

ラットにおける肝吸虫 (*Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875) Looss, 1907) の感染実験

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4月16日受領)

はじめに

肝吸虫 (*Clonorchis sinensis*) は東南アジア地域、殊に日本、中国大陸、台湾、韓国に広く分布する寄生虫で、その感染者数は凡そ1,900万人と推定されている (Stoll 1947)。日本においてもほとんど全国的に広く分布し、特に霞ヶ浦、琵琶湖沿岸、あるいは大きい河川の流域に濃厚に分布しており、その住民の60%以上が感染している地域も少なくない。肝吸虫の感染はその第2中間宿主である鯉、鮒などの淡水魚の生食によるもので、これら淡水魚を生食する習慣のある地域ではどこにでも感染がみられる。

肝吸虫感染者は、その寄生数が少ない場合には普通何等の症状を示さない場合が多いが、多数寄生の場合には各種の重篤な症状がみられる。かつて桂田(1900)は1,000虫以上寄生の24例、および100虫から1,000虫寄生の28例では、その程度には軽重の差があるが、肝細胞の萎縮と脂肪変性が認められたと述べている。現在でも多くの学者は肝吸虫寄生は細胆管性硬変を招来し、あるいは胆石発生に重要な役割を演ずるものと考えている。また肝吸虫症と肝臓癌の因果関係についても確実な実験的根拠はないがこれを肯定する学者もある。

一方発育史に関しては、小林(1912)は第2中間宿主が淡水魚、特に鯉科のものであることを発見し、次いで武藤(1918)は第1中間宿主がマメタニシ (*Parafossarulus manchouricus*) であることをつきとめて以来、内外多数の諸学者により全貌が明かにされているが、治療法をはじめその生物学、特に寄生虫宿主関係についてはまだ必ずしも十分に明かにされていない。たとえば、ヒト以外の自然界の終宿主としては従来イヌ、ネコがあげられ、希に野鼠、ブタなどにも感染がみられるとされているが、実験小動物に関する感染実験については、マウスに

おいて Komiya & Tajimi (1953)、ラットについて小林(1912)、Wykoff (1958) および著者ら(1965)の報告を除いては、詳細な研究は余りないようである。

特にラットについて、小林(1912)は肝吸虫のラット体内での発育は甚だ遅延すると述べ、Wykoff (1958)も家兎、モルモットに比べてラットは感受性が低かつたと報告している。しかし、最近横川ら(1965)は動物肝吸虫症の治療実験に多数のラットを用い、ラットは治療実験には極めて有用な動物であることを指摘し、著者ら(1965)もラット体内における肝吸虫の経時的観察によつて家兎、モルモットに比べてその感受性や発育においても差違のないことを明かにした。

そこで本実験ではこの実験室内で取扱いが比較的簡単でしかも治療実験にはもつとも適していると考えられるラットを用いて肝吸虫の感染実験を行い、その感受性、発育、虫卵の排出などについて詳細な検討を行つた。その結果は従来考えられていた点とはことなり、ラットは肝吸虫に対して、かなり高い感受性を有し、肝吸虫の治療実験には好適であることを明らかにすると共に2、3の興味ある結果を得たので以下に報告する。

実験材料と方法

(1) 使用メタセルカリア

肝吸虫のメタセルカリアは埼玉県北埼玉群北川辺村の肝吸虫症流行地の池より採集した自然感染のモツゴ (*Pseudorasbora parva*) から分離したものをを用いた。しかし、流行地より採集した自然感染のモツゴには成熟メタセルカリアの他未成熟メタセルカリアも寄生しており、その発育時期は一定しないので、採集して来たモツゴは少くとも1カ月以上実験室内の水槽において飼育した。

(2) メタセルカリアの分離法

モツゴよりメタセルカリアの分離は人工消化法によつ

た。すなわち、まづモツゴをハサミで細切り、2~3匹づつホモディナイザー(2,500 rpm)に約1分間かけて粉碎した後、これに約10倍量の人工消化液(HCl 0.7 cc, Pepsin (1:5,000) 0.2 g, 水 100 cc)を加え37°Cの孵卵器に約1時間半放置する。この魚肉汁が完全に消化されたことを確認してから、これを Mesh. No. 16 (opening 1.000 mm) の篩で濾過する。濾液はしばらく放置してその上清をすて、これに再び水を入れて攪拌後しばらく放置し、その上清をまたすてる操作を数回繰返し、上清が透明になるまで行つてその沈渣を解剖顕微鏡下で鏡検しながら肝吸虫のメタセルカリアを分離採集した。

(3) 実験動物と感染方法

ラットは購入後約2~3週間教室で飼育した体重100~150 gの成熟した健康なものを用いた。実験に用いたラットは総数96匹でこれを7匹から19匹づつの12群に分け、その各々に5個、10個、20個、30個、40個、50個、75個および100個の種々の数のメタセルカリアを投与した。これらのラットは感染率および感染後の虫体の発育過程を見るためメタセルカリア投与後15日から90日間に剖検した。

