

コトナラットフィラリアの諸種ネズミ類 に対する感染性について

小林 準三 酒井 健夫 松田 肇
篠田 恵子 佐々 学

(東京大学医科学研究所寄生虫研究部)

(1967年 5月25日受領)

数ある動物フィラリアのうち、抗フィラリア剤スクリーニング用として最も適しているのはコトナラットフィラリア *Litomosoides carinii* と考えられる。それは宿主であるコトナラットが小動物であるため、実験用として数多く扱えること、繁殖力が旺盛で経済的であること、フィラリアの寄生部位が主に胸腔内であつて剖検時観察し易いなどの利点がある為である。中間宿主のイエダニも大量飼育が容易であり、また *Litomosoides* の薬剤に対する態度も、*cyanin* などごく一部のものを除き、人のフィラリアのそれと大差なく、この点同じネズミ類のフィラリアであつても *diethylcarbamazine* に殆ど反応を示さないといわれる *Dipetalonema witei* よりも遙かに利用価値が高いといわれる。

しかし、コトナラットは元来が米国南部の野性のネズミであるため、性質が荒く、扱い難い面があり、また共喰いの習性も強いので、一部の国ではコトナラット以外の動物に *Litomosoides* を感染せしめて、薬剤実験に用いようとする動きもある。即ちインドに於てはコトナラットに代つてラットが用いられ始めているし、米国でも最近、スナネズミ *Meriones unguiculatus* が薬剤実験のために使われるようになって来ている。

当研究部では1953年以来、抗フィラリア剤実験の目的でコトナラットを累代飼育して来たが、1966年より大規模な抗フィラリア剤スクリーニングを開始した。他面において現在我国に於て入手し得る各種ネズミ類に対し *Litomosoides* の感染実験を行い、その感受性をしらべ、抗フィラリア剤テストに使用し得るか否か、コトナラットに比較した場合の優劣について検討することにした。

実験材料

供試動物は次の9種である。ネズミ科 *Muridae*、ネズミ亜科 *Murinae* のラット *Rattus norvegicus*、マウス *Mus musculus*、アカネズミ *Apodemus speciosus*、キヌゲネズミ科 *Cricetidae*、ハタネズミ亜科 *Microtinae* のハタネズミ *Microtus montebelli*、アメリカ原産のヤチネズミの一種 *Clethrionomys gapperi*、キヌゲネズミ亜科 *Cricetinae* のハムスター *Mesocricetes auratus*、コトナラット *Sigmodon hispidus*、アレチネズミ亜科 *Gerbillinae* のスナネズミ *Meriones unguiculatus* 及びリス科 *Sciuridae* のシマリス *Tamias sibiricus* である。

ラットは埼玉県の日本ラット会社より購入せるウィスター系の生後3週間のもの5頭、マウスは伝研実験動物繁殖室で飼育せられた DD 系、生後 1.5 カ月のもの5頭、アカネズミは秋田県で採集した1頭で、恐らくは生後4カ月以上経過していると思われるものを使用した。ハタネズミ及び *Clethrionomys gapperi* は共に伝研実験動物繁殖室にて飼育せられたもので、前者は生後5カ月以上経たもの2頭、後者は生後2カ月のもの3頭である。ハムスターは東京椎橋商店より購入せる生後1カ月のもの3頭、コトナラットは当研究部で累代飼育している DP 系、生後3週目のもの3頭、スナネズミは伝研実験動物繁殖室にて飼育せられた生後1カ月のもの3頭、シマリスは東京岩瀬鳥獣店より購入した、生後2カ月のもの3頭である。

実験方法

今回は自然の状況での感受性の有無を調べることに重点を置いたため、実験方法はすべて、フィラリア感染幼虫を保有するイエダニを動物に付着、吸血せしめること

により行つた。先ず感染ダニを30匹、飼育容器から取出し、双眼解剖顕微鏡下で解剖針を用い一匹ずつ解剖、中に保有するフィラリア感染幼虫数をしらべ、累積度数分布表を作り、幼虫数0のものを1にくり上げて対数正規グラフにのせ、その median を取り、この数をもつてダニ1匹あたりの保有フィラリア幼虫数とみなした。これをもとにして動物に侵入させるフィラリア幼虫数に相当するダニの数を算定し、動物に付着せしめた。動物に侵入せしめるフィラリア幼虫数は、コトナラットの場合50匹であるが、他の動物ではコトナラットより遙かに感受性の低いものが多いことが予想せられたので、原則としてこの3~4倍、即ち150~200の幼虫を侵入させ、感受性の有無を確かめることにした。

