

恙虫類調査のためのマウス設置法

内川公人¹⁾・山田喜紹²⁾・小穴こず枝²⁾・吉田安雄²⁾・下里文子²⁾・亀子文子²⁾

A Mouse-baited Method for Studying Chiggers in the Field

Kimito UCHIKAWA,¹⁾ Yoshitsugu YAMADA,²⁾ Kozue OANA,²⁾
Yasuo YOSHIDA,²⁾ Fumiko SHIMOSATO²⁾ and Fumiko KAMEKŌ²⁾

ABSTRACT: An efficient mouse-baited method is in need in our studies of the vector chigger. A 18cm×10cm×8cm wire netting cage was made and placed with a mouse in it on the ground of the grasslands, where *Leptotrombidium pallidum* had been found abundantly. for 2 nights or ca. 41 hours in May and October, 1985. Of 20 mice exposed individually, 19 were found to be infested with *L. pallidum* and some other chiggers. This indicates that the above method is efficient to make the vector chigger parasitize mice in the field. Chiggers taken with Tullgren's funnels from the same sites at almost the same dates were also shown for comparison. As the mice were placed for a long time, some chiggers that happened to parasitize at beginnings of exposure might leave mice unnoticed after engorgement. Thus exposure time should be shortened for precise experiments to infect mice with pathogenic rickettsiae, although a given time of any span may be enough to obtain information on relative population densities on various sites. All the mice used and the majority of *L. pallidum* collected from them were processed in vain to the isolation of rickettsiae.

1 はじめに

恙虫病の疫学調査において、歩哨動物sentinelsを使って恙虫の生息状況を調べようとする試みは、おそらく林ら(1919, 1924)がニトリとアヒルの幼鳥を放飼して赤虫を捕えた実験を稿矢とする。以後、特に第二次大戦後の恙虫病研究時に、浅沼らがラット、マウス、スナネズミ、ハタネズミなどを特製の金網筒に入れて病原体汚染地の地面に設置し、各地で媒介種の決定、殺虫剤散布の効果判定に役立てたことが記録されている(浅沼, 1959; 浅沼ら, 1959, 1962; Tamiya, 1962)。そして、最近では、斉藤ら(1977)が、動物設置法に改良を加える実験をおこなっている。

長野県下における筆者らの調査にあっても、自然界での感染実験をマウスを用いて実施する上で、効率的な動物設置法を必要とするところとなった。既存の資材を使って予備的にマウスをフトゲツツガムシの多発地に敷設

した段階では、望ましい成績を得るに至らなかった。そこで、新たに試作した金網籠にマウスを入れ、従来の報告より長時間設置したところ、ほぼ所期の目的に達する成績が得られるようになったので、一連の実験結果を記録に留めることにする。

2 金網籠とマウス設置法

18cm×10cm×8cmの針金(8番線)枠を作り、10cm×8cmの1面を残して5mm目のスチール網で覆った。別に10cm×8cmの同様な枠を作り、スチール網を張って長辺を前記の籠に固定して蓋とした。また、蓋の中央部に簡単な留具を付け、本体から伸びる細い針金で固定して蓋を閉じる仕組にした。特にこのサイズにしたのは、ツルグレン法による調査の際に20cm×20cm×5cmの枠でサンプルを採取しているので、籠を2個並べるとこの枠に入ること、および鈴木の本ツルグレン装置に納まることの2点によるものである。

マウス1匹とその餌を金網籠に入れ(Photo.1)、蓋を固定して軽く均した地面に置き、周囲にある枯草で覆った。

1) 信州大学医学部 Shinshu Univ. School Med.
2) 信州大学医療技術短期大学部 School Allied Med.Sci.,
Shinshu Univ.

