

Orientostrongylus ezoensis のラット腸管内における 寄生分布, 発育並びに産卵 ——異なる投与幼虫数での実験的感染

藤本和義 堀栄太郎

(昭和63年1月14日受領)

要 約

Orientostrongylus ezoensis の感染幼虫数を種々に変えてラットに経口投与し, 寄生した成虫の分布, 発育および産卵状況を観察した。投与後7日から14日までの間の剖検によると, 成虫は500匹以下の投与群で, 主に(47%)小腸上部とくに十二指腸部に分布し, 1000匹以上の投与群では, 十二指腸のほか胃や小腸下部にも広く分布が認められた。100匹以下の少数投与群では, 成虫は投与後70日以上にわたり徐々に腸管から減少した。1000匹以上の多数投与群では, 投与後35日頃から急速に排虫され, 少数の成虫は125日に至るも生存がみとめられた。宿主糞便を濾紙培養し, 遊出した次世代感染幼虫数を毎日あるいは1日おきに数え, 寄生成虫の産卵状況を知る目安とした。500匹以下の幼虫投与群では, 次世代幼虫数は明確なピークを示すことなく日数の経過とともに徐々に減少したが, 1000匹以上の多数投与群では15日頃より急速に減少し, その後少数の幼虫が持続的に回収された。投与後8日から15日までの間にえられた次世代総幼虫数は, 投与幼虫数が増加しても増えず, 雌1匹の1日あたりの平均次世代幼虫数は, 投与幼虫数が増えると, 逆に減少した。寄生雌雄成虫の体長も, 投与幼虫数の増加につれて小さくなった。

Key words : nematoda, *Orientostrongylus ezoensis*, rat intestine, distribution, development oviposition

緒 言

一般に寄生虫は最適な寄生部位が限られているため, 宿主あたりの寄生密度の増加によって種内競争が起り, 種々の密度効果がみられる (Kennedy, 1975)。

腸管という制限された空間を利用する腸管寄生線虫類も寄生密度の増加によって, 発育途中での死亡率の上昇, 虫体の小型化, 産卵数の低下等の密度効果を受けることが知られている (Sarles, 1929; Sadun, 1949; 町田, 1956)。しかし一方では *Nippostrongylus brasiliensis* (Haley and Parker, 1961) や旋毛虫 *Trichinella spiralis* (Sadun and Norman, 1956) のように寄生密度の影響が明瞭にみられない種や犬鉤虫 *Ancylostoma caninum*, ズビニ鉤虫 *A. duodenale*, アメリカ鉤虫 *Necator americanus* (永吉・牟田口, 1956; 永吉ら, 1956; 矢島・町田, 1958) のように低密度寄生ではかえって産卵や発育に悪影響がみられる例も知られている。このことは腸管寄生線虫類の寄生密度に対する反応が種によってかなり異なることを意味しており, より詳細な研究が必要と考えられる。

本報では感染幼虫で経口摂取され, 肺などの体内移行も行わず, 腸管で直接発育する生活史をもつ寄生線虫 *Orientostrongylus ezoensis* (福本, 1979) を材料に実験的に異なる数の感染幼虫をラットに経口的に投与して, 寄生成虫の腸管内での分布, 発育並びに産卵状況(産卵数の代わりに糞便の試験管内濾紙培養法で遊出させた幼虫数を調べた。)などについて観察した。

材料及び方法

1) 材料と感染方法

実験に用いた *O. ezoensis* は昭和52年に埼玉県内においてドブネズミより採集したもので, ラットを宿主として累代飼育してきた系統である。感染実験にはラット糞便の試験管内濾紙培養法により遊出させた完熟せる感染幼虫(以下, 単に幼虫)を用い, およそ7週令の雌ラット (Wistar 系) に感染させた。感染方法は感染実験群 (n = 5 ~ 8000) 毎に実体顕微鏡下でラット1匹宛の投与幼虫数を数え, ラット用ゾンデを使って直接, 胃内に投与した。

2) 虫体の回収

感染後所定の期間(7~126日)を経てラットを開腹

して胃と腸管をとり出し、それぞれについて寄生虫体数を調べた。腸管は起始部より順次3 cmの間隔で切断し、各々切り開いて生理食塩水の入った径6 cmのシャーレに入れ、約40℃の孵卵器の中で虫体を遊離させ、実体顕微鏡下で雌雄虫体数をそれぞれ計数した。尚、一部遊離しないで腸管粘膜に残っている虫体がみられるので実体顕微鏡下で精査した。

