

## マウス皮下における小形条虫幼虫の発育と虫卵感染

## マウスにおけるその発育阻止

古川 忠明

昭和大学医学部医動物学教室

(昭和46年5月24日 受領)

## 緒言

小形条虫はヒトおよびネズミ類を終宿主とし、その感染経路には、虫卵の経口摂取による直接的な感染経路と、多くの昆虫類を介して発育する cysticeroid 幼虫の経口摂取による間接的なものがある。直接的感染の場合、宿主に摂取された虫卵は小腸内で孵化し、遊離した六鉤幼虫が宿主の腸絨毛内に侵入して cysticeroid となる、いわゆる tissue phase を経て、再び腸腔内に遊出して成条虫となる。また間接的な感染経路をとつて、宿主に摂取された幼虫は tissue phase を経ずに成条虫に発育することができる。小形条虫はこのように終宿主に対して二通りの感染様式を有する点で、条虫類の中でも特異的な種類である。これに加えて、終宿主の一種マウスについて明らかにされたところによると、感染様式によつて宿主の免疫反応が異なり、虫卵による初感染を受けたマウスは、同じく虫卵による経口の再感染に対して absolute immunity と称されるほどの極めて強い抵抗力を獲得する反面、cysticeroid による初感染を受けたマウスではこのような抵抗力の発現がみられない。このことから、寄生蠕虫類に対する宿主の防御的免疫反応に関する研究において、小形条虫は好適な材料のひとつとして注目されている。

すでに Hunninen (1935), Hearin (1941), Heyneman (1962, 1963) らによつて明らかにされたように、マウスはわずか100個程度の虫卵の経口感染を受けることによつて、12~48時間後には再感染に対する防御能を獲得することができる。このように、虫卵の経口感染によつて、急速に発現する、極めて効果的な獲得性免疫の成立機構については、従来、幼虫が宿主の腸管組織内に侵入して、ある期間その部位に停留する際に、宿主の細

胞と接触することによつて、局所的な特異抗体の産生と集積が行なわれるという、いわゆる局所免疫の概念が提唱されてきた (Heyneman, 1962; Weinmann, 1966; Larsh, 1967; Di Conza, 1969)。また防御的免疫反応の担体として液性抗体の作用を重視する報告 (Larsh, 1942, 1943; Di Conza, 1969) と、細胞性抗体の存在を示唆する報告 (Weinmann 1968; Okamoto, 1968, 1970) がみられる。しかし受動免疫実験の結果、抗血清 (Weinmann, 1966) または感作脾細胞 (Friedberg *et al.*, 1967) を用いて受動免疫を行なつたマウスは、虫卵の経口的初感染によつて発現するような完全な再感染防御能を獲得できないことが示されているため、液性あるいは細胞性抗体の役割については明確な結論が得られていないのが現状であると判断される。

上記の一連の研究は、虫卵を経口感染した場合に限つて誘発される宿主の免疫反応を中心に検討されたものであつた。本条虫の獲得性免疫にみられる特異的な現象および宿主の腸管における局所的免疫反応の問題も、このような実験結果を背景として考察されてきた。ところが最近になつて、卵殻を除去した小形条虫卵を、マウスをはじめ数種の脊椎動物の皮下または筋肉内に注射すると、注射部位の組織内で孵化し、cysticeroid に発育することが明らかにされた (Di Conza, 1968; Weinmann, 1969)。その結果、宿主の腸管を経過せずにその体内で発育する幼虫と、宿主の感染防御能との関係について興味ある問題が提起されるに至つた。著者はマウスの皮下に注入した脱殻卵について、その発育状態、宿主の組織反応および宿主の免疫状態との関係を検討するとともに、これらの結果を経口感染の場合と比較することによつて、小形条虫免疫を新たな側面から検討することを目的として一連の実験を行なつた。ここに報告する実

験は、未感染マウスおよび虫卵または cysticeroid を経口感染したマウスの皮下における幼虫の発育を比較検討したものである。なお、未感染および虫卵感染マウスの皮下における幼虫の発育と宿主の組織反応については Di Conza (1968, 1970) の報告があるが、今回の実験において著者は若干異なつた興味ある結果を得たので報告する。

#### 実験材料および方法

宿主：継代繁殖した生後4～6週の Swiss 系マウスを用いた。これらのマウスは、週一回の検便を数週にわたつて行ない、小形条虫に感染していないことが確認されたものである。

虫卵：実験に際してその都度マウスから得た成条虫の受胎節から採取し、Berntzen and Voge (1965) の方法により卵殻を除去した。皮下注射に用いた虫卵は、あらかじめ penicillin, 100u/mg および streptomycin, 100  $\mu$ g/ml を含む滅菌生理食塩水でくりかえし洗浄した後卵殻を除去し、以後の操作を無菌的に行なつた。

Cysticeroid：古川 (1970) の方法によつて実験的に感染を行なつた チャパネゴキブリから得たものを用いた。すなわち、チャパネゴキブリの腹腔内へ約500個の脱殻卵を注射し、30°C で飼育した。7日後に生理食塩水中で開腹して、腹腔内に寄生する cysticeroid を採集し、ただちに感染を行なつた。

