

寄生虫症の化学療法に関する研究 I

In vitro 実験法の検討ならびに広東住血線虫に対する Avermectin B_{1a} の弛緩性麻痺作用について

佐野 基人 寺田 護 石井 明

記野 秀人 林 道明

(昭和56年1月12日 受領)

Key words: chemotherapy, *in vitro* methods, isotonic transducer, avermectin B_{1a}, *Angiostrongylus cantonensis*, paralyzing effects

緒言

In vitro での寄生虫の自動運動と薬物との関係については, Rebello and Rico (1926) が豚の寄生虫 (*Macracanthorhynchus hirudinaceus* および *Ascaris suum*) で検討して以来, すでに多くの報告がある. 方法的にみると, 1) 肉眼的観察によるもの (小林, 板東, 1950; Tomosky *et al.*, 1974), 2) キモグラフィオンを用いるもの (Rebello and Rico, 1926; Baldwin, 1943; Chance and Mansour, 1949; 板東, 1951; Natoff, 1969; 林ら, 1979), 3) 張力トランスデューサー (force-displacement transducer) を用いるもの (Beerink *et al.*, 1963; 林ら, 1979) などである. また, 寄生虫種からみると, 従来のキモグラフィオン法で容易に研究できる大形寄生虫, すなわち豚回虫 (*A. suum*), 肝蛭 (*Fasciola hepatica*) などが一般的であった. しかし, 最近, 恐らく駆虫薬開発の必要性からか, マンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) の自動運動に関する報告が幾つかみられている. この寄生虫は, 特に小形であるため, 方法的にも, 実体顕微鏡下で肉眼的に観察するもの (Tomosky *et al.*, 1974), 小動物の行動研究用装置 (activity cage) の原理を応用したもの (Hillman and Senft, 1973), 張力トランスデューサーを用いるもの (Fetterer and Bennett, 1977; Pax *et al.*, 1978) など工夫がみられている.

著者らは日本住血吸虫 (*S. japonicum*), 広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*, Ac) など難治性寄生虫症の化学療法に関し研究を行なってきた (佐野, 1976; 佐野・石井, 1978; 佐野ら, 1980). 今回, その

浜松医科大学寄生虫学教室

一環として, *in vitro* での自動運動と薬物との関係についての研究に着手した. しかし, これら小形寄生虫種については, *in vitro* での自動運動研究法に関する報告が未だほとんどない.

そこで本研究では, 先ず, 小形寄生虫種に適用しうる *in vitro* 実験法について検討を加え, 肉眼的観察法およびアイソトニック・トランスデューサー (isotonic transducer) 法の両者を併用する実験法を確立, ついでこれら2方法を用いて, avermectin B_{1a} (Av-B_{1a}) のAcに対する弛緩性麻痺作用を明らかにしたので報告する.

材料および方法

1. 実験材料

Ac は, 実験的 Ac 感染ラット (Wistar 系雄, 感染後3~6ヶ月) の肺動脈および心臓から摘出し, 35Cに保温した Tyrode 液中で活発に運動している虫体を実験に供した.

2. 実験方法

1) 肉眼的観察法: Tomosky *et al.* (1974) がマンソン住血吸虫について報告した方法に種々改良を加えた. すなわち, 直接鏡検可能な特製試験管 (直径2.2cm, 高さ5.0cm) に, 1虫当たり4.0mlの実験液を加え, 35Cに保温, 薬液添加前および添加 $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3, 6および24時間後の自動運動を実体顕微鏡下で観察した. 実験液として Earle 液 (NaCl 6.8, KCl 0.4, CaCl₂ 0.2, MgSO₄ · 7H₂O 0.2, NaH₂PO₄ · H₂O 0.4, NaHCO₃ 1.05, glucose 1.0g/l, pH 7.4~7.5) を用い, これにウマ血清 (10%), ペニシリンGカリウム (100unit/ml), 硫酸ストレプトマイシン (100 μ g/ml) を加えた.

なお、薬液添加後、実験液の蒸発を防ぐ目的で流動パラフィン (1ml) を実験液上に積層した。この条件下では、最低、実験開始後48時間までは実験液にほとんど変化は認められず、対照群の虫体は活発な自動運動を示した。

薬物効果の判定は、虫体の頭部のS字状運動、尾部の左右運動および体中央部のいわゆる蠕動運動の収縮頻度をそれぞれ別個に評価、さらに数量的処理が可能となるように、データを数量化した。すなわち、各部位の評価は対照値を1.0、自動運動の増強は2.0 (著明なもの) および1.5 (軽度のもの)、抑制は0.0 (著明なもの) および0.5 (軽度のもの) とした。結局、虫体としての評価は、対照値3.0、観察され得る評価値の範囲は0.0~6.0となる。

