

コトナラット糸状虫 *Litomosoides carinii* に関する研究

第 1 報 実験室内に於ける累代感染法について

若 杉 幹 太 郎

東京大学伝染病研究所寄生虫研究部 (指導 佐々学助教授)

(昭和 30 年 10 月 25 日受領)

1. ま え が き

糸状虫上科 (Filarioidea) に属する 1 群の線虫類は、我が国に於いても人及び家畜に種々の重要な疾患を起している。中でも、人のバンクロフト糸状虫は、かつての沖縄から九州南部及びその島嶼に風土病として浸淫しているほか本州各地にも点在しており、八丈小島にはマレー糸状虫の流行も見られる。家畜に於いては *Onchocerca* 属による牛のワヒ病、馬の夏癩、*Setaria* 属による羊、山羊、牛、馬などの疾患もその被害少なからぬものがある。かゝる疾患の研究は近年急速の進歩を来したのであるが、人畜糸状虫症研究の一助として実験室内に於いてその生態を観察し、且つ薬剤試験を行うには、実験動物の必要であることは言うまでもない。我々はこれらに関する基本的な実験研究の目的で、小実験動物に寄生する糸状虫 *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919) を我々始めて供試した結果を、こゝに報告する。なお、本種の和名としてコトナラット糸状虫という名称を用いることにした。

コトナラット糸状虫 *Litomosoides carinii* は、Travassos (1919) により Brazil, Sao paulo に於いて、リスの一種 *Sciurus sp.* の胸腔及び腹腔から発見され、*Filaria carinii* と記載されたものである。同様の虫体はその後 Mazza (1928), Chandler (1931), Ochoterna & Caballero (1932), Vogel & Gabaldon (1932), Chitwood (1934) 等により各地で発見され、新種或いは新属が設けられたが、Vaz (1934) はこれらの資料を比較検討して、何れも Travassos のものと Synonym であることを明らかにし、学名として *Litomosoides carinii* (Travassos 1919) を採用すべきことを唱えたのである。

Mikitaro Wakasugi: Studies on the filaria of cotton rat Litomosoides carinii. A method of experimental transmission. (Department of parasitology Institute for Infectious Diseases University of Tokyo)

Williams & Brown (1945, 1946) は本糸状虫がイエダニにより媒介されることを報告しているが、更に同マイクロフィラリアの周期性に関しては Bell, S. D. Tr., 及び W. Brown, (1945), 同じくマイクロフィラリアがイエダニの体内で発育する大略の経過に関しては Williams, R. W. 及び Bertram H. W. (1945) あるいは J. Allen, Scott (1945) 等の研究があり、Scott (1946) 及び Bertram (1947, 1950) はコトナラットの糸状虫感染について幾つかの実験を行つている。Kerschaw, W. E. (1949) は未梢循環血液中の第 1 期仔虫の研究を行い、また Bertram (1950) はイエダニの媒介能に影響を与える因子の研究を行つている。

2. 実験材料

実験に供したコトナラット糸状虫 *Litomosoides carinii* は Texas 大学 Dr. J. Allen Scott が実験室内でイエダニ *Bdelionyssus bacoti* (Hirst 1913) Fonseca 1941 に感染させたもので、航空便により 1953 年 8 月 6 日当教室主任佐々学助教授に届けられた。この送られたイエダニ約 60 匹を実験動物中央研究所より入手したコトナラット *Sigmodon hispidus hispidus* に感染させ累代飼育した。なおその後の感染に用いたイエダニは本研究室の実験動物に自然に見出された 1 群を繁殖させたものである。

3. 飼育及び感染方法

最初はスタムの保存を主目標とし、それに伴ひ基礎的な研究を行つた。飼育箱はイエダニとコトナラットを同居させて飼育するものに便利なものを用いた。実験動物中央研究所設計になる鉄板金網製、塗装 A X 型がそれで、巣箱、運動場の二室が開閉扉で境され、前者にイエダニのついた綿及びカーゼを入れ、同居のコトナラットから吸血させて感染繁殖をはかつた。飼料は固型飼料、野菜を用い、そのほか水滴壺による水の供給を行つた。コトナラットの飼料から発生するゴミコナダニなどが、イエダニの繁殖を著しく阻害することが判つたが、これ

