

ヌードマウスに感染した *Litomosoides carinii* に対する diethylcarbamazine の 抗マイクロフィラリア効果

野上 貞雄 田中 寛 松田 肇

(昭和57年5月24日 受領)

Key words : diethylcarbamazine, *Litomosoides carinii*, nude mouse, microfilaricide, microfilaria, ELISA

緒言

Diethylcarbamazine (DEC) は、その抗マイクロフィラリア (mf) 作用が発表されてから35年たった現在でもその作用機序に不明な点があるために興味が持たれているが、*in vitro* の実験では DEC に直接的な殺 mf 作用がない (Hewitt *et al.*, 1947) ことから宿主側の関与についての研究がなされてきた。その結果、液性免疫や細胞性免疫などの関与が DEC の作用に重要であると報告されている (小林ら, 1969; Tanaka *et al.*, 1977; 高岡・田中, 1978)。

本研究では、*Litomosoides carinii* に感染したヌードマウスを用いて DEC の抗 mf 効果を観察し、その作用機序における宿主側の免疫的関与の検討を行った。

材料および方法

1. *Litomosoides carinii*

実験に用いた *L. carinii* は、1953年より当研究部においてコトナラット (*Sigmodon hispidus*) とイエダニ (*Ornithonyssus bacoti*) の系で継代しているものである。

イエダニは、上部にニクロム線を貼って通電したガラス水槽の中で全期間飼育した。

感染幼虫は、McCall (1976) の方法にほぼ準じ、感染イエダニに暴露させたコトナラットの生皮より Hanks

塩類緩衝液中に遊出したものを用いた。

10日齢幼虫は、Ah and Burke (1976) の方法にほぼ準じ、感染イエダニに暴露した10日後にコトナラット胸腔から回収したものを用いた。

マウスへの感染は、インシュリン用注射器 (B-D and PLASTPAK) を用い、感染幼虫は鼠径部皮下に、10日齢幼虫は右胸腔内に注入した。

2. マウス

実験に用いたマウスは、生後4~5週齢の BALB/c 系のヌードマウス (nu/nu) および有毛マウス (nu/+, +/+) で、SPF 条件下で飼育した。

3. ミクロフィラリア (mf) の検査

血中の mf 数は、マウス尾端を穿刺して出血せしめた血液を、メランジュール型ピペットで5 μ l ずつ定量的にとつて塗沫標本を作り、乾燥、溶血、固定、アズールII 染色を行い鏡検した。

4. Diethylcarbamazine (DEC)

用いた DEC は、市販の動物用スパトニン注射液 [田辺製薬 (株), diethylcarbamazine citrate 200mg/ml 含有] で、投与は PBS (pH 7.2) で10倍に希釈したものを、マウス体重10g 当り0.1ml ずつ腹腔内に注入した。

5. 酵素抗体法 (ELISA)

L. carinii 成虫抗原に対するマウス血清中の抗体の検出には、ポリスチレンプレートを用いたマイクロ ELISA-A を行い、手技は松田ら (1982) の方法に従った。

A. 抗原: 抗原は、*L. carinii* 成虫の0.02% Na₂S₂O₃ 加炭酸緩衝液 (0.05M, pH 9.6) 抽出粗抗原を用いた。至適抗原濃度は、*L. carinii* 成虫免疫家兎血清と標識抗家兎 IgG の系で検討した。

This investigation received support from the filariasis component of the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.

東京大学医科学研究所寄生虫研究部

B. 標識抗体：ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG 抗体の至適濃度は、日本住血吸虫卵抗原と日本住血吸虫感染マウス血清の系で検討した。

C. 陽性判定：6匹の未感染ヌードマウス (BALB/c nu/nu, ♀) のプール血清を 1:40の稀釈で各プレート毎に反応を行い、その吸光度の2倍値以上をそのプレートにおける陽性限界として判定した。

以上の基礎条件から、抗原濃度を $5 \mu\text{g/ml}$ (蛋白濃度)、標識抗体は400倍として *L. carinii* 感染マウス (ICR) と対照の非感染マウス (BALB/c nu/nu 7例, BALB/c 5例, DDD 10例) の血清を用いて反応系の確認を行い、特に偽陽性例がない事を確認して本研究に使用した。

