

Pharyngostomum cordatum (Diesing, 1850) の 生活史に関する研究

1. わが国における第2中間宿主の探索と終宿主への感染実験

栗 本 浩

京都府立医科大学医動物学教室 (主任: 吉田幸雄教授)

(昭和51年2月16日 受領)

Pharyngostomum cordatum は、ドイツ、スタイマーの wild cat から採集され、Diesing (1850) によって最初 *Hemistomum cordatum* として記載されたが、ルーマニアの wild cat からこの種を発見した Ciurea (1922) によつて、新属 *Pharyngostomum* が設定され、この属に位置付けされた。この吸虫に関する成虫の形態並びに地理的分布の研究は上記の著者に加えて、Brandes (1890), Krause (1915), La Rue (1926), Faust (1927, 1930), Chen (1934), Tang (1935), Wallace (1939), Rao (1943), Baer and Dubois (1951), Dubey (1970) らが詳細に報告している。しかし生活史に関する研究は少なく、Faust (1927), Wallace (1939), van den Bergh (1939), Walton (1950) らの研究がみられるにすぎない。しかも Wallace は Faust の挙げた第2中間宿主 *Rhodeus sinensis* 並びに *Eleotris potamophilia* を疑問視し、否定的な記載をしている。近年、Kifune *et al.* (1967), Machida (1970), 近藤ら (1974) によりわが国にもこの吸虫が分布していることが明らかにされた。しかしながらわが国における中間宿主の究明は未だなされておらず、かつ Wallace によるこの吸虫の生活史に関する報告の追試もなされていないのが現状である。今回著者は *Pharyngostomum cordatum* のわが国における第2中間宿主を知るため、Wallace の報告を参考として両生類を調査し、その体内に被囊している metacercaria (Wallace は diplostomulum type larva と称している) の寄生率を調べた。またこれら metacercaria の実験動物への感染実験をおこなつた結果、*Pharyngostomum cordatum* の成虫を回収した。さらに前記 metacercaria 並びに回収成虫の形態と各部位の計測値を他の研究者の既報のデータと併記し、ここに第1報として報告する。

材料と方法

1) Metacercaria の採集

豊中市稲津地区、京都市ミドロ池、岩倉地区の田地、池畔などに棲息する両生類 (体重0.5~6.5g の *Rana nigromaculata* 17, *R. brevipoda* 54, *R. rugosa* 61, *Hyla arborea japonica* 1) および爬虫類 (*Clemmys japonica* 1) を採集し、それらの主として筋肉および筋間結合織を実体顕微鏡下で直接あるいは必要に応じて二枚のガラス板で圧平し metacercaria (以下 mc と略す) を探索した。採取した mc の一部は直ちに10%ホルマリン液で固定して観察し、各部位の計測をおこなつた。さらに顕微鏡写真は、固定したのみで無染色のままの標本と、検体をよく水洗してからアセトアルセイン液で染色した標本について撮影した。なお中間宿主の同定は原色日本両生爬虫類図鑑 (保育社) にしたがつた。

2) 動物への感染実験

Rana 属から採取した mc は、筋肉並びに筋間結合織内に被囊した状態で (すなわち筋肉から mc を取りださずに) 成猫2頭、仔猫4頭、仔犬3頭に投与数を確認して経口投与した。ただし、成猫 No. 2 のみは mc の数を確認しないで投与した。これらの実験動物は mc 投与5日前から AMS III法で検便し腸管内寄生虫のいないことを確認したものである。mc 投与20日後から、AMS III法で虫卵検査をおこない prepatent period を決定した。実験に供した動物は Tabel 3 に示すそれぞれの感染後日数で屠殺し小腸粘膜にしっかりと吸着している虫体を直接摘みだし感染数を調べた。

3) 成虫の形態観察

摘出成虫体は軽く圧平して10%ホルマリン液で固定した。これらの標本はその後、一部をデラフィールドのへ

マトキシリン染色標本とし、無染色標本とともに虫体の観察、各部位の計測、写真撮影に供した。但し acetabulum は holdfast organ の下に位置しており直接観察できないので、鋭利なカミソリで holdfast organ を切除し、観察を容易にしてから測定した。虫卵の計測は屠殺時の実験動物の大腸内糞便を AMS Ⅲ法により集卵して得た標本について行つた。

