

本邦産の牛に寄生する膵蛭の種の異同に関する研究

森 山 信 子

(昭和56年12月4日 受領)

Key words: *Eurytrema*, chromosomes, banding, phenotypes, immunoelectrophoresis, eurytremaiasis

緒 言

Eurytrema 属の吸虫は二腔吸虫科 (Dicrocoeliidae) に属する。この中には *E. pancreaticum*, *E. coelomaticum*, *E. rebelle*, *E. satoi*, *E. tonkinense*, *E. dajii*, *E. parvium* などの種類が記載されている (Yamaguti, 1958)。このうち本邦産の牛に寄生する膵蛭には *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* があるといわれている。従来, *E. pancreaticum* は牛・羊・山羊・フタコブラクダ・水牛・豚・猿・兎およびまれに人からの寄生例の報告がある。しかし *E. coelomaticum* は牛・羊・山羊・フタコブラクダからの報告はあるが人からの報告はない。人体寄生例は Castellani and Chalmers (Faust, 1949) の香港における報告をはじめとし殆んどが虫卵排出例であり, 排出虫卵の測定によつて *E. pancreaticum* と同定している。最近, 石井ら (1977) は原発性胃噴門部癌患者の剖検例に膵蛭の寄生を認め, その虫卵および虫体の計測値より *E. pancreaticum* と同定した。

従来, *Eurytrema* 属の分類に関しては疑問な点が多く, *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* についても虫体の大小, 虫卵の大きさ, 口・腹吸盤直径比などで分類しているが, その形態は互いに類似しており, 明確な判別は容易ではない。例えば, *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* とは同一種という報告 (Pryadko, 1962) もある反面, 病原性の違いを指摘する記載もあり (坂本, 1979), 異同問題も含めて両種の鑑別を行なうことは人体寄生例における臨床面からも重要な意味をもつものと思われる。

この種の異同問題を検証する上で重要な一手段と思われる細胞学的な研究は殆んどなく, わずかに Cho and Sasada (1978) が *E. pancreaticum* について染色体数と簡単な核型分析の結果を報告しているにすぎない。そこで著者らは細胞学的検討としては, 通常のギムザ染色と C-分染法を用いて本邦産の牛に寄生する膵蛭の核型分析および染色体相互の比較, 更にそれぞれの核型に対比させた虫体の形態学的な特徴を比較検討すると共に, 両種の種としての独自性の有無について検索を試みた。

また免疫電気泳動法を用いて, 両種の免疫学的な差異についても比較検討した。

材料と方法

染色体標本のための材料は1978年から1979年にかけて, 広島市, 福岡市, 東京都芝浦の3カ所の食肉検査所において7頭の牛より採取された牛寄生膵蛭287個体の精巢および卵巣である。

染色体標本作製法としては, 主にアリなどの小動物の染色体に用いられる Imai *et al.* (1977) の空気乾燥法に準じ, 低調処理までの前処理は別報 (森山ら, 1979) に詳述した通りである。染色はギムザ液で行なつた。観察した体細胞染色体の類別は Levan *et al.* (1964) の方法に準じて行なつた。分染法は染色体の動原体部位に局在する構成的異質染色質 (Constitutive heterochromatin) を特異的に染色するいわゆる C-染色法 (Sumner, 1972) を用いた。

また虫卵の大きさの計測は, 核型別に分けた虫体の総数220個体と67個体から得られた子宮内成熟卵の中から無作為に100個ずつ抽出していつた。子宮内成熟卵と

は、卵殻が黄褐色で内部にミラシジウムが形成されているものとした。虫体の計測には2枚のスライドグラスで圧平固定した後カルミン染色をした標本を用いた。

免疫電気泳動に関する方法は辻(1974)の方法に準じ、抗原・感作血清の作製、血清処理、吸収試験など一連の操作を行なった。すなわちあらかじめ核型別に分けて作製した抗原とそれをウサギに感作して得た抗血清との間の交叉反応および吸収試験後の反応を2種抗原それぞれについて比較検討を行なった。

成 績

1. 細胞学的検討

まず通常のギムザ染色による染色体の観察結果では、本邦産の牛に寄生する *Eurytrema* の体細胞および生殖細胞の分裂像から染色体数は $2n=26$, $n=13$ であることが確認された。また体細胞分裂中期の細胞における核型分析の結果は Photo. A に示す通りである。核型を構成する13対の相同染色体対(No. 1-No. 13)のうち、一見して識別しうる顕著な大きさの中部着糸型染色体(m)の1対(No. 1)を除いて、12対の中型ないし小型染色体(No. 2~No. 13)の相対長は互いに類似している。

しかし、これらの染色体の個々の相同対を長さの順に配列してみると、一部の染色体の形態に差異をもつ2種

類の核型が存在することが認められた。これらの2型を便宜的に type I, type II とすると、両者の違いは主に No. 5 と No. 7 の2対の染色体を比較することによって明瞭となる。すなわち、中型の No. 5 染色体は type I では次端部着糸型(st)であるのに対し、type II では端部着糸型(t)であった。さらに比較的小型の染色体群に属する No. 7 は type I では端部着糸型であるのに対し、type II では次中部着糸型(sm)であった。また僅かな違いではあるが上記の他に No. 12 染色体にも type I, type II で差異のあることが指摘できた。これらの違いを数的に表わしたのが Table 1 である。この2種の核型を構成するそれぞれの染色体の相対長および染色体腕の比を計測し、これらの数値から Levan *et al.* (1964) に準じて染色体の形態を類別した。またこれらの数値に基いてイデオグラムを図示し、両型の違いを一層明瞭に示した (Fig. 1)。

また、type I と type II の核型を構成する染色体間の形態的な差異を更に詳細に検討するために、構成的異質染色質を特異的に染色するC-染色法を用いてその分染パターンを比較した (Photos. B, C, D, E)。その結果、程度の差はあるがどの染色体にも動原体部位に C-band が出現した。そして、Photos. F, G で明瞭に区別できるように C-band の出現様式において両型の間に

