

## 肺吸虫症の実験的治療に関する研究

### 大平肺吸虫の幼虫期に対する Bithionol および 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) の治療効果について

荒 木 国 興

千葉大学医学部寄生虫学教室

(昭和50年1月16日 受領)

#### はじめに

肺吸虫症の治療については、池田 (1915) が本症患者に塩酸エメチンをはじめて使用して効果のあつたことを報告して以来、多数諸家により種々の治療法が検討されてきたが、何れも満足すべきものではなかつた。

しかし、近年 Yokogawa *et al.* (1961) により、肺吸虫症に対して極めてすぐれた治療効果のある bithionol が発見されて以来、肺吸虫症の治療は容易となり、現在では世界各地において広く用いられている。

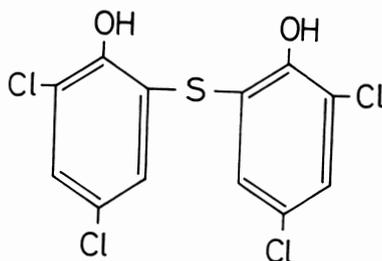
また本剤は脳肺吸虫症をはじめ、肺吸虫幼虫の皮下侵入による皮膚肺吸虫症にも効果があると報告されている (Wang *et al.* 1964)。

しかし、一方感染後間もない体内移行中の幼若虫体に対しては本剤は必ずしもその効果は充分でないという報告もある (Yokogawa *et al.* 1961 ; Waitz *et al.* 1964)。

そこで本剤が果して幼若肺吸虫に対しても効果があるか否かを検討するために大平肺吸虫 (*Paragonimus ohirai*) 感染ラットを用いて以下の実験を行つた。このことは、肺吸虫症の感染予防の上からも極めて重要な問題であると思われる。なお本実験では、bithionol の他に横川ら (1965, 1967), Yokogawa *et al.* (1965) により最近肝吸虫および肺吸虫に極めて効果のあることが見出された 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) についても検討してみた。その結果、両種薬剤に対する抵抗力は幼若なもの程著明でその有効薬用量は感染後の日数と密接な関係のあることが明らかにされた。すなわち、その有効薬用量は感染後の日数に応じて減少するという興味ある成績が得られたので以下に報告する。

#### 実験材料および実験方法

##### 1. 使用薬剤



2,2'-thiobis (4,6-dichlorophenol)

Fig. 1 Chemical structure of bithionol

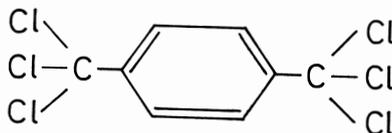


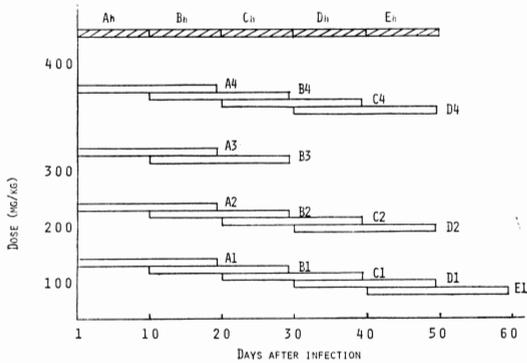
Fig. 2 Chemical structure of 1,4-bis-trichloromethylbenzol

使用薬剤は bithionol と 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) で、その構造式は Fig. 1 および Fig. 2 に示した如くである。

Bithionol は Bithin (Tanabe Co.) の名で市販されており、無味無臭、白色の結晶性粉末である。比重は 1.73 (25°C)、水に難溶で僅かに 25°C で 0.004% である。

Hetol は白色無臭の粉末で水に不溶性であるが、アセトン、エーテル、アルコール等にはよく溶解する。本剤は Lämmler (1960) が動物の肝蛭 (*Fasciola hepatic*) および猫肝吸虫 (*Opistorchis felineus*) に効果のあることを明らかにしたものであるが、横川ら (1965, 1967) は、人および動物の肝吸虫 (*Clonorchis sinensis*) および肺吸虫 (*Paragonimus westermani*) に対しても極めてすぐれた効果を有することを報告している。

##### 2. 投薬量および投薬方法



▨ Hetol (every day for 10 days).  
 □ Bithionol (every other day for 10 times).  
 Fig. 3 Experimental schedule for treatment with Bithionol and Hetol in rats

Bithionol の1日の投与量は100mg/kg, 200mg/kg, 300mg/kg, 400mg/kg の4段階とし, 1日1回で隔日10回, Hetol の1日の投与量は400mg/kg とし, 1日1回で連日10回, それぞれ経口投与した. 治療開始の時期は Fig. 3 に示した如く, ABCDE の5群に分け, A: 感染直後, B: 感染後10日, C: 感染後20日, D: 感染後30日, E: 感染後40日の投薬開始とした. Bithionol 投与群はさらに投与量に応じ4群に分けた. 例えばA群についてみれば A<sub>1</sub>: 100mg/kg, A<sub>2</sub>: 200mg/kg, A<sub>3</sub>: 300mg/kg, A<sub>4</sub>: 400mg/kg の如くにした. すなわち A-D は治療開始の時期, 1~4の数字は投与量を示すようにした. なおhは Hetol 400mg/kg の投与量である.

### 3. 実験動物および感染方法

実験に使用したラットは体重80~100gの健康な Wistar 系のラットで, 治療群245匹, 治療をしなかった対照群50匹であったが, これらのラットは全て1匹当たり15コずつの大平肺吸虫メタセルカリアを経口投与した.

なお大平肺吸虫メタセルカリアは, 兵庫県城崎のクロベンケイ *Sesarma dehaani* の肝臓より分離したものをを用いた.

### 4. 治療効果の判定法

#### 1) 寄生虫学的方法

治療効果の判定に当つては, 常に同時期に感染させた非治療群の対照と比較検討しながら, 治療後の糞便内虫卵の排出状況, 剖検時の検出虫体数および虫体回収率(投与総数に対する検出虫体数の割合), 虫嚢形成数, 内臓の剖検所見, 検出虫体所見より総合的に判定した.

剖検時期については, 実験成績に示した如く, ラット体内での虫体の成熟期間および成熟虫体の自然死が増加

する期間を考慮し, 感染後36日以上65日以内に剖検した.

なお剖検に当つては, 肺における虫嚢の有無, 虫嚢内の生存虫体数, 胸腔遊離虫体数を調べるとともに, 肺, 胸壁, 横隔膜等を観察し, 白濁萎縮した死滅虫体や虫卵の付着の有無を調べた. さらに肝臓内或いは腹腔遊離虫体の検出に努め, 検出虫体は全て Carnoy 氏液で固定後, Kirkpatrick 氏カルミン液を用いて染色し, 形態を観察した.

#### 2) 免疫学的方法

メタセルカリア投与後1週間より経時的にラットの眼底動脈より採血し, その血清について辻(1968)の方法に準じて Ouchterlony, 免疫電気泳動を行い, これらの方法により免疫血清学的に初期感染の有無を証明し得るか否かを検討するとともに, これらの方法が治療効果の判定にも役立つか否かを検討してみた.

### 実験成績

#### 1. 検出虫体数および剖検所見

##### 1) 対照群:

対照群のラット50匹は, 感染後より剖検迄の日数によって I 群: 36~39日, II 群: 40~49日, III 群: 50~59日, IV 群: 60~64日の4群に分け, 検出虫嚢数および検出虫体数(虫体回収率)を比較検討した.

その結果は Table 1 に示した如く, I~IVの4群間ではラット1匹当たりの検出虫嚢数および検出虫体数に有意の差は認められなかった. すなわち, 何れの群でも1匹当たりの検出虫嚢数は2.8~3.1ヶ, 検出虫体数は6.2~6.4虫で, 36~64日の間では剖検時期による差は全く認められなかった. そこで I~IV群全部をまとめてみると, 検出虫体総数315虫, 虫体回収率は42.0%, 1匹当たりの検出虫体数は6.3虫であった.

ただ総計149ヶの内5ヶ(3.3%)の虫嚢からは虫体が検出されず, 虫卵を含む黒褐色の壊死物質のみが検出されたが, これらの虫嚢が見出されたラットは何れも感染後50日以降に剖検したものであった.

##### 2) 治療群:

Bithionol 治療群の検出虫体数および虫体回収率は Table 2 に, Hetol 治療群のそれは Table 3 に示した.

##### a) Bithionol 治療群:

A 群(感染後24時間からの治療開始群):

A<sub>1</sub> 群では感染後36~51日の間に剖検したが, 16匹の全部から生存虫体が検出された. そのうち肺に虫嚢形成が認められたのは10匹で, 検出虫数は虫嚢内27虫, 胸腔

Table 1 Number of worms recovered at autopsy during the period from 36 days to 64 days after infection

Group	Days from infection to autopsy	No. of rats used	Total no. of metacercariae given	No. of rats infected	No. of worm cysts in			No. of worms recovered from		
					right lung	left lung	total (average)	pleural cavity	cysts in lung	total(%)** (average)
I	36-39	5	75	5	9	5	14 (2.8)	4	28	32(42.7%) (6.4)
II	40-49	7	105	7	13	8	21 (3.0)	2	43	45(42.9%) (6.4)
III	50-59	28	420	29	54 (3)*	31	85 (3.1) (3)*	6	170	176(41.9%) (6.2)
IV	60-64	10	150	10	16	13 (2)*	29 (2.9) (2)*	2	60	62(41.3%) (6.2)
Total		50	750	50	92 (3)*	57 (2)*	149 (3.0) (5)*	14	301	315(42.0%) (6.3)

( )\*...Indicates no. of worm cysts containing necrotic worms of eggs.

