

フィラリア寄生コットンラットにおける 流血中マイクロフィラリア数と寄生雌 成虫数との関係について

林 滋 生

伝染病研究所寄生虫研究部 (部長 佐々学教授)

田 中 英 文

田辺製薬株式会社東京研究所 (所長 阿部久二)

(1964年9月30日受領)

フィラリアに感染した人または動物について、その流血中に見出されるマイクロフィラリア (Mf) の数から、寄生している雌成虫の匹数を、推定できないかという考えは、当然抱かれる (佐藤, 1960)。しかし回虫その他の腸管内寄生線虫類で行われている EPGPF の応用は、フィラリアの場合には適用できない。糞便中に産出される虫卵が便とともに毎日排出されるのちがつて、Mf は血液中に蓄積されるからである。それにもかかわらず、血中の Mf 密度と寄生雌成虫数の間には一定の関係があり、感染経過中に到達した最高 Mf 密度の値は、ある特定の寄生雌成虫数のとき最大であり、それより寄生数の少ないときは勿論、寄生数が多くなっても次第にこの値が小さくなること、今回の観察で明らかになったのでここに報告する。

材料及び方法

当研究部で飼育繁殖しているコットンラット (*Sigmodon hispidus*) とイエダニ (*Bdellonyssus bacoti*) と、更にこれらをつかつかせて維持されて来たコットンラット糸状虫 (*Litomosoides carinii*) を使用した。感染して Mf 陽性になったコットンラットに吸血せしめたイエダニのコロニーを、2ないし3週間飼育して完熟フィラリア幼虫を包蔵するにいたつたことを一部の解剖で確認したのうち、正常コットンラットのケージに1週間入れ、ラットを感染に曝露せしめる (若杉, 1955, 1958 b; 佐藤, 1959)。この後、殺ダニ剤 (Malathion) によりダニを駆

除し、以後ラットをイエダニフリーの状態に飼育をつづける。検血は、おおむね1週1度の割で行ない、尾静脈を穿刺して湧出した血液を特別に目盛を施したゼーリー用ピペットにとり、その2.5mmをスライド上に線状に塗布、溶血後メタノール固定し、ギムザ染色を施して

Table 1. Results of blood examination for microfilariae and collection of adult worms from cotton rats experimentally infected with *Litomosoides carinii*

Animal	Adult of <i>L. carinii</i>		Max count of Mf (a)	Mf count at autopsy (b)	b/a (%)	a/♀
	♂	♀				
L -243	166	185	302	176	58.2	1.63
Y - 49	36	137	2731	1633	59.8	19.9
X -123	11	127	1352	1352	100	10.6
X -122	57	116	1062	1004	94.5	9.14
C'-171	64	93	2432	1322	54.4	26.7
X -128	113	90	1429	284	19.9	15.9
C -379	135	90	841	299	35.6	9.33
R -182	23	48	3911	3616	92.5	81.5
V - 33	27	37	2672	1175	44.0	72.2
Z -141	28	33	5794	5684	98.0	175.6
X -126	26	27	2976	115	3.9	110.2
V - 72	21	23	1917	48	4.7	44.2
R -184	11	21	3480	804	23.1	165.6
B'-161	17	19	1542	1207	78.3	81.2
E'-356	23	19	1325	554	41.8	69.7
A'-168	11	17	2749	1539	56.0	163.5
F -106	15	12	231	181	78.4	19.3
D -108	3	10	1321	931	70.3	132.6
D - 90	2	6	786	744	94.7	131.0
O -165	5	5	175	165	94.4	35.0
R -330	0	4	1187	986	74.7	296.8

This investigation was supported by a Public Health Service Research Grant CC 00017-04 from Nihon Kiseichu Yobokai (Report No. 45)

Mf 数を算定した。感染曝露後 60 日前後で流血中に Mf を証明するにいたるが、漸次増加して、更に 80 日前後を経ると最高値に達し、以後次第に減少してくる（若杉, 1958 a; 田中, 1964）。再び減少を示して、既に最高レベルをすぎたことが確認されたコットラットを剖検して、胸腔内、また稀に腹腔内にも見出される成虫をすべて採取し、雌雄の判別と匹数を記録した。

