

# Microfilaria の凝集反応発現並びに その殺虫性免疫的意義に関する研究

河野 猪 三 郎

鹿児島大学農学部家畜病理学教室 (主任 新美大四郎教授)

鹿児島大学医学部衛生学教室 (主任 北原経大教授)

(昭和 33 年 7 月 10 日受領)

特 別 掲 載

## 緒 論

牛の腹腔内に寄生する *Setaria marshalli* 及び *Setaria digitata* は往時より広く知られた寄生虫であるが、従来病害が少ないので重要視されなかった。然るに近年綿羊、山羊、時として馬の腰麻痺の原因が *Setaria digitata* 幼若虫の脳脊髄内迷入によるものであることが新美ら(1941, 1942, 1943)により判明し、俄然 *Setaria* が重要視されるに至った。更に Innes, 荏保 (1951) が人の脳赤色軟化の疾患にも該 *Setaria* に原因するものがあるのではないかという疑義を提案したことは医学界で注目すべきことである。又牛の皮膚病でコセ又はワヒと称する痒覚の極めて著しい疾病があるが、嘗て小国 (1929) は本病の皮膚組織内に *Microfilaria* (以下 Mf とする) を見出し該 Mf を *Setaria* の Mf と思い本病の原因と見做したが、最近著者ら (1954, 1956) の研究により該 Mf は *Setaria* の Mf ではなく *Onchocerca gutturosa* の Mf であることが判明した。その研究の際、日本の牛に寄生する *Filaria* の成虫及び Mf の寄生状態に就いては詳細な研究成績がないのでそれに就いて再検討するの必要を感じ牛の年令別、季節別に *Filaria* の寄生状態を検査したところ、極めて興味深い結果を得た。即ち *Onchocerca gutturosa* では成虫とその Mf とは相伴って寄生し、*Setaria marshalli* は成虫も Mf も共に幼若牛にのみ認められるが *Setaria digitata* の Mf は幼若牛では寄生するが 2 歳以上の牛ではその成虫が腹腔内に寄生しているにも拘らず何故か Mf の寄生は認められない。その理由の一つに

殺虫性免疫現象による Mf の死滅の為ならざるかと考えられる。よって本虫の寄生牛の血清に対する Mf の態度を観察した所、Mf の凝集反応の発現を見出した。

検査の結果本凝集反応は細菌における凝集反応、トリパノゾーマの Agglomeration 等の諸現象と異なる性質のものであるが本凝集反応は後天性の殺虫性免疫に関係あることが判明した。

由来寄生虫病の免疫学的診断には補体結合反応、皮膚アレルギー反応、沈降反応等があるが、細菌 virus 方面の免疫学的診断のように実用的に応用されているものは甚だ少い。寄生虫の免疫は一般に微弱であると思われるが、体組織内に寄生する寄生虫に対し抗体の発生が証明されたものがある。即ち *Filaria* 症の免疫学的診断に就いても Bozicevich (1944), Fairly (1931), 我国では一の瀬 (1942), 片峰 (1952), 北村 (1950), 岡部 (1952) から幾多の報告はあるが実用の域には達していない。

免疫的感染防禦については藤浪 (1915) は日本住血吸虫を馬に実験的に感染させ、又小沢 (1929) は同虫を犬に実験的に感染させてその発生を証明しているがそれを *in vitro* では証明していない。

著者の発見した Mf の凝集反応は極めて珍しく単に *Filaria* の研究に有益なるのみならず一般免疫学的にも新分野を開拓し頗る興味あるものと思ひ、ここに研究成績を報告する。

## 牛 *Filaria* の寄生状態の調査

### I 検査方法

本編では我国の牛における *Filaria* の種類及び寄生状態を検査した。

*Filaria* の検出に供した牛は主として鹿児島屠場における黒毛和牛、熊本屠場における褐毛和牛で一部はホルスタイン種である。又一部農家の幼若牛も検査した。成虫は牛解体の際肉眼的に検査し、Mf は血液中のものは

ISABURO KOUNO: Studies on agglutination of microfilariae and its parasitocidal immunologic significance (Department of Animal Pathology, Faculty of Agriculture & Department of Hygiene, Faculty of Medicine, Kagoshima University)

肺及び頸静脈の血液の濃厚塗抹標本を作って検査し、皮膚組織内の Mf は皮膚片を微細に切り37°Cの生理食塩水中で2時間浸漬した後100メッシュの金網にて濾し、濾液を5分間遠心分離にかけ沈澱物を塗抹し顕微鏡標本を作り、これらの標本をギムザ染色、メチルグリーン・ピロニン染色、ヘマトキシリン・エオジン染色等を行い鏡検した。

以上の検査は5年間に亘り随時に行い検査牛の数は約1,000頭である。

## II 検査成績

### (一) 黒毛和牛における各虫種の寄生状態

黒毛和牛に寄生する *Filaria* は *Setaria* と *Onchocerca* の2属あって両者は形態及び体内分布により容易に鑑別出来る。

#### 1. *Setaria* 属

牛の腹腔内に寄生する *Setaria* は新美の朝鮮牛における検査で *Setaria digitata* と *Setaria marshalli* の2種あって J. Willis Thwaite (1927) の報告した *Setaria labiato-papillosa* に一致するものも稀に見られたが不確実で *Setaria digitata* の中に加えられた。佐藤ら(1953)も東京芝浦屠殺場における牛の *Setaria* を検査し *Setaria labiato-papillosa* は独立種と見做し難く *Setaria digitata* の老令化したものとしている。著者の検査でも *Setaria labiato-papillosa* は独立種ではなく *Setaria digitata* の範疇に入るべきものであるとの結論に達した。*Setaria digitata* と *Setaria marshalli* とは成虫では体長及び形態により一見して鑑別出来、又 Mf では定点測定で差異は認め難いが体長において極めて明瞭に両者の区別が認められる。

#### (イ) *Setaria marshalli* の寄生状態

石原(1953)は *Setaria marshalli* の先天性感染を報告した。著者は *Setaria marshalli* の成虫及びその Mf の寄生状態を年齢別に年間を通じて検査した。その方法は農家の幼若牛を材料とし頸静脈より採血し Mf の検出を行った。その成績は第1表の通りである。

##### a. 1歳未満の仔牛における検査

表により11月より翌年の2月迄の間、即ち冬に生れた仔牛の血中に *Setaria marshalli* の Mf が認められるが、その他の季節に生れた仔牛の血中には全く見られない。朝鮮牛における新美の研究によれば *Setaria marshalli* は感染して3ヶ月経てば成虫となり Mf を生産すると報告しているがこの發育史より考えて、冬生れの仔牛の血中に見える Mf は牛の生後感染した *Setaria* の發育した

第1表 1歳未満牛における *Setaria marshalli* の Mf の検出状況

牛番号	生れた年月	月齢	検査年月日	<i>Setaria marshalli</i> の Mf
1	26年 6月	約12カ月	27年 5月 2日	—
2	26・ 8	10	27・ 5・ 2	—
3	26・ 8	10	27・ 5・ 2	—
4	26・ 6	11	27・ 5・ 10	—
5	26・ 5	12	27・ 5・ 10	—
6	26・11	7	27・ 5・ 10	+
7	26・11	7	27・ 5・ 20	—
8	26・11	7	27・ 5・ 20	+
9	26・12	6	27・ 5・ 21	+
10	27・12	6	27・ 5・ 21	—
11	27・ 1	5	27・ 5・ 21	+
12*	27・ 2	4	27・ 5・ 21	+
13*	27・ 2	5	27・ 5・ 30	+
14	27・ 1	6	27・ 5・ 30	—
15	27・ 1	6	27・ 5・ 30	+
16	27・ 2	4	27・ 6・ 1	+
17	27・ 2	4	27・ 6・ 1	—
18	27・ 3	3	27・ 6・ 1	—
19	27・ 3	4	27・ 6・ 10	—
20	27・ 3	4	27・ 6・ 10	—
21	26・ 4	3	27・ 6・ 15	—
22	26・ 6	12	27・ 6・ 15	—
23	27・ 4	3	27・ 6・ 15	—
24	27・ 2	5	27・ 6・ 15	+
25	26・ 8	10	27・ 7・ 1	—
26	27・ 4	3	27・ 7・ 1	—

註\* 屠場材料に付成虫仔虫共に検出した

る成虫の産み出す Mf ではなく、先天性感染した *Setaria* の發育した成虫の産出した Mf ならざるかを考えねばならない。即ち母牛が夏妊娠して *Setaria* に感染し、その幼若虫が胎盤を通過して胎児の腹腔内に侵入し、成虫となり胎児の体内において *Setaria* の Mf の生産が行われるものと考えられる。2月生れの仔牛の4ヶ月のものの剖検で腹腔内に数隻の *Setaria marshalli* の成虫が見られたことは、この先天性感染を明らかに実証するものである。又3月以降生れた仔牛の血中に Mf が認められないのは母牛が *Setaria* 感染時、胎児が1~2ヶ月では胎児の腹腔内に侵入することは出来なく、少くとも3ヶ月以上の胎児でなければ *Setaria* は腹腔内に侵入出来ないことを意味し、又6月以降生れた仔牛の血中に Mf が認め

