

兵庫県北部におけるウエステルマン肺吸虫 (二倍体型)に関する研究

II. イヌとネコへの感染実験および得られた成虫と 虫卵の形態的特徴について

柴原 壽 行

(昭和58年6月3日 受領)

Key words: lung fluke, *Paragonimus westermani*, diploid type, host adaptation, development

緒 言

ウエステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) はアジアに広く分布しているが、染色体構成の違いから二倍体型 diploid type ($2n=22$) と三倍体型 triploid type ($3n=33$) の2型に分けられている。著者は兵庫県北部一豊岡市および出石郡一において二倍体型の濃厚な分布地を発見し、前報においてその地理的分布、メタセルカリアの形態および第2中間宿主体内における寄生状況などについて報告した(柴原, 1982)。本篇では、引き続きウエステルマン肺吸虫の分類、生態などを解明するための基礎資料とするため、イヌ *Canis familiaris* およびネコ *Felis catus* に対する感染実験を行い、これらの宿主動物体内での本虫の発育状況および得られた成虫、虫卵の形態を観察し、併せて三倍体型の成虫、虫卵と比較した。

材料および方法

実験に用いたイヌおよびネコは前者15頭、後者10頭である。性別、年齢、体重等については特別な考慮はしていないが、健康状態の良好なものを選んで用いた。これらは実験に先立ちホルマリン・エーテル法による糞便内虫卵検査を行い、予め肺吸虫に感染していないことを確認した。また用いたメタセルカリアは、前報で報告した本虫の濃厚な分布地である兵庫県出石郡但東町産のサワガニ *Geothelphusa dehaani* から人工胃液消化法によって分離したものである。メタセルカリアはイヌへは15

~70個、ネコへは20個ずつを少量の生理的食塩水と共にピペットを用いて、あるいはカプセルに包んで経口的に投与した。

感染後50日目からは、毎日あるいは隔日にこれらの動物の糞便を採取し、ホルマリン・エーテル法によつて糞便内への虫卵排出開始日を調べた。そして、感染後100~383日にバルビタールナトリウム注射液を用いて麻酔し、頸動脈よりの放血によつて死に至らしめ剖検した一実験途中で死亡したものは直ちに剖検した一。虫体の検索は、腹部および胸部の諸臓器について表面から肉眼的に観察した。肺臓は特に入念に検査し、虫囊を見逃さないように努めた。虫囊などから取り出した虫体は、約6時間生理的食塩水中に入れ、室温に放置した後、70%エチルアルコール中で圧平、固定した。圧平には虫体の上に積み重ねるスライドガラスの枚数を加減し、虫体の厚みがほぼ0.3mm (カバーガラス2枚の厚み) になるようにした。次いでカーミン染色を施し、脱水、透過の後、バルサムで封じ観察および計測に供した。

また、一部の虫体は、寺崎・中村(1978)に従い air-drying 法を用いて染色体の観察を行った。

虫卵は、虫囊内容を水洗して得たものを、10%ホルマリン液で浸漬固定し、観察および計測に供した。また比較のために用いた三倍体型は、従来からウエステルマン肺吸虫の浸淫地として知られている四国西南部一高知県幡多郡十和村一産モクズガニ *Eriocheir japonicus* より得たものである。

なお統計学的処理はすべて Welch's method によつた。

Table 1 Results of experimental oral infection of dogs with metacercariae (Mc) of *Paragonimus westermani* -diploid type-

No.	Sex	Body weight at autopsy (Kg)	No. of Mc fed	Days after inf.	No. of worms recovered from*			Recovery rate (%)	No.† and (%) of worms having eggs in uterus	
					pleural cavity	cyst in lungs	lungs besides cyst			
1	♀	2.5	15	100	1	5	6	40.0	5/ 6(83.3)	
2	♂	5.3	15	100		12	12	80.0	12/12(100.0)	
3	♂	3.3	15	100		14	14	93.3	14/14(100.0)	
4	♂	6.1	25	122‡	1	22	1	24	96.0	18/24(75.0)
5	♂	6.2	25	125		22	22	88.0	22/22(100.0)	
6	♀	9.0	25	125	1	14	15	60.0	14/15(93.3)	
7	♀	6.8	25	125	3	12	15	60.0	13/15(86.7)	
8	♀	4.9	15	150		11	11	73.3	10/11(90.9)	
9	♂	6.2	25	150		18	18	72.0	16/18(88.9)	
10	♀	10.1	25	200		16	16	64.0	16/16(100.0)	
11	♀	11.1	25	200	4	6	10	40.0	5/10(50.0)	
12	♂	14.5	25	250	2	13	1	16	64.0	15/16(93.8)
13	♂	9.8	25	250	1	16		17	68.0	15/17(88.2)
14	♀	11.8	25	350		2	2	8.0	0/ 2(0.0)	
15	♂	11.2	70	383	1		1	1.4	0/ 1(0.0)	

* The worms were recovered by visual inspection.

