ヤケヒョウヒダニ *Dermatophagoides pteronyssinus* (Astigmata: Pyroglyphidae) の過冷却点と耐寒性に関する研究

角田 隆^{*1)}・森 樊須^{*}・島田公夫^{**}

^{*}北海道大学農学部

^{**}北海道大学低温科学研究所

Studies on Supercooling and Cold-Hardiness in the House-Dust Mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Astigmata: Pyroglyphidae). Takashi TSUNODA,²⁾ Hans MORI (Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060, Japan) and Kimio SHIMADA (Institute of Low-Temperature Science, Hokkaido University). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* **36**: 1-4 (1992)

The cold-hardiness of the house-dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (TROUESSART) was studied. The mean supercooling point (SCP) of adult females was $-22.7^{\circ} \pm 1.25^{\circ}\text{C}$. When mites were cooled beyond the SCP on the cryostage of a light microscope, rapid ice formation in their bodies was observed and no mites recovered after being frozen. The SCP was lowered by starvation indicating that the gut contents may act as ice nuclei. Mites were killed by prolonged cooling at temperatures higher than the SCP possibly because of chill-coma and/or dehydration.

Key words: House-dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, cold-hardiness, supercooling point

緒 言

最近、室内塵性ダニ類 (house dust mite) によるアレルギーが社会的に問題視されている。室内塵性ダニ類は室内の絨毯、ソファ、布団などに発生し、これらのダニの体および脱皮殻や排せつ物は強力なアレルギーとして知られている (KERN, 1921; VOORHORST et al., 1964; MIYAMOTO et al., 1968)。しかし、これまでにアレルギー疾患に対する特効薬は見つかっていない。したがって、ダニそのものを室内から根絶することは重要なアレルギー対策の一つと考えられる。

これまで、室内塵性ダニ類の駆除は殺ダニ剤散布に頼りがちであった。しかし、薬剤の毒性や残留性という面から考えると、人やペットに影響がなく、素材も痛まないような防除法が望ましい。今回、ヤケヒョウヒダニを用いて低温冷却による殺ダニ効果について、おもに、低温でのダニの死亡率と生存限界とみられる過冷却点との関わりを調べた。

なお、本研究を行うにあたり、低温顕微鏡、冷凍庫の使用を許可いただいた北海道大学低温科学研究所の吉田

静夫博士と丹野皓三博士、およびご協力いただいた岸工業株式会社の内田佳宏氏に厚く御礼申し上げます。

材料および方法

1. 供試虫

実験にはアレルギー疾患の主因の一つとして最も注目されている、ヤケヒョウヒダニ *Dermatophagoides pteronyssinus* (TROUESSART) 雌成虫を用いた。ヒョウヒダニの累代飼育は、乾燥酵母と魚粉を 1:1 の割合で混合した飼料を容器の 1/3~1/4 ほど入れたガラス瓶 (直径 4.3 cm, 高さ 8.2 cm) の中で行った。ダニの逃亡を防ぐためシャーレに微量の中性洗剤を加えた水を張り、ガラス瓶を置いた。さらに、これらの容器を飽和食塩水の入ったデシケーター (直径 23 cm, 高さ 23 cm) に入れた。デシケーターは 15L-9D, $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の条件下の恒温室内に置いた。

2. 実験方法

1) 低温処理によるダニの死亡率

雌 20 個体をガラス瓶 (直径 1.5 cm, 高さ 4.5 cm) に入れて室温から設定温度 (-5°C , -10°C , -15°C , -20°C ,

1) 現在 千葉県衛生研究所

2) Present Address: The Public Health Laboratory of Chiba Prefecture, 666-2 Nitona-cho, Chiba 280, Japan.

1990 年 12 月 18 日受領 (Received December 18, 1991)

1991 年 10 月 1 日登載決定 (Accepted October 1, 1991)

−25℃)まで温度調節器付きの冷凍庫内で冷却した。ガラス瓶の内側に銅-コンスタンタン熱電対(直径0.5 mm)を差入れ、電子記録計(横河製, 3088)で冷却中の容器内の温度を記録した。3~4分後設定温度に達してから、ダニをそれぞれ5分, 10分, および30分間置いた。その後再び室温に戻し、室温に戻した直後, 2日後, 4日後に生物顕微鏡下でダニの生死を観察した。

2) 過冷却点

ダニの低温に対する生存限界を調べるため、過冷却点(SCP)を測定した。飢餓によるSCPへの影響を調べるため、1日絶食させた個体と絶食させなかった個体のSCPを比較した。温度の測定には、銅-コンスタンタン熱電対(直径0.2 mm)にシリコングリス(Dow Corning社製)を少量付け、それにダニを付着させてからプラスチック管内に収め、全体を上記の冷凍庫内で冷却した。冷却速度は−0.5℃/minとし、電子式自記記録計(理化電気製, HR-1124型)で記録した。

