

フィラリア仔虫の生存期間に関する研究

岩 本 功

長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学部門 (主任: 片峰大助教授)

(Received for Publication August 22, 1972)

Studies on Survival Time of Microfilaria

Isao IWAMOTO

Department of parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

(Director: prof. Daisuke KATAMINE)

Abstract

For explanation of the mechanism of microfilarial periodicity, it is a basic problem to know the survival time of microfilaria in the host. Therefore, there have been reported several papers concerning the experimental investigations on it. Viewing these papers reported in the past, however, there is found a great difference in the survival times obtained by each investigator. This disagreement may due to the irrationality of procedural method employed in these studies. In the present study, the author attempts to discuss the longevity and viability of microfilaria in various conditions from the results obtained by using a new method originated by us.

When the heparinized blood containing microfilaria is maintained in a test-tube, living microfilariae swarm together near the boundary area between the blood plasma and the blood cell sediment. Microfilariae were isolated from there by pipett, removed to the various kind of media in the watch-glass and then incubated in the glass capillaries. Under microscope, the activity of each microfilaria was checked until all microfilariae died and the numbers were counted every 8 hours. When the commulative mortality was drawn on logarithmic scale, a straight regression line could be obtained. The theoretical mean survival time can be represented by the 50 per cent value of mortality on this

regression line. For this observation, microfilaria of *Dirofilaria immitis* and *Wuchereria bancrofti* were used and the total numbers in each group of the experiment were approximately 1,000-3,000.

First of all, the viability was tested at various temperatures and in various media such as distilled water, physiological saline solution, and the blood plasma of animals and human beings. When one compares the mortality curves given by different temperatures from 5°C to 37°C, it becomes clear that the survival time in vitro of microfilaria depends much on the temperature. Generally speaking, the survival time was longer in refrigerator at 5°C than at room temperature of 20°C, while it was significantly short at 37°C.

In physiological saline solution, the mean survival time of *D. immitis* microfilaria expressed by 50 per cent value was 216 hours at 5°C, 61 hours at 21°C, 9 hours at 37°C respectively, but in each group, the last microfilaria was remained alive for 426 hours, 352 hours and 48 hours after all others died out. The survival time was also influenced by the kind of media in which microfilariae were incubated, for example, the mean survival time of *D. immitis* microfilaria at room temperature was approximately 74 hours in distilled water, 61 hours in physiological saline solution and 216 hours in the rabbit blood plasma, and it was longest in the blood plasma of non-infected dogs as long as 254 hours. It was of interest to note that the blood plasma of infected dog tend to reduce the survival time of *D. immitis* microfilaria. The survival time of bancroftian type microfilaria in vitro as compared to that of dog heart worm was relatively short in any conditions, especially the viability was found markedly inhibited in the blood plasma of animals other than human being. This finding suggest that bancroftian filarial worm has the high specificity in adaptation to the host.

In order to see the longevity of microfilaria in vivo, the living microfilariae were transfused intravenously into fresh animals. In the dogs received intravenous transfusion of the blood containing about 950,000-5,700,000 microfilariae of *D. immitis*, the microfilaria continued the emigration into the peripheral circulation for a long time at least more than 50 days, showing a nocturnal sub-periodic fluctuation in the number. However, the microfilariae transfused into rabbits disappeared from the peripheral blood within 21 days, during which the periodicity was rather indistinct. On the other hand, it was noticed that *W. bancrofti* microfilaria could not be demonstrated in the blood streams of recipient dog and rabbit, even if a large number of the larvae were given. However, of the animals which were autopsied immediately after the transfusion, a moderate number of the living larva was usually recovered in the various organs such as the lung, liver and kidney.

緒 言

糸状虫の仔虫が宿主内でどの位生存し得るものかを明らかにすることは所謂マイクロフィラリアの定期出現性の機序を解明する上でもきわめて重要な事項である。それ故に古くは Manson (1912), Fülleborn (1912), Wellman (1912) をはじめ我国で望月 (1912), 北條 (1931), 村田 (1938) ほか多数の報告があり、夫々宿主体内での、或いは生体外での生存期間について観察を行っている。先づバンクロフト糸状虫の生体外での生存期間について望月 (1912) は腹水液中にたくわえられた仔虫が氷室内で 67 時間、37°C では 24 時間生きのびたことを記載している。竹下、奥田 (1925) は同じく生理食塩水中に保存すると 11°C ~ 15°C の条件下で 12 日間生きのびることを、北條 (1931) は脱繊維血液中で実験し、20°C で 7 日間、10°C では 19 日間生存するのを見ている。*D. immitis* の仔虫を用いた観察として吉村 (1914) は血清内に入れた仔虫が氷室内で 10 日、室温で 2 ~ 7 日間生存したことを報告し、村田 (1938) はクエン酸加血液内での生存期間は温度によって 24 時間から 261 時間にわたる大きな差異があることを認めている。最近 Taylor (1959) は *D. immitis*, *W. bancrofti*, *Loa loa* の仔虫を Tyrode 液の中に入れると 10 ~ 14 日間生存することを報告している。

動物体内に移注された仔虫の運命について古くは Fülleborn (1908) が既に正常犬に移注された *D. repens* が 2 年半にわたって末梢血内に生きた仔虫が

発見されることを報告している。その後吉村 (1914) は家兎の腹腔内に注入された *D. immitis* 仔虫は 15 日で末梢血液内に 4 週間で出現しはじめ 100 日以内に消失するが、内臓血管内では更に長期間生存しうることを主張している。村田 (1938) も *D. immitis* 仔虫を家兎と犬に移注し、28 日から 52 日間にわたって生きた仔虫を証明している。久米、大石 (1957) も *D. immitis* 仔虫は体内で少くとも 24 時間以上生存することは間違いないと考えている。一方 *W. bancrofti* については観察例がきわめて少ないが、横川によれば動物に移注しても末梢血内に出現をみず、北條 (1913) がマウスの腹腔内にバンクロフト仔虫を移注した実験では約 3 週間にわたり腹腔内で生存仔虫が認められるが、全期間を通じ末梢血内には出現していない。このように過去におけるこれらの成績を通覧すると、生体内外を問わず各研究者によって得られた生存期間は大きなひらきがある。仔虫の生存が環境によって大きな影響を受けることは事実であるが、同じ条件下の実験を行ったものでもその値は一定していない。このような事実は仔虫の寿命、生存期間を知ろうとする実験の方法や生存時間のあらわし方に一定の規準を欠くことにその原因の一つがあるように思われる。