投与方法：虫卵または cysticeroid をマウスに経口感染する場合は、針先を鈍磨した ツベルクリン注射筒を用いて、所定の数を0.1ml の生理食塩水とともにマウスの胃内へ直接投与した。投与数は虫卵の場合はすべて1個体あたり2,000個とし、cysticeroid の場合は1個体あたり300個とした。マウスに脱殻卵を皮下注射する場合は、ツベルクリン注射筒を用いて、所定の数を0.1ml の生理食塩水とともにマウスの背部皮下へ注入した。

剖検と観察：虫卵の経口投与による感染率は、4～6

匹のマウスを対照群として実験群と同時に感染を行ない、感染4日後に剖検してHunninen (1935) の方法によつて腸絨毛内の幼虫を算定するか、または剖検時に検出された成条虫数によつて決定した。Cysticeroid の経口投与による感染率はすべて剖検時に検出された成条虫数によつて決定した。マウスの皮下における幼虫の発育の観察はつぎのように行なつた。脱殻卵を皮下注射後5日目にマウスを屠殺した。つぎに背部の皮膚を注意して剝離し、虫卵を注入した部位に形成された、やや白色を帯びた肥厚部分を付近の皮下組織とともに削出した。これをスライドガラス上で細片とし、カバーガラスで軽く圧平して検鏡した。また一部の組織は10%ホルマリンで固定して連続切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施して検鏡した。幼虫を検出した場合は、その発育程度を Voge and Heyneman (1957) の記載にしたがつて5段階にわけて記録した。各発育段階の幼虫の形態は、Stage I：六鉤幼虫形、Stage II：中腔を有する楕円または長紡錘形、Stage III：頭節原基および中腔状囊体部形成、Stage IV：頭節を囊体部に嵌入し、鉤および吸盤が未成熟の幼若擬囊尾虫、Stage V：成熟擬囊尾虫である。

#### 実験結果

実験1 未感染マウスの皮下における幼虫の発育

10匹の未感染マウスを用いて、1個体あたり2,000個の脱殻卵を皮下注射し、5日後に剖検した。結果は Table 1 に示した。皮下組織より検出した幼虫は1個体あたり204～752個、平均404.6個であつた。これらの幼虫をその発育程度によつて分けると、Stage I のものは全く見出されず、Stage II のものは全体の5.4%、Stage III のもの37.4%、Stage IV のもの37.4%およびStage V のもの19.8%であつた。幼虫は脱殻卵を注入した皮下組織内に限局して見出された (Photo. 1)。組織切片でみると、付近の皮下組織は好中球および繊維芽細胞などの浸潤が

Table 1 Development of *H. nana* cysticeroids in the subcutaneous tissue of uninfected mice

No. mice examined	No. cysticeroids recovered (%)					Total	Mean No. larvae per mouse	Range of worm loads
	Developmental stages							
	I	II	III	IV	V			
10	0 (0.0)	217 (5.4)	1,514 (37.4)	1,512 (37.4)	803 (19.8)	4,046	404.6(55.6)*	204～752

Each of the mice was given an injection of 2,000 shell-removed eggs and autopsied 5 days later.

\* Standard error of the mean.

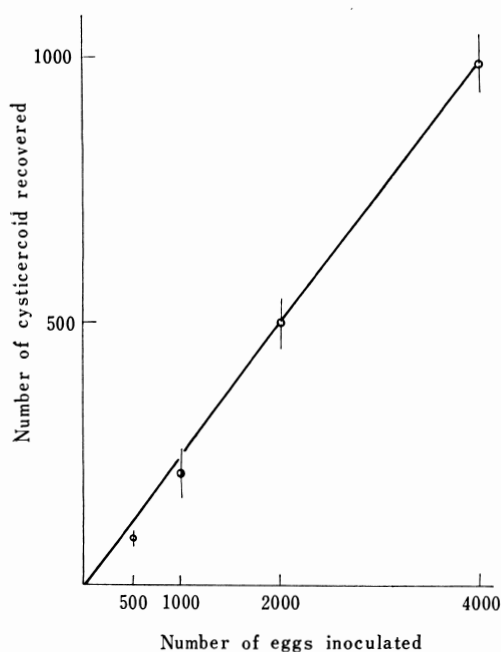


Fig. 1 Number of *H. nana* cysticercoids recovered from uninfected mice following subcutaneous injection with various number of shell-removed eggs. Each point indicates the mean number of larvae recovered from 6 mice and standard error of the mean.

著明で水腫状を呈し、また幼虫に接して多数の好中球、リンパ球、組織球、繊維芽細胞などの炎症性細胞浸潤が認められた (Photo. 2).

