犬蛔虫幼虫移行症の実験的研究－マウスの系統および週齢による体内移行様式の差とそれに対する免疫能の関与－

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2017-10-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 小泉, 勤
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7860

金沢大学十全医学会雑誌　第95巻　第1号　213－221　(1986)

犬蛔虫幼虫移行症の実験的研究
－マウスの系統および週齢による体内移行様式の差とそれに対する免疫能の関与－

金沢大学医学部附属動物実験施設（施設長：宮崎逸夫教授）
小　泉　　勤
(昭和61年2月6日受付)

犬蛔虫幼虫移行症における宿主の自然低抗性の有無をみるため，遺伝的な差のあることの知られているマウスの系統の間，および同一系統内での，年齢，雌雄による幼虫の体内移行様式に差があるかどうかを検討した．虫卵400個経口投与後の肝臓から回収される幼虫数を経時的にみると，幼虫回収数は虫卵投与後2日でピークに達し，以後減少した．この経時的変化とピーク時の回収数は系統，週齢，雌雄によって統計的に有意な差はなかったが，ピーク時からの減少の速度には系統と週齢によって差が認められた．したがって，虫卵投与後6日での肝臓からの幼虫回収数を比較すると系統間や週齢で有意の差が認められ，BALB/cや(BALB/c×NC) F_1マウスでは，NCやC57BL/6マウスに比較して多数の幼虫が回収された．また，同じ系統内では雌雄による差はなかったが，週齢の若いマウス（3および5週齢）からの回収数は成熟したマウス(8週齢)からよりも少なかった．肝臓からの回収の多い系統であるBALB/cでもnude遺伝子を導入され，免疫機能に欠陥のあるBALB/c-nudeマウスでは，投与6日での幼虫回収数は著明に減少した．さらに，X線照射や，抗リンパ球抗体の処理で免疫機能を低下させたBALB/cでも同様に，無処置のBALB/cマウスに比べて幼虫回収数は減少した．この結果は系統や週齢による肝臓からの幼虫回収数の減少は一旦肝臓内に移行した幼虫がさらに他の組織に移行する速さに差のあるためと考えられ，この移行速度はマウスの免疫能に関連することが示唆された．そこで，犬蛔虫抗原に対する遅延型過敏症反応の系統差，週齢差を検討したところ，上記の見解を支持する結果，すなわち，虫卵投与後6日で肝臓からの幼虫回収数の多いマウスでは遅延型過敏症反応が高く，回収数の少ないマウスでは反応が低い結果を得た．以上本研究の結果から，犬蛔虫幼虫移行症において肝臓での幼虫移行に自然低抗性がみられ，この幼虫移行は宿主の遺伝的背景や年齢により影響を受けることが明らかにされ，この差は宿主の免疫能と関連することが推察された．

Key words　*Toxocara canis,* visceral larva migrans, mouse, strain difference, immunity.

犬蛔虫幼虫移行症(visceral larva migrans; VLM)の実験モデルとして，これまで種々の動物が検討されている[1)~7)]．それら非固有宿主では消化管から侵入した幼虫は体内移行し，いわゆる全身型移行（somatic migration）を営み幼虫のほとんどは肝臓，肺を通過し，筋肉，脳など，全身の諸臓器に分布し，これらの部位で長期間生存する．しかしながら，動物種によってこの移行様式が異なり，感染12～15ヶ月後では，投与された虫卵数に対しマウスで1.2%，ラットで1.1%，ハムスターで19.1%，モルモットで20%で，

Abbreviations: DH, delayed hypersensitivity; IgE, Immunogulobulin E; LES, larval excretions/secretions; MEM, minimum essential medium; RSRID, reversed single radial immunodiffusion; PCA, passive cutaneous anaphylaxis; VLM, visceral larva migrans.

ウサギで30.7%，サルでは69.3%の幼虫が肝臓に留まったままであり，この点で種差がみられるとされといる[4)7)]．

宿主－寄生虫関係の成立を考える際に，このような種差は興味ある問題であるが，他方，宿主－寄生虫関係は宿主の遺伝的背景，年齢や性などの要因によって影響され，感受性あるいは低抗性には系統差，年齢差あるいは雌雄差がみられることが多くの寄生虫種において実験的に確かめられている[8)~14)]．このような宿主側の要因を把握することは，宿主－寄生虫関係の理解には不可欠であり，また，適切な実験動物モデルの選択に必要である．しかしながら，VLMにおいては同一動物種内での変異について検討されていない．

本研究はマウスを実験モデルとして，VLMにおける幼虫の体内移行に対する宿主の自然低抗性に差がみられるかいなかについて検討した．その結果，マウスでのVLMでは初感染で肝臓に侵入した幼虫は，ほとんど肝臓には留まらず数日以内には肺を経て筋肉，脳に移行するとされていたが[1)4)7)]，初感染での肝臓での幼虫滞留がマウス系統，週齢により影響されることが示された．

