

## 家畜寄生虫に対する praziquantel の駆虫効果に関する研究

### II. 各種の幼虫期条虫に対する殺虫効果について

坂本 司・河野猪三郎・安田宣紘・山本康裕・中川治人

(家畜病理学教室)

昭和54年8月18日 受理

## Studies on Anthelmintic Effects of Praziquantel against Parasites in Animals

### II. The Efficacy of Praziquantel against Various Larval Cestodes in Laboratory Animals

Tsukasa SAKAMOTO, Isaburo KONO, Nobuhiro YASUDA,  
Yasuhiro YAMAMOTO and Haruto NAKAGAWA

(Laboratory of Veterinary Pathology)

### 緒 言

有鉤囊虫, 無鉤囊虫, 包虫などの囊虫および *Mesocestoides* の tetrathyridium などの幼虫期条虫は人畜共通感染症の重要な寄生虫であり, これらの薬物による駆虫は囊虫症や包虫症の治療のほかこれら条虫の生活環を断つ意味において極めて重要である. しかるに1964年 Hinz<sup>5)</sup> がマウスの帯状囊虫 (*Strobilocercus fasciolaris*) に対する cyclophosphamide の殺虫効果を報告するまで, 条虫幼虫期の囊虫に対する有効な薬物は全く知られていなかった. 特に人の多包虫症の場合, 包虫組織は肝や肺などの実質組織中にビマン性に侵入しつつ増殖するため, 外科的切除も極めて困難であり, 古くから本症患者の治療のため, 多くの薬物が臨床的に試みられて来た. しかるにこれらの薬物による治療試験で好結果を報告された例でも, 後の追試により否定されている. 一方 Sakamoto<sup>10)</sup> Sakamoto and Gemmell<sup>12)</sup> はこれらの薬物が包虫虫体に対して殺虫力を持たないことを *in vitro* test により証明し, 従って今一度薬物療法の原点に戻り, *in vitro* screening test や実験動物を用いた治療試験により包虫そのものに対して殺虫効果をもった薬物を見出すため, 多くの薬物について検討する必要を強調した.

ところでわれわれは前報において複素環化合物の isoquinoline-piperazine 誘導体である praziquantel を用いて7種の家畜寄生の成虫期条虫に対する著明な駆虫効果を報告した. そこで今回は猫条虫, *Mesocestoides corti* および多包虫の幼虫期虫体に対する効果を試

験し, 興味ある成績を得たので報告する.

### 材 料 と 方 法

実験に用いた駆虫薬は一般名 praziquantel で化学名は 2-cyclohexylcarbonyl-1, 3, 4, 6, 7, 11 b-hexahydro-2-H-pyrazina 2, 1-a isoquin-4-one, その構造式, 分子式および分子量は前報<sup>11, 13)</sup> に掲げたとおりである. 試験に用いた薬剤は2%の割合に Cremophol EL® を含む生理食塩水中に懸濁液として筋肉中に注射した. 駆虫試験は寄生虫の種類別に次のようにして行なった.

#### 1. *Strobilocercus fasciolaris* (帯状囊虫)

治療試験に使用されたラットは Wistar/King 系で各試験に雌・雄同数が使用され, それぞれのラットには人工感染猫より得た猫条虫 (*Hydatigera taeniaeformis*) の老熟片節より採集した虫卵約300個を経口投与した.

治療試験は下記の2つに分けて行なった. すなわち第1の試験において, 6頭のラットに1回あたり praziquantel 100 mg/kg の薬用量を4時間おきに1日3回隔日に10回筋肉内に注射し, 最終注射より1週間後(感染後127日目)に7頭の対照ラットと共に剖検した.

第2の試験においては日量 200 mg/kg の薬用量を10日間32頭のラットに注射した. 治療ラットと対照ラットおのおの10頭, 治療ラット10頭と対照ラット12頭および治療ラット12頭と対照ラット10頭が最終注射後おのおの1, 4および6週間目に剖検され, 肝の重量と組織所見が調べられた.

