

幼若マウスの小形条虫感染に対する反応性

岡本謙一 古川忠明
橋本敦夫 鯉淵英一

昭和大学医学部医動物学教室

(昭和49年2月4日 受領)

小形条虫の虫卵を宿主マウスに経口的に投与するか、または、中間宿主体内ですでに生育した cysticeroid を経口的に投与すると、宿主腸管内に成条虫が生育する。虫卵経口投与の場合には、孵化した六鉤幼虫が一度宿主の腸絨毛内に侵入し、そこで cysticeroid になり、これが腸管内に脱出して成条虫となるが、cysticeroid 経口投与の場合には、このものは腸絨毛内に侵入することなく、直接成条虫になる。虫卵の経口感染を受けたマウスは、その後の虫卵による再感染に対して強い抵抗性を獲得し、再感染は成立しない (Hunninen, 1935; Bailey, 1951; Heyneman, 1962)。これに対し、cysticeroid 投与による感染を受けたマウスは、抵抗性を獲得せず、虫卵による再感染は成立する (Heyneman, 1962)。すなわち、小形条虫に対する抵抗性発現の有無は、この条虫の感染過程で、宿主の腸絨毛組織内で幼虫が発育する時期があつたか否かによるとされている。小形条虫の感染部位である宿主の腸管は、特に免疫学的局所性が問題視されているところであるが、このような部位での感染防御機構を理解する上で、小形条虫は極めて有用な材料である。

著者らは、これまでに、小形条虫を用いて、マウスにおける本条虫の感染機構のいくつかについて検討してきたが (Okamoto, 1968, 1969, 1970; 古川, 1971; 橋本, 1972; Okamoto and Koizumi, 1972)、ここでは、さらに、幼若マウスの小形条虫感染に対する反応性を調べたので報告する。

材料と方法

実験に用いた虫卵は、マウスの腸管から得た小形条虫の成熟体節を顕微鏡下で切りとり、数滴の生理食塩水と共にふるいに入れ、虫体を圧して濾過し、遠心集卵したものである。虫卵はすべて Berntzen and Voge (1965)の方法にしたがつて、ガラスビーズと共にマグネツトス

タラーで5分間攪拌して脱殻し、つぎに 0.025ml 中に所定の数だけ虫卵を含むように調製した。

宿主として ICR 系, dd 系, ならびに C57Bl/6 系マウスを用いた。

実験1: この実験は、生後一定の日齢に達した幼若 ICR 系マウスに経口感染を行ない、再感染に対する防御能がどのように発現するかを観察するために行なつたものである。

実験群は生後0 (生後24時間以内), 3, 7, または10日目に脱殻卵500個を経口投与して初感染を行ない、それぞれ初感染後10日目に2,000個の脱殻卵を経口投与し再感染を行なつた。対照群は実験群の初感染に相当する処置をはぶき、再感染時に相当する生後10, 17, または20日目に2,000個の脱殻卵を経口投与した。生後7日目までの経口投与には、キャピラリーピペットを用い、脱殻卵を所定の数だけ吸わせるようにして与え、10日目以後のものは、針先を切り落した注射針をつけた0.25ml注射筒を使用、食道に挿入して投与した。マウスはすべて再感染後4日目に剖検、初感染由来の成虫の有無と、再感染由来の腸絨毛内の cysticeroid の存否を既報の方法 (Okamoto, 1968) に従つて調べた。なお、腸絨毛内の cysticeroid の観察にあつては、実験3で述べる初感染由来の残存 cysticeroid と、再感染由来の cysticeroid とを区別して、再感染の成立を確認した。

実験2: 実験1の方法に準じて、dd系およびC57Bl/6系マウスの幼若期の反応性を調べ、ICR系マウスの反応性と比較した。

実験3: 成熟マウスの腸絨毛内における cysticeroid の発育期間は通常4~5日間で、その後腸管腔に脱出して成条虫となる。ところが幼若マウスを用いた実験1および2で、虫卵感染14日後でもなお腸絨毛内に残留している cysticeroid が検出された。そこで、このような残存性が宿主のどのような条件下で見出されるかを検討

Table 1 Reinfection rate of *Hymenolepis nana* in infant mice of ICR strain.

