

ブラジル鉤虫およびセイロン鉤虫の非固有宿主 (マウス)体内における行動と発育

福留祥子

京都府立医科大学医動物学教室
関西大学生物学研究室

(昭和49年9月11日 受領)

緒言

Gomes de Faria (1910) がブラジル鉤虫を記載し、また、Looss (1911) がセイロン鉤虫を記載して以来、この2鉤虫は別種か同種かたびたび問題となつてきた。Gomes de Faria (1914, 1916) はインドで発見された犬由来のセイロン鉤虫をブラジル鉤虫と比較検討し、両鉤虫は別種であると報告した。これに対して同種説をとるものも多く (Leiper, 1913; Lane, 1922; Darling, 1924; Schwartz, 1927), Biocca (1951) が多数の鉤虫の形態学的研究の結果、両鉤虫は別種であると結論するまで同種説は多くの寄生虫学者に受け入れられてきた。Biocca (1951) は両鉤虫の間に歯板の大きさ、交接囊の形態などの差異を認め、両鉤虫は別種であるとし、ここに別種説が確立したのである。更に、形態学的には Yoshida (1971 a, b) が両種鉤虫の成虫および幼虫の形態を詳細に比較検討し、次のような両種鉤虫の間の差異を報告している。すなわち、成虫については、ブラジル鉤虫はセイロン鉤虫に比して細長くせん細である。また、熱湯で虫体を殺した後10%ホルマリン溶液中に保存した場合、ブラジル鉤虫は常に腹側に向つて鋭く折れ曲つているがセイロン鉤虫ではそのような現象は認められない。虫体の微細構造を見ると、外皮の transverse striation の間隔がブラジル鉤虫よりセイロン鉤虫の方が広く約2倍である。また、口囊の側縁上に小突起がブラジル鉤虫には存在するがセイロン鉤虫にはない。幼虫については、ブラジル鉤虫の方がセイロン鉤虫よりも体長は短い。また、ブラジル鉤虫では被鞘の transverse striation が不明瞭であるがセイロン鉤虫では明瞭である。肛門から尾端までの長さ、尾端から被鞘の末端までの長さはブラジル鉤虫の方がセイロン鉤虫より短い。以上のことから、成虫ばかりでなく幼虫においても両種鉤虫の間に形

態的に明白な相違点が存在することが明らかになつた。

ブラジル鉤虫とセイロン鉤虫の生態については、その自然感染例から犬、猫、人などに寄生し得ることが認められている (York and Blacklock, 1915; Lane, 1916; York and Blacklock, 1917; Ihle, 1918; Blacklock, 1919; Darling, 1920; Adler, 1922)。実験的には、Rep (1965 a, b) がブラジル鉤虫の経皮的および経皮下的感染を犬に試み体内移行経路とその分布について報告しているが、当時、Rep はセイロン鉤虫とブラジル鉤虫を同種とみなしていたのでこの成績は曖昧である。その後 Rep *et al.* (1968) は両種鉤虫の cross breeding を試みたが成立を認めなかつたので両種鉤虫を別種のものとした。吉田ら (1967a, b; 1969 a, b) は両種鉤虫の発育と宿主体内移行経路について実験研究を行い両種鉤虫共に仔犬 (生後3カ月以内のもの) 体内において成虫にまで発育し産卵する、すなわち、仔犬はこの2種鉤虫の好適宿主であること、また、仔犬体内における移行経路、発育の速度に両種鉤虫の間にほとんど差は認められないが、感染率において経皮的感染の場合に差が認められること、一方、家兎、ラット体内では両種鉤虫共に発育は不可能であることなどを明らかにした。

本実験においては、マウス体内において両種鉤虫がいかなる行動をとるか、発育が可能かどうか、これらの点について両種鉤虫の間に差が認められるかなどを明らかにすることを目的とし、あわせて、マウス体内における他種鉤虫、すなわち、犬鉤虫、ズビニ鉤虫、アメリカ鉤虫の移行経路および感染率との比較検討を行った。

