

スナネズミ皮下に移入された *Dipetalonema viteae* 成虫の体内移動

野上貞雄 田中寛 松田肇

(昭和57年12月1日 受領)

Key words: *Dipetalonema viteae*, *Meriones unguiculatus*, transplantation, filaria, *Ornithodoros moubata*

緒 論

安全で有効な抗フィラリア成虫剤の開発は、世界的な研究課題である。スナネズミを宿主とするフィラリア、*Dipetalonema viteae* は、*Litomosoides carinii* や *Brugia pahangi* などの薬剤検定モデルで得られたスクリーニングの結果を2次評価する点で有用であるとされている (Wld. Hlth. Org., 1974)。しかし *D. viteae* の成虫の回収は難しく、効果判定の困難さが欠点とされている (Hawking, 1973; Sasa, 1976)。本研究では、効果判定時の成虫の回収を容易にし、かつ短期間に感染動物を作製するために、皮下に移入した *D. viteae* 成虫の移動を定量的に観察して皮下移入法の有用性を検討した。

材料および方法

スナネズミ *Meriones unguiculatus* は、自家生産の Jms: MON 系を用いた。

Dipetalonema viteae は、ヒメダニの一種 *Ornithodoros moubata* を中間宿主に用い、スナネズミを宿主として維持した (Worms *et al.*, 1961)。

D. viteae の感染は、感染 *O. moubata* の体側をピンセットで切り開いた後にバールマン法を用いて感染幼虫を回収し、30虫ずつスナネズミの鼠径部皮下に注入した。

D. viteae 成虫を採集するには、感染スナネズミを心

臓穿刺による全採血後に解剖し、まず全身の皮下、筋間組織から成虫を肉眼的に回収した。さらに皮膚と内臓を除き解体したスナネズミを、Hanks 塩類緩衝液 (penicillin 100U/ml, streptomycin 100 μ g/ml 含有, HBSS) に室温下で1晩浸漬し、肉片等から遊出した成虫を回収した。

成虫の移入法は、ネブタール麻酔下の生後8週令の未感染スナネズミの皮下に空気の注入によりポケットを作った後に、感染後15週のスナネズミから回収した成虫を外科的に移入した。

結 果

1. 宿主感受性の性差, 週令差

宿主感受性の性差, 週令差を調べるために、4, 8, 12, 16週令の雌と雄の計8群の各1群に6匹のスナネズ

Table 1 Recovery of adult *Dipetalonema viteae* by age and sex of jirds subcutaneously injected with 30 infective larvae each. The mean, \pm S.D. and (Range) of recovered adult worms from 6 jirds in each group 16 weeks after infection

Age* (weeks)	Sex of jirds	
	Male	Female
4	16.2 \pm 3.5(12-21)	15.0 \pm 2.3(13-18)
8	16.0 \pm 5.2(13-26)	11.0 \pm 2.0(8-14)
12	14.2 \pm 3.3(11-20)	11.3 \pm 4.1(7-19)
16	11.8 \pm 2.1(9-14)	8.2 \pm 2.1(5-11)

* Age of jird when infective larvae injected. Difference was significant in factors of age ($p < 0.01$) and sex ($p < 0.01$) by two-way analysis of variance.

This investigation received financial support from 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

ミを用い、1匹あたり30虫の *D. viteae* 感染幼虫を鼠径部皮下に注入した。感染の16週後にスナネズミを剖検して、得られた回収成虫数から差異を検討した。

その結果を Table 1 に示した。二元配置分散分析により若令あるいは雄スナネズミで有意 ($P < 0.01$) に高い回収成績が示された。雄スナネズミでは、12週令でも平均約47%の比較的高い回収成績が示されたが、雌の4週令では雄のそれに近いが高令ほど回収成績が低下していた。

2. *D. viteae* 成虫の寄生部位

1群に6匹のスナネズミを用い、4週令と8週令の雌雄計24匹に各々30虫の感染幼虫を鼠径部皮下に注入し、16週後に剖検して成虫の寄生部位を観察した。

回収された計345匹の成虫の寄生部位を Table 2 に示した。成虫の回収部位は、皮下組織からが約60%と最も多く、筋間組織からが約20%、体腔内が約8%であり、内臓および尾部からは発見されなかつた。好発見部位は、皮下組織では背部、鼠径部、後肢で、筋間組織では

Table 2 Location of adult worms of *Dipetalonema viteae* found in jirds at 16 weeks post-infection. Groups of males and females aged 4 and 8 weeks composed of 6 jirds each were infected by subcutaneous inoculation with 30 infective larvae in the inguinal region