Group	Age at		No. of mice examined	No. of mice with adult worms	No. of mice with cysticercoids from challenge	Reinfection rate* (%)
	immune (days)	challenge (days)				
Expts	0	10	20	20	19	95
	3	13	9	9	8	89
	7	17	20	20	2	10
	10	20	9	9	0	0
Controls	—	10	17	0	17	—
	—	17	12	0	12	—
	—	20	10	0	10	—

* : No. of mice with cysticercoids/No. of mice examined \times 100

した。ICR 系マウスを用い、生後0, 3, 7, 10および21日目に500個の脱殻卵を経口投与した。いずれも感染14日後に剖検し、腸管内の成条虫を検査すると同時に、腸絨毛内に残存する cysticercoid を顕微鏡下で検査した。

実験結果

実験1 : Table 1 に実験結果を示した。生後0, 3, 7および10日目に経口感染を受けたマウスより、剖検時1~70条(平均26条)の成条虫を検出し、幼若マウスにおける初感染の成立を確認した。つぎにこれらのマウスに、それぞれ初感染後10日目に再感染を行なったところ、生後0日目初感染のマウスでは、20匹中19匹が、3日目初感染のマウスでは9匹中8匹が、7日目初感染のマウスでは20匹中2匹が再感染していた。再感染が認められたマウスより検出した幼虫数は1~210個(平均49個)であった。生後10日目に初感染を受けたマウスでは、9匹中再感染したものはなかった。対照群のマウスでは、すべてに感染が成立していた。

このように、ICR 系マウスでは、生後7日以前に虫卵の経口感染を行なうと、再感染に対する抵抗性が発現しない個体があることがわかった。

実験2 : ICR, dd ならびに C57Bl/6 系マウスについて、初感染の時期と、再感染が成立したマウスの割合を比較した。結果は Table 2 に示した。上記3系統のマウスについて、経口的に虫卵の感染を受けることにより、完全に再感染が防御される時期を比べると、ICR 系マウスでは生後10日目以後に初感染を行なった場合であるが、dd 系マウスでは生後21日以後、C57Bl/6 系マウスでは28日以後であった。

実験3 : 成熟マウスに虫卵を経口投与し、4~5日後

Table 2 Development of acquired immunity to *Hymenolepis nana* in three strains of mice.

Age at immunizing infection (days)	Percentage of reinfection		
	ICR	dd	C57Bl/6
0	95(20)*	100(7)*	100(9)*
3	89(9)	—	88(8)
7	10(20)	14(7)	100(13)
10	0(9)	33(9)	100(22)
14	—	27(15)	85(13)
21	0(10)	0(10)	59(17)
28	—	—	0(8)

()* : No. of mice tested

に腸絨毛を調べると Photo. 1 に示すような cysticercoid を容易に観察することができる。cysticercoid は日時の経過とともに腸管腔に脱出して成条虫になるために、4~5日以上経過すれば、最早絨毛内に cysticercoid は検出されなくなる。従つて成熟マウスに虫卵を経口投与し、その10日後に虫卵を再度経口的に与えて再感染を行ない、4日後に剖検すると、腸絨毛内には再感染由来の cysticercoid はもちろんのこと、初感染由来の cysticercoid も検出されることはない。ところが、幼若期のマウスに虫卵を経口投与すると、腸絨毛内に長期間 cysticercoid が残存することがわかった。感染14日後に検出された cysticercoid の例を Photo. 2 に示した。ここにいう残存 cysticercoid と、通常虫卵感染4日後に観察される cysticercoid とは、Photo. 1 と2 に示したように、形態的には大きな差が認められない。しかし、残存 cysticercoid に対する宿主の組織反応が著明となり、嚢状を呈するために、両者の区別は容易であった。因みに、実験1と2では、残存 cysticercoid

