

特集

実験動物技術フォーラム

実験動物と寄生虫感染—今、なぜ寄生虫なのか—

マウス・ラットの蟯虫の生態、および検査と効果的駆虫について

巖城 隆

元・鳥取大学医学部附属動物実験施設、現・北海道大学先端科学技術共同研究センター

はじめに

近年、特殊系統動物や遺伝子操作動物を用いた実験が増加し、様々な研究機関で育成・作出されるマウスやラットの授受が頻繁になっているが、衛生面で十分配慮されない実験室や飼育施設も多く、そうした施設からの搬入動物から感染が拡がった蟯虫の駆除に苦慮している飼育施設も実は少なくない。今回はマウス・ラットの蟯虫の一般的特徴と実験への影響、検査・駆虫方法および再感染防止についてまとめた。蟯虫のコントロールでは駆虫ばかりに目が向けられる事が多いが、駆虫薬投与に限らず、子宮切除術や胚移植によるクリーニングであっても、同時にその評価のための検査と、再感染を防ぐために環境の清浄化を行わなければ蟯虫排除はたいへん難しい。

マウス・ラットの蟯虫の特徴

マウス・ラットによく見られるのはネズミ盲腸蟯虫 (*Syphacia obvelata*)・*Syphacia muris*・ネズミ大腸蟯虫 (*Aspicularis tetraoptera*) の3種である(表1)。種の鑑別を行なって、その蟯虫の生活環を知ることが適切な検査・駆虫スケジュールを立てるために大切である。飼育の現場では成虫よりも、虫卵の大きさと形による鑑別が簡便である。

実験への影響

蟯虫は一般に顕著な病原性を示さないとされている。実中研ICLASモニタリングセンターの提案による現行のモニタリング微生物選択基準では、*Syphacia*属蟯虫はカテゴリE(通常は病原性はないが、飼育環境の指標である)であり、*A. tetraoptera*は表にあげられていない。しかし、筆者らの施設での検疫では他の微生物が陰性でも蟯虫が陽性という例もあり、他の微生物の侵入を必ずしも反映するものではないと考える。

一方、動物の免疫・生理・成長・行動などについての実験への影響がいくつか報告されており(巖城, 1999)、厳密な実験が求められる今日、蟯虫を含め、不顕性感染を起こすといわれる微生物の影響を考慮すべき場合も生じられると思われる。選択基準の新案(高倉, 2000)ではこの点を考慮して、蟯虫・消化管内原虫・外部寄生虫をカテゴリEとともにCにも入れたようだが、細菌・ウイルスと違い具体的な種名が挙げられておらず、現場の検査担当者は何を対象にすべきか混乱するかも知れない。

検査

検査は蟯虫のそれぞれの種の生活環やプレパレント・ピリオド(感染から産卵までの日数)、産卵活動リズムに応じた方法で行わなければ効果

表1 マウス・ラットの蟻虫の特徴

	ネズミ盲腸蟻虫 <i>Syphacia obvelata</i>	<i>Syphacia muris</i>	ネズミ大腸蟻虫 <i>Aspiculuris tetraptera</i>
寄生部位	マウスの盲腸	ラットの盲腸	マウスの結腸起始部
体長	♂1~2mm ♀3~6mm	♂約1mm ♀3~4mm	♂2~2.6mm ♀2.6~4.7mm
形態	頭部膨大部なし、頸翼なし、尾部細長く尖る。陰門は体の前端から約1/6~1/7の位置。	頭部膨大部なし、頸翼なし、尾部細長く尖る。陰門は体の前端から約1/4の位置。	頭部膨大部あり、頸翼あり、尾部は <i>Syphacia</i> 属ほど尖らない。陰門は体の前端から約1/3の位置。
虫卵	120~140×30~50mm 細長く左右非対称で、「柿の種」様。	72~82×26~36mm 「柿の種」様だが、左右非対称は <i>S. obvelata</i> ほど顕著でない。	83~93×38~43mm 紡錘形で、非対称性は不明確。
生活環	感染後11日目に♀成虫は肛門へ移動し、肛門周囲に産卵後死亡。産卵は午後の早い時間に多い*。産卵後5~20時間で虫卵は感染可能。	感染後7~8日目に♀成虫は肛門へ移動し、肛門周囲に産卵後死亡。産卵は午後の早い時間に多い*。産卵後5~20時間で虫卵は感染可能。	感染後23日目から♀成虫は腸管内で断続的に産卵。産卵は夕方~早朝*。寿命は45~50日。産卵後6日で虫卵は感染可能。