著者は一部新しい方法を用いて実験を行い、仔虫の体外、体内に於ける寿命について追究を行ったのでその成績を報告したい。

体外での仔虫の生存期間

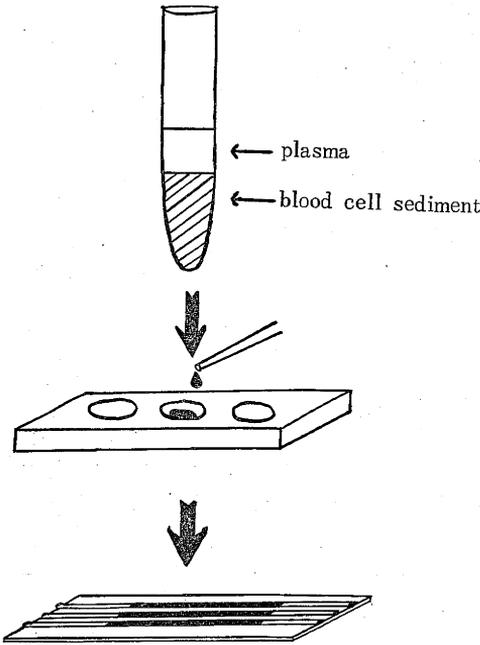
1) 実験材料と方法

実験には *Dirofilaria immitis* と *Wuchereria bancrofti* の 2 種の仔虫が用いられた。

生体外での生存期間をみるための仔虫を得るにはいづれも末梢血内に最も多く出現する午前 0 時前後に感染犬や仔虫保存者の静脈から約 3cc の血液を無菌的に採取し、ヘパリンを予め加えてあるスピッツグラスに入れて混和し約 2 時間放置すると血液は血球部分と血漿部分とに分れる。血中の仔虫は次第にこの二層の境界線に集ってくるのが確認される。メランジュールを用いてこの境界面から多数の仔虫を含む血漿を約 120cmm 吸い上げ、ホールグラスに移して実験に用いる色々の保存液と混和、直ちにその一定量をガラス毛細管 (主としてヘマトクリット管を用いる) 内に封入

する。この毛細管を数本まとめてスライドグラス上に「アダルライト」を用いて貼りつける。(第 1 図) このスライドグラスを水を入れたガラス容器の中にしずめ、顕微鏡下で光源をしばり乍ら 10 × 10 倍率で仔虫の算定と運動状況を観察する。顕微鏡下で振動その他の刺激を加えても動かなくなったものを死亡と判定して、時間と共に増加してゆくその数を 8 時間毎に算定、この観察を全仔虫が死亡するまで続行する。本実験ではこの毛細管内での仔虫の生存に及ぼす温度と保存液の影響について観察したが、5°C は冷蔵庫、20°C はテーパー低温恒温器、37°C は鞞卵器を用いて夫々温度を調節し観察を行った。又保存液の種類は注射用蒸留水、生理食塩水、正常家兎血漿、正常犬血漿、感染犬血漿及び仔虫保有者の血漿の 6 種類である。(第 1 図)

Fig. 1 Incubation of microfilariae into microtube.



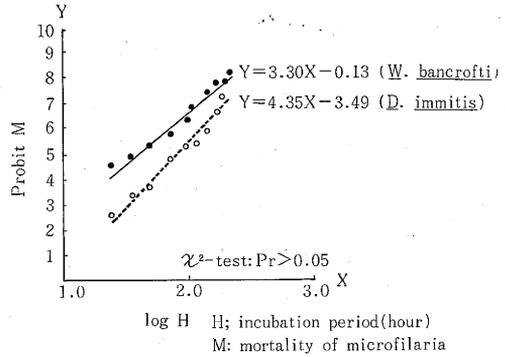
The whole blood separate into two layers. Microfilariae are isolated from the boundary area, and incubated into microtube with various media.

2) 仔虫死亡曲線

先ず20°Cの恒温のもとで犬糸状虫仔虫及びバンクロフト糸状虫仔虫を蒸留水の中に保存し、前述の方法でヘマトクリット管内に封入し、仔虫が時間と共に死んでゆく経過を追究した。第1表はそれぞれいくつかの仔虫群について得た成績である。紙面の都合で表にはその一部の数値しか記載していない。先ず犬糸状虫仔虫の総和1972隻についてみると、封入後死亡仔虫が最初にあらわれたのは24時間目で20隻、1.01%でその後死亡率は次第に増加して72時間目には45.74%、160時間目でその率は90%を越える。最後の数隻が死亡したのは216時間目である。

バンクロフト糸状虫仔虫1991隻について同様な観察を行うと、最も長く生きたのは200時間前で前者とあまり違いがない。しかし大部分の仔虫が死んでゆく経過は前者と比べて速かで、8時間で9.89%、24時間で32.89%、32時間で44.29%が死亡し、96時間でその率は90%を越えている。この死亡率を横軸に時間、縦軸に死亡率をとってグラフを画くと、夫々の死亡曲線が得られる。これをみると、いずれの場合でもごく少数の仔虫が例外的に長時間生きのび、これが100%死亡時

Fig. 2 Cummulative mortality rate of microfilaria in distilled water, 20°C.



間として表わされる。このグラフで横軸に対数、縦軸にプロビット変換を行ってみると、第2図に示すように夫々の値はよく直線上に乗り夫々犬糸状虫仔虫では $Y = 4.35X - 3.49$ 、バンクロフト糸状虫仔虫では $Y = 3.30X - 0.13$ の式であらわされる回帰線を得ることが出来る。これを χ^2 -testを行うといずれも0.05%の有意水準でこの式を満足するものと判定される。これは仔虫の死亡は時間の対数値と一定の関係があることを示している。この回帰線から50%死亡率を求めると、夫々犬糸状虫仔虫74時間、バンクロフト糸状虫仔虫35時間という値が得られる。これは最も多数の仔虫がこの時間の前後に死亡することを意味するもので夫々の種の仔虫のそれぞれの条件下での寿命を代表するものと考えられる。(第1表、第2図)

3) 温度の影響

犬糸状虫とバンクロフト糸状虫の仔虫を生理食塩水中にたくわえ、環境温度を5°C、20°C、37°Cにおいて仔虫の生存の様態を観察した。夫々得られた仔虫死亡曲線は第3、4図、第2表に示してあるが、いずれも環境の温度によって仔虫の生存期間が著しく影響をうけることが明かである。

犬糸状虫の場合、37°Cのもとで仔虫が死亡して行くテンポがきわめて速やかで、封入直後から仔虫の運動がよわり、8時間目で1794隻のうち既に43.0%が死亡し、48時間目になると全仔虫の死亡が確認される。20°Cの場合はこれよりゆるやかであるが、24時間目に4.9%、40時間に21.1%が死亡し、全仔虫が死亡したのは352時間である。5°Cでは仔虫の生存時間は最も長く、最後の数隻は426時間生きのびている。最初の24時間で0.04%、120時間で10.0%と死亡率はゆるやかに増加し、概ね216時間から224時間で約半数が死亡している。得られた回帰線から50%死亡時間を求めてみると、その値は37°Cで9時間、20°Cで61時間、5°Cで216時間と

Table 1. Mortality of microfilariae incubated in distilled water at 20°C according to lapse of time.

1. *D. immitis*

No. of Exp.	No. of mf. tested	Incubation period (hrs)														
		8	16	24	40	56	72	88	104	120	136	152	176	184	196	216
1	225	0	0	0	42	54	141	149	158	160	180	209	225			
2	222	0	0	0	45	57	147	165	165	167	183	195	220	222		
3	252	0	0	0	12	45	189	228	228	230	237	249	250	252		
4	449	0	0	20	37	60	163	264	275	280	315	336	423	431	449	
5	307	0	0	0	18	25	141	195	203	221	288	297	301	301	304	307
6	517	0	0	0	13	36	121	180	212	251	324	364	491	508	517	
Total	1972	0	0	20	167	277	902	1181	1241	1309	1527	1650	1910	1939	1969	1972
				(1.0)	(8.4)	(14.0)	(45.7)	(59.8)	(62.9)	(66.3)	(77.4)	(83.6)	(96.8)	(98.2)	(99.8)	(100.0)

() : mortality

2. *W bancrofti*

No. of Exp.	No. of mf. tested	Incubation period (hrs)													
		8	16	24	40	56	72	88	104	120	136	152	168	192	200
1	990	117	267	349	549	650	745	851	933	968	979	989	990		
2	764	66	171	220	441	533	599	659	698	723	752	756	760	760	764
3	237	14	71	86	178	212	222	234	235	236	236	236	236	237	
Total	1991	197	509	655	1168	1395	1566	1744	1866	1927	1967	1981	1986	1987	1991
		(9.8)	(25.5)	(32.8)	(58.6)	(70.0)	(78.6)	(87.5)	(93.7)	(96.7)	(98.7)	(99.4)	(99.7)	(99.7)	(100.0)

() : mortality

Fig. 3 Mortality curve of microfilariae of *D. immitis* in physiological saline solution under the various temperature.