つぎに皮下投与虫卵数と發育幼虫数の関係を知るために、500, 1,000, 2,000, 4,000個の脱殻卵をそれぞれ6匹のマウスに皮下注射し、5日後に發育幼虫を算定した。その結果、それぞれの投与数に対して、平均發育幼虫数は91.6(18.3%), 213.1(21.3%), 491.7(24.6%), 988.8(24.7%)であつた。すなわち Fig. 1に示したように、投与虫卵数の増加に伴つて發育幼虫数がほぼ直線的に増加することがわかつた。比較のために15匹の未感染マウスに1個体あたり2,000個の脱殻卵を経口投与し、4日後に腸絨毛を検索したところ、平均585.6個の幼虫を検出した。平均値によつて、投与虫卵数2,000個に対する發育幼虫数の比率をみると、皮下投与の場合の24.6%に対して経口投与の場合は29.3%であつた。

脱殻卵を皮下注射したマウスを10週に至るまで飼育し、その間数匹ずつ剖検して幼虫の状態を観察した。その結果、3週目までは幼虫の形態のまま生存するが、その後は發育せずに死滅することがわかつた。Photo. 3に示したように、皮下注射後3週目では宿主の炎症性反応は軽度となり、幼虫は若干の炎症性浸潤細胞を伴う結合組織性の小嚢胞に被覆されていた。

実験2 虫卵を経口感染したマウスの皮下における幼虫の發育

マウス1個体あたり2,000個の脱殻卵を経口投与し、つぎにこれらを5群にわけて、経口感染後3日目(第1群)、5日目(第2群)、7日目(第3群)、14日目(第4群)、21日目(第5群)にそれぞれ2,000個の脱殻卵を皮下注射した。対照群として10匹の未感染マウスを用い、同数の脱殻卵を皮下注射した。結果は Table 2に示した。

Table 2 Development of *H. nana* cysticercoids in the subcutaneous tissue of mice which had been subjected to oral infection with 2,000 shell-removed eggs

Group	Intervals between oral infection and challenge (days)	Mean No. larvae or adults from oral infection*	No. mice with subcut. larvae		Mean No. cysticercoids recovered	Range of worm loads
				No. mice examined (% positive)		
1	3	757.3	17/17 (100.0)		510.6(63.0)**	273~951
2	5	647.7	10/21 (47.6)		25.4(14.7)	0~290
3	7	806.6	8/17 (47.1)		69.3(30.0)	0~453
4	14	400.6	17/25 (68.0)		94.8(21.2)	0~334
5	21	495.3	0/12 (0.0)		0.0(0.0)	0~0
Control	—	0.0	10/10 (100.0)		468.2(40.1)	312~672

\* In Group 1 and 2, four to 6 mice randomly chosen from each group were examined for intestinal cysticercoids 4 days after the oral infection, and in Group 3, 4 and 5, number of adult worms was determined at autopsy.

\*\* Standard error of the mean.

Table 3 Development of *H. nana* cysticeroids in the subcutaneous tissue of mice which had been subjected to oral infection with 300 cysticeroids

Group	Intervals between oral infection and challenge (days)	Mean No. adults from oral infection*	No. mice with subcut. larvae		Mean No. cysticeroids recovered	Range of worm loads
			No. mice examined (% positive)			
1	7	198.3	12/12(100.0)		520.3(56.1)**	233~779
2	14	243.0	12/12(100.0)		426.3(71.5)	18~857
3	21	75.1	0/12( 0.0)		0.0( 0.0)	0~0
Control	—	0.0	12/12(100.0)		527.8(41.1)	382~672

\* Number of adult worms was determined at autopsy. In Group 2 and 3, all of mice yielded a massive small worms simultaneously with adult worms indicated above, suggesting that these mice underwent a reinfection (autoinfection).

\*\* Standard error of the mean.

虫卵の経口投与による感染状態は、第1群および第2群では同時に経口感染を行なったマウスから幼虫を検出することによつて、また第3~第5群では実験群の剖検時に成条虫を検出することによつて判定し、表に示したように、全部のマウスに虫卵による経口感染が成立したことを確認した。

未感染マウスの皮下における発育幼虫数は平均489.6個であつた。第1群では17匹のマウスを検索し、すべてのマウス皮下より平均510.4個の幼虫を検出した。発育幼虫数および幼虫の発育程度は対照群と比較して差が認められなかつた。第2群では21匹のマウスのうち10匹の皮下より1~290個の幼虫を検出した。このうち対照群と同様に発育している幼虫を検出したマウス1匹、Stage III-IVの幼虫を検出したもの2匹、Stage IIIの幼虫のみ検出したもの7匹であつた。また11匹のマウスの皮下からは幼虫を検出することができなかつた。第3群では17匹のマウスを剖検し、このうち8匹の皮下より14~453個の幼虫を検出した。幼虫の発育程度は対照と同様であつて、各マウスより Stage II-Vの幼虫を検出した。しかし他の9匹は幼虫数0であつた。第4群では25匹のうち17匹のマウス皮下より2~334個の幼虫を検出した。このうち11匹より Stage II-V、6匹より、Stage IIIの幼虫を検出した。他の8匹は幼虫数0であつた。第5群では12匹のマウスの皮下を検索したが、いずれも発育幼虫を認めることができなかった。

各群より数例をえらび、虫卵注入部位の組織の染色標本を作製して宿主の組織反応を観察したところ、未感染マウスの場合(実験1)と同様に皮下組織は水腫性で、幼虫を中心に好中球、リンパ球、組織球、繊維芽細胞などの浸潤による膿瘍を形成していた(Photo. 4, 5)。

