

肝吸虫 (*Clonorchis sinensis*) の生物学的 ならびに病理学的研究

II. 小動物への感染実験

吉村 裕之 大森 康正

(秋田大学医学部寄生虫学教室)

(昭和47年4月13日 受領)

はじめに

肝吸虫 (*Clonorchis sinensis*) の終宿主動物への感染実験については小林 (1912, 1915) によるネコ, 家兎, モルモットを用いてのそれをはじめとして, 武藤(1922), Faust & Khaw (1927), Hsü & Wang (1938), Komiya & Kawana-Tajimi (1953), 堀 (1965), 横川ら(1965), 吉村ら(1965), 蔡 (1966), Rhee & Seo (1968), Chou & Gibson (1970), 吉村ら (1972) 等による犬, 猫, 家兎, モルモット, ハムスター, ラットおよびマウスについての報告がなされている。しかしながらこれら終宿主動物における感受性および虫体の発育ならびに宿主の病理学的所見の差違から, いわゆる Host-parasite relation の観点より比較検討のなされた報告は甚だ少ない。

著者ら (1972) は第1報において, マウス内肝吸虫の発育とその運命について長期間にわたる観察を行なつてこの様な観点から考察したが同時に以下述べるが如き数種動物について比較検討し知見を得たのでその概要を報告する。

実験材料および方法

肝吸虫メタセルカリア (以下 Mc とする) の分離および実験動物への感染方法は既報 (吉村ら 1972) に準ずる。

使用動物: イヌ, 家兎, モルモット, ハムスター, ラット, およびマウス (ddy 系) の以上6種類。

剖検と観察: 目的に応じて感染後一定期間内に剖検し, 肝臓および総胆管, 胆嚢 (ラットでは胆嚢はない) を切開し虫体を検出し, 一部は寄生部位を虫体と共に病理組織学的所見観察のため型の如くパラフィン包埋切片, H. E 染色, ワンギーソン染色, PAS 染色を行なつた。

虫体の観察: 回収された虫体より動物種別による感染率, 回収率 (与えた Mc 総数に対する回収された虫体数の百分率) を求め, 虫体はカルミン染色標本により形態学的観察 (虫体の大きさ計測, および器官の発育状態など) を行なつた。

成 績

1. 各種動物における虫体回収率

3~102匹を1群とする6種類の動物群について肝吸虫 Mc を犬では1匹当たり平均1,400コ; 家兎では714コ; モルモット, 240コ; ハムスター, 35コ; ラット, 37コ; マウス, 34コ宛経口投与し, 感染後30日より660日の期間 (但しマウスとハムスターを除き, その多くは感染後90~120日) に剖検し, 虫体の回収率を求めた。その結果は Table 1 に示したとおりで, 犬では16.8%; 家兎, 35.9%; モルモット, 49.8%; ハムスター, 21.3%; ラ

Table 1 Infection of *Clonorchis sinensis* in various animals

Animals	No. of animals used	No. of metacercariae given (average)	Duration of infection	Recovery rates (%)
Dog	3	4,200 (1,400)	106—125	16.8
Rabbit	14	10,000 (714)	44—660	35.9
Guinea pig	5	1,200 (240)	90—120	49.8
Hamster	20	700 (35)	180—360	21.3
Rat	30	1,100 (37)	90—140	28.8
Mouse	102	3,500 (34)	30—270	1.7

Table 2 Measurement of the adult worms of the liver fluke recovered from the experimentally infected animals

Animals	No. of worms examined	Duration of infection	Body length	Body width	Oral sucker	Ventral sucker
Dog	20	180	8.53	2.10	0.36×0.29	0.31×0.30
Rabbit	30	190	9.41	2.10	0.39×0.31	0.34×0.31
Guinea pig	18	160	11.85	2.43	0.34×0.32	0.34×0.32
Hamster	27	170	11.21	2.65	0.46×0.39	0.39×0.36
Rat	40	180	8.79	2.52	0.35×0.29	0.29×0.28
Mouse	5	180	5.79	1.30	0.268	0.247

ット, 28.8%; マウス, 1.7%であった。虫体の回収率はモルモットで最も高く, 家兎, ラット, ハムスター, 犬, マウスの順で, マウスでは著るしく低い値を示した。

