

実験的移行性幼線虫症の研究(2)

犬蛔虫幼虫の侵入に対するマウスの抵抗性について

近藤力王至* 嶋田義治
栗本浩 織田清

京都府立医科大学医動物学教室

(昭和51年7月12日 受領)

緒言

寄生虫の感染を受けた宿主は種々の反応を示すが、特に宿主の感染防御反応についての研究はこれまですくなくない。寄生虫感染の免疫学的研究には古くより蛔虫類が多く用いられ、Stewart (1919), 佐伯(1929), Wagner (1933), 小泉(1937), 福岡(1940)などは人蛔虫及び犬蛔虫を用い、感染に対する宿主の抵抗性の獲得を問題とし検討を行なった。すなわち、再感染した幼虫は生存力の低下、発育の遅れ、他臓器への移行の減少などがみられることを明らかにした。また、Talliaferro and Sarles (1939) は、寄生虫感染を受けた宿主血清とその幼虫との間に一種の沈降反応がみとめられ、これを Sarles 現象と呼称し、この現象を宿主の抵抗性の現れの一つとみなした。

一方、Olson and Schulz (1963), Bisseru (1969), 加藤(1972), 著者ら(1975) は、寄生虫感染時の血液像の変化も、感染に対する宿主の防御反応の現れの一つとして考えた。すなわち、犬蛔虫幼虫を1回あるいは反復感染させたモルモット、家兎、マウスなどの非固有宿主の動物について検討し、感染後に現れる白血球、好酸球などが増加する変化を追跡しようと試み、宿主の防御反応の出現を推測した。Lee (1960) はマウスに犬蛔虫卵2,000個を数回に分けて投与し、同数をただ1回に投与した群と比較したところ、分割投与においては、明らかに肝臓内の検出虫体数が、対照のそれに比べて多いことを明らかにし、肝臓の防御的反応を示唆した。ついで Fernando (1968), 加藤(1973) らは、犬蛔虫幼虫包蔵卵を投与したウサギ、マウスは、再度侵入した同幼虫が肝臓あるいは肺臓に蓄積されることから、宿主が抵抗性

を得ることを認めている。

今回著者らは犬蛔虫幼虫包蔵卵を非固有宿主であるマウスに1回あるいは反復投与し、一定期間をへて同虫卵の challenge 投与を行ない、最終的にマウス諸臓器からの幼虫検出数を比較検討した。この結果から、宿主の抵抗性獲得を示唆し、かつこの際肝臓が関与するであろうとの知見をえたので、ここにその概要を報告する。

材料および方法

実験に供したマウスは総計54頭(生後10~15週、体重20g前後のDD系)で、投与した犬蛔虫幼虫包蔵卵(以下虫卵と略す)はすでに著者ら(1975)が報告したものと同じものである。感染後一定期間を経てマウスを剖検し、その体内から犬蛔虫幼虫を採取した。虫卵の調製、感染及び剖検後の幼虫回収方法は、Oshima (1961), 著者(1970), 著者ら(1975)に準じて行なった。第1実験はA, B, Cの3群についてそれぞれ5頭ずつ計15頭について行なった。Fig. 1に示した如く、A群では虫卵100個を1週間の間隔で5回経口投与し、その後3週間を経過した時点で1,000個の虫卵を challenge 投与した。B群では50個の虫卵を1週間の間隔で10回経口投与し、3週間を経過した時点でA群と同様1,000個の虫卵を challenge 投与した。C群はこれらの実験各群の対照群で、challenge 数と同じ1,000個の虫卵数をマウスに投与したかったが、この数ではほとんどのマウスが死亡した為、本実験では700個の虫卵を1回のみ投与した。A, B群とも challenge 投与後3週間を経た後、C群では1回投与後同様3週間後にエーテル麻酔により死に至らしめて剖検を行い、肝臓、肺臓、脳、体部筋組織、その他の5組織より幼虫を回収し、総検出虫体数と検出率(投与虫卵数に対する検出虫体数の百分比)を求め、相互について比較検討した。第2実験では7群(4~7頭、計

* 現在 金沢大学医学部寄生虫学教室

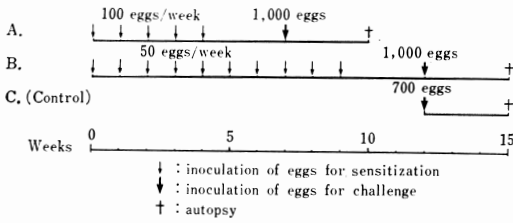


Fig. 1 Schedules of sensitizations by repeated inoculation and challenges with *Toxocara canis* eggs. (Experiment 1)

