

肝蛭症の治療に関する研究

(8) Bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide・diethylcarbamazine による幼肝蛭殺滅試験

木 村 重 小 野 豊

神戸大学農学部家畜衛生学教室

(昭和45年11月28日 受領)

家畜肝蛭症の撲滅対策のうち、もつとも実施可能な方法は駆虫剤による肝蛭の駆除であり、今日では多種の駆虫剤の創製または改良がおこなわれている。しかし、これらの駆虫剤は完全駆虫と副作用の点で必ずしも満足できるものではなく、今後の画期的な新駆虫剤の出現が期待される。

一方、現在用いられている各種駆虫剤は、肝蛭成虫を駆除できるが幼肝蛭にたいしてはほとんど殺滅効力を示さないとされている。したがって牛・めん羊・山羊では、肝蛭感染よりやく40~60日までの幼肝蛭期にはまったく治療方法はない。幼肝蛭によつて惹起される肝組織の破壊、出血および壊死などは、宿主がこうむる各種変化のうちでも重要な病変である。また、肝蛭濃厚感染地帯の家畜にしばしばみられる肝蛭感染の急性症状と急性死は、肝蛭成虫よりもむしろ幼肝蛭の病害によつて生ずるものである。このようなことから、今後は幼肝蛭の殺滅をも考慮した肝蛭駆虫剤の開発をすすめるべきものと考えらる。

今回、家兎に肝蛭を感染させ、感染初期に I-129 などを投与し、幼肝蛭を殺滅できるかについて検討した。その成績の概要について報告する。

材料および方法

1. 供試薬剤

供試薬剤は bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide・diethylcarbamazine、すなわち I-129 である。本剤は、私どもがはじめて製剤化したものである。また、bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide (67%) と diethylcarbamazine (33%) を混合したもの(混合剤)も用いた。なお I-129 は、融点 88~90°C であり、アルカリ・アルコール・アセトンに溶解する白色粉末である。

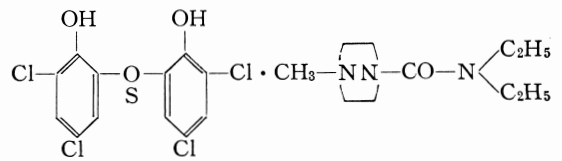


Fig. 1 Chemical structure of I-129 [bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide・diethylcarbamazine].

2. 供試動物

試験に用いた家兎は、体重 1.5~2.3kg のもの44頭であつて、それぞれに肝蛭メタセルカリア20コずつ感染させたものである。また供試家兎は、感染前において糞便検査で肝蛭感染が陰性であることを確認した。

3. 投薬量および方法

I-129および前記混合剤をそれぞれ50, 100mg/kg および 300mg/kg 投与した。また、投与群を投与時期と投与回数によつてつぎのように区分した。すなわち、感染14, 21, 28日に投薬した3回投与群, 14, 21日または21, 28日の2回投与群, 14, 28日および35日にそれぞれ1回ずつの投与群の3区分である。

4. 駆虫効果の判定

肝蛭感染後54~81日に剖検をおこない、肝における生存肝蛭数と肝病変にもとづいて駆虫効果を判定した。

5. 副作用の観察

投薬後の元気、食欲および糞便の性状などについて副作用を観察した。

成 績

1. I-129による幼肝蛭殺滅試験

I-129 300mg/kg を家兎18頭, 100mg/kg を4頭, 50mg/kg を4頭, 計26頭に投薬した。すなわち、感染14日に 300mg/kg を1回投与した3頭では、検出虫体9,

Table 1 Anthelmintic effect of I-129 against immature flukes of *Fasciola* sp. in rabbits