材料および方法

I．実験動物

実験に用いた近交系マウスのうち，BALB/c, C57BL/6, C3H/He, DBA/2およびBALB/c-*nu/nu*は三協ラボサービス（富山）より購入した．NCおよび（BALB/c×NC）F_1交雑マウスは当施設において生産した．実験には1群5匹のマウスを用いたが，雌雄差をみた実験以外は雄を週齢差をみた実験以外は8週齢で実験に使用した．ラットのPCA反応によるマウスのIgE抗体の測定には，Wistar系ラット，8週齢雄（三協ラボサービス，富山）を用いた．

II．虫卵投与と組織内幼虫の回収

犬蛔虫卵のマウスへの投与，およびマウス組織からの幼虫回収は近藤らの方法[15)]に従った．すなわち，成虫の子宮より採取した虫卵を0.5%ホルマリン水で室温下，40日間培養し，第2期幼虫（感染期幼虫）包嚢卵（以下虫卵と略す）を得た．これは使用時まで4℃で保存し，なるべく同一ロットの虫卵を実験に用いることとした．使用時にはこれを50%次亜塩素酸ナトリウムで10分処理することにより，蛋白膜の除去ならびに比重差による感染性虫卵の選別収集をおこなった．得られた感染性の虫卵は充分に蒸溜水で洗浄した後，蒸溜水に400虫卵/mlに浮遊させた．マウスをエーテルで軽く麻酔し，胃ゾンデで虫卵浮遊液1mlを経口投与した．一定時間後にマウスを殺し，肝臓，筋肉を取り出し，ハサミで細切し，人工胃液を加え，37℃3時間消化した後，生理食塩水で繰り返し洗浄し，沈査中の幼虫を顕微鏡下で数えた．脳内の幼虫数は，2枚のスライドグラスで脳を圧平し，直接顕微鏡下で数えた．

III．抗原の調整

犬蛔虫第2期幼虫代謝産物抗原（LES）は著者らの方法[16)]に従い作成した．すなわち，虫卵から機械的刺激で第2期幼虫を脱殻させ，*in vitro*でイーグルのMEM培養液で培養し，培養上清を濃縮し，LES抗原とした．抗原の蛋白量はHartreeによるLowry法の改良法[17)]により測定した．

IV．抗体価の測定

LES抗原に対する感染マウスの血清中の沈降抗体価は逆単純免疫拡散法（RSRID）により測定した[16)]．抗体価は標準血清（虫卵5,000個投与6週後に得たWistarラット血清）に対するパーセントで示した．IgE抗体はラットを用いたPCA反応により測定した[16)]．

V．遅延型過敏症反応（DH反応）

LES抗原に対する感染マウスでのDH反応は*in vivo*での秤量法によるFootpad swelling assay[18)]により測定した．すなわち，感染5日後に50 μl（5μgの蛋白を含む）のLES抗原を27Gの注射針を用いてマウスの左足蹠皮下に投与した．24時間後にマウスを頸椎脱臼法により殺し，両足蹠を同一部位で切取り，左右の重量差（mg）でDH反応による腫脹の程度を示した．

VI．抗リンパ球血清

リンパ球に対する抗体はBALB/cマウスの腸管膜リンパ節から得た細胞でウサギを2回免疫して作成した．

VII．免疫抑制処理

1．抗リンパ球血清処理

BALB/cマウスに感染24時間前，0.2 mlの抗リンパ球血清を静脈に投与し，感染2日後に再び，同様の処置を行った．

2．X線全身照射

BALB/cマウスを照射用の固定箱に入れ，X線照射装置（東芝KXC-18-2型，東芝メデイカル，東京）で200KV, 25mA, 0.5mm銅と0.5 mmアルミニュウムのフィルターを用い800radの線量の全身照射を行った[19)]．

