

# 犬糸状虫(Dirofilaria immitis)症における肺の免疫組織学研究および免疫血清学研究の動向および展開

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	田中,公一 Atwell,R.B.
発行元	日本獣医師会
巻/号	43巻4号
掲載ページ	p. 231-236
発行年月	1990年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 犬糸状虫 (*Dirofilaria immitis*) 症における肺の免疫組織学 研究および免疫血清学研究の動向および展開

田中公一<sup>1)</sup> R. B. ATWELL<sup>2)</sup>

(平成 2 年 3 月 30 日受理)

Current Understanding of Immunohistopathology and Immunoserology in Relation to the  
Pulmonary Pathogenesis in Canine Dirofilariasis (*Dirofilaria immitis*)

K. TANAKA\* and R. B. ATWELL (\* Exploratory Laboratories, Chugai Pharmaceutical,  
Co., LTD. Gotemba-shi, Shizuoka 412)

犬糸状虫 (*Dirofilaria immitis*, 以下「Di」と略す。)は広く哺乳類、とくにイヌ属の血液に寄生する。ヒトへの感染もみられるが、イヌは主たる宿主であり、また最も重要な保虫動物と考えられている<sup>2)</sup>。Di 症の流行は大西洋、太平洋、地中海およびインド洋の温帯ならびに熱帯地方のほとんどの沿岸部、とくにアメリカ、オーストラリア、日本でみられている<sup>36)</sup>。本症の伝播には蚊が関与し、その蔓延を著しく左右する。また様々な種の異なる蚊が感染を媒介する。

Di 感染にともなう病変 (表 1) は種々の文献に詳細に記述されており<sup>12, 21, 36)</sup>、主に心<sup>34)</sup>、肺<sup>2, 35)</sup>、肝<sup>26, 57)</sup>および腎<sup>15, 33)</sup>などにみられる。とりわけ肺の動脈循環系が本寄生虫の第一標的であり、肺性心 (Cor pulmonale) は临床上、主として発現する症状である。その結果、肺動脈への多岐にわたる病変は本症に感染したすべてのイヌに共通して観察されるものであり<sup>36)</sup>、その肺病変の軽重は本症の予後を判定する上で最も重要な指標の一つとなる。

そういった観点から、ここでは本症の肺病変の発生機転・過程と免疫反応との関連性について述べ、あわせてこれらの研究手段としての免疫組織学および免疫血清学的研究の現況と今後の課題について整理した。

## 1. 本症の肺病変について

### (1) 発症の経過と機序

Di 感染による肺病変は、糸状の幼若な第 5 期子虫が

- 1) 中外製薬(株)探索研究所 (御殿場市駒門 1-135)
- 2) クィーンズランド大学獣医学部 (School of Veterinary Science, The University of Queensland, St. Lucia, 4069, Queensland, AUSTRALIA)

**Key Words** : Dirofilariasis, Dog, Immunohistopathology, Immunoserology, Lung.

肺動脈に血流を介して定着した時に始まる<sup>4, 36)</sup>。初期感染では虫体が末梢動脈に寄生し、それを中心に病変が起こるとされている<sup>25)</sup>。生存虫体に対する動脈内膜の増殖性反応は肺動脈への肉眼的病変を惹起する。動脈内膜炎は無傷の内皮でも起こり、管腔に突き出た隆線や絨毛性病変として現れる。いくつかの肺枝では病変がきちんと虫体を取り囲み、時には完全に管腔を塞いでしまうこともある。これらの病変は血小板や白血球が付着する内皮の分解物から構成されており、それに続いて内皮細胞に覆われる多くの平滑筋細胞からなる動脈内皮の増殖が起こる<sup>30)</sup>。本現象の原因の一つとして、虫体と内皮表面が直接接触するからと考えられている。ふつう Di は肺動脈にのみ限局して存在し、病変がその寄生部位に典型的に観察されるのであるが、生きた成虫が存在する場合、同様の病変がほかの動脈でも全身性に観察されるとの報告もある<sup>39)</sup>。肺動脈にみられる巣状の小病変は電子顕微鏡による検討で、感染犬の肺静脈においても観察されている<sup>45)</sup>。ATWELL ら<sup>6)</sup>は柔らかな塩化ポリビニール製の糸を人工虫体として肺に挿入することによって肺動脈症が作出できることを示した。しかしながら、病変が肺動脈になぜ集中するかについては明らかにされていない。