感染ダニを付着せしめてから7週目より検血を開始、血液2.5mm³当りのマイクロフィラリア(以下mfと略)の数をしらべ、その後毎週1回ずつ検血を行い、15週目の検血を終つた直後に解剖、フィラリア成虫の寄生状況について調べた。

結 果

1. ラット：5頭中4頭にフィラリアの寄生が認められた。寄生虫数はそれぞれ8(死虫3), 17(死虫9), 0, 1(死虫1), 20(死虫12)で死虫の多いのが目立つた。そのほか、發育途中に死んで、すでに虫体の構造を示さず、痕跡的なものになつたものが、すべての例に於て胸腔壁、肋膜などに点々と見られた。末梢血中のmf出現密度は低く、最高は血液2.5cmm中50であり、コトナラットの如くmfが急激に増加するような傾向は見られなかつた。

2. マウス：5頭とも感染はしたが、寄生成虫数は甚だしく少ない上、死虫が多く見られた。寄生成虫数はそれぞれ12, 5(うち3は死虫), 1(死虫), 5(全部死虫), 1(死虫)であり、はじめの12寄生のものも感染後8週目に剖検したものであるところから、15週後には殆ど死虫となることも予想せられる。末梢血中のmf出現濃度は甚だしく低く、すべてのものを通じ、ただ1例、それも1回だけ2.5cmmの血液中にmf1を認めたにすぎず、あとは皆陰性であつた。

3. ハムスター：3頭全部感染した。寄生フィラリア成虫は回収不能であつたNo.1のハムスターを別として、他の2頭では寄生成虫数はそれぞれ13, 57であり、一応全部のものが生きていた。しかし虫の發育は甚だ悪くて小形のものも多く、ハムスターの組織内にもぐり込

んだような状態のものも多かつた。末梢血中へのmfの出現濃度も低く、最高48/2.5cmm程度である。

4. アカネズミ：36匹のフィラリア成虫の寄生を見た。末梢血中へのmfの出現濃度はラット、ハムスターなどより高く、最高151/2.5cmmで、コトナラット同様mf数が漸増する傾向が見られる。

5. ハタネズミ：2頭とも感染した。侵入フィラリア成虫が多すぎたためと思われるが、2頭とも実験途中で死亡した。寄生フィラリア数は甚だ多く、それぞれ81, 56であり、剖検時の段階では皆生存し、活発に動いていた。成虫寄生数に比較し、末梢血中へのmfの出現濃度は低かつた。

6. *Clethrionomys gapperi*：3頭全部感染した。寄生フィラリア成虫はそれぞれ6(全部生存), 23(死虫1), 10(死虫2)であり、白ラットなどに較べると寄生虫の死亡は少ない。末梢血中のmf出現濃度はハタネズミ同様やや低かつた。

7. スナネズミ：3頭ともよく感染。寄生フィラリア成虫数はそれぞれ104, 91, 33で全部生存。末梢血中のmf出現濃度も高く、最高2270/2.5cmmであつた。

8. コトナラット：非常によく感染。感染させたフィラリア仔虫数はスナネズミの1/3であるが、それぞれ37, 25, 17の成虫の寄生を見、末梢血中mf数は最高1719/2.5cmmであつた。効率から見るとスナネズミよりややすぐれている。

9. ツマリス：3頭とも感染せず。剖検によつても、フィラリア寄生の痕跡すら認められなかつた。

考 察

Litomosoides がネズミ類を主とした齧歯類に広く分布し、寄生していることはすでに知られた事実である。1919年 Travassos がブラジルの San Paulo に於てリスの一種 *Sciurus sp* から *Litomosoides* を発見して以来、米国南部から南米にかけ、各地で野生齧歯類の *Litomosoides* 自然感染が報告されている。1928年 Mazza はアルゼンチンで *Holochilus vulpinus* にこの虫の寄生を見出し、Chandler (1931) はテキサスのコトナラットに、Ochoterena & Caballero (1932) もメキシコのコトナラットにそれぞれ寄生を認めている。Vogel 及び Gabaldon (1932) はヴェネゼラのカラカスに於て *Mus decumanus* に、Vaz (1934) はブラジルの野性のネズミ *Nectomys squamipes* に *Litomosoides* の自然感染を見出し報告している。