また Photo. 6 に示したように、炎症性の結節の中心部に幼虫が認められない場合が多く、このような例では幼虫はほとんど発育することなく死滅したものと思われた。

実験3 Cysticeroid を経口感染したマウスの皮下における幼虫の発育

マウス1個体あたり300個の cysticeroid を経口投与し、つぎにこれらを3群にわけて経口感染後7日目(第1群)、14日目(第2群)、21日目(第3群)にそれぞれ2,000個の脱殻卵を皮下注射した。12匹の未感染マウスを対照群とし、同数の脱殻卵を皮下注射した。結果は Table 3 に示した。

Cysticeroid の経口投与に由来する成条虫の平均感染数は、第1群198.3条、第2群243.0条、第3群75.1条であつた。しかし第2群および第3群では、これらと同時に明らかに感染時期が異なると思われる体長3mm以下の虫体が無数に寄生しており、いわゆる自家感染が起つたことが推察された。

対照群のマウス皮下より平均527.8個の幼虫を検出した。第1群では12匹のマウスを検索し、すべてのマウス皮下より平均520.4個の幼虫を検出した。検出幼虫数およびこれらの発育状態は対照群と比較して差が認められなかつた。第2群では12匹のうち10匹のマウス皮下より292~857個の幼虫を検出し、対照群との差は認められなかつた。しかし他の2匹からは18および21個の幼虫を検出したにすぎず、これらはすべて Stage III であつた。第3群では、12匹のマウスを剖検したが、皮下における発育幼虫を認めることができなかった。各群のマウス皮下における組織反応は、実験1および2と同様であつた。

## 考 察

小形条虫は非常に多種類の昆虫を中間宿主として cysticeroid 幼虫に発育しうるとともに、終宿主の腸絨毛内においても同様の発育を示す。Di Conza (1968) は、本条虫の脱殻卵がマウスの皮下または筋肉内で cysticeroid に発育することを見出し、さらに Weinmann (1969) はカナリヤ、トカゲなどの皮下でも幼虫の発育がみられることを報告した。また Berntzen (1967) は生体外において、ラットの fibroblast の共存下に本条虫の六鉤幼虫を成熟 cysticeroid にまで生育させることに成功した。これらの報告によつて、小形条虫の cysticeroid はかなり広範囲の環境下で生育しうることが窺える。著者は実験1において、未感染マウスの皮下に注入した脱殻卵のうち約25%が cysticeroid に発育することを確認した。Di Conza (1968) は同様の実験を行ない、投与虫卵数2,100~2,600に対して、発育幼虫数はその2.3~4.1%という結果を報告した。これに比べて今回の実験でははるかに良好な結果を得ることができた。しかも同数の虫卵を経口投与した場合の感染幼虫数と比較して大差のない結果であつた。したがつて、発育幼虫数に関する限り、宿主の腸絨毛内あるいは皮下のいずれの部位でも差がないものと思われる。しかしマウスの皮下における幼虫の発育は一樣ではなく、皮下注射後5日を経過してもなお Stage IIあるいはIIIの幼若虫体が多数検出された。これは皮下に注入された虫卵が密集して発育するために、孵化条件や栄養環境が均等ではないことがひとつの原因ではないかと思われる。またマウス皮下における幼虫の生存期間は3週間前後であつて、この間に幼虫は結合組織性の嚢胞に被囊されるが、その後は発育せずに死滅することがわかつた。岡本ら(未発表)は免疫機構が未熟な生後1週以内のマウスに本条虫卵を経口感染したところ、一部の幼虫は2週後もなお幼虫の形態のまま腸絨毛内に停留することを見出した。このように何らかの原因で腸腔内に遊出できなかった幼虫は、成条虫にはならず腸絨毛内で死滅するものと考えられ、マウスの皮下における観察結果も類似の現象を示しているものと思われる。

小形条虫の獲得性免疫に関する現象面の解析についてはすでに多くの成果がみられる。これらを総括するものとして Heyneman (1962) は、虫卵または cysticeroid を経口感染したマウスに対して、同じく虫卵または cysticeroid を経口的に再感染する4群の組合せ実