も本飼育箱ではかなりよく防ぎ得た。更に外部に逃亡するイエダニは、箱の下に水のつたバットを置くことにより防いだ。如上の飼育箱を比較的低温（実験目的上22°C以下）の晩秋から初春に至る間、温度22°C湿度70~80%の孵卵器に入れて飼育及び感染を行つた。

4. 感染実験

実験 1

寄贈された、コトナラット糸状虫に感染（感染日時不明）し長期経過した空腹状態のイエダニ約60匹を、1953年8月7日当研究室に於いて、モミガラを敷いたチリニテルに飼育中のコトナラット3頭（以下コトナラット、1号をCR-1の如く略称する）に吸着せしめCR-1には4日間、CR-2、CR-3には6日間同居吸血させ、以後イエダニと離して飼育を継続した。第45日目尾よりの検血では、ミクロフィラリア（以下mfと略称す）陰性

であつたが、第76日、にはCR-1第72日にはCR-3の計2頭（CR-2は死亡）のコトナラットが末梢血液中にmfを出している事を、濃滴標本により証明し、感染を確認した。CR-1、CR-3がコトナラット糸状虫 *Litomosoides carinii* 感染第1代である。

実験 2

上記実験1. に使用したイエダニ60匹の一部を綿につけて、1953年8月7日の吸血より10日後の8月17日に3頭のコトナラットCR-4、5、6、に着け長期イエダニとコトナラットを同居の状態飼育した。140日目の検血で何れもmfが出現せず、感染が行はれなかつたと推定された。そこで感染幼虫を体内に有するイエダニのコロニーを作るため、既にmfを保有するCR-1に20日間室温で同居させて、引続き翌21日目の1954年6月15日から12時間、健康なコトナラットCR-4を入れたと

第 1 表

実験1及び2. 既に感染幼虫を体内に保有すると推定されるイエダニのコロニーによるコトナラットへの感染実験

コロニー中にコトナラットを入れた年月日	順序	同居時間	ネズミ番号	着ダニから検血迄の経過日数	感染成立の有無
1953. 8. 7	第1回	4日	C-R 1	76日	mf (+)
8. 11	第2回	6日	C-R 2		
		6日	C-R 3	72日	mf (+)
8. 21	第3回	長期	C-R 4	140日	mf (-)
		〃	C-R 5	140日	mf (-)
		〃	C-R 6	140日	mf (-)

実験 4. 1954. 10. 5 感染したイエダニコロニーによる感染実験

コロニー中にコトナラットを入れた年月日	順序	イエダニ感染後の経過日数	同居時間	ネズミ番号	着ダニから検査迄の経過日数	感染成立の有無
1954. 10. 8	第1回	3日	24時間	C-R 18	89日	剖見 mf (-)
10. 11	第2回	6日	24時間	C-R 19	94日	mf (-)
				C-R 20	94日	mf (-)
10. 13	第3回	8日	24時間	C-R 21	26日	剖見 (-)
				C-R 22	4日	剖見 (-)
10. 14	第4回	9日	24時間	C-R 18	80日	剖見 (-)

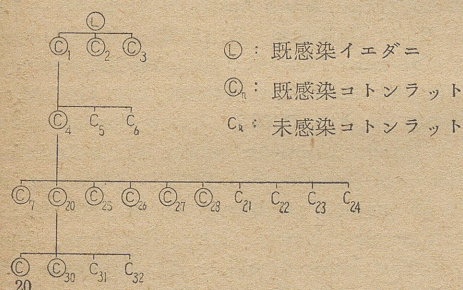
実験 5. 1955. 3. 14 から 10 日間吸血感染したイエダニコロニーによる感染実験

