが、成長ホルモンとの相同性は、観察されなかった^{13, 14)}。

これらの結果から、マンソン裂頭条虫の擬充尾虫は、成長ホルモン受容体に結合し、かつ抗-hGHモノクローナル抗体と交叉するPGFを産生してマウスの成長を促進することが明らかとなったが、この物質は、カテプシン様蛋白分解酵素であった。では、擬充尾虫は、何故このような特異な物質を産生するか、という問題は、宿主-寄生体関係を知る上で大変興味ある課題である。そこでこの課題について若干の検討を行ったのでここに報告する。

PGFの分子生物学的特性cDNAの塩基配列¹⁵⁾

擬充尾虫のcDNAライブラリーを作成するために、mRNA抽出キット(Pharmacia)を用いて虫体からmRNAを抽出し、SuperScript™ Plasmid System Kit (GIBCO)を用い、vectorにpSPORT 1を、E. coli XL-1 blueを宿主細胞として作成し

た。

次いで、PGFのcDNAをクローニングするためのprimerをデザインするにあたって、この蛋白のアミノ酸配列KNSWGSSWGEGGYVKに基づき、下流域primerを5'-KCCCCARCTRTTTT-3'とし、上流域primerをcystein proteinaseの活性基領域に一致する塩基配列5'-TGYGGWTCMTGYTGG-3'としてPCRを行った。得られたcDNA probeは、567 bpであった。このprobeを用いてcDNAライブラリーからPGF陽性クローンをスクリーニングした。これをLB培地で増殖し、plasmidを精製した。M₁₃primerを使って増幅して得られたPGFのcDNAクローンは、Pharmacia autosequencerで塩基配列を判読した(Fig. 2)。このPGFをコードするcDNAの塩基配列は、336アミノ酸残基をコードする1085 bpで構成されていた。そして、この塩基配列は、擬充尾虫のcystein proteinase cDNAとして報告されている塩基配列と98%、*Spirometra mansonioides*のPGFのcDNAと84%、マウスのcathepsin-Lと65%の相同性を持っていたが、hGHとの相同性は、ほとんど認められなかった。

PGFの存在部位とその役割¹⁶⁾

成長ホルモン受容体にhGHと競合置換し、抗-hGHモノクローナル抗体と交叉反応し、かつcathepsin-Lと高い相同性を示す27 kDa糖蛋白の局在とその機能を明らかにするために免疫組織染色法を用いて観察した。擬充尾虫は、マウス皮下から採取した虫体と、その虫体をチューブにてマウス胃内に注入し、腸管内または腹腔内から体部を離断した頭節を回収したものを用いた。回収した擬充尾虫を常法によりPBS緩衝10%ホルマリンで固定、脱水、パラフィン包埋、薄切し、脱パラフィン後、免疫組織化学染色を行った。一次抗体として*S. mansonioides*擬充尾虫由来のPGF, 27.5 kDa糖蛋白の抗マウス・モノクローナル抗体(Nebraska Medical Center, USA, Prof. C. K. Pharesより供与)を用い、ヒストファインSAB-PO kit (生化学工業)にて免疫組織化学染色を施行した。一次抗体として用いた*S. mansonioides*由来の抗-27.5 kDa抗体は、*S. erinaceieuropaei*由来の27 kDa糖蛋白と交叉反応することを確認し、対照血清として非感染正常マウス血清を用いた。2, 400倍に希釈した一次抗体で染色された部位は、

