

コスタリカ住血線虫：初感染後に殺幼虫処理を受けたマウスにおける再感染抵抗性*

寺田護・佐野基人

(平成元年9月5日掲載決定)

要 約

コスタリカ住血線虫感染マウスにおける再感染抵抗性について検討した。20虫を初感染後6～15日に milbemycin D の 5 mg/kg で殺幼虫処理を行い、初感染から3週間後に20虫の追加感染をしたマウスに、宿主の生存期間や回収虫体数などから再感染抵抗性を認めた。この抵抗性は、駆虫薬による殺幼虫処理の時期を遅らせたり、初感染虫体数を多くしたり、感作感染の回数を多くした場合により著しく、20虫感染と殺幼虫処理を3回繰り返した場合にはほぼ完全な効果が認められた。この再感染抵抗性は、初感染から6ヶ月間は持続した。結局、駆虫薬による殺幼虫作用を応用することによりコスタリカ住血線虫感染マウスに再感染抵抗性を誘発できることが明らかになった。また、この実験的感染マウス系はコスタリカ住血線虫症の治療法研究においてのみでなく、再感染防御免疫に関する研究においても有用であることが示唆された。

Key words: *Angiostrongylus costaricensis*, mice, protective immunity, larvicidal effects of anthelmintics

緒 言

著者らは、寄生蠕虫症対策として治療法の研究を進めてきたが、血管・組織寄生蠕虫症の場合には、化学療法のみでは解決が困難なものも多い(寺田, 1989)。このような場合の対策としては、化学療法に加え、他のアプローチも必要であろう。その1つとして再感染防御免疫を利用した予防対策がある。しかし、寄生虫症の場合には、細菌症などの場合と異なり、一般的に再感染防御免疫は著明ではなく、ワクチン投与による予防は牛や羊の肺に寄生する線虫の *Dictyocaulus viviparus* など極く少数の例外的な成功例が知られているのみである (Jarrett *et al.*, 1960; Jovanovic *et al.*, 1965; Wakelin, 1984)。

コスタリカ住血線虫症は、化学療法の困難な寄生蠕虫症の1つであるが、ヒトの臨床面およびマウスでの実験的研究のいずれからみても、成虫による病害が問題となる (Morera, 1985; 寺田ら, 1988, 1989)。そして駆虫薬を投与した場合、マウス実験系では、病害が著明となる感染21日以降に mebendazole を投与すると死虫体由来のアレルゲンによる有害副作用のためか宿主の死亡がむしろ促進される成績が示されている (寺田ら, 1988)。一方、虫体感染後、病害の発生する以前、すなわち感染15日後に虫体が成熟し産卵を開始する前までに mebendazole や milbemycin D を投与した場合には、宿主にほとんど

ど有害副作用を生ずることなく、虫体が殺滅される (Terada *et al.*, 1987; 寺田ら, 1988, 1989)。しかし本症で虫体の幼虫期に治療を開始するケースはほとんどなく、治療面からみれば殺幼虫作用は副次的意義しか持たない。

ところで住血線虫類における再感染防御からのアプローチとしては、広東住血線虫の無処理ないし放射線処理の第3期幼虫の感染による効果が知られているが (Lim *et al.*, 1965; Lee, 1969)、コスタリカ住血線虫については未だ報告に接しない。また、虫体感染後に駆虫薬を投与して宿主に再感染抵抗性を認めた例としては、*D. viviparus* に対する levamisole の投与が報告されている (Oakley, 1982 a, 1982 b)。

そこで、本研究ではコスタリカ住血線虫をマウスに初感染後、駆虫薬で殺幼虫処理をした場合の追加感染虫体に対する抵抗性(以下、再感染抵抗性)について検討した。

材料と方法

1. 実験動物と感染方法

すべての実験において、コスタリカ住血線虫 (*Angiostrongylus costaricensis*, コスタリカ株) の実験的終宿主として雌性 ddY 系マウスを用いた。いずれの実験においても初感染時に5週令のマウスを用い、各実験群は10頭とした。感染は Terada *et al.* (1987) と同様の方法により行ない、特別に記した以外は各マウス宛20虫の第3

浜松医科大学・寄生虫学教室

*寄生蠕虫症の化学療法に関する研究 XXXIV

期幼虫を感染させた。

2. 駆虫薬処理

Milbemycin D (100倍散) は三共 (株) から、また mebendazole は Janssen Pharmaceutica N. V. から供与されたものを用いた。いずれも30% glycerol 水溶液に懸濁し、マウスへの投与量がほぼ0.05ml/10g 体重となるように調整して経ロゾンデを用いて投与した。対照群には30% glycerol 液のみを同じ体重比で与えた。両駆虫薬の投与量と期間については、完全な殺幼虫作用の確認されている条件を適用した。すなわち milbemycin D については5mg/kg を初 (感作) 感染後6~15日に10回投与し (Terada *et al.*, 1987), また mebendazole は5mg/kg を感染後15日までの間に5日間連続投与した (寺田ら, 1989)。