成績と考察

見出された成虫の中、雌成虫数の多い順に並べて、第 1 表に掲げた。これには、各実験感染例で到達した最高時の、2.5cm 血液あたりの Mf 数と、剖検時の Mf 数を示してある。剖検の時期は、Mf 数が最高に達したあとで、しかもなるべくこれに近い時点が望ましい。それは最高値を現出するまでに、Mf の産生にあづかつて来た成虫の中で、死亡するものがあらわれてくることを恐れるからである。剖検時の状況を示す為に、そのときの Mf 数と、これの最高時に対する比率を同表に示しておいたが、中には、最高時の 3.9%、4.7% にも下つたときに剖検された例がある。また最下段の例の如く、最高時の 74.7% であつたが、既に雄虫を見出し得なかつた例もあるので、雌成虫にもあるいは死亡して観察からもれたものがあるかも知れない。その意味で、今回の観察が理論的な考察に非常に適したものとは言えないであろう。しかしこれ以上に厳密な例をみつめることは技術上困難なので、以下の考察に供する。

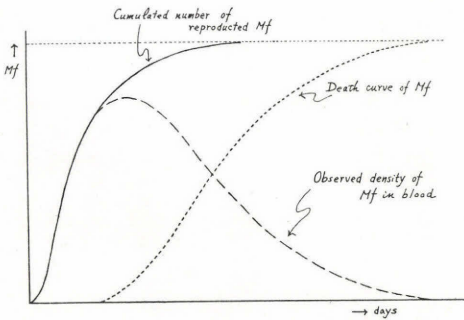


Fig. 1 A model of the changes of microfilaria density in blood during the course of infection

流血中の Mf 数の最高値を決定する要因は、数多くあるであろう。例えば雌成虫の産生能力における経時的な変化、Mf の寿命、あるいはこれらに及ぼす宿主側の影響、これにはある種の免疫反応なども関与するであろうが、これらを単純化して、Mf 数の推移を模型的に示し

たのが、第 1 図である。雌成虫のすべてが未だ死亡せずそれらのあるもので生産能力が衰へはじめ、一方 Mf に死亡するものがあらわれてくる頃、そのバランスの上で流血中の Mf が減少傾向を示してくる前に、最高時が成立するものと想定した。この時の Mf 数が、寄生している雌成虫とどのような関係にあるかを調べてみた。

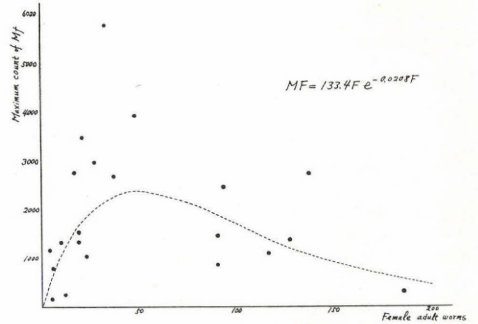


Fig. 2 Correlation of the maximum microfilaria count with the number of infesting adult female worms

第 1 表、あるいは、それを図示した第 2 図にみられる如く、上記の二者の間には、何ら特定の関連がないように見える。しかし仔細にみると、第 2 図に書入れた点線のような関係が存在するらしい。この曲線は次のようにして導き出されたものである。Mf の最高数そのものでなく、これを寄生していた雌成虫で除する。すなわち、最高時に達するまでに、雌 1 疋当たりが産生した Mf 数にほぼ近い値であろう。雌成虫の産生能力の一つの示標と

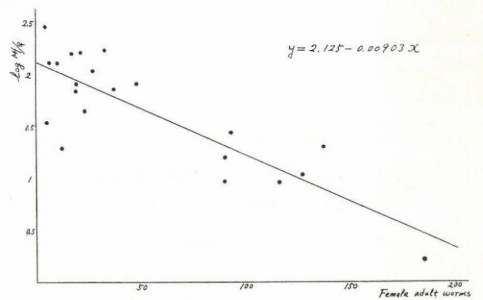


Fig. 3 Correlation of the maximum microfilaria count per female with the number of infesting adult female worms

考えることが出来る。この値は第 1 表の最右列に併記した。この値の対数と、雌成虫の数とをプロットしたものが第 3 図である。雌成虫の数が増えるにつれて、直線的に減少する逆相関であることがよくわかる。いま

