

種々な温度に於ける鉤仔虫の組織侵入性に関する研究(1)

水相に於ける *A. duodenale* 及び *A. caninum*

仔虫についての観察

西 村 猛

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32年9月24日受領)

鉤虫仔虫の経皮的侵入の機転にはその仔虫自体の外界に於ける運動能が重要な要因としてはたらくことは疑いのない如く、従つてそれを解明するためには自然界の諸条件の中で仔虫の運動能に最も主要な影響を与えらると思われ、温度との結びつきを追及することが極めて肝要なことであると考えられる。この意味から仔虫の経皮的侵入に関連して、仔虫の運動と温度との関係を重視しこれを実験的に究明しようと試みたのは、本邦に於いては江口(1922)、小菅(1924)、鈴木(1925)、山口(1930)等であり、夫々異つた観点から動物感染実験を行い、或は諸種の動物の組織の一片を仔虫と接触せしめるなどして種々な知見を得ている。即ち江口は鉤仔虫の組織内侵入は生組織であると死組織であるとを問わず、又哺乳動物、鳥類、両棲類、魚類であるとを問わず行われる事実を確め、皮膚の温度、血行、毛嚢、皮脂腺の存在は仔虫の侵入には必要な条件ではないと述べ、小菅、鈴木も相似た実験を行つてそれを認めた。又山口は仔虫の皮膚侵入に対する日光及び気温の影響について観察するため、仔犬に犬鉤仔虫を感染せしめる実験を行つた結果、仔虫の侵入には日光の有無及び強弱は影響すること少なく、温度の高低のみが重要な要素であると述べている。即ち之等の既往の結果を総括的に考察すれば、鉤仔虫の皮膚侵入を決定する上に極めて重要なものは、仔虫の活動性を亢進する温度刺激であると考えられ、従つて温度変化にともなう仔虫の運動能の変化を追及することがこれを

解明する上に枢要な知見を提供することとなると思われるのである。要するにこの様な知見及び所謂趨性問題を含めた仔虫の一般行動生理に関連した知見が、その皮膚侵入性の解明に役立つ基本的なものとなるのであるが、これについては Fülleborn (1924, '32)、平井(1929)、分島(1933)、北山(1935)、原田(1952, '53)等の系統的な研究が既に相当な成果をあげている。又最近安羅岡(1955)は鉤仔虫の動性と温度との関係について観察を行い、仔虫の運動がある温度領域では安定した律動性を示すことから、頭端の搏動数及び体軸の方向転換の度合を測定し、これを基として仔虫の宿主皮膚接近の機構を考察しているのが注目せられる。

私(1956)はさきに人血清並びに諸種の動物の血清を入れた家兎膀胱膜を鉤仔虫と接触せしめると、一定の条件下に於いては水中であると土壤中であるとを問わず仔虫がその組織内及び血清内へ侵入することを認めたが、この事実に基づいて、この方法を用い鉤仔虫の温度と組織侵入との関係を更らに追及出来るのではないかと考えて先ず水中に於ける実験を試みた。而してその結果接触する温度によって、鉤仔虫の組織侵入性が種々に変化することを知り得たので此処に報告する。

実験方法と材料

実験に當つてさきに用いた家兎膀胱膜は一時に多数を入手することが困難なので、これにかわるものとして家兎小腸の使用を考え予備的な実験を重ねた如く、膀胱膜の場合と同様の結果を得たので本実験ではこれを使用することとした。即ち家兎小腸を洗滌した後、これに人血清1.5 ccを入れ両側を緊縛して腸詰型としたものである。

実験は先ず直径 8.5cm、高さ 2.5cm のシャーレ内に水道水10ccを入れ所定の水温とした後、これに予め数を算定した鉤仔虫を投入し、そのまま所定温度の孵卵器内

TAKESHI NISHIMURA: Studies on the tissue-invasive habit of hookworm larvae under various temperatures. (1) Observations in water with larvae of *Ancylostoma duodenale* and *A. caninum*. (Department of Parasitology, Research Institute for Microbial, Diseases, Osaka University Osaka)

