

肝蛭感染ウサギの血液性状ならびに免疫

学的抗体価の推移

—特に体内移行との関係—

第1報 感染後の血液学的諸性状の推移

赤 羽 啓 栄

信州大学医学部寄生虫学教室

(昭和50年9月1日 受領)

肝蛭の感染実験はウシ、ヤギ、ヒツジ、ウサギなどについてかなり報告されており、特にウサギは感染実験が容易なことから極めて好都合な実験動物といえる。著者はウサギが小型なため、メタセルカリア20個以上の感染では70日以内にいずれも急性肝蛭症で死亡し、10個以下の感染では急性肝蛭症による死亡例がなかつた点に着目し重感染群、軽感染群、対照群にわけて感染実験を試みた。その結果検討した血液性状、寒天ゲル内沈降反応、補体結合反応はいずれも虫体の体内移行と結びついて推移する興味ある結果が得られたので1報と2報に分割し、本報では感染後の血液性状の推移について報告する。

材料及び方法

感染に用いたメタセルカリアは肝蛭の自然寄生していたウシの胆のう内虫卵を培養し、大島ら(1969 a)による循環方式で維持しているヒメモノアラガイ(*Lymnaea ollura*)に感染させ得たものである。ウサギは日本白色種で日本生物科学研究所が維持しているコクシジウムフリーの生後4カ月齢のものをを用いたが、さらに万全を期すためにすべてのウサギにサルファ剤(スルファジメトキシリンソーダ)を1週間投与し、1週間経過後実験に供した。30羽のウサギを重感染群(メタセルカリア感染数20, 50)、軽感染群(メタセルカリア感染数1, 10)、対照群(無感染群)の3群にわけたが、途中脊髄損傷などで死亡したもの、データーの得られなかつたものは除外し最終的には、Table 1にみられるごとく6

本研究の費用の一部は文部省科学研究費によつた。ここに記して謝意を表す。

羽、6羽、10羽について資料をまとめた。また、重感染群のウサギはいずれも感染後60~69日の間に死亡したので60日までの測定結果を示した。なお実験が長期にわたるため飼育環境が変化しないよう温度23°C、湿度60%にセットした飼育室で飼った。

採血直前に体重を測定し、ヘマトクリットは毛細管法、赤血球、白血球は自動血球計算機(東亜)で測定した。好酸球は田多井ら(1962)の処法によるManner's液で染色してウサギの偽好酸球の誤認を防ぎながらSpeirs-Levyの血算板で1mm³中の数を算出した。上記の方法で求めた白血球数に対する好酸球数の割合を好酸球百分率とした。感染前に1度、感染後は約10日間隔で採血し、いずれも二重酢酸で凝固を阻止した血液で測定した。測定値はプログラム計算のできる電子卓上計算機により平均値を求めさらに鳥居ら(1965)の方法で以下のごとく分散分析法を試みた。まず急性肝蛭症で死亡する以前の感染後60日までとそれ以後にわけてそれぞれについてグループ間、個体変異、感染後の日数および交互作用の有意性を検定した。

実験成績

虫卵の糞便内出現時期:

虫卵の糞便内排出時期はTable 1に示す通り最も短いものは77日、最も長かつたものは102日であつた。感染群の6羽のウサギはいずれも糞便内に虫卵が排出される以前に急性肝蛭症で死亡した。

ヘマトクリット値:

ヘマトクリット値の推移をFig. 1に示した。図からも明らかのごとく対照群では全期間通じて46%前後の値

Table 1 Chronological data of experiment

Rabbit No.	No. of metacercariae given	Survival days	Prepatent period** (in days)	
1	50	65		heavily infected group (acute form)
2	50	67		
3	20	61		
4	20	60		
5	20	69		
6	20	68		
7	10	*	86	lightly infected group (subacute-chronic form)
8	10	*	77	
9	10	*	83	
10	1	*	86	
11	1	*	102	
12	1	*	102	
13	0	*		control group
14	0	*		
15	0	*		
16	0	*		
17	0	*		
18	0	*		
19	0	*		
20	0	*		
21	0	*		
22	0	*		