虫体の寄生分布は雌虫の産卵活動がもっとも活発な時期とされる感染後7日から14日の間のラットを上記の方法で剖検して得た。剖検ラット数は各幼虫投与群とも3～11匹であった。

3) 次世代幼虫の計数

*O. ezoensis*の産卵状況を知るために産卵数の代わりに糞便の試験管内濾紙培養法により遊出させた幼虫数を指標とした。毎日あるいは1日おきに幼虫投与後のラットの糞便を採取し、全量あるいはその一部を濾紙培養した。糞便の一部を培養した場合、その重量から比例計算により糞便全量の幼虫数を算出した。培養期間は27～28℃の孵卵器で約1週間とし、試験管の底に遊出した幼虫を実体顕微鏡下で数えた。また一部試験管の管壁や濾紙の先端部に移動する幼虫もみられるので、管壁の幼虫は水で洗い落とし、濾紙上の幼虫は実体顕微鏡下で毛筆を使って掃き取り、その数を数えた。

次世代総遊出幼虫数および1雌1日あたりの遊出幼虫

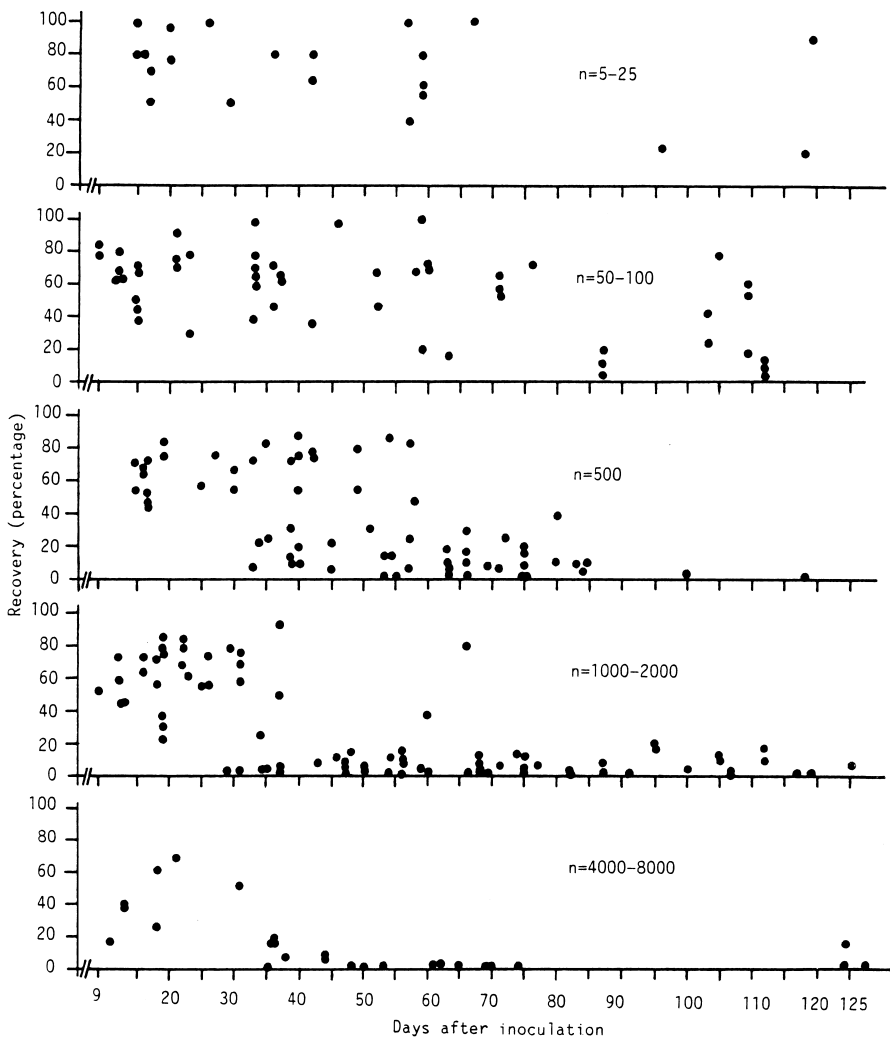


Fig. 1 Relation between the number of infective larvae given and the recovery-rate of adult *O. ezoensis* from rats at various times.
n : no. of infective larvae given.

