

肺 吸 虫 の 生 理 (III)

ウエステルマン肺吸虫 (*Paragonimus westermani* Kerbert, 1878) の組織化学

——特に糖質, 核酸及びフォスファターゼの分布——

吉 村 裕 之 横 川 宗 雄

千葉大学医学部寄生虫学教室

(昭和 32 年 11 月 25 日受領)

ま え が き

ウエステルマン肺吸虫 (*Paragonimus westermani* Kerbert, 1878) の形態, 発育, 病理等に関しては, 既に数多くの先人の研究によつて凡そその全貌が明らかにされているが本吸虫の生理という観点からの研究は未だ余りなされていない。肺吸虫は腸管その他に寄生する吸虫類と異なつてその生活環境を主として肺臓という特殊な部位に有しており, 典型的な場合には可成り厚い線維性肉芽組織で囲まれた虫嚢内に 2 虫若くは 3 虫時に 1 虫 (人体肺吸虫症では 1 嚢中 1 虫が多い) が数年乃至十数年の長時日に亘つて寄生し, 産卵等の重要な生理機能を継続していることが明らかにされているから, この様な特殊な生活環境に順応して寄生を続けるためには虫体の代謝生理には或は特殊な機構が存在するのではないかと思われる。然し乍らこの様な観点からの研究は極めて尠く未だ不明の点が多い。先きに著者ら (1957) は肺吸虫の虫卵卵殻の形成に際しては卵黄腺 (Vitelline gland) が主要な役割を演ずる事及びその形成過程を主として組織化学的観察から明らかにして報告した。荻本 (1956) は最近大平肺吸虫 (*Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939) を材料として虫嚢内容物にも虫体と同様に糖質としてグルコース及び各種のアミノ酸を検出し, 虫嚢内容物も亦虫体の栄養に役立つものであると推論している。

著者らはこゝにウエステルマン肺吸虫の成虫を材料と

して組織化学的観点から虫体の物質代謝に最も重要と考えられる糖質, 核酸及びフォスファターゼの分布を追究し之等物質の臓器内分布とその臓器の機能的役割について考察を試みたのでこゝにその概要を報告する。

実験材料と実験方法

材料はモクズガニより分離したメタセルカリア (20 箇乃至 50 箇) を経口的に与えた犬及び猫を 6 カ月以上経過剖検し, 肺臓の虫結節からえられた成熟した虫体を多数使用した。固定は下記の組織化学的染色の目的に応じて行い主としてパラフィン包埋による連続切片として各種染色を行つて比較観察した。

組織化学的染色の種類,

(1) 糖質反応 (PAS 染色)

カルノア液固定, PAS 染色及び唾液試験によるグリコゲンの決定,

(2) 核酸 (RNA 及び DNA) 染色

カルノア液及び緩衝ホルマリン液固定,

a. メチル緑・パイロニン染色。

b. フォイルゲン核酸反応,

c. トルイジン青による核酸メタクロマジー,

(3) フォスファターゼ

冷アセトン固定,

アルカリ性並に酸性グリセロフォスファターゼ,

(4) 対照標本

ヘマトキシリン, エオジン染色及びデイルアフィールドヘマトキシリン単染色,

実験成績の概要

(1) 糖質

角質外皮 (Cuticle) 及び角皮下層 (Subcuticular tissue) :

HIROYUKI YOSHIMURA & MUNEO YOKOGAWA: Physiological studies on the lung fluke. III. Histochemical distributions of polysaccharides, nucleic acids and phosphatases in *Paragonimus westermani* Kerbert, 1878. (Department of Parasitology, School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan.)