3. 動物実験

実験1: 初感染後殺幼虫処理を受けたマウスにおける再感染抵抗性の有無を検討するため、3群のマウスを用いた。第1群は初感染後 milbemycin D により殺幼虫処理を行い、初感染から3週間後に追加感染を行なった。第2群は初感染をせず、追加感染と同じ時期にのみ感染を行なった無感作対照群で、第3群は初感染と殺幼虫処理をしたが追加感染は行わなかった無追加感染対照群である。

実験2: 初感染虫体の殺幼虫処理の時期と再感染抵抗性との関係を4群のマウスを用いて検討した。第1~3群には、初感染後、それぞれ1~5, 6~10ないし11~15日に mebendazole で殺幼虫処理を行い、初感染から4週間後に追加感染を行なった。第4群は初感染をせずに、追加感染のみを行なった無感作対照群である。

実験3: 初感染幼虫数と再感染抵抗性との関係を4群のマウスを用いて検討した。第1~3群には、それぞれ5, 20ないし100虫の第3期幼虫を初感染後 milbemycin D で殺幼虫処理を行ない、初感染から4週間後に追加感染を行った。第4群には初感染をせず、追加感染のみを行なった (無感作対照群)。

実験4: 感作感染の回数と再感染抵抗性との関係を検討するため、5群のマウスを用いた。第1~3群は、それぞれ4週間の間隔で1, 2ないし3回の感作感染を行い、それぞれ milbemycin D で殺幼虫処理後、最初の感染から12週間後に追加感染を行なった。第4群には感作感染をせず、12週間後の追加感染のみを行なった (無感作対照群)。第5群 (8頭) は未感染対照群である。

実験5: 初感染から追加感染までの期間と再感染抵抗性との関係、すなわち再感染抵抗性の持続期間を検討するため、8群のマウスを用いた。第1, 3, 5, 7群は、それぞれ初感染後に milbemycin D で殺幼虫処理を行ない、初感染から4, 12, 15週間後ないし6ヶ月後に追加感染を行なった実験群である。第2, 4, 6, 8群

は、初感染をせず、それぞれの実験群に対応する時期に追加感染のみを行なった無感作対照群である。

いずれの実験においても、追加感染90日後の剖検までの期間、宿主の体重変化と死亡数を観察した。また剖検時には腸間膜動脈から虫体を回収し、特に実験4では、宿主の臓器病変の観察を行なうと共に、脾臓重量-1体重比も求めた。

結 果

1. 初感染後殺幼虫処理を受けたマウスにおける再感染抵抗性 (実験1: Fig. 1)

無感作対照群では、20虫の追加感染16日後頃より体重が減少し、18~25日後にかけて、10頭中6頭のマウスが著しい腸病変を伴わずに死亡した。そして、44~90日後にかけて残りのすべてのマウスが死亡し、この場合には著明な虫卵結節による腸の器質的病変がみられた。結局、50%のマウスが24日後までに死亡し、90日後まで生存した宿主はなかった。

一方、殺幼虫処理した後に追加感染をしなかった無追加感染対照群では、宿主の体重は増加し続け、90日後まですべてのマウスが生存した。また、生存宿主から虫体は回収されず、今回用いた条件の milbemycin D による処理で初感染の虫体は完全に死滅したことを追認できた。

次に、初感染虫体の殺幼虫処理後に追加感染した実験群では、体重の低下は僅かであり、宿主の死亡も著しく抑制された。すなわち、50%死亡までの期間は50日まで延長され、90日後でも5頭のマウスが生存していた。そして、その内の2頭から各1虫の雌虫体が回収された。

回収中体数に関しては、今回の実験1~5における無感作対照群のマウス80頭のうち90日後まで生存した4頭の全てから平均で9.8±1.3虫の成虫が回収された。また通常の20虫感染マウスでは、感染15~70日後の剖検で、ほぼ10虫の虫体が回収されている (Terada *et al.*, 1987; 寺田ら, 1988)。

従って、コスタリカ住血線虫を初感染後、駆虫薬で殺幼虫処理したマウスに再感染抵抗性が生ずることが明らかである。

2. 再感染抵抗性と初感染に関する種々の要因との関係 感作条件を変化させた場合に、この再感染抵抗性にどのような影響がみられるかを検討した。

(1) 殺幼虫処理の時期の影響 (実験2: Table 1)