数は感染後8日から15日までの遊出幼虫数を毎日数えて求めた。1雌1日あたりの遊出幼虫数は各1日あたりの遊出幼虫数と感染後15日目のラットを剖検して得られた雌成虫の数をもとに計算した。剖検ラット数は各幼虫投与群とも2-3匹であった。

4) 成虫体長の計測

Haley and Parker (1961)の方法に従い、シャーレの中に生理食塩水を含ませた濾紙を敷き、実体顕微鏡下で毛筆を使って虫体をまっすぐのばし、接眼マイクロメーター(ニコン製)で計測した。

結 果

1. 成虫の回収率と腸管内寄生分布

成虫の回収率：感染後の日数と成虫の回収率の関係を各幼虫投与群別に Fig. 1 に示した。

n=100以下の少数投与群では感染後70日にわたって高い成虫の回収率が得られ、さらに感染後100日以上経過してもなお60%以上の高い回収率を示した宿主もみられた。しかしn=500の幼虫投与群では感染後10日から20日の期間の回収率は高かったが感染後35日より回収

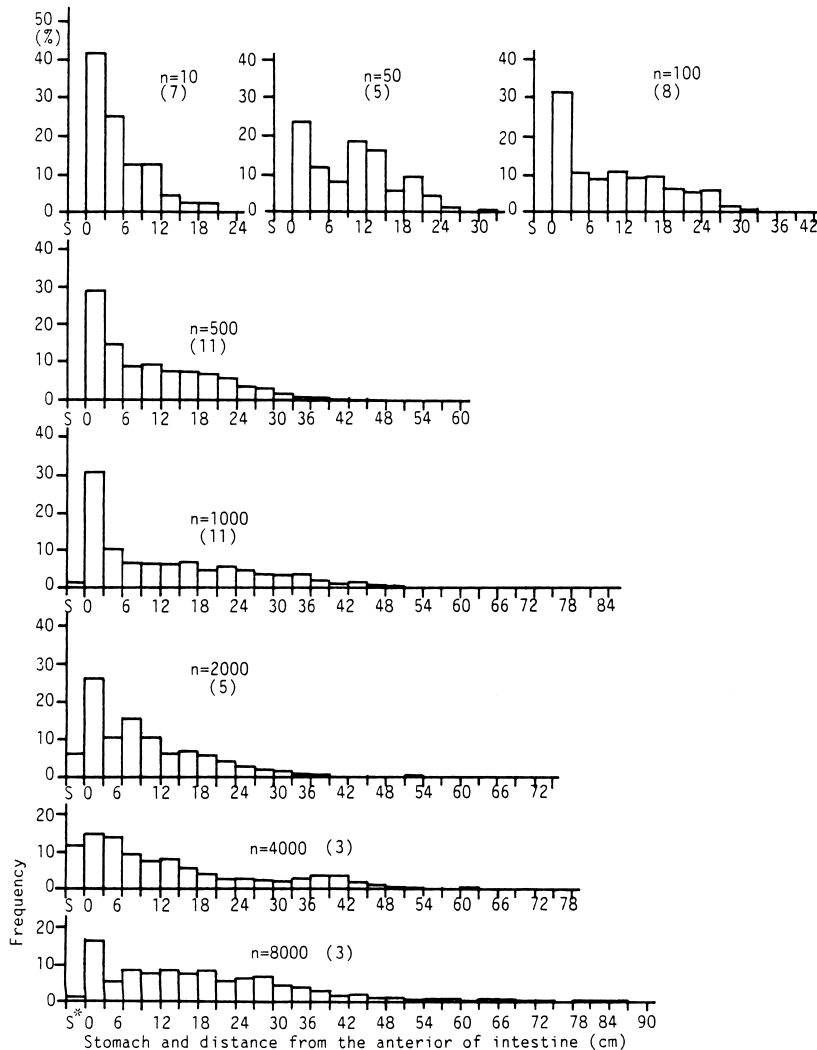


Fig. 2 Distribution of adult *O. ezoensis* in the stomach and intestine of rats inoculated with different numbers of infective larvae.

Rats were killed between the 7th and 14th day after inoculation.

Values in parentheses show the number of rats killed.

n : no. of infective larvae given. *S : stomach.

