

腸間膜動脈寄生性タイ住血線虫 *Angiostrongylus siamensis* の淡水産巻貝 *Biomphalaria glabrata* 体内における発育

片 倉 賢* 奥 祐三郎 神 谷 正 男
大 林 正 士

(昭和55年3月10日 受領)

Key words: *Angiostrongylus siamensis*, *Angiostrongylus costaricensis*, *Angiostrongylus cantonensis*, *Biomphalaria glabrata*

1978年7月, 東南アジアのタイ国で *Rattus sabanus* の腸間膜動脈から新種の住血線虫, タイ住血線虫 *Angiostrongylus siamensis* が発見された (Ohbayashi *et al.*, 1979). 腸間膜動脈寄生性住血線虫としては, これまでコスタリカおよびパナマからコスタリカ住血線虫 *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971の1種が知られるのみで (Morera and Céspedes, 1971; Tesh *et al.*, 1973), 本種をもつてユーラシアにおける最初のものといえる. さらに淡水産巻貝である *Biomphalaria glabrata* が本線虫の実験的中间宿主となることが明らかになり, 各種実験動物を用いてその継代にも成功している (神谷ら, 1979).

今回は, タイ住血線虫の中间宿主 *B. glabrata* 体内における発育を, 近縁種であるコスタリカ住血線虫ならびに広東住血線虫と幼虫の形態, 貝の組織反応などの面から比較検討した.

材料および方法

タイ住血線虫は1978年7月タイ国で採集した *Rattus sabanus* 寄生種をコットンラットで継代したもの, コスタリカ住血線虫は1976年聖マリアンナ医科大学病害動物学教室の分与を仰ぎスナネズミで継代したもの, および広東住血線虫は1976年札幌で採集したドブネズミ寄生種をラットで継代したものである.

中間宿主として使用した *Biomphalaria glabrata* は

本研究の一部は文部省科学研究費海外学術調査 (課題番号304105号) の補助を受けて行われた. 記して謝意を表する.

北海道大学獣医学部家畜寄生虫病学教室

* 現所属 東京慈恵会医科大学寄生虫学教室

25±2°C恒温室内曝気水槽にて飼育し, 餌としてレタスまたはモルモット用固型飼料を与えた. 殻長12~15mmの貝20個体を水を薄く張ったシャーレに移し, これに感染終宿主の肺または腸の病変部組織や糞便からペールマン法で集めた第1期幼虫を3~4万匹投与し, 一昼夜暴露して貝に感染させた. 感染貝を飼育水槽に戻したのち経時的に1~2個体の貝を取り出し実体顕微鏡下で解剖または人工胃液 (蒸留水100mlあたりペプシン0.4g, 濃塩酸0.6mlを加えた溶液) で消化し, 幼虫の発育状態を観察し第3期幼虫数を計数した. タイ住血線虫感染貝についてはその一部を感染後28日目から30±2°Cの水槽に移して飼育した. 第1期および第3期幼虫の計測は5%熱ホルマリン固定後に行つた.

また, 幼虫の貝への侵入経路, 寄生部位ならびに宿主貝の組織反応を観察するために上記と同様の方法で別の貝群に第1期幼虫を4時間暴露し, 暴露後の各時期に感染貝1個体の組織切片を作製した. 除殻した貝はZenker氏液で3~6時間固定しパラフィン包埋を経て厚さ8μの連続切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色を施した. *B. glabrata* の各器官に分布する幼虫数の算定には連続切片標本のうち65~100枚の標本を観察しその実数を記録した. なお貝の解剖用語はPan (1958) に従つて記載した.

結 果

1. タイ住血線虫幼虫の形態

タイ住血線虫幼虫の各ステージを Plate Fig. 1 に示した. 第1期幼虫の計測はコットンラットの糞から遊出した20匹について行い, その計測値を Table 1 に示した. 第1期幼虫は体長0.24~0.28mm, 体幅0.014~0.017mm

Table 1 Morphologic characteristics of 1st stage larvae of three *Angiostrongylus* species (measurements in mm)

