

## *Thelazia rhodesi* 幼虫の中間宿主, 終宿主内における発育

宮本 健司\* 篠 永 哲 加納 六 郎

(昭和54年9月18日 受領)

**Key words:** *Thelazia rhodesi*, larval development, intermediate host

*Thelazia* 属眼虫は、哺乳動物の結膜嚢内に主として寄生し、眼虫症の原因となる線虫類である。これらは、世界の熱帯から寒帯にかけて広く分布し、なかでも、牛に寄生する *T. rhodesi*, *T. skrjabini*, *T. gulosa* の3種についての報告は多い (Corba, 1968)。わが国の牛にもこの3種が寄生し、これらのうち *T. rhodesi* が広く各地に分布している (宮本ら, 1967b, 1973, 1975)。

牛に寄生するこれらの眼虫は、世界各地でイエバエ属の *Musca amica*, *M. autumnalis*, *M. bezzii*, *M. convexifrons*, *M. domestica*, *M. hervei*, *M. larvipara*, *M. tempestiva*, *M. vicina*, *M. vitripennis* の10種により媒介され (Stoffolano, 1970)、わが国では、クロイエバエ (*M. bezzii*) とノイエバエ (*M. hervei*) の2種が中間宿主となることが明らかにされた (宮本, 1965; 宮本ら, 1965, 1967b, 1973, 1975; Shinonaga *et al.*, 1974)。

これまでの中間宿主体内における眼虫幼虫の発育形態に関する研究は、各流行地で採集した *M. autumnalis*, *M. bezzii*, *M. hervei*, *M. larvipara* などから得られた幼虫について行われている (Klesov, 1949; 宮本ら, 1967a)。Krastin (1950) は、*M. amica* に摂取された眼虫の幼虫は、卵巣濾胞 (ovarian follicle) 内に侵入して発育するものと考えた。しかし、その後 *T. gulosa* の幼虫が *M. autumnalis* の雄から検出され (Vilagiova, 1962)、また *M. hervei* の雄からも発見された (宮本ら, 1973; Shinonaga *et al.*, 1974) ことから、濾胞内

で発育するという考えだけでは説明できなくなった。Vilagiova (1967) は、*M. autumnalis* に *T. rhodesi* を実験的に感染させ、室温でハエを飼育すると28~32日で感染幼虫にまで発育する。また、北野 (1968 a, b) は、*M. hervei* に感染させた *T. rhodesi* や *T. skrjabini* の幼虫は、17~18日で第三期幼虫にまで発育すると報告している。これらの報告には、感染させたハエの雌雄、また飼育温度差による発育速度については、不明である。

我々は、累代飼育したノイエバエに *T. rhodesi* 幼虫を実験的に感染させ、20, 25, 30Cの各温度での発育速度と眼虫幼虫のノイエバエ体内での発育形態、性差による感染率のちがいを、終宿主における発育を検討した。本論文は、それらの結果をまとめたものである。

### 実験材料および方法

#### 材 料

1. 眼虫幼虫: 感染実験に用いた *T. rhodesi* の幼虫は、牛結膜嚢内をイルリガートルを用いて生理食塩水で洗滌して、流出した成熟雌成虫を同定後解剖し、子宮内に充満している幼虫を使用した。

2. ノイエバエ: 千葉市の畜産試験場内で、牛糞より成熟した幼虫を集め羽化、または牛体や牛糞に飛来する成虫を採集し、新鮮な牛糞に産卵させた。実験に供したハエは得られた幼虫をコロニーとして2~3代累代飼育を行ない、以降蛹から羽化4日目の成虫雌雄各100個体を1群とした3群である。成虫の飼育は、金網ケージ (30×30×30cm) を用い、餌として5%砂糖液、牛乳、2.5%ブレイン・ハート・インフュージョンをそれぞれ脱脂綿に浸漬して与えた。これらの餌と産卵の場の牛糞は1日おきに交換した。