験を行ない次の結果を報告した。まず虫卵による初感染を行なつたマウスでは、虫卵の経口的再感染を完全に拒絶し、cysticeroid の再感染に対しても若干の影響を与える。これに対して cysticeroid による初感染を行なつたマウスでは、自家感染が起こらないかぎり、虫卵あるいは cysticeroid の再感染に何らの影響も与えないという。このような特異性を示す宿主の免疫反応が、その皮下における幼虫の発育にどのような影響を及ぼすかは興味深い問題である。そこで実験2および3に示したように、虫卵または cysticeroid による経口的初感染を行なつたマウスに脱殻卵を皮下注射して、その発育を観察した。まず虫卵を感染したマウスでは、感染5日目以後に皮下注射を行なつた場合に発育幼虫数の急激な減少がみられ、約半数のマウスからは幼虫を検出できなかった。また感染21日目に至ると幼虫の発育が完全に阻止されることがわかつた。つぎに cysticeroid を経口感染したマウスでは、感染14日目でも幼虫の発育に対する影響は軽微で、わずか2例のマウスにおいて幼虫数の著しい減少がみられたにすぎない。またこの2例および感染21日目のマウスから幼虫を検出できなかったことについては、いわゆる自家感染の影響が考えられる。本条虫の cysticeroid を経口感染したマウスでは、初感染に由来する成条虫が産下した虫卵による再感染(自家感染)が可能である(Heyneman, 1962)。今回の実験では自家感染を防ぐ手段を何ら講じなかつたために、初感染14日以後のマウス全例に、無数の幼若な虫体の寄生が認められた。したがつて、cysticeroid 感染マウスの皮下における幼虫の発育阻止は、虫卵による再感染の影響であり、実験2において観察されたものと同様の現象であろうと考えられる。以上の結果から、虫卵を経口感染したマウスでは、皮下における幼虫の発育が阻止されるが、cysticeroid を経口感染したマウスでは自家感染が起らないかぎり、このような効果は発現しないものと思われる。すなわち虫卵感染マウスは、虫卵の経口的再感染を拒絶するとともに、その皮下における幼虫の発育をも阻止するのであつて、先に述べた Heyneman (1962) の報告と併せ考えると、いずれの場合も虫卵の経口感染によつて誘発された獲得性免疫の効果であることが十分予想される。このことから、本条虫に対するマウスの獲得性免疫は全身的性質を示すものであることが推定される。しかし、この推定は必ずしも従来より提唱されてきた局所免疫の概念を否定するものではない。ここで虫卵を経口感染したマウスに対して、同じく虫卵を経口的に再感染した場合と、皮下注射した場合について、感染マ

ウスの防御効果を比較すると、明らかに差が認められる。まず感染マウスに対して経口的再感染を行なった場合をみると、初感染12時間後にはすでに10~15%のマウスが再感染を防御し、この防御率は24時間後には59%、48時間後には90%以上となることが知られており (Heyneman, 1963), 7日以上経過すれば再感染率は2%以下になるといわれている (Weinmann and Rothman, 1967)。またこの場合は再感染に由来する寄生幼虫数が漸減するのではなく、一旦免疫が成立したマウスでは再感染が全く起らないという極めて明確な現象であることが多くの研究者によつて示されている。これに対して虫卵感染マウスの皮下において幼虫の発育阻害が発現するのは、感染5日目以後であった。また感染14日後でもなお半数以上のマウス皮下より正常に発育していると思われる幼虫を多数検出し、感染後21日を経過してはじめて幼虫の発育が完全に阻止された。なおこの点について Di Conza (1970) は、虫卵感染後3~63日目のマウスに脱殻卵を皮下注射したところ、感染3日目のマウスにおいてすでに幼虫数の減少がみられ、7日目以後では数例のマウスを除いて幼虫を検出できなかつたとしている。この結果は感染マウスの皮下における幼虫の発育阻止が、経口的再感染に対する防御能の発現と平行して起ることを示している。しかしここに報告した著者の実験によつて明らかなように、虫卵感染マウスの腸管における再感染防御能の発現と、同じく虫卵感染マウスの皮下における幼虫の発育阻止効果の発現との間には時間的一致はみられなかつた。以上の点を総括すると、虫卵を経口感染したマウスの腸管における再感染防御能は、同じく虫卵を経口感染したマウスの皮下における幼虫の発育阻止効果に比較してはるかに早期にしかも極めて効果的に発現することが明らかである。この観点から感染マウスの腸管においては何らかの局所的要因が関与していることが窺える。

虫卵感染後のマウスの腸管と皮下における幼虫の発育に対する防御効果の差が何に由来するかは、小形条虫に対する防御の特異抗体の性質に関連する問題が含まれるように思われるが、この点については論議のあるところである。Larsh (1942, 1943) は感染マウスの血清中に沈降抗体を検出するとともに、マウスの子宮内および乳成分を通じて感染防御能が部分的に子供に伝達されることを示し、液性抗体の作用を認めている。また Di Conza (1969) は未感染マウスに脱殻卵を皮下注射し、同一部位に感染マウスから得た抗血清またはそのグロブリン分画を頻回注射して、幼虫の発育に対する影響を観察した