	<i>Angiostrongylus siamensis</i>	<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	<i>Angiostrongylus cantonensis</i>
Origin of larvae	cotton rat	mongolian gerbil	rat
Body length	0.24-0.28(0.26)*	0.22-0.25(0.23)	0.26-0.31(0.29)
Body width	0.014-0.017(0.015)	0.012-0.014(0.013)	0.014-0.017(0.015)
Length of esophagus	0.11-0.13(0.12)	0.11-0.12(0.12)	0.11-0.13(0.13)
Genital primordium (distance from posterior end)	0.085-0.095(0.090)	0.065-0.085(0.074)	0.080-0.11(0.097)
Length of tail	0.024-0.026(0.025)	0.019-0.022(0.021)	0.024-0.029(0.028)

* measurements based on 20 specimens, and the means in parentheses

Table 2 Morphologic characteristics of 3rd stage larvae of three *Angiostrongylus* species collected from *Biomphalaria glabrata* (measurements in mm)

	<i>Angiostrongylus siamensis</i>	<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	<i>Angiostrongylus cantonensis</i>
Body length	0.46-0.55(0.50)*	0.37-0.44(0.39)	0.44-0.48(0.46)
Body width	0.026-0.038(0.031)	0.029-0.033(0.030)	0.029-0.036(0.031)
Length of esophagus	0.16-0.19(0.18)	0.14-0.17(0.15)	0.16-0.19(0.17)
Excretory pore (distance from anterior end)	0.069-0.087(0.076)	0.069-0.081(0.076)	0.084-0.091(0.087)
Genital primordium (distance from posterior end)	0.16-0.19(0.17)	0.13-0.16(0.14)	0.16-0.19(0.17)
Length of tail	0.029-0.041(0.035)	0.024-0.031(0.026)	0.033-0.043(0.039)
Excretory pore/length of esophagus ratio in %	46.1	52.6	53.1

* measurements based on 20 specimens, and the means in parentheses

で3種の住血線虫の中では中間の大きさであった。食道長は0.11~0.13mmで、生殖原基は尾端から0.085~0.095mmの位置にあり、尾長は0.024~0.026mmであった。尾端背側にはくびれがあり住血線虫第1期幼虫としての特徴を備えていたが、他種との区別は困難であった。*B. glabrata*に侵入した幼虫は直ちに被囊しその中で発育した。感染後4日目には体長・体幅とも著しく増大し腸管の栄養顆粒が増加しているのを認めた。第1回目の脱皮は感染後14~18日目に生じ、第2期幼虫ではさらに体幅を増し栄養顆粒のため内部が透視し難くなっていた。第3期幼虫は感染後18日目から認められた。感染後7週目に消化法で遊出させた第3期幼虫の計測値をTable 2に示した。第3期幼虫は体長0.46~0.55mm、体幅0.026~0.038mmで3種の中では最も大きい値を示した。食道長は0.16~0.19mm、排泄孔は頭端から0.069~0.087mmの位置に開口し、生殖原基は尾端から0.16~0.19mmの距離にあり、尾長は0.029~0.041mmであつ

た。すべての個体で排泄孔が食道長の半分よりもやや前方に位置しており、食道長に対するその割合は平均46.1%で他2種の場合と異なる特徴を示した。発育した第3期幼虫では虫体が細くなり栄養顆粒も減少し、口腔内面のchitinous rodsや排泄孔が明瞭に認められた。尾端はほぼ円錐状に終りクチクラはやや厚く、この部位に横条が認められた。

2. 第3期幼虫の検出状況

各種住血線虫第1期幼虫を感染させた*B. glabrata*を人工胃液で消化して検出した総幼虫数に対する第3期幼虫の割合をTable 3に示した。幼虫の検出は、それぞれ1個体の貝を37°Cで30~60分間消化したのち消化液を少量ずつシャーレに移し実体顕微鏡下で毛細管ピペットを用いて行った。検出した第3期幼虫のうちタイ住血線虫は運動性に乏しく、コスタリカ住血線虫が最も活発な運動性を示した。25±2°C飼育群では感染後4週目で、コスタリカ住血線虫は89.0%、広東住血線虫は96.2

Table 3 Percentage of 3rd stage larvae of three *Angiostrongylus* species collected from *Biomphalaria glabrata*

Species	Rearing temperature of snail (C)	Days after infection							
		18	21	25	28	31	35	42	49
<i>Angiostrongylus siamensis</i>	25±2				33.9 (90)	34.9 (175)	44.7 (128)	73.3 (90)	85.0 (107)
	30±2*					28.0 (166)	77.8 (180)	92.4 (330)	94.6 (294)
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	25±2		33.0 (320)	88.4 (340)	89.0 (502)	96.4 (661)			
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	25±2	36.0 (487)	69.7 (297)	63.7 (619)	96.2 (629)	97.4 (646)			

Total numbers of collected larvae from one snail are in parentheses.