感染方法は分離したメタセルカリアの一定数を解剖顕微鏡下でかぞえて、毛細ピペットで確実に吸いあげた後これをラットの口腔深く注入し、メタセルカリアが嚥下されるのを確認した。

(4) 虫体の検出法

剖検は際にはまずエーテルで麻酔した後、頸動脈切断により放血し、死に至らしめた。

開腹後まず肝臓と胆管を摘出し、最初に肝外胆管を開きそこに寄生する虫体を検出した後、胆管に沿ってさらに肝内胆管をハサミで開き周囲肝組織を圧迫して虫体の回収に努めた。また虫体の検出洩れを防ぐため、肝臓組織をハサミで細分し、これを圧迫しながら流出する胆管内容物中の虫体を調べ、最後に細分した肝組織を2枚のガラス板で圧平し、解剖顕微鏡で虫体の有無を精査した。

また腹腔は生理食塩水で洗いその沈渣を調べ、脾臓はガラス板で圧平しながら鏡下に異所寄生の有無を調べた。

回収された虫体はすべて Carnoy 氏固定液で固定し、染色には Kirkpatrick 氏カルミンを用い、後日の形態的観察に資した。

(5) 虫卵検査法

虫卵検査には48時間内の全便を用いた。すなわち、

ラットを1匹づつ隔離し、48時間毎に全便を採集し、これを室温(30°C前後)に1昼夜放置し乾燥させた。ラットの24時間排出便量は新鮮なものではその重量が1.5から2gであるが、このようにして乾燥させたものはその重量が約1/2に減少しほぼ1gに近いことがわかった。

虫卵の算定は AMSⅢ法およびストール変法の両法によつた、すなわち、AMSⅢ法には上述の方法により一定度に乾燥させた糞便の0.5gを用い、全沈渣中の虫卵数を数え、これを2倍し EPG とした。ストール変法は次の如き要領によつた、すなわち、30 cc の目盛がついている小形のストール瓶にまず正確に計つた2gの乾燥糞便を入れ、それに1/10 N NaOH を30 cc の刻線まで入れた後、直径3 mm のガラス玉10個を加えて、よく振つてから、1昼夜冷蔵庫に保存し、完全に溶解させた。検査前あらかじめよく振盪混和してから、その0.15 cc をピペットで吸い取り2枚のスライドガラスに分けて24×32 mm のカーバガラスを被せて鏡検し、その2枚の全視野にある虫卵数を数え、それを100倍して EPG とした。

実験成績

(1) メタセルカリア投与数と感染率との関係

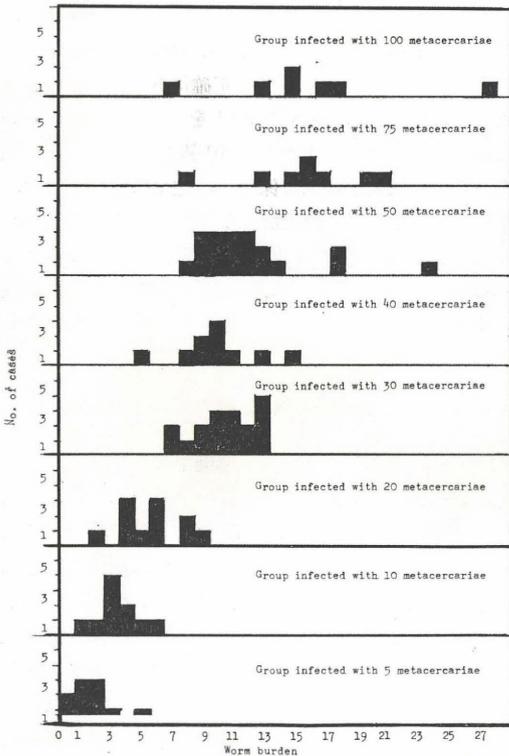
夫々7~19匹を1群とした8群のラットに5個、10個、20個、30個、40個、50個、75個および100個の肝吸虫メタセルカリアを経口投与し、30日後に剖検して感染状態を調べた。感染率は5個投与群ではラット10匹中の2匹が陰性であつた(感染率80%)、他の10個以上のメタセルカリアを投与した7群ではすべてのラットから虫体が見出された。これをさらに各群について投与メタセルカリア数に対する検出虫体数の平均比率(虫体回収率)をもとめてみると Table 1 および Fig. 1 に示した如くであつた。すなわち、各群の平均検出虫体数は5個投与群より順次1.8, 3.4, 6.2, 11.2, 10.0, 12.3, 15.6, 12.1で投与メタセルカリアに対する平均回数率はそれぞれ21.6%, 34%, 31%, 30.7%, 25%, 24.5%, 20.8%, 12.1%であつた。ここで注目すべき点はメタセルカリア10個、20個および30個投与の3群ではいずれも虫体回収率が34%, 31%および30.7%と最高の値を示しているが、投与メタセルカリア数がさらに増加すると平均回収率は逆に低下していくことであつた。