コロニー中にコトナラットを入れた年月日	順序	イエダニ感染後の経過日数	同居時間	ネズミ番号	着ダニから検査迄の経過日数	感染成立の有無
1955. 3. 24	第1回	10日	5日	C-R 29	48日	mf (+)
						但し45日(-)
3. 29	第2回	15日	5日	C-R 30	65日	mf (+)
						但し63日(-)
4. 3	第3回	21日	6日	C-R 31	81日	剖見 (-)
4. 9	第4回	27日	6日	C-R 32	100日	mf (-)

第 2 表

ネズミ番号	既感染イエダニと健康コトナットの同居期間	mf 検出直前検血日 (着ダニからの経過日数)	mf を初めて流血中に認めた日 (着ダニからの経過日数)
C-R 1	7/VIII/53~11/VIII/53 (4日)	21/IX/53 (45日)	22/X (76日)
C-R 3	11/VIII/53~17/VIII/53 (6日)	検査せず	22/X (72日)
C-R 4	15/VI (12時間)	"	20/VIII (66日)
C-R 7	4/VI 及び 9/VI/54より各12時間	"	20/VIII (75日)
C-R 20	29/XII/54~24/I/55 (26日)	"	3/III (65日)
C-R 25	11/XII/54~29/XII/54 (17日)	18/II/55 (68日)	28/II (78日)
C-R 26	15/XII/54~12/I/54 (27日)	18/II/55 (65日)	28/II (75日)
C-R 27	5/I/55~26/I/55 (20日)	27/III (80日)	9/IV (93日)
C-R 28	5/I~26/I (20日)	27/III (80日)	9/IV (93日)
C-R 29	24/III~29/III (5日)	8/V (45日)	11/V (48日)
C-R 30	29/III~3/IV (5日)	30/V (62日)	2/V (65日)

第 3 表 スタム保存成績 (4代 11頭)



ころ 8月20日, 66日目に検血で mf (+) を証明した。

実験 3

第 2 代コトナット CR-4 から吸血感染して長期経過したイエダニに, 健康コトナット CR-7, を 6月4日及び 6月9日の 2回に亘り, 12時間づつ同居させた。75日目の 8月20日にはマイクロフィラリアが検出された。更に同様にして, 室温で 26日間, 17日間, 27日間, 20日間, 20日間既感染イエダニのコロニーに夫々健康コトナット 5頭 (CR-20, 25, 26, 27, 28) を同居させたが, 同居させた日から算えてそれぞれ 65日, 78日 (68日目は陰性) 75日 (65日目は陰性) 93日 (80日目は陰性) 93日 (80日目は陰性) で何れも mf (+) を認めた。

実験 4

コトナット体内でのマイクロフィラリアの成熟と同時にイエダニ体内での発育, すなわちイエダニ体内のマイクロフィラリアがコトナットに感染する能力を持つに至るまでの経過日数を推定すべく, 下記の実験を行った。未感染のイエダニの 1 群を温度 22°C 湿度 70~80% の孵卵器内で約 3 日間空腹状態に置き, 次いで 24 時間吸血感染させ, 以後第 3 日, 6 日, 8 日, 9 日, と 5 匹の健康コ

トナットを順次 24 時間づつ同居させたが, 何れも感染しなかつた。

実験 5

空腹状態の未感染イエダニに, 10 日間吸血感染の機会を与え, これに引続いて CR-29 を 11 日目から 5 日間 CR-30 を 16 日目から 5 日間, CR-31 を 21 日目から 6 日間, CR-32 を 27 日目から 6 日間同居させ, 計 4 頭の感染実験を行ったが, CR-29 は同居させてから 48 日目 (45 日目陰性) CR-30 は 65 日目 (63 日目陰性) に多数の mf を証明した。しかし CR-31, は 81 日目の解剖検血で CR-32 は 100 日目の検血で共に mf) であつた。