結 果

1. *L. carinii* 10日齢幼虫の胸腔内移入法によるマウスの感染

L. carinii のヌードマウス (nu/nu) における感受性を検討し、さらに同系の有毛マウス (nu/+, +/+) と比較した。

感染方法はコトラット胸腔より得た10日齢幼虫を40虫ずつ7匹のヌードマウス (BALB/c nu/nu, ♀) の胸腔に注入した。

移入19週後に剖検した結果、7例中5例から虫体が回収された。血中の mf の検査を移入5週後から19週後まで毎週行ったところ、7例のうち4例のヌードマウスに mf 血症が認められたが、移入11週後を頂点として自然消滅することが示された (Fig. 1)。

ヌードマウスに *L. carinii* が感染する事が認められたので、対照群として有毛マウス2系統 (BALB/c nu/

+, +/+) を用い、感受性を胸腔内移入法を用いて比較検討した。10日齢幼虫は、30虫ずつ注射器にとつてマウス胸腔に1回注入し、注入後に注射筒内の洗滌により回収された未注入の幼虫数を差し引いたものを真の移入数とした。予備実験から比較的回収率のよい移入3週後と、すでに成虫になつていると思われる10週後にマウスにおける感染率を観察した。

3週後の剖検の結果、3系統のマウス全例に感染が認められたが、その様相はヌードマウスと他の2系統ではかなり異つていた (Table 1)。すなわち幼若虫の回収はヌードマウスでは75.1%とかなり高い回収成績が示されたが、他の2系統では約40%と低く、また胸腔内に多数の滲出細胞が認められた。

10週後の剖検では、ヌードマウスで全例に感染が認められたが、他の2系統では約半数例であつて、回収数も少なかつた。またヌードマウスを含めて3系統のマウスの胸腔内には吸収中の死虫と思われる白塊が認められた。感染率の高かつたヌードマウスについての詳細は Table 2 に示したが、回収された成虫は雄が多く、また雌は死虫や滲出細胞などで被囊化している虫体が多く、この傾向は有毛マウスの2系統においても同様であつた。

血中 mf の検査は移入5週後から毎週行い、ヌードマウスでは移入6週後から mf 血症が認められたが、他の2系統のマウスでは虫体のいる胸腔内においても認められなかつた。

以上の結果から、最も感染性の高い方法と思われる10日齢幼虫の胸腔内移入法でマウスに感染させた場合、有毛マウスでも部分的に感染は成立するが、末梢血中に mf が認められるようになるのはヌードマウスにおいて

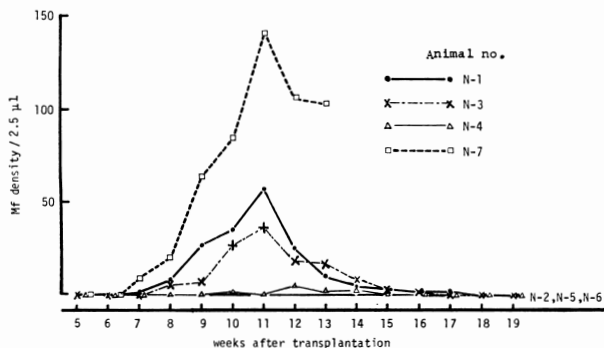


Fig. 1 Occurrence of microfilaraemia in nude mice (BALB/c nu/nu) transplanted with 40 *Litomosoides carinii* worms 10-day-old.

