

## Evans-blue Technique による肺吸虫幼虫の組織内侵入機転に関する実験病理学的研究

辻 守 康

千葉大学医学部医動物学教室 (主任 横川宗雄教授)

(昭和36年3月3日受領)

### まえがき

ウエステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* KEOBERT (1878) の終宿主体内移行経路については、従来横川 (定)(1915) により経口的に摂取されたメタセルカリアが小腸内で脱囊し、その脱囊幼虫は小腸中下部の腸壁を穿通して6時間以後には腹腔内に移行遊離するが、1~2週間の中に横隔膜を経て胸腔内に移行して肺臓に寄生することが明らかにされて居た。然し乍ら経口的に摂取されて数時間後に腹腔に遊離した幼虫が、胸腔に移行する迄の1~2週間の間如何なる状態で存在しているかは明らかでなかつた。横川 (宗)(1960) は、Lewert & Lee (1954) が Evans-blue 法を用いて住血吸虫セルカリア及び数種の線虫類の経皮侵入機転を解明した如く、若し肺吸虫幼虫が腹部組織及び臓器に穿入するならばこの Evans-blue 法で究明出来るのではないかと云う点に着目して実験を行い、本幼虫が腹壁筋肉内及びその他の深部腰筋内に穿入するものであることを明らかにした。氏によればウエステルマン肺吸虫において経口的に摂取されたメタセルカリアは終宿主の小腸内で脱囊した後、これら脱囊幼虫は3時間位の後腸壁を穿通し腹腔内に脱出するが、直ちに腹壁筋肉内に穿入し、この部で一定の発育を遂げた後再び腹腔内に移行して2週間の後には横隔膜を穿通して胸腔に入り肺臓に寄生して虫嚢を形成するものであることを始めて明らかにした。即ち腹壁内穿入期において深く侵入した幼虫の存在部位は、Evans-blue により濃青染するので容易に幼虫の移行路を追究し得た訳である。又この際認められた幼虫の組織内穿入機転についても虫体の機械的侵襲作用の他に虫体由来の多糖類若しくは糖蛋白質に対する分解酵素の存在を示唆する組織化学的所見を同氏は報告している。

著者はこれらの宿主の生理的条件下における所見を再確認すると共に、諸種の薬剤処置やビタミン欠乏及び投与によつて宿主側の生理的条件を変化せしめた場合にお

ける Evans-blue 斑点の出現状態を比較検討し、幼虫の組織への侵襲機転解明の一助とすべく実験を行つた。本実験で企画した所は、Lewert & Lee (1954) 及び Millemann & Mergenhagen (1960) が住血吸虫セルカリアの経皮侵入機転で考察する様に Evans-blue の出現環境がその部の結合織間質や小血管に存在する糖蛋白或いは多糖類の質的变化や低分子化に作用するものであるとするならば、肺吸虫幼虫の侵入部に出現する Evans-blue 斑点も之等の実験操作によつて出現状態に差異を生ずるかも知れず、一方、Kuntz (1953) がマンソン住血吸虫セルカリアに酵素由来の Spreading factor の存在を確認し、最近加茂 (1958) も肺吸虫の被囊幼虫に Hyaluronidase 等の酵素の存在を認めて居ることなどから、これら酵素が肺吸虫幼虫にも存在するならば、その組織穿入の機転に関係するものであらうと推察して、Hyaluronidase, Antihistamine, Cortisone 処置を行い、この際出現する Evans-blue 斑点を指標として肺吸虫幼虫の組織内侵入機構の解明に役立たせようと考えたのである。この他、Evans-blue 斑点出現には血管の透過性の変化や結合織基質の Vitamin 及び Hormon が作用して居るものと考え、Calcium, Vitamin K<sub>3</sub> 及び P 処置、それに Vitamin C 欠乏、Testosterone 投与等の各処置による実験を行つた。その結果、これら薬剤処置と Evans-blue 斑点出現との関係について2~3の興味ある所見を得たので以下に報告する。

### 実験材料および実験方法

実験には高知県鏡川産のモクスガ = *Eriocheir japonicum* の鰓及び筋肉から型の如く分離採集したウエステルマン肺吸虫のメタセルカリアを使用し、動物としては体重 100 g 前後の成熟ラットを用いた。ラットは本種肺吸虫に対しては必ずしも好適宿主とは云えないが、その侵入機転及び感染初期における幼虫の体内移行の状況は、犬、猫におけるそれと差がみられないので、本実験には

適当と考えた。

各実験群は5~6匹のラットを用い、10コ宛の本種メタセルカリアを少量の水と共にラットの口腔深く注入し、メタセルカリアが完全に嚥下されたことを確認した。剖検時期は、本種幼虫が最も多数腹壁筋肉内に侵入する時期である感染後1週間とし、剖検に際しては Evans-blue 法により各処置群における本種幼虫の腹壁侵入部における Evans-blue 斑点の出現状況の差異を肉眼的並びに組織学的に検索した。

Evans-blue 法：Evans-blue 法と云うのは Lewert & Lee(1954)が初めて住血吸虫セルカリア及び或る種線虫類幼虫の経皮侵入機転研究のために用いた方法である。先ず 0.3% Evans-blue 注射液(第一製薬)を15cc/kgの割合に股静脈より徐々に注射すると、粘膜、皮膚及び各種臓器も急速に淡青染してくる。この際 Evans-blue の青染が濃厚に過ぎると検索が容易ではないのでその量を適当に加減することが必要である。注射15分後に剖検する時は若し本種幼虫が組織内に存在すれば、その部分は Evans-blue の色素を強く吸収し濃青染した着色斑としてみられる。尚この着色斑は他種寄生虫幼虫穿入の場合にもみられることがあるので、必ず本種虫体であることを確認する必要がある。

本実験では、剖検の際本色素による腹腔及び胸腔内の汚染を防ぐ為、頸動脈切断により浮血して動物を死に至らしめた。腹腔及び胸腔内は生理的食塩水で十分に洗滌し、その洗滌液を鏡下に検し遊離虫体の有無を確かめた後、腹壁及びその他の組織は肉眼的に Evans-blue 着色斑並びに出血点を精査し、これらを認めたる部位についてはその部を切除しこれを2枚のガラス板で軽く圧平して双眼実体顕微鏡(×30)のもとで幼虫穿入の有無を調べた後、組織学的に検査を行った。

各実験群は以下の如くである。

第1群：Vitamin C 欠乏の目的をもつて120ポンド15分間高圧滅菌した麦飼及び蒸溜水でメタセルカリア投与1週前より剖検迄の計2週間飼育した群。

第2群：Testosterone propionate 1mg としてエナルモン(Enarmon Suspension 50国際単位、帝國臓器)をメタセルカリア投与3日前より10日間左右大腿筋に交互に筋注射し、最終注射終了2時間後に剖検した群。

第3群：Calcium 処置として葡萄糖カルシウム(ロジノカルシウム Takeda)を25cc/kg.の割合に剖検30分前に1回のみ股静脈より注射し、その15分後即ち剖検15分前に反対側股静脈より Evans-blue を注射した群。

第4群：Hyaluronidase 投与としてスプレーゼ(Sprase Mochida)の5,000 V.U.M.(Viscosity reducing unit) 1ccを剖検30分前に1回のみ静脈注射した群。

第5群：Vitamin K<sub>3</sub> 100mg としてカチーフ(Kativ Takeda)5ccを剖検30分前に1回のみ静脈注射した群。

第6群：Vitamin P 50mg としてヘスペリン(Hesperin Takeda)の2ccを剖検30分前に1回のみ静注した群。

第7群：Antihistamine 10mg としてレスタミン(Restamin Kowa) 1ccを剖検15分前に1回のみ皮下注射した群(本群では側腹部に Antihistamine を皮下注射しその後股静脈より Evans-blue の静脈注射を行った)。

第8群：Cortisone 10mg を1日量としてコートン(Cortone acetate Banyu, 25mg/cc)の0.4ccを連日1週間大腿筋に筋注射し、最終注射終了2時間後に剖検した群。

第9群：8群と同じ Cortisone 10mg を剖検30分前に1回のみ筋肉注射した群。

Control 群：対照群には10匹のラットを用いメタセルカリア投与後無処置のまま飼育し、1週後に Evans-blue 注射を行って剖検した。

以上対照群の他は9群に分け、各群5~6匹宛のラットを用いて行った。

肉眼的並びに組織学的検査法：剖検により腹壁部に Evans-blue 着色斑或いは出血斑などを見出したときは、その部位、数、大きさ、青染の程度及び幼虫の存在部位との関係等を記載した後、その部位を小尖鋏にて切り取り半数をカルノア液(Carnoy)固定、残りの半数を10%ホルマリン液固定とし、各々を58~60°Cの硬パラフィンに包埋してミクロトームで厚さ6μの組織切片を作った。然る後ホルマリン固定群にて Hematoxylin-Eosin 染色、カルノア固定群にて多糖類染色としての Periodic Acid Schiff (PAS) 染色(変法)及び Toluidin blue マタクロマジー法を、蛋白質染色として Tropeolin O 染色を施して観察した。

