

マウスの腸間膜リンパ節および肝臓における 小形条虫擬囊尾虫の発育について

井上 朝義 古川 忠明 宮里 昂

近畿大学医学部寄生虫学教室

(昭和54年1月5日 受領)

緒 言

著者らは、小形条虫卵の初感染および再感染にともなうマウスの感染局所の病理組織学的変化を観察し、その主な感染局所であるマウスの腸絨毛の組織反応についてはすでに報告した (Miyazato *et al.*, 1979). 上述のように、小形条虫の幼虫は通常マウスの腸絨毛内に限局して寄生し、cysticeroid に発育するが、時として腸管以外の臓器組織にも寄生し得ることは古くから知られており (Price, 1930; Artafiev, 1966 a, b, c), 我々もまた種々の感染実験に際してこの事実を確認した. Di Conza (1968, 1970), 古川 (1970) らは、小形条虫卵をマウスの皮下に注入すると、その局所で cysticeroid にまで発育することを明らかにしている. したがって、経口感染に由来する六鉤幼虫が、マウスの腸管以外の組織に移行できるならば、各種の組織内において cysticeroid に発育することも可能であろうと考えられる.

本条虫は免疫原性が強い種類であることが知られており、その防御免疫の機構については種々検討が重ねられている. Hunninen (1935 a), Hearin (1941), Heyneman (1962 a, b) らは、虫卵の経口感染を受けたマウスが再感染に対して極めて強い抵抗性を示すことを明らかにし、以来本条虫に対する免疫能を検索する方法のひとつとして、マウスの腸絨毛における感染の有無を観察することが広く行われている. しかし、経口感染に由来する幼虫が、腸管以外の組織内で発育する可能性があることを考慮すると、従来の検索方法では不十分であることも考えられる. 一方、幼虫の腸管外寄生の頻度や、初感染時と再感染時の幼虫の行動の違い、あるいは寄生を受けた組織の病理組織学的変化などについては検討すべき

問題が多い. そこで我々は経口感染に由来する六鉤幼虫の体内移行と腸管以外の組織内における幼虫の発育を検討するために、特に再感染の幼虫の行動に注目して感染実験と組織学的観察を行った.

実験材料と方法

宿主として当教室で継代繁殖している生後6ないし8週の雌雄の ddY マウスを用いた. これらは離乳直後から、飽和食塩水浮遊法による検便をくり返して行い、小形条虫に感染していないことを確認した.

虫卵は実験に際して成条虫の受胎節から採取した. 使用直前にガラスビーズ法 (Berntzen and Voge, 1965) で卵殻を除去し、感染率の上昇を計った.

初感染群は、1群13ないし15匹のマウスを用い、各々1万個の脱殻卵を経口投与した. 投与に際しては針先を鈍磨した静脈針とツベルクリン注射筒を用い、所定数の虫卵を0.1ml の生理食塩水とともに直接胃内へ注入した. 感染後4日、10日および30日目に剖検し、腹部および胸部の諸臓器を摘出した. 次に各臓器別に可及的細片とし、さらにスライドグラスで圧平して、全臓器を検鏡した. 組織内の幼虫は cysticeroid 特有の形態によって、容易に検出することができた. 幼虫のゆるやかな運動の有無を生死判定の規準のひとつとし、運動性がなく体部組織の変性崩壊が見られる幼虫は死滅したものと判定した. また各群とも4ないし5匹のマウスの全臓器をホルマリンで固定後所定の方法で組織切片を作製し、HE染色および一部PASとメチルグリーン・ピロニン染色を施して検鏡した. 対照として腸管における感染状態を見るために、上記の感染実験に用いたものと同一グループの虫卵を2,000個ずつ、別の13匹のマウスに経口投

Table 1 The growth of *H. nana* cysticercooids in the mesenteric lymph nodes and the livers of mice after primary infection with 10,000 shell removed eggs

Organs	Egg dose level	Days after infection	No. mice positive No. mice examined	Average No. larvae survived	Range of worm loads
Mesenteric lymph nodes	10,000	4	9/9	20.4	3-94
		10	7/7	31.4	10-85
		30	0/10	0	—
Liver	10,000	4	5/9	5.3	0-26
		10	7/7	8.1	3-18
		30	0/10	0	—
Spleen	10,000	4	0/9	0	—
Pancreas	10,000	4	0/9	0	—
Lung	10,000	4	0/9	0	—
Intestine	2,000	4	13/13	607.1	287-973