この研究は、昭和48年度文部省科学研究費補助金によって行なった。

東京医科歯科大学医学部医動物学教室

\* 現住所: 旭川医科大学寄生虫学教室

Table 1 Infective rate of Male and Female of *Musca hervei* infected with thelazian larvae under various temperatures

| Days after infection |        | 15    | 20   | 25    | 40   | 50   | 60   | Total(%)    |              |        |              |
|----------------------|--------|-------|------|-------|------|------|------|-------------|--------------|--------|--------------|
| 20C                  | Male   | 1/26* | 1/5  | 0/19  | 1/15 | 1/12 | 0/5  | 4/82 ( 4.9) |              |        |              |
|                      | Female | 2/22  | 0/9  | 2/23  | 0/10 | 0/39 | 2/14 | 6/117( 5.1) |              |        |              |
| 25C                  | Male   | 14/37 | 4/11 | 5/20  |      |      |      |             | 23/68 (33.8) |        |              |
|                      | Female | 19/47 | 6/11 | 12/29 |      |      |      |             | 37/87 (42.5) |        |              |
| Days after infection |        | 2     | 4    | 6     | 8    | 10   | 12   | 13          | 14           | 15     |              |
| 30C                  | Male   | 1/20  | 1/34 | 0/4   | 2/5  | 2/5  | 3/5  | 3/5         | 9/16         | 44/112 | 65/206(31.6) |
|                      | Female | 0/15  | 0/9  | 3/25  | 0/5  | 2/5  | 2/5  | 4/5         | 5/8          | 38/94  | 54/171(31.6) |

\* Number of flies infected/Number of flies examined

3. 牛：終宿主への感染実験は、冬季ハエのいない時期に洗眼して、眼虫寄生の認められてない和牛2頭を用いた。

#### 方法

1. ハエへの感染：*T. rhodesi* 幼虫は大型ホールスライド (75×40×6 mm) に滴下した0.5ml の生理食塩水中に浮遊させてハエに摂取させた。各群のハエは、実験4時間前に各餌をとり出して空腹にした。

感染後各群のハエは、それぞれ一定温度の恒温器内で飼育した。20C群は15, 20, 25, 40, 50, 60日, 25C群は15, 20, 25日, 30C群は, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 15日に最低10個体(雄5, 雌5)を解剖して幼虫の形態とその数を記録することを原則とした。

2. 牛への感染：25Cで飼育した眼虫幼虫感染ノイエバエを実験地へ運び、牛へ感染直前にハエを解剖して感染型幼虫を取り出し、各牛の片眼に運動の認められる50匹の幼虫を注入した。感染後10および20日目に各1頭の眼を洗滌して虫体の回収を試みた。

#### 結果および考察

##### 1. ハエの性別と感染率

これまで野外で採集したノイエバエ又はクロイエバエの眼虫幼虫感染率については、北海道静内2.0%、東京都三宅島0.5%、東京都青梅0.3%、千葉県7.4%、宮崎県小林0.6%などの報告がみられる(宮本, 1965; 宮本ら, 1965; 1967a; 1973; 1975)。これらはすべて雌成虫より幼虫を検出した例である。しかし、千葉市でノイエバエ雄0.4% (3/771) に寄生が認められ(宮本ら, 1973)、Vilagiova (1962) の報告を確認した。この流行地におけるハエ雌雄による感染率の相違が性差に原因するもの

かを室内において実験感染により解明を試みた(宮本ら, 1973)。その結果、20C群は雄4.9%、雌5.1%; 25C群は雄33.8%、雌42.5%; 30C群は雄31.6%、雌31.6%で、雌雄とも感染率はほとんど同様の成績であった。このことから、自然界での感染率の相違は、雌成虫が牛体に集まり涙を舐食する性質が強く、眼虫幼虫をとりこむ機会が多いことを示唆するものと考えられる。また、宮本ら(1973)、Shinonaga *et al.* (1974) が報告したごとく、眼虫幼虫は雌の卵巣濾胞内でのみ発育するというKrasstin (1950) の報告は、雄腹腔内での場合説明できなくなった。Vilagiova (1962) は、流行地で採集した *M. autumnalis* の雄から *T. gulosa* 幼虫を検出した。この場合、幼虫は脂肪組織内で発育すると述べているが、今回著者らはこのことを確認できなかった。

