

Visceral larva migrans に関する研究

(2) 犬蛔幼虫の眼球内移行症の実験的成立について

横川 宗雄 吉村 裕之 稲坂 好信

千葉大学医学部医動物学教室

(昭和37年2月19日受領)

はじめに

好酸球増多を伴う種々の疾患群の中には、犬蛔虫幼虫の体内移行に基因するものがあることが Beaver *et al.* (1952) によつて始めて明らかにされ、この症候群に対して“visceral larva migrans”なる名称が与えられた。その後多数諸家によりその臨床例や実験的研究が追加されているが、殊に眼科領域では Wilder (1950) によつて小児の失明眼球の原因として幼線虫の眼球内移行が証明されて以来、“intraocular nematodiasis”あるいは“nematode-endophthalmitis”として注目を浴びるに至り、Irvine, Carter, Benedict, Ashton 等によつてこれらの臨床例が次々と報告されている。これら諸家の報告で共通している点は何れも若年者の失明眼球で臨床診断では“Pseudoglioma”, “Retinoblastoma”, “exudative and haemorrhagic retinopathies”等とされていることである。これらの組織学的検索では網膜内に虫体の一部または断片を確認し、大喰細胞、類上皮細胞、異物巨細胞および高度の好酸球浸集をみとめるいわゆる“eosinophilic granuloma”の形成が特徴的な所見として記載されている。著者らは第1報(1958)以来犬蛔虫成熟卵を非固有宿主であるマウスやラットに経口投与し、本幼虫の体内移行に基づく病変像を経時的に長期間にわたつて観察してきたが、この場合本幼虫が恰も人に見られたように眼球内に移行して同様な病変を起すものかどうかに留意してきた。ところが今回反覆感染のマウスの数例に網膜内幼虫の移行が初めて確認された。もとより上述の臨床的な症例とは種々の点で必ずしも同一には論じえないのであるが、実験的に本移行症を起しえた意義は大きいと思われるので、その実験成績の概要を報告し考察を試みたいと考える。

実験材料と方法

犬蛔虫成熟卵—小犬(生後3カ月前後)の腸管よりえられた雌蛔虫を切開し、子宮をとりだし、陰部より分岐した子宮の下部 $\frac{1}{2}$ までの子宮内卵を $\frac{1}{10}$ 規定苛性ソーダ水溶液中に集め、1夜浸漬した後、数回水洗して苛性ソーダを除去した後0.5%ホルマリン水中で小型シャーレで $28^{\circ}\sim 30^{\circ}\text{C}$ 孵卵器内培養を行なつた。感染実験には培養後4週目より6週目に至る仔虫包蔵卵が用いられた。

投与虫卵数の算定

大島(1961)の方法にしたがつた。すなわち培養虫卵中には仔虫包蔵卵の他に変性卵も可成り多数同時に混在しているので感染能力があると考えられる成熟卵の数を予め算定した。このために培養虫卵の一定容量の培養液を別の三角コルベンにとり分け、よく攪伴しながら0.1ccのメスピペットで0.05ccを吸いとり、大型載物硝子(24×32mm)をそれぞれ8等分に区割した算定用スライドに滴下し、24×32mmカバーを掩つて全区劃内の仔虫包蔵卵のみを実体顕微鏡で数え、かかる算定を10回繰返しその算術平均値を以て0.1cc内の仔虫包蔵卵の数とした。なおこの際に用いた駒込ピペット、メスピペット三角コルベン、注射器カテテル用ビニール細管などは総て Silicon でコーティングしたものをを用いた。

マウスへの虫卵投与方法：

注射器は0.1ccを正確に目盛りした2ccのツベルクリン用注射筒およびこれに附属する口径の大きい特製の注射針を用いこの注射針の先端にこれに合致したビニール細管(1.2~1.4cm)をとりつけた。マウスはエーテルで充分麻酔させ後左手指で頂部をつまみあげたまま注射針の先端にとりつけられたビニール管を口腔より食道を経て胃部に到達せしめるように注射針のほぼ $\frac{2}{3}$ までを挿入した。注入量はその投与数に応じて加減することは

本研究は昭和36年文部省総合研究課題「移行性幼線虫症に関する研究」に対する研究費の援助を受けた。ここに記して謝意を表する。

Table 1. Distribution of larvae in the intraocular tissues of mice infected with the various number of eggs of *Toxocara canis* 3 or 6 times repeatedly by mouth

