

肝 吸 虫 の 生 理

(3) 肝吸虫の単数寄生に関する研究

吉 村 裕 之 蔡 昭 雄

千葉大学医学部寄生虫学教室 (主任: 横川宗雄教授)

(1966 年 2 月 3 日 受領)

はじめに

一般に吸虫類 (住血吸虫類を除く) は雌雄同体であるがその生殖は相互交接が原則とされ自家交接は寧ろ希であるとされている。したがって通常 2 虫またはそれ以上の寄生による産卵が考えられる。しかるに自然界においては単数 (または単性) 寄生も考えられる所であるが、肝吸虫のこれらに関する研究は見当らない。さきに著者ら (1965) は肝吸虫メタセルカリアを 50 コ宛ラットに経口投与した場合の成熟虫体の回収率が投与メタセルカリア数の 16.0% (但し感染後 6 日以後) に達し、且成熟に要する日数は略々 20 日前後であることを経時的な形態所見から明かにした。そこで今回はただ 1 コの肝吸虫メタセルカリアを与えた場合のラットにおける感染率、成熟の有無、もし成熟するとすれば、その排卵数はいかほどになるかという点や、単数寄生の場合の病理学的所見について実験を行つた結果、興味ある成績がえられたので以下その概要を報告したい。

実験材料と方法

肝吸虫メタセルカリアの寄生するモツゴの採集地およびその分離方法等は既報 (1) (2) の通りである。分離されたメタセルカリアは 1 コ宛細ピペットで少量の水と共に成熟ラット 23 匹 (体重 200~250 g) の口腔内深く挿入し確実に嚥下せしめた。

検便:

感染後 15 日目より 30 日後までは隔日に採便し AMS III 法沈澱集卵法により糞便内虫卵出現の有無をたしかめ、虫卵を証明したラットについてはその後約 1 カ月間に亘つて 3 日目毎に Stoll 法変法により虫卵数 (EPG) の算定を行つた。

Stoll 法変法:

28 cc と 30 cc に目盛りを施した Stoll 管を用いた。1/10 N NaOH を 28 cc まで入れ、前日採便した乾燥便を 30 cc まで入れ、小ガラス球を 10 数コ入れてよく攪拌したままさらに 1 夜放置し、翌朝再びよく振盪攪拌して糞便がよくとかされるよう留意した。本法用メスピベットにてスライド上に 0.15 cc をとり、24×32 mm カバーをかけてこの中の全卵を算定した。その 3 回の平均値を 100 倍し糞便 1 cc 中の虫卵数とし、便宜上これを EPG とした。ラットの 1 日糞便量は日によつて多少の増減はあるが、乾燥重量ではほぼ 1 g (新鮮便では 2 g 前後) となることがわかつたので、事実上 EPG は 1 日排卵数 EPD に相当し、且単数寄生であるのでこれをそのまま肝吸虫 1 虫 1 日当りの排卵数 (EPDPF) とした。

剖検所見と虫体の形態学的観察:

1 コ宛のメタセルカリアを投与した 23 匹のラットは、すべて糞便内虫卵の出現の有無にかかわらず感染後 64 日に剖検した。虫体が検出された場合にはその生死、運動状況をよく観察し、カルノー氏液で固定後カルミン染色を施し、後日形態学的所見に資した。寄生のみられた肝臓はホルマリン液固定後にパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い病理組織学的に観察した。

成 績

1) ラットに肝吸虫メタセルカリアを 1 コ宛経口投与した場合の感染率について

感染後 64 日に剖検した 23 匹のラット中 7 匹 (No. 2, 4, 7, 10, 11, 18 および 19) の胆管内よりそれぞれ 1 虫宛運動活発な虫体が見出された。したがってその感染率は 30.4% となつた。

2) 糞便内虫卵出現開始の時期と排卵数 (EPDPF) に

本研究の一部は昭和 39 年度文部省科学研究費 (各個研究) の援助をうけてなされた、附記して謝意を表します。

ついて

AMSⅢ 法および Stoll 法変法併用により最初に糞便内に肝吸虫卵がみとめられたラットは、No. 2 の1匹のみでメタセルカリア投与後19日目(4月28日感染, 5月17日検便)であった。次いで23日目(5月22日)にはNo. 7のラットにおいて虫卵が見出され、26日、28日後にそれぞれNo. 4およびNo. 10が、30日後にNo. 11, No. 18およびNo. 19のラットから虫卵が見出された。

