

学 位 論 文 題 名

日本産 *Taenia crassiceps* を用いた
実験モデルの作成およびテニア科条虫の
幼虫におけるポリアミン代謝に関する研究

学位論文内容の要旨

ポリアミンは原核微生物から高等動植物に至るあらゆる生物に広く存在する脂肪族の多価アミンであり、細胞の分化・増殖の必須因子であることが知られている。近年では、癌細胞や原虫などにおける増殖との密接な関係が示唆されており、これらの細胞内でのポリアミン代謝を阻害することにより、癌および原虫症の治療が可能であることが報告されている。特に、アフリカ睡眠病の原因となるトリパノゾーマ原虫では、ポリアミン代謝拮抗剤を用いた治療薬の臨床応用もなされている。囊虫症／包虫症は世界中のヒトや家畜において重要な疾病であり、特にヒトにおける多包虫症は癌と同様に、宿主内で無限に増殖することで問題となっている。したがって、多包虫症においてもその増殖とポリアミンとの関連を解明し、多包虫におけるポリアミン代謝経路を特異的に阻害することが出来れば、多包虫症の治療への応用が可能と思われる。そこで申請者は、囊虫症／包虫症の新しい治療ターゲットとしての応用を目的として、*Taenia crassiceps* を用いた実験モデルの作成を試み、テニア科条虫の幼虫におけるポリアミン代謝に関する基礎的研究を行った。

T. crassiceps は、中間宿主体内で無性増殖する性質を持ち、包虫症研究のために有用な寄生虫である。まず、日本で初めて分離した *T. crassiceps* 様のシスティセルクスを実験的中间宿主であるマウスおよび

スナネズミの腹腔内に接種することにより実験室内継代を可能とした。マウス腹腔内で発育した *T. crassiceps* 様のシスティセルクスは、スナネズミ腹腔内で発育したものに比べて、鉤の発育が不完全であり、本寄生虫の鉤の大きさの差異は、中間宿主の種の違いにより生じることを明らかにした。さらに、システィセルクスを終宿主であるイヌに経口投与することにより成虫を実験的に得た。この成虫の形態学的検索を行い、本種が *T. crassiceps* であることを確認した。

次に、本寄生虫の中間宿主への本来の感染経路である虫卵感染後の発育に関する研究を行った。すなわち、*T. crassiceps* の虫卵をマウス、スナネズミおよびエゾヤチネズミに経口投与し、その感染率を調べたところ、エゾヤチネズミおよびスナネズミは *T. crassiceps* に対して感受性を示したが、マウスは抵抗性であった。また、エゾヤチネズミおよびスナネズミでは腹腔内におけるシスティセルクスの無性増殖は活発であったが、マウスおよびラットでは不良であった。さらに、虫卵を人工的に孵化させて得たオンコスフェアを感染源としてエゾヤチネズミの皮下に接種することにより全例で感染成立し、本法が実験モデルにおいて利用価値が高いことを示した。さらに、日本産 *T. crassiceps* の終宿主体内の発育に関して、そのプレバテントビリオド、小腸内におけるその寄生部位、虫卵の産出数などを明らかとし、テニア科条虫において幼虫段階で無性増殖を行う種に共通の性質を見いだした。

次に、囊虫症／包虫症のモデルとして、多包虫を含む4種のテニア科条虫（中間宿主体内で増殖しない *Taenia hydatigena* および *Taenia taeniaeformis*、無性増殖する *T. crassiceps* および *Echinococcus multilocularis*）の幼虫について、そのポリアミン組成を陽イオン交換カラムを用いた高性能液体クロマトグラフィーにて定量したところ、これら4種のテニア科条虫は主要なポリアミンとして、ブトレッシン、スベルミジンおよびスベルミンの3種を含んでいることが明らかとなった。その組成の比較においては、ブトレッシン含有量が比較的多いことが特