Table 1 The results of the histochemical reactions in *Paragonimus westermani*

	Carbohydrates		Nucleic acid		Phosphatase	
	Glycogen	Polysaccharides	RNA	DNA	Alkaline P-ase	Acid P-ase
Cuticule	—	±	—	—	+	+
Subcuticular tissues (Bacement membran and muscle cell)	++	+	+	+	+	+
Reticular tissues	++	+	±	—	±	±
Oral sucker pharynx and oesophagus	+	±	+	+	+	++
Intestine	+	±	+	±	+	++
Excretory bladder and ductuli	—	—	±	—	++	+
Vitelline gland	++	++	++	++	++	++
Ovary	+	+	++	++	+	+
Oviduct	±	±	±	±	+	±
Uterus	+	±	+	±	++	±
Egg in the uterus	++	+	++	++	++	—
Testis	±	±	+	++	±	+
Vas deferrens	±	±	+	±	+	±

— : Negative, ± : Weak positive, + : Positive, ++~+++ : Strong positive

角質部はグリコゲンは認められないが、PAS染色に淡染し、唾液反応で消失しない。角質下層では特に筋細胞内には極めて豊富にグリコゲーン顆粒が認められる。且亦唾液反応で消失しない瀰漫性に染まる多糖類をも証明される。

網状組織 (Reticular tissue) :

虫体内臓器 (腸管, 生殖器官等) を支持する本組織は極めて疎なる線維様若しくは内皮様中隔によって多くの淋巴腔様の間隙を形成しているが、この部にグリコゲーンが極めて豊富に充満している。即ち線維様中隔部に沿って多数の大小不同の顆粒が集簇し腔内にも密に分散している事が認められるが、特に腸管及び生殖器官に隣接した部位には豊富に存在し、体の表層部に移行するに従って減少する傾向が認められた。

卵黄腺 (Vitelline gland) :

本腺組織の糖質の分布状態については既に著者ら (1957) の報告した通りである。グリコゲーンの豊富な存在及びそれ以外の糖質の認められることは、本腺組織が虫卵の卵殻形成に関与する爾余の物質の存在と共に重要な意義があるものと指摘した。

腸管 (Intestine) :

腸管上皮にはグリコゲーン顆粒が疎に認められる。

腸管壁筋細胞にはやゝ密にグリコゲーンが認められる。多糖類は両者共に極めて僅かに証明出来る。

卵巢 (Ovary) 及び附属器官 (accessory organs) :

卵巢の辺縁部の細胞群は胞体に乏しい小形円形細胞の集団からなり未分化な卵巢組織である。これより中心部に移行するに従って胞体は核と共に増大し楕円形の次第に分化した大型の細胞が疎に配列する。グリコゲーンは前者の未分化な細胞には殆んど認められないが次第に中心部の成熟分化した細胞に移行するに従って増加する。特に中心部の大形細胞内には可成多数の微細顆粒を容するものが出現している。グリコゲーン以外の多糖類も亦略々之れと類似した成績を示している。卵形成腔, 子宮起始部及び輸卵管上皮には微細なグリコゲーン顆粒が僅か乍ら認められる。

子宮 (Uterus) :

子宮上皮細胞及び子宮筋細胞内にはグリコゲーン顆粒が僅かに認められる。

子宮内虫卵 (Egg in the uterus) :

卵殻の完成された虫卵では特に卵黄細胞 (Yolk cell) 内に極めて豊富にグリコゲーンが認められる。グリコゲーン以外の多糖類も亦卵黄細胞の核の周辺部に輪状に中等度陽性に認められる。卵細胞自体の

グリコゲンは疎に認められる。

睪丸 (Testis) :

睪丸組織はその外廓部は極めて未分化な小形の精祖細胞が密に配列し中心部に移行するに従つて次第に分化成熟し、つゝ精細胞へと配列する。精祖細胞及び精原細胞等にグリコゲンは認められず爾余の多糖類反応が中心部に近い精原細胞の或るものに僅かに出現する。成熟した精細胞にはもはや何れの糖質も認められない。

(2) 核酸 (RNA 及び DNA)

角質外皮及び角皮下層 :

皮棘並びに角質外被には RNA, DNA 共に存在しない。角皮下筋細胞には RNA は極めて豊富に胞体内に認められ一方核質内に限つて DNA も之亦密に証明される。

網状組織 :