与し、感染4日後に剖検して Hunninen(1935b)の方法で腸絨毛内の cysticercooid 数を算定した。

再感染群では、1群15匹のマウスを用い、初感染として1万個の脱殻虫卵を経口投与した。つぎに、この初感染に由来する組織内の cysticercooid の変性崩壊が明らかになる感染30日後(実験結果参照)に、再感染として5万個の脱殻虫卵を経口投与し、再感染後4日および10日後に剖検して、上記の方法により圧平標本と組織切片標本を作製し検鏡した。

実験結果

1. 初感染由来の幼虫の腸管外寄生

虫卵を経口感染したマウスの各臓器の圧平標本を検索した結果を Table 1 に示した。全実験群を通じて、腸管以外の臓器としては、腸間膜リンパ節および肝臓の組織内より cysticercooid を検出した。初感染4日後における両組織内の感染状況および寄生率をみると、腸間膜リンパ節ではほとんどの幼虫が腸間膜の上部と中部のリンパ節に寄生しており、投与虫卵数の約0.2%にあたる平均20.4個の幼虫を検出した。また肝臓では、幼虫の寄生部位は一定の分布を示さず肝組織内に広く分散していた。寄生率は約0.05% (平均5.3個)であつた。両組織から検出された幼虫は Photos. 1, 7 に示すように成熟した cysticercooid であり、腸絨毛内に見られる幼虫と同様に尾部を持たない型のものであつた。剖検時に、両臓器の表層には微かな白色点状の病巣が認められ、この部位か

ら幼虫を検出することが多かつた。

対照として検索した腸管の絨毛内寄生幼虫数は平均607.1個で、投与虫卵数2,000個に対し、30.3%に相当する結果であつた。また脾、膵、肺、腎その他の臓器および腸間膜リンパ節以外の各リンパ節には、全例とも上記のような病巣が認められず、幼虫も全く検出されなかつた。

感染10日後では、腸間膜リンパ節および肝臓より検出された幼虫数は、感染4日後の結果に比べて著変なく、幼虫被囊に変性を認めるものの、いずれも cysticercooid の形態のまま生存していることが判明した (Photos. 2, 8)。両組織表層の白色点状の病巣はやや拡大し、特に腸間膜リンパ節では、いくつかの病巣が融合する傾向を示すため、肉眼でも容易に認められた。

感染30日後になると、両組織内寄生の幼虫はすべて変性崩壊していた (Photos. 3, 9)。病巣は感染10日後に比べて縮小する傾向が認められた。

2. 組織学的所見

上記の結果に基づき、腸間リンパ節および肝臓の感染局所における病理組織学的変化を観察した。

腸間膜リンパ節：幼虫はリンパ節の周縁洞に寄生していることが多く、髄索の部分にはほとんど認められなかつた。感染4日後の組織所見では、成熟した幼虫は若干の結合組織に囲まれているが、白血球などの浸潤は軽度であつた (Photo. 4)。感染10日後では、幼虫頭部の形態はなお正常と思われるが、被囊部の内外層が著しく拡

張り変性が認められ、また幼虫周囲の組織の壊死、好中球および単核細胞の浸潤が著明であつた (Photo. 5)。感染30日後になると幼虫は死滅崩壊し、残存する顎のみ認められた。これらを中心として広範囲に組織の壊死がみられて、その外縁を囲んで線維芽細胞の増殖、好中球、好酸球、単核細胞、異物巨細胞の浸潤が著明であり、非常に大きな結節が形成されていた (Photo. 6)。

肝臓：幼虫は肝実質中にあり、感染4日後にはすでに成熟した幼虫を中心とする膿瘍状の虫体結節が認められた (Photo. 10)。すなわち、虫体周囲の肝実質細胞の破壊、出血、多数の好中球と単核細胞の浸潤、線維芽細胞の増殖が著明であつた。グリソン鞘および小葉間静脈周辺には多数の単核細胞の浸潤がみられた。感染10日後になると、一部の幼虫は明らかに変性像を示した。虫体結節の中心部には、しばしば変性細胞が集積しており、その周囲は、広範囲に線維化するとともに、異物巨細胞、好中球、好酸球の浸潤が認められた (Photo. 11)。感染30日後には、幼虫はほとんど吸収され、結節部は線維化して癩痕化の過程にあつたが、なお少数の好中球および異物巨細胞の残存が認められた (Photo. 12)。