られないのは夏を過ぎてから妊娠した母牛は *Setaria* の感染がない為であることを意味する。

#### b. 1 歳以上の牛における検査

多数の屠場牛につき検査したるに 1 歳の牛には極めて稀に本虫の成虫及び Mf の寄生を見たが 2 歳以上の牛には成虫も Mf も全く寄生を見ない。3 月以降生れた 2 歳牛の検査で時に *Setaria marshalli* の Mf が血中に認められる。*Setaria* の寿命は一年余りだから本牛に見られた Mf は生後感染した *Setaria* の産出したものであると解釈するのが当然であろう。

これを要するに *Setaria marshalli* では先天性感染は正常な感染法で稀に生後感染があると言える。2 歳以上の牛には *Setaria marshalli* の成虫もその Mf も決して認められない。然も先天性感染を発生した仔牛の母牛には成虫も Mf も認められない。このことは極めて興味あることで 2 歳以上の牛には何故か *Setaria marshalli* は成虫に發育し難く、若しかゝる牛に本虫が感染すれば直に母体を去り速に胎児に侵入するものと考えられる。

#### (ロ) *Setaria digitata* の寄生状態

屠場の多数の牛について検査したるに、1 歳牛即ち 1 夏経過した仔牛には春には成虫及びその Mf が認められる。2 歳以上の牛には腹腔内に成虫が寄生し、しかも母虫は子宮内に活潑な Mf を無数に蔵しながら Mf は年間を通じ宿主の血液塗抹の検査で認められない。成虫の寄生数は 9 月から 11 月が最も少くその他の季節には多くして常に数隻以上見られ、多いのは 20~30 隻寄生している牛もある。解体時 *Setaria* の寄生していない牛もあるが、嘗て寄生した証拠の纖維性腹膜炎が残存しているので 2 歳以上の牛は殆んど全部の牛が *Setaria* に感染したことがわかる。又農家の幼若牛についても検査したが前述の如く *Setaria marshalli* は多数の牛に認められたが *Setaria digitata* は全く認められない。

これを要するに *Setaria digitata* は *Setaria marshalli* の如き先天性感染は全くないことがわかる。*Setaria* の發育史及び成虫の寄生の多い季節より考えて中間宿主よりの感染は 7~8 月頃が最も多い。1 歳牛では成虫とその Mf は認められるが、2 歳以上の牛には腹腔内に成虫が寄生しているに拘らず血中に Mf は認められない。これは母虫より生れる Mf は何故か生存不能で速に死滅するからであろう。

#### 2. *Onchocerca gutturosa* の寄生状態

屠場における多数の牛について検査したが成虫は頸韌帯周囲の結締織に寄生し、その Mf は二型あって著者

ら(1954, 1956)は第一期 Mf と第二期 Mf に分類命名した。即ち前者は成虫より生れたばかりの Mf で細長く皮膚組織内のみに寄生し、後者は前者の一段と發育したもので短く体幅は広くして渦状を呈し、度々血中に出現するので両期 Mf の鑑別は容易である。

#### (イ) *Onchocerca gutturosa* の寄生状態

第一期 Mf と第二期 Mf は年間認められ常に混在している。既して夏に第一期 Mf が多く冬期には第二期 Mf が多い。而して本虫は 3 歳以上の牛には 90%以上寄生し、Mf は常に成虫の寄生率と一致している。生後一夏を過ぎたものは翌年の春以後は多くのものにおいて本虫の寄生を見る。前述の如く成牛では 90%に寄生しているが、たとえ寄生していないものでも頸韌帯には嘗て本虫の寄生による陳旧性変状が見られるので牛は一生の間には全部寄生するものと思われる。

#### (ロ) *Onchocerca gutturosa* の先天性感染

2 例ではあるが 2 月生れの当歳牛の 6 月における皮膚組織の検査で第二期 Mf がみられた。これは *Onchocerca* の發育史より考えて生後感染ではなく矢張り *Setaria marshalli* の如く母牛が夏妊娠中 *Onchocerca* に感染し胎盤感染が起り胎児に侵入し胎児の頸韌帯で發育して成虫となり、Mf を生産したものと解釈せざるを得ない。よって本虫には極めて稀であるが先天性感染があることが判る。

#### (二) 牛の種類と *Filaria* の寄生状態

##### 1. 各種牛の *Setaria* 感受性

新美の朝鮮牛における *Setaria* 寄生状態の検査では 2~3 歳迄は両 *Setaria* の Mf は認められると述べている。著者は主として黒毛和牛、一部ホルスタイン種で検査したが、ホルスタイン種は本虫の感受性が高く成虫は一般に黒毛和牛より寄生数が多く Mf の出現も黒毛和牛より稍々高齢に至るまで認められるが、2 歳以上の牛にはやはり黒毛和牛同様に成虫は認められても Mf は認められない。堀沢(1958)の報告によると鳥取県の無角和牛も 1 歳迄は Mf が認められるが、2 歳以上の牛には Mf は認められない。これによって牛の種類によって *Setaria* の感受性には或程度差異があることが判る。即ち朝鮮牛は *Setaria* に対し最も感受性に富み黒毛和牛は他の種類の牛に比較して感受性が鈍いようである。

##### 2. 各種牛における *Onchocerca gutturosa* 感受性

*Onchocerca gutturosa* は前述の如く黒毛和牛に多数寄生しているのみならず更に褐毛和牛、ホルスタイン種、無角和牛にも寄生している。本虫の寄生率は牛の種類に

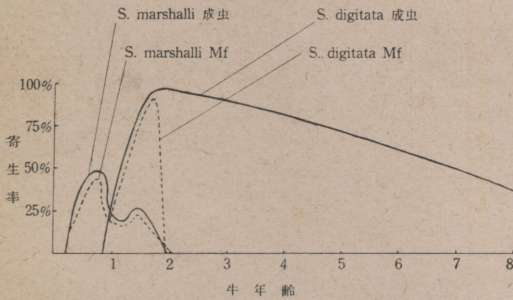
よる差異はなく各種牛の *Onchocerca gutturosa* 感受性は殆んど同じである。

### Ⅲ 総括

我国の牛に寄生する *Filaria* の種類及び寄生状態を調査し検出した *Filaria* は *Setaria* 属2種、*Onchocerca* 属1種の3種類である。

(一) *Setaria* 属の2種、*Setaria marshalli* 及び *Setaria digitata* は腹腔内に寄生し、それらの Mf は血液内のみ分布している。而して *Setaria marshalli* は大部分が先天性感染を為し一部が生後感染を為すが2歳以上の牛には成虫も Mf も決して寄生しない。

*Setaria digitata* は総て生後感染で黒毛和牛にあっては1歳牛のみ成虫とその Mf が認められ、2歳以上の牛では成虫が腹腔内に認められてもその Mf は決して認められない。*Setaria* の寄生率と寄生状態を示せば第1図の如くである。

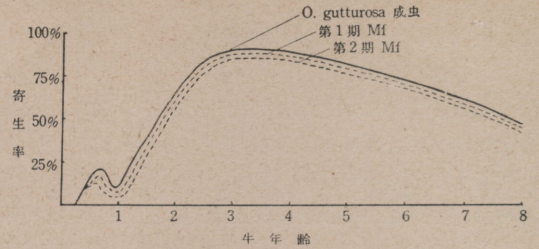


第1図 各年齢の牛における *Setaria* の寄生状況(検査時7月)

(二) *Onchocerca gutturosa* は頸韌帯周囲の結締組織に寄生しその Mf は第一期 Mf と第二期 Mf の両型ありて、共に皮膚組織に寄生するが第二期 Mf は時として血中に出現する。又極めて稀ではあるが本虫の先天性感染が認められる。本虫の寄生状態は成虫と Mf とは常に相伴って出現する。寄生率と寄生状態を表に示せば第2図の如くである。

### 附記

緬羊、山羊時として馬の腰麻痺の原因が、*Setaria digitata* の幼若虫の脳脊髄内迷入によることは既に知られているが、本病の予防策として牛体内の *Setaria* 及びその Mf を殺滅することが考えられ、この方法が実験的に行われ良好な成績を挙げている。その際2歳以上の牛も感染源の対象として *Setaria* の駆除が行われているが著者の牛 Mf の寄生率、寄生状態の検査により2歳以上の



第2図 各年齢の牛における *Onchocerca gutturosa* の寄生状況(検査時7月)