Region		No. of worms found			
		♀	♂	Total	%
Subcutaneous tissue	Head	7	1	8	2.3
	Neck	4	3	7	2.0
	Chest	4	7	11	3.2
	Back	18	22	40	11.6
	Abdomen	4	8	12	3.5
	Hips	11	7	18	5.2
	Axilla	9	7	16	4.6
	Groin	18	19	37	10.7
	Arms	4	5	9	2.6
	Legs	20	22	42	12.2
(Sub-total)		(99)	(101)	(200)	(57.9)
Intermuscular fasciae	Head	3	2	5	1.4
	Neck	0	0	0	0.0
	Chest	10	21	31	9.0
	Back	1	4	5	1.4
	Abdomen	2	1	3	0.9
	Hips	1	4	5	1.4
	Arms	3	1	4	1.2
	Legs	9	8	17	4.9
(Sub-total)		(29)	(41)	(70)	(20.2)
Cavity	Cranium	1	0	1	0.3
	Thorax	9	8	17	4.9
	Abdomen	5	4	9	2.6
(Sub-total)		(15)	(12)	(27)	(7.8)
Indistinct*		18	30	48	13.9
Total		161	184	345	

* Worms recovered from the partially teased body following overnight immersion in Hanks' BSS. Exact localization site is indistinct.

No difference by age and sex of jirds in location of adult *D. viteae* was observed.

Table 3 Recovery of transplanted adult worms of *Dipetalonema viteae* in different regions of jirds 4 weeks after transplantation. 15 week-old adult worms were surgically transplanted into the subcutaneous region of non-infected jirds aged 8 weeks

Region of worms transplanted	No. of adult worms				%		Region of worms recovered									
	transplanted		recovered				Back	Groin	Axilla	Chest	Neck	Hips	Legs	Arms	Peritoneal cavity	Indistinct
	♀	♂	♀	♂	♀	♂										
Back	5	5	5(1)*	2												
	5	3	2(1)*	2						MFF*	M					
	5	3	1(1)*	1	55	43				F*		m				
	5	3	3(1)*	1			M				ffF*					
Groin	5	2	4(1)*	2(1)*							fmF*M*	f	♀			
	5	2	5(4)*	2(1)*	80	100				MF*F*M*	fF*		♀*			
	5	2	3(1)*	2			MF*			f	m			♀		
Axilla	5	2	3	2			f		f	f	m			♂		
	5	1	2	1	53	80					m	f	♀			
	5	2	3	1			FFFM									
Total	50	25	31(10)*	16(2)*	62	64	10	1	1	1	1	9	14	3	5	2

* Died or encapsulated worms

Male and female worms found from subcutaneous tissue (M,F) and intermuscular fasciae (m, f).

胸部であつた。宿主の性や週令, *D. viteae* 成虫の性に依存する寄生部位の特徴は認められなかつた。

3. *D. viteae* 成虫の皮下移入

前記の基礎実験をもとに, 8週令のスナネズミの背部, 鼠径部, 腋窩部の皮下に15週令の *D. viteae* の雌5虫と, 雄の1虫から5虫を外科的に移入し, 4週後に剖検して成虫の回収率と寄生部位を観察した。

成虫を移入した全例のスナネズミから虫体を回収することができた (Table 3)。成虫の回収率は, 全体で雌虫62%, 雄虫64%であつた。移入部位別では鼠径部に移入した群で雄虫100%, 雌虫80%と最も高い回収成績を得た。しかし各群とも多くの成虫は移入部位から他の部位に移動し, 移入部周辺から回収された成虫は, 全体で約26%であつた。一部の成虫は皮下に移入したにもかかわらず, 腹腔内に移動していた。各部位に移入された成虫は, 背部皮下, 臀部皮下および後肢筋間部から比較的多く回収された。また回収時にすでに死亡していたり, 宿主の細胞と線維素に被囊化されている成虫が約26%もあり, その傾向は雌虫に多く見られた。

考 察

本研究では, 抗フィラリア成虫剤検定のための動物モデル作製を目的として, *D. viteae* 成虫の外科的移入法を検討した。

感染幼虫の皮下注入感染による *D. viteae* 成虫の回収率は *Meriones libycus* では10~100% (Worms *et al.*, 1961), *M. unguiculatus* では10~50% (Denham, 1980; Sasa, 1976), ハムスター (*Mesocricetus auratus*) では25~50% (Neilson, 1978 a, b) と報告されている。本研究では, 感受性の高い若令のスナネズミを用いた時約55% (40%~80%) の平均回収率が示された。ヒトのリンパ系に寄生するフィラリア症では一般に男性の感染率が高く, また *B. pahangi* などでも宿主の雄が感染に対し感受性が高い傾向にあるが (Ash, 1971), 本研究でも同様の結果であつた。しかし雌でも未成熟の4週令では, 雄と同等の感受性があり, 感染16週後に高い回収成績が示された。