に約 2 時間放置する。此の様な操作の後、その中央部に前記した処の血清を入れた小腸を置きそのまま仔虫と 2 時間接触せしめ、これを取り出して水洗した後、その組織内及び血清内へ侵入した仔虫の実数を算えた。実験に使用したのはツビニ 鈎虫 (*A. duodenale*) 及び犬鈎虫 (*A. caninum*) の 2 種の仔虫で、両者共に平面濾紙培養法によって得た培養後 6~8 日目の感染型被鞘仔虫である。尚仔虫数の算定には先ず仔虫を尖底試験管に集めた後、10%砂糖水の中に移し(液の比重を高めて仔虫の速やかな管底への沈降を防ぐための操作)よく攪拌して仔虫が水中に均等に分散する様にし、後此の 0.1cc を採つてその数を算え、これを 5 回繰返してその平均値をとつた。尚又シャーレ内に於ける水深は約 0.2cm で極めて浅いが、この様にした理由はさきの実験に於いて鈎仔虫は水中に於いては試験容器の底部を匍行してのみ侵入が可能であり、游泳して侵入することは不可能であるとの結果を得たことから、侵入し易い条件を考慮したためである。

実験した水温域は 15°C より 42°C の間で、温度間隔を 3°C として 1 つの水温について 10 回宛実験を試み、1 回の実験にはツビニ鈎仔虫 500 隻 ~ 800 隻、犬鈎仔虫 1000 隻 ~ 2500 隻を使用した。

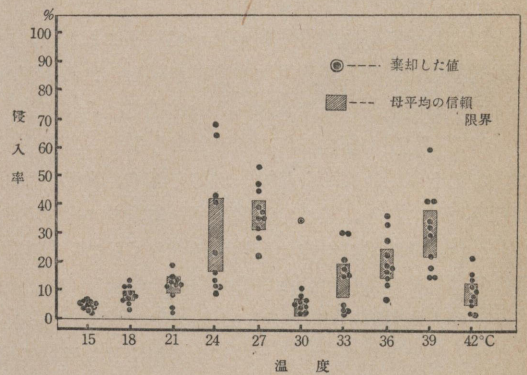
実験結果

(1) ツビニ鈎仔虫についての実験

第 1 表は本仔虫の組織内及び血清内への侵入率を示したものであるが、表で明らかな通り仔虫の侵入は実験した温度域の総てに於いて認められ、各実験を通じてその侵入率の最低は 33°C の場合の 1.4%，最高は 24°C の場合

の 68% で、その平均よりすれば 15°C の場合の 5.7% を最低とし、27°C では 37.8% と最高の値を示している。併し乍此の結果の全般について認められることは、その侵入率の変動が甚だしいことと同一の温度下に於いても大きな差異が認められ、その分散比は 24°C で最も大きく 15°C に於いては最も小さくなっている。即ち此の様に仔虫の侵入率は同一の温度に於いても一定はしていないが、凡その傾向よりすれば、その平均値は 15°C より温度の上昇にともなつて漸次高くなり 27°C に於いて最も高く、30°C、33°C では低くなるが再び 36°C、39°C 附近に於いて高くなるといえる。尚血清内と組織内との仔虫の侵入数に何等かの傾向がみとめられないかと思ひ検討したが、組織内への侵入数が多い場合には概ね血清内の侵入数も多く、この関係が温度変化によって変動する様なことは認められない。