\*\* ...Recovery rate: total no. worms recovered/total no. metacercariae given.

( ) ...No. of worm cysts per rat.

15 metacercariae of *P. ohirai* were given orally to each rat.

遊離38虫,腹腔遊離7虫,肝臓1虫,総計73虫(平均4.5虫)で,虫体回収率は30.4%であった。

なおこれらのラットの肝臓には限局性の壊死巣が認められ,肺では肋膜の肥厚,癒着および数個の出血斑が認められた他,大多数のラットでは肺の表面,横隔膜,縦隔洞等に褐色の虫卵苔が付着していた。

A<sub>2</sub>群では感染後56~64日の間に剖検したが,11匹の全ての肺に虫嚢形成が認められた。検出虫嚢数は22ケであったが,このうち4ケの虫嚢からは生存虫体が見出されなかった。検出虫体数は虫嚢内35虫,胸腔遊離15虫,総計50虫(平均4.5虫)で,虫体回収率は30.3%であった。

A<sub>3</sub>群では感染後49~56日の間に剖検したが,7匹中肺に虫嚢形成が認められたのは4匹で,検出虫嚢数は5ケであった。検出虫体数は虫嚢内10虫,胸腔遊離9虫,総計19虫(平均2.7虫)で,虫体回収率は18.1%であった。

A<sub>4</sub>群では感染後43~56日の間に剖検したが,12匹中肺に虫嚢形成が認められたのは8匹で,検出虫嚢数は計10ケであった。検出虫体数は虫嚢内19虫,胸腔遊離10虫,総計29虫(平均2.4虫)で,虫体回収率は16.1%であった。

B群(感染後10日からの治療開始):

B<sub>1</sub>群では感染36~51日の間に剖検したが,生存虫体が検出されたのは13匹中9匹で,検出虫体数は胸腔遊離10虫,腹腔遊離6虫,肝臓2虫,総計18虫(平均1.4虫)で,虫体回収率は9.2%であった。

B<sub>2</sub>群では感染後58~61日の間に剖検したが,生存虫体が検出されたのは15匹中8匹で,そのうち6匹から7ケの虫嚢が見出された。検出虫体数は虫嚢内14虫,胸腔遊離3虫,総計17虫(平均1.1虫)で,虫体回収率は7.6%であった。

B<sub>3</sub>群では感染後56日に剖検したが,生存虫体が検出されたのは8匹中3匹で,そのうち2匹から3ケの虫嚢が見出された。検出虫体数は虫嚢内6虫,胸腔遊離2虫,総計8虫(平均1.0虫)で,虫体回収率は6.7%であった。

B<sub>4</sub>群では感染後56日に剖検したが,10匹の何れからも生存虫体は検出されなかった。ただ1匹のラットの肺に壊死物質のみを含む虫嚢1コが認められた。

以上の如く,感染後10日から治療を始めた場合は,B<sub>1</sub>群(100mg/kg投与群)でも24時間後からの治療群に比べて著しい効果が認められ,B<sub>4</sub>群(400mg/kg投与群)では全てのラットに完全治癒が認められた。

C群(感染後20日からの治療開始群):

C<sub>1</sub>群では感染後46~61日の間に剖検したところ,14匹中5匹に虫嚢形成が認められたが,そのうち3匹の虫嚢内には壊死物質が見出されたのみであった。また2匹のラットから胸腔遊離虫体のみが検出されたので,生存虫体が見出されたのは4匹のラットからで,検出虫体数は虫嚢内4虫,胸腔遊離4虫,総計8虫(平均0.6虫)で,虫体回収率は3.8%であった。

C<sub>2</sub>群では感染後53~60日の間に剖検したところ,12

Table 2 Effects of bithionol on immature and mature worms of *Paragonimus ohirai* in rats

Groups	Beginning of treatment (days after infection)	Days from infection to autopsy	No. of rats used	Total no. of metacercariae given	No. of worm cysts in			No. of worms recovered from				
					right lung	left lung	total	Cysts in lung	pleural cavity	abdominal cavity	liver	total(%)** (average)
A <sub>1</sub>		36-51	16	240	11(2)*	4	15(2)*	27	38	7	1	73(30.4%) (4.5)
A <sub>2</sub>		56-64	11	165	12	10	22(4)*	35	15	0	0	50(30.3%) (4.5)
A <sub>3</sub>	24 hrs	49-56	7	105	3	2	5	10	9	0	0	19(18.1%) (2.7)
A <sub>4</sub>		43-56	12	180	7	3	10	19	10	0	0	29(16.1%) (2.4)
B <sub>1</sub>		36-51	13	195	0	0	0	0	10	6	2	18(9.2%) (1.4)
B <sub>2</sub>		58-61	15	225	5	2	7	14	3	0	0	17(7.6%) (1.1)
B <sub>3</sub>	10 days	56	8	120	2	1	3	6	2	0	0	8(6.7%) (1.0)
B <sub>4</sub>		56	10	150	(1)*	0	(1)*	0	0	0	0	0
C <sub>1</sub>		46-61	14	210	3(2)*	2(1)*	5(3)*	4	4	0	0	8(3.8%) (0.6)
C <sub>2</sub>	20 days	53-60	12	180	0	0	0	0	1	0	0	1(0.6%) (0.1)
C <sub>4</sub>		56	8	120	(1)*	0	(1)*	0	1	0	0	1(0.8%) (0.1)
D <sub>1</sub>		49-62	15	150	8(6)*	7(5)*	15(11)*	6	5	0	0	11(4.9%) (0.9)
D <sub>2</sub>	30 days	62	9	135	(9)*	5(4)*	14(13)*	1	1	0	0	2(1.5%) (0.2)
D <sub>4</sub>		49-56	9	135	(5)*	(1)	(6)*	0	1	0	0	1(0.7%) (0.1)
E <sub>1</sub>	40 days	60	10	150	(14)*	(11)*	(25)*	0	0	0	0	0

( ) \*.....Indicates number of worm cysts containing necrotic worms or eggs. \*\* .....Recovery rate.

Table 3 Effects of 1,4-bis-trichloromethylbenzol on immature and mature worms for *Paragonimus ohirai* in rats

Groups	Days from infection to autopsy	Total no. of metacercariae given	No. of worm cysts in			No. of worms recovered from				Total no. (%) * of worms recovered (average)
			right lung	left lung	total	cysts in lung	pleural cavity	abdominal cavity	liver	
Ah	56	180	2	2	4	8	3	0	0	11(6.1%) (0.9)
Bh	53-54	375	1	0	1	2	2	0	0	4(1.1%) (0.2)
Ch	56-48	150	0	0	0	0	0	0	0	0
Dh	49-56	135	(7)*	(5)*	(12)*	0	0	0	0	0
Eh	56	150	(18)*	(8)*	(26)*	0	0	0	0	0

( ) \*.....Indicates number of worm cysts containing necrotic worms or eggs.

\*\* .....Recovery rate. total no. worms recovered total no. metacercariae given.

匹中虫嚢形成の認められたラットは1匹もなく、ただ1匹のラットから胸腔遊離虫体が1虫見出されたのみであった。従つて虫体回収率は0.6%にすぎなかつた。

なお生存虫体の検出されなかつたラット11匹のうち、1匹の肺表面に約2mm大の白濁ミイラ化した幼若虫体(Photo 1)が認められたのみで、それ以外のラットには異常所見は全く認められなかつた。

C<sub>4</sub>群では感染後56日に剖検したところ、8匹中1匹に1コの虫嚢が認められたが、虫嚢内は壊死物質のみであった。なおこのラットから胸腔遊離虫体が1虫検出されたが、他のラットからは1虫も検出されなかつた。従つて虫体回収率は0.8%であつた。

D群(感染後30日からの治療開始群) :

D<sub>1</sub>群では感染後49~62日の間に剖検したところ、15匹中10匹から15コの虫嚢が見出されたが、虫嚢内より生存虫体が検出されたのは6匹で、虫嚢形成が認められなかつた2匹からは胸腔遊離虫体が検出された。従つて検出虫体数は虫嚢内6虫、胸腔遊離5虫、総計11虫(平均0.9虫)で、虫体回収率は4.9%であつた。

D<sub>2</sub>群では感染後62日に剖検したところ、9匹中8匹から14コの虫嚢が見出されたが、これらのうち生存虫体が検出されたのは1匹のみで、その他に胸腔遊離1虫が見出された。従つて検出虫体数は総計2虫(平均0.2虫)で、虫体回収率は1.5%であつた。

D<sub>4</sub>群では感染後49~56日の間に剖検したところ、9匹中6匹から7コの虫嚢が見出されたが、何れの虫嚢からも生存虫体は検出されなかつた。しかし、1匹の胸腔より遊離虫体虫が検出されたので、虫体回収率は0.7%であつた。

E群(感染後40日からの治療開始群) :

E<sub>1</sub>群では感染後60日に剖検したところ、10匹のラット全てから25コの虫嚢が見出されたが、何れからも生存虫体は検出されなかつた。従つて感染後40日より治療を開始した場合は、100mg/kg 投与で全てのラットに完全治癒が認められた。

b) Hetal 治療群 :

