

肺吸虫症の治療に関する実験的研究

(1) 肺吸虫感染犬糞便内虫卵の排出状況 (E.P.D.) について

勝 呂 毅

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和33年12月15日受領)

まえがき

肺吸虫症の診断方法としては、喀痰検査法、糞便検査法の他に皮内反応或いは補体結合反応など種々の方法があるが、成熟虫体の寄生を確認するには、現在のところ喀痰或いは糞便より虫卵を証明する以外にはない。又治療効果を判定する場合も、剖見によらない限り、虫卵の喀痰或いは糞便内排出状況から、その効果を推定する以外の方法は考えられない。然るに、肺吸虫感染者或は感染動物の糞便内排卵状況、或はこれと寄生数との関係等を詳細に、而かも長期に亘つて追求した成績は従来見当たらない。只比較的短期間の観察としては2~3の報告はあるが、横川(定)ら(1939)は肺吸虫感染犬の糞便内虫卵数からその感染程度、あるいは治療薬品の効果を判定することは困難であると述べ、糞便内排卵状況から治療効果を判定することには否定的であった。然し横川(宗)(1955)はケリコツト肺吸虫3匹寄生の猫について、感染後3カ月から23日間に亘り連日糞便のE.P.D.を検査した結果約3週日の観察結果では、産卵数は1匹当たり1日平均 $11,100 \pm 5,200$ となり、かなり変動は激しいが、更に長期間の観察を行えばその変動は小さくなる筈であると云っており、糞便内排卵状況から、治療効果の判定の可能なことを示唆している。富村は(1958)大平肺吸虫感染犬につき、排卵開始後1カ月間における糞便のE.P.D.を検査した結果、E.P.D.は3.4~4.5日の略々一定した週期性をもつて相当に激しく増減するので、感染動物の排卵数の多寡の真相を知るには少なくとも10日の連続検便が必要であると云い、又長期間の観察を行えば、排卵数の多寡の真相を知ることは必ずしも困難ではないと云っている。そこで著者は9頭の犬にウエステルマン肺吸虫メタセルカリアを15乃至25

ヶ宛与えた後長期に亘り連日糞便内排卵状況を観察し、その結果虫卵の多寡の真相を知り得るならば、これにより治療効果の判定も当然可能と考え、以下の如き実験を行った。

実験材料と実験方法

実験に供した肺吸虫の種類はウエステルマン肺吸虫(*Paragonimus westermanii*)で、そのメタセルカリアは、静岡県狩野川産のモクスガキから得たものを用いた。

用いた動物は、生後1年以上を経た成犬で各一頭宛隔離した犬舎に在り、2~3カ月以上飼育後、検便を反復し、肺吸虫卵が陰性であることを確認した後実験に供した。

犬の飼育には努めて意を用い一頭毎に仕切りを作り床は検便の場合を考慮しコンクリートとした。朝夕2回一定の時間に定量、即ち500gの米麦粥に乾魚を加えたものを与えた。犬舎の床は一日一回水洗清掃し、晴天の日は午後2~3時間宛舎外にて運動をさせ、健康の維持に努めた。

肺吸虫の感染には、モクスガキより分離したメタセルカリアを生理的食塩水中に入れその一定数を毛細ビュートで吸いあげ、これを実験犬の口腔内に奥深く注入した。検査に用いる糞便は毎朝食後その全量を採取し、秤量した。E.P.G.の算定には次の如くA.M.S. III法単独或はこれにStollの虫卵稀釈法を併用した。

E.P.G. (E.P.D.) 算出法

1) 採取全便を秤量後、その各所より少量宛採取し全量を2gとし、これをA.M.S. III法により遠心沈澱し、沈澱をとる。

2) 排卵初期及び治療後の虫卵数の少ないときはこの沈澱を全部鏡検し、全虫卵数を算出する。この場合その $\frac{1}{2}$ がE.P.G.で、それに全糞便量(g数)を乗じたものがE.P.D.である。

TAKESHI SUGURO: The experimental study on the therapy of Paragonimiasis (1) (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