率が悪いものが見え始め、60日頃では殆んどものが40%以下の回収率となった。n=1000以上の多数幼虫投与群ではその傾向がさらに強くなった。すなわち、n=1000-2000の幼虫投与群では感染後10日から20日の時期の回収率は少数幼虫投与群と大きな違いはなかったが、感染後35日頃より急激に回収率が低下し、ほとんどが20%以下となった。そしてn=4000-8000の多数幼虫投与群では感染後10日から20日の時期に回収率が40%以下になるものがみられた。ただし、多数幼虫投与群（n=1000以上）でも感染後100日以上長期にわたって回収率はゼロとならず少ないながらも常に数%の生存虫体がみられた。

寄生分布：ラット腸管内の *O. ezoensis* の寄生分布を投与幼虫数（n=10~8000）別に Fig. 2 に示した。

少数投与群（n=10）から多数投与群（n=8000）までどの投与群でも成虫の寄生部位は小腸の先端部に集中し、特に起始部に多かった。しかし、投与幼虫数が多くなるにつれて、成虫の寄生部位ははだいに小腸下部に広がり、n=8000の多数投与群ではわずかだが盲腸近くま

で成虫の寄生がみられた。またn=500以下の幼虫投与群ではまったくみられなかった胃への寄生がn=1000以上の多数投与群でみられた。

2. 投与幼虫数と次世代遊出幼虫数の関係

次世代遊出幼虫数の経日的変化：糞便の濾紙培養法を用い遊出した幼虫数を経日的に観察し、各幼虫投与群毎に Fig. 3 に示した。

n=500以下の幼虫投与群では感染後6日目より幼虫がみられ、その後ははっきりしたピークを示さず、徐々に減少しながらも感染後60日以上長期にわたり安定した幼虫数を示した。一方、n=1000以上の多数投与群では感染後6日目より幼虫がみられ、その後しばらく多数の幼虫が遊出したものの、感染後15日頃より幼虫数が減少し始めた。しかし感染後30日頃より再び幼虫数が増加し始め、ピーク時の幼虫数ほどではないがn=100以下の幼虫投与群レベルまでもどり、その後、感染後60日頃まで安定した幼虫数を示した。

次世代総遊出幼虫数：濾紙培養法で遊出幼虫のもっとも多いと考えられる感染後8日から15日までの総遊出幼

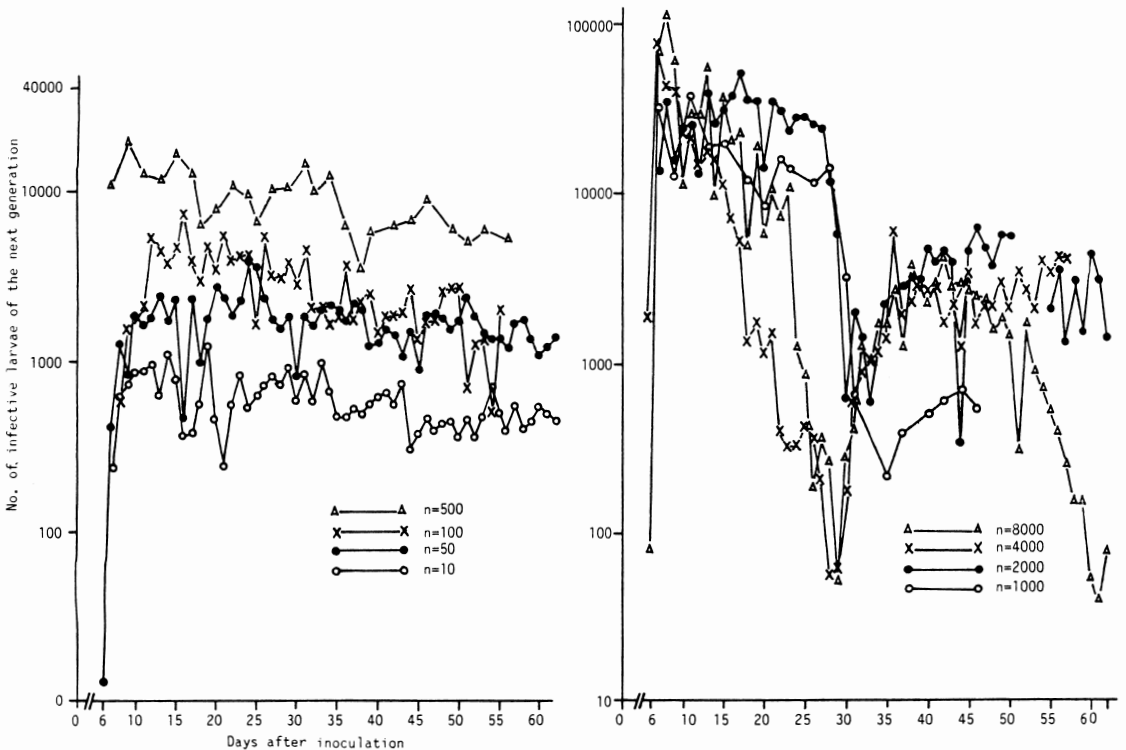


Fig. 3 Daily changes in the number of infective larvae of the next generation obtained from rats inoculated with different numbers of infective larvae.