##### 2. ノイエバエ体内での幼虫発育形態

*T. rhodesi* の発育段階ごとの形態は、Figs. 1~6に示したとおりである。胎生のロデシア眼虫成熟雌虫より得られた幼虫は、体長約0.225mm、体幅約0.005mmで頭端部が膨隆し、その頭頂部が凹凸運動をする。体幅は尾部に向つてしだいに細くなり、無鞘のマイクロフィラリアに類似し(Fig. 1)、生理食塩水中での運動は緩慢である。結膜嚢内寄生の成虫は、この幼虫を涙液中に産出し、ハエが涙液を舐食時、ともに体内へ摂取される。我々は、この幼虫をマイクロテラジア(microthelazia)とよぶことを提唱する。この幼虫をノイエバエに摂取させ、30Cの温度条件下におくと、腸管から腹腔に出た6日目に体幅は増加するが(0.023~0.045mm)、体長はわずかに短縮して(0.190~0.203mm)、糸状虫におけるソーセージ型幼虫の形態に類似する。この幼虫には、頭頂部に小さな切れ込みが現われ、尾部にはアンプル状の空胞が

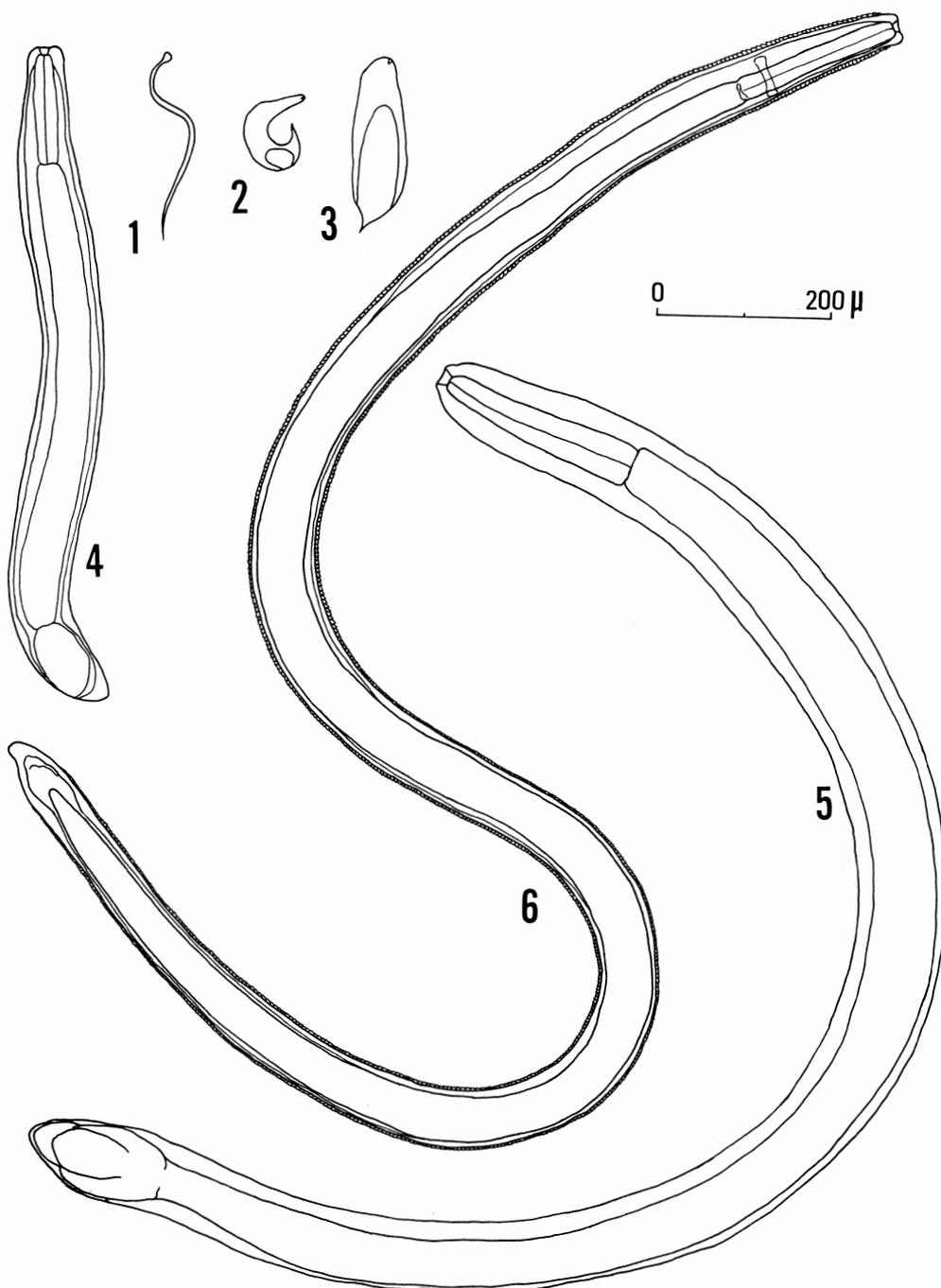


Plate 1. Morphology of thelazian larvae in the fly.

Figs. 1-6

Fig. 1 "microthelazia"

Fig. 2 sausage type

Fig. 3 sausage type

Fig. 4 preinfective (slender) type

Fig. 5 infective type