次の段階では、好酸球の浸潤あるいはそれよりやや少ない好中球の浸潤をともなう強い炎症性反応が惹起する<sup>2, 36)</sup>。管腔周囲の病変部位では、炎症性の巣状壊死がコラーゲン沈着の後にみられる。炎症性の浸潤は時々、外膜を通過して肺実質に及び、肉芽形成病変を惹起する。活発な炎症は時とともに次第に軽快し、不活発な動脈硬化症が目立った特徴としてみられる。血液循環路の下流では前毛細動脈の壁は肥厚し、管腔は狭くなる。動脈枝のこれらの部位は叢状構造をしていると推察される<sup>36)</sup>。感染を受けた肺は各部に障害を受けるが、その障害の程度は左右の後葉において最も重篤で、以下左右の中葉、前葉の順に軽くなる。そしてその病変は虫体の存在する

肺枝およびそれらの血管の支流に限局しているようである。Di の一生をつうじて、宿主体内では臨床的治療を含めた諸条件の変化にともない、Di のあるものは何らかの事情で殺されたりあるいは自然に死んだりする。死虫体が惹起すると考えられる病変は図1に示したようにいくつか考えられている。とくに血栓症は虫体が死亡したその部位に栓塞することによって起こる<sup>2)</sup>。小栓子は壁の絨毛の溝に形成される。しかし本症経過の後期における管腔内に起こる閉塞性の血栓症には変性死虫が関与している。虫体の断片は動脈を閉塞したり、肺の破損、あるいはしばしば動脈壁の壊死あるいは破壊を起こし、血栓形成時に際してその中核物となる<sup>18)</sup>。血栓形成時の機能的あるいは臨床的な意義は、増殖性の血管病変の程度あるいは肺動脈に沈着した虫体残屑の量が、血管の閉鎖度との間に直接的に比例する点にある。

(2) ミクロフィラリアによって惹起する肺病変

寄生虫体が成熟すると、精子、卵殻を含めた卵およびミクロフィラリア (以下「mf」と略す。) が成熟虫体よ

表1 犬糸状虫症の臨床および病理学的特徴

肺動脈症：動脈内膜および外膜への種々の型の病変、生虫および死虫との反応
血栓塞栓症：肺動脈の遠位閉塞症
肺炎：とくに動脈周囲性および免疫惹起性のオカルト例 間質性肺炎-免疫複合体の沈着
気管支炎：動脈周囲性肺炎に関連した例
肺の出血、ヘモジデロシス、線維症、崩壊および胸膜性退縮
胸膜病変：滲出液、癒着、気胸、血胸、側副血行路
DIC：とくに Caval syndrome 例の血小板減少症
血管内容血：無症状の全例でみられる 临床上 Caval syndrome 例でみられる
貧血：反応性、正染性、正常赤血球性および赤血球が機械的に脆弱化した例
Caval syndrome
うっ血性心麻痺および三尖弁逆流：二次的におこる肺性高血圧 二次的におこる虫体の縫絡
右心室肥大および、時に虚血性心筋障害
運動の強制時および脳・血管循環能の低下による失伸
重症のうっ血性右心麻痺にみられる左心室萎縮
肝充血および肝滲出液-腹水
腎：糸球体および尿管の病変、タンパク欠乏腎症
異所性感染症：CNS、眼、循環系、筋、梗塞、腹腔および胸腔
疾病にともなう一般的異化作用-筋の消耗
気管支・肺動脈間の連関、気管支および肺出血
ヘモジデロシス：肺、腎
ミクロフィラリア：無ミクロフィラリア状態-オカルト例-7タイプ 全身性小肉芽腫 (無症状?)
薬物反応：レバミゾール-多種および多岐 カパルソレート-肝、腎、血管周囲の組織 DEC 反応 駆虫薬処方後の反応 肺出血 炎症 血栓症および血栓塞栓症 動脈炎 (死虫により肉芽腫)

ATWELL (1986)<sup>7)</sup>より

り放出される。移植された生きた成熟虫は肺動脈の内膜病変の発症原因になるとされるが、mf の場合病変は惹起されず<sup>45)</sup>、それほど重篤な組織障害性を持たないとされている<sup>64)</sup>。しかしながら、SIMPSON ら<sup>46)</sup>は mf が腎糸球体の毛細血管全体の統合性に影響し、種々の疾病を引き起こすと指摘していることより、肺動脈病変部における mf の挙動と免疫反応に関する研究が行われる必要がある。

