



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

宿主筋肉細胞の核に移行し細胞の脱分化・再分化を誘導する旋毛虫の分泌物質の研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高橋, 優三 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/375

はしがき

研究組織

研究代表者 高橋優三 (岐阜大学医学部教授)
研究分担者 長野功 (岐阜大学医学部講師)

研究経費	平成9年度	1,400千円
	平成10年度	1,500千円
	計	2,900千円

寄生虫の感染時に於ける宿主-寄生虫の相互作用の理解は、寄生虫症の病理の解明に必須である。このテーマに関しては従来、免疫学的な立場から盛んに研究されて来たが、本研究では感染細胞が受ける基本的な影響について注目した。すなわち、感染細胞が、その分化という基本的な状態に変化を起こす事例である。

旋毛虫は宿主筋肉に侵入後、この筋肉細胞を殺す事なく、生きたまま自分の寄生に都合の良い状態(ナース細胞と呼ばれる)に変異させて、自分の寄生の続行を可能にする。

ナース細胞は形態的にも機能的にも筋肉細胞とはまったく異なる。筋肉のように分化しきった細胞を他の細胞に再度分化させる事は、高等動物に於いては極めて困難のはずであるが、旋毛虫は見事に筋肉細胞の脱分化と再分化を促す。これは感染を機会に起こっているが、旋毛虫が分泌する物質を筋肉に投与する事によっても類似の現象が見られる。

研究の目的は二つある。

- 1) 筋肉細胞の脱分化・再分化の惹起を担う外分泌物質(parakine)を旋毛虫から同定・分離する。
- 2) 旋毛虫感染をうけた筋肉細胞を、分化した細胞の再分化現象を研究するユニークかつ絶好のモデルとして確立する。このモデルを形態的、生化学的、遺伝子工学的手法で捉え、脱分化・再分化の過程を明かにする。

細胞分化の制御は、ヒトをはじめとする多細胞生物の根源的問題である。先天奇形、癌、変性疾患等、人類を苦しめる疾病の多くは細胞分化の異常に起因し、分化制御の機序の解明にあらたなる研究の進展が求められている。

cDNA ライブラリーの完成

旋毛虫には5種が知られているが代表的な *T. spiralis* と *T. pseudospiralis* の筋肉幼虫から Pharmacia の mRNA Purification Kit を用いて mRNA を抽出し、TimeSaver cDNA

Synthesis Kit により cDNA を合成した。cDNA は Stratagene の λ ZAPII ベクターに組み込み Gigapack II Gold により in vitro packaging を行った結果、 5×10^5 pfu/ μ g の cDNA ライブラリーを得た。その cDNA ライブラリーを *T. spiralis* 感染マウス血清でイムノスクリーニングしたところ、反応する 10 クローンが得られた。

塩基配列の相同性

代表的な 3 クローンについて部分的な塩基配列を決定した結果、約 1.3Kbp のクローンは Despommier 等が発表した *T. spiralis* hypothetical ORF 9.10 mRNA に相当するものと判断された。約 1.4Kbp (1.3Kbp) のクローンは各種の protease inhibitor と部分的に約 60~80% の相同性を示した。1.5Kbp のクローンについては GenBank の検索では相同性を示す塩基配列の報告はなかった。

大腸菌でのペプチドの合成

イムノスクリーニングで陽性のクローンのペプチドを大腸菌で発現させ、旋毛虫の筋肉幼虫が産生するペプチドを遺伝子工学的に作成した。このペプチドに対する抗体を作成し、蛍光抗体法でペプチドの虫体内における局在を検索した結果、食道腺顆粒に対応するものが多かった。ウエスタンブロットングでは、排泄抗原に一致するものが多く、蛍光抗体法による所見と一致した。

合成されたペプチドの宿主免疫能への影響は、現在実験が進行中である。

研究発表

(1) 学会誌等

Z. WU, I. NAGANO and Y. TAKAHASHI (1999). A panel of antigens of muscle larvae of *Trichinella spiralis* and *T. pseudospiralis* as revealed by two-dimensional Western blot and immunoelectron microscopy. *Parasitology* 118, (in press)

Z. WU, I. NAGANO, E. POZIO and Y. TAKAHASHI Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) for the identification of *Trichinella* isolates. *Parasitology* 118 211-218 1998

Hisao Yoshikawa, Isao Nagano, Zhiliang Wu, Eu hian Yap, Mulkit Singh, Yuzo Takahashi Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Molecular and Cellular Probes*, 12 153-159 1998

Z. WU, I. NAGANO and Y. TAKAHASHI . The detection of *Trichinella* with polymerase chain reaction (PCR) primers constructed using sequences of random amplified polymorphic DNA (RAPD) or sequences of complementary DNA encoding excretory-