PGF-E	1	MKFVIYVAF---LFFL-----LT-VCRGS-----TG-S-----ETVVRRE	30
PGF-M	1	-----	1
M-Cath-L	1	-----MN-----LL-L--LLAVLCL-GTALA-T---PKFDQTFSAEWHQWKS-THR-R	38
hGH	1	--MATGSRTSLLLAFLGLCLPW---LQE-GSAFPTIPLSRLF-DNAMLRA-----H--R	45
PGF-E	31	LWKAWKLAFAKKEYFSS-EEELHRKR---AFFNNLDFI-IRHNQR--YYQQLSEYAVRLND	83
PGF-M	1	-----	1
M-Cath-L	39	-----LYGTN-EE-EW-RR-AIWEK--NMRIQLHNGEYSNGQHGF--SMEMNA	79
hGH	46	---LHQLA-FDT--YQEFEE-----EAY-----IPKE---QK-----YS	69
PGF-E	84	FSDLTPG-EFAE-----RYLCL-----RGIVLTKLRRKEAVSVP--LKENL PDSVNWRE	129
PGF-M	1	---L-----PDSVNWRE	9
M-Cath-L	80	FG-DMTNEE--FRQVVG--YRQKHKK-GR---LFQ---EPLML--KLEKSVDWRE	122
hGH	70	-----FL--Q-----NP-----QTSLCFS--ESI---PT-P--SNR-	90
PGF-E	130	RGAVTSVKNOGOCGSCWFSFANGAIEGAI--QTKTGA--LRS---L-S--EQQ--LMD	175
PGF-M	10	KGAVTSVKNOGOCGSCWFSFANGAIEGAI--QIKMGI--LPT---L-S--EQQ--LVD	55
M-Cath-L	123	KGCVTPVKNOGOCGSCWAFSASGLE--GOMFLKTKG--LIS---L-S--EQN--LVD	168
hGH	91	--EE---T-Q-QK-----SNL-----ELLRISLLLIQSWLEPVQFLRS--	121
PGF-E	176	CSWDYG---NQ---GC-NGG-LM--PQAFQYAQRY---GVEAEVDYRYTERDCVCRYR-Q	221
PGF-M	56	CSWEYG---NQ---GC-NGG-FM--SLAFQYAQRY---GVEAEVDYRYTAKDCFCR-YQQ	101
M-Cath-L	169	CSHAQG---NQ---GC-NGG-LM--DFAFQYIKENGLDS-E-ESYPYEAQDCSCKYRAE	216
hGH	122	-VF--ANSLVYGASDSNVYDLKDLLEGI--QTLMGR--L-----EDC--SP---	159
PGF-E	222	DLVVANVIGYAELEGGLEQRAVATIGPLISVGI DAD--PG-FMSVSHGVFVSKTGSP	278
PGF-M	102	DMVVANVIGYAELEGGLEQRAVAVIGPLISVGI DAND--PG-FMSVSHGVFVSKTGSP	158
M-Cath-L	217	FA-VANDIGFVDI-PQOEKALMKAVATVGPISVAMDASHPSLQ---FYSSGIYYPNGSS	271
hGH	160	---R-I-----GQ-----IFKQTY-----S	170
PGF-E	279	---Y--AIDHGV-LVVGV--G-A---ENGEAYW--L-VKNSW-GSSW-G-EGGYVKM--	317
PGF-M	159	---D--DINHGV-LVIGV--G-T---ENDEPYW--L-VKNSWGR-SW-GEQ-GYVKM--	197
M-Cath-L	272	---K--NLDHGVLL-VGV--G-YEGTDSNKNKYW--L-VKNSW-GSEWGM-E-GYIKIAK	316
hGH	171	KFDINSHN-DDAL-LKNMGLLYCFRKMMDKVETFLRIVQCR-----SV-E-----	212
PGF-E	318	A-RNRNMCGLIASM-ASYPTV--	336
PGF-M	198	A-RNKNNMCGLIASV-ASYPTV--	216
M-Cath-L	317	DRD---NHCGL-ATAASY-PVVN	334
hGH	213	-----GSC-----GF	217

Fig. 2. Comparison of amino acid sequences of PGF from plerocercoids of *S. erinacei* (PGF-E), *S. mansoni* (PGF-M), mouse cathepsin-L (M-Cath-L) and human GH (hGH). ▼ represents the glycosylation site.

Fig. 3に示すように、虫体表面と外皮細胞層、そして頭節の離断端が染色された。よって、擬充尾虫は、27 kDa糖蛋白を外皮下細胞層で産生し、体表面に分泌し、そして宿主内寄生の必須の過程である体部離断にこの糖蛋白が機能していることが示唆された。

宿主が産生する抗体をPGFが解裂する¹⁷⁾

擬充尾虫は、宿主腸管を穿通して体内を移動し、各種臓器に迷入し長期間宿主体内で生存する。その際、種々の蛋白分解酵素を分泌して臓器内に侵入するものと考えられ、ミオシン、カゼイン、ヘモグロビンなどの分解酵素を産生することが知られている。そして、肺吸虫、肝蛭、有鉤囊虫が産生する蛋白分解酵素が宿主免疫能を抑制す

ることが報告されている。そこで27 kDa糖蛋白は、cystein proteinaseであるcathepsin-Lと高い相同性を有することから、この糖蛋白の抗-IgG抗体に対する作用を検討した。擬充尾虫を1% Triton X-100加25 mM Tris-HCl buffer pH 7.6で抽出し、 10^5 g上清を抽出液とし、抽出液または精製27 kDa糖蛋白を試料とした。10 mM EDTA加25 mM Tris-HCl buffer pH 7.4に溶解した0.5 μ g/mlのビオチン化抗-ヒトIgG (hIgG)抗体を虫体抽出液または27 kDa糖蛋白と37°C, 30 min, preincubateした後、Laemmli法にてSDS-PAGE, immunoblot分析を行った。次に精製された27 kDa糖蛋白で家兎を免疫し、得られた血漿の33%硫酸分画をさらにEcono-pac Serum IgG Purification Kit (Bio-Rad Lab.)にて精製し、抗