牛はたとえ成虫が寄生しても Mf は血中に出現しないから腰麻痺の感染源にはならない。よって2歳以内の牛のみ腰麻痺の感染源として予防策を樹立すればよい。このことは實際的に極めて有益なる知見である。

### 凝集反応の発現

#### I. 緒言及び反応検査法

前項で述べた如く *Setaria digitata* の Mf 寄生状況は *Setaria marshalli* 或は *Onchocerca gutturosa* と大いに異り2歳以上の牛には成虫が寄生していてもその Mf は血中には出現しない。このことは極めて興味あることである。その理由に血清の殺虫性が考えられるので *Setaria digitata* の感染を耐過した牛の血清に Mf を作用させた所、凝集反応の発現が見られることを発見した。凝集反応の実施法は、屠殺の際各年令の牛より無菌的に血液を採取し、又一般農家の牛では頸静脈より血液を採集し、血清を分離し約 0.4cc ホールグラス(径 2.3 cm)に採る。一方牛解体の際腹腔内より *Setaria* 母虫を採集し滅菌生理食塩水にて数回洗滌し時計皿内にて潰し、子宮より Mf を取り出し、Mf 浮游液を作りピペットにて約 2~3 滴(Mf が多数に含まれる)を前述の血清に添加し大型デッキグラスにて覆い、50°C のパラフィンにて周囲を封じ、37°C の孵卵器に入れ種々の時間に観察した。

#### II. 実験成績

##### (一) 凝集反応の観察

##### 1. 凝集現象

*Setaria* 感染耐過血清に *Setaria digitata* の Mf 及び虫卵を加えると凝集反応が起る。即ち虫体及び虫卵は絡み合い凝集が起る。凝集が発現すれば虫体の運動性は不活潑になり麻痺状態に陥り同時に凝集した Mf の周囲に稍々透明な蛋白膜様物質が出現し Mf はこれに含まれるに至る。虫体が凝集し蛋白膜様物質に含まれる迄の時間

は 5 分～10 分である。凝集し団塊となれるものの Mf の数は数隻、十数隻或は数十隻でその数は一定しない。これに反し対照試験として非寄生牛血清内に加えられた Mf は最後迄血清内に散在し極めて活潑に運動しているのが見られ凝集現象は全く起らない。凝集反応陽性の程度は四段階に分類することが出来る。即ち Mf は悉く団塊を形成しその頭端、尾端何れの部位も蛋白膜様物質に完全に包まれ Mf の運動性は極度に麻痺したものを卍とした。数隻づつ所々に団塊が見られ、蛋白膜様物質が或程度認められ Mf の運動性が鈍くなるものを卍とした。Mf は散在するものは殆んどなく多くは団塊となり蛋白膜様物質が僅かに認められるものを十とした。Mf が凝集するものもあるが各々 1 隻づつ散在しているものもあるのを土とし、何等凝集反応を呈せずホールグラス全体に散在し活潑に運動しているものを陰性とした。以上凝集反応の程度を模式図に示せば第 3 図の如くである。



第 3 図 凝集反応陽性程度の分類

2. 凝集現象による Mf の死滅

凝集と Mf の運動性とは大いに関係がある。即ち凝集の程度の強い Mf 程運動性は麻痺する。凝集反応は 5 分前後より発現し、1 時間前後が最も強い凝集反応が見られ、10 時間以上経過すれば Mf の運動性は著しく不活潑になり時々動く程度に過ぎない。凝集せる Mf は 48 時間後には殆んど運動性がなくなり時に動いている程度であるが中には団塊から脱落する Mf も認められる。脱落せる Mf は全く運動性なく死滅している。これに反し凝集せざる Mf の運動性は時間的に長く持続する。これによって凝集反応は Mf を死滅させる現象であることがわかる。尚詳細は後項に譲る。

3. 温度及び Mf の生死と凝集現象

凝集反応発現は温度と大いに関係がある。即ち 37°C において最も急速に凝集反応が発現し、37°C 以下の温度は凝集現象の発現が遅れる。又実験当日採取せる活潑な Mf は血清に入ると直に団塊となり所々に凝集反応を呈するが実験前日採取せる弱っている Mf は時間的にかなり遅れて凝集反応を呈し、時には団塊を作り得ず 1 隻のまゝ蛋白膜様物質に囲まれて運動性をなくするものもある。又前日採れる Mf で死せる Mf を血清に入ると凝集反応は全く起らない。これによって本凝集反応は Mf が生きていてしかも活潑な Mf で温度 37°C が最も発現し易く、且つ強い凝集反応を呈することが判る。本凝集反応においては Mf の周りに蛋白膜様物質が出現するがこの中には虫卵及び子宮細胞の破壊産物も絡みつくことがある。但し虫卵及び子宮細胞の破壊産物は Mf の存在しない所でそれ自ら凝集することはない。

(二) Microfilaria の Agglomeration 様現象

トリパノゾーマにおいてその免疫血清中にトリパノゾーマを滴下すると頭端を附着し合いロゼットを形成する。本現象は特に Agglomeration 現象と呼ばれている。著者は Mf の凝集反応の発現を観察中時々而も不規則にトリパノゾーマにおけるが如き Agglomeration 様現象を呈するのを認めた。即ち尾を附着し合い虫体を真直に伸ばし極めて美麗なロゼットを形成する(附図参照)本現象を Mf の Agglomeration 様現象として述べることにした。この現象の発現した例は第 2 表の通りである。

Agglomeration 様現象は 1 歳半以上 3 歳の牛で Setaria 感染牛血清に発現し、本現象は血清に Mf を加えてから 5 時間で発生したものもあるが大半は 10 時間以上経過して発現する。

第 2 表 Mf の Agglomeration 様現象の発現例

牛番号	牛年齢(歳)	凝集反応	発現迄の時間	発現
1	1.5	±	20時間	+
2	1.5	±	20	+
3	1.0	±	10	+
4	3.0	+	20	+
5	1.5	+	10	+
6	2.0	±	5	+

註：参考の爲、可検血清の凝集反応の陰陽程度も記入した。血清採集した牛は全部 Setaria の感染したものであつた

Agglomeration 様現象を呈した虫体は真直に体を伸ばし殆んど運動性を失い死滅している。トリパノゾーマにおける Agglomeration では虫体は運動性があり而も生存していると云われているからこれとは大いに異なる。本現象は凝集発現の弱いもの（土程度）に屢々見られ発現率が低く 100 例中 1～2 回程度に而も偶然にみられ血清の本反応を呈することの予測は不可能である。牛以外の動物血清及び *Setaria* 非寄生の凝集反応陰性の牛の血清には発現しない。この点より考えれば多少免疫的意義のあらざるかを思わしめるが、本反応発現の予測ができないから詳細な研究が不可能である。但し前述の凝集反応とは恐らく全く異なる現象と思われる。

### (三) 凝集反応の発生要約

本凝集反応の性質を種々の見地より究明すべく次の実験を行った。

#### 1. 稀釈血清の凝集反応

凝集反応陽性原血清は稀釈により如何なる程度迄反応を呈するかを検査する為に生理食塩水にて通減的に凝集反応陽性の血清を稀釈して Mf の凝集反応を実験した。10 例以上の血清につき実験した成績を総括すれば第 3 表の通りである。

第 3 表 稀釈血清の凝集反応

観察時間 稀釈血清	観察時間					
	10分	30分	1時間	2時間	3時間	6時間
原血清	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4 倍	++	++	++	++	++	++
8 倍	+	++	++	++	++	++
16 倍	—	—	—	—	—	—
32 倍	—	—	—	—	—	—
64 倍	—	—	—	—	—	—

実験の結果は原血清は凝集反応が最も強く発現し稀釈すれば漸次に弱く発現し 16 倍にては全く凝集反応が発現しない。

これは一般細菌学における凝集反応が通常高稀釈度にも反応が陽性な事と著しく異なることを示す。

細菌の凝集反応においてはたとえ健康血清にても原血清又は低度の稀釈で反応が時々発現する場合があるが本 Mf の凝集反応においてはかゝることはない。

トリパノゾーマの Agglomeration は細菌の凝集反応程はないが 640 倍稀釈迄は陽性であると云う。故にこの点において Agglomeration は細菌凝集反応に近いもの

である事が判る。

#### 2. *Setaria* 感染牛及び未感染牛血清の凝集反応

本凝集反応は *Setaria* 感染牛のみに発現するや否やを検査した。

第 4 表 *Setaria digitata* 感染牛及び未感染牛血清の凝集反応

牛	検査頭数	凝集反応の発現率
未感染牛	25	0%
感染耐過牛	150	80%

註：未感染牛、感染耐過牛共に約 50% は、幼時 *Setaria marshalli* の感染牛である。

本凝集反応は第 4 表の如く *Setaria digitata* 未感染牛血清には全く発現せず *Setaria digitata* に感染し耐過した血清にては約 80% に凝集反応が発現する。これによつて本凝集反応は *Setaria* 感染の血清に特異的に発現するものと認められる。