実験材料と実験方法

実験に使用した鉤虫被囊幼虫はブラジル鉤虫はマレーシアの猫から分離したものであり、また、セイロン鉤虫は台湾の猫から分離したものである。共に実験室におい

て仔犬（生後3カ月のもの）に継代保存しその糞便を培養し得たものである。培養方法は濾紙培養法を用い、27~28°Cで1週間培養した後約20°Cの水中で飼育保存した。使用に際して他種鉤虫の混合がないことを確かめた。使用時の被囊幼虫は培養後7日から1カ月のものである。

実験に使用したマウスはDDN系マウスであり、生後3週、体重20g前後のものである。特に雌雄は限定していない。

感染方法は経口投与である。マウスは無処理で直接胃ゾンデ（ヒビキ本舗製 No. 3 ポリエチレンチューブ）を使用し幼虫を投与した。被囊幼虫200隻を正確に数え投与したが、投与後使用器具に付着し残った幼虫を数え投与幼虫数から除き体内に侵入した幼虫数の確実を期した。

剖検は幼虫投与後1, 2, 3, 4週目とした。各時期の剖検マウス数は5頭前後である。

幼虫の検索はマウスの全臓器、実質組織について行われた。脳、体筋を除く他組織は人工消化液（蒸留水1000ml、濃塩酸5ml、含糖ペプシン50gを混合したもので消化し、幼虫の遊出を行つた。体筋は細かく切りきざみベールマン装置にかけ3時間後遠心沈澱を行い幼虫を検索した。また、脳は直接スライドに圧平して幼虫の検索を行つた。消化管（胃、小腸、大腸、盲腸）、気管、食道などはシャーレの中で切開し、粘膜上あるいは絨毛間に寄生する幼虫を分離するため粘膜を丁寧に手指でこすり微温湯で内容を洗い出し、また、各壁は他臓器同様人工消化液で消化した後幼虫の検索を行つた。

結果は各臓器別にその投与幼虫数に対する幼虫検出率および検出幼虫虫体の体長、体幅、各臓器の計測値として表わした。

Table 1 Per cent of larvae of *Ancylostoma braziliense* recovered from various locations and at various periods after inoculation of 200 larvae by mouth in mice weighing approximately 20 grams

Weeks after inoculation	Brain	Lungs	Trachea	Esophagus	Small intestine Stomach	Diaphragm	Muscle	Total
1	1.0	1.9	0.3	0.7	0.1	0.6	22.5	27.1
2	0	0	0	0.2	0.2	0	19.5	19.9
3	0	0.1	0	0	0	0	36.4	36.5
4	0.8	0	0	0	0	0	33.5	34.3

Examination of the liver, heart, spleen, kidney, large intestine and caecum gave negative results.

成 績

1. ブラジル鉤虫被囊幼虫をマウスに経口投与した場合

i マウス各臓器からの虫体検出状況

Table 1に見られる如く、幼虫投与後1週目では気管、食道、消化管、脳、肺、肝、体筋から幼虫が検出されマウス体内に侵入した幼虫が広く分布していることを示した。気管、食道、消化管では幼虫の大部分が腔内に存在していたが、少数が壁からも検出された。体筋から投与幼虫数の22.5%の幼虫が検出されたが、これはこの時期の幼虫総検出数の83%に当る。2週目では食道、消化管および体筋から検出されたが、食道および消化管から検出した幼虫はその腔内から検出したものである。3週目では肺、体筋から検出し、4週目では体筋の他、脳からも検出された。2, 3, 4週目も1週目と同じく体筋からの幼虫検出が総検出数のほとんどを占め、それぞれ総検出数の97, 99, 98%の検出率を示した。

ii 検出幼虫虫体の計測値

Table 2は幼虫投与後持続的に幼虫が検出された体筋からの検出虫体の計測値である。マウス体内侵入後1週目の幼虫の体長は $708.4 \pm 23.0\mu$ であり、2週目では 705.3 ± 17.0 、3週目では 678.5 ± 16.6 、4週目では $696.4 \pm 23.6\mu$ であった。虫体の体幅は、1週目では 25.4 ± 2.5 、2週目では 25.4 ± 4.8 、3週目では 23.8 ± 1.8 、4週目では $23.6 \pm 1.2\mu$ であった。