3. 再感染由来の幼虫の腸管外寄生

実験結果1に示したように、初感染由来の幼虫の一部は腸間膜リンパ節および肝臓内にも寄生するが、これらの幼虫は感染後30日以上経過すれば変性崩壊する。したがって、初感染の30日以後の再感染に由来する幼虫が同様に寄生、発育するとすれば、両者の形態的な差異によつて、初感染と再感染由来の幼虫は区別できるものと思われた。そこでまず初感染として1万個の虫卵を経口投与し、その30日後に5万個の虫卵を再度経口投与した。再感染4日および10日後に、各々10匹のマウスを剖検したところ、すべての臓器組織から再感染由来と思われる幼虫を検出することができなかつた。また、各群5例のマウスの腸間膜リンパ節および肝臓の連続組織切片を多数検索したが、再感染由来の幼虫の寄生および新しい病巣の出現は全く認められなかつた。

考 察

以上の結果、小形条虫卵1万個を未感染マウスに経口投与すると、大部分の六鉤幼虫は腸絨毛内にとどまつて cysticeroid に発育するが、一部の六鉤幼虫は腸間膜リンパ節の周縁洞および肝実質中に移行し、それぞれの組織内で発育し得ることが判明した。リンパ節および肝臓内の幼虫は、虫卵の経口感染4日後には成熟した cysticeroid にまで発育し、10日前後は生存するが、それ以上

発育することなく次第に死滅するものと思われる。結果に見る如く、腸管以外の組織に移行し得る幼虫の比率は、投与虫卵数あるいは腸絨毛内に寄生する幼虫数に比べると非常に少ないものであるが、今後、虫卵を用いる経口感染実験に際しては、この体内移行の可能性があることを常に考慮する必要があるように思われる。

腸間膜リンパ節および肝臓の感染局所における組織反応は、いずれも幼虫周囲の組織の壊死、白血球や異物巨細胞の浸潤、線維芽細胞の増殖などを伴う炎症反応が著明で、いわゆる異物肉芽腫が形成され、次第に線維化していった。腸間膜リンパ節の組織反応に関する所見は、Astafiev (1966a) の報告と大体一致するものであつた。我々はさらに肝臓内の感染局所についても詳細に検討したが、肝臓における組織反応は、腸間膜リンパ節の反応よりも早く、また強く出現し、より早く線維性結合織に置換される傾向が見られた。Di Conza (1970) および古川 (1971) は、虫卵をマウスの皮下に注入すると、その局所で cysticeroid に発育することを証明するとともに、この幼虫に対する宿主の組織反応を観察しているが、それによると、未感染マウスの皮下に虫卵を注入したときには、幼虫を中心にして、好中球の浸潤を主とする著明な虫体結節が形成され、約3週間の経過で次第に結合織性の嚢胞になつていくとしている。このように、リンパ節、肝臓、皮下などの組織内で発育する幼虫に対する宿主の組織反応は極めて顕著なものである。一方、Miyazato *et al.* (1979) は、初感染時の腸絨毛内の幼虫に対する宿主の組織反応を観察し、感染72時間ないし96時間後に若干の好中球および単核細胞の浸潤などの非特異的な異物反応が起ることを明らかにした。ただし、腸絨毛内の幼虫は感染後96時間ないし100時間以上経過すると、次第に腸腔内に脱出するために、組織内寄生の期間は短い。このために腸絨毛の組織反応は線維化などの現象を見ることなく終結するものと思われる。

Astafiev (1966b) は、マウスに虫卵を経口投与すると、上記の臓器組織の他に脾臓および腹腔内にも幼虫の寄生が認められるとし、またマウスの腹腔内に虫卵を投与すると、幼虫は小腸、肝臓、気管支リンパ節および肺に移行し発育すると報告している。緒言にも述べたように、本条虫の六鉤虫は、恐らくマウスの体内いたるところで発育可能である。したがって、虫卵の経口感染に由来する幼虫が腸管以外の臓器組織に寄生し得るか否かは、六鉤幼虫の体内移行の可否に関連しているものと思われる。我々の観察によれば、経口感染に由来する幼虫は、腸絨毛と腸間膜リンパ節および肝臓に寄生すること