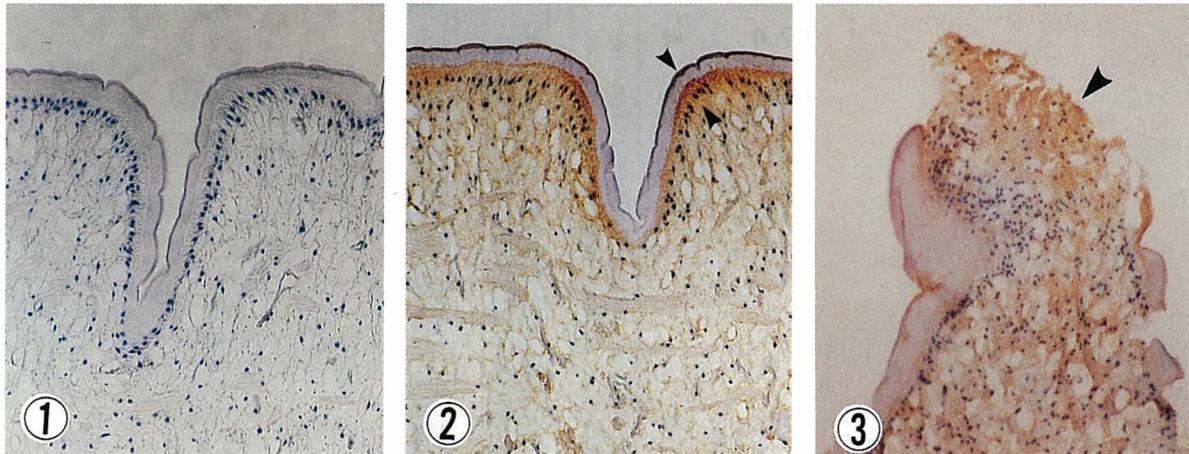


Fig. 3. Immunohistochemical staining of the 27 kDa protein.

① Control, treated with normal mouse serum. ② Localization of 27 kDa protein in plerocercoids, showing distinct staining on surface and subtegumental cells. ③ Expression of 27 kDa protein at shedding site of the neck.

-27 kDa抗体を作成した。このIgG抗体をHarlow et al. (1988)¹⁸⁾の方法でビオチン化した。このビオチン化抗-27 kDa抗体に対して虫体抽出液またはE64, leupeptin, pepstatin処理された虫体抽出液を加え、37°C, 30 min incubateした。反応終了後、同様にSDS-PAGE, immunoblot分析を行った。Fig. 4に示すように、虫体抽出液及び27 kDa糖蛋白は、いずれもビオチン化抗hIgG抗体を解裂させ、特に精製27 kDa糖蛋白は、IgG重鎖のヒンジ部位を解裂させた。さらに、虫体抽出液は、Fig. 5に示すようにビオチン化抗hIgG抗体と同様にビオチン化抗-27 kDa抗体を解裂させ、そしてこのIgG分解活性は、cystein蛋白分解酵素阻害剤であるE64, leupeptinで抑制され、pepstatinでは抑制されなかった。このような結果から、擬充尾虫は、27 kDa糖蛋白で虫体を覆うことによって、宿主が産生するIgG抗体による攻撃を回避することが示唆された¹³⁾。

擬充尾虫はIgG抗体を摂取する？¹⁷⁾

精製した抗ウサギ27 kDa抗体をchloramine-T法を用いてNa-¹²⁵I (ICN Bio. Inc.)で放射化し、ゲル濾過にて精製し、¹²⁵I-抗27 kDa抗体 (15,000 cpm/ μ l)を調製した。マウスから無菌的に取り出した擬充尾虫をペニシリンとストレプトマイシンを含む生理食塩水で4回洗浄した後、24 well multi dishで1隻の擬充尾虫を¹²⁵I-抗27 kDa抗体を含む1 mlのDulbecco's modified essential mediumで

5% CO₂, 95% air, 37°Cで培養した。培養終了後、擬充尾虫を1.0 M NaIで1回洗浄し、続いてPBSで10回洗浄を繰り返した。濾紙で付着した水分を除去した後、秤量し、虫体を1 N NaOHで溶解しガンマー・カウンターで取り込まれた¹²⁵Iを測定した。Fig. 6に示すように、虫体内に取り込まれた放射活性が培養時間の増加とともに30時間まで増加し、そしてFig. 7に示すように培養液中の¹²⁵I-抗27 kDa抗体濃度の増加に伴って虫体内に取り込まれる放射活性が増加した。さらに¹²⁵I-抗27 kDa抗体とともに培養された虫体の抽出液のゲル濾過分画においても放射活性が検出された (Fig. 8)。これらの所見から、擬充尾虫は、分解した抗27 kDa抗体を取り込んでいる可能性が示唆された。

