# Oncomelania 属に対する日本住血吸虫の感染性

7. 累代飼育 Oncomelania hupensis hupensis に対する 山梨産及びレイテ産日本住血吸虫の感染性

岩 永 襄 下 村 浩 片 山 精 壮 辻 守 康

(昭和58年10月19日 受領)

Key words: Schistosoma japonicum, Oncomelania hupensis hupensis, infectivity

#### 緒 論

Oncomelania 属貝は、日本住血吸虫の中間宿主とし て広く知られているが、その親和性は一様でなく、山梨 産日本住血吸虫は、同産地貝である Oncomelania hupensis nosophora に対し、またレイテ産日本住血吸虫は 同じく同産地貝である O. h. quadrasi に対して最も高 い感染率を示し、他産地 Oncomelania 属貝では感染率 が低い傾向が見られることから、宿主貝は貝と同じ地理 的分布を示す日本住血吸虫に対して高い親和性を持つも のと思われる (Dewitt, 1953; Hsü and Hsü, 1960; 岩 永, 1976a, b; 岩永ら, 1979a, b). 近年, Oncomelania 属貝の撲滅対策の影響で日本住血吸虫を維持、継代する ことに支障をきたすようになつたため, 実験室内でその 宿主貝の累代飼育を行ない、多数の感染貝を作り出す努 力がはかられている. ところが, 累代飼育が重なるにつ れて日本住血吸虫に対する感染性は、低下する傾向があ るという看過できない問題が指摘された(岩永, 1976a, 岩永ら、1979a;岩永・辻、1982a). 自然棲息地 O. h. hupensis の 山梨産日本住血吸虫に 対する感染性につい ては Dewitt (1953), 同じくレイテ産日本住血吸虫に対 する感染性については Hsü and Hsü (1960) の報告があ るが、累代飼育 O. h. hupensis に対する両産地日本住 血吸虫の感染性の報告はない. そこで今回は, 実験室内 で飼育繁殖させた6代目貝までの O. h. hupensis を用 いて、山梨産及びレイテ産日本住血吸虫の感染推移につ

本研究の一部は,昭和56年度の厚生事業研究補助金(医療研究事業)及び文部省科学研究費 (特定研究—1) 補助金の援助を得て行われた.

広島大学医学部寄生虫学教室

いて検討したので、その成績について報告する.

### 実験材料及び方法

宿主貝: O.h. hupensis は、上海近郊にて採集されたものをスイスの Dr. SARASIN を通じて取得したもので、岩永(1980)の方法により室内で飼育繁殖させて得た6代目までの殻長 $6\,\mathrm{mm}$ 以上を有する貝を用いた.

日本住血吸虫:貝への感染には、実験室内で継代飼育されている山梨産及びレイテ産日本住血吸虫から得たミラシジウムを用いた.これら両産地日本住血吸虫は、以下の方法で継代飼育されている.即ち、山梨産日本住血吸虫は山梨県甲府市から、レイテ産日本住血吸虫はフィリッピン・レイテ島より取得した感染貝を、それぞれマウスに50~100/匹のセルカリアを腹腔内又は皮下注射によつて感染させ、感染後50~70日目の腸管及び肝臓を0.1%トリプシン液で消化することにより虫卵を得た.これらの虫卵を自然遊出法によつてミラシジウムを発虫させ、発虫したミラシジウムを室内で累代飼育されている同産地貝へ感染させることにより、日本住血吸虫を継代飼育している.

宿主貝の飼育装置:岩永・辻(1972)の方法に準じた.即ち、飼育水が順次循環するいわゆる循環式濾過飼育槽内式濾床型(20×26×20cm)で、濾過水量が80~100ml/分の能力を有する飼育槽である.

餌料: 培養で得られた硅藻類 Melosira sp. 及び Fragillaria sp. の淡水産植物性プランクトン(岩永・辻,1972)又は人工離乳食 No. 8(明治乳業 K.K)で,投餌量は硅藻類の場合,貝1個当り1~2×10 $^7$ 個の 細胞を1~2日に1回,人工離乳食の場合は1週間に1~2回適量を与えた.

ミラシジウムの感染及び感染後の飼育方法:各産地のミラシジウム感染方法は、小型試験管(直径1×高さ4cm、水量2.5ml)に貝1個当りミラシジウム数3,5,10個宛をそれぞれ入れ、一昼夜浸漬感染させたのち、所定の飼育槽へ移した.即ち、ミラシジウム感染後、7週目まで循環式濾過飼育槽で飼育し、7週目以降は濾紙上飼育に移した.