本群の治療成績については Table 3 に示した通りである。すなわち、治療開始時期は bithionol 治療群と同じく、感染後24時間、10日、20日、30日および40日であつたが、投与量は400mg/kg のみとした。

Ah 群では感染後56日に剖検したところ、12匹中3匹から4コの虫嚢が見出され、虫嚢内より生存虫体8虫が検出された。この他、虫嚢形成が認められなかつた3匹から胸腔遊離虫体3虫が見出された。従つて検出虫体数は虫嚢内8虫、胸腔遊離3虫、総計11虫(平均0.9虫)で、虫体回収率は6.1%であつた。

Bh 群では感染後53~56日の間に剖検したところ、生存虫体が検出されたのは25匹中3匹で、そのうち1匹からは1コの虫嚢が見出された。従つて検出虫体数は虫嚢内2虫、胸腔遊離2虫、総計4虫(平均0.2虫)で、虫体回収率は1.1%であつた。

Ch 群では感染後56~58日の間に剖検したところ、10匹の何れからも生存虫体は検出されず、虫嚢形成も認められなかつたが、2匹のラットの胸壁および横隔膜に約2mm大の白濁ミイラ化した虫体が認められた。

Dh 群では感染後49~56日の間に剖検したところ、9匹中7匹から12コの虫嚢が見出されたが、何れからも生存虫体は検出されなかつた。

Eh 群では感染後56日に剖検したところ、10匹から26コの虫嚢が見出されたが、何れからも生存虫体は検出されなかつた。

## 2. 検出虫体所見

対照群および治療群のラットより検出された虫体の固定染色標本について、その大きさの測定および形態学的な観察を行った。

### 1) 対照群 :

対照群の50匹のラットより得られた虫体は315虫であるが、このうち90虫について測定および観察を行った。ABCD の4群に分けて測定した結果は Table 4 に示した。

Table 4 Measurements of *Paragonimus ohirai* recovered during the period from 36 days to 64 days after infection

Group	Days from infection to autopsy	No. of worms examined	Body length (mm)	Body width (mm)	Ventral width (mm)	Sucker length (mm)	Oral sucker width (mm)
A	36-39	10	6.1±0.4	3.0±0.3	0.61±0.06	0.59±0.04	0.49±0.05
B	40-49	20	7.9±0.7	3.8±0.3	0.69±0.07	0.67±0.07	0.56±0.06
C	50-59	30	8.5±0.6	4.2±0.5	0.71±0.07	0.69±0.08	0.61±0.07
D	60-64	20	8.8±0.7	4.7±0.5	0.73±0.08	0.70±0.07	0.62±0.07

Table 5 Measurements of worms recovered from each group treated with bithionol or Hetol

Group	Days from infection to autopsy	No. of worms examined	Body length (mm)	Body width (mm)	Ventral sucker		Oral sucker width (mm)
					width	length	
A <sub>1</sub>	36	10	5.9±0.5	2.7±0.4	0.58±0.04	0.55±0.06	0.44±0.06
	45-51	20	6.9±0.8	3.3±0.4	0.66±0.06	0.63±0.05	0.53±0.04
A <sub>2</sub>	56-64	18	7.9±0.9	3.9±0.5	0.70±0.05	0.67±0.04	0.57±0.04
A <sub>3</sub>	49-46	10	7.1±0.4	3.4±0.3	0.67±0.06	0.64±0.05	0.53±0.05
A <sub>4</sub>	43-56	10	7.2±0.7	3.5±0.6	0.67±0.04	0.65±0.06	0.54±0.04
Ah	56	10	6.6±0.5	3.4±0.4	0.62±0.04	0.60±0.04	0.51±0.06
B <sub>1</sub>	36	19	5.5±0.8	2.4±0.4	0.55±0.04	0.52±0.04	0.42±0.03
	51	6	7.4±0.5	3.6±0.4	0.68±0.03	0.65±0.04	0.55±0.05
B <sub>2</sub>	58-61	9	7.6±0.6	3.5±0.4	0.69±0.05	0.66±0.06	0.56±0.04
B <sub>3</sub>	56	8	6.7±0.6	3.4±0.4	0.64±0.04	0.62±0.06	0.53±0.08
Bh	53-56	4	7.0±0.6	3.1±0.1	0.64±0.05	0.61±0.04	0.52±0.03
C <sub>1</sub>	45-61	3	6.6±0.8	3.2±0.5	0.64±0.06	0.62±0.08	0.52±0.04
C <sub>2</sub>	53-60	1	7.1	3.2	0.68	0.67	0.56
C <sub>4</sub>	56	1	5.8	3.2	0.60	0.57	0.52
D <sub>1</sub>	49-62	7	6.7±0.8	3.2±0.3	0.64±0.04	0.62±0.05	0.52±0.04
D <sub>2</sub>	62	2	7.3	3.4±0.1	0.69±0.01	0.67±0.01	0.54±0.05
D <sub>4</sub>	49-56	1	7.2	3.5	0.66	0.63	0.55

すなわち、A群(36~39日虫令)の10虫の平均値は、体長6.1±0.4mm、体幅3.0±0.3mm、口吸盤0.49±0.05mm、腹吸盤0.59±0.04×0.61±0.05mm、B群(40~49日虫令)の20虫の平均値は、体長7.9±0.7mm、体幅3.8±0.3mm、口吸盤0.56±0.06mm、腹吸盤0.67±0.07×0.69±0.07mm、C群(50~59日虫令)の30虫の平均値は、体長8.5±0.6mm、体幅4.2±0.5mm、口吸盤0.61±0.07mm、腹吸盤0.69±0.08×0.71±0.07mm、D群(60~64日虫令)の20虫の平均値は、体長8.8±0.7mm、体幅4.7±0.5mm、口吸盤0.62±0.07mm、腹吸盤0.70±0.07×0.73±0.08mmであつた。

以上の結果、ラット体内での大平肺吸虫は、日数の経過とともに、体長、体幅、口吸盤、腹吸盤の増大の傾向がみられたが、特にA群とB群の虫体とはかなり著明な差が認められた。

## 2) 治療群:

治療群より得られた虫体については、治療群毎に虫体の発育状況を観察、測定し、Table 5に示した。

虫体検出の成績の項では bithionol 治療群と Hetol 治療群とに分けて記載したが、ここでは両群について説明することにした。

### A群:

A<sub>1</sub> 群のうち36日虫体10虫の平均値は、体長5.9±0.5mm、体幅2.7±0.4mm、口吸盤0.44±0.06mm、腹吸盤0.58±0.04×0.55±0.06mmであつたが、同群の45~51日虫体20虫の平均値は、体長6.9±0.8mm、体幅3.3±0.4mm、口吸盤0.53±0.04mm、腹吸盤0.63±0.05×0.66±0.06mmであつた。

A<sub>2</sub> 群の18虫の平均値は、体長7.9±0.9mm、体幅3.9±0.5mm、口吸盤0.57±0.04mm、腹吸盤0.67±0.04×0.70±0.05mmであつた。

A<sub>3</sub> 群の10虫の平均値は、体長7.1±0.4mm、体幅3.4±0.3mm、口吸盤0.53±0.05mm、腹吸盤0.64±0.05×0.67±0.06mmであつた。

A<sub>4</sub> 群の10虫の平均値は、体長7.2±0.7mm、体幅3.5±0.6mm、口吸盤0.54±0.04mm、腹吸盤0.65±0.06×0.67±0.04mmであつた。

Ah 群の10虫の平均値は、体長6.6±0.5mm、体幅3.4±0.4mm、口吸盤0.51±0.06mm、腹吸盤0.60±0.04×0.62±0.04mmであつた。

以上の如く、bithionol および Hetol 投与の何れの群においても、ほぼ同時期の対照群に比べ、体長、体幅に有意の差が認められ、発育が抑制されていることが明らかとなつた。

なお顕微鏡的観察の結果、大多数の虫体には特に異常は認められなかったが、一部の虫体に認められた変化は次の如きであつた。

すなわち、A<sub>1</sub> 群のうちで、感染後51日目に腹腔から検出された虫体では生殖器官の発育が悪く、ことに卵巢のそれが悪く、卵黄巢の線維構造も不十分で、子宮の走行も短かく、子宮内には虫卵が認められなかった。また左の睾丸では分岐が必ずしも明瞭ではなく、未分化が推察された (Photo 2)。

これらの所見は明らかに前成熟期虫体に相当するものである。

Ah 群では、感染後56日目に胸腔から検出された虫体は、卵巢の分岐、卵黄巢の発育はほぼ正常であつたが、右睾丸における分岐はやや不完全であつた。また子宮の走行はほぼ正常であつたが、やや発育不良で、子宮腔内には内容空虚な変形した卵殻が数個認められた。(Photo 3)

#### B 群：

B<sub>1</sub> 群の36日虫体10虫の平均値は、体長 $5.5 \pm 0.8$ mm、体幅 $2.4 \pm 0.4$ mm、口吸盤 $0.42 \pm 0.03$ mm、腹吸盤 $0.52 \pm 0.04 \times 0.55 \pm 0.04$ mm、51日虫体6虫の平均値は、体長 $7.4 \pm 0.5$ mm、体幅 $3.6 \pm 0.4$ mm、口吸盤 $0.55 \pm 0.05$ mm、腹吸盤 $0.65 \pm 0.04 \times 0.68 \pm 0.03$ mm であつた。