薬物効果の判定に当つては、用量-作用曲線、用量-作用発現時間曲線などを作製し、判定の客観性向上を図つた。

なお、本実験には Ac の雌雄両虫体を用いた。

2) アイソトニック・トランスデューサー法: 35°C に保温した実験液を滴したマグヌス管 (容量 7.0ml) 内に一定の張力下に懸垂した虫体の自動運動を、アイソトニック・トランスデューサー (日本光電 K.K., TD112 S) を介して増幅記録した。実験液として、Tyrode 液 (NaCl 8.0, KCl 0.2, CaCl₂ 0.2, MgCl₂·6H₂O 0.1, NaH₂PO₄ 0.05, NaHCO₃ 1.0, glucose 1.0g/l, pH 7.9~8.1) を用いた。薬液の拡散を図る目的で、実験液には微量の空気を導通した。

なお、本実験には Ac の雌虫体を用い、負荷条件は 0.8~0.9g, 自動運動の増幅率は 15~30倍で記録した。

3) 試薬: avermectin B_{1a} (L-686, 895-oop, Merck) ウマ血清 (M. A. Bioproducts), ペニシリンGカリウム (明治), 硫酸ストレプトマイシン (明治), その他 (市販特級品) を用いた。

実験結果

1: Ac の自動運動に対する Av-B_{1a} の影響

1) 肉眼的観察法による検討

本実験では、各濃度当り 5~7 虫体を用いた。

Av-B_{1a} により Ac の自動運動は抑制され、虫体の弛緩が生じた。その作用力および作用発現時間は、いずれも濃度とよく対応していた (Fig. 1)。すなわち、 3.6×10^{-16} ~ 3.6×10^{-14} M では部分的麻痺、 3.6×10^{-13} ~ 3.6×10^{-9} M では完全麻痺が生じた。完全麻痺が生ずるまで

の所要時間は 3.6×10^{-9} M では作用後 15分以内、 3.6×10^{-11} ~ 3.6×10^{-12} M では 30~60分、 3.6×10^{-13} M では 1~2時間であつた。また、部分麻痺も 3.6×10^{-14} M の場合は 2~6時間、 3.6×10^{-15} M の場合 3~6時間、 3.6×10^{-16} M の場合 6時間でそれぞれの濃度における最大効果を生じた。肉眼的には雄虫体は伸展状に、また雌虫体は伸展状ないしコイル状となり静止態を呈した (Photo. 1)。

しかし、Av-B_{1a} の作用は観察時間の範囲では致死적ではなく、24時間までではいずれの濃度においても機械的刺激に応じ、一過性の運動がみられた。

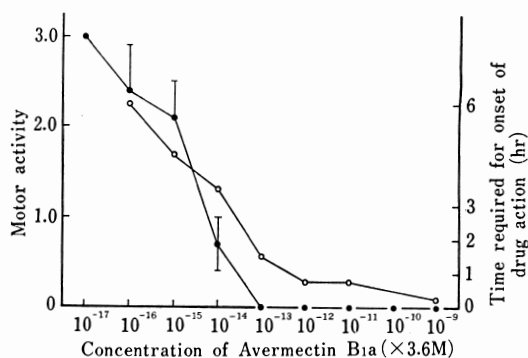


Fig. 1 Paralyzing effects of avermectin B_{1a} on *Angiostrongylus cantonensis* by the visual observation method.

The relationship between concentrations of avermectin B_{1a} and its response (●) and also the time required for the onset of its action (○) are shown. Values are expressed as mean±SE (vertical bars) (n =5-7).

2) アイソトニック・トランスデューサー法による検討

アイソトニック・トランスデューサー法は、肉眼的観察法に比し約100倍感受性が高かつた。すなわち、 3.6×10^{-19} M では2~3時間の観察時間内にほとんど影響が認められなかつたが、 3.6×10^{-18} M 以上の濃度では虫体の弛緩および自動運動の抑制がみられた。完全な麻痺反応を呈するまでに要する時間は濃度に依存しており、 3.6×10^{-18} M では約100分、 3.6×10^{-19} M では約10分であつた (Figs. 2, 3)。