2. 宿主別による虫体の大きさの比較

宿主別に得られたほぼ同時期 (90~120日) の虫体 5~40虫について虫体の大きさ (体長, 体幅, 口吸盤, 腹吸盤) を計測した。Table 2はその平均値を示している。ハムスターでは最も大きく体長平均 11.85mm で以下家兎, ラット, 犬, マウスの順であった。マウスは既報 (吉村ら, 1972) の如くその発育は感染後 180日の成熟虫体で体長 5.79mm, 体幅 1.30mm と極めて小さかった。

マウスでは同時期においてなお, 未熟虫体のみとめられる事について既に報告したとおりで, その大きさは同時期成熟虫体の約 1/5 に過ぎなかつた。マウスを除き何れの動物からの虫体の生殖器官はよく発達し子宮内虫卵の充実をみとめた (Plates. 11~19)。

3. 宿主別の病理学的所見

肝吸虫症にみられる病変は宿主動物の種類はもとより, 投与数, 感染期間および寄生部位により必ずしも一様でなく, 同一時期においても個体差が著るしいことは既に多数の先人の指摘するところである。一般的に認められる変化は総胆管の拡張, 壁の線維性肥厚と肝内小胆管の増生 (偽胆管形成) でそのために肝小葉構造は乱れ, 縮小して, いわゆる肝硬変に移行する種々の過程が明らかに認められる。肝細胞はしばしば空胞変性, 顆粒変性, 脂肪変性等を来し胆汁色素塊はしばしば類洞内にうつ滞し, 黄疸所見をみとめることがあつた。

なおいずれの動物においても程度の差があるが虫体寄生胆管周囲の肉芽組織内にはしばしば多数のリンパ球集積による濾胞の形成, 一部形質細胞や好酸球, 組織球が新生細血管と密接な関連においてみとめられる場合が多

い。

1) 犬肝吸虫症: 多数の Mc 投与, 長期寄生の場合でも肉眼的所見は肝断面の胆管壁の肥厚とその周囲肝組織の硬化像を除いては一般的に乏しく組織学的所見は上述の総胆管および肝内胆管の胆厚増殖像が主体である (Plate 1)。

2) 家兎肝吸虫症: 肝葉の辺縁部にはしばしば灰白色癍痕様病巣をみとめ変色が著るしく周囲肝組織と明らかに識別される。断面は囊腫様内腔を呈し内に液状物と肝吸虫の寄生をみとめる。肝内胆管および周囲肝細胞所見は前述の如くであり, 胆汁色素の類洞内うつ滞をみとめる。胆嚢内にしばしば虫体寄生をみとめ胆嚢上皮に軽度のカタル性病変をみとめる (Plates 2, 3)。

3) モルモット肝吸虫症: 肝葉辺縁部には灰白癍痕様, 囊腫様膨隆をみとめ, これら内腔に多数の虫体および黄白色液状物をみとめ。組織学的には胆管上皮の腺腫様増殖像, 偽胆管の形成著るしく線維性肉芽組織の増生による肝小葉の萎縮離断により典型的な肝硬変像をみとめる (Plate 4)。

4) ハムスター肝吸虫症: 病巣部は総胆管と肝門部胆管およびその周囲組織に限局しており, しばしば胆嚢内に多数の虫体をみとめ腫大し組織学的にカタル, 化膿性胆嚢炎を呈する場合がみとめられる (Plates 5, 6, 7)。

5) ラット肝吸虫症: 病変は肝吸虫寄生部位たる総胆管のみにほとんど限局している。肝組織の変化は極めて少ない。従つて胆管上皮の腺腫様増殖と壁の線維性肥厚が主体である (Plate 8)。

6) マウス肝吸虫症: 既報 (吉村ら, 1972) に詳述した如く感染の成立した感染後 90日以後のマウスにおいて肝辺縁部の灰白色癍痕様, 囊腫様病巣の発現がみとめられ, その組織学的所見はモルモットにおけるものと極めて似ている。しばしば拡大した腔内に変性死滅過程にある虫体の存在をみとめることについても既に述べた

(Plate 9, 10).

