

スナネズミに感染したコトナラットフィラリア に対する Diethylcarbamazine の効果

松 田 肇 高 岡 正 敏* 田 中 寛

東京大学医科学研究所寄生虫研究部

(昭和51年1月12日 受領)

はじめに

コトナラット *Sigmodon hispidus* に寄生するフィラリア *Litomosoides carinii* のマイクロフィラリア (mf) に対し, Diethylcarbamazine (DEC) は mf 減少効果が著明である. 一方スナネズミ *Meriones unguiculatus* に寄生する *Dipetalonema witei* に対しては, DEC が効力を現わさないことが知られている (Worms *et al.*, 1961; Hawking, 1973).

本実験では共に血中にいる両種の mf に対し, DEC の効果が何故に異なるかを調べ, それによつて DEC の効力発生機構の一端を明らかにする目的で, *Litomosoides* と *Dipetalonema* を同一の宿主のスナネズミに感染させ, 両種に対する DEC の効力の差を比較検討した.

実験方法

実験動物: コトナラットおよびスナネズミは室内累代飼育しているものを用いた.

Litomosoides の感染: イエダニ *Ornithonyssus bacoti* に *Litomosoides* の mf を持つたコトナラットを吸血させ, 吸血ダニを分離して 25 C, 湿度87%で2週間飼育し, mf を感染幼虫に発育させた. スナネズミあるいはコトナラットを金網袋の中に保定し, 感染幼虫保有のダニを動物の体表に放して, 吸血により感染させた. 予めダニ内の平均幼虫数を調べ, 感染幼虫が60匹含まれるダニ数を算定して各動物に放した (小林ら, 1969). 感染後 10 週以後で, 動物の血中 mf 濃度が安定した時期に DEC の投与実験を行なつた.

Dipetalonema の感染: 室内累代飼育したマダニの一種 *Ornithodoros moubata* に, *Dipetalonema* 感染のスナネズミを吸血させ, *Dipetalonema* を感染させた.

吸血ダニを 29 C, 3 週間飼育し, 解剖して感染幼虫を得た. スナネズミへの感染は, 幼虫30匹を注射器で鼠蹊部皮下に注入した. 感染後12週のスナネズミの mf に対して, DEC の効果を調べた.

マイクロフィラリア濃度: 血中の mf 濃度の測定は 2.5 cu. mm. の血液を尾端からメランジュールで取り, スライドガラス上に蛇行状に塗抹して溶血, ギムザ染色によつて調べた.

DEC の効果判定には薬剤投与直前の mf 濃度を測定し, これを基準として投与後の経時的な mf 濃度の変化で判定した.

DEC の投与量: 正常のスナネズミの腹腔に投与量を変えて DEC を注射した. 200mg/kg では問題はなかったが, 400mg/kg では死亡する個体があつたので, コトナラットと同様200mg/kg を注入することにした. DEC の原末を20mg/ml に生理食塩水に溶解し, 体重100g に付き 1 ml を注入した. その溶液を *Litomosoides* に感染したコトナラットに注入し, mf 減少効果のあることを確認した.

HA 反応: *Litomosoides* および *Dipetalonema* に感染したスナネズミの流血中の HA 抗体を調べる目的で, エーテル麻酔を施したスナネズミの眼底動脈から毛細管で採血して血清を得た. このエーテル麻酔時に流血中の *Dipetalonema* の mf は一過性の上昇を見せるため (Worms *et al.*, 1961), mf の検血後に麻酔を行つた.

反応術式は, 石井ら (1968) がコトナラット糸状虫症に用いた方法, Kamiya and Tanaka (1969) が広東住血線虫症に用いた方法に準じ, Csizmas (1960) の方法によりホルマリン処理保存した緬羊赤血球を用いたマイクロタイター法で HA 価を測定した.

