

横川吸虫と高橋吸虫の種の異同について

2. 第二中間宿主への感染実験

齋 藤 奨

広島大学医学部寄生虫学教室 (主任: 辻守康教授)

(昭和47年12月25日 受領)

第1報では横川吸虫と高橋吸虫の各発育期における形態学的差異を比較検討し、セルカリアの侵入腺細胞に最も明瞭な区別点があることを報告した(齋藤, 1972)。本報はその特徴を主に分類したセルカリアを用いてアユおよびヒブナへの感染実験を行ない、*Metagonimus* 属は種によつて第二中間宿主を異にすることを確認し、横川吸虫と高橋吸虫は別の種類とする有力な裏付けを得たので、その成績について報告する。

方 法

1. 感染実験に用いたセルカリア

セルカリアの検出および分類は第1報と同様の方法によつたが、破碎したカワニナとセルカリアを一緒にしておく、セルカリアが早く弱つてくるように見受けられたので、カワニナの筋肉部は破碎後直ちに除去した。ついで10~20倍の双眼実体顕微鏡下で手早く *parapleurolophocercous cercariae* の検出されるシャーレだけを選び分けた。セルカリアの分類は1シャーレ(カワニナ1個分)につき10~20個体のセルカリアをとり出して行ない、残りはすべてその同種とみなした。セルカリアの分類基準は第1報で述べた侵入腺細胞とその配列を主眼とし、口棘の本数は1シャーレにつき4~5個体を確認するにとどめた。

なお破碎に用いた用具は1個のカワニナごとに流水で洗い、他種セルカリアの混入を防ぐように努めた。

2. 感染実験に用いた淡水魚とその飼育

感染実験に用いた淡水魚は卵から人工的に飼育した体長15cm 前後のアユ (*Plecoglossus altivelis*) と市販のヒブナ (*Carassius carassius auratus*) である。両魚種とも固型飼料で、しかも水槽内で飼育されたものであるが、念のため10尾ずつについて寄生虫の検索を行ない陰性であることを確かめた。

アユの飼育は広島県水産試験場の施設を利用し、管理

も当該場員に依頼した。飼育水槽は直径150cm のコンクリート製丸型水槽で、通常の水深を40cm に保つた。水は川底約10m 下の地下水を塩化ビニール管で水槽へ誘導しており、水温は20~23°C で、水槽中の水は毎分2~3Lの交換ができるよう調整し、常時エアープンプにより空気を送り込んだ。アユの飼料としては毎朝1回、サケ・マスなどの稚魚用固型飼料を与えた。ヒブナの飼育は原則としてタテ19cm、ヨコ24cm、高さ21cm のガラス製角型水槽を用い、通常水深約18cm に保つてエアープンプで空気を送つた。水温は特に調節しなかつたが25~30°C であつた。なお飼料は毎朝1回、熱帯魚用固型飼料あるいは乳児用離乳食を与えた。

3. 淡水魚への感染方法

アユへの感染 まず2個のコンクリート水槽に50尾ずつのアユを飼育しておき、感染時に水深約9cm まで減水し、一方に横川吸虫、他方に高橋吸虫セルカリアを、感染していたカワニナの中腸腺ごと15個分ずつ投入し、徐々に水を加え約2時間で水深約40cm になるようにした。

ヒブナへの感染 ガラス水槽に3~10尾のヒブナを放し、感染時には水深約6cm にした。そして横川吸虫あるいは高橋吸虫のセルカリアを感染カワニナの中腸腺ごと所定の数だけ投入し、12時間以上そのまま放置した後、新しい水槽にヒブナを移して前記のごとく飼育した。

アユとヒブナを一緒に飼育した水槽内での感染実験 アユへの感染方法とほぼ同様で、アユ50尾とヒブナ20尾ずつを放した2水槽の一方に横川吸虫、他方に高橋吸虫セルカリアをカワニナの中腸腺ごと投入した。なおヒブナはアユの腹でこすられ死ぬ恐れがあつたので、感染の翌日からヒブナのみガラス水槽に移して飼育した。

4. メタセルカリアの寄生状況

セルカリア投入約1カ月後の淡水魚について、ウロ

コ、各部のヒレ、頭部、表皮および筋肉に分け、ウロコおよびヒレはそのまま少量の水と共に、他は細切して2枚のスライドガラスで圧平して、それぞれ20~40倍の双眼実体顕微鏡で観察し、各部位別にメタセルカリア数を記録した。

