

## アメリカ鉤虫の仔犬体内に於ける發育について

吉田 幸雄 岡本 憲司 肥後 晃 今井貴美子

京都府立医科大学医動物学教室 (主任 長花操教授)

(昭和35年10月受領)

特別掲載

人間に寄生するヅビニ鉤虫 *Ancylostoma duodenale* 及びアメリカ鉤虫 *Necator americanus* は stenoxenous (少宿主性) の寄生虫で、自然界に於て人以外の動物から見出された記録もあるが之は極く稀れな事である。実験的にこれら鉤虫を人以外の動物に感染せしめようとの試みは従来かなり行われ、その内ヅビニ鉤虫について若干のものは成功しているが実験例数も少く且發育した鉤虫の数も極めて少数であり、一般的に人以外の実験動物体内で本鉤虫は一定程度迄は發育するがそれ以上は困難であるとの考えが普通であつた。所が吉田・岡野 (1959) はヅビニ鉤虫被囊幼虫を仔犬に経口感染せしめると容易に成虫に迄發育し、感染後24日目頃に多くの虫体は交接を行い、28日~36日の間には糞便中に虫卵を見出し、剖見により多数の成熟虫体を得た事を報じた。その後安羅岡 (1960) も之を追試し同様の結果を得た事を報告した。

云う迄もなく従来ヅビニ鉤虫の成虫を得るには屍体解剖或は駆虫による他はなく、かくして得た虫体はたとえ生きていたとしても生理、生態の実験に供する事は無理であり、この種の実験には主として犬鉤虫が代理を努めていた。併し乍ら今後は直接ヅビニ鉤虫を用いて実験を行う事が出来る様になつた。

こゝで当然考えられる事は人体寄生鉤虫のもう一種アメリカ鉤虫は如何という点である。前にものべた如くヅビニ鉤虫に関しては著者等の報告 (吉田ら, 1959) 以前に2~3の報告がある (Looss, 1911; Alessandrini, 1905; Herman, 1905; 横川, 1934)。然しアメリカ鉤虫の動物感染実験が成功したという報告は見当らない。成書を見るとアメリカ鉤虫は人以外に類人猿、犬、豚等にも見出されると記述されたものが多く、更に Craig and Faust (1951) の成書を見ると “Under specially controlled conditions it (*Necator americanus*) may develop to the adult stage in dogs and cats, ……” (括弧内現著者挿入) と記述されているがその精細について知る事が出来

ない。又 “adult stage” と成熟虫体とは全く意味を異にすると考える。Looss (1911) によれば彼の知る限りに於て豚及び犬への感染実験はすべて陰性に終つてゐるとのべている。

周知の如くヅビニ鉤虫とアメリカ鉤虫とは形態、感染経路、病害及び駆虫剤に対する抵抗性等種々の点に於てその性質を異にする。ヅビニ鉤虫については前述した如く犬鉤虫を代用して実験が行われたがアメリカ鉤虫については適当な材料がない。今若し実験動物体内でアメリカ鉤虫を成虫に迄發育せしめる事が出来れば今後種々の面に於て新しい研究分野が開けるものと信じ、1958年以来仔犬を用いて感染実験を行つて来た所、之に成功した。目下その精細な点を追求中であるがとりあえずこゝにその概略を報告したい。

### 材料並びに方法

感染実験に用いた犬8頭は生後1~3カ月 (体重1.3 kg~3.0 kg) の仔犬で雌雄は特に限定していない。予め四塩化エチレン、ピペラジン、サントニン等により犬鉤虫、犬回虫の駆虫を行つてから実験に供した。