Rabbit number	No. of meta-cercariae given	Dose rate mg/kg	No. of administration (Days from infection to admin.)	Days to autopsy from infection	Number of worms recovered				Pathological changes of the liver	Side effect
					Survived	Dead	Total	Survival* rate		
1	20	300	1(14)	73	13	0	13	65.0	++	-
2	20	300	1(14)	73	14	0	14	70.0	++	-
3	20	300	1(14)	73	9	0	9	45.0	+++	-
4	20	300	2(14, 21)	75	3	0	3	15.0	+	-
5	20	300	2(14, 21)	75	8	0	8	40.0	+++	-
6	20	300	2(14, 21)	75	0	0	0	0	+	-
7	20	300	2(14, 21)	61	0	0	0	0	+	-
8	20	300	2(14, 21)	61	0	0	0	0	+	-
9	20	300	3(14, 21, 28)	80	0	0	0	0	+	-
10	20	300	3(14, 21, 28)	80	0	0	0	0	+	-
11	20	300	3(14, 21, 28)	80	0	0	0	0	+	-
12	20	300	2(21, 28)	61	0	0	0	0	+	-
13	20	300	2(21, 28)	61	0	0	0	0	+	-
14	20	300	1(35)	81	0	0	0	0	+	-
15	20	300	1(35)	81	0	0	0	0	+	-
16	20	300	1(35)	81	0	0	0	0	+	-
17	20	300	1(35)	63	0	0	0	0	+	-
18	20	300	1(35)	63	0	0	0	0	+	-
19	20	100	1(28)	61	10	0	10	50.0	++	-
20	20	100	1(28)	58	11	0	11	55.0	+++	-
21	20	100	1(35)	61	7	0	7	35.0	++	-
22	20	100	1(35)	61	1	0	1	5.0	+	-
23	20	50	1(28)	61	7	0	7	35.0	++	-
24	20	50	1(28)	54	13	0	13	65.0	+++	-
25	20	50	1(35)	62	7	0	7	35.0	+++	-
26	20	50	1(35)	62	3	0	3	15.0	+	-

* Number of worms recovered/number of metacercariae given.

+ : Slight changes. ++ : Middle changes. +++ : Serious changes.

- : No apparent toxic effect were observed.

13, 14匹をみとめ, 平均検出率は60.0%であった。また300mg/kgを感染14, 21日に2回投与した5頭のうち2頭は, 3, 8匹の虫体を検出し, 検出率は15.0%と40.0%であった。しかし, 他の3頭では虫体はみとめられなかった。300mg/kgを感染14, 21, 28日に3回投与した3頭, 感染21, 28日の2回投与した2頭および35日に1回投与した5頭のいずれにも肝蛭は棲息していなかった。

本剤100mg/kgを感染28日に1回投与した家兎2頭の検出虫体は, 10, 11匹であり, 検出率は50.0%および55.0%であった。また, 同量を感染35日に1回投与した2頭でも1, 7匹の虫体を検出し, 検出率は5.0%および35.0%であった。50mg/kgを感染28日および35日を経過した各2頭に投与したが, 肝蛭はいずれの家兎にも棲息していた。すなわち, 28日投与例では, 7, 13匹, 検出

率35.0%および65.0%であり, 35日投与したものでも3, 7匹の虫体をみとめ, 検出率は15.0%および35.0%であった (Table 1)。

2. Bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide と diethylcarbamazine の混合剤による幼肝蛭殺滅試験

混合剤300mg/kgを家兎6頭, 100mg/kgおよび50mg/kgをそれぞれ4頭, 計14頭に投薬した。300mg/kgを感染14, 21日および21, 28日に2回投与した各2頭, 感染35日に1回投与した2頭では, 肝蛭はまったく検出されなかった。

感染28日および35日を経過した家兎4頭に100mg/kg1回ずつ投与したところ, 28日投与例のうち1頭では虫体はみとめられなかったが, 他の3頭において2, 9, 9匹が棲息しており, 検出率100%または45.0%であった。また, 50mg/kgを感染28日および35日に1回ずつ

Table 2 Anthelmintic effect of a mixture of bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide and diethylcarbamazine against immature flukes of *Fasciola* sp. in rabbits