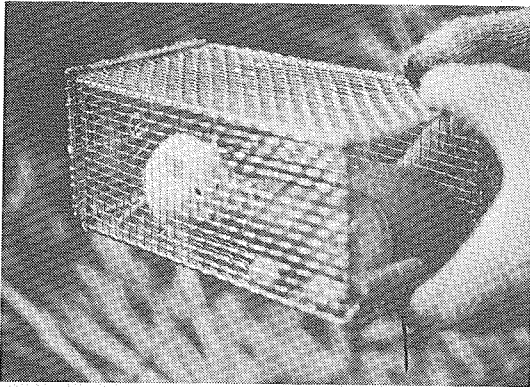


Photo. 1. A mouse in a wire netting cage just prior to exposure

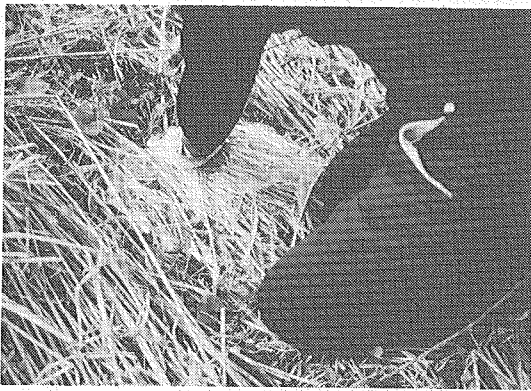


Photo. 2. A cover placed over a wire netting cage with a mouse in it

さらに、その上にビニール膜を被せ、散逸しないように石を置いた(Photo. 2)。この覆いは、保温、雨避け、CO₂ やもしあればその他の恙虫に対する誘引物質の濃縮等をねらったものである。

設置時間は通常午後3時前後から翌日の午前9時前後までの18時間以内とされるが(浅沼ら, 1962)、予備実験の結果を踏まえて、午後4時頃から翌々日の午前9時以前までとした。回収後、実験室に持ち帰り、水を張ったバットに棒を2本渡して2mm目の金網片を敷き、金網籠ごとマウスを載せた。これまでの作業は、毎回午前11時には終わった。1~2日ごとにバットの水を替え、落下してくる恙虫を実体顕微鏡下で集めた。一部の標本はマウントして同定し、フトゲツツガムシの一部はリケツア分離に供した。また、使用マウスは、2週間飼育した後、解剖して臓器を摘出し、リケツア分離を試みた。

なお、設置実験は、1985年5月と10月に、それぞれ10匹のマウスを個別に籠に入れて実施した。5月には、8日に設置、10日に回収した。設置場所は、長野県北安曇

郡美麻村で従来からおこなっている調査地のうち、フトゲツツガムシの多発することが確認されているススキ草地(内川ら, 1983, Site A; 1984, St. 4)とした。また、10月には、20日設置、22日回収とし、前回のススキ草地と現在継続中の調査で恙虫類の濃厚生息地であることが確かめられた桑園跡の雑草地の2ヶ所に、それぞれ5個ずつの籠を敷設した。

3 実験成績

おのおの10匹のマウスを設置した2回の実験で、回収した恙虫の種類と個体数はTable 1に示したとおりである。20匹のマウスのうち、#1~10は5月にススキ草地に、#11~15は10月に前記と同一域に、また、#16~20は10月に雑草地に、それぞれ設置したものである。

寄生した恙虫の種類は、フトゲツツガムシ *Leptotrombidium pallidum*、アラトツツガムシ *L. intermedium*、ヒゲツツガムシ *L. palpale*、ヤマトツツガムシ *Neotrombicula japonica* およびサダスクツツガムシ *Gahrliepia sadushi* の5種で、種構成はフトゲツツガムシを主体(5月, 60%; 10月ススキ草地54%, 雑草地76%)とするものであった。この成績は、比較のために示すはほぼ同一時期に同一域でツルグレン法で抽出した恙虫相(Table 2)とは、フトゲツツガムシの構成比が高い点で、明らかに異なる。また、ツルグレン法で調べると、春より秋に恙虫が多く、フトゲツツガムシについてみると両期の比は6.5~9.7を示したが、設置法による成績には春、秋の差は殆んど認められなかった。また、10月には、ススキ草地と雑草地からツルグレン法で抽出されたフトゲツツガムシとアラトツツガムシに、それぞれ約2:3, 1:18の開きがあったが、設置法で得られた両種の比はフトゲツツガムシについては差が更に大きく開き、アラトツツガムシについてはほぼ1:1であった。ただし、少数例であるために、個々の値の変動が大きく効いた結果である。

設置マウスを個別にみると、恙虫の寄生が認められなかったのは#3の1例のみで、他の19例では4~48個体が附着して飽食落下している。フトゲツツガムシは、この19例のすべてに寄生が認められ、2~33個体が得られている。一方、アラトツツガムシ、ヒゲツツガムシ、サダスクツツガムシの寄生率は、それぞれ17/20, 4/20, 3/20で、寄生数は1~14, 1~3, 1~4であった。そして、寄生率が高く、ツルグレン法でもよく採れるアラトツツガムシがフトゲツツガムシより多く寄生していた例は、ただ#6のマウスに見られただけである。また、ヤマトツツガムシは、この種の多発期に当る10月に、#12, #16の2匹のマウスに1匹ずつ寄生したにすぎな

Table 1. Chiggers collected from mice by a mouse-baited method at Miasa Village, Nagano Pref.