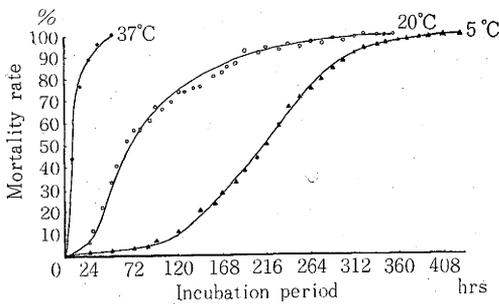


Fig. 4 Mortality curve of microfilariae of *W. bancrofti* in physiological saline solution under the various temperature.

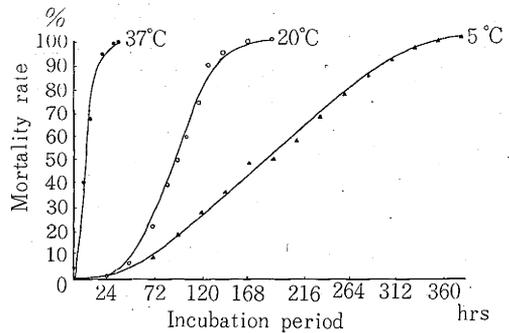


Table 2 Influence of temperature on survival time of microfilariae

1. *D. immitis*

Temperature	No. of mf. tested	Incubation period(hrs)														
		8	16	24	40	56	72	88	104	120	136	152	168			
37°C	1794	773 (43.0)	1377 (76.7)	1594 (88.8)	1785 (99.4)											
20°C	1316	0	0	65 (4.9)	278 (21.1)	538 (40.8)	745 (56.6)	837 (63.6)	901 (68.4)	963 (73.1)	991 (75.3)	1038 (78.5)	1102 (83.7)			
5°C	2004	0	1 (0.04)	1	21 (1.0)	29 (1.4)	51 (2.5)	93 (4.8)	130 (6.4)	202 (10.0)	338 (16.8)	444 (22.1)	548 (27.3)			
Temperature tested		Incubation period(hrs)														
37°C	1794	184	192	200	216	232	248	264	280	296	312	352	426			
20°C	1316	1178 (89.5)	1220 (92.7)	1236 (93.9)	1848 (94.8)	1253 (95.2)	1363 (95.9)	1276 (96.9)	1290 (98.0)	1295 (98.4)	1322 (98.9)	1316 (100.0)				
5°C	2004	704 (35.1)	773 (38.5)	838 (41.8)	1002 (50.0)	1271 (63.4)	1413 (70.5)	1521 (75.8)	1656 (82.6)	1744 (87.0)	1862 (92.9)	1948 (97.2)	2004 (100.0)			

2. *W. bancrofti*

Temperature	No. of mf. tested	Incubation period(hrs)														
		8	16	24	40	56	72	88	104	120	136	152	168			
37°C	1099	431 (39.2)	767 (69.7)	1044 (94.9)	1099 (100.0)											
20°C	1305	0	0	1 (0.5)	23 (1.7)	101 (7.7)	278 (21.3)	524 (40.1)	669 (58.9)	955 (73.1)	1129 (86.5)	1284 (98.3)	1301 (99.6)			
5°C	1961	0	0	36 (1.8)	68 (3.4)	115 (5.8)	189 (9.6)	303 (15.4)	421 (21.4)	537 (27.3)	639 (32.5)	765 (39.0)	890 (45.3)			
Temperature tested		Incubation period(hrs)														
37°C	1099	184	192	200	216	232	248	264	280	296	312	352	376			
20°C	1305	1303 (99.6)	1305 (100.0)													
5°C	1961	950 (48.4)	670 (49.6)	1011 (51.5)	1126 (57.4)	1238 (63.1)	1363 (69.5)	1505 (76.7)	1607 (81.9)	1691 (86.2)	1780 (90.7)	1919 (97.8)	1961 (100.0)			

() : mortality rate

Table 3 Comparison of viability of microfilariae in various kind of media.

1. *D. immitis*

Incubation period (hrs)	8	16	24	40	56	72	88	104	120	136	152	168	184
Cumulative number of died microfilariae													
Kinds of media	No. of mf. tested												
Distilled water	0	0	20 (1.01)	167 (8.46)	277 (14.04)	902 (45.74)	1181 (59.88)	1241 (62.93)	1309 (66.37)	1527 (77.43)	1650 (83.67)	1855 (84.06)	1949 (98.83)
Physiological saline solution	0	0	65 (4.93)	278 (21.12)	538 (40.88)	745 (56.61)	837 (68.46)	901 (73.17)	963 (75.30)	991 (75.30)	1038 (78.57)	1102 (83.73)	1178 (89.51)
Blood plasma	0	0	0	24 (1.15)	89 (4.29)	228 (10.99)	375 (18.08)	532 (25.65)	647 (31.19)	785 (37.84)	894 (43.10)	1040 (50.14)	1180 (56.89)
Uninfected man	0	0	0	9 (0.34)	79 (3.06)	162 (6.27)	286 (11.08)	357 (13.83)	459 (17.79)	568 (22.01)	625 (24.22)	861 (33.37)	1004 (38.91)
Uninfected rabbit	0	0	0	0	9 (0.93)	21 (0.91)	42 (1.82)	142 (6.17)	192 (8.34)	304 (13.21)	406 (17.65)	457 (19.86)	690 (30.00)
Uninfected dog	0	0	0	0	9 (0.6)	21 (1.6)	59 (4.5)	108 (8.3)	123 (9.4)	178 (13.7)	216 (16.6)	253 (19.4)	376 (28.9)
Infected dog 1.	0	0	0	0	0	32 (2.6)	104 (8.6)	335 (27.7)	625 (45.6)	775 (64.2)	860 (71.3)	927 (76.8)	1018 (84.4)
dog 2.	0	0	0	0	0	8 (0.4)	190 (10.9)	606 (34.9)	703 (40.5)	809 (46.7)	863 (49.8)	1047 (60.4)	1273 (73.4)
dog 3.	1732	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Incubation period (hrs)	192	200	216	232	248	264	280	296	312	328			
Cumulative number of died microfilariae													
Kinds of media	No. of mf. tested												
Distilled water	1972	1958 (99.29)	1969 (99.84)	1972 (100.00)	1253	1263	1276	1290	1295	1302	1306	→1316 (352 hrs)	
Physiological saline solution	1316	1220 (92.70)	1236 (93.92)	1248 (94.83)	1253 (95.21)	1263 (95.97)	1276 (96.96)	1290 (98.02)	1295 (98.40)	1302 (98.93)	1306 (99.24)	→1316 (534 hrs)	
Blood plasma	2074	1216 (58.63)	1270 (61.23)	1338 (64.51)	1437 (69.26)	1504 (72.51)	1605 (77.43)	1687 (81.34)	1735 (83.65)	1803 (86.93)	1853 (89.24)	→2074 (534 hrs)	
Uninfected man	2580	1047 (40.58)	1062 (41.16)	1301 (50.42)	1638 (64.48)	1793 (69.49)	2076 (80.46)	2300 (89.14)	2341 (90.73)	2380 (92.24)	2437 (94.45)	→2580 (480 hrs)	
Uninfected rabbit	2300	745 (32.39)	786 (34.17)	879 (38.21)	1010 (43.91)	1088 (47.30)	1224 (53.21)	1347 (58.56)	1474 (64.08)	1714 (74.52)	1901 (82.65)	→2300 (440 hrs)	
Uninfected dog	1299	498 (38.3)	525 (40.4)	702 (54.0)	934 (71.9)	1028 (79.1)	1083 (83.3)	1201 (92.4)	1266 (97.4)	1299 (100.0)			
Infected dog 1.	1206	1024 (84.9)	1033 (85.6)	1061 (87.9)	1079 (84.4)	1116 (92.5)	1152 (95.5)	1180 (97.8)	1194 (99.0)	1201 (99.5)	1205 (100.0)		
dog 2.	1281	1281 (100.0)	1290 (100.0)	1312 (102.4)	1345 (104.9)	1359 (105.9)	1370 (106.9)	1386 (107.8)	1400 (109.0)	1434 (111.9)	1448 (112.9)	→1732 (624 hrs)	
dog 3.	1732	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)	1732 (100.0)