いずれの濃度についても、完全な弛緩性麻痺作用が生じた後に薬剤を含まない実験液で洗浄しても回復はみられなかつた。

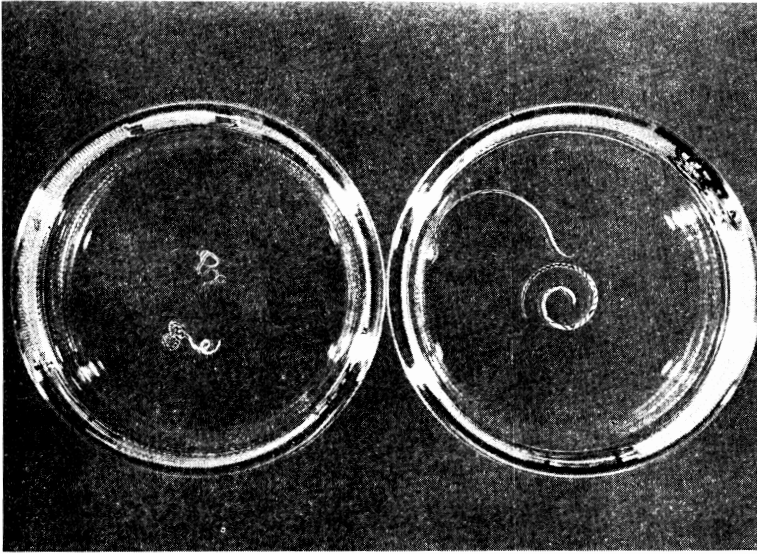


Photo. 1 Paralyzing effects of avermectin B_{1a} on *Angiostrongylus cantonensis*. Right worms were treated with avermectin B_{1a} at a concentration of 3.6×10^{-9} M for 15min. Left worms were not treated.

2. Ac に対する Av-B_{1a} の弛緩性麻痺作用の持続性に関する検討

1) 肉眼的観察法による検討

Av-B_{1a} の 3.6×10^{-13} , 3.6×10^{-11} および 3.6×10^{-9} M の薬液に Ac を 1～60 分浸漬, 薬剤を含まない実験液で充分洗浄後, この実験液中での自動運動の回復を 1～24 時間にわたり観察した. 本実験には, 各濃度当り 6 虫の Ac を用いた (Fig. 4).

実験 1 と同様, いずれの濃度の場合も, 薬液への浸漬時間に応じ, 虫体の自動運動の抑制がみられた (Fig. 3, 0 時間の値).

3.6×10^{-13} と 3.6×10^{-11} M の場合, 薬液の濃度が高い程, また浸漬時間が長い程自動運動の回復が悪く, 薬剤を含まない実験液中での経過時間が長い程良好であった.

一方, 3.6×10^{-9} M の場合, 5 分以上の浸漬ではほとんど自動運動の回復がみられなかった.

2) アイソトニック・トランスデューサー法による検討

アイソトニック・トランスデューサー法の方が感度が良いので, 本実験では 3.6×10^{-14} , 3.6×10^{-12} および 3.6×10^{-10} M について検討した. これらの濃度の Av-B_{1a} に浸漬した場合, Fig. 3 にも示した如く, それぞれ約 30, 20 および 10 分で完全な弛緩性麻痺を示した.

3.6×10^{-14} M の場合 (Fig. 5-A) : 5～10 分の浸漬後

に洗浄した場合には自動運動の回復がみられた. しかし, 6 時間後までの観察時間内には弛緩の回復はみられなかった.

3.6×10^{-12} M の場合 (Fig. 5-B) : 1～2.5 分の浸漬後に洗浄した場合には, 3.6×10^{-14} M の場合と同様に自動運動のみの回復が認められた. しかし, 10 分の浸漬後に洗浄した場合には回復は認められなかった.

3.6×10^{-10} M の場合 (Fig. 5-C) : 2 分の浸漬後に洗浄しても回復は認められなかった.

考 察

寄生虫の自動運動と駆虫効果

寄生虫の示す自動運動は, 寄生虫自体にとっては宿主体内での寄生部位への到達, 寄生状態の保持などから極めて重要な意義を持つ.

また宿主側からみると, この自動運動は寄生虫による病害 (機械的刺激, 迷入など) として現われたり, 駆虫薬の作用との関係などに深いかかわりがある. とくに駆虫薬の作用の面からみると, 寄生虫の自動運動の抑制は, 駆虫効果と密接に関連する. すなわち, 駆虫効果は駆虫薬が寄生虫の持つ何らかの機能を抑制する結果生ずる訳であるが, 多くの場合, 宿主側の機能も重要な役割を果たす. たとえば, 腸管寄生虫であれば, 宿主腸管の蠕動運動による排出, 一方血液ないし組織寄生虫であ