Table 1 Infectivity of *Litomosoides carinii* in three kinds of mice following transplantation by intrapleural injection with 10-day old larvae

Mouse	3 weeks after transplantation			10 weeks after transplantation		
	No. of mice	No. of mice with live worms	% recovery* (Mean±SD)	No. of mice	No. of mice with live worms	Ratio of mf positive†
BALB/c nu/nu	8	8	75.1±16.8	10	10	6/6
BALB/c nu/+	8	8	38.3±19.5	9	4	0/4
BALB/c +/+	8	8	41.9±19.1	10	4	0/1

* No. of live worms recovered/No. of 10-day old larvae transplanted

† No. of mf positive mice/No. of mice with both sexes of worms

Table 2 Recovery of *L. carinii* in nude mice (BALB/c ♂) following transplantation by intrapleural injection with 10-day old larvae

Mouse no.	Weeks after transplantation	No. of larvae transplanted	No. of worms recovered			Mf density/5 μ l at	
			♂	♀	dead*	7 weeks	10 weeks
1	13	20	2	2	††	154	1290
2	13	26	11	0	‡‡	596	1640
3	13	28	5	0	††	104	671
4	13	28	5	0	+	198	675
5	13	22	4	0	+	372	832
6	13	24	2	2	††	118	784
7	10	23	4	0	—	0	0
8	10	23	1	0	—	0	0
9	10	24	4	0	—	0	0
10	10	26	0	1	—	0	0

* Relative mass of lysed dead worms in pleural cavity.

のみであった。

2. ノードマウスにおける *L. carinii* 感染幼虫による感染と血中 mf に対する DEC の抗 mf 効果

ノードマウスで10日齢幼虫の胸腔内移入により mf 血症が起こることが認められたので、次に感染幼虫による感染を試みた。15匹のノードマウス (BALB/c nu/nu, ♀) に30匹ずつの感染幼虫を皮下注射して感染させた。Mf 検査は感染6週後から始め、一部は長期観察を行った。

その結果、15匹中12匹が mf 陽性になり、そのうちの10匹を DEC の投与実験に供した。血中 mf は11例が本来の宿主の場合と同様に7週後に mf 陽性となったが、他の1例は16週後であった。血中 mf 数の推移は、10日齢幼虫の胸腔内移入法の時と若干異なり45週後まで mf が認められた例があつた (Fig. 2)。45週後まで mf が認められたノードマウスを54週後に剖検したが、胸腔内に

mf や生きている虫体は認められなかつた。また24週後に血中 mf が自然消滅したノードマウスを34週後に剖検した結果、生きている2匹の雄虫が認められたが mf は認められなかつた。

ノードマウスにおける *L. carinii* の血中 mf 数の推移は、本来の宿主であるコトナラットと異なつたので、10日齢幼虫移入法および感染幼虫注入法のいずれの方法でも血中 mf 数が上昇時期にある感染9週後に DEC の投与実験を行った。

前記の10匹の mf 陽性ノードマウスを2群に分け、6匹は DEC の200mg/kg 腹腔内投与に供し、他方の4匹は同容量の PBS 腹腔内投与を行い対照とした。投与直前の DEC 投与群と対照群の血液5 μ l 中の mf 数の平均と標準偏差は、各々385.8±237.2と341.3±171.6であつた。

