

ヅビニ鉤虫に於けるサーレス現象に関する研究

第 1 篇 ヅビニ鉤虫仔虫定量感染とサーレス現象発現状況について

永 井 光

大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部 (部長 森下薫教授)

(昭和 30 年 10 月 24 日受領)

1. 緒 言

寄生虫の感染免疫に関する研究は、近年に到つて漸く多数の報告を見、蠕虫類の免疫現象も細菌や原虫の免疫現象と同様な機序を持つて現われる事がうかがわれる様になつて来た¹⁾²⁾。

それ等種々の寄生虫の免疫現象の内極めて特異なものとして、1938年 Sarles³⁾ が *Nippostrongylus muris* に感染させた白鼠の血清と、その幼虫を *in vitro* で作用させると口、肛門、排泄口、陰門等の仔虫体開口部及び虫体周囲に沈降物 (Precipitate) を生ずる事を発見した報告がある。彼は更にその翌年 Taliaferro と共に *in vivo* でも同様現象が見られる事を証明し⁴⁾、此の様な沈降物形成が免疫された宿主の再感染仔虫殺滅現象に重要な役割を演ずる事を提唱したのであるが⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾、爾来この種の実験に対する関心が高まり、他の線虫類についても次々と同様な現象が証明されるに到つた⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。今までに此の現象の認められた線虫名を発表年順に整理すれば、第 1 表の如くなる。

第 1 表に見られる様に今までに試験された線虫の種類と実験動物の関係は、固有宿主のものばかりと限らず、Otto⁵⁾ 及び Oliver-González⁹⁾ は非固有宿主の動物を用いて同様の現象を認めている事は興味深い。

この事実から本現象は固有宿主、非固有宿主を問わず該仔虫感染があれば出現する可能性があり、感染した仔虫がその宿主体内で發育して母虫となる所謂寄生の成立乃至その母虫の産卵とは必ずしも関係するものでない事が推察される。

又 Sheldon 等⁹⁾ の実験は *Necator americanus* を用い

Akira Nagai: Studies on the Sarles' phenomenon with *Ancylostoma duodenale* (Report I). Quantitative studies on the Sarles' phenomenon in the infection by the larvae of *Ancylostoma duodenale*. (Department of parasitology, Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

宿主の人血清中に於いて、本現象の営まれるのを発見した最初のものであるが、宿主糞便内卵の多少と現象の陽性度が一致せずその解釈に苦しみ、本現象出現に要する因子として 3 つの条件を考察しているが結局決定的な結論は示し得なかつた。

先述の如くこの現象が線虫仔虫による感染免疫と密接な関係にあるものと想像されるに拘らず、感染動物に於ける現象成立機転については今尚多くの点で不明のまま残されているのである。

その理由は実験に供された仔虫の種類により、仔虫の發育環、感染能力等を異にし、実験を遂行出来ない場合が生じて来るので究明範囲が限定され、従つて系統的に追求するのが困難な為と思われる。故にこの目的に適した線虫を選んで、且定量的感染実験が可能である場合、この現象に関する研究が更に進展するものと考えられる。

私は本邦に多数の感染者をもつヅビニ鉤虫 *Ancylostoma duodenale* を用いて、家兎に定量的感染を行い、本現象の成立を認めたので、この仔虫による同現象の成立状況を先づ究明する事にした。

本現象は従来知られる免疫反応とは性質上大いに異なる所があるので、これに対し最初の報告者の名をとつてサーレス現象 (Sarles' phenomenon) と呼称することを提案し、本文に於いてはこの名を用いる。この現象は上述の如く、種々なる線虫類について見られる外、吸虫類¹¹⁾¹²⁾¹³⁾、条虫類¹⁴⁾にも類似のものが認められている。吸虫類、条虫類での反応像はそれ等の報告によれば、線虫類の場合と余程異なるが、同様の機構によつて発現するものと考えられる (例えば Vogel 及び Minning の Cercarienüllenreaktion 或は CHR 現象は吸虫類でのサーレス現象と私は考えている¹³⁾) ので、サーレス現象とはこれら宿主感染免疫と関係のある沈降物形成反応を総括した名称としてこれを用いたい。