一方実験室内に於ては、ラットへの *Litomosoides* 感染が多く試みられて居り、一般に感受性は低いとされているが、Ramakrishnan ら (1961) は感受性の高いラットの strain を見出し、以後これを抗フィラリア剤実験動物として用いることに成功している。Hawking 及び Burrough (1946) はハムスター及びマウスに対し感染実験を行い、共に感染はするが、感受性はコトナラットより遙かに劣る、と述べており、Sen (1961) は black mouse に対し、同様の実験を試みたが、遂にその血中に mf を見るに至らず、剖検によつて胸腔内にごく僅かな成虫、それも発育不十分であつたり、宿主の組織に被覆されて死滅したものを認めたに過ぎなかつたと報告している。Zein-Eldin (1965) はスナネズミの股静脈内に *Litomosoides* 幼虫を注入することにより高率に感染せしめることに成功した。この動物が *Litomosoides* に感染し易いことは以前から知られていたが、このようなことから抗フィラリア剤実験動物として大きく取り上げられるようになり、米国ではコトナラットに代り、スナネズミが普通に用いられるようになって来ている。

我々の実験でも、スナネズミはコトナラットに次いで高い感受性を示し、末梢血中の mf 濃度も高かつた。前二者に較べるとかなり低いアカネズミも或程度の感染率を示した。しかしこの実験に用いたのは野生のままのものであるため年齢が判然とせず、おそらく生後4カ月は経ていると思われ、若し生後3週間後のものを用いた場合には更によい結果を得たであろうことも予想せられる。アカネズミに較べるとラット (Wistar 系) やハムスターは遙かに感受性が低く、寄生フィラリア成虫の死亡の多いのが目立つ。マウス (DDD 系) は甚だしく感染率が悪く、全期間を通じ、末梢血中に mf が殆ど認められなかつた。これに対しハタネズミ亜科のハタネズミ及び *Clethrionomys* は末梢血中の mf 出現密度は低い、成虫への発育率はラットなどよりよかつたのは注目に値し、今後この亜科の検討をさらにすすめる必要がある。尚、シマリスにはフィラリアの寄生したような痕跡すら認められなかつた。

実際問題として、薬剤実験用にどの動物が一番向いているかということになると、矢張りコトナラットが最もすぐれていると考えられる。*Litomosoides* に対する感受性の高いこと、繁殖力の盛んなこと、スナネズミなどに比し胸廓が広く、剖検時に楽であることなどがあげられる。コトナラットの欠点とせられる狂暴な性質という点でも、当研究部で累代飼育されているコトナラットは

比較的扱い易い動物となつて来ているし、共喰いの傾向も、個々に分離したケージを用いることにより完全に避けられているので、あえてスナネズミに代える必要は認めていない。これとは別にハタネズミ、*Clethrionomys* 等は体が非常に小さく、その上或程度の感受性もあり、実験の目的によつては使いうる動物と思われる。

結 論

日本で入手しうる8種のネズミ、及びシマリスに対し *Litomosoides* の感染実験を行った。その結果、コトナラットが感染率、末梢血中 mf 出現濃度ともにすぐれ、スナネズミはこれに次いだ。アカネズミ、ハタネズミ、*Clethrionomys*、ラット、ハムスターなどにも感受性は認められたが前二者に較べるとかなり低かつた。マウスは甚だしく感受性が低く、シマリスには全く寄生が認められなかつた。この点から *Litomosoides* による抗フィラリア剤テスト用には、宿主としてコトナラットが最も適していることを再確認した。

稿を終るに当り、実験に協力を得た寄生虫研究部の諸氏に感謝の意を表する。

参 考 文 献

- 1) Bertram, D. S., Unsworth, K. and Gordon, R. M. (1946): Transmission of *Litomosoides carinii* to laboratory animals. *Nature*, 158, 418.
- 2) Bertram, D. S. (1966): Dynamics of parasitic equilibrium in cotton rat filariasis. *Advances in Parasitology*, 4, 255-319.
- 3) Dalip Singh and Raghavan, N. G. S. (1962): The duration of patent infection of *Litomosoides carinii* in the albino rat. *Ind. J. of Mal.*, 16, 193-201.
- 4) Hawking, F. and Burroughs, A.M. (1946): Transmission of *Litomosoides carinii* to mice and hamsters. *Nature*, 158, 98.
- 5) Olson, J. L. (1959): The survival of migratory and post-migratory stages of *Litomosoides carinii* in white rats. *J. Parasit.*, 45, 182-188.
- 6) Ramakrishnan, S. P., Dalip Singh, Bhatnagan, V. N. and Raghavan, N. G. S. (1961): Infection of the albino rat with the filarial parasite, *Litomosoides carinii*, of cotton rats. *Ind. J. of Mal.*, 15, 255-266.
- 7) Ramakrishnan, S. P., Dalip Singh and Krishnaswami, A. K. (1962): Evidence of ac-