が明らかである。この事実から考えると、腸絨毛内に侵入した六鉤幼虫の大部分は、腸絨毛の粘膜固有層に捕捉されるが、一部の幼虫はさらに乳糜管を介し、また他の幼虫は門脈を介して、各々腸管膜リンパ節の周縁洞および肝実質に至るものと思われる。Carter and Collins (1974) によれば、腸間膜上部のリンパ節には十二指腸より発した乳糜管が、また中央部のリンパ節には空腸上部の乳糜管が集合するとされている。これらの部位に幼虫の寄生が多かったことは、腸絨毛における寄生幼虫の分布が十二指腸から空腸上部に集中していることと関連しており、本来は腸絨毛内にとどまって発育する幼虫の一部が、さらに乳糜管を介して移行したものであることを思わせる。

すでに Hunninen (1935a), Hearin (1941), Heyneman (1962a) らが明らかにしたように、マウスは少数の虫卵の経口感染によって再感染に対する強い感染防御能を獲得することができる。この防御免疫の効果は、再感染由来の幼虫を腸絨毛から完全に排除するのに有効なばかりではなく、感染マウスの皮下に投与された虫卵の発育をも完全に阻止することが知られている (Di Conza, 1970; 古川, 1971)。ただし古川(1971)は、感染マウスの皮下における幼虫の発育阻止が、初感染後3週以上経過しなければ完全には発現しないことから、マウスの腸絨毛における急速な、しかも効果的な防御免疫の成立 (Heyneman, 1962b) には、何らかの局所的要因が関与していると考察している。ところで Astafiev (1966c) は、再感染に対して強い抵抗を示すマウスに虫卵を再感染させると、若干の六鉤幼虫は腸絨毛内に侵入し得るが、そこにとどまらずにリンパ流を介して腸間膜リンパ節に至り、cysticeroid に発育すると報告した。この報告は、マウスの腸絨毛とその他の組織を比較したとき、再感染由来の幼虫に対する免疫反応の効果が組織によって若干異なることを示唆するものと思われる。我々はこの点に注目し、再感染実験を行った。しかし、全例において再感染に由来すると思われる幼虫はいずれの臓器組織からも検出されず、Astafiev (1966c) の報告を確認できなかつた。すなわち、我々の観察結果によれば、再感染由来の幼虫は腸管以外の組織には移行できないか、あるいは移行し得たとしても、その幼虫の発育は宿主の免疫反応によって完全に阻止されるものと考えられる。

結 論

小形条虫卵をマウスに経口投与し、腸管以外の臓器組織内における cysticeroid の発育について検討した。

1. 初感染群では、腸間膜リンパ節の周縁洞および肝実質より、各々投与虫卵数の0.2%および0.05%にあたる幼虫を検出した。これらの幼虫は、各々の組織内で感染4日後には成熟 cysticeroid に発育し、少なくとも10日後までは感染局所において生存していたが、感染30日目ではすべて死滅していた。

2. 両組織の感染局所では、幼虫を中心として異物性肉芽が形成され、次第に線維化していった。この組織反応は肝臓の方が腸間膜リンパ節に比べて、早期により強く出現し、また早期に線維化する傾向が見られた。