† No. of worms having eggs in uterus/No. of worms recovered.

‡ Died during experiment.

成 績

1. イヌへの感染実験と虫体の発育状況

実験に用いたイヌ15頭を感染後剖検までの日数により100日, 125日, 150日, 200日, 250日, 350日以上6群一各群2~4頭一に分け, 各群における虫体の回収率, 発育状況を観察した (Table 1). 虫体回収率は100日群では平均71.1%, 125日群一実験途中で死亡した122日のもの1頭を含む一では平均76.0%, 150日群では平均72.7%, 200日群では平均52.0%, 250日群では平均66.0%を示し, 125日までは増加し, それをピークとして以後は漸次減少の傾向が見られた. 350日以上群では8.0%と1.4%という極めて低い回収率であった. 部位別の回収虫体数は, 100日以降ではほとんどのものが肺に形成された虫囊 (Photo. 1) から回収されたが, 一部のものは胸腔内に遊離していた. そして, 383日後においてもなお胸腔内に遊離虫が認められた. 胸腔内から見出された虫体は, ほとんどのもの (78.6%) が未成熟虫であったが, 3隻 (21.4%) は子宮内に虫卵を保有する成虫であった.

回収された虫体の中で成虫 (Photo. 3) の占める割合

は, 表に見られるように, 200日群の1頭と350日以上群の2頭の他は, 各時期のものに著しい増減は認められず, 全般的にみて75.0~100.0%とかなり高率であった. また7頭について, メタセルカリア経口投与後虫卵排出開始までの日数をみると, 61~81日 (平均70.1日) であった.

回収された虫体のうち肺に形成された虫囊から取り出された成虫の, 各群における体長, 体幅および口腹両吸盤の計測値を Table 2 に示した. これらの計測値のうち体長は日数の経過と共に増加が認められたが, 250日の虫体の平均体長は, 200日のものに比べ僅かにこれを下回っている. 得られた成虫のうち最小のものは100日における5.2×3.3mm のもので, 最大のものは250日における12.7×7.0mm のものであった.

また, 成虫の大きさをモクズガニ由来の三倍体型 (125日および250日のもの) と比較すると, 前者は10隻平均で10.7±1.0×5.8±0.5mm, 後者は4隻平均で11.9±0.4×6.9±0.4mm となり, 三倍体型の方が Table 2 に示した同一日齢の二倍体型に比べはるかに大きく, 統計学的にも有意の差が認められた (P<0.01).

一方, 体幅に対する体長の比率を全標本についてみる

Table 2 Measurements of adult worms recovered from cysts in lungs of dogs and cats at various periods after oral infection with metacercariae of *Paragonimus westermani* -diploid type-

