

肺吸虫 (*Paragonimus westermani*) の体外飼育(II) 脱囊幼虫 (excysted metacercariae) の *in vitro* における発育状況

横 川 宗 雄\*

千葉大学医学部寄生虫学教室

大 島 智 夫\*\* 木 畑 美 知 江\*\*

国立公衆衛生院衛生微生物学部寄生虫室

(昭和 32 年 6 月 13 日受領)

## まえがき

著者等は第 1 報 (1955) において、人工的に脱囊させた肺吸虫メタセルカリアの *in vitro* での飼育法及び各種 medium 中での生存期間その他について報告した。本篇においては、上記実験中、203日間と云う長期間に亘つて生存せしめた幼虫を固定染色後その内部臓器の分化発育状況を観察したので報告する。

## 実験方法

## 脱囊幼虫：

モクツガニ *Eriocheir japonicus* より分離した肺吸虫のメタセルカリア (*Paragonimus westermani*) をペニシリン (100  $\mu$ /cc) 及びストレプトマイシン (100  $\gamma$ /cc) 含有 Tyrode 液で数回洗滌後、約 20ヶ宛内径 8 mm、高さ 100mm の小試験管に 3 cc の Tyrode 液 (PH 8.0) と共に入れ綿栓をし、39~40°C の恒温水槽に 10~12 時間放置しておく、その 80% 以上が脱囊し活発に運動している。

## Medium：

猫の血清を前述の如くペニシリン及びストレプトマイシン含有 Tyrode 液 (PH 7.4) で 2 倍に稀釈した。

\* MUNEO YOKOGAWA, \*\* TOMOO OSHIMA & MICHIE KIHATA: Studies to maintain excysted metacercariae of *Paragonimus westermani in vitro* II. Development of the excysted metacercariae maintained *in vitro* at 37°C. for 203 days. (\* Department of Parasitology, School of Medicine, Chiba University, Chiba, \*\* Divison of Parasitology, Institute of Public Health, Tokyo, Japan)

## 血球浮遊液：

猫の拘縁酸加血液 1 cc を生理食塩水で 3 回洗滌した後、その沈渣に、1 cc の Tyrode 液を加えて血球浮遊液とし、medium 1 cc に対し血球浮遊液を 1 滴 (1/40 cc) 宛加えた。

## 飼育法：

最初の 3 週間は内径 8 mm 高さ 100mm 小試験管に 2 cc の上記 medium と共に 5 匹宛脱囊幼虫を入れ、密栓をし 37°C の孵卵器に入れ、4 日乃至 5 日おきに medium を交換した。交換に際しては、虫体は容器よりとり出して、Tyrode 液で数回洗滌した後新しい容器に移した。飼育してから 3 週以後になると幼虫もかなり大きくなるので、小試験管の代りに直径 4 cm のカレルフラスコを用い、その中に 2 匹宛の幼虫を 3 cc の medium と共に入れ、前記血球浮遊液を medium 1 cc につき 1 滴の割で加えた。medium の交換は、カレルフラスコに入れたからは 3 日おきとした。

## 固定及び染色：

飼育開始後 203 日目の未だ活発に運動している虫体を取り出して、スライド上にのせ、カバーガラス (18×18 mm) をのせて軽く圧平しながら 10% ホルマリン水で固定した後、Delafield's haematoxylin の全体染色標本を作製した。

観察した虫体は 3 匹で、接眼測微計で計測後 Abbe の描画器を用いて写生した。

## 観察成績：

染色標本における各種主要臓器の計測値は次の如くである。

Table I. Measurements of the three worms which lived up for 203 days *in vitro*.  
(fixed with 10% formalin solution and stained with delafield's haematoxylin.)