Groups examined	Number of eggs given	Days to autopsy from the 1st inoculation of eggs	No. of mice	Location and number of larvae recovered				
				Eyes		Lacrimal gland		
				r-side	l-side	r-side	l-side	
Group-I	1,800, 1,220,	53days	No. 67	0	0	0	0	
	1,250, 1,100,		No. 68	0	2*	1**	0	
	1,250 and		No. 69	0	0	0	0	
	2,360							
	(every 10 days)			No. 70	0	0	0	0
				No. 71	0	0	0	1
				No. 72	0	0	0	0
total number of eggs given : 8,980		No. 73	0	0	0	0		
		No. 74	1**	0	1**	0		
Group-II	1,170, 1,250 and 1,100	29days	No. 57	0	0	0	0	
	(every 14 days)		No. 58	0	0	0	0	
	total number of eggs given : 3,520			No. 59	0	0	0	0
				No. 60	1**	0	1**	0

Note : *...Larvae recovered in the microscopical preparations

**...Larvae recovered directly by squashing the tissues between two glass slides

勿論であるが、何れの場合も虫卵懸濁液の注入量が 0.3 ~ 0.4 cc 位に相当するよう予め調製しておいた。直接胃内に虫卵液が注入された場合にはマウスは 30 秒~1 分位で再び元気をとり戻して運動を行うが気管内に誤まつて注入されたり食道または胃壁を毀損穿孔した場合には直ちにあるいは数十秒以内にショック死を来たして死亡するので確実に胃内に注入されたかどうか識別されうる。使用したマウスは成熟した体重 20~30 g の雌および雄何れをも用いた。

眼球内幼虫の検索方法：

先づ一側の眼球を周囲組織殊に涙腺、周囲脂肪及び結合織あるいは眼筋などとともに骨性眼窩より剝離摘出し、眼球、涙腺および兩余の支柱組織の 3 部に分離しそれぞれについて二枚の硝子板でそのまま圧平して双眼実体顕微鏡下で幼虫の有無を観察した。もし何れかの部位に 1 虫でも検出された場合には他側の眼球は周囲組織とともに摘出しカルノー氏液で固定し、後日パラフィン包埋による連続切片標本作製に資した。一側の眼球内に虫体が検出されなかつた場合にはひきつづき他側のそれを同様圧平して検索した。

組織連続切片は型のごとくヘマトキリシン-エオジン染色、ピロニン-メチル緑染色および過沃度酸-Schiff 染色 (PAS 染色) を行なつて虫体の形態学的所見と病理組織学的観察を行なつた。

実験成績

第一群. 犬蛔虫成熟卵を上述の方法でそれぞれ 10 日

間隔で、1,800, 1,220, 1,250, 1,100, 1,250 および 2,360 計 6 回 (虫卵総数 8,980) 投与し最後の虫卵投与後 3 日に剖検し、先述した方法で幼虫の有無が検索された。その結果は Table 1 に示したごとく、本実験群の 8 例中 2 例に虫体が確認され、その内 1 例は右涙腺内に 1 虫がみとめられたので他側眼球を連続切片標本として検索したところ組織学的に網膜内に 2 虫が検出された。他の 1 例では圧平法によつて右眼球内に 1 虫および同側涙腺内に 1 虫が確認された。

第二群. 虫卵はそれぞれ 14 日間隔で 1,170, 1,250 および 1,100 と計 3 回 (虫卵総数 3,520) 投与され最終投与後 24 時間において剖検して検索した。その結果は表に示したように 4 例中 1 例の右側の眼球および涙腺内に圧平法によりそれぞれ 1 虫宛の虫体がみとめられた。

組織学的所見：

左眼球網膜内に 2 虫が見出されたマウス (No. 68) についての所見

虫体は眼軸に対してやや外側で視神経束に近い部の網膜顆粒層内に 1 虫および網膜毛様体部 (Pars ciliaris) の部に 1 虫計 2 虫の横断面が確認された。前者の 1 虫は Microphoto. 1~2 に示したごとく網膜の外顆粒細胞層内に埋没してみとめられ虫体周辺部には顆粒細胞の可成り著しい増殖像と類線維素様物質の析出と浮腫性変化がみとめられた。顆粒細胞層下の結合織も浮腫状を呈し円形細胞の浸潤像がみられた。なお網膜内壁に凝血塊が附着して硝子体内に突出し血栓状をなすものが存在した。

虫体の横断面についてみると明らかに一對の側翼 lateral alae をみとめ、腸管腔の両側には管腔状の排泄柱 (excretory column) がみとめられた。PAS 染色では Microphoto. 5 に示したように虫体の角皮および角皮下組織は何れも深紅色に染色され腸管腔内に中等度可染性の顆粒物質がみとめられた。次に網膜毛様体部にみとめられた1虫では虫体周辺部の組織反応は軽度で虫体の側翼の存在も不明であったが前者と同様 PAS 染色には極めて鮮明に陽性反応を示した。