実験は昭和33年5月から35年9月の間に行われたがアメリカ鉤虫単独感染者が近畿地方では仲々得難い為この様に実験期間が長くなつた。アメリカ鉤虫被囊幼虫は同鉤虫保有者の便を濾紙培養し10~25日を経た完熟幼虫を用いた。仔犬への感染方法は犬を背位に固定し腹部の毛の少い所を水で清潔に拭き (剃毛はしない)、500~1,000隻の幼虫を含む水滴を塗布し之が乾燥する迄待たつた。所要時間は大体1時間乃至1時間半を要した。経皮感染後13日、26日、31日、42日、45日、71日目に屠殺し主として小腸内容を精密に検査し (小腸を8等分し各部位別に採虫した)、或るものは小腸壁及び内臓諸器官をバールマン装置にかけ体内移行中の幼虫の検出を行つた。採集された虫体は形態を観察し且虫体の計測を行つた。



## 成 績

### (1) 感染後 13 日目の所見

1号犬及び2号犬の2匹の仔犬について観察した。この2匹の犬は鉤虫発育に及ぼすコーチゾン注射の影響を観察していた為、幼虫感染4日前から死の日迄本剤 per kg 15 mg を連続注射している。且つこの2頭は屠殺でなく死亡であり死因は恐らくコーチゾン連続注射の影響と考えられる。

1号犬は1958年5月6日アメリカ鉤虫の被囊幼虫約500隻を経皮接触せしめ同年5月19日に死亡し剖見を行い小腸内容のみを検査した所第1表に示す如く小腸から158隻の幼虫を検出した。虫体は Fig. 1, 2, 3 に示す如くすべて4期幼虫の体制で原始口嚢を有し、雌雄の鑑別が可能である。無作為に25隻を選び計測を行った値は第1表の如く平均体長1,760  $\mu$ , 体幅127  $\mu$ , 食道長366  $\mu$  で雌9隻, 雄16隻であった。

2号犬は1号犬と同時に同数の幼虫を感染させたものでやはり5月19日に死亡した。小腸内には56隻の4期幼虫を見出した。その内20隻を無作為に撰び測定を行った所第1表に示す如く平均体長1,582  $\mu$ , 体幅113  $\mu$ , 食道長343  $\mu$  で雌6, 雄14であった。

### (2) 感染後 26 日目の所見

3号犬は昭和35年2月23日にアメリカ鉤虫被囊幼虫1,000隻を腹部皮膚に接触せしめ後飼育を行ったが、同年3月19日に犬がやゝ衰弱したので屠殺し剖見した。小腸内容から検出された虫体は計12隻でその内、小腸第1部位からは雄2, 雌6, 第3部位から雌2, 第4部位から雌1, 第7部位から雌1が採集された。肺, 肝, 筋等はベールマン装置により幼虫の検出を行ったが陰性であった。採集された12隻の鉤虫の内、雌の体長は最大4,120  $\mu$ , 最少3,000  $\mu$ , 平均3,598  $\mu$  で雄は2,220  $\mu$  と2,460  $\mu$ , 平均2,340  $\mu$  でいずれも体制上5期幼成虫であり、すべての虫体の口部は特長ある板状の咬器 cutting plate を有しツビニ或は犬鉤虫の如き歯牙ではない。然し性的には未だ成熟しておらず卵巢、子宮の発育は完成せず勿論未だ子宮内卵はない。雄に於ても交接嚢は完熟には到っていない。その形態は Fig. 4, 5, 6, 7 に示した。

### (3) 感染後 31 日目の所見

4号犬, 5号犬の2匹の仔犬について観察を行った。4号犬は1号犬と同時に即ち昭和33年5月6日にアメリカ鉤虫被囊幼虫約500隻を経皮接触せしめ同年6月6日屠殺した。成績は小腸より1隻の雌成虫を見出したのみであった。この1隻は体長6,660  $\mu$  で口部は cutting plate