Mice, placed sites and date Chigger species	Mice placed on the ground of <i>Miscanthus</i> grassland on abandoned fields on May 8, 1985 and on October 20, 1985															Mice placed on the ground of grassland on a abandoned field on October 20, 1985				
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13	#14	#15	#16	#17	#18	#19	#20
<i>L. pallidum</i>	7	4	—	14	11	6	9	3	14	2	2	7	4	2	6	33	7	14	5	11
<i>L. intermedium</i>	1	1	—	—	4	14	8	2	4	1	2	—	2	2	5	6	1	2	—	4
<i>L. palpale</i>	1	—	—	—	—	2	—	1	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>N. japonica</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—
<i>G. sadushi</i>	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	6	8	—	—	—	—
Total	9	5	0	14	15	26	17	6	18	6	4	8	6	4	17	48	8	16	5	15

Table 2. Chiggers collected by Tullgren's funnel method from soil samples at the same sites used for a mouse-baited method in Table 1

Chigger species	Site Date	<i>Miscanthus</i> grassland on abandoned fields		Grassland on a abandoned field	
		May 3, '85	Oct. 11, '85	May 3, '85	Oct. 11, '85
<i>L. pallidum</i>		15	97	15	145
<i>L. intermedium</i>		36	14	42	257
<i>L. palpale</i>		3	8	12	59
<i>N. japonica</i>		—	1	—	2
<i>G. sadushi</i>		8	1	3	5
Total		62	121	72	468

number/0.2m² × 5cm or number/5 (20cm × 20cm × 5cm) soil samples

い。

得られた恙虫のうち、フトゲツツガムシの一部を、ddY系マウスを用いたりケツア分離に供したが、陽性例はなかった。また、設置マウスを室内飼育した後、脾臓を摘出してリケツア分離を試みたが、成功例はなかった。

4 考 察

林ら(1919, 1924)の歩哨動物放飼とは異なって、浅沼ら(1959)の多用した動物設置法では、設置される動物の動きを抑えるほど小さな籠が用いられた。すなわち、ラット用とマウス用の籠でサイズを変え、前者は径7cm、高さ13cmの、また、後者は径6cm、高さ10cmの金網筒にしている(Tamiya, 1962)。さらに、斉藤ら(1977)は、設置動物の運動や動作が、恙虫の付着効率を下げるかと考えて、アキレス腱切断、上膊・大腿骨人工骨折、動物頸部のケーゾ外露出などによって動物の動きを制限し、良好な結果を得たという。

著者らの籠は、浅沼らのそれより大きく、設置動物の動きを抑制する策を構じてもないので、フィールドに

置かれたマウスは動きまわっていたはずである。この点でちがいをもち今回の設置法で得られた成績と、詳しい記録の残っている浅沼らのそれ(浅沼, 1959)を比較すると、前者で得られた恙虫の数が相当多かったことが特筆される。すなわち、浅沼(1959)はラット、マウス、スナネズミ、ハタネズミを用いた合計21回の実験のうち、平均寄生数が最も大きかったのは千葉県白浜町でスナネズミを3匹設置したときの31.7の例であり、続いて八丈町どラット20匹で27.3の値を得ている一方に、平均寄生数1以下の例が12回あったことが示されている。これに対して、著者らは5月に11.6、10月のススキ草地で7.8、雑草地で18.4の平均寄生数を記録し、安定してある程度の恙虫を寄生させることに成功している。このようなちがいを、ただちに設置条件の差に結びつけることはできないが、少なくとも今回用いた金網籠が目的に叶ったものであることだけは確かである。

効率を高めるのに、設置時間の延長が効いてくる可能性も大きい。前述のように、従来の設置法では18時間以内に回収することが望ましいと考えられているが、これは吸着期間の短い種類が設置直後に寄生しても飽食落下に至る前に宿主を管理下に移すために安全を見込んだ時間であろう。浅沼ら(1959)が白浜町で1958年11月におこなった実験によると、ラットとスナネズミからは設置開始後28時間以内に満腹離脱個体(タテツツガムシと思われる)が現われ、少数寄生のあったマウスでは同48時間以後66時間以内に落下個体をはじめ観察している。また、人体寄生のタテツツガムシ6匹については、寄生開始後43~44時間の間に全個体が自然離脱をしたという。そして、用いた実験動物のちがいに応じて、設置から恙虫落下に至るまでの時間に開きを生ずることが見て取れる(浅沼ら, 1959, 図1)。著者らの実験では、設置を14時頃にして、翌々日の11時には離脱恙虫の回収可能状態に入ったので、この間約43時間を要したことになる。マウスからの離脱が仮に遅れるとしても、浅沼ら