考 察

肝吸虫の終宿主動物の感受性を比較する目的で著者は犬、家兎、モルモット、ハムスター、ラットおよびマウスの6種類の動物群を用い、一定数の肝吸虫 Mc を経口投与し、虫体の回収率と各群ほぼ同一時期における虫体の発育(大きさ)から比較検討すると共に、宿主の差違による肝臓の病理所見についても比較観察した。これらの成績をいま一度総括して考察を加えたい。

1) 虫体回収率と発育について

個々の動物群についての虫体回収状況は実験成績のところで述べたように、モルモットの49.8%を最高に以下家兎、ラット、ハムスター、犬の順でマウスでは最も低く1.7%をえた。他方感染後ほぼ同時期に回収された虫体の大きさをみるとモルモットで最大を示し、以下ハムスター、家兎、ラット、犬、マウス(但し成熟虫体)の順であつた。以上の結果から肝吸虫に対する感受性はモルモットにおいて最も高く、家兎、ハムスター、ラット、ついで犬であり、マウスにおいては最も低いことが明らかにされた。虫体の回収率を求める場合とくに投与 Mc の成熟度、冷蔵庫保存期間による Mc の活力など Mc 側の生物学的諸条件により回収率が大きく左右されることは河井(1936)らの指摘するところで、他方宿主動物の大きさ(肝臓の大きさ)など解剖学的諸条件にも影響されることが考慮されなければならない。動物の感受性については、さきに Wykoff (1958) は家兎、モルモット、ラットに一定数の肝吸虫 Mc を経口投与し、その回収率は家兎で平均35%、モルモット22%、ラット6.0%を得たとし、ラットでは著るしく感染性が低いとした。蔡(1966)はラットのみについて仔細検討した結果その感染率、回収率は極めて高く、投与 Mc 数が30~50コの場合は常にほぼ30%の回収率が得られ、発育も極めて良好で感染後20日前後で成熟し得ることを明らかにした。堀(1965)もまた犬、家兎、モルモット、ラットについて、その回収率は犬より順に45.7%、25.2%、61.9%、14.0%であつたとし、モルモットは最も感受性が高いとした。さきに蔡はラットに肝吸虫 Mc を5コ、10コ、30コ、50コおよび100コ宛経口投与したところ、その感染率は5コ群で80%、10コ群以上すべて100%であり、他方回収率では5コ群で21.6%以下順に34.0%、30.7%、24.5%、12.1%であつたが、これを著者のマウスに経口投与した場合の感染率と回収率と比べてみると著るしい差違がみとめられることからマウスはラ

ットに比べて、その感受性がはるかに低いことが想像される。

2) 病理学的所見について

肝吸虫症の病理学的所見については桂田(1891, 1892-3, 1899)の人体肝吸虫症の病理解剖学的ならびに病理組織学的研究をはじめ、動物肝吸虫症のそれについての報告は極めて多い(岩田 1938; 河井 1936; 桑村 1958; Hou 1955; Hou & Pang 1964; Chon & Gibson, 1970)。

総じてその病理学的所見の特徴は虫体寄生部位たる総胆管、肝内小胆管における増殖性病変による肝間質の線維化で、よつておこる肝実質の二次的変性、萎縮に結果する肝硬変の像である。然しながらこれらはその程度は投与 Mc 数と感染期間さらには動物種による差違が大きく関与していることが明らかにされた。ことにマウスにおける病変の病理学的意義については虫体の機械的刺激によるのみならず長期寄生にもとづく抗原性刺激に対する免疫病理学的応答として理解されることを述べた。本実験で得られた他の動物群における間質増殖性病変に関与する各種細胞群、なかんずくリンパ球や形質細胞反応、時に中等度好酸球浸潤や血管炎等間葉性反応をみとめる事は興味深い。

む す び

一定数の肝吸虫 Mc を犬、家兎、モルモット、ハムスター、ラットおよびマウスの6種類の動物群に投与し、虫体の回収率と、ほぼ同時期の成熟虫体の発育(大きさ)を比較し、更に宿主の肝吸虫症病変を病理学的に比較観察し、以下の結果を得た。

1. 虫体回収率ではモルモットに最も高く49.8%、ついで家兎35.9%、ラット28.8%、ハムスター21.3%、犬16.8%、マウス1.7%でマウスにおいて著るしく低かつた。
2. 感染後90~120日前後の各動物群から検出された虫体の大きさを計測した結果、モルモットで最大、ついでハムスター、家兎、ラット、犬およびマウスから得た虫体の順であつた。
3. 虫体回収率とその発育(大きさ)の動物間にみられた差違から肝吸虫に対する感受性はモルモットにおいて最も高く、マウスにおいて最も低いことが明らかとなつた。
4. 病理学的所見、ことに肉眼的ならびに組織学的所見には動物種によりかなりの差違があつたが総じて肝吸虫寄生部位たる総胆管、および肝内胆管の増殖性病変、