を有しアメリカ鉤虫に間違いはない。かなり発育しているが未だ子宮内卵は認められなかった。

5号犬は昭和35年7月21日に約500隻の被囊幼虫を経皮接触せしめ、同年8月21日に屠殺したのであるが小腸第4部位から雄1, 雌1, 第5部位から雌1, 第6部位から雄1の計4隻が検出された。体長は雄が4,500  $\mu$  及び5,800  $\mu$  (平均5,150  $\mu$ ), 雌が4,700  $\mu$  及び7,600  $\mu$  (平均6,150  $\mu$ ) でその形態は Fig. 8, 9, 10, 11 に示した如く口腔の cutting plate は特徴的であり、雄の交接嚢の形態もアメリカ鉤虫の特徴を示している。雌の卵巢は発育し卵細胞を充満しているが子宮内に未だ卵は蔵されていなかった。

### (4) 感染後 42 日目の所見

6号犬は昭和33年10月3日約700隻のアメリカ鉤虫被囊幼虫を経皮接触せしめ後42日目に当る同年11月14日に屠殺した。摘出した虫体は2隻で共に雌、小腸第3部位と第4部位から見出された。共に5期成虫で Fig. 12, 13 に示す如く口腔の cutting plate は明らかにアメリカ鉤虫である事を示す。体長は夫々9,600  $\mu$ , 10,200  $\mu$  ではほぼ完熟成虫に達していると考えられたが未だ子宮内卵は形成されていなかった。又糞便内虫卵も陰性であった。

### (5) 感染後 45 日目の所見

7号犬は昭和35年7月21日、アメリカ鉤虫被囊幼虫約500隻を腹部皮膚に接触せしめ後約1カ月を経た頃から2~3日に1回づつ飽和食塩水浮游法による糞便検査を行ったが虫卵が陽転しないので感染後45日を経過した9月4日に屠殺し剖見した所、第1表に示す如く小腸から4隻の成虫を見出した。内1隻は雄で体長8,300  $\mu$ , 3隻は雌で体長9,200  $\mu$ , 10,000  $\mu$  及び10,300  $\mu$  であった。共に口部には明らかな cutting plate を有し雄の交接嚢はアメリカ鉤虫特有の釣鐘状をなし、各肋の配列、形態も特徴的であった。雌3隻はいずれもよく発育しており卵巢内は卵細胞で充満しており1隻の子宮内には不受精卵かと思われる虫卵を認めたが他の2隻は未だ卵の形成は見られなかった。これらの Fig. 14, 15, 16, 17 に示す。

### (6) 感染後 71 日目の所見

8号犬は昭和35年2月23日にアメリカ鉤虫被囊幼虫約1,000隻を経皮接触せしめ71日を経過した5月4日に屠殺した。本犬は屠殺時の検便で鉤虫卵陽性であったが、感染後何日目から陽性になったかは残念乍ら検査し得なかった。小腸から4隻の成虫が採集され之も雄1

隻、雌3隻であつた。雄は体長 7,000  $\mu$ 、雌の内1隻は 10,100  $\mu$  で子宮内卵を有しており、1隻は 10,960  $\mu$  で子宮内卵なく、他の1隻は虫体が破壊したので体長を測り得なかつたが子宮内卵を有し、体の大きさも他の2者とほぼ同じくらいと考えられた。4虫体共口部、交接囊等の形態に於て明らかにアメリカ鉤虫であつた。その形態を Fig. 18, 19, 20 に示した。

