

# 旋毛虫感染に対するチャイニーズハムスター の自然抵抗性

## Ⅱ 排虫時期と関連した成虫の腸管内 分布と産仔能

高田伸弘 多田 高

(昭和62年 6月12日受領)

### 要 旨

チャイニーズハムスター (CHF) の旋毛虫感染に対する自然抵抗性を確認した前報につづき、今回はその腸管寄生相の詳細を調べるために旋毛虫 2 株を用いてマウスと比較しつつ検討した。

1. 岩崎およびポーランド株旋毛虫ともに、CHF ではマウスより 5～10 日程度の排虫遅延が確認された。両宿主における雌成虫の相対的増加のピークもその排虫時期のずれに一致した。
2. CHF の小腸内面積はマウスの半分程度と狭く、成虫は小腸中部に多く寄生してその相対的配置は排虫まで変わらなかった。
3. 感染後 5～15 日の間に回収された雌成虫の培養において、両株ともに仔虫産出数はマウスより CHF で有意に多く、CHF における産仔能の抑制が示唆された。

以上、非好適宿主でむしろ排虫が遅延した事実は排虫パターンの多様性を示すもので、産仔能など虫体サイドの条件によっても排虫時期は変動し得るように思われた。そして、腸管の感染の場としての条件の悪さや産仔能の抑制なども CHF の自然抵抗性的一面と思われた。

**Key words:** *Trichinella spiralis*, worm expulsion, fecundity, natural resistance, Chinese hamster

### 緒 言

ある寄生虫に対する感染防御能とくに再感染阻止能をみる場合は易感染性の好適宿主を用いるのが一般的であろうが、著者らは好適宿主ということの意味を考え直す上から、逆に非好適宿主における寄生虫の感染状況を調べることを計画した。そして、旋毛虫感染に対するチャイニーズハムスターの自然抵抗性をモデルとして種々の検討を重ね、前報(高田ら, 1985)や別報(立藤ら, 1984)で 2 系統チャイニーズハムスターにおける感染度の評価あるいは血液・臓器の所見など全般につき報告した。しかしその中で必ずしも確認できずに残された問題点としては、旋毛虫がその与えられた腸管サイズの中でどのように寄生分布し産仔能や排虫時期と関連してゆくかということがあげられる。今回はそれらの詳細について、2 株の旋毛虫を用いてマウスとの比較において検討した結果をまとめて報告する。

### 材料と方法

旋毛虫：前報で述べた日本系「岩崎株」(I 株)に加えて、同じく弘前大学医学部寄生虫学教室より分与されたポーランドのイノシシ由来「ポーランド株」(P 株)を用いた。この株は前者より感染力の強いことが知られている(黄, 1980)。それぞれの継代マウスの骨格筋を前報に準じて人工消化し、筋肉内成熟幼虫 Muscle larva (ML) を得た。

供試動物：今回用いたチャイニーズハムスターは、前報で述べたように、自家生産で近交系維持を目指して Chinese hamster Fukui colony (CHF) と仮称しているもので、実験には 8～10 週令で体重約 30 g の雄を選んだ。対照としては 8 週令前後の雄 ddY マウス (SPF クロージドコロニー) を用いた。ひとつの実験群は 4～6 頭構成であり、供試頭数は各図表に記した。

感染方法：すべての実験群において、動物の体重 1 g 当り 20 個体の ML をステンレス製マウス用ゾンデにて胃内投与した。

成虫回収法：大筋では前報に準ずるが、腸管から虫体

を遊出させるためのインキュベートは3時間とし、腸管の部位別寄生状況を知るためには小腸の3等分および大腸全長（盲腸除く）を切り出した。なお、別に用意した未感染動物について腸管を縦切してそのサイズを正確に計測するとともに、パラフィン包埋輪切像により腸管内周当りの絨毛数を算定した。