初感染後に mebendazole で処理される時期を1~5, 6~10ないし11~15日後と変えた場合、追加感染90日後における宿主生存数とそれらからの回収虫体数はいずれの実験群でも大差はなかった。しかし、50%死亡までの期間で見ると、mebendazole による処理が遅くなるほど日数が伸び、特に11~15日群では90日後でも60%のマウスが生存していた。従って、殺幼虫処理が遅い場合の方

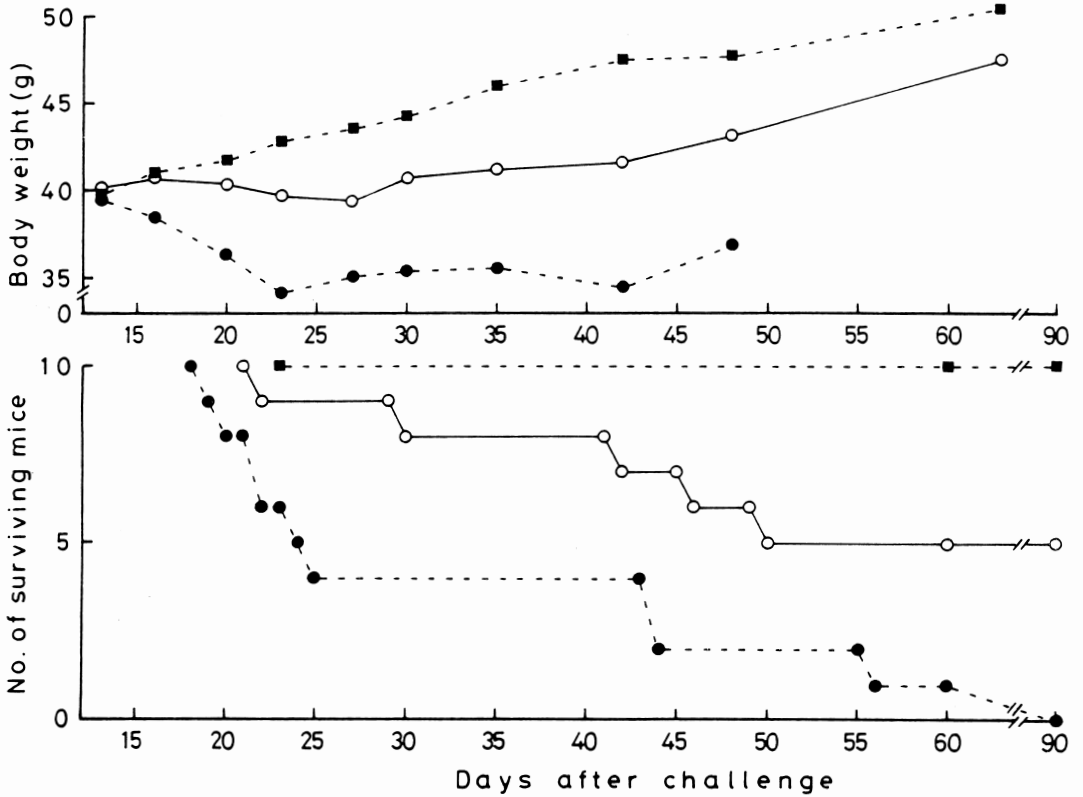


Fig. 1. Change in body weight (upper) and number (lower) of surviving mice after reinfection with *A. costaricensis* (Exp. 1).

Milbemycin D (5.0 mg/kg) was administered orally for 10 days from 6 days post primary infection. Infective larvae were challenged 3 weeks post primary infection. In both primary and challenge infection, each mouse received 20 infective larvae of *A. costaricensis*.

- : Control without primary infection,
- : Control without challenge infection,
- : Mice with both infection.

が再感染抵抗性が強いといえる。

(2) 初感染幼虫数の影響 (実験 3 : Fig. 2)

初感染幼虫数を 5, 20ないし100虫と変化させたところ, 無感染対照群に比べ, 感作群における追加感染後の宿主の体重減少, 死亡数とともに抑制され, その程度は虫数が増加するにつれて著明となった。50%死亡までの日数は 5 虫と20虫では差がなかったが, 100虫では90日後でも70%が生きている。90日後における生存マウスからの回収虫体数をみると, 5 虫群では5頭の全てから回収され, 平均で2.0±0.2虫が, 20虫群では5頭中2頭からそれぞれ1虫の雌ないし雄が, また100虫群では7頭中1頭から雌2虫が回収された。従って, 感作感染の虫体数が多いほど再感染抵抗性は著しいといえる。