() : mortality rate

2. *W. bancrofti*

Incubation period (hrs)	Cumulative number of died microfilariae																																																																																																																																																								
	8	16	24	40	56	72	88	104	120	136	152	168																																																																																																																																													
Kinds of media	No. of inf. tested	1991	1986 (99.7)	1687 (99.7)	1991 (100.0)	1168 (58.6)	1395 (70.0)	1566 (78.6)	1744 (87.5)	1866 (93.7)	1972 (96.7)	1967 (98.7)	1981 (99.4)	1986 (99.7)																																																																																																																																											
															Physiological saline solution	1305	1303 (99.8)	1305 (100.0)	1305 (100.0)	23 (1.7)	101 (7.7)	278 (21.3)	524 (40.1)	769 (58.9)	955 (73.1)	1129 (86.5)	1284 (98.3)	1301 (99.6)																																																																																																																													
																													Blood plasma	1058	1058 (99.8)	1058 (100.0)	5 (0.4)	82 (7.7)	133 (12.5)	329 (31.0)	1048 (99.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)																																																																																																															
																																											Uninfected dog	2170	1513 (69.7)	1522 (70.4)	1538 (70.8)	1635 (75.3)	1753 (80.7)	1839 (84.7)	1927 (88.8)	2002 (92.25)	2031 (93.5)	2051 (94.5)	2099 (96.7)	2123 (97.8)																																																																																																	
																																																									Infected dog	1935	1921 (99.2)	1935 (100.0)	18 (0.9)	56 (2.9)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)	1018 (95.3)																																																																																			
																																																																							Uninfected rabbit	1068	1068 (99.8)	1068 (100.0)	2 (0.1)	18 (1.6)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)	1018 (95.3)																																																																					
																																																																																					Infected man	3215	126 (3.9)	553 (17.2)	1321 (41.1)	2684 (83.5)	2807 (87.3)	2848 (88.6)	2871 (89.3)	2913 (90.6)	2926 (91.0)	2951 (91.8)	2999 (93.3)	3025 (94.1)																																																							
																																																																																																			1. man	1730	21 (1.2)	81 (4.6)	210 (12.1)	1035 (59.8)	1277 (73.8)	1488 (80.2)	1488 (86.0)	1517 (87.5)	1536 (88.7)	1566 (90.5)	1590 (91.9)	1605 (92.8)																																									
																																																																																																																	2. man	2974	0 (0.2)	6 (0.2)	220 (7.4)	423 (14.4)	1713 (57.6)	1856 (62.4)	1972 (66.3)	2210 (74.3)	2311 (77.7)	2382 (80.1)	2504 (84.2)	2528 (85.0)																											
																																																																																																																															3. man	184	192	200	216	232	284	264	288	336	360	368	432														
																																																																																																																																												Inoculation period (hrs)	184	192	200	216	232	284	264	288	336	360	368	432	
																																																																																																																																																									Kinds of media
Distilled water	1991	1986 (99.7)	1687 (99.7)	1991 (100.0)	1168 (58.6)	1395 (70.0)	1566 (78.6)	1744 (87.5)	1866 (93.7)	1972 (96.7)	1967 (98.7)	1981 (99.4)	1986 (99.7)																																																																																																																																												
														Physiological saline solution	1305	1303 (99.8)	1305 (100.0)	1305 (100.0)	23 (1.7)	101 (7.7)	278 (21.3)	524 (40.1)	769 (58.9)	955 (73.1)	1129 (86.5)	1284 (98.3)	1301 (99.6)																																																																																																																														
																												Blood plasma	1058	1058 (99.8)	1058 (100.0)	5 (0.4)	82 (7.7)	133 (12.5)	329 (31.0)	1048 (99.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)																																																																																																																
																																										Uninfected dog	2170	1513 (69.7)	1522 (70.4)	1538 (70.8)	1635 (75.3)	1753 (80.7)	1839 (84.7)	1927 (88.8)	2002 (92.25)	2031 (93.5)	2051 (94.5)	2099 (96.7)	2123 (97.8)																																																																																																		
																																																								Infected dog	1935	1921 (99.2)	1935 (100.0)	18 (0.9)	56 (2.9)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)	1018 (95.3)																																																																																				
																																																																						Uninfected rabbit	1068	1068 (99.8)	1068 (100.0)	2 (0.1)	18 (1.6)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)	1018 (95.3)																																																																						
																																																																																				Infected man	3215	126 (3.9)	553 (17.2)	1321 (41.1)	2684 (83.5)	2807 (87.3)	2848 (88.6)	2871 (89.3)	2913 (90.6)	2926 (91.0)	2951 (91.8)	2999 (93.3)	3025 (94.1)																																																								
																																																																																																		1. man	1730	21 (1.2)	81 (4.6)	210 (12.1)	1035 (59.8)	1277 (73.8)	1488 (80.2)	1488 (86.0)	1517 (87.5)	1536 (88.7)	1566 (90.5)	1590 (91.9)	1605 (92.8)																																										
																																																																																																																2. man	2974	0 (0.2)	6 (0.2)	220 (7.4)	423 (14.4)	1713 (57.6)	1856 (62.4)	1972 (66.3)	2210 (74.3)	2311 (77.7)	2382 (80.1)	2504 (84.2)	2528 (85.0)																												
																																																																																																																														3. man	184	192	200	216	232	284	264	288	336	360	368	432															
																																																																																																																																											Inoculation period (hrs)	184	192	200	216	232	284	264	288	336	360	368	432		
																																																																																																																																																								Kinds of media	No. of inf. tested
Distilled water	1991	1986 (99.7)	1687 (99.7)	1991 (100.0)	1168 (58.6)	1395 (70.0)	1566 (78.6)	1744 (87.5)	1866 (93.7)	1972 (96.7)	1967 (98.7)	1981 (99.4)	1986 (99.7)																																																																																																																																												
														Physiological saline solution	1305	1303 (99.8)	1305 (100.0)	1305 (100.0)	23 (1.7)	101 (7.7)	278 (21.3)	524 (40.1)	769 (58.9)	955 (73.1)	1129 (86.5)	1284 (98.3)	1301 (99.6)																																																																																																																														
																												Blood plasma	1058	1058 (99.8)	1058 (100.0)	5 (0.4)	82 (7.7)	133 (12.5)	329 (31.0)	1048 (99.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)																																																																																																																
																																										Uninfected dog	2170	1513 (69.7)	1522 (70.4)	1538 (70.8)	1635 (75.3)	1753 (80.7)	1839 (84.7)	1927 (88.8)	2002 (92.25)	2031 (93.5)	2051 (94.5)	2099 (96.7)	2123 (97.8)																																																																																																		
																																																								Infected dog	1935	1921 (99.2)	1935 (100.0)	18 (0.9)	56 (2.9)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)	1018 (95.3)																																																																																				
																																																																						Uninfected rabbit	1063	1034 (96.8)	1043 (97.6)	1046 (97.9)	1030 (98.7)	1055 (98.7)	1059 (99.1)	1062 (99.4)	1065 (99.8)	1067 (99.9)	1067 (99.9)	1068 (100.0)																																																																							
																																																																																			Uninfected man	3215	3054 (95.0)	3089 (96.1)	3122 (97.1)	3144 (97.8)	3166 (98.5)	3192 (99.3)	3202 (99.6)	3215 (100.0)	3215 (100.0)	3215 (100.0)	3215 (100.0)																																																										
																																																																																																1. man	1730	1646 (95.1)	1655 (95.6)	1662 (96.0)	1675 (96.8)	1688 (97.5)	1702 (98.3)	1718 (98.7)	1718 (99.3)	1728 (99.8)	1730 (100.0)	1730 (100.0)																																													
																																																																																																													2. man	2974	2357 (85.3)	2365 (86.2)	2357 (86.9)	2620 (88.1)	2629 (88.4)	2647 (89.0)	2659 (89.4)	2659 (89.4)	2659 (89.4)	2659 (89.4)	2659 (89.4)																																
																																																																																																																										3. man	184	192	200	216	232	284	264	288	336	360	368	432																			
																																																																																																																																							Inoculation period (hrs)	184	192	200	216	232	284	264	288	336	360	368	432						
																																																																																																																																																				Kinds of media	No. of inf. tested	1991	1986 (99.7)	1687 (99.7)	1991 (100.0)
Distilled water	1991	1986 (99.7)	1687 (99.7)	1991 (100.0)	1168 (58.6)	1395 (70.0)	1566 (78.6)	1744 (87.5)	1866 (93.7)	1972 (96.7)	1967 (98.7)	1981 (99.4)	1986 (99.7)																																																																																																																																												
														Physiological saline solution	1305	1303 (99.8)	1305 (100.0)	1305 (100.0)	23 (1.7)	101 (7.7)	278 (21.3)	524 (40.1)	769 (58.9)	955 (73.1)	1129 (86.5)	1284 (98.3)	1301 (99.6)																																																																																																																														
																												Blood plasma	1058	1058 (99.8)	1058 (100.0)	5 (0.4)	82 (7.7)	133 (12.5)	329 (31.0)	1048 (99.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)	1058 (100.0)																																																																																																																
																																										Uninfected dog	2170	1513 (69.7)	1522 (70.4)	1538 (70.8)	1635 (75.3)	1753 (80.7)	1839 (84.7)	1927 (88.8)	2002 (92.25)	2031 (93.5)	2051 (94.5)	2099 (96.7)	2123 (97.8)																																																																																																		
																																																								Infected dog	1935	1921 (99.2)	1935 (100.0)	18 (0.9)	56 (2.9)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)	1018 (95.3)																																																																																				
																																																																						Uninfected rabbit	1068	1068 (99.8)	1068 (100.0)	2 (0.1)	18 (1.6)	199 (18.6)	447 (41.8)	876 (82.0)	936 (87.6)	945 (88.6)	981 (91.8)	998 (93.4)																																																																							
																																																																																			Infected man	3215	126 (3.9)	553 (17.2)	1321 (41.1)	2684 (83.5)	2807 (87.3)	2848 (88.6)	2871 (89.3)	2913 (90.6)	2926 (91.0)	2951 (91.8)	2999 (93.3)																																																										
																																																																																																1. man	1730	21 (1.2)	81 (4.6)	210 (12.1)	1035 (59.8)	1277 (73.8)	1488 (80.2)	1488 (86.0)	1517 (87.5)	1536 (88.7)	1566 (90.5)	1590 (91.9)																																													
																																																																																																													2. man	2974	0 (0.2)	6 (0.2)	220 (7.4)	423 (14.4)	1713 (57.6)	1856 (62.4)	1972 (66.3)	2210 (74.3)	2311 (77.7)	2382 (80.1)	2504 (84.2)																																
																																																																																																																										3. man	184																														