Table 1 Quantitative characteristics of *Eurytrema* karyotypes (two types) based on measurements of fifty metaphasic cells

| Chromosome pair No. | Relative length | | Arm ratio | | Centromere position | |
|---------------------|-----------------|---------|-----------|---------|---------------------|---------|
| | type I | type II | type I | type II | type I | type II |
| 1 | 21.60 | 20.70 | 1.31 | 1.29 | m | m |
| 2 | 9.22 | 9.91 | 3.00 | 3.40 | st | st |
| 3 | 9.16 | 8.88 | 3.72 | 3.74 | st | st |
| 4 | 8.15 | 8.09 | 3.81 | 3.98 | st | st |
| 5 | 7.77 | 7.80 | 3.34 | 13.42 | st | t |
| 6 | 6.93 | 7.37 | 4.05 | 3.17 | st | st |
| 7 | 5.80 | 6.03 | 7.13 | 2.02 | t | sm |
| 8 | 5.62 | 5.71 | 1.35 | 1.38 | m | m |
| 9 | 5.59 | 5.53 | 3.82 | 3.29 | sm | sm |
| 10 | 5.31 | 5.14 | 1.36 | 1.52 | m | m |
| 11 | 5.15 | 5.13 | 1.24 | 1.22 | m | m |
| 12 | 5.08 | 5.10 | 3.25 | 7.50 | st | t |
| 13 | 4.96 | 4.57 | 1.24 | 1.31 | m | m |

- 1) Relative length=length of each chromosome/total length of whole chromosomes.
- 2) Arm ratio=length of long arm/length of short arm.
- 3) Centromere position according to the quantitative definitions of Levan *et al.* (1964).

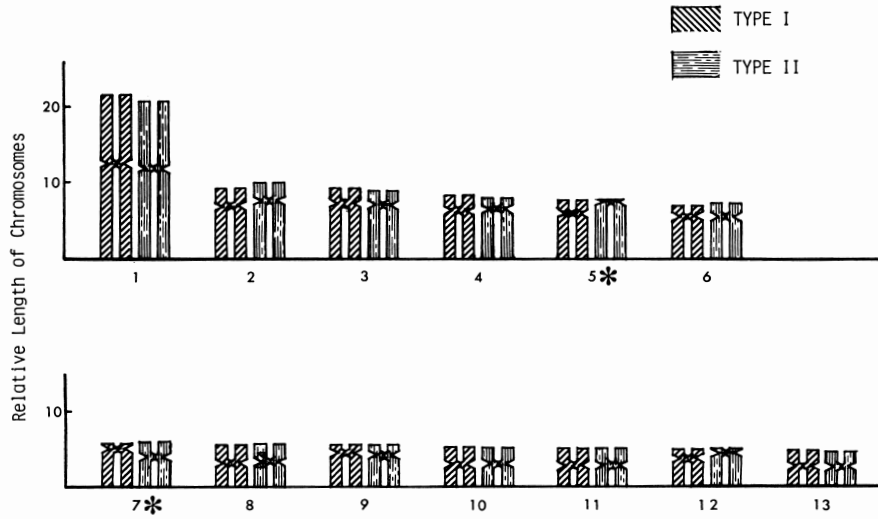


Fig. 1 Ideogram of two different karyotypes according to the measurements of Table 1.

注目すべき特徴が見られた。すなわち、type Iでは type II の次端部着糸型染色体の相同対両方に同等のスポットが現われる同型性の染色体対と、片方の染色体だけにスポットが現われる異型バンドの出現がみられ、変異性のあることが明らかとなった。また type II では No. 3に相当する染色体にはこのような濃染スポットが出現せず、No. 8の相同染色体の片方だけに顕著なスポットが現われるものがあつた。これに対応する type I の No. 8には他の染色体と同程度の薄いスポットしか認められない。この結果からみて、通常のギムザ染色によつて観察された No. 5, No. 7 染色体の形態的な違いの他に、No. 3, No. 8 の染色体では type I と type II の間で C-band の出現様式に差異があることが C-染色法によつて明らかになった (Photos. B, C, F, G)。この C-band の出現様式の違いは、いくつかの核板において高い再現性があり、また Photos. D, E に見られるように精母細胞の第 1 分裂中期において type I の No. 3 染色体および type II の No. 8 染色体に相当するそれぞれの 2 価染色体に同一様式の C-band が出現したことからみて、これらの染色体に固有の特徴であると認めることができる。

2. 核型別表現型の比較

以上述べた type I, type II 両型の核型に対応して、表現型の違い、すなわち外部形態上の差異を検討した。Photos. H, I, J, K に示したのは両型の違いを示す圧平標本による全体像、およびそれぞれの虫卵である。従来 *Eurytrema* の分類指標となる形態的要素としては虫体

Table 2 Summarized data of comparative characteristics between type I and type II

| Characteristics | type I | type II |
|--|--------------------------------------|---------------------------------|
| Egg size (μm) | | |
| Length | 39.3-48.2 (43.77 \pm 2.06) | 44.1-52.8 (46.97 \pm 2.07) |
| Width | 27.5-32.5 (30.41 \pm 1.09) | 28.4-34.5 (31.26 \pm 1.50) |
| Body width (mm) | | |
| Length | 10.2-12.2 (11.39 \pm 0.55) | 16.0-20.3 (18.44 \pm 1.33) |
| Width | 3.5- 6.4 (5.03 \pm 0.76) | 7.1- 8.4 (7.61 \pm 0.47) |
| Ratio of ventral sucker size to oral one | 0.92 \pm 0.02 (os \approx vs) | 0.77 \pm 0.07 (os<vs) |

* Based on the measurements of 100 eggs and 50 individuals in each of type I and type II.