感染犬に比べて、オカルト感染犬では mf 特異抗体が過剰に存在する。免疫感作された血清は雌雄虫体の繁殖能力を抑制して、循環 mf を減少させている。さらに重要な点として肺毛細血管での mf に対する白血球の付着<sup>64)</sup>や、mf の取り込み<sup>65)</sup>あるいは mf の破壊<sup>61)</sup>の可能性が考えられている。白血球の付着は抗体依存性である。おそらく付着能を持つマクロファージが mf を攻撃すれば、循環している mf そのものは肺微小循環において移動が困難となり、mf-白血球複合体物として容易に除去されるのであろう。肺においてマクロファージに取り込まれた直後の mf は顆粒球、あるいは多数を占める好中球に取り囲まれる<sup>65)</sup>。その後、mf が死ぬとヒトにおける熱帯性好酸球増多症でみられるような、単球あるいは巨核球が混在する小肉芽が形成されその中心部位となる。

(3) 成熟虫の産生する生殖関連物によって惹起する肺病変

ごく最近の研究によれば、雌雄が寄生した場合の成熟雌虫は常に mf、受精能のない卵、mf ふ化後の卵殻、変性卵およびそのほかの生殖に関連する小片を産生し、体外へ放出している。加齢雌成虫では若齢雌成虫に比べ

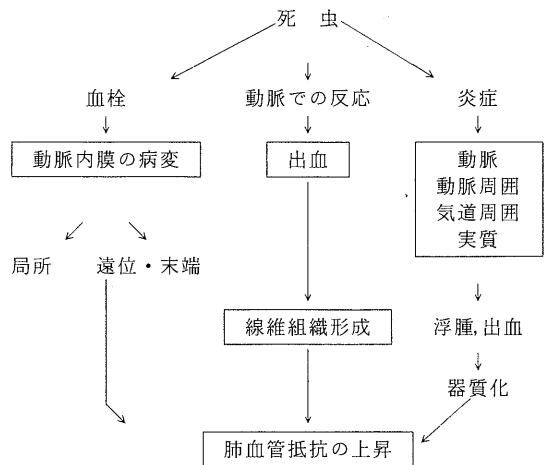


図1 死虫が関わって起こる病変：いずれの場合も血栓塞栓症、動脈周囲・実質の出血、肺動脈炎および肺実質炎をつうじて肺血管抵抗 (pulmonary vascular resistance: PVR) が上昇する。ATWELL (1986)<sup>7)</sup>より

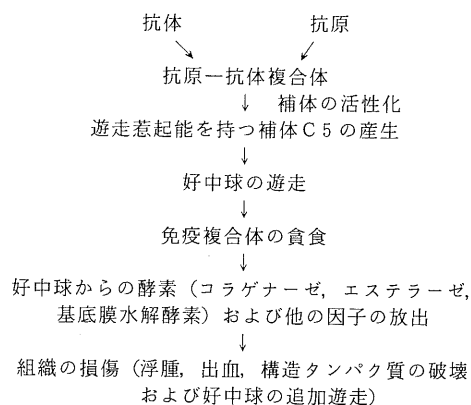


図2 免疫複合体が惹起する肺障害の免疫学的病因  
JOHNSON ら (1979)<sup>28)</sup> より

変性卵を高率に、また mf を低率に放出する傾向にある。変性卵は約 20～50 $\mu$  で mf よりも小さいが、肺末梢動脈へ栓塞を起こしやすいと考えられている<sup>31)</sup>。感染・発症の時間経過にともない、動脈 X 線像を観察すると末梢動脈が消失する、さらに変性卵と同じ大きさの正常卵を生理食塩液に浮遊し、正常犬の静脈に注入すると変性卵で起こると同様の栓塞が末梢動脈部に観察された。これらの観察から変性卵は栓塞形成ならびに肺病変形成の一因を担っていることが証明されている<sup>32)</sup>。いっぽう、Di の卵殻は非常に薄くて柔らかい<sup>14)</sup>。したがって、これらの卵殻は化生の過程で速やかに吸収され、肺動脈部の主要な障害にはなりにくいとされている<sup>32)</sup>。免疫複合体形成との関連性においては卵と精子はそのサイズが大き過ぎるため、複合体が形成されないと考えられる。免疫担当細胞は卵、精子あるいは時に同じ位の大きさにもなる卵殻を貪食するものと考えられる。卵および卵殻由来の微小破片が免疫複合体を形成する際の抗原物質となっているのかもしれない。Bilharzia haematobia の卵は宿主組織への病変若起の原因となることが知られている<sup>49)</sup>。したがって、Di の卵はイヌ Di 症の肺の病因として重要であるのかもしれない。