B<sub>2</sub> 群の9虫の平均値は、体長 $7.6 \pm 0.6$ mm、体幅 $3.5 \pm 0.4$ mm、口吸盤 $0.56 \pm 0.04$ mm、腹吸盤 $0.66 \pm 0.06 \times 0.69 \pm 0.05$ mm であつた。

B<sub>3</sub> 群の8虫の平均値は、体長 $6.7 \pm 0.6$ mm、体幅 $3.4 \pm 0.4$ mm、口吸盤 $0.53 \pm 0.08$ mm、腹吸盤 $0.62 \pm 0.06 \times 0.64 \pm 0.04$ mm であつた。

Bh 群の4虫の平均値は、体長 $7.0 \pm 0.6$ mm、体幅 $3.1 \pm 0.1$ mm、口吸盤 $0.64 \pm 0.05$ mm、腹吸盤 $0.61 \pm 0.04 \times 0.52 \pm 0.03$ mm であつた。

以上の成績は、何れの群においても同時期の対照群に比べ、体長、体幅ともに小さく、発育が抑制されていることを示していると云えよう。

B<sub>1</sub> 群のうちで、感染後36日目に肝臓より検出された虫体では、生殖器官の発育は不全で、卵黄巢は両側とも腺様構造は不明で、卵巢は定型的な分岐を示さず、左右に数個の突起を出す程度で、子宮内に虫卵は認められず、未だ完全な成熟期に達していないことを示しているものと思われた。(Photo 4)

B<sub>2</sub> 群のうちで、感染後61日目に胸腔より得られた虫体では、卵巢の分岐や卵黄巢の発育はほぼ正常であつた

が、睾丸の突起はやや不完全で島状の配列をしていた。また子宮の走行は不明で、起始部には油滴状或いは大小不同の虫卵、卵内容のない変形非薄な卵殻などが認められた。(Photo 5, 6)

#### C 群：

C<sub>1</sub> 群の3虫の平均値は、体長 $6.6 \pm 0.8$ mm、体幅 $3.2 \pm 0.5$ mm、口吸盤 $0.52 \pm 0.04$ mm、腹吸盤 $0.62 \pm 0.08 \times 0.64 \pm 0.06$ mm であつた。

C<sub>2</sub> 群では、感染後56日目の虫体1虫のみで、体長7.1mm、体幅3.2mm、口吸盤0.52mm、腹吸盤 $0.57 \times 0.60$ mm であつた。

C<sub>4</sub> 群でも、感染後56日目の虫体1虫のみで、体長5.8mm、体幅3.2mm、口吸盤0.52mm、腹吸盤 $0.67 \times 0.68$ mm であつた。

以上の如く、何れの群においても同時期の対照群に比べ、体長、体幅は著しく小さかつた。顕微鏡的観察では、子宮内の虫卵数が少ない虫体もみられたが、形態学的にはほぼ正常であつた。

#### D 群：

D<sub>1</sub> 群の7虫の平均値は、体長 $6.7 \pm 0.8$ mm、体幅 $3.2 \pm 0.3$ mm、口吸盤 $0.52 \pm 0.04$ mm、腹吸盤 $0.62 \pm 0.05 \times 0.64 \pm 0.04$ mm であつた。

D<sub>2</sub> 群の2虫の平均値は、体長7.3mm、体幅 $3.4 \pm 0.1$ mm、口吸盤 $0.54 \pm 0.05$ mm、腹吸盤 $0.67 \pm 0.01 \times 0.69 \pm 0.01$ mm であつた。

D<sub>4</sub> 群では、感染後56日目の虫体1虫のみで、体長7.2mm、体幅3.5mm、口吸盤0.55mm、腹吸盤 $0.63 \times 0.66$ mm であつた。

以上の如く、何れの群においても、同時期の対照群に比べ、体長、体幅は著しく小さかつた。しかし顕微鏡的観察では、子宮内の虫卵数が少ないものもみられたが、他の生殖器官はほぼ正常であつた。

#### 3) 排卵状況について

本実験では対照群のラット20匹、治療群のラット245匹について、感染後36日或いは40日より糞便内排卵数 (EPD) を検査し、以後剖検時迄3日毎に行つた。対照群では、感染後40日の検便で19匹に、43日の検便で他の1匹にも排卵が認められ、以後急速に排卵数の増加が認められた。

なお以下に示した数字は、治療群では虫卵の検出された全てのラットの EPD の平均値、対照群では4匹ずつの平均値であり、A群の EPD のみで図示し、他は省略した。

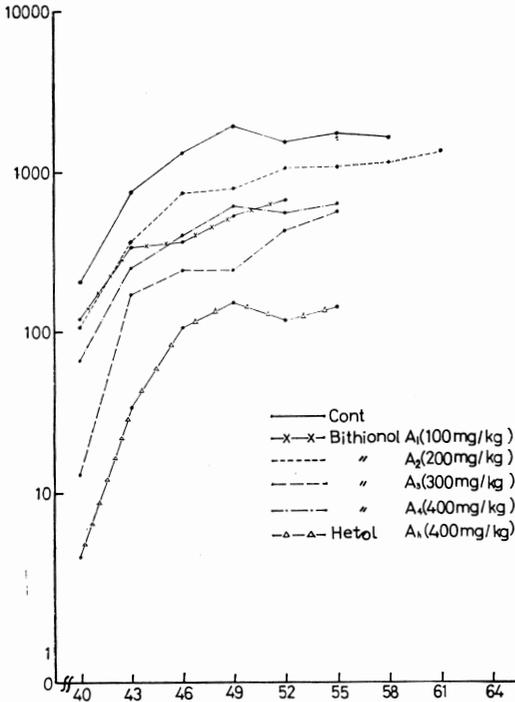


Fig. 4 Changes in mean number of EPD in group A. group A is given drug 24 hours after infection with *Paragonimus ohirai*

#### A 群：

Fig. 4 に示した如く、A<sub>1</sub> 群においては、虫嚢内より生存虫体が検出された10匹のラットのうち5匹では、感染後40~43日で排卵が認められたが、胸腔遊離虫体のみ検出された6匹では、2匹に排卵が認められたが、その時期は46~49日と多少遅く、EPD も20以下と極めて少なかった。

A<sub>2</sub> 群では、感染後40~43日ですべてのラットに排卵が認められたが、このうちの2匹では感染後55日および58日で虫卵が陰転した。

A<sub>3</sub> 群では、虫嚢内より生存虫体が検出された2匹のラットに感染後40日で排卵が認められたが、胸腔遊離虫体のみ検出された5匹では、1匹のみに感染後49日で排卵が認められた。

A<sub>4</sub> 群では、虫嚢内より生存虫体が検出された7匹のラットに感染後40~43日で排卵が認められたが、胸腔遊離虫体のみ検出された5匹では排卵が認められなかった。

A<sub>h</sub> 群では、虫嚢より生存虫体が検出された3匹のラ

ットに感染後40~43日で排卵が認められたが、胸腔遊離虫体のみ検出された3匹では排卵が認められなかった。

なお Fig. 4 から明らかな如く、治療群では排卵の認められたものでも、排卵開始時の EPD は対照群に比べ何れも少なく、特に bithionol の投与量の増大に反比例して EPD が少なくなっていることが注目される。

#### B 群：

B<sub>1</sub> 群では、13匹中10匹は感染後36日に剖検したので排卵は認められなかったが、胸腔遊離虫体のみ検出された3匹のうち、1匹に感染後51日で EPD 13と極めて少数の排卵が認められた。

B<sub>2</sub> 群では、15匹中虫嚢内より生存虫体の検出されたのは6匹で、これらは何れも感染後46~49日の間に排卵が認められた。しかし、EPD は対照に比し著しく少なかった。

B<sub>3</sub> 群では、虫嚢内より生存虫体が検出されたのは8匹中2匹で、感染後46~49日の間に排卵が認められたが、胸腔遊離虫体のみ検出された1匹では排卵が認められなかった。

B<sub>4</sub> 群では、10匹中1匹のみに壊死物質のみを含む虫嚢形成が認められ、このラットでは感染後48日で少数の排卵が認められたが、感染後52日で陰転した。

B<sub>h</sub> 群では、25匹中虫嚢内より生存虫体が検出されたのは1匹のみで、このラットからは感染後46日で少数の排卵が認められた。しかし、胸腔遊離虫体のみ検出された2匹では排卵が認められなかった。

#### C 群：

C<sub>1</sub> 群では、虫嚢形成が認められたのは14匹中4匹で、感染後43~46日の間で排卵が認められたが、排卵開始時の虫卵数は僅か数個にすぎず、その後多少の増加は認められたが、対照群に比べ著しく少なかった。なお胸腔遊離虫体のみ検出された1匹では排卵が認められなかった。

C<sub>2</sub> 群、C<sub>4</sub> 群および C<sub>h</sub> 群では肺に虫嚢形成が認められたものはなく、従って排卵も認められなかった。

#### D 群：

D<sub>1</sub> 群では、15匹中10匹に感染後40~43日の間で排卵が認められたが、このうちの6匹では感染後46~55日の間で虫卵の消失が認められた。他の4匹では排卵が剖検時迄引続き認められたが、対照群に比べ漸減する傾向がみられた。