Experimental host	Days after infection	No. of worms measured	Body size*		Ratio of Length/Width	Oral sucker*	Ventral sucker*	
			Length (mm)	Width (mm)	Range (mean)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)
Dog	100	30	7.4 \pm 1.1	4.0 \pm 0.5 \ddagger	1.4~2.3 (1.8)	775 \pm 71 \dagger	683 \pm 42	778 \pm 35
	125	48	8.7 \pm 1.2	5.0 \pm 0.5 \dagger	1.3~2.1 (1.7)	915 \pm 74 \dagger	715 \pm 56	820 \pm 55
	150	26	9.2 \pm 1.1 \dagger	4.8 \pm 0.7 \dagger	1.6~2.3 (1.9)	843 \pm 138	759 \pm 42	824 \pm 49
	200	19	9.8 \pm 1.0	5.0 \pm 0.5	1.8~2.1 (2.0)	960 \pm 88 \ddagger	799 \pm 60	837 \pm 55
	250	27	8.9 \pm 1.7	5.3 \pm 0.8	1.2~2.0 (1.7)	980 \pm 143	771 \pm 48	881 \pm 64
Cat	84	4	5.6 \pm 0.9	3.6 \pm 0.5	1.5~1.6 (1.6)	649 \pm 88	615 \pm 30	707 \pm 48
	100	25	7.2 \pm 1.0	4.8 \pm 0.6 \ddagger	1.2~2.2 (1.5)	882 \pm 60 \dagger	682 \pm 57	795 \pm 45
	125	30	9.0 \pm 0.9	4.8 \pm 0.3 \dagger	1.5~2.2 (1.9)	847 \pm 96 \dagger	730 \pm 68	812 \pm 56
	150	18	10.3 \pm 0.8 \dagger	5.6 \pm 0.5 \dagger	1.6~2.1 (1.8)	901 \pm 57	775 \pm 40	840 \pm 70
	175	17	10.3 \pm 0.8	6.4 \pm 0.4	1.4~1.9 (1.6)	1119 \pm 69	824 \pm 35	911 \pm 56
	200	16	10.4 \pm 1.2	5.4 \pm 0.6	1.8~2.1 (2.0)	1049 \pm 109 \ddagger	778 \pm 71	859 \pm 84

* All values are the means and the standard deviations.

\dagger, \ddagger Significance of differences between dogs and cats of mean values corresponding to each day-matched measurements of adult worms. (\dagger : $p < 0.01$, \ddagger : $p < 0.05$)

と1.3~2.3の間にあるが、各群の平均比率は1.7~2.0である。

また、口腹両吸盤の大きさを比較すると、125日以降のものでは口吸盤横径が腹吸盤のそれを上回っている。

2. ネコへの感染実験と虫体の発育状況

イヌの場合と同様に、合計10頭のネコ実験途中で死亡した2頭を含む一を感染後剖検までの日数により、42日、84日、100日、125日、150日、175日、200日の7群一各群1~2頭一に分け、各群における虫体の回収率、発育状況を観察した (Table 3)。虫体回収率は、42日および84日で死亡したネコについてはそれぞれ65.0%と70.0%、100日群では平均90.0%、125日群では平均75.0%、150日群では平均97.5%、175日群では100.0%、200日群では80.0%であった。100日以上のもものでは70.0~100.0%と全般的に高い回収率となつている。また、部位別の回収虫体数は、84、100、175日群のネコ3頭の胸腔内

に、それぞれ2、1、2隻の未熟な遊離虫体が認められた以外は、すべて肺に形成された虫囊 (Photo. 2) から回収された。

回収された虫体のうち成虫 (Photo. 4) の占める割合は、42日 (0%) と84日 (28.6%) の死亡ネコおよび100日群の No. 4 (57.9%)、175日群の No. 10 (90.0%) を除くと他はいずれも100%であった。また7頭について、メタセルカリア経口投与後虫卵排出開始までの日数をみると62~93日 (平均71.4日) であった。

回収された虫体のうち肺に形成された虫囊から取り出された成虫の、各群における体長、体幅および口腹両吸盤の計測値を Table 2 に示した。イヌの場合と同じく日数の経過と共に各計測値は増大する傾向にあるが、175日以降の群では増加は鈍化の傾向がみられる。また同時期のイヌの計測値と比較すると、一般的にネコから得られた虫体がこれを上回る傾向が見られる。150日のもの

Table 3 Results of experimental oral infection of cats with metacercariae (Mc) of *Paragonimus westermani* -diploid type-

No.	Sex	Body weight at autopsy (kg)	No. of Mc fed	Days after inf.	No. of worms recovered from*				Recovery rate (%)	No.† and (%) of worms having eggs in uterus
					pleural cavity	cyst in lungs	lungs besides cyst	total No.		
1	♀	0.7	20	42‡		13		13	65.0	0/13(0.0)
2	♀	0.6	20	84‡	2	12		14	70.0	4/14(28.6)
3	♂	3.7	20	100		17		17	85.0	17/17(100.0)
4	♂	0.5	20	100	1	18		19	95.0	11/19(57.9)
5	♂	4.1	20	125		14		14	70.0	14/14(100.0)
6	♀	1.9	20	125		16		16	80.0	16/16(100.0)
7	♂	4.5	20	150		19		19	95.0	19/19(100.0)
8	♀	1.9	20	150		20		20	100.0	20/20(100.0)
9	♂	3.2	20	175	2	18		20	100.0	19/20(95.0)
10	♂	4.0	20	200		16		16	80.0	16/16(100.0)

* The worms were recovered by visual inspection.