#### (4) 成熟虫の分泌物あるいは排泄物によって惹起する肺病変

成熟 Di 虫体は生存する限り、分泌物および排泄物を放出し続ける。血管内の病変は寄生部位の下流に発生する。このことは虫体が何らかの物質、おそらくは宿主と反応する分泌物および排泄物を放出しているからにはほかならない。血管炎は内皮への直接作用かあるいは宿主の免疫系を活性化することによって惹起するのかもしれない。免疫複合体や IgE を同定しようとする研究が行われているにもかかわらず、活発な浸潤性病変がみられる場合、これらの物質の同定ができず、虫体抗原の存在す

ら不明となる<sup>36)</sup>。したがって、同様に分泌物あるいは排泄物に対する免疫組織学の研究が卵、卵殻および精子と関連して実施されることが強く望まれる。

#### (5) 免疫反応に関連する肺血管炎

ヒトでの肺血管炎は免疫複合体の沈着および肺動脈壁の外傷によって惹起されるといわれる<sup>38)</sup>。動物のモデルを用いた研究でも IgG 免疫複合体が炎症性の急性肺障害を惹起することが確認されている。

循環している免疫複合体は肺動脈あるいは肺実質において沈着物として観察されており、BRENTJEN ら<sup>11)</sup>、JOHNSON and WARD<sup>27)</sup> および KAPLAN ら<sup>29)</sup> はヒトの肺における IgG 免疫複合沈着物が肺血管炎の原因であると報告している。またその免疫複合体は第 5 補体 (C5)、反応性酸素ラジカル<sup>27, 41)</sup> および好中球<sup>55, 59)</sup> の作用によって生成されることを、そして、ある部位では免疫複合体の慢性的な暴露の結果生じる障害が間質性繊維化を起こすことがよく確かめられている (図 2)<sup>24, 37)</sup>。JOHNSON ら<sup>27)</sup> はまた IgG 免疫複合体に似た IgA 免疫複合体がラットの肺に急性障害を起こし得ることを示してきた。

獣医学領域では、免疫に関連した肺疾患の研究報告は非常に少ない。最近の報告によると好酸球性の顆粒球肺炎と診断されたイヌでは、マクロファージ中にある免疫グロブリンが免疫複合体として利用されるようである<sup>58)</sup>。ATWELL らは光学顕微鏡を用いた研究で、マクロファージ、好中球およびリンパ球が肺胞へ透過すると、その中隔細胞の萎縮、核の肥大およびそれに続く肺胞中隔の肥厚が起こることを観察した。そしてさらに、肺胞中隔肥厚の機序が免疫に関連していると報告した<sup>5)</sup>。したがってこの部位の抗原、抗体、補体あるいは免疫複合体などの免疫関連物の分布状況を調べるのが近年期待されつつある。

## 2. 本症における宿主と寄生虫との免疫学的関係について

### (1) 液性免疫 (IgE, IgG および IgM の産生)

Di がその宿主であるイヌに感染した場合の免疫に関する初期変化は液性免疫の増強である。IgE 抗体の著明な増加が他の蠕虫症と同様に、イヌの Di 症においてもほかの免疫グロブリン抗体に比べて起こることが知られている<sup>22, 60)</sup>。IgE 誘導抗原や IgG 誘導抗原は最近 Di 虫体から抽出され、これらの同定に利用されている。その結果、IgE 誘導抗原は Di 虫体の総排泄腔部分に特異的に存在し、IgG 誘導抗原の分布する場所とは異なった場所に分布し<sup>45)</sup>、これらの両抗原は Di が宿主へ寄生する際に異なった役割を持つことが示唆された<sup>16)</sup>。とくに、IgE 誘導抗原が総排泄腔に豊富に存在することはその抗原が総排泄腔から分泌していることを意味しており、こ

の抗原が分泌・排泄抗原 (ES 抗原) であることが示された。

TSUKIDATE<sup>56)</sup> は、宿主抗体 IgE が虫体に近づく前に、ES 抗原が虫体表面全体を遮蔽し、IgE の攻撃から虫体を保護し、I 型アレルギー様の免疫反応から虫体を守っているか、さもなければ ES 抗原が宿主体内を循環する時、先に抗体と結合して免疫複合体を生成し、この免疫複合体が宿主側の免疫機能を阻害することによって虫体の生存をやすくしていると考察している。IgG 抗体は IgE 抗体に遅れるが、免疫感作を受けると迅速に、そして短期間に出現する。とくに Di 感染時にはよく出現することが知られている<sup>60)</sup>。IgM 抗体は IgG 抗体、IgE 抗体よりも微量しか産生されず、これらよりも遅れて出現し、とくに生体への 2 回目の刺激の後に産生される<sup>17)</sup>。一般に IgG 抗体出現の意義は通常みられる免疫反応と理解されているのに対して、IgM 抗体に関しては不明の点が多い。