染色法：

A. PAS 染色法(変法)

試薬

Ⓐ	{ 0.3% 過沃度酸加里水溶液	10.0cc
	{ 2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0cc
Ⓑ	{ 重亜硫酸ソーダ	0.5g
	{ Aq dest	100.0cc

Ⓒ Schiff 試薬

{ Aq dest	200.0cc
{ 塩基性フクシン	1.0 g
{ 1 N HCl	20.0cc
{ 無水重亜硫酸ソーダ	1.0 g

## 手技

- ① 脱バラ標本を試薬⑥液に10分間浸漬する。
- ② 70%アルコールで2~3分洗滌。
- ③ 水洗。
- ④ Schiff 試薬に20~30分間反応させる。
- ⑤ 重亜硫酸ソーダ試薬⑥の I, II, III を作り、夫々に2分間ずつ3回通す。
- ⑥ 3分間位水洗。
- ⑦ アルコール脱水。カルボールキシロールで透徹して、パルサム封入。

## B. Toluidin blue 染色法

## 試薬

pH 7.0の0.05% Toluidin blue 液。  
M/10クエン酸 4.0cc に M/5 第2 磷酸ソーダ 16.0 cc を加えて作った緩衝液に0.05%の割合になる様、Toluidin blue (Merck) を加える。

## 手技

- ① 脱バラ標本をアルコールを通し水に移す。
- ② 上記処方0.05%トルイジン青液に入れ、約10分間染色する。
- ③ 90%アルコールにて分別。
- ④ 純アルコール脱水。カルボールキシロールで透徹して、パルサム封入。

## C. Tropeolin O 染色法

## 試薬

Hydrogen ion indicator である Tropeolin O (東京化成) で 0.1%水溶液を作る。

## 手技

- ① 脱バラ標本をアルコールを通して水に移し、Tropeolin O液に10分間浸漬する。
- ② 水洗後、アルコール脱水。
- ③ カルボールキシロールで透徹しパルサム封入。

## 実験成績

各実験群の Evans-blue 斑点の出現部位及び数と検出された虫体数との関係は第1, 2, 3表に示す如くであり、病理組織学的所見の概要は第4表の如くである。即ち Evans-blue の出現部位は何れの群も主として腹壁筋肉部にみられ、大きな差異が認められなかつた。然しその出現状況即ち Evans-blue 斑点の着染の強弱、大きさ或

いはその数、及び斑点と虫体との関係等については、Hyaluronidase, Antihistamine の各処置及び Cortisone の長期投与を行つた群では可成り著明な差異が認められた。そこでこれら各群について先ず肉眼的に上記所見について記述し、更にその病理学的、組織化学的所見についても説明を加えたいと思う。尚使用ラットの性別については各実験群ともその間に著しい差は認められなかつたので省略した。

## 1. 無処置群 (Control 群)

10匹のラットに10コ宛のメタセルカリアを投与して行つた結果、総検出虫体数はメタセルカリア投与総数 100コ中49虫 (49%) で、その中の71%に相当する35虫が左右両腹壁より検出された。この際左右別の差異は認められなかつた。しかも虫体存在部位にはすべて Evans-blue 青色斑がみられ、これは写真1にみられる如く肉眼的には斑点状に比較的限局された性状を示して居る。これらの虫体存在部位に出現した青斑部を組織学的にみると、先の横川 (宗) (1960) の行つた結果と同様の所見で (写真9), 中等度の浮腫像及び単核球、淋巴球様小円形細胞、好中球等の細胞浸潤がみられ、細血管及び淋巴腔は開大し一部虫体周辺部において組織及び細胞 (結合織並びに一部筋組織) の中等度壊死像が認められた (写真10及び11)。次に PAS 染色 (写真12) 及び Tropeolin O 染色 (写真13) では、虫体周辺部及び青斑部に相当してその染色性は著しく減退し、殊に虫体周辺部の Glycogen 顆粒及びその他の多糖類染色性の著しい減弱又は消失が認められた。Toluidin blue 染色ではメタクロマジー陽性顆粒をもつた組織肥胖細胞の存在を認めた。

## 2. Vitamin C 欠乏群 (第1群)

5匹のラットに各々メタセルカリア10コ宛を投与した結果、総数50コ中検出虫体数は11虫 (22%) で、先の対照群と同様 Evans-blue 斑点との一致率は 100%で、虫体存在部位のすべてに青色斑が出現しその性状も対照群と殆んど異なることはなかつた。顕微鏡的にも肉眼的所見と同様殆んど対照群と差異は認められなかつたが、Hematoxylin Eosin 染色所見で細胞浸潤が幾分軽度に見られた。

## 3. Testosterone 群 (第2群)

5匹のラットに各々メタセルカリア10コ宛を投与して行つた結果、その中から15虫 (30%) が検出され、中13虫 (87%) が左右の腹壁より検出されている。本群では Evans-blue 青色斑を伴つた虫体が15例中9例 (60%) であり、虫体が存在してもその部に Evans-blue 斑点を



第 2 表 Evans-blue 青色斑及び虫体の検出部位と各種薬剤との関係

(ウエステルマンメタセルカリア投与後, 1週目に解剖)  
(0.3% Evans-blue を 15 cc/kg に, 解剖 15 分前, 静注)

群	薬剤及びその投与方法	腹 壁		腰 筋	肝 臓	横隔膜	胸 壁	胸 筋	遊 離	備 考
		右	左							
C	Control	2.1 (1.9)	1.6 (1.6)	0.3 (0.3)	0.3 (0.3)	0.3 (0.3)	0.3 (0.3)	0.4 <sup>2</sup> (0.2)		
1	Vitamin C 欠乏食, 2週間	1.4 (1.0)	1.0 (1.0)		0.6 (0)	0.4 (0)		0.2 (0.2)		青斑対照群 と同じ
2	Testosterone 1 mg/daily 10日	1.0 (1.6)	0.4 (1.0)	0.4 (0.4)						青斑濃淡混 ず
3	Calcium 0.5 g/kg 解剖30 分前	3.5 (4.0)	0.5 (0.5)							青斑少々淡 い
4	Hyaluronidase 5,000 V.U. M. 1回	2.0 (2.3)	1.5 (1.3)	0.3 (0.3)						青斑濃く広 い
5	Vitamin K <sub>3</sub> 100 mg 解剖 30分前	0.3 (3.0)	0.7 (1.0)							青斑淡く小 さい
6	Vitamin P 50 mg 解剖30 分前	1.4 (1.8)	1.0 (1.8)	0.4 (0.4)		0.2 (0.2)	0 (0.4)			青斑濃淡混 ず
7	Antihistamine 10 mg 解剖 15分前	1.3 (2.5)	0.8 (1.3)			0.3 (0.3)	0 (0.3)		(0.2)	青斑淡く小 さい
8	Cortisone 10 mg/daily 1 週間	0 (2.0)	0 (2.0)	0 (0.6)			0 (0.4)			青斑を認め ず
9	Cortisone 10 mg 解剖 30 分前	1.8 (1.8)	1.4 (1.4)	0.4 (0.4)						青斑対照群 と同じ

数値は平均によるラット1匹相当数.

( ) 内は虫体数

第 3 表 各種薬剤投与による Evans-blue 青色斑と虫体検出との関係

(検出部位を問わず平均したラット1匹相当数)

薬剤及びその投与方法 [群]	検 出 虫体数	Evans blue 斑 点 数	Evans blue斑点 に一致して出た 虫体数	虫体を検出 しなかつた Evans blue 数	Evans blue を伴わなか つた虫体数	備 考 (遊離虫体)
Control [C]	(4.9)	5.3	(4.9)	100 %	0.4	(0)
Vitamin C 欠乏 2 週間 [1]	(2.2)	3.6	(2.2)	100 %	0.9	(0)
Cortisone 1 回投与 [9]	(3.9)	3.6	(3.6)	100 %	0	(0)
Hyaluronidase 1 回投与 [4]	(3.9)	3.8	(3.6)	92.3%	0.2	(0.3)
Calcium 1 回投与 [3]	(4.5)	4.0	(4.0)	88.9%	0	(0.5)
Vitamin P 1 回投与 [6]	(4.6)	3.0	(3.0)	65.2%	0	(1.6)
Testosterone 10 日連用 [2]	(3.0)	1.8	(1.8)	60.0%	0	(1.2)
Antihistamine 1 回投与 [7]	(4.4)	2.4	(2.4)	54.5%	0	(2.0)
Vitamin K <sub>3</sub> 1 回投与 [5]	(4.0)	1.0	(1.0)	25.0%	0	(3.0)
Cortisone 1 週間連用 [8]	(5.0)	0	(0)		0	(5.0)

( ) 内は虫体数

殆んど認めなかつたものが 6 例あつた. 又虫体存在部に出現していたその青色斑についてみても写真 2 の如く肉眼的には対照群のそれに比し更に限局的で色も淡く, やや小さい様であつた. しかし組織学的には Evans-blue 青色斑を伴つた虫体存在部位と虫体のみ存在していた部位との間に大きな差異は認められず, 単核球等の中等度の細胞浸潤がみられ対照群と同様の所見であつた.