#### 3. 各種動物血清の凝集反応

牛以外の動物即ち馬、豚、山羊、犬、家兎、モルモットの血清は若しや *Setaria digitata* の Mf に対して凝集反応を起さしめるではないかを見る為に之等動物の新鮮血清を採集し本 Mf の凝集反応を試験したるに常に全く反応の発現を見なかった。

これによつて本 Mf は種々の動物の血清により凝集反応を呈するものではなく本虫感染の耐過血清のみ凝集反応を呈するものであって本 Mf は血清により偶発的凝集反応を呈するものではないことを知る。

#### 4. 両 *Setaria* の Mf に対する *Setaria digitata* 寄生牛血清の凝集反応

牛に寄生する *Setaria* 属の 2 種は前項で述べた如く寄生状態は大いに異っている。即ち冬生れの仔牛はかなり多数に *Setaria marshalli* が先天性に感染し他の季節に生れた仔牛には本虫の寄生を見ない、又本虫は 1 歳の幼牛にも感染することもあるが之は極めて稀である。之を要するに成牛はその 50% が幼時本虫の感染を蒙つたと見て差し支えない。成牛には本虫の感染は絶無である。

一方 *Setaria digitata* は 2 歳以上の牛には 100% に寄生している。両 *Setaria* の Mf を別々に成牛 30 例の血清に入れて凝集反応を検査したその成績は第 5 表の如くである。

*Setaria digitata* のみならず *Setaria marshalli* も同様に *Setaria* 感染耐過牛血清に対し本凝集反応を示す。

第5表 兩種 *Setaria* の Mf に対する凝集反応

成牛血清30例の分類	例 数
<i>Setaria digitata</i> の Mf のみ に対し凝集反応+のもの	9(30%)
<i>Setaria marshalli</i> の Mf のみ に対し凝集反応+のもの	0(0%)
両者に対し凝集反応+のもの	15(50%)
両者に対し凝集反応-のもの	6(20%)

註：*Setaria marshalli* の Mf の凝集反応は *Setaria digitata* の Mf よりも弱い。

*Setaria marshalli* の凝集反応は発生率50%でその寄生率も約50%である。而しこの凝集反応は *Setaria marshalli* 寄生により発現したものの様にも考えられ易いが本虫の寄生は幼牛のみに見られ、成虫にありては全く寄生しないので幼牛の場合の本虫寄生による凝集反応発生の力価は相当に減退しているものと考えるのが当然であるから両者の Mf が同時に50%に凝集反応陽性の場合の *Setaria marshalli* の Mf の凝集反応は *Setaria digitata* 寄生による免疫現象の類属反応と考えた方が妥当な様に見える。

5. 別種 *Filaria* における凝集反応発現の有無

*Setaria* 以外の糸状虫でも宿主血清間に凝集反応が発現するやも知れないと考え、馬に *Setaria equina*, 牛に *Onchocerca gutturosa* が寄生しているのをこれら各種血清、各種 Mf の相互間の凝集反応を検査した。その成績は第6表の通りである。

第6表 別種 *Filaria* における凝集反応  
発現の有無

血清	抗原 <i>S. digitata</i> の Mf	<i>S. equina</i> の Mf	<i>O. gutturosa</i> の Mf
牛血清	+	±? 又は -	-
馬血清	-	±? 又は -	-

註：牛血清は *Setaria digitata*, *Onchocerca gutturosa* 感染耐過牛血清  
馬血清は *Setaria equina* 感染耐過馬血清

*Setaria equina* の Mf の凝集反応は牛血清馬血清同様に発現する。而しその発現は Mf の周囲に蛋白膜様物質が多少認められる程度で判然とした凝集反応ではない。故にこれは殆んど問題にするに足らない程である。案ずるに *Setaria equina* 感染耐過馬血清では凝集反応を発現する性質が恐らくないのではないかと考えられる。

*Onchocerca gutturosa* の Mf には本反応は全く認められない。

6. 非働性血清の凝集反応

一般細菌における凝集反応は免疫血清の働性、非働性に拘わらず発現するものであるが本 Mf の凝集反応も亦細菌の凝集反応の如くであるか否かを実験した。働性血清は採集後新しきもの、即ち採集せる血清を直に氷室に保存し24時間内のものを用い非働性血清にはかゝる新鮮血清を56°C30分加温したものを用いた。実験成績は第7表の通りである。

第7表 働性及び非働性血清による凝集反応

血 清	時 間				
	5分	10分	20分	30分	1時間
新 鮮 血 清	++	+++	+++	+++	+++
非 働 性 血 清	-	-	-	-	-
非 働 性 血 清	}	+	++	++	++
新鮮モルモット血清					
非 働 性 血 清	}	+	++	++	++
新鮮凝集反応陰性牛血清					

本実験の示す如く本凝集反応は新鮮血清のみに発現し非働性血清には決して発現しない。非働性にした血清に補体としてモルモット或は新鮮なる凝集陰性牛血清を加えることによって再び凝集反応を呈するのを確かめた。これによって本凝集反応が補体を必要とすることが判明し細菌における凝集反応と大いにその性質を異にすることが判った。

7. 凝集反応と沈降反応との比較

寄生虫の免疫学的研究では沈降反応が広く実験されている。*Filaria* 症にも試みられているが本凝集反応と沈降反応とは如何なる関係があるかを実験した。沈降反応の方法は成虫を乳鉢にて擦り潰し虫体10隻に対し5ccの割合の生理食塩水を添加し氷室にて一昼夜浸出し石綿にて濾し、透明な濾液を沈降元として使用した。本液を尖底試験管に入れその下に可検血清を重積し30分後白輪の発生を観察して反応の陰陽を判定した。血清は新鮮なものを併し同時に同一血清にて凝集反応も行い両者の陰陽を比較した。その実験成績は第8表の如くである。

本実験における沈降反応は一般に弱いが本虫非寄生の6ヶ月仔牛では陰性であるから矢張り免疫学上の沈降反応と大体同一のものであろう。両反応は相伴って発現する場合が多い。而し凝集反応は1歳半未満の幼牛では例

第8表 凝集反応と沈降反応との比較

例番号	牛年齢	凝集反応	沈降反応
1	6カ月	—	—
2	1歳	—	+
3	1歳	—	+
4	1.5歳	±	++
5	1.5歳	+	+
6	1.5歳	—	±
7	1.5歳	—	+
8	2歳	+	+
9	2歳	++	+
10	2歳	++	+
11	3歳	+++	+
12	3歳	—	+
13	3歳	++	+
14	5歳	+++	++
15	5歳	+++	+
16	7歳	+++	++
17	8歳	+++	++

註 1歳牛は一夏越したもので *S. digitata* の感染しているものと思われる。

え陽性であっても反応が弱く2歳以上では反応が著しく強いが沈降反応では1歳半も2歳以上も同様である。斯くの如く両反応は発現状態に多少の差異がある。

#### 8. *Setaria* 感染家兎の血清の凝集反応

Mf の凝集反応を実験的に家兎に発現させるべく牛解体の際なるべく無菌的に *Setaria digitata* を採集し生理食塩水内で毎回10隻の母虫を潰し子宮内より Mf をとり出し浮游液とし2頭の家兎の腹腔内に2日間隔で6回注射し、又別の家兎の腹腔内に15隻の *Setaria* 母虫を挿入し血中にその Mf を認める様になった。免疫操作開始後3ヶ月後に夫々の家兎の血清を採取し Mf を作用させ凝集反応を試みたが何等の反応も示さなかった。これによって本凝集反応は家兎に実験的に発現させることは困難であることが判った。

#### III 総括

*Setaria digitata* の感染を耐過した牛の血清にその Mf を作用させると凝集反応が発現する。

本凝集反応は非寄生牛には発現せず凝集反応が発現すれば虫体及び虫卵は絡み合い虫体の周囲に蛋白膜様物質が出現し運動性は麻痺し遂には死滅するに至った。本凝集反応の発生要因を研究し次の成績を得た。

1. 凝集反応は37°C血清温度に急速に且つ最も強く発

現し37°C以下の温度では発現が遅れる。

2. Mf は生存し活潑に運動している場合に発現し易く、弱っている Mf の凝集反応は発現が遅れ死滅せる Mf には凝集反応は全く発現しない。

3. 本凝集反応観察中時々不規則にトリパノゾーマの Agglomeration に似た現象が見られる。即ち尾を附着し合い美しいロゼットを形成する。本現象を Mf の Agglomeration 様現象と呼ぶことにしたが本現象は *Setaria* 感染血清に発現する点から一種の特異的免疫現象と考えられるも、発現率が極めて稀で時々偶然に見られるに過ぎない。故に凝集反応とは直接関係がないものと考えられる。