投与直前の各々のマウスの mf 数を100%とした場合、

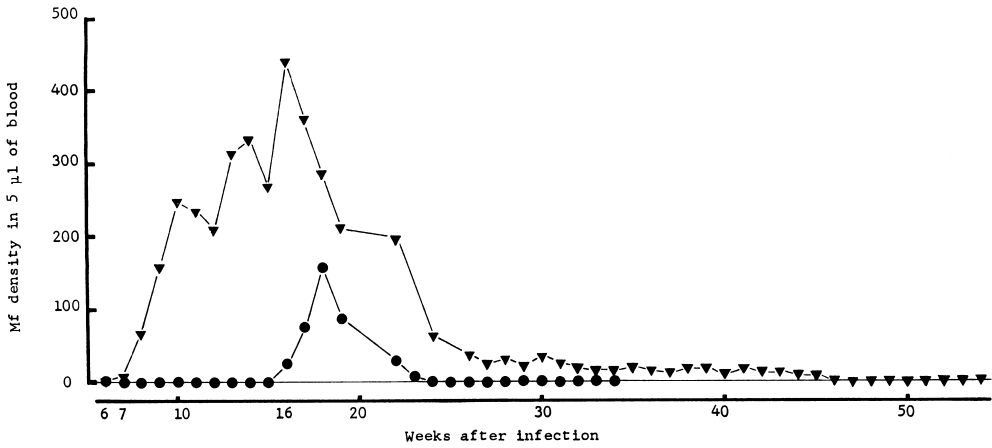


Fig. 2 Microfilaria density in the peripheral blood of two nude mice (BALB/c ♀) infected with infective larvae of *Litomosoides carinii* by subcutaneous injection. Animals were sacrificed at 18 weeks and 54 weeks after infection, respectively.

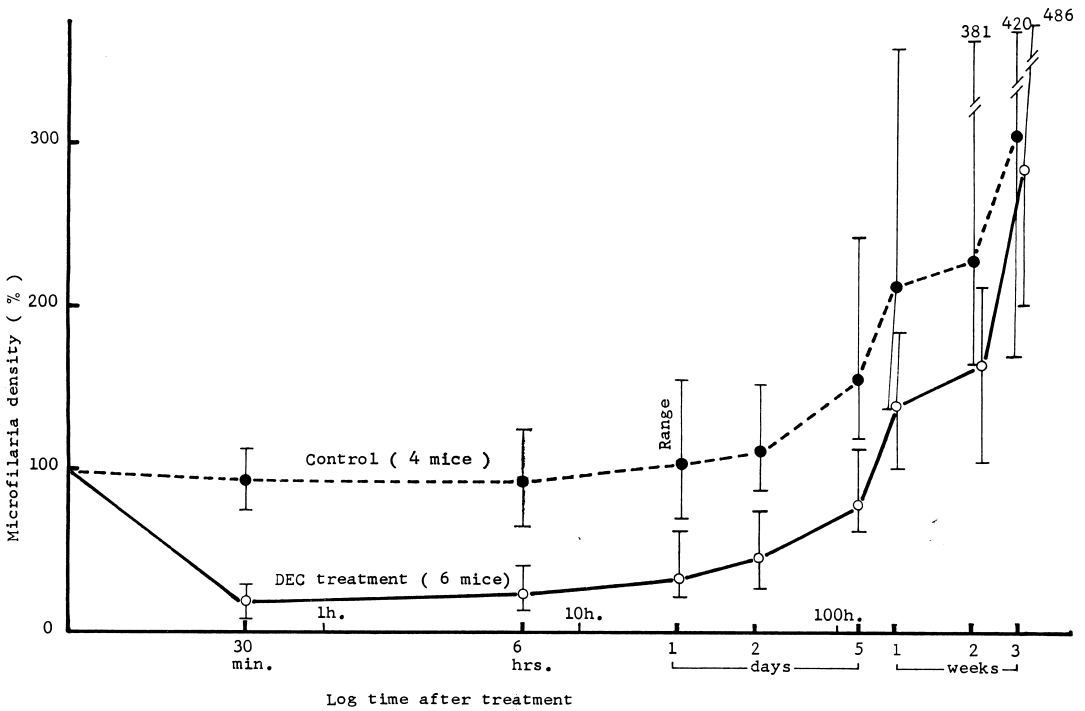


Fig. 3 Effect of a single intraperitoneal injection of DEC (200mg/kg) on microfilariae of *Litomosoides carinii* in nude mice 9 weeks after inoculation of infective larvae obtained by hide penetration method. Mean microfilaria density in 5 µl of blood before and 3 weeks after treatment, 341 and 934 in control, 386 and 1,083 in treated mice, respectively.