* 現所属 東京医科歯科大学医学部医動物学教室

Table 1 Change of microfilaria density per 2.5 cu mm blood in jird, *Meriones unguiculatus*, infected with *Dipetalonema witei* after treatment with diethylcarbamazine at a single dose of 200 mg/kg

Jird No.	Drug given	Immediately before treatment	Time after treatment						
			10m.	1h.	6h.	1d.	4d.	7d.	14d.
15	DEC	35.0	74.0	81.0	25.5	28.0	24.0	31.0	16.5
16	DEC	20.7	30.0	34.8	32.8	26.3	19.0	25.5	26.3
17	Saline	6.5	12.0	/	22.5	11.5	11.5	8.5	15.0

m: minute, h: hour, d: day

Table 2 Change of microfilaria density per 2.5 cu mm blood in jird infected with *Litomosoides carinii* after treatment with diethylcarbamazine at a single dose of 200 mg/kg and 100mg/kg

Jird No.	Dose of drug given	Immediately before treatment	Time after treatment						
			10m.	1h.	6h.	1d.	2d.	4d.	7d.
1	200mg/kg	152.3	40.5	32.3	149.7	115.0	115.0	172.0	152.0
2	"	135.0	15.0	27.0	95.3	80.7	76.3	151.7	151.0
3	"	95.7	127.0	125.0	56.7	56.0	56.7	87.0	109.7
4	"	13.3	5.0	2.0	11.7	8.3	11.7	18.7	20.7
5	"	15.0	17.5	16.0	10.5	70.5	25.0	18.5	40.0
6	100mg/kg	26.7	7.7	4.3	19.3	13.0	21.3	21.0	41.0
7	"	66.0	16.0	10.0	54.0	35.5	40.0	58.7	62.0
8	Saline	15.7	14.3	10.7	18.7	15.7	12.0	13.0	15.0
9	"	76.3	42.7	42.7	71.7	55.7	38.7	56.0	68.0
10	"	242.3	206.3	202.3	309.7	226.5	260.3	207.7	259.0

実験成績

Dipetalonema に対する DEC の効果:

Dipetalonema に感染したスナネズミに DEC 200 mg/kg を投与した場合、Table 1 に示すように mf 濃度は投与10分後には上昇し、1時間後に最高を示したが6時間以後に投与前の濃度に復した。この結果からスナネズミに感染した *Dipetalonema* の mf に対しては、DEC の投与により流血中 mf の一過性の上昇は認められたが、減少効果は認められなかった。

Litomosoides に対する DEC の効果:

Litomosoides に感染したスナネズミに DEC 200 mg/kg を投与した5匹、100 mg/kg 投与の2匹の結果を Table 2 に示した。流血中の mf 濃度は200mg/kg 投与の3匹 (No. 1, 2, 4) にその急激な減少が認められ、10分後には投与前の11~27%に、1時間後には15~20%にまで低下したが、6時間後には殆んど投与前

の濃度に回復し、1, 2, 4日以後の測定でも殆んど変化が認められなかった。他の2匹 (No. 3, 5) は投与直後の急激な減少は認められず、却つて10分後と1時間後に上昇がみられ、一例では投与前の mf 濃度に比べ、それぞれ132.7%, 130.6%に、他の一例では、それぞれ116.7%, 106.7%となっていた。

スナネズミに100mg/kg の DEC を投与した2匹でも、mf 濃度の変化はほぼ同様で、投与1時間後に一旦低下するが、6時間以後は旧に復した。対照の生理食塩水注入の3匹においても、注入直後に僅かながら mf の低下が認められた。

Litomosoides, *Dipetalonema* 重複感染における DEC の効果:

以上の結果から、*Litomosoides* 或は *Dipetalonema* の単独感染においては、DEC の mf に対する効果は、一過性の減少が認められたにすぎなかった。さらにこの実験を再確認するために Table 3 に示すような兩種フ

Table 3 Change of microfilaria density per 2.5 cu mm blood in jird infected with *Litomosoides carinii* together with *Dipetalonema witei* after treatment with diethylcarbamazine at a single dose of 200 mg/kg

Jird No.	Drug given	Filaria species	Immediately before treatment	Time after treatment						
				10m.	1h.	6h.	1d.	4d.	7d.	14d.
20	DEC	Lit	207.3	27.3	28.7	57.7	105.0	82.0	90.3	126.3
		Dip	29.7	27.3	31.0	43.3	55.0	19.3	30.0	49.3
21	DEC	Lip	56.2	8.3	11.3	36.7	26.7	41.0	35.7	44.7
		Dip	72.0	29.3	62.0	78.7	45.3	45.3	37.7	35.7
22	DEC	Lit	147.0	198.5	28.0	61.5	77.5	56.0	117.5	78.5
		Dip	51.0	43.0	43.5	60.0	31.5	35.0	40.0	41.0
23	DEC	Lit	306.5	75.0	145.0	179.0	212.5	230.5	259.5	263.5
		Dip	9.0	40.5	31.5	57.5	55.0	12.5	33.0	22.5
24	DEC	Lit	236.0	24.0	42.5	192.5	133.5	160.0	236.5	243.5
		Dip	0.5	1.0	0.5	1.5	0	1.0	1.5	0
25	DEC	Lit	40.5	34.5	16.0	18.0	36.0	32.0	35.5	37.5
		Dip	4.5	6.0	8.0	6.5	4.0	2.5	7.0	6.5
26	Saline	Lit	106.0	46.5	64.0	82.0	119.0	105.0	118.5	155.5
		Dip	7.0	9.5	12.0	10.5	7.5	4.5	1.0	17.0
27	Saline	Lit	79.0	49.5	—	74.0	117.5	75.5	63.5	97.0
		Dip	0	0.5	—	0	0.5	0	0.5	1.5