なる。同様の観察をバンクロフト糸状虫仔虫群1099～1961隻について行ってみると犬糸状虫の場合と略同様な成績が得られ、夫々最長の生存時間は37°Cで40時間、20°Cで192時間、5°Cで375時間である。又50%死亡時間は7時間、96時間、194時間と算定される。

以上のように体外での仔虫の生存時間は環境温度に強く支配され、低温にて長く、体外では37°Cという高温は仔虫の生存に不適であることが窺われる。又バンクロフト糸状虫仔虫は犬糸状虫仔虫に比べて一般に体外での生存時間が低い。(第2表, 第3, 4図)

4) 保存液の影響

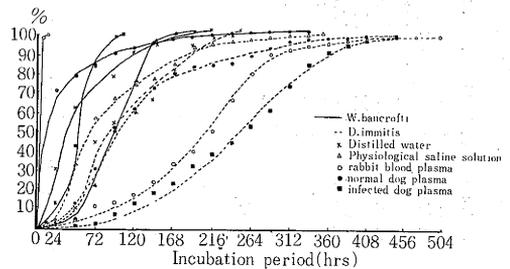
20°Cの恒温のもとで保存液の違いによる仔虫の生存時間の差異を観察した。その成績は第3表, 第5図に示してあるが、犬糸状虫仔虫の場合には蒸留水, 生食水でその寿命は最も短く, 50%死亡時間, 100%死亡時間は夫々72時間, 216時間及び62時間, 352時間となっている。これに比べると動物の血漿の場合には一般に長く, 特に50%値であらわした平均寿命は正常犬血漿では254時間, 全部が死亡するのは440時間を要している。家兎血漿でも216時間, 480時間でこれに匹敵し, 正常人血漿でも169時間, 100%死亡には534時間を要し, 比較的長く生存する。

バンクロフト糸状虫仔虫ではいつれの保存液の中でも犬糸状虫仔虫のそれと比べると, 生存時間が短い。そのうちで正常人血漿と生理食塩水で仔虫の死亡の速度がゆるやかで最も長い生存時間を維持することが出来る。前者では50%が75時間, 最後の一隻が368時間, 後者では夫々96時間, 192時間生きのびている。しかし他の保存液では封入後早い時期から死亡する仔虫が出現し, その数が急激に増加する。例えば家兎血漿では

封入後8時間目で1935隻のうち99.2%が既に死亡し, 16時間目には生きた仔虫はみられない。感染犬血漿では8時間目に約70%が死亡し, 50%死亡時間は6時間である。115時間で99%以上が死亡している。正常犬血漿でも50%値54時間, 104時間で全数が死亡している。これらの生存時間はどちらかと言えば生理食塩水や蒸留水でのそれよりも短く, バンクロフト糸状虫仔虫は人以外の動物の血漿の中ではかえってその生存が障碍されることが窺われる。

次に犬糸状虫仔虫とバンクロフト糸状虫仔虫を夫々の感染犬及び感染者の血漿中に封入した場合の生存期間についてみると(第3表), 夫々3例づゝの観察で50%平均寿命は犬糸状虫仔虫で97時間から208時間, バンクロフト糸状虫仔虫では26時間から52時間, 全仔虫が死亡する時間は夫々312—624時間, 288—504時間とかなりの開きがあるが, 50%値であらわされる平均寿命はそれぞれ対応の正常宿主血漿の場合と比べて短縮しているのが窺われる。

Fig. 5 Mortality curve of microfilariae in various media at 20°C.