(1959)が20匹のマウスを用いて8匹の恙虫の寄生を認めた実験より多数寄生の観察された著者らの場合に、設置後約43時間以内に飽食離脱個体がなかったという保証はない。厳密な感染実験を計画する場合には、単に寄生数が多いということだけでは不充分であるので、設置時間の問題は更に検討されなくてはならないであろう。

動物設置法は、これまで二つの目的のために用いられてきた。その一つは、寄生恙虫を確実にとらえながら、それらによって恙虫病の病原リケツチアの感染が実験動物にもたらされたか否かを知るためであり、他はある地域または地点における恙虫類の生息密度をみるためであった。最初の目的のためには、他に代わる方法がみられないので、これから広く用いられるものと考えられるし、著者らも自然界でのリケツチア感染と媒介恙虫の実証のために実用に供しうる方法を習得するために上記の実験をおこなったのである。今回は、寄生恙虫や設置マウスからリケツチアを検出することはできなかつたし、設置時間等についてなお検討を要する問題を派生させたが、廉価な籠を用いるだけで媒介恙虫と目されるフトゲツツガムシをマウスに寄生させ得た点で、今後の調査に明るい見通しをもつ段階に達したことになる。

一方、恙虫類の生息状況を知る上では、従来から用いられている自然宿主調査法、ツルグレン法、黒色板またはベークライト板法、その他と並ぶ一法として、この動物設置法が位置付けられる。今回の実験成績をツルグレン法のそれと対比して示したが、得られる恙虫類の個体数や種構成に、前述のような差異があり、観察値がいつも平行した傾向を示すとは限らなかつた。したがって、動物設置法を含む諸法について、それぞれのもつ長所と限界をとらえ、自然界における恙虫類の発生動態を調べるためには幾つもの方法を組み合わせて用いていくことが大切であろう。

5 ま と め

18cm×10cm×8cm の金網籠にマウス1匹を餌とともに入れて軽く均した地面に置き、枯草で覆った後、さらにビニール膜を被せて2晩(約41時間)放置して恙虫

の寄生を待つ実験を、長野県北安曇郡美麻村で、1985年5月と10月の2回おこなった。毎回10匹ずつのマウスを用いたところ、フトゲツツガムシを主体とする3属5種247匹の恙虫の寄生を認めた。フトゲツツガムシと設置マウスからの恙虫病リケツチア分離は不成功に終わったが、用いた設置法は効率が高いと思われた。ただし、効率を高める方向に働いたらと考えられる長い設置時間については、検討を要する問題があるとみられる。

文 献

浅沼 靖(1959)：恙虫と宿主との関係・特に鳥寄生恙虫について。第15回日本医学会総会学術集會記録。2：499-507。

浅沼 靖、ほか(1959)：千葉県下における恙虫病リケツチア伝播者としての *Trombicula scutellaris*。衛生動物、10：232-244。

浅沼 靖、ほか(1962)：三浦・伊豆両半島南部の恙虫病伝播者。資源研彙報、58-59：37-55。

林 直助、向山孝吉、大島福造(1919)：大正七年度余等恙虫病研究成績(久原家義捐第二年)。中央医誌、26：106-144。

林 直助、大島福造、江口季雄、穂積鑑一(1924)：恙虫病ト鳥類トノ関係ニ就テ(第一回報告)。病理学紀要、1：461-494。

齊藤 豊、山下隆夫、関川弘雄、大鶴正満(1977)：ツツガムシ幼虫採集時における動物設置の諸改良法について。衛生動物、28：58。

Tamiya, T. (ed.) (1962)：Recent advances in studies of tsutsugamushi disease in Japan. 308 pp. Med. Cult. Inc. Tokyo.

内川公人、山田喜紹、熊田信夫(1983)：フトゲツツガムシ *Leptotrombidium pallidum* の棲息環境に関する一知見。信大環境科学論集、5：72-77。

内川公人、山田喜紹、佐藤 潔、熊田信夫(1984)：長野県の恙虫類に関する基礎調査。衛生動物、35：233-243。