

氏名 (本籍)	さいとう すひて 齋藤康秀 (神奈川県)
学位の種類	博士 (獣医学)
学位記番号	乙第317号
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題名	鶏回虫 <i>Ascaridia galli</i> 感染鶏の作出に関する研究 — 感染条件の検討と作出鶏の応用 —
論文審査委員	(主査) 教授 板垣 博 (副査) 教授 菅野 康則 (副査) 教授 阿部 又信

論文内容の要旨

鶏回虫 *Ascaridia galli* については多くの研究がなされ、その成果は Mozgovoi (1953) および Soulsby (1965) によって総括されている。しかしながら、それらの研究のほとんどは鶏回虫症の臨床面すなわち、宿主側からのものである。本線虫は虫体の大きさが実験に適當で、しかも宿主が鶏で入手および飼育が容易であることより、鳥類に寄生する線虫の実験モデルとして好適なものの一つである。鶏回虫をこの目的に用いるためには感染鶏を自由に作出できることが最低限必要であるが、本線虫の感染鶏を確実に作出する方法は確立されていない。すなわち、直接発育をする本線虫の幼虫形成卵を鶏に投与してもほとんどの場合、投与虫卵数に応じた成熟虫体が得られない。

本研究では、現在までに本線虫の寄生に影響すると報告され、また考えられる因子について、これらを宿主側、寄生虫側および生態学的要因に分けて検討し、簡便かつ確実な鶏回虫感染鶏作出法を確立することを目的とした。さらにその方法によって作出した感染鶏における鶏回虫の生態についてもあわせて検討した。

○感染に影響をおよぼす各因子の検討と人工感染鶏の作出

鶏回虫の寄生に影響をおよぼす因子のうち、宿主に起因するものとしては日齡、給与飼料の量および質、感染の時期、飼育温度および免疫状態を、寄生虫に起因するものとしては虫卵の培養および保存期間、虫卵の投与方法および投与数およびコクシジウムとの同時感染について検討した。一方、生態学的要因としては、土壌動物または昆虫の移動・集積宿主としての役割について検討した。なお、土壌動物または昆虫としては、ヤスデ類 (オビヤスデ *Epanerchodus* sp., フジヤスデ *Anaulaciulus pinetorum*, ツムギヤスデ *Japanosoma* sp., マクラギヤスデ *Niponia* sp., アカヤスデ *Nedyopus* sp. およびタマヤスデ *Hyeoglomeris* sp.), ミミズ類 (フツウミミズ *Pheretima communissima*, シマミミズ *Eisenia foetida*, フトミミズ *Pheretima hilgendorfi*), 等脚類 (オカダンゴムシ *Armadillidium vulgare*, ホソワラジウムシ *Metoponorthus pruinus* およびヒメハマトビムシ *Orchestia* sp.), 腹足類 (オナジマイマイ *Bradybaena similis*, ナミギセル *Stereophaedusa japonica* およびコハクガイ *Zonitoides* sp.) および昆虫 (クロゴキブリ *Periplaneta fuliginosa*, ゴミムシダマシ *Tenebrio* sp. およびオナガササキリ *Conocephalus gladius*) の計18種を用いた。

市販配合飼料を給与した雛の場合、幼虫形成卵投与後12および15日目の平均虫体回収率がそれぞれ56.6%および6.5%で、この間に寄生虫体の多くのものが糞便と共に排泄された。虫卵投与後、11および12日目の虫体回収率と投与虫卵数との相関係数は $r = 0.90$ で両者間には強い正の相関がみられた。しかしながら、成熟虫体数と投与幼虫形成卵数との間には相関は見られず、しかも無寄生および単数寄生のものが半数を占めていた。また、虫卵投与後12~15日の間に排泄された虫体の40%は形態学的に正常で、34%には運動性が見られたが、24時間以内に全てが死滅した。なお、このものは経口投与では雛への感染性が見られなかった。これらのことは、市販配合飼料給与雛に鶏回虫の幼虫形成卵を1回に投与したのでは寄生虫体数の揃った感染鶏を安定かつ確実に作出することが困難であることをしめしていた。

宿主側の要因としたもののうち鶏回虫感染との関係が否定されたものは感染の時期、免疫抑制剤の投与およびビタミンAを含む飼料中の脂溶性成分であった。一方、加齢、高い飼育温度、脱脂粉乳、魚粉、カルシウムの添加および市販配合飼料の給与は寄生を抑制した。しかしながら、低い飼育温度および飼料として穀物みの給与は寄生を促進した。なお、12日齢の雛を用いる場合には、穀物性飼料は幼虫形成卵の投与から15日間の給与で効果があった。

一方、寄生虫側の要因としたもののうちコクシジウムの同時感染は本線虫の寄生を促進しなかった。また、幼虫形成卵を6カ月以上室温に保存することと多数虫卵を1回に投与することは寄生を抑制する働きがあった。一方、少数卵の連続投与は寄生を促進した。