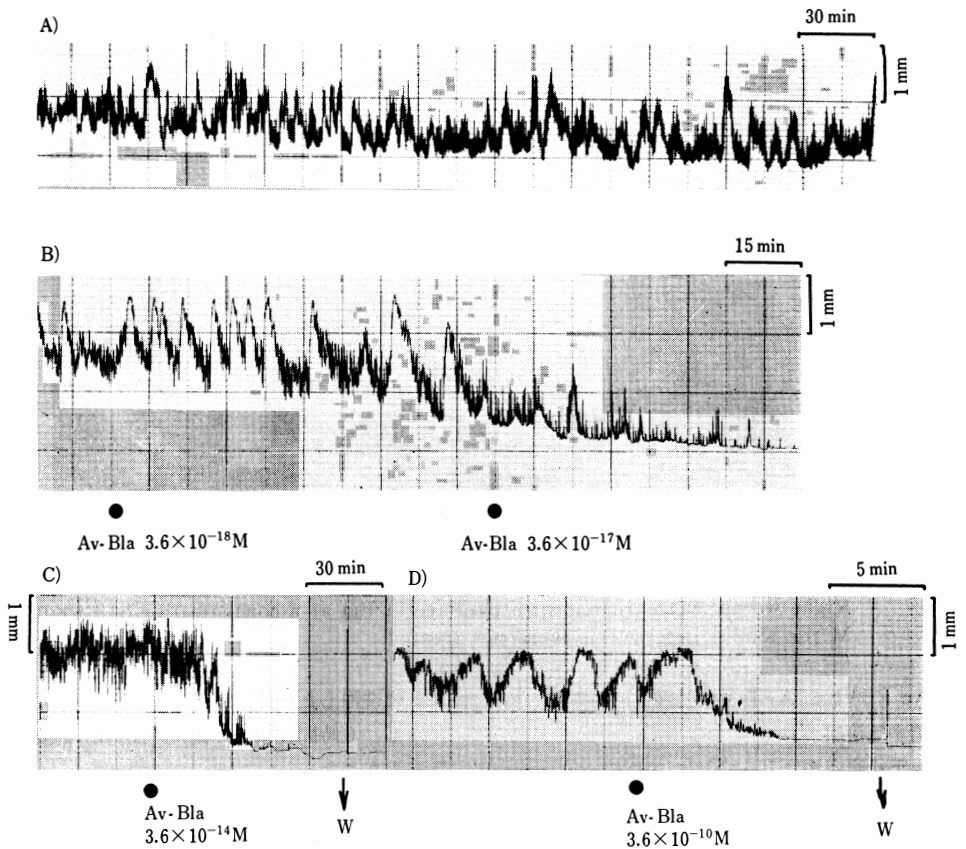


Fig. 2 Paralyzing effects of avermectin B_{1a} on *Angiostrongylus cantonensis* by the isotonic transducer method.

The upper trace (A) shows the control activity. Other traces show the motility of worms treated with avermectin B_{1a} at concentrations of $3.6 \times 10^{-18} \text{M}$ and $3.6 \times 10^{-17} \text{M}$ (B), $3.6 \times 10^{-14} \text{M}$ (C) and $3.6 \times 10^{-10} \text{M}$ (D). At the point of W, the worms were washed by Tyrode's solution.

ば、宿主組織への捕捉、それに引き続く組織反応による殺虫などである (Woolhouse, 1979)。この場合、駆虫薬の作用を受ける寄生虫側の機能としては、エネルギー代謝機構、神経生理機構、収縮機構などが主たるものと思われる。これらの機能の低下は、現象的には自動運動の抑制、産卵数の減少などとして現われ、直接的、間接的に駆虫効果の発現とかかわる。従つて、薬物の駆虫効果の有無を寄生虫の自動運動に対する作用でスクリーニングすることはかなりの妥当性を持つものと思われる。現に多くの既存駆虫薬は、寄生虫のエネルギー代謝、神経生理機構などに阻害的影響を及ぼし、その自動運動を抑制することが知られている (Mansour, 1964)。

従つて、寄生虫の自動運動の抑制作用の有無とかその

機序を、比較的容易にしかも明確に追究できる *in vitro* 実験は、駆虫薬研究の一アプローチとして意義深いものと考えられる。しかし、従来の *in vitro* 実験法では小形寄生虫種の微弱な自動運動を適確に観察できなかった。そこで今回、小形寄生虫種に適用できる *in vitro* 実験法についての検討を行なつた。

In vitro 実験法の検討

まず、肉眼的観察法は、Tomosky *et al.* (1974) が Manson 住血吸虫の自動運動について報告している方法を参考とした。Table 1 に要約した如く、彼らは 37°C に保温したガラス皿上の虫体の自動運動を 15 分間観察している。著者らは、Table 1 に示した如き各種工夫、すなわち、容器、実験液、抗生物質および流動パラフィンな

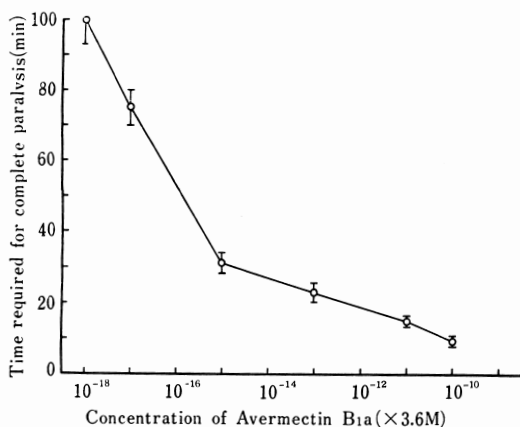


Fig. 3 Concentration-response curve of avermectin B_{1a} in *Angiostrongylus cantonensis* by the isotonic transducer method. Values are expressed as mean \pm SE (vertical bars) (n=5-9).