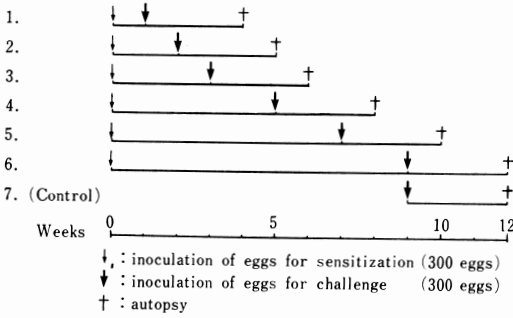


Fig. 2 Schedules of sensitizations with a single dose and challenges with 300 eggs each of *Toxocara canis*. (Experiment 2)

39頭について)のマウスを、Fig. 2に示したように、初めに1回だけ虫卵を投与(感作)し、その後、各群は1, 2, 3, 5, 7, 9 週間の間隔をおいて challenge を行なった。challenge したマウスは3週後にすべてを屠殺剖検し、第1実験と同様に検出幼虫数と検出率を求めた。ちなみに第7群は対照群であつて challenge を行なわず1回のみ虫卵を投与し、3週目に剖検した。いずれも初回(対照の第7群の1回投与も含む)および challenge に用いた虫卵数はそれぞれ300個である。

実験成績

1. 犬蛔虫卵の反復投与(感作)後、同虫卵を chal-

lenge した場合のマウス体内からの幼虫検出状況：

結果は Table 1 に示した如くである。即ち、A群、B群および対照のC群の総検出幼虫数の平均は、それぞれ129.8, 191.6および213.4隻であり、これをその検出率からみると8.68%, 12.8%および30.42%であつた。即ち、A, B 2群(感作群)では対照群より著明な幼虫検出数の減少が認められた。他方、肝臓からの幼虫検出数をみると、検出幼虫数の平均は28.8, 104.8および0.2隻であり、これをその検出率からみると1.9%, 7.0%および0.02%であつた。即ち、検出幼虫数も検出率も共に、感作群では上述の総検出幼虫数の結果とは逆に著明な増加を示し、ことにB群(10回連続投与群)ではその効果が著しいことが明らかにされた。肝臓以外の肺、脳、体筋組織等からの幼虫検出数では、A, B 両群には著しい差違は認められなかつたが、対照群では肺臓から検出される幼虫はなく、体筋組織および脳には比較的多くの幼虫が移行していることがわかつた。

2. 犬蛔虫卵300個を1回だけ投与し、その後一定の間隔をおいて同数の虫卵を challenge 投与した場合の、マウス体内からの幼虫検出状況：

結果は Table 2 に示した如くである。本実験においては1回のみ幼虫侵入、および幼虫の肝臓通過が、再度侵入してきた幼虫におよぼす影響を推察する為に行なわれた。最初の虫卵投与後1, 2, 3, 5, 7, 9 週の間隔をおいて虫卵を challenge した。その結果、いずれの場合も総検出幼虫数の平均およびその検出率は、1回の感作でも対照群に比して減少の傾向がみられた。しかし肝臓では、虫卵の感作投与から challenge 投与までの期間が1週間のものでは0.8%、以下9週間まで1.8%, 4.1%, 2.2%, 2.5%および4.1%となつた。多少の増減はあるものの3週目以降は増加していることが明らかであつた。肝臓以外の臓器についてみると、肺臓ではいずれの群も幼虫は検出されず、脳および筋肉では著し

Table 1 Recoveries of larvae from organs of mice receiving sensitization by repeated inoculations and challenges with *Toxocara canis* eggs

Groups	Number of mice examined	Eggs inoculated for sensitization	Number of eggs challenged	Total number of eggs inoculated	Average number (%) larvae recovered					
					liver	lung	brain	carcass	others	total
A	5	5 doses of 100 eggs per week	1,000	1,500	28.8 (1.9)	0.4 (0.03)	51.8 (3.5)	48.0 (3.2)	0.8 (0.05)	129.8 (8.68)
B	5	10 doses of 50 eggs per week	1,000	1,500	104.8 (7.0)	1.6 (0.1)	38.4 (2.6)	45.4 (3.0)	1.4 (0.1)	191.6 (12.8)
C	5		700	700	0.2 (0.02)	0	93.2 (13.3)	120.0 (17.1)	0	213.4 (30.42)

Table 2 Recoveries of larvae from organs of mice receiving a single dose of 300 eggs at various intervals and challenges with 300 eggs of *Toxocara canis*