の大きさ、口・腹吸盤直径比、精巣・卵巣の形、虫卵の大きさなどが取りあげられてきた。これらの形態のうちここでは虫体の大きさ(体長・体幅)、口・腹吸盤直径比、虫卵の大きさ(長径・短径)を表現型を調べる形質として取りあげた。それぞれの形質の測定値は Table 2 に示した通りである。虫卵の大きさは type I では100個の長径平均43.77 \pm 2.06 μm 、短径平均30.41 \pm 1.09 μm で短径に対する長径の比は1.45 \pm 0.08であつた。また type II では同数の長径平均46.97 \pm 2.07 μm 、短径平均31.26

Table 3 Summarized comparative data of characteristics between *E. pancreaticum* and *E. coelomaticum* by several authors

| | | Looss (1907) | Kurisu (1931) | Watanabe (1960) | Itagaki & Kume (1965) | Saito <i>et</i> <i>al.</i> (1973) |
|--------------------------------|--------|-----------------|------------------|--------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| <i>E. pancreaticum</i> | | | | | | |
| Egg size (μm) | Length | 50 | 50-75 | 41-55 | 50-80 | 43.1-68.8 |
| | Width | 34 | 34-38 | 28-38 | 35-40 | 27.5-35.0 |
| Body size (mm) | Length | 9.5-16.0 | 8.5-14.5 | 9.5-16.0 | 8.0-23.0 | — |
| | Width | 5.5- 8.5 | 3.0- 4.6 | 5.5- 8.5 | 4.5- 9.0 | — |
| Oral sucker/ Ventral sucker | | os>vs | os>vs | os>vs | os>vs | — |
| <i>E. coelomaticum</i> | | | | | | |
| Egg size (μm) | Length | 42-46 | — | 42-46 | 42-43 | 39.4-47.5 |
| | Width | 23-27 | — | 23-27 | 23-38 | 26.3-31.3 |
| Body size (mm) | Length | 7.5-10.0 | — | 5.0-8.0 | 5.0-8.0 | — |
| | Width | 3.5- 5.5 | — | 3.0-5.0 | 3.0-5.0 | — |
| Oral sucker/ Ventral sucker | | os \neq vs | — | os \neq vs | os \neq vs | — |

os=oral sucker vs=ventral sucker

$\pm 1.50\mu\text{m}$ で短径に対する長径の比は 1.50 ± 0.08 であり、type I は type II に対して小さめでやや丸型の虫卵であった。これらの値は Table 3 の各研究者 (Looss, 1907; 栗栖, 1931; 渡辺, 1960; 板垣・久米, 1965; 木船・高尾, 1971; 斎藤ら, 1973) の測定値と比較すると、type I は *E. coelomaticum* に、type II は *E. pancreaticum* の値に近いと思われる。また口・腹吸盤直径比は各50個体ずつ計測したところ、type I では平均 0.93 ± 0.02 、type II では平均 0.77 ± 0.07 で type I は *E. coelomaticum* に、type II は *E. pancreaticum* の値に近いと考えられた。虫体の大きさは0.18mm 程度の薄い濾紙をはさんだ2枚のスライドガラスで圧平した固定標本では、type I は平均体長 $11.39 \pm 0.55\text{mm}$ 、平均体幅 $5.03 \pm 0.76\text{mm}$ であり、type II は平均体長 $18.44 \pm 1.33\text{mm}$ 、平均体幅 $7.61 \pm 0.47\text{mm}$ であつて、type I は type II より小型であつた。この虫体の大きさ、虫卵の形態および口・腹吸盤直径比などから、type I は *E. coelomaticum* に type II は *E. pancreaticum* の値に近いという結論が得られた。またこれら2型の宿主別出現頻度を表わしたものが Table 4 であるが、総虫体数287個体中 type I は220個体 (76.7%)、type II は67個体 (23.3%)で、この2型は同一宿主内での共存は今までのところ認められていない。

3. 両種間の免疫電気泳動像の比較

免疫学的な差についても検討を行なつた。すなわち吸

Table 4 Frequency of two types of *Eurytrema* appearing in bovine hosts. Total 287 flukes were examined from 7 host animals

| Serial No. of bovine hosts | Place of collection | type I | type II |
|----------------------------------|------------------------|------------|-----------|
| 1 | Hiroshima | | 29 |
| 2 | Hiroshima | 98 | |
| 3 | Hiroshima | | 25 |
| 4 | Hiroshima | 93 | |
| 5 | Shibaura | 29 | |
| 6 | Fukuoka | | 11 |
| 7 | Fukuoka | | 2 |
| Total | | 220(76.7%) | 67(23.3%) |

収試験を用いて行なつた両型の免疫電気泳動像の比較成績は Fig. 2 の通りである。Fig. 2 上図は type I 感作家兎血清を type II 抗原で吸収したもので、点線で示した沈降帯は吸収により消失したもので、すなわち両型に共通な沈降帯であり、実線で示したものは吸収後も残存した type I に特有な沈降帯である。Fig. 2 下図は type II 感作家兎血清を type I 抗原で吸収したもので点線は共通沈降帯、実線は type II に特有な沈降帯を示している。この結果 type I 抗原と抗 type I 感作家兎血清の間には12本の沈降帯が出現するが、type II 抗原による吸収試験後には1本の沈降帯が残存し、この1本の沈降

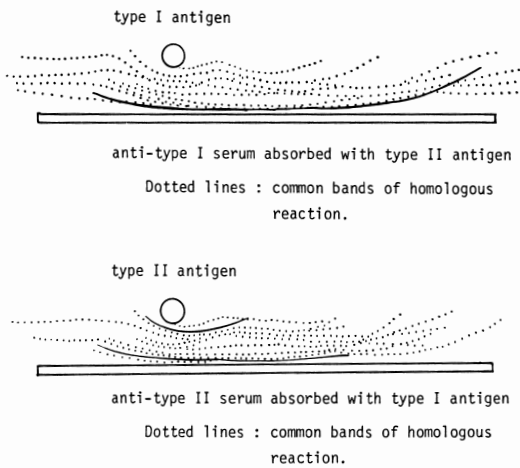


Fig. 2 Immunoelectrophoresis diagram of type I and type II after absorption procedures.

