

Levamisole 塩酸塩の間歇投与による 犬における犬糸状虫予防効果

早崎 峯夫 小林 茂雄 大石 勇

(昭和59年5月29日 受領)

Key words: *Dirofilaria immitis*, levamisole hydrochloride, prophylactic effect, dog

緒言

早崎・大石(1984)は、犬における犬糸状虫の寄生予防に levamisole 塩酸塩を用い、犬に2.5mg/kg を犬糸状虫の自然感染期間および感染期終了後さらに1カ月間連日経口投与することにより、感染が防御できることを報告した。桜井ら(1980)は、この成績に基づいて、野外試験を行い、確実に寄生予防ができることを報告した。他方、大石ら(1975)は、*dl*-tetramisole の間歇投与による抗幼虫効果についても検討を加えたが、強い殺滅効果が認められたものの、不確実であったと報告している。本論文では、levamisole の間歇投与による犬糸状虫寄生予防効果について検討した。

材料および方法

実験1. 自然感染に対する寄生予防効果

実験犬は雑種、年齢不詳の犬糸状虫寄生犬10頭と、雑種、6~8カ月齢の非寄生幼犬14頭の合計24頭である。これらを投薬群13頭(寄生犬5頭、非寄生犬8頭)と対照群11頭(寄生犬5頭、非寄生犬6頭)に分けた。両群の平均体重は、投薬群が10.3(6.5~15.5)kg、対照群が10.9(7~15.5)kgであった。

犬糸状虫の感染は自然感染によった。すなわち、全実験犬を同一犬舎内で混合飼育するとともに、犬糸状虫寄生犬(末梢血マイクロフィラリア数、平均241匹/10 μ l)を群に加えることにより、感染の機会を高め、かつ均等になるよう図った。

実験期間は、1975年6月30日から翌年1月10日までの約7カ月間である。自然感染期間を限定するために、実験犬の飼育室は6月30日から10月14日までの約3.5カ月間開放し、蚊の飛来と犬への吸血を許し、それ以外の期

間は防虫網により蚊の侵入を防いだ。

Levamisole は、2カ月間隔で2クール投与し、第1クールは8月13日~15日の間に、第2クールは10月14~16日の間に、各々3日間連続投与した。投薬は、10% levamisole 塩酸塩液を用いて20mg/kg/日を2回(1回10mg/kg)に分けて、皮下注射した。なお、投薬群13頭のうち、6頭は第1クールの初日に本剤20mg/kg を1日1回に投与したところ、このうち5頭に副作用が認められたため、第2日以後の投薬は全頭ともに1日2回の分割注射とした。対照群は無投薬とした。

予防効果の判定は、感染虫の右心への移行が終了すると推定される。1976年1月10日(実験開始後約7カ月)に全頭を剖検し、右心・肺動脈内における未成熟虫を算定して行つた。また、副作用についても一般臨床所見を中心に詳細に観察した。

実験2. 自然・実験混合感染に対する寄生予防効果

実験犬は、7頭(雑種、1~3歳)で、このうち2頭は、末梢血子虫陽性の犬糸状虫寄生犬、他の5頭は同子虫陰性の非寄生犬である。実験犬は、投薬群4頭(このうち2頭は寄生犬)と対照群3頭に分け、両群の平均体重は投薬群11.2(8~16)kg、対照群8.7(7~11)kgであった。

犬糸状虫の感染は、自然感染と実験感染により行つた。自然感染は、実験1の場合と同様に、投薬群・対照群の両群を開放犬舎で約3.5カ月間混合飼育し、感染に曝した。なお、実験には、末梢血子虫陽性の犬糸状虫寄生犬1頭(実験外)を加え、寄生犬3頭(平均末梢血子虫数1,064匹/10 μ l)として感染を高めるよう努めた。実験感染は *Aedes togoi* で発育させた第3期子虫を、7月28日に全実験犬の背部皮下に注射して行つた。感染子虫数は投薬群で平均42(38~45)匹、対照群で平均41(37~49)匹であった。

Table 1 Prophylactic effect of intermittent medication of levamisole hydrochloride against natural infection of *Dirofilaria immitis* in dogs

Group	Number of dogs tested	Number of dogs infected (%)	Mean number of immature worms recovered (min.-max.)			Percentage of prophylaxis*
			Male	Female	Total	
Medicated†	13	6 (46.2)	0.2 (0-1)	0.6 (0-2)	0.8±1.09 ^a (0-3)	96
Control	11	11 (100)	9.9 (1-24)	10.0 (1-27)	19.9±14.6 ^b (2-46)	—

* $100 - [(\text{mean immature worm count in medicated group} / \text{mean immature worm count in control}) \times 100]$.

