

Pharyngostomum cordatum (Diesing, 1850)

に関する研究

(2) 第二中間宿主および終宿主における感染実験

梶山 松生* 梶山 緑† 鈴木 了司‡

(昭和54年12月20日 受領)

P. cordatum の生活史については, Wallace (1939) の詳細な報告があるが, わが国では, 本吸虫の終宿主の感染例について近年多くの報告がみられ, また, 第二中間宿主については, 野外で粟本 (1976) がトノサマガエル, ツチガエル, ダルマガエルの成体3種に, 内田ら (1977) は前者の他にウシガエル, ヌマガエルにも寄生し, 蛇からもメタセルカリアを見出したとの報告がある。

著者らは, 日本における *P. cordatum* の生活史について研究を行いつつあるが, 本吸虫が, 実験的にヒラマキモドキ *Polypylis hemisphaerula* に感染し, 第一中間宿主となることを見出した (梶山ら, 1979)。

このヒラマキモドキから游出したセルカリアが第二中間宿主に侵入し, 發育して終宿主で成虫になるまでの経過を観察すべく, ツチガエルのオタマジャクシに感染せしめたところ, メタセルカリアが得られた。また, これらメタセルカリアをネコ, ハムスター, ラット, マウスにあたえて, その感染状況を調べたのでその結果を報告する。

材料および方法

1. 第二中間宿主への感染実験

セルカリア: 第一報で報告したように, 実験的にミラシジウムを感染せしめたヒラマキモドキ21個から游出したものを用いた。

第二中間宿主: 1978年8月30日, 山口市佐山において採取した孵化後2—3日と思われる頭幅2—3mm, 体

長8—10mmのツチガエル *Rana rugosa* のオタマジャクシを用いた。

感染方法: 1978年8月30日より9月2日まで, セルカリア游出中の上記ヒラマキモドキ飼育水槽内にオタマジャクシ36匹を3日間一緒に入れた後, 貝を全部除去し, オタマジャクシはそのまま飼育した。

2. 終宿主への感染実験

メタセルカリア: 感染オタマジャクシの筋組織中を被囊しないで活発に移動しているものを用いた。

終宿主: 生後約40日, 日本在来種, 同胎のネコ雌雄各1匹, 9週齢ゴールデンハムスター4匹, 15週齢 Wistar ラット5匹, 15週齢 ICR マウス3匹を用いた。これらの実験動物はメタセルカリア投与前に寄生虫卵のないことをあらかじめ確認した。

感染方法: ネコでは感染後30日のオタマジャクシの体内からえたメタセルカリアを食餌に混和採食せしめた。

その他の実験動物では, ハムスターには感染後70日, マウス, ラットでは90日目のオタマジャクシの頭部・体部。尾部ごとにそれぞれ2枚のスライドグラスにはさんで圧平し, リンゲル液を加え, 遠沈した沈渣を, 39Cの人工胃液で6時間消化したものをゾンデを用いて経口投与した。

虫卵検査: メタセルカリア投与後は, 最初5日毎に AMS III 法による糞便検査を行った。特にネコでは投与後20日目からは毎日検査し, 25日目からは更に午前, 午後の2回検査を行い排卵開始時期を決定した。

虫体の観察: 実験動物はメタセルカリア投与後, 45日から55日の間に剖検し, 虫体を検索した。摘出虫体をスライドグラス間にはさみ, 虫体がこわれぬように軽く圧平してホルマリン固定, ブアン固定を行い計測し, ムチ

* 山口大学医学部附属臨床検査技師学校

† 山口大学医学部第一病理学教室

‡ 高知医科大学環境保健医学講座寄生虫学教室

カルミン、ヘマトキシリン染色を行い、一部の虫体は走査電子顕微鏡写真撮影に供された。

成 績

セルカリアのオタマジャクシへの感染実験では、オタマジャクシ 36 匹中 35 匹 (97%) に感染が認められた (Table 1)。

1 匹のオタマジャクシの体内には平均 3.5 個のメタセルカリアが見出され、頭部 19.2%、体部 69.6%、尾部 11.2% と体部に最も多くの寄生がみられ、感染後の経過は、頭部：体部：尾部の割合が 30 日では 33.3% : 64.4% : 2.2%、70 日では、11.6% : 71% : 17.3%、90 日では 9% : 81.8% : 9% となった。また、実質臓器、腸管内は勿論、腹腔内のいずれにも寄生はなく、対照として別水槽に飼育されたオタマジャクシ 12 匹には全く寄生はなかった。

メタセルカリアはオタマジャクシの筋肉組織中を活発に伸縮しながら移動するものが多数みられたが、一部被嚢を形成するものもみられた。

被嚢しているものについては、Fig. 2 に示すように、薄い結合織の膜様のもので形成されていた。

前記のようにオタマジャクシを二枚のスライドグラスにはさんで軽く圧平した場合のメタセルカリア 7 個の平

均計測値は、体長 428 μ 、体幅 483 μ 、口吸盤の長さ 61 μ 、幅 50 μ 、咽頭の長さ 42 μ 、幅 24 μ 、後吸盤の長さ 41 μ 、幅 35 μ 、固着器の長さ 108 μ 、幅 74 μ であった。