肝間質の線維化によつて引き起される肝細胞の二次的変性と肝硬変への種々の過程がみとめられた。

擱筆するに当り、常にご鞭撻をいただいた千葉大学医学部寄生虫学教室横川宗雄教授に謝意を表すると共に本実験は主として同教室諸兄の協力を得てなされたことを附記して謝意を述べたい。

なお本論文要旨は第41回日本寄生虫学会総会宿題報告「肝吸虫症の実験病理学的研究」として著者の1人吉村によつて報告された。

文 献

- 1) Chou, S. T. and Gibson, J. B. (1970) : Histochemistry of biliary mucins and the changes caused by infestation with *Clonorchis sinensis*. J. Path., 101, 185-197.
- 2) Faust, E. C. and Khaw, O. K. (1927) : Studies on *Clonorchis sinensis*. (Cobbold). Amer. J. Hyg., Monographic series, 8, 1-207.
- 3) 堀真智子 (1965) : 肝吸虫の排卵数に関する研究, 新潟医学会雑誌, 79 (2), 1~18.
- 4) Hou, P. C. (1955) : The pathology of *Clonorchis sinensis* infestation on the liver. J. Path. Bact., 70, 53-64.
- 5) Hou P. C. and Pang, L. S. C. (1964) : *Clonorchis sinensis* infestation in man in Hong Kong. J. Path. Bact., 87, 245-250.
- 6) Hsü, H.F. and Wang L. S. (1938) : Studies on certain problems of *Clonorchis sinensis* IV. Note in the resistance of cysts in fish flesh. The migration route and the morphology of the young worm in the final host. Chin. Med. J., Suppl. 2, 385-400.
- 7) 岩田繁雄(1938) : 肝臓ヂストマ症に関する実験的研究 (9) 病理組織学的観察 (1) 実験的肝臓ヂストマ症家兎の病理解剖学的所見の一般的記述, 実験消化器病学, 13, 84~103.
- 8) 桂田富士郎(1891) : 肝臓ヂストマに基因する肝臓囊腫の実験, 東京医学会雑誌, 5, 397~403.
- 9) 桂田富士郎 (1892~3) : 肝臓ヂストマの病理, 同誌, 6, 745-768 ; 832-836 ; 881-890 ; 986-992 ; 1043-1049 ; 1146-1149 ; 7, 230-233 ; 287-289 ; 464-468.
- 10) 桂田富士郎(1899) : 籠形二口虫病論増補. 同誌, 13, 956-962.
- 11) 河井為海(1936) : 実験的肝臓ヂストマ病家兎感染各期における含水炭素新陳代謝機能の推移と其の肝臓に於ける病理組織学的変化との関係, 日病会誌, 26-711.
- 12) 小林晴治郎(1912) : 肝臓ヂストマの研究(本報), 細菌学雑誌, 202, 1, 66.
- 13) Kobayashi, H. (1915) : On the life-history and morphology of the liver-distome (*Clonorchis sinensis*). Mitt, Hochschule Keijo, 1, 252-284.
- 14) Komiya, Y. and Kawana-Tajimi, T. (1953) : The development of the excretory system of *Clonorchis sinensis* in its definitive host. Jap. J. Med. Sci. & Biol., 6, 571-575.
- 15) 桑村猛(1958) : 実験的肝吸虫症の研究とくに肝における組織化学的变化について (肝吸虫3) 四国医学雑誌, 12, 28-57.
- 16) 武藤昌知(1922) : 動物に寄生する肝臓ヂストマの生活期間について, 東京医事新誌, 2292, 1656-1660.
- 17) Rhee, C. H. and Seo, B. S. (1968) : The host-parasite relations of *Clonorchis sinensis* in the mouse. Studies on the development of *Clonorchis sinensis* in mouse. The Korean J. Parasit., 6, 101-109.
- 18) 蔡昭雄(1966) : ラットにおける肝吸虫 (*Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875, Looss, 1907) の感染実験, 寄生虫誌, 15, 246-254,
- 19) Wykoff, D. E. (1958) : Studies on *Clonorchis sinensis* III. The host-parasite relations in the rabbit and observation on the route of migration in the definitive host. J. Parasit., 44, 457-460.
- 20) 横川宗雄, 小山博著, 吉村裕之, 蔡昭雄(1965) : 肝吸虫症の実験的治療, (1) 1, 4-bis-trichloromethyl benzol の動物肝吸虫症に対する治療効果, 寄生虫誌, 14, 233-242.
- 21) 吉村裕之, 荒木国興, 蔡昭雄(1965) : 肝吸虫の生理, (1) 肝吸虫のラット体内における發育について, 寄生虫誌, 14, 437-444.
- 22) 吉村裕之(1972) : 肝吸虫症の実験病理学的研究, 寄生虫誌, 21補, 18-19.
- 23) 吉村裕之, 大森康正, 石郷岡清基(1972) : 肝吸虫の生物学的ならびに病理学的研究, 虫体のマウス内發育と運命, 寄生虫誌, 21, 127-134.