本論文では線虫に於けるサーレス現象を *Ancylostoma*

第1表 サールズ現象を認められた線虫名

線 虫 名	報 告 者	年	免 疫 動 物
<i>Nippostrongylus muris</i>	Sarles, M. P. ³⁾	1938	rat
<i>Ancylostoma caninum</i>	Otto, G. F. ⁵⁾	1939	dog and rat
<i>Trichinella spiralis</i>	Oliver-González, J. ⁶⁾	1940	rat
<i>Strongyloides ratti</i>	Lawler, H. F. ⁷⁾	1940	rat
<i>Necator americanus</i>	Sheldon, A. J. and Groover, M. E. ⁸⁾	1942	human
<i>Ascaris lumbricoides var. suum</i>	Oliver-González, J. ⁹⁾	1943	rabbit
<i>Ascidia galli</i>	Sadun, E. H. ¹⁰⁾	1949	chicken

duodenale を用いて追求し、寄生蠕虫全般の同現象について考察する。

2. 実験材料及び観察方法

実験に供したツビニ鉤虫仔虫は、感染者の糞便内卵を培養して得た。即ち灌水法に依つて糞便を数回洗滌して可及的上清が透明となるのを待つて得た沈渣と共に、普通濾紙上に盛り、それを少量の水を入れたシャーレ内に水面より少し高くした台の上ののせて、濾紙の一端がシャーレ内の水につかる様になし、シャーレはツビニ鉤虫卵孵化の至適温度である28~30°Cの保温器内に入れて培養する。仔虫は大体3日目から孵化し、仔虫固有の趨水性によりシャーレ下部の水中に游出するのであるが、培養開始後8~15日を経て、第2期の感染型仔虫(被鞘幼虫⁵⁾)となつたものを感染及びサールズ現象の観察に使用する。

仔虫は孵化游出後、実験に供する迄に死滅するものがあるので、使用のたび毎に、直前に Baermann 氏法を用いて活潑なものを集め、直接或は稀釈法によつて定量する。

実験動物は非固有宿主の家兎を使用し、体重 1.5~3 kgの圭として雄を選んだ。

サールズ現象の観察方法は、免疫家兎血液を耳静脈より採り、血清を分離し、働性のまゝこれの約 0.3cc をホールオブジェクト内に入れる。一方上述の感染型仔虫を 20,000 倍マーソニン液に30分間浸漬する事によつて消毒し、更に3回滅菌蒸留水で洗滌した後、1枚のホールオブジェクト宛約 100~300隻の割に入れる。ホールオブジェクトは大型カバーグラス(22×40mm)で被い、パラフィン(52°C融点のもの)で周囲を閉ぢ、38°C 孵卵器内に入れる。かくして 2 日目と 5 日目の沈降物形成の有無、量を観察する。

実験動物は使用前にあらかじめ対照的に採血して、サールズ現象陰性である事を確かめてから実験に供した。

ホールオブジェクト、カバーグラス等は乾熱滅菌を行つたものを使用し、以上の採血から仔虫を投入してパラフィンで封じるまで可及的無菌的に操作した。

3. ツビニ鉤虫仔虫による沈降物形成像

ツビニ鉤虫の感染型仔虫を家兎血清中に入れると、大部分の仔虫は間もなく脱皮して第3期幼虫⁵⁾となり、血清中で数日間活潑に運動しているが、その間發育は認められない。

本仔虫による沈降物は、Sarles¹⁵⁾ の *Nippostrongylus muris* に於ける所見と非常によく似て居り、透明稍緑色無構造な物質で多型性、光をつよくまげる。然し本仔虫の運動が血清中で 38°C に保温した場合は非常に活潑な為、免疫血清と接触後約 6 時間で沈降物が認められる様になるのであるが、48時間以内では一旦形成された沈降物が仔虫体から離れて血清中に游離し、その後、やゝ仔虫の活動の衰えた頃になつてはじめて口端、排泄口に附着しているのが認められる場合が多いのがその特徴である。それ等の沈降物は爾後 4~5 日間は漸次増加して来る。

肛門部に認められる例は比較的少く、且かなり時間を要するものゝ様で、5日以後の観察で認められる様になる場合が多い。又本仔虫の生殖原器附近から殆ど沈降物を生じない。しかし脱皮して残された鞘皮の頭部(こゝから虫体が脱出して次期仔虫となる)に著明な沈降物が見られる場合があるのは甚だ興味深い所で、これも鉤虫仔虫によるサールズ現象の特有像と考えられる。口腔内及び消化管内に沈降物を生ずる事もあるが、これも時間を要する場合が多く、5日以上経過を要する。

沈降物形成は上記培養感染型(第2期)仔虫による外、これをマウスに感染させ48時間後その肺よりとり出した仔虫(感染マウスの肺をハサミで細かく切りきざんで Baermann の装置にかければ趨温性により仔虫が移行し、底部にあつまる)によつても同様の像をもつて発