どに関する工夫により、多数検体の長時間にわたる観察を比較的簡易に行なうことを可能とした。また、判定における客観性の向上に関する工夫も行なつた。すなわち、虫体全体にわたって生ずる収縮運動の回数および吸

盤の状態による従来の評価法の簡易化、数量化および評価値における不均衡の是正などにより、数量的処理、用量-作用曲線の作製などが可能となつた。

次に、アイソトニック・トランスデューサー法について検討した。従来のキモグラフィオン法では、等張性、すなわち一定の張力下に懸垂した標本の自動運動を挺子を介して煤煙紙上に描記する。また、張力トランスデューサー法では、等尺性、すなわち一定の長さに懸垂した標本の自動運動を一旦張力に変換して増幅記録する。従つて、前者では挺子の原理自体の限界により、一方後者では自動運動を一旦張力に変換することにより、両者とも微弱な自動運動の記録には適さない。今回導入したアイソトニック・トランスデューサー法は、キモグラフィオンと同様の等張性変化(変位)を回転型差動トランスの原理により直接電圧の変化に変換、増幅記録する方法であり、小形寄生虫種の微弱な自動運動を高感度に記録できる。事実、この方法について諸種条件を検討した結果、Ac ならびに各種寄生蠕虫の示す自動運動を、確実に高感度に記録することができた(佐野ら, 1981)。この方法は、感度、結果の客観的記録などの点で肉眼的観察法に勝るが、しかし同時に少数検体の、しかも比較的

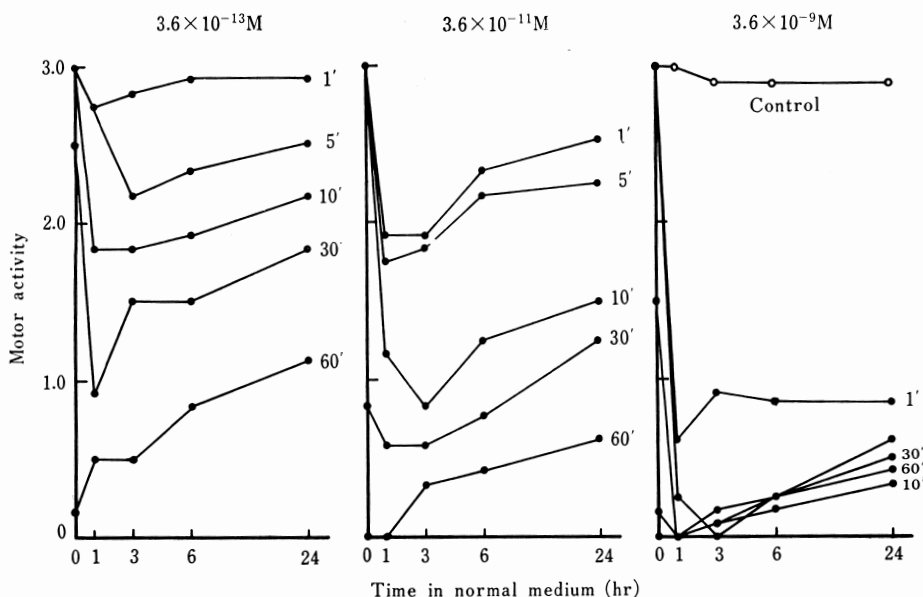


Fig. 4 Recovery in the motility of *Angiostrongylus cantonensis* pretreated with avermectin B_{1a} by the visual observation method. Worms were treated with avermectin B_{1a} at various concentrations for 1-60min. Then, they were washed and maintained in medium without the drug for 24hr. Values are expressed as mean for six worms.