Rabbit number	No. of metacercariae given	Dose rate mg/kg	No. of administration (Days from infection to admin.)	Days to autopsy from infection	Number of worms recovered				Pathological changes of the liver	Side effect
					Survived	Dead	Total	Survival* rate		
1	20	300	2(14, 21)	62	0	0	0	0	+	-
2	20	300	2(14, 21)	62	0	0	0	0	+	-
3	20	300	2(21, 28)	62	0	0	0	0	+	-
4	20	300	2(21, 28)	62	0	0	0	0	+	-
5	20	300	1(35)	63	0	0	0	0	+	-
6	20	300	1(35)	63	0	0	0	0	+	-
7	20	100	1(28)	62	0	0	0	0	++	-
8	20	100	1(28)	62	9	0	9	45.0	###	-
9	20	100	1(35)	62	2	0	2	10.0	###	-
10	20	100	1(35)	62	9	0	9	45.0	###	-
11	20	50	1(28)	57	7	0	7	35.0	++	-
12	20	50	1(28)	63	9	0	9	45.0	###	-
13	20	50	1(35)	63	12	0	12	60.0	###	-
14	20	50	1(35)	63	3	0	3	15.0	###	-

* Number of worms recovered/number of metacercariae given.

+ : Slight changes. ++ : Middle changes. ### Serious changes.

- : No apparent toxic effects were observed.

Table 3 Infection rate of *Fasciola* sp. in rabbits (Untreated control)

Rabbit number	No. of metacercariae given	Days to autopsy from infection	No. of worms recovered	Infection* rate	Mean infection rate	Pathological changes of the liver
1	20	72	17	85.0		++
2	20	72	20	100	83.8	###
3	20	72	16	80.0		###
4	20	57	14	70.0		###

* Number of worms recovered/number of metacercariae given.

++ : Middle changes. ### : Serious changes.

各2頭に投与したが、いずれの家兔にも肝蛭をみとめた。すなわち、28日投与例では7、9匹の虫体を検出し、検出率35.0%および45.0%であった。また、35日投与例でも3、12匹が棲息しており、検出率は15.0%および60.0%であった (Table 2)。

なお、対照例4頭における虫体検出数は、それぞれ14、16、17および20匹であり、検出率は70~100%、平均83.8%であった (Table 3)。

3. 肝病変

I-129 および混合剤を投与した家兔を、感染54~81日に剖検し、肝病変を肉眼的に観察した。肝蛭の検出されなかった20頭の家兔の肝病変は、肝表面に灰白色または黄白色の針頭大ないし米粒大の癒痕あるいは線状の癒

痕形成がみられ、さらに肝表面の不整を呈しているものもあつた。しかし、肝蛭感染の肝に通常みられる出血、組織破壊および虫道などはみとめられなかつた。また、肝蛭を検出した肝では、寄生虫体数によって病変の程度はかなり異なつていたが、一般に肝包膜は肥厚し、肝表面には癒痕および結節が形成されており、ときには出血巣もみとめられた。肝実質においても出血および組織破壊がみとめられ、さらに胆管壁の肥厚と胆管周囲の結合組織の増殖が観察された。

4. 副作用

I-129 および混合剤を投与した家兔について、投薬後3~7日間にわたつて観察したが、元気喪失、食欲不振、糞便などの異常はみとめられなかつた。

考 察

今日、わが国で肝蛭の駆虫薬として使用されているものに bromosalicylanilide 製剤および diphenyl sulfide 系化合物の製剤があり、いずれも優れた駆虫効果を示すものといわれている。また、諸外国においても前記製剤のほか carbon tetrachloride, hexachloroethane, oxclozanide など多くの薬剤によつて駆虫がおこなわれている。しかし、これら駆虫剤の成虫殺滅有効量では幼肝蛭を駆除することはできない。