† No. of worms having eggs in uterus/No. of worms recovered

‡ Died during experiment

どうしの体長，体幅を両宿主間で比較すると，統計学的に有意の差が認められた ($P < 0.01$)。得られた成虫のうち最小のものは84日目の $5.0 \times 3.3\text{mm}$ で，100日以降に限れば100日の $6.0 \times 4.3\text{mm}$ が最小であつた。最大のものは175日における $13.5 \times 6.8\text{mm}$ であつた。

また，体幅に対する体長の比率を全標本についてみると1.2~2.2の間にあるが，各群の平均比率は1.5~2.0の間にある。口腹両吸盤の大きさは，84日目のものでは口吸盤横径が腹吸盤のそれよりも小さいが，100日以降の群についてはイヌから得たものと同様に，口吸盤横径が腹吸盤のそれを上回っている。

3. 成虫の形態とその特徴

虫体の観察は，イヌおよびネコの肺に形成された虫囊より得られた成虫各々50隻と30隻について行つた。虫囊から取り出されたばかりの虫体は，縮んだ状態で若干赤味がかつたピンク色のラグビーボールのような形をしており，室温でも生理的食塩水中に入れておくとやがて緩やかな伸縮運動を行う。染色標本についての観察によると，体表をおおう皮棘 (Photo. 9) は大部分のものがほとんどの部位で単生であるが，中には中央に縦線が入つて2本に分かれているものも僅かに認められ，稀にはあるが3本に分かれたものも認められた。口吸盤は体前端のやや腹面に位置している。腹吸盤は腹面の体中央からやや口吸盤寄りのところに位置している。消化管は口部からすぐ咽頭，短い食道と続き，やがて2本に分岐

した腸管として体側方を蛇行彎曲しながら後走し，後端近くで盲管となつて終つている。また卵黄腺も体前端から後端に至るまで側方に樹枝状によく発達している。卵黄管は太く，卵黄細胞が充満していた。よく成熟した虫体の子宮には虫卵が無数に認められる。卵巣は腹吸盤のやや斜め後方に位置し，形態的にはほとんどのものが6葉の分岐構造をしていた。さらにその枝の先端部分は2次的に分岐し，なかにはかなり複雑な分岐を示すものも存在する。また，200日目にネコを剖検して得られた虫体の1隻に5葉に分岐したもの (Photo. 5) が，また250日目にイヌを剖検して得られた虫体の1隻には7葉に分岐したもの (Photo. 6) が認められ，奇形と思われた。

卵巣，受精囊，貯精囊，精巣などの生殖器官の観察結果を Table 4 に示した。卵巣の存在する位置についてみると，イヌより得た標本では，標本を背面から観察して卵巣が右側に位置するものが若干多く，ネコでは左右ほぼ同数であつた。受精囊には主に精子が充満しているのが観察されるが，一部のものでは，卵細胞，卵黄細胞が観察されるものもある (Photo. 7)。しかし，ネコから得られた1隻 (150日後剖検) には，卵細胞のみが認められ，精子を確認することは出来なかつた。一方，すべての貯精囊には精子の充満が認められ (Photo. 8)，輸精管中にもカーミンで赤く染まつた精子を認める個体もしばしば見受けられた。精巣は，一般的には5葉ないし6葉

Table 4 Observations of sexual organs of adult worms recovered from worm cysts in lungs of dogs and cats after experimental oral infection with metacercariae of *Paragonimus westermani* -diploid type-

Experimental host	No. of adult worms observed	Location of ovary*		Presence of sperm in				Combination of No. of branches of testes				
		Left	Right	seminal receptacle		seminal vesicle		4-6†	5-4	5-6	6-5	6-6
				Yes	No	Yes	No					
Dog	50	20 (40.0)‡	30 (60.0)	50 (100.0)		50 (100.0)		1 (2.0)		30 (60.0)	18 (36.0)	1 (2.0)
Cat	30	14 (46.7)	16 (53.3)	29 (96.7)	1 (3.3)	30 (100.0)		1 (3.3)	1 (3.3)	14 (46.7)	14 (46.7)	

* All specimens were observed from dorsal side.