* The temperature shifted from 25±2C to 30±2C at 28th day after infection.

%が第3期に達したが、タイ住血線虫の場合は発育が遅く僅かに33.9%であった。そこでタイ住血線虫感染貝の一部を30±2Cに温度を上げて飼育し25±2C飼育群と比較した。25±2C飼育群ではその後徐々に第3期幼虫の割合が増え7週目で85.0%に達した。一方、温度上昇群ではその後1週目から幼虫の発育促進が認められ、2週後(感染後通算6週目)には92.4%が第3期に達するのを認めた。

3. 組織切片による観察

組織切片標本から計数した *B. glabrata* の器官別各種幼虫のおおまかな寄生数を Table 4 に示した。第1期幼虫投与直後の切片から、各種幼虫は貝の消化管(stomach, prointestine, midintestine)の総称として扱った粘膜炎から侵入したことが判明した。貝に侵入した幼虫は、タイ住血線虫では直腸稜(rectal ridge)、消化管漿膜(Plate, Fig. 4)、頭足部(head-foot)で塩基性の遊走細胞(amoebocytes)と線維芽細胞(fibroblasts)によつてとり囲まれて被囊(encapsulation)するものが多く、その他腎臓(kidney)、外套襟(mantle collar)、肝臓(liver)などにも認められた。一方、コスタリカ住血線虫と広東住血線虫は頭足部で被囊する幼虫が多く認められた。中間宿主貝の組織反応はタイ住血線虫に対するものが最も早く第1期幼虫投与終了後6時間目から開始された(Plate, Fig. 3)。被囊形成は感染後1日でほぼ完成しその被囊像は5週目まででは大きな変化は認められなかった(Plate, Figs. 4, 5, 6)。コスタリカ住血線虫と広東住血線虫の場合、貝の組織反応は第1期幼虫投与終了後24~48時間目から開始されたがその被囊像はタイ住血線虫の場合と比べ相違は認められなかった。

考 察

腸間膜動脈寄生性住血線虫はこれまで中米においてコスタリカ住血線虫が知られるのみであったが、今回、東南アジアのタイ国で新種が発見されたことは興味深い。コスタリカ住血線虫は幼児に好酸球形腹部肉芽腫症をひき起こす人獣共通寄生虫の一つであるが(Morera, 1973)、タイ住血線虫も終宿主における病変や実験動物に広く感染する(神谷ら, 1979)などの点でコスタリカ住血線虫と酷似している。さらに中間宿主として *Biomphalaria glabrata* に容易に感染したことから自然界における中間宿主は腹足類であることが推測される。したがって腹足類を食用とする習慣があれば人体への感染も十分考えられ、タイ国における今後の追跡調査が期待される。

タイ住血線虫の成虫はコスタリカ住血線虫より小型であるが(大林ら, 1979)、幼虫に関しては逆にそれよりも大きい結果が得られた。第1期幼虫を形態的特徴から他種住血線虫幼虫と区別することは困難であるが、第3期幼虫については排泄孔の位置や尾端の形態からコスタリカ住血線虫および広東住血線虫とは区別できるものと考えられる。コスタリカ住血線虫第3期幼虫の尾端はただ円錐状に終り、広東住血線虫のそれは先端がくびれて針状に終るものが多かった。後者の結果は Bhaibulaya (1975)の結果とも一致している。一方、タイ住血線虫の場合は *Angiostrongylus vasorum* と同様に(Rosen et al., 1970)尾端が円錐状に終りクチクラの横条が認められた。

Harris and Cheng (1975)によれば、広東住血線虫

Table 4 Numbers of larvae of three *Angiostrongylus* species in tissue sections of *Biomphalaria glabrata*