(2) ラット性別の感染率におよぼす影響

宿主の性別により感染状況差があるかどうかをみるた

Table 1 Infection and recovery rates of the worm in rats given the various number of the metacercariae of *Clonorchis sinensis*

Group	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
No. of rat used	10	10	10	17	10	19	8	7
Dose of metacercariae	5	10	20	30	40	50	75	100
Infection rate	80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Range of worm burden	0-5	1-6	2-9	7-13	5-15	8-24	8-21	7-28
Average worm burden per rat	1.8	3.4	6.2	11.2	10.0	12.3	15.6	12.1
Average recovery rate	21.6%	34%	31%	30.7%	25%	24.5%	20.8%	12.1%



Fsg. 1 The number of worms recovered from each rat given various number of metacercariae of *C. sinensis*.

Table 2 Comparison of the worm burden in male and female albino-rat infected with *Clonorchis sinensis*

Dose of metacercariae	No. of rats used	Sex	Range of worm burden	Average worm burden	Average recovery rate	t' value
30	10	Male	7-13	10.9	(36.3%)	0.9
	7	Female	7-13	10.0	(33.3%)	
50	11	Male	9-24	12.9	(25.8%)	0.8
	8	Female	8-18	11.3	(22.6%)	

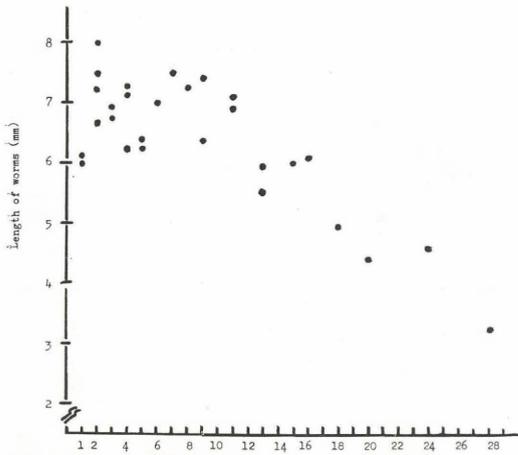
めに、2群のラット、すなわち、10匹の雄、7匹の雌よりなる第1群および11匹の雄、8匹の雌よりなる第2群にそれぞれ30個および50個の肝吸虫メタセルカリアを投与し、30日後に剖検してその感染状態を調べた (Table 2). すなわち、肝吸虫メタセルカリア30個投与群の雄雌それぞれの平均検出虫体および平均回収率は10.9(36.3%)および10.0(33.3%), 50個投与群ではそれぞれ12.9(25.8%)および11.3(22.6%)であつた、推計学的な分析に Student's 't' test を行つてみると30個投与群および50個投与群のいずれの群においても雌雄の差による検出虫体数あるいは平均回収率には有意の差は認められなかつた (危険率5%). すなわち、ラットの性別による肝吸虫の感受性には差がないことが明かとなつた.

(3) 虫体寄生数と発育の関係

宿主内における寄生虫体数と虫体の発育との関係を解析するため、感染後15日、20日、30日、60日および90日後のそれぞれの虫体の計測値を寄生虫数別に分けて比較してみると Table 3 の如くである。すなわち、感染後30日の虫体の発育状況をみると、28虫寄生のラットから得られた虫体の体長は 3.31 ± 0.74 mm、体幅は 0.93 ± 0.15 mm であつたが、15虫寄生の場合のそれはそれぞれ 6.12 ± 0.23 mm および 1.57 ± 0.31 mm、2虫寄生の場合のそれはそれぞれ 7.33 ± 0.30 mm および 1.81 ± 0.27 mm で、これらに比較し28虫寄生の場合は著しく小さく、ほぼ $1/2$ にすぎなかつた。この関係をグラフで図示したのが Fig. 2 である。

Table 3 Measurement of the worms recovered from rats in the different stages of infection