産仔能の観察：感染後5、10および15日目の両宿主の小腸より回収した雌成虫の中から未熟幼虫を多く包蔵した30個体を採取し、Blair (1983) および Stewart *et al.* (1980) に準じて調製した培養液で1度洗った後、同培養液を分注した96穴平底マイクロプレートの各ウェルに個別に投入して37°Cで5% CO<sub>2</sub>の条件に置いた。7日間連続培養で倒立顕微鏡下に新生幼虫 Newborn larva (NBL) の産出数を数えた。上記培養液の組成は、ペニシリン300U/ml、ストレプトマイシン300 $\mu$ g/mlおよび抗真菌剤0.3 $\mu$ g/mlを添加したTC Medium 199 (Difco)に仔牛血清（阪大微生物病研究会）を20%加えたものである。なお、NBLの成長度をみるために10日後まで顕微鏡下マイクロメーターでその体長を計測した。

数値処理：本文中の回収率はすべてそれぞれの全投与虫数に対する百分率とした。また平均値の比較は、危険率5%のt-検定による。

## 成 績

CHFではゾンデを用いた胃内投与で時に事故の起ることがあるので、参考までに口腔内（頬袋）滴下による

感染を試みたところ、300ML投与5日目の各6頭平均で回収された成虫数は胃内投与（131.7 $\pm$ S. E.19.2）と口腔内投与（120.0 $\pm$ S. E.10.6）で著差はなかった。またCHF生存のための感染限界を求めたところ、I株では1,800 ML/g体重ほどで今回の規定投与量の約3倍、またP株では2倍強であることが分った。

### 1. 小腸からの排虫時期と性比

感染後5日ごとに30日目まで成虫（雌雄合計）の平均回収率をみたところ、I株で5日目にCHFとマウスともに27~28%を示したが、マウスでは15日目までにすべて排虫されたのに対しCHFでは20日目にも3.3%の回収率をみた。P株についても、マウスで5日目にみられた47%の回収率が20日目までに急激に消失したのに対してCHFでは緩徐に下降し25日目まで排虫が遅延した。また性比をみると、5日目では雄に対して雌が2倍強で、続いて雌の比がさらに高まった後、一転して雄が急増した。この性比変転の時期はCHFとマウスの間で「ずれ」がみられ、上記排虫時期の差とほぼ一致した（Fig. 1）。

### 2. 寄生の場としての腸管内サイズ

CHFとマウスについて、小腸上・中・下部および大腸全長の長さと同内周を計測した模式図がFig. 2である。CHFの小腸全長はマウスの約47%と短かく、また内周や絨毛の高さはマウスの2/3にすぎないなど、腸管の実質内面積はかなりの差が推測された。

### 3. 成虫の腸管部位別の分布

感染後5日ごとに20日目まで腸管の部位別に成虫（雌

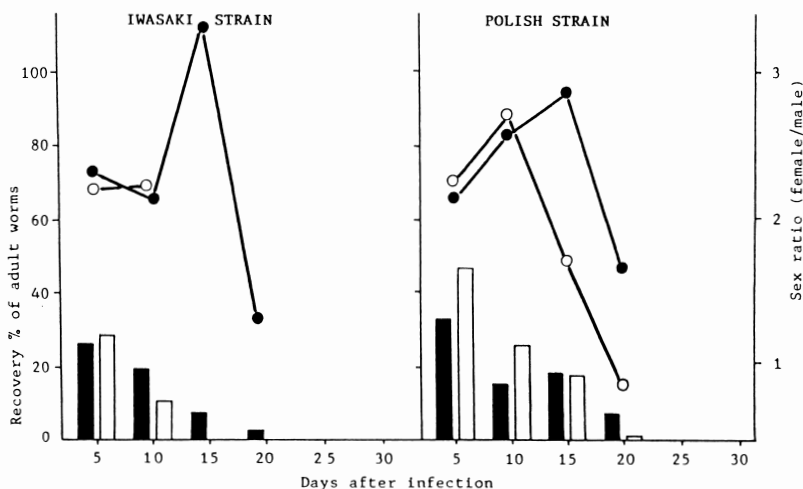


Fig. 1 Changes in recovery rates and sex ratios of adult worms from small intestines of CHF and ddY mice during the course of infection with I- and P-strains.