成 績

1) 中間宿主内における metacercaria について

Table 1 に示すごとく、mc は豊中市稲津地区の *Rana* 属の蛙にのみ寄生がみられ、その寄生数は蛙 1 個体あたり最少 1 個、最多 14 個であり、寄生部位は蛙の後肢筋肉並びに筋間結合組織内であつた。未だ幼若な mc は活発に結合組織内を移動するのが観察された。その後 Fig. 1 に示すように mc は円形又は卵円形の厚い結合組織様の被膜に取りかこまれ被囊するものと思われる。これら被囊し

た mc は肉眼でも観察しうる。被囊内の mc は Figs. 2, 3, 4 に示す如き形態をしており、長さ 0.364~0.565 mm、幅 0.273~0.410 mm、平均 0.463×0.346 mm の卵円形である。体腔内には小さな桿状の顆粒が充満している。この小顆粒は無染色標本でのみ観察される。各部位の名称と計測値は Table 2 に Wallace のデータと比較しつつ示した。すなわち、mc の前端には口吸盤（縦横の長さ平均 0.047×0.041 mm）があり、口吸盤に連続して咽頭（同平均 0.053×0.028 mm）そして直線状の食道がみられる。腹吸盤（同平均 0.035×0.040 mm）は mc 全長のほぼ中央部に位置している。食道は咽頭と腹吸盤からほぼ等間隔の部位において分岐し腸管へと移行する。腸管は mc の後端にまでは到達せず盲管に終っている。mc の後部には中央に大きな細長い裂孔様の構造をもつた holdfast organ（同平均 0.115×0.064 mm）が存在する。以上のほか少数ではあるが Fig. 5 に示した mc にみられるように虫体前方 1/3 から後方にかけて体

Table 1 Distribution and incidence of metacercaria (mc) of *Pharyngostomum cordatum* in amphibians and reptiles collected from Toyonaka and Kyoto city

Locality	Host	No. of host		Min.-max. no. of mc in a host
		Examined	Infected(%)	
Toyonaka	<i>Rana nigromaculata</i>	17	15(88.2)	1-11
	<i>R. brevipoda</i>	45	8(17.8)	1-10
	<i>R. rugosa</i>	52	12(23.1)	1-14
	<i>Hyla arborea japonica</i>	1	0(0)	—
	<i>Clemmys japonica</i>	1	0(0)	—
Kyoto	<i>R. brevipoda</i>	9	0(0)	—
	<i>R. rugosa</i>	9	0(0)	—

Table 2 Measurements in mm of metacercaria comparing with those by Wallace

	No. of mc examined	Present author			Wallace (1939)	
		Min.	Max.	Aver.	Min.	Max.
Body length (L)	12	0.364	0.565	0.463	0.300	1.000
width (W)	"	0.273	0.410	0.346	0.175	0.325
Oral sucker (L)	"	0.039	0.052	0.047	0.043	0.047
(W)	"	0.039	0.046	0.041	0.048	0.054
Pharynx (L)	"	0.046	0.059	0.053	0.046	0.050
(W)	"	0.026	0.033	0.028	0.038	0.042
Acetabulum (L)	"	0.033	0.046	0.035	0.039	0.044
(W)	"	0.033	0.046	0.040	0.037	0.049
Holdfast organ (L)	"	0.104	0.137	0.115	0.121	0.130
(W)	"	0.052	0.078	0.064	0.073	0.078

Table 3 Number of worms recovered at autopsy, and prepatent period

Experimental host	Total no. of metacercariae given	Prepatent period (days)	No. of worms recovered	Days after infection to autopsy	
Adult cat	1	21	—	10	45
	2	not counted	34	not examined	
Kitten	1	12	—	0	21
	2	60	28	54	35
	3	10	—	0	35
	4	45	28	38	35
Puppy	1	13	31	0	38
	2	13	—	0	38
	3	23	—	0	35

Table 4 Comparison of measurements (mm) of *Pharyngostomum cordatum* with those described by other authors