The infective larvae of the next generation were obtained from the filter paper cultivation technique.

n : number of infective larvae given.

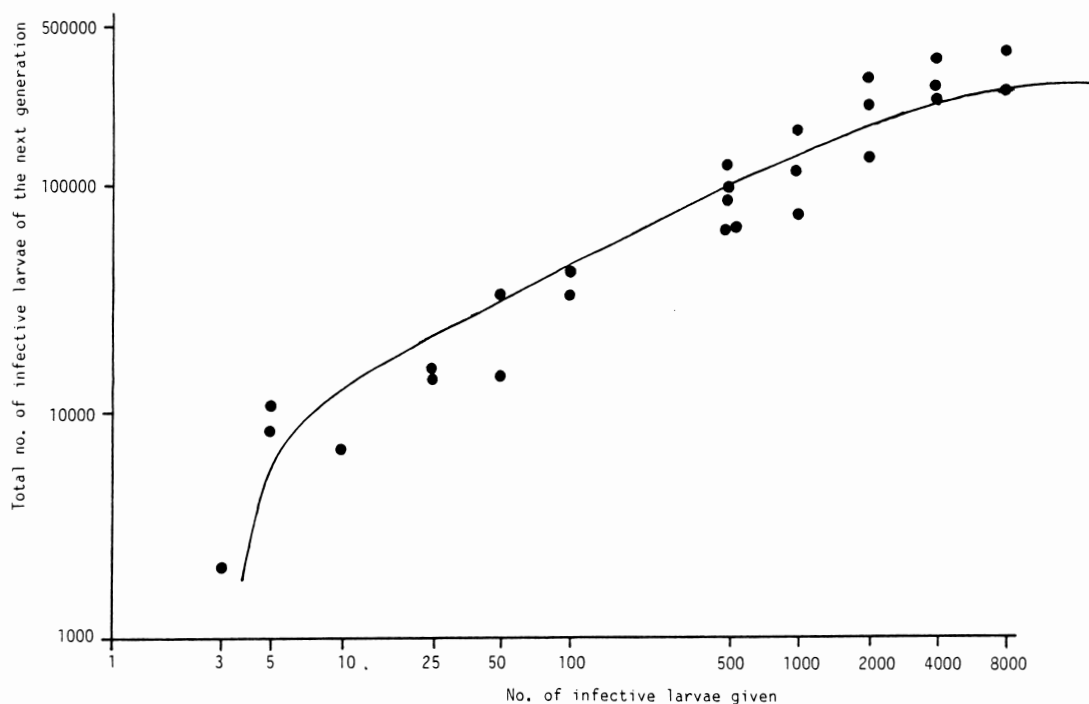


Fig. 4 Relation between the number of infective larvae given and the total number of infective larvae of the next generation during the period from the 8th to 15th day after inoculation. The infective larvae of the next generation were obtained from the filter paper cultivation technique.

虫数と投与幼虫数の関係を Fig. 4 に示した。

次世代総遊出幼虫数は投与幼虫数が多くなるにつれて増加したものの、投与幼虫数に比例して直線的には増えず、 $n=4000$ 以上の多数投与群ではほぼ平衡状態に達した。

1雌1日あたりの平均遊出幼虫数：感染後8日から15日目までの濾紙培養法で遊出した幼虫数を1雌1日あたりの平均値で Table 1 に示した。

1雌1日あたりの遊出幼虫数は各幼虫投与群ともかな

Table 1 Number of infective larvae of the next generation per day per female obtained from the faeces of rats inoculated with different numbers of infective larvae.

No. of infective larvae given	No. of rats examined	*No. of infective larvae of the next generation per day per female (LPDPF)	
		Range	Mean
5	3	111.5-471.3	294.6
50	2	173.7-403.1	233.8
100	2	182.0-398.9	293.0
500	3	25.3-162.8	75.0
1000	2	6.3- 95.7	40.0
2000	3	19.6-117.5	62.5
4000	3	11.1- 73.2	30.4
8000	2	5.5- 91.2	20.7

* The number of infective larvae of the next generation is indicated by the mean value per day per female during the period from the 8th to 15th day after inoculation.

Table 2 Body length of adult male and female *O. ezoensis* recovered from rats inoculated with different numbers of infective larvae.

