

アメリカ鉤虫幼虫の仔犬肺に於ける滞在がその後の 發育に及ぼす意義について

松野喜六 能瀬家博 石川 允

岡田清吾 高橋良雄

京都府立医科大学医動物学教室(主任 長花 操教授)

(1967年5月10日受領)

アメリカ鉤虫(以下 *N. a.* と略記する)の感染実験は Stiles (1906) を以つて端初とする様である. その後 Schwarz & Alicata (1934) は *N. a.* 感染幼虫をモルモットに経口的並びに経皮的に侵入させた実験の結果, その肺から得られる幼虫は成長發育し, 特にその幅員の増加を認めることを初めて明らかにした. 更に蒲池(1943) は仔犬に *N. a.* 感染幼虫を経皮的に侵入させた実験に於いて, *N. a.* 幼虫は皮膚と肺にそれぞれ一定期間留まると共に特に *N. a.* 幼虫が肺循環することには生物学的な意義のあることを指摘した. 当時, 仔犬は *N. a.* 幼虫にとって非固有宿主と考えられていたのであつたが, 教室の吉田ら(1959, 1960)の感染実験によつて仔犬は *N. a.* 及びズビニ鉤虫(以下 *A. d.* と略記する)の固有宿主であることが明瞭となつた. そこで教室の田辺(1962)は, この仔犬を用いて *N. a.* 感染幼虫を経皮的に侵入させて, その体内移行経路と發育について詳しく追求した結果, *N. a.* 幼虫が侵入部皮膚で一時留まることに生物的意義のあることを示唆すると共に, 肺循環にも生物学的意義の明瞭に存在することを強調した. 元来, 鉤虫の肺循環の生物学的意義について宮川(1914)が之を是とし, 横川(1925)が之を否としたのは *A. d.* 及び犬鉤虫(以下 *A. c.* と略記する)の実験成績にもとづいたものであつて *N. a.* に関するものではなかつた. 教室の岡本(1961), 肥後(1961)及び今井(1961)等の *A. d.* を用いて行なつた感染実験の結果は横川説を支持している様である. 最近, 長瀬ら(1961)及び徳永(1964)はラットに, 又関根ら(1962)及び関根(1965)は仔犬にそれぞれ *N. a.* 感染幼虫を経皮侵入させてから, ラットでは48~96時間, 仔犬では96時間経過後それぞれの肺から *N. a.* 3期

幼虫を分離回収して, これを人に経口的に投与すると何れも感染が成立することを認め, 蒲池及び田辺と同様に *N. a.* の肺循環の生物学的意義を指摘した. しかし, 蒲池(1943)は仔犬に於ける感染実験の結果から, 経皮侵入後60時間経過して初めて肺から幼虫が検出される様になり, 更に少なくとも平均100時間肺に滞在する必要があると述べている. また, 田辺(1962)は仔犬に於ける *N. a.* の経皮感染実験成績から, 初めて小腸に *N. a.* 3~4期幼虫の認められるのは経皮侵入後8日目であり, 肺では5~6日滞在することを述べている. これらの成績に比すると, 関根ら(1962)の *N. a.* 3期幼虫を仔犬の肺から分離した経皮侵入後の経過時間は短い様で, 実際肺での發育に要する滞在期間とその後, 消化管へ移行して定着寄生して發育を継続しうることとの間にどんな関係があるかはあきらかでない. このことは, *N. a.* の肺滞在の意義を更に追求してゆく場合の理解のためにも基礎的に必要なことであるのでこの実験を行なつた.

実験材料及び方法

感染実験に用いた *N. a.* 感染幼虫は, *N. a.* 単独感染者の糞便を28°Cで7日間試験管汚紙培養してえられたものを20°C水中に保存し, 必要に応じて使用した. 使用した幼虫の培養日令は7~30日の範囲のものであつた. *N. a.* 感染幼虫を経皮侵入させる方法は田辺(1962)の用いた方法に準じた. 即ち, *N. a.* 感染幼虫約2,000隻を仔犬(生後1~2月)の鼠径部皮膚に少量の水(1時間後乾燥する程度の)と共に1時間接触させた. それ以後, 4, 6及び7日経過後にこれらの犬を屠殺剖見してその肺を取出して, ハサミで細切し, ベールマン装置

Table 1 Development of the 3rd-stage larvae of *Necator americanus* in the intestine of pups.