† Left branches-Right branches

‡ Values in parenthesis are percentages.

Table 5 Measurements and morphological characteristics of 50 eggs obtained from worm cysts in lungs of dogs and cats at various periods after oral infection with metacercariae of *Paragonimus westermani* -diploid type-

Experimental host No.*	Days after inf.	Size of eggs†		Thick-ness of egg-shell†	Presence of thickening of egg-shell at the abopercular end		Situation of maximum width (%)‡			Nature of symmetry (%)	
		Length (μ m)	Width (μ m)		Yes	No	ante-rior half	middle	poste-rior half	symmet-rical	asymmet-rical
Dog No. 3	100	77±4.5	41±2.7	1.2±0.3	48	52	48	42	10	22	78
No. 5	125	77±4.2	42±2.3	1.2±0.1	34	66	50	36	14	14	86
No. 9	150	76±3.5	43±3.0	1.2±0.2	42	58	32	52	16	30	70
No.10	200	77±3.7	44±2.4	1.3±0.2	34	66	38	48	14	36	64
No.12	250	74±3.4	43±2.6	1.2±0.2	48	52	50	46	4	30	70
Average		76±4.0	43±2.8	1.2±0.2	41.2	58.8	43.6	44.8	11.6	26.4	73.6
Cat No. 3	100	74±4.8	42±2.4	1.2±0.2	40	60	38	50	12	32	68
No. 5	125	72±4.7	41±2.3	1.2±0.2	16	84	34	50	16	24	76
No. 7	150	78±5.0	43±2.7	1.2±0.2	48	52	43	44	13	21	79
No. 9	175	75±6.8	44±2.4	1.2±0.1	16	84	38	46	16	42	58
No.10	200	74±3.8	43±2.4	1.2±0.2	38	62	52	42	6	48	52
Average		75±5.6	43±2.6	1.2±0.2	31.6	68.4	41.0	46.4	12.6	33.4	66.6

* The Nos. are indicated in Tables 1 and 3.

† All values are the means and the standard deviations.

‡ An egg is divided into three parts in the ratio of 4.5 : 1 : 4.5 (anterior half : middle : posterior half) in length.

に分岐しているが、左右の葉数が一致することはほとんどない。その組合せは Table 4 に示したとおりである。左5葉右6葉のものがイヌでは最も多く、ネコでは左5葉右6葉と左6葉右5葉のものが同数であった。卵巣との関係では卵巣のある側がほぼ常に6葉で、反対側が5葉となるのが普通であるが、80隻中4隻(5%)に例

外が認められた。

4. 虫卵の形態とその特徴

メタセルカリア経口投与後、各時期に剖検したイヌおよびネコの肺虫嚢内より得られた虫卵50個の計測値とその形態的特徴についてまとめると Table 5 のようである。イヌからの虫卵の平均長径は76±4.0 μ m、ネコから

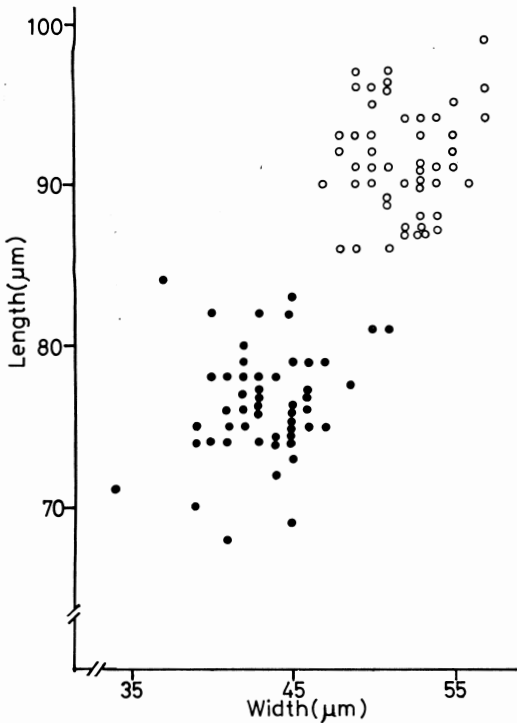


Fig. 1 Comparison of the measurements of 50 eggs of *Paragonimus westermani* -diploid type- and *P. westermani* -triploid type-.

● : Eggs from worm cysts of the dog (150 days after infection) infected with metacercariae of the diploid type from *Geothelphusa dehaani* in Hyogo Prefecture.