DEC 投与群では投与直後に急激な減少が全例に認められた。Mf 数はその後上昇し、1 週後では平均138%となった (Fig. 3)。一方この時対照群では実験時期が mf 数

の上昇時期であるために平均212%とより高い上昇を示していた。投与3 週後では投与群と対照群に差はなく、従つて DEC の抗 mf 効果は投与時に血中に存在した

Table 3 Frequency distribution of ELISA titers of sera from mice against adult worm antigen of *Litomosoides carinii*

Mouse		weeks after infection	Method of infection		No. of mice				
			Stage of larva	Route of injection†	<40	ELISA titer			
					40	80	160	320	
BALB/c nu/nu	♂	3	10-day-old	i.t.	8	0	0	0	0
	♂*	10	10-day-old	i.t.	4	0	0	0	0
	♂*	13	10-day-old	i.t.	6	0	0	0	0
	♀	9	L ₃	s.c.	10	0	0	0	0
	♀†	12	L ₃	s.c.	6	0	0	0	0
	♀	12	L ₃	s.c.	4	0	0	0	0
	♀	34	L ₃	s.c.	1	0	0	0	0
	♀	54	L ₃	s.c.	1	0	0	0	0
	♀	0	7	0	0	0	0
BALB/c nu/+	♂	3	10-day-old	i.t.	0	4	2	2	0
	♂*	10	10-day-old	i.t.	6	1	1	1	0
BALB/c +/+	♂	3	10-day-old	i.t.	1	3	4	0	0
	♂*	10	10-day-old	i.t.	6	3	0	1	0
	♀	0	10	0	0	0	0
DDD	♀	0	5	0	0	0	0

* Sera of mice before infection were all negative.

† Animals were treated with intraperitoneal injection of DEC (200 mg/kg).

‡ i.t.: intrathoracic, s.c.: subcutaneous.

The antigen in carbonate buffer at 5 µl/ml of protein concentration and conjugate of peroxidase labelled anti-mouse IgG rabbit serum diluted at 1:400 were used.

mf のみ認められた。

3. *L. carinii* 成虫抗原に対するマウスの ELISA 抗体価

マウス血清は、40倍から2倍希釈で640倍まで希釈して ELISA を行い、その結果は Table 3 に示した。

ヌードマウスでは種々の感染状況であつても全て陰性と判定され、*L. carinii* 成虫粗抗原に対する IgG 抗体は検出されなかつた。

有毛マウスの2系統 (nu/+, +/+) の抗体価はほぼ同様の傾向であり、10日齢幼虫の移入3週後ですでに高率に陽性と判定された。10週後では陽性率は低くなつたが、その様な陽性例マウスの移入3週と7週後の抗体価の推移に上昇や下降などの一貫性はなかつた。

考 察

本研究は、先天的胸腺欠損による T 細胞機能欠損モデル動物であるヌードマウスにおける DEC の抗 mf 効果の検討を目的としている。まずヌードマウス (nu/nu) とそのヘテロ型有毛マウス (nu/+) と正常マウス (+/

+) に *L. carinii* の感染を試みた。

マウスのフィラリア感受性には遺伝的要因が関係しており、本研究に用いた BALB/c 系マウスは比較的感受性が高い (Haque *et al.*, 1980; Suswillo *et al.*, 1980)。一方、マウスの性別による影響はフィラリアでは少ないので (Aoki *et al.*, 1980; Thompson *et al.*, 1979) 雌雄両方を実験に用いた。

イエダニの吸血による感染では *L. carinii* に対するマウスの感染率が非常に低いので (Siddiqui, 1979; Wenk and Heimbürger, 1979)、高い感染性が得られると思われる10日齢幼虫の胸腔内移入法で感染させたところ、感染が成立し mf 血症が起きたのはヌードマウスだけであつた。この事はマウスの感受性に T 細胞依存の免疫が重要な要因として関与する事を示している。