Fig. 6 infective type

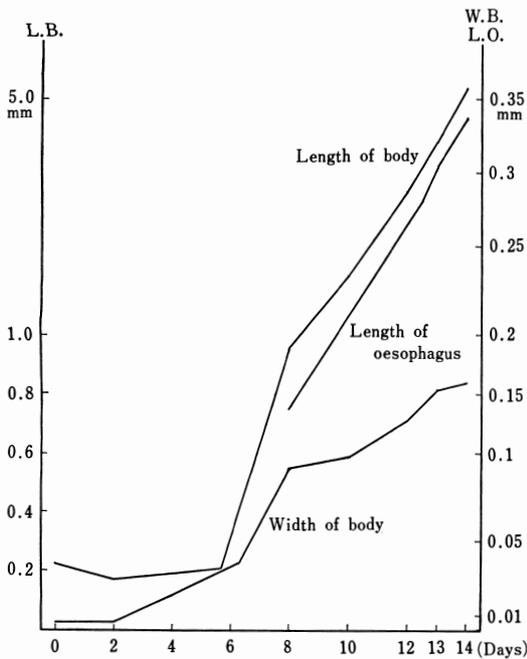


Fig. 7 Growth curve of thelazian larvae in *Musca hervei* reared in 30C.

形成され、尾端には小さな突起が認められる (Figs. 2, 3). 最初の脱皮はこの頃に起こるものと考えられる。この幼虫は、8日目には体長、体幅ともに著しく発育し、体長約0.950mm、体幅約0.100mmとなり、ソーセージ型に比べて体長で約5倍、体幅で約2倍に成長、口腔、食道、消化管が明瞭に区別され前感染型幼虫となる (Fig. 4). この時期の幼虫は、腹腔内で被袋し、薄い袋に包まれている。第2回目の脱皮はこの時期に行なわれるものと推定する。この袋はマルピギー管や脂肪体に附着して、幼虫は袋の中で次第に成長する。12日目には、体長5.212mm、体幅0.158mm、食道長0.338mmとなり、体表には横条線がみられる。生殖器は未発育であるが、成虫の特徴を備え、同定も可能な感染型幼虫となる。この幼虫は、袋中で活発に運動し、更に袋を破つて脱出するのが観察された (Figs. 5, 6). 本幼虫の発育は、ノイエパエ雌雄により差異は認められなかった。また、12~14日目の幼虫は牛眼より回収される幼虫の形態と一致するため、この頃の幼虫は感染力を持つものと推測する。また、各検査日ごとの幼虫発育速度を平均値で表わすと、段階的発育が行なわれていることが判明した (Fig. 7).