* Killed at 200 days after infection

** The day eggs firstly appeared in feces

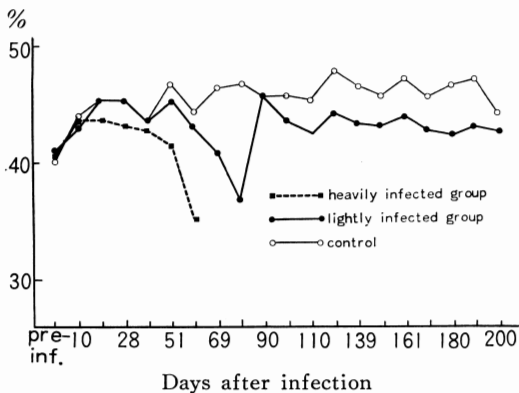


Fig. 1 Patterns of the changes of average haematocrit values

をとった。これに対して重感染群では感染後30日頃から徐々に減少し死亡直前の60日には約35%に低下した。一方軽感染群では感染後60日頃より急激に減少し80日頃最

小値を示したが、その後は回復に向った。しかし対照群にくらべると2~4%低い値を保った。

これを分散分析法で検討すると下記のごとくになった。まず感染後60日までの3群の比較では、グループ間の差は危険率5%、個体変異感染後の日数による差、交互作用は危険率1%で有意であった。重感染群が死亡した70日以後の軽感染群と対照群の比較でも、グループ間の差、個体変異は危険率1%、感染後の日数による差、交互作用は危険率5%で有意となった。

赤血球数：

赤血球数の平均値の推移は Fig. 2 に示すごとくヘマトクリット値と類似のパターンを示した。対照群はほぼ600万前後の値をとり比較的安定していたが重感染群では40日頃より急激に減少して死亡直前には約500万まで低下した。一方軽感染群では重感染群よりややおくれて60日頃より急激に減少し、80日頃には約470万と最低値を示したがその後は速やかに回復した。しかし対照群に

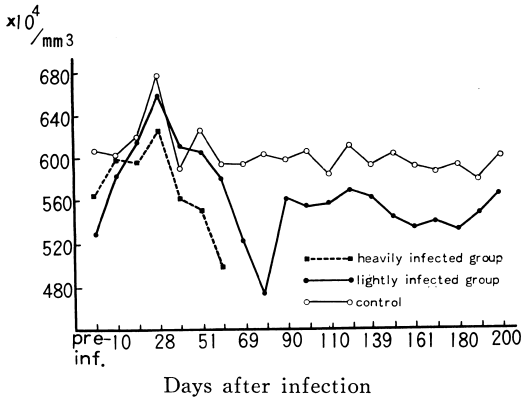


Fig. 2 Patterns of the changes of average erythrocyte counts

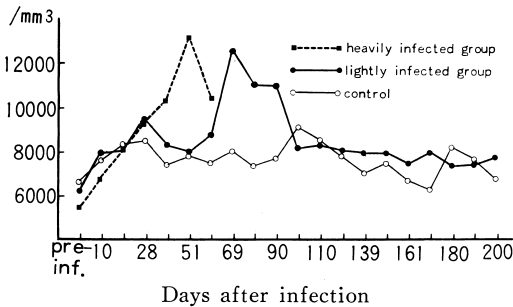


Fig. 3 Patterns of the changes of average leukocyte counts

比べ約40万小さな値をとり続けた。

これを分散分析法で検討すると、感染後70日までの3群の比較ではグループ間の差、個体変異は危険率5%、感染後の日数による差は1%で有意となり、交互作用には有意差がみとめられなかった。感染後70日以後の軽感染群と対照群の比較ではグループ間の差は危険率5%、個体変異は危険率1%で有意となつたが感染後の日数による差、交互作用は有意差がみとめられなかった。

白血球数：

白血球数の推移は Fig. 3 に示す通りである。図からも明らかなごとく対照群では6,000~9,000の範囲を上下した。一方重感染群では感染後40日頃より増加し50日には13,000以上に達したが死亡直前にはややさがり10,000余りとなつた。軽感染群では重感染群よりやや遅れて60日頃から上昇をはじめ70日頃最高となつたがこれは一過性のもので100日以後は対照群と全く差異がなくなつた。