Duration of infection	Worm burden	No. of worm examined	Body length	Body width at level of ventral sucker	Ant. end of body to ant. end of vent. sucker
15 days	31	13	3.82±0.57	0.57±0.12	0.79±0.29
	8	16	3.64±0.61	0.49±0.07	0.61±0.16
	5	10	3.79±0.63	0.47±0.09	0.62±0.12
20 days	15	15	4.57±0.69	0.68±0.32	0.73±0.14
	5	5	3.93±0.07	0.79±0.09	0.63±0.10
30 days	28	28	3.31±0.74	0.93±0.13	0.87±0.15
	15	30	6.12±0.23	1.57±0.31	1.25±0.27
	4	12	6.88±0.71	1.68±0.27	1.54±0.23
	2	6	7.33±0.36	1.81±0.27	1.62±0.35
60 days	15	15	6.07±0.71	1.06±0.26	1.65±0.42
	4	12	6.50±0.82	1.38±0.41	1.70±0.31
	2	8	7.02±0.30	1.45±0.31	1.80±0.40
90 days	18	18	7.55±11.1	1.98±0.44	1.39±0.77
	10	10	7.05±0.57	2.00±0.14	1.69±0.21
	2	2	7.60±0.14	1.80±0.28	1.45±0.22

Fig. 2 The effects of worm burden on the growth of *Clonorchis sinensis* in albino-rats infected for 30 days

しかし他の15日、20日、60日、あるいは90日後の群では18匹以上の寄生は認められなかったが2匹から18匹寄生の範囲では寄生数と虫体の発育との関係には有意の差は認められなかった。

(4) ラット体内での肝吸虫の成熟および排卵開始の時期

ラット体内での肝吸虫の発育(大きさ)は同じ時期のもの、あるいは同一宿主より得た虫体の間でも時々可成り著しい差がみとめられる場合がある。しかし著しく多数寄生し、その発育の阻害がみられない限りは、Table

3でも明かなように感染後虫体は急速に発育し虫体の体長は感染後15日から30日までに凡そ2倍の増加がみられるが、その後は比較的緩かとなっている。また体幅も感染後15日では体長のおよそ $1/7$ であるが感染後30日のものでは約3倍に増加し体長の約 $1/2$ となっているが、それ以後の発育は比較的緩かとなっている。

これらの内部臓器の発育状況を染色標本について調べた結果は次の如くであった。すなわち、感染後15日の虫体では観察した29虫の内22虫にはすでに子宮の起始部に数個から数10個の虫卵または卵殻の形成を見ることが出来、感染後20日の虫体20虫ではそのすべてに子宮起始部のおよそ $1/2$ より全長に至って肝吸虫卵で充満されていることがたしかめられた。すなわち、感染後ほぼ20日前後でラット内肝吸虫は成熟型に至ることが明かにされた。なお5匹寄生の場合も、15虫寄生の場合でもすべての虫体に同じように虫卵の形成がみられた。また30日後の28虫寄生の場合その大きさは著しく阻害されていたが、子宮内には多数の虫卵が充満していた。以上のことからたとえ多数寄生の小虫体といえども子宮内に虫卵の形成される時期はそれほど差がないように思われる。

次に排卵開始の時期については25匹のラットにつき感染後15日から毎日AMSⅢ法による糞便検査を行った。その結果はじめて便内に虫卵を認めたものは感染後17日の2匹で、以後18日に1匹、19日4匹、20日4匹、21日1匹、22日5匹、23日3匹、24日2匹、25日2匹

26日1匹で感染後26日以内にすべて虫卵陽性となった。これを虫体の寄生数との関係において図示したものが Fig. 3 である。すなわち、寄生数1から10であつた

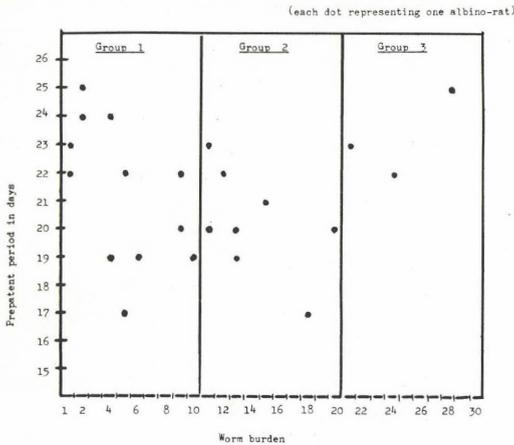


Fig. 3 Prepatent period of *Clonorchis sinensis* in albino-rats.

13匹では感染後17日から25日の間に(平均21.1日)すべて虫卵が陽性となっており、寄生数11から20の群では、17日から26日(平均20.1日)の間に全例虫卵陽性となり、寄生数21以上の3例では排卵開始の時期はそれぞれ感染後22日、23日および25日(平均23日)であつた。以上の成績から、21虫以上の寄生例数が少ないので、明かなことは云えないが、20虫以下の寄生の場合排卵開始の時期と寄生数の間には有意の差は認められなかつた。なおこの場合排卵開始の時期というのは糞便内に虫卵の見出された時期を意味しているので、真の虫体の排卵開始の時期はこれより多少早いかも知れない。しかしラットの場合胆嚢がないので産卵された胆管内虫卵は直ちに胆管内に流出されると考えられるので、両者の間にはそれ程大きな差はないと思われる。