4. 凝集反応陽性血清を稀釈すれば反応は8倍迄認められるも16倍以上は発現しない。

5. 凝集反応は *Setaria* 感染耐過血清の80%に出現し *Setaria* 非寄生牛には認められない。

6. 牛以外の動物の血清中に *Setaria digitata* の Mf を加えても凝集反応は発現しない。

7. 牛血清に *Setaria equina* の Mf を加えると極めて軽度に虫体の集合することあるも真の凝集反応と認め難い。 *Onchocerca* には凝集反応は認められない。

8. 牛に寄生する *Setaria* 属2種には弱度乍ら類属反応が認められる。

9. 本凝集反応は血清を56°C30分加温して非働性になれば陰性となるが、これに新鮮モルモット血清或は牛の新鮮凝集陰性血清を加えると再び反応は陽性となる。このことより本凝集反応には補体が関係することが判る。

10. 沈降反応も行い、凝集反応と比較したが両反応は相伴って発現する場合が多い。一般に幼牛即ち1~1.5歳では凝集反応は軽度に発現し、2歳以上になって高度に発現するが沈降反応はかゝる幼若牛も成牛も同じ程度に発現する。

11. 実験的 *Setaria digitata* の成虫及び Mf を家兎の腹腔内に入れて感染を起させたがその血清は3ヶ月に達するも凝集反応を呈しない。

#### IV 考察

叙上の Mf の凝集反応は本 *Setaria* 感染牛血清のみに特異的に発現し本虫非寄生牛及び他の動物の血清には発現しないこと及び反応発現に補体が関係することにより明かに免疫学的現象にして決して単純なる理化学的現象にあらざること一点の疑もない所であろう。よって以下種々の免疫学的立場より本凝集反応につき考察を試みよう。



### 1. 細菌の凝集反応との比較考察

細菌学における凝集反応は一般の成書では血清の60°C 30分加熱で影響を受けないと記載されてある。之を要するに細菌の凝集反応には補体は関与しないものと認められているが稀には補体も多少関係する場合があるのを主張した人もある。即ち小宮(1930)は細菌における凝集反応に及ぼす補体の影響について実験し補体の作用を重要視しているが非動性血清についても凝集反応は発現するという。然るに本 Mf の凝集反応は明らかに補体が参与しこれがないと凝集反応は発現しない。又細菌における凝集反応は抗原として生死何れの状態でも発現し、血清の相当な高稀釈迄反応を呈するが本 Mf の凝集反応は Mf が生きていなければ発現せず、血清は原血清程強く発現し低稀釈により反応が急速に弱くなることは細菌の凝集反応と大いに異なる。

家兎における本 Mf の凝集反応発生試験は Mf の接種後3ヶ月に至るも発生しない。而るに細菌の凝集反応発生試験において一般成書によれば細菌接種後速に(1~2週間後)発現する。又自然感染例においても細菌感染の場合には感染後速に凝集反応が発現することは人の知る所であるが本 Mf の凝集反応にありては *Setaria digitata* に感染しても相当久しく発現しないことは1~1.5歳牛の幼若牛について見れば明らかである。要するに細菌の場合には感染後速に凝集反応が発生するが、本 Mf の凝集反応にありては感染後相当期間をおいて緩慢に発生する。本虫による沈降反応発現状態は感染後比較的速かに発生するもので Mf の凝集反応発現状態と異り一般細菌における沈降反応発現状態と一致する。叙上の如く本 Mf 凝集反応は細菌の凝集反応とは種々の点において本質的に異なるものである。

### 2. トリパノゾーマとの比較考察

本 Mf の凝集反応に極めて良く似た現象にトリパノゾーマにおける Agglomeration がある。トリパノゾーマの Agglomeration は最初の発見者 Laveran et Mesnil (1900) により報告され幾多の業績があるが我が国においては古川(1927), 長谷川(1930), 添川(1951)の研究がある。此等の文献を総覧するにトリパノゾーマは免疫血清或は寒冷に曝されると往々後端を中心に附着し合いロゼットを形成する。このロゼットは強弱の程度は種々である。このロゼット形成は免疫血清の非動性、働性たるとを問わず発現し640倍稀釈迄反応を呈する。このことは Mf の凝集反応とトリパノゾーマの Agglomeration と大いに異なる所である。Arkwright(1931)は細菌の凝集反応の mechanism において集団形成を agglomerate

と言う語を使い Agglutination の中に Agglomeration を含ませている様である。即ち Agglutination と Agglomeration は明瞭に区別して用いられたものではない。添川は Agglomeration は特異のロゼット形成が着目せられているが細菌の Agglutination も仔細に検査すればロゼット形成が証明されると判断し諸種の実験をなしトリパノゾーマに見られる Agglomeration は細菌の Agglutination においてもみられるとし Agglomeration は Agglutination に包含されると結論している。著者は Mf の凝集現象を上述の如く凝集反応と命名した。Mf の凝集反応観察中時々後端を中心に体を真直く伸ばし所謂 Agglomeration 様現象を呈するのが見られるが、本現象は偶然にしかも発生率が極めて低く或は免疫現象ではあるが Mf の凝集反応とは関係がない様である。トリパノゾーマの寒冷による Agglomeration は免疫血清による Agglomeration とは異なるものと思われるが之と著者の Agglomeration 現象とは類似のものではないかと疑い Mf を寒冷に曝したが Agglomeration 様現象は発現しない。これを要するに著者の Mf の Agglomeration 現象は研究不充分である。

### 3. サールズ現象との比較考察

Sarles(1938)は *Nipponstrongylus muris* を感染させた mouse の血清とその幼虫を *in vitro* で作用させると仔虫の口、肛門、排泄孔、陰門等の開口部及び虫体周囲に precipitate を生ずることを発見し、Taliaferro(1940)は Sarles の報告した現象は線虫仔虫による免疫血清のみに証明される抗原、抗体反応であると論じている。永井(1956)は Sarles の発見した現象を Sarles 現象と呼び *Dubini* 鉤虫仔虫を家兎に感染させた血清で免疫学的に追試し、感染によりγグロブリンが増加することを認め感染免疫と密接なる関係があると論じている。著者は本 Mf において Sarles 現象の発現あるや否やを調査したが全く陰性に終った。著者の凝集反応は免疫的のものであることは Sarles 現象に一致するも Sarles 現象は血清の働性、非働性たるとを問わず発現し家兎における実験的 Sarles 現象が容易に発生し、又他属の線虫仔虫にも類属反応が見られることは大いに Mf の凝集反応と発生要因を異にしている。林ら(1952)は日本住血吸虫感染動物の血清に *Cercaria* を作用させると尾体表面に硝子様物質が附着し本現象は補体を必要とする現象であると述べているが、この現象は著者はこれを一種の Sarles 現象と思うが Mf の凝集反応に似ている所もある。宗(1957)は大肺吸虫の Sarles 現象を家兎で実験して感

染後短期間に発現し免疫血清については補体を必要としないと述べているが、これは著者の Mf の凝集反応とは異なる。滝沢ら(1952)は蛔虫症患者血清を豚蛔虫仔虫に作用させ仔虫に precipitate 形成を認めこれが蛔虫仔虫が体組織を通過する際に生体に対し一種の Allergy 性を与えることを示唆していると述べているが、著者はこれも一種の Sarles 現象と思うものである、Kagan (1955) が *Schistosoma* の種々の发育段階の Cercaria に感染動物血清を作用させ Cercaria の周りに膜が形成されるのを認めた。この現象と著者の Mf の凝集反応との異なる点は生きている Cercaria や死せる Cercaria でも膜は吸収され、本現象は働性血清よりも非働性血清の方が著明である。Liu (1950) は住血吸虫の生きている Cercaria の凝集現象を報告しているがトリヒナ感染の血清にも起り新鮮血清同様非働性血清にも起り急性感染には著明に見られ慢性感染には半数以上反応が陰性となるということは著者の Mf の凝集反応とは大分異なる。

以上細菌の凝集反応、免疫学的に免疫現象と考えられているトリパノゾーマの Agglomeration 及び所謂 Sarles 現象を内外の文献によりて本 Mf の凝集反応と比較考察したが何れも本 Mf の凝集現象と性質を異にしている。本凝集反応は免疫学的にも極めて特殊な免疫現象で他に例がなく極めて興味ある現象と考えられる。

### 本反応の殺虫性免疫的意義

本編では *Setaria digitata* 感染耐過牛において成虫が腹腔内に多数寄生しこれが盛んに Mf を生産することは明かなるものにも拘らず Mf が血液内に全く寄生しないのは殺虫性免疫の為ではないかと考え、これを解決する為各年齢における *Setaria* の寄生状態と本凝集反応との関係、凝集せる Mf の運命について検査した。