実験動物に経口投与されたメタセルカリアの発育、特に排卵までの期間および回収成虫数については Table 2 に示した。

ネコにおける排卵までの期間は、2 匹共 26 日であった。

成虫はネコの腸にのみみられたが、他の実験動物では、腸内に成虫の寄生は確認できなかつただけでなく、腸間膜、横隔膜、筋肉などを調べたが虫体を検出することはできなかった。

ネコでの成虫の寄生部位は、ネコ No. 1 では十二指腸上端から盲腸まで 116cm であったが、その上部 10cm 以内に 1 個、30 cm 以内に 4 個、60 cm 以内に 7 個の寄生がみられたが 60cm より後部の腸内には全く寄生はみられなかった。ネコ No. 2 では同じく 107 cm のうち、上端より 10 cm 以内に 1 個、53 cm 以内に 13 個、70 cm 以内に 5 個の寄生がみられたが、それ以下の腸内には寄生していなかった。これら成虫は、2, 3 個ずつ腸絨毛の内に潜り込むように寄生していた。

ネコから得られた虫体 10 個の圧平標本の平均計測値は体長 1685 μ 、体幅 1150 μ 、口吸盤の長さ 87 μ 、幅 113 μ 、

Table 1 Experimental infections of *Rana rugosa* tadpole with *P. cordatum*

Days after infection	No. of tadpoles exposed	No. of tadpoles positive (%)	No. of metacercariae recovered		
			head	body	tail
30	14	100	15	29	1
70	19	95	8	49	12
90	3	100	1	9	1
Total	36	35 (97%)	24	87	14
Control	12	0	0	0	0

Table 2 Number of worms recovered at autopsy, and prepatent period

Experimental host	No. of metacercariae given	Prepatent period (days)	No. of worms recovered	Days after infection to autopsy
Cat No. 1	14	26	12	45
No. 2	31	26	19	55
Hamster No. 1-4	29	—	0	53
Rat No. 1-5	31	—	0	50-53
Mouse No. 1-3	11	—	0	32-34

咽頭の長さ 111 μ , 幅 117 μ , 固着器の長さ 76 μ , 幅 90 μ であつた (Fig. 3).

考 察

著者らの今回の実験では, *P. cordatum* のセルカリアは 3 日間の感染でツチガエルのオタマジャクシに 97% 感染した. 本実験では感染セルカリア数が不明なのでオタマジャクシへの感染率についてはふれることができないが, 少なくとも 97% の感染率はきわめて高い. 栗本 (1976) や内田ら (1977) はわが国の自然界で得たトノサマガエル, ダルマガエル, ツチガエル, ウシガエル, スマガエルからそれぞれメタセルカリアを見出していることから, ツチガエルのオタマジャクシが, その成体と同様に容易に第二中間宿主となりうることを示す.

Wallace (1939) は *Rana limnocharis* と *Rana guentheri* において後肢と背中筋にメタセルカリアを見出しているが, オタマジャクシの体内分布は述べていない.

著者らの成績では, ツチガエルのオタマジャクシを頭部, 体部, 尾部とに分けた場合, 60% 以上が体部から見出し, 感染後, 日数が経つにつれ, 体部に移動集中する傾向がみられたが, 腹腔内には見られなかった.

栗本 (1976) は蛙の後肢筋肉並びに筋肉結合織に被囊メタセルカリアが認められたという. しかし, 内田ら (1977) は蛙の腸管の漿膜下, まれに脂肪, 筋肉結合組織にみられ, いずれも被囊したものでメタセルカリアは厚い結合組織の被膜に囲まれていたと報告しているが, 著者らのオタマジャクシでえたメタセルカリアはほとんどすべてが遊離した状態であり, 腹腔内からは見だしえなかった. これらのメタセルカリアの計測値は, 栗本, 内田らのものとほぼ同様であつた.

Wallace はメタセルカリアの発育が十分に進むまでは被囊することなく遊離の状態にあるが 16 日目には発育したメタセルカリアになると述べ, 栗本は幼若なメタセルカリアが活発に蛙成体の結合織内を移動するのを観察している.

著者らは, 感染後 30 日以降の遊離メタセルカリアを実験動物に与え, ネコからは成虫を得ているので, これら遊離のメタセルカリアが発育不十分であるとは全く考えられない.

しかし, *Pharyngostomum* 属等の *Strigea* の種類では特有な生活史を有していることから, 蛙の成体とオタマジャクシとの差異を考慮にいれ今後の検討をまちたい.

なお, 被囊しているものでは, 宿主由来と考えられる

きわめて薄い円形の結合織様の被膜に囲まれているのが観察された.