No.	Pups		Number of larvae given*	Days from inoculation to autopsy	Number of worms recovered
	Body weight	Sex			
1	0.9 kg	♂	201	1	4
2	0.5	♂	280	2	19
3	1.1	♂	350	4	0
4	1.0	♀	200	8	18
5	2.4	♀	200	10	22
6	0.7	♀	220	18	8
7	1.4	♀	295	22	37
8	1.3	♂	300	26	0
9	1.1	♀	346	31	2
10	1.9	♂	500	37	0
11	1.9	♂	257	47	4**
12	1.2	♀	236	52	3**
13	1.5	♂	188	60	2**

* by stomach tube.

** showing positive cases for infective larvae by cultivation of the feces.

The third stage larvae used were collected from the lungs of other pups on the 7th day after cutaneous exposure.

(38°C) に1時間かけて幼虫を分離してのち、速やかに顕微鏡下で運動活発な幼虫を選び出した。次いで、分離選択した幼虫を胃ゾンデを用いて1~2月令の実験犬に経胃的に投与し、その後一定時間飼育してから屠殺剖見し、*N. a.* 幼虫又は成虫の検索を行なった。この検索に当っては、先ず消化管各部を開いて肉眼的に幼虫又は成虫の検索を行ない、その後食道、胃、小腸(8等分した)及び大腸をそれぞれ内容と壁に分けて、内容はそのまま遠心沈澱させて鏡検して幼虫の検出を行ない、壁はハサミで細切してベールマン装置にかけてのち幼虫の検索を行なった。

実験成績

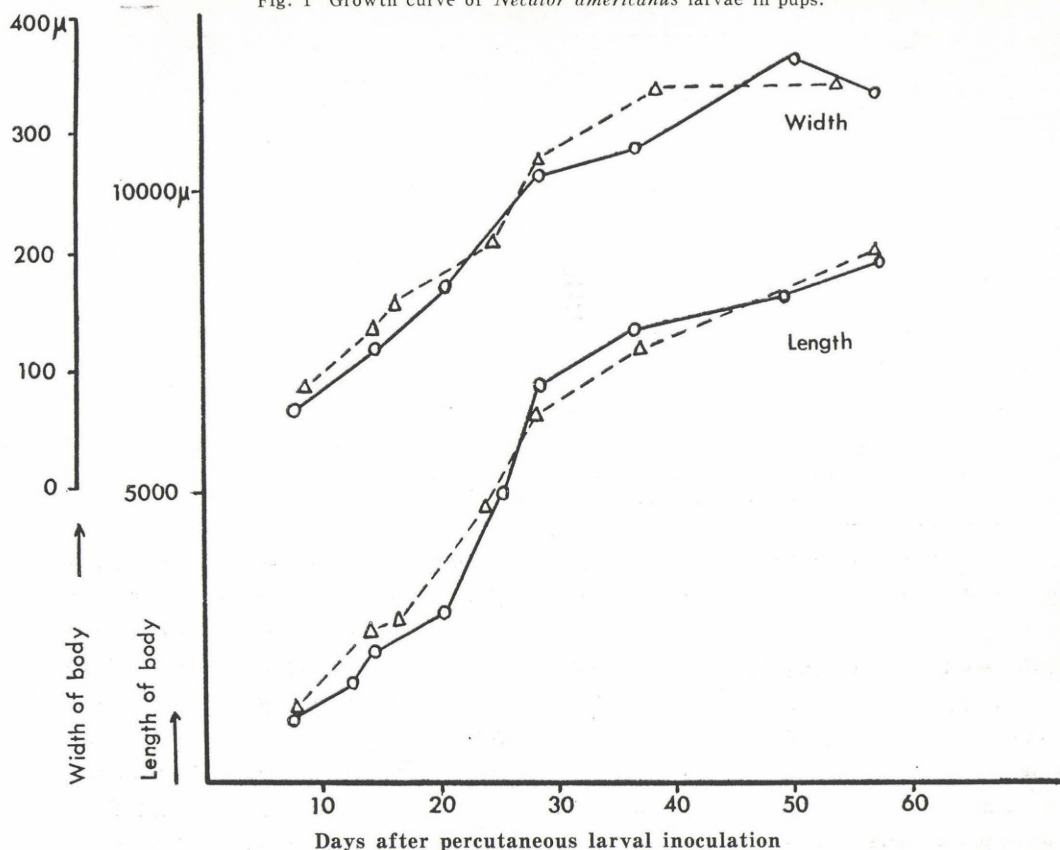
1) 経皮侵入させた後7日目に仔犬肺より分離回収した *N. a.* 3期幼虫を他の仔犬に経胃的に投与した場合。