(5) 排卵数 (EPG) について

肝吸虫の糞便内排卵数、すなわち、1gの糞便内の虫卵数 (EPG) についてはすでに多くの報告があるが虫卵数算定の方法、宿主の種類、糞便の性状、寄生虫体数等、多くの因子がからみあつて研究者によつてその成績も必ずしも一致していない。今回はラットを終宿主とした場合の EPD について観察した。すなわち、25日以内に虫卵が陽性になつた14匹のラットについて感染後26日より3日間隔で感染後60日までストール法変法で虫卵数を算定し、60日後剖検して寄生虫体数を調べた。剖検

寄生数が明らかにされたラットの内、2虫寄生の6匹、4虫寄生の4匹および12~15虫寄生の3匹を3群とし、それぞれの肝吸虫1匹当たりの1日の糞便内にみられる虫卵数、すなわち、EPD per worm の平均値を求めてグラフで示したものが Fig. 4 である。なお感染後17日よ

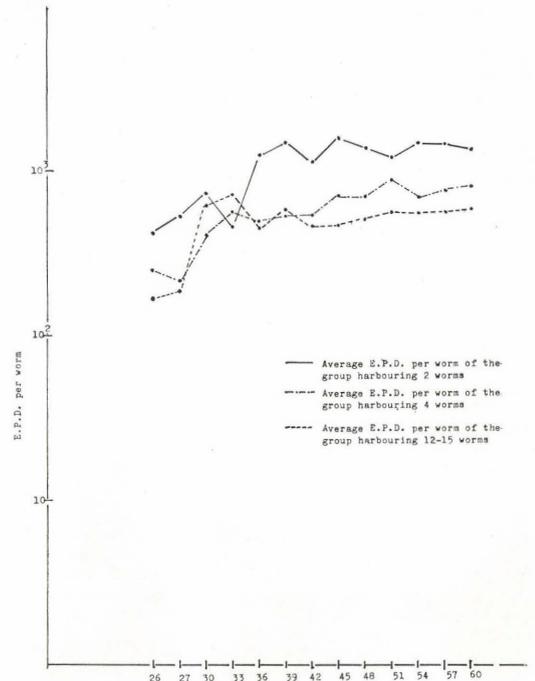


Fig. 4 Egg production of the three groups of rats harbouring 2, 4, and 12-15 worms in the periods from 26 days to 60 days after infection

り25日以内の成績はいずれの群も排卵数の変動が著しく安定していないので比較には不適當と考え、これらは割愛し、26日以後60日までの凡そ1カ月間の成績を示した。その結果は Fig. 4 で明かなように、各群共に比較的安定した虫卵数を示しており、その EPD は2虫群、4虫群および12~15虫群でそれぞれ1250、650および560を示した。すなわち、2虫寄生群、4虫寄生群および12~15虫寄生群との間にはそれぞれ EPD per worm に多少の差異がみられるが、その程度の差が、果して意味があるか否かは今後さらに検討の必要があると思われる。

考 察

肝吸虫のラットに対する感染実験はすでに小林(1912)

の報告があり、それにはラットでは発育が甚だ遅延し、且成熟には長期間を要するとのべている。また Wykoff (1958) はラットに 50 個, 100 個, 300 個, 500 個, 1,000 個と種々の数のメタセルカリアを投与し、ほぼ投与メタセルカリアの 6% のみが成熟するにすぎず、この値からモルモット、あるいは家兎に比べて感受性がかなり低いとしている。しかるに最近著者および吉村ら (1965) はラットを用いての感染実験からその発育は他動物に比べて遅延することがなく、50 個の投与数ではその 16% が成虫として廻収されたとし、さらに吉村、蔡 (1965) は肝吸虫のラットにおける単数寄生の実験においてもその 30.4% が感染成立し、20 日前後で成熟産卵することを報告している。そこで、このような相違を明確にするため、さらにラットがこのように肝吸虫に対し感染し易く、実験動物として好適であるとするならば、これに関する詳細な基礎データを得る必要があると考え本実験を企てた。すなわち、治療実験その他に今後ラットを用いて実験を行う場合には、もつとも適当なメタセルカリア投与数、あるいは虫卵排出時期、1 匹当りの排卵数等を明確にしておくことは非常に有益なことと考えた。以下に本実験の成績について項目別に考察を加えることにする。