Lit: *Litomosoides carinii*

Dip: *Dipetalonema witei*

フィラリアを同一スナネズミに感染させた6匹について、DEC 200mg/kgの投与を行った。*Litomosoides*のmf濃度は、全例が投与10分ないし1時間後に急激な低下が認められたが、6時間ないし24時間以後にはmf濃度の回復が認められ、*Litomosoides*単独感染の場合とほぼ同様であった。ただこのうち一例(No. 22)のみ、投与10分後にmf濃度が投与前と比べ135%と上昇を認めたが1時間後には低下し、以後は他の例と同様の傾向を示した。*Dipetalonema*のmfについても、単独感染の場合とほぼ同様で、DECの投与1時間から24時間後にmf濃度の上昇がみられ、特にNo. 23の1匹では投与直後から24時間まで著しい上昇がみられた。またmf濃度に殆んど変化の認められないものが2例みられた。

本実験では*Litomosoides*に感染した13匹のスナネズミでDECによる治療実験を行ったが、コトナラットにおける*Litomosoides*の様な急激なmf減少効果は出現せず、その効果は認められなかった。

スナネズミの抗体産生:

先に小林ら(1969)はコトナラットに感染した*Litomosoides*に対するDECの作用機構に関する実験で、DECのmf減少効果発現には宿主が抗体を産生していることが重要であろうと推定している。本実験において、兩種フィラリアに対しDECが無効であったので、

スナネズミの流血抗体産生能力の有無を調べるために、*Litomosoides*成虫抗原を用いたHA反応で検査した。*Dipetalonema*の感染に対しても*Litomosoides*成虫抗原を用い、その交叉反応を応用した。結果はTable 4に示すように、高い抗体価が得られ、*Litomosoides*がコトナラットに感染した時と同様にスナネズミにも抗体の産生が認められた。またDEC 200mg/kg投与前後の流血中抗体価の変化は認められなかった。

考 察

コトナラットに感染している*Litomosoides*のmfに対し、DECは著しい効力を示し、短時間の中にmf濃度を低下させてしまう。Hawking(1973)は、コトナラットにDEC 50mg/kg腹腔内1回投与で、通常著明なmf数の減少が見られ、その効力は4~8日間持続すると述べ、田中(1965)は、100mg/kg1回投与後6日目の流血中mf密度は投与前に比べ19.8%に減少し、300mg/kgでは18.8%とDECの著効を報告し、小林ら(1969)も200mg/kgでは3日目に12.5%のmf密度を認めている。本実験では、この様な性質をもつ*Litomosoides*もスナネズミの中ではDECの効力は極めて微弱で、投与後一過性の減少が認められても短時間で元のmf濃度に回復し、DECの効力を認めることは出来

Table 4 Hemagglutination reactions with *Litomosoides* antigen in jirds infected with *Litomosoides carinii* and *Dipetalonema witei* before and after treatment with diethylcarbamazine

Jird No.	Infected with	Treatment	Before treatment	Weeks after treatment	
				1	2
22	L & D	DEC	512	1,024	1,024
23	"	"	256	128	256
24	"	"	256	256	256
25	"	"	256	512	/
26	"	Saline	256	256	/
27	"	"	512	512	512
5	L	DEC	2,000	4,000	4,000
15	D	DEC	356	128	256
17	L	Saline	256	256	256

Reciprocals of HA titers are shown in the table.