D<sub>2</sub> 群では、9匹中8匹に感染後40~43日の間で排卵

が認められたが、このうちの7匹では感染後46~55日の間で虫卵の消失が認められ、他の1匹でもその後急激な減少が認められた。

D<sub>4</sub> 群では、8匹中5匹に感染後40日で排卵が認められたが、何れも感染後43~49日の間で虫卵の消失が認められた。

Dh 群では、9匹中5匹に感染後40日で排卵が認められたが、何れも感染後43~49日の間で虫卵の消失が認められた。

本群において特に注目すべき点は、排卵開始時のEPDは何れも対照群のそれに比べ著しい差は認められなかったが、何れも短時日の間に急激に減少し、D<sub>4</sub> 群や Dh 群では9日後に陰転していることである。

E 群：

E<sub>1</sub> 群では、治療開始時には既に10匹の全てのラットに排卵が認められていたが、治開始後一時的に虫卵の上昇を認めたが、その後急激に減少し、感染後52~58日の間に陰転した。

Eh 群でも、治療開始時には既に10匹の全てのラットに排卵が認められていた。治療開始後一時的に虫卵の上昇がみられたが、その後急激に減少し、感染後46~55日の間に陰転した。

#### 4. 免疫電気泳動および Ouchterlony 法の成績

A-E の治療群および治療しなかつた対照群のラットについて、感染後1週より8週迄の血清中の抗体産生状況を、免疫電気泳動および Ouchterlony 法により観察した。この際、同一のラットから毎週1回ずつ採血するのは困難なので、奇数週のみ採血の群と偶数週のみ採血の群とに分けて実施した。

なお Ouchterlony 法の成績は免疫電気泳動の成績とほぼ同じだったので省略した。

対照群においては、感染後1週で5匹中3匹に1~2本の沈降線が抗原孔より陽極側に認められ、2週以降では全てのラットに3~11本の沈降線が認められ、感染後5週以降ではほぼ同じ泳動像がみられた。(Photo 7)

治療群においては、A 群の bithionol 治療群では、感染後2週以降に全てのラットで2~8本の沈降線が認められた。すなわち、A<sub>2</sub> 群では3~7本、A<sub>3</sub> 群では2~8本、A<sub>4</sub> 群では2~8本の沈降線が認められた。

なお Photo 8 に示した如く、治療後間もなく沈降線の減少が認められたものもあつたが、感染後8週迄に沈降線の消失した例はなかつた。

また Ah 群でも、12匹全てのラットに感染後2週以

降では2~8本の沈降線が認められたが、剖検時に虫体の検出されなかつた6匹のうち2匹では既に沈降線の消失が認められた。すなわち、感染後3週で2本および3本認められたものが感染後7週でともに消失した。

B 群においては、感染後2週以降に全てのラットに2~8本の沈降線が認められた。

B<sub>1</sub> 群および B<sub>2</sub> 群では Photo 9 に示した如く、治療後剖検時迄に沈降線の減少したものはあるが、消失した例はなかつた。

B<sub>3</sub> 群では、8匹中1匹に感染後2週で4本認められた沈降線が8週で消失した。

B<sub>4</sub> 群では、10匹中2匹に感染後7週および8週でそれぞれ沈降線の消失が認められた。

Bh 群では、25匹中1匹に感染後8週で沈降線の消失が認められた。

C 群においては、感染後2週以降に全てのラットに2~9本の沈降線が認められたが、剖検時迄に沈降線の消失が認められたものはなかつた。ただ C<sub>4</sub> 群の1匹に感染後8週で沈降線の著しい減少がみられた。

Ch 群では、10匹中1匹に感染後8週で沈降線の消失が認められた。(Photo 10)

D 群および E 群においては、感染後3週以降に全てのラットに3~10本の沈降線が認められたが、bithionol 投与群、Hetol 投与群とも感染後8週では著明な沈降線の減少は認められなかつた。

## 考 察

従来、肺吸虫症の治療にはウエステルマン肺吸虫感染の犬或いは猫が用いられてきたが、治療剤のスクリーニング等のため多数の動物を一度に使用するには、犬および猫は必ずしも適当ではなかつた。ところが Yokogawa *et al.* (1961) はウエステルマン肺吸虫の代りに大平肺吸虫感染ラットを用いて、bithionol による治療実験を試み、本剤が大平肺吸虫感染に対してもすぐれた治療効果のあることを明らかにした。同時に、対照さえ確実に用いれば、有効薬剤のスクリーニングには大平肺吸虫感染ラットを用いるのが便利であると報じた。

さらに原田(1964)は、大平肺吸虫感染ラットに対し、bithionol の他にこれ迄の既知の薬剤である塩酸エメチン、Pararosaniline 等を用いて治療実験を行い、bithionol が肺吸虫に対し最も効果のあることを再確認した。しかし、大平肺吸虫の寿命は比較的短かく、感染後3カ月以降になると自然死をきたす虫体が増加してくる

ので、治療実験は感染後65日迄の間に行うのが適当であると見た。

そこで著者の今回の実験においても、治療効果の判定は感染後65日以内に出来るようにあらかじめ実験計画を設定しておいた。

Hetol は前述の如く Lämmler (1960) により、肝蛭および槍型吸虫に著効のあることが報告された薬剤であり、横川ら (1965) は動物および人肝吸虫症に対し極めてすぐれた治療効果が認められたと報告した。Chung *et al.* (1965a. b) は肝吸虫症だけでなく、ウエステルマン肺吸虫および *Paragonimus szechuanensis* に対しても著効のあることを報告した。横川ら (1967) もウエステルマン肺吸虫感染の猫および犬、大平肺吸虫感染の犬およびラットに種々の量の Hetol を用いて治療を行い、本剤の肺吸虫症に対する治療効果を検討した結果、本剤は両種肺吸虫症に対し著効のあることを報告した。

すなわち、犬および猫肺吸虫症には300mg/kg 連日5回投与で、ラット肺吸虫症には400mg/kg 連日10回投与で極めてすぐれた治療効果のあることを明らかにした。

以上の如く、bithionol および Hetol は肺吸虫症に対してすぐれた治療効果を有することが明らかとなつたが、これらの実験は全て成熟虫体に対する効果であつて、幼若虫体に対する効果についての検討は殆んどなされていない。Yokogawa *et al.* (1961) は大平肺吸虫幼虫に、Kang *et al.* (1963) はウエステルマン肺吸虫幼虫に対し bithionol が有効であると報告しているが、Waitz *et al.* (1964) は胸腔および腹腔遊離のケリコト肺吸虫幼虫に対しては bithionol の効果が認められないと報告している。

しかしこれらの成績は、治療開始の時期および薬剤投与量が異つているので比較することは困難であろう。

特に肺吸虫の場合は経口感染後、胸腔に達し肺に侵入する迄には複雑な体内移行を行うので、治療効果は開始の時期と密接な関係があると思われる。

大平肺吸虫の終宿主体内移行経路については宮崎 (1946)、富田 (1963)、大倉 (1963a. b) によつて報告されているが、大倉によれば、メクセルカリアは小腸で脱囊し、直ちに腸管壁を穿通して腹腔へ移行し、10日頃には肝臓に移行するが、14日頃からはさらに胸腔へ移行し、20日を経過すると肺へ侵入を始め、35日頃には発育を完了するといふ。

そこで著者は bithionol および Hetol の両種薬剤が腹腔遊離、肝臓侵入、胸腔遊離および肺の虫嚢内寄生の

各時期の虫体に対して有効であるか否かを検討してみた。その結果は以下の如くであつた。

#### 虫体回収率について

A群は感染後24時間に治療を開始した群で、腹腔遊離の時期の幼虫に対する治療効果をみたものであるが、この場合の虫体回収率はA<sub>1</sub>群、A<sub>2</sub>群、A<sub>3</sub>群およびA<sub>4</sub>群でそれぞれ30.4%、30.3%、18.1%および16.1%で、A<sub>1</sub>群、A<sub>2</sub>群とA<sub>3</sub>群、A<sub>4</sub>群、すなわち、bithionol 200mg/kg 以下の投与群と300mg/kg 以上の投与群の虫体回収率は5%の危険率で有意差が認められた。

またA<sub>1</sub>群およびA<sub>2</sub>群の虫体回収率30.4%および30.3%も対照群の42.0%と比較されば有意の差が認められているので、bithionol は極めて初期の幼弱虫体に対しても、投与量の増加に比例してその効果が増大することを示していると言えよう。

なおHetol 投与群では、虫体回収率は6.1%とさらに低率であり、bithionol よりすぐれた治療効果が認められた。

感染後10日より治療を開始したB群では、B<sub>1</sub>群、B<sub>2</sub>群、B<sub>3</sub>群およびB<sub>4</sub>群でそれぞれ9.2%、7.6%、6.7%および0であり、前者よりはさらに著明な治療効果が認められた。またHetol 投与群の虫体回収率は僅かに1.1%で、bithionol 400mg/kg 投与群のそれと殆んど差は認められなかつた。

感染後20日より治療を開始したC群では、bithionol 100mg/kg 投与のC<sub>1</sub>群でも虫体回収率は3.8%で、投与量の増加とともに虫体回収率はさらに低下している。Hetol 投与群では虫体は全く検出されず完全治療が得られた。

感染後30日に治療を開始したD群では、虫体回収率はD<sub>1</sub>群、D<sub>2</sub>群、D<sub>4</sub>群およびD<sub>h</sub>群でそれぞれ4.0%、1.5%、0.7%および0%と前群と同じ傾向が示されている。

ところが、感染後40日に治療を開始したE群では、bithionol 100mg/kg 投与のE<sub>1</sub>群でもE<sub>h</sub>群とともに完全治癒が認められた。