肝蛭感染による病状は感染動物の種類、肝蛭寄生数、感染経過日数などによつて多様にあらわれるが、本症は慢性に経過するという概念から、感染初期の病害が看過されやすい。大・中動物においては、幼肝蛭が肝実質に棲息する期間は感染後10～20日より40～60日までといわれ、この間、幼肝蛭によつて肝実質の破壊、出血などの病変がみられる。また、臨床症状も食欲不振、元気喪失、体重の減少、肝圧痛、軟便または下痢をきたし、さらに血液変化などもみとめられ、いかに幼肝蛭の宿主にあたる影響の大きいか肝病変あるいは臨床症状からも推察できる。今後の肝蛭駆虫剤の開発にあつては、とくに幼肝蛭の殺滅を考慮しなければならないものと考ええる。

私どもは I-129 または bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide と diethylcarbamazine の混合剤をその投与量と投与時期の各種組合せ条件のもとに肝蛭感染家兎に投与し、幼肝蛭に対する殺滅効果を検討した。その結果、I-129 および混合剤の300mg/kg を感染21日と28日の2回投薬あるいは感染28日または35日1回投薬することによつて、幼肝蛭を完全殺滅できることが明らかとなつた。なお、50, 100mg/kg の投薬でも、対照例の虫体検出率83.8%と比較すれば、かなり幼肝蛭を殺滅しえたといえる。

上野ら(1959)は肝蛭メタセルカリア50コずつを家兎に感染させ、感染後30日を経過した4頭に bithionol を100mg/kg および 200mg/kg を各2頭に投薬したが、剖検あるいは虫卵検査の成績より、本剤は肝蛭幼虫にたいして駆虫の効力はないとのべている。また同氏ら(1960)は、肝蛭自然感染牛6頭で、感染後およそ40～50日を経過したと推定される肝蛭幼若虫を、bithionol 40mg/kg で少数が、55 mg/kg でやく1/3が殺滅できたとし、投薬量の増加によつて成熟・幼若肝蛭を殺滅できると報告している。

Samson *et al.* (1969) は肝蛭感染羊に8種の駆虫剤

を投薬して、肝蛭成虫および幼虫にたいする駆虫効果を検査している。これらのうち sulfoxide of bithionol 200mg/kg, menichlopholan 10 mg/kg, clioxanide 40 mg/kg では、感染6週以降の虫体には99～100%の駆虫効果があり、さらに bithionol 230mg/kg および sodium cinnamate 210mg/kg を投与したが、成虫は殺滅できても幼虫にたいしてはわずかに効果を示したにすぎなかつたとのべている。

Broome and Jones (1966) も各種薬剤を用いて成・幼虫の駆虫について検討している。すなわち、肝蛭成虫はラットで感染後12週を経過したもの、幼虫はマウスで感染後3週を経過して肝実質に棲息しているものと想定し、それぞれマウス・ラットに投薬したが、成虫には優れた駆虫効果を示したが、幼虫にたいする効果はきわめて低かつたことをみとめている。また、成・幼虫の殺滅効果の差異の原因をつぎのように考察している。その1は、投与薬剤の有効成分は胆管内において活性化され、しかも胆管に棲息する肝蛭成虫の周囲に選択的に濃縮する。その2は、有効成分は血液ならびに血清とくにそれらのタンパク質によつて阻害される結果、肝実質に棲息する幼肝蛭にたいする殺滅効力は微弱となる。しかし、幼肝蛭の薬剤にたいする抵抗性については、殺滅機構の解明にあつてきわめて重要であるが、その詳細は不明であるとのべている。

幼肝蛭殺滅試験の実施にあたり、もつとも考慮しなければならないのは、肝蛭感染後どの時期の幼虫期を対象としたかということである。多くの報告に「immature fluke」と記載されてはいるが、感染直後のものから成虫に近い幼虫までかなりその治療時期には差異がある。