13頭の仔犬を実験に供した。これらの実験犬には上記のようにして他の仔犬の肺から分離回収した3期 *N. a.* 幼虫 188~500 隻を投与し、その後、1~60 日の間に屠殺剖見した。その結果は Table 1 に示す如く、13 頭の中3頭(実験犬 No. 3, 8 及び10)には *N. a.* は認められなかったが、他の9頭の犬からはそれぞれ2~37 隻の *N. a.* が検出された(検出率 0.6~12.5%)。これらの *N. a.* の発育状況をみると投与後1~10 日後に剖見した実験犬 No. 1, 2, 4 及び5 に於いて認められた *N. a.* 幼虫はすべて4期幼虫であつて、3期幼虫は認められなかった。又投与後18日目に屠殺剖見した実験犬 No. 6 では認められた幼虫の中で1隻は4期幼虫であつたが他はす

べて5期幼虫であつた。投与して31~60日経過後に屠殺剖見した実験犬 No. 9~13 に於いては検出された *N. a.* はすべて成熟成虫であつた。特に実験犬 No. 11 と13 では継続検便の結果産卵を認めた。即ち、実験犬 No. 11 では投与後36日目(経皮侵入から数えると43日目)より培養で *N. a.* 幼虫(+)となり、浮游法でも41日目より虫卵(+)となつた。幼虫投与後47日目に屠殺剖見した所、*N. a.* 成虫♂3隻と♀1隻、合計4隻を認めた。又、実験犬 No. 13 では投与後42日目(経皮侵入から数えて49日目)に虫卵(+)となり、培養でも *N. a.* 幼虫(+)となり、投与後60日目に剖見した所、*N. a.* 成虫♂1隻と♀1隻、合計2隻の成虫を認めた。実験犬 No. 12 では継続検便で虫卵(-)であり、52日目に剖見した所、*N. a.* 成虫♂3隻のみの寄生を認めた。以上の如く、仔犬に経皮侵入させて後、7日目にその肺から分離してえた *N. a.* 3期幼虫を他の仔犬の胃に投与すると、同幼虫のうち以後の発育を続けて産卵するに至るものを認めた。又、その際の発育状況も Fig. 1 に示す如く、経皮侵入させて成虫に至るまでの発育状況を詳細に観察した田辺(1962)の成績と比べて大きな差は認められなかつた。

2) 経皮侵入後4日目に仔犬の肺より分離回収した *N. a.* 3期幼虫を他の仔犬に経胃的に投与した場合。

9頭の仔犬を実験に供した。前記のようにして仔犬の肺から経皮侵入後4日目に分離してえた *N. a.* 3期幼虫 125~500隻をこれら9頭の実験犬の胃に投与して後、2~22日の間に屠殺剖見した。その結果は Table 2 に示す如く、何れの仔犬からも *N. a.* 幼虫は検出できなかつ

Fig. 1 Growth curve of *Necator americanus* larvae in pups.

○.....○ Tanabe's data (1962)(direct development of *N. americanus* in pups)
 △.....△ The present data(development of *Necator* larvae in pups which were inoculated with the larvae collected from the lungs of pups on the 7th day after cutaneous exposure).

Table 2 Development of the 3rd-stage larvae of *Necator americanus* in the intestine of pups.

No.	Pups		Number of larvae given*	Days from inoculation to autopsy	Number of worms recovered
	Body weight	Sex			
1	0.7 kg	♂	400	2	0
2	0.9	♂	225	3	0
3	0.6	♀	400	4	0
4	1.0	♀	225	5	0
5	1.0	♀	150	6	0
6	0.8	♀	400	7	0
7	0.8	♀	500	10	0
8	0.7	♂	125	12	0
9	0.8	♂	125	22	0

* by stomach tube

The third stage larvae were collected from the lungs of other pups on the 4th day after cutaneous exposure.

た。即ち、経皮侵入後4日目の肺から分離した *N.a.* 3期幼虫は、他の仔犬の消化管へ移された場合、定着寄生できず排泄されてしまう様である。

3) 経皮侵入後6日目に仔犬の肺より分離回収した *N.a.* 3期幼虫を他の仔犬の胃に投与した場合。

9頭の仔犬を実験に供した。前記のようにして6日目

Table 3 Development of the 3rd-stage larvae of *Necator americanus* in the intestine of pups.