(1) 肝吸虫のラットに対する感受性について

いずれの寄生虫を問わず、感染成立の因子の一つとして、幼虫が十分に成熟し、感染能力を有していることが必要である。肝吸虫の感染型であるメタセルカリアについて、長野 (1936) は肝吸虫のメタセルカリアは第 2 中間宿主体内で 23 日以上を経過してはじめて感染能力を有する成熟メタセルカリアとなるとし、Komiya & Tajimi (1940) は第 2 中間宿主に感染したメタセルカリアは 15 日で既に形態的にはほとんど完全な発育を示しているが 35 日後にはじめて成熟メタセルカリアといえるとのべている。著者はこの点を考慮して、流行地から採集されたモッグを水槽内で 1 カ月以上人工的に飼育した後にメタセルカリアを分離しこれを感染に供した。次にラットの肝吸虫に対する感受性をみるために、これらのメタセルカリアを 5 個, 10 個, 20 個, 30 個, 40 個, 50 個, 75 個, 100 個づつラットに投与して、その感染率を比較した。その結果は 5 個投与群の 80% を除いては、10 個以上のメタセルカリアを投与したすべてのラットに感染が成立した。これを虫体回収率から見ると、100 個投与の 12.1% を除いて最低 20.8% から最高 31% の間を示した。特に 10 個投与群で 34%、20 個投与群で 31%、30

個投与では 30.7% で、それ以上のメタセルカリアを投与した場合は回収率の低下するのが認められた。すなわちラットに肝吸虫のメタセルカリアを与えた場合 10 個から 30 個の間がもつとも適当な数であることが明かにされた。このことは肝吸虫のラットへの感染の capacity、あるいは能率といつた点から甚だ興味あるばかりでなく、今後ラットを用いて感染実験を行う場合の基盤を与えたものとして注目したい。このことは先に述べた如く、Wykoff (1958) がラットに 50 以上 1,000 個の多数のメタセルカリアを投与したところ、その感染率が著しく悪かつたため、“ラットは肝吸虫に対し感受性が低い”とした理由を明かにしたものと考えられる。

(2) ラット体内での成熟と虫体の発育、排卵開始について、

著者は吉村ら (1965) とともにラットにおいて肝吸虫の虫体の形態的発育状況を継時的に詳細に検索したが、その際寄生数の多少と発育との関係、すなわち crowding effect についてはふれなかつた。そこで本実験においては感染後 15 日, 20 日, 30 日, 60 日, 90 日後においては回収された虫体数と虫体の大きさ (体長および体幅) との関係を検討した。その結果はいずれの群においても一般には時日の経過とともに体長および体幅の増加が共通してみとめられたが、寄生数と虫体の体長および体幅との間には 18 虫以内の寄生の場合必ずしも有意の関係は認められなかつた。しかし 28 虫寄生の虫体では同一時期の 28 虫以下の寄生虫体と比較して明かに体長および体幅の縮小をみとめた。これは恐らく crowding effect による発育阻害と考えてもよいと思われる。すでに小林 (1912) および Faust & Khaw (1927) はネコおよびモルモットについて同様な所見を認めている。ラットではその寄生部位たる胆管系の腔隙が犬、猫、家兎等に比較してはるかに狭少であることや、多数寄生の場合の栄養摂取の不足等が関与するであろうことは明かである。しかし本実験で明かなように、虫体の大きさには差があつても、いずれの場合も感染後 20 日前後で内部臓器は発育を完了し排卵が開始されることが確認された。

ラット内肝吸虫の排卵開始の時期については、著者および吉村ら (1965) は 20 日前後の形態的成熟に引続くものと述べたが、本実験の結果では初めて糞便に虫卵がみとめられたのは感染後 17 日で、26 日以内にすべてが虫卵陽性となつた。このことは小林 (1912) や Faust & Khaw (1927) のネコにおける成績と大差はみとめられず

また Komiya & Tajimi (1953) のマウスにおけるそれとも近似していた。ただ排卵初期の虫卵は異形卵が多く、またその内容も不完全なものが認められているが、このことは小林 (1912), Faust & Khaw (1927) も指摘しており、湯本 (1936) は排卵初期の虫卵はミラシヂウムなきを特徴として記載し、氏家 (1936) は幼弱期に多数不完全卵が形成されるのはこの時間において卵細胞と卵黄細胞の卵殻腺の中央腔での時期的不一致に基因するとのべていることは興味深い。

(3) ラット内肝吸虫の EPG について

先にもふれたように肝吸虫の EPG については多数の報告がなされているが宿主動物の種類や感染時期の条件寄生数の多寡あるいは集卵法の選択等により必ずしも成績は一致していない。

横川・湯本 (1935) は分島法を用いて犬の EPD per worm は 2,095 であるとし、Faust & Khaw (1927) はストール法により犬では 1,125, モルモットでは 1,600, 猫では 2,400 と報じ、Wykoff (1958) もまたストール法により家兎のそれは 4,000 と報告した、齊藤・堀 (1936) はホルマリンエーテル法とストール法を併用して家兎と犬では EPD per worm がそれぞれ 2,000, モルモットとラットは 1,000 であると報告している。

