

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07468

研究課題名（和文）芽殖孤虫の増殖・分裂および転移機序の解明と新規治療法の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanisms of proliferation/division, and metastasis of *Sparganum proliferum* and development of new treatment methods

研究代表者

石渡 賢治 (Ishiwata, Kenji)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：00241307

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：芽殖孤虫はヒト体内で無制限に増殖・播種し、発見が遅れると致死性である。有効な治療薬はなく、世界的に極めて稀な寄生虫症であるが本邦での症例率は高い。マウス腹腔内で維持する孤虫を定期的に回収し、その画像解析から、ほぼ一定の割合で成長するのを確認した。この評価系では、プラジカンテルおよびアルベンダゾールの高濃度投与は効果を認めなかった。孤虫の呼吸鎖酵素は好気および嫌気ともに活性を示し、複合体I阻害剤が極低濃度で阻害した。孤虫と共培養後に色素排除試験で薬剤効果を認めた。超微形態学的に、培養1日のミトコンドリアと核周囲および虫体の外被部分に変化を認め、これら一連の薬剤効果は好気条件でより強力であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

芽殖孤虫症は極めて稀な寄生虫症であるが、無制限な増殖と播種（転移）に加えて、既存の治療薬が効かないということが致死率を上げている要因である。幼虫形が無制限に増殖し転移する条虫は、他にもエキノコックス症を引き起こす多包条虫および単包条虫があるが両種は胚芽細胞の増殖による。個体レベルで成長し、個体数を増やす様子の理解は、生物学的に大変興味深く、得られる知見は寄生虫学を超えて細胞学および発生生物学などの発展のみならず医療への応用が期待される。一方で、芽殖孤虫に有効な治療薬の開発は同時に、有効な治療薬のないエキノコックス症への応用が多いに期待される。

研究成果の概要（英文）： *Sparganum proliferum* multiplies and disseminates in the human body without limitation, and is fatal if detected late. There is no effective treatment for this parasitic disease, and it is extremely rare worldwide, however, the number of cases in Japan is relatively large.

Parasites maintained in the mouse abdominal cavity were periodically collected, and image analysis of these worms confirmed that they grew at a nearly constant rate. In this evaluation system, high concentrations of praziquantel and albendazole had no effect. Respiratory chain enzymes of the worm were active both aerobically and anaerobically and were inhibited at very low concentrations by the complex I inhibitor. The drug efficacy was observed in a dye exclusion test after co-cultivation. Ultrastructurally, changes were observed in the mitochondria, perinuclear and external parts of the worm body at 1 day of incubation, and these series of drug effects were more potent under aerobic conditions.

研究分野：寄生虫学

キーワード： *Sparganum proliferum* Biology Therapeutics development

1. 研究開始当初の背景

(1) 芽殖孤虫症は最初の症例が 1904 年(明治 37 年)に東京で見出されて以来、世界的にわずか 18 症例の報告がある稀な寄生虫症であるが、その中で本邦は 6 症例を占める。最近の症例は芽殖孤虫症が疑われつつも救命できなかった(青島ら 1989)。多くの症例で予後不良の経過をとる要因は、あらゆる臓器での無制限な増殖と個体数の増加、播種(転移)、さらに既存の抗寄生虫薬が効かないことである。

(2) 寄生虫学および医学の観点から芽殖孤虫の重要性が認識され、患者より分離された孤虫が本邦に導入された。現在では世界で唯一、国立科学博物館より引き継いだ慈恵医大で芽殖孤虫が継代維持されている。

(3) 国立科学博物館のグループは、一部の遺伝子解析によって擬葉目のマンソン裂頭条虫に近縁な寄生虫として分類した(Miyadera et al. 2001)。しかしながら、依然として親虫が同定されておらず、自然界における宿主を始めとした生活環、ヒトへの感染経路、感染源が不明のままとなっている。

2. 研究の目的

芽殖孤虫症は極めて稀な寄生虫症であるが、本邦での症例数が多い。ヒトへの感染経路が依然として不明であるものの、新規患者の発生に対処すべく慈恵医大の果たすべき役割は大きい。