ただ例外的に青色斑を伴つた虫体 9 例中 1 例で写真 3 に示す如く幼虫匍行跡に沿つて線状に青色斑を認めた

が, これも組織学的には他の点状斑と同様の中等度渗出性炎症像がみられた.

## 4. Calcium 群 (第 3 群)

第 1 表にみられる如く本群では 6 例中 2 例のラットがカルシウム 静注を 徐々に行つたにも拘らず注射後死亡し, 4 例の成功例においても注射終了時に短時間仮死状態となるものがあつた. この 4 例中左右の腹壁筋肉内より検出した虫体数は, メタセルカリア投与総数 40 コの中の 18 虫 (45%) でその中の 16 虫 (89%) は Evans-blue 青

第4表 Evans blue 斑点の出現状況とその顕微鏡的所見

処置法	肉眼的		顕微鏡的					平均検出虫体数	
	数	大きさ	組織障害	浮腫	細胞浸潤及び種類	PAS可染性減弱	蛋白反応減弱		
Hyaluronidase 群	3.8	卅	卅	卅	卅 Neuro Lymph Mono Mast	卅 卅 卅 +~卅	+	+	3.9
Vitamin C 欠乏群	3.6	+	+	+		+	+	+	2.2
Vitamin K <sub>3</sub> 群	1.0	+	+	+	Mono	+	+	+	4.0
Testosterone 群	1.8	+	+	+	Mono	+	+	+	3.0
Calcium 群	4.0	+	+	-	Mast	+	+	+	4.5
Vitamin P 群	3.0	+	+	-	Mast	+	+	+	4.6
Cortisone 1回群	3.6	+	+	-	Neuro Lymph Mast	+	+	+	3.6
Cortisone 連用群	0	-	-	-	Mast	+	+	+	5.0
Antihistamine 群	2.4	-	+	-	Mast	+	+	+	4.4
Control 群	5.3	+	+	+	卅 Neuro Mono Mast	卅 卅 +	+	+	4.9

色斑と一致していたが他の2虫の存在部には青色斑は認められなかった。又この青色斑の大きさは対照群のそれと比較して、やや小さい様であった(写真4)。この青色斑は組織学的にも浮腫像は軽度で、組織肥胖細胞の存在を認めたが、その他の滲出性炎症細胞の出現は全般的に軽度であった。

#### 5. Hyaluronidase 群(第4群)

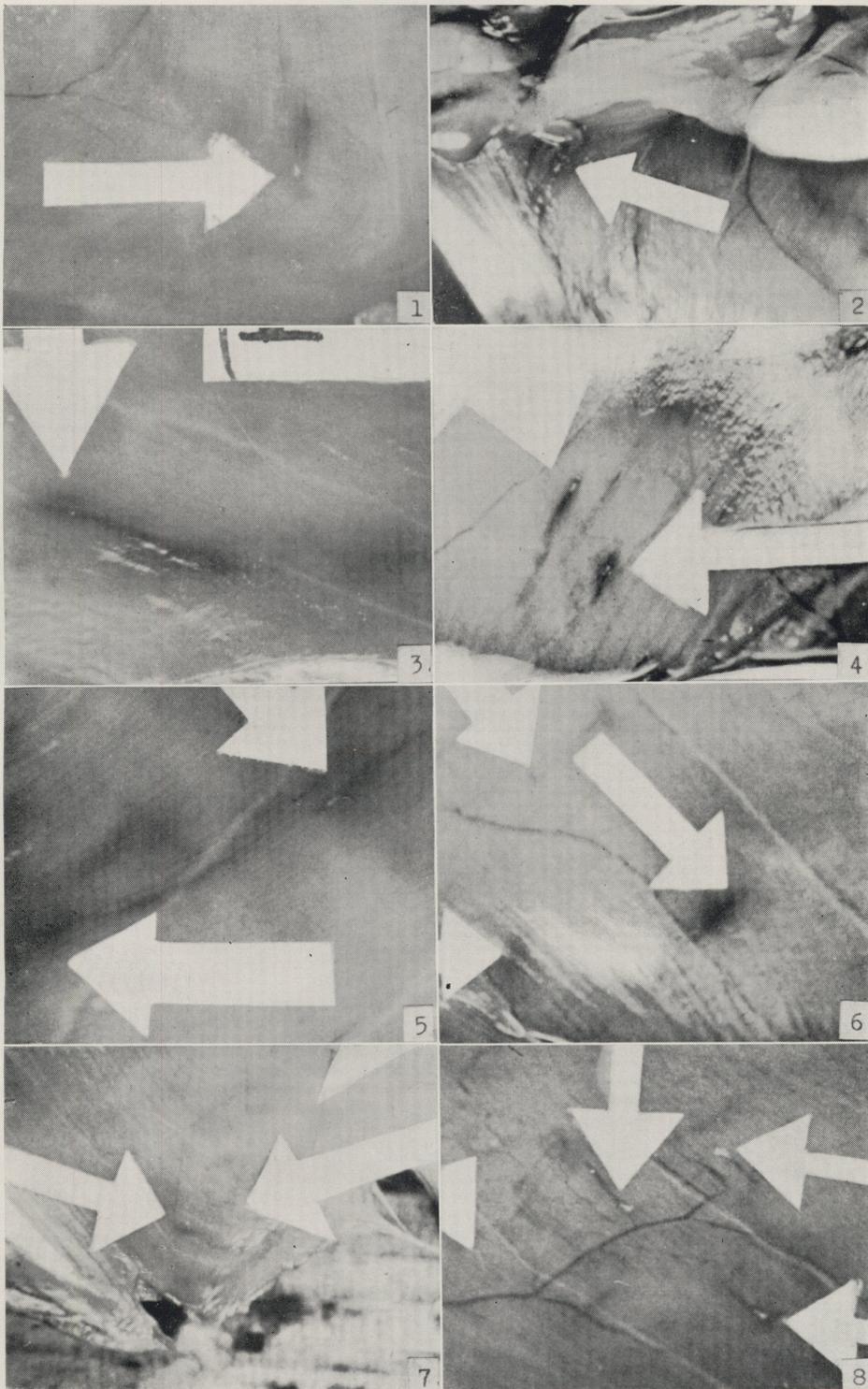
本群においては実験成功ラット4匹でメタセルカリア投与総数40コ中検出虫体15例(38%)で、中14例(92%)に青色斑を認め、しかも写真5に示す如くその青色斑は慢性で大きく濃青染しており、他の何れの群のそれよりも著明であった。組織学的にも殊に虫体存在部位及び虫体の移動したと思われる近接した筋間結合織において浮腫が著明にみられ(写真14及び15)、好中球、淋巴细胞様小円形細胞、組織球、単核球等高度の細胞浸潤が認められ(写真16)、虫体周辺部の組織は壊死に傾き均等な融解像として認められるものが多かった。PAS染色(写真17)では虫体周辺部及び虫体移動部位における多糖類染色性は対照群に比較して消失減退がみられ、Tropoelin O 染色(写真18)でもその蛋白反応は減弱していた。

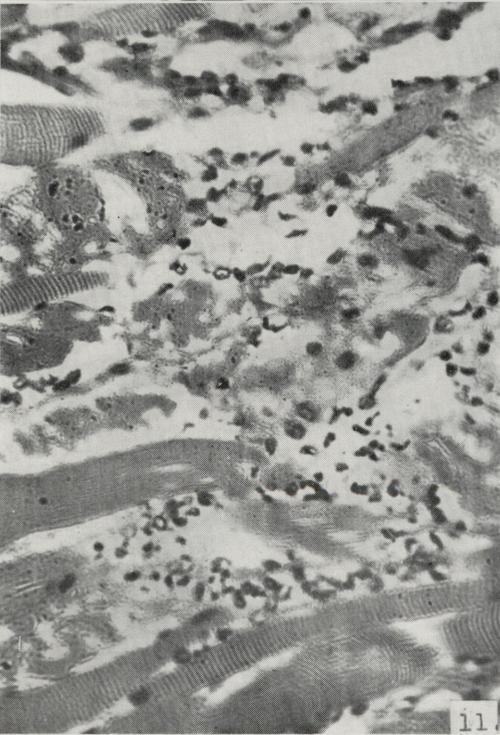
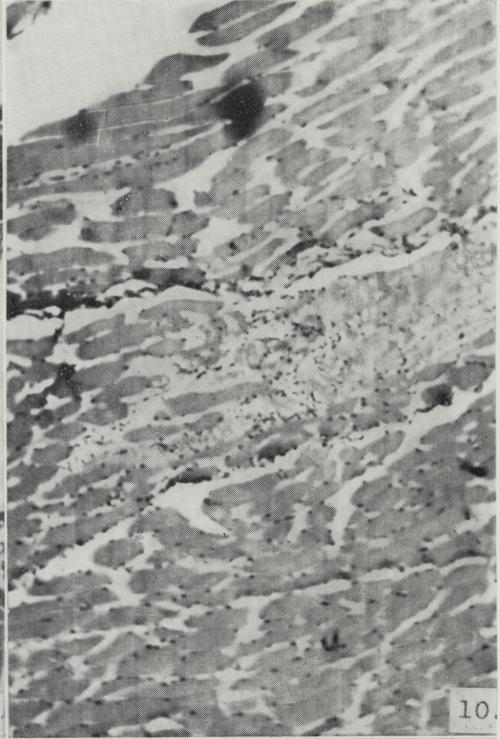
#### 6. Vitamin K<sub>3</sub> 群(第5群)