Three animals for duplicate experiments were infected with 20 ML per g body weight. Recovery rate (■ CHF, □ ddY), Sex ratio (● CHF, ○ ddY)

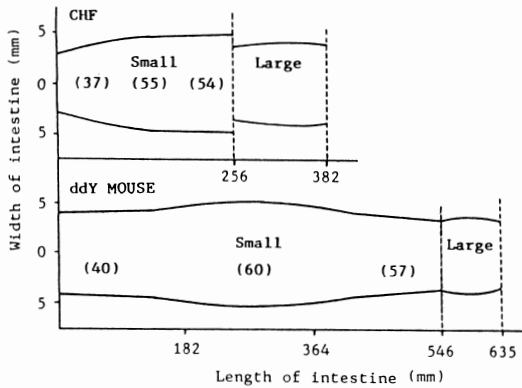


Fig. 2 Comparison of internal sizes of small and large intestines between CHF and ddY mice. Measurements of longitudinally opened intestines from five uninfected animals. Numbers of villi per cross section in parentheses.

雄合計)の平均回収率をみた。個々の回収率の比較は別にしてIおよびP株に共通してみられる宿主間の大きな違いとしては、マウスでは5日目に小腸上部にみられた分布のピークが経日的に中〜下部へ移行する傾向があるのに対し、CHFでは当初から小腸中部にあった分布のピークが経日的にもその相対的位置に変化がみられない。うえ大腸からも有意な虫数(性比も小腸のそれに準ずる)が回収された(Table 1)。

4. 雌成虫産仔能の評価

小腸から回収された雌成虫のNBL産出状況の大まかな傾向では、培養1日目と7日目までの産出数の差は感染5日後では大きいものの経過日に伴って差は縮まる、すなわち一般的な産仔能の減弱傾向は両株の両宿主に共通してみられた。そこで7日間培養の総産出数をみると、両宿主においてP株がI株のおよそ2倍と多いのは予想されたこととして、CHFから回収された両株はすべての経過日においてマウスのそれよりも有意差をもって産仔能の強いことが分った。(Fig 3)。ちなみに同一条件で感染させた各群5頭の30日後のML回収数は、マウスでの莫大な数に比べてCHFでは両株とも検出は皆無に近かった。一方、両宿主から回収したI株を7日間連続培養してNBL産出数の累積傾向を見たところ、CHFでは初産数が劣るものやがて加速し7日目の総数はマウスより多くなる結果が得られた。1および7日目の両宿主の差は有意と検定された(Fig 4)。ただし、いずれのNBLも産出以後の成長に著差はなく、その体長は産出時108~110μm、4日後125~133μm、および10日後133~1

Table 1 Distributions of adult worms in intestines of CHF and ddY mice during the course of infections with I-and P-strains

Day	5	10	15	20
(Iwasaki st.)				
Upper	7.0	8.8	4.5	1.5
CHF Middle	15.0	4.8	5.0	3.7
Lower	4.7	3.3	2.5	1.5
Large	2.5	1.3	3.2	3.0
Upper	23.3	3.3	0	0
ddY Middle	8.8	3.2	0	0
Lower	2.0	4.5	0	0
Large	0.2	0.5	0	0
-----				
(Polish st.)				
Upper	9.7	5.8	8.3	3.2
CHF Middle	12.8	5.5	11.0	8.8
Lower	5.5	4.3	3.5	2.2
Large	2.8	2.8	3.8	1.3
Upper	25.2	9.2	2.5	0
ddY Middle	14.5	11.5	10.8	0
Lower	2.7	5.5	5.3	0
Large	0.2	0.2	0.1	0

Small intestines divided into upper, middle and lower segments, and large intestines except for cecum in three animals a group for duplicate experiments.

Recovery % from total numbers (about 600) of worms infected with 20 ML/g B. D.

36μmであった。

考 察

旋毛虫成虫の腸管からの排虫は、マウスの多くの系統で感染後2週間後までにはほとんど完了するとされ(Kennedy, 1976; Alizadeh and Wakelin, 1982) 今回のddYマウスでも同様の成績を得た。これに対して、CHFではその排虫時期がマウスより5~10日ほど遅延することが確認された。これはRitterson (1957)によるさらに少数感染の実験系でみられた成績ともほぼ一致するので、系統や感染量を問わずチャイニーズハムスター全般にみられることと思われる。そこで、前報(1985)で同じ実験条件のマウスにおける排虫時期を確認しないままCHFの排虫が相対的に早いとした記述はここに修正したい。また、両宿主から回収された成虫の性比が感染初期には雌が雄の2倍程度であるのは妥当として(Vil-