これを分散分析法で検討した結果は次の通りであつた。感染後60日までの3群の比較ではグループ間の有意

差はみとめられず個体変異、感染後の日数による差、交互作用は危険率1%で有意となつた。70日以後の軽感染群と対照群の比較でも個体変異、感染後の日数による差、交互作用は危険率1%で有意となつたが、グループ間の有意差はみとめられなかった。

好酸球数

好酸球数の平均値の推移は Fig. 4 に示す通りである。好酸球は感染後20日頃より急激に増加しはじめ、重感染群では40日頃最高値を示し、死亡直前の60日には減少した。一方軽感染群の増加傾向は10日ほどおくれ、最高値をとるのは感染後70日頃であつた。しかし90日頃からは急激に減少して対照群よりやや高い値に落ち着いた。

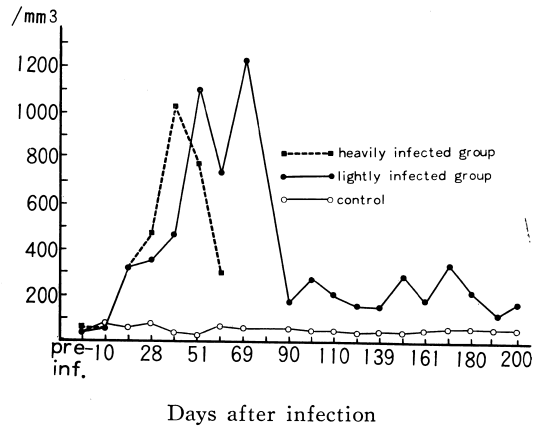


Fig. 4 Patterns of the changes of average eosinophil counts

これを分散分析法で検討した結果は次のごとくであつた。感染後60日までの3群の比較では個体変異に有意差はなくグループ間の差、感染後の日数による差、交互作用はいずれも危険率1%で有意となつた。感染後70日以後の軽感染群と対照群の比較ではグループ間の差、個体変異、感染後の日数による差、交互作用はいずれも危険率1%で有意となつた。

好酸球百分率

好酸球百分率の平均値の推移は Fig. 5 に示す通りである。この値も好酸球数同様、2つの感染群では20日目にはすでに上昇をはじめ重感染群では40日頃最高の10%前後になつたが、その後減少し死亡直前には3%まで低下した。軽感染群では70日頃まで上昇しほぼ10%に達したがその後減少し2~4%に落ち着いた。対照群では全期間通じて1%以下の安定した値をとつた。

これを分散分析法で検討すると次の通りになつた。な

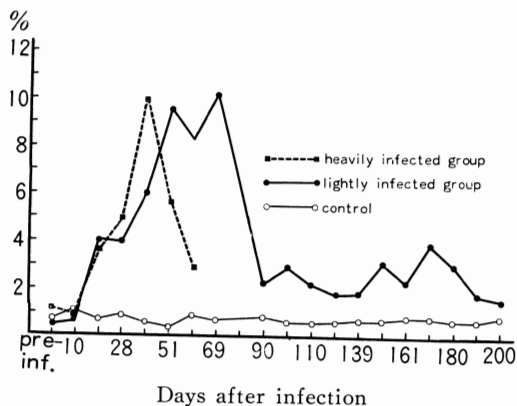


Fig. 5 Patterns of the changes of average eosinophil percentages

お、百分率を逆正弦変換しその値で統計処理をおこなった。60日までの3群の比較では個体変異はみとめられずグループ間の差、感染後の日数による差、交互作用はいずれも危険率1%で有意となった。一方感染後70日以後の軽感染群と対照群の比較ではグループ間の差、個体変異、感染後の日数による差、交互作用はいずれも危険率1%で有意となった。