	Present author				Other authors									
	No. of examined	Min.	Max.	Aver.	Ciurea (1922)	Wallace (1937)	Kifune <i>et al.</i> (1967)	Machida (1970)	Kondo <i>et al.</i> (1974)					
Adult														
Body	(L) 10	1.70	2.31	2.03	2.60	-3.82	1.21	1.37	-2.26	1.42	-1.92	1.48	-2.23	
	(W) "	1.08	1.60	1.30	1.58	-1.98	1.05	0.79	-1.57	1.01	-1.21	0.78	-1.18	
Oral sucker	(L) "	0.079	0.163	0.115	0.19		0.100	0.061	-0.095	0.070	-0.081	0.091	-0.141	
	(W) "	0.079	0.204	0.161			0.120	0.081	-0.138	0.10	-0.13	0.082	-0.108	
Pharynx	(L) "	0.132	0.171	0.159	0.21	-0.23	0.120	0.105	-0.137	0.12	-0.14	0.109	-0.134	
	(W) "	0.132	0.171	0.155	0.21	-0.22	0.125	0.109	-0.155	0.14	-0.15	0.105	-0.149	
Acetabulum	(L) 2	0.053	0.065	0.059	0.066		0.041	0.06		0.033	-0.048	0.027	-0.041	
	(W) "	0.046	0.059	0.052			0.039			0.033	-0.048	0.036	-0.045	
Holdfast organ	(L) 10	0.80	1.13	0.98	0.99	-1.32	—	0.61	-1.19	0.55	-0.59	—	—	
	(W) "	0.79	1.13	0.97	1.15	-1.78	—	0.64	-1.17	0.65	-0.83	—	—	
Egg														
	(L) 20	0.101	0.120	0.111	0.118	-0.132	0.092	-0.116	0.104	-0.121	0.106	-0.132	0.102	-0.124
	(W) "	0.062	0.068	0.064	0.074	-0.088	0.060	-0.068	0.070	-0.089	0.060	-0.091	0.063	-0.073