† They were medicated two times at the interval of two months with levamisole hydrochloride of 20 mg/kg/day for three days.

a vs b : Significance ($p < 0.001$).

Levamisole の投与は、1クールを5日間として、2カ月間隔で2クールを行ない、第1クールは8月15～19日の間に、第2クールは10月17～21日の間に各々連続投与した。投薬は10% levamisole 塩酸塩液を使用し、投薬群2頭には6時間間隔で1回7 mg/kg を1日3回(日量21mg/kg)、他の2頭には8時間間隔で1回10mg/kg を1日2回(日量20mg/kg)を投与した。対照群は無投薬とした。

両実験における予防効果の判定は、実験感染後152日(実験開始後約6カ月)に全頭を剖検し、右心・肺動脈内における未成熟虫を算定して行つた。すなわち、犬糸状虫の未成熟虫と成虫は形態学的に差異があり、適当な時期に実験犬を剖検すれば、両者の判別は容易である。しかも、わが国の自然感染期間は1年のうちでも7月から9月と限定された期間(井上, 1936; 久米・板垣, 1943; 大石ら, 1958)であるため、前年以前に感染した虫齢1年数カ月以上の成虫と未成熟虫は、明らかに区別し得るので、既寄生犬を用いても、本剤の効果判定が可能である。

成 績

実験 1. 自然感染に対する寄生予防効果.

実験成績は Table 1 に示した。未成熟虫検出率は投薬群で46.2% (13頭中6頭)であり、対照群で100% (全11頭)であった。検出未成熟虫数は、投薬群で平均0.8 (0～3) 匹と少数であったが、対照群で平均19.9 (2～46) 匹と有意(t検定, $P < 0.001$)に多数であった。さらに対照群の寄生数に対する投薬群の寄生数の減少率は96%と高率であった。

なお、検出された未成熟虫の平均体長および性比については、両群間に有意差は認められなかった。

投薬に伴う副作用は、第1クール初日に20mg/kg を1日1回に注射した6頭中5頭にみられた一過性の嘔吐、食欲不振、抑うつ状態などであった。しかし、これらの副作用も第2日以降より1日2回に分割注射してからは認められなくなった。一方、初日より1日2回に分割注射した群には異常所見は認められなかった。さらに、妊娠前3日または30日に第2クールを注射した2頭も、前者は6頭を正常分娩し、後者は剖検によつて8頭の後期胎子が確認された。また、妊娠前期(推測5日)または中期(推測1カ月)に第2クールを注射した2頭も各々3または5頭を正常分娩した。なお、これら出生子や胎子には奇形などの異常は認められなかった。

実験 2. 自然・実験混合感染に対する寄生予防効果

実験結果は、Table 2 に示した。未成熟虫の右心・肺動脈への移行率は、対照群で平均72.7 (40.5～134.6)であったが、投薬群では全頭に寄生が認められず、明らかな予防効果が認められた。また、日量の分割投与回数2回と3回の間の予防効果には差は認められなかった。投薬に伴う副作用は、1回量7 mg/kg を1日3回投与した2頭に、各クールの第3日投与後から軽度な抑うつ状態がみられたが、投薬終了後3～4日には正常に復した。一方、1回10mg/kg を1日2回投与した2頭では、第2クールの第4日投与後、1頭に注射部の硬結と疼痛が認められたことを除いて他に異常は認められなかった。以上の反応はいずれも一過性で軽度なものであった。

Table 2 Prophylactic effects of intermittent medication of levamisole hydrochloride against *Dirofilaria immitis* infection in dogs

Group	Dosage*	Dog No.	No. of L ₃ inoculated	Days from infection to necropsy	Number of immature worms recovered			Percent recovery
					Male	Female	Total	
Medicated	7 mg/kg, t. i. d. (21 mg/kg/day)	1	38	152	0	0	0	0
	×5 days ×2 course	2	39	152	0	0	0	0
	10 mg/kg, b. i. d. (20 mg/kg/day)	3	44	152	0	0	0	0
	×5 days ×2 course	4	45	152	0	0	0	0
Control		5	37	152	7	9	16	43.1
		6	37	152	4	11	15	40.5
		7	49	152	23	43	66	134.6
		Mean					32.3	72.7

* The drug was given by subcutaneous injection. The first medication was given on 15th to 19th, August and second one was performed on 17th to 21st, October. Experimental infection was conducted on 28th, July.