- quired immunity against microfilariae of *Litomosoides carinii* in albino rats with mite-induced infection. Ind. J. Mal., 16, 263-268.
- 8) Ramakrishnan, S. P., Dalip Singh and Raghavan, N. G. S. (1963): The course of mite-induced infection of *Litomosoides carinii* in albino-rats treated with diethylcarbamazine—absence of any evidence of effect on adult worms. Ind. J. of Mal., 17, 7—15.
- 9) Sen, A. B. and Bhattachanya, B. K. (1961): Studies on *Litomosoides carinii* infection in white rats and black mice. Arch. Int. Pharmac. Dyn., CXXXI 3-4, 379—389.
- 10) Vaz, Z. (1934): *Ackertia* gen. nov. for *Litomosa burgosi* De La Barrera, 1926, with notes on the synonymy and morphological variations of *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919). Ann. Trop. Med. Parasit., 28, 143-149.
- 11) Zein-Eldin, E. A. and Scott, J. A. (1961): Plasma proteins of susceptible and resistant hosts of the filarial worm *Litomosoides carinii*. Texas Rep. Biol. Med., 19, 381—392.
- 12) Zein-Eldin, E. A. (1965): Experimental infection of gerbils with *Litomosoides carinii* via intravenous injection. Texas Rep. Biol. Med., 23, 530—536.

Abstract

INFECTIVITY OF COTTON RAT FILARIA, *LITOMOSOIDES CARINII*
TO VARIOUS SPECIES OF RODENTS

JUNZO KOBAYASHI, TAKEO SAKAI, HAJIME MATSUDA,
KEIKO SHINODA & MANABU SASA

(Department of Parasitology, the Institute of Medical Science,
the University of Tokyo, Japan)

The study has been made to investigate the infectivity of *Litomosoides carinii* to various species of rodents, and to find out whether any other rodent species which are easily bred in laboratories can be used as substitutes for cotton rats. Eight species of rodents were tested and each host was exposed to infection by certain number of mites estimated to harbor 50 to 200 infective larvae. Blood test was made every week after the 7th week, and the number of microfilaria (mf) in 2.5 mm³ of blood was counted. Infected hosts were autopsied after the blood test in the 15th week.

Rattus norvegicus: Four rats out of 5 were infected but the mf density was lower than expected. The highest number was 50 per 2.5 mm³. Adult worms which were found mature and alive at the autopsy were 20, 17, 8, 1 and 0 per each host, while large number of dead or immature worms were seen in all animals.

Mus musculus: Five animals were infected, but the mf density was negative, with an exception that a microfilaria was seen only once in a mouse in the 7th week. Although a few adult worms were alive in all hosts, most parasites were immature or dead.

Apodemus speciosus: A wild caught female rat was infected. The mf density was 150 per 2.5 mm³ at the 15th week, showing the tendency of gradual increase.

Microtus montebelli: Both two were infected but died in the 8th and 12th week due to heavy harboring of parasites which were 81 and 56, and were alive at the autopsy.

Clethrionomys gapperi: All 3 animals were infected and showed microfilaraemia of moderate level.

Meriones unguiculatus: All 3 were highly susceptible to infection, showing high mf density of more than 1,000 in 2 animals. The number of adult worms were 104, 91 and 33.

Mesocricetus auratus: All 3 animals were infected, but two of them died in the course of observation, and the microfilaraemia level was lower than in cotton rats and gerbiles.

Tamias sibiricus: Three animals were exposed to infection with about 200 infective larvae, but were not infected. No parasite, either dead or alive, was seen at all.

Sigmodon hispidus: Three rats were infected very successfully, showing high microfilaraemia (1, 651; 1, 719 and 728) and high recovery rates of adult worms (37, 25 and 17).

The above results indicate that the infectivity as well as the pathogenicity of *Litomosoides carinii* to rodent hosts differ greatly among species. Both cotton rats and Mongolian gerbiles are estimated to be best fitted for tests of drugs as they are highly susceptible to infection and can survive long enough to allow the course of tests. Promising results were obtained with *Microtus* and *Apodemus*. The albino rat was seen to be a poor host, and the mouse and squirrel were naturally immune to infection.