RNA は極めて淡染し特に網工に沿つて僅かに認められるが DNA は全く存在しない。

卵黄腺 :

本腺組織に RNA が特異的に豊富に存在すること及び核質内に DNA の密に認められる事については前述した糖質反応における成績と同様に既に著者ら (1957) が報告した通りである。RNA が本種吸虫の虫卵卵殻の主成分をなす蛋白体の礎石となることは指摘した如くである。

卵巣 :

RNA と DNA の分布には可成り特長的な像がみられる。即ち卵巣被膜直下に相接して存在する小型の原卵細胞では特に RNA 及び DNA が極めて密に認められるのに対してやゝ中心部の分化した胞体並に核の増大した細胞群では RNA は次第に減少し DNA も亦著しく疎となるが一方核小体内の RNA は著明に濃密に認められる様になる。輸卵管上皮には僅か乍ら RNA 及 DNA 共に認められる。

子宮 :

子宮上皮細胞には極めて疎に RNA が存在し、一方子宮壁筋細胞には可成り密に RNA 及び DNA が存在する。

子宮内虫卵 :

卵細胞及び卵黄細胞共に可成り濃密に RNA 顆粒が認められるが特に後者に豊富である。両者の核質内には密に DNA が認められる。

睪丸 :

辺縁部の未分化な精祖細胞より中心部の精細胞に至るまで DNA が特異的に強陽性に認められる。RNA はやゝ發育した精原細胞の胞体に疎に出現するが成熟した精細胞に至つて却つて減少消失し DNA のみが分布する。

(3) フォスファターゼ

角質外皮及び角質下層 :

角皮層では「アルカリ性フォスファターゼ」も「酸性フォスファターゼ」も共に弱く認められる。角皮下基底膜及び角皮下筋細胞には両反応とも中等度陽性に認められる。

網状組織 :

両者フォスファターゼとも弱く出現する。

消化器 :

「アルカリ性フォスファターゼ」は口吸盤より咽頭、食道、腸管に至る何れの部位においても、中等度陽性にみとめられる。之れに対して「酸性フォスファターゼ」は前者に比べて極めて強い陽性反応が認められる。

排泄囊及び排泄管 :

両者の壁には「アルカリ性フォスファターゼ」が極めて強く出現する。一方「酸性フォスファターゼ」は微弱である。

卵黄腺 :

「アルカリ性及び酸性フォスファターゼ」共に陽性である。これより導かれる導管壁にも強い反応が出現する。本組織の「フォスファターゼ」の分布については既に著者ら (1957) が詳細に記述した。

卵巣 :

両反応共に弱い。

子宮 :

子宮上皮細胞には特に「アルカリ性フォスファターゼ」が強く出現し特長的である。之に反して「酸性フォスファターゼ」は殆んど認められないか、或いは極めて弱い。

子宮内虫卵 :

卵細胞及び卵黄細胞共に「アルカリ性フォスファターゼ」のみが可成り強く出現する。

睪丸 :

両フォスファターゼ共に認められるが酸性フォスファターゼの方が著明である。

以上之等の諸成績を一括して示したものが第 1 表である。

考 察

肺吸虫の代謝生理を検索する研究方法の一つとして著者らは組織化学的方法によつて代謝系物質の最も重要と考えられる糖質、核酸及びフォスファターゼの臓器内分布を調べて概略上述の如き成績がえられた。