一方、ヌードマウスでは感染幼虫の皮下注入でも高率に感染し、mf 血症が起き他種のフィラリアでの報告 (Haque *et al.*, 1980; Suswillo *et al.*, 1980; Vincent *et al.*, 1980) と同様に高いフィラリア感受性が示された。しかしこの感染は一時的なものであり、成虫は死亡し、血中の mf は自然消滅するなど、ヌードマウスは *L. ca.*

rinii の好適な宿主ではなかつた。

以上の様な基礎的知見の下に、本研究では mf 血症の起きているヌードマウスを用いて DEC の効果を検討した。その結果、DEC の投与直後に mf 数の著しい減少が見られたが、1 週間後には投与直前の mf 数の約 138% であり、従来の概念では一過性の減少があつただけで無効という結果であつた。しかし本投与期間が血中 mf 数の上昇時期にあるために対照群と比較すると大きな差が認められ、投与時にヌードマウスの血中に存在した mf に対する抗 mf 効果があると判定された。そしてその後の mf 数の上昇に見られる様に、成虫の mf 産生や投与後に産生された mf には無効であつた。この成績から薬剤の持続作用を検討するときに、成虫の mf 産生能と投与時期を考慮する事の重要性が指摘された。

DEC は投与数分後に血中 mf 数が 90% 近く減少し長期間効果が持続するとされており、その抗 mf 作用について *in vitro* で直接的な殺 mf 作用がない事は Hawking *et al.* (1950), 松田ら (1968), 小林ら (1969) の実験によつて確認されている。DEC の作用機序は, Hawking *et al.* (1950) が肝網内系における貪食の賦活化を推定してから宿主側の検討が行なわれ、特異的な液性抗体あるいは細胞性免疫の関与が重要であるとされている (小林ら, 1969; Tanaka *et al.*, 1977; 高岡・田中, 1978; Piessens and Beldekas, 1979)。しかし、ヌードマウスで抗 mf 効果が認められた事から、ヌードマウスでは DEC の作用機序に細胞性免疫の関与が必要でない事が示された。

ヌードマウスとフィラリアの実験系で抗体産生を調べた報告はない。今回著者らが DEC の作用機序に特に重要であるとされる IgG 抗体について ELISA を用いて調べた結果では、成虫抗原に対する IgG 抗体はいずれの感染時期にも認められていない。また予備実験で Ouchterlony 法を行つた結果でも沈降線は認められなかつた。しかし、殺 mf にかかわる特異抗体は IgG の他に IgM (Thompson *et al.*, 1979, 1981) や IgE (Grove *et al.*, 1979; Mehta *et al.*, 1980) を考慮する報告もあり、本実験結果は DEC の作用機序における抗体の関与を否定するものではない。

DEC の作用機序における免疫の関与について、ヌードマウスは完全に T 細胞が欠損している訳ではなく (Fogh and Giovanella, 1978), 食細胞の活性が有毛マウスより高い (Cherrs and Waller, 1975) などの特性も考える必要がある。また本研究結果に示された如く、ヌードマウスは *L. carinii* の好適な宿主でなかつた事から、

ヌードマウスで認められた DEC の抗 mf 作用は本来の宿主コトラットにおける機序と異なっている可能性も考慮する必要があると思われる。

要 約

ヌードマウスにおける DEC の抗 mf 効果を観察する目的で、マウス (BALB/c nu/nu, nu/+, +/+) の *L. carinii* に対する感受性の検討を行い、mf 血症の認められたヌードマウスを用いて DEC の効果の検討を行つた。

1. *L. carinii* の 10 日齢幼虫の胸腔内移入法を用いてマウスに感染を試みた。有毛マウス (nu/+, +/+) では移入 3 週間後の幼若虫回収率は約 40% であつたが、10 週間後では生きている虫は少なく、胸腔内や血中に mf は出現しなかつた。ヌードマウス (nu/nu) では 3 週間後の回収率は約 75% であり、10 週間後では高率に mf 血症が認められた。

2. ニードマウスでは感染幼虫の皮下注入によつても高率に感染が成立したが、感染は一時的なものであり、成虫は死に、mf は自然消滅し、本来の宿主における感染経過とは異なつていた。

3. 感染幼虫による感染 9 週間後で mf 血症を起こしているヌードマウスに DEC の 200mg/kg の腹腔内投与を行つて抗 mf 効果を検討した結果、投与時ヌードマウス血中に存在した mf に対する効果が認められた。