Groups	Total number of eggs inoculated	Intervals to challenging from sensitization (weeks)	Number of mice examined	Average number(%) larvae recovered					
				liver	lung	brain	carcass	others	total
1	600	1	7	4.8 (0.8)	0	57.3 (9.6)	133.0 (22.2)	0	195.1 (32.6)
2	600	2	6	10.8 (1.8)	0	62.5 (10.4)	55.2 (9.2)	4.5 (0.8)	133.0 (22.2)
3	600	3	6	24.3 (4.1)	0	70.3 (11.7)	55.2 (9.2)	0.7 (0.1)	150.5 (25.1)
4	600	5	5	13.4 (2.2)	0	63.0 (10.5)	43.0 (7.2)	0	119.4 (19.9)
5	600	7	6	14.8 (2.5)	0	41.8 (7.0)	58.3 (9.7)	0	114.9 (19.2)
6	600	9	4	24.5 (4.1)	0	69.5 (11.6)	62.0 (10.3)	1.5 (0.3)	157.5 (26.3)
7	300	Control	5	0	0	44.2 (14.7)	57.8 (19.3)	0	102.0 (34.0)

い差違はみとめられなかつた。ちなみに対照群では、筋肉組織に幼虫の移行が多いことがみられた。

考 察

宿主が寄生虫（特に蠕虫）の侵入に対してどのような反応、あるいは抵抗性を示すものかについては、緒言で述べたように Sarles 現象を始め、沈降反応、血球凝集反応、補体結合反応に現れる血清学的免疫反応や、生理、病理学的な面から血液像の変化などが検討されている。また、X線照射幼虫や虫体の抽出物質による vaccination などの結果からも、宿主はある程度の獲得免疫が生ずることが証明されている。

ひるがえつて幼虫移行症では、宿主の生体防御反応の1つとして一般に好酸球の増多がみられるが、その発現機序についてはなお不明な点が多い。この好酸球の増加する時期について、小崎(1953)、松村(1963)らは、蛔虫やその他線虫の幼虫が肺を通過し終つた時期と、好酸球の著明な増加がみられる時期が一致すると述べているが、Smith and Beaver(1953)、Pike(1960)、Olson and Schulz(1963)、加藤(1972)、著者ら(1975)などの成績では必ずしも一致せず、虫卵投与後12~14日目頃に好酸球増多がみられている。先述したように、Lee(1960)は、マウスに犬蛔虫卵を分割して投与した群と、同数を一回投与した群とを比較し、分割投与群に肝臓検出虫体数の多いこと、ならびに肝臓において被包(encapsulated)される数がより多いことを指摘した。Fernando(1968)もまた、ウサギに犬蛔虫幼虫包蔵卵を感染させておくと、剖検の結果肺移行の幼虫は少なく、肺に

至るまでに抵抗性を獲得すると述べた。加藤(1973)はマウスに同虫卵を投与し、2週間後に同量の虫卵を投与すると、同様に抵抗性を得、肝臓から多くの幼虫が見出されたと述べている。また、大島(1976)は、二度目の感染からは肝臓や、その他の組織中に捕捉される幼虫が多くなり、これら幼虫に対し免疫学的反応が行なわれ、好酸球増多も持続するのではないかと述べている。このことなどから、さきに著者ら(1975)が、犬蛔虫幼虫包蔵卵の反復投与の投与期間中、およびその後も好酸球増多の傾向が認められたことを明らかにし、移行幼虫が虫卵の反復投与により肝臓に蓄積されるのではないかと推測した。しかし、この様にたびたび幼虫が侵入すると、肝臓から検出される幼虫が増加することと肝臓との関係、換言すれば幼虫侵入に対する肝臓の役割についてはこれまで明らかにされていない。

今回著者らは、上記の観点から、犬蛔虫幼虫包蔵卵を非固有宿主であるマウスに投与した場合、再度侵入してきた幼虫に対して、宿主がどのような反応を示すかを検討した。その結果、虫卵を5回あるいは10回反復投与すると、マウス体内から検出される幼虫の総検出数は、明らかに対照群のそれよりも減少することが認められた。しかしこれを臓器別にみると、特に肝臓では検出される幼虫数が相対的にかなり増加していることがわかつた。即ち、虫卵を反復投与することが、宿主の肝臓に対して、その後の幼虫侵入に抑制的な役割をはたすべく作用しているのではないかと考えられる。しかも、投与回数が高い方がより効果的であるとも思われる結果をえた。