動物体内での糸状虫仔虫の生存期間

1) 実験方法と材料

犬糸状虫, バンクロフト糸状虫仔虫を含む宿主血液を採血後直ちに正常犬及び家兎に移注する。この場合, 犬では外側伏在静脈, 家兎では耳静脈から移注を行ったが, 移注は数回にわけて少量ずつ徐々に行われた。バンクロフト仔虫の移注に関連して正常犬のほか一部脾臓摘出犬を用いて実験を行った。末梢血内の仔虫数は2時間毎に24時間採血を行い, その総和で表わした。更に門脈, 心臓血及び内臓の血液についても仔虫の検索を行った。

2) 犬糸状虫仔虫の正常動物への移注実験

仔虫陽性犬より得られた多数の仔虫を含む血液を犬4頭, 家兎3匹に注入し, 末梢血中にあらわれる仔虫の消長を仔虫が消失するまで3—7日の間隔で観察した。その成績は第6図に示してある。

移注犬第1号: 体重3Kg, 輸血量55cc, 推定移注総仔虫数600万隻, 移注直後から24時間に末梢血に出現した仔虫数(24×60cmm)は766隻, 4日目には仔虫数は2087に増加, 其の後漸次減少して71日目に841隻, 89日目に894隻, 93日目に510隻と多少の増減を示し乍ら次第に減少, 160日目に末梢血から消失その後は出現していない。

移注犬第2号：体重3kg，輸血量60cc，推定移注仔虫数570万隻，末梢血内出現仔虫数は輸注当日1237隻，7日目1531隻で殆んど減少をみていないがその後64日目618隻，111日目112隻と次第に減少し，162日で血中より消失している。

移注犬第3号：体重約2.5kg，輸血量55cc，推定移注仔虫数92万隻，最初の出現仔虫数約744隻，9日目には1061隻に増加，その後7日毎に仔虫数の算定を行ってゆくと，23日761隻で大差がない。それ以降急激に減少して37日目に317隻，50日目には3隻に減少，57日目には末梢血より消失している。

移注犬第4号：体重約3kg，推定仔虫移注数150万隻，この例では出現仔虫数は当日308隻と少ないが，4日目約400隻と一時増加し乍ら28日目218隻，40日目124隻と減少し，93日目に末梢血から消失した。

移注犬第5号：体重約3kg，推定仔虫移注数87万隻，この例は移注仔虫が最も少なく，当日の出現仔虫数は594隻，4日目534隻，11日目に再び590隻と回復しているが，28日目には211隻と減少し，40日目には末梢血から消失している。このように移注された仔虫が末梢血から消失するまでの期間は症例により異なるが，一般的に言って移注仔虫数の多いもの程末梢血内に出現する期間が長い。一方犬糸状虫を非固有宿主で

ある家兎に移注したものが3例あるが，いずれも移注後20日ないし40日で末梢血から消失している。ことにその第1例は推定822万隻の多数の仔虫が移注された例で，移注直後には1479隻を算えたものが速やかに減少して20日で消失している。また，犬への移注例ではいずれも移注直後より十数日ないし数十日にわたって推定した仔虫数を維持し，中にはその間にかえて増加が見られることさえあるが家兎の場合は直線的に減少するのが特長である。このように動物体に移注された仔虫の生存期間，少なくとも末梢血に出現して来る期間は動物によって大きなひらきがあり，非固有宿主の場合には格段に短縮される傾向がある。(第6図)

3) 移注された犬糸状虫仔虫の末梢血内への出現態度

上記7例の仔虫移注例について2時間毎に24時間にわたり60cmm中の仔虫数をグラフの上にprotして仔虫出現曲線を書いてみる。そのうちの4例を第7図に示した。

最初の2例は犬へ，次の2例は家兎の移注例である。第1例では移注当日から3日，16日，37日まで，第2例では夫々64日目，91日目，135日目まで仔虫曲線が画かれている。これを見ると概ね夜高く，昼に低い午後8時から24時にかけてピークを示す，所謂夜間出現性が最後まで維持されている。これに反して家兎に移注した第3，4例では移注後初日，7日目及び28日目の仔虫曲線が示してあるが，直後の24時間ではいずれも22時前後に最高値をもつ定型的の夜間出現性を示しているが，7日目になると曲線は平坦となりその後仔虫数の減少もともなって周期性が消失する傾向がみられる。

4) バンクロフト糸状虫仔虫の動物への移注実験

a) 正常犬3頭に仔虫陽性者から得た血液を採血直後注射して末梢血内への仔虫の出現及び減少消失の経過を観察した。第1号犬(体重3kg)，第2号犬(体重3kg)に仔虫陽性患者の血液30cc(推定仔虫数27,000隻)を採血直後外側伏在静脈より徐々に静注した。静注の経過中5cc毎に計6回及び全量注射後に夫々60cmmを耳朶より採血，仔虫を検索したが仔虫は発見出来なかった。この2頭の仔犬は人血注射終了後いずれもショック症状を呈し死亡し以後の追究が不可能であった。第3号犬(体重2.5kg)には予め門脈に静脈カテーテルを挿入しておき，50cc(推定仔虫数44,000隻)を静注した。仔虫検索のための採血は耳朶血のほかこのカテーテルより門脈血300cmmを採血して行った。仔虫は耳朶血から証明できず，わずかに50cc注射終了

Fig. 6 Emigration of microfilaria into peripheral blood of recipient dogs and rabbits after inoculation.