感染貝の検査方法:ミラシジウム感染後7~8週目から20週目までは自然遊出法により、それ以降は圧平法を用いてセルカリアの有無を検した.

#### 成 績

1. O. h. hupensis に対する山梨産日本住血吸虫の感 染性

山梨産日本住血吸虫ミラシジウムの O.~h.~hupensis に対する感染率と死貝率は、Fig. 1 に示す通りである。 すなわち、

# a. ミラシジウム3個宛感染

初代貝で26.7%と最も高い感染率であったが、6代目 貝でも24.0%を示し、累代飼育貝間での感染率の差は明 らかでなかった。なお、死貝率は5.0~6.7%であった。

# b. ミラシジウム5個宛感染

2代目貝の32.0%が最も良く、次いで初代貝の31.4%で、以下3代目貝30.4%、4代目貝26.8%、6代目貝26.5%、5代目貝26.3%の順となつた.なお、死貝率は、 $5.2\sim7.4\%$ であつた.

#### c. ミラシジウム10個宛感染

初代から 4代目までの貝では、 $27.0\sim26.7\%$ の感染率が得られ、殆んど差は見られないが、5代目貝で24.6%、6代目貝で23.1%と僅かながら感染率の低下が見られた。また、死貝率では $13.5\sim16.0\%$ を示し、他の3個及び5個宛感染群に比し高かつた。

2. O. h. hupensis に対するレイテ産日本住血吸虫の 感染性

レイテ産日本住血吸虫ミラシジウムの O.h. hupensis に対する感染率と死貝率は Fig. 2 に示す通りである. すなわち,

# a. ミラシジウム 3 個宛感染

初代貝で20.0%と最も高い感染率を示したが、2代目から5代目までの貝でも $17.6\sim18.9\%$ の感染率を示し、初代貝と大差は認められなかったが、6代目貝では、15.7%と感染率の低下が見られた。また、死貝率は、 $4.3\sim6.7\%$ であった。

# b. ミラシジウム 5 個宛感染

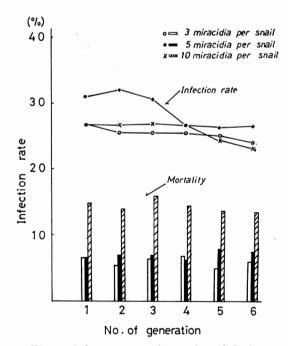


Fig. 1 Infection rate and mortality of O. h. hupensis infected with S. japonicum, Yamanashi strain.

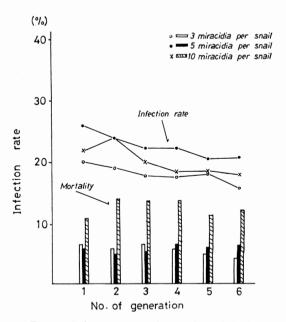


Fig. 2 Infection rate and mortality of O. h. hupensis infected with S. japonicum, Leyte strain.

初代貝で26.0%, 次いで、2代目貝24.0%, 以下3代目及び4代目貝で22.2%,6代目貝20.9%,5代目貝20.6%の順に感染率が高く、累代飼育が重なれば重なるほど、セルカリア感染率の減少傾向が見られた。なお、死貝率は $5.0\sim6.7\%$ であった。

#### c. ミラシジウム10個宛感染

2代目貝で24.0%と最も高い感染率を示し、次いで初代貝22.0%、3代目貝20.0%の順になったが、4代目貝から6代目貝までは、 $18.1\sim18.6$ %と殆んど感染率に差は見られなかった。なお、死貝率は、 $11.4\sim14.0$ %で、他の3個及び5個宛感染群に比し高かった。