4. ELISA を用いて感染マウスの *L. carinii* 成虫粗抗原に対する IgG 抗体の検出を試みた。有毛マウスでは感染 3 週間後では多数の陽性例を認めたが、ヌードマウスではいかなる感染時期にも陰性であつた。

5. 免疫系が特殊なヌードマウスにおいての本結果では、DEC が細胞性免疫の関与なしに抗 mf 効果を現す事が認められた。

本研究の一部は、第 49 回日本寄生虫学会総会において発表した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ヌードマウスの飼育等で便宜を計つて下さつた東大医科学研究所実験動物繁殖室須藤カツ子および中村祝生両先生に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Ah, H. -S. and Burke, T. M. (1976) : *Litomosoides carinii* : an approach to quantitatively controlled infections in jirds. *J. Parasitol.*, 62, 651-652.

- 2) Aoki, Y., Recinos, M. M. and Hashiguchi, Y. (1980) : Life span and distribution of *Onchocerca volvulus* microfilariae in mice. J. Parasitol., 66, 797-801.
- 3) Cheers, C. and Waller, R. (1975) : Activated macrophages in congenitally athymic "Nude" mice and in lethally irradiated mice. J. Immunol., 115, 844-847.
- 4) Fogh, J. and Giovanella, B. C. (1978) : The nude mouse in experimental and clinical research, Academic Press, New York, 99p.
- 5) Grove, D. I., Davis, R. S. and Warren, K. S. (1979) : *Brugia malayi* microfilaraemia in mice : a model for the study of the host response to microfilariae. Parasitology, 79, 303-316.
- 6) Haque, A., Worms, M. J., Ogilvie, B. M. and Capron, A. (1980) : *Dipetalonema viteae* : microfilariae production in various mouse strains and in nude mice. Exp. Parasitol., 49, 398-404.
- 7) Hawking, F., Sewell, P. and Thurston, J.P. (1950) : The mode of action of hetrazan on filarial worms. Brit. J. Pharmacol., 5, 217-238
- 8) Hewitt, R. I., Kushner, S., Stewart, W., White, E., Wallace, W.S. and SubbaRow, Y. (1947) : Experimental chemotherapy of filariasis. III. Effect of 1-diethylcarbamyl-4-methylpiperazine hydrochloride against naturally acquired filarial infections in cotton rats and dogs. J. Lab. Clin. Med., 32, 1314-1329.
- 9) 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.
- 10) 松田 肇・小林準三・酒井健夫 (1968) : コトナラット糸状虫 *Litomosoides carinii* の生体外飼育とこれによる抗フィラリア剤の検定. 寄生虫誌, 17, 221-228.
- 11) 松田 肇・田中 寛・中尾稔・Blas, B. L.・Noseñas, J. S.・Santos, A. T. Jr. (1982) : ペルオキシダーゼ標識抗体, O-フェニレンジアミン基質を用いた日本住血吸虫症の ELISA 反応の研究. 寄生虫誌. 30, 147-154.
- 12) McCall, J. W. (1976) : A simple method for collecting infective larvae of *Litomosoides carinii*. J. Parasitol., 62, 585-588.
- 13) Mehta, K., Sindhu, R. K., Subrahmanyam, D. and Nelson, D. S. (1980) : IgE-dependent adherence and cytotoxicity of rat spleen and peritoneal cells to *Litomosoides carinii* microfilariae. Clin. Exp. Immunol., 41, 107-114.
- 14) Piessens, W. F. and Beldekas, M. (1979) : Diethylcarbamazine enhances antibody-mediated cellular adherence to *Brugia malayi* microfilariae. Nature, 282, 845-847.
- 15) Siddiqui, M. A. (1979) : Host-parasite relations in cotton rat filariasis. III The quantitative transmission of *Litomosoides carinii* to un-irradiated and irradiated golden hamsters and white mice. Ann. Trop. Med. Parasitol., 73, 377-386.
- 16) Suswillo, R. R., Owen, D. G. and Denham, D. A. (1980) : Infections of *Brugia pahangi* in conventional and nude (athymic) mice. Acta Tropica, 37, 327-335.
- 17) 高岡正敏・田中 寛 (1978) : コトナラットフィラリアにおける diethylcarbamazine の作用機序に関する脾臓細胞の関与. 寄生虫誌. 27, 57-63.
- 18) Tanaka, H., Eshita, Y., Takaoka, M. and Fujii, G. (1977) : Suppression of microfilaricidal activity of diethylcarbamazine by anti-lymphocyte serum in cotton rat filariasis. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 8, 19-26.
- 19) Thompson, J. P. Crandall, R. B., Crandall, C. A. and Neilson, J. T. (1979) : Clearance of microfilariae of *Dipetalonema viteae* in CBA/N and CBA/H mice. J. Parasitol., 65, 966-969.
- 20) Thompson, J. P., Crandall, R. B., Crandall, C. A. and Neilson, J. T. (1981) : Microfilaremia and antibody responses in CBA/H and CBA/N mice following injection of microfilariae of *Brugia malayi*. J. Parasitol., 67, 728-730.
- 21) Vincent, A. L., Sodeman, W. A. Jr. and Winters, A. (1980) : Development of *Brugia pahangi* in normal and nude mice. J. Parasitol., 66, 448.
- 22) Wenk, P. and Heimburger, L. (1967) : Infektionsversuche mit der Baumwollrattenfilarie *Litomosoides carinii* Chandler 1931 (Filariidae) bei inadäquaten Wirten. Z. Parasitenk. 29, 282-298.