Dawes (1961) はマウスでの肝蛭感染実験で、メタセルカリア投与後48時間には肝表面に、24日には胆管にそれぞれ幼肝蛭をみとめている。また Thorpe (1965) はラットで、Urquhart (1954) は家兎で、Kendall (1962) は山羊において同様のことを検討し、それぞれ感染後28日、45日、40日を経過すれば、肝実質中の幼肝蛭は細胆管に移行することをみとめている。このように幼虫から成虫に発育する時期は動物によつてことなるが、幼肝蛭の末期の虫体が宿主にあたる病害はきわめて大きく、この時期の幼肝蛭を殺滅しても、その後の病変をいちじるしく軽減することはむずかしい。したがつて、幼肝蛭の駆除にあつては、できる限り感染直後の虫体を殺滅することがのぞまれる。本実験においては感染14, 21, 28日および35日に1回または2・3回の重複投薬をおこなつたが、その幼虫殺滅効果は概して感染経過日数にと

もなつて増加する傾向を示した。

Boray *et al.* (1967) および Boray and Happich (1968) は, carbon tetrachloride, hexachloroethane, 1,4-bis trichloromethylbenzene, hexachlorophene, hexachlorophene monophosphate, 2,2'-dihydroxy-3,3'-dinitro-5,5'-dichlorodiphenyl, 2,2'-dihydroxy-3, 3'-5, 5'-6 pentachloro-2,2'-dihydroxybenzanilide, 2,6-diiodo-4-nitrophenol, equal mixture of 3,5-dibromosalicylic acid-4'-bromanilid and 5-bromosalicylic acide-4-bromanilid の幼肝蛭にたいする殺滅効果を検討し, 投薬量と経過日数の増加するほど効果がみられるとのべている。さらに 同薬剤の投薬にさいして「safety index」をつくり, 殺滅効果と副作用を検討した結果, 実際面における幼肝蛭殺滅には十分な期待はできないと報告している。

I-129 および混合剤の投与による 副作用は, 最大投薬量 300mg/kg でも異常はみとめられなかつた。

結 語

私どもは, 肝蛭感染家兎44頭を用い, 感染14, 21, 28日および35日に1回または2・3回にわたり, I-129 および bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide と diethylcarbamazine の混合剤を投薬して感染幼肝蛭殺滅試験をおこない, つぎのような結果をえた。

1. I-129 300mg/kg を感染21日と28日の2回, 14, 21日および28日の3回, 35日1回投薬することによつて, 幼肝蛭を完全に殺滅できる。また, 感染14日と21日の2回投薬でもかなりの殺滅効果がみとめられたが, 感染14日1回投薬では駆除できなかつた。

2. 混合剤 300mg/kg を感染14日と21日および21日と28日の2回投薬, 感染35日1回投薬では幼肝蛭を殺滅できる。

3. 両剤の50mg/kg および 100mg/kg を感染28日および35日1回投薬でも, かなりの幼肝蛭殺滅効果がみられる。また, 感染経過日数の増加にともなつて検出虫体数は減少の傾向を示した。