本研究の一部は文部省科学研究費肺吸虫研究費の補助を得た。茲に記して謝意を表する

3) 虫卵数の増加した場合は、A.M.S. 法による沈渣に約 5 cc の飽和食塩水 (比重 1,200) を加え、よく攪拌後 50 cc 容量のメスシリンダーに移し全量を 50 cc とする様に更に飽和食塩水を加える。

4) メスシリンダーにゴム栓をした後約 1 分間上下に強く振盪混和後、直ちに 1 cc のメスピペットでこの虫卵浮游液の中層より 0.5 cc を正確に吸引し、これを目盛つき載物ガラス上にその 0.1 cc 宛滴下し、32×24 mm の蓋ガラスで覆い、鏡下に全視野の虫卵を数える。この操作を 3 回繰返し、其の平均値をとりこれから E.P.D. を算出した。

排卵開始日を知るための、糞便検査は従来の知見並びに著者の経験にもとづき、メタセルカリア感染後 50 日目頃より毎日 A.M.S. 法により行い、その初排卵日を確めた。E.P.G. 検査は排卵開始日から連日数カ月から一年余に亘って行い、検査終了後は、その一部は薬殺剖検し、寄生虫数を確認し、他の一部は治療実験に用いた。

実験成績

各実験犬における連日の E.P.D. につき比較検討した結果、何れも日々の E.P.D. の変化はかなり著しいが、5 日毎の E.P.D. の平均をとると殆んどその変動がなくなる事が明らかとなつた。そこで、以下にはすべて、

5 日毎の E.P.D. の平均をとり、これを各実験犬毎にグラフで示した。従つて以下 E.P.D. として論ずるのは特に断らない限りは 5 日毎の E.P.D. 平均値についてである。

本実験に用いた 9 頭の感染犬につき、メタセルカリア投与後、排卵開始日、E.P.D. の安定する時期、平均 E.P.D. 数、観察の日数、剖検時寄生虫数及び一匹当りの E.P.D. 平均数等を一括して、示したのが第 1 表である。以下上記の主な各項につき記述する。

1) 排卵開始日数：

第 1 表に示す如く、糞便内に最初に虫卵が認められたのは、実験犬 No. 18 のメタセルカリア投与後 56 日目が最も早く、最も遅かつたのは実験犬 No. 1 の 86 日目であつたが、60 日乃至 70 日も多かつても多く、特に異常と思われるものはなかつた。そこでこれら 9 頭のメタセルカリア投与後から虫卵排出開始迄の日数の平均値を算出すると、 $\bar{x}=66.1$ 日、 $S.D.=10.5$ 日となつた。