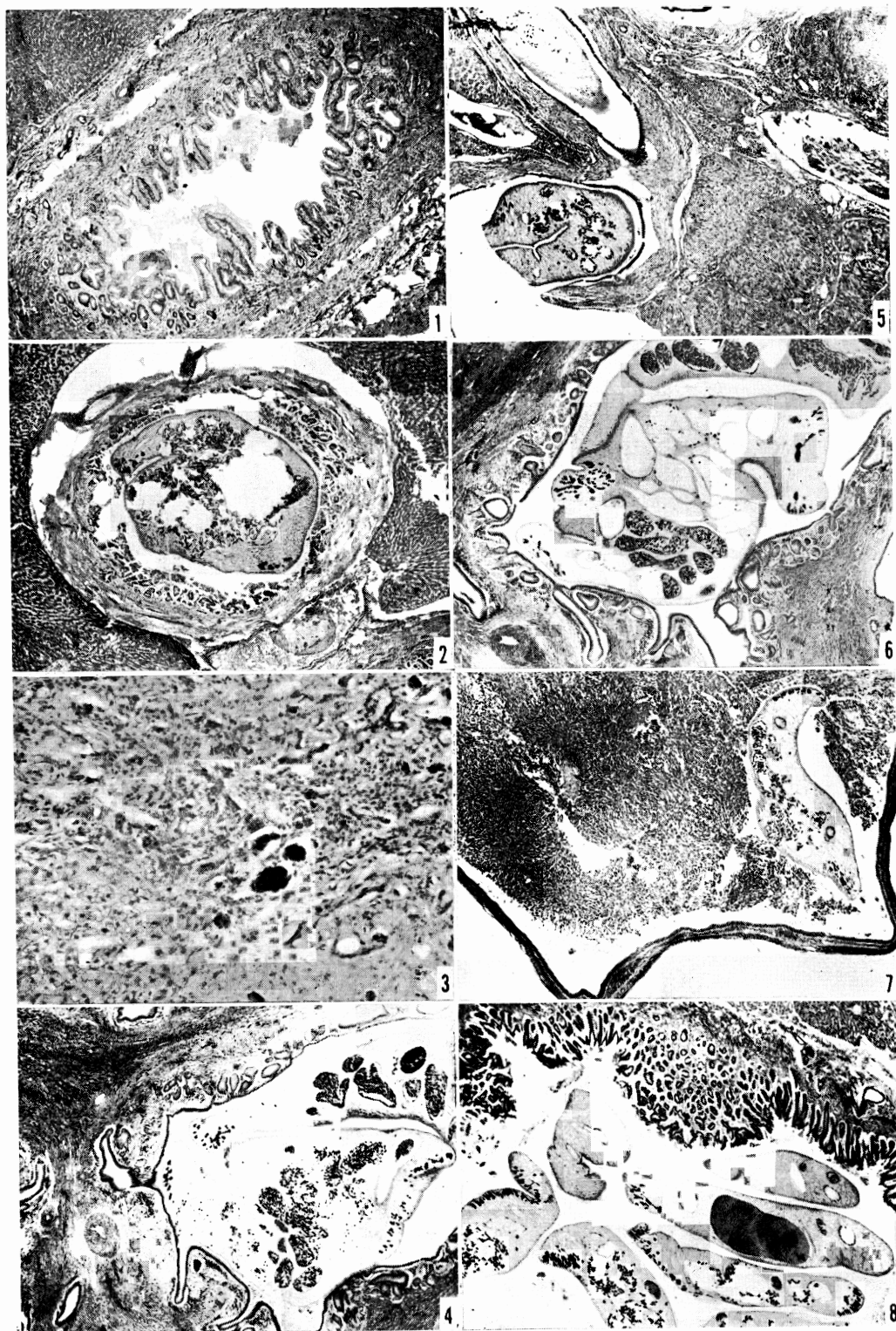
AbstractBIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL STUDIES ON *CLONORCHIS SINENSIS*
II. OBSERVATION ON THE RELATIVE SUSCEPTIBILITY AND
PATHOLOGIC FINDINGS OF CERTAIN LABORATORY ANIMALS