### 考 按

著者の1人吉田及び岡野(1959)はヅビニ鉤虫被囊幼虫を生後2~3カ月の仔犬に経口感染せしめると本鉤虫は仔犬腸管内でかなり容易に發育を完了し感染後24日目頃には交接を行い、早きは28日目、遅きものでも36日目には犬の糞便内に虫卵を見出し、この頃に剖見すると97~106隻(投与幼虫数は700隻)もの多数のヅビニ鉤虫成虫を検出し、且この成虫の産下する虫卵を培養して得た幼虫を再び人に経口投与すると高率に成虫を生ずる事を認め、従来人以外の動物に於て發育困難と考えられていたヅビニ鉤虫の動物実験は予想外に容易であり、生きたままの本鉤虫をたやすく入手出来る事を報告した。その後1960年寄生虫学会総会シンポジウムに於て安羅岡はこの実験を追試し同様の結果を得た事を報告した。一方人に寄生するもう一種の重要な鉤虫であるアメリカ鉤虫について従来の文献をみると先ず成書 Craig & Faust (1951)をみるとアメリカ鉤虫の自然宿主として人の他に類人猿の数種から記録され、又犀、センザンコウ、齧歯類の各々から少くとも1回づつの記録があるとなし、Mönnig(1949)には犬、横川・森下(1933)には類人猿、犬、豚、又 Lapage(1956)にはヅビニ、アメリカ兩種鉤虫がオーストラリアの豚から見出されたと記載されている。然しこれらのうちには古い時代に於て他の鉤虫と混同されている場合もかなりあると考えられる。Looss (1911)によるとアメリカ鉤虫の宿主は人とゴリラとなし、アフリカ鉤虫の宿主はチンパンジーとしているが、後者が synonym であるとすれば人、ゴリラ、チンパンジーと云う事になる。

一方アメリカ鉤虫を人以外の動物に感染せしめる実験について著者等の知り得た限りでは先ず Loos (1911)のモノグラフをみると(p. 210) “Experiments in artificial infection of animals with larvae of *Necator americanus* have up to the present time been made, to my knowledge, by Lutz on pigs (1885, p. 13) and by Siccardi on dogs (1905, p. 107). They all yielded negative results.” と記述されている。更に Smith(1903)はアメリ

カ鉤虫幼虫を犬に感染せしめ成功しなかつた事をも述べている(p. 333)。上述 Siccardi の実験は生後2カ月の仔犬にアメリカ鉤虫幼虫を経口及び注射と両法で与え3カ月後に剖見したが虫体を見出さず、又第2の実験は注射により幼虫を注入し後5週後に剖見した所虫体を認めなかつたと云う成績である。

その後アメリカ鉤虫の動物感染実験は大磯(1929)が本鉤虫被囊幼虫を犬、家免、モルモット、マウスに経口投与し、Schwartz 及び Alicata(1934)はモルモットに経口或は経皮感染を行い、又蒲池(1943)は白鼠、犬に経皮感染を行つているがいづれも、發育のよいもので4期幼虫に達したのみで性的成熟に到つたという報告は著者の知る限り全くない。

著者等は1958年から1960年にかけての実験によりアメリカ鉤虫を仔犬に経皮感染させる時、数こそ少いが明らかに成虫に迄發育し体長も10mmを超え性的に成熟し排卵を行うに至る事実を認めた。