成虫の寄生部位について, *D. viteae* はいわゆる皮下寄生のフィラリアとされ (Hawking, 1973; Sasa, 1976), その寄生部位からヒトの皮下組織に寄生する *Onchocerca volvulus* の抗成虫剤開発のための検定モデルとして用いられている。本研究でも感染幼虫の皮下注入実験で皮下組織からの回収が60%と最も多く, 好発見部位は背部, 鼠径部であつた (Worms *et al.*, 1961)。しかし, 本研究で1晩 HBSS に浸漬後に回収された成虫は, 皮膚と臓器を除いてあるためほとんどが筋間組織から遊出した可能性が強く, これを考慮すると筋間組織からの回収は1/3にも達する。*D. viteae* は感染の初期にスナネズ

ミの全身の組織や中枢神経系に侵入し (Weinstein and Highman, 1974), また非固有宿主である *Mastomys natalensis* ではまれに精巢にも寄生すると報告されている (Holdstock, 1974). すでに一部で論じられてはいたが (Denham, 1979; 野上ら, 1978), 本研究で詳細に示された様に, スナネズミでは *D. viteae* 成虫は単に皮下組織だけでなく, 全身寄生であり, 特に体腔内にも寄生することが明らかにされた.

本研究では比較的回収率が高く薬剤による成虫の生死を観察しやすい背部, 腋窩部, 鼠径部の皮下に成虫を外科的に移入した. 成虫移入によって容易に保虫ネズミが作製され (Haque *et al.*, 1980; Worms *et al.*, 1961), その移入成虫の回収率は60%以上であり, スナネズミやハムスターでの成虫移入成績 (Johnson *et al.*, 1974; Neilson, 1979) より良好であった. しかし移入された成虫は, Neilson (1974) の腹腔内成虫移入の報告のようにネズミ体内を活発に移動し, 特定部位への集中寄生は不成功に終わった. また移入4週後にすでに一部の成虫は死亡しており, この事は抗成虫剤の効果判定の上で問題である.

以上の考察から, *D. viteae* 成虫の皮下移入は感染動物を早急に作製できる長所はあるが, 成虫の生死を直接観察する抗フィラリア剤研究の目的には適さないと判定された.

要 約

抗フィラリア成虫剤検定のための動物モデルとして, *Dipetalonema viteae* 成虫を非感染スナネズミの皮下に外科的に移入し, 成虫の特定局所への集中寄生と感染動物の短期作製を試みた.

移入する成虫をより多く得るための宿主として, 30虫ずつの *D. viteae* 感染幼虫の皮下注入で感染させた時, 若い雄あるいは4週令の雌スナネズミが高い感受性を有していた. 感染幼虫を鼠径部の皮下に注入して感染させた場合の成虫の回収部位は, 皮下組織に多い傾向であったが, 体腔を含む全身に分散していた. また雌雄各々5虫前後の成虫を未感染動物の皮下に移入することによって容易に保虫動物が作製された. しかし移入された成虫は活発に宿主体内を移動し, 特定部位への集中寄生はみられなかった. また一部の移入成虫は死亡するため, 成虫移入法は成虫を直接観察して行う抗成虫剤の検定モデルとしては適さないと判定された.

本研究の要旨は, 第42回日本寄生虫学会東日本大会において発表した.

謝 辞

摺筆にあたり, 麻布大学, 宮崎宏幸・堀内英里両学士の御協力があつたことを記して感謝の意を表します.