*) 通常の12または14時間照明条件下。

的でない。

1) *Syphacia*属~粘着テープ法 (セロハンテープ法, スコッチテープ法, 検肛法)

*Syphacia*属蟻虫は宿主の肛門周囲に産卵するので粘着テープ法で検査する。一般には案外認識されていないが、プレパテント・ピリオドには虫卵が排出されないことに注意する。駆虫薬剤投与中にも必要に応じ検査で状況を掴み、虫卵陰転後プレパテント・ピリオドを経過した後に判定を行なうべきである。機械的に「投与を○週間行ない、駆虫開始後○週目に最終判定」などとするのは勧められない。

*S. obvelata*の産卵活動リズムは宿主の活動と逆の型を示し、宿主の休息時、とくに13:00前後に産卵が多くみられること、*S. muris*でも午後の早い時間に多く検出されることが報告されている。飼育動物は前もって産卵のピークを調べてから検査を行ない、また、搬入動物の検査時には自施設の照明条件に馴化してから検査を実施すると

よい。馴化については、明暗周期逆転後のラットの体重・摂餌量・飲水量は概ね4~5日で、自発行動量は約3日で新しいリズムに再同調したという報告(峰松ほか, 1995)がある。

肛門への粘着テープ1回貼付では3回貼付の約64%の虫卵しか検出できないので、必ず2~3回の貼付を行なうとよいと言われている。

ヒトの蟻虫検査では6日連続検査で真の感染率に近似するが、3回検査の累積陽性率はその値の90%であり、3日連続の検査が勧められているので、マウス・ラットについてもこれを行なうとよい。

2) *Aspiculuris*属~浮遊法

*Aspiculuris*属では糞便中に虫卵が排出されるので浮遊法を用いる。多くの糞便を集めるほど検出確率は上がるが、実際の作業では1gの糞便でよい。プレパテント・ピリオドに注意する事は*Syphacia*属蟻虫の場合と同じである。

宿主の生理的条件の変動によって*A. tetraptera*の産卵が刺激され、虫卵の糞便内濃度は夜明け直前

に最高になるという報告,あるいは, *A. tetraoptera* の単位糞便重量あたりの虫卵数と総排出虫卵数, 5:00~19:00照明下では17:00または19:00~1:00の時間帯にピークがあり,「通常の検査の場合は夕刻から翌朝までの全糞便を対象とした検査が望ましいが,場合によっては17:00を中心に短時間のマウスの排出糞便を対象とした検査でも差し支えない」とする報告がある。いずれにせよ, *A. tetraoptera* では,夕方~早朝の糞便を集めて検査すべきである。

3) 剖検~両方の蟻虫に適用

齋藤(1996)は「盲腸の内容物を約1g量取り出して生理食塩水の入ったシャーレ内に入れ浮遊させて盲腸蟻虫の検査をする」としているが,さらに検出率を上げるためには簡易沈澱法がよい。具体的な方法は巖城(1999)を参照して欲しい。

駆虫

蟻虫駆除の方法としては,駆虫薬投与の他に,安楽死,子宮切断術(帝王切開)あるいは胚移植による清浄化が考えられる。後二者ではそれ相応に費用や手間がかかると思われるが,実際に行なっている飼育実験施設も多い。ここでは手数はかかるが比較的安価で実施できると思われる駆虫薬投与について述べる。

1) マウス・ラットの駆虫薬

近年の国内外の報告では,リン酸ピペラジン,硫酸ピペラジン,アジピン酸ピペラジン,サイアベンダゾール,パーベンダゾール,メベンダゾール,フェンベンダゾール,パモ酸ピルビニウム,パモ酸ピランテル,ドラメクチン,ネトビミンおよびイベルメクチンなどが報告されている。以前はパモ酸ピルビニウムがよく使用されたが,現在はパモ酸ピランテルとイベルメクチンが日本では入手しやすく,かつ有効である。

駆虫薬投与期間終了後には,プレパテント・ピ

リオドの2~3倍の期間,定期的に検査を行ない,虫卵が検出されれば再びスタートに戻って駆虫するべきである。

2) パモ酸ピランテル

安全性が高く,臨床経口用量の約100倍を3カ月間ラットに与えても毒性症状の発現は認められない,ラットに大量経口投与しても生体内へ吸収されず,投与後24時間以内に投与量の34.2~79.44%が糞中に排泄される,などの性質があるが,幼虫に対する効果が弱いのが欠点である。マウスやラットではつねにケージ内で虫卵との接触があるので,有効投与量を連日または断続的に投与する必要がある。高温・乾燥に対して比較的安定なので,添加飼料作製に有利である。錠剤とドライシロップがあり,マウス・ラットには20~40mg/kg体重・日以上を経口投与する。