即ち糖質では、主としてグリコゲンが虫体の主要器官たる生殖器系臓器や腸管等の支柱組織である網状組織内に極めて豊富に分布していることを明らかにした。先きに桂田(1911)、沢田(1925)、山口(1955)らは日本住血吸虫について之れと同様な所見を記載している。肺吸虫におけるグリコゲンの蓄積又は貯蔵部位が主として本組織であることは、絶えず主要器官である生殖器系臓器との間に代謝が行われているものと考えられる。尙これら主要臓器の周辺部の網状組織に特に濃密に認められたことは、上述した通りであつてこの推定を裏がきしている。本組織内の豊富なグリコゲンは恐らくは毎常腸管内に多数に認められる血球の存在から推して、宿主より摂取した血球其の他の液状成分(体液)内グリコゲンに由来すると思われるが、腸管壁を通つて本組織内に暫定的な貯蔵を行い、重要臓器の生理作用に際して動員され消費されるものであろう。其の他比較的多量に証明される組織は角質下筋細胞、卵巣、卵黄腺、子宮内虫卵(特に卵黄細胞)であるが、角質下筋細胞内のグリコゲンは当然虫体の特有な運動に際して主要なエネルギー源となり得るであろうし、卵巣及び虫卵内卵黄細胞では之等細胞の発育、分化に重要な役割を果していると思われる。卵黄腺内のグリコゲンについては既に著者ら(1957)の報告した如く、虫卵の卵殻形成に複雑な動きを示すことを推論した。グリコゲン以外の多糖類の意義については未だ不明の点が多いが、その分布は概ねグリコゲンの分布部位と並行して認められた。

次に核酸では、RNAは特に卵黄腺に極めて豊富に認められ、ついで角皮下筋細胞、卵巣、睾丸、虫卵内卵黄細胞及び卵細胞に証明された。卵黄腺内のRNAが本吸虫の卵殻形成に関与するであろうと著者ら(1957)は推論した。生殖器及び虫卵内の卵黄細胞内に認められるRNAは同時に存在するグリコゲンと共に之等器官並に卵細胞の発育、分化に関与すると思われる。DNAは特に睾丸組織と卵巣と共に極めて豊富に証明されたが、DNAのturnoverが細胞の分裂に関係している点から意味があると考えられる。RNAが組織化学的若くは細胞化学的視点のみならず、生化学的視点に於いても

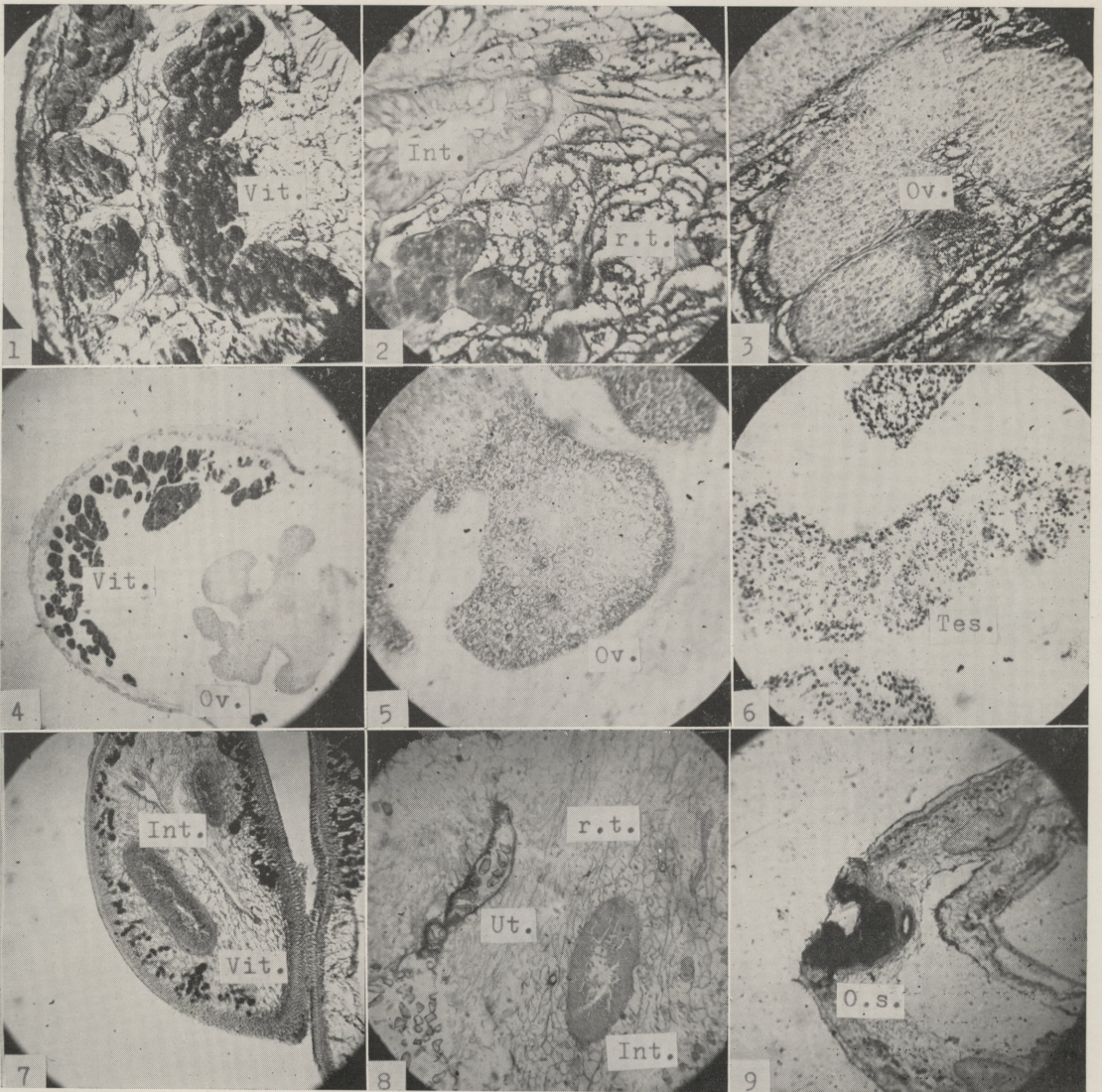
免疫蛋白の形成という立場から最も主要な位置を占めることは今や疑う余地がない。肺吸虫症の免疫学的診断法の一つとして用いられている皮内反応の抗原の活性物質が、著者の一人横川(1956)によつて蛋白体であろうと推定されている事は肺吸虫症の免疫発生という観点からみても、極めて興味ある点と思われる。