徴であり、特にスベルミジンに対するブトレシンの比率は他の寄生性蠕虫に比べてかなり高い傾向が認められ、テニア科条虫の幼虫は宿主である哺乳動物とは異なった特異なポリアミン代謝経路を有している可能性が示唆された。さらに、これらのテニア科条虫のポリアミン代謝酵素について調べたところ、哺乳動物細胞におけるポリアミン合成経路の必須酵素オルニチン脱炭酸酵素の活性が全4種のテニア科条虫の幼虫組織中には認められなかった。*T. crassiceps* のシスティセルクスに対して *in vitro* 培養および翻転処理などの刺激を加えた場合においても、オルニチン脱炭酸酵素の誘導は認められなかった。一方、哺乳動物細胞におけるポリアミン代謝の逆経路の触媒酵素の一つであるポリアミン酸化酵素の活性はテニア科条虫の幼虫組織中からも検出された。これらの結果から、テニア科条虫が宿主である哺乳動物細胞とは異なる特異なポリアミン代謝経路を有することが強く示唆された。最後に、ポリアミン代謝拮抗剤として癌や原虫の増殖を抑制することが知られている α -ジフルオロメチルオルニチン (DFMO) の多包虫に対する効果を調べた。マウスおよびスナネズミに多包虫を腹腔内接種し、接種日より 2.0% および 3.0% の DFMO 水溶液を飲水投与し多包虫組織重量を測定したが、対象群のそれとの間に有意差は認められず、DFMO 投与は多包虫に対して全く増殖抑制効果を示さないことが明らかとなった。さらに、DFMO 投与後の多包虫組織中のポリアミン組成は対象群のそれと比べて差異はなく、ポリアミン代謝阻害によるポリアミンの減少は認められなかった。DFMO は哺乳類におけるポリアミン合成のための必須酵素オルニチン脱炭酸酵素の特異的阻害剤であり、これらの結果から多包虫がそのポリアミン合成経路においてオルニチン脱炭酸酵素を利用していないことが強く示唆された。

以上、申請者は中間宿主体内で無性増殖する日本産 *T. crassiceps* を利用した多包虫症研究のモデル作成とテニア科条虫におけるポリアミン代謝についての研究を行った。多包虫とその近縁種であるテニア科条虫

は宿主の哺乳動物とは異なった特異なポリアミン代謝経路を有することが明らかとなり、これらの知見は、今後、多包虫症の新しい治療ターゲットへの応用に有用な知見を提供するものと思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 神 谷 正 男
副 査 教 授 中 里 幸 和
副 査 教 授 藤 田 正 一
副 査 助 教 授 奥 祐 三 郎

学 位 論 文 題 名

日本産 *Taenia crassiceps* を用いた 実験モデルの作成およびテニア科条虫の 幼虫におけるポリアミン代謝に関する研究

囊虫症／包虫症は、世界中のヒトや家畜において重要な疾病であり、特にヒトにおける多包虫症は宿主体内で増殖することで問題となる。近年、細胞の増殖必須因子であるポリアミンの代謝阻害剤が癌や原虫の増殖を阻害することから治療薬として応用されている。申請者は、囊虫症／包虫症の新しい治療ターゲットとしての応用を目的に、*Taenia crassiceps* を用いた実験モデルの作成を試み、テニア科条虫の幼虫におけるポリアミン代謝に関する研究を行った。

1) 日本で初めて分離した *T. crassiceps* の実験室内継代を確立し、さらに中間宿主、終宿主への感染実験を行って、その生物学的特性を明らかにした。

2) 4種のテニア科条虫 (*T. crassiceps*、*T. taeniaeformis*、*T. hydatigena*、*E. multilocularis*) の幼虫はポリアミンとして、ブトレッシン、スベルミジンおよびスベルミンを含み、その組成においてブトレッシン含有量が比較的多いことが特徴であった。テニア科条虫からはポリアミン合成酵素オルニチン脱炭酸酵素 (ODC) の活性が認められず、一方ポリアミン酸化酵素活性は検出された。これらのことから、テニア科条虫が宿主である哺乳動物細胞とは異なる特異なポリアミン代謝経路を有することが強く示唆された。

3) ポリアミン合成阻害剤 α -ジフルオロメチルオルニチンは多包虫の増殖を抑制せず、多包虫がポリアミン合成にODCを利用していないことが示唆された。

以上のように、本論文は日本産 *T. crassiceps* を用いた多包虫症研究の実験モデルの作成に貢献したといえる。また、テニア科条虫の幼虫は宿主である哺乳動物とは異なる特異なポリアミン代謝経路を有することを明らかにした。これらの結果は、多包虫症の新しい治療ターゲットの開発に有用な知見を提供するものと思われる。よって審査員一同は、申請者宮地俊氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格が十分あるものと認める。