鶏回虫の移動・集積宿主として検討した18種の土壤動物または昆虫のうち陸産貝類以外では摂取された鶏回虫の幼虫形成卵のほとんどがその消化管内で孵化したが、ヤスデ類以外では遊離幼虫は短期間内に体外に排泄された。なお、陸産貝類では孵化した鶏回虫幼虫形成卵は極めて少数であった。一方、その可能性が報告されている本線虫伝播にはたすシマミズシの役割については否定された。すなわちシマミズシに摂取された鶏回虫の幼虫形成卵はその消化管内で孵化するが、幼虫は發育することなく5日目までに体外に排泄され、体内に長期間保持されなかった。このミズシ体外に排泄された幼虫の感染力は虫卵内幼虫と同じであるが、排泄された幼虫は2日以内に全てが死滅した。このようにシマミズシには鶏回虫の移動・集積宿主としての役目はなく、ヤスデ類以外の土壤動物と同様、むしろ結果的に本種虫卵を殺滅する作用すなわち環境浄化作用がみられた。

ヤスデ類に摂取された鶏回虫の幼虫形成卵はその消化管内で孵化し、幼若虫は腸管壁を穿孔した後、後腸起始部の体腔側に形成された宿主由来の嚢状物に包まれ、長期にわたって生存していた。ヤスデ体内のこれら幼虫の大きさには変化が見られたが、脱皮は確認されなかった。このようにヤスデ類が鶏回虫の集積・移動宿主となることが明らかになった。また、本線虫はヤスデを通過することによって宿主への感染力が増大した。さらに、野外で採取したヤスデを雛に投与したところ鶏回虫および鶏盲腸虫の成熟虫体が得られた。このことより実際に野外でもヤスデを介してこれらの線虫の感染が起っていることが確認された。

ヤスデ類が鶏回虫の集積・移動宿主となることが明らかになったが、実験的に寄生虫が感染した動物を作出する場合、中間宿主または移動・集積宿主となる動物を飼育管理することは作業量が多くなる不利がある。したがって、実験室内で本線虫の感染鶏を作出するには、可能ならばこれらの宿主を利用しない方が有利である。すなわち、本線虫の寄生を促進するものとして穀物のみから成る飼料の効果が確認されたので、実験室内で本線虫の感染鶏を作出するには12日齢の雛に幼虫形成後4カ月以内の虫卵を投与し、雛には虫卵の投

与から15日目までは基礎飼料（しいな米、粟および稗を重量比で2:1:1の割合で混合した穀物のみよりなる飼料）を、以後は抗蠕虫薬の添加されていない市販の配合飼料を給与する方法（基礎飼料—配合飼料転換給与）を利用すればよいことが判明した。なお、雛1羽当たり100~400個の鶏回虫幼虫形成卵を投与した場合、この飼育法を利用すれば投与虫卵数の10~74%、平均32%が成熟虫に发育するため、これに起因する腸閉塞が起り斃死することがある。したがって虫卵投与数を厳密に守る必要がある。

○基礎飼料—配合飼料転換給与によって作出した感染鶏における鶏回虫の性質

寄生部位、排卵数および虫体の排泄

人工感染させた鶏回虫の性状として、幼若虫および成熟虫の寄生部位、排卵数の日内変動、パテント・ピリオド中の虫卵および虫体の排泄について観察した。

鶏の十二指腸~肛門上1 cmまでの消化管を5等分して寄生部位について観察した場合、虫卵投与10~12日目の幼若虫は盲腸を除く消化管全域から回収された。虫体の腸管内の分布は中央部が最も多く、46%のものがこの部から回収され、最下部には極めて少数が見られたのみであった。また、成熟虫も同様の傾向であったが最下部からは回収されなかった。

排卵数の日内変動では排卵数が最低になるのは、寄生虫体数に関係なく午前5時であったが、最大になるのは寄生虫体数が多いほど遅延した。また、パテント・ピリオドにおける寄生虫体1匹当たりの総排卵数は寄生虫体数によって異なり、少数および多数の虫体が寄生した場合より、中等度の12匹が寄生した場合の方が多かった。しかしながら、排虫は寄生虫体数が多いほど遅延した。

○各发育段階の虫体に対するパーベンダゾールの駆虫効果

作出した人工感染鶏を使用した応用実験の一例として各发育段階の鶏回虫に対する広域駆虫薬パーベンダゾールの効果を観察した。

虫卵投与後15および18日目の投薬では59.6%および69.1%しか駆虫されなかった。この時期が幼虫の脱皮時に相当することより、脱皮中の虫体に対しては本剤の効果が充分ではないことが判明した。なお、これ以外の時期の投薬では92~100%の高い駆虫効果が得られ、パーベンダゾールの効果は虫体の齢によって異なることが明らかになった。自然感染または一定した感染が得られない従来の方法で感染した鶏では、異なる发育段階の虫体に対する抗蠕虫薬の作用の差異の検出は困難であり、これを明確に出来たことは、今回の感染鶏作出法が抗蠕虫薬の効果判定に極めて有用であることを示している。