飲水投与なら,パモ酸ピランテル200mg(ドライシロップ2g)を水500mlに溶解して投与する。薬剤はそのつど調製し,給水瓶は週2回以上交換する。難溶性で薬剤が沈殿するので,給水瓶は1日1回振って混和し,ケージ蓋に対して垂直に設置する。

飼料添加の場合は,錠剤をミルサー等で粉碎し,パモ酸ピランテル0.02%となるよう飼料作製を依頼する。

3) イベルメクチン

多くの寄生線虫・外部寄生虫に有効な駆虫薬で,牛では投与後14~28日間の感染阻止期間が認められている。齧歯類に対しては毒性が比較的強く,副作用(運動失調,徐呼吸,振せん,眼瞼下垂,活動低下,死など)を起こす事がある。若齢動物は血液脳関門が生後約10日まで未完成なので,とくに副作用の危険が高い。遺伝的変異(近交系,クローズドコロニー),遺伝子改変(KOマウス)や実験処置により,イベルメクチンの感受性が異常に高い個体の副作用の例が報告さ

れている。マウス・ラットには1.5～2mg/kg体重・日を経口投与する。

飲水投与なら、イベルメクチン注射液(10mg/ml) 0.9mlを水500mlに溶解して使用する。水に難溶だが混和すると懸濁液となり、1週間程度ではとくに変質する様子はなかった。

飼料添加の場合は、加工時によるイベルメクチンの効力低下が心配である。

噴霧では正確に投与量が決められないが、実用上はアイボメック注を10倍希釈し、約1～2ml/ケージを噴霧するとよい。ただし、頭数や体重を考慮して調節する。

イベルメクチン投与による副作用は、以下のCF-1マウスの一部、129マウス、*mdr1a* 遺伝子ノックアウトマウス(P-glycoprotein欠損)などの系統、あるいはP-glycoproteinをコードするクラス*Imdr* 遺伝子機能のブロッカーとなる薬物投与のような実験について報告されている。一方、末田ら(私信)は、2系統(BALB/c, C57BL/6)の妊娠2週齢マウスに同様にイベルメクチン噴霧し、蒸留水噴霧の対照群と胎仔数、離乳数および

離乳率を比較した結果、差は認められず、母体にも何の異常も見られなかったとしている。Morrell and Vintersten (1997) もマウス(CD1, C57BL/6)にイベルメクチンを噴霧しても、交尾や胚形成、着床への影響や副作用はなかったとしている。通常使われるような系統マウスに関しては、それほど神経質にならなくてもよいかも知れない。

4) 駆虫方法の選択(表2)

久保ほか(1999)は、*S. muris* 感染ラットの駆虫方法について作業内容・費用・安全性などを次のように考察した。1) 少数ケージの駆虫にはイベルメクチン噴霧法がもっとも優れている。2) イベルメクチンの副作用が起こる可能性のある動物には、パモ酸ピランテル飲水投与が適当である。3) パモ酸ピランテル添加飼料投与は多数ケージを駆虫する場合には適している。4) カテーテルでのパモ酸ピランテル経口投与実験は行なわなかったが、ごく少数の個体に対しては適当な方法である。

飼育環境や実験内容に合った適当な方法を選択

表2 駆虫法の比較

方法	準備	作業	費用*	安全性	適用
A) パモ酸ピランテル飼料添加(0.02%)	△業者に依頼、時間がかかる	◎飼料給与のみ	△薬剤費、飼料加工費 指数140-346**	◎大量摂取でも安全	多数ケージや複数の飼育室の駆虫
B) パモ酸ピランテル飲水投与(40mg/kg wt.)	○薬剤調製 給水瓶必要	△給水瓶交換週2回、 振盪1日1回	○薬剤費 指数222	◎Aと同じ	少数ケージの駆虫、特に若齢マウス等、イベルメクチン高感受性の動物の駆虫
C) イベルメクチン飲水投与(2mg/kg wt.)	○Bと同じ	△Bと同じ	○薬剤費 指数179	○若齢マウス等、イベルメクチン高感受性の動物には副作用あり	少数ケージの駆虫
D) イベルメクチン噴霧(1mg/cage)	◎薬剤調製 ハンドスプレー必要	○薬剤噴霧 週1回	◎薬剤費 指数100	○Cと同じ	少数ケージの駆虫 最も容易で安価