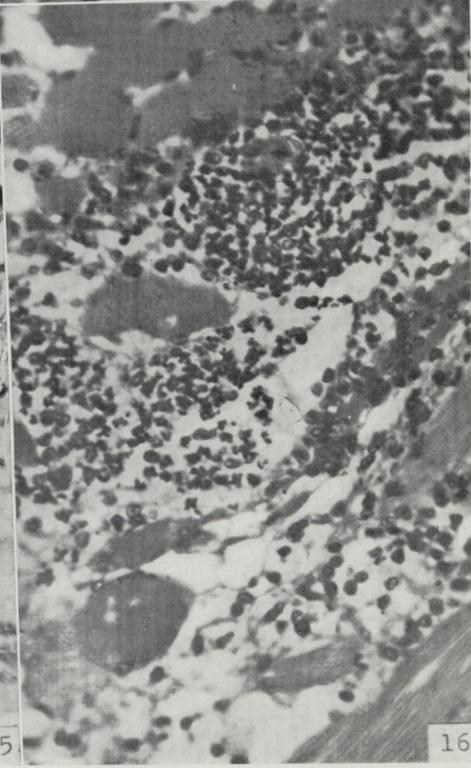
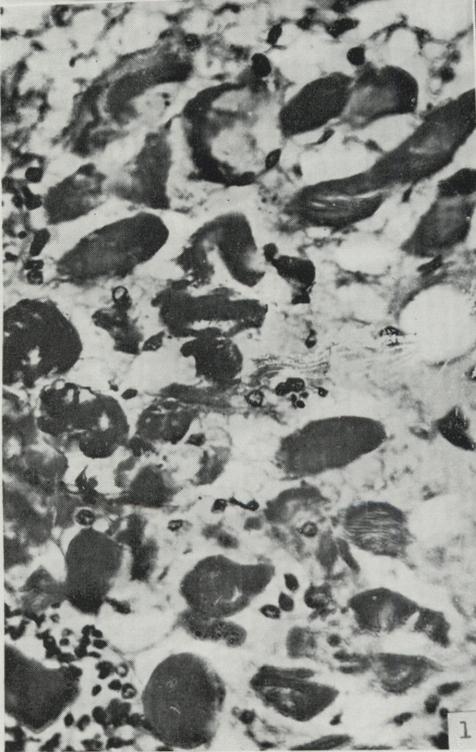
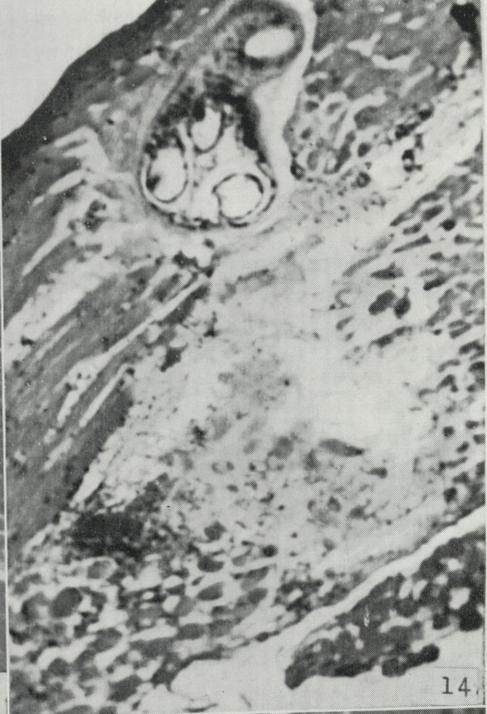
第1表に示す如く本群においても Calcium 群と同様、カチーフ注射時に徐々に静注したにも拘らず5例中2例のラットが死亡した。実験成功例3例中 Evans-blue 青色斑はメタセルカリア総投与数30コ、検出虫体数12虫(40%、何れも左右腹壁より検出)の中、3虫(25%)のみが一致して出現しており、他の9虫の存在部位には青色斑の出現は殆んど認められなかった。然し出現した青色斑の大きさ及び青染の度合など写真6に示す如く殆んど対照群と同じであった。又組織学的にも中等度の浮腫及び滲出性炎症像がみられるのみで対照群と異なることはなかった。ただ写真19にみられる様に、虫体のみ存在し Evans-blue の出現をみなかった部位の組織所見では、青色斑を伴った部位に比し浮腫はやや軽度で、細胞浸潤も多くは単核球が主体でその細胞反応も概して軽度であった。

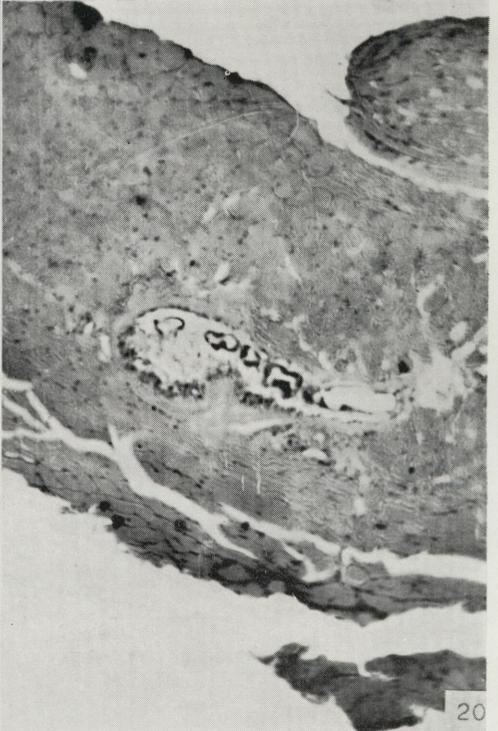
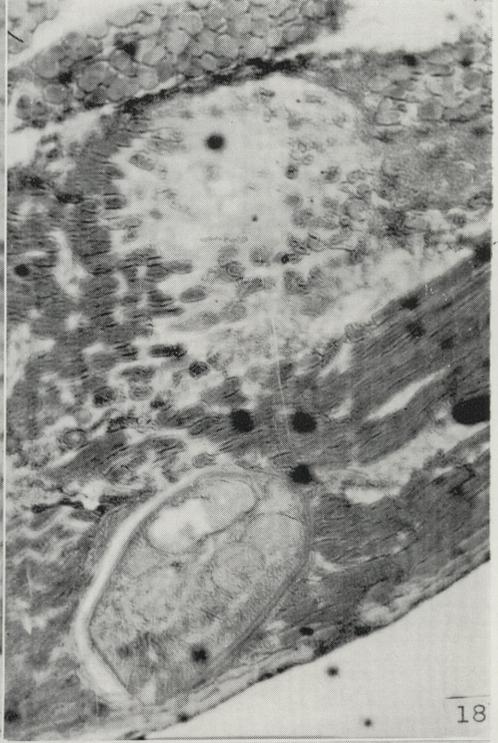
#### 7. Vitamin P 群(第6群)