最後にフォスファターゼの分布については、特にアルカリ性フォスファターゼが排泄囊及び排泄管、腸管等の内壁、卵黄腺及び子宮壁に強い陽性を示した。ついで角質外被、角皮下筋細胞、口吸盤、咽頭食道に弱陽性に認められた。Rogers(1947)によれば条虫類の角皮及び蛔虫の中腸上皮に、強いアルカリ性フォスファターゼの存在する事は当該部位が含水炭素の吸収に関与する部位であることに意義を見出している。Bullock(1949)も亦中腸上皮に於ける本酵素はグルコース及び脂肪の吸収に関与するものと思惟し、山口(1945)も亦日本住血吸虫について、抱雌管に面する虫体の角皮に強い反応を証明しこの部が栄養の吸収に関係するものと考えている。著者等の肺吸虫による所見では上述の如く排泄器官及び腸壁に強い反応を見出したが、この部位が虫体の代謝産物の排泄作用に重要な器官であることは疑いない。腸壁では更に排泄作用のみならず諸種の栄養の吸収に関与することは常時腸管内に血球を多数に容し、更にズダン可染性の粗大な脂質球が認められることから、糖質及び脂質の吸収にも関与すると考えられる。他方酸性フォスファターゼでは、特に口吸盤、咽頭及び食道部周辺及び腸管壁に最も強い反応がえられたが、上述の如くこの部が栄養物の吸収及び排泄に関係のある器官である点から同様な生理機能に意義を有しているものと思われる。松下(1957)は蛔虫の側線の部に酸性フォスファターゼが強く陽性に出現する事に注目し、人体に於ける肝臓及び腎臓に於けると同じ様に含水炭素、脂肪の合成或は分解更に不要産物の排泄等に関与するものであろうと述べている。生殖器及び虫卵内の両種フォスファターゼは之等組織細胞の発育、増殖に意義があり、特に前者に於ては本来の性機能の発現に重要であろうと思われる。