## 2. *Mesocestoides corti* の tetrathyridium

実験に用いられた tetrathyridia は前もって実験的に感染せしめたマウスの腹腔より採集した。実験には CF-1 系の雌・雄同数80頭のマウスを使用し、それぞれのマウスには tetrathyridia を500あて生理食塩水中に懸濁液して、腹腔内に接種した。これらの感染マウスは20頭づつ4群に分けられ、2群のマウスはそれぞれ接種後20日から10日間 praziquantel を懸濁液として、日量 250 mg/kg あて注射された。対照と治療群の各1群は最終投与の日から10および30日目に剖検され、その都度、腹腔内容が採集された。これらの腹腔内容はシャーレ中でよく洗い、メスシリンダーに移し、30分後底部に沈澱した tetrathyridia の量を測定した。それぞれのマウスの肝が採集され、重量を測定した後、固定して組織学的検査に供した。

## 3. *Echinococcus multilocularis* (多包虫)

多包虫人工感染スナネズミの肝病巣より採集した包虫胚芽層を homogenizer にて細切し、0.2% trypsin 溶液で処理し、230メッシュの金網で濾過し、濾液を Hanks 溶液中で遠沈と再浮遊を繰り返してよく洗浄して、細胞浮遊液を作り、dba 系雄マウスの肝臓内に接種した。これらの感染マウスを用いて次の2つの治療試験が行われた。

第1の実験において、11頭のマウスに隔日に毎回 250 mg/kg の用量を4時間おきに1日3回注射した。治療マウスと対照の5頭は第5回投薬の翌日に剖検し、残りの治療および対照マウスの各6頭は感染後240日目、すなわち最終回(第10回目)の注射の日から1週間後に剖検した。

第2の実験では、20頭のマウスにそれぞれ500 mg/kg の日量を注射し、治療マウスと対照マウスの各6頭を最終注射日から4および6週後に剖検した。総ての肝臓はその重量が計量された後、組織学的検査に供された。

## 結 果

### 1. *Strobilocercus fasciolaris* に対する薬物の効果

治療したラットの肝重量は Table 1 に示す如く、対照のそれと比較して明らかに小さかった。剖検所見では、肝における strobilocercus のほとんどが、嚢胞は萎縮し、嚢胞を包む結合織は異常に肥厚し、嚢胞内体節の実質は不透明になって黄色に変色し、嚢胞液も黄色凝塊を入れて濁濁して見られるなど著明な退行性変化を示した。

組織所見では、1日3回隔日に10回注射を行なったラットにおいて、すべての strobilocercus の体節のククラは崩壊し、実質は変性または壊死に陥って、しばしば石灰化し、さらに体節全体が崩壊・消失するものが見られた。これらの嚢胞腔内には脂肪や凝塊物を入れ、虫体の変性が著明で嚢胞壁の崩壊したもものでは宿主結合織が嚢胞腔内に侵入し、器質化および癭痕化する所見が見られた。

また毎日1回の注射を10日間実施されたラットの肝における strobilocercus のほとんどが変性または壊死に陥り、上記と同様の組織所見を示すも、一部少数の strobilocercus に生き残るものが認められた。

### 2. *Mesocestoides corti* の tetrathyridia に対する薬物の効果

治療されたマウスの肝重量および腹腔内遊離 tetrathyridia の容積は Table 2 の如く明らかに少なかった。しかし肝および腹腔内より採集された tetrathyridia の大部分はなお生存していた。対照例の肝における tetrathyridia の発育は治療したマウスのそれと比べるとより活発であり、そうして対照群のそれぞれ2および4例は肝における tetrathyridia の急速な増殖により死亡した。治療したマウスの肝における tetrathyri-

Table 1. Effect of praziquantel against *Cysticercus fasciolaris* in rats

No. of days after treatment	Untreated rats				Treated rats		
	No. of rats	Weight of liver (g)		No. of rats	Weight of liver (g)		
		Range	(Mean ± SE)		Range	(Mean ± SE)	
7	7	35.1~77.3	(55.96 ± 6.65)	6*	10.0~30.5	(19.11 ± 2.73)	
7	10	18.9~48.0	(32.32 ± 3.45)	10**	11.3~24.5	(17.83 ± 1.30)	
28	10	13.4~51.3	(31.09 ± 1.74)	12**	13.0~25.6	(17.46 ± 1.25)	
42	12	12.8~66.7	(30.75 ± 5.24)	10**	7.8~21.3	(14.57 ± 1.27)	

\* The rats were given ten times on alternate days the treatment which a dose of 100 mg/kg of the drug was injected three times at intervals of four hours per days.

\*\* The rats were injected a dose of 200 mg/kg of the drug daily for ten days.