以上の成績からも明らかな如く、10日間隔で各時期の虫体に対する薬剤の治療効果を検討した結果、A群で最も低く、ついてB群となり、C群とD群の間には殆んど差はなく、E群で最も良かったことは、発育期或いは寄生部位による効果の差異を示したもので極めて興味深い。

#### 検出虫体所見について

虫体の測定値は対照群においては、感染後36～64日の間では日数の経過とともに増大する傾向がみられたが、治療群では同時期の対照群に比べ何れも発育の遅延が認められた。この現象は特に感染初期に治療を開始した群において著しかった。すなわち、感染後24時間に治療を始めたA群では、bithionol および Hetol 投与群とも虫体の測定値は同時期の対照群に比べて著しく小さく、検出虫体の一部に子宮内の虫卵変性または空虚化がみられ、薬剤による治療効果が認められた。

例えば A<sub>1</sub> 群のうち、感染後51日に腹腔より検出された虫体では、卵巣、卵黄巣、子宮、睾丸等の発育が不全であり、明らかに前成熟期に相当する形態を呈しており、対照群では感染後35日以降のものは腹腔遊離虫体でも既に成熟しているのに比べて著しい相違である。

感染後10日に治療を始めたB群においても、虫体測定値は同時期の対照群に比べ明らかに小さく、一部の虫体では子宮内の虫卵変性、または空虚化がみられ、ラット体内移行の遅延も認められた。

すなわち、B<sub>1</sub> 群で感染後36日に剖検した場合、虫嚢形成が認められたものはなく、検出虫体数の33.3%が胸腔、50.0%が腹腔、16.7%が肝臓実質より見出され、虫体の発育阻害が著しいことが明らかにされている。

感染後20日および30日に治療を開始したC群およびD群においては、bithionol 投与群でも、虫体測定値は同時期の対照群に比べ小さかったが、特にD群では一部の虫体で子宮内に変性卵、油滴状の顆粒或いは空虚化が認められた。

このことは、感染後30日では既に生殖器は殆んど成熟に近い状態にあるため、これらに対する薬剤の破壊作用に基づく変化とみなすべきであろう。

#### 排卵数の変動について

肺吸虫感染動物の糞便内虫卵の排卵数については多数の報告がなされているが、肺吸虫の種類、宿主の種類、寄生数、集卵法等により必ずしも一致していない。治療剤投与後の糞便内への排卵状況については、既に諸家により報告されているが、Yokogawa *et al.* (1961) はウエステルマン肺吸虫感染犬および大平肺吸虫感染ラットに bithionol を投与した場合、産卵数は短期間内に減少することを明らかにした。原田 (1964) も大平肺吸虫感染ラットに bithionol を投与した場合、3～4回の投薬により確実に産卵数を低下せしめることが出来たと報告している。

以上の如く、虫体が成熟し糞便内に虫卵が検出されて

から薬剤を投与した場合には、排卵数の減少状況から薬剤の効果判定することが可能である。

しかし感染初期に治療を行つた場合は、虫体の発育障害により排卵開始が遅延したり、或いは虫体が成熟前に死滅した場合には、糞便内に虫卵は排出されないであろう。またたとえ生存虫体が成熟していても遊離の状態に寄生していた場合には、糞便内に虫卵が排出されないことがあることも充分考慮すべきであろう。

本実験では、A群においては、bithionol 投与群および Hetol 投与群とも剖検時に虫嚢内より生存虫体が検出されたラットでは、対照群と同様に感染後40～43日の間で排卵が認められた。しかし治療群では生存虫体数が対照群に比べ少なく、ことに A<sub>3</sub> 群、A<sub>4</sub> 群および A<sub>h</sub> 群では排卵の認められないラットが対照群に比べて多く、薬剤による効果が認められた。

B群においては bithionol 投与群および Hetol 投与群とも排卵の認められないラットが増加し、剖検時に虫嚢内より生存虫体が検出されたラットの排卵もやや遅延の傾向がみられ、明らかに薬剤による治療効果が認められた。

C群においては、排卵の認められないラットがさらに増加したが、これは虫体が成熟前に死滅したためであろう。

なおD群およびE群においては、Yokogawa *et al.* (1961)、原田 (1964) の報告と同様に比較的早い時期に虫卵の減少、消失が認められた。

#### 電気泳動の成績について

近年、寄生虫学の領域における免疫血清学的研究は著しく進歩し、各種の方法が診断その他に広く応用されているが、ことに免疫電気泳動および Ouchterlony は免疫学的に種の鑑別にも役立つことが報告されている。肺吸虫に関しては、横川ら (1965, 1974)、Yogore ら (1965)、辻ら (1968)、片峰、今井 (1967)、多田 (1968) 等が感染動物或いは患者血清について検討し、その結果を報告している。

特に片峰、今井 (1967) は、肺吸虫症患者20例について Ouchterlony 法、免疫電気泳動法を用いて治療後の経過を観察し、Ouchterlony による追求で、20例中15例が治療後2～5カ月で沈降線が消失することを明らかにしている。なお免疫電気泳動でも日数の経過とともに沈降線の減少、消失することを認め、本症の治癒判定法として用いることを示唆している。

また辻ら (1968) は免疫電気泳動によりウエステルマン

肺吸虫、宮崎肺吸虫、大平肺吸虫の3種肺吸虫の沈降線の出現時期を検討し、ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫では感染後3週で、大平肺吸虫では感染後1週で2~3本の沈降線が証明されたと報告している。

著者の行った今回の実験でも、対照群では感染後1週で半数以上のラットに沈降線が認められ、感染後2~8週の間で全てのラットに沈降線が認められ、感染後5週以降では沈降線の数および泳動像に殆んど差はみられなかった。これはラット体内での大平肺吸虫の成熟と考え合わせて当然であろう。

従つて、大平肺吸虫においてはラットを剖検しなくても、感染後2週より経時的に採血して得られた血清について免疫電気泳動を行えば、沈降線の出現の有無およびその泳動像により、充分感染の成立を証明することが出来るということが明らかにされた。特に幼虫期の治療を行う場合には、免疫学的に感染したことを証明してから薬剤による治療効果を判定することが必要と思われる。

A群においては、bithionol 投与群では治療後も免疫電気泳動による沈降線の消失はみられなかったが、Hetol 投与群では生存虫体の検出されなかつた6匹のラット中2匹に沈降線の消失がみられたことは甚だ興味深い。

B群およびC群の場合にも、感染後7週或いは8週で沈降線の消失がみられたことは、大平肺吸虫の幼虫期に薬剤が有効に作用して虫体が死滅した場合には、早いものでは治療後1カ月以内で沈降線が消失することを示しているものと思われる。しかし著者の行った実験では、大平肺吸虫のラット体内での自然死を考慮し、剖検日をメタセルカリア投与後65日以内としたのでその後の消失状況は追求出来なかつたが、さらに日を追つて観察すれば次第に減少し消失するものと思われ、本法が治癒判定にも役立つものと考えられる。

### ま と め

大平肺吸虫メタセルカリアを15コ宛ラットに経口投与し、感染後24時間、10日、20日、30日および40日よりbithionol 100mg/kg~400mg/kgの各種投与量で隔日10回、或いはHetol 400mg/kgで連日10回投与を行い、大平肺吸虫の幼虫および成虫に対する効果を比較検討した。

すなわち、対照群50匹、治療群245匹について感染後36~64日に剖検を行い、剖検所見、検出虫体数(虫体回収率)、検出虫体所見、免疫学的所見および糞便検査よりその効果を判定し、以下の如き結果が得られた。

1. 感染後24時間より治療を開始した群の虫体回収率は、bithionol 投与群では100mg/kg, 200mg/kg, 300mg/kg および400mg/kg 投与群でそれぞれ30.4%, 30.3%, 19.1%および16.1%であり、幼虫期に対しても投与量の増加とともにその効果が上昇することが明らかにされた。

Hetol 投与群では6.1%と bithionol 投与群よりさらに効果のあることが明らかにされた。

2. 感染後10日より治療を開始した場合には、bithionol 投与群および Hetol 投与群とも虫体回収率が10%以下であり、感染直後に治療したものに比べさらに著しい治療効果が認められた。

3. 感染後20日より治療を開始した場合には、bithionol 投与群では虫体の回収率が3.8%以下で、前群に比べてさらに著しい効果が認められた。しかし感染後30日より治療を開始した場合でも、虫体回収率は4.9%以下と感染後20日より開始の本群のそれと殆んど同程度を示していた。

このことは感染後20~30日の虫体は、前成熟期に属し、両者間に薬剤に対する抵抗性に著しい差のないことを示しているものと思われる。

4. 感染後40日より治療を開始した群、すなわち成熟虫体に対しての治療ではこれまでの報告通り、bithionol 100mg/kg で完全治癒が認められた。

5. 感染後24時間、10日、20日より治療を開始した場合には、検出された虫体の一部に發育抑制作用ならびに卵巣、子宮、睪丸、卵黄巣のような生殖器官に障害作用がみられ、感染後30日より治療した場合には、検出された虫体の子宮に対してこの傾向が強かつた。

6. 免疫電気泳動による沈降線の出現、減少、消失状況から、免疫血清学的にメタセルカリア投与後1~2週の早期に感染の有無を判定し得るとともに、薬剤の治療効果の判定にも応用し得ることが明らかとなつた。

