Necator americanus 仔虫の鶏卵内発育について

Studies on the Development of *Necator americanus* Larvae in Chicken Embryo

群馬大学医学部衛生学教室 (主任 沢田利貞教授)

梶 原 信 夫・佐 野 基 人・山 崎 茂
中 島 た え・馬 場 敏 臣・大 角 正 明

Nobuo Kajiware, Motohito Sano, Shigeru Yamazaki,
Tae Nakajima, Toshiomi Baba, Masaaki Ōsumi

Department of Hygiene & Parasitology, School of Medicine, Gunma University

(Director: Prof. T. Sawada)

緒 言

人体寄生生物中、比較的高等動物に属する人体寄生虫の培養が容易に可能になれば、寄生虫の生物学、宿主と寄生の関係、予防および治療に関する種々の疑問も容易に解決するだろうことは明らかであるが、その生活史が複雑であるために、現在もなお寄生虫の培養は難問とされている。しかし、寄生虫の培養に関しては Bahr(1912)以来中島 (1931), Bergman (1933), Laas (1934), Lapage (1937), Chung (1938), Hoeppli et al. (1938), Hobson (1948) および von Brand らによつて数多くの実験がおこなわれてきた。これらの研究は、いずれも仔虫あるいは成虫を *in vitro* においてただ単に生命を維持するのみで、仔虫の発育を促進せしめることはできなかった。

しかし、Glaster および Stoll (1938, 1940) は山羊の寄生線虫 *Haemonchus contortus* の自由世代の幼虫を寄生世代の幼虫に発育せしめえたことを報告した。神子 (1939) は犬鉤虫感染仔虫を犬血清液で処理して家兎に与え、また犬血液を家兎に輸血しつつ同仔虫を投与したところ、仔虫は発育して母虫となったと述べている。Weinstein (1953, 1954) は *Ancylostoma duodenale* および *Necator americanus* について実験し、鶏胎児の抽出液およびラットの肝臓抽出液を用い、卵より *filariiform stage* まで発育せしめえたことを報告している。沢田ら (1954) は *A. duodenale* および *A. caninum*

の感染仔虫が鶏卵培養によつて *Adult stage* まで発育したことを報告した。Weinstein らは *caseinate, liver filtrate, chick embryo extract* および *rat serum* を用いた培地をもつて *N. muris* を培養して成熟した雌雄の成虫を得たことを報告した。

著者らは *Necator americanus* の仔虫の鶏卵内における発育の有無について観察し、若干の結果を得たので報告する。

実験材料および方法

まず *N. americanus* の保有者の尿をとり、虫卵を素焼上で培養して得た孵化後5日以上経過した被囊仔虫を実験に使用した。

まず仔虫を37°Cにおいて人血清をもつて2時間処理したものと、無処理のものに分けて、各々の仔虫を3,000 倍の昇汞液に浸漬し、孵卵器に20分間入れ、水洗後、1 ml 中 *Penicillin* 10,000 単位および *Streptomycin* 10mg 含有液をもつて洗い、可及的に仔虫を無菌的とした。

これら仔虫浮遊液の卵黄囊内接種は、鶏卵の孵卵第7日目の卵黄囊内に、また尿膜腔内接種は、孵卵第10日ないし11日目のもつとも発育した尿膜腔に 0.2ml~0.4 ml (1 ml 中の仔虫数約 500) ずつ注入し、穿孔はパラフィンで封じ、直ちに恒温器 (37°C) 内に入れた。

開卵方法は、無処理の仔虫を卵黄内に接種したときは7日、10日および14日目に開卵し、他の鶏卵は7日お

Tab. 1 The growth of *N. americanus* (non-treated) injected into the yolk sac of chicken embryo

Days		Length	Breadth	Head to oesophageal bulb	Oesophageal bulb to genital primordium	Genital primordium caudal extremity
0	maximum	0.704	0.025	0.167	0.206	0.208
	minimum	0.609	0.021	0.152	0.159	0.159
	average	0.668	0.023	0.162	0.188	0.203
7	maximum	0.718	0.025	0.168	0.205	0.212
	minimum	0.621	0.022	0.150	0.158	0.160
	average	0.670	0.023	0.163	0.185	0.201
10	maximum	0.692	0.026	0.165	0.204	0.252
	minimum	0.601	0.021	0.150	0.152	0.180
	average	0.653	0.023	0.162	0.178	0.224
14	maximum	0.682	0.025	0.171	0.204	0.224
	minimum	0.550	0.022	0.152	0.160	0.184
	average	0.625	0.022	0.164	0.180	0.210

Measurements in mm.