帯は type I の特異沈降帯と判断された。なお、この吸収後血清は、type II 抗原との間には沈降帯が認められず完全吸収が行なわれたことを証明している。また type II 抗原と抗 type II 感作血清との間には13本の沈降帯が見られ、type I 抗原で吸収を行なつたところ2本の沈降帯が残つた。これらの特異沈降帯と思われるバンドの出現位置により両型で差異が認められた。

考 察

獣医学の分野においても肝蛭症などに比し比較的軽微な症状として軽視されてきた膵蛭症も、最近 *E. pancreaticum* 症と *E. coelomaticum* 症との間で病原性が異なるという報告(坂本ら, 1979)があり問題となつてきた。牛では *E. pancreaticum* による症状は一般に軽微だが、重感染例では栄養障害によつて高度な体重減少、貧血、便秘などの症状が現われ、組織学的には膵管は著明に肥厚し、その内膜に腺腫様の増殖があり、好酸球、淋巴球などの細胞浸潤や間質細胞結合織の増殖などの炎症性病変とともに、腺細胞やランゲルハンス島の圧迫萎縮、破壊が認められるという(渡辺, 1960)。

一方、*E. coelomaticum* の寄生する牛に見られる主徴は栄養障害であり、患者は極度に痩せて食欲不振、被毛粗剛と泡沫性の流涎と下痢または軟便が見られ、衰弱して廃用牛として処分されるものもあるという。虫体は膵臓のほか胆管、十二指腸にまで寄生が見られ、膵管壁病変は *E. pancreaticum* 寄生の場合より極端に強く、膵管壁は著しく肥厚し、膵管内のみならず膵管末梢や実

質にまで虫体が認められ、時には高度の慢性間質性膵炎(膵硬変)像を呈するとの報告がある(坂本, 1979)。

このように *E. pancreaticum* 症よりも *E. coelomaticum* 症の方がより重篤な症状を呈するとされるが、両種の分類には疑問な点が多く、両種は Synonym であるという説と別種であるという説がある。これは *Eurytrema* 属の各種間に明確な区別点がなく、虫体・虫卵の形態測定値のみによつて判別しているためと思われる。Pryadko (1962) は膵蛭虫体多数を計測比較した結果、*E. coelomaticum* は *E. pancreaticum* の发育途上にあるものと考え、両者は Synonym であるとした。また Chinone and Itagaki (1976) は膵蛭の感染実験により終宿主内での发育過程を追つてゆき、*E. coelomaticum* といわれるものの中には *E. pancreaticum* の发育段階のものも含まれる可能性を示した。一方、渡辺(1960)は本邦産の牛に寄生する膵蛭には *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* の2種があるとしながら、両者は虫体の大小、形態ならびに口・腹吸盤直径比などで区別可能であるが、その形態は互いに類似しており、明確な判別は困難であると述べている。野坂ら(1970)も両種の測定値の間に共通する部分があり、測定値のみから区別することはできず、実際には総合的に判断して区別せざるを得ないとしている。さらに坂本(1979)は地理的な分布や病原性の違いから、両者が種を異にするのは確かであると報告した。

以上の如き形態学的特徴に基く本邦産の牛に寄生する膵蛭 *Eurytrema* 属吸虫の分類に関する問題点を追究する目的で、今回、細胞学的知見を加味することを試みた。

本邦産の牛に寄生する *Eurytrema* には13対の染色体対をもつ核型の異なる2つのタイプが存在することを明らかにした。この核型の相違は2対の染色体(No. 5, No. 7)の形態に明確に現われている。更にそれぞれの染色体間の特徴を明らかにするために、2型の核型のC-bandパターンを比較検討した結果、No. 3とNo. 8の染色体対に両型の間でC-bandパターンに違いが認められた。それらは体細胞分裂および減数分裂中期像で非常に高い再現性が得られている。

次に、これら2型の核型とそれに対比する表現型の差異との関連性についての検討を行つた。従来 *Eurytrema* の分類指標とされている形態としては、虫体・虫卵の大きさ、口・腹吸盤直径比、精・卵巣の形などである。このうち特に注目すべきは人体症例の殆どの場合の唯一の鑑別点とされている虫卵の大きさである。これ

らの測定値は Looss (1907), 渡辺 (1960), 板垣・久米 (1965), 野坂ら (1970), 木船・高尾 (1971) などの各研究者によつて若干の違いはあるが (Table 3), 殆んど同じ見解である。即ち *E. pancreaticum* は *E. coelomaticum* より大型種であり, 虫卵も大きいとされている。口・腹吸盤の直径比は *E. pancreaticum* では口吸盤が腹吸盤よりかなり大きく, *E. coelomaticum* では口・腹吸盤の大きさに差がないという結果になつてゐる。

これらの表現型と2型の核型の結果を比較してみると type I は *E. coelomaticum* であり, type II は *E. pancreaticum* の値に近似していることが明らかになつた。

さらに両型間の免疫学的な差異についての検討も行なつた。免疫学的な差異については辻 (1975) が免疫電気泳動法を用いて数種の蠕虫類の比較検討を行ない, 本法が分類の一方法として有用なものであることを報告している。この免疫電気泳動法を用いて両型の比較を行なつたところ両型の泳動像には差異が認められ, さらに吸収試験の結果, type I を type II 抗原で吸収したところ1本の沈降帯が残存し, type II を type I 抗原で吸収したところ2本の沈降帯が残存した。これらの沈降帯の数および泳動像に差異が見られることから, 免疫学的にも両型間では異なる抗原性を持つことが明らかとなつた。

現在肝蛭症, 日本住血吸虫症, 肺吸虫症, 包虫症を初めとする各種の蠕虫性疾患の診断法および寄生種の鑑別にこの免疫電気泳動法が大きな役割をはたしている現実から, 今後肝蛭の人体寄生症例にも本法が役立つものと考えられる。

このように核型, 表現型および免疫学的にも異なる2つのタイプの *Eurytrema* 属の吸虫はこれまでのところ同一宿主個体内には認められていないことから両型は別種であり, type I は *E. coelomaticum*, type II は *E. pancreaticum* とみなすことが妥当であると考えられる。

一方, 肝蛭の人体寄生例は少なく, そのうちの殆んどが虫卵排出例で虫卵の形態観察および測定値により種の推定が行われている。

肝蛭の最初の人体寄生例を報告した Castellani and Chalmers (Faust, 1949) は人の糞便中より得られた虫卵を近似種の *Dicrocoelium dendriticum* (槍形吸虫) 卵と区別し, *E. pancreaticum* 卵と同定した。また浅田ら (1966) は岡山県から6例の肝蛭卵の持続的排卵者を