○ : Eggs from worm cysts of the dog (151 days after infection) infected with metacercariae of the triploid type from *Eriocheir japonicus* in Kochi Prefecture.

のそれは $75 \pm 5.6 \mu\text{m}$ で三倍体型と比較すると明らかに小さい (Fig. 1). 卵殻の厚さの平均値は、イヌ、ネコのもの共に $1.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$ である。また虫卵の形態については変異に富むものが多く、逆卵形、亜紡錘形、類楕円形など極めて多様であつた (Photos. 11-14). 小蓋反対側の卵殻の肥厚は、イヌからのものでは平均して41.2%に認められ、ネコからのものでは31.6%にそれを認めた。最大幅部は中央か小蓋端寄りにあるものが多数認められたが、平均してみると、イヌでは中央付近が最も多く、小蓋端寄りがこれに続き、無蓋端側のものが最も少ない。一方、ネコからの虫卵についても中央付近のものが最も多く、次いで小蓋端寄り、無蓋端側の順であつた。三倍体型のものでは中央付近にあるものが52.0%、小蓋

端寄りにあるものが48.0%で、無蓋端側のものは皆無であつた。左右の相称性については非相称のものが多くを占め、その割合は、イヌ、ネコからのものそれぞれ73.6%、66.6%であつた。三倍体型では非相称のものが92.0%を占めた。

5. 染色体標本の観察

Air-drying 法によつて作成した卵巣および精巢の標本を観察した結果、細胞分裂中期の核板や生殖細胞核などが多数認められた。生殖細胞の分裂中期の核板は、標本のいたるところに見られたが、すべて22本の染色体 (Photo. 10) から成り、核型を分析すると、これらは相同と思われる2本ずつの11組から成り立っていた。また、精巢を用いた標本では無数の生殖細胞核が観察され、円形をしたもの以外に精子変態の途中と思われるコマ状のもの、紡錘形のもの、極めて精子に近い形をしたものなどが認められた。

考 察

従来からウエステルマン肺吸虫の好適宿主とされているイヌ、ネコへの感染実験を行つた報告は多いが、これらはいずれも三倍体型を用いて行われたものと思われる。しかも移行経路に関する研究が主で、宿主に対する適合性、得られた虫体、あるいは虫卵の形態的特徴および宿主体内における発育、成熟状況などについて詳細に検討したものは比較的少なく、安藤 (1917)、滝沢 (1964)、波部 (1978) などがあるに過ぎない。宮崎 (1977, 1978) によつて、いわゆるウエステルマン肺吸虫と呼ばれてきたものには、受精囊内の精子の有無によつて2型に分けることができる一すなわち染色体構成の違いによる二倍体型と三倍体型が存在する一とされて以来、その両型についての形態上の比較研究の必要性を生じたが、日本では二倍体型の分布については最近まで十分知られていなかったため、外国産のものについて行われてきた (宮崎・波部, 1979; Miyazaki and Chiu, 1980). しかしその後、日本における地理的分布が相次いで明らかにされ、本邦産のものについても報告されるようになった (Miyazaki, 1978; 西田ら, 1981; 波部・宮崎, 1982; Sugiyama *et al.*, 1983) が、これらの報告では用いられた実験動物数は比較的少なく、多数例による成績はこの報告が初めてのものである。

メタセルカリアについては前報で報告したが、三倍体型との間には形態上特に顕著な違いを認めていない。今回の成績から、イヌ、ネコが本虫に対し適合性が高く、好適な終宿主となり得ることを確認したが、とりわけネ

コに対する宿主適合性は極めて高いものと思われ、回収率、宿主体内における発育度（虫体の大きさ）および成熟度は125日以降のイヌの同時期のものに比べてかなり上回っていた。すなわち、投与したメタセルカリア数に若干の相違—イヌ平均21.4個、ネコ各々20個—はあるが、125-200日群の両宿主間の平均虫体回収率を比較すると、イヌで $65.3 \pm 14.8\%$ 、ネコで $87.5 \pm 12.5\%$ となり統計学的にも有意の差が認められた ($P < 0.025$)。また、前述したように、一般的にネコから得られた虫体の大きさはイヌからのものに比べこれを上回る傾向が見られ、さらに、成熟度をみるために成虫回収率（成虫の、投与メタセルカリア数に占める割合）を求めると、同じ125-200日群で、イヌ $58.7 \pm 20.5\%$ 、ネコ $86.7 \pm 11.7\%$ となり、成熟度においてもネコが有意に上回るという結果が得られた ($P < 0.05$)。三倍体型では、諸家（安藤, 1917; 波部, 1978）によると、イヌ、ネコの両者から得られた虫体の大きさにはほとんど差がないとされているが、今回の成績においては、上述のように両宿主間かなりの差が認められたことから、兵庫県北部に分布する二倍体型では、両者に対する宿主適合性にはかなりの差があるものと思われる。