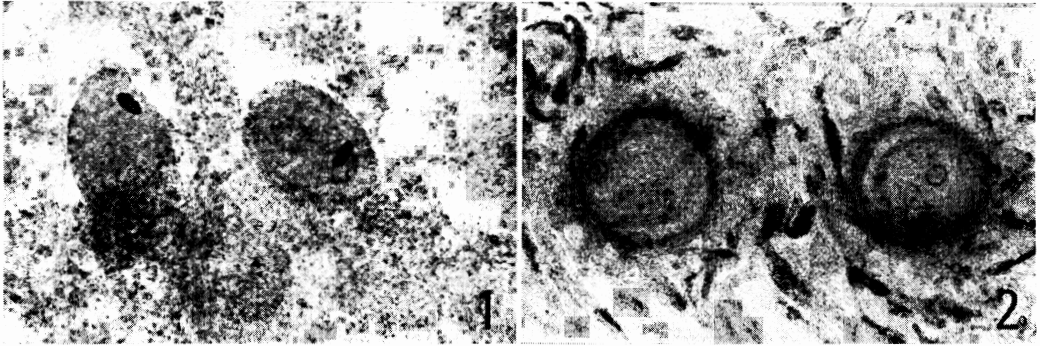


Photo. 1. Mature cysticercoids of *H. nana* in the intestinal villi of an adult mouse 4 days after egg infection.

Photo. 2. Persisting cysticercoids of *H. nana* in the intestinal villi of an infant mouse 14 days after egg infection.

Table 3 Persistence of cysticercoids in the intestinal villi of infant ICR mice infected orally with egg of *Hymenolepis nana* and observed 14 days later.

Age at infection (days)	No. of mice with persistent cysticercoids	No. of mice examined	Average No. of worms recovered		Persistent rate(%)
			Adult	Cysticercoid	
0	21/22		13.0	20.7	61.4
3	9/9		27.7	50.8	64.7
7	16/20		27.3	4.7	14.7
10	0/16		49.3	0	0
21	0/10		42.5	0	0

を除外し、再感染由来の cysticercoid を観察対象にしたことはもちろんである。

そこで、生後何日以内に感染を行なえば、残存 cysticercoid が観察されるかを調べる目的で実験3を行なった。生後0, 3, 7, 10 および21日目の ICR 系マウスに虫卵を経口投与し、2週後に剖検して、腸管内の成条虫と腸絨毛内の残存 cysticercoid を数え、残存の割合を求めた。結果は Table 3 に示した。生後0日に感染を受けたマウスでは、検出された虫体のうち61.4%が cysticercoid のままで絨毛内に残存していた。同様に3日目感染のマウスでは64.7%、7日目感染のマウスでは14.7%が残存していたが、生後10日目以後に感染を受けたマウスでは残存 cysticercoid を検出せず、すべて成条虫に発育していた。

考 察

成熟マウスは本来小形条虫の虫卵経口投与によって一度感染を受けると、再感染に対して強い抵抗性を獲得するものである。ところが本研究の結果から明らかかなう

に、幼若マウスの小形条虫感染に対する反応性は全く異なる。既報の Swiss 系マウスを用いた新生時胸腺摘出実験 (Okamoto, 1970) と、本研究の実験結果について、次の諸点が注目される。すなわち (1) 新生時胸腺摘出マウスは成熟後再感染に対する抵抗性が低下するが、この低下を引きおこすことができるのは、生後7日以内に胸腺を摘出したものに限ること (Okamoto, 1968, 1970)、(2) Swiss 系マウス由来といわれる ICR 系マウスに、生後7日以前に虫卵を経口投与し、後に再感染を行なうと、初感染と再感染が共に成立する。換言すれば、初感染による抵抗性の誘発が無効であったのは、生後7日以前に初感染を行なった場合に限ること、(3) 感染による抵抗性の誘発が無効である時期は、使用したマウスの系統によつて差があり、dd 系マウスでは生後14日間、C57Bl/6 系マウスでは生後21日間と推定されること、および (4) 生後7日未満の ICR 系マウスに虫卵を経口投与すると、腸絨毛内に長い間 cysticercoid が排除されずに残留していることなどである。これらの結果が示すように、マウスは、それぞれの

系統に固有な生後一定の期間、免疫学的に未熟であり、その間における小形条虫の感染に際して、再感染防御能を獲得できないものと考えられる。さらに、ICR 系マウスを例にとると、小形条虫に対する反応性に関して、生後7~10日という時期は重要な意味をもっていること、すなわち、無抵抗から抵抗性発現への逆転が、この時期に起つていることが推測される。