2. セイロン鉤虫被囊幼虫をマウスに経口投与した場合

i マウス各臓器からの虫体検出状況

Table 3に見られる如く、幼虫投与後1週目では気管、消化管および体筋から幼虫が検出された。2, 3, 4週目には持続的に体筋からの幼虫の検出が認められたが、その他の部位では3週目に気管から少数の幼虫が検

Table 2 Measurements in microns with standard deviations of third-stage larvae of *Ancylostoma braziliense* in the muscles of mice

Distance measured	Weeks after inoculation			
	1	2	3	4
Length of larva	708.4±23.0	705.3±17.0	678.5±16.6	696.4±23.6
Maximum width of larva	25.4± 2.5	25.4± 4.8	23.8± 1.8	23.6± 1.2
Length of esophagus	176.0± 5.8	172.4±12.0	173.8± 6.6	172.8±22.3
Genital primordium from esophagus	244.7±13.7	248.7±17.2	227.0± 5.4	234.0±15.5
Length × Width of genital primordium	16.0×8	11.1×7.1	12.3×8	9.7.×8
Genital primordium from anus	195.3± 9.9	193.0± 9.8	204.0± 5.0	211.2± 8.8
Caudal end from anus	74.8± 4.2	75.2± 2.0	78.0± 1.4	80.4± 4.1

Table 3 Per cent of larvae of *Ancylostoma ceylanicum* recovered from various locations and at various periods after inoculation of 200 larvae by mouth in mice weighing approximately 20 grams.

Weeks after inoculation	Brain	Lungs	Trachea	Esophagus	Small intestine Stomach	Diaphragm	Muscle	Total
1	0	0	0.1	0	0.6	0	1.7	2.4
2	0	0	0	0	0	0	0.4	0.4
3	0	0	0.1	0	0	0	0.2	0.3
4	0	0	0	0	0	0	0.1	0.1

Examination of the liver, heart, spleen, kidney, large intestine and caecum gave negative results.

Table 4 Measurements in microns with standard deviations of third-stage larvae of *Ancylostoma ceylanicum* in the muscles of mice

Distance measured	Weeks after inoculation			
	1	2	3	4
Length of larva	716.6±10.0	753.5±30.1	807.5±15.4	760.0
Maximum width of larva	24.0±0	26.0±0	30.0± 1.4	26.0±0
Length of esophagus	174.0±4.4	178.0±2.0	187.0± 3.0	180.0
Genital primordium from esophagus	248.0	—	—	—
Length × Width of genital primordium	12.0×8	—	—	—
Genital primordium from anus	202.0	—	—	—
Caudal end from anus	80.0±3.9	—	—	84.0

出されたのみであった。

ii 検出幼虫虫体の計測値

Table 4はTable 2と同じく、幼虫投与後4週目まで持続的に検出する体筋からの検出虫体の計測値である。

マウス体内侵入後の虫体の体長は、1週目では716.6±10.0、2週目では753.5±30.1、3週目では807.5±15.4、4週目では760.0μであった。虫体の体幅は、1週目では24.0±0、2週目では26.0±0、3週目では30.0±1.4、4週目では26.0±0μであった。

考 察

セイロン鉤虫およびブラジル鉤虫は仔犬体内において

成虫にまで発育し、産卵することが可能である。すなわち、仔犬はこの2種鉤虫の好適宿主である (Rep, 1965 a, b; 吉田ら, 1967 a, b; 吉田ら, 1969 a, b)。経口的に好適宿主に侵入した場合、この2種鉤虫はほとんど消化管以外の臓器に移行することなく小腸上部の粘膜内で第3期の発育を終えた後小腸腔内で成虫にまで発育する。経皮的に侵入した場合は、幼虫は血流あるいはリンパ路によって皮膚から肺に移行し、気管、食道、胃を経て終局的には小腸に達し、その上部で成虫にまで発育する。このように、この2種鉤虫は同一行動をとるところからその生物学的性質は類似性が非常に強いと云える。仔犬に対する感染率を見ると、経口投与の場合兩種