Klesov (1949) は、ハエ体内の *T. rhodesi* 幼虫を

I, II, III 期に分けている。著者らは前記の感染実験で、直接脱皮は観察していないが、幼虫の形態と発育速度から、Klesov の第 I 期幼虫はソーセージ型幼虫 (Figs. 2, 3) に、第 II 期幼虫は前感染型幼虫 (Fig. 4) に、第 III 期幼虫が感染型幼虫 (Figs. 5, 6) にそれぞれ相当するものと考えた。宮本ら (1967 a) は、野外で採集したハエから分離した感染型幼虫は、成虫の特徴をもち、同定可能であると述べてきたが、本実験でも確実に同定できることを再確認した。

### 3. 幼虫の発育におよぼす温度の影響

ハエを飼育する温度と、幼虫の発育との関係を各期幼虫検出数で比較した (Fig. 8). 1, 2 項で述べたごとく、ハエの性差による感染率・発育形態に相違が認められなかったため、雌雄ハエから検出された幼虫を併せて報告する。

雌雄各100個体を1群とする3群のハエに *T. rhodesi* 幼虫を与え、20, 25, 30Cの各温度で飼育し、20C群は15日目から5日ごとに25日目まで、あとは10日ごとにハエがすべて死亡するまで解剖して幼虫を検査した。25C群も15日目から5日ごとに25日目まで、30C群は2日おきに12日目までと、13~15日目までは毎日雌雄各5個体を解剖して幼虫を検出した。解剖は、実体顕微鏡下で行い、ハエの頭、胸、腹部別にみつかった眼虫幼虫の数と発育期を記録した。

20C群では、25日目までソーセージ型幼虫が検出されたが、60日後においても、感染型幼虫にまで発育せず、前感染型のままであった。

25C群では、15日後に腹部から感染型幼虫が検出されたが、大多数は、前感染型で腹部にとどまっていた。しかし、20日後には、感染型幼虫が頭部からも検出されるようになり、25日後には、すべての幼虫が感染型にまで発育していた。

30C群では、12日目で頭部に感染型幼虫が出現するが、14日後でもソーセージ型、前感染型も同時にみられ、ばらつきが大きかった。しかし、15日後には、ほとんどの幼虫が感染型となり、その幼虫は頭部に移行していた。

Omori (1958) は、パンクロフト糸状虫の幼虫が、中間宿主であるアカイエカ体内で発育するには、18C以上の温度が必要で、発育零点の理論値は14.6Cであると報告している。この報告では、20Cの温度で幼虫が第III期幼虫にまで発育するには、26日用いているが、眼虫は60日後も、感染幼虫にまで発育しなかった。このことは、ロデシア眼虫の方が、パンクロフト糸状虫よりも中間宿主