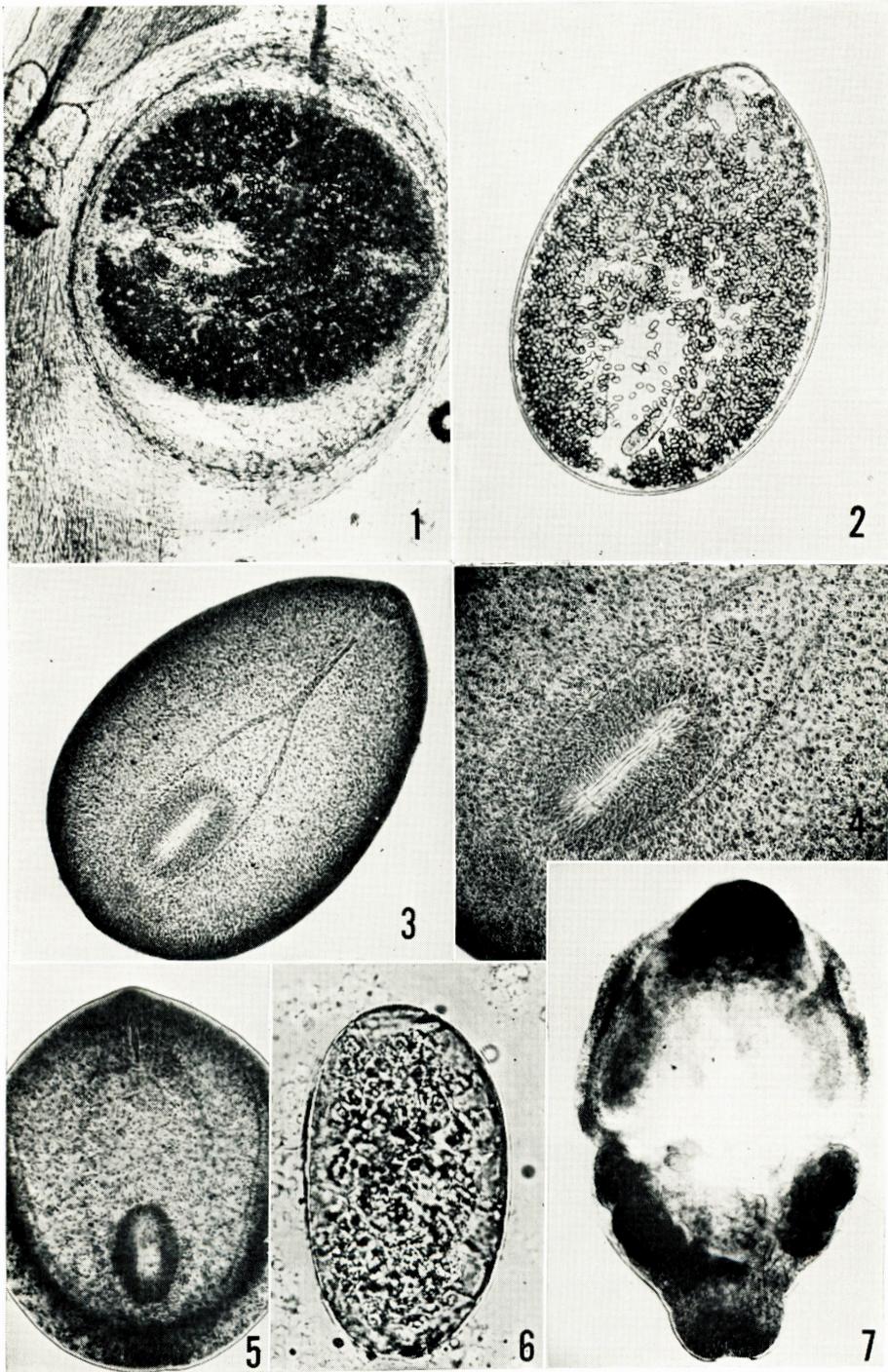
壁を縁取りするかのように見られる膜状物が観察された。

2) 動物感染実験と成虫の形態

mc の投与数, prepatent period, 回収虫体数等の詳細は Table 3 に示した。すなわち, 成猫 2 頭中 2 頭, 仔猫 4 頭中 2 頭, 仔犬 3 頭中 1 頭に感染が成立した。しかし仔犬では排卵をみたにとどまり虫体の回収は出来なかった。

上記の動物を剖検して回収した成虫の顕微鏡写真は Fig. 7 に示し, 虫卵は Fig. 6 に示した。これら成虫及び虫卵の計測値は Table 4 に他の研究者のデータと

ともに示した。すなわち著者の得た成虫は, 体長平均 2.03mm, 体幅 1.30mm で後部は円錐形をしている。体の前部には, 大きな holdfast organ (tribocytic organ) が逆ハート形をなし腹面の陥没部のほとんど全体を占めている。口吸盤の縦横径の平均は 0.115×0.161mm, 咽頭のそれは 0.159×0.155mm で筋肉質である。腸管は明らかに後端に達せず盲管である。腹吸盤は縦横平均 0.059×0.052mm であるが, holdfast organ に隠れているために固定標本のこの部を切除して観察した。睾丸は holdfast organ の後方に位置し, 左右 1 個ずつ認められる。生殖門は後端に大きく開口している。虫卵の縦



Explanation of Figures

Fig. 1 Metacercaria in connective tissue of *Rana nigromaculata*. Fig. 2 Metacercaria without staining. Figs. 3, 4, 5 Metacercariae stained with acetoorcein. Fig. 6 Egg in stool. Fig. 7 Ventral view of adult *Pharyngostomum cordatum* stained with hematoxylin.

横径は平均 0.111×0.064 mm で黄褐色, 卵殻表面に亀甲状紋理がみられ, 一端には小蓋がある。

考 察

今回の研究により *Pharyngostomum cordatum* の metacercaria は両生類 (蛙) の筋肉並びに筋間結合織に被覆していることが確認された。このことは, Wallace がおこなった *Pharyngostomum cordatum* の生活史に関する実験報告 (第2中間宿主の研究) を裏付けるものである。この mc の形態は Wallace の論文で示された図によく似ているが, 今回著者が示した (Fig. 5) 膜状に縁取りされた段階の mc は哺乳類の体内でのみみられると Wallace は述べているが著者は少数ではあるが *Rana* 属の筋肉内においても見出した。

Table 1 に示したように, *Rana* 属に寄生したこの吸虫の mc の感染率には, 明確な地域差がみられた。このことは第1中間宿主の棲息場所と密接な関係があるものと考えられるので今後更に調査を続けたいと考えている。爬虫類についての調査も同様である。今回の調査で寄生が確認された *Rana nigromaculata*, *R. brevipoda* は, 本吸虫の中間宿主としては未記載のものである。

今回の実験から, 成猫, 仔猫はこの吸虫の好適な宿主であることが判明した。

mc 及び成虫の計測値において他の研究者との間に若干の差違がみられたが, Yamaguti (1958) の分類基準に合致するものと考え, *Pharyngostomum cordatum* と同定した。

結 論

わが国における *Pharyngostomum cordatum* の第2中間宿主として3種の両生類すなわち *Rana nigromaculata*, *R. brevipoda*, *R. rugosa* が確認された。このうち *Rana nigromaculata* 及び *R. brevipoda* の2種は新しい中間宿主である。次に仔猫, 成猫は共に本種吸虫の好適な終宿主である。