PGFは抗トリプシン活性を有す¹⁹⁾

擬充尾虫は、ヒトなど第2中間宿主に摂取されると、胃及び腸管の消化酵素で消化されることなく生存する。そして腸管内で自ら体部を離断して頭部のみとなり、腸管壁を穿通して腹腔に入り、種々の臓器に迷入する。この際、胃におけるペプシン及び腸管におけるトリプシンなどの蛋白分解酵素から回避する方法を有するものと推測されるので、擬充尾虫がトリプシンを抑制する活性物質を有するか否かを観察した。擬充尾虫を1% Triton X-100を含む25 mM Tris-HCl buffer pH 7.6で抽出し、10⁵ g上清を虫体抽出液とした。抽

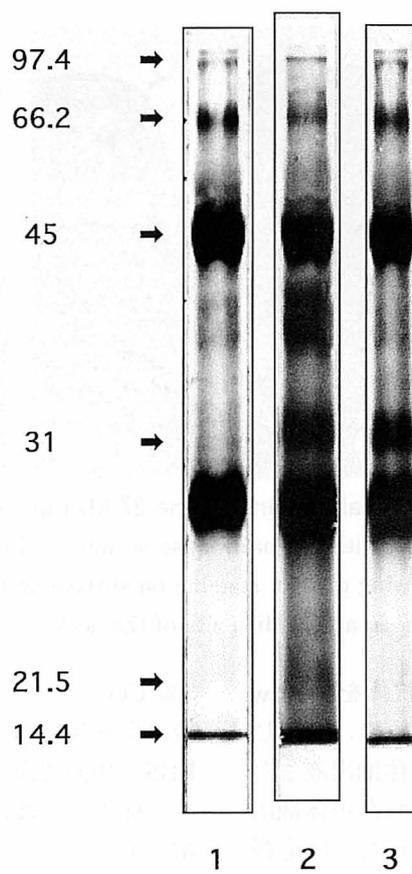


Fig. 4. Effect of 27 kDa protein and worm extract on the biotinylated anti-human IgG antibody.

Lane 1: IgG, Lane 2: IgG added worm extract. Lane 3: IgG added 27 kDa protein

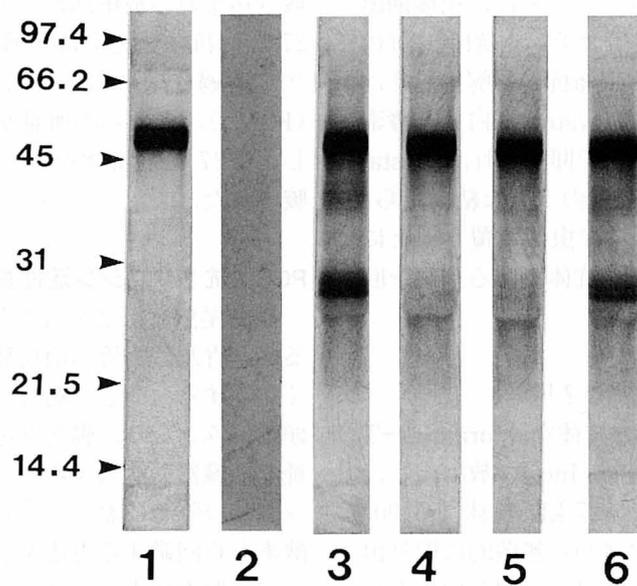


Fig. 5. Effect of the worm extract on the biotinylated anti-27 kDa antibody.

Lane 1: IgG, Lane 2: worm extract, Lane 3: IgG added worm extract, Lane 4: IgG added worm extract incubated with E64, Lane 5: IgG added worm extract incubated with leupeptin, Lane 6: IgG added worm extract incubated with pepstatin.

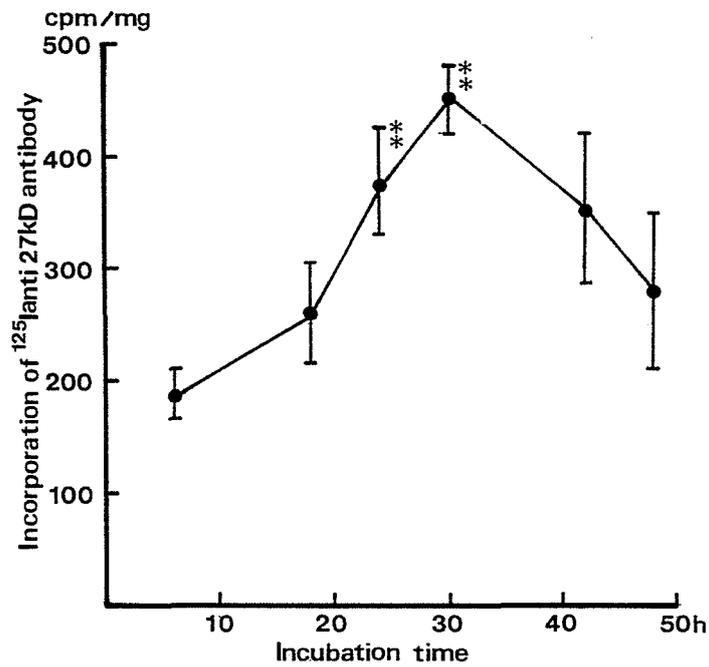


Fig. 6. Incorporation of ¹²⁵I-anti-27 kDa protein antibody into plerocercoids during various incubation times.