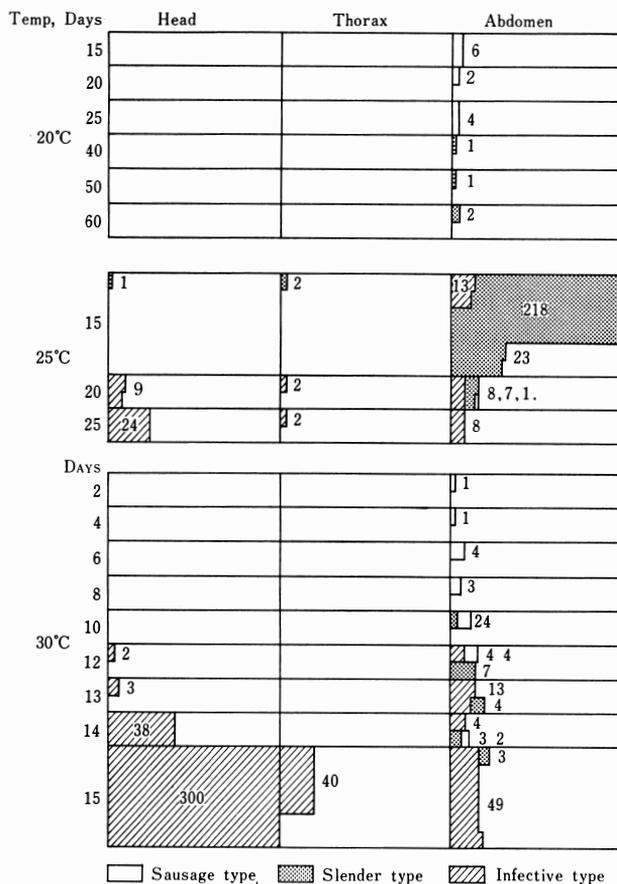


Fig. 8 Development of thelazian larvae in *Musca hervei*. (Number and types of larvae in various parts of flies).

Table 2 Development in size (mm) of *T. rhodesi* in the eye of cattle on the 10 th and 20 th day after experimental infection

|           | Length & width of body | Length & width of oesophagus | Nerve ring from anterior end | Anus (cloaca) from posterior end | Vulva from anterior | Spicula   |
|-----------|------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------|-----------|
| Day 10th  |                        |                              |                              |                                  |                     |           |
| No. 1(M)* | 10.70×0.38             | 0.55×0.06                    | 0.45                         | 0.08                             |                     | 0.46×0.15 |
| 2(M)      | 10.75×0.38             | 0.52×0.07                    | 0.45                         | 0.09                             |                     | 0.44×0.13 |
| 3(F)      | 12.47×0.40             | 0.53×0.07                    | 0.45                         | 0.08                             | 0.93                |           |
| 4(F)      | 15.50×0.45             | 0.58×0.07                    | 0.55                         | 0.08                             | 1.05                |           |
| Day 20th  |                        |                              |                              |                                  |                     |           |
| No. 5(M)  | 12.05×0.42             | 0.53×0.05                    | 0.47                         | 0.08                             |                     | 0.75×0.14 |
| 6(F)      | 16.58×0.54             | 0.61×0.05                    | 0.57                         | 0.08                             | 1.10                |           |
| 7(F)      | 18.20×0.44             | 0.61×0.05                    | 0.63                         | 0.08                             | 1.10                |           |

\* M and F indicate male and female worms, respectively.

体内での発育最低温度が高いことを示唆するものと考えられる。

#### 4. 終宿主への感染実験

ノイエバエ体内で実験感染により、感染型に発育させた眼虫幼虫を牛2頭に感染させ、10日および20日後に各牛から得られた虫体の計測値を Table 2 に示した。感染後10日目で、雌雄の生殖器が発達し成虫となっていた。これを宮本 (1965) が三宅島で牛眼より得た眼虫の成虫の計測値と比較すると、雄の体長は10日間で約2倍に成長して2匹とも10.75mm になっているが、三宅島の牛眼から得られたものでは、18匹の平均値が13.39mm (10.50~14.60mm) で最も小さい個体とほぼ同じであった。20日後には、雄の個体は1匹しか得られなかったが、この値は12.05mm であった。雌でも同じ傾向がみられ、10日後に得た2匹の値がそれぞれ12.47と15.50mm、20日後のものは、16.58と18.20mm、三宅島の37個体の平均値が14.00mm (9.24~19.74mm) であることから、約20日後には、成長が完了すると考えられる。

その他、体幅、交接刺などの計測値も、体長と同様の傾向であった。

#### まとめ

ノイエバエを累代飼育して、実験的にロデシア眼虫を感染させ、1) ハエ雌雄別の幼虫感染率、2) ノイエバエ体内での幼虫の発育形態、3) ハエ体内での幼虫発育におよぼす温度影響、4) 終宿主での眼虫発育について調べた。

1) 眼虫幼虫を実験的にハエへ感染させると雌雄同様な感染率を示す。すなわち、20Cでは雄4.9%、雌5.1%、25Cでは雄33.8%、雌42.5%、30Cでは雌雄とも31.6%で各温度とも野外で採集するハエのように雌雄による差は認められなかった。