No.	Pups		Number of larvae given*	Days from inoculation to autopsy	Number of worms recovered
	Body weight	Sex			
1	0.6 kg	♂	131	1	0
2	1.2	♀	150	2	0
3	1.0	♀	150	3	0
4	1.2	♂	200	4	0
5	1.1	♀	150	5	0
6	0.7	♀	190	5	0
7	1.2	♂	190	7	0
8	1.2	♂	190	9	0
9	1.2	♂	173	14	0

* by stomach tube.

The third stage larvae were collected from the lungs of other pups on the 6th day after cutaneous exposure.

にその肺から分離してえた *N. a.* 3期幼虫 131~200 隻を9頭の実験犬に経胃的に投与した後、1~14日の間に屠殺剖見した。その結果は Table 3 に示す如く、実験犬 No. 1~9 の何れの場合も、*N. a.* 幼虫を認め得なかつた。即ち、経皮侵入後6日目の仔犬の肺から分離した *N. a.* 3期幼虫も、他の仔犬の胃に移された場合、それ以後の発育を継続することができず、排泄されてしまう様である。

考 察

鉤虫の肺循環の生物学的意義については、宮川説、横川説の相対立する説があるが、これらの説は、*A. c.* や *A. d.* を用いた実験結果に負つたものであつた。教室の岡本(1961)、肥後(1961)及び今井(1961)等の *A. d.* を用いて行なつた仔犬や仔猫での感染実験の結果は横川説を支持している。一方、*N. a.* に関する従来の実験成績(大磯, 1929; Schwarz & Alicata, 1934; 横川・蒲池, 1943; 蒲池, 1943; 田辺, 1962; 長花ら, 1962, 1963; 徳永, 1964; 関根, 1965; 山本, 1965; 石川, 1966)から、*N. a.* の宿主体内に於ける移行路と発育を概括するに、*A. d.* や *A. c.* のそれらとは極めて明瞭な差違のあることを認めることができる。すなわち、*N. a.* 感染幼虫は、消化管で定着寄生して発育を続ける以前に皮膚(或は口腔粘膜)と肺に於いてそれぞれ一定期間滞在すること、そして時に肺に於ける滞在中に著しい発育をするのを認め、肺循環の生物学的意義を指摘できること等である。従つて、*N. a.* については、*A. d.* や *A. c.* の実験結果に負つた宮川説或は横川説の論争を適用して考えるわけにはいかない。蒲池(1943)及び田辺(1962)は *N. a.* の肺循環に生物学的な意義を認め、又長瀬ら

(1961)、徳永(1964)、関根(1965)及び山本(1965)らもこのことを認めている。長花ら(1962, 1963)が行なつた *N. a.* の経口感染の問題に関する一連の実験結果から、いわゆる経口感染は仔犬に於いては経口腔粘膜感染のことを意味しており、しかもこの際も *N. a.* 幼虫は肺循環を行ない、且つそこで明瞭な発育を示して後、初めて消化管へ移行して定着寄生を続けることが明らかとなつた。従つて *N. a.* 幼虫にとつて、その侵入方法の如何を問わず、肺循環が必順のものであらうと思える点は、*A. d.* や *A. c.* の発育史とは明らかに違つている点も含めて興味深いことと思われる。

今回我々の行なつた実験は *N. a.* の固有宿主体内に於ける肺循環の積極的意義を前提として、又そのことを裏付ける立場から行なつたものであるが、仔犬に経皮侵入後肺へ移行し、そこで一定の期間滞在した *N. a.* 幼虫が取出され、他の仔犬の消化管へ移された場合、それらの幼虫がその後どんな発育状況を示すかを知ることによつて、1) 消化管で発育をつづけることのできる幼虫となるためには、仔犬の肺での発育がある段階に到達するまで一定の肺滞在期間が必要であるものかどうか、2) *N. a.* 3期幼虫の発育に當つて仔犬肺での発育の代行を消化管に於いて行なうことができないかどうか等を知ることにあつた。得られた実験成績から、経皮侵入後4日或は6日目に取出した *N. a.* 3期幼虫を他の仔犬の消化管へ移した場合、これらの幼虫はその消化管に於いて発育をすすめて定着寄生できない様である。一方、経皮侵入後7日目に仔犬の肺から取出した *N. a.* 3期幼虫を他の仔犬の消化管に移した場合は、その消化管で発育をすすめて成虫となり産卵することができる。即ち、消化管へ移されて発育を持続してゆけるためには、仔犬の肺に於け