	No. 1	No. 2	No. 3
Body length	2.740 mm	3.085 mm	3.950 mm
Body width	1.123 mm	1.300 mm	1.340 mm
Oral sucker	0.320 × 0.250 mm	0.328 × 0.250 mm	0.340 × 0.260 mm
Pharynx	0.220 × 0.165 mm	0.240 × 0.170 mm	0.25 × 0.182 mm
Ventral sucker	0.360 × 0.385 mm	0.454 × 0.395 mm	0.458 × 0.400 mm
Ovary	0.150 × 0.140 mm	0.160 × 0.150 mm	0.165 × 0.152 mm
Testis	R.	0.092 × 0.080 mm	0.094 × 0.082 mm
	L.	0.125 × 0.090 mm	0.013 × 0.100 mm
Width of intestine	0.130—0.194 mm	0.112—0.185 mm	0.13—0.190 mm

#### 主要臓器所見：

主要臓器について見ると、腸管は成虫におけると同じく体の両側をほぼ対称的に迂曲走行しており、永吉(1942)の指摘している如く、かなり著明に3つの彎曲を示している。

睾丸は体の中央部より後方において、背面に近く左右のもの相対して位している。左睾丸は長径0.092 mm～0.094 mm、幅径0.080～0.083 mm 右睾丸は0.092～0.094 mm、幅径0.080～0.083 mmを示し、左睾丸は6ヶ、右睾丸は5ヶの指状突起を示しており、何れからも上方に向つて小輸精管の走行がみられた。

#### 卵巣：

体の中央より稍々後方より、腹吸盤の右後縁に近く位し、短根状の6本の突起よりなるのが認められた。

#### 子宮：

体の中央より稍々後方に卵巣と相対して腹吸盤の左後縁に近く位しているが、未だ細い屈曲した管状の器管として認められ、膨大な嚢状部の形成及び卵の形成は認められない。然しその始部が卵形成腔に始まり糸球状に迂曲走行し、末端が腹吸盤後方正中線上にある生殖門に開口しているのを追求出来た。

#### 卵黄巣：

未だ卵黄巣及びその輸管の形成は認められなかった。

以上の各種臓器の形態及びその位置を腹面より観察したのが Fig. 1で、Fig. 3は背面より子宮、卵巣及び睾丸の形態を拡大したものである。Fig. 2は脱嚢直後のメタセルカリアで、Fig. 1と同拡大のものでその大きさの関

係を示した。

Photo. 1, 2及び3は顕微鏡写真により、卵巣、子宮及び睾丸の形態を示した。

#### 考 察

人体寄生蟻虫の幼虫 或いは成虫を *in vitro* で飼育しようとする試みは既に多くの人達によつてなされて来ているが、未だ充分満足すべき結果を得たものはなかった。特に幼虫期のものを *in vitro* で飼育し、著明な発育成長がみられたと云う報告はない。著者等の本実験における如く、肺吸虫の脱嚢幼虫を *in vitro* にて飼育し6ヶ月以上生存させ得、然かも最初の大きさの10数倍に達し内部の諸臓器にも著しい、分化発育が認められたと云うことは恐らく最初の例であると考えられる。然しその成長発育速度は生体内におけるそれと比較するとかなり緩慢であるが、更に長期に亘つて飼育すると共に、medium内に各種の栄養素その他を補給することにより成熟の状態に迄至らしめ得ると考えられる。とに角肺吸虫幼虫の体外飼育に始めて成功したことは、今後肺吸虫の生理を研究する上にのみならず、治療の面でも薬剤の効果を *in vitro* で試験することが可能となり、今後の研究に寄与する所が大きいと考えられる。