考 察

肝蛭症の血液性状を実験的に追跡した報告はウサギを用いた小野・磯田(1952), 木村(1961), 大島ら(1969), ヤギを用いた小野・木村(1957), 杉浦(1960), ヒツジを用いた Boray(1967, 1969), Sinclair(1972a, b, 1974) ウシを用いた小野ら(1960), Ross(1966), Boray(1969) などがある。これらの報告の多くは亜急性から慢性肝蛭症に移行する長期の報告が多く、本実験のように急性および慢性肝蛭症と無感染群を厳密な統計処理で比較したものはない。特に感染初期の急性肝蛭症は糞便検査および十二指腸ゾンデなど虫卵検出による診断が不可能であるにもかかわらず症状は極めて重篤である。それにもかかわらず血液性状を検討した報告が意外に乏しいのは厳密な感染実験がおこなわれなかつたことにもよろう。本実験では均質な動物を多数実験に供し多種多様に変化する観測値を統計学的に扱い少なくとも99%または95%の確率で断定できる血液性状の変化を客観的に記載し、特に感染後の日数経過に伴う変動の有意性を検定し、肝蛭の体内移行と血液性状の変化の対応を動的にとらえた。

肝蛭寄生に起因する血液性状の変化は貧血、白血球の増加、好酸球の増加などが古くから知られている。しかし今回の実験からも明らかな通りこれらの症状も顕著な

変化を示すのは比較的短期間で、しかもこれらの変化は虫体の体内移行と密接に結びつき、感染後の日数経過に伴って著しく変化する。すなわちヘマトクリット値、赤血球の減少、白血球、好酸球の増加が著しいのは感染後100日以前の感染初期にみられるが、肝蛭はこの直前に肝実質から総胆管へ移行し定着する。著者ら(1974a)は肝蛭の成長が体内移行と密接に結びついていることを報告し、虫体が肝実質から胆管系へ移行すれば虫体は急速に性成熟することを述べた。今回検討した血液学的性状も虫体の体内移行が直接・間接に強く影響し推移することが明らかになった。次に急性肝蛭症と慢性肝蛭症において血液性状の特徴を検討する。

1. 急性肝蛭症における血液性状の特徴

重感染群では感染してから宿主が死亡するまで、軽感染では亜急性症状をとり症状はやや弱い感染してから糞便内虫卵が排出される80~100日までがこれにあたる虫体はこのほとんどの期間肝実質に寄生し肝実質の著しい機械的破壊を伴いこの影響は胆管へ移行後もしばらく続く。糞便内虫卵はまだ排出されず糞便検査は診断効果を有しない。血液性状は好酸球が最も早く変化し感染後20日より急激に上昇する。赤血球数、ヘマトクリット値はややおくれて40~60日頃急激に減少する。白血球数は40~60日頃から上昇するが増加率はあまり大きくない。この中で好酸球数、好酸球百分率は危険率1%、ヘマトクリット値、赤血球数は危険率5%でグループ間に有意差がみとめられ、これらはウサギ肝蛭症の特徴的变化といえる。白血球数は急性肝蛭症の後期にかなり上昇するが今回の資料からはウサギ肝蛭症に普遍的にみとめられる症状と断定できなかつた。

2. 慢性肝蛭症における血液性状の特徴

軽感染群では感染後ほぼ100日以後がこれにあたる。虫卵は糞便内に排出されているため糞便検査による診断が可能である。症状も急性肝蛭症のような劇烈な症状は落ち着き慢性症状をとる。ヘマトクリット値、赤血球数に90~100日頃かなり回復するが対照群と比較するとお低い。白血球は100日頃には完全に回復し対照群との差は全くない。好酸球数、好酸球百分率は90日頃かなり回復するが対照群と比べるとお高い。このうちヘマトクリット値、好酸球数、好酸球百分率は危険率1%、赤血球数は危険率5%で対照群との差が有意で、これらはウサギ肝蛭症の特徴的の症状の1つといえる。白血球数はほとんど特徴的变化がみとめられなかつた。またヘマトクリット値、赤血球数は、感染初期には感染後の日数による差が有意となり日数経過に伴って貧血が顕著になるが、

虫体が胆管へ移行後は日数経過による変化はなくなり恒常的な軽度の貧血状態が続く。

なお、日本産肝蛭の宿主特異性の差（大島ら1968, 赤羽ら1970, 1974b）を考慮すると多少問題は残るが、ウサギにみられたこれらの血液学的所見は人肝蛭症の場合にも十分参考にすることができよう。