なお、Faust & Khaw (1912) や齊藤と堀 (1963) は寄生数の増加によつて EPD per worm の減少がみられることをも指摘している。

本実験からは EPG per worm が 2 虫寄生の場合 1,250, 4 虫寄生の場合 650, 12~15 虫寄生で 560 が得られた。これまでの経験からラットの 1 日排便総量は 1 昼夜の乾燥量としてほぼ 1g であるから、これらの値をそのままラットの EPD per worm として検討すれば、先人が指摘したように寄生虫数の増加と EPD とには逆相関の存在が推察される。しかし、本実験では例数も限られており、且またその観察期間も限定されているので、さらに詳細な検討が望まれる。猶、本実験において肝吸虫のラットの感染後の虫卵数はほぼ 1 カ月前後で安定した値を示すことが明かにされた。先人の犬、猫の如き大動物を用いての便内虫卵の算定では糞便の一部のみについての計測であるため、その結果は便の性状、あるいは便内虫卵の分布状況により種々の影響を受け易いと考えられるが、ラットにおいては 24 時間内の全便を検査する点や、ラットでは胆嚢を欠如するという解剖学的特殊性から糞便内虫卵数は他の動物に比し、それ程著しい影響を受けるとは考えられない。したがつて治療実験ある

いはその他糞便内虫卵数を実験成績の判定資料とする場合はラットを用いるのがもつとも適当と考えられる。すなわち、ラットには 10 コ~30 コのメタセルカリアを与えるのが適当で、この場合感染後 1 カ月前後で排卵数も安定してくる。

ただ Wykoff (1958) は家兎についてその EPD per worm は一定の周期性を持つて変動することをみているが、ラットではこの点については明かでなく今後長期観察を行い検討する考えである。

まとめ

肝吸虫メタセルカリアをラットに 5 コ, 10 コ, 20 コ, 30 コ, 40 コ, 50 コ, 75 コ, 100 コ宛経口投与し、その感受性、発育、排卵開始の時期および排卵数について相互に比較検討し次の如き結果がえられた。

(1) 5 コ以上 100 コのメタセルカリアを投与したラットでは、5 コ投与群の感染率が 80 % であつた外は、すべて感染率は 100 % であつた。

10 コ, 20 コおよび 30 コ投与群では虫体の回収率は 30 % 前後を示したが、これ以上のメタセルカリアを投与した場合の回収率は低下することが明かとなつた。

なおラットの性別による感受性の差は認められなかつた。

(2) 虫体はいずれの場合も 20 日前後で形態的に発育をとげ引つづき排卵がみられることがわかつた。はじめ糞便内虫卵が検出されたのは感染後 17 日で、以後 26 日までを検査対象のすべてが虫卵陽性となつた。その平均は 21.2 日であつた。

(3) 2 虫寄生, 4 虫寄生, 12~15 虫寄生ラットの 3 群についての感染後 26 日より 60 日までの糞便内排卵数 (EPD per worm) の検査では、いずれの群もそれぞれ安定した値を示し、寄生数増加につれてその値は多少減少する傾向がみられた。

以上の成績より肝吸虫の host-parasite relationship という観点からラットの肝吸虫に対する感受性が論議された。

拙筆するに当り終始御懇篤な御指導と御校閲いただいた横川宗雄教授並びに本実験に際して常に御教示、御協力をいただいた吉村裕之助教授以下寄生虫学教室の諸氏に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Faust, E.C. & Khaw, O. K. (1927) : Studies on