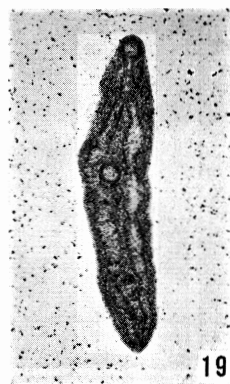
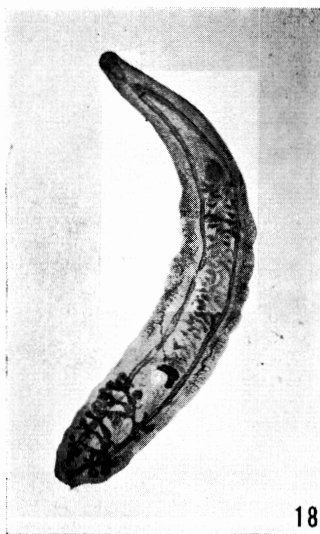
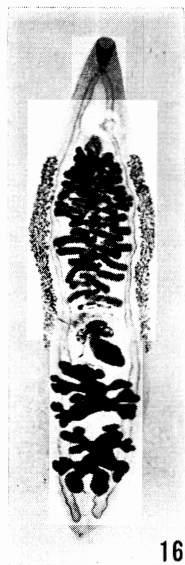
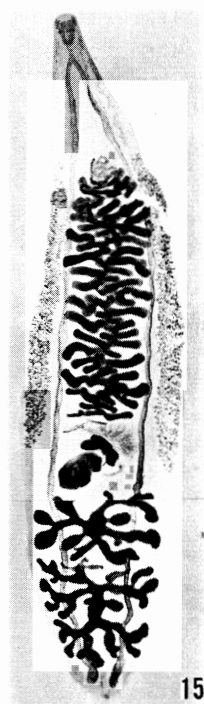
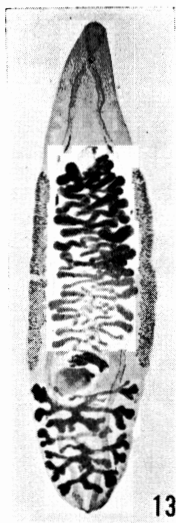
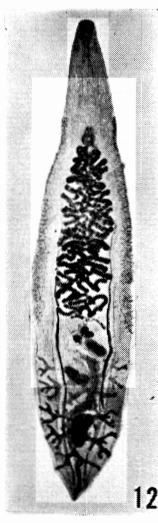
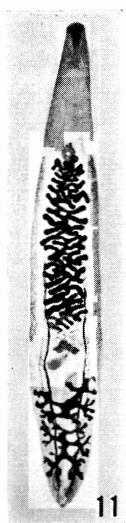
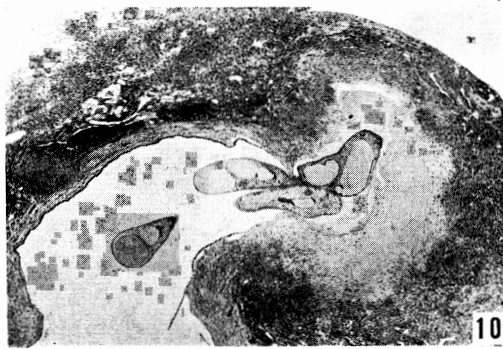
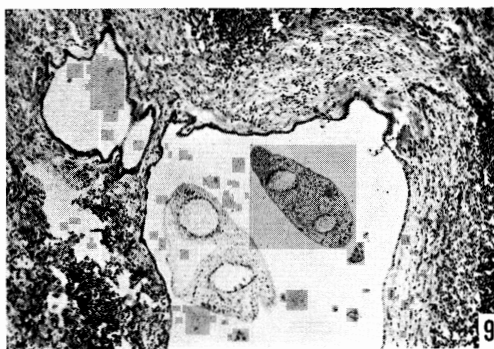
HIROYUKI YOSHIMURA AND YASUMASA OHMORI