次にこれ等のことを図示すれば第 1 図の様になり、そ



第 1 図 A. duodenale

第 1 表 ツビニ鈎仔虫の侵入率

実験No. 水温	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{x}	U^2	母平均の信頼限界 (信頼度 95%)
15°C	2.9	4.4	5.1	5.6	5.6	5.9	6.5	6.5	6.6	7.4	5.7	1.66	6.4 ≥ m ≥ 4.9
18	3.4	5.7	6.4	7.2	7.9	7.9	9.1	10.9	11.6	11.6	8.2	7.21	9.7 ≥ m ≥ 6.7
21	2.4	3.5	8.5	12.1	12.6	12.7	13.5	14.0	15.8	19.5	11.5	27.79	14.5 ≥ m ≥ 8.6
24	9.3	12.3	12.4	14.5	16.2	23.5	40.6	41.5	64.5	68.0	30.3	489.13	42.6 ≥ m ≥ 17.8
27	22.4	29.4	32.3	35.5	35.9	38.7	39.5	44.5	46.7	53.3	37.8	79.48	42.7 ≥ m ≥ 32.9
30	1.7	2.5	3.4	4.4	5.2	6.4	6.6	8.2	10.0	34.9*	5.4	7.32	7.1 ≥ m ≥ 3.7
33	1.4	2.7	2.8	4.1	15.4	16.4	17.6	21.6	30.2	30.8	14.3	125.79	20.6 ≥ m ≥ 8.0
36	7.6	12.3	14.0	16.5	17.3	19.1	21.8	27.5	31.0	36.9	20.4	81.54	25.5 ≥ m ≥ 15.3
39	14.6	15.0	17.5	21.1	31.6	32.7	34.8	41.9	42.3	59.0	31.1	205.93	39.1 ≥ m ≥ 23.1
42	2.7	2.7	5.5	7.0	8.1	9.7	11.6	14.4	15.7	21.6	9.9	36.49	13.3 ≥ m ≥ 6.5

* 棄却検定の結果棄却した

第2表 犬鉤仔虫の侵入率

実験No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{x}	U^2	母平均の信頼限界 (信頼度95%)
水温													
15°C	0	0	0	0	0	0	0	0	0.41	0.71	0.11	0.061	$0.25 \geq m \geq 0$
18	0	0	0	0.18	0.20	0.36	0.54	0.83	1.45	2.49	0.60	0.641	$1.05 \geq m \geq 0.15$
21	0.73	0.85	1.12	1.36	1.59	2.54	2.75	4.35	5.96	8.97*	2.36	3.132	$3.44 \geq m \geq 1.28$
24	1.12	1.30	1.43	1.72	2.02	2.30	2.35	2.83	3.51	3.93	2.25	0.882	$2.78 \geq m \geq 1.72$
27	0.20	0.22	0.27	0.41	0.52	0.62	0.65	0.70	0.88	1.69	0.62	0.192	$0.87 \geq m \geq 0.37$
30	0.06	0.11	0.13	0.16	0.18	0.18	0.30	0.46	0.60	1.12	0.33	0.105	$0.51 \geq m \geq 0.15$
33	0.08	0.08	0.11	0.12	0.12	0.12	0.17	0.36	0.47	0.48	0.21	0.026	$0.30 \geq m \geq 0.12$
36	0.12	0.22	0.38	0.48	0.70	0.70	0.72	0.93	0.96	0.99	0.62	0.102	$0.80 \geq m \geq 0.44$
39	0	0	0	0	0	0.32	0.32	0.46	0.62	0.92	0.27	0.109	$0.45 \geq m \geq 0.09$
42	0	0	0	0	0	0	0.32	0.34	0.56	0.64	0.19	0.066	$0.34 \geq m \geq 0.04$

* 棄却検定の結果棄却した。

の侵入率が24°C乃至27°C及び36°C乃至39°Cに於ける2つのピークをもつことがより明確となる。以上の様に各温度間に於いて仔虫の侵入率が異なっていることから、之等の温度間に於ける侵入率に有意差が認められるかどうかについて検定を試みた。即ちその結果では5%以下の危険率で有意差の認められたのは21°Cと27°C、27°Cと33°C、27°Cと36°C、36°Cと42°C、21°Cと36°C、33°Cと39°Cの各温度間であり、その他の温度間では有意差が認められなかった。尚24°Cの場合は分散比が大きく此の実験方法或は此の例数に於いては他の温度との比較は出来なかったが、侵入率は概ね高いのではないかと推察される。