寄生蠕虫の感染に対するマウスの免疫反応に関して、宿主の成熟度が関与する例は、他にも若干知られている。Cypess ら (1973) は Swiss 系マウスの *Nematospiroides dubius* に対する感染免疫について、生後3週以内のマウスでは、幼虫の経口投与による感作が無効であるとし、その原因として、宿主の免疫機構が未熟であることを挙げている。Rubin ら (1971) は *N. dubius* 幼虫の皮下注射によつて Swiss 系マウスを免疫すると、生後5~9週のマウスでは、それ以後のマウスに比べて、抵抗性の発現が劣ると報告している。また彼らは、C57Bl/6系および BALB/c 系マウスでは、上記の手法による免疫がほとんど無効であることを見出し、宿主の系統間における反応性の差をも指摘している点が注目される。さらに、ヒツジの *Haemonchus contortus* に対する感染免疫 (Urquhart *et al.*, 1966)、あるいはラットの *Nippostrongylus brasiliensis* に対する感染免疫 (Jarret *et al.*, 1966, 1968; Kassai and Aitken, 1967) についても、宿主の幼若時の感染による免疫が成立しないことが報告されている。

幼若マウスに小形条虫卵を経口感染したとき、宿主の腸絨毛内に cysticercoid が長期間残留する現象は、従来知られていなかったことである。残留 cysticercoid は、感染後2週を経ているにもかかわらず、幼虫の形態を保つていた。このように、宿主の腸腔内に達し得なかつた虫体が、幼虫の形態のまま生存することは、脱殻卵をマウスの皮下に注射して cysticercoid を発育させた実験でも認められたことである (Di Conza, 1968; 古川 1971)。ICR 系マウスを用いた実験の結果、幼虫の残留が認められたのは、生後7日以内に感染を行なつたときに限られ、この期間は、ICR 系マウスの小形条虫感染に対する免疫学的な不応期に一致していた。このことは、幼虫の残留という現象と、宿主の抵抗性発現の能力との間に何らかの関連があることを示唆している。しかし、その真の原因については、成熟した cysticercoid の腸腔内への離脱の機構とともに、未解決の問題が多い。

ま と め

小形条虫の感染に対する、宿主マウスの幼若時の反応性を検討した。ICR 系、dd 系および C57Bl/6 系マウスを用い、生後0~28日の間に虫卵の経口投与による初感染を行ない、それぞれ初感染10日後に再感染を行なつて、マウスの生後日数と、初感染による抵抗性発現の関係を比較した。結果は次の通りである。

1. 生後7日以前の ICR 系マウスに虫卵を経口投与し、後に再感染を行なうと、初感染と再感染が共に成立した。生後10日以後に初感染を行なうと、再感染は完全に防御されることがわかつた。
2. 初感染による抵抗性の誘発が無効である時期は、マウスの系統によつて差があり、ICR 系マウスでは生後約7日間、dd 系マウスでは約14日間、C57Bl/6 系マウスでは約21日間と推定された。
3. 生後7日未満の ICR 系マウスに虫卵を経口投与すると、腸絨毛内に長期間 cysticercoid が残留する現象が認められた。

謝 辞

本研究に御協力下さつた小泉美弥子氏および鎌田昌子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Bailey, A. V. (1951) : Host-tissue reactions to initial and superimposed infections with *Hymenolepis nana* var *fraterna*. J. Parasit., 37, 440-444.
- 2) Berntzen, A. K. and Voge, M. (1965) : *In vitro* hatching of oncospheres of four hymenolepidid cestodes. J. Parasit., 51, 235-242.
- 3) Cypess, R. H., Van Zandt, P. and Zidian, J. L. (1973) : Development of immunity in mice previously infected at an early age with *Nematospiroides dubius* J. Parasit., 59, 776-779.
- 4) Di Conza, J. J. (1968) : Hatching requirements of dwarf tapeworm eggs (*Hymenolepis nana*) in relation to experimental development of larval stages in mice. Z. Parasitenk., 31, 276-281.
- 5) 古川忠明 (1971) : マウス皮下における小形条虫幼虫の発育と虫卵感染マウスにおけるその発育阻止. 寄生虫誌, 20, 331-340.
- 6) 橋本敦夫 (1972) : 小形条虫の感染免疫に及ぼす抗リンパ球血清の影響. 昭和医学会雑誌, 32, 292-296.