認め, 虫卵の大きさ, 形, 色, 卵黄細胞性顆粒などの特徴により槍形吸虫卵と区別し, *E. pancreaticum* 寄生症例とした。斎藤ら (1973) は長期に亘り虫卵を排出している症例より得た虫卵を計測し, *E. pancreaticum*, *E. coelomaticum*, *Concinum ten*, *D. dendriticum* などの虫卵と比較し, 大きさ, 形, 腺細胞, 纖毛などの点から, 本症例の虫卵は *E. pancreaticum* の卵であるとし, その排卵が2カ月間にわたつて続いたことから, これを人体症例として報告した。虫体を人体より取り出した症例としては, 石井ら (1977) が報告した原発性胃噴門部癌の剖検例があるが, この場合虫体は膵臓の体部から尾部の膵管にいたるまで多数認められ, そのうちの2個体の染色標本を作製し, 他の2個体を虫卵観察に用い, 詳しく形態学的測定を行なつてゐる。さらに膵臓の病理組織学的所見は膵管の拡張および脂肪浸潤であると報告している。

このように, 石井らの剖検例によつて偶然に発見されたもの以外は虫卵排出のみで肝蛭症と判断しており, 虫卵の鑑別は臨床的にも疫学的にも重要なポイントになつてゐる。上記の報告例の虫卵の形態的特徴をまとめたのが Table 5 である。これらの計測値を Table 3 の各研究者の *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* の計測値および Table 2 の type I, type II の値と比較すると, 虫卵の大きさだけではもちろん両者の間には測定値の重なりがあるために種の決定は困難ではあるが, 測定値を提示している全ての症例が大型虫卵をもつ *E. pancreaticum* の値に近く, *E. coelomaticum* であろうと思われる症例は1例もみあたらない。しかしこの種の吸虫に感染する機会としては, 両種とも第二中間宿主であるキリギリス科の昆虫 (ホシササキ *Conocephalus maculatus*, ウスイロササキ *Conocephalus chinensis* などのササキ類) がおしつぷされて手についたメタセルカリアが経口的に摂取されるなど, その感染機会は充分にあり得るものと思われるが, 少数感染の場合など自覚症状も少なく看過される場合も多いと思われる。今後 *E. coelomaticum* の人体感染の有無については宿主・寄生虫関係の面からの検討なども行ないたいと考えてゐる。

以上, 形態学, 細胞学, 免疫学的に検討した結果, *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* の間には差異が認められ, 両種は別種と判断された。

Table 5 Some human cases of suspected eurytremiasis

| Authors | Diagnosis | Materials | Measurements | Features |
|-------------------------------------|------------------------|-------------|--|---|
| Castellani & Chalmers (Faust, 1949) | <i>E. pancreaticum</i> | Eggs | — | different from <i>D. dendriticum</i> |
| Asada <i>et al.</i> (1966) | <i>E. pancreaticum</i> | Eggs | 47-49/29-31 μ m | dark brown, symmetry, miracidium-pear shaped |
| Saito <i>et al.</i> (1973) | <i>E. pancreaticum</i> | Eggs | 43.8-55.6/ 28.1-35.6 μ m (\bar{M} =48.3/30.6 μ m) | dark brown, miracidium-lemon shaped with long cilia |
| Ishii <i>et al.</i> (1977) | <i>E. pancreaticum</i> | Eggs | \bar{M} =(47.06 \pm 3.88)/ (30.35 \pm 2.74) μ m | |
| | | Adult worms | size 10/5mm, 11/7mm oral sucker 2.1/2.0mm, 2.0/1.9mm ventral sucker 1.6/1.6mm, 1.4/1.5mm | |

要 約

1. 日本産の牛に寄生する脛蛭 *Eurytrema* 属の体細胞および生殖細胞を用いて染色体を観察し、詳細な核型分析を行なった。その結果、染色体数はこれまで *E. pancreaticum* として報告された通り $2n=26$ であるが、この吸虫にはゲノムを構成する一部の染色体に形態を異にする2種類の核型が見出され、核型から考えて少なくとも2型 (type I と type II) があることが明らかとなった。

2. これらの核型をより詳細に比較するため C-染色法によって得られた C-band の出現様式を検討した結果染色体の形態 (相対的な長さや動原体の位置) に差異の現われなかつた両型の相同染色体対の間でも分染パターンの異なる2対の染色体の存在がみつめられた。

3. 上記2型の吸虫の出現頻度は総数287個体のうち type I が76.7%、type II が23.3%であり、両型は同一宿主内では同時に認められていないが地理的隔離の有無については不明である。

4. 核型に見られる変異に併せて、分類上の重要な指標となる形質、すなわち虫体の大きさ、口・腹吸盤直径比および虫卵の大きさについても測定した。その結果、type I と type II の間でこれらの表現型についても有意の差がみられ、これまで形態学的に検討されてきた知見に基いて種の類別をすると、type I は *E. coelomaticum* であり、type II は *E. pancreaticum* に相当す

ると考えるのが妥当である。

5. 上記の如き核型間の免疫電気泳動像の比較を行ない、type I と type II の間には沈降帯の数及び泳動像において差異が認められた。

6. *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* の異同問題を考慮して、従来報告された人体寄生症例の種別をあらためて検討したところ、全ての症例が *E. pancreaticum* の寄生によるものと判断された。

以上の如く *E. pancreaticum* と *E. coelomaticum* は形態学、細胞学、免疫学的にも差異が認められ両種は別種であると判断される。

謝 辞

稿を終るにあたり、終始暖かい御指導と論文の御校閲を賜った辻 守康教授に深い感謝の意を表すると共に、核型の分類など細胞学的研究に御指導いただいた島根大学教育学部生物学教室瀬戸武司教授に厚く御礼申し上げます。また貴重な助言と材料を御提供下さった九州大学医学部寄生虫学教室石井洋一教授および麻布大学獣医学部寄生虫学教室茅根士郎助教授、そして福岡大学医学部寄生虫学教室波部重久博士に深く感謝いたします。