#### I 検査成績

(一) 各年齢における牛血清の凝集反応  
牛の各年齢を *Setaria* 感染の関係を考慮して便宜上四

つに分類した(第9表)。

#### 1. 秋生れの齡10ヶ月以内の仔牛

本類に属する牛は感染した *Setaria digitata* の未だ一发育史を完了せざるもので換言すれば *Setaria digitata* の感染を全く受けないものか、感染を受けても *Setaria* は成虫に達せず未だ血中にその Mf の出現せざるものである。

#### 2. 1歳～1歳半

1歳～1歳半とは生後多くは一夏、時としては二夏越して感染した *Setaria digitata* の一发育史を過ぎたもので腹腔内には成虫存在し血液中に Mf が認められるものと腹腔内に成虫が寄生し乍ら血液内に Mf の既に認められなくなったものとである。

#### 3. 2歳以上

2歳以上とは *Setaria* が毎年感染して *Setaria* 母虫が腹腔内に見えるか、或は嘗て *Setaria* が寄生したことのある纖維性腹膜炎を残存しているもので血中にはその Mf は全く認められないものである。

#### 4. 8歳以上

3. の更に老いて8歳以上となれるものである。

各年齢における牛血清の凝集反応の成績は第9表の通りである。

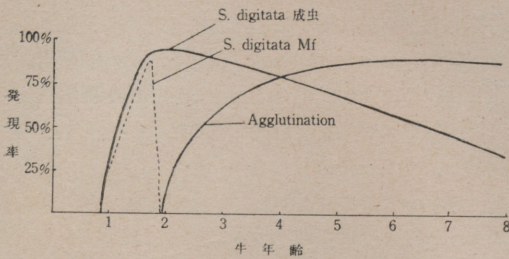
第9表により 1. の *Setaria* の感染のないもの或は感染して *Setaria* の一发育史を完了しないものには凝集反応は全く陰性である。2. の現在 Mf の血中に出現するものや1～2回感作で Mf の既に見えなくなった 1.5歳未満は69%の凝集反応が見られ 3. の2歳以上の牛では凝集反応が80%以上認められ、而も凝集程度の高度なものが多い。4. の8歳以上は90%で凝集程度は卅例が多い。本表により本凝集反応は *Setaria* 感染と関係のあることは明瞭で、而もこの免疫は除々に且つ年齢の増加と共に漸次強度になることが第8表と比較して判る。

*Setaria* 寄生と凝集反応との関係を図に示せば第4図の如くである。即ち血中の Mf が見なくなる頃より凝集

第9表 各年齢における牛血清の凝集反応

牛 年 齢	<i>S. digitata</i> の寄生状況		例数	凝 集 反 応					陽性率 (%)
	成虫	Mf		+++	++	+	±	—	
10カ月以内	—	—	21	0	0	0	0	21	0
1歳～1.5歳	+	+又は—	59	6	13	12	10	18	69
2歳以上	+	—	51	24	9	6	4	8	84
8歳以上	+	—	21	10	4	3	2	2	90

反応が発現し始め年齢の増加と共に凝集反応は益々強く発現する。これによって本凝集反応は *Setaria* 母虫がたとえ寄生しても Mf が血中に出現しないことと大いに関係のある免疫現象であることが判る。



第 4 図 *Setaria* 寄生と凝集反応との関係  
(検査時 7 月)

(二) 凝集反応を呈した Mf の運命

本凝集反応を呈した Mf は如何なる運命に赴くかを長時間に亘り観察した。その成績は第 10 表の通りである。

第 10 表 凝集反応 $\equiv$ を呈した Mf の運命

Mf の運命		時間						
		10 分	1 時間	10 時間	20 時間	48 時間	96 時間	120 時間
凝集した Mf	凝集程度	+++	++	++	++	++	±	±
	運動性	+	±	±	±	±	—	—
	解離	—	—	—	±	++	+++	+++
	死せる Mf	—	—	—	+	++	+++	+++
凝集性反例の Mf	凝集程度	—	—	—	—	—	—	—
	運動性	+++	+++	+++	++	++	+	+
	解離	—	—	—	—	—	—	—
	死せる Mf	—	—	—	—	—	±	±

凝集反応の強いものでは Mf の運動性は麻痺する。即ち蛋白膜様物質にとり囲まれた Mf は時間の経過と共に益々屈伸自由ならず動きが極めて鈍くなる。10 時間を経過すれば運動性は極めて僅かに残っている。20 時間を経過すれば Mf の運動性は殆んど消失し凝集した虫体が漸次解離し始める。90 時間を過ぎれば殆んど全部の虫体は団塊より脱落し散在して見える。これら脱落した Mf は総て運動性なく死滅している。120 時間経過すれば虫体は総て死滅して散在する。而るに本反応陰性血清に同様に作用させた Mf は久しく運動し散在し、48~96 時間では運動は微弱となるが生存している。而し 140 時間では全く死滅する。之によって本凝集反応により虫体が完全に死滅する事が明瞭になった。

II 総括

1. 牛は *Setaria* に感染すれば除々に血清は凝集反応陽性になりこれは老年に至る迄持続する。
2. *Setaria* 感染耐過牛血清において Mf の凝集反応を観察するに虫体は運動性が麻痺し漸次死滅解離する。故に凝集反応が殺虫性を意味することは明白である。

III 考察

牛は *Setaria digitata* に感染すれば成虫の発育に副うて Mf が血中に出現するが年齢が進むに従い血中の Mf は消失する。更に牛の年齢が進むに従い成虫は依然として老年に至る迄毎年感染し成虫が腹腔内に発育するが Mf は全く血液中に寄生しない。この Mf が血中に発現しない理由が何故か極めて興味ある問題でその理由を究明する為に本研究を企てたことは冒頭に述べた如くである。而るに Mf の凝集反応を発見しこれが殺虫性免疫の意義を有しその為に Mf が死滅して成牛の血液中に Mf が見えなくなる事を予想して本実験を行った。佐々 (1953) は人のフィラリア症の場合慢性患者に成虫が寄生

しているに拘わらず時々 Mf の見えない例があるを認めこれは Mf に対する感染免疫によるものと論じているが未だ斯る問題につき実験的に研究したものは無い様である。細菌の凝集反応にありては一般成書によるに何等殺菌性の意義がなく従って抗菌性免疫の原因となることは認められていない。而るに著者の Mf の凝集反応は前述の如く殺虫作用を有することは明らかである。而して第 4 図によるに各年齢における凝集反応のカーブと *Setaria* Mf の寄生のカーブとは極めて注目すべきである。即ち Mf が血中に消失するのと並行して凝集反応が発現するのが極めて明らかに認められる。これによって *Setaria* 感染耐過牛において成虫が寄生しても Mf が血中に見えない理由は本凝集反応発生と密接な関係がある

ことが極めて明白である。

而るに *Setaria marshalli* が2歳以上の牛に成虫も仔虫も共に寄生せざる理由は何故か考察して見よう。この場合には成虫が寄生しないから Mf の見えない理由は考える必要はない。成虫が寄生しない理由は幼牛の時、主として先天的に *Setaria marshalli* が感染してこれを耐過した為であるとは考えられない。それは夏生れの牛は *Setaria marshalli* に感染しない場合があるから又 *Setaria digitata* 感染による類属反応とも考えられない。確かに此の場合には単純なる年齢的抵抗力の為と考えた方がよからう。

*Setaria equina* の場合には同じく *Setaria digitata* と性質を異にして之が寄生した馬でも凝集反応は殆んど発現しないか或は土程度である。之によって殺虫性免疫は殆んど発生しない為馬は老年に至るも成虫も Mf も共に寄生することが考えられる。

*Onchocerca gutturosa* にありては年齢の如何に拘わらず成虫と Mf は相伴って寄生し凝集反応の発現も認められない。而して本虫の場合には免疫の成立も認められないのみならず年齢的抵抗力もないので牛は老年に至るも本虫の成虫及 Mf の寄生が認められる訳である。以上の考察の結果を総括するに *Setaria digitata* の場合にも年齢的抵抗力がないことはその成虫は老年に至るも充分に寄生することによって明らかである。但し凝集反応は成牛の80%に証明せられて残りの20%には証明不可能であるが元來凝集反応は長期間一定の強さで維持されるものではなく時々消長を来すものと思われるから現在凝集反応陰性でも多少しく以前には凝集反応は陽性なりしこともあり得る事と考えられる。故に成虫が多数寄生し之が Mf を産出するにも拘わらず Mf が血液中に見えないのは確かに殺虫免疫の意義ある凝集反応に原因することが考えられる。

### 全編結論

著者は牛 *Filaria* の寄生状態を調査し *Setaria digitata* の Mf が凝集反応を呈することを発見し之が殺虫性免疫的意義あることを予想し之につき叙上三項目にわたりて実験及び考察を行い次の結論を得た。

(一) 我国の牛に寄生する *Filaria* の種類及び寄生状態の検査を為し次の結果を得た。

1. 我国の牛に寄生する *Filaria* は *Setaria marshalli*, *Setaria digitata*, *Onchocerca gutturosa* の三種である。
2. *Setaria marshalli* は大部分が先天性感染をなし生