ま と め

日本産肝蛭のメタセルカリアをウサギに感染させ血液性状（ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、好酸球数、好酸球百分率を約10日間隔で測定しその特徴をしらべた。その結果血液性状はいずれも肝蛭の体内移行と密接に関連して変化し、肝実質寄生時と胆管寄生時とで異なつた推移をとつた。

1. 虫体が肝実質寄生時の急性肝蛭症における血液性状の特徴は次の通りであつた。

1) ヘマトクリット値、赤血球数は感染後40～60日頃急激に減少し肝蛭寄生に起因する特徴的变化を示した。

2) 白血球数は40～60日頃上昇するが、その増加傾向はあまり大きくなかつた。

3) 好酸球数、好酸球百分率は感染後20日頃から急上昇し極めて特徴ある変化を示した。

2. 虫体が胆管系へ移行後の慢性肝蛭症における血液性状の特徴は次の通りであつた。

1) ヘマトクリット値、赤血球数は90～100日頃かなり回復するが未感染群にくらべるとなお低く、恒常的な貧血状態が残存した。

2) 白血球数は感染後90日頃には完全に回復し特徴的变化を示さなかつた。

3) 好酸球数、好酸球百分率は90日頃かなり回復するが、未感染群にくらべるとなお高い値をとり、肝蛭症に起因する特徴的变化を示した。

稿を終るに当り統計学的取扱法について御教示いただいた信州大学医療技術短期大学の広沢毅一助教授、ならびに御指導御校閲をいただいた本学の大島智夫教授に深謝いたします。

尚本論文の要旨は第32回日本寄生虫学会東日本大会で発表した。

文 献

- 1) 赤羽啓栄・原田行雄・大島智夫（1970）：日本産肝蛭の変異に関する研究。第3報。ウシ、ヤギ、ウサギ寄生肝蛭間でみられる虫体の外部形態、虫卵の大きさ、子宮内虫卵数の差異に関する実

験的研究。寄生虫誌, 19, 619-627.

- 2) 赤羽啓栄・原田行雄・大島智夫（1974 a）：肝蛭の濃厚感染牛における肝蛭虫体の發育ならびに寄生部位に関する観察(1) 多数寄生牛における肝蛭の相対成長, 寄生虫誌, 23, 14-19.
- 3) 赤羽啓栄・原田行雄・大島智夫・高山敏・芦沢広三（1974 b）：日本産肝蛭の変異に関する研究, 第4報, プタならびにウマ寄生肝蛭の外部形態, 虫卵の大きさ, 子宮内虫卵数の差異, 寄生虫誌, 23, 207-212.
- 4) 赤羽啓栄・大島智夫・嶋津武（1975）：肝蛭症の診断に関する研究, (1) ヒト糞便内肝蛭卵を対象とした数種集卵法の効果, 寄生虫誌, 24, 55-60.
- 5) Boray, J. C. (1967) : Studies on experimental infections with *Fasciola hepatica* with particular reference fascioliasis in sheep. Ann. Trop. Med. Parasit., 61, 439-450.
- 6) Boray, J. C. (1969) : Experimental fascioliasis in Australia. Advance in Parasitology, 7, 95-210, Academic Press, London and New York.
- 7) 木村 重（1961）：肝蛭症の実験的研究, (3) 家兎における臨床および血液学的観察, 寄生虫誌, 10, 336-341.
- 8) 木村 重（1962）：肝蛭症の実験的研究, (5) 山羊における臨床および血液学的観察, 寄生虫誌, 11, 337-342.
- 9) 小野 豊・木村 重（1957）：緬山羊自然感染肝蛭症の臨床および血液変化について, 獣医畜産新報, 216, 1099-1102.
- 10) 小野 豊・磯田政恵（1952）：肝蛭症に関する研究Ⅲ. メタセルカリアによる家兎感染試験, 日獣誌, 14, 189-203.
- 11) 小野 豊・木村 重・久葉 昇（1960）：人工感染肝蛭牛における臨床および血液学的観察, 寄生虫誌, 9, 49-60.
- 12) 大島智夫・赤羽啓栄・小山博善・嶋津 武・原田行雄（1968）：日本産肝蛭の変異に関する研究, 第2報, ウシ寄生肝蛭とヤギ寄生肝蛭間でみられる外部形態の差, 寄生虫誌, 17, 534-539.
- 13) 大島智夫・小山博善・赤羽啓栄・嶋津 武（1969 a）：循環方式によるミヤイリガイ飼育法, 寄生虫誌, 18, 557-562.
- 14) 大島智夫・小山博善・赤羽啓栄・嶋津 武（1969 b）：実験的肝蛭症に関する研究(2), 家兎肝蛭症における末梢血好酸球の推移, 寄生虫誌, 18, 398.
- 15) Ross, J. G. (1966) : Single experimental infection of calves with the liver fluke, *Fasciola hepatica*. J. Comp. Path., 76, 67-81.
- 16) Sinclair, K. B. (1972 a) : Studies in the anaemia of chronic ovine fascioliasis. Res. Vet. Sci., 13, 182-184.