VIII．統計処理

2群間での平均値の差の検定にはStudetのt検定を用い，3群以上では分散分析後Duncanの多重比較を行い，$P<0.05$の場合に有意差があると判断した．

成　　績

I．マウス系統差

BALB/c, C57BL/6, C3H/He, DBA/2, NC マウスに虫卵 400 個を投与，48 時間後に肝臓から回収できた幼虫数は，それぞれ 109.8±13.6（1 群 5 匹の平均値と標準偏差），136.0±20.7，132.2±8.5，112.8±9.6，134.0±9.2 隻であり，これら系統間に差が認められなかった．肝臓から回収される幼虫数はこれ以降どの系統も減少したが，この減少の程度にマウス系統間で差が認められた．図 1 に肝臓からの幼虫の減少の経過を示した．すなわち，C57BL/6 や NC マウスでの感染 6 日後では，肝臓からの回収幼虫数は感染 48 時間後での回収幼虫数の 13～18%であったが，21 日後では幼虫はほとんど認められなくなった．C3H/He や BALB/c マウスでは感染 6 日後でも多くの幼虫が肝臓に滞留しており，その数は，感染 48 時間後に肝臓から回収した幼虫数のそれぞれ34%，60%であった．BALB/c マウスでは，感染 21 日後で 39%，42 日でも 37%の幼虫が肝臓に滞留していた．したがって，感染 6 日目以降の肝臓からの回収幼虫数にマウス系統差がみられた．一方，肝臓を含めた全身に存在する幼虫数に系統差があるかを感染 21 日目で検討した．表 1 に示すように全身から回収される幼虫数は各系統でそれぞれ平均 113～133 隻の間に分布し，マウス系統間で差はみられなかった．

II．F_1マウスでの幼虫数

以上の実験結果から肝臓に組織移行した幼虫の，肝臓から他臓器への移行には宿主の遺伝的な背景の差意が影響することが示唆されたので，次に肝臓への幼虫滞留数の多い BALB/c と最も少なかった NC，それらの（BALB/c × NC）F_1マウスについて回収幼虫数の比較をし，図 2 に各マウスからの回収数の時間的経過を示した．F_1マウスでの感染 2 日目の肝臓から回収される幼虫数は 153.6±18.4 隻であり，両親系統（BALB/c, 164.3±26.7 隻；NC, 150.2±8.7 隻）と差はなかったが，感染 6 日での F_1マウスからの幼虫数 73.4±17.3 隻は BALB/c マウスの 83.2±16.9 隻と同様 NC マウスの 23.4±12.4 隻に比べて有意に多かった．

III．雌雄差，週齢差

次に，マウス系統間でみられた感染 6 日以降の犬蛔虫幼虫の肝臓での滞留数の差がマウスの週齢や雌雄に

Table 1. The yield of larvae from whole carcass on day 21 post-infection with 400 *T. canis* eggs

Strain[a]	No. of mice	No. of larvae (mean±S.D.)
BALB/c	5	132.0±19 5
BALB/c-*nu/nu*	5	113.0±25.0
C57BL/6	5	116.5±14.5
C3H/He	5	133.3±18.8
NC	5	130.6±6.3

a: Male of eight weeks mice were used

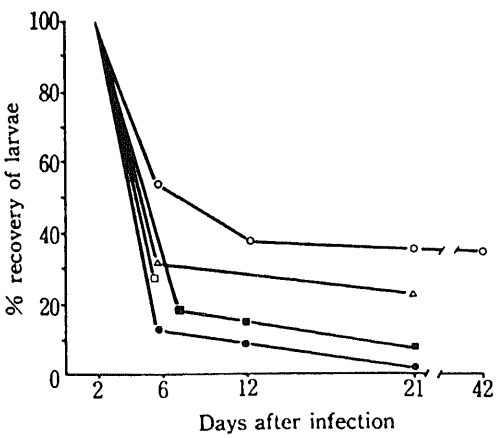

Fig. 1. Time course of disappearance of larvae from the liver in eight weeks male mice following infection with 400 *T. canis* eggs. Each point indicates the mean of five mice. ○, BALB/c; ■, C57BL/6; △, C3H/He; □, DBA/2; ●, NC. Mean for BALB/c mice was significantly higher than that for other strains on days 6, 12 and 21 post-infection.

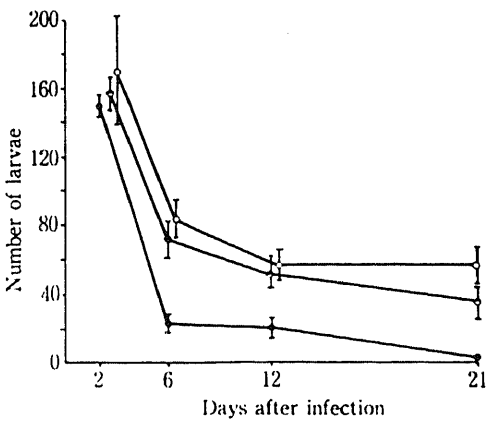

Fig. 2. The yields of larvae from the liver in (NC×BALB/c) F_1 mice following infection with 400 *T. canis* eggs. Each point and bar indicate the mean and S. D. of five males of eight weeks mice, respectively. ○,BALB/c; ●, NC; ◓, (BALB/c×NC) F_1.