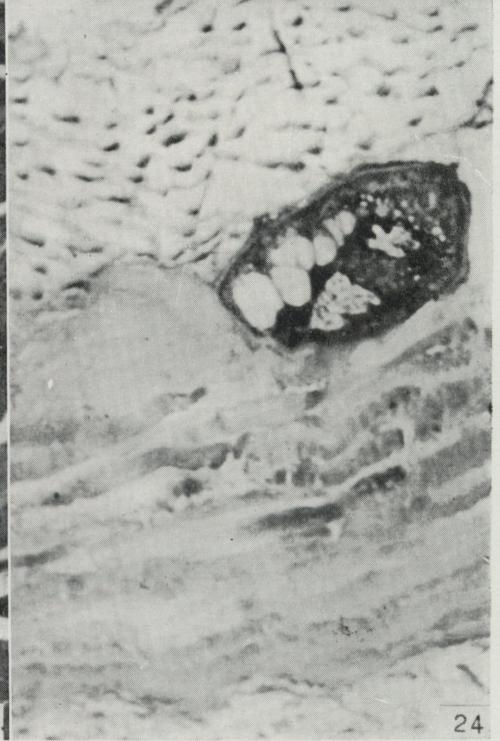
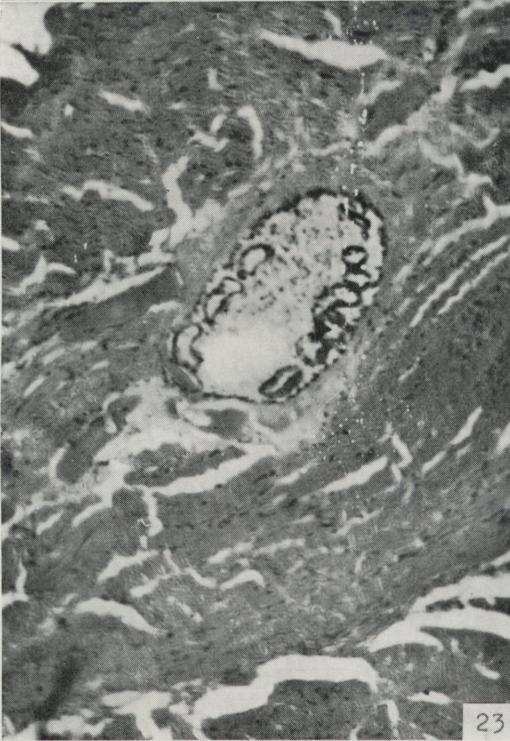
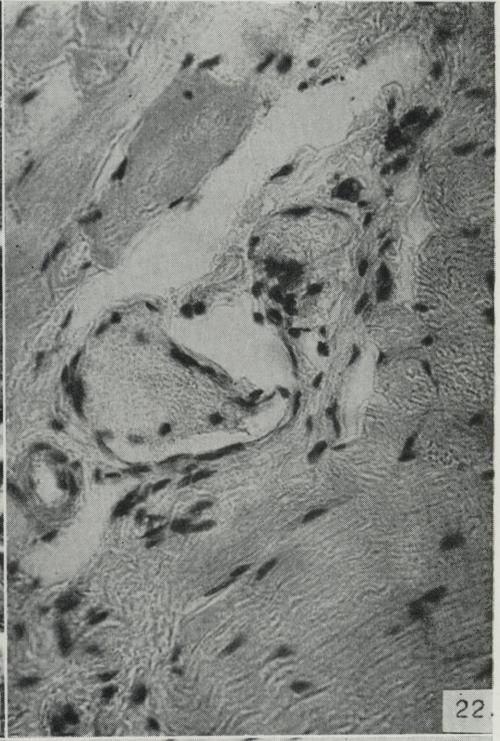
ラット5匹に各々メタセルカリア10コ宛を投与し総数50コの中、検出虫体は23虫(46%)であり、その65%に相当する15例に Evans-blue 青色斑を認めているが、その青色斑は対照群に比し幾分小さく、青染の度合もやや淡い様であった。この部は組織学的にも浮腫像及び細胞浸

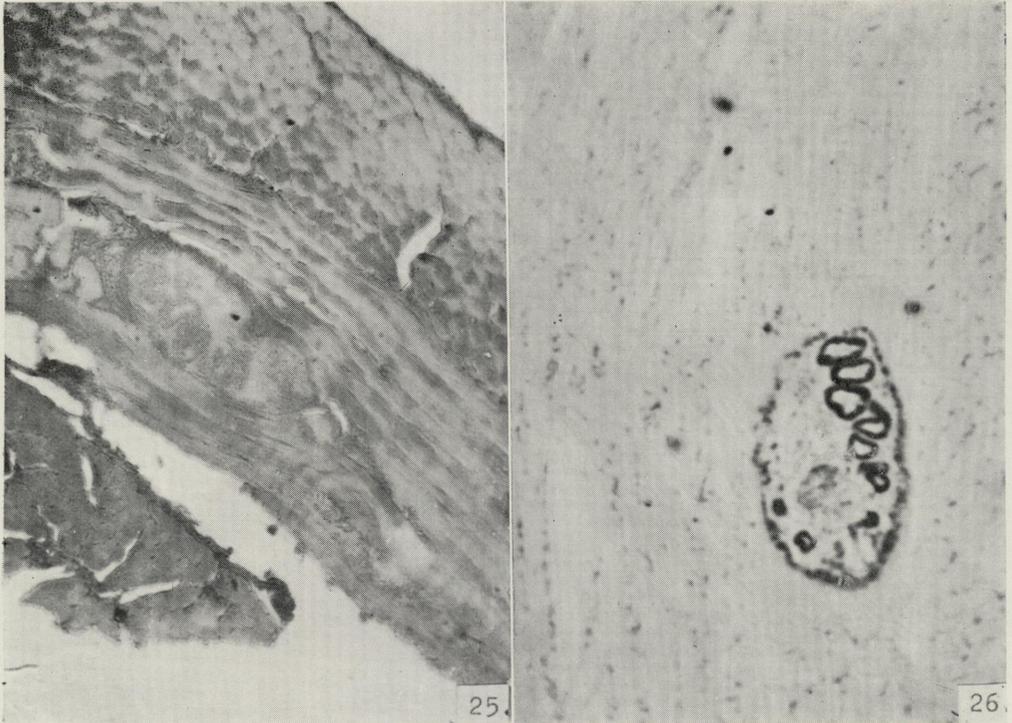












## 写真説明

- 1-8. 肉眼所見
  1. Control. Evans-blue 青色斑
  2. Testosterone 処置. Evans-blue 青色斑
  3. Testosterone 処置. 虫体匍行跡, 線状青色斑
  4. Calcium 処置. Evans-blue 青色斑
  5. Hyaluronidase 処置. 瀰蔓性青色斑
  6. Vitamin K<sub>3</sub> 処置. Evans-blue 青色斑
  7. Antihistamine 処置. 青色斑淡く小さい
  8. Cortisone 連用処置. 青色斑認めず. 虫体のみ認む
- 9-26. 顕微鏡所見
  9. Control (虫体存在部) H-E 染色, 弱拡大
  10. Control (青色斑出現部) H-E 染色, 弱拡大
  11. Control H-E 染色, 強拡大(軽度浮腫, 細胞浸潤)
  12. Control PAS 染色, 弱拡大(虫体周囲の可染性減弱)
  13. Control Tropeolin O 染色, 弱拡大(虫体周囲の染色性減弱)
  14. Hyaluronidase 処置. H-E 染色, 弱拡大
  15. Hyaluronidase 処置. H-E 染色, 強拡大(浮腫像著明)
  16. Hyaluronidase 処置. H-E 染色, 強拡大(強度の細胞浸潤)
  17. Hyaluronidase 処置. PAS 染色, 弱拡大(PAS 可染性減弱)
  18. Hyaluronidase 処置. Tropeolin O 染色, 弱拡大(染色性減弱)
  19. Vitamin K<sub>3</sub> 処置. H-E 染色, 弱拡大 (Control と殆ど同様所見)
  20. Antihistamine 処置. H-E 染色, 弱拡大(炎症像軽度)
  21. Antihistamine 処置. H-E 染色, 強拡大(浮腫, 細胞浸潤軽度)
  22. Antihistamine 処置. Toluidin blue 染色, 強拡大 (Mast cell の出現)
  23. Cortisone 1週連用処置. H-E 染色, 弱拡大(滲出性炎症像軽度)
  24. Cortisone 1週連用処置. PAS 染色, 弱拡大(可染性減弱)
  25. Cortisone 1週連用処置. Tropeolin O 染色, 弱拡大(染色性軽度減弱)
  26. Cortisone 1週連用処置. Toluidin blue 染色, 弱拡大 (Mast cell を虫体周囲に証明)

潤が少なく組織障害は軽度であつた。

#### 8. Antihistamine 群 (第7群)

ラット6匹に各々メタセルカリア10コ宛を投与し、投与メタセルカリア総数60コの中検出虫体数は28虫(47%)で、その中腹腔に遊離していた1例を除く27例中15例(55%)は青色斑と一致しており、他の12虫の存在部位には青色斑の出現は殆んど認められなかつた。尚出現した青色斑も写真7に示す如く対照のそれと比較すると、小さく、青染の度合も弱く、Evans-blue 斑の出現が阻害されている如く思われた。又組織学的所見では PAS 及び Tropeolin O (写真21) の染色性は対照群と変らなかつたが、Hematoxylin-Eosin 染色 (写真20) では浮腫像は極めて軽度で滲出細胞の出現も少なかつた。ただ写真22に示す如く、Toluidin blue 染色によつてメタクロマジーを起した粗大顆粒をもつ多くの組織肥胖細胞の出現がみられ、これは近接の血管周辺部に比較的多く存在し、胞体は一部破綻を認めるものも多かつた。

#### 9. Cortisone 1週連用群 (第8群)

5匹のラットを用いて行つた結果、検出虫体数はメタセルカリア投与総数50コ中25虫(50%)であつた。しかしその25虫は何れも存在部位に写真8にみられる如く虫体が存在しているにも拘らず Evans-blue 青色斑は認められなかつた。このことは後述の Cortisone 1回処置群ではすべて Evans-blue 斑点が出現していることと比べて興味ある点であつた。組織学的所見は、先の Antihistamine 群と殆んど同じであり、浮腫像及び細胞浸潤は極めて軽微で淋巴間隙及び小血管の開大も対照に比して著しく少なく滲出性炎症像は甚だ軽度であつた(写真23, 24及び25)。本群でも写真26にみられる如く、しばしば顆粒を放出した組織肥胖細胞の存在を認めることが出来た。