結果、感染7日目のマウスから得た抗血清の IgG 分画に幼虫の発育阻害効果があることを認め、14日および28日目の抗血清ではその効果が増強することを見出した。この結果は感染マウスの皮下における幼虫の発育阻害に関する彼自身の報告 (1970) とは発育阻止効果の発現時期の点で必ずしも合致せず、むしろ著者の実験結果との間に共通点を見出すことができる。しかし Di Conza (1968) が見出した抗血清の作用と感染マウスの再感染防御能との関係は明らかではない。しかも前に述べたように、感染マウスの腸管と皮下とでは、宿主の防御能の発現に差が認められることを考慮すると、幼虫の発育の場をマウスの皮下に求めた場合の実験結果によつて、小形条虫免疫を液性抗体の作用に帰するには、なお問題が残されているように思われる。また液性抗体に対して、いわゆる細胞性抗体の関与を示唆する報告も多い。Weinmann (1968) および Okamoto (1968, 1970) は、新生時に胸腺を摘出したマウスでは再感染が可能であることを示した。また Larsh (1967) は宿主の腸管はリンパ組織に富むので、幼虫の侵入に際して速やかな抗体産生が可能であると述べ、小形条虫免疫を遅延形過敏症 (delayed or cellular hypersensitivity) の範疇に加え得るとしている。緒言に述べたように、受動免疫が成功していないために、液性あるいは細胞性免疫のいずれがその役割を担うかは明らかではない。感染マウスの皮下における幼虫の発育阻止についても両者の作用を考慮して検討する必要があるように思われる。その場合、感染マウスの皮下における免疫反応が腸管における反応とは合致しない結果もありうることに注意すべきであろう。

組織学的観察の結果、マウス皮下に虫卵を注射すると局所的な炎症性細胞浸潤が起り、幼虫は次第に結合組織に被覆されることがわかつた。また未感染および感染マウスの皮下における虫卵注射後5日目の組織反応を比較したが、いずれも典型的な炎症性反応であつて、宿主の免疫状態との関連を示す結果は得られなかつた。Di Conza (1970) は、未感染マウスに比べて感染マウスでは細胞浸潤が早期に若干強く起り、結節の境界が明確であること、結合組織の増殖は著明ではなく、炎症の消失が早いことを指摘した。しかし Photo. 4 に示したように、虫卵感染マウスの皮下において未感染マウスの場合と同様の顕著な細胞浸潤が起るにもかかわらず成熟幼虫が検出されたことから考えて、幼虫の発育阻止に対して浸潤細胞は主要な役割を果してはいないものと考えられる。Bailey (1951) によると、マウスの腸絨毛内で発育する幼虫に対する組織反応は軽微で、感染72時間以後

に若干の好酸球およびリンパ球の浸潤が起るが、幼虫が結合組織によつて被覆されることはないという。この点はマウスの腸絨毛内と皮下における幼虫の発育を比較して最も大きな差異であつた。

### 要 約

小形条虫の再感染に対するマウスの獲得性免疫に関する研究の一環として、本条虫の脱殻卵を未感染および虫卵または cysticeroid を経口感染したマウスに皮下注射し、幼虫の発育と宿主の免疫との関係を検討し次の結果を得た。

1. 未感染マウスでは、皮下注射した虫卵の約25%が cysticeroid に発育し、経口感染における寄生幼虫数と大差なかつた。マウス皮下における発育は一樣ではなく、皮下注射5日目の観察では Stage II-Vの幼虫が検出された。幼虫は虫卵注入部位に限局して見出され、好中球、リンパ球、組織球、繊維芽細胞などの炎症性細胞浸潤が認められた。マウス皮下における幼虫の生存期間は3週間前後で、その後は発育せずに死滅した。

2. 虫卵を経口感染したマウスに脱殻卵を皮下注射した場合は、経口感染3日目のマウスでは幼虫の発育に対する影響は認められなかつたが、感染5日~14日目のマウスでは発育幼虫数が減少し、約半数のマウスからは幼虫を検出できなかつた。また感染21日目のマウスでは幼虫の発育が完全に阻止された。宿主の組織反応は未感染マウスの場合と同様の炎症性細胞浸潤が顕著であつた。

3. Cysticeroid を経口感染したマウスに脱殻卵を皮下注射した場合は、経口感染7日目までは幼虫の発育に対する影響は認められなかつた。感染14日以後では自家感染の影響によつて幼虫数の減少がみられ、感染21日後のマウスからは発育幼虫を検出できなかつた。

以上の結果から、虫卵を経口感染したマウスでは、その皮下における幼虫の発育が阻止されるが、cysticeroid を経口感染したマウスでは、自家感染が起らないかぎりこのような効果は発現しないことが明らかとなつた。