よって影響を受けるかいなかについて検討した．肝臓からの感染6日での回収幼虫数にはBALB/c, NCマウスとも雌雄差は認められず(表2)，したがって雌雄いずれも肝臓に滞留する幼虫数はBALB/cマウスはNCマウスより有意に多かった．週齢による影響は表3に示したように，BALB/c, NC両系統マウスとも週齢の増加につれて肝臓に滞留数する幼虫数の増加がみられた．BALB/cマウスの3週齢では3.4±4.6隻，5週齢で15.2±8.8隻，8週齢で37.0±9.6隻の幼虫の滞留数がみられたのに対し，NCマウスでの増加は非常に軽微であり，3週齢で0.0±0.0隻，5週齢で2.4±3.6隻，8週齢で7.2±3.4隻であり，BALB/cマウスでは5週齢以降，NCマウスより有意に多くの幼虫が回収された．BALB/cマウスについて8週齢(37.0±9.6)と56週齢(29.6±4.1)で比較したが，回収幼虫数に差がなく，週齢に伴う肝臓での滞留幼虫数の増加は8週齢位でプラトーに達するものと思われた．

Ⅳ．免疫抑制マウスでの幼虫移行

犬蛔虫の再感染[6]や抗原感作[20]あるいはLES抗原に対する抗体のpassive transferにより肝臓に滞留する幼虫数の増加がみられること[21]から，肝臓での幼虫の滞留には宿主の免疫機能が関与するとされている．BALB/cとBALB/c-*nu/nu*マウスでの回収幼虫数の比較をおこなったところ，図3に示したように感染48時間後での肝臓からの回収幼虫数は，BALB/cマウスで158.3±26.7隻に対し，BALB/c-*nu/nu*マウスで149.5±14.7隻であり，これまでの一連の実験と同様にBALB/cとBALB/c-*nu/nu*マウスでは差がなかった．その後，肝臓からの回収幼虫数はBALB/c-*nu/nu*マウスではBALB/cマウスと異なり急速に滞留幼虫数の減少がみられ，感染6日後での回収数13.4±7.8隻はBALB/cでの83.2±16.8隻と比べて有意に少なく，また，感染12日以降では全く回収されなかった．

BALB/cマウスについて免疫抑制をおこなったところ，表4に示したように，X線照射あるいは抗リンパ球血清処理を受けたマウスでの感染6日目の肝臓からの回収幼虫数は，X線処理群では11.4±2.2隻，抗血清処理では12.0±4.9隻であり，無処置(41.3±16.9隻)に比べて有意に少なかった．

Ⅴ．LES抗原に対する免疫応答

Table 2. Inflence of sex on the yield of larvae from the liver on day 6 post-infection with 400 *T. canis* eggs

Sex[a]	No. of mice	No. of larvae (mean±S.D.)		Strain difference *P* value
		BALB/c	NC	
Male	5	31.4±14.8	6.0±3.7	$p<0.05$
Female	5	30.4±7.4	3.8±2.5	$p<0.05$
Sex difference		N.S.	N.S.	

a : Eight weeks mice were used. N.S.=Not significant.

Table 3. Influence of age on the yield of larvae from the liver on day 6 post-infection with 400 *T. canis* eggs

Age (weeks)	No. of m ice	No. of larvae (mean±S.D.)		Strain difference (*P* Value)
		BALB/c	NC	
3	5	3.4±4.6	0.0±0.0	N.S.
5	5	15.2±8.8	2.0±3.6	$p<0.05$
8	5	37.0±9.6	7.2±3.4	$p<0.05$
56	5	29.6±4.1	N.T.	−

Age difference	BALB/c	NC
	3w *vs.* 5w N. S.	3w *vs.* 5w N. S.
	3w *vs.* 8w $p<0.05$	3w *vs.* 8w $p<0.05$
	5w *vs.* 8w $p<0.05$	5w *vs.* 8w N.S.
	56w *vs.* 8w N. S.	
	N. S.=Not significant	N. T.=Not tested

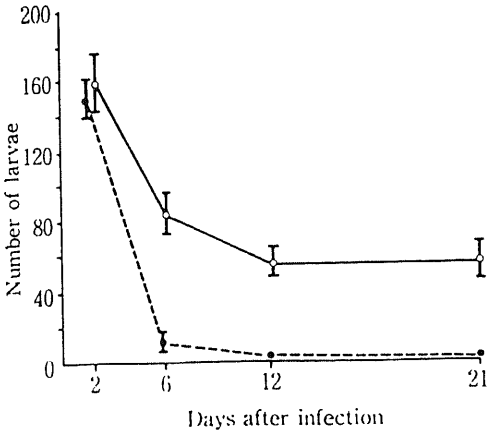

Fig. 3. The yields of larvae from the liver in nude mice with BALB/c gene background following infection with 400 *T. canis* eggs. Each point and bar indicate the mean and S. D. of five males of eight weeks mice, respectively. ○, BALB/c; ●, BALB/c-*nu-nu*.