Species	Time after exposure	Digestive tracts		Rectal ridge	Kidney	Liver	Mantle collar	Head-foot	Others	Nos. of sections examined
		lumen mucosa	muscle layer or serosa							
<i>Angiostrongylus siamensis</i>	3 h.	many	10	5	4	0	0	3	2	65
	6 h.	many	11	1	6	1	0	3	3	100
	12 h.	few	0	5	6	1	0	3	3	100
	24 h.	0	0	13	19	2	0	3	1	100
	48 h.	0	0	7	24	5	0	11	2	100
	1 w.	0	0	7	11	0	1	3	7	100
	2 w.	0	0	9	12	5	1	0	2	65
	3 w.	0	0	13	19	3	0	4	5	80
	4 w.	0	0	15	8	0	0	3	1	100
	5 w.	0	0	18	21	7	0	5	6	100
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	3 h.	many	4	0	1	0	0	0	0	100
	6 h.	few	0	1	0	1	0	4	0	100
	12 h.	few	0	0	0	0	1	9	1	100
	24 h.	few	0	0	0	0	0	7	1	100
	48 h.	few	0	1	0	3	0	0	0	100
	1 w.	0	0	0	0	3	0	25	1	100
	2 w.	0	0	0	0	0	0	28	1	100
	3 w.	0	0	0	0	0	0	19	1	100
	4 w.	0	0	0	3	3	2	60	5	100
	5 w.	0	0	1	2	6	1	23	2	100
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	3 h.	many	0	0	5	0	2	1	2	100
	6 h.	many	5	1	4	3	1	9	1	100
	12 h.	few	0	0	0	3	0	13	0	100
	24 h.	few	0	0	1	0	0	4	0	100
	48 h.	0	0	0	1	0	0	2	1	100
	1 w.	0	0	0	0	0	0	4	1	100
	2 w.	0	0	1	0	0	1	2	1	100
	8 w.	0	0	1	2	7	0	28	7	100
	4 w.	0	0	7	24	3	1	25	15	100
	5 w.	—	—	—	—	—	—	—	—	Not done

文 献

第1期幼虫は *B. glabrata* に経口摂取されたのち、その消化管粘膜から侵入し各臓器に移動し被囊する。しかし第1期幼虫投与終了後3時間目の頭足部組織切片にも幼虫を認めたことから経皮感染も示唆している。今回のタイ住血線虫の場合もこれとほぼ同様の結果が得られ、幼虫の貝への主たる侵入経路は経口であり、一部の幼虫が直接経皮的に侵入したものと考えられる。貝体内における幼虫の発育の経過と被囊形成の過程は、時間的な差はあるものの基本的には他2種の場合と同じであった。また、こうした宿主貝の組織反応は侵入した幼虫の種類に依存しない非特異的の反応であると考えられる。しかしタイ住血線虫に対する組織反応が他種よりも早期に開始されたり、温度上昇による発育の促進が認められたことが宿主貝の防御機構や生理活性と関係したものであるかどうかなどの点については今後の検討を待たねばならない。

要 約

タイ国で発見された腸間膜動脈寄生性タイ住血線虫 *Angiostrongylus siamensis* を淡水産巻貝 *Biomphalaria glabrata* に感染させ、その体内における発育を近縁種であるコスタリカ住血線虫および広東住血線虫の場合と比較し以下の結果を得た。

1. タイ住血線虫第1期幼虫は3種の中では中間の大きさであったが、第3期幼虫は他2種よりも大きく、食道長の半分よりもやや前方に位置する排泄孔と尾端のクチクラの横条を特徴とした。

2. 感染貝を25±2°Cで飼育した場合、タイ住血線虫の第3期幼虫への発育は他2種に比べて遅いが、温度を上げると発育の促進が認められた。

3. おもに経口的に侵入したタイ住血線虫幼虫はその6時間後から宿主貝の反応をうけ、直腸稜、消化管漿膜、頭足部などで被囊した。他2種は侵入後24~48時間から組織反応をうけ、おもに頭足部で被囊した。

稿を終えるにあたり、タイ国における調査に際し多大なる御援助を頂いたタイ国 Mahidol University の Chamlong Harinasuta 教授ならびに Manoon Bhaibulaya 博士に深謝いたします。なお本論文の要旨は第87回日本獣医学会 (1979) において発表した。