3. 再感染由来の幼虫の発育は、いずれの臓器においても全く認められなかつた。

文 献

- 1) Astafiev, B. A. (1966a) : On the possibility of development of *Hymenolepis nana* (Siebold, 1852) in mesenteric lymph nodes of white mice. *Med. Parazitol. Parazit. Bolez.*, 35, 93-97.
- 2) Astafiev, B. A. (1966b) : New data on migration of eggs and larval stages of *Hymenolepis nana* (Siebold, 1852) in white mice. *Med. Parazitol. Parazit. Bolez.*, 35, 149-154.
- 3) Astafiev, B. A. (1966c) : Some regularities of the development of superinvasion in hymenolepidosis of white mice. *Med. Parazitol. Bolez.*, 35, 705-712.
- 4) Berntzen, A. K. and Voge, M. (1965) : *In vitro* hatching of oncospheres of four hymenolepidid cestodes. *J. Parasit.*, 51, 235-242.
- 5) Carter, P. B. and Collins, F. M. (1974) : The route of enteric infection in normal mice. *J. Exp. Med.*, 139, 1189-1203.
- 6) Di Conza, J. J. (1968) : Hatching requirements of dwarf tapeworm eggs (*Hymenolepis nana*) in relation to experimental development of larval stages in mice. *Z. Parasitenk.*, 31, 276-281.
- 7) Di Conza, J. J. (1970) : *Hymenolepis nana* : Mouse subcutaneous tissue response to larval stages. *Exp. Parasit.*, 28, 482-492.
- 8) 古川忠明 (1971) : マウス皮下における小形条虫幼虫の発育と虫卵感染マウスにおけるその発育阻止. *寄生虫誌*, 20, 331-340.
- 9) Hearin, J. T. (1941) : Studies on the acquired immunity of the dwarf tapeworm *Hymenolepis nana* var. *fraterna*, in the mouse host. *Am. J. Hyg.*, 33, 71-87.
- 10) Heyneman, D. (1962a) : Studies on helminth immunity I. Comparison between luminal and tissue phase of infection in the white

- mouse by *Hymenolepis nana* (Cestoda: Hymenolepididae). Am. J. Trop. Med. Hyg., 11, 46-63.
- 11) Heyneman, D. (1966b) : Studies on helminth immunity VI. Rapid onset of resistance by the white mouse against a challenging infection with eggs of *Hymenolepis nana* (Cestoda: Hymenolepididae). J. Immunol., 88, 217-220.
- 12) Hunninen, A. V. (1935a) : Studies on the life-history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna*, Stiles) in white mice. Am. J. Hyg., 22, 414-443.
- 13) Hunninen, A. V. (1935b) : A method of demonstrating cysticercoids of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna*, Stiles) in the intestinal villi of mice. J. Parasit., 21, 124-125.
- 14) Miyazato, T., Furukawa T. and Inoue, T. (1979) : Intestinal pathology associated with primary and secondary infections of *Hymenolepis nana* in mice. Jap. J. Parasit., (In press).