- 7) Heyneman, D. (1962) : Studies on helminth immunity. 1. Comparison between luminal and tissue phases of infection in the white mouse by *Hymenolepis nana* (Cestoda: Hymenolepididae). Am. J. Trop. Med. Hyg., 11, 46-63.
- 8) Hunninen, A. V. (1935) : Studies on life-history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var *fraterna* Stiles) in white mice. Am. J. Hyg., 22, 414-443.
- 9) Jarrett, E. E. E., Jarrett, W. F. H. and Urquhart, G. M. (1966) : Immunological unresponsiveness in adult rats to the nematode *Nippostrongylus brasiliensis* induced by infection in early life. Nature, 211, 1310-1311.
- 10) Jarrett, E. E. E., Jarrett, W. F. H. and Urquhart, G. M. (1968) : Immunological unresponsiveness to helminth parasites: 1. The pattern of *Nippostrongylus brasiliensis* infection in young rats. Exp. Parasit., 23, 151-160.
- 11) Kassai, T. and Aitken, I. D. (1967) : Induction of immunological tolerance in rats to *Nippostrongylus brasiliensis* infection. Parasit., 57, 403-418.
- 12) Okamoto, K. (1968) : Effect of neonatal thymectomy on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. Jap. J. Parasit., 17, 53-59.
- 13) Okamoto, K. (1969) : Effect of cortisone on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. Jap. J. Parasit., 18, 591-594.
- 14) Okamoto, K. (1970) : *Hymenolepis nana* : Depression and restoration of acquired immunity in neonatally thymectomized mice. Exp. Parasit., 27, 28-32.
- 15) Okamoto, K. and Koizumi, M. (1972) : *Hymenolepis nana* : Effect of antithymocyte serum on acquired immunity in mice. Exp. Parasit., 32, 56-61.
- 16) Rubin, R., Lueker, D. C., Flom, J. O. and Anderson, S. (1971) : Immunity against *Nematospiroides dubius* in CFW Swiss Webster mice protected by subcutaneous larval vaccination. J. Parasit., 57, 815-817.
- 17) Urquhart, G. M., Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. H. and Mulligan, W. (1966) : Immunity to *Haemonchus contortus* infection: Relationship between age and successful vaccination with irradiated larvae. Am. J. Vet. Res., 27, 1645-1648.

AbstractHOST RESPONSE TO *HYMENOLEPIS NANA* INFECTION IN INFANT MICE

KENICHI OKAMOTO, TADAAKI FURUKAWA, ATSUO HASHIMOTO
AND EIICHI KOIBUCHI

(*Department of Medical Biology, Faculty of Medicine,
Showa University, Shinagawa, Japan*)

The purpose of the experiment reported here was to determine whether or not mice would develop acquired immunity to *Hymenolepis nana* infection if previously infected with *H. nana* eggs as neonates. ICR, dd and C57B1/6 strains of mice were used as host. Mice were initially given immunizing infection with *H. nana* eggs at 0 (at birth) to 28 days of age and were subsequently challenged with *H. nana* eggs 10 days after the immunizing infection.

The results obtained are as follows:

1. ICR mice suffered reinfection when they were given the immunizing infection at 0, 3 or 7 days of age by oral administration of eggs and challenged 10 days after the immunization. In contrast, mice given the same infection regimen at 10 days or more of age did develop acquired immunity and none of them gave evidence of reinfection. Thus, the ability to acquire the immunity to *H. nana* in the mouse was related to the host's age when initially infected.

2. Differences in the response to *H. nana* infection in infant mice was observed among ICR, dd and C57B1/6 strains of mice. ICR mice given the immunizing infection within 7 days after birth did not develop the acquired immunity. Whereas a similar immunological null response was observed in dd mice immunized within 14 days after birth and in C57B1/6 mice immunized within 21 days after birth.

3. Mice of ICR strain given the oral administration of *H. nana* eggs within 7 days after birth maintained cysticercoids in their intestinal villi for a prolonged time period. These persisting cysticercoids were morphologically recognizable from the mature cysticercoids in the villi of adult mice.