成 績

1. アユへの実験感染状況

横川吸虫セルカリアは1970年6月29日に採集したカワニナから得たもので、その投入数は感染カワニナ15個分であった。投入後25日の感染状況を調べたところ、すべてのアユにメタセルカリアが認められた (Table 1, Exp. 1)。メタセルカリアの魚体内の分布を任意の10尾についてみると、最も多いもので一尾当り226個、最低52個、平均142個で、筋肉(48.1%)とウロコ(39.3%)に大部分がみられ、その他は表皮(4.6%)、頭部(4.2%)、背ビレ(1.1%)、尾ビレ(0.8%)、腹ビレ(0.7%)、胸ビレ(0.6%)、尻ビレ(0.6%)の順であった (Table 2)。高橋吸虫セルカリアは上記と同日に採集したカワニナから検出されたもので、投入数はカワニナ25個分であった。投入後1, 3, 6, 11および15日に2尾ずつ、25日に残りの40尾を検査したが、いずれのアユにも全くメタセルカリアを検出することができなかつた (Table 1, Exp. 2)。

2. ヒブナへの実験感染状況

横川吸虫セルカリア投入群では、1968年11月に感染カワニナ3個分を5尾のヒブナに、以下同様に1969年5月5個分を3尾に、同年8月20個分を5尾に、1970年8月50個分を10尾に、同年9月5個分を10尾にそれぞれ接触せしめたが、いずれのヒブナにも全くメタセルカリアを見出すことができなかった (Table 1, Exp. 3~7)。一方、高橋吸虫セルカリアは感染に用いた全部のヒブナで被囊が認められた (Table 1, Exp. 8)。すなわち本実験は1969年8月にヒブナ10尾を放した水槽へ10個分のカワニナを投入して、1時間、1, 5, 20および30日後に観察したものである。投入1時間後には多数のセルカリアがヒブナの体内に侵入し、一部にはすでに被囊形成のみられたものもあつた。被囊を形成した部位やその数をセルカリア投入後30日の5尾で調べたところ、1尾当りのメタセルカリア数は877~3,093個で、5尾ともウロコ(平均55.9%)に圧倒的に多く、ついで尾ビレ(21.2%)、以下頭部(11.9%)、背ビレ(4.5%)、胸ビレ(3.4%)、腹ビレ(1.6%)、尻ビレ(1.5%)の順で、表皮と筋肉には全く検出できなかった (Table 3)。

3. アユとヒブナを一緒に飼育した水槽内での実験感染状況

2個の水槽に、それぞれアユ50尾とヒブナ20尾ずつを一緒に放し、一方に横川吸虫、他方に高橋吸虫のセルカリアを感染カワニナ15個分ずつ投入した。本実験は1970年7月に行なつたもので、原則として隔日に感染状況を

Table 1 Results of experimental exposure of Ayu-fishes and goldfishes to cercariae of *M. yokogawai* and *M. takahashii* or both

Exp.	Fish	Cercaria	Date exposed	No. of** snails	No. of fishes exposed	No. of fishes infected (%)
1	Ayu-fish	<i>M. yokogawai</i>	Jun. 30, 1970	15	50	50 (100)
2	Ayu-fish	<i>M. takahashii</i>	Jun. 30, 1970	25	50	0 (0)
3	Goldfish	<i>M. yokogawai</i>	Nov. 4, 1968	3	5	0 (0)
4	"	"	May 26, 1969	5	3	0 (0)
5	"	"	Aug. 15, "	20	5	0 (0)
6	"	"	Aug. 6, 1970	50	10	0 (0)
7	"	"	Sep. 22, "	5	10	0 (0)
8	Goldfish	<i>M. takahashii</i>	Aug. 15, 1969	10	10	10 (100)
9*	Ayu-fish Goldfish	<i>M. yokogawai</i>	Jul. 11, 1970	15	50 20	50 (100) 0 (0)
10*	Ayu-fish Goldfish	<i>M. takahashii</i>	Jul. 11, 1970	15	50 20	0 (0) 20 (100)

* Mixed group of 50 Ayu- and 20 goldfishes

** Number of cercariae exposed to fishes was indicated by the snails infected with cercariae

Table 2 Distribution of *M. yokogawai* metacercariae in Ayu-fishes after exposure to the cercariae