Abstract

GROWTH OF *HYMENOLEPIS NANA* CYSTICERCOCIDS IN THE MESENTERIC LYMPH NODES AND LIVERS OF MICE

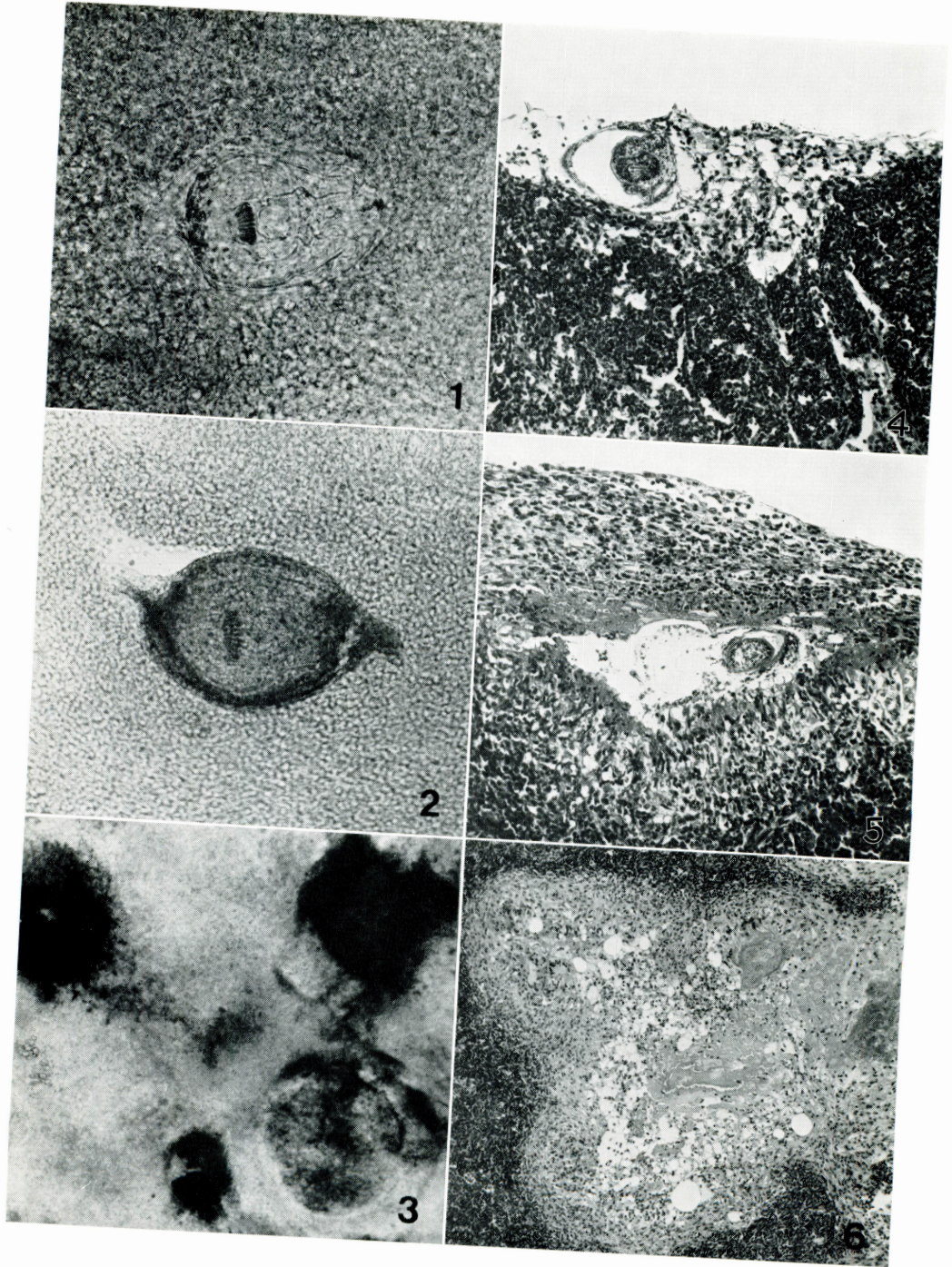
TOMOYOSHI INOUE, TADAAKI FURUKAWA AND TAKASHI MIYAZATO
(Department of Parasitology, Kinki University School of Medicine, Osaka, Japan)