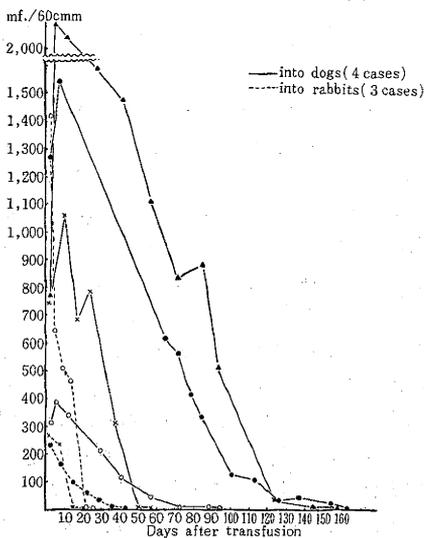
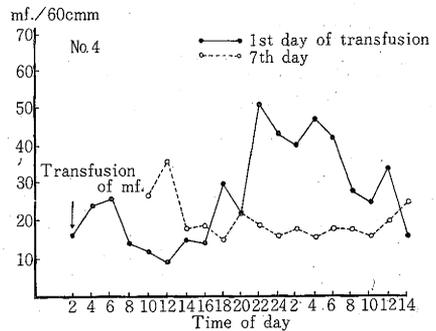
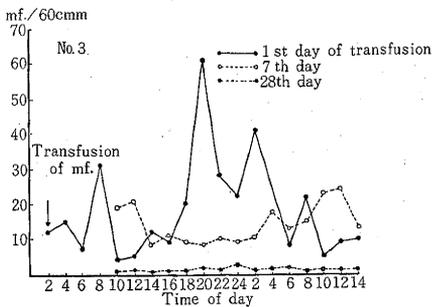
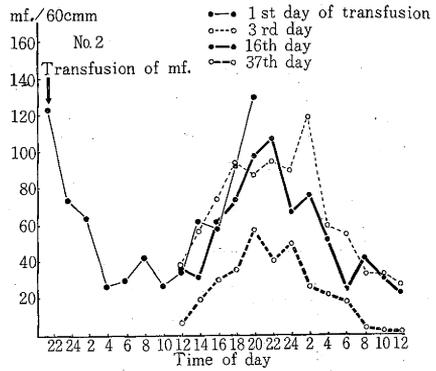
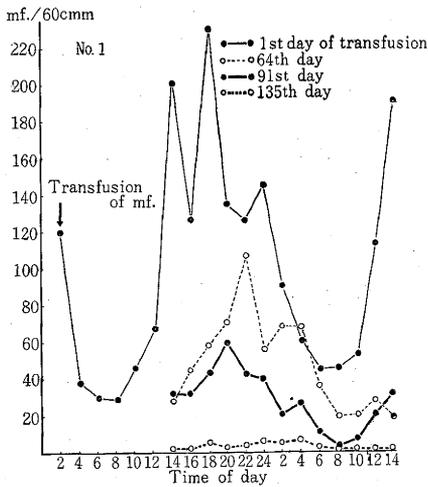


Fig. 7 24-hour rhythm of microfilaria of *D. immitis* inoculated into animals.



後2分に2隻の仔虫をみたのみである。尚本犬も第1、2号犬と同様30cc注射頃よりショック症状があらわれ、50cc全量の注射終了後、数分にて死亡し、その後の検索が出来なかった。同じくバンクロフト糸状虫仔虫を家兎へ移注した2例では体重2kgの正常家兎へ5cc及び10ccの人血で推定仔虫数2,000及び5,000を移注すると家兎は徐々に移注しているにもかかわらずショックにより死亡してしまい末梢血からの仔虫の証明も出来なかった。

b) 第4号犬(体重2.5kg)、第5号犬(体重3kg)は予め脾臓摘出を行ない夫々に50cc(44,000隻)、75cc(30,000隻)大腿静脈より移注し、前述の末梢血と門脈カテーテルより採血した。第4号犬は人血を輸血しても前述のようなショック症状をおこすこともなくよくこれに耐え、輸血終了後24時間生存した。末梢血には全経過を通じて仔虫が発見されていない。しかし輸

血終了直後と6時間目に300cmmの門脈血中にわずかに1隻ずつではあるが仔虫が認められた。75ccの大量輸血を行った第5号犬でもショック症状は少なく、全量輸血終了後、25分まで生存させることが出来た。尚本例では末梢血、門脈血検査のほか剖検を行ない、各臓器界面から湧出する血液についても仔虫検索を行った。末梢血からは前3者同様仔虫は証明されなかったが、門脈血300cmmの検索では移注終了後15分2隻、20分5隻、25分9隻の仔虫が発見され、死亡直後の内臓血では肺95隻、肝54隻、腎23隻及び左心室腔内血に227隻の多数の仔虫が証明された。

第5号犬(体重2kg)では予めCyclator P-typeを使用して開胸を行い、肺動静脈にカテーテルを挿入、しかる後20cc(仔虫数13,000隻)を輸血した。末梢血にはいぜんとして仔虫は証明されないが、肺動静脈血(300cmm)からは5cc輸血時13隻、29cc時に9隻、

終了前10分で27隻の仔虫がみられ、肺動脈では夫々5隻、23隻及び8隻が証明された。尚実験犬は輸血終了後15分で死亡し、その後の追究が出来なかった。

以上のようにバンクロフト糸状虫仔虫は非固有宿主に移注されても末梢血内には殆んど出現しない。犬で

は大量の人血の輸血を行なうとショック症状をおこし死亡するので長期間の観察は不可能であるが脾臓摘出犬を用いた実験で移注後まもない時期にはかなり多数の生きた仔虫が内臓血及び肺動静脈、心臓血などに蓄積されることが確認された。

総括と考察

著者は本論文について糸状虫仔虫の生存期間について2, 3の観察を行った。本来報告されている生存期間は不特定多数の仔虫を用い、その最大生存期間であらわしたものが多く、その値も一定せずまちまちのものが多く、著者はガラス毛細管に封入した一定数の仔虫が時間と共に死んでゆく経過を観察し、その値で仔虫死亡曲線を描くと、その経過は概ね時間の対数と直線的な関係があり、ごく一部の少数の仔虫のみが例外的に長く生きのびている。従って最長生存時間で表わすのは不合理であることがわかる。死亡率にプロビット変換を行うときれいな回帰線が得られるがその50%死亡率を求めてその仔虫群の理論的な平均寿命として代表させることを提議した。このように仔虫の生存期間の表わし方に一定の規準を設けることによって比較も可能になり、その解釈の混和も避けることが出来る。この方法を用いて色々の温度、保存液のもとでの生存期間や種による違いの比較を行ってみた。先づ5°Cから37°Cに至る温度で、蒸留水中で貯えられた犬糸状虫仔虫についてみると、その50%死亡時間は5°Cで216時間、20°Cで61時間、37°Cでは9時間となり体外での仔虫の寿命は温度にきわめて敏感に影響され、低温で長く、37°Cの温度では著明に短縮することが窺われる。バンクロフト仔虫でもこれと同じ傾向がみられるが、その値は194時間、96時間、及び7時間である。

又生存時間は保存液によって左右される。それをみると、犬糸状虫、バンクロフト糸状虫仔虫共に夫々個々の終宿主の血漿の中で最もその寿命は長く、蒸留水でもっとも劣っている。犬糸状虫では犬血漿のほかの家兎、人の血漿の中でも充分に生きのび犬血漿と大差ない寿命を維持することが出来る。しかし、バンクロフト糸状虫仔虫ではどの保存液でも一般に犬糸状虫のそれに比し短い。特に人以外の動物、たとえば家兎、犬の血漿ではその生存が強く抑制され、蒸留水より更にすみやかに死亡する。この知見はバンクロフト糸状虫が宿主適応性に於いて特異性が高いことを物語って

いる。次に兩種仔虫を夫々の感染宿主の血漿と組合せてみると、正常血漿の場合のそれと比べて一様に短縮し、しかもその生存期間は血漿により大きな差がみられる。このことは感染血漿は仔虫の生存に阻止的に働らくことが窺われる。

次に動物体内に移注された仔虫の運命とその生存期間であるが、多数の犬糸状虫仔虫を犬血液と共に注射した成績をみると仔虫は最位50日から最長170日にわたって末梢血内出現し、しかも80日から100日の間は殆んど安定した仔虫数が維持されている。移注仔虫数の多いもの程末梢血内に出現する仔虫数も多く、持続期間も長い。過去においてUnderwood(1939)は移注された犬糸状虫仔虫が2年以上にわたって出現することを述べているが、著者の場合も採血量を増加すれば少数の仔虫は更に長時間発見されるかもしれない。しかしこの期間に大部分が消失するものと考えられる。受血犬でも仔虫は夜に高く、昼に低い定型的な夜間出現性のリズムが殆んど最後まで認められる。これに反し、家兎に移注された場合には出現仔虫数も一般に少なく日を追って急激に減少し消失する。しかも犬の場合と異なって移注後7日もすると供血犬にみられた夜間出現性はほとんど完全に消失している。