#### 結 論

1) 肺吸虫被嚢幼虫を脱嚢せしめ、猫血清の Tyrode 氏液稀釈液に猫血球を加えた medium 中で長期間に亘り飼育し発育せしめる事が出来た。

2) 上記 medium 中に 203日飼育した虫体は、脱嚢直後の10数倍の大きさに達し、固定染色標本により内部

Fig. 1

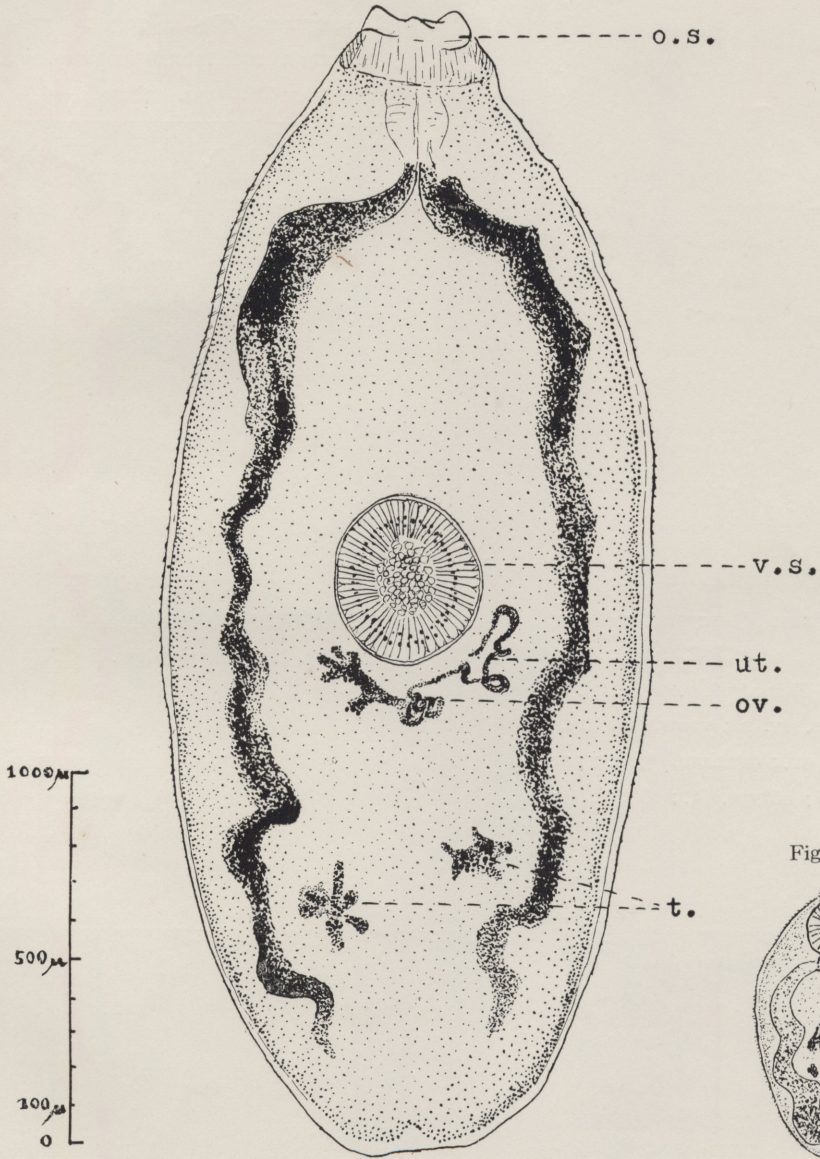


Fig. 2

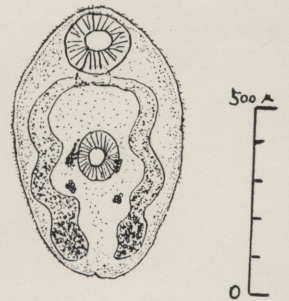


Fig. 1 Development of the excysted metacercaria maintained *in vitro* at 37°C for 203 days. Ventral view.

Fig. 2 Excysted metacercaria. Ventral view.

o. s. ; oral sucker, v. s. ; ventral sucker, ut. ; uterus, ov. ; ovary, t. ; testis

Fig. 3

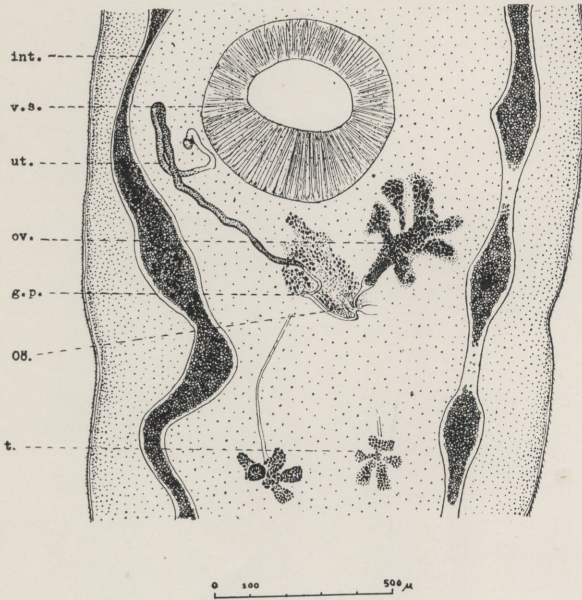


Fig. 3 Development of excysted metacercaria maintained *in vitro* at 37°C. for 203 days.