3) 凍結過程の観察

倒立型の光学顕微鏡(Nikon, DIAPHOT-TMD)試料台に小型の冷却チャンバー(直径10 cm, 高さ3 cm)(吉田, 1988)を取り付け、ダニを冷却したときの状態をVTRシステム(浜松, C2400; National, AG-2320)で観察した。冷却速度は、チャンバー内に流す液体窒素の量と、チャンバーの中央に置かれたガラス試料台に蒸着された薄膜ヒーターの熱量を温度調節器(Ohkura, EC 1103)で制御し調節した。試料の温度は、電子式自記記録計(武田理研, TR2114)に接続された直径0.1 mmのクロム-アルメル熱電対によって測定した。検体のダニは熱電対の先端近くに付着させた。

結 果

1. 冷却温度および冷却期間と死亡率

冷却温度(−5℃, −10℃, −15℃, −20℃, −25℃)と冷却期間(5分, 10分, 15分)を変えたときの死亡率の変化を第1図に示す。−5℃まで冷却したときの死亡率は、冷却期間5分では10.4%, 10分では7.1%, 30分では28.6%だった。冷却期間が5分でも冷却温度が低いほど死亡率は増加した。すなわち、−10℃で22.2%, −15℃で47.4%, −20℃で96.5%に達した。−20℃以上で冷却温度を一定にした場合、冷却期間が長いほど死亡率は高くなった。死亡率は−10℃では30分で93%に、−15℃では10分で96.5%に達した。なお、−25℃では冷却期間のいかにかわらず死亡率は100%になった。

第1図 ヤケヒョウヒダニ雌成虫の死亡率。■: 30 min, ▲: 10 min, ●: 5 min.

第2図A 給餌した個体(a, b, c)と絶食させた個体(d, e, f)の凍結曲線。a, bは1個体, d, eは2個体, c, fは3個体熱電対の先についていた。

第2図B 絶食させた個体の凍結曲線。a, bは2個体, cは1個体熱電対の先についていた。

2. 過冷却点の測定

第2図Aと第2図Bに絶食させた個体と給餌した個体の凍結曲線を示す。ダニの体内で凍結が起きると、氷晶の形成により潜熱の放出が起こる。放熱による温度の上昇は、凍結曲線でスパイクとして記録されるので過冷却点(SCP)はスパイクの立上りの直前の温度とした。SCPを越えて冷却した個体は常温に戻しても蘇生しな

第3図 VTR で記録した凍結過程 (A→D の順に時間が経過した)。

かった。給餌した個体の SCP は -20.7°C から -24.5°C の間に分布し、平均 -22.7°C (S.D.=1.25) だった。これに対し、絶食させた個体の SCP は最高 -23.3°C 、最低 -27.6°C で、平均は -25.0°C 、(S.D.=1.39) だった。絶食させた個体群と給餌した個体群との SCP の平均値には有意差があり ($p<0.05$, U 検定), 絶食により SCP は低下することがわかった。

3. VTR による凍結過程の観察

ダニの体内で凍結が起こる様子を時間をおいて第3図 A, B, C, D に示す。第3図 A の場合、ダニの前体部および脚の内部は透明に見えた。B では、前体部後方から黒く不透明になった。脚は、胴体部全体が黒くなってから胴体部の方から先端に向かって黒ずんだ。C, D では、脚もほとんど黒くなった。B での温度は -22.5°C であったが、C では -22.3°C とわずかな温度上昇が認められた。B より 1 秒後の D では再び -22.5°C にもどった。

考 察

陸生の節足動物は過冷却能力をもつことが知られており、昆虫やダニでは、 -10°C 以下に冷却されても過冷却状態のまま生存できる種類が多く知られている

(SOMME, 1982)。ダニの耐寒性については、これまでに野外性の種 (ハダニ類, カブリダニ類, ササラダニ類など) について調べられているにすぎず、いずれも氷点下での生存は過冷却状態に限られ、凍結後の生存は認められていない (STENSETH, 1965; MACPHEE, 1963; YOUNG, 1980)。一方、室内塵性ダニ類の低温に対する耐性については松本ら (1966) により報告されており、ケナガコナダニ *Tyrophagus putrescentiae* とムギコナダニ *Aleuroglyphus ovatus* を -30°C で冷凍すると、前者は 150 分で、後者は 300 分で死亡率が 100% に達する。しかし、ダニを低温処理したときに、死亡に至るまでのダニの組織の変化について明確にされていない。