#### 10. Cortisone 1回投与群 (第9群)

5匹のラットを用いてのメタセルカリア投与総数50コ中18虫(36%)が検出され、検出部位は前項の Cortisone 1週間処置と異なりすべて Evans-blue 青色斑に一致していた。その斑点の大きさなども肉眼的には殆んど対照群と異なることはなかつた。

又組織学的にも浮腫像など対照群に比してやや軽度ではあつたが、好中球、小円形細胞などの細胞浸潤を認めている。

以上個々の各薬剤処置群の結果について述べて来たが対照群の所見を基準としてこれを纏めてみると第4表の如くとなり、肉眼的には Vitamin C 欠乏, Cortisone 1

回投与及び Hyaluronidase 投与の各群では対照群とほぼ同様に虫体と Evans-blue 斑点の一致が高度にみられた。

又組織学的には、PAS 染色では Hyaluronidase 及び対照群にその減弱は著しく、他の群ではそれ程著明な差異は認め難かつた。一方 Tropeolin O 染色ではその染色性の特徴から減弱の程度を識別することは困難であつたが、何れの群も PAS 染色性減弱の部に相当して染色度の減退が認められた。尚虫体のメタセルカリア投与数に対する検出虫体数の関係(虫体検出率)を統計学的に吟味を加えてみた。即ち各群の分散の均一性が保たれていないので、分散が不均一な場合の一元配置法を適用して、群内分散Aと群間分散Bとの対比からF検定で判定すると、 $\alpha=0.05$ で  $F_0=3.59 > F=2.85$  となり群間差は著しく、殊に Vitamin C 欠乏群が対照群と比較して有意に少なかつた。即ち Vitamin C 欠乏食のラットでは虫体の検出率が他の処置群に比較して有意に低かつたと云う結果が出た。然し本実験はこの感染成立に及ぼす影響についての検討が主目的でなかつたので、この点に関しては尚検討を要するものと思う。

#### 考 察

蠕虫類の宿主体内侵入機転に関する研究は、その研究方法即ち組織化学的研究や虫体自体の生化学的研究などの進歩と共に次第に明らかにされて来た。横川(宗)(1960)によつて明らかにされたウエステルマン肺吸虫の終宿主体内移行経路の追究に際し、Evans-blue 法を用いると虫体穿入部位に鮮明な青色斑の出現をみると云うことに注目し併かの実験を試みた。肺吸虫以外の蠕虫類については既に Lewert & Lee (1954) が本法を用いて各種住血吸虫や数種線虫類の経皮感染の機構に興味ある生理化学的な解釈を与えている。ウエステルマン肺吸虫の場合、経口的に投与したメタセルカリアが腸管で速やかに脱囊し、一度腹腔に出現した後腹壁内面の漿膜下結合織内に穿入するが、その際の幼虫の組織内穿入機構については殆んど先人の研究が見当たらない。ここに著者は上述の腹壁穿入時期をとらえて生理的条件下における Evans-blue 斑点の出現状況を種々の角度から検討すると共に、Vitamin, Hormon その他種々の薬剤処置におけるそれと比較観察し大略既述の如き成績を得た。そこでここでは特に著明な差異を認めた Cortisone 1週連用群, Antihistamine 群及び Hyaluronidase 群の3群に重点をおいて今一度考察することにした。爾余の Vitamin C 欠乏状態, Calcium, Vitamin K<sub>2</sub> 及び P, Testosterone 等の群では主として血管の透過性の変調と結合

織基質の Vitamin 及び Hormon 作用に影響を与えるものと期待して実験を行ったのであるが、個々の実験例によつて可成り差異があり、対照群のそれに比較して Evans-blue 出現状態に確然とした差異を認め難かつた。然し果してこれらの薬剤による影響が実際になかつたかどうかと云う点については、本実験のみでは明らかなことは云えないと思われる。尚 Vitamin C 欠乏食群では虫体の感染率が有意に低く感染を或る程度阻止されたかの如き結果が得られたが、これは本論題外であるので別の機会に検討してみたい。それ以外の薬剤では斯くの如き傾向は認められなかつた。

#### (I) Cortisone 処置による Evans-blue 斑点出現の抑制機序について

各種ホルモンが結合織殊に基質の構成成分である Glycoprotein に及ぼす影響やこれに伴う 蠕虫類の侵入機序に関する研究には、Sadun (1948), Ackert & Dewhirst (1950), Coker (1957) 等多くの報告がなされている。殊に Coker (1955~56) は Cortisone 処置が旋毛虫 *Trichinella* の感染に及ぼす影響についても詳細に報告し、Cortisone の作用による局所の反応性の減弱等が感染を容易ならしめると云うことを指摘した。Lewert & Lee (1954) は或る種の住血吸虫を用いて Cortisone の大量処置が局所の Glycoprotein のもつ幼虫侵襲に対する抵抗を減弱せしめて感染を容易ならしめ、Evans-blue 着色斑は減弱し虫体に近い部における所謂慢性の bluing halo (暈) を認めなかつたと報告している。

著者は Cortisone 1 週間連用群で肉眼的に Evans-blue 着染性の減弱を認め、組織学的には対照群と比較して明らかに浮腫が軽度で、好中球を始めとする滲出細胞の出現は極めて少なく移動部位に僅かに単核細胞の浸潤像を認めた。しかも虫体周辺部の液状融解、類壊死の像は対照に比して著しく軽度であつた。この部の PAS 染色では、対照に比して可染性の減弱が僅かであり、筋組織にもみられた蛋白反応染色性の減弱も甚だ軽かつた。即ち Cortisone による Evans-blue 斑点の出現抑制は組織学的には炎症性反応の減弱であり、組織化学的には糖質及び筋組織を含めた局所多糖類 Polysaccharides 或いは局所蛋白(主として Glycoprotein) の障害度の減弱に起因するものであることが明らかにされたものと思う。

#### (II) Antihistamine 処置による Evans-blue 斑点の抑制機序について

Histamine が血管の透過性を高める点については今や誰も疑うものはない。然も色素を indicator として血管

の透過性を論じた報告も甚だ多い。Lewert & Lee (1954) は、Antihistamine 剤として Neoantergan や benadryl hydrochloride を用いて *Strongyloides ratti* や *Strongyloides simiae* 等について同じく Evans-blue 斑点の出現が抑制され、侵入局所の丘疹も軽減化されることを報じ、この際これらの機構については、histamine により惹起される現象になぞらえている。最近 Millemann & Mergenhausen (1960) も亦 Evans-blue 法を用い、histamine や hyaluronidase によつて出現する青色斑が住血吸虫セルカリアの場合も同様に Antihistamin 剤(氏等は promethazine hydrochloride を用いた)によつて抑制されることを確かめ、毛細血管の透過性の増大が Cercariae 由来の Hyaluronidase や Collagenase 様の酵素作用によつて局所に histamine の誘出を来し、それが関与するものであらうとした。即ち Lewert & Lee (1954) の提唱する上述の酵素が局所の基質をなす Glycoprotein や毛細血管の同物質に作用し、ここで直接又は間接に histamine 様物質の産生が助長され幼虫侵入に利するのではないかと述べて居る。著者の実験では剖検15分前に benadryl hydrochloride 10 mg の注射で、その所見は Cortisone 処置のものに甚だ類似し、殊に浮腫性病変が軽度で、淋巴腔や小血管腔の開大は対照群に比して著しく軽く、細胞浸潤像も少なかつた。ただ本群においては殊に組織肥胖細胞の出現が極めて多く且つ顆粒を胞体外に放出するものが甚だ多く認められた。元來結合織内には正常時においても本細胞の存在は認められるものであるが、本群では虫体の周辺部及び移動部位と思われる円形細胞浸潤像の認められる所に、小血管と密接な関聯をもつて上述の様な顆粒の放出飛散が Toluidin blue 染色で確認されたことは甚だ興味深い。

組織肥胖細胞の細胞学的機能については未だ必ずしも明らかではないが、その顆粒の本態が Jorpes & Holmgren (1937) による Heparin 様物質であらうと云うことは今日定説とさえ思われるが、和田・芳賀 (1950) の考察している様に局所反応相に出現した本細胞が体液の粘稠、凝固に関与し、直接或いは間接に histamine 産生を抑制し、局所の解毒的な作用に関与するものとするれば、本細胞の防禦機構は例え二次的であるとは云え無視出来ないと思われる。