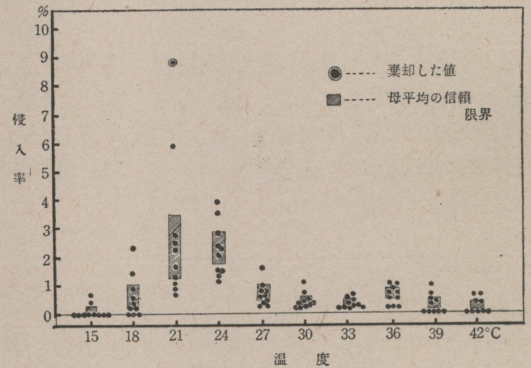
之等の結果からみてツビ=鉤仔虫の組織侵入性は温度の変化と共に大きく変動するものであり、特に27°Cと39°Cの温度に於いては明らかに他の温度に於ける場合よりも侵入率が高いという結果が得られた。

(2) 犬鉤虫についての実験

犬鉤仔虫ではその侵入率がツビ=鉤仔虫の場合と顕著に異なっていることは、第2表に示すところから明かなこと、侵入率が最も高かった場合でも21°Cの8.97% (棄却検定の結果棄却した) に過ぎず一般に極めて低率であることが注目される。しかも15°C、18°C及び39°C、42°Cに於いてはツビ=鉤仔虫の場合と異り、夫々仔虫の侵入が認められない場合が起り、低温域と高温域に於けるその侵入率は凡そ対蹠的になっている。即ちその侵入率の平均は15°Cより温度の上昇にともない高くなり、21°C、24°Cに於いて最も高く夫々2.36%2.25%を示し、以後36°Cに於ける稍々高い値を除いては、略々高温となるに従って低下していく傾向にあるということができ

る。尚その分散比は21°Cの場合に於いて極めて大きい。

次にこれを図示すると第2図となるが、一見して知られる様に各温度に於ける侵入率の変動の凡その傾向はツビ=鉤仔虫でみられた場合と極めて酷似しており、ただその侵入率がツビ=鉤仔虫と異り、それより3°C低温の方にづれた21°C、24°Cに於いて高く、且つ36°C乃至39°Cに於ける侵入率の上昇が認められず36°Cに於いて些かの



第2図 A. caninum

上昇が認め得るに過ぎない点が異なっている。之等の結果から各温度間の侵入率について有意差の検定を行った処5%以下の危険率で有意差の認められたのは、18°Cと24°C、30°Cと36°C、36°Cと42°C、36°Cと39°C及び27°Cと39°Cの間で、その他の温度間では有意差が認められず、又21°Cの場合は分散が大きく他の温度との比較はできなかつたが、ツビ=鉤仔虫の24°Cの場合に於けると同様にその侵入率は概ね高いものと推察せられる。

即ち以上の検定の結果からみて犬鉤仔虫の侵入率は、概ね21°C乃至24°Cで高くなり、36°Cに於いても稍々高くなる傾向がみられるといえる。

ま と め

鉤仔虫の運動能がその仔虫の接触する温度によつて変化することは古くより知られている処であり、ひいてはこれが経膚的侵入を決定する1要因として重要な意義をもつてはなからうかと推察される。私はこの様な意味から鉤仔虫の組織侵入性が温度変化によつてどの様に変動するかを確かめるべく、先ず水中に於ける実験を試みたが、これについては種々複雑な因子が存在するものでもあり、その成績についての検討は今後の実験の結果に俟ちたいと考えている。ただ本実験の結果によるとツビ=鉤仔虫及び犬鉤仔虫は、両種共に温度の変化にともなつてその侵入率が変動すること、並びに此の二者の間には顕著な侵入率の差があり、前者が後者より著明に高いことを知つた。即ち各温度間に於ける侵入率を比較検討した処、ツビ=鉤仔虫では略々24°C乃至27°C及び39°Cに於いて、犬鉤仔虫では21°C乃至24°C及び36°Cに於いて侵入率が高まることが判つた。これを要約すれば鉤仔虫の組織侵入性は温度変化にともない変動し、又種類によつてその侵入性が異るとい得られる訳であるが、ここで私が特に興味深く感じるところは、両種間に顕著な侵入性の差が認められるに拘らずその傾向が相似性をもつこと、及び36°C、39°Cという高温域に於いて侵入率が再び高まることである。即ち前者の事実についてはその侵入率の差がどの様な因子によるものであるかを軽々しく論ずることは出来ないが、ただ最も考慮しなければならぬことは、此の実験が犬鉤仔虫に対しても人血清を用いたものであり本種が血清の種類に対して態度を異にするものであれば、犬血清に対する実験を行った後に於いて考察すべき問題であると考えている。(ツビ=鉤仔虫については、先(1956)の実験に於いて、人、馬家兎の諸血清の間に侵入性の差が認められなかつた。) 次に後者の事実については、この温度域が凡そ哺乳動物の体温域である点から考え、体内に侵入した後には於ける仔虫の運動能を示す重要な知見ではなからうかと推察している。尚さきにも述べた様に安羅岡は犬鉤仔虫の動性の観察から、37°C以上ではけいれん的な不規則運動がみられるといつており、これとの関連性もまた興味が深い。ただ氏が述べているところの犬鉤仔虫については16°Cより30°Cの間では温度の上昇するに従つてその仔虫の動性が高まり、30°C附近ではそれが最高に達するという