結 論

ウエステルマン肺吸虫成虫を材料として虫体内の糖質、核酸及びフォスファターゼの分布を組織化学的に追究して概略次の如き結果が得られた。

1) 網状組織並に卵黄腺、子宮内虫卵の卵黄細胞並に角皮下筋細胞内にはグリコゲンが極めて豊富に認めら



Explanation of photographs

1. Glycogen granules in the vitelline gland. (PAS. stain.)
2. Glycogen granules in the reticular tissues. (PAS. stain.)
3. Polysaccharides (containd glycogen) in the ovary. (PAS. stain.)
4. Ribonucleic acid in vitelline gland and the ovary. (Methylgeen-pyronin stain.)
5. Ribonucleic acid in the ovary. (Methylgreen-pyronin stain.)
6. Feulgen nuclear reaction in the testis.
7. Lipid substances in the vitelline gland and in the intestine. (Sndan black stain.)
8. Alkaline phosphatase in the uterus, reticular tissues and intestine.
9. Acid phosphatase in oral sucker,

Abbreviation : Vit.=Vitelline gland. r.t.=reticular tissues. Int.=intestine.
Ov.=ovary. Tes.=testis. Ut.=uterus. O.s.=oral sucker.

れた。

2) グリコゲン以外の糖質(所謂多糖類)は角皮下筋細胞, 卵黄腺, 卵巣, 辜丸, 子宮内虫卵の卵細胞及び卵黄細胞に認められた。

3) 核酸の分布では RNA は卵黄腺, 卵巣, 辜丸, 子宮内虫卵の卵細胞及び卵黄細胞について角皮下筋細胞, 腸管上皮細胞, 子宮上皮細胞に可成り豊富に認められた。一方 DNA は之等諸組織の核質内に存在するが, 特に辜丸, 卵黄に豊富に証明された。

4) アルカリ性フォスファターゼは腸管上皮細胞, 排泄管並に排泄嚢壁, 子宮上皮細胞及び卵黄腺に強く出現した。一方酸性フォスファターゼは口吸盤咽頭, 食道周辺部に強く出現し, ついで腸管上皮細胞, 角皮下筋細胞及び卵黄腺にも認められた。

5) 之等の諸成績から糖質, 核酸及びフォスファターゼの分布には臓器特異性が認められ, 肺吸虫の代謝生理特に虫体の発育, 産卵, 栄養の吸収及び排泄等に相互に密接に関連しているものと考えられる。

参考文献

- 1) Bullock, W. L. & Gangi, D. P. (1950): The distribution of alkaline glycerophosphatase in the muscle of rats infected with *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*, 36, Suppl. 30. —2) Bullock, W. L. (1953): Phosphatase in experimental *Trichinella spiralis* infections in the rat. *Exp. Parasit.*, 2, 150-162. —3) 江上不二夫 (1951): 核酸及び核蛋白質(下巻), 共立出版社。 —4) 市川収(1953): 細胞化学, その理論と術式, 本田書店。 —5) 岩崎孝(1954): 線虫類における核酸の分布, *寄生虫学雑誌*, 3 (1), 71. —6) Gomori, G. (1949): Histochemical specificity of phosphatase. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 70, 7-11. —7) Hotchkiss, R. D. (1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Biochem.*, 16, 131-141. —8) 桂田富士郎(1911): 日本住血吸虫症, 動物学的方面, 日本病理学会雑誌, 1, 21-60. —9) 久保久雄・高松英雄(1942): 組織化学的研究に基きてフォスファターゼの生物学的意義を論述す, *日本医学及び健康保険*, 3303, 2148-2149. —10) Lison, L. (1953): *Histochemie et cytochimie animale, principes et méthodes*, paris. —11) 松下文雄・渡辺桂吉・谷田米高・寺尾知道(1956): 肝蛙の Phosphatase の分布について, *熊本医学会雑誌*, 30(6), 90-93. —12) 松下文雄(1957): 蛔虫の組織化学的研究, 第1篇 Phosphatase の分布について, 第2篇 Lipase の分布について, 第3篇, 糖原質及び脂質の分布, *熊本医学会雑誌*, 31(1), 119-140. —13) Rogers, W. P. (1947): *Histological*