Table 2. Effect of praziquantel against *Mesocestoides corti* in mice

No. of days after treatment	Proportion of survivors	Weight of liver (g)		Volume of tetrathyridia in abdominal cavity (ml)	
		Range	(Mean ± SE)	Range	(Mean ± SE)
Untreated 10	18/20	2.7~5.9	(4.40 ± 0.23)	0.15~0.95	(0.60 ± 0.06)
	20/20	2.4~4.1	(3.05 ± 0.11)	0.05~0.30	(0.13 ± 0.01)
Untreated 30	16/20	4.1~6.1	(4.53 ± 0.15)	0.25~2.33	(1.09 ± 0.16)
	20/20	2.8~5.0	(3.77 ± 0.15)	0.04~0.50	(0.22 ± 0.04)

Table 3. Effect of praziquantel larval *Echinococcus multilocularis* in mice

No. of days after treatment	Untreated mice				Treated mice	
	No. of mice	Weight of liver (g)		No. of mice	Weight of liver (g)	
		Range	(Mean ± SE)		Range	(Mean ± SE)
1	5	2.3~ 9.2	(5.56 ± 1.18)	5*	2.7~ 8.9	(5.14 ± 1.31)
7	6	3.7~ 6.6	(5.06 ± 0.48)	6**	2.3~ 10.7	(5.73 ± 1.51)
28	10	2.2~ 13.5	(6.81 ± 1.39)	10***	2.3~ 14.5	(6.43 ± 1.27)
42	10	2.3~ 14.2	(7.37 ± 1.43)	10***	2.2~ 15.3	(7.13 ± 1.50)

\* The mice were given five times on alternate days the treatment which a dose of 250 mg/kg of the drug was injected three times at intervals of four hours per day.

\*\* The mice were given ten times on alternate days the treatment as above.

\*\*\* The mice were injected a dose of 500 mg/kg of the drug daily for ten days.

dia は対照のそれに比較して著明な変性所見を示した。

### 3. *Echinococcus multilocularis* に対する薬物の効果

治療および対照マウスの肝重量は Table 3 に示される如く有意な差は認められなかった。また治療および対照例を問わず、肉眼所見では肝における包虫病巣に異常は認められなかった。しかしながら組織所見では治療例の肝内包虫組織中の原頭節の一部にクチクラや実質の膨化や壊死・崩壊などの変性変化が低度ながら認められた。これらの変性所見は腹腔内に存在する包虫組織に著明であり、このほか包虫嚢胞の変性・崩壊に続いて結合織の侵入による器質化が認められた。

## 考 察

包虫をはじめ共尾虫や嚢虫を含む幼虫期条虫に対する駆虫試験での多くの陰性結果から、従来これらの嚢虫類に対する薬物療法は不可能視する傾向が見られた。しかるに近年 Hinz<sup>5)</sup> と Pelster<sup>9)</sup> が抗腫瘍性薬物である cyclophosphamide がマウスにおける帯状嚢虫に対して殺虫効果が見られることを報告するにおよび、この方面の研究がにわかに活発となってきた。さらに最近 Campbell and Blair<sup>2)</sup> は thiabendazole と cambendazole が、Thienpont ら<sup>14)</sup> は mebendazole が同様に帯状嚢虫に対して殺虫効果を示すことを報告した。今

回の実験においてわれわれは同嚢虫に対する praziquantel の著明な発育阻止と殺虫効果を確認した。このことは前報<sup>11,13)</sup> において観察された praziquantel の各種の成虫期条虫に対する著明な駆虫効果に加えて、さらに適用範囲を拡大する所見として興味もたれる。

*Mesocestoides corti* 感染マウスのうち、praziquantel により治療したマウスの肝重量と腹腔内に遊離する tetrathyridia の容積は対照のそれに比べて明らかに少なかった。しかしそれらのマウスの肝および腹腔内に認められる tetrathyridia の大部分はなお生存していることが確認された。以上の所見から、praziquantel は tetrathyridia の発育や増生を抑制はするものの、その効果は殺滅するまでに至らなかったものように思われる。このことは前報<sup>11,13)</sup> における *Mesocestoides corti* 成虫に対する著明な駆虫効果と必ずしも一致しなかった。

Praziquantel は二次包虫症マウスの肝重量と肝における包虫の組織所見に関する限り、包虫に対する発育抑制や殺虫効果は低いものであった。しかしながら、腹腔内に形成された遊離包虫組織では原頭節や嚢胞壁の変性・崩壊や周囲結合織による器質化など一連の変性所見が認められた。このことは肝における包虫組織が厚い結合織に包まれているのに対し、遊離包虫組織は薄い結合織に被われていることから、薬物の包虫組