- Clonorchis sinensis* (Cobbold). Amer. J. Hyg. Monogr. ser. No. 8.
- 2) 堀真智子(1965) : 肝吸虫の排卵数に関する研究. 新潟医学会雑誌, 79(2), 1-18.
 - 3) Hsü, H. F. & Wang, L. S.(1938) : Studies on certain problems of *Clonorchis sinensis* IV. Notes on the resistance of cyst in fish flesh, the migration route morphology of the young worm in the final host. Chinese Med. J. (Suppl. 2) 385-400.
 - 4) 河井為海・湯本義香(1935) : 肝臓ジストマ被囊幼虫の第二中間宿主なるイシモロコ (P. parva) 内に於ける分布状態並に摂取せられたる同幼虫の終宿主への感染率に関する実験. 台湾医学会雑誌, 35(4), 880-887.
 - 5) 小林晴治郎(1910) : 肝臓ジストマの研究(予報). 細菌学雑誌, (178), 49-51.
 - 6) 小林晴治郎(1912) : 肝臓ジストマの研究(本報). 細菌学雑誌, (202), 1-66.
 - 7) Katsurada, F.(1900) : Beitrag zur Kenntniss des Distomum spathulatum. Beitrage zur Pathologische Anat. u. zur Allge. Path., 28, 479-505.
 - 8) Komiya, Y. & Tajimi, T.(1940) : Study on *Clonorchis sinensis* in the district of Shanghai 5. The cercaria and metacercaria of *Clonorchis sinensis* with special reference to their excretory system. J. Sanghai Sci. Inst. Section IV 5(6), 91-106.
 - 9) Komiya, Y. & Tajimi, T.(1953) : The development of the excretory system of *Clonorchis sinensis* in its definitive host. Jap. J. Med. Sci. Biol., 6(6), 571-575.
 - 10) 長野寛治(1936) : 肝臓ジストマの包囊幼虫を以て行える二,三の実験. 日本寄生虫学会記事, 8, 67.
 - 11) 武藤昌知(1918) : 肝臓ジストマ (*Clonorchis sinensis*) の第一中間宿主に就て(第2報告). 中央医学会雑誌, 26(3), 151-178.
 - 12) Stoll, N. R.(1947) : This wormy world. J. Parasitology, 33(1), 1-18.
 - 13) Wykoff, D. E.(1958) : Studies on *Clonorchis sinensis* III. The host-parasite relations in the rabbit and observation on the relative susceptibility of certain laboratory hosts. J. Parasitology, 44(5), 461-466.
 - 14) Wykoff, D. E.(1959) : Studies on *Clonorchis sinensis* IV. Production of eggs in experimentally infected rabbits. J. Parasitology, 45(1), 91-94.
 - 15) 横川定・湯本義香(1935) : 分島氏法に依る寄生虫卵計算法の実際に就て. 第7回, 寄生虫病学会記事, (昭和10年).
 - 16) 横川宗雄・小山博誉・吉村裕之・蔡昭雄(1965) : 肝吸虫病の実験的治療 (1) 1, 4 bis-trichloromethyl benzol の動物肝吸虫症に対する治療効果. 寄生虫学雑誌, 14(3), 233-242.
 - 17) 吉村裕之・蔡昭雄(1965) : 肝吸虫の生理, (3) 肝吸虫のラット内単数寄生の虫体の發育並びに排卵数について. 寄生虫学雑誌, 15(3), 192-195.
 - 18) 吉村裕之・荒木国興・蔡昭雄(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. 寄生虫学雑誌, 14(5), 437-444.
 - 19) 湯本義香(1936) : 肝臓ジストマ卵数の微細構造知見補遺, (附) 吸虫卵特に肝臓ジストマの異形卵に就て. 台湾医学会雑誌, 35(8), 1836-1846.
 - 20) 氏家直記(1936) : 肝臓ジストマ *Clonorchis sinensis* の卵殻形成機転に就て. 台湾医学会雑誌, 35(8) : 1862-1896.

Abstract

EXPERIMENTAL STUDIES OF *CLONORCHIS SINENSIS*
IN ALBINO-RATS

SHAO SIUNG TASAI

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

The experimental study was designed to make clear the susceptibility, development, sexual maturity and egg production of *Clonorchis sinensis* in albino-rats infected with various numbers of metacercariae of *C. sinensis*. 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75 and 100 mature metacercariae were given respectively per os to each albino-rat of 8 groups ranging from 7 to 19.

(1) Infections were succeeded in all cases of the groups except the group giving 5 metacercariae, in which two cases out of ten failed to be infected. The result showed that there is no difference in the susceptibility between male and female albino-rats in the groups giving 30 and 50 metacercariae. In groups given 10, 20 and 30 metacercariae more than 30% of them were found to reach sexual maturity.

The average recovery rate decreased in the groups given more than 30 metacercariae.

(2) There were no retardation of time for reaching sexual maturity in rats infected with less than 28 worms.

However, the crowding effect concerning to the size of the developed worms were observed in the rats infected with more than 15 worms.

The result of stool examination of the 25 albino-rats with AMS III concentration technique revealed that the prepatent period varied from 17 to 26 days with mean of 21.1 days.

(3) Egg production of the infected rats with different worm burdens ranging from 2 to 15 worms were examined by using AMS III concentration technique and modified Stoll's dilution egg counting method from 26 days to 60 days after infection. All of the rats showed stable egg count ranging from 500 to 1000 per day per worm and there was a tendency of decreasing egg production with increasing the number of worms.

(4) The host-parasite relationship between albino-rat and *Clonorchis sinensis* was discussed.

寄 生 虫 学 雜 誌 (Japanese Journal of Parasitology) Vol. 15 No. 3, 1966

昭和 41 年 6 月 25 日 印刷・昭和 41 年 6 月 30 日 発行

編 集 兼 発 行 日 本 寄 生 虫 学 会

印 刷 所 一 ッ 橋 印 刷 株 式 会 社

学 会 事 務 所 東 京 都 品 川 区 上 大 崎 長 者 丸 国 立 予 防 衛 生 研 究 所 内

電 話 白 金 (441) 2181 内 線 404 (編 集), 405 (会 計)

振 替 口 座 東 京 1 4 5 1