本稿の要旨の一部は第30回染色体学会 (1979) と第35回日本寄生虫学会西日本支部大会 (1979) で発表した。

文 献

- 1) 浅田順一・岡橋 清・土肥素子・西村時子・笠

- 原勝次・岩本貞子(1966):本邦において初めて人体より膵吸虫の持続的排卵を確認した観察所見. 寄生虫誌, 15, 302.
- 2) Chinone, S. and Itagaki, H. (1976): Development of *Eurytrema pancreaticum* (Trematoda). II. Development in definitive hosts. Bull. Azabu Vet. Coll., 1(2), 73-81.
 - 3) Cho, H. and Sasada, K. (1978): Chromosomes of pancreatic fluke, *Eurytrema pancreaticum* (Trematoda: Digenea: Dicrocoeliidae). Chromosome Information Service, 24, 18-19.
 - 4) Faust, E. C. (1949): Human Helminthology. Lea and Febiger, Philadelphia, 206.
 - 5) Imai, H. T., Crozier, R. H. and Taylor, R. W. (1977): Karyotype evolution in Australian ants. Chromosome, 59, 341-393.
 - 6) 石井洋一・藤野隆博・波部重久・古賀正崇・岡一成・斎藤 奨(1977):膵蛭の人体寄生例. 寄生虫誌, 26 (6・補), 58.
 - 7) 板垣四郎・久米清治(1969):家畜寄生虫病学. 朝倉書店, 東京, 76-77.
 - 8) 木船佛嗣・高尾善則(1971):九州産の膵蛭について. 寄生虫誌, 20, 304.
 - 9) 栗栖吉夫(1931):日本産野兎並ニ家兎ニ於ケル内臓寄生虫ノ研究. 熊本医学, 7, 982-1014.
 - 10) Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. (1964): Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52, 201-220.
 - 11) Looss, A. (1907): On some parasites in the museum of the school of tropical medicine, Liverpool. Ann. Trop. Med. Parasit., 1, 128-134.
 - 12) 森山信子・辻 守康・瀬戸武司(1979):日本産肝蛭 *Fasciola* sp. の核型とその表現型. 寄生虫誌, 28, 9-19.
 - 13) 野坂 大・芦沢広三・永田良胤(1970):畜牛膵蛭症に関する病理学的研究. 第6報,九州牛から採集した膵蛭虫体の計測値. 宮大農報, 17, 320-333.
 - 14) Pryadko, E. I.: On the identification of various species of *Eurytrema*. Trudy Inst. Zool., Alma-Ata, 16, 52-56.
 - 15) 斎藤 奨・辻 守康・青木秀信・大田健曹・栗本博子(1973):膵吸虫様虫卵を長期に亘り排出せる1人体寄生例について. 広島医学誌, 21, 99-103.
 - 16) 坂本 司(1979):反芻獣の膵てつ症と小形膵てつ症. 動薬研究, 18, 9-16.
 - 17) Sumner, A. T. (1972): A simale technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exp. Cell Res., 75, 304-306.
 - 18) 辻 守康(1974):寄生蠕虫類の免疫電気泳動法について. 寄生虫誌, 23, 335-345.
 - 19) 辻 守康(1975):数種寄生蠕虫類の感作血清による免疫電気泳動像の比較研究. 寄生虫誌, 24, 227-236.
 - 20) 渡辺昇蔵(1960):家畜の寄生虫病とその諸問題(6). 畜産の研究, 4, 979-984.
 - 21) Yamaguti, S. (1958): Systema Helminthum. vol. 1. Interscience, New York, 834-836.

Abstract

TAXONOMICAL STUDIES OF JAPANESE BOVINE PANCREATIC
FLUKES (*EURYTREMA SP.*)

NOBUKO MORIYAMA*

(Department of Parasitology, University of Hiroshima, School of
Medicine, Hiroshima, Japan)

Chromosomes of bovine pancreatic flukes were examined in gonadal tissues by means of air-drying technique. Detailed karyological analyses on somatic cells having 26 chromosomes demonstrated the existence of two different karyotypes in these flukes. Two pairs (nos. 5 and 7) out of 13 pairs of homologous chromosomes showed significant variance of morphology between types I and II of the flukes.

Additional differences were demonstrated by the C-banding method. The C-banded pattern in nos. 3 and 8 of both karyotypes was not identical, thereby indicating a different distribution of constitutive heterochromatin on the chromosomes.

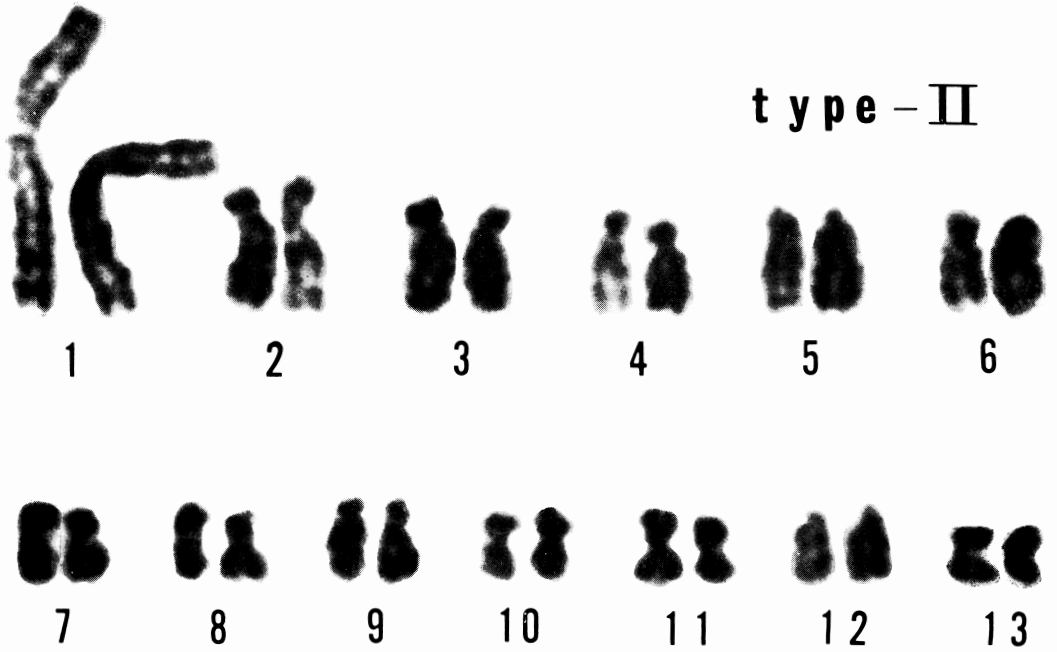
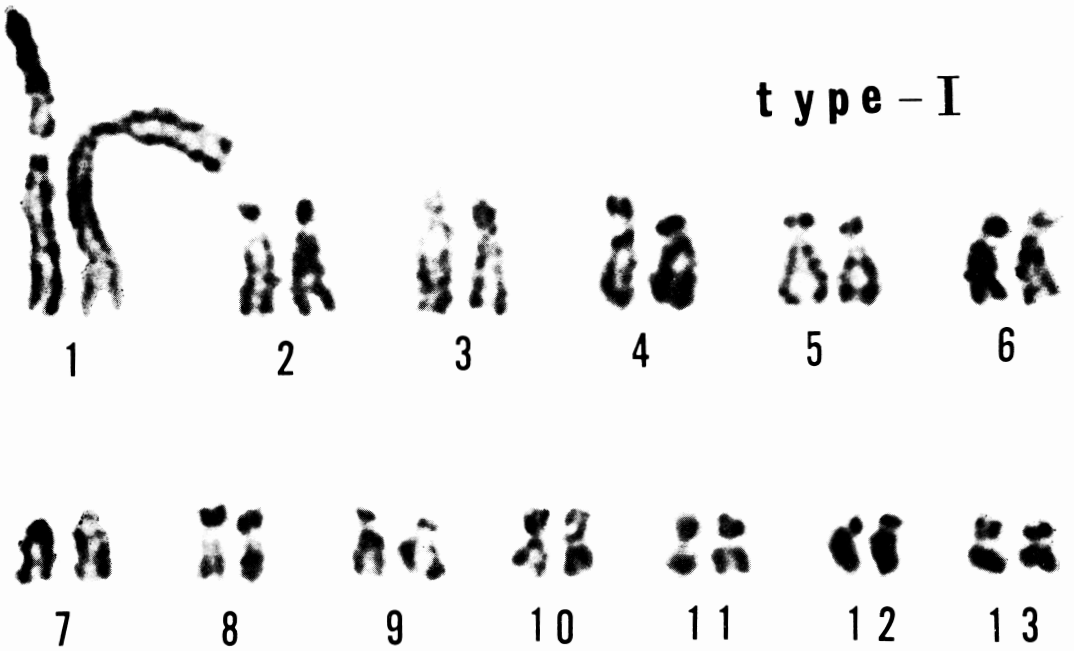
The two types of flukes examined in 7 cattle appeared in rates of 76.7% for type I and 23.3% for type II, respectively.