Tab. 2 The growth of the larvae treated with human serum injected into yolk sac of chicken embryo

Days		Length	Breadth	Head to oesophageal bulb	Oesophageal bulb to genital primordium	Genital primordium to caudal extremity
0	maximum	0.696	0.025	0.169	0.208	0.210
	minimum	0.609	0.020	0.153	0.158	0.160
	average	0.669	0.023	0.163	0.188	0.194
7	maximum	0.720	0.028	0.170	0.210	0.213
	minimum	0.632	0.018	0.152	0.162	0.162
	average	0.684	0.022	0.162	0.188	0.196
14	maximum	0.710	0.028	0.172	0.210	0.208
	minimum	0.630	0.017	0.152	0.156	0.164
	average	0.672	0.022	0.162	0.185	0.192

Measurements in mm.

び14日目に開卵し、仔虫を取出し、そのうち約 100匹について發育の程度、すなわち体長・体巾の測定および器官の分化の程度を観察し、培養仔虫の發育状況を検した。

実験成績

1) 無処理の仔虫の卵黄嚢内における發育

抗生物質(Penicillin, Streptomycin)をもつて、可及的に無菌的にした仔虫を解卵第6～7日の卵黄嚢内に接種し、7日、10日および14日後に順次開卵して卵黄嚢より仔虫を取出し、その 100隻の仔虫について發育の状態

を観察したところ、未だ著明な發育は認められなかった。すなわち、食道はやや太くなり、腸管は管状を呈し、生殖原基はわずかに發育しているのを認めたが、口嚢原基は認められなかった (Tab. 1, Fig. 1)。

2) 人血清で処理した仔虫の卵黄嚢内における發育

仔虫を鉤虫非保持者の人血清をもつて37℃、2時間作用させ、水洗後 Penicillin および Streptomycin にて無菌的として解卵第7日の卵黄嚢内に接種し、7日および14日後、開卵して接種した仔虫の發育状態を検したところ、仔虫接種後第7日および第14日目に仔虫は發育し体長・体巾の増加および生殖原基の發育を認めた。しか

Fig. 1 The larva (non-treated)
on the 14th day after injection into yolk sac

Fig. 3 The larva (non-treated) on the
10th day after injection into allantois

し口嚢原基を認めることはできなかった (Fig. 2, Tab. 2)。

3) 無処理の仔虫の尿膜腔内における發育

Penicillin および Streptomycin にて無菌的とした仔虫を孵卵第10日卵の尿膜腔内に接種し、接種後7, 14日目に開卵しこれら仔虫の發育状態を検したところ、仔虫の体長・体巾の顕著な發育および被嚢および口嚢原基は認められなかったが、食道は太さを増し、腸管は管状を形成しているのを認めた。これら發育仔虫は仔虫が固有宿主に感染した場合の第1～2日目の filariform に相当していた (Fig. 3, Tab. 3)。

4) 人血清で処理した仔虫の尿膜腔内における發育

仔虫を鉤虫非保持者の人血清にて37℃, 2時間作用さ

Fig. 2 The larva (treated with human serum)
on the 14th day after injection
into yolk sac

Fig. 4 The larva (treated with human serum)
on the 10th day after injection
into allantois

(Fig. 4)

(Fig. 2)

せ、水洗後、Penicillin および Streptomycin をもって無菌的としたのち、7日および14日卵の尿膜腔内に接種し、7日および14日後に開卵し、取出した仔虫の發育状態を観察したところ、仔虫の体長および体巾についてはそれらの増加を認めなかったが、腸管は管状となり生殖原基は發育増大しているのを認めた。しかし、仔虫の被嚢および口嚢原基は認めなかった (Fig. 4, Tab. 4)。