(Department of Parasitology, School of Medicine, Akita University, Akita, Japan)

In order to determine the relative susceptibility of the animal host to *Clonorchis sinensis*, 6 animals groups composing of 3 dogs, 14 rabbits, 5 guinea pigs, 20 hamsters, 30 rats and 102 mice each given a certain number of metacercariae of *C. sinensis* were used to compare the recovery rates and development of the worm. As show in Table 1, the recovery rates of the worm in each group mostly sacrificed at 90 to 120 days of infection were 16.8% in dogs, 35.9% in rabbits, 49.8% in guinea pigs, 21.3% in hamsters, 28.8% in rats and 1.7% in mice. The measurement of the adult liver flukes recovered from the animals at about 180 days of infection indicated that the worm from guinea pigs was the largest and one from mice was the smallest, as shown in Tabe 2. From the comparison of the worm, it was assumed that guinea pigs was most susceptible, hamsters, rabbits, rats and dogs were relatively well susceptible and mice were little susceptible to *C. sinensis*.

As to the pathological findings of the liver of animals with clonorchiasis, there were some variations or differences of macro- and microscopic changes among the animal hosts, relating to the number of metacercariae given and duration of the infection. The marked dilatation and adenomatous hyperplasia of the bile ducts showing significantly thickening associated with the infiltration of lymphocytes, plasma cells, histiocytes and fibroblasts were similarly recognized in the experimentally infected animals. The etiology of the pathological changes of the liver of the host animals with clonorchiasis was discussed from the immunopathological aspect.





Explanation of Plates

- 1-10 : Histopathological findings of the liver of the infected animals. (Host ; Number of metacercariae given ; Worm age)
1. Marked hyperplasia of the epithelium and fibrous thickening of the wall of the intrahepatic biliary duct. (Dog ; 800 Mc ; 180 days)
 2. Adenomatous proliferation of the epithelium of the biliary duct, harboring the adult worm. (Rabbit ; 500 Mc ; 160 days)
 3. Cirrhotic appearance associated with the vacuolar degeneration of the liver parenchym and stagnation of the bile pigment in sinusoid. (High power of Photo 2.)
 4. Singifcant fibrosis of the liver tissues and cystic dilatation of the intrahepatic bile duct. (Guinea pig ; 300 Mc ; 180 days)
 5. Typical liver cirrhosis associated with marked proliferation of interstitial connective tissues. (Hamster ; 40 Mc ; 140 days)
 6. Cystic dilatation of the intrahepatic bile duct and proliferation of the second-order biliary ducts. (Hamster ; 40 Mc ; 180 days)
 7. Abscess associated with the inflammation of the gall bladder harboring the worm. (Hamster ; 40 Mc ; 145 days)
 8. Marked adenomatous proliferation of the common bile duct. (Rat ; 30 Mc ; 180 days)
 9. Cystic dilatation of the intrahepatic biliary duct harboring disintegrated worm. (Mouse ; 30 Mc ; 180 days)
 10. Marked fibrosis around intrahepatic biliary duct harbored the degenerating worm. (Mouse ; 30 Mc ; 180 days)
- 11-19. Measurement of the liver fluke. (Host ; Worm age)
11. 8.04×1.26 mm (Dog ; 120 days)
 12. 9.30×2.06 mm (Rabbit ; 80 days)
 13. 9.05×2.32 mm (Rabbit ; 80 days)
 14. 11.18×2.14 mm (Guinea pig ; 140 days)
 15. 12.03×2.78 mm (Hamster ; 160 days)
 16. 8.82×2.21 mm (Rat ; 140 days)
 17. 9.34×1.83 mm (Rat ; 180 days)
 18. 5.81×11.1 mm (Mouse ; 50 days)
 19. 0.97×0.21 mm (Mouse ; 180 days)