1．抗体

各マウス系統におけるLES抗原に対する沈降抗体とIgE抗体の産生を表5に示した．沈降抗体は5匹の平均値，IgE抗体は5匹中3匹が反応した最大血清希釈倍数で示した．沈降抗体およびIgE抗体の産生は感染2週後から認められ，PCA価は感染2週後でいずれの系統でも256倍であった．沈降抗体も感染2週後から認められたが，NCマウスでは標準血清の4.9%であり，他系統での抗体価（標準血清の27～31%）と比べるとやや低かった．

2．遅延型過敏症（DH）反応

LES抗原に対するDH反応をBALB/cとマウスNCマウスについておこなったところ，BALB/cマウスでは感染5日目のLES抗原での惹起に対し，24時間後での腫脹は17.7±8.6 mgであり，非感染群マウスの2.8±3.4 mgに比べて有意に強い腫脹がおこり，DH反応陽性を示した．しかしながら，NCマウスでは腫脹はみられなかった．F_1マウスでのDH反応による腫脹は11.1±5.3 mgであり（表6），滞留幼虫数と同

Table 4. Effect of anti-lymphocyte serum and irradiation on the yield of larvae from the liver of BALB/c mice on day 6 post-infection with 400 *T. canis* eggs

Treatment[a]	No. of mice	No. of larvae (mean±S.D.)	*P* Value
Anti-lymphocyte[b]	5	12.0±4.9	$p<0.05$
Irradiation[c]	5	11.4±2.2	$p<0.05$
None	5	41.3±16.9	—

a: Male of eight weeks mice were used.
b: Mice were injected with 0.2 ml of anti-lymphocyte serum intravenously 24 hr before and 48 hr after infection.
c: Mice werc irradiated with 800 rad X-ray 2 days before infection.

Table 5. Precipitating and PCA titers to the excretory/secretory antigen from second stage larvae (LES) in mice infected with 400 *T. canis* eggs

Strain[a]	Precipitating titer[b]			PCA titer[c]		
	1	2	3	1	2	3[d]
C57BL/6	0	27.2	33.4	4<	256	1,024
C3H/He	0	22.7	23.7	4<	256	256
BALB/c	0	31.5	35.3	4<	256	256
DBA/2	0	27.2	31.5	4<	256	1,024
NC	0	4.9	10.2	4<	256	1,024

a: Male of 8 weeks mice were used.
b: Relative titers to the standard serum which was obtained from rats 6 weeks after infection with 5,000 *T. canis* eggs. Data show mean of five mice.
c: Figures show the reciprocal highest serum dilution which produced positive reaction, at least in three out of five mice. (4-fold serial dilqtion)
d: Weeks post-infection.

Table 6. Strain differences in delayed footpad reaction to LES antigen on day 5 post-infection with 400 *T. canis* eggs

Strain	No. of mice	No. larvae[a] (mean±S.D.)	Footpad swelling[b] (mg)
BALB/c	5	87.6±18.2[c]	17.7±8.6[f]
NC	5	11.2±5.6[d]	−0.5±4.6[g]
(NC×BALB/c) F_1	5	65.2±11.5[e]	11.1±5.3[h]

a: Larvae were recovered from the liver on day 6 post-infection.
b: The extend of delayd footpad reaction was expressed as footpad weight difference (mg) between left (LES) and right (saline) 24 hr after injection with 5 μg protein of LES antigen.
P values: c *vs.* d $p<0.05$, d *vs.* e $p<0.05$, c *vs.* e $p<0.05$
f *vs.* g $p<0.05$, g *vs.* h $p<0.05$, f *vs.* h Not significant.

Table 7. Influence of age on delayed footpad reaction to the LES antigen on day 5 post-infection with 400 *T. canis* eggs in male BALB/c mice

Age (weeks)	No. of mice	Footpad swelling (mg)[a]	
		Infected	Control
3	5	8.4±3.2[b]	0.6±2.7[c]
8	5	14.6±7.2[d]	3.3±4.0[e]

a: See table 6.
P values: d *vs.* e $p<0.05$, b *vs.* d & c *vs.* e Not significant.