即ち犬ではメタセルカリア 15~25 枚を投与した場合、排卵開始日は通常メタセルカリア投与後 56 日から 76 日の間にみられると云える。

2) 虫卵排出開始後の排卵状況

最初に糞便内に虫卵の見られた時はその数も少なく、E.P.D. は何れも 300~2,000 の間であつたが、その後

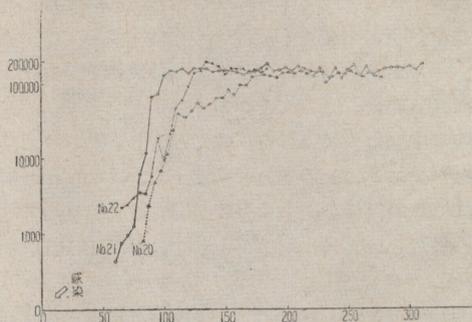
第 1 表 肺吸虫感染犬の虫卵排出状況

実験犬番号	感染メタセルカリア数	虫卵排出開始日数	観察期間	平均排卵数 (E.P.D.)		排卵安定に至る時期		メタセルカリア 1 ヶ当り平均		感染虫体数及び感染率	1 匹当り平均	
				\bar{x}	S.D.	\bar{x} -S.D.	\bar{x} +S.D.	E.P.D.	S.D.		E.P.D.	S.C.
No. 1	17ヶ	86日	215日 (130日)	153,390	20,000	155日 (69日)	175日 (89日)	8,520	1,150	16 (88%)	9,590	1,300
No. 4	15ヶ	68日	240日 (173日)	159,500	6,000	219日 (151日)	219日 (151日)	10,630	400	逃亡		
No. 5	18ヶ	70日	210日 (140日)	202,000	53,200	134日 (64日)	134日 (64日)	11,200	1,350	12 (66%)	16,830	4,430
No. 6	15ヶ	70日	370日 (300日)	146,000	9,500	141日 (71日)	134日 (83日)	9,730	430	治療に使用		
No. 11	20ヶ	57日	168日 (111日)	237,000	44,600	116日 (59日)	116日 (59日)	11,850	2,200	13 (65%)	18,850	4,200
No. 18	25ヶ	56日	324日 (268日)	202,000	53,000	127日 (71日)	135日 (79日)	8,080	2,120	14 (56%)	14,420	4,430
No. 20	15ヶ	82日	278日 (196日)	131,500	10,750	173日 (91日)	183日 (101日)	8,760	725	治療に使用		
No. 21	15ヶ	60日	310日 (250日)	147,400	20,700	104日 (44日)	104日 (44日)	9,820	1,380	治療に使用		
No. 22	15ヶ	65日	185日 (120日)	157,10	22,700	330日 (65日)	135日 (70日)	105,000	1,420	治療に使用		

() 内は虫卵排出後からの日数
虫卵排出開始日数 平均 66.1日 ±10.5日

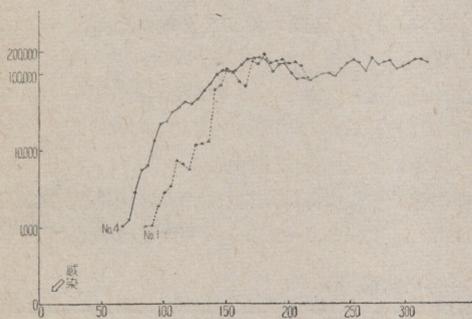
E.P.D. は急激に増加し、或る期間後には略々一定となり、動揺が殆んど目立たなくなる。この E.P.D. が略々安定する時期は各動物によりかなりの相違がみられた。今この安定期の E.P.D. の平均値 \bar{x} 及び S.D. を求め、 $\bar{x}-2$ S.D. 及び $\bar{x}+2$ S.D. の範囲に入る時期を求めると、第1表に示した如くである。各例についての詳細は省略するが、略々安定する時期 ($\bar{x}-2$ S.D.) に入るのは感染後 104 日から 219 日であるが、虫卵排出開始からでは 44 日から 151 日となる。真の安定期 ($\bar{x}+2$ S.D.) に入るのは 104 日～219 日で、両者が一致する場合もあるが、一致しない場合でも No. 1 の例では 155 日～175 日 (69 日～89 日) を始め何れも 20 日以内であった。即ち本例の如く 15 ケ～25 ケのメタセルカリアを投与した例では産卵開始後 44 日～151 日平均 67 日 \pm 9.1 日で E.P.D. が安定することが明らかとなった。尚念の為にこの E.P.D. の安定

期の週期変動の検討を No. 21 の例につき“連による検定法”によって行ってみたが、E.P.D. は平均値を中心



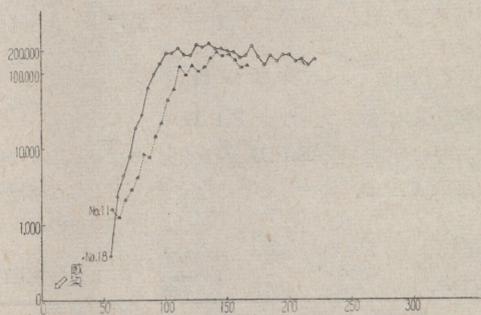
第2図 治療前排出状況

- △.....△ No. 20 感染メタセルカリア 15ケ
- No. 21 " " "
- ×- - -× No. 22 " " "