摂食中のヤケヒョウヒダニの過冷却点 (SCP) は平均 -22.7°C であった。一方、絶食させた個体群では SCP の平均が 2°C あまり低くなることや、凍結するときに前体部後方から黒くなっていくことから、SCP 以下での死亡の原因は、氷晶が消化管の内容物を氷晶核として成長し、消化管壁や周辺の組織を凍結させたからと考えられる。このような可能性については、トビムシやササラダニなどにおける絶食と SCP の低下の関係から推測されている (SOMME and CONRADI-LARSEN, 1977; YOUNG

and BLOCK, 1980)。過冷却点より高い温度でも死亡率は処理時間の延長によって高くなった。この場合、低温による代謝系の障害などの他に、乾燥によって死亡したことが考えられる。実際、ナミハダニ (*Tetranychus urticae* KOCH) を -5°C の条件においた場合、湿度の高い容器に入れた個体のほうが生存率が高いことから乾燥死亡説が支持されよう (STENSETH, 1965)。

今回実験に用いたダニは 25°C 、長日条件下で飼育した。本実験の結果から、夏期におけるヤケヒョウヒダニ雌成虫の SCP は -20°C から -25°C の間にあると考えられる。したがって、夏期に低温処理によって室内塵性ダニ類を駆除する場合、ダニのまわりの気温が -20°C 以下になるまで冷却する必要がある。

現在、畳や絨毯のダニ防除に薬剤処理や加熱処理が行われている。本研究により、小型冷却器の中で過冷却による殺ダニ処理が行える可能性が示唆された。今後は、本種の他のステージでの耐寒性や、飼育条件の異なった場合についても実験を行い、室内塵性ダニ類の低温処理による防除法の可能性について検討する必要がある。

摘 要

ヤケヒョウヒダニ *Dermatophagoides pteronyssinus* (TROUSSART) の耐寒性について調べた。雌成虫の過冷却点 (SCP) の平均は摂食中で -22.7 ± 1.25 (mean $\pm$ S.D.) $^{\circ}\text{C}$ だった。光学顕微鏡の冷却チャンバー内で SCP 以下にダニを冷却したとき、体内に氷晶が形成されるのが観察された。氷晶形成後に再び室温に戻しても蘇生する個体はなかった。絶食によって SCP は低下したことから、消化管の内容物が氷晶核として作用していると考えられる。SCP より高い温度でも冷却期間を長くすると死亡率は高くなった。この場合の死亡要因は代謝系の異常か乾燥によると考えられる。

引 用 文 献

- KERN, R.A. (1921) Dust sensitization in bronchial asthma. *Med. Clin. North Am.* 5: 438—442.
- MACPHEE, A.W. (1963) The effect of low temperature on some predacious phytoseiid mites, and on the brown mite *Bryobia arborea* M. & A. *Can. Entomol.* 95: 41—44.
- 松本克彦・佐藤慶吉・吉田美子 (1966) 乾燥および低温に対するコナダニ類の抵抗性について. *東女医大誌* 36: 208—213.
- MIYAMOTO, T., S. OSHIMA, T. ISHIZAKI and S. SATO (1968) Allergic identity between the common floor mite (*Dermatophagoides farinae* HUGES, 1961) and house dust as a causative antigen in bronchial asthma. *J. Allergy* 42: 14—28.
- SØMME, L. (1982) Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. *Comp. Biochem. Physiol.* 73A: 519—543.
- SØMME, L. and E.M. CONRADT-LARSEN (1977) Cold-hardiness of collembolans and oribatid mites from windswept mountain ridges. *Oikos* 29: 118—126.
- STENSETH, C. (1965) Cold-hardiness in the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* KOCH). *Entomol. Exp. Appl.* 8: 33—38.
- VOORHORST, H., M.I.A. SPIEDSMA-BOEZEMAN and F. TH. M. SPIEKMA (1964) Is a mite (*Dermatophagoides* sp.) the producer of the house dust allergen? *Allergie und Astma* 10: 329—334.
- 吉田静夫 (1988) 植物遺伝子源の凍結保存のためのレーザー低温顕微鏡の開発. 昭和60年度科学研究費補助金研究成果報告書. 北海道大学低温科学研究所.
- YOUNG, S.R. (1980) Cold-hardiness in a temperate cryptostigmatid mite. *Oikos* 35: 350—352.
- YOUNG, S.R. and W. BLOCK (1980) Experimental studies on the cold tolerance of *Alaskozetes antarcticus*. *J. Insect Physiol.* 26: 189—200.