織への浸透が前者より後において容易なためであろうと考えられる。

一方 Lubinsky<sup>7)</sup> は上記の带状囊虫に効力のあった cyclophosphamide と lucanthone がマウスにおける二次包虫の発育を抑制することを報告し、そうして Lubinsky ら<sup>8)</sup> は demecoline と dactinomycin が中毒量において抑制効果を示すことを報告した。最近 Krotov ら<sup>9)</sup> と Heath ら<sup>4)</sup> は mebendazole がそれぞれ多包虫と単包虫に対して殺虫効果を示したことを記載し、Campbell and Blair<sup>1)</sup> は带状囊虫に対し効果を認めた thiabendazole と cambendazole を大量投与した場合多包虫に対しても効果が見られることを報告した。しかし一方では Beal<sup>1)</sup> が thiabendazole の大量投与において多包虫に無効であったことを報告しており、また最近 mebendazole による人の多包虫症の治療例の失敗が聞かれ、上記数種の benzimidazole 誘導体の成績には多少の疑義がもたれる。一方前報<sup>11,13)</sup> における成虫期多包条虫、および今回の带状囊虫に対する praziquantel の著明な殺虫効果と対照的に多包虫に対する効果が低かったことは、虫体を包むクチクラ層の有無に関係があるように思われる。一方 Sakamoto<sup>10)</sup>、Sakamoto and Gemmell<sup>12)</sup> は培養包虫原頭節および囊胞に対する多数の薬物の殺虫効果を試験し、薬物を propylene glycol のような有機溶媒と共に投与すると、薬物のクチクラ層透過性が高まり、殺虫効果が高められることを報告した。従って包虫症に対しては本薬物のクチクラ層における透過性を高めるよう薬剤の改善の必要があるように思われる。

### 要 約

猫条虫幼虫(带状囊虫)人工感染ラットにそれぞれ praziquantel を1回 100 mg/kg あて、1日3回隔日に20日間、筋肉内に注射したところ、すべての囊虫を殺滅した。一方1日1回 200 mg/kg の薬用量を毎日10日間投与した場合には、ほとんどの囊虫が死滅したものの、一部の囊虫に生き残るものが認められた。

*Mesocestoides corti* 人工感染マウスに日量 250 mg/kg を10日間連日注射したところ、肝および腹腔内における本虫 tetrathyridia の発育抑制を示した。

人工感染二次多包虫症のマウスに日量 250 mg/kg の薬用量を1日3回、隔日に10および20日間注射したところ、肝内包虫に対する効果は低かった。しかしながら、治療したマウスの腹腔内の包虫組織には著明な変性変化が認められた。

稿を終るに臨み、 praziquantel の提供をいただきました Bayer 社および日本特殊農薬製造株式会社に感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) Beal, C. B. and Markell, E. K.: Experimental alveolar hydatid disease. Treatment failure with thiabendazole. *J. Amer. med. Ass.*, **198**, 193 (1966)
- 2) Campbell, W. C. and Blair, L. S.: Prevention and cure of hepatic cysticercosis in mice. *J. Parasit.*, **60**, 1049-1052 (1974)
- 3) Campbell, W. C. and Blair, L. S.: Treatment of the cystic stage of *Taenia crassiceps* and *Echinococcus multilocularis* in laboratory animals. *Ibid.*, **60**, 1053-1054 (1974)
- 4) Heath, D. D., Christie, M. J. and Chevis, R. A. F.: The lethal effect of mebendazole on secondary *Echinococcus granulosus*, cysticerci of *Taenia pisiformis* and tetrathyridia of *Mesocestoides corti*. *Parasitology*, **70**, 273-286 (1975)
- 5) Hinz, E.: Chemotherapeutische Untersuchungen mit Endoxan an der experimentellen Finneninfektion der weißen Maus. *Z. Tropenmed. Parasit.*, **15**, 332-336 (1964)
- 6) Krotov, A. I., Chernyaeva, A. I. and Kovarenko, E. P., Bayandina, D. G., Budanova, I. S., Kuznetsova, O. E. and Voskobonisk, L. V.: Experimental therapy of alveococcosis. Communication II. The effectiveness of some anthelmintic drugs in alveococcosis in laboratory animals. *Medskaya Parazit.*, **43**, 314-319 (in Russian with English summary) (1974)
- 7) Lubinsky, G.: Attempts at chemotherapy of *Echinococcus multilocularis* infection in rodents. *Canad. J. Zool.*, **47**, 1001-1004 (1969)
- 8) Lubinsky, G., Lee, C. F. and Baron, R. W.: Attempts at chemotherapy of *Echinococcus multilocularis* in rodents. II. A study of some parasiticides and cytostatic agents. *Ibid.*, **49**, 1301-1304 (1971)
- 9) Pelster, B.: Histologische Untersuchungen an der Cysticercose der Maus nach Endoxanbehandlung. *Z. Tropenmed. Parasit.*, **20**, 210-224 (1969)
- 10) Sakamoto, T.: Studies on echinococcosis XXV. Anthelmintic action of drugs on larval *Echinococcus multilocularis* in vitro. *Jap. J. vet. Res.*, **21**, 73-91 (1973)
- 11) Sakamoto, T.: Die anthelmintische Wirkung von Droncit auf adulte Bandwürmer der Arten *Hydatigera taeniaeformis*, *Mesocestoides corti*, *Echinococcus multilocularis*, *Diphyllobothrium erinacei* und *D. latum*. *Vet.-Med. Nachr.*, (1), 64-74 (1977)
- 12) Sakamoto, T. and Gemmell, M. A.: Studies on effects of drugs upon protoscoleces of *Echinococcus granulosus* in vitro I. Scolicidal effect of salicylanilide and bisphenol derivatives against *Echinococcus granulosus* in vitro. *Jap. J. vet. Res.*, **23**, 81-94 (1975)
- 13) 坂本 司・河野猪三郎・安田宣紘・北野良夫・戸越剛・山本康裕・岩下光隆・青山公治: 家畜寄生虫に対する