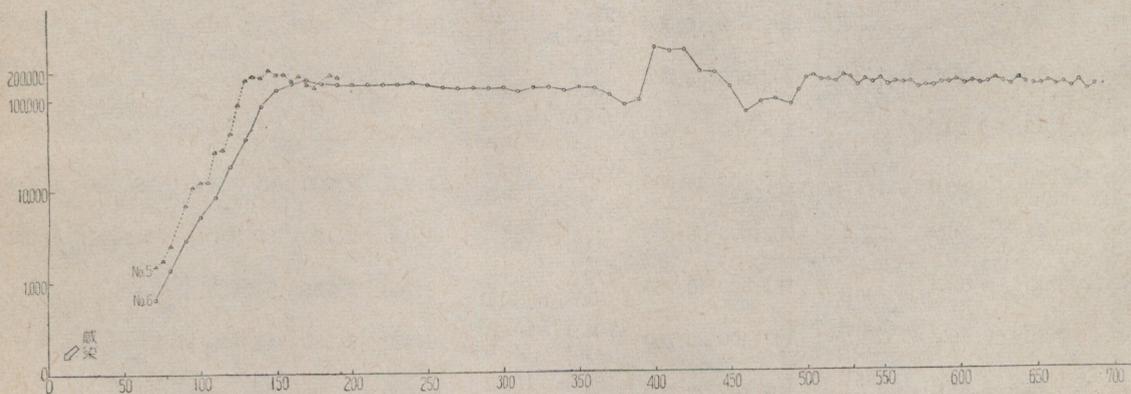
第1図 治療前排出状況

- No. 4 感染メタセルカリア 18ケ
- △.....△ No. 1 " " "



第3図 治療前排出状況

- △.....△ No. 11 感染メタセルカリア 20ケ
- No. 18 " " 25ケ



第4図 治療前排出状況

- △.....△ No. 5 感染メタセルカリア 18ケ
- No. 6 " " 15ケ

に任意に分布しており、週期的変動は認められないことが明らかとなった。

3) 長期観察例における E.P.D. の安定性

No. 6 犬では 370 日(排卵開始後 300 日)の長期観察を行つたが表に示す様にその間殆んど変動がみられない。念のために、安定期に入った最初の 50 日間と後期の 180 日から 230 日間の E.P.D. の安定性について t 検定により平均値を比較検討してみたが、矢張り安定期に入った直後と後期とでは、1%の危険率で有意の差のないことが明らかとなった。従つてこの安定期は長期に亘り持続するものと推定される。

4) メタセルカリア投与数と平均 E.P.D. との関係

肺吸虫メタセルカリアを投与した場合、その中の何ケが成虫になるかは、明らかでないが、これ迄の諸家の経験ではその 50%以上が成虫になると云われている。そこで 15ケ~25ケのメタセルカリアを投与した感染犬において 1ケ当りの平均 E.P.D. を算出してみると、第 1 表に示した如く、8,520 から 11,850 となり、それ程著しい変動は認められなかつた。従つて若し仮に虫体個々の産卵数に変動がないとすれば、このことからメタセルカリアの感染率は略々一定していると考えられる。

この様に例数は少ないが第 1 表に示した如く、No. 1, No. 5, No. 11 及び No. 18 の 4 犬の剖見の結果寄生虫体数が明らかとなった例で、1 匹当りの平均 E.P.D. をみると 9,590 ~ 18,380 となつてをり、虫体間の産卵数の変動もそう著しいものでないことが明らかとなった。横川(宗)(1955)はケリコツト肺吸虫の一匹当りの産卵数は 7,000 乃至 15,000 と云つているが、ウエステルマン肺吸虫でも略ぼ一匹当りの産卵数は 10~20 匹寄生の場合では 10,000 ~ 20,000 と云えるのではなからうか。感染動物の平均 E.P.D. から、感染虫体数を略々推定することも或る程度可能と考えられる。

考 察

1) メタセルカリア感染率と糞便内への排卵開始日数

著者の今回の実験ではメタセルカリア投与数は 15ケ乃至 25ケ迄とし中等度の感染をおこさせた。これは著者自身のこれ迄の経験及び先輩諸氏の経験にもつづいたもので、少数感染の場合は糞便内の虫卵数を算出する場合、少数の見落としなどでも誤差が大きくなること、又多数感染の場合は、肺吸虫症のため実験途中で斃死するものが多いこと、その他のためである。15ケ乃至 25ケ投与程度では、著者はすでに 30 数頭について実験を行つたが、実