Abstract

ANTIMICROFILARIAL EFFECT OF DIETHYLCARBAMAZINE ON
MICROFILARIAE OF *LITOMOSOIDES CARINII*
IN THE NUDE MOUSE

SADAO NOGAMI, HIROSHI TANAKA AND HAJIME MATSUDA
(Department of Parasitology, Institute of Medical Science,
The University of Tokyo, Minato-ku, Tokyo 108)

Susceptibility of *Litomosoides carinii* and antimicrofilarial action of diethylcarbamazine (DEC) on microfilariae (mf) of *L. carinii* were studied in congenitally athymic nude mice.

The results are summarized as follows:

1) Infectivity of *L. carinii* in three strains of mice, *i. e.* nude mice (BALB/c nu/nu), their normal, hairy and entymic littermates (BALB/c nu/+ and +/+), were observed following transplantation by intrapleural injection with 10-day old larvae collected from the pleural cavity of the infected cotton rat. The recovery of larvae was about 40% in both nu/+ and +/+ mice 3 weeks after transplantation; a few live worms were also recovered in the pleural cavity of both mice after 10 weeks. Mf were never found in the pleural cavity and the peripheral blood of both mice. In nude mice (nu/nu), the recovery of worms was about 75% in 3 weeks after transplantation and mf in the peripheral blood was observed at high probability in mice harboring both sexes of live worms.

2) Nude mice were also infected with *L. carinii* by subcutaneous injection of infective larvae and high infectivity was observed. The infection in the nude mouse was, however, different from that in the natural host, the cotton rat, in that in the former there was death of adult worms and relative rapid clearance of mf in the peripheral blood.

3) Antimicrofilarial action of DEC was studied on mf of *L. carinii* in nude mice 9 weeks after subcutaneous injection with infective larvae. Antimicrofilarial effect by a single intraperitoneal injection of DEC (200 mg/kg) was remarkable on mf in nude mice. By comparative analysis of the change in density after DEC treatment, it was concluded that no effect was found on the mf-reproductive function of female worms and on mf which was laid after the treatment of DEC.

4) Detection of IgG antibody of mice infected with *L. carinii* was carried out using the micro-technique of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). IgG antibody against the crude-adult antigen of *L. carinii* was detected in both nu/+ and +/+ mice 3 weeks after transplantation with 10-day old larvae. All were negative in nude mice at any stages of infection.

5) Since antimicrofilarial action of DEC was found in the athymic nude mouse, less important role of cell-mediated immunity was considered in its mode of action in the experiment with in the nude mouse.