### (2) 細胞性免疫

細胞性免疫反応は増強しない<sup>20, 21, 60, 66)</sup>ばかりか、時には低下するという報告<sup>19)</sup>がみられる。その報告によると、リンパ球とくに末梢血の B リンパ球の有糸分裂能の低下がその原因となることが示され、この現象が Di の生存を長引かせるための潜在的な機序として考えられている。最近では、イヌの Di 症でも多形核白血球数が増加するのが観察されている<sup>44, 47, 50)</sup>。この結果は Di 抽出液を好中球と好酸球との両者に反応させた場合、好中球の浸潤は惹起するが好酸球の浸潤は惹起しないという観察事実と一致していた<sup>42)</sup>。彼らはこの現象が寄生虫体から放出された好中球遊走因子 (NCF) によって起こると示唆している。したがって、イヌ Di 症における好中球の主たる浸潤が Di 寄生に対する細胞性免疫反応であり、好酸球は好中球に比べて浸潤能は弱いものとみなされる。さらに好中球浸潤は寄生虫自身に障害性を示さず、それがかえって宿主内で生存するための有益な反応となる。

### 3. 本症における免疫学的研究の現状と課題

以上、本症における肺病変の病因とそれにまつわる免疫反応との関係について整理してきたが、以下にこれらの研究を支えてきた免疫学的研究の現状を中心に紹介したい。

近年開発された免疫学的手法を用いて行われたイヌ Di 症に関する研究のうち、先駆的な報告を表 2 にまとめた。寄生虫感染例の血清あるいは血漿中の抗体、抗原、補体などはこれまで頻りに定量的に測定されている。これらのうちで、とりわけ注目されるのは Enzyme-linked immunosorbent assay 法 (ELISA) である。WONG<sup>66)</sup> や GRIEVE<sup>20)</sup> はイヌ Di 症の例に初めて、本法を利用して抗体価を測定している。感度の高い点で優れて

いるが、その的中率は当初期待された程高くなかった。いっぽう、抗原を測定する方法の有用性が高まりつつあり<sup>8)</sup>、WEIL ら<sup>63)</sup> は、ELISA 法による抗原検出法がイヌ Di 症に関してはいずれの診断方法より感度、特異性の点で優れていると主張した。今後の広範な利用をつうじて有用性が評価されるだろう。電気泳動技術を組み合わせた血清タンパクの分析をイヌ Di 症で試みた報告は非常に少ない。これまでにわずかに SNYDER ら<sup>50)</sup> と BARSANTI ら<sup>9)</sup> が報告しているに過ぎない。SNYDER らは血清中の総タンパクとグロブリン分画には mf が寄生するイヌで有意に増加し、この増加が主に  $\gamma$ -グロブリン分画の増加によるものとしている。BARSANTI らは Di 感染イヌで  $\beta$ -グロブリン分画濃度が有意に増加し、その結果総タンパク含量が増加すると主張した。両報告の結果が相違した理由はまだ不明である。どちらの主張が正しいのか、さらに突っ込んだ研究が必要である。しかも、イヌの Di 感染時の血清について免疫電気泳動法を用いて行った分析的なデータもない。WEIL ら<sup>62)</sup> は免疫電気泳動法のうち、抗原の量的検討ができるように改良した Counter immuno electrophoresis (CIE) を行う際に、Di 抗原増多血清を用いることによって、これまでの診断方法を上回る優れた判定成績が得られると主張した。Western blot 法は血清中の抗体の分布を調べることができ、近年イヌ Di 症の研究に用いられ始めた。しかしながら、これまでに提出された報告はきわめて少なく、BOTO ら<sup>10)</sup> および TAMASHIRO ら<sup>51)</sup> による実験的感染例の感染経過中あるいは感染の強弱と抗原組織の変化を検討した報告がみられるだけである。