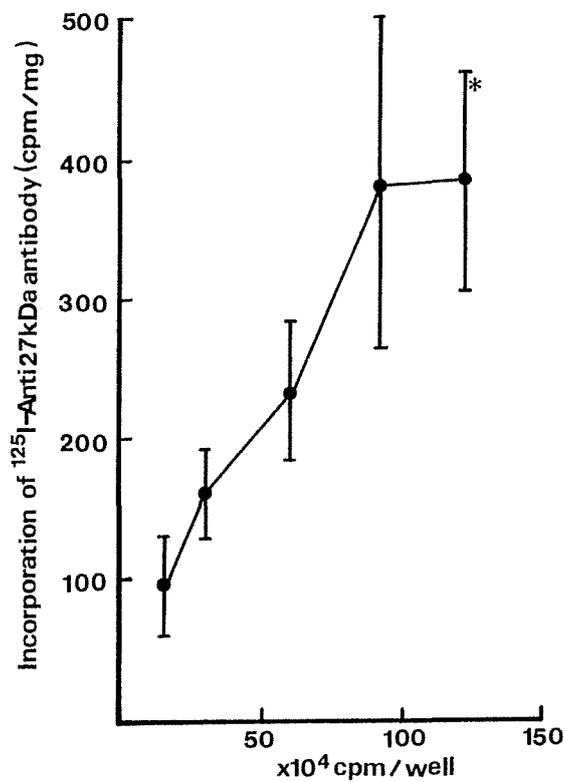


Fig. 7. Incorporation of ¹²⁵I-anti-27 kDa protein antibody into plerocercoids by cultivation with various concentrations of the antibody.

Vertical bars represent standard deviation.

* represents $P < 0.05$ and ** represent $P < 0.01$

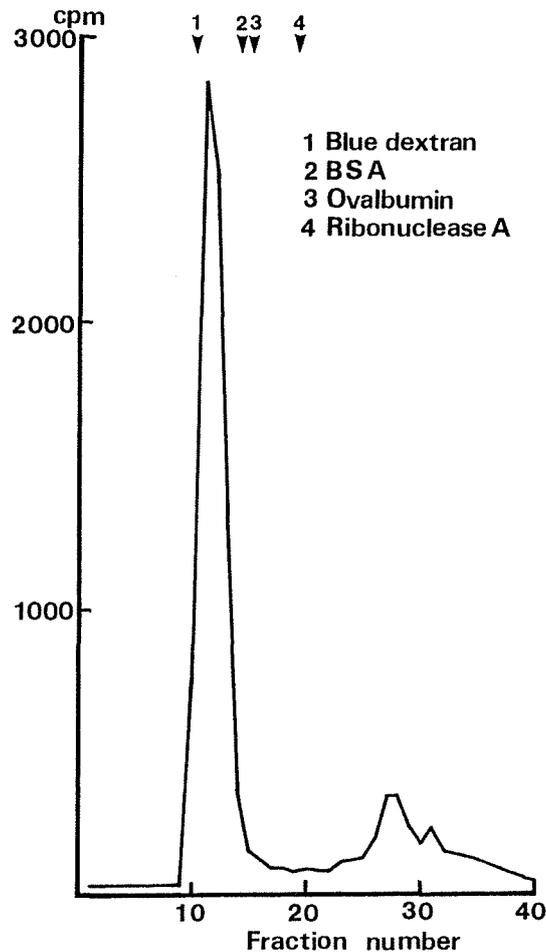


Fig. 8. Elution profile obtained from gel filtration of the worm extract of plerocercoids cultured with ^{125}I -anti-27 kDa protein antibody.