実験. 1-5 を通じて我々は次の様な知見を得た。すなわちコトナットの流血中のマイクロフィラリアがイエダニの吸血に伴つてその体内に取込まれ, こゝで一定の発育をして, 感染能力のある幼虫となるには, 第 1 表にも示す如く実験 2 からは 20 日間以内, 実験 5 からは 10 日以上 15 日以内であつた。しかも実験 4 から温度 22°C 湿度 70~80% で 10 日以内には所定の発育が完了しないと推定される。また実験 1 及び 5 からも明らかな様に, 既感染イエダニのコロニーに健康コトナットをくりかえし何頭も入れるとき, イエダニ感染後第 1 次, 第 2 次の吸血にあつた。コトナットの感染は成立したが, 第 3 次, 第 4 次のもは感染不成立におわり, 感染イエダニは吸血を行うと糸状虫幼虫を失つてしまうことが推定された。またイエダニを介してコトナットに感染した mf が同体内で成熟して次代 mf を末梢血液中に出すまでには少くとも 48 日, 最長 93 日, 平均 76.1 日であつた。

総括

1. 我々はコトナットの糸状虫 *Litomosoides carinii*

を綿鼠(コトンラット)を終宿主とし、日本産イエダニ *Bdellonyssus bacoti* を中間宿主に用いて4代にわたり累代感染に成功し、同時にその生物学的性状を検討記述した。

2. ミクロフィラリアを摂取したイエダニと健康コトンラットを同居させたところ、22°Cで摂取後10日以内では何れも感染不成立であった。しかし10日目から15日目にいたる5日間同居させた1頭及び15日目から20日目の5日間同居させた1頭に感染した。また同一の感染イエダニ群にくりかえし何頭ものコトンラットを5日間ごとに吸血させると3回目以後のものには感染がみられなかった。

3. コトンラットに感染したミクロフィラリアが成熟して次代のミクロフィラリアを流血中に出すまでには、イエダニの同居第1日から数えて少くとも48日、最長93日、平均76.1日を要した。