鉤虫共に投与幼虫数の70~90%が成虫にまで發育している。しかし、経皮投与の場合ブラジル鉤虫の方が成虫にまで發育する率が高い。一方、非固有宿主と考えられる家兎およびラット体内では、経口投与の場合、幼虫はその消化管内で死滅するか、あるいは比較的早期に体外に排出されて發育するものは認められない(吉田ら, 1967 a, b; 吉田ら, 1969 a, b)。

家兎およびラットと同じ齧歯類に属するマウスについて、その体内での両種鉤虫の行動、發育について今回の実験成績を検討すれば、ブラジル鉤虫はマウス体内侵入後消化管壁を穿通し広く組織に分布するが、時間を経るに従って筋肉内に虫体の存在が限定されてくる。すなわち、筋肉からの幼虫の検出率は幼虫投与後1週より4週目にかけて19.9~36.5%の値を示す。幼虫投与後4週目まで持続的に筋肉から幼虫を検出し、幼虫投与後一時的には広く各組織に侵入する幼虫が終局的には侵入組織より筋肉内へ移行するか、もしくは筋肉以外の組織へ移行した幼虫はその部位で死滅し吸収されるものと考えられる。筋肉においては幼虫投与後4週目の幼虫検出率が34.3%の高い値を示すことから、この部位での幼虫の長期にわたる存在が考えられる。このような筋肉内の長期間の寄生現象は他種鉤虫にも認められている。犬鉤虫はマウス筋肉内に1カ年以上にわたって存在し得ると云われている(Nichols, 1956)。本実験では幼虫投与後1週目と4週目に脳組織より幼虫が検出されているが、Norrlis (1971)もマウスの脳組織へブラジル鉤虫幼虫が移行することを報告している。この現象は他種鉤虫にも認められ、猫鉤虫および犬鉤虫がやはり中枢神経系組織に侵入する(Nichols, 1956; Norrlis, 1971)。このような事実から、鉤虫は非固有宿主に侵入した場合、その一部分は中枢神経系組織に侵入するものと考えられる。

マウス体内におけるセイロン鉤虫の行動はほぼブラジル鉤虫に似かよったものであり、幼虫投与後持続的に幼虫が検出されるのは筋肉からのみである。しかしながら、検出率はブラジル鉤虫に比して低く、2.4~0.1%であり、漸次減少の傾向を示している。おそらくブラジル鉤虫とは異つてマウス体内でのセイロン鉤虫の存続期間はその後短いものと考えられる。Soh (1958)は幼虫投与後30日目に犬鉤虫2.4%、ズビニ鉤虫0.2%、アメリカ鉤虫0.2%の幼虫の検出を報告している。いずれも筋肉からの検出である。これらの検出率に対して、ブラジル鉤虫の34.3%は非常に高い検出率である。ブラジル鉤虫は他種鉤虫に比して組織侵入力が強く、また、マウスの組織反応に対する抵抗性がきわめて強いものと考えられ

る。このようなブラジル鉤虫の性質は好適宿主である仔犬に経皮的に侵入した場合、その感染率がセイロン鉤虫に比して高い値を示す(吉田ら, 1967b; 吉田ら, 1969 b)という事実にも関連するものと考えられる。ブラジル鉤虫のように幼虫が長期にわたって筋肉内に相当多数寄生するという現象には当然 creeping eruption の問題が生じてくる。

両種鉤虫のマウス体内における發育状況は、形態的にはブラジル鉤虫において幼虫投与後3週目に体筋より検出した1虫体の頭端内部に原始口嚢の初期段階に当るメガネ様の構造がみられ、多少の發育が認められたが、しかし、両種鉤虫共に家兎およびラット体内におけると同様、3期幼虫以降の發育は認められず成虫に達し得ない。虫体の計測値も被囊幼虫の計測値(Yoshida, 1971 b)に比して著しい変化は認められず、3期幼虫にとどまることを示している。

結 語

ブラジル鉤虫およびセイロン鉤虫の被囊幼虫をマウスに経口投与し、次の結果を得た。

1. ブラジル鉤虫はマウス体内に侵入後一時的に広く各組織に侵入するが、後、筋肉組織内にほぼその存在が限定されてくる。幼虫投与後4週目に筋肉から投与幼虫数の33.5%、脳から0.8%に当る幼虫が検出された。