#### (III) Hyaluronidase 処置による Evans-blue 斑点の増強について

Hyaluronidase が結合織基質を軟化し毛細血管の透過性を高めることについては既に多くの報告がある。著者

が Hyaluronidase 処置に及ぼす Evans-blue 斑点の出現を対照群と比較した結果は肉眼的には虫体穿入部位に斑点の拡大増強を認め、組織学的には高度の浮腫と虫体周辺部及び筋間結合織内を移動したと思われる部位に、好中球、組織球、単核球、大小淋巴球様小円形細胞、時に形質細胞や組織肥胖細胞の著明な浸潤像を認めた。組織化学的には PAS 可染性の著明な減弱を特に虫体周辺部に認め、融解軟化した筋束及び結合織に蛋白反応の減弱を認めた。この様な所見は対照群に比較してかなり著明であり、Hyaluronidase の作用に基くものと思われた。今日、蠕虫類の宿主への侵入機序に Hyaluronidase 或いは蛋白質をも含めて糖蛋白質に対する Collagenase 作用を想定せしめる所見を報告する先人の業績は極めて多い。著者は先の横川(宗)(1960)の組織化学的な所見、更には教室の村越ら(未発表)が生化学的に人臍帯より得たる Hyaluronic acid を基質としてウエステルマンの肺吸虫の成虫を用いて粘度計法による本酵素の活性を調べた結果や、Gelatin を基質として遊離 Tyrosine を定量的に測定しての吸収係数から Collagenase の活性を認め、肺吸虫成虫にも強力ではないが両酵素が存在することを証明したことなどから、幼虫期における本吸虫の組織穿入に際しては Evans-blue 斑点の出現状況や本酵素の処置による増強によつて虫体由来の所謂拡散因子 spreading factor の存在は疑いないものと考えられる。細上(1943)は *Dirofilaria immitis* の成虫や肺吸虫、肝吸虫、日本住血吸虫等の成虫について皮内拡散方法を用いて、*Dirofilaria* にのみ本因子のあることを証明し、又 Levine et al. (1948) は Manson 住血吸虫のセルカリアに粘稠度低減法によつて Hyaluronidase のあることを証明したが、その研究者の一人である Kuntz (1953) は更に同住血吸虫セルカリアに拡散因子のあることを確認してセルカリアの分泌する酵素の重要性を考察している。我が国では最近加茂(1958)、沢田ら(1957)が日本住血吸虫セルカリア、有棘顎口虫ヤツビ=鉤虫等の仔虫及びウエステルマン肺吸虫の被囊幼虫や横川吸虫のセルカリア等に Hyaluronidase の存在を認めているが、上述の組織学的及び組織化学的所見から推察してもウエステルマン肺吸虫幼虫にも恐らく本酵素の存在は間違いないものと思われる。更に推測が許されるならばその顕微鏡的所見から結合織はもとより筋束の断裂融解像等からこれら蛋白体に対する消化酵素(proteolytic enzyme)の存在も考えられる。ただこれらの多糖類若しくは糖蛋白体に対する酵素が幼虫のどこから分泌されるかと言う点

については未だ明らかでない。本吸虫のセルカリア、メタセルカリア更には脱囊後の形態学的分化に関する研究業績は少なく、本吸虫の脱囊幼虫には、住血吸虫における penetration glands 等の如きものの存在も認められていないので、酵素分泌器官の形態学的裏付けについては、今後更に検討を要するものとする。

(IV) ウエステルマン肺吸虫幼虫の終宿主体内組織侵入機序について

肺吸虫の幼虫が終宿主体内組織に侵入する機序に関しては、従来その幼虫の有する機械的侵入作用のみが重視されていた。著者はここに Evans-blue 法を適用して移行経路途中の腹壁内穿入期に際して認められる斑点の出現機序について数種の薬剤処置の及ぼす影響を肉眼的、病理学的並びに組織化学的に比較観察した。その結果、対照群において横川(宗)(1960)が指摘した幼虫の侵入には虫体由来の Hyaluronidase 若しくは Collagenase 様の酵素が侵入局所の結合織内基質や細血管壁の Glycoprotein に作用し本来の機械的侵襲力を一層助長するものであるとの所見を再確認した。而して各種薬剤処置の Evans-blue 斑点に及ぼす影響では、対照群に比して Cortisone 1 週間連用群及び Antihistamine 処置群では青斑の出現の減弱、Hyaluronidase 処置群ではその著明な増強が認められた。即ち虫体由来の所謂 spreading factor の存在を推察すると共に、これらの顕著な薬剤効果から幼虫穿入に際して出現する Evans-blue 斑点は Lewert & Lee や Millemann & Mergenhagen 等の指摘した様に侵入局所の多糖類や糖蛋白の水溶性性状に支配されるものの如く思われた。この事は一方虫体が腹壁筋内結合織で著明な発育を営むと云う事実と極めて密接な関係があるものの如く、低分子化される糖質や糖蛋白が栄養源として幼虫に摂取されると云うことも当然考えられる所である。

以上の成績から総じてウエステルマン肺吸虫幼虫の宿主組織への穿入機序には、従来考えられて来た幼虫の有する強力な機械的侵襲作用の他に住血吸虫セルカリア等に認められている spreading factor もその一助となっているのではないかと考えられる。このことは虫体側からのみでなく、宿主側の幼虫侵入に基づく防禦機構に関与する局所反応性や局所免疫性の発生と密接な関係が推察され、所謂 Host-Parasite relationship の研究に多くの示唆を得たものと思われる。

#### むすび

0.3 % Evans-blue 液をウエステルマン肺吸虫メタセ

ルカリア経口投与後1週目のラットに静注し15分後に剖検した所、幼虫は組織内殊に腹壁部に多く見出され、その検出部位に相当して着色斑点の出現をみた。

この青色斑は Hyaluronidase 投与により更に大きく彌慢性に出現し、組織学的にも強い急性滲出性炎症像を呈したが、逆に Antihistamine, Cortisone の処置をしたものではその染色性は著しく抑制され、浮腫及び滲出機転も軽度であった。その他 Vitamin C 欠乏, Testosterone, Calcium, Vitamin K<sub>3</sub> 及び Vitamin P などの処置を行ったが、これらの群は無処置の対照群と肉眼的にも組織学的にも殆んど差異は認められなかった。

これらの結果から肺吸虫の終宿主体内移行経路における幼虫の組織内侵入には、本来の機械的侵襲作用の他に生理機構として虫体由来の Hyaluronidase や Collagenase の如き酵素作用を推察せしめる所見が侵入局所の病理組織学的或いは組織化学的所見から得られた。尚人工的に惹起せしめた2~3の非生理的条件下における所見と比較観察してこれらを裏付けた。

稿を終るに臨み、終始御指導と御校閲下さった恩師横川教授に深く感謝の意を表すると共に、種々御助言を与えて下さった吉村助教授並に教室員諸氏に深く謝意を表します。

## 文 献

- 1) Ackert, J. E. & Dewhirst, L. W. (1950): Resistance of fowls to parasitism affected by female sex hormones. *J. Parasitol.*, 24(1), 13-14.
- 2) Benditt, E. P., Schiller, S., Mathews, M. B. & Dorfman, A. (1951): Evidence that hyaluronidase is not the factor in testicular extract causing increased vascular permeability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 77, 643-646.
- 3) Bullock, W. L. (1953): Phosphatase in experimental *Trichinella spiralis* infection in the white rat. *Exp. Parasit.*, 2(2), 150-162.
- 4) 帖佐博(1958): 東洋毛線虫及び鉤虫仔虫の経皮感染の Evansblue による観察, 慶応医学, 35(3), 303-306.
- 5) Coker, C. M. (1955): Effect of cortisone on *Trichinella spiralis* infections in non-immunized mice. *J. Parasitol.*, 41(5), 498-504.
- 6) Coker, C. M. (1956): Some effects of cortisone in mice with acquired immunity to *Trichinella spiralis*. *J. Inf. Dis.*, 98(1), 39-44.
- 7) Coker, C. M. (1956): Cellular factors in acquired immunity to *Trichinella spiralis*, as indicated by cortisone treatment of mice. *J. Inf. Dis.*, 98(2), 187-197.
- 8) Coker, C. M. (1957): Effect of cortisone on natural immunity to *Schistosoma mansoni* in mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 96(1), 1-3.
- 9) Evans, A. S. (1953): Quantitative demonstration of hyaluronidase activity in cercariae of *Schistosoma mansoni* by the streptococcal decapsulation test. *Exp. Parasit.*, 2(4), 417-427.
- 10) Fawcett, D. W. (1954): Cytological and pharmacological observations on the release of histamine by mast cells. *J. Exp. Med.*, 100, 217-224.
- 11) 細上恒雄(1943): 象皮病の病因に関する研究補遺, 医学研究, 17(12), 113-130.
- 12) 市川収(1957): 細胞化学, 日本教学出版社, 東京.
- 13) Jorpes, E., Holmgren, H. & Wilander, O. (1937): Über das Vorkommen von Heparin in den Gefäßen und in den Augen. Ein Beitrag zur physiologie der Ehrlichschen Mastzellen. *Z. Mikro. Anat. Forsch.*, 42, 279-301.
- 14) 加茂正和(1957): 日本住血吸虫の拡散因子, 久留米医学雑誌, 20(8), 1243-1257.
- 15) 加茂正和(1958): 日本住血吸虫の拡散因子, 久留米医学雑誌, 21(2), 393-401.
- 16) Kuntz, R. E. (1953): Demonstration of the "spreading factor" in the cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasit.*, 2(4), 397-402.
- 17) Lee, C. L. & Lewert, R. M. (1957): Studies on the presence of mucopolysaccharidase in penetrating helminth larvae. *J. Inf. Dis.*, 101, 284-294.
- 18) Levine, M. D., Garzoli, R. F., Kuntz, R. E. & Killouth, J. H. (1948): On the demonstration of hyaluronidase in cercariae of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.*, 34, 158-161.
- 19) Lewert, R. M. (1958): Invasiveness of Helminth Larvae. Rice Institute Pamphlet. XLV, 97-113.
- 20) Lewert, R. M. & Lee, C. L. (1951): The effect of helminths on the basement membrane and ground substance of the host. a study of the mechanism of penetration. *J. Parasitol.*, 37 (Sec. 2), 20 p.
- 21) Lewert, R. M. & Lee, C. L. (1954): Studies on the passage of helminth larvae through host tissue. I. Histochemical studies on extracellular changes caused by penetrating larvae. II. Enzymatic activity of larvae *in vitro* and *in vivo*. *J. Inf. Dis.* 95: 13-51.
- 22) Lewert, R. M. & Lee, C. L. (1956): Quantitative studies of the collagenase-like enzymes