総 括

われわれは今回、アメリカ鉤虫仔虫について鶏卵培養を試みた。検出仔虫は生存しており活潑あるいは緩慢なる運動を認めた。

1) 卵黄嚢内における無処理の仔虫の發育については接種14日後においても接種前の仔虫に比べ体長および体巾の著明な変化を認めなかった。また被嚢は消失し、口嚢原基を認めなかった。食道は發育して太さを増し、腸管は管状を形成し、生殖原基の發育を認めた。

2) 人血清処理仔虫の卵黄嚢内における發育は、無処理の仔虫の發育よりその程度が顕著と認められ、体長・体巾の増加、被嚢の消失、体軀の充実が認められた。

Tab. 3 The growth of *N. americanus* (non-treated) injected into the allantois of chicken embryo

Days		Length	Breadth	Head to oesophageal bulb	Oesophageal bulb to genital primordium	Genital primordium to caudal extremity
0	maximum	0.682	0.028	0.167	0.205	0.206
	minimum	0.583	0.018	0.151	0.160	0.158
	average	0.648	0.020	0.162	0.189	0.201
7	maximum	0.674	0.026	0.167	0.212	0.200
	minimum	0.523	0.012	0.143	0.156	0.148
	average	0.546	0.017	0.158	0.190	0.176
14	maximum	0.674	0.026	0.169	0.162	0.188
	minimum	0.522	0.010	0.144	0.142	0.148
	average	0.532	0.017	0.160	0.152	0.174

Measurements in mm.

Tab. 4 The growth of *N. americanus* treated with human serum injected into the allantois of chicken embryo

Days		Length	Breadth	Head to oesophageal bulb	Oesophageal bulb to genital primordium	Genital primordium to caudal extremity
0	maximum	0.712	0.029	0.170	0.208	0.212
	minimum	0.596	0.018	0.154	0.157	0.158
	average	0.652	0.022	0.164	0.188	0.194
7	maximum	0.680	0.026	0.168	0.210	0.210
	minimum	0.524	0.020	0.154	0.160	0.158
	average	0.548	0.022	0.162	0.173	0.195
14	maximum	0.674	0.024	0.168	0.184	0.194
	minimum	0.524	0.018	0.152	0.150	0.152
	average	0.540	0.020	0.157	0.167	0.163

Measurements in mm.

3) 無処理仔虫の尿膜腔内における発育は接種前に比較して、体長・体巾の著明な発育増大は認められなかったが、被囊・口囊原基はなく、著しい腸管の発育および生殖原基も増大が認められた。

4) 人血清処理の仔虫の尿膜腔内における発育は体長および体巾の増加は認められなかったが、被囊の消失および顕著な仔虫体内器官の発育が認められた。

仔虫の接種部位および処理別より考察すると、人血清をもつて処理した仔虫の方が無処理の仔虫より、また卵黄嚢内よりも尿膜腔内へ接種した仔虫の方が発育は良好であった。

文 献

- 1) Sawada, T., Sano, M. and Ueno, T.: Gun. Journ. Med. Sci., 4(1): 21, 1954.
- 2) Sonneborn, T. M.: Nature, 175 (4469): 1100, 1955.
- 3) Epps, W. et al.: J. Infect. Dis., 87(1): 149, 1950.
- 4) Weinstein, P. P.: Am. Journ. Hyg., 58(3): 352, 1953.
- 5) Weinstein, P. P. and Gones, M. F.: J. Parasitol., 42(3): 215, 1956.
- 6) 神子謙: 実験医学雑誌, 23(11): 1667, 1939.
- 7) 中島勝美: 実験医学雑誌, 15(8): 1, 1931.
- 8) 中島勝美: 実験医学雑誌, 15(10): 1, 1931.
- 9) Hoeppli, R., Feng, L. C. and Chu, H. J.: Chinese J. Med. Suppl., 1938.
- 10) Bergman, R. A. M.: Arch. exper. Zellfor-

schung, 13, 1933.

11) 伊藤二郎・小宮義孝：寄生虫学雑誌，4(3)：14，1955.

12) 横川宗夫・大島智夫・木畑美知江：寄生虫学雜

誌，4(4)：70，1955.

13) Chung, H. L.: Zschr. Parasitenk., 9, 1936.

(受付：1958年11月29日，特別掲載)