Dorsal view.

int. ; intestine, v. s. ; ventral sucker,  
 ut. ; uterus, ov. ; ovarium, g. p. ; genital  
 pore, oö ; oötype, t. ; testis,

Development of the excysted metacercaria maintained *in vitro* at 37°C for 203 days. (photo. 1—3.)

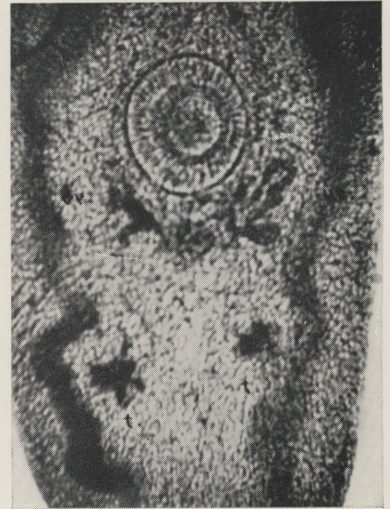


Photo. 1. Ventral view. (× 700)

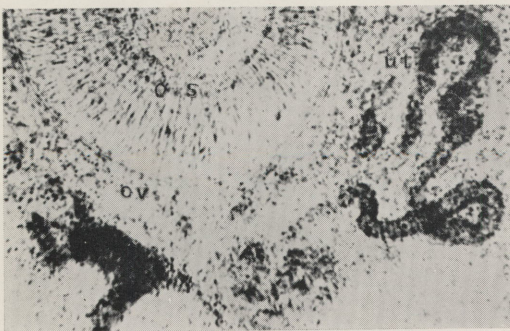


Photo. 2. Ovary and uterus. (× 00)

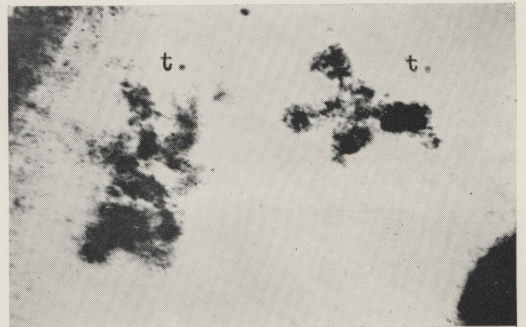


Photo. 3. Testis. (× 800)

構造を観察した結果、各種臓器は著しく分化發育し、子宮、卵巢、辜丸等は既に成虫に見られる形態学的特徴を示していたが、虫卵の形成迄には至らなかつた。

3) 今後更に、長期に亘り飼育して完全な成熟虫体を得る事も不可能ではないと考えられる。又更に改良することによりその發育速度を宿主的の場合に近づける事も可能と考えられる。

#### 文 献

- 1) 横川宗雄・大島智夫・木畑美知江(1955) : 肺吸虫 *Paragonimus westermani* の体外飼育。(1) 脱囊幼虫 (excysted metacercaria) の *in vitro* における生存期間について, 寄生虫学雑誌, 4(4), 388-393. —2) 永吉康裕(1942) : 肺チストマ *Paragonimus westermani*, Kerbert の構造に就て, 台湾医学会雑誌, 41(8) 1012-1044. —3) 横川定(1951) : 肺吸虫及び肺吸虫症に関する最近の知見, 最新寄生虫病学 II, 医学書院.

#### Summary

The method of maintaining the excysted metacercariae of *Paragonimus westermani* *in vitro* and the survival period in cultures were discussed in the previous paper. (Yokogawa *et al.* 1955). The morphological studies on the worms have lived up for 203 days *in vitro* were carried out in this experiment. The worms were fixed with 10% formaline solution and stained with Delafiel's haematoxylin. The sizes of the internal organs were shown in Table 1., and the morphological features of the uterus, ovary and testis were shown in Fig. 1 and 3. (drawn with the aid of the camera lucida). The excysted metacercaria was shown in Fig. 2 for the comparison to the culture worm. The photographs of the worms were also taken as shown in Photo 1, 2 and 3.