#### 考 察

累代飼育 O. h. hupensis に対する山梨産及びレイテ 産日本住血吸虫の感染性について比較、検討した結果. 両産地日本住血吸虫の感染率は、ミラシジウム5個宛感 染の場合で比較すると、 山梨産日本住血吸虫の 感染率 は、26.3~32.0%を示し、レイテ産の感染率20.6~26.0 %に比べ僅かに感染率が高かつた (Fig. 3). 次にミラ シジウム感染数とセルカリア寄生率との関係では、両産 地日本住血吸虫共に、貝1個当りミラシジウム5個宛感 染させた場合、3個宛感染に比し、その寄生率は高かつ たが、10個宛感染では期間中の死貝率が、3個及び5個 宛感染の場合に比べ約2倍以上を示し, 実験終了時での セルカリアの寄生率は低かつた.このことは、ミラシジ ウムが貝体内に多数(10個以上)侵入した場合は、貝の 生存率が悪くなるという岡本・森(1962)の報告と同様 な結果が見られた. 以上の結果から、セルカリアの寄生 率と寄生を受けた貝の生存率との了解点が、いずれの日 本住血吸虫を用いた場合でも貝1個当りミラシジウム数 5個宛感染させたところにあると思われ、このことは、 O. h. nosophora 及び O. h. hupensis のような成貝殻 長6 mm 以上を有する貝では, 貝1個当りミラシジウム の感染数を5個宛にすることが望ましいという報告に一 致した(岩永, 1976a, b; 岩永ら, 1979b; 岩永・辻、 1982a, b). また, 両産地日本住血吸虫の累代飼育貝に 対する感染推移は、累代が重なれば重なる程、僅かずつ ではあるが、その感染率は低下する傾向が見られた. こ のように累代飼育貝に対する感染率の低下現象の起る原 因には、日本住血吸虫及び宿主貝自体の性質の変化、特 にセルカリアの発育に関係すると思われる構成タンパク 質の変化が考えられる. Tsuji and Yokogawa (1972) は、山梨産日本住血吸虫に含まれるタンパク成分を免疫 電気泳動法によつて解析した結果,23種の異なつたタン

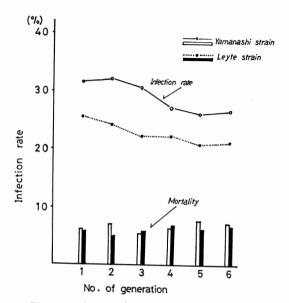


Fig. 3 Infection rate and mortality of O. h. hupensis infected with S. japonicum, 5 miracidia per snail.

パク成分からなると報告している. 今回用いた山梨産日 本住血吸虫でも、同様な泳動像が認められており、また レイテ産日本住血吸虫では22種及び O. h. hupensis で は24種のタンパク成分を有し(著者ら,未発表),継代飼 育開始時とタンパク成分には変化が見られなかつたこと から、今回の実験に用いた両産地日本住血吸虫及び O. h. hupensis 自身に変化はなかったものと判断した。た ・だ,宿主貝の累代が重なれば重なるほど,中腸腺部に多少 の形態的変化が見られており、これがスポロシストさら にはセルカリアの発育に影響を与えているのではないか と考えられるが、この点については現在、究明中である. また、今回の実験で O. h. hupensis に対する両産地日 本住血吸虫の感染性は、山梨産日本住血吸虫の方がレイ テ産日本住血吸虫より高かつた. このように日本住血吸 虫の strain の差によつて宿主貝に対する 感染率が 異な る原因の1つとして, Tsuji et al. (1978) 及び岩永・辻 (1983) は、日本住血吸虫と Oncomelania 属貝との間に 見られる共通抗原性に着目し、共通抗原が多い程、セル カリアの感染率が高い傾向が見られることを報告してい る. 今回の実験結果が、両者間に見られる共通抗原性に 基づくかどうか究明する必要がある.

以上の実験結果から、貝への感染性は日本住血吸虫の 産地によつて差が認められることが明らかにされると共 に、累代飼育 O. h. hupensis を用いて各産地日本住血 吸虫を感染させる場合、セルカリアの寄生率と貝の生存率を合わせて考えると、貝1個当りミラシジウム数5個宛感染させる方が、セルカリア感染貝をより多く得ることが出来る。しかし、累代が重なれば重なるほど、感染率が低下する傾向が見られるので、その点も考慮して感染実験を行なう必要がある。

#### まとめ

累代飼育 Oncomelania hupensis hupensis に対する 山梨産及びレイテ産日本住血吸虫の感染性について比 較,検討した結果,以下の如き成績を得た.

- 1) 累代飼育 *O. h. hupensis* に対する山梨産日本住血吸虫の感染性は、レイテ産日本住血吸虫の感染性に比し高かつた.
- 2) 両産地日本住血吸虫のいずれも,貝1個当りにミラシジウム5個宛感染させた場合,セルカリア感染貝の回収率が最も高かつた.
- 3) 累代飼育 O. h. hupensis に対する両産地日本住 血吸虫の感染率の推移は、累代が重なれば重なるほど、 低下する傾向が見られた.