- 1) Bhaibulaya, M. (1975) : Comparative studies on the life history of *Angiostrongylus mac-kerrasae* Bhaibulaya, 1968 and *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935). *Int. J. Parasit.*, 5, 7-20.
- 2) Harris, K. R. and Cheng, T. C. (1975) : The encapsulation process in *Biomphalaria glabrata* experimentally infected with the metastrongylid *Angiostrongylus cantonensis* : Light microscopy. *Int. J. Parasit.*, 5, 521-528.
- 3) 神谷正男・奥祐三郎・片倉 賢・大林正士 (1979) : タイ国における寄生虫相に関する研究 (II) 腸間膜動脈寄生 *Angiostrongylus* sp. の感染実験. *寄生虫誌*, 28(増), 88.
- 4) Morera, P. and Céspedes, R. (1971) : *Angiostrongylus costaricensis* n. sp. (Nematoda : Metastrongyloidea), a new lungworm occurring in man in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 18, 173-185.
- 5) Morera, P. (1973) : Life history and redescription of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 22, 613-621.
- 6) 大林正士・神谷正男・Bhaibulaya, M. (1979) : タイ国における寄生虫相に関する研究 (I) *Rattus sabanus* 腸間膜動脈に寄生する住血線虫の1種. *寄生虫誌*, 28(増), 33.
- 7) Ohbayashi, M., Kamiya, M. and Bhaibulaya, M. (1979) : Studies on the parasitic fauna of Thailand I Two new metastrongylid nematodes, *Angiostrongylus siamensis* sp. n. and *Thaistrongylus harinasutai* gen. et sp. n. (Metastrongyloidea; Angiostrongylidae) from wild rats. *Jap. J. Vet. Res.*, 27, 5-10.
- 8) Pan, C. T. (1958) : The general histology and topographic microanatomy of *Australorbis glabratus*. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, Harvard, 119, 237-299.
- 9) Rosen, L., Ash, L. R. and Wallace, G. D. (1970) : Life history of the canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet). *Am. J. Vet. Res.*, 31, 131-143.
- 10) Tesh, R. B., Ackerman, L. J., Dietz, W. H. and Williams, J. A. (1973) : *Angiostrongylus costaricensis* in Panama: Prevalence and pathologic findings in wild rodents infected with the parasite. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 22, 348-356.

Abstract

DEVELOPMENT OF THE MESENTERIC METASTRONGYLID
ANGIOSTRONGYLUS SIAMENSIS, IN *BIOMPHALARIA*
GLABRATA, AN EXPERIMENTAL
INTERMEDIATE HOST