* 費用指数は、ラット(体重300g)1匹・1日に必要な薬剤費・飼料加工費をDを100として示した。

** ラットの1日標準摂餌量(10～25g)から算出したため、範囲で示した。

すべきであるが、大規模な飼育施設では、初めから飼料添加を第一選択とするのがよいかも知れない。Huerkamp et al. (2000) は、*S. muris* 感染ラットにフェンベンダゾール添加飼料1週間投与を、1週間隔で5回、全体で9週間の処置を行なって駆虫に成功しており、その処置コストは1匹あたり\$12であった。ちなみに筆者らの事例では、パモ酸ピランテル添加飼料を*S. muris* 感染ラットに1カ月間給与した場合、飼料のコストは1匹あたり¥197~492と計算された。

再感染の防止

汚染飼育器材や飼育室からのコンタミネーションを防ぐ事は、駆虫と同じくらい重要である。

実験動物関係の書籍にはしばしば、虫卵殺滅にはエタノールが有効とされている。これは宮地ほか(1988)の結果によるものと思われるが、この論文での*S. muris* 虫卵に対する消毒薬処理は最短で2時間で、実際の飼育室内作業には適用が難しい。通常の消毒薬による15分間の処理では*S. muris* 虫卵はほとんど殺滅されない。紫外線照射は効果が弱い。従って50℃5分以上の熱処理を勧める(久保, 1998)。熱処理のできない器具等には99%エタノール1時間浸漬、あるいは70%エタノール2時間浸漬がよいと思われる。雑巾などによる棚や壁の清掃は物理的な虫卵の除去に有効と思われるが、消毒薬の効果は期待すべきでない。

蟯虫卵の伝播は、主に動物同士の接触、あるいは動物に触れた手指や器具を介して起こると思われる。動物やケージに触れる際にはディスプレイ手袋を着用し、飼育器材の煮沸やオートクレーブ滅菌、場合によっては飼育室の熱湯による洗浄なども必要であろう。できない場合は、飼育室や飼育器具、作業員や実験者を一般の飼育室とは完全に分けて飼育を行なうべきである。また、感染

ケージからの汚染を拡げないためにフィルターキャップは有効であるが、フィルターキャップの隙間から床敷や糞がこぼれ、下の棚やケージ等を汚染する危険がある。感染が明らかなケージはできるだけ下の棚に置き、作業の最後に扱うのがよい。

以上、すでに国内外で報告された事例をまとめただけの報告ではあったが、これを期に蟯虫の性質を正しく理解して、効果的な駆虫作業が実施されるよう心掛けていただきたい。

参考文献

- 1) GV-SOLAS Working Group on Hygiene (1999) : Implications of infectious agents on results of animal experiments. *Lab. Anim.*, **33** (Suppl. 1), S1: 39-S1: 87.
- 2) Huerkamp, M. J., Benjamin, K. A., Zitzow, L. A. et al. (2000): Fenbendazole treatment without environmental decontamination eradicates *Syphacia muris* from all rats in a large, complex research institution. *Contemporary Topics*, **39** (3): 9-12.
- 3) 巖城隆 (1999) : マウス・ラットの蟯虫とその検査・駆虫. *実験動物技術*, **34** (2) : 77-86.
- 4) 久保憲昭, 巖城隆, 原照子, 柴原壽行 (1998) : ラットの蟯虫 *Syphacia muris* 虫卵の通常飼育環境下での生存と、消毒薬・紫外線および熱処理に対する影響. *実験動物技術*, **33**, 63-70.
- 5) 峰松澄穂, 渡部理之, 蛭田政宏, 雨谷栄 (1995) : 明暗周期逆転後のラットにおける体重, 摂餌量, 飲水量及び自発行動量の新周期への再同調について. *実験動物技術*, **30**, 87-96.
- 6) 宮地俊, 神谷正男, 四方淳一 (1988) : 人工孵化法による *Syphacia muris* 虫卵に対する熱および各種消毒薬の殺卵効果. *実験動物*, **37**, 399-404.
- 7) Morrell, J. M. and Vintersten, K. (1997) : Influence of topical therapy with the parasiticide ivermectin on embryo transfer in mice. *Scandinavian J. Lab. Anim. Sci.*, **24** (4) : 203-207.
- 8) 齋藤學 (1996) : 2. 検査手順, (1) マウス・ラット. 図説 実験動物の微生物検査法, pp. 28-37, ソフトサイエンス社, 東京.
- 9) 高倉彰 (2000) : ICLAS モニタリングセンターの微生物検査項目の見直し. *アニテックス*, **12** (4) : 157-161.