セイロン鉤虫はマウス体内侵入後1週目までにほとんどの幼虫が体外に排出されるが、組織に侵入した幼虫はブラジル鉤虫とほぼ同じ行動を示す。

2. 幼虫検出率は、ブラジル鉤虫では幼虫投与後1週目では27.1%、2週目では19.9%、3週目では36.5%、4週目では34.3%であり、この後長期にわたって筋肉内に生存するものと考えられる。セイロン鉤虫では幼虫投与後1週目では2.4%、2週目では0.4%、3週目では0.3%、4週目では0.1%であり、漸次減少し消失するものと考えられる。

3. 發育状況は両種鉤虫共に3期幼虫以降の發育は認められなかつた。しかしながら、形態的にブラジル鉤虫に原始口嚢形成に向つて多少の發育が認められた。

謝 辞

稿を終るに当り、終始御指導を賜わり、御助言を頂いた京都府立医科大学医動物学教室吉田幸雄教授、近藤力王至講師に厚く謝辞を表す。

文 献

- 1) Adler, S. (1962): *Ancylostomes* in animals in

- Freetown. Ann. Trop. Med. Parasit., 16, 293-294.
- 2) Biocca, E. (1919) : On *Ancylostoma braziliense* (de Faria, 1910) and its morphological differentiation from *A. ceylanicum* (Looss, 1911). J. Helm., 25, 1-10.
 - 3) Blacklock, B. (1919) : *Ancylostom ceylanicum* in the cat in Durban. Ann. Trop. Med. Parasit., 13, 297.
 - 4) Darling, S. T. (1920) : Observations on the geographical and ethnological distribution of hookworms. Parasitology, 12, 217-229.
 - 5) Darling, S. T. (1924) : *Ancylostoma braziliense* de Faria, 1910, and its occurrence in man and animals. Am. J. Hyg., 4, 416-448.
 - 6) Gomes de Faria, J. (1910) : Contribution towards the classification of Brazilian Entozoa. III. *Ancylostomum braziliense* n. sp. parasite of cats and dogs. Mem. Inst. Osw. Cruz., 2, 286-293.
 - 7) Gomes de Faria, J. (1914) : Ainda sobre o "Agchylostoma braziliense" (Gomes de Faria, 1910). Brazil-Med., 28, 113.
 - 8) Gomes de Faria, J. (1916) : Nota sobre *Agchylostoma braziliense* G. de Faria, 1910. Mem. Inst. Osw. Cruz., 8, 71-73.
 - 9) Ihle, J. E. W. (1918) : Ueber die geographische Verbreitung von *Ancylostoma ceylanicum* Looss. Cbl. Bakt. 1 Orig., 82, 306-308.
 - 10) Lane, C. (1916) : The genus *Ancylostoma* in India and Ceylon. Indian J. Med. Res., 4, 74-92.
 - 11) Lane, C. (1922) : *Ancylostoma braziliense*. Ann. Trop. Med. Parasit., 16, 347-352.
 - 12) Leiper, R. T. (1913) : The apparent identity of *Agchlostoma ceylanicum* (Looss, 1911) and *Agchylostoma braziliense* (Faria, 1910). J. Trop. Med. Hyg., 16, 334-335.
 - 13) Loos, A. (1911) : The anatomy and life history of *Agchylostoma duodenale* Dub. A monograph. Rec. Egypt. Govt. Sch. Med., 4, 159-613.
 - 14) Nichols, R. L. (1956) : The etiology of visceral larva migrans. II. Comparative larval morphology of *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Stromgyloides stercoralis* and *Ancylostoma caninum*. J. Parasit., 42, 363-399.
 - 15) Narrlis, D. E. (1971) : The migratory behavior of the infective-stage larvae of *Ancylostoma braziliense* and *Ancylostoma tubaeforme* in rodent paratenic hosts. J. Parasit., 57, 998-1009.
 - 16) Rep, B. H. (1965a) : The pathogenicity of *Ancylostoma braziliense*. I. The course of the egg-production by a hookworm population in its host. Trop. Geogr. Med., 17, 146-161.
 - 17) Rep, B. H. (1965b) : The pathogenicity of *Ancylostoma braziliense*. II. Cultivation of hookworm larvae. Trop. Geogr. Med., 17, 326-337.
 - 18) Rep, B. H., J. C. M. Vetter, and M. Eijsker. (1968) : Cross breeding experiments in *Ancylostoma braziliense* de Faria, 1910, and *A. ceylanicum* Looss, 1911. Trop. Geogr. Med., 20, 367-378.
 - 19) Schwartz, B. (1927) : Description of *Ancylostoma pluridentatum*, a hookworm of carnivores, and a review of the genus *Ancylostoma*. Proc. U. S. Natl. Mus., Mus., 72, Art. 1, 1-9.
 - 20) Soh, C. H. (1958) : The distribution and persistence of hookworm larvae in the tissues of mice in relation to species and to routes of inoculation. J. Parasit., 54, 515-519.
 - 21) York, W. and B. Blacklock. (1915) : Ankylostomiasis in dogs in Sierra Leone. Ann. Trop. Med. Parasit., 9, 425-427.
 - 22) York, W. (1917) : The occurrence of *Ankylostoma ceylanicum* in West African dogs. Ann. Trop. Med. Parasit., 11, 69-74.
 - 23) Yoshida, Y. (1971a) : Comparative studies on *Ancylostoma braziliense* and *Ancylostoma ceylanicum* I. The adult stage. J. Parasit., 57, 986-989.
 - 24) Yoshida, Y. (1971b) : Comparative studies on *Ancylostoma braziliense* and *Ancylostoma ceylanicum* II. The infective stage. J. Parasit., 57, 990-992.
 - 25) 吉田幸雄・福留祥子・栗本 浩・岡田清吾・白坂誠一(1967a) : セイロン鉤虫の発育と宿主体内移行経路(1) 感染幼虫を仔犬, 仔兎, ラットに経口投与した場合. 日本熱医学会, 抄録, 9, 18.
 - 26) 吉田幸雄・栗本 浩・白坂誠一・福留祥子・岡田清吾(1967b) : セイロン鉤虫の発育と宿主体内移行経路(2) 感染幼虫を仔犬, 仔兎, ラットに経皮投与した場合. 日本熱医学会, 抄録, 9, 18.
 - 27) 吉田幸雄・栗本 浩・福留祥子・岡田清吾・白坂誠一(1969a) : ブラジル鉤虫とセイロン鉤虫の研究(8) 仔犬, 幼家兎, ラットに対する経口感染実験. 第38回日本寄生虫学会. 要旨, 53.
 - 28) 吉田幸雄・福留祥子・栗本 浩・岡田清吾・白坂誠一(1969b) : ブラジル鉤虫とセイロン鉤虫の研究(9) 仔犬, 幼家兎, ラットに対する経皮感染実験. 第38回日本寄生虫学会. 要旨, 53.