次いで、第2実験では侵入幼虫に対し、肝臓が反応する時期について、虫卵を challenge 投与し、幼虫検出数で検討した。その結果は、幼虫が最も多く肝臓に検出される時期は虫卵投与後3週目前後であつて、その効果はすくなくとも9週目までは持続するものと考えられた。即ち、本幼虫の1回のみの感作でも、3週目以降、かなり長期にわたつて幼虫を肝臓でブロックする効果が持続するのではないかと推測された。

Lee (1960), Fernando (1968) や加藤 (1973) がのべた如く、マウスあるいはウサギに犬蛔虫幼虫包蔵卵を投与してから、再度および反復して同虫卵を投与すると、肝臓から見出される幼虫数が増加する。しかし、著者らは今回の実験によつて、肝臓に幼虫がブロックされることが、その後の侵入幼虫の移行に影響し得ること、即ち反復感染による肝臓の抵抗性獲得への役割を示唆する結果がえられた。しかも虫卵投与の回数、期間およびその効果についても今回明らかにすることができた。ただ本実験で示されたように、反復投与した場合の検出虫体の総数が、一回のみ同数を与えた場合より減少する結果を得たことについては、今回は明らかになしえなかつた。この点について Lee (1960) もふれているが、腸管壁の免疫防御機序の発現の有無等、今後さらに詳細な検討の必要が痛感される。マウスを用いての本実験結果は、人における犬蛔虫幼虫移行症 (visceral larva migrans) の場合、肝臓から幼虫を検出することが診断上効果的であること、および自然界においてこの様な感染様式をとっているであろうとの推察をも裏付けるものと思われた。

結 論

犬蛔虫幼虫包蔵卵を1回あるいは数回マウスに経口投与し、その後に侵入した同幼虫がどの様な臓器内移行を示すかを明らかにして、宿主の抵抗性の有無を検討した。その結果、次に示す様な成績を得た。

1. マウスに予め週1回100個の虫卵を5週にわたり反復投与した群と、50個の虫卵を10週にわたつて投与した群の総検出幼虫数からみた検出率は、それぞれ129.8隻(8.68%)と191.6隻(12.8%)であり、非感作群(control)のそれの213.4隻(30.42%)に比して減少を示した。これに対して、肝臓では逆に上記感作2群での検出率は28.8隻(1.9%)、104.8隻(7.0%)となり、対照群の0.2隻(0.02%)に比較して著明な増加を示した。

2. 予め300個の虫卵を感作投与しておき、その後1~9週の間隔においてそれぞれ同数の虫卵を再度投与し、

対照群の幼虫検出率と比較してみると、検出率では感作群に減少をみとめたが、肝臓には逆に著明な増加を認められた。

3. 以上の結果から、マウスに犬蛔虫幼虫包蔵卵の経口投与による感作は、明らかに challenge による幼虫の体内侵入に抑制的な効果を示すこと、ならびに感作後の幼虫が肝臓に多く集積される事実から、肝臓における防禦的役割を考察せしめた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜つた吉田幸雄教授、並びに御助言を頂いた金沢大学医学部寄生虫学教室吉村裕之教授に厚く感謝の意を表します。また、本実験に協力して頂いた福田時男氏に感謝致します。

(本論文の要旨は第27回日本寄生虫学会西日本支部大会、第42回日本寄生虫学会総会(1973)において発表した。)

文 献

- 1) Bisseru, B. (1969): Studies on the liver, lung, brain and blood of experimental animals infected with *Toxocara canis*. J. Helminth., 43, 267-272.
- 2) Fernando, S. T. (1968): Immunological response of rabbits to *Toxocara canis* infection. Parasitology, 58, 91-103.
- 3) 福岡俊一(1940): 蛔虫後感染抵抗性成生機転に関する実験的研究. 慶応医学, 20, 781-811.
- 4) 加藤信博(1972): 実験的犬蛔虫症の研究(1), 感染ウサギの血球および血清成分の変動. 岐阜大医紀, 20, 633-642.
- 5) 加藤信博(1973): 実験的犬蛔虫症の研究(3), 既感染または既感作マウスの後感染抵抗性と感染マウスの Diethylcarbamazine 投与による治療効果. 岐阜大医紀, 21, 159-168.
- 6) 小泉 丹(1937): 腸内寄生線虫後感染抵抗性獲得に関する考察. 日寄会第9回総会及び講演要旨, 58-60.
- 7) 近藤力王至(1970): 移行性幼線虫症の実験的研究. 京府医大誌, 79, 32-56.
- 8) 近藤力王至・栗本 浩・織田 清・嶋田義浩・高野 登・藤沢喜久子・大高恵子(1975): 実験的移行性幼線虫症の研究(1), 犬蛔虫幼虫感染マウスの血液像. 寄生虫誌, 24, 137-143.
- 9) Lee, H. F. (1960): Effects of superinfection on the behavior of *Toxocara canis* larvae in mice. J. Parasit., 46, 533-538.
- 10) 松村龍雄(1964): 蛔虫毒と蛔虫アレルギー. 日本における寄生虫学の研究(4), 199-234, 目黒寄生虫館, 東京.
- 11) 森下哲夫(1961): 蛔虫の免疫. 日本における寄生虫学の研究(1), 279-306, 目黒寄生虫館, 東