雌1疋あたりのMfの最高値をM、雌成虫の数をF、a、bを常数とすれば、 $\log M = a + bF$ なる関係式が成立する(最小自乗法で算出すると $\log M = 2.125 - 0.00903F$ なる式が得られる)が、このような直線式が成り立つことは、最高Mf数と寄生雌成虫数との間に指数函数的な関係が存在することを意味する。すなわち $M = M_0 e^{-CF}$ となる。ここに M_0 はFが0のときのMの理論値、eは自然対数の底、Cは常数である。本観察例から算出すると、 $M = 133.4e^{-0.0208F}$ となる。

第2図に示したMfの最高値、通常の観察で得られる値であるが、これは雌成虫の数で除する前の値であるから(Zとする)、このものと雌成虫数との関係は、前記の式から $Z = MF = M_0 F e^{-CF}$ となる。この値は、右辺をFについて微分してみれば分るが、 $F = 1/c$ のときに最大、 $F = \infty$ のときに最小値をとる。すなわち第2図に画いた点線の曲線となるが、最大値を示すときのFは48.1と算出された。

上記のことがらから、考えられることは、雌成虫1疋あたりのMf産生能力は、寄生雌成虫が増えれば増える程、低下するということであり、従つて寄生雌成虫のすべてが産生したMfの総数は、感染経過中に示したMf濃度の最高値をもつて代用するならば、この値は、寄生雌成虫数と特定の関連性を持ち、コットンラットにおける*Litomosoides carinii*についていえば、ほぼ雌成虫50疋前後のとき最大の値をとり、その前後で少なくなるということである。このような複雑な相関を示すために血中Mfの最高密度から寄生雌成虫数を推定するということは、やはり不可能であるということが分る。犬鉤虫の場合について町田(1957)は、EPGPFが寄生雌成虫数の増加とともに急激に減少することを認め、更に矢島町田(1958)はEPGPFと小腸1cmあたりの寄生数との関連で、やはり密度効果を認めている。ただ後者の場合では棲息密度があまり小になると性比にアンバランスが強くなり、かえつてEPGPFが下ることを見ているが、著者らの場合にはこのような現象はみられなかつた。

結 論

コットンラットとそれに寄生するコットンラット糸状虫を用いて、感染経過中に示した流血中の最高Mf密度

と寄生雌成虫数との関連を調べたところ、以下のようなことが分つた。

1. 雌成虫1疋あたりのMf産生能力は、寄生する雌成虫数が増加するにつれて、指数函数的に低下し、一種の密度効果の現象が存在する。

2. その為に、流血虫の最高Mf密度は、寄生雌成虫数と特殊な関連を有するが、雌成虫数が50疋位のところで最大となり、その前後で次第に小さくなる。

3. 従つて、Mfの最高密度を利用して、寄生雌成虫数の推定を行なうことは出来ない。

本研究に絶えざる御指導御鞭撻を賜つた当研究部部长、佐々学教授に厚く感謝の意を捧げる。

文 献

- 町田喜一(1957)：尿内虫卵数と犬鉤虫の寄生数並にその大きさに関する研究。千葉医学会雑誌，33(3)，578-595。
- 佐藤孝慈(1959)：Cotton ratを用いた糸状虫化学療法の実験的研究，(1) スパトニン及びマファルゾールの流血中マイクロフィラリア数に及ぼす影響。寄生虫学雑誌，8(6)，962-971。
- 佐藤孝慈(1960)：Cotton ratを用いた糸状虫化学療法の実験的研究(2) スパトニン及びマファルゾールの成虫に及ぼす影響。寄生虫学雑誌，9(1)，22-31。
- 田中英文(1964)：フィラリア実験動物としてのCotton ratに関する研究，II. *Litomosoides carinii*の感染経過について。寄生虫学雑誌，13(6)，507-513。
- 若杉幹太郎(1955)：コットンラット糸状虫*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。寄生虫学雑誌，4(4)，375-379。
- 若杉幹太郎(1958 a)：コットンラット糸状虫*Litomosoides carinii*に関する研究，第2報，糸状虫感染コットンラットの感染経過及び病変について。寄生虫学雑誌，7(1)，78-83。
- 若杉幹太郎(1958 b)：コットンラット糸状虫*Litomosoides carinii*に関する研究，第3報，成虫及びマイクロフィラリアの形態とイエダニ体内における幼虫の發育について。寄生虫学雑誌，7(5)，514-522。
- 矢島ふき・町田喜一(1958)：犬鉤虫*Ancylostoma caninum*の寄生生態に就いて，特に棲息密度効果について。寄生虫学雑誌，7(6)，631-640。