る *N. a.* 3期幼虫の發育に一定の滞在期間（5～6日）を要することを意味しており、*N. a.* 幼虫の肺循環の生物学的意義といつても、肺をただ通過しさえすれば良いと云うのでないことを示していると考えられる。そして *N. a.* 3期幼虫の發育史上、肺に於ける發育の代りを消化管に於いて行なうこともできないことを示していると考えられる。しかるに長瀬ら（1961）、徳永（1964）及び関根（1965）の行なつた実験で用いた *N. a.* 3期幼虫は経皮侵入後4日目に肺から取出したものであるにも拘らず、感染の成立をみたというのは何故であろうか。宿主の相違にもとづく差なのかも知れない。この点は目下明らかではない。

総 括

N. a. 感染幼虫を仔犬に経皮的に侵入せしめてのち、4、6及び7日目にこの仔犬を屠殺剖見し、肺を取出して、ペールマン装置を用いて分離回収した *N. a.* 3期幼虫を、胃ゾンデを用いて、他の仔犬に投与して、それらの幼虫の發育状況の観察を行なつた。

その結果は以下の如くであつた。

1) 経皮侵入後7日目に仔犬の肺より分離して得た *N. a.* 3期幼虫は、他の仔犬に経胃的に移されると、その腸管内で以後の發育を続けて成虫となり産卵をするに至る。又發育状況も経皮感染実験の際のものと殆ど異ならない。

2) 経皮侵入後4及び6日目に仔犬の肺から分離して得た *N. a.* 3期幼虫は、他の仔犬に経胃的に移されても、その腸管内に定着寄生して發育を続けることができず、排泄されてしまう。

3) 仔犬体内での *N. a.* 幼虫の發育にとって肺循環は生物学的に必須のものであつて、しかも経皮侵入後7日目或はそれ以後肺から取出したものだけが、消化管へ移された場合に腸管内に定着寄生して更に發育を続けることができる。

稿を終るに当り、御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた長花操教授に深謝すると共に、終始御教示戴いた吉田幸雄助教授に感謝の意を捧ぐ。

参 考 文 献

1) 肥後晃(1961): ツビニ鉤虫被囊幼虫を仔犬に経皮感染せしめた場合に於ける本虫の体内移行経路と發育について. 京府医大誌, 70, 851-872.

- 2) 今井貴美子(1961): ツビニ鉤虫被囊幼虫を仔犬に経口感染せしめた場合に於ける本虫の体内移行経路とその發育について. 京府医大誌, 70, 575-593.
- 3) 蒲池勇三(1943 a): アメリカ鉤虫の白鼠に於ける実験的経膚感染に就いて. 熱帯医学, 1, 379-388.
- 4) 蒲池勇三(1943 b): アメリカ鉤虫の経膚的感染に就いて. 熱帯医学, 1, 422-429.
- 5) 蒲池勇三(1943 c): 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.
- 6) 宮川米次(1914): 経口的に侵入せる十二指腸虫の宿主体内に於ける感染経路について. 日消化会誌, 13, 1-32.
- 7) 宮川米次・岡田良一(1930 a): 十二指腸虫の感染に際し仔虫の為す肺循環の生物学的意義(第1報). 実験医誌, 14, 227-242.
- 8) 宮川米次・岡田良一(1930 b): 犬十二指腸虫の感染に際し仔虫の為す肺循環の生物学的意義(第2報). 実験医誌, 14, 951-995.
- 9) 長花操ら(1962 a): アメリカ鉤虫の経口感染に関する実験的研究. (1) 仔犬及びモルモットに対するアメリカ鉤虫被囊幼虫の経胃感染. 寄生虫誌, 11, 454-460.
- 10) 長花操ら(1962 b): アメリカ鉤虫の経口感染に関する実験的研究. (2) 仔犬に対するアメリカ鉤虫被囊幼虫の経口腔粘膜感染. 寄生虫誌, 11, 488-498.
- 11) 長花操ら(1963 a): アメリカ鉤虫の経口感染に関する実験的研究. (3) アメリカ鉤虫の経口腔粘膜感染に関する人体実験. 寄生虫誌, 12, 162-167.
- 12) 長花操ら(1963 b): アメリカ鉤虫の経口感染に関する実験的研究. (4) 仔犬に対するアメリカ鉤虫被囊幼虫の経食道粘膜及び経小腸粘膜感染実験. 寄生虫誌, 12, 382-386.
- 13) 長瀬信一ら(1961): 鉤虫感染経路特に人体感染実験について (8). 寄生虫誌, 10, 470.
- 14) 岡本憲司(1961): ツビニ鉤虫被囊幼虫を仔犬に経口感染せしめた場合に於ける本虫の体内移行経路と發育について. 京府医誌, 70, 135-152.
- 15) 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. 台湾医会誌, 28, 966-971.
- 16) Schwartz, B. and Alicata, J. (1934): Development of the human hookworm, *Necator americanus*, in guinea pigs. Amer. J. Hyg., 20, 317-328.
- 17) 関根憲治他(1962): 鉤虫の感染経路——特に人体感染実験について (11). 寄生虫誌, 11, 313.
- 18) 関根憲治(1965): 鉤虫の感染経路に関する研究——特に仔犬の肺臓内より分離せるアメリカ鉤虫仔虫を以つてせる経口的人体感染実験について. 寄生虫誌, 14, 114-128.
- 19) Stiles, C. W. and Goldberger, J. (1906): A young stage of the American hookworm—