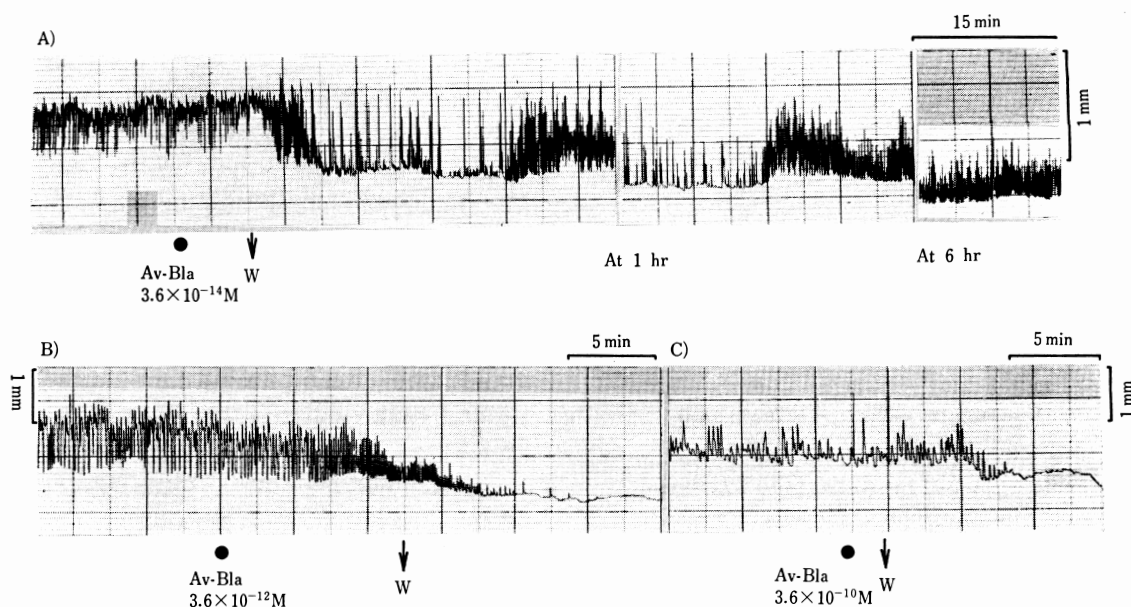


Fig. 5 Recovery in the motility of *Angiostrongylus cantonensis* pretreated with avermectin B_{1a} by the isotonic transducer method.

Worms were treated with avermectin B_{1a} at concentrations of $3.6 \times 10^{-14} \text{M}$ for 7.5min (A), $3.6 \times 10^{-12} \text{M}$ for 10min (B), and $3.6 \times 10^{-10} \text{M}$ for 2min (C), respectively. Then, they were washed by Tyrode's solution.

短時間にわたる検討しかできない。

なお、*in vitro* 実験法に用いる実験液の適否に関しては、古くから検討が加えられているところであるが、寄生虫種、実験目的などにより当然異なるはずである。今回の Ac については、できるだけ単純な実験系で行なうべく、先ず塩類組成の選択を行なったところ、肉眼的観察法では Earle 液が、一方、アイソトニック・トランスデューサー法では Tyrode 液が良好であった。しかし、肉眼的観察法は、少量の実験液内で長時間にわたり観察を行なうため、血清、抗生物質などの添加が必須であった。

実験液の選択には、今後更に改善の余地があるかもしれないが、異なる実験系よりなる複数の実験法を併用することは、薬理活性のスクリーニングにおいて一般的に行なわれ、重要な点と思われる。

Ac の自動運動に対する Av-B_{1a} の影響

次に、これら *in vitro* 実験法を用いた具体的実験例として Ac の自動運動に対する Av-B_{1a} の作用を示しながら、本実験法の妥当性および *in vitro* 実験の特徴、意義などを考察してみたい。Av-B_{1a} は *Streptomyces avermitilis* から得られる巨大な環状ラクトンを含む抗

生物質であり (Fig. 6), *in vivo* で犬糸状虫 (*Dirofilaria immitis*) の仔虫、犬鉤虫 (*Ancylostoma caninum*) など動物寄生線虫に対する駆虫効果が報告されている (Egerton *et al.*, 1979). 今回の *in vitro* 実験で、Av-B_{1a} は肉眼的観察法 (Fig. 1 および Photo. 1) およびアイソトニック・トランスデューサー法 (Figs. 2, 3) のいずれにおいても Ac に対し、極めて低濃度から、濃度依存的な弛緩性麻痺作用を示すことが明らかとなった。すなわち、特徴、利点の異なる二つの実験法を併用することにより、薬物の効果をより正確に観察することを企図したが、Av-B_{1a} の場合も、肉眼的観察法では同時に多数検体を長時間にわたり検討することにより、また、アイソトニック・トランスデューサー法では薬物の効果を高感度に、客観的に記録することにより弛緩性麻痺作用を認めることができた。しかも、両方法によりほぼ一致した結果を得ることができた。さらに、これら両方法を用い、hexylresorcinol, bithionol など各種既知駆虫薬のそれぞれに感受性を持つとされる寄生蠕虫に対する作用を検討すると、確実にそれらの作用が観察された (佐野ら, 1981). 従つて、本法は *in vitro* で寄生虫の自動運動と薬物との関係を追究する実験法とし

Table 1 Experimental system of visual observation method

	Authors	Tomosky <i>et al.</i> (1974)
1) Objective worms:	Various worms including <i>Angiostrongylus cantonensis</i> and <i>Schistosoma japonicum</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>
2) Vessel:	Test tube (2.2×5cm)	Covered glass dish (thermostatically controlled slide warmer)
3) Medium:	Earle's solution (pH7.4-7.5), 10% horse serum, 100 unit/ml penicillin G potassium salt, 100 µg/ml streptomycin sulfate (4 ml/ <i>A. cantonensis</i>) Liquid paraffin 1 ml	75% horse serum (2 ml/ <i>S. mansoni</i>)
4) Period and temperature:	1/4, 1/2, 1, 2, 3, 6, 24 hr at 35 C	15 min at 37 C
5) Estimation:		
Sites observed:	3-4 (different portions)	1 (over a whole body)
Criteria:	Estimation at one site: Control activity: 1.0, frequency of contraction, conditions of acetabulum and so on Increase in motor activity: 1.5 (moderate), 2.0 (marked) Decrease in motor activity: 0.5 (moderate), 0.0 (marked) Estimation as a whole worm: Control activity: 3.0 or 4.0 Observed activity: 0.0-6.0 or 8.0	Control activity: + frequency of contractions (60-90/min, 100%), conditions of acetabulum (adhered to the surface of the dish) Increase in motor activity: ‡ (moderate): frequency of contractions 130-150% ‡‡ (marked): frequency of contractions 160-200%, acetabulum (adherence was observed only occasionally) ‡‡‡ (very marked): frequency of contractions more than 200%, acetabulum (no adherence) Decrease in motor activity: ±: frequency of contractions 10-70% -: frequency of contractions less than 10%