(3) 感作感染の回数の影響 (実験 4 : Table 2, 3)

感作感染の回数を 1, 2ないし3回に増加したところ, 体重減少は感作1回に比べ2回と3回では僅かに抑制傾向がみられた。一方, 50%死亡までの日数は, 無感作対照群で26日, 1回感作群では60日であったが, 2回および3回感作群では90日後まですべての宿主が生きた。従って, 感作感染の回数が多い方が著明な再感染抵抗性が得られた。

しかし, 90日後での回収虫体数はいずれの回数でも大差はなかった。また, 90日後まで生存した宿主では, 単性および両性を問わず雌虫体が回収された宿主の腸管には盲腸部を中心とした虫卵結節性病変が認められ, 虫体が成熟し産卵が行なわれたことが明らかとなった。コストリカ住血線虫感染マウスにおける病変の指標として,

Table 1 Relation between days of treatment with mebendazole after primary infection and some parameters in mice reinfected with *A. costaricensis* (Exp. 2)

Days of drug treatment	Days for 50% death of mice	Rate of mice survived up to 90 dpci†	Rate of mice with worms (No. of worms recovered)	Average No. of worms recovered‡ (Mean ± SE)
None	29	0/10		
1-5 dppi*	43	5/10	2/5 (♀3; ♀2)	1.0 ± 0.6
6-10 dppi	55	5/10	1/5 (♂1)	0.2 ± 0.2
11-15 dppi	>90	6/10	2/6 (♀1 ♂2; ♀2)	0.8 ± 0.5

In both primary and challenge infection, each mouse received 20 infective larvae of *A. costaricensis*. *: Mebendazole (5.0 mg/kg) was administered orally for 5 days from 1, 6, or 11 days post primary infection (dppi). Infective larvae were challenged 4 weeks post primary infection. †: Surviving mice were killed 90 days post challenge infection (dpci). ‡: From all 4 surviving mice in the challenge control without primary or immunized infection in Experiments 1~5, 9.8 ± 1.3 worms were recovered.

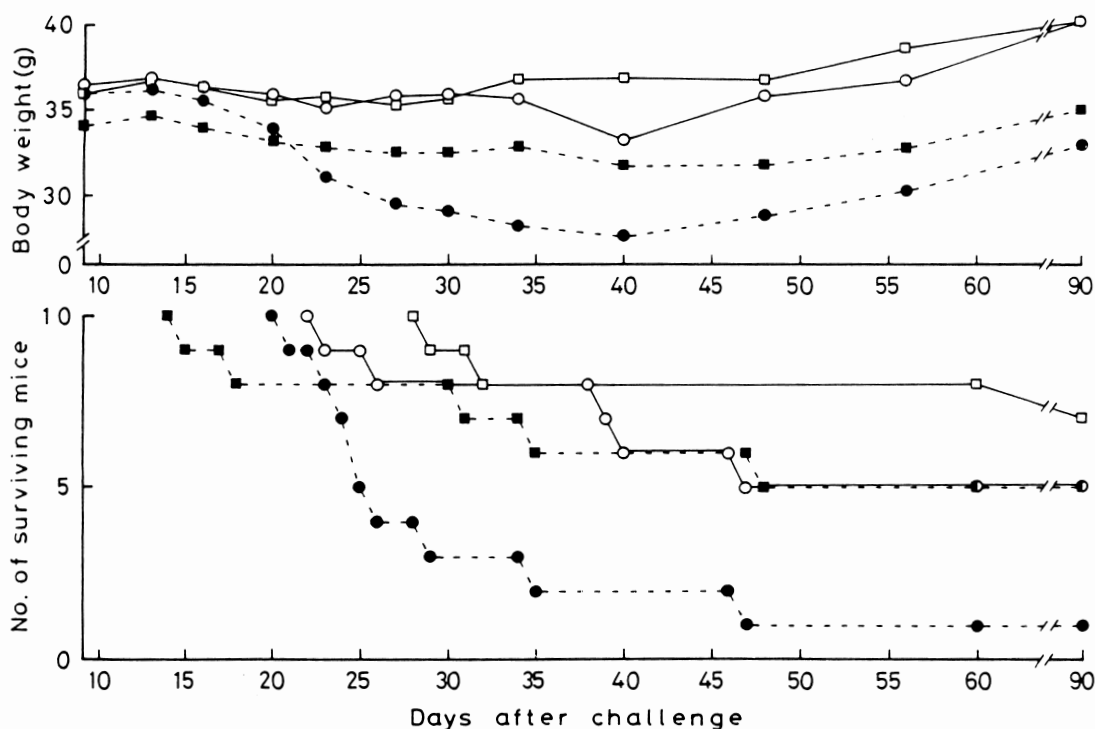


Fig. 2. Effects of number of the third stage larvae given in primary infection on change in body weight (upper) and number (lower) of surviving mice reinfected with *A. costaricensis* (Exp. 3).