論文審査の結果の要旨

鶏回虫 *Ascaridia galli* の研究は古くから行われているが、その多くは寄生虫病としてのものであり、生物学的な研究は必ずしも多くない。鶏回虫は世界各地に広く分布し、鶏に最も普通に見られる線虫のひとつであることから、駆虫剤の実験対象や寄生虫の生物学的研究のモデルとして用いられている。この場合、実験室で鶏回虫に感染した鶏を作り出す必要がある。しかし、人工的に感染鶏を作り出すことは必ずしも容易ではなく、感染要因は完全に明らかになっているわけではない。

この研究は、鶏回虫の感染要因を宿主側と寄生虫側さらに生態学的な面から明らかにし、これらの要因を

利用して実験室において簡便且つ確実に感染鶏を作出する方法を確立した。更にそのようにして作出した感染鶏を用いて鶏回虫の生態と発育を観察した。

この研究は次の3部からなる。

1. 鶏回虫の感染要因の検討と決定

鶏回虫の感染に及ぼす要因のうち、宿主に起因するものとしては、鶏の日齢、給与飼料の量及び質、感染の時期、感染鶏の飼育温度及び免疫状態などが考えられる。また、寄生虫側の要因としては虫卵の培養条件と保存期間、投与方法及び投与数、更に同時感染している寄生虫、特にコクシジウムとの関係について検討した。生態学的要因としては、移動・集積宿主としての土壤動物や昆虫類の役割について検討した。

1) 宿主側要因

感染に最も影響を与えたのは給与飼料の質であった。脱脂粉乳、魚粉、カルシウムを添加した飼料は鶏回虫の寄生を抑制し、穀類だけからなる飼料の給与は寄生を促進した。市販配合飼料を給与した雛の場合、幼虫形成卵投与後12及び15日目の平均虫体回収率がそれぞれ56.6%及び6.5%で、この間に幼虫の多くが糞便と共に排泄された。虫卵投与後、11および12日目の虫体回収率と投与虫卵数との間の相関係数は $r = 0.90$ で両者間には強い正の相関が見られたが、成熟虫体数と投与虫卵との間には相関は見られず、無寄生及び単数寄生の雛が半数を占めていた。また、虫卵投与後12—15日の間に排泄された虫体の40%は形態学的に正常で、更に34%には運動性が見られたが24時間以内にすべて死滅した。なお、この幼虫を経口投与した場合、雛への感染は見られなかった。これらのことは、市販配合飼料給与雛に鶏回虫の幼虫形成卵を1回投与したのでは寄生虫体数の揃った感染鶏を安定、かつ確実に作出することが困難であることを示していた。

飼料以外の宿主側の要因で鶏回虫感染との関係が肯定されたものは雛の年齢と飼育温度であった。高い飼育温度は寄生を抑制し、反対に低温飼育は促進した。雛の加齢、脱脂粉乳・魚粉・カルシウムの飼料への添加及び市販配合飼料の給与は寄生を抑制した。然しながら、穀類だけの給与は寄生を促進した。一方、関係が否定されたものは感染の時期、免疫抑制剤の投与及びビタミンAを含む飼料中の脂溶性成分の存在であった。

2) 寄生虫側要因

コクシジウムの同時感染は鶏回虫の寄生を促進しなかった。また、幼虫形成卵を6カ月以上室温に保存することと、多数の虫卵を一度に投与することは寄生を抑制する働きがあった。一方、少数の虫卵を連続して投与すると寄生が促進された。

3) 生態学的要因

鶏回虫の移動・集積宿主として検討された18種の土壤動物と昆虫は、ヤスデ類(オビヤスデ *Epanerchodus* sp., フジヤスデ *Anaulaciulus pinetorum*, ツムギヤスデ *Japanosoma* sp. 及びタマヤスデ *Hyeoglomeris* sp.) ミミズ類(フツウミミズ *Pheretima communissima*, シマミミズ *Eisenia foetida*, フトミミズ *Pheretima hilgendorfi*), 等脚類(オカダンゴムシ *Armadillidium vulgare*, ホソワラジウムシ *Metoponorthus pruinosis* 及びヒメハマトビムシ *Orchestia* sp.) 腹足類(オナジマイマイ *Bradybaena similis*, ナミギセル *Stereophaedusa japonica* 及びコハクガイ *Zonitoides* sp.) 及び昆虫(クロゴキブリ *Periplaneta fuliginosa*, ゴミムシダマシ *Tenebrio* sp. 及びオナガササキリ *Conocephalus gladi-*