様にBALB/cマウスに近い反応であった．また，BALB/cマウスについて3週齢と8週齢で比較すると肝臓に幼虫滞留数の多い8週齢では腫脹の程度は14.6±7.2 mgであり，3週齢の8.4±3.2 mgに比べると腫脹の程度が大きかった（表7）．

考 察

マウスでの実験的犬蛔虫幼虫移行症では，経口投与された虫卵から直ちに腸管内で幼虫が脱殻し，腸管壁に侵入する．この幼虫は感染48時間後にほとんど肝臓に移行する．肝臓からの回収幼虫数は感染48時間後が最大であり[3]，以後肝臓からの回収幼虫数は激減し，脳，骨格筋からの回収幼虫数が増加することから，肝臓に一時的に侵入した幼虫は脳，筋肉など全身に移行し，そこで組織寄生するとされている[1)3)4)]．

本研究では，犬蛔虫幼虫移行症における宿主系統による幼虫の移行様式に差がみられるかいなかを検討するため，BALB/c, C57BL/6, C3H/He, DBA/2および末梢血白血球数が少なく[22]，種々の免疫異常を示す[23]NCマウスを用いたが，感染2日目の肝臓からの回収幼虫数，および感染21日目の全身からの回収幼虫数には系統差は認められなかった．しかしながら感染6日以後の肝臓からの回収幼虫数には明らかな系統差が認められた．この事実は，肝臓に侵入した幼虫がさらに脳，骨格筋に移行する機構に宿主系統の持つ特性と犬蛔虫幼虫との相互作用の結果であると考えられる．

同一動物種での寄生虫感染に対して宿主系統による反応差があることは，種々の宿主－寄生虫の系で知られている[8)~14)]．このような系統による差の生ずる要因は宿主－寄生虫関係，さらに寄生部位あるいは，何を反応差の指標とするかなどによって異なると思われるが，系統による免疫応答能の差が重要な要因として強調されている[8)~14)]．今回の犬蛔虫の実験でも，感染6日以降の肝臓からの回解幼虫数がBALB/c-*nu/nu*マウスではBALB/cマウスに比べて著しく少なく，抗リンパ球血清やX線全身照射処置により免疫抑制を受けたBALB/cマウスでは幼虫滞留数が有意に減少した．さらに一般に免疫機能が低いと考えられる若齢マウスでは成熟マウスに比べて回収幼虫数が少なかった．再感染[6)21)]や抗原感作[20]においては免疫応答の昂進の結果として，肝臓での犬蛔虫幼虫の滞留が増加することが示唆されていることから，今回の実験で認められた犬蛔虫幼虫の移行態度のマウス系統差は免疫応答能の系統差が一つの要因として考えられる．

この考えに立てば，感染6日以降の肝臓からの回収幼虫数の多いBALB/cマウスは回収数の少ないNCやC57BL/6マウスと比較して，犬蛔虫幼虫感染に対する免疫応答能が高いと言える．しかしながら，LES抗原に対する沈降抗体，IgE抗体産生については今回の実験で系統間で差がみられなかった．これは，細胞性免疫応答は等しいが，抗体産生の点で大きく異なるCBA/HとCBA/Nマウスを用いた豚蛔虫（*Ascaris suum*）の実験で，両系統マウスでは初感染に対し抗体産生は異なるが，肺での幼虫滞留数に差がないとしたBrownら[24]の報告と同様であった．また犬蛔虫幼虫が

マウスの肝臓を通過するのは，感染2～6日という感染の早い時期であり，この時期では抗体は産生されていなかった．しかしながら，感染5日目でのLES抗原での惹起に対して24時間後でのDH反応をみたところ，DH反応の結果は肝臓での幼虫滞留数の多いBALB/cマウスで陽性であり，ほとんど幼虫が留まらないNCマウスでは陰性であり，BALB/cとNCのF_1マウスでは幼虫数およびDH反応のいずれもBALB/cマウスに近い反応を示した．さらにBALB/cマウスの3，5および8週齢の比較では幼虫が肝臓にほとんど留まらない3週齢ではDH反応が陰性であり，5週齢では幼虫数ならびにDH反応とも増加し，3週齢と8週齢の中間を示し，肝臓での幼虫滞留とLES抗原に対するDH反応との結果と一致した．このことは，免疫応答として細胞性免疫が肝臓での幼虫滞留と関連があることを示唆するものと思われる．種々の抗原に対する免疫応答は遺伝的に支配されており，一般には免疫応答の高い方が優性であるが，BALB/cとNCのF_1マウスでは感染6日以降の肝臓から回収される幼虫数がBALB/cマウスと同様に多いことは，犬蛔虫幼虫の肝臓での滞留に関わる免疫応答能が遺伝的支配を受け，高い方が優性であると考えることができる．また，F_2（交雑第2代）マウスでの感染6日目での肝臓からの回収幼虫数の分布をみると10～70幼虫/マウスの間で均一に分布している（未発表データ）ことから，肝臓での幼虫の滞留数は少なくとも2個以上の遺伝子によって影響を受けると考えられる．