後もその Mf は血中に出現する。本虫は先天性感染が正常な感染法で稀に生後感染も認められるが2歳以上の牛には成虫も Mf も認められない。

3. *Setaria digitata* は総て生後感染で1歳牛のみ成虫, Mf が認められ, 2歳以上の牛は成虫が寄生しているに拘わらず何故か血中にその Mf は認められない。

4. *Onchocerca gutturosa* は頸韌帯周囲の結締組織に寄生しその Mf は第一期 Mf と第二期 Mf の両型ありて共に皮膚組織に寄生するが第二期 Mf は時として血中に出現する。成虫, 仔虫共に老年に至る迄寄生している。

5. *Setaria* 属は牛の種類により感受性が稍々異り特に黒毛和牛は感受性が他の種類に比べて鈍い。

(二) *Setaria digitata* の Mf を2歳以上の牛の血清に加えた所凝集反応を発見した。本凝集反応の性質は次の通りである。

1. 本凝集反応は *Setaria* 感染耐過牛血清の80%以上に発現し非寄生牛には全く発現しない。凝集反応を呈する Mf は所々に団塊となり運動性は麻痺し遂には死滅散乱する。よって本凝集反応は殺虫性免疫反応であることが判明した。

2. 本凝集反応は Mf が生存し37°Cにおいて最も強く速く発現する。死滅せる虫体には発現しない。

3. 牛血清を稀釈すれば凝集反応は弱くなり16倍稀釈にては陰性となる。

4. *Setaria digitata* の Mf に対し強く凝集反応を呈せる牛血清は *Setaria marshalli* の Mf に対しても凝集反応を呈するものがある。これは類属反応であろう。*Setaria equina* 感染耐過馬血清にありては該虫の Mf の凝集反応は殆ど発現しない。

5. 本凝集反応は *Onchocerca gutturosa* の Mf には認められない。

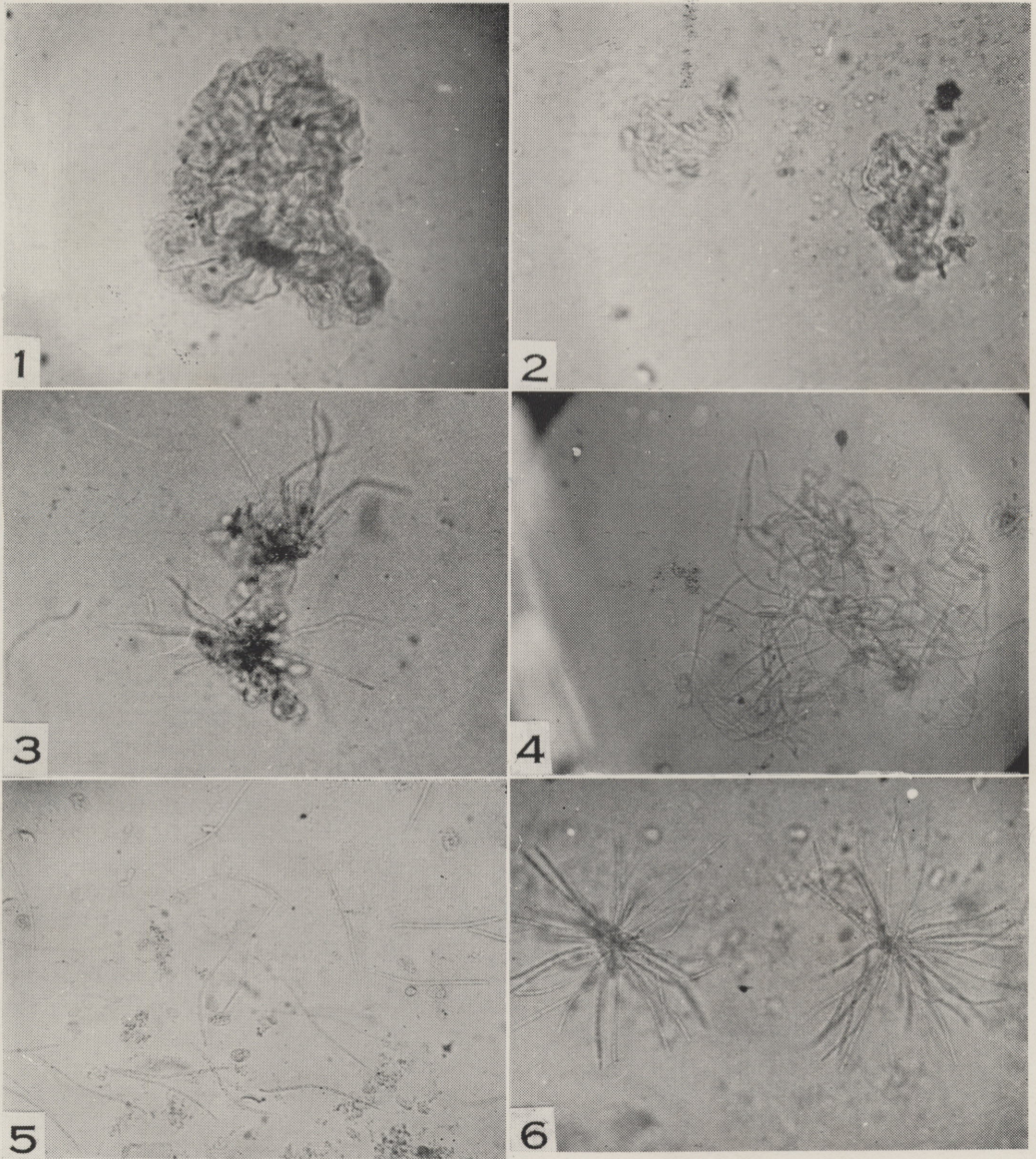
6. 本凝集反応は動物血清のみに発現し非動物血清には全く発現しない。これによって本凝集反応は補体を必要とすることが判る。

7. 牛血清について沈降反応も検査したが沈降反応は軽微で *Setaria* 感染の早期より発生し老年に至るも反応が強くなる様なことはない。この事が凝集反応の発現状態とは異なる所である。

8. *Setaria digitata* 成虫及び Mf を実験的に家兎に感染させ血清の凝集反応を3ヶ月間観察したが認められない。

(三)

1. 牛における *Setaria digitata* 感染と凝集反応発現



附 図 説 明

- Fig. 1 凝集反応陽性 $\text{H}$ , 実施後10分, 虫体は全部完全に蛋白膜様物にて包まれて運動性は麻痺している
- Fig. 2 凝集反応陽性 $\text{H}$ , 実施後10分, 虫体は卵細胞と共に凝集し軽度に蛋白膜様物に包まれて虫体は微に運動する
- Fig. 3 凝集反応陽性 $\text{H}$ , 実施後10分, 多くの虫体は卵細胞と共に凝集し蛋白膜様物の発達が殆んどなく虫体はかなり運動する

- Fig. 4 凝集反応 $\text{H}$ で30時間を経過し, 漸次死滅解離せるもの
- Fig. 5 凝集反応陰性, 虫体は完全に散在し而も活潑に運動している. 実施後5時間
- Fig. 6  $\text{Mf}$  のアグロメラチオン様現象, 虫体は尾を附着して集合して而も運動は見られない. 実施後20時間

との間には密接なる関係を有している。即ち牛は本虫に感染すれば最初はその Mf が血中に見えるが之は牛の年齢が進むに随い漸次に見えなくなり之に代って血清に凝集反応が発現する。而して Mf は凝集反応により死滅することを確めた。

2. 2歳以上の牛の腹腔に仮令成虫が寄生し之が盛んに Mf を産むにも拘わらず何処にも Mf が認められないがその主原因は確かに本凝集反応発生にあるものと考えられる。

稿を終るに当り御懇切なる御指導御校閲を賜つた新美教授、北原教授、免疫について御教示を賜つた鹿児島大学医学部細菌学教室平野教授に深謝し、御助言を賜つた鹿児島大学医学部衛生学教室秋山助教授に感謝します。