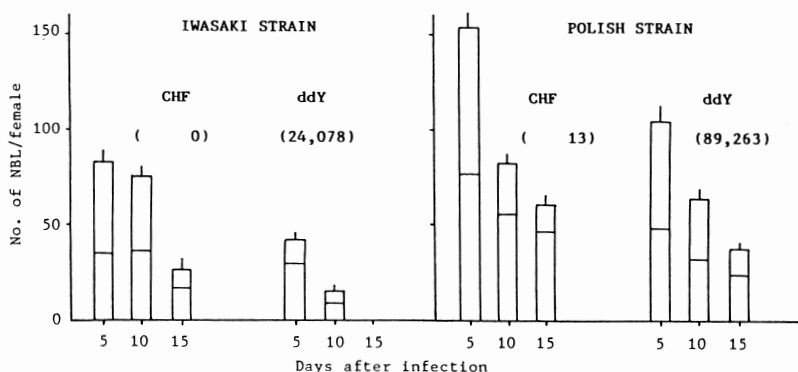


Fig. 3 Comparison of *in vitro* fecundity of female adults recovered from CHF and ddY mice during the course of infection with I- and P-strains. Individual incubation of 30-40 adult females pooled from 3 animals a group for duplicate experiments. Lower part (1 day incubation) and higher part (7 days consecutive incubation) of histogram  $\pm$  S. E. t-test ( $P < 0.05$ ) significant between CHF and ddY mice after 7 days incubation. Mean numbers of ML recovered from five animals a group infected with the same dose in parentheses.

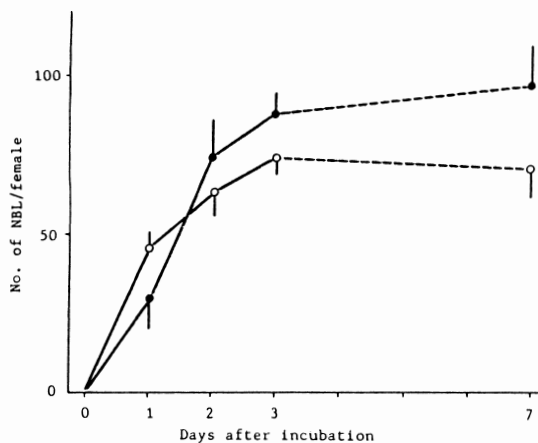


Fig. 4 Changes in female fecundities of I-strain from CHF and ddY mice during *in vitro* incubation consecutive for 7 days. Individual incubation of 20 adult females pooled from 2 animals a group for duplicate experiments. t-test ( $P < 0.05$ ) significant between CHF (●) and ddY (○) on day 1 and 7 after incubation  $\pm$  S. E.

lella, 1970; 山口, 1983), その後に雄の排出によると思われる雌の相対的増加のピークがCHFではマウスよりも遅れて現われている。この「ずれ」は、CHFで雌成虫

の排虫が遅れて多く残存することを示している。

一方、CHFの小腸全長がマウスの半分程度にすぎない事実は、強い感染抵抗性の第一的要因ではないにしても(高田ら, 1985), 感染の場のサイズが小さいという意味で重要なことに違いない。そして感染から排虫に到るまで一貫して小腸中部に多く分布がみられるのは、その性比から考えて主に雌が分布・残存するものである。このように、成虫の分布が感染初期から大腸を含む下部へ拡散してしまうことは、本虫の通常の寄生部位が小腸上部の粘膜絨毛であることを考えると(Despommier *et al.*, 1978; Dick and Silver, 1980; Sukhdeo and Croll, 1981), CHFの腸管では良い状態でのNBL産出が保障されないことを示す。

さらに、雌成虫を*in vitro*培養してNBLの産出をみる方法については、その産出数を従来の異なった条件での結果(Stewart *et al.*, 1980; Despommier, 1983)と比べて、*in vivo*におけると同程度の充分な産出数を再現しようとするものではないが、問題なのは、I・P両株においてマウスよりもCHFから回収した雌虫にNBL産出数が多く、7日連続培養でみた産仔能の回復力でもCHFが勝ることであった。この解釈として、産仔能の低下した排虫途上の成虫を新しい宿主へ移植すると産仔能がほぼ回復するとしてKennedy and Bruce (1981)の報告などから考えるならば、*in vitro*の培養条件で産出させ得るNBLの量はその時点までに子宮内に包蔵されていた分に限られると思われ、したがって産仔を抑えられて