出液を、 $2\mu\text{g}$ のウシ・トリプシンと 35°C 、10 min preincubateした後、5 mgのカゼインを基質として添加し、正確に20 min、 35°C でincubateした。反応液量は、1 mlとした。1.5 mlの5%トリクロロ酢酸を加え反応を停止させた後、反応液を3000 g、20 min遠心沈殿し、上清を分光光度計で280 nmの吸光度を測定した。阻害活性は、 $2.0\mu\text{g/ml}$ のトリプシンで水解されるカゼインによって生ずる吸光度を0.001減少させる阻害活性を1単位とした。また、cathepsin-L様活性は、5.0 mgのazocollを0.1 M CH_3COONa buffer pH 5.4に溶解し、抽出液のazocoll水解活性を吸光度540 nmで測定した。虫体抽出液を0.3 M NaCl加25 mM Tris-HCl buffer pH 7.4で平衡化したTOYOPEARL HW-55カラム(Tosoh Co.)にてゲル濾過を行った。Fig. 9に示すように、280 nmの吸光度で示す蛋白の溶出曲線の第2ピークに一

致してazocollを水解する蛋白分解酵素活性とトリプシン阻害活性が溶出された。トリプシン阻害活性を持つ分画は、MonoQカラム(Pharmacia Biotech.)でイオン交換クロマトグラフィーを行った(Fig. 10)。MonoQにて分画されたトリプシン阻害活性は、再度Superdex 75カラム(Pharmacia Biotech.)でゲル濾過すると、この阻害活性は、No. 23分画に溶出され、そして蛋白分解活性も有していた(Fig. 11)。この分画を還元下でSDS-PAGEを行ったところ、1つのバンドに収斂し、分子サイズは、27 kDaであった(Fig. 12)。このように精製されたトリプシン阻害活性は、PGFとして精製されたものと分子サイズが一致したので、抗-27.5 kDaモノクローナル抗体及び抗-hGHモノクローナル抗体を使ってimmunoblot分析を行った。Fig. 13に示すように、トリプシン阻害活性は、これらのモノクローナル抗体と

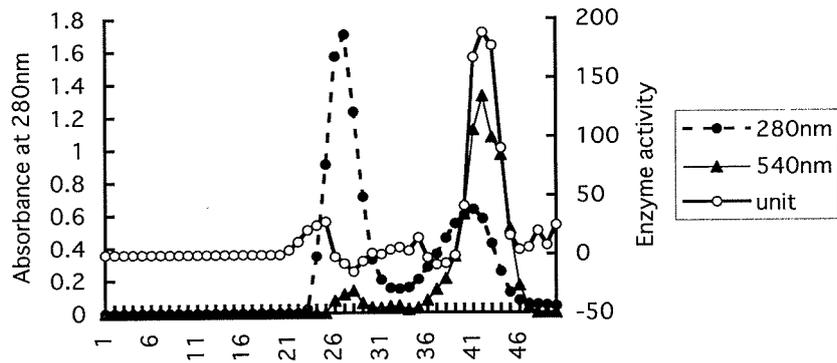


Fig. 9. Elution profiles of enzymes in the worm extract obtained from gel filtration on a column of TOYOPEARL HW-55. 280 nm: protein concentration, 540 nm: Unit of azocoll hydrolyzing activity, unit: unit of trypsin inhibitory activity.

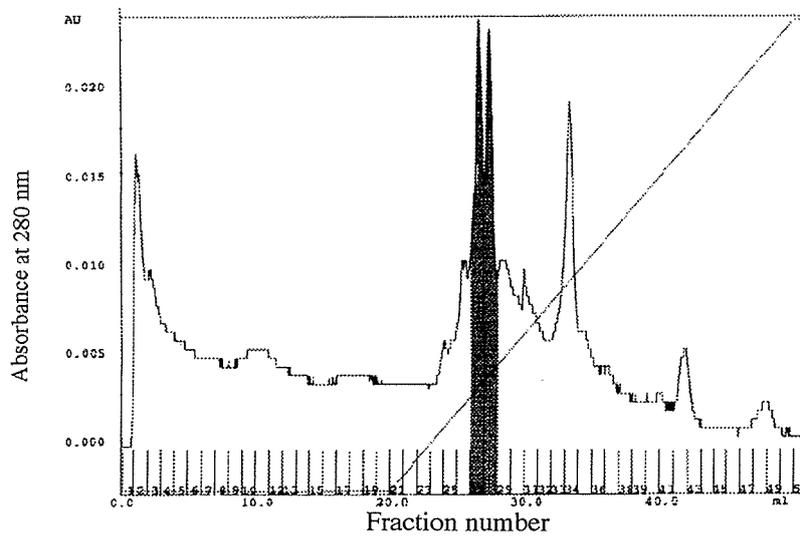


Fig. 10. Elution profile of the trypsin inhibitor isolated by gel filtration on a column of MonoQ. Shaded parts exhibit the existence of trypsin inhibitor.