Ayu-fish No.	No. of metacercariae encysted in									Total
	Scale	Epi.	Muscle	Head	DF	CF	AF	PF	VF	
1	106	13	92	9	2	1	1	2	0	226
2	70	8	83	7	3	2	2	1	3	179
3	69	9	45	11	1	2	0	1	2	140
4	23	3	86	4	1	1	0	0	0	118
5	48	1	77	3	2	0	0	0	2	133
6	62	2	92	6	0	1	0	2	3	168
7	37	8	41	5	3	3	1	1	0	99
8	13	4	26	3	1	1	2	2	0	52
9	28	2	53	8	0	1	2	0	0	94
10	100	15	86	3	2	0	1	0	0	207
Total	556	65	681	59	15	12	9	9	10	1,416 (av. 142)
%	39.3	4.6	48.1	4.2	1.1	0.8	0.6	0.6	0.7	100

Ayu-fishes were examined for the presence of metacercaria 25 days after exposure to *M. yokogawai* cercariae from 15 *Semisulcospira* spp. Epi.: Epidermis, DF: Dorsal fin, CF: Caudal fin, AF: Anal fin, PF: Pectoral fins, VF: Ventral fins.

Table 3 Distribution of *M. takahashii* metacercariae in goldfishes after exposure to the cercariae

Goldfish No.	No. of metacercariae encysted in									Total
	Scale	Epi.	Muscle	Head	DF	CF	AF	PF	VF	
1	432	0	0	148	40	271	10	35	18	954
2	541	0	0	107	35	152	9	23	10	877
3	728	0	0	167	34	200	9	21	12	1,171
4	1,744	0	0	243	156	689	66	131	64	3,093
5	560	0	0	187	58	208	12	34	14	1,073
Total	4,005	0	0	852	323	1,520	106	244	118	7,168 (av. 1,434)
%	55.9	0	0	11.9	4.5	21.2	1.5	3.4	1.6	100

Goldfishes were examined for the presence of metacercaria 30 days after exposure to *M. takahashii* cercariae from 10 *Semisulcospira* spp.

観察したが、魚の部位別メタセルカリア数の観察は投入後25日のアユおよびヒブナ各10尾ずつで行なった。まず横川吸虫セルカリアを投入したアユへの感染状況を見ると、一尾当りのメタセルカリア数は最高234個、最低53個、平均137個であり、筋肉(46.5%)とウロコ(39.2%)がほぼ同率で圧倒的に多く、以下表皮(6.0%)、頭部(4.6%)、尾ビレ(1.0%)、背ビレ(0.9%)、腹ビレ(0.8%)、胸ビレ(0.6%)、尻ビレ(0.4%)の順であった(Table 4)。なお残りの40尾のアユにもすべてメタセルカリアが検出されたが、ヒブナ20尾には全く、それを証明することができなかつた(Table 1, Exp. 9)。つぎに高橋吸虫セルカリア投入群の実験では前記と全く

反対の成績が得られた。すなわちアユでは50尾とも陰性で、ヒブナは全部にメタセルカリアが感染していた(Table 1, Exp. 10)。25日後に調べたヒブナ10尾の一尾当りメタセルカリア数は131個が最も多く、最低38個で平均100個であった。これを魚の部位別で見ると、ウロコに圧倒的に多く全体の47.1%を占め、ついで尾ビレの20.0%、以下頭部(17.3%)、胸ビレ(6.8%)、背ビレ(4.9%)、腹ビレ(2.0%)、尻ビレ(1.9%)の順で、表皮や筋肉には全く検出されなかつた(Table 5)。

考 察

Metagonimus 属のセルカリアを第二中間宿主に感染せしめた実験報告は非常に少なく、特に横川吸虫と高橋

Table 4 Result of simultaneous exposure of Ayu- and goldfishes to *M. yokogawai* cercariae