終宿主の腸内での発育については, Wallace は終宿主の腸内から 12 日後に幼若虫として回収されたと報告しているし, 栗本はネコに蛙の成体から得たメタセルカリアを与え, 28 日から 34 日で虫卵の排泄を認めている. 今回の実験ではオタマジャクシのメタセルカリアが動物に与えられてから, 2 匹のネコが虫卵を排泄するまでに, とともに栗本の排卵日数よりやや早く満 26 日を要した.

しかし, 排卵開始後 3 日以内の虫卵で培養孵化を試みたが失敗に終わった. Wallace は 31 日で虫体子宮内に卵の形成を認めていることから, 満 26 日を経た時点では, 産卵は開始するが, 完全な受精卵を産むには至っていないものと推定される.

今回著者らはネコの他, ハムスター, ラット, マウスにもメタセルカリアを経口投与し, 経時的に検便を行ったが卵の検出はできなかつた. また, その腸管の寄生を調べたがネコ以外には成虫を回収しえなかつた.

栗本はネコ以外の終宿主として, 仔犬では排卵を認めたが虫体の回収はできなかつたという.

しかし, ネコでは 73.5% の成虫が回収されており, ネコが本吸虫の終宿主として適していることについては Wallace および栗本と同じ結果をえた.

2 匹のネコを剖検して回収した成虫の形態・計測値は, 他の研究者によるものとはほぼ同様であつたが, 走査電子顕微鏡による口吸盤下方において, 多数の小孔を認めた. この小孔の機能については全く不明である (Fig. 4).

結 論

ヒラマキモドキ *Polypylis hemisphaerula* から游出した *P. cordatum* のセルカリアをツチガエル *Rana rugosa* のオタマジャクシに 3 日間同居感染させたところ 97% の感染率を得た.

感染オタマジャクシでは, メタセルカリアは体部に最も多く, 次で頭部に寄生するが, 尾部には少なく, 腹腔内には認められなかった.

また, メタセルカリアはほとんどのものが被囊することなく筋肉内を遊離移動していた.

ネコに与えられた遊離メタセルカリアは成虫となつて小腸上部に寄生し, 73.5% の回収率であり, 排卵までに 26 日を要したが, ハムスター, ラット, マウスでは腸から成虫の回収はできなかつた.

本研究に、終始御援助を載いた山口大学医学部第一病理学教室 内野文彌教授に深尽なる謝意を表し、御協力をいただいた同教室員各位に感謝の意を表します。

なお、要旨は第48回日本寄生虫学会総会において報告した。

文 献

- 1) 梶山松生・梶山 緑・鈴木了司 (1979) : 日本における *Pharyngostomum cordatum* (Diesing, 1850) に関する研究 (1) の日本における第一中間宿主. 寄生虫誌, 28, 235-239.
- 2) 栗本 浩 (1976) : *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. 寄生虫誌, 25, 241-246.
- 3) 内田明彦・井上英幸・板垣 博 (1977) : 日本産両生類の寄生虫相 (第5報) 香川県の両生類・爬虫類に寄生する壺形吸虫 *Pharyngostomum cordatum* (Diesing, 1850) のメタセルカリア. 寄生虫誌, 26, 384-387.
- 4) Wallace, F. C. (1939): The life cycle of *Pharyngostomum cordatum* (Diesing) Ciurea (Trematoda: Alariidae). Trans. Am. Micr. Soc., 58, 49-61.

Abstract

STUDIES ON *PHARYNGOSTOMUM CORDATUM* (DIESING, 1850)
 (2) EXPERIMENTAL INFECTIONS TO TADPOLES
 AND LABORATORY ANIMALS

MATSUNARI KAJIYAMA

*(School of Medical Technology, Yamaguchi University
 School of Medicine, Ube 755)*

MIDORI KAJIYAMA

*(The first Department of Pathology Yamaguchi University
 School of Medicine, Ube 755)*

AND

NORIJI SUZUKI

*(Department of Parasitology, Kochi Medical
 School, Nankoku 781-51)*

For the experimental infection, 36 tadpoles *Rana rugosa* were put into an aquarium containing the cercariae of *Pharyngostomum cordatum*.

The metacercariae were found in 35 out of 36 tadpoles 3 days after the infection.

According to Wallace (1939) and Uchida *et al.* (1977), the metacercariae were usually encapsulated in the muscles of naturally infected frogs.

In this experiment most of the metacercariae in tadpoles continued to move about freely, without becoming encapsulated in muscles.

Experimental oral infections of freely-moving metacercariae were performed to 2 cats, 4 hamsters, 5 rats and 3 mice.

Of those animals, all of two cats began to expell the eggs in their feces 26 days after infection. The adult worms were discovered from the upper half of the intestine of the cats. The other laboratory animals seemed to be unsuitable host for this species.

Explanation of Figures

Fig. 1 Free metacercaria

Fig. 2 Encysted metacercaria

Fig. 3 Adult worm stained with H.E.

Fig. 4 Pores scattered on the surface near the oral sucker (SEM×10,000)