iatu)であった。このうち陸産貝類以外では摂取された鶏回虫の幼虫形成卵のほとんどがその消化管内で孵化したが、ヤスデ類以外では遊離した幼虫は短期間で体外に排泄された。シマミズに摂取された鶏回虫の幼虫形成卵はその消化管内で孵化するが、幼虫は發育することなく5日目までに体外に排泄され、排泄された幼虫は2日以内にすべてが死滅した。したがってシマミズには鶏回虫の移動・集積宿主としての役目はなく、ヤスデ類以外の土壤動物と同様、結果的に鶏回虫卵を殺滅する作用、すなわち環境浄化作用が見られた。

一方、ヤスデ類に摂取された鶏回虫形成卵はその消化管内で孵化し、幼虫は腸管壁を穿孔した後、後腸起始部に形成された、嚢状物内で、長期にわたって生存した。このことからヤスデ類が鶏回虫の集積・移動宿主となることが明らかになった。また、鶏回虫はヤスデを通過することによって宿主への感染力が増大した。更に、野外で採取したヤスデを雛に投与したところ鶏回虫及び鶏盲腸虫の成熟虫体が得られた。このことから実際に野外でもヤスデを介して、これらの線虫の感染が起きていることが確認された。

2. 基礎飼料—配合飼料転換給与による鶏回虫感染鶏の作出

ヤスデ類が鶏回虫の移動・集積宿主となることが明らかになったが、実験感染鶏を作り出す場合、移動・集積宿主となる動物を実験室で飼育するには手間がかかる。したがって、実験室で感染鶏を作出するには、これらの宿主を利用しない方法が求められる。前述のように、穀物だけを給与すると鶏回虫の寄生が促進されることから、実験室で感染鶏を作出する方法として、12日齢の雛に幼虫形成後4カ月以内の虫卵を投与し、虫卵の投与から15日目までは基礎飼料（しいな米、粟、稗を重量比2:1:1で混合した飼料）を、それ以後は駆虫薬の添加されていない市販の配合飼料を給与する方法（基礎飼料—配合飼料転換給与）が最良であることが明らかになった。この場合、鶏回虫幼虫形成卵の投与数を雛1羽当たり100—400個とすると、投与虫卵の10—74%、平均32%が成熟虫に發育した。

3. 基礎飼料—配合飼料転換給与法で作出した鶏回虫感染鶏の利用

1) 鶏回虫の生態の解明

人工感染鶏を用いて、幼若虫及び成熟虫の寄生部位、排卵数の日内変動、パテント・ペリオド内の虫卵及び虫体の排泄状況を観察した。

感染鶏の十二指腸から肛門の上部1cmまでの消化管を5等分して各部位の寄生状況について観察した結果、虫卵投与10—12日目には幼若虫は盲腸を除く消化管全域から回収された。虫体は腸管中央部に最も多く、全虫体の46%がこの部位から回収され、最下部には極めて少数であった。成熟虫でも同様の傾向があり、最下部からは虫体が回収されなかった。

排出虫卵数の日内変動については、排出虫卵数が最小になるのは寄生虫体数に関係なく午前5時であったが、最大になるのは寄生虫体数が多いほど遅延した。また、パテント・ペリオド内における寄生虫1匹あたりの総排卵数は虫体数によって異なり、少数及び多数の虫体が寄生した場合より、中等度の12匹が寄生した場合の方が多かった。しかしながら、排虫は寄生虫体数が多いほど遅延した。

2) 各發育期の虫体にたいする駆虫薬の効果

各發育期の鶏回虫に対する広域駆虫剤（パーベンダゾール）の効果を観察した。パーベンダゾールは常用

量で92—100%の高い駆虫率を示すが、虫卵投与後15及び18日目の投薬では51.5%及び63.0%の虫体しか駆除されなかった。このことは、この時期が幼虫の脱皮時に相当することから、脱皮中の虫体にたいして本剤は効果が十分でないことを示し、駆虫薬の効果が虫体の齢によって異なることが明らかになった。このように、自然感染鶏を用いたのでは実験が困難な、異なる発育期の虫体にたいする駆虫薬の作用を、今回の人工感染鶏を用いることにより明かにできた。

以上のように、この研究は宿主側、寄生虫側及び生態学的な面から鶏回虫の感染要因を明らかにし、その結果から、飼料を転換給与する方法によって実験室で鶏回虫感染鶏を安定して作出することに成功した。また、この感染鶏が鶏回虫の発育や駆虫効果の実験に有用であることを示した。鶏回虫が寄生虫モデルとして駆虫薬の開発や生物学的な研究に用いられている現在、この研究は寄生虫学及び獣医学の分野で高く評価されるものであり、博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認める。