考 察

今回の実験における自然感染は、実験1の対照群にみられたように全頭に未成熟虫が検出され、感染率は100%であった。さらに1頭あたりの平均感染未成熟虫数も19.9匹と、既報の1感染期間における感染率27.1% (小林ら, 1980) および平均感染数11匹 (大石ら, 1958) より高値であったことから、子虫保有寄生犬を同居飼育したことも有効に作用して、高度な自然感染状況下にあったと思われる。このことは実験2の場合も同様に虫体の右心・肺動脈への移行率はかなり高く、実験感染に加えて、自然感染も高度であり、両実験とも、levamisoleの寄生予防効果を評価するに十分な感染状況下にあったものと考えられる。

Levamisoleの投薬量および投薬間隔は、大石ら(1975)のdl-tetramisoleを用いた予防試験成績に基づいて決定した。すなわち、犬糸状虫実験感染後30日から1カ月間隔で、20mg/kg/日の5日間投与を1クールとして4クール投与した結果、未成熟虫の右心・肺動脈への移行率は5.5%であった。一方、感染後60日から10mg/kg/日を10日間投与した結果、移行率は3.2%と不確実であったが、ほぼ同率でしかも対照群の40.3%と比較して、極めて高率であった。このことから、levamisoleを用いた寄生予防は、1クールを日量20-21mg/

kgの3ないし5日間連続投与として、2カ月間隔で合計2クール投与することとした。さらに、levamisoleの投薬時期は、自然感染下で感染した幼虫が右心・肺動脈へ移行する時期を基準にして決定した。すなわち、前述のように、自然感染期間は7~9月の約3カ月間であり、感染した虫体の右心・肺動脈への移行は、早いもので85日、遅いもので120日である (Kume and Itagaki, 1955) ことから、第1クールを8月中旬とし、第2クールを10月中旬とした。

実験1において、投薬群で未成熟虫の検出されなかったものは53.8% (7/13) であり、しかも、未成熟虫寄生犬の寄生数は対照群と比較して極めて少数であった。このように強い寄生予防効果が認められたが、確実な移行阻止効果は得られなかった。

実験2において、実験1の成績に基づき、投薬日量は実験1と同様(20~21mg/kg)として、1クルールの投与日数を5日間に延長して予防効果を検討した。また、日量を2回と3回に分割投与した場合の効果についても検討した。その結果、全頭に確実な予防効果が得られた。これらの成績から、犬における犬糸状虫の寄生予防には、levamisole 20mg/kg/日 (1日2回または3回に分与) の5日間連続投与を1クールとして、2カ月間隔で2クール投与すれば有効であることが明らかになった。

Levamisole は、吸収排泄が速やかな薬物 (Symoens and Rosenthal, 1977; van den Bossche and Janssen, 1967) であることから、本剤を分割投与することは薬効を低下させる可能性も考えられたが、今回の実験にみられたように、犬糸状虫幼虫殺滅効果は、有効日量であれば2~3回に分割投与しても差は認められなかった。

Levamisole の皮下注射による副作用については、68頭の犬に *dl*-tetramisole を10mg/kg 皮下注射し、一時的な流涎 (2.9%) と嘔吐 (1.4%) を認めた報告 (Weissenburg, 1968) や、22mg/kg では強い毒性反応が現われたが、1回に5~10mg/kg を1日2回注射した場合、多くが耐過したとする報告 (Boring and Shepard, 1975) がある。今回の実験で20mg/kg/日を1回に皮下注射すると、多くの実験犬に一過性の嘔吐、悪心、食欲不振などの症状が認められたが、7mg/kg, t.i.d. (21mg/kg/日)、あるいは10mg/kg, b.i.d. (20mg/kg/日) では一部の実験犬に軽度な抑うつ状態が認められた程度であり、本剤の副作用は分割投与によつて抑制し得るものと考えられる。また、少数ではあるが、妊娠や胎子への影響を観察したが、異常所見は認められず、生殖への影響は低いものと思われる。

結 語

Levamisole 塩酸塩を用いて間歇投与による犬の犬糸状虫寄生予防試験を行い、次の結論を得た。

1. Levamisole 塩酸塩20mg/kg/日の3日間皮下注射を1クールとし、自然感染開始後1.5カ月と、3.5カ月に合計2クールを投薬した。対照群の感染率100%、平均寄生数19.9匹であつたのに対して、投薬群は感染率46.2%、平均寄生数0.8匹であり、高い寄生予防効果が認められたが、完全ではなかつた。

2. Levamisole 塩酸塩20~21mg/kg/日 (t.i.d. あるいは b.i.d.) の5日間皮下注射を1クールとして、犬糸状虫の自然感染開始期から約1.5カ月と約3.5カ月に各々1クール合計2クールを投薬した。犬糸状虫の感染は自然感染と実験感染の混合感染によつた。対照群では、実験感染数に対する虫体移行率は、平均72.7%であつたが、投薬群では全頭に虫体移行は認められず、明らかな予防効果が得られた。また、日量を2回と3回に分