Milbemycin D (5.0 mg/kg) was administered orally for 10 days from 6 days post primary infection. Twenty infective larvae per mouse were challenged 4 weeks post primary infection.

Number of infective larvae given in primary infection:

●-----●; 0, ■-----■; 5, ○-----○; 20, □-----□; 100

Table 2 Relation between times of immunized infection and some parameters in mice reinfected with *A. costaricensis* (Exp. 4)

Time of immunized infection	Days for 50% death of mice	Rate of mice survived up to 90 dpci*	Rate of mice with worms (No. of worms recovered)	Average No. of worms recovered† (Mean ± SE)
None	26	0/10		
1	60	5/10	3/5 (♀1; ♀1; ♂1)	0.6 ± 0.2
2	>90	10/10	3/10 (♀2; ♀1 ♂1; ♂1)	0.5 ± 0.3
3	>90	10/10	2/10 (♀1; ♀1)	0.2 ± 0.1

In both immunized and challenge infection, each mouse received 20 infective larvae of *A. costaricensis*. Milbemycin D (5.0 mg/kg) was administered orally for 10 days from 6 days post each immunized infection. Infective larvae were challenged 12 weeks post the first immunized infection. *: Surviving mice were killed 90 days post challenge infection (dpci). †: From all 4 surviving mice in the challenge control without primary or immunized infection in Experiments 1~5, 9.8 ± 1.3 worms were recovered.

Table 3 Effects of times of immunized infection on pathogenic changes in the intestine and spleen weight-body weight ratio in mice at sacrifice on 90 days post challenge infection with *A. costaricensis* (Exp. 4)

Time of immunized infection	No. of surviving mice with or without worms at sacrifice	Pathogenic changes in the intestine	Spleen weight (g)/body weight (g) × 100 (Mean ± SE, N)
1	Worm + 3/5	Enlarged caecum (2/3) adhesion of the caecum to the peritoneum (1/3) Haemafecia (1/3)	1.40 ± 0.23 (3)*
	Worm - 2/5	None	0.17 ± 0.02 (2)
2	Worm + 3/10	Enlarged caecum (2/3) Two females were trapped in the host tissue (3 × 5 mm) formed in the mesenteric artery (1/3)	1.21 ± 0.49 (3)
	Worm - 7/10	None	0.26 ± 0.03 (7)
3	Worm + 2/10	Enlarged caecum (2/2) adhesion of the caecum to the peritoneum (1/2)	1.34 ± 0.35 (2)**
	Worm - 8/10	None	0.25 ± 0.02 (8)
Non-infected control		None	0.20 ± 0.02 (8)

In both immunized and challenge infection, each mouse received 20 infective larvae of *A. costaricensis*. Milbemycin D (5.0 mg/kg) was administered orally for 10 days from 6 days post each immunized infection. Infective larvae were challenged 12 weeks post the first immunized infection. * or **: Significant difference from non-infected control mice, $P < 0.05$ or $P < 0.01$.

Table 4 Relation of period between primary and challenge infection to some parameters in mice reinfected with *A. costaricensis* (Exp. 5)

Group	With or without primary infection	Days for 50% death of mice	Rate of mice survived up to 90 dpci*	Rate of mice with worms (No. of worms re-recovered)	Average No. of worms re-covered† (Mean ± SE)
4 weeks	without	29	1/10		
	with	51	5/10	1/5 (♂1)	0.2 ± 0.2
12	without	29	1/10		
	with	59	5/10	1/5 (♀2 ♂1)	0.6 ± 0.6
15	without	25	1/10		
	with	57	5/10	1/5 (♀2)	0.4 ± 0.4
6 months	without	28	0/10		
	with	62	4/10	1/4 (♂1)	0.3 ± 0.3

In both primary and challenge infection, each mouse received 20 infective larvae of *A. costaricensis*. Milbemycin D (5.0 mg/kg) was administered orally for 10 days from 6 days post primary infection. *: Surviving mice were killed 90 days post challenge infection (dpci). †: From all 4 surviving mice in the challenge control without primary or immunized infection in Experiments 1~5, 9.8 ± 1.3 worms were recovered.