KEN KATAKURA, YUZABURO OKU, MASAO KAMIYA
AND MASASHI OHBAYASHI

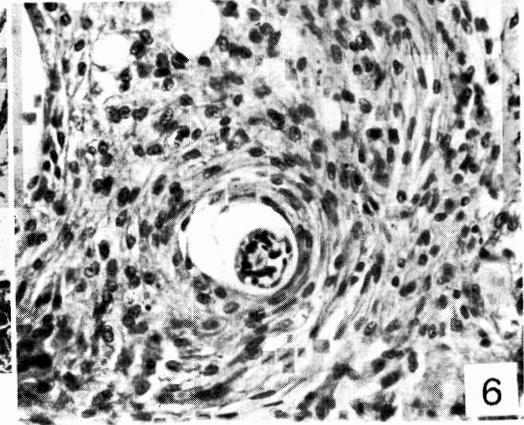
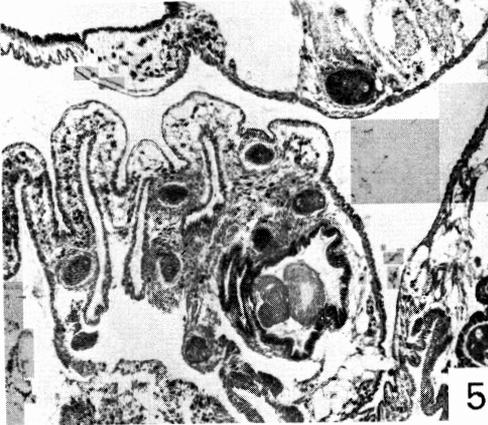
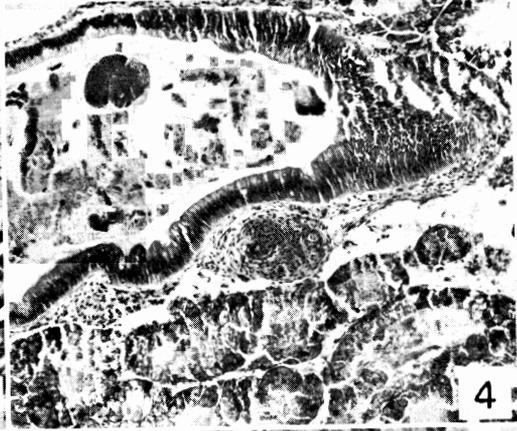
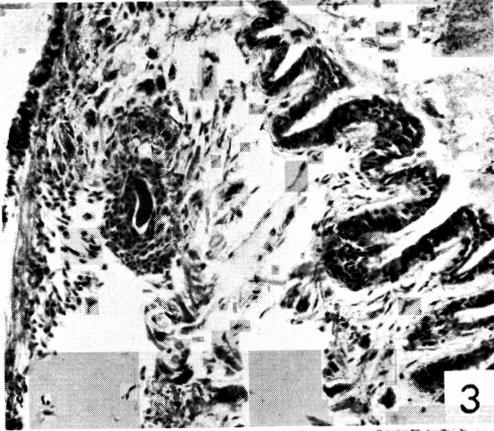
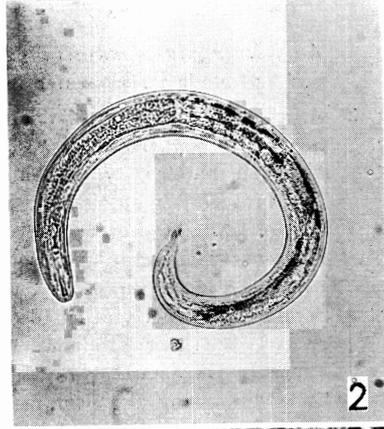
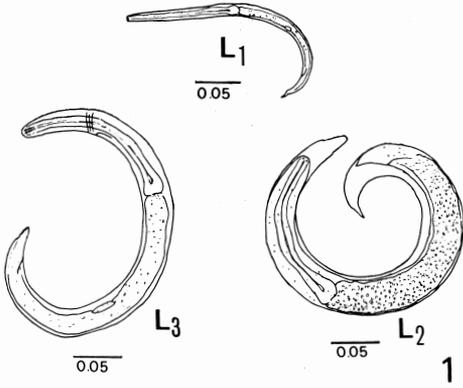
(*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,*
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

Development of the mesenteric metastrongylid *Angiostrongylus siamensis* Ohbayashi, Kamiya et Bhaibulaya, 1979, in the planorbis snail, *Biomphalaria glabrata*, an experimental intermediate host, was compared with those of *A. costaricensis* and *A. cantonensis*.

1. The 3rd stage larvae of *A. siamensis* from *B. glabrata* were characterized by their larger size, the site of excretory pore located slightly anterior to the middle of the esophagus and the presence of transverse striations at posterior end.

2. The growth of *A. siamensis* larvae to the 3rd stage was slower than those of the other two species at 25 ± 2 C, but it was accelerated when the temperature was shifted to 30 ± 2 C.

3. The infection routes of 1st stage larvae of three species into *B. glabrata* were mainly via the wall of digestive tracts and uncommonly via the epidermis. The larvae of *A. siamensis* were encapsulated mainly at the rectal ridge, the serosa of digestive tracts and the headfoot of the snail by 6 hours after the exposure. On the other hand, those of the other two species were encapsulated mainly at the head-foot of the snail by 24-48 hours after the exposure.



Explanation of Figures

- Fig. 1 *Angiostrongylus siamensis*, L₁: 1 st stage larva, L₂: 2 nd stage larva, L₃: 3 rd stage larva (scales in millimeters).
- Fig. 2 *A. siamensis*, 3 rd stage larva collected from *Biomphalaria glabrata*.
- Fig. 3 Section through rectal ridge of *B. glabrata* showing *A. siamensis* larva surrounded by basophilic amoebocytes at 6 hours after the exposure (HE stain, ×200).
- Fig. 4 Section through prointestine of *B. glabrata* showing *A. siamensis* larva encapsulated at the prointestine serosa at 48 hours after the exposure (HE stain, ×100).
- Fig. 5 Section through rectal ridge of *B. glabrata* showing several encapsulation reactions around *A. siamensis* larvae at 10 days after the exposure (HE stain, ×40).
- Fig. 6 Section showing a typical capsule surrounding *A. siamensis* 3 rd stage larva comprised of amoebocytes and fibroblasts at 4 weeks after the exposure. Note the presence of the molted cuticle ensheathing the parasite (HE stain, ×400).