- Necator americanus* (Stiles, 1902)—8 to 12 days after skin infection in rabbits and dogs. Amer. Med., 11(2), 63-65.
- 20) 田辺一男(1962): アメリカ鉤虫被囊幼虫を仔犬に経皮侵入せしめた場合に於ける本虫の体内移行経路と発育について. 京府医誌, 71, 513-537.
- 21) 徳永昌裕(1964): 鉤虫の感染経路に関する研究—特にラットの肺臓内より分離せるアメリカ鉤虫仔虫を以つてせる経口的人体感染実験について. 寄生虫誌, 13, 215-230.
- 22) 山本昌明(1965): 鉤虫の感染経路に関する研究—特に仔犬の皮内より分離せるアメリカ鉤虫仔虫を以つてせる経口的人体感染実験について. 寄生虫誌, 14, 129-147.
- 23) 横川定・大磯友明(1925): 十二指腸虫及びストロンギロイデス・ステルコラーリスの発育史に関する研究(第1報). 十二指腸虫の発育史に関する研究. 東京医事新誌, 2418号, 971-977.
- 24) 横川定・大磯友明(1925): 同上(第2報). 十二指腸虫の感染経路に就て. 東京医事新誌, 2425号, 1336-1340.
- 25) 横川定・大磯友明(1925): 同上(第3報). 人十二指腸虫の経口的感染に就て. 東京医事新誌, 2493号, 2022-2028.
- 26) 横川定・大磯友明(1926): 同上(第4報). 十二指腸虫の成熟仔虫は宿主の肺臓通過後果して胃液に対する抵抗力を増すや? 及び同仔虫の経口的に摂取せられたる場合宿主と宿主ならざる動物とにより其態度を異にする所以に就て. 東京医事新誌, 2456号, 327-337.
- 27) 横川定・蒲池勇三(1943): アメリカ鉤虫 *Necator americanus* の感染経路に関する実験的研究. 病理誌, 1, 595-603.
- 28) 吉田幸雄他(1959): ツビニ鉤虫の非固有宿主である犬体内に於ける発育について. 東京医事新誌, 76, 213-216.
- 29) 吉田幸雄他(1960): アメリカ鉤虫の仔犬体内に於ける発育について. 寄生虫誌, 9, 735-743.

Abstract

THE SIGNIFICANCE OF THE STAY OF *NECATOR AMERICANUS* LARVAE IN THE PUPPY LUNG ON THEIR FURTHER DEVELOPMENT

KIROKU MATSUNO, IEHIRO NOSE, MAKOTO ISHIKAWA,
SEIGO OKADA & YOSHIO TAKAHASHI

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

The present investigation was conducted to know the significance on the stay of *Necator americanus* larvae in the puppy lungs on the further development in the intestine.

In the first experiment, each of 13 pups was administered into the stomach with 188-500 *Necator* larvae which were recovered from the lungs of other pups on the 7th day after cutaneous exposure. In 10 out of 13 pups the larvae showed normal growth into the adult stage.

The second experiment comprises of 9 pups which were inoculated with 125-500 *Necator* larvae recovered from the lungs of other pups on the 4th day after cutaneous exposure through the stomach. None of the 9 pups was found to be infected at autopsy.

In the third experiment, 131-200 *Necator* larvae were collected from the lungs of pups on the 6th day after cutaneous exposure and were introduced into the stomach of 9 pups. This group also showed negative in worm burdens.

Above mentioned facts suggest that the lung migration of *Necator* larvae is essential for further development, and that only those larvae which were recovered from the puppy lungs on and after the 7th day of cutaneous exposure are able to continue further development in the intestine of the host.