distribution of alkaline phosphatase in helminth parasites. *Nature*, 159, 374-375. —14) 沢田卓(1925): 吸虫類発育各階梯に於ける糖原質及び脂肪の顕微化学的研究, *愛知医学会雑誌*, 32, 801-856, 1088-1133. —15) 鈴木嘉六(1938): 豚蛔虫体内糖原質に就いて, *慶応医学*, 18(1), 1193-1198. —16) 田代重護(1926): 蛔虫体内糖原質及び脂肪の分布に就いて, *児科雑誌*, 316, 99-102. —17) 田部浩(1919) 日本住血吸虫の発育並びに形態に関する知見補遺, *日本病理学会雑誌*, 9, 223-229. —18) 楢林兵三郎(1925): 日本住血吸虫体内に於ける醱酵素に就いて, *日本病理学会雑誌*, 4, 381-388. —19) 高松英雄(1939): フォスファターゼの組織化学的並びに生化学的研究, *東京医事新誌*, 3161, 2868. —20) 山尾泰正(1950): *Ascaris lumbricoides* L. 消化管に於けるグリセロフォスファターゼの分布について, (内部寄生虫類の組織化学的研究), *動物学雑誌*, 10, 101-105. —21) 山口正(1955): 寄生蠕虫類の組織化学的研究 I, 日本住血吸虫の組織化学的研究, *寄生虫学雑誌*, 4(3), 49-57. —22) 横川宗雄・大島智夫・木畑美智江(1955): 肺吸虫 (*Paragonimus westermani* Kerbert 1878) の体外飼育, (1) 脱囊幼虫 (excysted metacercariae) の *in vitro* における生存期間について, *寄生虫学雑誌*, 4(4), 70-75. —23) 横川宗雄・吉村裕之(1957): 肺吸虫の生理, II 組織化学的にみた肺吸虫卵卵殻とその形成機転に関する考察, *寄生虫学雑誌*, 6(6), 48-56. —24) 横川宗雄(1956): 肺吸虫のアレルギー, *寄生虫学雑誌*, 5(2), 298-299. —25) 横川宗雄・大島智夫(1956): 肺吸虫症の皮内反応に関する研究(III), 各種分画抗原の比較, 第16回日本寄生虫学会東日本支部大会記事, 8-9. —26) 横川宗雄・大島智夫・須川豊・平野多聞・中川晃子(1955): 肺吸虫症の皮内反応, スクリーニングテストの実用価値について, *日本医事新報*, 1634, 19-23. —27) 横川宗雄・栗野林(1956): 肺吸虫症の補体結合反応, 皮内反応と補体結合反応との関係, *日本医事新報*, 1703, 27-35.

Summary

Histochemical studies on the lung fluke, *Paragonimus westermani* Kerbert 1878, were carried out as the one of the physiological studies of the lung fluke.

The results obtained are summarized as follows and shown in table 1 and photograph 1.

1. Glycogen are richly found in the reticular tissue, vitelline glands, yolk cells in the eggs and subcuticular muscle cells.

2. Polysaccharides except glycogen are observed in the subcuticular muscle cells, vitelline glands, ovary, testis, ovum and yolk cells in the eggs.

3. Ribonucleic acid is found abundantly in the vitelline glands, ovary, testis and yolk cells, and

it is shown weakly in subcuticular muscle cells, epithelium of the intestine and uterus.

Desoxyribonucleic acid is strong positive in the testis and ovary.

4. Alkaline phosphatase are detected most prominently in the epithelium of the intestine, excretory canal and excretory sack, uterus and vitelline glands.

Acid phosphatases are shown most strongly in the oral sucker, pharynx and oesophagus.

5. The authors discussed about the relations between carbohydrates, nucleic acids and phosphatases proved histochemically in various organs of the worm and their roles which would be played in the metabolic process of the worm.