SNYDER ら<sup>50)</sup> および SUMI<sup>47)</sup> は好酸球の観察を、また

表 2 新しい免疫手法を用いた犬糸状虫症に関する先駆的研究

手法名	発表者と発表年	計測および観察対象	文献番号
液性免疫			
ELISA	WONG(1981)	抗体(定量的)	66
	GRIEVEら(1981)	抗体(定量的)	20
	WEILら(1985)	抗原(定量的)	63
	MATSUMURAら(1986)	補体(定量的)	41
CIE	WEILら(1984)	抗原(定量的)	62
Western blot	BOTOら(1984)	抗体(定性的)	10
	TAMASHIROら(1984)	抗体(定性的)	51
免疫組織			
Immuno-fluorescent	MANTOVANIら(1967)	ミクロフィラリア	40
	CASEYら(1972, 1975)	イヌの腎	13
	ABRAMOWSKYら(1981)	イヌの腎, 虫体	1
	AIKAWAら(1981)	イヌの腎	3
	HAYASAKI(1983)	虫体	23
Immuno-peroxidase	WEILら(1985)	虫体	63
	TANAKAら(1989)	イヌの肺	53

GRIEVEら<sup>19)</sup>およびWEILら<sup>60)</sup>はリンパ球遊走能の変化を検討し、細胞性免疫応答に関する研究の先駆けとなった。

虫体あるいは組織標本中の抗原および抗体を観察する染色法としてImmuno fluorescent法(IF)が最初に開発され、MANTOVANIら<sup>40)</sup>は本法を用いてmfを染色することに成功した。本法は手技が簡便であるために1970年代にはよく用いられた。CASEYら<sup>13)</sup>、ABRAMOWSKYら<sup>1)</sup>およびAIKAWAら<sup>3)</sup>はイヌDi症の腎病変部に免疫蛍光の陽性反応を証明した。いっぽう、肺病変については、腎病変部を検索したついでに肺組織を観察した症例のうち、たまたま2例にIgM抗体、IgG抗体およびC3を観察したという報告<sup>1)</sup>のみみられるのみであった。また、HAYASAKI<sup>23)</sup>は本法を用いて虫体の構造を詳細に観察した。その後、Immuno peroxidase法(PAP)を導入し観察が行われるようになり、虫体に対する染色が成功した<sup>48, 63)</sup>。それにもかかわらず、Di感染イヌの肺組織中に抗原、抗体、あるいは免疫複合体を観察したという報告はみられなかった。著者らはごく最近、PAP法を用いてこれらの免疫関連物質のうち抗原、抗体あるいは補体をDi感染イヌの肺組織中に観察し<sup>52)</sup>、その分布の状態を多数の感染症例を用いて整理した<sup>53)</sup>。さらにはDi感染犬を個体別に感染の軽重・進行度、肺組織中の免疫関連物質の分布状態、血清抗体価および血清抗体の分子量別変化について総合的に検討を加え、感染の軽重・進行度に応じた免疫組織学ならびに免疫血清学的変化が存在することを確認した<sup>54)</sup>。

以上、免疫学的研究方法の側面からDi症研究の動向を記述したが、それぞれの手法には長所・短所があり、個々の方法だけからでは総合的な情報を得ることは困難である。したがって、今後は例えば免疫病理学と免疫血清学の両者の方法を組み合わせた総合的な研究などが必要と考えられる。

#### 4. おわりに

本症全般に関する研究の歴史は長く、すでに一つの大きな概念が先人による業績をもとに築かれている。いっぽう、最近の免疫学の急速な発展に呼応して、様々な寄生虫症発生における免疫反応の関与がクローズアップされつつある。そういった観点から、ここではイヌDi症の肺病変の発症機転と免疫反応との関連性について整理し、現在までの免疫組織学および免疫血清学的研究の進展状況と今後の課題について免疫学的研究方法の紹介を交えながらまとめた。本稿が当核研究分野の発展に微力ながらも寄与できれば幸いである。