No. of infective larvae given	Body length (mm)							
	Male worms				Female worms			
	No. of worms examined	Range	Mean	S. D	No. of worms examined	Range	Mean	S. D
5- 25	29	1.7-2.5	2.12	0.15	24	2.8-3.8	3.20	0.25
50-100	131	1.6-2.2	1.93	0.12	122	2.4-3.3	2.91	0.20
500	84	1.7-2.2	1.97	0.11	119	2.3-3.4	2.96	0.20
1000	192	1.4-2.3	1.77	0.24	178	2.1-3.6	2.75	0.26
2000	165	1.2-2.6	1.87	0.25	197	1.8-3.7	2.76	0.39
4000	437	1.4-2.3	1.89	0.13	593	1.7-3.3	2.46	0.29
8000	254	1.3-2.2	1.73	0.19	447	1.6-3.2	2.36	0.27

Adult worms were recovered from rats between the 11th and 22th day after inoculation.

りばらつきがみられたが、平均値でみると明らかに少数投与群ほど多かった。すなわち、 $n=100$ 以下の少数投与群では230以上の幼虫数を示したのに対し、 $n=500$ の投与群では75に減少した。そして $n=8000$ の多数投与群ではわずか21となり、 $n=100$ 以下の投与群に比べて10分の1以下となった。

3. 投与幼虫数と寄生成虫の大きさの関係

感染後8日から15日目までの寄生成虫の体長を各幼虫投与群毎に Table 2 に示した。

雌雄虫とも投与幼虫数が増加するにつれて虫体長は小さくなった。雌虫体では $n=5-25$ の少数投与群で平均体長3.2mmを示したが、投与幼虫数が増加するにつれてしだいに小さくなり、 $n=2000$ 群では2.76mm、 $n=8000$ の多数投与群で2.36mmとなった。また $n=2000$ 以上の投与群では体長3.0mm以上の虫体から1.8mm以下の小型の虫体まで幅広くみられた。雄虫体では $n=5-25$ の少数投与群で平均体長2.12mmを示したが、 $n=2000$ 群で1.87mm、 $n=8000$ 群で1.73mmとなり、平均値でみると多数投与群ほど小さくなった。

考 察

1) 成虫の回収率と寄生分布

回収率：成虫の回収率は明らかに投与幼虫数により著しい差異がみられた。すなわち、 $n=100$ 以下の少数投与群では長期にわたって高い回収率(40~90%)が得られたが、投与幼虫数が多くなるにつれて短期間で回収率が低下するようになり、投与幼虫数と関連性があった (Fig. 2)。しかし投与幼虫数がいくら多くても短期間の間に回収率はゼロとならず、少数ではあるが寄生成虫は長期にわたってみられた。これらの現象は近縁種の *Nippostrongylus brasiliensis* でも知られており (Haley

and Parker, 1961)、多くの研究者はこれを宿主側の免疫反応と考え (Africa, 1931; Sarles and Taliaferro, 1936; Haley, 1958; Hurley, 1959; Mulligan *et al.*, 1965)、少数の残存虫体のみみられるのは免疫反応が生じる閾値以下の寄生密度であるためとした (Jarret *et al.*, 1968)。本実験での *O. ezoensis* は *N. brasiliensis* と違って経皮感染や体内移行を行なわない生活史を持つため、今回得られた結果を *N. brasiliensis* と同様、宿主の免疫反応と考えてよいかどうか今後検討を要する問題であろう。とくに後述するように本種の最適寄生部位は小腸上部に限定されると考えられることから、免疫反応以外に腸管内での寄生部位の狭さが関係するかも知れない。

寄生分布：腸管寄生線虫類の多くは宿主の腸管内で特有の寄生部位を示すことが知られている (Crompton, 1973)。福本 (1979) によれば本種は感染直後は主にラットの腸管下部から盲腸に認められ、感染後11日目にはほとんどの虫体は小腸上部に移動してくるという。今回の感染実験では感染後7日から14日目の剖検で、寄生成虫はどの幼虫投与群でも小腸上部、とくに起始部に集中した。ラットの腸管を厳密に区分した訳ではないが、成虫の分布が集中したのは十二指腸に相当する部分と考えられ、これが本種の最適寄生部位と思われる。 $n=1000$ 以上の幼虫投与群では小腸下部や胃内にも虫体のみみられたが、これは寄生虫体の過密による影響と思われる。胃や小腸下部は本来の寄生部位とは異なるものと考えられる。ただ $n=8000$ の多数投与群では他群と比べて胃への分布が少なかったが、その理由は明らかではない。