2) ロデシア眼虫の発育形態は、Figs. 1~6 に示した通りである。成虫より産出された幼虫は、6日目に体長約0.20mm の糸状虫におけるソーセージ型幼虫となる。その後、体腔内で胞嚢を形成して発育、感染型幼虫となる。この時、体長は約5.00mm、体幅0.15mm で体表に横条線を持つ。

3) 眼虫の発育期は Klesov (1949) のI~III期と著者らのソーセージ型 (Figs. 2, 3), 前感染型 (Fig. 4), 感染型 (Figs. 5, 6) とが一致し、体長が急激に発達する6日目および8日目に脱皮が起こるものと考えられる。

4) 20, 25, 30Cの各温度条件下でハエを飼育し、眼

虫幼虫の発育速度を観察したところ、20Cでは60日目に少数の幼虫が前感染型に発育した。25Cでは15日目に腹部で感染型幼虫が認められ、これが20日目には頭部へ移行する。30Cでは12日目に頭部へ感染型幼虫が出現し、15日目にはほとんどのハエの頭部へ同幼虫が移行した。

5) ハエから分離した感染型幼虫を牛眼に感染させ、10日および20日後にいずれも雌雄成虫が回収された。

6) 成熟雌虫体が涙液中に産出する幼虫をマイクロテラジア (microthelazia) と呼ぶことを提唱する。

稿を終るにあたり御協力を頂いた東北農業試験場、長谷川勉・菊地武昭および畜産試験場、前田昭二・上野克美・高橋敏治の各氏に深謝する。

#### 文 献

- 1) Corba, J. (1968) : Geographical distribution of *Thelazia* infection of cattle in the world. *Folia Veterinaria, Czechoslovakia*, 12, 155 (De).
- 2) 北野訓敏 (1968a) : 牛の眼虫症に関する研究. VI. *Thelazia rhodesi* Railliet et Henry のノイエバエ *Musca hervei* Villeneuve の人工感染について. *日本獣医学雑誌*, 30(Suppl.), 83, 第65回日本獣医学会記事.
- 3) 北野訓敏 (1968b) : 牛の眼虫症に関する研究. VII. *Thelazia skrjabini* Erschow のノイエバエ *Musca hervei* Villeneuve への人工感染について. *日本獣医学雑誌*, 30(Suppl.), 211-212, 第66回日本獣医学会記事.
- 4) Klesov, M. D. (1949) : The biology of the nematoda *Thelazia rhodesi* Desmarest, 1827. *Dok. Akad. Nauk SSSR*, 66, 309-311.
- 5) Krastin N. I. (1950) : Determination of the cycle of development of *Thelazia gulosa*, parasite of the eye of cattle. *Dok. Akad. Nauk SSSR*, 70, 549-551, (Rev. Appl. Entomol., 40(B), 70, 1952).
- 6) 宮本健司 (1965) : 眼虫の中間宿主に関する研究. II. 東京都三宅島における調査. *衛生動物*, 16, 270-273.
- 7) 宮本健司・加納六郎・金子清俊・清水信政・赤松俊昌・長島朝吉・長岡正二・海老名六郎・萩野 克・森田邦治 (1965) : 眼虫の中間宿主に関する研究. I. 北海道新冠種畜牧場における調査. *衛生動物*, 16, 194-200.
- 8) 宮本健司・田中 寛・加納六郎 (1967a) : 牛寄生 *Thelazia* 感染幼虫の形態について. *寄生虫誌*, 16, 458-463.
- 9) 宮本健司・田中 寛・加納六郎 (1967b) : 眼虫の中間宿主に関する研究. III. 北海道・関東地区の総合的検討. *衛生動物*, 18, 255-259.
- 10) 宮本健司・篠永 哲・加納六郎・前田昭二・上