L: *Litomosoides carinii* D: *Dipetalonema witei*

なかつた。

ある種の薬剤では、フィラリアの種類によりその効力に差のあることは知られている。suramin の場合、*Litomosoides* の成虫に対して著効を示すが (Hawking *et al.*, 1950), *Wuchereria* の mf には単に一時的減少を示すのみである (Hawking, 1963)。また *Onchocerca* の雌成虫に対して有効な suramin は *Litomosoides* には無効である (Hawking, 1963, 1973)。

本実験のように、同種のフィラリアを異つた宿主に感染させ、その効力に差を認めた例として、suramin と *Litomosoides* の関係があげられる。前述のように suramin は、コトラットを宿主とした *Litomosoides* には無効であるが、Lämmler *et al.* (1971, 1973) は、*Mastomys natalensis* を宿主とした際にその成虫に対し著効を認めている。また amodiaquine の効力研究で、Thompson *et al.* (1968) の報告によると、スナネズミに感染した *Litomosoides* の成虫に効力を示したが、コトラットでは単に微弱な効力を認めたにすぎず、*Mastomys* を用いた Lämmler *et al.* (1971, 1973) はその効力を認めている。一方、mf に対する DEC の効力を検討した Lämmler *et al.* (1973) は、*Mastomys* に感染した *Litomosoides* には有効であつたとしている。また *Brugia malayi* の mf に対する DEC の効力は、*W. bancrofti* より強く反応することが知られている (Hawking, 1973; WHO, 1974)。*B. malayi* を実験的に感染させたスナネズミにおいて、DEC 200mg/kg を投与した場合、DEC の mf 減少効果は認められなかつた (松田ら, 1974)。

つた (松田ら, 1974)。

先に小林ら (1969) は、*Litomosoides* とコトラットの系で実験を行い、宿主に抗体が産生される時期に一致して、DEC の効力が出現することを報告している。本実験でもスナネズミの抗体産生能力を *Litomosoides* 成虫抗原を用いて調べた結果、高い流血抗体価が測定されたが、DEC の効力は出現せず上記のコトラットにおける実験結果とは異つていた。また DEC の効力はフィラリアの種によつて差が生じるだけでなく、宿主の違いで差が生じることが判明し、DEC の効力発現機序に宿主の機能が重要な役割をはたしていることが推定される。

ま と め

コトラットに寄生する *Litomosoides* とスナネズミに寄生する *Dipetalonema* をそれぞれ単独に、或は両種を同一のスナネズミに感染させて、両種 mf に対する DEC の効力を比較し、以下の結果を得た。

1) *Dipetalonema* に感染したスナネズミ 2 匹に DEC 200mg/kg を投与した結果、mf 濃度は 1 時間後に一旦上昇し、6 時間以後に元に復した。*Litomosoides* と重複感染させた 6 匹でも、DEC 投与後に上昇がみられ、DEC の mf 減少効力は認められなかつた。

2) スナネズミに感染した *Litomosoides* に対し、DEC 200mg/kg を投与した 5 匹の結果では、mf 濃度の急激な低下が 3 例において認められ、6 時間後には殆んど元の濃度に回復した。他の 2 例は投与直後、かえつ

て一過性の上昇が認められた。100mg/kg 投与の2匹でも結果はほぼ同様であった。

また *Dipetalonema* と重複感染させた6匹でも、単独感染の場合の結果とほぼ同様で、DEC の *Litomosoides* に対する急激な mf 減少効果は認められなかった。

3) 両種フィラリア感染によつて、スナネズミ内に抗体が産生されているか否かを赤血球凝集反応で調べたところ、高い流血抗体価が得られ、コトナラットと同様にスナネズミに抗体産生能力が認められた。

4) 以上の結果から *Litomosoides* に対する DEC の効力発現は、コトナラットで著明でスナネズミでは無効であることが判明し、スナネズミに特異な性質があると推定された。