NBL を多く温存していた CHF 由来の雌虫の方に結果的に産仔数が多かったものと考えられる。前報 (1985) にもある通り、CHF では経過日に伴って NBL を包蔵した大きな雌虫の割合が増す事実はこれを裏付ける。この場合の産仔能抑制の要因としては、CHF の腸管粘膜における非特異的の防御因子あるいは腸管サイズの狭さゆえの Crowding effect (Stewart *et al.*, 1980) などが考えられよう。

そこで、好適宿主のマウスよりも非好適宿主 CHF で排虫時期が遅れる理由について、産仔能抑制との関連でひとつの推論を試みると、マウスでは感染当初の抵抗性の低さから産仔も進むが排虫因子の増強で急速に排出されるのに対して、CHF では強い抵抗性で産仔が進みにくいまま排出が遅れるものの結局は抗し切れずに排出される、という考え方ができる。すなわち、旋毛虫の雌成虫は通常短期間の産仔だけを目的としているわけで、産仔が充分に保障されない状況 (CHF) にあってはさらに長く寄生状態を維持しようとする虫体サイドの要因も考え得ると思われる。この点では、成虫自身が長期にわたって腸管に寄生し続けることに意義がある他の虫種の場合とはやや異なるであろう。ここで、上記排虫の機構については一概に論じられないが、かつて Ritterson (1959) がチャイニーズハムスターにコーチゾンを投与して旋毛虫の排虫時期がさらに遅延することをみた報告がある一方、近年では、非特異的な排虫因子としての肥満細胞や好酸球あるいは杯細胞の役割を評価 (Alizadeh and Murrell, 1984; Oku *et al.*, 1984; 1985) もしくは疑問視 (Crowle, 1983) する報告など多く知られ、著者らも CHF におけるこれら細胞の動態については検討中である。ただいづれにしても、今回推測された産仔能の抑制は排虫時期に先立って発現しているのでこれらは関連しつつも別々の機序によるものと考えられ、排虫の力学には宿主と虫種の組合せに応じた様々なパターン (Nawa and Korenaga, 1983) のあることが再認識される。なお、NBL が産出された後の移行過程での CHF の抵抗性については別の実験計画で検討の予定である。