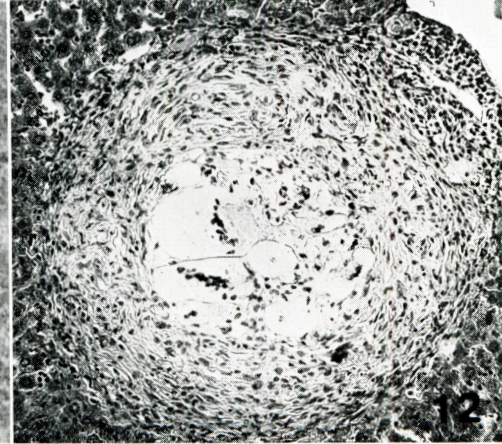
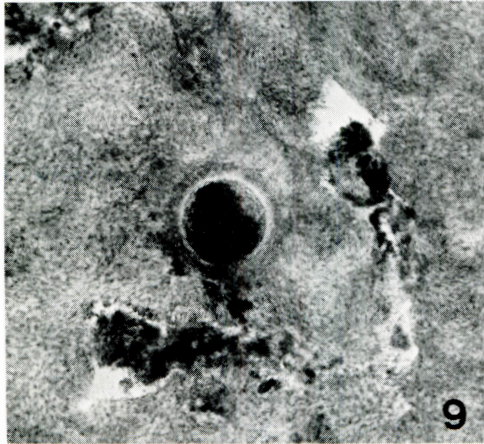
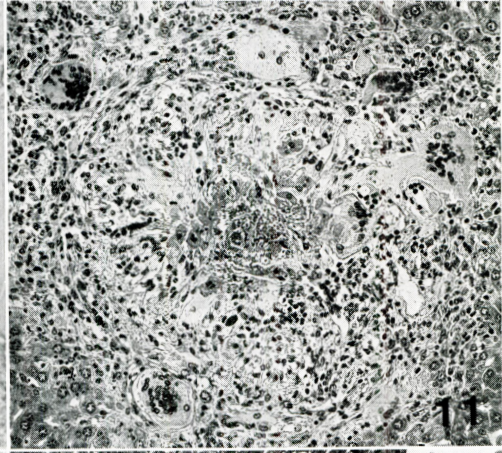
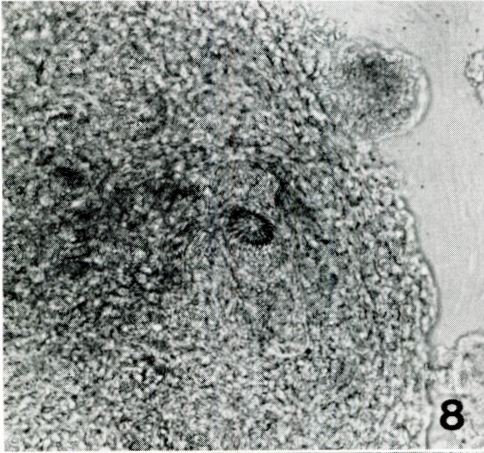
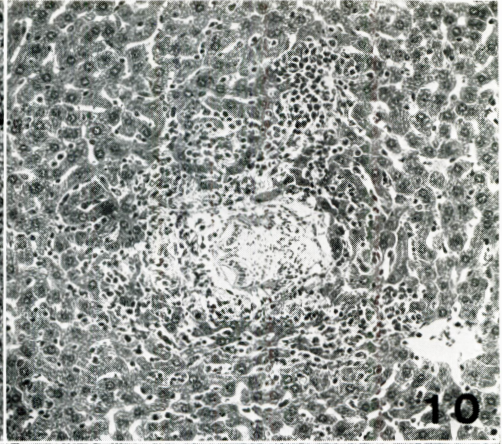
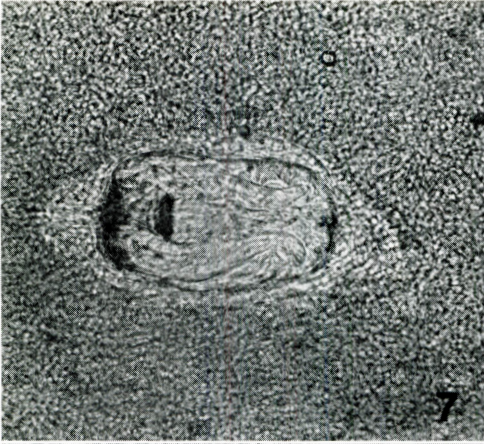
The extraintestinal growth of cysticercoids of *Hymenolepis nana* after an oral egg infection in normal and sensitized mice was examined by infection experiments and histological techniques.

1. In normal mice, the oncospheres of *H. nana* were able to migrate from the intestinal tissues to the subcapsular sinuses of the mesenteric lymph nodes and to the livers, where they developed to mature cysticercoids within 4 days after infection. These larvae could remain viable in the tissues up to 10 days or so.

2. A typical inflammatory reaction of the host tissues was seen around the growing larvae. The predominant cells were neutrophils, mononuclear cells and fibroblasts. The lesions developed progressively to fibrous granulomas. The cellular response was more intense in the livers as compared with that in the mesenteric lymph nodes.

3. No extraintestinal growth of the larvae derived from secondary infection was observed.





Explanation of Photographs

- Photos. 1-6 The growth of *H. nana* cysticercoïds in the mesenteric lymph nodes of mice after oral egg infection.
- Photos. 1-3 Fresh specimens of cysticercoïds in the mesenteric lymph nodes. 1, 4 days after infection. $\times 140$. 2, 10 days after infection. $\times 140$. 3, 30 days after infection. $\times 140$.
- Photos. 4-6 Sections of the infected sites of mesenteric lymph nodes. HE stain. 4, 4 days after infection. $\times 140$. 5, 10 days after infection. $\times 140$. 6, 10 days after infection. $\times 70$.
- Photos. 7-12 The growth of *H. nana* cysticercoïds in the livers of mice after oral egg infection.
- Photos. 7-9 Fresh specimens of cysticercoïds in the liver. 7, 4 days after infection. $\times 140$. 8, 10 days after infection. $\times 140$. 9, 30 days after infection. $\times 30$.
- Photos. 10-12 Sections of the infected sites of the liver. HE stain. 10, 4 days after infection. $\times 140$. 11, 10 days after infection. $\times 140$. 12, 30 days after infection. $\times 140$.