#### 引用文献

1) ABRAMOWSKY, C. R., POWERS, K. G., AIKAWA, M. and

- SWINEHART, G.: *Am. J. Pathol.*, 104, 1~12 (1981).  
 2) ADCKOCK, J. L.: *Am. J. Vet. Res.*, 22, 655~662 (1961).  
 3) AIKAWA, M., ABRAMOWSKY, C., POWER, K. G. and FURROW, R.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30, 84~91 (1981).  
 4) ATWELL, R. B.: *Aus. Vet. J.*, 56, 157~159 (1980).  
 5) ATWELL, R. B., SUTTON, R. H. and MOODIE, E. W.: *Vet. Res. Commun.*, 6, 59~62 (1983).  
 6) ATWELL, R. B., BUORO, I. B. J. and SUTTON, R. H.: *Vet. Rec.*, 116, 539~541 (1985).  
 7) ATWELL, R. B.: *Canine dirofilariasis-clinical update. in The veterinary annual 26th issue*, GRUNSELL, C. S. G. et al. eds., Scientehnica, Bristol, England 250~263 (1986).  
 8) ATWELL, R. B.: *コンパニオン・アニマル・プラクティス*, 8, 66~69 (1987).  
 9) BARSANTI, J. A., KRISTENSEN, F. and DRUMHELLER, F. B.: *Am. J. Vet. Res.*, 38, 1055~1058 (1977).  
 10) BOTO, W. M. O., POWERS, K. G. and LEVY, D. A.: *J. Immunol.*, 133, 975~980 (1984).  
 11) BRENTJENS, J. R., O'CONNELL, D. W., PAWLOWSKI, I. B., HSU, K. C. and ANDRES, G. A.: *J. Exp. Med.*, 140, 105~125 (1974).  
 12) CALVERT, C. A. and RAWLINGS, C. A.: *Diagnosis and management of canine heartworm disease. in Current veterinary therapy VIII*, KIRK, R. W. bds., 348~359, W. B. Saunders Co., Philadelphia 348~359 (1983).  
 13) CASEY, H. W., OBECK, D. K. and SPLITTER, G. A.: *Abstract of heartworm symposium '71*, 31~32 (1972).  
 14) CHRISTENSON, R. O. and JACOBS, L.: *XII. Nemic Ova. in An introduction to nematology*, CHITWOOD, B. G. and CHITWOOD, M. B. eds., Univ. Park Press, Baltimore (1950).  
 15) DALTON, G. O., BRUCE, L. A. and HUBER, T. L.: *Am. J. Vet. Res.*, 32, 2087~2089 (1971).  
 16) FUJITA, K. and TSUKIDATE, S.: *Jpn. J. Parasitol.*, 26, 17~34 (1977).  
 17) GBAKIMA, A. A., EL-SADR, W. and GREENE, B. M.: *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 80, 305~308 (1986).  
 18) GILES, R. C. and HILDEBRANDT, P. K.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 163, 236~238 (1973).  
 19) GRIEVE, R. B., GEBHARDT, B. M. and BRADLEY, R. E.: *Int. J. Parasitol.*, 9, 275~279 (1979).  
 20) GRIEVE, R. B., MIKA-JOHNSON, M., JACOBSON, R. H. and CYPRESS, R. H.: *Am. J. Vet. Res.*, 42, 66~69 (1981).  
 21) GRIEVE, R. B., LOK, J. B. and GLICKMAN, L. T.: *Epidemiol. Rev.*, 4, 220~246 (1983).  
 22) HAYASAKI, M., NAGASAKI, K., KOBAYASHI, S. and OHISHI, I.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43, 909~914 (1981).  
 23) HAYASAKI, M.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 45, 113~115 (1983).  
 24) HENSON, P. M. and COCHRANE, C. G.: *J. Exp.*