4. 両剤50, 100mg/kg および 300mg/kg の1~3回投薬のいずれにおいても, 副作用はまったくみられなかつた。

本研究の要旨は昭和43年4月8日の第65回日本獣医学会において発表した。

文 献

- 1) Boray, J. C., Happich, F. A. and Andrews, J. C. (1967) : Comparative chemotherapeutical test in sheep infected with immature and mature *Fasciola hepatica*. *Vet. Rec.*, 80, 218-224.
- 2) Boray, J. C. and Happich, F. A. (1968) : Standardised chemotherapeutical test immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep. *Aust. vet. J.*, 44, 72-78.
- 3) Broome, A. W. and Jones, W. G. M. (1966) : A new drug for the treatment of fascioliasis in sheep and cattle. *Nature (Lond.)*, 210, 744-745.
- 4) Dawes, B. (1961) : On the early stage of *Fasciola hepatica* penetrating into the liver of an experimental host, the mouse. A histological picture. *J. Helminth.*, R. T. Leiper Supplement, 41-52.
- 5) Kendall, S. B. and Parfitt, J. W. (1962) : The chemotherapy of fascioliasis. *Brit. vet. J.*, 118, 1-10.
- 5) 小野豊・木村重 (1968) : 肝蛭幼虫に対する I-129. [bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide diethylcarbamazine] の駆虫効果. *日本獣医誌*, 30(学会号), 81.
- 7) Samson, K. S., Wilson, G. I. and Allen, R. W. (1969) : Sheep liver fluke anthelmintics : Preliminary experiments with eight compounds against mature and immature *Fasciola hepatica*. *Amer. J. vet. Res.*, 30, 807-810.
- 8) Thorpe, E. (1965) : The pathology of experimental fascioliasis in the albino rat. *J. com. Path.*, 75, 39-44.
- 9) 上野計・渡辺昇蔵・藤田潯吉 (1959) : 肝蛭駆虫薬に関する研究 I. diphenyl methane および diphenyl sulfide の塩化物による家兎, 緬羊肝蛭の駆虫試験. *日本獣医会誌*, 12, 297-301.
- 10) 上野計・渡辺昇蔵・藤田潯吉 (1960) : 肝蛭駆虫薬に関する研究 II. bithionol による牛肝蛭の駆虫効果について. *日本獣医会誌*, 13, 151-155.
- 11) Urquhart, G. M. (1954) : The rabbit as host in experimental fascioliasis. *Exp. Parasit.*, 3, 38-44.

Abstract

STUDIES ON THE TREATMENT OF FASCIOLIASIS
VIII. ANTHELMINTIC EFFECT OF I-129 ON IMMATURE STAGE OF
FASCIOLA SP. IN RABBITS

SHIGE KIMURA AND YUTAKA ONO

(*Department of Animal Hygiene, Faculty of Agriculture, Kobe University, Kobe, Japan*)

A number of drugs have already been made available for the treatment of liver fluke disease in animals. These drugs at their recommended dose levels generally have a good action against the adult fluke, but little or no effect against immature flukes. For many years hexachloroethane and bithionol have been used most commonly for the control of fascioliasis due to *Fasciola* sp. Even these drugs are not always fully effective. They have occasionally produced severe toxic symptoms or caused death.

The present experiment was performed to determine the anthelmintic effects of I-129 [bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide, diethylcarbamazine] and a mixture of 67% of bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide and 33% of diethylcarbamazine against immature flukes of *Fasciola* sp., using 44 rabbits. The results obtained are summarized as follows.

1. Twenty-six rabbits were infected experimentally with liver flukes, and given a various doses of 50 to 300 mg/kg of I-129. Autopsy was performed on each of them some time between 54 and 81 days after infection. The drugs were given orally to rabbits in gelatine capsules. A dose rate of 300 mg/kg was fairly effective (87 to 100%) against immature flukes three to five weeks of age, and a dose rate of 50 to 100 mg/kg slightly effective (37 to 77%) against immature flukes four to five weeks of age. A single dose of 300 mg/kg, however, showed no satisfactory effect (29%) against immature flukes at two weeks of age.

2. Fourteen rabbits were infected experimentally with liver flukes and administered with a dose of 50 to 300 mg/kg of a mixture of bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide and diethylcarbamazine. A dose rate of 300 mg/kg was highly effective (100%) against immature flukes at three to five weeks of age. The mixture of drugs was slightly effective (52 to 73%) against immature flukes four to five weeks of age at a single dose of 50 to 100 mg/kg.

3. None of the treated rabbits manifested any clinical sign of intoxication following administration with 50 to 300 mg/kg of the mixture of two drugs.

4. The two drugs showed a progressive increase in efficacy with an increase in the dose rate and the time interval between infection and treatment. They were highly effective against immature flukes at three to five weeks of age when they were sufficiently large in dose.