稿を終るにあたり, 御指導, 御校閲を賜った吉田教授に深く感謝する。

文 献

- 1) Baer, J. G. and Dubois, G. (1951) : Note sur le genre *Pharyngostomum* Ciurea, 1922. Bull. Soc. neuch. Sci. nat., 74, 77-82.
- 2) Brandes, G. (1890) : Die Familie der Holostomiden Zool. Jahrb., Abt. Syst. Geog. Biol., 5, 549-604.
- 3) Chen, H. T. (1934) : Helminths of cat in Fukien and Kwantung Provinces with a list of those recorded from China. Lingnan Sci. J., 13, 261-273.
- 4) Ciurea, I. (1922) : Sur quelque trématodes du renard et du chat sauvage. Compt. rend. Soc. Biol., 87, 268-269.
- 5) Diesing, C. M. (1850) : Systema helminthum. Bd. 1, Wien.
- 6) Dubey, J. P. (1970) : *Pharyngostomum cordatum* from the domestic cat (*Felis catus*) in India. J. Parasit., 56, 194-195.
- 7) Faust, E. C. (1927) : Studies on Asiatic Holostomes (Class Trematoda). Rec Ind. Mus., 29, 215-227.
- 8) Faust, E. C. (1930) : The animal parasites of man and mammals in Fukien Province, China. Proc. Nat. Hist. Soc. Fukien Christ. Univ., 3, 3-10.
- 9) Krause, R. (1915) : Beitrag zur Kenntnis der Hemistominae. Zeitschr. Wiss. Zool., 112, 93-238.
- 10) Kifune, T., Shiraishi, S. and Takao Y. (1967) : Discovery of *Pharyngostomum cordatum* (Diesing, 1850) in cats from Kyushu, Japan (Trematoda; Strigeoidea; Diplostomidae). Jap. J. Parasit., 16, 403-409.
- 11) 近藤力王至・栗本 浩・織田 清・嶋田義治 (1974) : 滋賀県の野猫から見出された *Pharyngostomum cordatum* (Diesing, 1850) について。寄生虫誌, 23, 8-13.
- 12) La Rue, G. R. (1926) : Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae). No. 1. *Pharyngostomum cordatum* (Diesing) Ciurea. Trans. Amer. Micr. Soc., 45, 1-10.
- 13) Machida, M. (1970) : Helminth parasites of a wildcat in Japan. Res. Bull. Meguro Parasit. Mus. No. 3, 33-36.
- 14) Rao, M. A. N. (1943) : Note of parasitological interest. Ind. J. Vet. Sci. Animal Husb., 13, 178-179.
- 15) Tang, C. C. (1935) : A survey of helminth fauna of cats in Foochow. Peking Nat. Hist. Bull., 10, 223-232.
- 16) van den Berghe, L. (1939) : Un strigeide nouveau du Congo belge. *Pharyngostomum congolense*. Rev. Zool. Bot. Afr., 32, 199-205.
- 17) Wallace, F. C. (1939) : The life cycle of *Pharyngostomum cordatum* (Diesing) Ciurea (Trematoda: Alaridae). Trans. Am. Micr. Soc., 58, 49-61.
- 18) Walton, A. C. (1950) : Parasites of the Brevicipitidae (Amphibia). J. Parasit., 36 (sup-

Abstract

STUDY ON THE LIFE HISTORY OF *PHARYNGOSTOMUM*
CORDATUM (DIESING, 1850)

I. THE SECOND INTERMEDIATE HOST IN JAPAN AND EXPERIMENTAL
 INFECTION TO THE FINAL HOST

HIROSHI KURIMOTO

(*Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine*)

Although the presence of *Pharyngostomum cordatum* was recently ascertained in Japan by Kifune *et al.* (1967), Machida (1970) and Kondo *et al.* (1974) the life history of this trematode has been remained unknown.

In order to determine the second intermediate host of this trematode in Japan some kind of amphibians and reptiles from Osaka and Kyoto prefectures were examined for metacercaria of this trematode. As the result, the metacercariae were found in the muscle and the connective tissues of hind legs of the following flogs captured in Osaka Prefecture: *Rana nigromaculata*, *R. brevipoda* and *R. rugosa* (Table 1). Among them the former two species are new intermediate host of *P. cordatum*.

An experimental oral infection of two adult cats, four kittens and three puppies with known number of metacercariae was performed. Of those animals, two adult cats, two kittens and one puppy began to expel ova in their feces 28 to 34 days after infection (Table 3). At autopsy many adult worms were found in the upper small intestine of those animals.

The results of morphological study and measurements on the metacercaria and the adult worm were shown in Tables 2, 4 and Figures 1 to 7 comparing with those reported by other authors.