Fish No.	No. of metacercariae encysted in										gold- fishes
	Ayu-fishes										
	Scale	Epi.	Muscle	Head	DF	CF	AF	PF	VF	Total	
1	19	3	58	3	1	1	1	1	0	87	0
2	14	2	42	5	2	2	0	2	3	72	0
3	67	26	76	7	2	1	2	1	3	185	0
4	134	3	85	4	3	1	0	2	2	234	0
5	5	1	44	2	0	0	1	0	0	53	0
6	60	16	61	7	2	3	0	0	1	150	0
7	97	12	66	8	0	1	1	1	0	186	0
8	27	8	75	13	0	3	1	0	1	128	0
9	75	9	62	5	1	1	0	0	0	153	0
10	38	2	67	9	1	0	0	1	1	119	0
Total	536	82	636	63	12	13	6	8	11	1,367 (av.137)	0
%	39.2	6.0	46.5	4.6	0.9	1.0	0.4	0.6	0.8	100	—

Table 5 Result of simultaneous exposure of Ayu- and goldfishes to *M. takahashii* cercariae

Fish No.	No. of metacercariae encysted in										
	Ayu- fishes	goldfishes									
		Scale	Epi.	Muscle	Head	DF	CF	AF	PF	VF	Total
1.	0	53	0	0	28	6	13	3	7	3	113
2	0	78	0	0	23	7	15	1	7	0	131
3	0	38	0	0	13	5	29	1	16	1	103
4	0	33	0	0	24	9	24	2	6	2	100
5	0	33	0	0	21	5	29	3	1	3	95
6	0	12	0	0	5	0	6	3	9	3	38
7	0	62	0	0	24	4	20	0	7	3	120
8	0	56	0	0	16	7	18	1	8	1	107
9	0	57	0	0	6	3	28	3	4	2	103
10	0	48	0	0	12	3	17	2	3	2	87
Total	0	470	0	0	172	49	199	19	68	20	997 (av.100)
%	—	47.1	0	0	17.3	4.9	20.0	1.9	6.8	2.0	100

吸虫の区別を意識して両種を比較観察した報告は高橋(1929)のみである。それによると横川吸虫は好んでアユに寄生するが、金魚やフナなどでは極めて感染困難であり、高橋吸虫はその反対でフナ、コイ、金魚などに良く寄生し、アユでは極めて困難であったという。

今回の感染実験に用いたセルカリアは高橋が区別点として挙げた7項目の特徴、すなわち体や眼点の大きさ、色彩、口棘の数など、よりも明瞭で確実と思われた侵入腺細胞の形とその配列を観察し、口棘の数も考慮しながら分類したものである。またセルカリアの検出にあたり、他種セルカリアの混入を防ぐべく細心の注意を払つ

たことはいままでもない。このようにして得たセルカリアを用いて行なつた今回の実験は上記高橋の成績より、宿主の差がさらに判然と現われた。すなわち横川吸虫のセルカリアは容易にアユに侵入しメタセルカリアとなつたが、ヒブナには単独あるいはアユと一緒に行なつた実験でも全く感染しなかつた。特に横川吸虫セルカリアをヒブナに感染させる実験は時期、採集場所、カワニナ投入数、魚数など種々の条件下で機会あるごとに繰り返し試みたが、いずれも陰性に終つた。なお横川吸虫セルカリアが検出される河川のカワムツやオイカワには自然感染のメタセルカリアを多数見出すことができたが、高橋

吸虫セルカリアのみが濃厚に検出される河川のそれらでは全く陰性の成績しか得られていない（未発表）。このような事実も加味して考えると、両種セルカリアにおける宿主選択の特異性は非常に厳密なものと判断される。

近年、高橋（1967）はアユ、フナ、ウグイおよびシラウオをイヌに与えて得た成虫子宮内虫卵の大きさで種を判断し、これらの第二中間宿主には横川吸虫と高橋吸虫の混合感染があると報告した。今回の感染実験や第1報（斉藤、1972）だけで、それを全く否定することはできないが、氏の種類基準が虫卵の大きさのみであったことを考えると現在は疑義を抱かざるを得ない。

最後に、以上の成績および第1報の形態学的差異さらには両種レジア・セルカリア間でみられた免疫電気泳動像の違い（斉藤ら、1973）を総合して、横川吸虫と高橋吸虫との分類学上の位置について若干述べてみたい。両種は虫卵、メタセルカリアおよび成虫では厳密な意味での区別点を見出し得なかつたが、セルカリアにおいては形態、生態および免疫的に明瞭な差が認められた。このように形態的には区別が不可能か極めて困難（発育の1時期にのみ現われるような形質）であるが、生態的に顕著な差のあるものを Mayer (1942) は sibling species と呼び別種扱いにしている。生態では性的隔離を重視しているが、*Metagonimus* 属は雌雄同体であるため異種間の交配実験が不可能に近い。しかし広島県下主要6水系のカワニナについて両種セルカリアの感染状況を見ると、小瀬川を除く5水系の同じ場所から採集されたカワニナに両種が同時に検出されており、もし両種が性的に隔離されていないとするならば、その雑種を疑わせるセルカリアが検出されると考えられるが、今までにそのような形態あるいは生態を持つセルカリアは見出されていない。以上を考え併せると、横川吸虫と高橋吸虫は sibling species の可能性が濃く、別種とみなして差支えないと思われた。