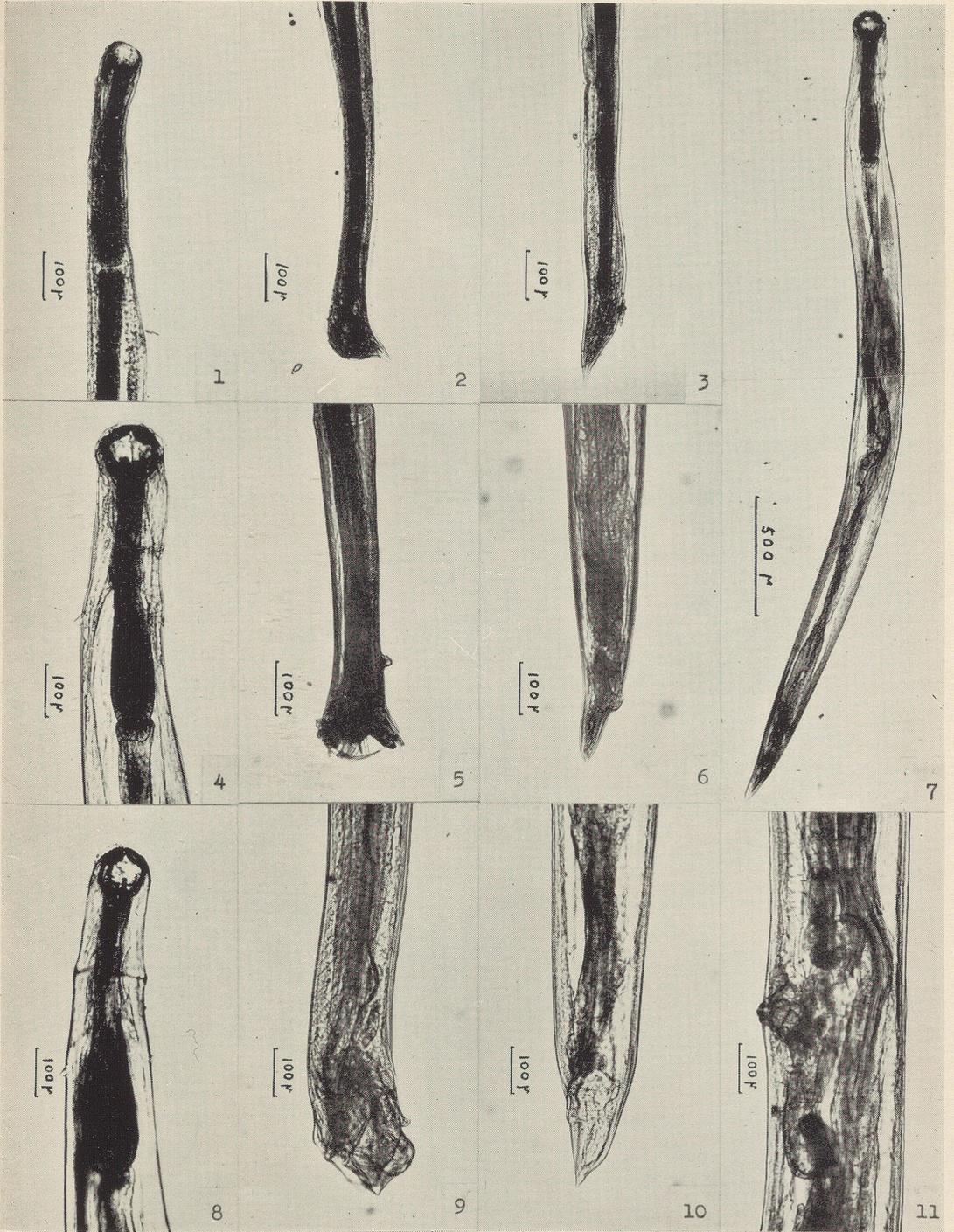
著者の1人吉田ら(1959)はさきにヅビニ鉤虫が仔犬体内で容易に成虫に迄發育する事を述べたがこの成績と比較するとアメリカ鉤虫はかなり感染率が悪く且成熟迄の日数も多くかかる。今後種々 host 及び parasite の条件を考案し多数の虫体が得られる様実験を進め且アメリカ鉤虫感染後体内移行の精細についても実験を行う予定である。