すなわち30匹のラット中7匹においてすべて感染後30日以内に糞便内虫卵が見出されたわけで、これは1)にえられた剖検所見とよく一致した。

その中の5匹(No. 2, 4, 7, 10および11)について糞便内虫卵が出現後31日間にわたり2日間隔でStoll法変法により虫卵数の変動状況を観察した結果はFig. 1に

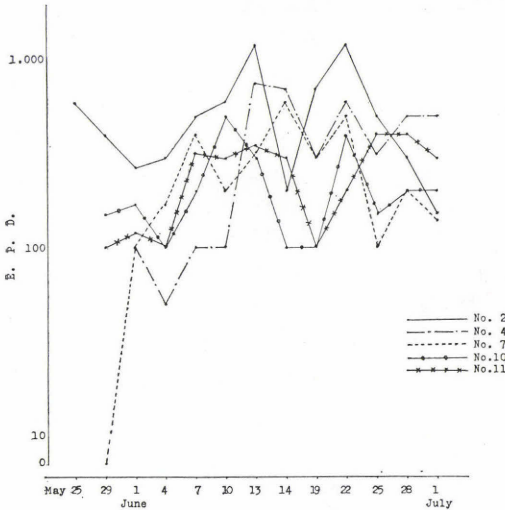


Fig. 1 E.P.D. of rats infected with a single metacercaria of *Clonorchis sinensis*

示した如くであった。すなわちラットNo. 2では最低200より最高1,200の間を動揺し平均533となり、No. 4では最低50, 最高750, 平均402, No. 7では最低0, 最高600, 平均253, No. 10では最低100, 最高500, 平均214, No. 11では最低100, 最高400, 平均248がえられた。ちなみに5匹の平均は330であり、したがってEPDPFは330となった。

虫体所見:

形態学的所見では睾丸, 卵巣, 貯精囊, 子宮, 卵黄腺および之等の附属生殖器官は、完全に発育し、子宮内にはいずれも肝吸虫卵が充満し成熟型としての形態をととのえ多数寄生の場合と何等変る所がなかった。

虫体各部の大きさの計測値はTable 1に示した如くであった。之等7虫体の平均値は体長7.853 mm, 前体部(体前端より腹吸盤前縁まで)1.370 mm, 後体部(腹吸盤前縁より体末端部まで)6.480 mm, 体幅の内前体部の体幅(腹吸盤前縁部の高さの体幅)0.770 mm, 後体部の体幅(卵巣前縁部の高さの体幅)1.757 mm, 口吸盤の直径0.256 mm, 腹吸盤のそれ0.229 mm, であった。ちなみに既報の50コ宛メタセルカリア投与ラット60日後より回収された虫体についてのそれらは、表に併記したようにそれぞれ7.670 mm, 1.482 mm, 6.188 mm, 0.726 mm, 1.636 mm, 0.234 mm および0.194 mm であり単数寄生群のそれとは有意な差異はみとめられなかった。

病理学的所見:

肉眼的には肝吸虫寄生の胆管は腔著るしく拡大し壁の肥厚が目立つた外は肝実質には変化はすくなかった。組織学的には上述の胆管壁は著明な線維性肥厚と胆管上皮の腺腫様増殖は増殖性胆管炎(Cholangitis productiva)と胆管周囲炎(Pericholangitis)の所見に一致し、ために一部肝小葉は圧排され小葉像はみだれ肝細胞の萎縮を

Table 1. Measurement of worms recovered 60 days after infection from rats given a single metacercaria of *Clonorchis sinensis* (mm)

	No. 2	No. 4	No. 7	No. 10	No. 11	No. 18	No. 19	*	**
body length	7.202	7.520	7.123	8.222	9.020	8.783	7.102	7.853	7.670
ant. body length	1.290	1.502	1.301	1.406	1.244	1.562	1.286	1.370	1.482
post. body length	5.912	6.018	5.822	6.816	7.776	7.221	5.816	6.480	6.188
ant. body width	0.866	0.744	0.802	0.903	0.728	0.720	0.627	0.770	0.716
post. body width	1.724	1.913	1.718	2.120	1.589	1.810	1.423	1.757	1.636
oral sucker	0.294	0.248	0.256	0.284	0.233	0.248	0.232	0.256	0.234
ventral sucker	0.260	0.206	0.230	0.270	0.210	0.222	0.204	0.229	0.194

Note: * Mean of measurement of 7 worms from No. 2 to No. 19.