現する。

又56°C30分加温して非動化した血清、或いは 3.8%クエン酸ソーダ水を 1/5 量合ませて採血分離した血漿中でも同様の像を呈する。

仔虫が沈降物を口端或は排泄口に附着させたまま、かなり長時間(約1週間)活潑に運動している状態をしばしば目撃した。かように沈降物の虫体開口部への附着は仔虫の殺滅には関係がない様に思われるが、口腔内、消化管内に沈降物を見る場合は、殆ど仔虫が死んでいるのを認めるので免疫動物体内での humoral な仔虫殺滅作用に於て後者が相当重要な役目を演じて居るものと考えている。この点については更らに後述する。in vitro の血清中に投入する仔虫は、前述の様にマーズン液で消毒してあるが、カビ類の混入をまぬがれ得ない時があり、この場合は血清は漸次混濁して来、5~7日で全く不透明なものとなつて来る。この様な時は、対照血清中でも7日以上生存する仔虫は殆ど無くなる。従つて現象の強さの表現には González が Trichinella 及び豚蛔虫仔虫で行つた様に¹⁰⁾、一定日数後の沈降物形成を示す仔虫数或は死滅仔虫の百分率を用いる事が不可能であるので、沈降物の量を十で表現する外は無い。

沈降物は一たん形成されると可成り安定で、10日位はそのまゝ観察されるのであるが、本文での観察の標準は、仔虫と血清と作用させて2日目と5日目に行い、血清中、仔虫口部(脱皮した鞘皮頭部の沈降物は口よりの分泌物に由来すると見做されるのでそれを含める)、排

泄口、肛門部の4ヶ所の沈降物の有無を確かめて記録する事にした。(第1図乃至第3図参照)

4. 実験成績

ヅビ=鉤虫仔虫は経膈的にも経口的にも動物に感染させる事が出来るのであるが、いづれの場合も仔虫は宿主体内を可成り速かに移行する事が知られている¹⁰⁾。私はこの仔虫の非固有宿主である家兎を使用して実験したのであるが、その目的は固有宿主での感染実験に於いては仔虫の体内移行終了と同時に当然おこつて来る所の寄生々活による影響を可及的にさけたい為である。しかし、一方それがこの実験の弱点ともなつて、固有宿主の場合の状態については厳密に観察出来ないことになるのは止むを得ない。

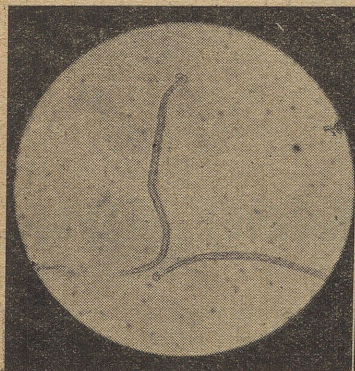
とまれヅビ=鉤虫仔虫は定量感染が非常に容易であり、且宿主体内のどの部分に注入しても感染が成立するので誠に便利である。

私は感染方法として次の4つの経路を用いた。即ち i) 仔虫の経口投与(ガラス管を用いて経口的に仔虫の浮游液を口腔内に注入する)、ii) 仔虫を右心内に注入する。(1/1注射針を用いて、普通の心臓穿刺と同様に右心をさし、静脈血の噴出をたしかめた後、極く除々に仔虫浮游液を注入する。仔虫は直ちに肺に達し、他の臓器に分散する事が少い。) iii) 腹部皮下に注入する。iv) 腹腔内に注入するの四つである。それ等の成績を第2表にまとめる。

第2表によれば4つの感染方法のいづれも現象陽性を

第1図

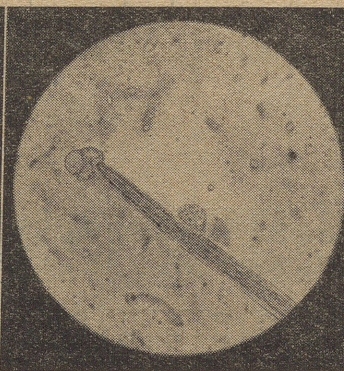
サーレス現象陽性を示す
ヅビ=鉤虫仔虫



(120倍で撮影、仔虫口部より沈降物を形成している)