AbstractTHE MIGRATORY BEHAVIOUR AND THE DEVELOPMENT OF *ANCYLOSTOMA BRAZILIENSE* AND *ANCYLOSTOMA CEYLANICUM* IN THE MOUSE

SACHIKO FUKUTOME

(*Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan*
Laboratory of Biology, Kansai University, Osaka, Japan)

Mice were infected with the larvae of *A. braziliense* and *A. ceylanicum* by mouth and were examined at intervals ranging from 1 to 4 weeks.

On the 1st week after infection the larvae of *A. braziliense* were recovered from various tissues, but thereafter they were primarily limited to the muscle, where they seemed to persist for long time. They were regularly found in the muscle from the 1st week through the 4th week. Larvae were recovered from the brain on the 1st week (1.0% of the inoculum) and on the 4th week (0.3% of the inoculum). The rate of recovery of larvae were 27.1%, 19.9%, 36.5%, and 34.3% on the 1st, 2nd, 3rd, 4th week, respectively.

Whereas most of the larvae of *A. ceylanicum* were removed during the 1st week after infection, a few were on similar behaviour to *A. braziliense* and were always found in the muscle. The rate of recovery of larvae were 2.4%, 0.4%, 0.3%, and 0.1% on the 1st, 2nd, 3rd, 4th week, respectively.

All the larvae of *A. braziliense* and *A. ceylanicum* recovered were the third stage.