- 野克美・高橋敏治 (1973) : 眼虫の中間宿主に関する研究. IV. 千葉市における調査. 衛生動物, 24, 181-185.
- 11) 宮本健司・篠永 哲・加納六郎 (1975) : 眼虫の中間宿主に関する研究. V. 宮崎県および沖縄県における調査, 衛生動物, 26, 203-206.
- 12) Omori, N. (1958) : Experimental studies on the role of the house mosquito, *Culex pipiens pallens* in the transmission of bancroftian filariasis. 4. Development and longevity in days of filariae in mosquitoes kept at a series of constant temperatures. Nagasaki Med. J., 33, Suppl., 61-70.
- 13) Shinonaga, S., Miyamoto, K., Kano, R. and Maeda, S. (1974) : *Musca hervei* Villeneuve 1922 as an intermediate host of eyeworms (*Thelazia*) in Jap. J. Med. Ent. 11, 595-598.
- 14) Stoffolano, Jr. J. G. (1970) : Nematodes Associated with the Genus *Musca* (Diptera : Muscidae) Bull. Ant. Soc. Ameica, 16, 194-203.
- 15) Vilagiova, I. (1962) : The importance of flies for development of eye parasite the causal agents of Thelaziosis of cattle. Biologia, Bratislava, 17, 297-299 (Helm. Abstr., 33, Abstr. no. 1989, 1964).
- 16) Vilagiova, I. (1967) : Results of experimental studies on the development of preinvasive of preinvasive stage of worms of the genus *Thelazia* Bosc., (Spirurata : Nematoda), parasitic in the eye of cattle. Folia Parasit. Praha, 14, 275-280 (Helm. Abstr., 37, Abstr. no. 1230, 1968).

### Abstract

#### EXPERIMENTAL STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF *THELAZIA RHODESI* LARVAE IN THE INTERMEDIATE AND DEFINITIVE HOSTS

KENJI MIYAMOTO, SATOSHI SHINONAGA AND ROKURO KANO

(Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Bunkyo-Ku, 113, Japan)

In the previous papers, the authors and collaborators reported the results of epidemiological researches of the eye worms (genus *Thelazia*) in the cattle and its intermediate hosts (genus *Musca*) collected from endemic areas in Japan. Furthermore, it was found that the infective larvae which obtained from the flies under natural condition can easily identified species.

The present study deals with susceptibility of male and female of Oriental face fly (*Musca hervei*) for thelazian larvae (1), the influence of temperature to grow the larvae in the fly (2), and development of infective larvae in the definitive hosts experimentally (3).

The thelazian larvae used in the experimental studies mentioned above were collected from the mature adult worms dissected in saline solution. The larvae were suspended with 0.5 ml of physiological saline solution on the depression slide and were infected to starved flies at room temperature.

The adult flies used in this study were collected from the pasture in Chiba city and then the strain was maintained in the laboratory under 25-27 C. The flies which reared 2nd and 3rd generations were used for this study.

The results are as follows :

1. The infection rate of thelazian larvae to flies were showed about same results in male and female flies, and the preinfective form larvae infected to flies experimentally were developed to infective larvae.

2. The development of larvae in the fly was affected by temperatures (Fig. 7). Under 20 C condition, the larvae did not grow to infective larvae until the 60 th day after infection. Only a little number of sausage and slender type larvae were found in the abdomen. On the other hand, infective larvae were found in the abdomen on 15 th day after infection at 25 C. On the 25 th day after infection in the same temperature, all of larvae infected have developed to infective larvae. The larvae grow more rapidly at 30 C, namely, infective larvae were found in the heads of flies on the 12 th day after infection. The number of infective larvae increased on 15 th day after infection. From these results, it was suggested that the 20 C condition was inadequate for the developement of larvae in the intermediate hosts.

3. Fifty individuals of infective larvae recovered from flies were infected to each one eye of two cattle. Four young adult worms were collected on the 10 th day and 3 mature adults were recovered on the 20 th day after infection from the eye of the cattle (Table 2). It was supposed that infective larvae taken from the flies complete there development in the definitive hosts between 10 th and 20 th days after infection

4. We proposed that preinfective form larvae just oviposited from viviparous female will be called "microthelazia".