The obvious phenotypic variance between types I and II was seen in the taxonomical characteristics such as body size, comparative size of the ventral to the oral sucker, and egg size. Considering the variance of both types, as based on the statistical data of these characteristics and on the comparable published data, at least two species of flukes can be found Japanese cattle. These were *Eurytrema coelomaticum* for type I and *E. pancreaticum* for type II, respectively.

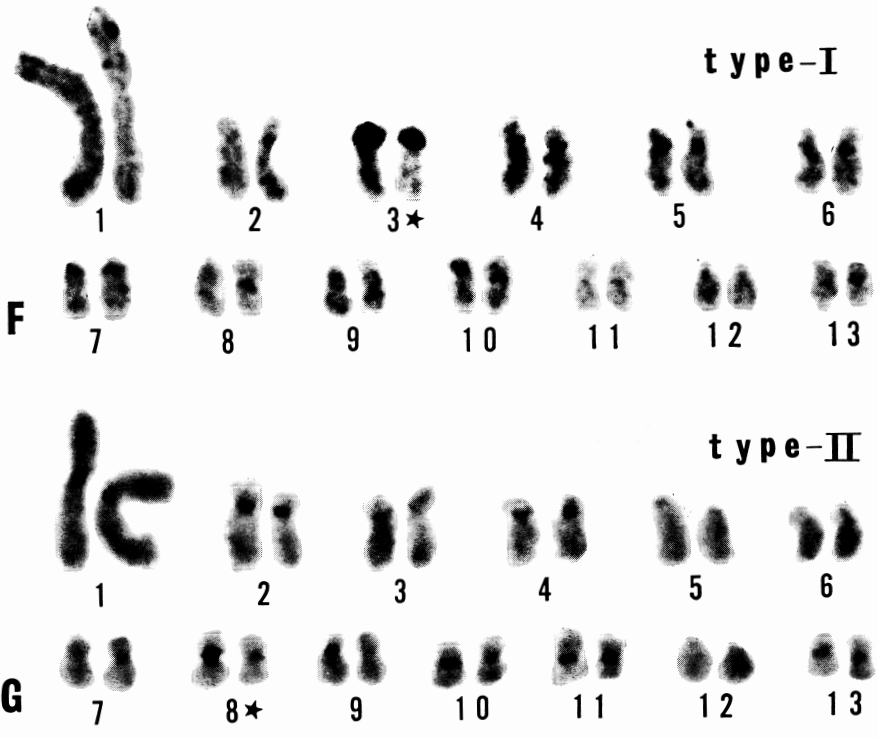
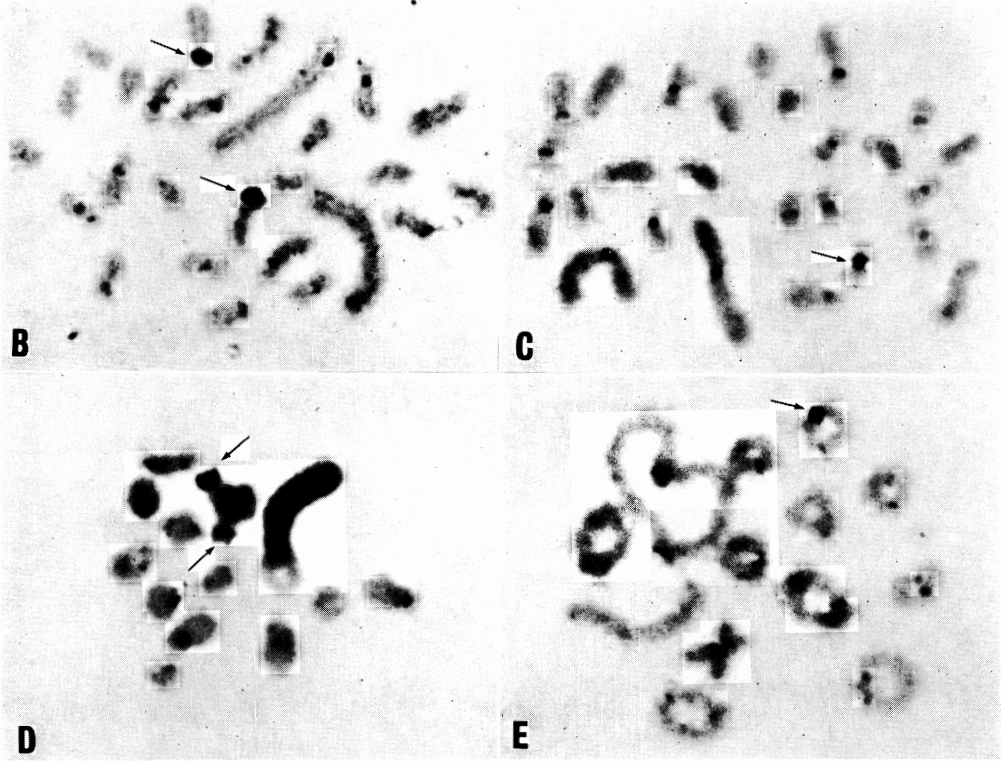
Immunoelectrophoresis were applied to investigate the difference between types I and II. For the identification of specific bands, non-identify reactions were examined by the absorption procedure. One probable specific band was demonstrated in "type I-type II" and two were in "type II-type I". The number and distribution of these bands were not identical between type I and type II.