2) 投与幼虫数と次世代遊出幼虫数の関係

寄生雌成虫の産卵状況を知るために濾紙培養法で遊出させた次世代幼虫数を観察したが、 $n=500$ 以下の幼虫投与群と $n=1000$ 以上の幼虫投与群で著しい差異がみら

文 献

れた。すなわち $n=500$ 以下の幼虫投与群では次世代幼虫数はピークが明瞭でなく、漸減しながら長期にわたって安定した数を示したのに対して、 $n=1000$ 以上の多数幼虫投与群では感染後短期間（15～30日）の間に急激に幼虫数が減少した。多数投与群で急激に幼虫数が減少するのは産卵雌虫を含む多数の寄生成虫がこの時期にラットの腸管から消失するためと考えられる。また多数投与群では一旦減少した幼虫数が再び増加傾向を示すが、これは少数の生存していた雌虫による産卵と思われる。ただ、成虫の回収率と次世代幼虫数の変動パターンを比べてみると $n=1000$ 以上の多数幼虫投与群では幼虫数の急激な減少が寄生成虫の急激な減少より先んじていた。すなわち、成虫の急激な減少が感染後35日頃よりみられた（Fig. 2）のに対して幼虫数の急激な減少は感染後15日頃（Fig. 3）より始まっている。これに似た現象は *N. brasiliensis*でも観察されており（Mulligan *et al.*, 1965）、その理由として産卵の抑圧や雄虫に比べて雌虫の腸管からの早い消失をあげている。本実験の *O. ezoensis*では感染後長期にわたって雌虫の早い消失はみられないことから、おそらく寄生成虫の過密による競合によって産卵の抑圧が強く働いたものと考えられる。それは1雌1日あたりの次世代幼虫数（Table 1）や次世代総幼虫数（Fig. 4）が投与幼虫数の増加にともなって減少傾向を示したことから見て明らかであろう。

3) 投与幼虫数と寄生成虫の大きさの関係

Haley and Parker (1961) は *N. brasiliensis*での感染実験で投与幼虫数の増加による寄生成虫の体長の短小はみられないと述べ、また永吉・牟田口 (1956)、永吉ら (1956) は犬鉤虫、ズビニ鉤虫、アメリカ鉤虫で少数寄生と多数寄生の中間の寄生数で寄生成虫の体長が最大になったと報告している。本感染実験の *O. ezoensis*では寄生成虫の体長は投与幼虫数の増加にともない短小になる傾向がみられた（Table 2）。寄生成虫の体長の短小化について Schad (1977) は投与幼虫数の増加によって感染幼虫の一部が宿主体内で発育を一時停止する例を消化管寄生の線虫類（*Ostertagia*, *Cooperia*, *Nematodirus* など）であげ、一部の例では感染虫の体長の頻度分布は正常な発育虫体と発育を停止した虫体によって2峰性を示すと述べている。本実験の *O. ezoensis*では多数投与群でも寄生成虫の体長の頻度分布はほぼ正規性を示したことから（藤本、未発表）、一部の幼虫が発育を停止して短小化したと考えるよりも、虫体の過密による競合、栄養摂取などの影響により全体的に虫体が短小化したものと考えられる。虫体長の短小化が本種の生存や産卵活動にどのように影響するか不明だが、雌成虫の短小化はおそらく産卵数の減少を伴うものと思われる。