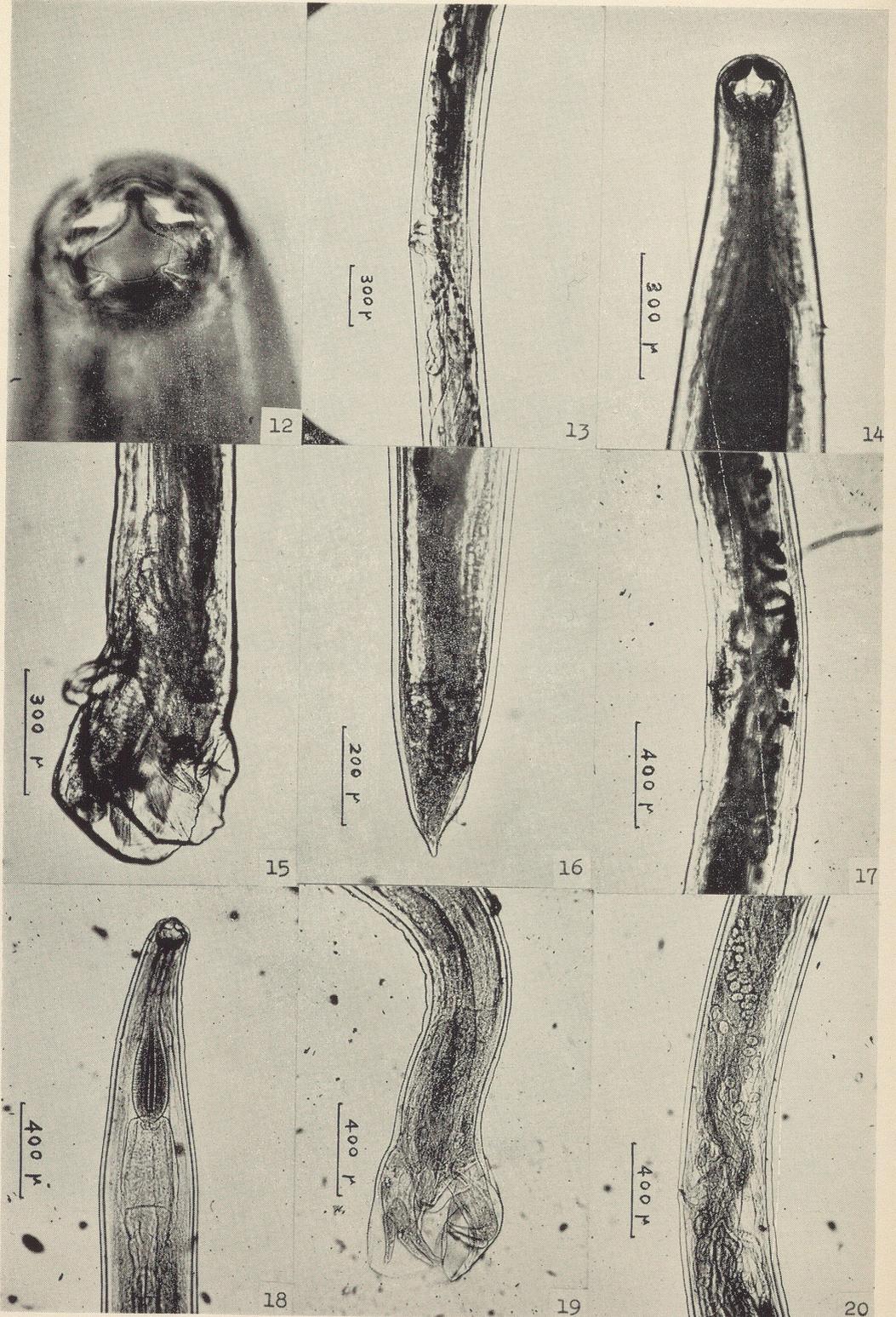
### 結 語

著者等はアメリカ鉤虫の被囊幼虫を生後1~3カ月の仔犬に経皮感染せしめるときは仔犬の小腸内で成虫に迄發育する事を認めた。感染後13日目にはすべての虫体は4期幼虫に迄發育しており、26日目には5期幼虫の体制を示し、31日目には更に体長を増すが未だ子宮内卵を認めない。感染後42~45日目にはほぼ成熟の域に達するが子宮内及び犬糞便内には未だ虫卵を認めなかつた。感染後71日目の所見では虫体は完熟しており、子宮内及び犬糞便内に虫卵を認めた。即ちアメリカ鉤虫は仔犬体内で完熟成虫に迄發育する事が明らかとなり将来生きた成虫を用いて種々の実験を行う事が可能となつた。

摺筆に当り御指導御校閲を頂いた長花操教授に感謝する。

Plate I.