** Mean of measurement of 10 worms recovered 60 days after infection from rats given 50 metacercariae of *C. sinensis*.

みとめる場合があつた。

ろんぎ

肝吸虫の生理という観点から今回はラットに唯1コのメタセルカリアを経口投与した単数寄生についての実験を行つた。その結果は、感染ラット23匹中7匹に寄生が成立し、且いずれも早きは感染後19日目より、遅くとも30日にして糞便内虫卵を証明した。64日後の剖検により、いずれからも完全に成熟した肝吸虫1虫宛が胆管より見出された点から単数寄生の場合も著者ら(1965)が多数寄生の実験において明かにしたと同様に、20日前後において成熟し引続き産卵することがはじめて明かにされた。糞便内虫卵の発現の時期については Wykoff (1958) は家兎では感染後平均22日、モルモットでは同様20日後に虫卵が検出されたとし、小林(1915)は犬、猫の如き好適宿主では23~26日にして成熟するとし、Faust & Khaw(1927)は猫の1例において感染後16日に糞便内虫卵をみた点や著者らがラットで多数寄生の場合に感染20日後にはじめて虫卵を認めた成績とくらべて、単数寄生の場合といえども差違は見出されなかつた。かつて横川ら(1960, 1961)は犬においてウェスレルマン肺吸虫の単数寄生の実験を行い、虫体は著るしい發育遅延を来し142日を経過しても成熟せずと報じ、他方大平肺吸虫では、たとえ単数寄生といえども31日を経過したものは子宮内虫卵はみとめられ成熟したことをも認めた。風間(1921)は日本住血吸虫の単性寄生においては發育の遅延がみられたとし、Meleney(1950)も病理学的観点から単性寄生の場合には両性寄生のそれとは組織反応に質的差異がみとめられたとした。同じ吸虫類であつても種の差異によりその成熟や宿主に与える反応において差がみとめられることはそれぞれの生理の特異性という観点から興味深い。

次に排卵数については肝吸虫1虫当りの糞便内虫卵数(EPGPF)に関して、これまで多数寄生の場合について2~3の報告があるが、本実験においては事実上の1虫寄生である点に興味もたれた。糞便内虫卵が確認された5匹のラットについてメタセルカリア投与後25~30日より31日間2日おきに Stoll 法変法による算定では、前述したように可成りの動揺はまぬがれなかつたが、平均した EPG の値の個体差はさほど著るしくなく最低214, 最高533で平均330となつた。この値は肝吸虫の EPDPF に相当することはさきにもふれた通りである。ラット以外の肝吸虫感染動物についての排卵数に関して

は、さきに Faust & Khaw(1921)は猫では EPD 2,400 モルモットでは1,600であつたとし、Wykoff (1950) は家兎について長期間観察し排卵数は一定の周期をもつて増減するが、EPG は100前後であるとした。最近斉藤ら(1964)は肝吸虫の排卵数について1コ以上の種々の数のメタセルカリアを各種動物に投与した人体肝吸虫感染者についても EPG を調べ、その値は犬; 67, 家兎; 193, モルモット; 381, ラット; 545 および人では30前後と報じている。著者らは本実験においてラット内単数寄生の場合の EPG は上述の如く330となつた。この値を斉藤らの545に較べるとおよそ1/2に當つている。この点については多数寄生と単数寄生という実験条件がことなる事、換言すれば相互交接を原則とする吸虫類一般の生理に何らかの関連性が考えられるが猶検討を要すると思われる。最後に単数寄生の場合の病理学的変化については多数寄生の場合に惹起される胆管を中心とした増殖性変化には質的差異はみとめられず、上述の肺吸虫の単数寄生や住血吸虫の単性寄生の場合にみとめられた如き質的差異はみとめられず、組織障害の程度はただに虫体自体の機械的刺激的の強弱に左右されるものと推察された。