稿を終るにあたり、終始御指導、御校閲を賜つた横川宗雄教授に深謝の意を表しますとともに、種々御教示賜つた佐野基人助教授、小島莊明講師、金沢大学吉村裕之教授に厚く感謝致します。また様々の御助力を頂いた教職員各位に深く御礼申し上げます。

### 文 献

- 1) Chung, H. L., Hsu, C. P., Ts'ao, W. C., Ko, H. Y., Kuo, C. H., Hsu, H. C., Li, P. S., Cheng, S., Chang, H. Y., Yuan, C. T. and Chang, Y. C. (1965a): Hexachloropara-

- xylool in treatment of *Chlonorchis sinensis* in animal and man. *Chini. Med. J.*, 84, 232-247.
- 2) Chung, H. L., Ko, H. Y., Ts'ao, W. C. and Hsü, C. P. (1965b) : Hexachloroparaxylool as a new remedy for curing paragonimiasis in cat and man. *Chini. Med. J.*, 84, 756-759.
  - 3) 原田豊(1964) : 肺吸虫症の化学療法に関する研究. 大平肺吸虫による肺吸虫症治療薬剤の効果判定に対する研究. *寄生虫誌*, 13, 163-180.
  - 4) 池田正賢(1915) : 肺二口虫病に対する塩酸エメチンの治験報告. *中外医事新報*, 850, 1948-1958.
  - 5) Kang, S. Y., Loh, I. Y., Ham, E. K. and Chyu, I. (1963) : An Experimental Study on Chemoprophylaxis in Paragonimiasis. *Kor. Med. J.*, 6, 833-840.
  - 6) 片峰大助, 今井淳一(1967) : 肺吸虫症の治療経過と Gel 内沈降反応. *寄生虫誌*, 16, 254-255.
  - 7) Lämmler, G. (1960) : Chemotherapeutische Untersuchungen mit Hetol, einem neuen hochwirksamen Leberegelmittel. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 67, 408-413.
  - 8) 宮崎一郎(1946) : 大平肺吸虫とウエステルマン肺吸虫との白鼠体内における発育比較. *医学と生物学*, 9, 221-222.
  - 9) 大倉俊彦(1963a) : 大平肺吸虫の終宿主体内における発育に関する研究. 第1篇. ラット体内における移行経路について. *寄生虫誌*, 12, 57-67.
  - 10) 大倉俊彦(1963b) : 大平肺吸虫の終宿主体内における発育に関する研究. 第2篇. ラット体内における発育について. *寄生虫誌*, 12, 99-118.
  - 11) 多田功(1968) : 宮崎肺吸虫感染ダイコクネズミ血清ならびに感作血清の免疫電気泳動像. *鹿大医誌*, 19, 816-821.
  - 12) 富田千戴(1956) : 大平肺吸虫に関する実験的研究. *福岡医誌*, 47, 462-487.
  - 13) 辻守康, 横川宗雄, A. Capron (1968) : 肺吸虫感染動物血清における免疫電気泳動像について. *寄生虫誌*, 17, 596.
  - 14) 辻守康(1968) : 免疫電気泳動法による寄生虫学領域の研究. *医学のあゆみ*, 67, 531-536.
  - 15) Waitz, J. A., McClay, P. and Thompson, P. E. (1964) : Effect of Bithionol against *Paragonimus kellicotti* in Rats. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 13, 584-588.
  - 16) Wang, C. H., Liu, J., Chang, T. F. and Miao, H. C. (1964) : The clinical manifestations and bithionol therapy of paragonimiasis in Szechuan province. *Chini. Med. J.*, 83, 163-170.
  - 17) Yogore, M. G., Lewert, R. M. and Madraso, E. D. (1965) : Immunodiffusion studies on paragonimiasis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 14, 586-591.
  - 18) Yokogawa, M., Yoshimura, H., Sano, M., Okura, T., Tsuji, M., Takizawa, A., Harada, Y. and Kihata, M. (1961) : Chemotherapy of paragonimiasis with Bithionol I. Experimental chemotherapy on the animals infected with *Paragonimus westermani* or *P. ohirai*. *Jap. J. Parasit.*, 10, 302-316.
  - 19) 横川宗雄, 小山博尊, 吉村裕之, 蔡昭雄(1965) : 肝吸虫症の実験的治療 (I) 1,4-bis-trichloromethylbenzol の動物肝吸虫症に対する治療効果. *寄生虫誌*, 14, 233-242.
  - 20) Yokogawa, M., Tsuji, M., Araki, K., Nomoto, T., Matsumot, M., Koyama, M., Yoshida, R., Fukuchi, S., Hiratsuka, A. and Kitamura, M. (1965) : Chemotherapy of *Clonorchis sinensis* II. Clinical observations on the treatment of clonorchiasis patients with 1,4-bis-trichloromethylbenzol. *Jap. J. Parasit.*, 14, 526-533.
  - 21) 横川宗雄, 辻守康(1965) : 肺吸虫症の免疫反応について. *寄生虫誌*, 14, 309-310.
  - 22) 横川宗雄, 吉村裕之, 荒木国興, 吉田哲夫, 古沢明(1967) : 1,4-bis-trichloromethylbenzol (Hetol) による肺吸虫症の実験的治療. *寄生虫誌*, 16, 253-254.
  - 23) 横川宗雄, 荒木国興, 齊藤祺一, 百瀬達也, 木村満, 鈴木昭次, 千葉直彦, 久津見晴彦, 葉袋勝(1974) : 最近関東地区に多発した宮崎肺吸虫症について一特に免疫血清学的診断法について. *寄生虫誌*, 23, 4, 167-179.

**Abstract**

STUDIES ON EXPERIMENTAL CHEMOTHERAPY OF PARAGONIMIASIS  
THERAPEUTIC EFFECTS OF BITHIONOL AND 1, 4-BIS-TRICHLORO-  
METHYLBENZOL (HETOL) AGAINST VARIOUS STAGES OF  
DEVELOPMENT OF *PARAGONIMUS OHIRAI* IN RATS

KUNIOKI ARAKI

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

A series of experimental studies on the chemotherapeutic effect of bithionol and Hetol against various developmental stages of *Paragonimus ohirai* in rats was conducted. Before therapeutic experiments 15 metacercariae of *P. ohirai* were given orally to each of 245 rats. These rats were divided into 5 groups according to the times of treatment after infection and each group was treated from 24 hours, 10 days, 20 days, 30 days and 40 days after infection, respectively. Each group was divided further into 4 sub groups consisting of 8-25 rats and given 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg and 400 mg/kg of bithionol every other day for 10 times, respectively. Rats treated with Hetol were also divided into 5 groups as same as those treated with bithionol and each group was given a daily dose of 400 mg/kg of Hetol for 10 days. The evaluation of the effect of drugs was based on the findings of parasitological, pathological and immunological examinations. Results were summarized as follows ;

1. The recovery rates in the groups which were given 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg and 400 mg/kg of bithionol from 24 hours after infections were 30.4%, 30.3%, 11.8% and 16.1% respectively. The difference between the recovery rates in the groups given less than 200 mg/kg and more than 300 mg/kg was found to be statistically significant.

2. In groups given 100 mg/kg—400 mg/kg of bithionol and 400 mg/kg of Hetol from 10 days after infection, the recovery rates were all less than 10%. It is shown that the both drugs are more effective in this group than in the former group.

3. In groups treated from 20 days, 30 days and 40 days after infection, the recovery rates were all less than 5%. It is clearly shown that the both drugs are more effective against the adult stages than pre-adult stage. In the groups treated with Hetol no alive worm was detected.

4. In groups treated with bithionol or Hetol from 24 hours, 10 days and 20 days after infection, some of worms found at autopsy showed the retardation or inhibition of the development of the reproductive organs such as ovary, uterus, testis and vitelline glands. Deformed or degenerated eggs were sometimes seen in the uterus.

5. In groups treated with bithionol or Hetol from 30 days and 40 days after infection, some of worms found at autopsy showed not only the retardation or inhibition of the development of the reproductive organs but also degenerative changes of them.

6. Immuno-serologically, it is clearly shown that 1-2 precipitin bands first appeared at 1 to 2 week after infection and the number of precipitin bands increased to 5-9 within 8 weeks after infection. It is also shown that the double diffusion technique (Ouchterlony-test) and immunoelectrophoresis can be used for the evaluation of the efficacy of drugs against *P. ohirai* in rats.