終りに本研究について終始御指導御鞭撻を賜わった佐々学助教授また絶えず御援助と協力を惜しまれなかつた林滋生博士はじめ寄生虫研究部の各員に深甚の謝意を表する。

本研究は文部省科学研究費(糸状虫班、分担者、佐々学主任)の補助を受けた。

文 献

- 1) Augustine, D. L., (1937a): Description a new Filariid from ground doves of St. Croix, Virgin Island. Pr. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., 31: 47-54.—2) Barrera, J. M. De. La., (1926): Filaria del cuis, *Litomosoides burgosi* n. sp. Rev. Int. Bakt., Buenos Aires, 4: 491.—3) Bertram, D. S., (1947): The period required by *Litomosoides carinii* to reach the infective stage in *Liponyssus bacoti* and the duration of the mites infectivity. Ann. Trp. Med. Parasit., 41: 253-261.—4) Bertram, D. S., Unsworth, K. and Gordon, R. M., (1946a): The biology and maintance of *Liponyssus bacoti* Hirst, 1913, and an investigation into its role as a vector of *Litomosoides carinii* to cotton rats and white rats, together with some observation on the infection on the white rats. Ibid., 40: 228.—5) Bertram, D. S., Unsworth, K. and Gordon, R. M., (1946b): Transmission of *L. carinii* to laboratory animals. Nature, Lond. 158: 418.—6) Bell, S. D. Tr. and Brown, H. W. (1945): Studies on the microfilarial perioicity of *Litomosoides carinii*, Filariid parasite of the cotton rat. Amer. J. Trop. Med., 25(2), 137-140.
- 7) Brown, H. W. and Williams, R. W., (1945): A method for counting the microfilariae of *Litomosoides carinii* of the cotton rat. Amer. J. Trop. Med., 25(1): 67-69.—8) Chandler, A. C., (1931): New genera and apcies of nematode worms. Proc. U. S. Nat. Mus., 78 art., 23.—9) Chitwood, B. G., (1933): A note on the status of *Vestibulosestaria* Vogel and Gabaldon, 1932. Proc. Helminth. Soc. Washington, in Fl. parasit., 19: 253.—10) Cross, J. B. and Allen, S. J., (1947): The development anatomy of the fourth stage larvae and adult of *Litomosoides carinii*, a filarial worm of the cotton rat. Trop. Am. Micro. Soc., 16: 1-21.—11) Holdaway, F. G., (1926): A note on the occurrence of the rat mite, *Liponyssus bacoti*, in South Australia, together with descriptions of certain stages. Trans. of the Royal Soc. South Australia, 1: 85-88.—12) Vogel, H. U. Gabaldon, A., (1932): *Vestibulosestaria*, eine neue Filariengattung aus Rattenarten. Zent für Bak Parasit. u. Infekt., 126: 119-124.—13) Khana, R. K., (1933): A new filarial worm from a North American snake. Fl. Helminth., 11: 105.—14) Mazza, S., (1928): Filaridea n. sp. de la cavidad peritoneal de la rata de los canaverales de Tabacal, Salta. Bol. Inst. Clin. Quir., Buenos Aires, 4: 628.—15) Ochoterena, I. and Caballero, E., (1932): Filaria parasita de las ratas de camao, *Micropleula sigmodoni* spec. nov. Ann. Int. Biol., Mexico, 3: 123.—16) Scott, J. A., (1945): The rate of growth and maturity of *Litomosoides carinii*, a filariid of the cotton rat. Jour. Parasit., 31, Dec. Suppl 16 pp.—17) Scott, J. A., (1945): A box trap for cotton rat. Science, 102: 567.—18) Scott, J. A. and Cross, J. B., (1946): A laboratory infection of the rat with filarial worms. Amer. J. Trop. Med., 26: 849-855.—19) Williams, R. W. and Brown, H. W., (1945): The development of *Litomosoides carinii* filariid parasite of the cotton rat in the tropical rat mite. Science, 102: 482-483.—20) Williams, R. W., (1948): Studies on the life cycle of *Litomosoides carinii* filariid parasite of the cotton rat, *Sigmodon hispidus litoralis*. J. Parasit., 34, 24-43.—21) Williams, R. W. and Brown, H. W., (1946): The transmission of *Litomosoides carinii*, filariid parasite of the cotton rat, by the tropical rat mite, *Liponyssus bacoti*. Science., 103(2669): 224.—22) Williams, R. W. (1946): The laboratory rearing of the tropical rat mite. Jour. Parasit., 32(3), 252-256.—23) Zeferino, Vaz, M. D. (1934): *Achertia* gen. nov. for *Litomosoides burgosi* de la Barrera 1926, with note on the Synonymy and

Morphological variations of *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919), Ann. Trop. Med. Parasit., 28: 143-149.

Summary

1. The filarial worm of cotton rat, *Litomosoides carinii* has been successfully maintained in our laboratory for 4 generations, employing the mites, *Baellonyssus bacoti* as the intermediate host.

2. The infection failed in all of the 6 cotton rats which were put in contact with the mites kept at 22 c/k less than 10 days after they ingested the blood meal containing microfilariae. The transmission was successful only by the mites which were kept for longer periods to allow the filarial larvae develop fully. However, in a series

of experiments in which the cotton rats were put in contact successively for 5 days with the same colony of the infected mites, transmission occurred only in two of the cotton rats which were attacked by the mites for the period of 10th to 15th days and 15th to 20th days of the infection, and not in the other animals put in contact with the mites thereafter. Such results were probably due to the fact that the mites were cleared from the infective filarial larvae by the first and second contacts with the final hosts.

3. The incubation periods in the final hosts, or the days required for the appearance of the microfilariae in the peripheral blood of the cotton rats after the contact with the infected mite colonies, were presumed to be 48 to 93 days in our experiments, the mean being 76.1 days.