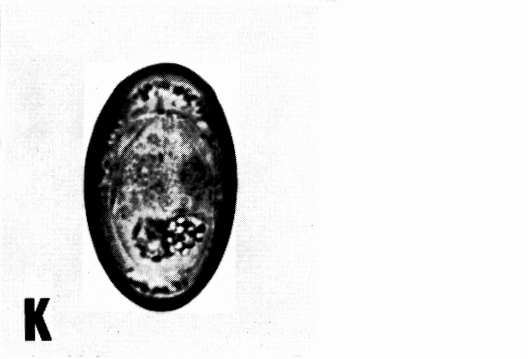
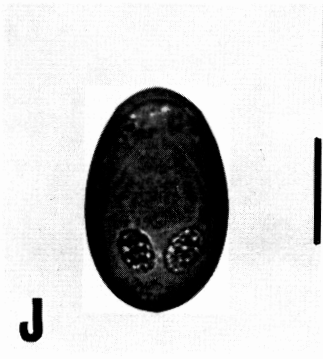
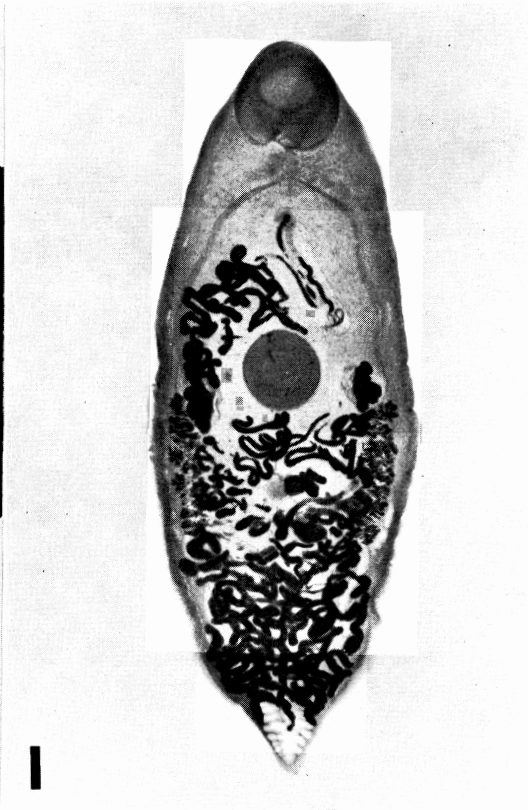
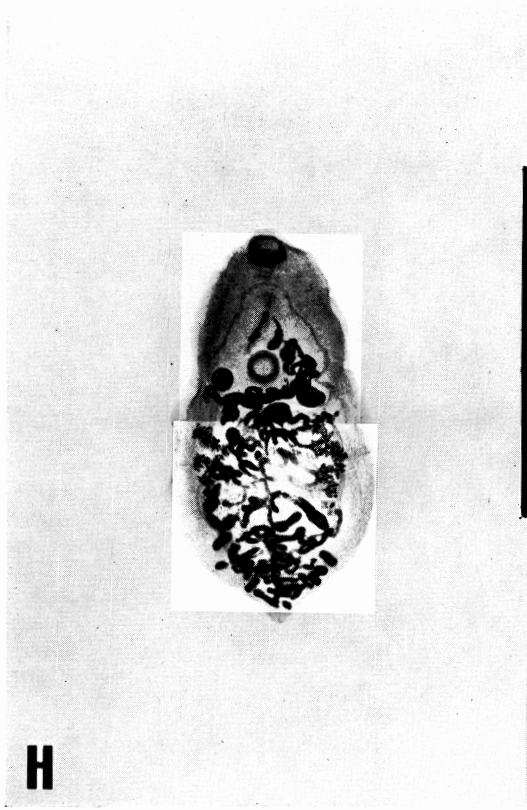
Judging from the eggs or flukes detected in suspected human Eurytremaeosis reported by several authors, all the human cases seemed to be Eurytremaeosis pancreaticae, but not Eurytremaeosis coelomaticae.

* (Present address: Department of Urology, Shimane Medical University, Izumo, Japan.)



A





Explanation of Photographs

- Photo. A Two different karyotypes of bovine pancreatic flukes as seen by the air-drying method with gonadal cells. The scale indicates 10 micrometers.
- Photo. B Mitotic metaphase figure of type I after C-staining method.
- Photo. C Mitotic metaphase figure of type II after C-staining method.
- Photo. D Meiotic metaphase figure of type I after C-staining method.
- Photo. E Meiotic metaphase figure of type II after C-staining method.
- Photo. F Karyotype of the cells shown in Photo. 2. The scale indicates 10 micrometers.
- Photo. G Karyotype of the cells shown in Photo. 3. The scale indicates 10 micrometers.
- Photo. H Figure of an adult worm of type I. The scale indicates 1 centimeter.
- Photo. I Figure of an adult worm of type II.
- Photo. J Figure of an egg of type I. The scale indicates 20 micrometers.
- Photo. K Figure of an egg of type II.