て十分に満足しうるものと考えられる。短期間に、しかも比較的簡単に実験できる *in vitro* 実験で駆虫効果の有無をスクリーニングすることは駆虫薬発見の可能性を高め、*in vivo* 実験の効率を高めるものと考えられる。著者らも、*in vitro* 実験でみられた Av-B_{1a} の持続性麻痺作用から Ac 感染ラットに対する駆虫効果を予測し、事実 *in vivo* での効果も認められている。

次に、本法を用いて行なつた実験で、Av-B_{1a} の作用の特徴を明らかにできた。すなわち、Ac に対し、Av-

B_{1a} は致死的ではないが、持続性の弛緩性麻痺作用を示すことが明らかとなつた (Figs. 4, 5)。持続性作用の発現に必要な濃度および作用時間なども明らかにできたが、このような知見は *in vitro* 実験でのみ観察可能なものである。これらの知見を、*in vivo* 実験での Av-B_{1a} の生体内動態、すなわち吸収、分布、血中濃度、排泄などに関する知見と併せ検討すれば、Av-B_{1a} の投与方法、投与量などに関し有益な情報が得られるであろう。*in vitro* 実験で得られる駆虫薬作用の特徴、発現機

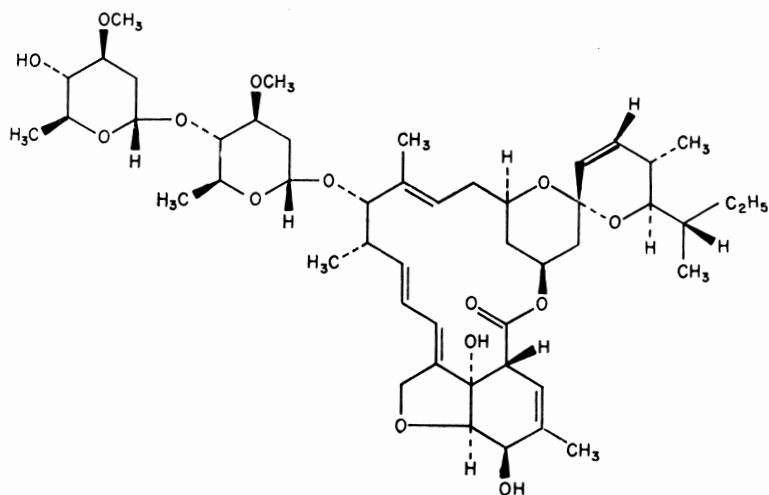


Fig. 6 Chemical structure of avermectin B1a.

序などに関するこのような知見は、*in vivo* 実験に有益な手がかりを与え、ひいては、より有効でより安全性の高い駆虫薬の開発およびその用法についての情報を与えるものと考えられる。

結 論

小形寄生虫種の自動運動に及ぼす各種薬物の作用を追究するための *in vitro* 実験法に検討を加え、ついで、これらの方法を用いて Av-B1a の Ac に対する弛緩性麻痺作用を見出した。

1) 従来の肉眼的観察法に種々改良を加え、同時に多数検体を長時間 (1/4~24時間) にわたり検討することが可能となった。また、評価データの数量化により、数量的処理、用量-作用曲線などの作製が可能となり、薬物効果判定における客観性向上も図ることができた。

2) アイソトニック・トランスデューサー法の導入により、小形寄生虫種の示す微弱な自動運動を確実に高感度に記録することができた。

3) 上記2方法を併用することにより、多くの寄生蠕虫の自動運動と薬物との関係の検討に可能性が認められた。本研究ではその一例として、Ac の自動運動に対する Av-B1a の影響を検討し、 3.6×10^{-18} ないし 3.6×10^{-16} M という低濃度から、持続性の弛緩性麻痺作用を示すことを明らかにした。