験途中で死んだものは殆んどなかつた。メタセルカリアの感染率、即ち投与メタセルカリア数に対する寄生虫数の百分率に関しては、メタセルカリアの投与数の多少によつてもかなり変異があると想像されるが、著者の例では僅か 4 頭であるが、15ケ~25ケの投与例では、56%~88%であつた。横川(宗)ら(1955)がメタセルカリアの感染率は 50%以上と云つているのとよく一致している。富村ら(1958)は大平肺吸虫を 4 頭の犬に感染した例では 50ケ~100ケのメタセルカリア投与に対し、63~97%の高感染率を得たが、一頭の犬にウエステルマン肺吸虫メタセルカリア 27ケを与えた例では 30%の感染率であつたと報じている。

虫卵排出開始の日数に関しては、ウエステルマン肺吸虫の場合、犬では 70 日前後と云われている。著者の例では、最短 56 日、最長 86 日(平均 66.1 日 ± 10.5 日)で 16 寄生の No. 1 では 86 日、14 寄生の No. 11 では 56 日 No. 5 では 70 日、寄生虫数と排卵開始日数との間には何等の相関はみられなかつた。

2) E.P.D. の消長

肺吸虫は鉤虫、蛔虫などの腸管内寄生虫と異なり、肺臓の虫嚢内に寄生し、そこで産出した卵は、虫嚢→気管枝→喉頭→咽頭→食道→胃→腸囊の経路で排出される。従つて糞便に排出される虫卵も新旧種々の時期の虫卵があると考えられる。従つて横川(宗)・盧(1939)は肺吸虫に感染した犬を用いて治療実験を試みた際、糞便内に出て来る虫卵数からその感染の程度、或いは薬効を推定することは消化管或いは胆管に寄生する寄生虫の場合と比較して困難であると云つている。然し横川(1955)はケリコツト肺吸虫を猫に感染させ、糞便内虫卵排出状況を 22 日間に亘つて連日観察した結果、正確な E.P.D. を知るには更に長期の観察が必要であると云つている。富村ら(1958)は大平肺吸虫を犬に感染させ、排卵開始後 30 日間の短期間の観察では、3 週目頃に E.P.D. の急激な増加がみられるが、それ以後は 3.5~3.4 日の週期を以つて増減するが、その観察期間は短いので更に長期の観察が必要であると云つている。本実験の如く、排卵開始後から最短 111 日、最長 300 日に亘つて、殆んど連日観察した例は他には見当たらない。各例につき詳細に検討してみると、排卵開始後、E.P.D. の日々の変動はかなり著しかつたが、これを 3 日毎及び 5 日毎に区切り、その E.P.D. の平均値をとつて比較してみると、5 日毎平均値をとつた場合がもつとも変動が少ないことが分つた。そこで 5 日毎の E.P.D. の平均値についてその消長を比

較してみた。その結果は虫卵排出開始後 E.P.D. は急激に直線的に増加して行くが或る一定数に達すると殆んど変動を示さなくなることが明らかとなった。これは富村等が糞便内の E.P.D. は 3.4~4.5日の一定した周期を以つて増減すると報じていることと考え併せてまことに興味深い。然しこの週周期性が虫体側の因子によるか、或いは宿主側の因子によるかは不明である。然し、E.P.D. が或る一定数に達する(著者は排卵安定期と称した)迄の期間は、排卵開始後64日から151日となりその幅は大きい。この差が如何なる理由によるかは尚明らかでない。然しこの安定期に入つた後は一年以上に亘つて E.P.D. 著しい変動がみられないことが証明された。恐らく虫体の寿命から考えて、この安定期は更に長期に亘つて継続するものと考えられる。

3) E.P.D. と寄生虫数との関係:

糞便に排出される虫卵数から、寄生虫数を推定出来るかどうかを、投与メタセルカリア数と E.P.D. の関係及び剖見時の発見虫体数と E.P.D. との関係から、検討してみた結果、著者の例の如く長期間の観察では、肺吸虫一匹当りの排卵数は、 $9580 \pm 1300 \sim 18,380 \pm 4,200$ の間にあることが明らかとなった。従つて排卵安定期の E.P.D. の平均値を知ることにより、寄生虫数の概略を知ることは可能と考えられる。

4) E.P.D. と治療効果との関係

本実験において、肺吸虫感染犬の E.P.D. は感染後或る一定期間の後、排卵安定期に入れば E.P.D. の変動は殆んどなく、又この安定期は長期間に及ぶことが明らかとなった。従つてこの排卵安定期に入つてから、治療を行った場合、E.P.D. の著しい変動がおこれば、この変動が治療による影響か、或いは薬物以外の他の影響によるものかどうかを鑑別することにより、治療効果を判定し得るわけである。この両者の鑑別は E.P.D. を長期間に亘り連続観察することにより可能である。従つて著者は肺吸虫感染犬を治療に用いる場合、その糞便内の E.P.D. から、薬物の虫体に対する作用機転及びその治療効果を判定し得ると考えている。

結 論

以上の所見から大体つぎの様なことが云える。

1) 肺吸虫感染動物において、糞便の E.P.D. はその5日毎の平均値をとつた場合、排卵開始後から一定期間を経過すると、排卵安定期に入りその E.P.D. 平均値の変動が殆んどみられない。

2) 感染動物の排卵数の多寡はこの排卵安定期間中の E.P.D. の5日毎の平均値をとることにより推定が可能である。

3) 寄生虫体一匹当りの排卵数は略々一定しているので、排卵数の多寡から寄生虫体数の推定も可能である。

4) 排卵安定期に入つてから、治療を開始しそれ以後の E.P.D. の5日毎の消長をみるることにより、治療薬剤の虫体に対する作用機転及び薬剤の効果判定を行うことが可能である。

終りに終始御指導を頂いた国立予防衛生研究所寄生虫部長小宮義孝博士および千葉大学医学部教授横川宗雄博士に深く感謝の意を表し、併せて種々御援助を頂いた国立公衆衛生院大島智夫博士に謝意を表する。

文 献

- 1) 富永覚仁(1942): 肺臓ダストマ症患者の喀痰及び糞便中卵子の検出関係について, 大阪医専誌, 9(2) 153~157. —2) 横川宗雄(1955): 北米産肺吸虫 *Paragonimus kellicotti* 関にする研究, 特に糞便内虫卵排出状況, 寄生虫誌, 4(1) 57~63. —3) 富村保・小野忠相・荒川皓(1955): 大平肺吸虫感染犬糞便の E.P.G. 及び E.P.D. 検査に関する研究, 寄生虫誌, 7(5), 503~513. —4) 横川定・蘆万徳(1939): 肺ダストマの治療に関する研究(1), 台湾医学雑誌, 38(4), 268~304. —5) 北本治・岡田昌・上塚昭・横川宗雄・木畑美知江(1958): 肺吸虫症に対する我々の燐酸クロロキノン使用成績 呼吸器診療, 13(1), 92~99. —6) 小宮義孝・横川宗雄(1953): 肺吸虫症患者の喀痰及び糞便からの虫卵検出頻度について, 公衆衛生, 14(6), 86~89

Summary

Dogs were infected with metacercariae of *Paragonimus westermanii* and ova of this worm in feces were examined quantitatively for a long successive period and the results were obtained as follows.

1. The E.P.D. of *Paragonimus westermanii*, when taking its mean value during the successive five days, became stable after a certain period after an initial output and afterwards no significant variation of the mean of E.P.D. was recognized.

2. The total amount ova discharged can be estimated by the mean value of E.P.D. during five successive days.

3. The amount of the discharged ova per worm can also be estimated by the amount of E.P.D. and thus the number of worms infected can be calculated.

4. The mean value of E.P.D. above mentioned can thus be utilized for the examination of the therapeutic effect of the chemicals experimentally.