総括と考察

(1) 犬蛔虫幼虫による眼球内移行症について

Wilder (1950) は3歳から13歳までの小児の主として Retinoblastoma の臨床診断で摘出された46眼球について精査し、その24眼球に幼線虫の存在をみとめ、後日 Nichols (1956) によつて犬蛔虫幼虫であることが明らかにされ本移行症が眼科領域において新しい課題として注目されたことはよく知られている。一方 Beaver *et al.* (1952) は小児の eosinophilic hepatomegalia を呈する症候群の本態が同様犬蛔虫幼虫の移行症によるものであることを明らかにし、これらは “visceral larva migrans” と呼ばれその臨床例の報告や実験的研究が内外多数の諸家により行われてきている。Wilder について眼科領域における本疾患群は Beaver (1956), Carter (1958) 等によつて “intraocular nematodiasis” あるいは “nematode-endophthalmitis” と呼称され、その後同様の臨床例が Irvine *et al.* (1959), Benedict (1959) および Ashton (1960) 等によつて次々に報告されている。わが国においては未だ本症に対する関心の欠如やその検出の煩雑さなどから一例の報告をもみないのであるが犬との接触が欧米諸国と同様にあり、かつまた犬の排泄物の撒布が到る所にみられるのであるから犬蛔虫卵による感染の可能性が恰も人蛔虫のそれのごとくはなはだ多いと考えられる。Ashton (1960) は英国における最初の本症例として4例を報告し何れも4歳より16歳までの小児であつたことおよび何れも網膜には eosinophilic granuloma または eosinophilic abscess の形成像をみとめ、ここに虫体の横断面若くは断片を組織学的にとらえている。しかもこれらが何れも臨床的には pseudoglioma, Coats' disease 若しくは external exsudative or hemorrhagic retinopathies と診断されていることを注目している。

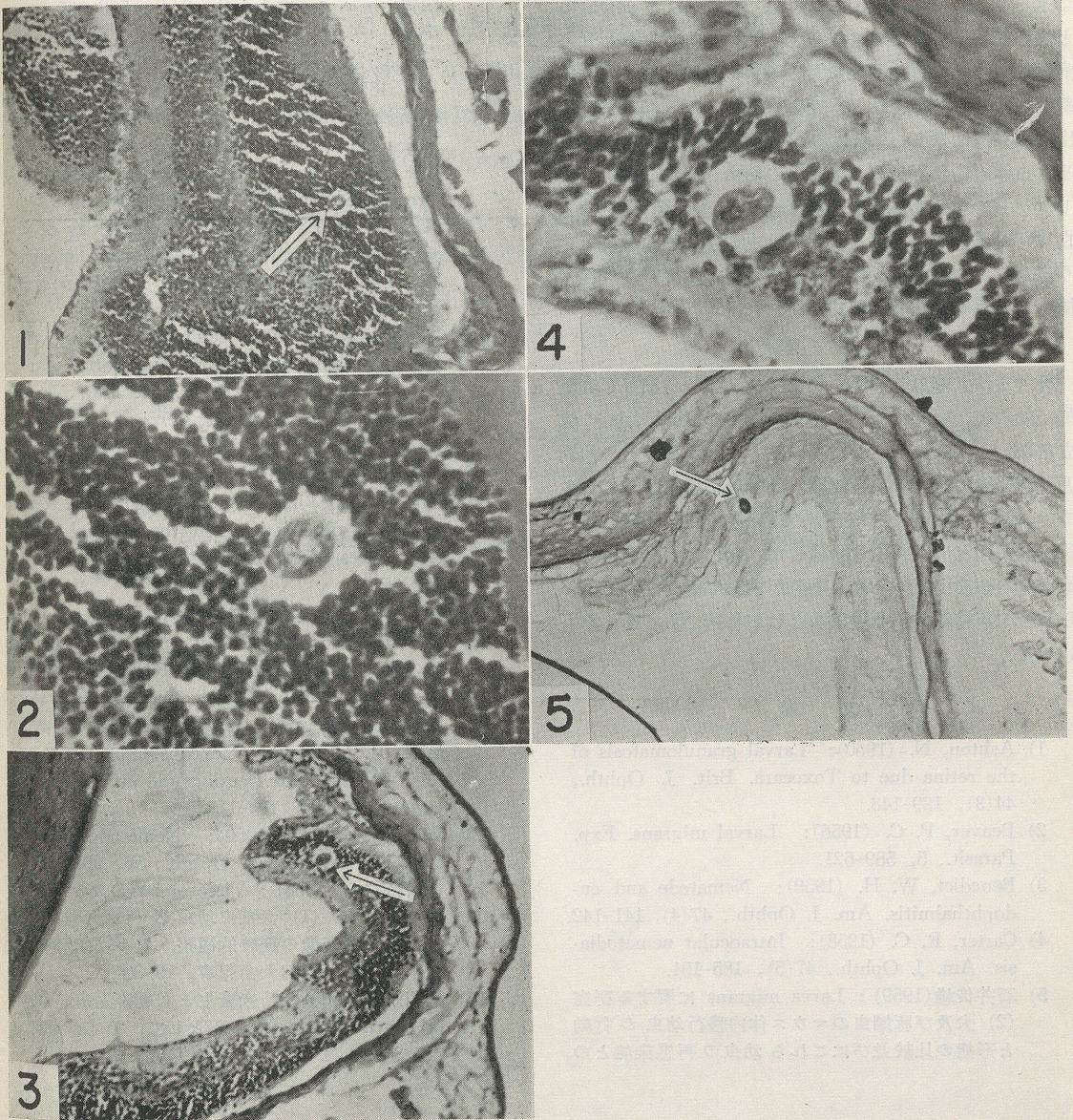
著者らはここに実験的に本移行症を成立せしめうることを明らかにした。本実験は “visceral larva migrans”