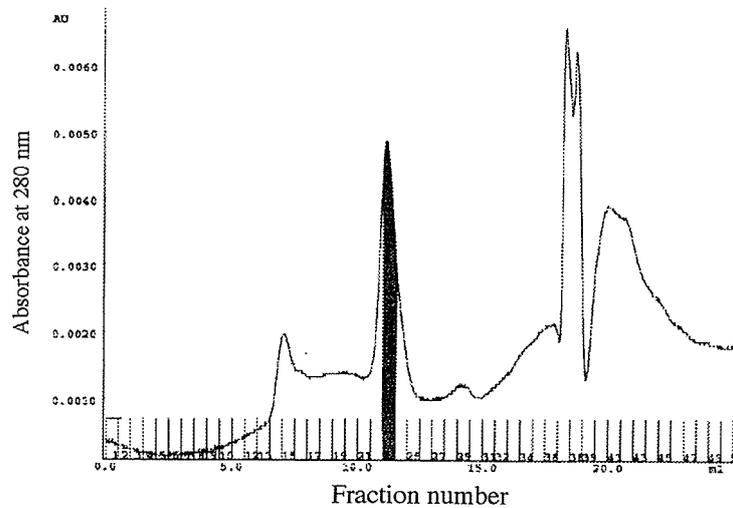


Fig. 11. Elution profile of the trypsin inhibitor on a column of Superdex HR 75. Shaded part exhibits existence of the trypsin inhibitor

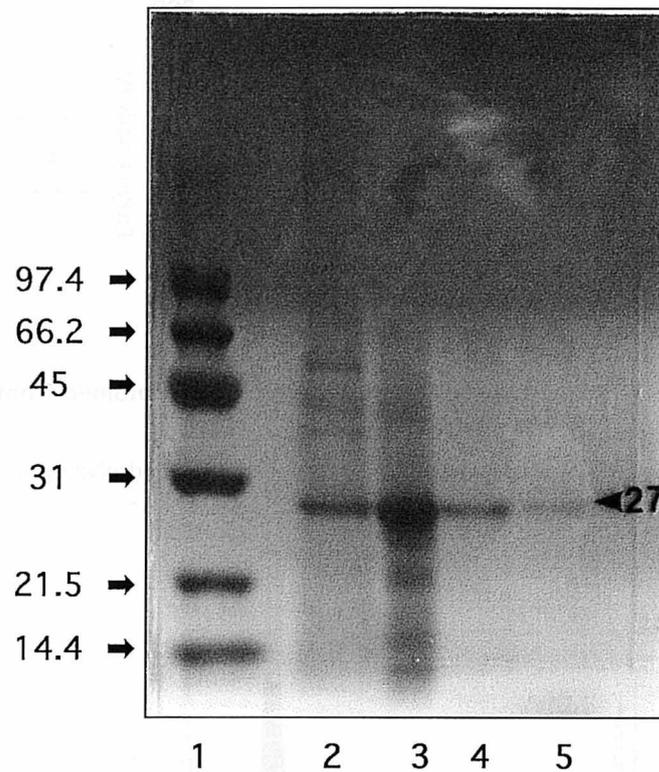


Fig. 12. SDS-PAGE of the trypsin inhibitor.

Lane 1: calibration proteins, Lane 2: crude worm extract, Lane 3: trypsin inhibitor isolated by gel filtration, Lane 4: trypsin inhibitor isolated by MonoQ, Lane 5: pure trypsin inhibitor.

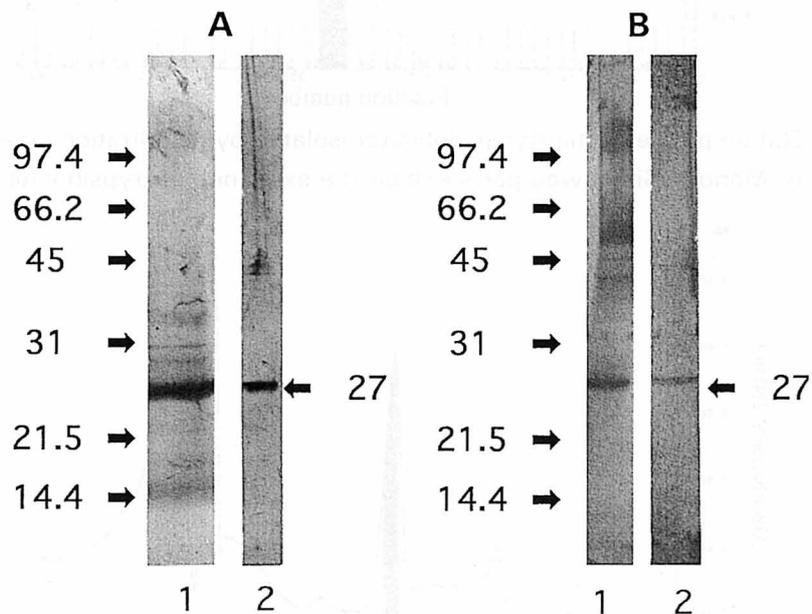


Fig. 13. Immunoblot analysis of the trypsin inhibitor using anti-27.5 kDa protein monoclonal antibody (A) and anti-hGH monoclonal antibody (B).