- 17) Sinclair, K. B. (1972b) : The pathogenicity of *Fasciola hepatica* in pregnant sheep. Br. Vet. J., 128, 249-259.
- 18) Sinclair, K. B. (1974) : The effect of promezathine hydrochloride on the development and pathogenicity of *Fasciola hepatica* in the sheep. Br. Vet. J. 130, 577-586.
- 19) 杉浦邦紀(1960) : 肝蛭症の治療に関する研究 I, 肝蛭症の臨床と病変について (1) 肝蛭山羊感染実験, 家畜衛試報告, 39, 131-147.
- 20) 田多井吉之介・長田泰公・小川庄吉 (1962) : 好酸球数と好塩基球数の算定法, 臨床検査, 6, 515-520.
- 21) 鳥居敏雄・高橋暁正・土肥一郎 (1965) : 医学と生物学のための推計学, 東京大学出版会, 東京.

Abstract

THE CHARACTERISTIC CHANGES OF HAEMATOLOGICAL FINDINGS AND
IMMUNOLOGICAL RESPONSE OF THE RABBITS INFECTED WITH
FASCIOLA SP. BY THE MIGRATION OF FLUKE IN THE LIVER

I. THE CHARACTERISTIC CHANGES OF
HAEMATOLOGICAL FINDINGS

HIROSHIGE AKAHANE

(Department of Parasitology, School of Medicine Shinshu University, Matsumoto, Japan)

Thirty helminths and coccidium free rabbits of 4 months old were used for experiments and reared in a closed environment at 23°C and 60 percent humidity. Ten rabbits were given 1-10 metacercariae as the lightly infected group, another ten rabbits were given 20-50 metacercariae as the heavily infected group, and ten rabbits were left uninfected for control.

Blood samples were collected from the ear veins of rabbits at 10 days interval and were counted for erythrocyte, leukocyte, eosinophil and measured for haematocrit values. The final number of the rabbits used for the analysis of data were 6 for light infection 6 for heavy infection and 10 for control group (Fig. 1).

The results were discussed by the acute and chronic phases of infection as follows.

Acute phase of infection: The young flukes migrate through the liver damaging the parenchyma greatly. All of the heavily infected rabbits died at the end of this phase (from 60 to 69 days), however, the lightly infected rabbits could survive the acute phase.

The erythrocyte counts (Fig. 2) and haematocrit values (Fig. 1) of both infected group decreased abruptly from 30-50 days after infection and leukocyte counts increase in the later part of acute phase (Fig. 3).

Remarkable eosinophilia appeared from 20 days after infection, however in heavy infection group, it went up and down earlier than light infection group and subsided on 90 days (Fig. 4 and 5).

Chronic phase of infection: The flukes migrated from liver parenchyma into the bile duct and developed to the adult.

The haematocrit values and erythrocyte counts of infected rabbits were regained 90-100 days after infection and thereafter kept slightly lesser values than the control (Fig. 1 and 2). No significant leukocytosis could be observed in infected rabbits after 90 days (Fig. 3). Relatively low level eosinophilia were observed even after 90 days (Fig. 1).

Decrease of haematocrit values and erythrocyte counts and marked eosinophilia in the acute phase are the most characteristic changes in the haematological findings of fascioliasis in rabbits.