このように仔虫の生存期間は非固有宿主では短縮する傾向がみられる。又仔虫の出現性が宿主となる動物の種類により影響をうけることは興味がある。

次に同じ要領にてバンクロフト糸状虫仔虫を犬と家兎に移注し、仔虫の運命をみているが、注射続行中、終了直後の数回の検血では遂に仔虫が発見出来ない。更に予めショックを予防するため脾臓摘出を行った犬を用いても末梢血からの仔虫の発見は出来なかったが門脈血に2~9隻が数回にわたって発見され、死後解剖を行った例では肺、肝、腎の割面の血液からきわめて多数の仔虫が証明され、ことに左心室腔内血に227隻の仔虫が発見された。又他の1例で肺動静脈にカテーテルを挿入して調べてみると、夫々36及至49隻が証明された。

このように動物に移注されたバンクロフト仔虫は大

量の移注を行っても末梢血内に出現することは稀である。しかし多数の生きた仔虫が内臓ことに肺、肝及び大血管に蓄積され更に長時間生きのびることが考えられる。バンクロフト仔虫が動物や人に移注された場合は末梢血になかなか発見出来ないことは既に Fülleborn (1929) や横川 (1939) も認めている。Fülleborn はその原因を仔虫の大きさ被鞘の有無に帰しているが、未解決の問題である。先の動物血漿を用いた実験を考え合せるとバンクロフト糸状虫仔虫は人以外の動物体内ではその生存が強く抑制されることが想像される。

摘

1) 体外での仔虫の死亡経過は時間の対数と関係があり、50%値 (MfMD₅₀) を求め、その仔虫群の平均生存時間とすることが出来る。

2) 仔虫の生存時間は 5°C で最も長く、37°C になると早く死亡する。

3) 夫々対応宿主の血漿内で最も長く生存するが、感染宿主血漿は抑制的に働く。

4) いかなる条件のもとでもバンクロフト仔虫は犬糸状虫のそれより生存時間が短く、人以外の動物血漿では早く死亡する。

5) 犬糸状虫仔虫は犬に移注されると長期にわたり

要

末梢血中に出現し、夜間出現性を最後まで維持する。家兎の場合はこれより速やかに消失し、早期より夜間出現性の乱れがみられる。

6) バンクロフト糸状虫仔虫は犬、家兎に移注を行っても末梢血内に出現せず、一部内臓や大血管に集積される。

本論文要旨の一部は第 21, 22 回日本寄生虫学会南日本支部大会 (1968, 1969) 及び第 38 回日本寄生虫学会総会において報告した。

稿を終るに当り、終始御指導、御校閲頂いた恩師片峰大助教授に深甚の謝意を表します。

文

1) **Augustine, D. L. and Drinker, C. K.** : The migration of microfilariae (*Dirofilaria immitis*) from the blood vessels to the lymphatics. *Trans. Roy Soc Trop. Med. & Hyg.*, **29**(3), 303-306 1935.

2) **Augustine, D. L., Field, M. E. and Drinker, C. K.** : Observations on living microfilaria immitis in the capillary circulation of bats. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **30**(2), 231-232, 1936.

3) **Augustine, D. L.** : Observations on Living "sheathed" microfilariae in the capillary circulation. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **31**(1), 55-60, 1937.

4) **阿部康他** : 糸状虫並びに糸状虫症に関する研究。バンクロフト糸状虫仔虫の形態学的並びに組織学的研究。鹿児島大学医学雑誌, **12**(3), 1098-1114, 1960.

5) **Drinker, C. K., Augustine, D. L., and Leigh, O. C.** : On filtration of microfilariae by

献

lymph nodes. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **29**(1), 51-58, 1935.

6) **Fülleborn, F.** : Beträge zur Biologie der Filarien. *Centralb. f. Bakt. I. originale*, **66**(24), 23-33, 1912.

7) **Hawking, F. and Thurston, J. P.** : The periodicity of microfilariae. II. The explanation of its production. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **45**(3), 329-340, 1951.

8) **Hawking, F. and Thurston, J. P.** : The periodicity of microfilariae. I. The distribution of microfilariae in the body. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **45**(3), 307-328, 1951.

9) **Hawking, F.** : The periodicity of microfilariae. III. Transfusion of microfilariae into a clean host. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **47**(1), 82-83, 1953.

10) **Hinman, E. H.** : Experimental studies on filarial periodicity. *Jour. Trop. Med. Hg.* **38**(21), 265-267, 1935.

- 11) **Knott J.** : The periodicity of the microfilariae of *Wuchereria bancrofti*; Preliminary report of some injection experiment. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **29**(1), 59-64, 1935.
- 12) 片峰大介・江良栄一 : ミクロフィラリアの定期出現性に関する文献的考察. 長崎大学風土病紀要, **1**(3), 242-251, 1959.
- 13) **Lane, C.** : Bancroftian filariasis and the reticulo-endothelial system. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **31**(1), 61-80, 1937.
- 14) 松田肇他 : コットンラット糸状虫の生体外飼育とこれによる抗フィラリア剤の検定. 寄生虫学雑誌, **17**(3), 221-228, 1968.
- 15) **O'Connor, F. W. and Hulse, C. R.** : Some pathological changes associated with *Wuchereria (Filaria) Bancrofti* infection. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **25**(6), 445-454, 1932.
- 16) **Restani, R.** : Survival of *Dirofilaria repens* microfilaria at various temperature. *Parasitologia*. **10**(1), 75-83, 1968.
- 17) **Sawyer, T. K. and Weinstein, P. P.** : Survival of *Dirofilaria immitis* microfilariae in modified physiological saline solution. *Jour. Parasit.*, **47**(4. sec2) 24, 1961.
- 18) **Sawyer, T. K. and Weinstein, P. P.** : The in vitro development of microfilaria of the dog heartworm *Dirofilaria immitis* to the "Sausage-form". *The Jour. Parasit.*, **49**(2), 218-224, 1963.
- 19) **Sarkar, J. K.** : A tissue culture model for testing anti-microfilarial drugs. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **63**(3), 374-377, 1969.
- 20) 柴田尚武 : ミクロフィラリアの定期出現性に関する実験的研究. VI. ミクロフィラリアの生体内分布. 長崎大学風土病紀要, **7**(1), 1-11, 1965.
- 21) **Taylor, E. A.** : Maintenance of filarial worm in vitro. *Exp. parasit.*, **9**, 113-120, 1960.
- 22) **Taliaferro, W. H.** : Some cellular bases for immune reactions in parasitic infections. *Jour. Parasit.*, **20**, 149-161, 1934.
- 23) 竹下尚治・奥田瑞穂 : Bancroft 氏フィラリア仔虫の培養並びに動物体移植試験に就て. 医学中央雑誌, **23**(3), 175-190, 1925.
- 24) **Underwood, P. C. and Harwood, P. D.** : Survival and location of the microfilaria *immitis* in the dog. *Jour. Parasit.* **25**, 23-33, 1939.
- 25) **Winfrith, A. F. and Hawking, F.** : Experimental maintenance of *Dirofilaria repens* and *D. immitis* in dog. *Exp. parasit.*, **4**, 143-164, 1954.
- 26) **Wein, P. P. and Sawyer, T. K.** : Survival of adult of *Dirofilaria uniformis* in vitro and their production of microfilariae. *Jour. Parasit.*, **47**(4. sec. 2), 23, 1961.