第2図

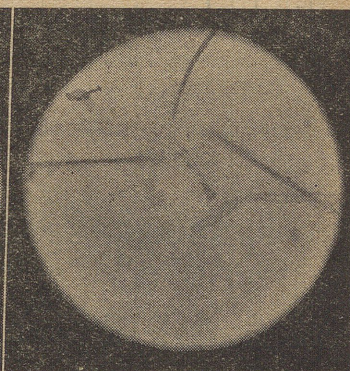
同 前



(240倍で撮影、仔虫口部及び排泄口より沈降物を形成している。虫体のまわりに散在する小さい丸いものは混入した赤血球である)

第3図

同 前



(100倍で撮影、仔虫の口、肛門、更に被鞘幼虫の頭部、脱皮した鞘皮の頭部に沈降物が附着している)

示すのが見られる。

感染後現象陽転迄の潜伏期は感染量の多少に拘らず10乃至11日である。

又本成績に関する限り、最低感染量 **prokilo** 25隻の1回感染でも陽性に出て居り(家兎番号26号)、それ以上の感染量の家兎で生存したもの、全部が上記潜伏期を経て陽転している。

尚20隻宛2週間間隔で経口的に反復感染させて2週間おきに採血(次々と感染させる直前に採血して行く)した家兎(番号27号)では仔虫総数80隻となつた時に土となり、100隻で陽転した。家兎体重 2.700kgであつたので **prokilo** 37隻で陽転した事になる。

サーレス現象の持続日数は感染量の多寡に影響されるものゝ如く、**prokilo** 7,000 隻以上の1回感染では4ヶ月後尚強く陽性を示し、**prokilo** 180~1,300 隻の感染量では3~5ヶ月の内に漸次反応が弱くなつて再び陰転する。

現象の強さは第2表にあらわしてないが、感染量に比例するのが認められ、個々の例では感染後2~6週間が最も強くその後は漸次極く除々に弱くなる傾向がある。

5. 考 按

ツビニ鉤虫仔虫を非固有宿主の家兎に感染(経口的或は経皮下的に)させれば、仔虫は体内移行を営み、日を追うてその場所を異にするが、佐古田¹⁷⁾によれば、感染後約15日を経れば、宿主の肺気管、食道、胃、小腸、腎等の各臓器からは、Baermann 氏法では仔虫は発見されなくなり、且仔虫は第3回脱皮以後の發育を遂げるものは殆どなく、従つて母虫となる事はない。非固有宿主では仔虫はこの様に体内移行を行うが、各種臓器を経た後、終末臓器の筋肉に至つて早晚移行性を失い、こゝでも發育を遂げ得ず、数ヶ月生存しうるものも稀にはあるが、漸次そのまゝ死滅するものと考えられる¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。

而して私が試みた4つの感染方法(経口的、経皮下、経右心、経腹腔)でいづれもサーレス現象が陽転し、長期間持続する事を認めた事實は、仔虫感染があれば、この現象が出現する可能性を生ずる事を証明するもので、その感染経路を問わない事と、同仔虫がその後發育して母虫となる寄生の成立と本現象の出現とは直接の関係は無い事が明確となつた。

感染後サーレス現象陽転するまでの潜伏期は感染量の多少に拘らず、10乃至11日であつて、Oliver-González⁹⁾が豚蛔虫成熟仔虫包蔵卵を同じく家兎に経口的に投与して得た成績(感染後9乃至12日に陽転している)と略一

致した事は甚だ興味深い所で、その他の線虫仔虫によるサーレス現象も、それぞれ体内移行に要する時間(感染後各種臓器を通過する時間はそれぞれ仔虫の種類により異なる)とは無関係に、同様の潜伏期を要して発現して来るものと推察する事が出来る。

現象発現に要する最低感染量は僅か **prokilo** 25隻乃至35隻の1回感染で陽性に出る場合であり、又反復感染例でも **prokilo** 37隻に達すると陽性になるのを認めた事實は、この現象の鋭敏度を指示するものとして重要な所見である。勿論これは使用線虫の種類及び宿主の選定如何により、多少の変動はまぬがれないであろう考えられる。

実験中生存した例では、上記潜伏期を経て全例陽転し、可成り長期にわたつて陽性を示す事を認め得たので、この現象は仔虫感染があつた事を証明するのに利用出来る点で有意義である。即ち固有宿主の場合は、虫卵排出による感染証明(鉤虫感染の場合は仔虫の侵入後約1ヶ月以後²¹⁾²²⁾²³⁾)よりも早期に感染後10~11日でそれを知りうるわけで、臨床的にも、基礎実験の際にも鉤虫感染に関してこの現象の証明は、重要な意味を持つ様になるものと思つている。