事実は、それが動性についての観察である以上、鉤仔虫がある物質に接する場合に当然起ると考えられる諸種の物質に対する趨性と、どの様な結びつきをもつものであるかは検討を要する処であると考えている。

要するに本実験によつて観察し得た仔虫の運動能には血清に対する向化性(Chemotropism)及び小腸組織に対する向組織性(Histotropism)が大きく関与しているものと理解しており、温度刺激による運動能の発揮が此の様な物質に対する趨性と相俟つて現わされたものと考えたい。

以上述べた通りであるが、此の実験に於いて最も問題とせられる処は、使用した仔虫の全部がはたして正常な運動能をもつたものであつたかどうかという点、及び家兎小腸も必ずしも同一ではないという個々の実験条件の差である。即ち之等の因子が此の実験に於いてみられた様な、同一温度下に於いても仔虫の侵入率が大きく変動した原因となつたのではないとも考えられるが、いずれにせよ一応はこれによつて凡その傾向はつかみ得たのではないかと思考している次第である。尚接触時間を2時間とした点は、前報で述べた実験結果より最も適切であると考えられたためであつたが、江口(1923)も動物実験によつて仔虫の侵入は30分乃至2時間で終り、それ以上の時間をかけても仔虫の侵入はかわらないと述べていることとよく一致し、不適当であつたとは考え難いが、これについても今後追及したいと考えている。

む す び

1. 水中に於ける鉤仔虫の組織侵入性は温度の変化にともなつて変動する。
2. 同一温度下に於いても仔虫の侵入率の変動は大きい、これを比較検討したところではその凡その傾向はツビ=鉤仔虫では24°C乃至27°C及び39°Cに於いて、犬鉤仔虫では21°C乃至24°C及び36°Cに於いて侵入率の高まりが認められる。
3. ツビ=鉤仔虫に比較して犬鉤仔虫の侵入率は顕著に低く、前者の最高が68%であるのに対し、後者では8%に過ぎなかつた。
4. 3の事実については、実験に用いた血清が人のものであつたためか否かは明らかでないが、犬鉤仔虫の固有宿主たる犬血清に対する態度を明らかにすることが、今後に残された問題である。
5. 上述の事実から之等の温度に於ける、侵入率の高まりの意味するところを追究することは、仔虫の経膚的侵入の機転を解明するの一つの手がかりとなるものと信じ