に関する一連の研究として殊に反覆感染における宿主側の反応像を解析する目的で行われたもので同時に眼球内移行症の成立がみとめられるかどうか常に留意された結果である。実験成績については先にのべたのでここでは繰返さないが、一定間隔をおいて反覆感染をなした実験例12例中3例に幼虫の眼球およびその周囲組織(涙腺または周囲支柱組織)への移行が確認された。本実験においてはその幼虫が如何なる経路を経て眼球に到達したかは必ずしも明らかにされなかつたが Sprent (1954) や Ashton (1960) ものべているように虫体の大きさやその活潑な運動性および網膜脈絡膜血管の組織学的構築から血管を介しての侵入も充分考えられる。しかし他方マウスにおいては人の場合とは必ずしも同一に論じられない点も多く、脳組織に連続する視神経束の比較的太いことや筋組織および涙腺など軟部組織への直接的な移行も、本幼虫のマウス体内諸臓器組織の移行状況から充分推察しうらむと思われる。この点については更に今後検討を要すると思われる。

次にマウスの網膜組織における病変についてであるが検出された2虫の周囲組織反応は既述のごとく主として滲出性炎症像が中等度にみられ肉芽腫形成像はみとめられなかつた。人体における本移行症の組織学的所見は何れの場合も好酸球増多を伴う肉芽腫形成がみとめられており類上皮細胞、大食細胞、異物巨細胞などの出現像が特徴として記載されている。この点についてはなお明らかではないがマウスにおける網膜組織の組織解剖学的構築の差違や、犬蛔虫卵感染後の経過期間などが関与することが考えられる。最近 Manson-Bahr (1961) が寄生性肉芽腫形成のメカニズムについて解析を行ない虫体の死滅や石灰化に伴う異物処理の反応像としての異物巨細胞、類上皮細胞、大食細胞の機能的な役割を考察していることは興味深い。

(2) 組織内幼虫の検出法としての PAS 染色の価値について

“visceral larva migrans” の研究殊に犬蛔虫幼虫の染色に PAS 染色を試みた記載は既に Dent *et al.* (1956), 近くには Ashton (1960) によつてなされているがその詳細については述べられていない。著者らは眼球その他実質臓器における本移行症の病変を種々の染色法によつて検討しているが、たまたま本幼虫が PAS 染色によつて極めて鮮明に染めだされることが明らかにされた。このことは本幼虫の横断面が組織管腔、就中毛細管などと誤まり易いことから本染色によつて明らかに識別



EXPLANATION OF MICROPHOTOGRAPHS

1. Transverse section of larva lying in granular stratum of retina (Arrow shows the larva)
2. High-power view of the larva seen in microphoto. 1
3. Transverse section of larva lying the different location of the section seen in microphoto. 1. (Arrow shows the larva)
4. High-power view of microphoto. 3
Single lateral alae formed by spine-like foldings of the cuticle in the lateral line of the larvae are observed
5. Larva showing strong positive reaction by means of periodic acid-schiff (modified) techniques. (Arrow shows the larva)