- 京.
- 12) Olson, L. J. and Schulz, C. W. (1963) : Nematode induced hypersensitivity reactions in guinea pig: Onset of eosinophilia and positive Schultz-Dale reaction following infection with *Toxocara canis*. Ann. N. Y. Acad. Sci., 113, 440-455.
 - 13) 小崎逸郎(1933) : 蛔虫の感染に関する実験的研究. 日寄会第回5総会及び講演要旨, 53-55.
 - 14) Oshima, T. (1961) : Standardization of techniques for infecting mice with *T. canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. J. Parasit., 47, 652-656.
 - 15) 大島智夫(1976) : 無寄生虫ビーグルを用いてのイヌ蛔虫感染実験. 「実験用ビーグルの研究」—その繁殖, 成長, 薬理, 生理, 疾病— 353-374, ソフトサイエンス社, 東京.
 - 16) Pike, E. H. (1960) : Effects of diethylcarbamazine, orsophenarsine-hydrochloride and piperazine citrate on *Toxocara canis* larvae in mice. Exp. Parasit., 9, 223-232.
 - 17) 佐伯丈助(1929) : 蛔虫免疫の実験的研究. 第1編, 結論, 文献概要及び抗体元に就て. 日微生物病理誌, 23, 1497-1592.
 - 18) Smith, M. H. D. and Beaver, P. C. (1953) : Persistence and distribution of *Toxocara* larvae in the tissues of children and mice. Pediatrics, 12, 491-496.
 - 19) Stewart, F. P. (1919) : 森下哲夫(1961)より引用.
 - 20) Taliaferro, W. H. and Sarles, M. P. (1939) : The cellular reaction in the skin, lung and intestine of normal and immune rats after infection *Nippostrongylus muris*. J. Infect. Dis., 64, 157-192.
 - 21) Wagner, O. (1933) : 森下哲夫(1961)より引用.

AbstractEXPERIMENTAL STUDIES ON "VISCERAL LARVA MIGRANS"
2. ON RESISTANCE OF MICE RECEIVING SENSITIZATION AND
CHALLENGE WITH *TOXOCARA CANIS* EGGS

KAORU KONDO, YOSHIHARU SHIMADA, HIROSHI KURIMOTO AND KIYOSHI ODA

*(Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of
Medicine, Kyoto, Japan)*

The host resistance of mice receiving sensitization and challenge with *Toxocara canis* eggs was examined by recovery numbers or rates of larvae from various organs of mice, in comparison with those from non-sensitized mice.

All of mice were sacrificed at 3 weeks after challenge to sensitized mice or after a single dose inoculation to non-sensitized mice.

In the first experiment, 15 mice were divided into three groups as Group A, Group B and Group C, composing of 5 mice each as shown in Table 1.

Recovery rates in total numbers from Group A receiving 5 doses of 100 eggs inoculation followed with challenge of 1,000 eggs from Group B receiving 10 doses of 50 eggs followed with challenge of 1,000 eggs and from Group C (control) receiving a single dose of 700 eggs were 8.68%, 12.8% and 30.42% respectively. Accordingly recovery rates of larvae in total numbers from sensitized mice were significantly smaller than that of non-sensitized mice. On the contrary, recovery rates of larvae from liver of Group A, B and C were 1.9%, 7.0% and 0.02% respectively. Therefore, recovery rates of larvae from liver in sensitized mice were significantly larger than that of non-sensitized mice.

In the second experiment, 39 mice were divided into 7 groups composed of 4 to 7 mice each, as shown in Table 2. Six groups given sensitization with 300 eggs each were challenged with the same dose at various intervals of 1, 2, 3, 5, 7 and 9 weeks respectively. All mice were sacrificed 3 weeks after challenge. The control was fed a single dose of 300 eggs at three weeks before autopsy. The recovery numbers and rates of larvae from liver of sensitized mice showed a significant increase, ranging from 0.8% to 4.1%.

From the present study, the relative increase of the larvae in the liver of mice receiving sensitization suggests that immunomechanism of the liver may possibly play a role against *Toxocara* larvae invasion into host.