ヘモグロビン量やヘマトクリット値などの血液学的パラメーターおよび脾臓などの臓器重量と体重との比が有用であることが明らかになっている (寺田ら, 1988, 1989)。この実験でも, 生存宿主の脾臓重量-体重比をみると, それぞれの群で虫体が回収された宿主では高く, 回収されなかった宿主では未感染宿主と大差なかった。

3. 初感染から追加感染までの期間と再感染抵抗性ととの関係 (実験5: Table 4)

初感染から追加感染までの期間を, 4, 12, 15週間ないし6ヶ月間まで変化させた。その結果, 追加感染後の宿主の死亡 (50%が死亡するまでの期間と追加感染90日後における宿主の生存数) および生存マウスからの回収虫体数などは, いずれの場合も無感作対照群との間に実験1の3週間の場合と同様の差を示した。従って, 再感染抵抗性は少なくとも6ヶ月間は持続するといえよう。

考 察

再感染防御面からの抗寄生蠕虫対策については多数の研究がある。しかし, 抗細菌や抗ウイルスの場合に比べ, 寄生蠕虫のコントロールにおいて再感染防御免疫が果たしている役割は, 一般的には小さいように思われる (Wakelin, 1984; Roitt, 1988)。例外的な成功例は *D. viviparus* (Jarret et al., 1960; Oakley, 1982 a, 1982

b) と *D. filaria* (Jovanovic et al., 1965) の放射線処理幼虫をワクチンとする方法であり, 既に, 商品化されている。一方, 広東住血線虫を含む他の多くの寄生蠕虫に関しても様々な程度の再感染抵抗性が認められている。しかし, 例えばその効果が不十分であるとか有効な駆虫薬が存在するなどの理由からか, それらのほとんどについては未だワクチンとしての実用化には至っていない (Murray et al., 1979; Wakelin, 1984)。

線虫類についてみると, 各種の虫種, いろんなステージ, 種々の処理標本が感作抗原として研究されている。例えば, 幼虫抗原としては, 放射線処理幼虫 (Jarret et al., 1960; Jovanovic et al., 1965; Klei et al., 1982; Lee, 1969; Vinayak et al., 1981; Hayashi et al., 1984)。5-fluorouracil処理幼虫 (Vinayak et al., 1981), 幼虫の超音波抽出成分 (Vinayak et al., 1981) などが用いられている。また, 成虫抗原としては虫体摩砕液 (Storey & Mettias, 1980; Poulain et al., 1976), 虫体抽出成分 (Murray et al., 1979), 分泌物 (Poulain et al., 1976) などについての研究がなされている。

本研究では, 無処理のコスタリカ住血線虫幼虫を初感染後に駆虫薬で殺幼虫処理したマウスに再感染抵抗性を見出した。この抵抗性が広東住血線虫の場合に報告されているような (Lim et al., 1965), 虫体の感染自体によるものか殺幼虫処理で生じた死虫体由来抗原が特に意義を

持つものかは不明である。しかし、マウスを実験の終宿主とした系では、殺幼虫処理をしなかった場合、例えば3~20虫の感染により感染後55日までに30~83%のマウスが死亡するため(寺田ら, 1988), 無処理の虫体による感染自体が再感染抵抗性を導くことを実験的に証明することは、實際上困難であった。また、実は初(感作)感染虫体の殺滅を目的として投与された駆虫薬が宿主体内に残存していて、再感染虫体に対しても作用したために、この抵抗性が生じた可能性も考え得る。しかし、mebendazoleなどの薬物動態をみると、経口投与された場合、4日後までにはほぼ完全に排泄されている(Van den Bossche *et al.*, 1982)。従って初(感作)感染後に投与された駆虫薬が再感染時まで有効な血中濃度を維持しているとは考え難い。しかも実験4および5においては初(感作)感染後長期間(12週間ないし6ヶ月)を経た宿主に再感染を行った場合にも同様の効果がみられたことから、この可能性は否定できるものと思われる。

感染後の寄生蠕虫を駆虫薬を用いて殺滅し、宿主を感作しようとの試みは *D. viviparus* についても、levamisole を用いてなされている(Oakley, 1982 a, 1982 b)。しかし、この虫種については放射線処理幼虫ワクチンによる予防対策が成功しており、しかもlevamisoleは宿主発症後の成虫に対しても有効で治療からの対策も可能である。従って、この虫種の場合についていえば、感染後に駆虫薬を投与して宿主を感作するという方法はそれほどの意義を持つものとは思われない。それに対しコスタリカ住血線虫の場合、抗成虫駆虫薬による有効で安全な治療が現状では期待出来ないため、本研究で認められた再感染抵抗性の意義は、むしろ *D. viviparus* の場合よりも大きいかもしれない。