交叉反応した。よって、擬充尾虫が産生するトリプシン阻害活性は、PGFと同一の物質であることが判明した。

まとめ

マンソン裂頭条虫擬充尾虫は、*S. mansonioides* の擬充尾虫と同様に広範な宿主に適応して寄生生活を営み、かつ成長ホルモン様因子、PGFを産生して宿主の成長を促進するという極めて特異的な寄生虫である。成長ホルモンの生理作用においては、系統樹の上位のものの成長ホルモンは、下位のものに活性を示すが、その逆は活性を持たないのが特徴である。然るに、この特異なPGFは、極めて下等な扁形動物に属する擬充尾虫が産生する物質が哺乳類であるマウスの成長を促進するのである。この特異な物質の宿主-寄生体関係における役割、何故このような特異な生理活性物質を分泌するのかという問題の一端について若干の検討を加えた。

- 1) PGFは、生理活性としては成長ホルモン様作用を発現するが、分子生物学的にはcathepsin-Lに高い相同性を示した。
- 2) 蛋白分解酵素として、宿主の抗体攻撃また抗体依存性の細胞性免疫攻撃を回避するためにIgGを解裂する役割を果たすことが明らかとなった。
- 3) 宿主の消化酵素により自らの虫体が消化されないためにトリプシン阻害活性として機能する。
- 4) PGFは、これらの機能を発揮するために、外被下細胞層で産生され、虫体表面を被覆している。

これらのことが明らかとなったが、今後の課題として融合蛋白の作成とその生理活性についてin vivo及びin vitroでの検討が、早急の課題である。

文 献

- 1) Shiwaku, K. and Hirai, K. (1982) Growth promoting effect of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) plerocercoid in young mice. *Jpn J Parasitol* 31, 185-195.
- 2) Phares, C. K. and Hirai, K. (1990) Evolutionary implications of a human growth hormone-like factor in the tapeworm genus *Spirometra*. *Advances in vertebrate reproduction* V. Hoshi, M. and Yamashita, O. ed. pp. 169-174, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, New York.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) Shiwaku, K., Hirai, K., Torii, M. and Tsuboi, T. (1986) Evidence of the growth factor in mouse serum infected with *Spirometra erinacei* plerocercoid. *Z Parasitenkd* 72, 83-87.
- 6) 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.
- 7) Shiwaku, K., Hirai, K., Tsuboi, T. and Torii, M. (1986) 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.
- 8) Tsushima, T. and Friesen, H. G. (1973) Radioreceptor assay for growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 37, 334-337.
- 9) Seglen, P. O. (1976) Preparation of isolated rat liver cells. *Method Cell Biol* 13, 29-83.
- 10) 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.
- 11) Tsuboi, T., Torii, M., Oka, K. and Hirai, K. (1994) Hepatotrophic activity in mouse serum infected with plerocercoids of *Spirometra erinacei*. *Parasitol Res* 80, 629-633.
- 12) Shiu, P. C. R. and Friesen, H. G. (1974) Solubilization and purification of a prolactin receptor from the rabbit mammary gland. *J*

- Biol Chem 249, 7902-7911.
- 13) 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 (補), 87.
 - 14) 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 (補), 84.
 - 15) Wang, H., Fukumoto, S., Tanihata, T., Hirai, K., Ito, K., Komoda, H., Hori, N. and Sato, K. (1998) Molecular cloning and expression of the gene encoding a growth factor of *Spirometra erinaceieuropaei* plerocercoid. Tada, I., Kojima, S. and Tsuji, M. ed, 9th International Congress of Parasitology, pp. 831-834, Monduzzi Editore, Bologna.
 - 16) Wang H., Tanihata, T., Fukumoto, S., Hirai, K. and Phares, C. K. (1995) Immunohistochemical localization of a 27 kDa protein in the plerocercoids of *Spirometra erinacei*. Jpn J Parasitol 44, 6-11.
 - 17) 平井和光, 谷畑健生, 福本宗嗣, 王浩然. (1995) マンソン裂頭条虫擬充尾虫が産生する27 kDa蛋白及びその他蛋白分解酵素の役割. 寄生虫誌 44(補), 111.
 - 18) Harlow, E. and Lane, D. (1988) Antibody. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York.
 - 19) Hirai, K., Azechi, S., Miura, K., Wang, H., Tademoto, S. and Fukumoto, S. (1998) Purification and characterization of the trypsin inhibitor produced by plerocercoids of *Spirometra erinaceieuropaei*. Tada, I., Kojima, S. and Tsuji, M. ed, 9th International Congress of Parasitology, pp. 1153-1158. Monduzzi Editore, Bologna.