ま と め

侵入腺細胞と口棘の数で分類した横川吸虫と高橋吸虫のセルカリアをアユおよびヒブナに感染実験を行ない、次の結果を得た。

1. アユへの感染実験において横川吸虫セルカリアは魚体内に良く侵入してメタセルカリアになつたが、高橋吸虫のそれは全く感染しなかつた。

2. ヒブナへの感染実験では高橋吸虫セルカリアが多数侵入してメタセルカリアに発育したが、横川吸虫のそれは数回の実験にもかかわらず全く被覆しなかつた。

3. アユとヒブナを一緒に飼育した水槽内に横川吸虫セルカリアを投入したところ、すべてのアユにメタセルカリアが検出されたが、ヒブナには全くそれを認めることができなかった。

4. 3. と同じ条件の水槽内に高橋吸虫セルカリアを投入したところ、全部のヒブナに感染が成立したが、アユへの感染はすべて不成功に終わった。

5. 以上の成績、各発育期の形態学的差異（斉藤、1972）および免疫電気泳動像の違い（斉藤ら、1973）から判断して、横川吸虫と高橋吸虫は sibling species の可能性が濃く別種と考えられた。

稿を終るにあたり、ご指導ご校閲をいただいた主任辻守康教授並びに種々のご助言を下された新潟大学大鶴正満教授および大阪大学森下薫名誉教授に対し厚くお礼申し上げます。また、ご協力をいただいた広島県水産試験場および当該教室の諸氏、特に岩永襄助手、藤田直子氏、森山信子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Mayer, E. (1942): 「今泉吉典 (1968): 動物の分類. 326頁, 第一法規出版株式会社, 東京」より引用.
- 2) 斉藤奨 (1972): 横川吸虫と高橋吸虫の種の異同について, 1. 形態学的差異. 寄生虫学雑誌, 21, 449-458.
- 3) 斉藤奨・辻守康 (1973): 横川吸虫と高橋吸虫のレジア・セルカリアにおける免疫電気泳動像の比較. 広島大学医学雑誌, 21, 19-22.
- 4) 高橋昌造 (1929): *Metagonimus yokogawai*, *Metagonimus* の1新種および *Exorchis major* の発育史について. 岡山医学会雑誌, 41, 2687-2755.
- 5) 高橋昌造 (1967): メタゴニムス属吸虫に関する研究. 岡山医学会雑誌, 79, 43-49.

AbstractON THE DIFFERENCES BETWEEN *METAGONIMUS YOKOGAWAI*
AND *METAGONIMUS TAKAHASHII*

II. THE EXPERIMENTAL INFECTIONS TO THE SECOND INTERMEDIATE HOSTS

SUSUMU SAITO

*(Department of Parasitology, School of Medicine,
Hiroshima University, Hiroshima, Japan)*

The experimental infections of Ayu-fishes, *Plecoglossus altivelis* and goldfishes, *Carassius carassius auratus* were carried out with the cercariae of *M. yokogawai* and/or *M. takahashii* which were classified on morphological bases, i.e. the differences in penetrating gland cell pattern and number of oral spines. The results are summarized as follows:

1. Ayu-fishes serve as a second intermediate host of *M. yokogawai*, but not of *M. takahashii* in the experimental infections.
2. Goldfishes serve as a second intermediate host of *M. takahashii*, but not of *M. yokogawai*, experimentally.
3. In the simultaneous infections of both fishes with cercariae of either species, the cercariae of *M. yokogawai* encysted only in Ayu-fishes, and those of *M. takahashii* only in goldfishes.

From the above mentioned results, the morphological observations (Saito, 1972) and the immunoelectrophoregrams of cercariae (Saito & Tsuji, 1973), *M. yokogawai* and *M. takahashii* should be led to the recognitions of sibling species each other.