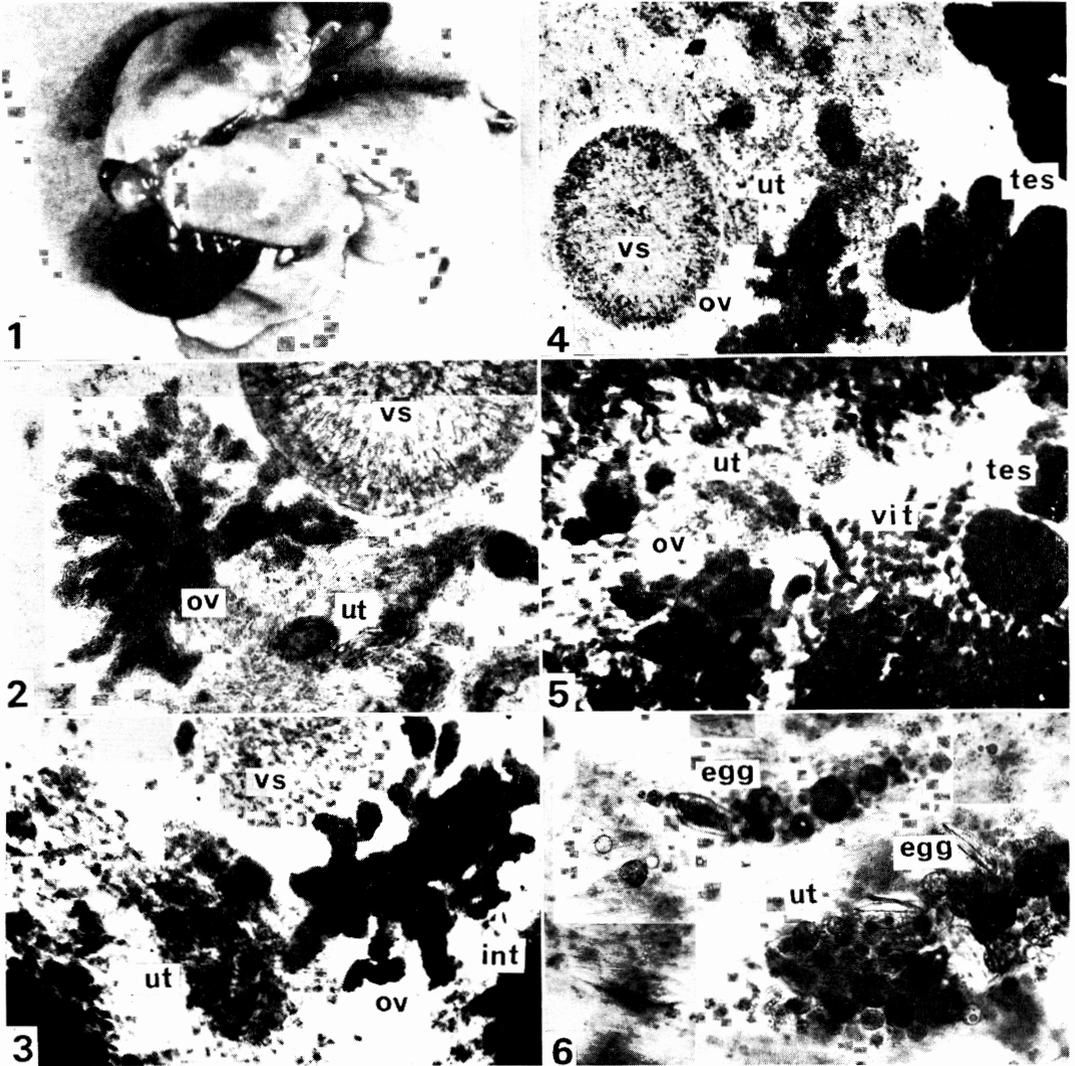


Plate I Parasitological findings

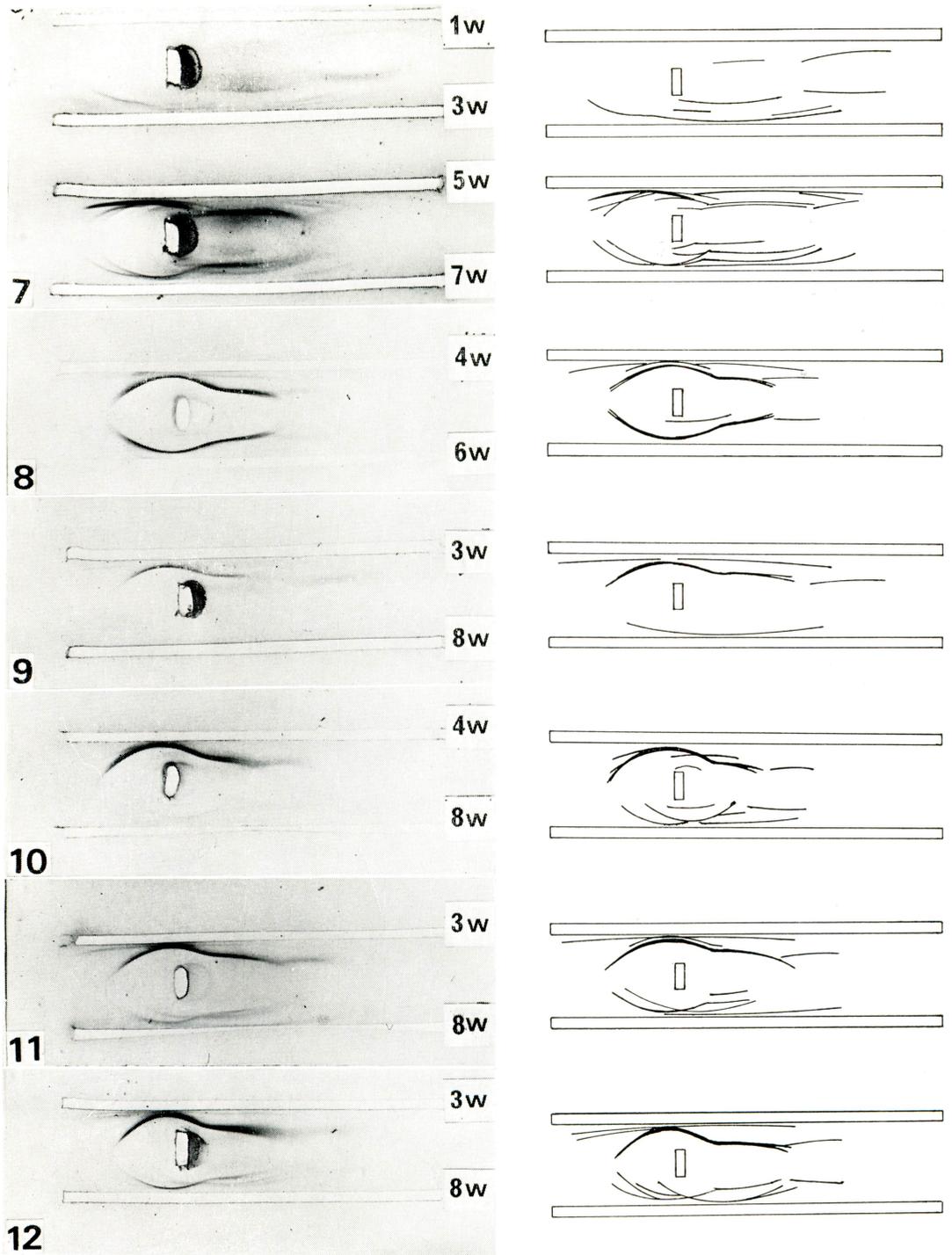


Plate II Immunological findings

### Explanation of Photographs

#### Plate I

- Photo 1 Two mummified worms (arrow) on the surface of lung of rat treated with bithionol (200mg/kg  $\times$  10 every other day) from 20 days after infection; Autopsied at 56 days after infection.
- Photo 2 A worm found in abdominal cavity of rat treated with bithionol (100mg/kg  $\times$  10 every other day) from 24 hours after infection. Ovary is somewhat underdeveloped and no egg recognized in the uterus cavity.
- Photo 3 A worm found in pleural cavity of rat treated with 1,4-bis-trichloromethylbenzol (400 mg/kg  $\times$  10 days) from 24 hours after infection; Autopsied at 56 days after infection. Note the granular globules in the uterus but no egg shell formation.
- Photo 4 A worm found in the surface of liver of rat treated with bithionol (100mg/kg  $\times$  10 every other day) from 10 days after infection; Autopsied at 36 days after infection. Note the marked retardation of the development of ovary and uterus. No egg is recognized in the uterus cavity.
- Photo 5 A worm from the worm-cyst of the lung of rat treated with bithionol (200mg/kg  $\times$  10 every other day) from 10 days after infection; Autopsied at 61 days after infection; Ovary, testis and vitelline glands are well developed but uterus somewhat underdeveloped.
- Photo 6 An enlargement of Photo 5. Note deformed eggs and droplet or globular ovum with the various size in the uterus.

#### Plate II

- Photo 7 Immuno-electrophoretic pattern of the serum of rat infected with *Paragonimus ohirai*. The increase of precipitin bands was revealed 5 weeks after infection. Five worms were found at autopsy.
- Photo 8 Immuno-electrophoretic pattern of the serum of rat treated with bithionol 400mg/kg from 24 hours after infection. The same precipitin bands were revealed with the serum of 4 weeks and 6 weeks after infection. Two alive worms were found at autopsy.
- Photo 9 Immuno-electrophoretic pattern of the serum of rat treated with bithionol 200mg/kg from 10 days after infection. Precipitin bands decreased with the serum of 8 weeks after infection. No worm was found at autopsy.
- Photo 10 Immuno-electrophoretic pattern of the serum of rat treated with 1,4-bis-trichloromethylbenzol 400mg/kg from 20 days after infection. Precipitin bands decreased with serum of 8 weeks after infection. No worm was found at autopsy.
- Photo 11 Immuno-electrophoretic pattern of the serum of rat treated with bithionol 200mg/kg from 30 days after infection. The decrease of precipitin band revealed by the serum of 7 weeks after infection. No worm was found at autopsy.
- Photo 12 Immuno-electrophoretic pattern of the serum of rat treated with Bithionol 100mg/kg from 40 days after infection. The decrease of precipitin band revealed by the serum of 8 weeks after infection. No worm was found at autopsy.

int: Intetine, ov: Ovary, tes: Testis, ut: Uterus, vs: Ventrsl sucker.