又私は鉤虫寄生者人血清によるサーレス現象を試験した結果6名中2名に陽性を認めたが、現象陽性と糞便内虫卵の多寡とは平行しなかつた。これは先に Sheldon 等⁸⁾が *Necator americanus* について報告しているのと同様な所見であるが、この事実も以上の実験成績から見て容易に了解出来る。即ちこの現象が仔虫感染にのみ直接関係があつて、母虫寄生とは若しあつても間接の関係しかなく、従つて虫卵の有無多寡との関係も同様であると考えられるからである。若し仔虫感染後サーレス現象陽転且虫卵陽転がおこるとしても各々次の如き時間的ズレをもつてあらわれ来るものと考えられる。即ち先づ10乃至11日間はサーレス現象は潜伏期にあたり陰性、勿論糞便内虫卵は陰性である。但しこの間若菜病の様な本仔虫感染による臨床症状が認められる場合があり得る²¹⁾²²⁾。その後虫卵が産出されるまでの期間(これは鉤虫では約1ヶ月、各線虫の種類によりそれぞれ異なる)はサーレス現象は陽転して居り、感染のあつた事を既に知り得るが、虫卵は尚陰性である。更に糞便内に虫卵を産出する時期がその後が続いて来る。しかし母虫となつた線虫が *Trichinella spiralis* の様に糞便内に虫卵を産出しない様な場合にはこの時期は欠除して来るが、この様な場合サーレス現象は仔虫の感染を知る最も簡単に便利な証明方

法となるものと思われる。糞便内に虫卵が陽転する場合には、虫体が成熟し産卵している間虫卵が持続的に可成り長期にわたつて証明されるのであるが、サーレス現象の方は感染量の少かつた時には、又再感染のない限り虫卵消失より比較的早く数ヶ月で陰転する経過をたどるものと推察されるのである。

又固有宿主に反復感染が行われれば、宿主は漸次防禦力を持つ様になるから、母虫となるまでに宿主体外に排出されたり或は宿主体内で死滅する仔虫が増加するから^{24) 25) 26)}、この様な場合にはむしろ虫卵の増加よりもサーレス現象の増強の方が著明となるものと考えられる。

鉤虫によるサーレス現象は他種線虫とも相互に陽性を示す可能性があるが、その事に関してはサーレス現象と宿主の感染防禦抗体との関係に対する考察と共に第2篇で記載する。

6. 結 論

ツビニ鉤虫仔虫を家兎に感染させてその血清を分離し、働性のまゝ *in vitro* に於いて仔虫と作用させると、口、排泄孔、肛門から沈降物を形成し、又血清中に遊離した沈降物を認める事を証明した。この現象は仔虫の感染方法の如何を問わず、仔虫が宿主体内に入れば発現する。この現象は最低感染量 prokilo 25隻で陽性に出る場合があり、反復感染例では prokilo 37隻で陽転するのを認めた。感染実験家兎の内生存した例では感染量の多少に拘らず、10乃至11日の潜伏期を経て全例陽転した。反応の持続日数は感染量に影響され、 prokilo 7,000 隻以上の1回感染では4ヶ月を経て尚強く陽性を示し、 prokilo 130隻乃至1,300 隻では約3乃至5ヶ月で漸次反応

は減弱し再び陰転して来る。

文 献

第2編のものとまとめて記載する。

Summary

When the larvae of *Ancylostoma duodenale* are incubated in the serum of immunized rabbit *in vitro*, the precipitates are formed at the oral, excretory and anal openings of the larvae or found free in the medium. This phenomenon appeared with the sera of infected animals regardless of the infection routes, orally or intracardially or intraperitoneally, or subcutaneously.

The minimal infectious dosis to make the phenomenon positive was 25 larvae per kilograms of body weight of animal. In a case exposed to repeated infections the positive turn for the phenomenon occurred after total dosis of larvae inoculated had reached 37 per kilograms.

The incubation period was not affected by the amount of larvae applied, being 10 to 11 days, while the duration of the positive result was somewhat affected. Thus in a case which received a single inoculation with over 7,000 larvae per kilograms, the phenomenon remained positive still after 4 months, whereas in the cases inoculated with 130 to 1,300 larvae the phenomenon deteriorated gradually and became negative in the period from 3 to 5 months.

The author should like to propose the name 'Sarles' phenomenon' from such reaction originally described by Sarles with *Nippostrongylus muris* including all related phenomenon.