御指導と御校閲を賜つた岡本謙一助教授に深謝いたします。また組織学的検索に際して御助力をいただいた昭和大学医学部第一病理学教室池田正夫先生に感謝いたします。

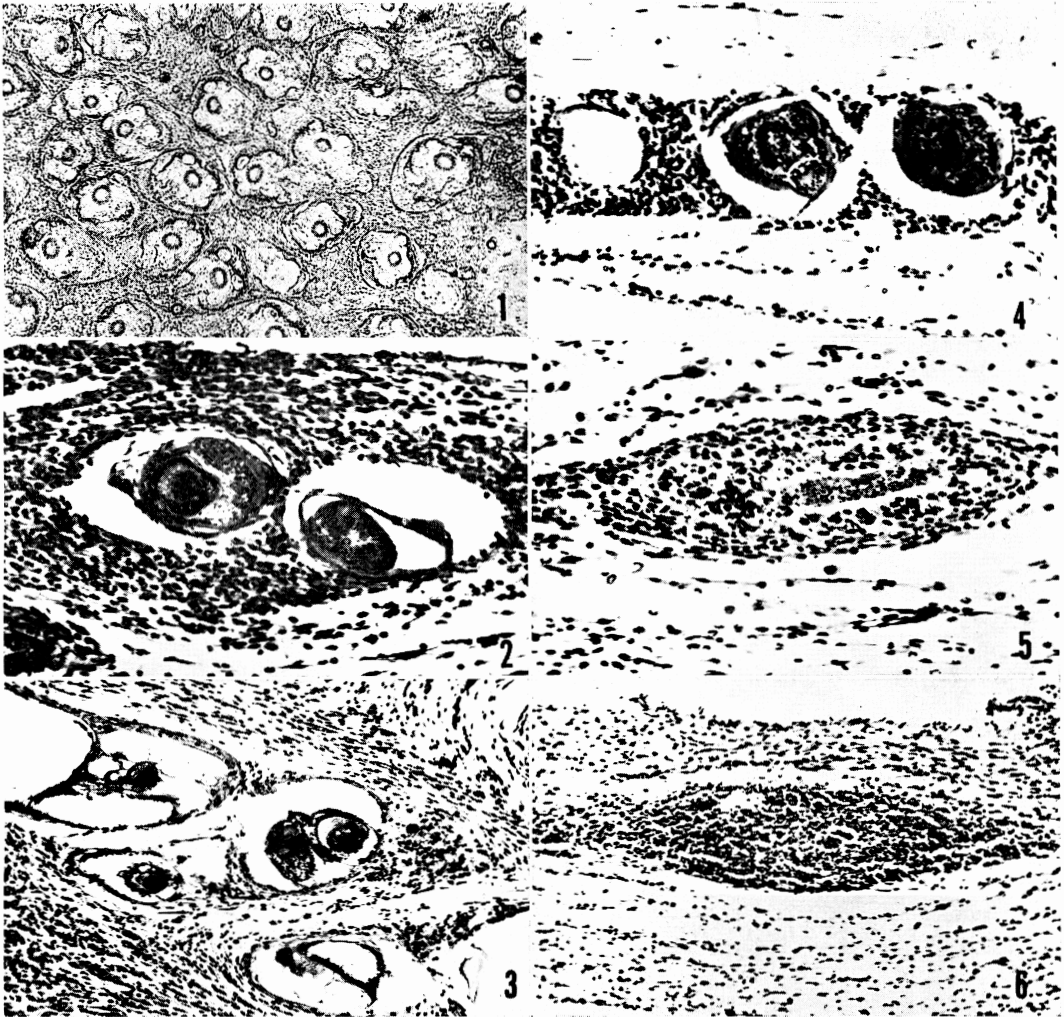
### 文 献

1) Bailey, W. S. (1951) : Host-tissue reactions to initial and superimposed infections with *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. J. Parasit.,

- 37, 440-444.
- 2) Berntzen, A. K. and Voge, M. (1965) : *In vitro* hatching of oncospheres of four hymenolepidid cestodes. J. Parasit., 51, 235-242.
- 3) Berntzen, A. K. (1967) : Monoxenic cultivation of *Hymenolepis nana* cysticeroids with rat fibroblast cells. Am. Sci. Parasitologists 42 nd Ann. Meeting ; Cited from Heath, D. D. and Smith J. D. (1970) : Parasit., 61, 329-343.
- 4) Di Conza, J. J. (1968) : Hatching requirements of dwarf tapeworm eggs (*Hymenolepis nana*) in relation to experimental development of larval stages in mice. Z. Parasitenk., 31, 276-281.
- 5) Di Conza, J. J. (1969) : Protective action of passively transferred immune serum and immunoglobulin fractions against tissue invasive stages of the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana*. Exp. Parasit., 25, 368-375.
- 6) Di Conza, J. J. (1970) : *Hymenolepis nana* : Mouse subcutaneous tissue response to larval stages. Exp. Parasit., 28, 482-492.
- 7) Friedberg, W., Neas, B. R., Faulkner, D. N. and Friedberg, M. H. (1967) : Immunity to *Hymenolepis nana* : transfer by spleen cells. J. Parasit., 53, 895-896.
- 8) 古川忠明(1970) : 小形条虫 *Hymenolepis nana* によるチャバネゴキブリ *Blattella germanica* への感染実験。寄生虫誌, 19, 482-486.
- 9) Hearin, J. T. (1941) : Studies on the acquired immunity of the dwarf tapeworm *Hymenolepis nana* var. *fraterna*, in the mouse host. Am. J. Hyg., 33, 71-87.
- 10) Heyneman, D. (1962) : Studies on helminth immunity ; 1, Comparison between luminal and tissue phases of infection in the white mouse by *Hymenolepis nana* (Cestoda : Hymenolepididae). Am. J. Trop. Med. & Hyg., 11, 46-63.
- 11) Heyneman, D. (1963) : Host-parasite resistance patterns-some implications from experimental studies with helminths. Ann. N. Y. Acad. Sci., 113, 114-129.
- 12) Hunninen, A. V. (1935) : A method of demonstrating cysticeroids of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in the intestinal villi of mice. J. Parasit., 21, 124-125.
- 13) Hunninen, A. V. (1935) : Studies on the life-history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* Var. *fraterna* Stiles) in white mice. Am. J. Hyg., 22, 414-443.