寄生虫感染に対する宿主の応答は，宿主の週齢によって影響を受けること，この週齢差は寄生虫抗原に対する免疫応答の差による ものであるとの報告があるが[14]，今回の実験においてマウスでは犬蛔虫幼虫感染に対する宿主の応答は5週齢頃から発達し始め，8週齢以降に至ってプラトーに達するものと思われた．

以上，本研究より得られた結果は犬蛔虫幼虫移行症において，寄生虫と宿主の関係に関わる機構を研究する際，動物モデルの選択にあたっては，動物種と同時に，系統差，週齢差を考慮する必要があることを示唆するものである．

結　　論

種々の近交系マウスに犬蛔虫虫卵を投与し，肝臓，筋肉および脳から経時的な幼虫回収を行い，体内移行様式の比較をおこなった．

1）感染2日後に肝臓から回収される幼虫数および21日に全身から回収される幼虫数は系統間で差がみられなかった．

2）感染6日以降に肝に滞留する幼虫数はBALB/cマウスではC57BL/6, C3H/He, DBA/2, NCマウスと比べて有意に多かった．

8）感染6日後での肝臓からの回収幼虫数は，BALB/c, NCマウスとも週齢の増加に伴って増加したが，NCマウスでの増加は軽微であり，5週齢以降ではBALB/cはNCマウスより有意に多くの幼虫が回収された．

4) BALB/c-*nu*/*nu*マウスでは感染6日以降，幼虫は肝臓にほとんど滞留しなかった．また，BALB/cマウスをX線照射や抗リンパ球血清処理で免疫抑制することにより，肝臓に滞留する幼虫数の減少がみられた．

5）LES抗原に対する抗体産生は系統間では差がみられなかったが，感染5日目でのLES抗原による惹起に対するDH反応と系統，週齢による感染6日後の肝臓における幼虫の滞留数との間に関連がみられた．

6）BALB/cとNCとのF_1マウスではBALB/cと同様の幼虫の肝臓での滞留がみられたことから，肝臓に幼虫が滞留する形質は優性に遺伝すると考えられる．

本研究により得られた結果は，犬蛔虫幼虫移行症における幼虫の体内移行が宿主の遺伝的背景や週齢により影響を受けることを示すものであり，この差と免疫応答との関連が推察された．また犬蛔虫幼虫移行症の動物実験モデルを選択するにあたっては，週齢差，系統差を考慮する必要があることも示唆された．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜りました動物実験施設長宮崎逸夫教授，直接御指導，御校閲を賜りました前施設長，寄生虫学教室吉村裕之教授さらに本研究に際し，終始御指導下さいました動物実験施設早川純一郎助教授ならびに寄生虫学教室近藤力王至助教授に深く感謝いたします．本論文の要旨は，第16，17回日本実験動物学会において発表した．

文　　献

1） **Sprent, J. F. A.**: On the migratory behaviour of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues. J. Inf. Dis., **90**, 165-176 (1952).

2） **Done, J., & Gibson, T. E.**: Experimental visceral larva migrans in the pigs. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., **52**, 302-303 (1958).

3） **Oshima, T.**: Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observation on the normal migration routes of the larvae. J.

Parasitol., **47**, 652-656 (1961).

4) **Beaver, P. C.**: Toxocarosis (viseral larva migrans) in relation to tropical eosinophilia. Bull. Soc. Path. Exot., **55**, 555-576 (1962).

5) **Aljevori, T. I., & Ivery, M. H.**: *Toxocara cais* infection in baboons. I. Antibody, white-cell and serum protein responses following infection. Am. J. Trop. Med. Hyg., **19**, 249-254 (1970).

6) **近藤力王至・嶋田義治・栗本 治・織田 清**：実験的線虫移行症の研究 (2)犬蛔虫幼虫の侵入に対するマウスの低抗性について．寄生虫誌，**35**, 371-376 (1976).

7) **大島智夫**：無寄生虫ビーグルを用いてのイヌ回虫感染実験（福井ら編），実験用ビーグルの研究，353-374頁，ソフトサンエンス，東京，1976.

8) **Mitchell, G. F., Hogarth-Scott, R. S., Edwards, R. D., Coisung, G., & More, T.**: Studies on immune responses to parasite antigens in mice. I. *Ascaris suum* larval number and anti-phospholrycholine responses in infected mice of various strains and in hypothymic nu/nu mice. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., **52**, 64-78 (1976).

9) **Rivera-Oritzu, C. I., & Nussenweig, R.**: *Trichinella spiralis*: anaphylactic antibody formation and susceptibility in strains of inbred mice. Exp. Parasitol., **39**, 7-17 (1976).

10) **Perrudet, A., Binagaghi, R, A, & Boussac-Aron, Y.**: *Trichinella spiralis* infection in mice. Mechanism of the resistance in animals genetically selected for high and low antibody production. Immunol., **35**, 519-522 (1978).