本論文の要旨は第9回(昭31)、第10回(昭32)日本寄生虫学会南日本支部大会及び第43回(昭32)日本獣医学会にて発表した

#### 参考文献

- 1) Arkwright (1931) : Agglutination. A system of bacteriology in relation to medicine. 6, 381-423.
- 2) Bovicevich, J. & Hutter, A. M. (1944) : Intradermal and serological tests with *Dirofilaria immitis* antigen in cases of human filariasis. Amer. J. Trop. Med., 24, 203.
- 3) Fairly, N. H. (1931) : Serological and intradermal test in filariasis. Trans. Roy. Soc. Trop. & Hyg., 24, 635.
- 4) 林滋生・三浦昭子・三浦栄太郎 (1952) : 日本住血吸虫感染動物の血清による cercaria の所謂沈降反応, 日本寄生虫学会記事, 80.
- 5) 林滋生・佐藤孝慈・佐々学 (1953) : 牛に寄生するセタリヤ属糸状虫の研究, 獣医畜産新報, 116, 758-761.
- 6) 堀沢大四郎 (1958) : 島根県におけるワヒ病とミクロフィラリヤの関係に関する若干の調査, 日本獣医師会雑誌, 11 (5), 202-205.
- 7) 古川穂東 (1927) : 実験的トリパノゾミアージスに於ける免疫学的研究(第1回報告) アグロメラチオンの実験的研究, 福岡医科大学雑誌, 20 (8), 982-1040.
- 8) 長谷川毅一 (1930) : トリパノゾーマ免疫に関する実験的研究, 福岡医科大学雑誌, 23 (11), 1925-2145.
- 9) 長谷川毅一 (1930) : トリパノゾーマ免疫に於いてアグロメラチオン現象に関する形態学的研究, 福岡医科大学雑誌, 23 (12), 2147-2170.
- 10) 長谷川毅一 (1930) : カステラニー氏抗体吸収試験法に拠るアグロメラチニン及アグルチン分離について, 福岡医科大学雑誌, 23 (12), 2171-2176.
- 11) 一の瀬健吾 (1942) : *Filaria* 皮膚反応, 長崎医学会誌, 20, 2174.
- 12) 石原忠雄・尾形藤治 (1953) : 犢のセタリヤについて, 獣医畜産新報, 116, 754-758.
- 13) 河野猪三郎・新美大四郎 (1954) : 牛のコセ又はワヒ病に関する研究, I, 日本の牛に分布する一般 *Filaria* の調査, 鹿大農学部学術報告, 3, 138-150.
- 14) 河野猪三郎 (1956) 牛のコセ又はワヒ病に関する研究, III. 薬物による治療試験, 鹿大農学部学術報告, 5, 49-53.
- 15) 北村包彦・一の瀬健吾 (1950) : 糸状虫症に於ける知見, 長崎医学会誌, 41, 43.
- 16) 片峰大助・吉田卯太郎 (1952) : フィラリヤの抗原性の研究, I. 皮膚反応, 長崎医学会誌, 27, 226.
- 17) 小宮昇次 (1930) : 凝集反応に及ぼす補体の影響について, 福岡医科大学雑誌, 23 (10), 1607-1729.
- 18) Kagan, I.G. (1955) Studies on the serology of Schistosomiasis. Exp. parasit., 4, 361-376.
- 19) Laveran, A., et F. Mesnil (1900) : De la longue conservation à la glacière des trypanosomes due rat et de l'agglomération de ces parasites. C. R. Soc. Biol., 52, 816.
- 20) Liu, C. & Bange, F.B. (1950) : Agglutination of *Schistosoma mansoni* by immune sera. Proc. Soc. Exp. Biol., 74, 68-72.
- 21) 新美大四郎・板垣四郎 (1941) : 緬羊腰麻痺調査会第三回報告, 朝鮮総督府, 寄生虫学的研究.
- 22) 新美大四郎・板垣四郎 (1942) : 緬羊腰麻痺調査会第四回報告, 朝鮮総督府, 寄生虫学的研究.
- 23) 新美大四郎・板垣四郎 (1943) : 緬羊腰麻痺調査会第五回報告.
- 24) 新美大四郎・河野猪三郎 (1954) : 牛のコセ又はワヒ病に関する研究, II. 殊に原因及び病理について, —25) 新美大四郎・河野猪三郎 (1956) : 牛のコセ又はワヒ病の原因について, 日本獣医学雑誌, 18, 学会号, 132-135.
- 26) 永井光 (1955) : ツビニ鉤虫に於けるサーレス現象に関する研究, 1. ツ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, 日本寄生虫学雑誌, 4 (4), 369-374.
- 27) 永井光 (1950) : ツビニ鉤虫に於けるサーレス現象に関する研究, 2. ツビニ鉤虫仔虫によるサーレス現象の免疫学的追求, 日本寄生虫学雑誌, 5 (1) 26-39.
- 28) 小国秀男 (1928) : 畜牛の象皮病様疾患「ワヒ」又は「コセ」病に就いて, 日本畜産学会報, 3, 133-158.
- 29) 岡部浩洋・松瀬幹也 (1950) : バンクロフト糸状虫症の免疫学的研究, 2. 沈降反応, 久留米医学雑誌, 19 (10), 1619-1621.
- 30) 小野豊・藤ヶ谷敏朗 (1954) : 家畜寄生虫病の免疫学的考察, 獣医畜産新報, 127, 57-61.
- 31) Schoho, C. (1951) : The pathology of setariasis in Japan and its significance in veterinary and medical science, Jap. J. Exp. Med., 21, 449-462.
- 32) 佐々学・林滋生 (1953) : 糸状虫症, 日本に於けるバンクロフト糸状虫症の疫学, 最新寄生虫病学 VII, 23-40.
- 33) 佐藤孝慈・林滋生 (1953) : 牛に寄生する糸状虫に関する研究, 獣医畜産新報, 116, 761-763.
- 34) 添川正夫 (1951) : トリパノゾーマの Agglomeration に関する一考察, 日本獣医学雑誌, 13 (1), 25-42.
- 35) Sarles, M. P. (1938) : The in vitro action of immune rat serum on the nematode, *Nippostrongylus muris*

J. Inf. Dis., 62, 337-348. —36) 宗典郎 (1957) : 大平肺吸虫の沈降反応及びサーレス現象について, 第 10 回日本寄生虫学会南日本支部大会, 23-24. —37) Toliaferro, W. H. (1940) : The mechanism of immunity of metazoan parasites, Amer. J. Trop. Med., 20, 169-182. —38) Thwaite, J. W. (1927) : The genus *Setaria*, Ann. Trop. Med. Parasit., 21, 427-465. —39) 滝沢延次郎・山口源固 (1952) : 蛔虫症患者血清の豚蛔虫仔虫に対する所謂アレチピテート形成について, 日本寄生虫学会記事, 41-42.

### Summary

The author has investigated the parasitic condition of all *filariae* found among cattle in Japan.

There are three kinds of *filariae*, namely, *Setaria marshalli*, *Setaria digitata* and *Onchocerca gutturosa*. These *filariae* are very widely distributed in cattle, showing high rate of parasitization.

The majority of cattle in this country are parasited with *Onchocerca gutturosa*, and microfilariae are always found to be accompanying the parasitization of the adult worms. *Setaria marshalli* are often found in calves only, but never found in adult cattle.

*Setaria digitata* are found in 100 per cent of adult cattle and in the parasitization of young cattle microfilariae are always found to be accompanying the adult worms. Though adult worms are found in the abdominal cavities of many cattle over two years of age and active microfilariae are found in uteri of such worms, microfilariae cannot be seen in the blood of these cattle.

The author thinks that it is very interesting to find no microfilariae in the presence of the adult worms in old cattle. The author has, therefore, especially studied the reason for this and discovered that microfilariae reveal agglutination and the reason for the absence of microfilariae in the blood of cattle over two years of age is due to agglutination.

The author believes that this is new and important knowledge not only parasitologically but also immunologically and will describe in detail the results obtained.

1. When microfilariae of *Setaria digitata* are added to the sera of cattle once infected with same worm, agglutination occurs. Microfilariae which have revealed agglutination form a mass here and there, and become inactive, and finally die and disperse.

Accordingly, the agglutination of microfilariae must be recognized to be a parasitocidal phenomenon.

2. The agglutination takes place only in living microfilariae, and does not take place in dead microfilariae.

3. The agglutination takes place only in active sera and cannot be observed in inactive sera. Accordingly, it becomes evident that there is a relation between this agglutination and complement.

4. Agglutination occurs in about 80-90 per cent of sera from cattle once infected with *Setaria digitata*, but in sera of uninfected cattle the reaction does not occur at all.

5. The agglutination is negative in sera of other animals except cattle. On the basis of the above viewpoint it is understood that this agglutination is specific immunologic reaction.

6. In the diluted sera, the agglutination reaction becomes weak. The reaction becomes negative in sera diluted more than 16 times.

7. The agglutination is not seen in other microfilariae except those of *Setaria*.

8. Some rabbits were experimentally infected with the adult worms and microfilariae of *Setaria digitata*, but in these animals the agglutination did not occur during three-month period after infection.

9. Above described agglutination differs from bacterial agglutination, trypanosomal agglomeration and Sarles' phenomenon.

10. As showed in fig. 4, it may be seen that there is a close relation between the decrease of parasitization of *Setaria digitata* and occurrence of agglutination. As mentioned above, the agglutination has parasitocidal significance. Therefore, it seems that the reason for the absence of microfilariae in the blood of the old cattle is due to the destruction of microfilariae caused by agglutination.