今回供試した CHF の近交系維持に努力された立藤規子元助手に心より謝意を表する。

#### 文 献

- 1) Alizadeh, H. and Wakelin, D. (1982): Comparison of rapid expulsion of *Trichinella spiralis* in mice and rats. *Int. J. Parasitol.*, 12, 65-73.
- 2) Alizadeh, H. and Murrell, K. D. (1984): The intestinal mast cell response to *Trichinella spiralis* infection in mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> mice. *J. Parasitol.*, 70, 767-773.
- 3) Blair, L. S. (1983): Laboratory techniques. In *Trichinella* and Trichinosis, ed. by W. C. Campbell, Plenum Press, New York and London, 563-570.
- 4) Crowle, P. K. (1983): Mucosal mast cell reconstitution and *Nippostrongylus brasiliensis* rejection by W/W<sup>v</sup> mice. *J. Parasitol.*, 69, 66-69.
- 5) Despommier, D. D., Sukhdeo, M. and Meerovitch, E. (1978): *Trichinella spiralis*: site selection by the larva during the enteral phase of infection in mice. *Exp. Parasitol.*, 44, 209-215.
- 6) Despommier, D. D. (1983): Biology. In *Trichinella* and Trichinosis, ed. by W. C. Campbell, Plenum Press, New York and London, 75-151.
- 7) Dick, T. A. and Silver, B. B. (1980): Intestinal distribution of *Trichinella spiralis* in rats. *J. Parasitol.*, 66, 472-477.
- 8) Kamiya, M., Oku, Y., Itayama, H. and Ohbayashi, M. (1985): Prolonged expulsion of abult *Trichinella spiralis* and eosinophil infiltration in mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> mice. *J. Helminthol.*, 59, 233-239.
- 9) Kennedy, M. W. (1976): Kinetics of establishment and rejection of the enteral phase of a primary infection of *Trichinella spiralis* in the NIH strain mouse. *Transact. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 70, 285-292.
- 10) Kennedy, M. W. and Bruce, R. G. (1981): Reversibility of the effects of the host immune response on the intestinal phase of *Trichinella spiralis* in the mouse, following transplantation to a new host. *Parasitol.*, 82, 39-48.
- 11) 黄文雄 (1980): 日本産旋毛虫の感染性に関する研究. 弘前医学, 32, 279-301.
- 12) Nawa, Y. and Korenaga, M. (1983): Mast and goblet cell responses in the small intestine of rats concurrently infected with *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides ratti*. *J. Parasitol.*, 69, 1168-1170.
- 13) Oku, Y., Itayama, H. and Kamiya, M. (1984): Expulsion of *Trichinella spiralis* from the intestine of W/W<sup>v</sup> mice reconstituted with haematopoietic and lymphopoietic cells and origin of mucosal mast cells. *Immunol.*, 53, 337-344.
- 14) Ritterson, A. L. (1957): The Chinese hamster (*Cricetulus griseus*) as an experimental host for *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*, 43, 542-547.
- 15) Ritterson, A. L. (1959): Innate resistance of species of hamsters to *Trichinella spiralis* and its reversal by cortisone. *J. Inf. Dis.*, 105, 253-266.
- 16) Stewart, G. L., Kramar, G. W., Reddington, J. J. and Hamilton, A. M. (1980): Studies on *in vitro* larva-positivity by abult *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*, 66, 94-99.
- 17) Sukhdeo, M. V. K. and Croll, N. A. (1981): The location of parasites within their hosts: Factors affecting longitudinal distribution of *Trichinella spiralis* in the small intestine of mice. *Intern. J. Parasitol.*, 11, 163-168.

- 18) 立藤規子・高田伸弘・星野 孝 (1984) : チャイニーズハムスターの旋毛虫感染抵抗性にみられる系統差および性差. 医学と生物学, 109, 255-257.
- 19) 高田伸弘・立藤規子・星野 孝・中久木和也・伊藤秀信 (1985) : 旋毛虫感染に対するチャイニーズハムスターの自然抵抗性 I. 2 系統宿主における感染性と血液学的観察. 寄生虫誌, 34, 27-35.
- 20) Vilella, J. B. (1970): Life cycle and morphology. In Trichinosis in man and animals, ed. by S. E. Gould C. C. Thomas Pub., USA, 19-60.
- 21) 山口富雄 (1983) : 旋毛虫症. 本邦における人獣共通寄生虫症, 文永堂, 東京, 221-234.

[Jpn. J. Parasitol., Vol. 36, No. 5, 322-327, October, 1987]

Abstract

EVALUATION ON NATURAL RESISTANCE OF CHINESE HAMSTER  
AGAINST TRICHINA INFECTION  
II. INTESTINAL DISTRIBUTION AND FECUNDITY OF  
ADULT WORMS ASSOCIATED WITH THE COURSE OF EXPULSION

NOBUHIRO TAKADA AND TAKASHI TADA

(Department of Immunology and Parasitology, Fukui Medical School,  
Matsuoka, Fukui 910-11, Japan)

The intestinal phases of Iwasaki and Polish strains of *Trichinella spiralis* in Chinese hamster Fukui colony (CHF) were examined in comparison with that in ddY mice.

1. It was shown that the term of expulsions of both strains from CHF were 5-10 days longer than that from mice. Each peak of relative increases of the adult females to males appeared to be associated with the time lag of worm expulsions between CHF and mice.

2. The entire internal size of the small intestine of CHF was only about half the size of mice. The adult worms of both strains were distributed partially at the middle sites of the small intestines of CHF, and the pattern of distribution was stable until the final expulsions.

3. In *in vitro* culture of the mature adult females recovered from both hosts, the mean numbers of the newborn larvae produced per female of each strain from CHF were significantly larger than those from mice.

The fact that the term of worm expulsion is prolonged in the insusceptible host CHF provides an evidence that the expulsion mechanisms are diverse by the combinations of parasites with hosts. It seems that the course of worm expulsion may be influenced by the conditions of worms such as a level of fecundity (larviposition).