11) **Wakelin, D.**: Genetic control of susceptibility and resistance to parasite infection. Adv. Parasitol., **16**, 219-309 (1978).

12) **Wakelin, D.**: Mouse models of genetic variation in resistance to helminth parasites, p53-68, *In* D. G. Owen (ed), Animal models in parasitology. Macmillan Press, London, 1981.

13) **Mitchell. G. F**: Responses to infection with metazoan and protozoan parasites in mice. Adv. Immunol., **28**, 451-511 (1979).

14) **Anderson, M. J., & Griffin, J. M. T.**: *Taenia crassiceps* in the rat: differences in susceptibility to infection and development of immunocompetent in relation to age and host strain. Int. J.Parasitol.,**9**, 229-233 (1979).

15) **近藤力王至・小泉 勤・坪田宣之・大西義博・吉村裕之**：実験的移行性幼線虫症の研究 (3)犬蛔虫感染家兎の抗体価の推移．寄生虫誌，**25**, 371-376 (1981).

16) **Koizumi, T., Hayakawa, J., & Kondo, K.**: *Toxocara cais*: immunogenic sources of *Toxocara canis* in infected rats. Jap. J. Perasitol., **32**, 397-386 (1984).

17) **Hartree, E. F.**: Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem., **48**, 422-427 (1972).

18) **北村公一**：秤量法による footpad swelling assay. 免疫実験操作法 X, 3349-3354 頁．日本免疫学会編，金沢，1982.

19) **Hudson. L., & Hay, F. C.**: Practical immunology 2nd ed., p245-302, Blackwell, London, 1980.

20) **Sugane, K., & Oshima, T.**: Trapping of large number of larvae in the liver of *Toxcara canis*-infected mice. J. Helminthol., **57**, 95-99 (1983).

21) **赤尾信明**：犬蛔虫幼虫排泄・分泌物抗原に対するマウスの免疫応答．再感染マウスの肝臓でみられる幼虫補足現象と液性免疫応答の関連性について．寄生虫誌 **34**,293-300(1985).

22) **Kondo, K.. Nogami, T., & Teramoto, S.**: Differences in hematopoetic death among inbred strains of mice, p20-29. *In* P.V. Bond & T. Sugahara (ed), Comprative cellular and species radiosensitivity, Igakushoin, Tokyo, 1969.

23) **玉田康彦**：NCマウスの免疫学的研究－加令に伴い発生する自己免疫現象の解析－．アレルギー，**26**, 20-29 (1977).

24) **Brown, A. R., Crandall, C. A., & Crandall, R. B.**: The immuno response and acquired resistance to *Ascaris suum* infection in mice with an X-linked B lymphocyte defect. J. Parasitol., **63**, 950-952 (1977).

Experimental Studies on Visceral Larva Migrans – Strain and Age Differences in Migratory Behavior of Larvae in Mice and its Implication to their Immune Capacity

Tsutomu Koizumi, institute for Experimental Animals, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 –

J. Juzen Med. Soc., **95**, 213–221 (1986)

Key words: *Toxocara canis*, visceral larva migrans, mouse, strain difference, immunity

Abstract

To clarify the factors involved in the resistance or susceptibility to *Toxocara canis* in visceral larva migrans, the differences of age sex and strain in migratory behavior of *T. canis* larvae were examined using genetically defined mice. When time course of the recovery of larvae from the liver was examined after oral administration of 400 eggs of *T. cains*, the mean number of larvae reached a peak at 2 days and then decreased. Similar pattern was observed in all strains, ages and both sexes of mice. However, a marked difference between strains was observed in the decreasing rate of larvae yield from the peak point. Thus we compared the number of yielded larvae in the liver 6 days after the infection (referred as larval yield) and found that the mean larval yield in BALB/c or (BALB/c × NC) F_1 mice was significantly greater than that in NC or C57BL/6 mice. Although no significant sex difference in the larval yield was observed in any strain, a marked age difference was observed in a given strain; the larval yield was smaller in the young mice (3 to 5 weeks of age) than in the adult mice (8 weeks of age). The larval yield in athymic BALB/c-nude mice was significantly lower than that of their congenic partners. Furthermore, anti-lymphocyte antiserum or X-ray radiation treatments significantly reduced the larval yield in BALB/c mice. These data suggest that the migratory behavior of larvae from the liver to the other organs may be affected by the immune capacity of the host. To examine the possible involvement of the immune capacity in the age and strain differences of the larval yield, the delayed hypersensitivity to the larval antigen was tested on the mice. A higher response to the antigen was observed in the mice which showed the larger larval yield. From these results, it is suggested that the migration of larvae into the liver is affected by the genetic predisposition and the age of the host, which may be related to the immune capacity of the host.