## 文 献

- 1) Craig, Faust & Miller (1951): Clinical Parasitology. Fifth Edition.
- 2) 蒲池勇三(1943): アメリカ鉤虫の白鼠に於ける実験的経膺感染に就いて, 熱帯医学, 1, 379-388.
- 3) 蒲池勇三(1943): アメリカ鉤虫の経膺的感染に就いて, 熱帯医学, 1, 422-432.
- 4) 蒲池勇三(1943): アメリカ鉤虫の仔犬に於ける実験的経口感染に就いて, 熱帯医学, 1, 483-494.
- 5) Lapage (1956): Veterinary Parasitology.
- 6) Looss, A. (1911): The anatomy and life history of *Agchylostoma duodenale* Dub., A monograph, Records of the Egyptian Government, School of Medicine, Vol. IV.
- 7) Mönning (1949): Veterinary Helminthology and Entomology. Third Edition.
- 8) 大磯友明(1929): ネカトール・アメリカヌスの経口的感染に関する実験的研究, 台湾学医誌, 294, 966-970.
- 9) Schwartz, B. & Alicata, J. E. (1934): Development of the human hookworm, *Necator americanus*, in guinea pigs. Amer. J. Hyg., 20, 317-328.
- 10) 横川定・蒲池勇三(1942): アメリカ鉤虫 *Necator americanus* の感染経路に関する実験的研究, 附鉤虫類の感染経路に関する考察, 病理学誌, 1, 595-603.
- 11) 吉田幸雄・岡野薫(1959): ツビ=鉤虫の非固有宿主である犬体内に於ける發育について, 東京医誌, 76, 213-216.

## EXPLANATION OF PLATES

## Plate I.

- Fig. 1-3 4th-stage larvae, 13 days after the infection.
- Fig. 1 Previsional buccal capsule and oesophagus.
- Fig. 2 Tail part of male larva.
- Fig. 3 Tail part of female larva.
- Fig. 4-7 5th-stage young adult worm, 26 days after the infection.
- Fig. 4 Definitive buccal capsule is formed and cutting plate visible in it.
- Fig. 5 Tail part of male worm, bursa copulatorix immature.
- Fig. 6 Tail part of female worm.
- Fig. 7 Whole view of female worm.
- Fig. 8-11 5th-stage adult worm, 31 days after the infection.
- Fig. 8 Cutting plate is visible in buccal capsule.
- Fig. 9 Tail part of male.
- Fig. 10 Tail part of female.
- Fig. 11 Vulva, no egg in uterus.

## Plate II.

- Fig. 12-13 5th-stage adult worm, 42 days after the infection.
- Fig. 12 Cutting plate is distinct.
- Fig. 13 Vulva, egg cells visible in ovary but no egg in uterus.
- Fig. 14-17 5th-stage adult worm, 45 days after the infection.
- Fig. 14 Mouth part and oesophagus.
- Fig. 15 Bursa copulatorix is long in length.
- Fig. 16 Tail part of female.
- Fig. 17 Vulva, egg cells full in ovary but no egg in uterus.
- Fig. 18-20 5th-stage adult worm, 71 days after the infection.
- Fig. 18 Mouth part and oesophagus.
- Fig. 19 Bursa copulatorix is long in length.
- Fig. 20 Vulva, eggs in uterus are seen.

## STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF *NECATOR* *AMERICANUS* IN YOUNG DOGS

YUKIO YOSHIDA, KENJI OKAMOTO, AKIRA HIGO & KIMIKO IMAI

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

The normal definitive host of *Ancylostoma duodenale* is man, although some authors have recorded the cases of natural infection of this species from some mammals (pig, tiger, lion, cat, dog etc.). Attempts of experimental infection of this species to the animals have been made by many authors, and some of them have reported that a small number of the worms reached maturity in quite young dogs and cats. Recently, Yoshida and Okano (1959) reported that a large number of worms of this species reached maturity in young dogs and oviposition began during 28–36 days after the oral infection.