- of cercariae of *Schistosoma mansoni* and the larvae of *Strongyloides ratti*. J. Inf. Dis., 99, 1-14.
- 23) Lincicome, D. R. (1953): A streptococcal decapsulation test for detection of hyaluronidase activity in animal parasites. Exp. parasit., 2 (4), 333-347.
- 24) Millemann, R. E. & Thonard, J. C. (1959): Protease activity in schistosome cercariae. Exp. Parasit., 9, 129-136.
- 25) Millemann, R. E. & Mergenhagen, S. E. (1960): Studies on the penetration of schistosome cercariae. I. Action of the antihistamine promethazine hydrochloride. J. Parasitol., 46(2), 155-163.
- 26) 小倉保己(1958): 抗ヒスタミン剤の薬理学的研究—特に毛細血管の透過性を中心として—日本薬理学雑誌, 54(1), 33-46.
- 27) 大島智夫(1956): ウェステルマン肺吸虫被囊幼虫の脱囊機転の検討, 寄生虫学雑誌, 5(3), 404-415.
- 28) Paton, W. D. M. (1957): Histamine release by compound of simple chemical structure. Pharm. Rev., 9, 269-328.
- 29) Riley, J. F. (1953a): The relationship of the tissue mast cells to the blood vessels in the rat. J. Path. Bact., 65, 461-469.
- 30) Riley, J. F. (1953b): The effects of histamine-liberators on the mast cells of the rat. J. Path. Bact., 65, 471-479.
- 31) Riley, J. F. & West, G. B. (1955): Mast cell and histamine profiles in the skin of various species. J. Physiol., 130, 28.
- 32) Robinson, E. J. (1957): A possible effect of testosterone on the development of *Schistosoma mansoni*. J. Parasitol., 43, 59.
- 33) Sadun, E. H. (1948): Relation of the gonadal hormones to the natural resistance of chickens and to the growth of the nematode *Ascaridia galli*. J. Parasitol., 34 (Supple), 18.
- 34) 佐古田新(1958): 鉤虫の非固有宿主体内に於ける発育に関する実験的研究(第4報), 寄生虫学雑誌, 7(6), 689-701.
- 35) 沢田卓(1925): 吸虫類発育各階梯における糖原質及び脂肪の顕微化学的研究, 愛知医学雑誌, 32, 801-856; 33, 1088-1133.
- 36) 沢田利貞・河野恵・山崎茂(1957): 日本住血吸虫 *Cercariae* の皮膚通過について, 第7回日寄東日本支部大会記事, 13.
- 37) Stirewalt, M. A. (1953): The influence of previous infection of mice with *Schistosoma mansoni* on a challenging infection with the homologous parasite. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2, 867-882.
- 38) Stirewalt, M. A. & Evans, A. S. (1952): Demonstration of an enzymatic factor in cercariae *Schistosoma mansoni* by the streptococcal decapsulation test. J. Inf. Dis., 91, 191-197.
- 39) Thorsen, R. E. (1953): Studies on the mechanism of immunity in the rat to the nematode *Nippostrongylus muris*. Am. J. Hyg., 58, 1-15.
- 40) 津田守道(1959): 肺吸虫 *Paragonimus westermani* の生物学的研究, (1) モクズガニ体内のメタセルカリアの新蒐集法と本法によるメタセルカリアの分布状況について, 寄生虫学雑誌, 8(5), 805-811.
- 41) 和田義夫・芳賀圭五(1950): 好塩基球の臨床的意義, 血液討議会報告, 第3輯, 20-60.
- 42) Winter, C. A. & Flotaker, L. (1950): Influence of cortisone and related steroids upon the spreading effect of hyaluronidase. Federation Proc., 9, 137-138.
- 43) 山崎茂・河野恵(1958): 鉤虫幼虫のコラゲナーゼについて, 寄生虫学雑誌, 7(3), 206.
- 44) 安平公夫・山本寛(1950): 病的血管透過性, 血液学討議会報告, 第3輯, 160-177.
- 45) 横川宗雄(1960): 肺吸虫の生理—肺吸虫の終宿主体内移行経路について—, 寄生虫学雑誌, 9(3), 433-434.
- 46) 横川宗雄・吉村裕之(1956): ウェステルマン肺吸虫セルカリアの“Mucoïd glands”に関する研究, 寄生虫学雑誌, 5(3), 449-456.
- 47) 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の性状とその形成機転に関する考察, 寄生虫学雑誌, 6(6), 546-554.
- 48) 横川宗雄・吉村裕之(1958): 肺吸虫の生理—(IV) 大平肺吸虫セルカリアの Mucoïd glands の形態について, 寄生虫学雑誌, 7(6), 627-630.
- 49) 横川定(1915): 肺ダストマ(パラゴニームス, ウェステルマニー)終宿主体内に於ける移行路について, 台湾医学会雑誌, 152: 685-701; 153: 728-735.
- 50) 横川定(1917-18): 二口虫類の生物学的研究—特に被囊セルカリアの終宿主体内消化管内に於ける遊離機転について, 台湾医学会誌, 181, 703-778; 184, 301-354; 184, 401-427, 岡山医学会誌, 336, 1-106; 337, 1-41.
- 51) 吉村裕之(1952-53): 血液細胞(特にエオジ嗜好細胞を中心とする)の組織化学的研究, 日本病理学会誌, 41, 74; 42, 57-58.
- 52) 吉村裕之・横川宗雄(1958): 肺吸虫の生理—(III) ウェステルマン肺吸虫の組織化学—特に糖質, 核酸及びフォスファターゼの分布—寄生虫学雑誌, 7(4), 363-369.

PATHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDIES ON THE  
INVASIVENESS OF THE LARVAE OF *PARAGONIMUS*  
*WESTERMANI* THROUGH THE TISSUES OF  
THE DEFINITIVE HOSTS BY MEANS  
OF EVANS-BLUE TECHNIQUE

MORIYASU TSUJI

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

The migration route of *Paragonimus westermani* in the final hosts has been studied by using the Evans-blue technique by M. Yokogawa *et al.* (1960) and it was found that the site of the penetration by this fluke in the final hosts were stained blue with this dye.

According to Yokogawa most of the larvae of *P. westermani* were recovered in the abdominal walls of the rats during the period from one week to more six months after infection.

This experiment was conducted to investigate the mechanism of penetration of the larvae of this fluke in the host tissues using the Evans-blue technique.

The rats infected with *P. westermani* were treated respectively with several drugs, Testosterone, Calcium, Antihistamine, Hyaluronidase, Cortisone, Vitamin K<sub>3</sub>, Vitamin P and ascorbic acid deficiency, and the influences of these drugs to the staining of Evans-blue at the site of penetration of the larvae in the host tissues were compared.

The size and colour of the blue-spots of the Evans-blue at the site of the penetration of the larvae were more increased in the rats treated with Hyaluronidase than those in the non-treated rats. On the contrary, those of the blue-spots were decreased in the rats treated with Antihistamine and Cortisone, even though the larvae were present.

Any differences were not found in the rats treated with Testosterone, Calcium, Vitamin K<sub>3</sub>, Vitamin P and ascorbic acid deficiency.

The histochemical findings of these sites were also compared.

The strong exsudative inflammations were found at the site of the penetration of the larvae in the rats treated with Hyaluronidase. However, those changes were very slight and infiltration of the mast-cells was found in the rats treated with Antihistamine and Cortisone.

It was assumed that Hyaluronidase and Collagenase-like enzymes were secreted from larvae, and these enzymes may promote mechanical tissue invasions of *Paragonimus* larvae.