#### 文 献

- Dewitt, W. B. (1953): Susceptibility of snail vectors to geographic strains of *Schistosoma* japonicum. J. Parasitol., 40, 453-456.
- Hsu, S. Y. and Hsu, H. F. (1960): Infectivity of the Phillippines strain of Schistosoma japonicum in Oncomelania hupensis, O. formosana and O. nosophora. J. Parasitol., 46, 793-796.
- 岩永 襄・辻 守康(1972): 宮入貝の室内飼育における基礎的研究(1). 広大医学誌, 20, 1-12.

- 4) 岩永 襄 (1976a): Oncomelania 属に 対する 日本住血吸虫の感染性(1). 寄生虫誌, 25, 59-68.
- 5) 岩永 襄 (1976b): Oncomelania 属に対する 日本住血吸虫の感染性(2), 寄生虫誌, 25, 69-79.
- 6) 岩永 襄・灰塚隆敏・木村公彦・辻 守康 (1979a): Oncomelania 属に対する日本住血吸 虫の感染性(3). 広大医学誌, 27, 387-390.
- 7) 岩永 襄 · 灰塚隆敏 · 木村公彦 · 辻 守康 (1979b) : Oncomelania 属に対する日本住血吸 虫の感染性(4). 広大医学誌、27、391-396.
- 8) 岩永 襄 (1980): Oncomelania hupensis hupensis における幼貝の成長および生産数, 貝類誌, 39, 63-68.
- 9) 岩永 襄・辻 守康(1982a): Oncomelania 属に対する日本住血吸虫の感染性(5), 広大医学誌,30,787-790.
- 10) 岩永 襄・辻 守康(1982b): Oncomelania 属に対する日本住血吸虫の感染性(6), 広大医学誌,30,791-796.
- 岩永 襄・辻 守康(1983): 日本 住血 吸虫に おける host-parasite relationship に関する研究 (1), 広大医学誌, 31, 479-483.
- 12) 岡本謙一・森 和雄(1962):日本住血吸虫ミラシジウム感染数とミヤイリガイの生存率,運動性ならびに感染率の関係,寄生虫誌,11,272.
- 13) Tsuji, M. and Yokogawa, M. (1972): Studies on the immuno-diffusion tests of Schistosoma japonicum. Research in Filariasis and Schistosomiasis., 2, 165-177.
- 14) Tsuji, M., Iwanaga, Y., Kohno, E., Haizuka, T. and Iwasaki, H. (1978): Immunoelectro-phoretical studies on antigenic communities between Schistosoma japonicum and Oncomelania snails. Research in Filariasis and Schistosomiasis., 3, 39-54.

# Abstract

# OBSERVATION ON INFECTION OF *ONCOMELANIA* SPP. TO *SCHISTOSOMA JAPONICUM*

7. THE INFECTIVITY OF LABORATORY COLONIES OF ONCOMELANIA HUPENSIS HUPENSIS TO YAMANASHI AND LEYTE STRAINS OF SCHISTOSOMA JAPONICUM

# YUZURU IWANAGA, HIROSHI SHIMOMURA, SEISO KATAYAMA AND MORIYASU TSUJI

(Department of Parasitology, Hiroshima University School of Medicine.)

The infectivity of laboratory colonies of *Oncomelania hupensis hupensis* to Yamanashi and Leyte strains of *Schistosoma japonicum* was studied.

The snails were individually exposed to 3, 5 and 10 miracidia of the two geographical strains of *S. japonicum*, respectively.

The snails were kept in inner soil-filter circulating tanks for 7 weeks after infection and then replaced in petri-dishes which contained moistened filter papers. They were examined for naturally emerging cercariae during the period from 7 to 20 weeks after infection and finally crushed 20 weeks after infection for cercariae.

The results are summarized as follows:

- 1) Laboratory colonies of O. h. hupensis were more infective to Yamanashi strain of than to Leyte strain of S. japonicum.
- 2) In both strains of *S. japonicum*, the recovery rate of infected snails in the group exposed to 5 miracidia per snail was obtained the best result compared with the other two group. The snails exposed to 10 miracidia per snail lived shorter than those with fewer number of miracidia.
- 3) The infectivity of laboratory colonies of O. h. hupensis to both strains showed a tendency to decrease from generation to generation in the laboratory.