本研究の一部は WHO および 日米医学協力の研究費によつた。

文 献

- 1) Csizmas, L. (1960) : Preparation of formalinized erythrocytes. Proc. Soc. Exp. Biol., 103, 157-160.
- 2) Howking, F. (1963) : Chemotherapy of filariasis. In: Experimental chemotherapy, Schnitzer, R. J. & Hawking, F., eds., Vol. 1, Academic Press, New York, 893-908.
- 3) Hawking, F. (1973) : Chemotherapy of tissue nematodes. In: Chemotherapy of Helminthiasis, Cavier, R. & Hawking, F., eds., Vol. 1, Pergamon Press, Oxford, 537 pp.
- 4) Hawking, F., Sewell, P. and Thurston, J. P. (1950) : The mode of action of hetrazan on filarial worms. Brit. J. Pharmacol., 5, 217-238.
- 5) 石井 明・田中 寛・藤田紘一郎・神谷正男・松田 肇・小林準三(1968) : フィラリア感染コトナラットの補体結合反応価と間接赤血球凝集反応価の経時的変化について. 寄生虫誌, 17, 402-406.
- 6) Kamiya, M. and Tanaka, H. (1969) : Hemagglutination test in rats infected with *Angiostrongylus cantonensis*. Japan. J. Exp. Med., 39, 593-599.
- 7) 小林準三・松田 肇・藤田紘一郎・酒井健夫・篠田恵子(1969) : コトナラットフィラリア *Litomosoides carinii* に対する Diethylcarbamazine citrate の作用機構に関する実験. 寄生虫誌, 18, 563-574.
- 8) Lämmler, G., Herzog, H. and Grüner, D. (1973) : In : WHO expert committee on filariasis. Third report. WHO Techn. Rep. Ser. No. 542, 54pp., Geneva.
- 9) Lämmler, G., Herzog, H. and Schütze, H. R. (1971) : Chemotherapeutic Studies on *Litomosoides carinii* infection of *Mastomys natalensis*. Bull. Wld Hlth Org., 44, 765-770.
- 10) 松田 肇・高岡正敏・和田芳武・田中寛(1974) : スナネズミに寄生した三種フィラリアに対するジェチルカルバマジンの効果. 寄生虫誌, 23(増刊号), 62.
- 11) 田中英文(1965) : フィラリア実験動物としての cotton rat に関する研究 (3) 糸状虫症化学療法の実験的研究. 特に Diethylcarbamazine の影響について. 寄生虫誌, 14, 1-5.
- 12) Thompson, P. E., Boche, L. and Blair, L. S. (1968) : Effects of amodiaquine against *Litomosoides carinii* in gerbils and cotton rats. J. Parasit., 54, 834-837.
- 13) WHO Techn. Rep. Ser. No. 542, (1974) : WHO expert committee on filariasis. Third report. 54pp., Geneva.
- 14) Worms, M. J., Terry, R. J. and Terry, A. (1961) : *Dipetalonema witei*, filarial parasite of jird, *Meriones libycus*. I. Maintenance in the laboratory. J. Parasit., 47, 963-970.

AbstractEFFECT OF DIETHYLCARBAMAZINE ON MICROFILARIAE OF *LITOMOSOIDES*
CARINII IN JIRD, *MERIONES UNGUICULATUS*HAJIME MATSUDA, MASATOSHI TAKAOKA* AND HIROSHI TANAKA
(*Department of Parasitology, Institute of Medical Science, the University of Tokyo*)

Microfilaricidal activity of diethylcarbamazine (DEC) was studied in jird, *Meriones unguiculatus*, infected with *Litomosoides carinii* and/or *Dipetalonema witei*. The results of this study showed that DEC, which was highly effective on the microfilariae of *Litomosoides* in cotton rat, had little effect against the microfilariae of *Litomosoides* in jirds.

DEC administered intraperitoneally with a single dose of 200 mg/kg was ineffective to reduce microfilaria density in two jirds infected with *Dipetalonema*, and in six jirds infected with both *Dipetalonema* and *Litomosoides*.

The same dosage administered into five jirds infected with *Litomosoides*, showed marked but only transient reduction of microfilaria count in three jirds immediately after injection, while temporary increase of microfilaria density was observed in two other jirds. The microfilaria density, however, recovered to the initial level after about 6 hours. Similar results were obtained in six jirds infected with both *Dipetalonema* and *Litomosoides* (Table 3).

In the previous paper by Kobayashi *et al.* (1969), DEC showed remarkable microfilaricidal effect on *Litomosoides* in cotton rats, closely associated with the presence of humoral antibodies. In the present study the presence of antibody was examined in jirds infected with *Dipetalonema* and/or *Litomosoides* by hemagglutination test using antigen prepared from adult *Litomosoides* (Table 4). In all serum samples, high antibody titers could be detected and the productivity of antibody in jirds was demonstrated as well as in cotton rats.

The general conclusion drawn from these data is that the marked discrepancy in the chemotherapeutic activity of DEC on the same parasite in different final hosts is due to some factors in the host.

* Present address: Department of Medical Zoology, School of Medicine, Tokyo Medical and Dental University