コスタリカ住血線虫感染マウスでは、駆虫薬処理の時期を遅らせたり、初感染の虫体数を多くして感作抗原量を多くした場合および感作感染の回数を多くした場合に、再感染抵抗性がより著しいことが明らかとなった。これらの結果は、Murray *et al.* (1979) が *Nippostrongylus brasiliensis* の成虫抽出成分を感作抗原としラットを実験の終宿主とした実験で報告している結果と同様であった。結局、コスタリカ住血線虫の場合には感染後15日までの早期に殺幼虫処理をする方法を3回繰り返した場合、ほぼ完全な効果が得られた。100虫感染の3回感作を行えば恐らく完全な再感染防御効果が得られるものと思われる。3回感作による効果増強については *D. viviparus* の場合にも同様の現象が認められている(Oakley, 1982 a, 1982 b)。すなわち実験的な初感染と追加感染の間にlevamisoleによる処理を1回した場合には追加感染後の宿主の死亡を阻止できず、3回処理で十分な効果が認められている。その理由として、フィールドでなされたこの実験では、実験的感染に加えて自然感

染も避けられず、levamisoleによる3回の処理の間に自然感染した虫体が殺滅され、すなわち感染虫体の殺滅処理が3回繰り返されたことで宿主の感作効果が高められたと考えられている。

次に、コスタリカ住血線虫を感染後に駆虫薬で殺幼虫処理をしたマウスでも、放射線処理など各種の処理をした幼虫による感作の場合と同様の免疫学的機構で再感染抵抗性が誘発されたものと考えられる(Murray *et al.*, 1979; Wakelin, 1984)。すなわち成虫の回収率が極めて低くなっていたことから、感染幼虫の宿主への感染過程や発育ないし成長過程でなんらかの阻止があった。そのため、いろいろなステージで虫体が死亡したであろうし、死を免れた虫体の成長や生存自体にもなんらかの抑制的影響があったという可能性である。後者の点については、感作群で追加感染90日後まで生存したマウスでは、かなりの数の成虫が宿主の腸管膜周囲の血管に形成された囊状組織にトラップされていたことからもうかがわれた。

次に、コスタリカ住血線虫について見出された再感染抵抗性が20虫感染の場合に少なくとも初感染後6ヶ月間持続したことから、*D. viviparus* の場合のようなワクチンによる予防対策へ発展する可能性があるかもしれない。中南米で多数の患者が発生している現実からみれば(Morera, 1985)、化学療法を中心とする治療法の研究を更に進めることは必須である。しかし、再感染防御の可能性が少しでもあるなら、同時に予防対策も追及すべきであり、マウス実験系の段階で再感染防御によるコントロールの可能性を研究する意義は充分あるだろう。

また、コスタリカ住血線虫感染マウスを再感染抵抗性の基礎的研究のためのモデル実験系として用い、寄生蠕虫、特に、線虫類における再感染防御免疫の機序などについて詳しく追及することもこの研究から派生する重要な方向性であろう。本研究で用いたコスタリカ住血線虫感染マウス系では、比較的少数の虫体の感染で典型的な病害や宿主の死亡がみられる点、また経済性や技術面、実験室のスペースが小さくても取り扱いが容易で、多数動物による研究が可能な点などで研究の行いやすい実験系といえる。従って、この実験系は、コスタリカ住血線虫症の治療法や病態、発症機構の研究のモデルとしてのみでなく、再感染防御免疫に関する各種の研究にも、いわばツールとしての応用性があるものと考えられる。

本研究の要旨は第55回日本寄生虫学会総会(1986)で発表した。

文 献

- 1) Hayashi, Y., Noda, K., Shirasaka, A., Nogami, S. and Nakamura, M. (1984): Vaccination of BALB/c mice against *Burgia malayi* and *B. pahangi* with larvae attenuated by gamma irradiation. Japan. J.