割投与しても予防効果に差は認められなかつた。

文 献

- 1) Boring, J. G. and Shepard, E. H. (1975): Effectiveness of levamisole hydrochloride as an adulticidal drug for *Dirofilaria immitis*. Proc. Heartworm Symp. '74, Morgan, H. C., ed., VM Publ. Inc., Kansas, 89-92.
- 2) 早崎峯夫・大石 勇 (1984): レバミゾールの長期連続投与による犬糸状虫の予防試験。日獣会誌, 投稿中。
- 3) 井上太郎 (1936): *Dirofilaria immitis* の寄生状態および未成熟虫の季節的出現性について。慶応医学, 16, 1737-1754.
- 4) 小林茂雄・早崎峯夫・大石 勇 (1980): 「サイポール®」による犬糸状虫予防の野外成績。獣畜新報, No. 706, 269-272.
- 5) 久米清治・板垣四郎 (1943): 犬糸状虫 *Dirofilaria immitis* の研究 (4), 発育史に関する研究。応用獣医誌, 16, 59-80.
- 6) Kume, S. and Itagaki, S. (1955): On the life-cycle of *Dirofilaria immitis* in the dog as the final host. Brit. Vet. J., 111, 16-24.
- 7) 大石 勇・早崎峯夫・小林茂雄・久米清治 (1975): 中間発育場所における犬糸状虫幼虫に対する化学療法 (XI), 数種薬剤の間歇投与の効果。寄生虫誌, 24 (増), 52.
- 8) 大石 勇・小林茂雄・久米清治 (1958): 犬糸状虫の寄生状態について。日獣会誌, 11, 10-12.
- 9) 桜井雄一郎・駒田栄司・三瓶 清・佐々木俊道・大石 勇・小笠原成郎 (1980): 犬糸状虫自然感染に対する levamisole hydrochloride の長期連続投与による予防効果。日獣会誌, 33 (学会号), 9-10.
- 10) Symoens, J. and Rosenthal, M. (1977): Levamisole in the modulation of the immune response: The current experimental and clinical state. J. Reticuloendothel. Soc., 21, 175-221.
- 11) van den Bossche, H. and Janssen, P. A. J. (1967): The biochemical mechanism of action of the anthelmintic drug tetramisole. Life Sci., 6, 1781-1792.
- 12) Weissenburg, H. (1968): Citarin (Tetramisole) als anthelmintikum beim hund. Ber. Munch. Tierarzt. Woch., 81, 69-71.

Abstract

PROPHYLACTIC EFFECTS OF INTERMITTENT MEDICATION
OF LEVAMISOLE HYDROCHLORIDE AGAINST
DIROFILARIA IMMITIS INFECTION IN DOGS

MINEO HAYASAKI, SHIGEO KOBAYASHI AND ISAMU OHISHI

(Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture,

Tokyo University of Agriculture and Technology,

Fuchu-shi, Tokyo 183, Japan)

Prophylactic effects of levamisole hydrochloride on the developing stages of *Dirofilaria immitis* were studied using *D. immitis* infected dogs. The experiment 1 consisted of 13 experimental and 11 control dogs. All of them were exposed to natural infection by means of mosquito bites throughout three months of the season of natural transmission, from July to September. Thirteen experimental dogs were medicated two times at intervals of months, in August and October, with levamisole hydrochloride at a dose of 20 mg/kg a day for three days by subcutaneous injection and 11 control dogs were not medicated. The experiment 2 consisted of 4 experimental dogs and 3 controls. These dogs were exposed to natural infection as the same as mentioned above and additionally infected with a single experimental inoculation of infective larvae on 28th, July for steadily establishing the infection. The experimental dogs were divided into two groups and received two courses of medication. Two dogs were subcutaneously given levamisole hydrochloride at 7 mg/kg, t.i.d. (21 mg/kg/day) for 5 days and the other two dogs were subcutaneously medicated 10 mg/kg, b.i.d. (20 mg/kg/day) for 5 days, respectively. The first course of medication was given 1.5 months and the second course was 3.5 months after the beginning of season of transmission. In experiment 1, they were sacrificed 3.5 months (January, 10th) after the end of infectious season. Levamisole hydrochloride was highly effective for the prevention from *D. immitis* infection as a larvicide. In experiment 2, dogs were sacrificed 152 days after experimental infection. At necropsy, no worm was recovered from four medicated dogs. To the contrary, three controls had 32.3 (16 to 66) worm in average and the mean recovery rate was 72.7 (40.5 to 134.6) %. These data are also indicative that the prophylactic effect in the dogs medicated two times daily did not differ from that in the other group medicated three times daily. In experiment 1 and 2, no substantial clinical side reaction was observed except for mild and transient vomiting, anorexia and depression.