むすび

23匹の成熟ラットに肝吸虫メタセルカリアを1コ宛投与した単数寄生に関する実験を行つた、AMS III 法集卵法および Stoll 法変法虫卵希釈法により糞便内に虫卵が始めてみとめられたのは感染後19日目であり、ついで30日後までに23匹中7匹(感染率30.4%)に糞便内肝吸虫卵が検出された。すべてのラットは感染後64日に剖検したところ、内糞便内虫卵がみとめられた7匹に胆管内寄生の活発な肝吸虫成虫1虫がそれぞれ見出された。このことから単数寄生の場合でも虫体は20日前後で完全に成熟産卵することが形態学的所見およびその大きさの計測値からも明かにされた。

Stoll 法変法による虫卵陽性の5匹のラットについての感染後25日~30日より31日間2日間隔における経時的虫卵検査によりその EPDPF は平均330であつた。加えて単数寄生の場合の病理学的変化も明かにされ本吸虫の生理という観点から考察がなされた。

摺筆するに当り本研究に終始御懇篤な御指導と御鞭撻をいただいた主任横川宗雄教授に深く謝意を表します。

文献

- 1) Faust, E.C. & Khaw, O. K. (1927) : Studies on *Clonorchis sinensis* (Cobbold). Am. Jour. Hyg.,

Monographic Series No. 8, 207 pp.

- 2) 風間美頭 (1921) : 日本住血吸虫体自己の生活現象に関する家兎の病理解剖, 特に肝臓及び腎臓病変に関する1新発見. 日病会誌, 11, 463-464.
- 3) Kobayashi, H. (1915) : On the life-history and morphology of the liver-distome (*Clonorchis sinensis*). Mitt. Med. Hochschule Keijo, 1 251-284.
- 4) Meleney, H. E., Moore, D. V., Most, H. and Carney, B. H. (1952) : The histopathology of experimental schistosomiasis II. Bisexual infection with *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum* and *S. haematobium*. Am. Jour. Trop. Med. & Hyg., 2(6), 883-914.
- 5) 斉藤奨・堀真智子 (1964) : 肝吸虫の排卵数について (4), 特に人寄生肝吸虫の EPGPF. 寄生虫誌, 13(4), 297-298.
- 6) Wykoff, D. E. (1950) : Studies on *Clonorchis sinensis* IV. Production of eggs in experimentally infected rabbits. J. Parasit., 45(1), 91-94.
- 7) Wykoff, D. E. (1958) : Studies on *Clonorchis sinensis* III. The host-parasite relations in the rabbit and observations on the relative susceptibility of certain laboratory hosts. J. Parasit., 44(5), 461-466.
- 8) 横川宗雄・吉村裕之・大島智夫 (1960) : 肺吸虫の単数寄生に関する研究 (1). 寄生虫誌, 9(6), 636-640.
- 9) 横川宗雄・吉村裕之・辻守康・勝呂毅 (1961) : 肺吸虫の単数寄生に関する研究 (2). 寄生虫誌, 10(1), 6-13.
- 10) 吉村裕之・荒木国興・原昭雄 (1965) : 肝吸虫の生理. (1) 肝吸虫のラット体内における發育について. 寄生虫誌, 14(5), 437-444.
- 11) 吉村裕之 (1965) : 肝吸虫の生理. (2) 組織化学的にみた肝吸虫のラット体内における發育についての考察. 寄生虫誌, 14(5), 445-451.

Abstract

PHYSIOLOGICAL STUDY OF *CLONORCHIS SINENSIS* III. EXPERIMENTAL STUDIES ON THE INFECTED RATS WITH A SINGLE METACERCARIA OF *C. SINENSIS*

HIROYUKI YOSHIMURA & CHAO SIUNG TSAI
(Department of Parasitology, School of Medicine, Chiba
University, Chiba, Japan)

The twenty three rats were orally given a single metacercaria of *Clonorchis sinensis*. The first day of finding of the eggs of the liver fluke was the 19th day after infection by means of AMS-III sedimentation.

The seven out of 23 rats became positive for the eggs in the feces within 30 days after infection.

The liver flukes recovered from the each rat harboring a single mature worm were measured in size and examined morphologically.

It was clearly given that a single metacercaria of *C. sinensis* would reach maturity in rat around 20 days after infection.

The number of eggs per gram of feces of rats were examined every three days for 31 days from 30th day after infection by Stoll's dilution egg-counting techniques. 330 was given as the number of eggs per day per worm (EPDPF) in rat with a single worm.

There were no differences in histopathological characteristics of the hosts between multiple infection and a single infection.