文 献

- 1) Ash, L. R. (1971): Preferential susceptibility of male jirds (*Meriones unguiculatus*) to infection with *Brugia pahangi*. J. Parasitol., 57, 777-780.
- 2) Denham, D. A. (1979): A review of methods for testing compounds for filaricidal activity. J. Helminthol., 53, 175-187.
- 3) Denham, D. A. (1980): Anthelmintic properties of flubendazole against *Dipetalonema viteae* in jirds. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 74, 829.
- 4) 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.
- 5) Hawking, F. (1973): Chemotherapy of tissue nematodes. In Chemotherapy of helminthiasis, eds. by Cavier, R. & Hawking, F., Pergamon Press, Oxford, 445-450.
- 6) Holdstock, R. P. (1974): *Mastomys natalensis* as a host for *Dipetalonema viteae*. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 68, 9.
- 7) Johnson, M. H., Orihel, T. C. and Beaver, P. C. (1974): *Dipetalonema viteae* in the experimentally infected jird, *Meriones unguiculatus*. 1. Insemination, development from egg to microfilaria, reinsemination, and longevity of mated and unmated worms. J. Parasitol., 60, 302-309.
- 8) Neilson, J. T. M. (1974): Fate of adult *Dipetalonema viteae* transferred intraperitoneally to jirds. J. Parasitol., 60, 1061-1062.
- 9) Neilson, J. T. M. (1978 a): Primary infections of *Dipetalonema viteae* in an outbred and five inbred strains of golden hamsters. J. Parasitol., 64, 378-380.
- 10) Neilson, J. T. M. (1978 b): Alteration of amicrofilaraemia in *Dipetalonema viteae* infected hamsters with immunosuppressive drugs. Acta Tropica, 35, 57-61.
- 11) Neilson, J. T. M. (1979): Kinetics of *Dipetalonema viteae* infections established by surgical implantation of adult worms into ham-

- sters. Am. J. Trop. Med. Hyg., 28(2), 216-219.
- 12) 野上貞雄・松田 肇・渋谷敏朗・及川陽三郎・齊藤 都・田中 寛 (1978): 抗フィラリア成虫剤の研究. 3. スナネズミの *Dipetalonema viteae* の検討. 寄生虫誌, 27 (増), 53.
- 13) Sasa, M. (1976): Human filariasis, University of Tokyo Press, Tokyo, 741p.
- 14) Weinstein, P. P. and Highman, B. (1974): Infection on the jird, *Meriones unguiculatus*, with the filarial worm, *Dipetalonema viteae*: central nervous system invasion and pathology. J. Parasitol., 60, 138-148.
- 15) Wld Hlth Org. (1974): WHO Expert Committee on Filariasis. Third report, Wld Hlth Org. Techn. Rep. Ser., 542, 13p.
- 16) Worms, M. J., Terry, R. J. and Terry, A. (1961): *Dipetalonema vitei*, filarial parasite of the jird, *Meriones libycus*. 1. Maintenance in the laboratory. J. Parasitol., 47, 963-970.

Abstract

MIGRATION OF ADULT WORMS OF *DIPETALONEMA VITEAE*
SUBCUTANEOUSLY TRANSPLANTED INTO THE JIRD

SADAO NOGAMI, HIROSHI TANAKA AND HAJIME MATSUDA

(Department of Parasitology, Institute of Medical Science,
The University of Tokyo, Minato-ku, Tokyo 108)

Adult worms of *Dipetalonema viteae* were surgically transplanted from the infected jird to the non-infected for the purpose of concentrating the adult worms at definite local region in the jird to be used for the macrofilaricide screening test.

To obtain adult worms efficiently, the recovery of adult *D. viteae* by age and sex of the donor jird was investigated. Groups of male and female jirds aged 4, 8, 12 and 16 weeks composed of 6 jirds each were infected with 30 infective larvae of *D. viteae* by subcutaneous injection in the inguinal region. After 16 weeks, jirds were killed by cardiopunctural bleeding and adult *D. viteae* were collected from the subcutaneous tissues and intermuscular fasciae of jird by dissection. Adult worms were also recovered from the dissected body partially teased and immersed in Hanks' balanced salt solution overnight at room temperature. The high recovery ratio of adult worm was observed in young male jirds and in 4 weeks old females. The susceptibility of the jird to *D. viteae* was significantly age- and sex-dependent which was shown by the two-way analysis of variance at necropsy of infected jirds 16 weeks after infection.

Location of 345 recovered adult worms of *D. viteae* found in 24 jirds by subcutaneous infection at the inguinal region 16 weeks after infection was observed. Out of all recovered worms, 60% were found from subcutaneous tissues, 20% from intermuscular fasciae and about 8% from the cavity of jird. The location at high recovery of adult worms were back, groin and legs in subcutaneous tissue, and in intermuscular fasciae of the chest. No difference by age and sex of jirds was observed in the recovery sites of adult *D. viteae*.

The recipient non-infected jirds were surgically transplanted into subcutaneous tissue with 5 females and 1 to 5 males of *D. viteae* 15 weeks after infection. All recipient jirds became infected readily. However, transplanted adult worms migrated in the jird actively, this method failed to concentrate the adult worms at definite local region of subcutaneous tissue. It was found that about 26% of transplanted worms recovered were dead or encapsulated with host cells 4 weeks after transplantation.

It can be concluded that subcutaneous transplantation of adult *D. viteae* provided little advantage for the screening test of macrofilaricides.