- Exp. Med., 54, 177–181.
- 2) Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M., Mulligan, W. and Urquhart, G. M. (1960): Immunological studies on *Dictyocaurus viviparus* infection. Immunity produced by the administration of irradiated larvae. *Immunology*, 3, 145–151.
 - 3) Lim, B. L., Ow-Yang, C. K. and Lie, K. J. (1965): Natural infection of *Angiostrongylus cantonensis* in Malaysian rodents and intermediate hosts, and preliminary observations on acquired resistance. *Am. J. Trop. Med.*, 14, 610–617.
 - 4) Jovanovic, M., Sokolic, A., Movsesijan, M. and Cuperlovic, K. (1965): Immunization of sheep with irradiated larvae of *Dictyocaurus filaria*. *Brit. Vet.*, 121, 119–131.
 - 5) Klei, T. R., Torbert, B. J., Chapman, M. R. and Ochoa, R. (1982): Irradiated larval vaccination of ponies against *Strongylus vulgaris*. *J. Parasitol.*, 68, 561–569.
 - 6) Lee, S. H. (1969): The use of irradiated third-stage larvae of *Angiostrongylus cantonensis* as antigen to immunize albino rats against homologous infection. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 36, 95–97.
 - 7) Morera, P. (1985): Abdominal angiostrongyliasis: A problem of public health. *Parasitol. Today*, 1(6), 173–175.
 - 8) Murray, M., Robinson, P. B., Grierson, C. and Crawford, R. A. (1979): Immunization against *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat. A study on the use of antigen extracted from adult parasites and the parameters which influence the level of protection. *Acta Tropica*, 36, 297–322.
 - 9) Oakley, G. A. (1982a): Comparison of protection against lungworm infection between levamisole-treated and vaccinated calves. *Vet. Record*, 111, 28–31.
 - 10) Oakley, G. A. (1982b): Effect of repeated doses of levamisole on grazing cattle infected with *Dictyocaurus viviparus*. *Vet. Record*, 111, 385–388.
 - 11) Poulain, J., Pery, P. and Luffau, G. (1976): Protection of rats against *Nippostrongylus brasiliensis* with worm antigens by oral administration. *Ann. Immunol.*, 127c, 209–213.
 - 12) Roitt, I. (1988): *Essential immunology*. 6th edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Boston, Palo Alto and Melbourne.
 - 13) Storey, D. M. and Mettias, E. F. (1980): Suppression of microfilaraemia in *Litomosoides carinii* infection in cotton rats by vaccination with adult worm homogenate. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 74, 211–218.
 - 14) Terada, M., Ishii, A. I., Dharejo, M., Hayashi, M. and Sano, M. (1987): Studies on chemotherapy of parasitic helminths (XXVIII). *In vivo* efficacy of milbemycin D against larval stages of *Angiostrongylus cantonensis* and *A. costaricensis*. *Jpn. J. Parasitol.*, 36, 24–29.
 - 15) 寺田護・石井明・記野秀人・佐野基人 (1988) : マウスをモデル動物としたコスタリカ住血線虫症の発症機序と治療法に関する研究・寄生虫誌, 37 (増), 51.
 - 16) 寺田護・記野秀人・石井明・佐野基人 (1989) : マウスに感染したコスタリカ住血線虫幼期虫体に対する mebendazole の作用. 寄生虫誌, 38 (増), 151.
 - 17) 寺田護 (1989) : 寄生蠕虫症治療剤への神経薬理学的アプローチ, 感染・炎症・免疫, 19, 97–110.
 - 18) Van den Bossche, H., Rochette, F. and Horig, C. (1982): Mebendazole and related anthelmintics. *Ad. Pharmacol. Chemother.*, 19, 67–128.
 - 19) Vinayak, V. K., Gupta, N. K., Chopra, A. K., Sharma, G. L. and Kumar, A. (1981): Efficacy of vaccines against canine hookworm disease. *Parasitology*, 82, 375–382.
 - 20) Wakelin, D. (1984): *Immunity to parasites. How animals control parasite infections*. Edward Arnold, London.

Abstract

PROTECTIVE RESISTANCE AGAINST REINFECTION WITH
ANGIOSTRONGYLUS COSTARICENSIS IN MICE TREATED WITH
LARVICIDAL ANTHELMINTICS AFTER PRIMARY INFECTION

MAMORU TERADA AND MOTOHITO SANO

(Department of Parasitology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-31, Japan)

Trials were undertaken to assess protective resistance against reinfection with *A. costaricensis* in mice whose primary infection was treated with larvicidal anthelmintics. In mice treated with 5 mg/kg of milbemycin D on 6 to 15 days post primary infection with *A. costaricensis*, protection against reinfection with the nematode was detected from parameters such as numbers of surviving mice and of recovered worms. The protection was more remarkable when the larvicidal treatment was done later, when more infective larvae were primarily infected, and the infection and larvicidal treatment was repeated. Nearly complete protection was observed when 20 larval infection and the drug treatment was repeated thrice. The protective resistance lasted 6 months at least after primary infection. Thus, applying larvicidal effects of anthelmintics, protective resistance against reinfection with *A. costaricensis* was demonstrated in mice. It is suggested that the mouse model infected with *A. costaricensis* is useful not only in chemotherapeutic studies for the disease but also in immunological studies on protective immunity.