- 1) Aflica, C. M. (1931) : Studies on the host relations of *Nippostrongylus muris* with special reference to age resistance and acquired immunity. J. Parasitol., 18, 1-13.
- 2) Crompton, D. W. T. (1973) : The sites occupied by some parasitic helminths in the alimentary tract of vertebrates. Biol. Rev., 48, 27-83.
- 3) 福本真一郎 (1979) : *Orientostrongylus ezoensis* Tada, 1975 (Nematoda : Heligmonellidae) の発育史に関する研究。寄生虫誌, 28, 465-471.
- 4) Haley, A. J. (1958) : Host specificity of the rat nematode, *Nippostrongylus muris*. Am. J. Hyg., 67, 331-349.
- 5) Haley, A. J. and Parker, J. C. (1961) : Size of adult *Nippostrongylus brasiliensis* from light and heavy infections in laboratory rats. J. Parasitol., 47, 461.
- 6) Haley, A. J. (1962) : Biology of the rat nematode, *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914). II. Preparasitic stages and development in the laboratory rat. J. Parasitol., 48, 13-23.
- 7) Hurley, F. J. (1959) : Immunization threshold in laboratory rats given a small initial infection of *Nippostrongylus muris*. Proc. Helm. Soc. Wash., 26, 91-96.
- 8) Jarrett, E. E. E., Jarrett, W. F. H. and Urquhart, G. M. (1968) : Quantitative studies on the kinetics of establishment and expulsion of intestinal nematode populations in susceptible and immune hosts. *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat. Parasitology., 58, 625-639.
- 9) Kennedy, C. R. (1975) : Ecological animal parasitology, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh and Melbourne, 163pp.
- 10) 町田喜一 (1956) : 尿内虫卵数と犬鉤虫の寄生数並にその大きさに関する研究。千葉医学会誌, 33, 578-595.
- 11) Mulligan, W., Urquhart, G. M., Jennings, F. W. and Neilson, J. T. M. (1965) : Immunological studies on *Nippostrongylus brasiliensis* infection in the rat : The self-cure phenomenon. Exp. Parasitol., 16, 341-347.
- 12) 永吉康祐・牟田口利幸 (1956) : 鉤虫の生態に関する研究（第1報）寄生数と虫体長の関係について。東京医事新誌, 73, 367-368.
- 13) 永吉康祐・牟田口利幸・山下正文 (1956) : 鉤虫の生態に関する研究（第4報）犬鉤虫の寄生々態について。東京医事新誌, 73, 525-528.
- 14) Sadun, E. H. (1949) : The effect of single infections of variable size on the resistance of chickens to the nematode, *Ascaridia galli*. Am. J. Hyg., 49, 117-126.
- 15) Sadun, E. H. and Norman, L. (1956) : Effects of single inocula, of varied size, on the resistance of hamsters to *Trichinella spiralis*. J. Parasitol., 42, 608-612.
- 16) Sarles, M. P. (1929) : The effect of age and size

- of infestation on the egg production of the dog hookworm, *Ancylostoma caninum*. Am. J. Hyg., 10, 658-666.
- 17) Sarles, M. P. and Taliaferro, W. H. (1936) : The local points of defense and the passive transfer of acquired immunity to *Nippostrongylus muris* in rats. J. Inf. Dis., 59, 207-220.
- 18) Schad, G. A. (1977) : The role of arrested development in the regulation of nematode populations. In Regulation of parasite populations, Esch, G. W., ed., Academic Press, New York, London and San Francisco, 111-167.
- 19) 矢島ふき・町田喜一 (1958) : 犬鉤虫 *Ancylostoma caninum* の寄生々態に就いて, 特に棲息密度効果について. 寄生虫誌, 7, 631-640.

[Jpn. J. Parasitol., Vol. 37, No. 3, 139-146, June, 1988]

Abstract

THE DISTRIBUTION, DEVELOPMENT AND OVIPOSITION OF
ORIENTOSTRONGYLUS EZOENSIS IN THE INTESTINE OF RATS
— EXPERIMENTAL INFECTION WITH DIFFERENT NUMBERS OF
INFECTIVE LARVAE

KAZUYOSHI FUJIMOTO AND EITARO HORI

(Department of Parasitology, Saitama Medical School, 38 Morohongo,
Moroyama-cho, Iruma-gun, Saitama, 350-04, Japan)

Distribution, development and egg production of *Orientostrongylus ezoensis*, a common parasite of albino rat, were observed when variable number of infective larvae were orally inoculated to the hosts. Dissection after 7 to 14 days of inoculation revealed that approximately 47% of adults was found chiefly in the upper part of the small intestine, especially duodenum, in the groups of less than 500 inoculants, and more scatteredly distributed adults were found in the stomach and the lower part of small intestine as well as duodenum in those of more than 1000 inoculants. Adult worms of less than 100 inoculants diminished gradually through 70 days after inoculation, conversely those of more than 1000 inoculants were rapidly expelled after 35 days though a few adults remained successively for long period (as long as 125 days). Daily counting of the progeny, infective larvae reared from the hosts' faeces by filter paper technique, was evaluated as a parameter of the parasitic adults' egg production. The number of progeny of less than 100 inoculants decreased gradually as the days passed showing no apparent peak of oviposition, whereas those of more than 1000 inoculants rapidly fell down from about 15 days after inoculation, being a small number of persistent progeny recovered thereafter. Total number of the progeny collected between 8 through 15 days after inoculation did not correlate with the size of inoculants, and the average number of progeny produced by a female per day correlated negatively with the size of inoculants. The body length of both the parasitic females and males became smaller when the size of inoculants increased.