本研究は、芽殖孤虫の増殖・分裂および転移の様式を明らかにし、その知見を基に新規治療法を開発することを目的としている。

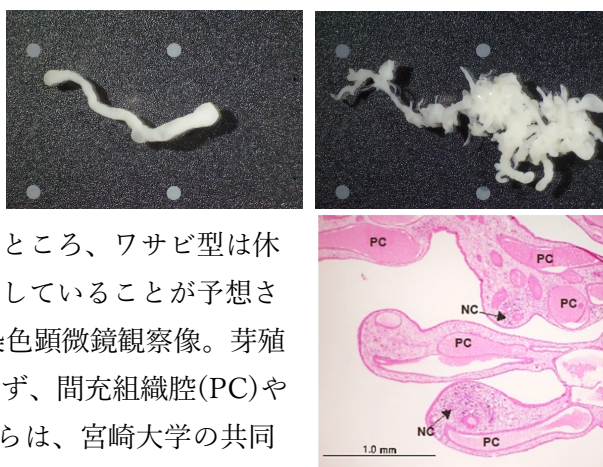
3. 研究の方法

研究の方法は都度、研究成果の部分で記載する。

4. 研究成果

(1) 形態学的差異の特徴

芽殖孤虫は、ワサビ型と称される棒状の形態(図上左; 白点間隔は 1 cm)とメデューサーと称される多様に分岐した形態(図上右)の 2 形態に分類される。この 2 形態について組織学的に生物活性を検討したところ、ワサビ型は休止状態に近く、メデューサー型は活発に活動していることが予想された(図下; メデューサー型の組織切片 HE 染色顕微鏡観察像。芽殖孤虫には神経系や生殖器官の発達がみられず、間充組織腔(PC)や核の凝集(NC)が頻繁に観察される)。これらは、宮崎大学の共同



研究グループの全ゲノム解析によっても支持された。形態的検討は宮崎大学の共同研究者を筆頭著者とする論文に組み込まれた(Kikuchi et al. 2021)。

(2) 芽殖孤虫の成長評価と既存抗寄生虫薬の効果

マウス腹腔内における孤虫の増殖を個別に画像から評価し、ほぼ一定の割合で虫体積が増加するのを確認した。

この評価系を用いて、抗条虫薬であるプラジカンテルおよび体内組織寄生性の幼条虫に対する治療として用いられているアルベンダゾールを通常の処方箋量とその10倍量を連日投与し、それらの効果を検討した。その結果、いずれの用量においても無処置と比較して有意な差を認めなかった。

(3) 芽殖孤虫に対する抗体産生

ホモジナイズした孤虫の可溶性成分をウサギに投与して得た抗血清に、孤虫に対する高い抗体価(IgG)を認めた。これらIgG抗体は孤虫の外被(テグメント)と虫体内部の一部を認識していた。興味深いことに、ウサギの抗血清は感染マウスの血液成分にも反応した。免疫の標的となる虫体成分の検索が可能となった。とりわけ、マウス体内の転移病巣の病理学的解析に大きく貢献する。

(4) 孤虫の生死判別とミトコンドリアを標的とした薬剤に対する感受性

孤虫の生死判別の指標として、色素排除試験を試行した。トリパンプルー色素よりもエバンスブルー色素の方が虫体の損傷を反映していた。孤虫のミトコンドリアの呼吸鎖酵素の活性を調べたところ、嫌気および好気ともに活性を認めた。そこでがんの治療薬として研究が進められている複合体I阻害剤の阻害活性を調べた結果、極低濃度での阻害を認めた。孤虫と共培養後に色素排除試験を試行したところ、虫体表面の損傷部と考えられる部位や死んだと考えられる虫体の深部までが青染した。超微形態学的に、培養1日のミトコンドリアと核周囲および虫体の外被部分に変化を認めた。これら一連の薬剤効果は好気条件でより強く認められた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 Taisei Kikuchi, Mehmet Dayi, Vicky L. Hunt, Kenji Ishiwata, Atsushi Toyoda, Asuka Kounosu, Simo Sun, Yasunobu Maeda, Yoko Kondo, Belkisyole Alarcon de Noya, Oscar Noya, Somei Kojima, Toshiaki Kuramochi, Haruhiko Maruyama | 4. 巻 N/A |
| 2. 論文標題 Genome of the fatal tapeworm Sparganum proliferum uncovers mechanisms for cryptic life cycle and aberrant larval proliferation | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Communications Biology | 6. 最初と最後の頁 N/A |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号） | 所属研究機関・部局・職 （機関番号） | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|