- Med., 133, 554~571 (1971).
- 25) HONAGA, S., KOGURE, K., HAMASAKI, H., TAGAWA, M. and KUROKAWA, K.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 40, 603~614 (1987).
  - 26) JACKSON, R. F., VON LICHTENBERG, F. and OTTO, G. F.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 141, 117~121 (1962).
  - 27) JOHNSON, K. J. and WARD, P. A.: *J. Clin. Invest.*, 54, 349~357 (1974).
  - 28) JOHNSON, K. J., CHAPMAN, W. E. and WARD, P. A.: *Am. J. Pathol.*, 95, 795~843 (1979).
  - 29) KAPLAN, R. L., SCHOCKET, A. L., KING, T. E., MAULITZ, R. M., GOOD, J. T. Jr., STANFORD, R. E. and SAHN, S. A.: *Am. J. Pathol.*, 100, 115~129 (1980).
  - 30) KEITH, J. C., SCHAUB, R. G. and RAWLINGS, C.: *Am. J. Vet. Res.*, 44, 181~186 (1983).
  - 31) KIHARA, S.: *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 40, 172~179 (1987).
  - 32) KIHARA, S.: *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 40, 260~267 (1987).
  - 33) KLEI, T. R., CROWELL, W. A. and THOMPSON, P. E.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 608~618 (1974).
  - 34) KNIGHT, D. H.: *Adu. Vetu. Sci. Comp. Med.*, 21, 107~149 (1977).
  - 35) KNIGHT, D. H.: *Proceedings of the heartworm symposium '80*, 55~62, Veterinary medicine publishing Co., Bonner Springs, Kansas, (1981).
  - 36) KNIGHT, D. H.: *Heartworm disease. in Textbook of veterinary internal medicine. Vol. I., 2nd ed.*, ETTINGER, S. J. eds., 1097~1124, W. B. Saunders Co., Philadelphia (1983).
  - 37) LARSEN, G. L., MITCHELL, B. C. and HENSON, P. M.: *Am. Rev. Respir. Dis.*, 123, 434~439 (1981).
  - 38) LEAVITT, R. Y. and FAUCI, A. S.: *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134, 149~166 (1986).
  - 39) LIU, S. K., DAS, K. M. and TASHJIAN, R. J.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 148, 1501~1507 (1966).
  - 40) MANTOVANI, A. and SULZER, A. J.: *Am. J. Vet. Res.*, 28, 351~354 (1967).
  - 41) MATSUMURA, K., KAZUTA, Y., ENDO, R., TANAKA, K. and INOUE, T.: *J. Helminthol.*, 60, 239~243 (1986).
  - 42) NAKANISHI, H., HORII, Y., FUJITA, K. and OHASHI, M.: Abstracts of the 38th south branch meeting., *Jpn. J. Parasitol.*, 35 (suppl.), 41~42 (1986).
  - 43) OHARA, H., IKEDA, T., TANI, S. and FUJITA, K.: *Jpn. J. Exp. Med.*, 55, 167~175 (1985).
  - 44) SHARMA, M. C. and PACHAURI, S. P.: *Vet. Res. Commun.*, 5, 295~300 (1982).
  - 45) SHAUB, R. G. and RAWLINGS, C. A.: *Am. J. Vet. Res.*, 41, 1082~1089 (1980).
  - 46) SIMPSON, C. F., JACKSON, R. F. and BRADLEY, R. E.: *Proceedings of the 2nd university of Florida symposium on canine heartworm disease '71*, University of Florida, Gainesville, 39~42 (1972).
  - 47) SUMI, M.: *Jpn. J. Parasitol.*, 19, 282~289 (1970).
  - 48) SUZUKI, T., AOKI, N. and YAMASHITA, T.: *Jpn. J. Parasitol.*, 30, 517~526 (1981).
  - 49) SYMMER, W. S. C.: *J. Pathol. Bacteriol.*, 9, 237~239 (1904).
  - 50) SNYDER, J. W., LIU, S. K. and TASHJIAN, R. J.: *Am. J. Vet. Res.*, 28, 1705~1710 (1967).
  - 51) TAMASHIRO, W. K., POWERS, K. G., LEVY, D. A. and SCOTT, A. L.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34, 292~301 (1985).
  - 52) TANAKA, K. and ATWELL, R. B.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 447~451 (1990).
  - 53) TANAKA, K. I. and ATWELL, R. B.: 第107回日本獣医学会総会抄録, 107 (1989).
  - 54) TANAKA, K. I. and ATWELL, R. B.: 第108回日本獣医学会総会抄録, 108 (1990).
  - 55) TILL, G. O., JOHNSON, K. J., KUNKEL, R. G. and WARD, P. A.: *J. Clin. Invest.*, 69, 1126~1135 (1982).
  - 56) TSUKIDATE, S.: Abstracts of the 34th south branch meeting of Jpn. Parasitology Society., *Jpn. J. Parasitol.*, 32 (1982).
  - 57) VON LICHTENBERG, F., JACKSON, R. F. and OTTO, G. F.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 141, 121~128 (1962).
  - 58) VON ROTZ, A., SUTER, M. M., METTLER, F. and SUTER, P. F.: *Vet. Rec.*, 118, 631~632 (1986).
  - 59) WARD, P. A., TILL, G. O., KUNKEL, R. G. and BEAUCHAMP, C.: *J. Clin. Invest.*, 72, 789~801 (1983).
  - 60) WEIL, G. J., OTTESEN, E. A. and POWERS, K. G.: *Exp. Parasitol.*, 51, 80~86 (1981).
  - 61) WEIL, G. J., POWERS, K. G., PARBUONI, E. L., LINE, B. R., FURROW, R. D. and OTTESEN, E. A.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31, 477~485 (1982).
  - 62) WEIL, G. J., MALANE, M. S. and POWERS, K. G.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33, 425~430 (1984).
  - 63) WEIL, G. J., MALANE, M. S., POWER, K. G. and BLAIR, L. S.: *J. Immunol.*, 134, 1185~1191 (1985).
  - 64) WONG, M. M.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 13, 66~77 (1964).
  - 65) WONG, M. M., SUTER, P. F., RHODE, E. A. and GUEST, M. F.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 163, 133~139 (1973).
  - 66) WONG, M. M.: *Proceedings of the heartworm symposium '80*, 41~47, Veterinary medicine publishing Co., Bonner Springs, Kansas (1981).