られる。

終りに本研究に終始懇篤な御指導を賜つた森下教授並びに御助言を頂いた伏見博士に衷心から感謝致します。

文 献

- 1) 江口季雄 (1922) : 十二指腸虫に関する研究 (第1報告) 十二指腸虫仔虫の異種動物組織内侵入並びに侵入仔虫の運命に就て, 愛知医学会雑誌, 29, 160~165, 727~745. —2) 江口季雄 (1923) : 十二指腸虫に関する研究補遺, 日本病理学会雑誌, 13, 115~119. —3) Fülleborn, F. (1924) : Über "taxis" bei Strongyloides- und Ankylostomenlarven. Arch. f. Schiffs- u. Trop. Hyg., 28, 144~165. —4) Fülleborn, F. (1932) : Über die Taxen und das sonstige Verhalten der infektionsfähigen Larven von Strongyloides und Ankylostoma. II. Mitteilung. Zbl. Bakt., 126, 161~189. —5) Harada, F. (1952) : Investigation of hookworm larvae. I. On the phototropism of infective larvae of *Ancylostoma caninum*. Yokohama Med. Bull., 3, 34~38. —6) Harada, F. (1953) : Investigation of hookworm larvae. II. On the lateral migration of infective larvae. Yokohama Med. Bull., 4, 288~293. —7) 平井成就 (1929) : 十二指腸虫被包仔虫の向性に就ての研究並びに其の他の生物学的知見補遺, 慶応医学, 9 (2), 281~328. —8) 北山 博 (1935) : 十二指腸虫 (鉤虫) の向性に関する実験的研究, 第一編, 鉤虫の向性一般就中向化性並びに其れと固有宿主血清との関係, 大阪高等医学専門学校雑誌, 3 (2), 5~32. —9) Kosuge, I. (1924) : Wie weit wirken bei dem Eindringen von Strongyloides-larven und anderen parasitischen Nematoden in das Gewebe spezifische Reize? Arch. f. Schiffs- u. Trop. Hyg., 28, 179~187. —10) 西村 猛 (1956) : 鉤仔虫の鑑別及び分離に関する二, 三の方法に就て, 寄生虫学雑誌, 5 (3), 70~76. —11) 鈴木憲二 (1925) : 十二指腸虫病に関する実験的研究, 先天性免疫に関する知見補遺, (1) 十二指腸虫仔虫の皮膚侵入に就て, 京都医学雑誌, 22 (11), 1591~1627. —12) 分島整 (1933) : 鉤虫科 Ancylostomidae 成熟仔虫の趨向性 Tropism に関する実験的研究, 第1報 鉤虫科 Ancylostomidae 成熟仔虫の向触性 Thigmotropism に就て, 台湾医学会雑誌, 32 (8), 37~60. —13) 分島整 (1933) : 第2報 鉤虫科 Ancylostomidae 成熟仔虫の向水性 Hydrotropism に就て, 台湾医学会雑誌, 32 (9), 100~116. —14) 分島整 (1933) : 第3報 鉤虫科 Ancylostomidae 成熟仔虫の向化性 Chemotropism に就て, 台湾医学会雑誌, 32 (10), 43~69. —15) 山口操

(1930) : 十二指腸虫症に関する実験的研究, 新潟医科大学病理学教室研究報告, 12, 1~106. —16) 安藤阿一男 (1955) : 鉤仔虫の行動に関する研究, 1. 犬鉤虫 *Ancylostoma caninum* 感染仔虫の温度に対する動性 kinesis について, 寄生虫学雑誌, 4 (1), 74~77.

Summary

From the standpoint of view that the activity of hookworm larvae may be stimulated by the temperature, the author performed an experiment to know how the temperature may give influence upon their tissue-invading activity. For this purpose the author used tubular pieces, 2.5 cm. long, of rabbit intestine, which were fastened at both ends and contained 1.5 cc of human serum. The pieces were immersed in water in Petri-dish and kept at various temperatures ranging from 15°C to 45°C. The hookworm larvae of known number were placed in water and after 2 hours the number of larvae found in the tissue and serum was calculated. The experiments in every temperature were repeated 10 times respectively, and the results were as follows.

(1) The tissue-invading activity of hookworm larvae may depend on the degree of temperature.

(2) Although even at the same temperature a marked variation of invading rates was observed, there were general tendencies that the rates rose at the temperatures ranging from 24°C to 27°C and again at 37°C for *Ancylostoma duodenale*, and at those ranging from 21°C to 24°C and again at 36°C for *A. caninum*.

(3) Generally speaking, the invading rate of *A. caninum* is considerably low as compared with that of *A. duodenale*, being 8.9% and 68% in maximum respectively.

(4) As there is a question whether or not the result of *A. caninum* may be due to the sort of serum applied, being human, another experiment with dog serum should be performed for *A. caninum*, although for *A. duodenale* there was observed no difference of invading rate among sera of man, horse, and rabbit, as previously reported.

(5) At any rate, the results obtained in this experiment are thought to be useful for the consideration on the role of temperature in the tissue-invading activity of hookworm larvae.