On the other hand, *Necator americanus* also normally infects in man only, although some authors have reported the natural infections of this species from the chimpanzee, gorilla etc. Experiments of artificial infection of animals with larvae of *N. americanus* have been made by Lutz (1885) on pigs, by Siccardi (1905) on dogs, by Smith (1903) on dogs, by Oiso (1929) on dogs, rabbits, guinea pigs and mice, by Schwartz *et al.* (1934) on guinea pigs and by Kamati (1943) on rats and dogs. All of these results showed that the encysted larvae of *N. americanus* infected cutaneously realized a little development but it was far from the maturity. Therefore, we had no way to receive the adult worms of *N. americanus* which was fresh and flawless. If we can get those fresh worms without any injury, many experimental studies such as ecological and wormicidal researches will become possible.

We have carried out the works of artificial infection with *N. americanus* larvae to young dogs (1–3 months old). About 500–1,000 active encysted larvae of this species which was obtained from a man by the feces cultivation, were put on the abdominal skin with a small quantity of water for about one hour. Exact numbers of penetrated larvae through the skin were obscure. Developmental aspects of the worms examined at the various periods after the infection are as follows:

(1) 13 days after the infection

Dog No. 1 and No. 2 were infected with 500 encysted larvae on the same day, and then both dogs dead on the 13th day after the infection. By the autopsy, 158 worms from dog No. 1 and 56 worms from No. 2 were recovered respectively. All worms were 4th-stage larvae in shape, and it was possible to distinct them male or female as shown in Fig. 1–3. Length and width of the worms were  $1,760 \times 127 \mu$  in dog No. 1 and  $1,582 \times 113 \mu$  in No. 2, in average.

(2) 26 days after the infection

Dog No. 3 was infected with 1,000 encysted larvae, and was killed 26 days after the infection. 12 young adult worms (5th-stage) were recovered from the small intestine. Definitive mouth capsule was formed and the cutting plate was seen in all worms. Length and width of the worms were  $3,369 \times 197 \mu$  in average. Photographs of the worm were shown in Fig. 4–7.

(3) 31 days after the infection

Dog No. 4 and No. 5 were infected with 500 encysted larvae, and were killed on the 31th day after the infection. Recovered worm from dog No. 4 was one female which was  $6,660 \mu$  in

length and  $260\ \mu$  in width. From dog No. 5, 2 males and 2 females were recovered and the size was  $5,650\ \mu$  in length and  $210\ \mu$  in width, in average. All of the worms showed the characters of *N. americanus* morphologically as shown in Fig. 8-11. Female worms had no ova in their uterus.

(4) 42 days after the infection

Dog No. 6 was infected with 700 encysted larvae, and was killed 42 days after the infection. 2 female worms were collected from the small intestine. The worms were  $7,700\ \mu$  in length and  $320\ \mu$  in width in average. The cutting plate in mouth capsule was distinct as shown in Fig. 12. Eggs in uterus were not yet seen (Fig. 13).

(5) 45 days after the infection

Dog No. 7 was infected with 500 encysted larvae, and was killed 45 days after the infection. 1 male and 3 females were recovered. All worms had the characters of typical *N. americanus* morphologically as shown in Fig. 14-17. No eggs were seen both in uterus and in feces.

(6) 71 days after the infection

Dog No. 8 was infected with 1,000 encysted larvae, and was killed 71 days after the infection. 1 male and 3 females were collected from the small intestine by the autopsy. All worms were full grown adults and were typical *N. americanus*. The size of worms  $7,000\ \mu$  in male and  $10,100-10,960\ \mu$  in female. Eggs were visible both in uterus of the female worms and in the dog's feces.

By the results mentioned above, it was decided that the larvae of *N. americanus* could infect and develop to the mature worm in young dogs.