できることは虫体の検出診断に際して極めて有利であると思われる。今後眼球に限らず本幼虫移行症を疑わせる病材料について連続切片による多数の標本から虫体の横断面を検出する場合など本症を適用することによって検出の困難性は著しく軽減することができると考えられる。虫体の染色所見から犬蛔虫の幼虫(第2期幼虫)がグリコゲンを始めとする可成り polymer な多糖類(糖蛋白質)が豊富に存在することは幼虫の生機的な意義という点からは勿論、本幼虫移行に基づく宿主側の免疫発生機序という観点からも興味が持たれる。

結 び

著者らは犬蛔虫成熟卵を反覆マウスに経口投与し実験的に始めて、いわゆる nematoda-endophthalmitis の成立をなした。これらの検出成績と眼球およびその他周囲移行組織における病理組織学的所見を観察し、これまでの人眼球における本移行症の病変像と比較考察しその移行経路などについても論議した。なおまた本幼虫の組織切片内の検出には PAS 染色が極めて優れている点から今後の病材料内幼虫検出法として有利であることをも述べた。

文 献

- 1) Ashton, N. (1960): Larval granulomatosis of the retina due to *Toxocara*. Brit. J. Ophth., 44(3), 129-148.
- 2) Beaver, P. C. (1956): Larval migrans. Fxp. Parasit., 5, 589-621.
- 3) Benedict, W. H. (1959): Nematode and endophthalmitis. Am. J. Ophth., 47(4), 141-142.
- 4) Carter, R. C. (1958): Intraocular nematodiasis. Am. J. Ophth., 47(5), 185-191.
- 5) 石井俊雄(1959): Larva migrans に関する研究 (2) 犬及び豚蛔虫のマウス体内移行幼虫の行動と形態の比較並びにこれら幼虫の再感染能との

- 関連について. 寄生虫誌, 8(4), 558-665.
- 6) Irvine, W. S. & Irvine, A. R. (1959): Nematode Endophthalmitis. Am. J. Ophth., 47(5), 185-191.
 - 7) Manson-Bahr, S. P. (1961): The histopathological pattern of visceral larva migrans (parasitic granuloma) and its role in diagnosis. J. Trop. Med. Hyg., 64(6), 129-136.
 - 8) Nichols, R. L. (1956): The etiology of visceral larva migrans. (1) Diagnostic morphology of insectial second stage *Toxocara canis*. J. Parasit., 42, 349-362.
 - 9) Nichols, R. L. (1956): The etiology of visceral larva migrans. (2) Comparative larval morphology of *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis* and *Ancylostoma caninum*. J. Parasit., 42(4), 363-399.
 - 10) Oshima, T. (1961): Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. J. Parasit., 47(4), 652-656.
 - 11) Schacher, J. F. (1957): A contribution to the life history and larval morphology of *Toxocara canis*. J. Parasit., 43(6), 599-612.
 - 12) Sprent, J. F. A. (1953): On the migratory behavior of various ascaris species in white mice. II. Longevity of encapsulated larvae and their resistance to freezing and putrefaction. J. Infect. Dis., 92, 114-117.
 - 13) Weilder, H. C. (1950): Nematode endophthalmitis. Am. Acad. Ophth., 55, 99-100.
 - 14) 吉村裕之ら(1958): Visceral larva migrans に関する研究, (1) 犬蛔虫幼虫のマウス臓器内分布とその病変像の経時的観察. 第18回日本寄生虫学会東日本支部大会記事, 19-20.
 - 15) 横川宗雄(1950): 公衆衛生と家畜寄生虫, Visceral larva migrans を中心として. 日本公衆衛生誌, 3(12), 1-5.

STUDIES ON THE " VISCERAL LARVA MIGRANS "

II. ON THE EXPERIMENTAL OCCURRENCE OF THE NEMATODE-
ENDOPHTHALMITIS DUE TO THE LARVAE OF
TOXOCARA CANIS IN MICE

MUNEO YOKOGAWA, HIROYUKI YOSHIMURA & YOSHINOBU INASAKA

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

In the present study the experimental occurrence of nematode endophthalmitis due to the larvae of *Toxocara canis* in mice were carried out.

In the eyes and lacrimal glands of 3 out of 12 mice infected with the various number of the eggs of *Toxocara canis* (as shown in Table 1) the second-stage larvae were recovered. 2 larvae were found out in the microscopical preparations of one cases (microphoto. 1-5). The other larvae were recovered directly by squashing the tissues between two glass slides.

Histopathological changes of the intraocular tissues of mice were examined microscopically and compared with the granulomatous changes of the human cases reported by the previous investigators.