- る praziquantel の駆虫効果に関する研究 I. 各種家畜寄生虫に対する駆虫効果について. 鹿大農学術報告, No. 29, 81-87, (1979)
- 14) Thienpont, D., Vanparijs, O. and Hermans, L.: Anthelmintic activity of mebendazole against *Cysticercus fasciolaris*. *J. Parasit.*, **74**, 1052-1053 (1974)
- 15) Thomas, H. and Gönner, R.: The efficacy of praziquantel against cestodes in animals. *Z. Parasit-Kde*, **52**, 117-127 (1977)

### Summary

The cestocidal effect of praziquantel was investigated on 3 species of larval cestodes.

The intramuscular injection of praziquantel at a dose rate of 100 mg/kg body-weight (b.w.) 3 times daily for 10 alternative days killed all of strobilocerci of larval *Hydatigera taeniaeformis* in rats. The injection of a single daily dose of 200 mg/kg b.w. for 10 successive days caused degeneration and death of the majority of strobilocerci, however minority of them was left survived.

The drug given at 250 mg/kg b.w. daily for successive days inhibited growth and multiplication of tetrathyridia of *Mesocestoides corti* both in the liver and in the abdominal cavity of mice.

Experimentally infected mice with cysts of *Echinococcus multilocularis* in the liver were treated 3 times daily with 250 mg/kg b.w. of praziquantel for 5 and 10 alternative days. In a further trial, 500 mg/kg b.w. of praziquantel was given once a day for 10 consecutive days. Although low efficacy was shown by these regimens on echinococcal tissue in the liver, some degenerative changes in the echinococcal tissue in the abdominal cavity were established histologically.

### Explanation of figures

All figures are photomicrographs of specimens stained with hematoxylin-eosin. Figures 1~7 show degenerated strobilocerci of *Hydatigera taeniaeformis* in liver of mice treated with intramuscular injection of praziquantel, and figures 8~12 show degenerated hydatid tissue of *Echinococcus multilocularis* in the liver of mouse treated with the injection.

- Fig. 1. Degenerated strobilocercus.  $\times 75$   
 Fig. 2. Calcification in degenerated strobilocercus.  $\times 75$   
 Figs. 3 and 4. Collapsed scolex of strobilocercus surrounded with connective tissue.  $\times 75$   
 Fig. 5. Calcification and collapse of strobilocercus surrounded with connective tissue and fat.  $\times 75$   
 Fig. 6. Collapsed strobilocercus surrounded with connective tissue and fat.  $\times 75$   
 Fig. 7. Granulation-tissue in a place where a strobilocercus occurred before.  $\times 110$   
 Fig. 8. Degenerated hydatid cysts.  $\times 200$   
 Fig. 9. Transformed protoscoleces in hydatid cysts.  $\times 110$   
 Fig. 10. Degenerated protoscoleces in hydatid cysts.  $\times 110$   
 Figs. 11 and 12. Degenerated hydatid tissue surrounded with connective tissue.  $\times 110$