- 14) Larsh, J. E., Jr. (1942) : Transmission from mother to offspring of immunity against the mouse cestode, *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. Am. J. Hyg., 36, 187-194.
- 15) Larsh, J. E., Jr. (1943) : Serological studies on the mouse strain of the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. Am. J. Hyg., 37, 289-293.
- 16) Larsh, J. E., Jr. (1967) : Delayed (cellular) hypersensitivity in parasitic infections. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 16, 735-745.
- 17) Okamoto, K. (1968) : Effect of neonatal thymectomy on acquired resistance to *Hymenolepis nana* in mice. Jap. J. Parasit., 17, 53-59.
- 18) Okamoto, K. (1970) : *Hymenolepis nana* : Depression and restration of acquired immunity in neonatally thymectomized mice. Exp. Parasit., 27, 28-32.
- 19) Voge, M. and Heyneman, D. (1957) : Development of *Hymenolepis nana* and *Hymenolepis diminuta* (Cestoda : Hymenolepididae) in the intermediate host *Tribolium confusum*. Univ. Calif. Public Zool., 59, 549-579.
- 20) Weinmann, C. J. (1966) : Immunity mechanisms in cestode infection. Biology of Parasites : Emphasis on veterinary parasites. Edited by Soulsby, E. J. L., Academic Press, New York & London, 301-320.
- 21) Weinmann, C. J. (1968) : Effects of splenectomy and neonatal thymectomy on acquired immunity to the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana*. Exp. Parasit., 22, 68-72.
- 22) Weinmann, C. J. and Rothman, A. H. (1967) : Effects of stress upon acquired immunity to the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana*. Exp. Parasit., 21, 61-67.





#### Explanation of Photographs

1. Cysticercoids of *H. nana* in the subcutaneous tissue of an uninfected mouse 5 days after injection of eggs. Fresh specimen.  $\times 100$
2. Section of the subcutaneous tissue of an uninfected mouse, indicating mature larvae surrounded by inflammatory reactions of the host. H-E stain.  $\times 200$
3. Section of an uninfected mouse skin 3 weeks after injection. H-E stain.  $\times 100$
4. Section of an immune mouse skin 5 days after injection. Note the normally growing larvae with the same host tissue reaction as indicated in photo. 2. H-E stain.  $\times 200$
5. Same as photo. 4. The focus includes an immature larva. H-E stain.  $\times 200$
6. Same as photo. 4. No developing larvae were found in the focus. H-E stain.  $\times 100$

**Abstract**DEVELOPMENT OF *HYMENOLEPIS NANA* CYSTICERCOIDS IN THE  
SUBCUTANEOUS TISSUE OF MICE AND INHIBITION OF  
LARVAL DEVELOPMENT IN IMMUNE MICE

TADAAKI FURUKAWA

*(Department of Medical Biology, Faculty of Medicine,  
Showa University, Tokyo, Japan)*

It has been established that shell-removed eggs of *Hymenolepis nana* develop into cysticercoid larvae in the subcutaneous tissue or muscle of various vertebrates (Di Conza, 1968; Weinmann, 1969). The present studies were made to compare the development of cysticercoids in the subcutaneous tissue of uninfected mice and that in mice which had orally been infected with eggs or cysticercoids of *H. nana*. Such a study should contribute informations concerning the rapid onset of protective immunity against a reinfection with eggs of this tapeworm in mice. The criterion employed in this study was the development of larvae in the backs of mice within 5 days after the subcutaneous injection of sterilized and shell-removed eggs. Results obtained are as follows ;

1) In the subcutaneous tissue of uninfected mice, approximately 25% of injected eggs developed into cysticercoids. Larval development was not uniform and all of the mice had approximately equal numbers of larvae in stages III, IV and V, a few in stage II and none in stage I. They survived at least 3 weeks after injection. A typical inflammatory cellular response was seen at the injected site of the host. The predominant types of the cells were neutrophilic polymorphonuclear leukocytes, mononuclear cells and fibroblasts.

2) A significant reduction in the number of larvae was observed when shell-removed eggs were injected subcutaneously into mice which had been infected orally with 2,000 eggs. The partial anti-parasite activity was demonstrable in mice 5 to 14 days after the initial infection. The maximum level was reached by 21 days of infection and no developing larvae were found in these mice. The intense reaction of the host tissue was also observed at the injected sites.

3) The normal developmental pattern of the larvae was observed in mice 7 days after the oral infection with 300 cysticercoids. However, the autoinfection was evident to occur in mice infected with cysticercoids, and the larval development was arrested in the subcutaneous tissue of mice 21 days after the initial infection.

The following conclusion was suggested from these results: The acquired immunity induced by an oral egg infection in mice is effective against the larval development in the subcutaneous tissue, as well as in the intestinal villi. On the other hand, when no autoinfection occurs, an initial cysticercoid infection does not induce protection to the larval development in the subcutaneous tissue of mice.