ON RELATIONSHIP BETWEEN THE MICROFILARIA DENSITY
IN BLOOD AND THE NUMBER OF FEMALE ADULT WORM
(*LITOMOSOIDES CARINII*) IN EXPERIMENTALLY
INFECTED COTTON RATS

SHIGEO HAYASHI

(Department of Parasitology, Institute for Infectious Diseases, Tokyo)

&

HIDEBUMI TANAKA

(Tokyo Research Laboratories, Tanabe Seiyaku Co. Ltd.)

The relationship between the microfilaria density of circulating blood and the number of infesting female adult worms was investigated with cotton rat (*Sigmodon hispidus*) and its filaria, *Litomosoides carinii*.

The rats were experimentally infected by the contact with infective colonies of tropical rat mite (*Ornithonyssus bacoti*) for seven days. Thereafter the animals were submitted to blood examinations once a week, until the number of Mf reached to the maximum value and showed a tendency of decrease again. Blood was taken from a tail vein by puncture and an amount of 2.5 cmm was measured with the use of specially designed micropipet. Microfilaria count was observed in the blood smear stained with Giemsa's solution. The adult worms were collected from individual animals which were autopsied at the time when the Mf density of those animals were ascertained to pass over the maximum level. The number of male and female were recorded.

In a few cases the animals were killed apparently a little too late, in which some adult worms had happened to die and were lost at the time of observation. In the majority of cases, however, the number of collected adult females were considered to represent the number of infesting worms which had been responsible in reproducing microfilariae up to the level of maximum.

The correlation of maximum microfilaria density with the number of adult females was examined. When the maximum microfilaria count was divided by the number of female adults and designated M, this value could be considered to correspond to the reproducing ability of an individual female. A linear relationship was found as following,

$$\log M = a + bF \dots\dots\dots(1)$$

where log means the common logarithms, and a, b represent constants and F the number of adult females. In the present observations a and b were computed as 2.125 and -0.00903 respectively. The fact indicates that the density-effect is involved i. e. the reproducing ability per female is depressed as the number of infesting female worms increases.

The formula (1) can be transformed as following,

$$M = M_0 e^{-cF} \dots\dots\dots(2)$$

where M_0 is a theoretical value of M at $F = 0$, e is the base of natural logarithms and c a constant. The calculation with the present examples revealed that a relationship $M = 133.4 e^{-0.0208F}$ existed.

Whereas the observable value of maximum microfilaria count is a yield of total number of females, the value is expressed as M multiplied by F. From the equation (2) derived is

the following,

$$MF = Mo F e^{-cF} \dots \dots \dots (3)$$

The differentiation of the right hand with F reveals that the formula has a maximum value when $F = \frac{1}{c}$ and a minimum at $F = \infty$.

It was demonstrated that the maximum level of microfilaria count which was reached to during the course of infection is a reflection of the number of infesting adult females. However the relationship is a more or less complicated one. The maximum value of microfilaria count becomes highest at a certain number of females (in the present case, $F = \frac{1}{c} = 48.1$) around fifty, and decreases as the number of females is either decreasing or increasing. Therefore the intention of estimating the number of infesting females from the maximum level of microfilaria count during the course of infection is unsuccessful.

会 記

学会宛次の如き通知掲載の依頼がありましたのでお知らせ致します。

“Studies on diagnosis of Schistosomiasis. II. A new criterion of the intradermal reaction by the antigen of *Schistosoma japonicum*. Japanese Journal of Parasitology, 13(5), 387-396. 1964.” was the second presentation of same article which was published on the American Journal of Tropical Medicine and Hygiene,

13(5), (September), 674-680, 1964.

寄生虫学雑誌 13 卷 5 号 387-396 頁に掲載した「日本住血吸虫病の診断法の研究(2) 日本住血吸虫抗原皮内反応の判定基準と診断的価値」(石崎達, 飯島利彦, 伊藤洋一共著)は既に Am. J. Trop. Med. & Hyg., 13(5), 674-680, 1964. に掲載された英文論文と同じものです(石崎達)