本研究の要旨は、第40回日本寄生虫学会東日本大会で発表した。

文 献

- 1) Baldwin, E. (1943): An *in vitro* method for the chemotherapeutic investigation of anthelmintic potency. *Parasitology*, 35, 89-111.
- 2) 板東丈夫 (1951): 諸種駆虫薬の作用機序に就ての実験的研究. *東京医誌*, 59, 39-54.
- 3) Beernink, K. D., Nelson, S. D. and Mansour, T. E. (1963): Effect of lysergic acid derivatives on the liver fluke *Fasciola hepatica*. *Intern. J. Neuropharmacol.*, 2, 105-112.
- 4) Chance, M. R. A. and Mansour, T. E. (1949): A kymographic study of the action of drugs on the liver fluke (*Fasciola hepatica*). *Brit. J. Pharmacol.*, 4, 7-13.
- 5) Egerton, J. R., Ostlind, D. A., Blair, L. S., Eary, C. H., Suhayda, D., Cifelli, S., Riek, R. F. and Campbell, W. C. (1979): Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Efficacy of the B1a component. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 15, 372-378.
- 6) Fetterer, R. H. and Bennett, J. L. (1977): *Schistosoma mansoni*: Direct method for simultaneous recording of electrical and motor activity. *Exp. Parasit.*, 43, 286-294.
- 7) 林 栄一・春野明弘・清水 武・寺田 護 (1979): 豚回虫の生存に及ぼす酸素圧の影響(10) 豚回虫筋の収縮反応に及ぼす酸素圧および呼吸阻害薬の影響. *寄生虫誌*, 28, 1-13.
- 8) Hillman, G. R. and Senft, A. W. (1973):

- Schistosome* motility measurements: Response to drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 185, 177-184.
- 9) 小林芳人・板東丈夫 (1950): 駆虫薬の効力検定に関する研究, 殊にサントニンに就ての知見. *日薬理誌*, 45, 75-123§.
- 10) Mansour, T. E. (1964): The pharmacology and biochemistry of parasitic helminths. *Ad. in Pharmacol.*, 3, 129-165.
- 11) Natoff, I. L. (1969): The pharmacology of the cholinceptor in muscle preparations of *Ascaris lumbricoides* var. *suum*. *Brit. J. Pharmacol.*, 37, 251-257.
- 12) Pax, R., Bennett, J. L. and Fetterer, R. (1978): A benzodiazepin derivative and praziquantel: Effects on musculature of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 304, 309-315.
- 13) 佐野基人 (1976): 日本住血吸虫症の化学療法剤. *医学のあゆみ*, 98, 807-809.
- 14) 佐野基人・石井 明 (1978): 日本住血吸虫感染マウスの Isothiocyanate 誘導体, CGP-4540 による実験的治療 について. *薬理と治療*, 6, 1441-1446; 6, 1929-1935.
- 15) 佐野基人・林 道明・石井 明・記野秀人 (1980): 広東住血線虫の研究 (2), 感染ラットの治療試験. *寄生虫誌*, 29 (1・補), 7.
- 16) 佐野基人・寺田 護・石井 明・記野秀人・藤生好則 (1981): 寄生虫の自動運動に及ぼす各種薬物の影響 (2), *Angiostrongylus cantonensis* に対する Avermectin B_{1a} の弛緩性麻痺作用. *寄生虫誌*, 30 (1・補), 15.
- 17) Rebello, S. and Rico, J. T. (1926): La réactivité des helminthes étudiée par la méthode graphique. *Macracanthorhynchus hirudinaceus*. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 94, 915-919.
- 18) Tomosky, T. K., Bennett, J. L. and Bueding, E. (1974): Tryptaminergic and dopaminergic responses of *Schistosoma mansoni*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 190, 260-271.
- 19) Woolhause, N. M. (1979): Biochemical and Pharmacological effects in relation to the mode of action of antischistosomal drugs. *Biochem. Pharmacol.*, 28, 2413-2418.

Abstract

STUDIES ON CHEMOTHERAPY OF PARASITIC HELMINTHS(I), ON THE *IN VITRO* METHODS AND PARALYZING EFFECTS OF AVERMECTIN B_{1a} ON *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS*

MOTOHITO SANO, MAMORU TERADA, AKIRA I. ISHII,
HIDETO KINO AND MICHIAKI HAYASHI

(*Department of Parasitology, Hamamatsu University School of
Medicine, Hamamatsu 431-31, Japan*)

The *in vitro* methods were devised to study effects of drugs on the motility of parasitic helminths, especially of smaller ones. Using these methods, the effects of avermectin B_{1a} on the motility of *Angiostrongylus cantonensis* were studied.

1) By improving the early method by visual observation under a light microscope, it became possible to examine many subjects at the same time for long periods. And by quantifying the data obtained, it also became possible to study the relationship between doses of drugs and the responses to drugs or the time required for the onset of drug action.

2) By the use of the newly devised isotonic transducer (TD-112S, Nihon Koden Co.), the faint motility of smaller worms could be successfully recorded with a high sensitivity.

3) Using these two methods, it was shown that avermectin B_{1a} at concentrations of 3.6×10^{-18} M or more (by the isotonic transducer method) or 3.6×10^{-16} M or more (by the visual observation method) caused a sustained inhibition in the motility, with a relaxation in *A. cantonensis*.