また Table 2 の成績にみられるように、イヌでは200日をピークとして平均体長の増加に鈍化傾向が認められるが、感染後日齢の増加に伴う虫体回収率の低下が見られることをも考えあわせて、虫体の老化現象による退化傾向とみることができるのではなからうか。滝沢(1964)による三倍体型のネコへの感染実験では、720日に至る虫体までは体長、体幅の増大が認められたが、2460日に至るものでは著しくそれを下回っている。本研究では比較的短期のものに限ってしか虫体の観察を行っていないので断定することはできないが、この点について今後さらに検討したい。

また、モクズガニ由来の三倍体型虫体（成虫）との大きさの比較では、同じ宿主から得られた同一日齢の虫体の大きさは、二倍体型よりも三倍体型の方がはるかに大きい。これは、一般的に言われているように、染色体構成の違いによるものと思われる。

口腹両吸盤の大きさの違いは、一般に両型とも幼若な虫体では口吸盤の方が小さいが、成熟虫体では逆にこれが大きくなるとされており（波部, 1978; 鈴木ら, 1978; 宮崎・波部, 1979）、今回の著者の成績についても同様の結果が得られた。しかし金子ら（1982）により、岐阜県の野犬から得られた二倍体型では口吸盤の方が小さかったと述べているので、両吸盤の大きさの比較では口吸

盤が大きいのが普通であるが、例外も存在するものと思われる。

体長・体幅の比率は、肺吸虫を同定する際の補助的な基準とされている。初鹿（1967）は、宮崎肺吸虫のそれはウエステルマン肺吸虫との区別が容易であることを認めており、氏の計測によるイヌでの宮崎肺吸虫のそれは平均2.2、ネコでは平均2.3であり、また同じくウエステルマン肺吸虫（三倍体型と考えられる）のそれは、イヌで平均1.9、ネコで平均1.7である。今回の著者の成績でも、イヌでの二倍体型、三倍体型およびネコでの二倍体型の平均値はいずれも1.8であつて、イヌ、ネコともに剖検時期別にみた平均値でも2.0を上回るものは認められていない。このことから、体長・体幅比率でウエステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫とを大まかに区別することは可能であるが、ウエステルマン肺吸虫の両型については、これによる区別はほとんど不可能である。

卵巣の形態は前述したように6葉の分岐構造をしているが、両型について多数観察すると、二倍体型は葉の基部がやや太く、圧平時にきれいな放射状になり難く、二次分岐が複雑なものが多い。他方、三倍体型では基部が細く、圧平すると美しい放射状となり、二次分岐も比較的単調で、瘤状になつていているだけのものが多い。また波部・宮崎(1982)は、大分県産二倍体型の卵巣に、多数の分葉異常を認めたことを報告しているが、著者の観察結果では、前述したように、成虫80隻中僅か2隻に異常分葉（5葉および7葉）を認めたに過ぎない。

また精巣についても、宮崎・波部（1979）、波部・宮崎（1982）はその分葉異常について述べているが、兵庫県産のものでは分葉数の多少による差異しか見出されない。精巣の分葉数は左5葉右6葉、あるいは左6葉右5葉の組合せのものが最も多いが、卵巣との関係では卵巣のある側が6葉となつていているものが最も多く、宮崎・波部（1979）の観察したフィリピン肺吸虫 *P. westermani filipinus* Miyazaki, 1978のそれと同様の傾向にある。

受精囊および貯精囊内にはほとんどのものに精子の充満するのが認められたが、ネコから得られた1隻の受精囊には卵細胞のみで精子は認められなかつた。このような受精囊内に精子の認められない個体が観察される原因については今後の研究に待ちたい。

二倍体型の虫卵についての報告は、本型の存在が明らかとなつた1977年以降、虫種の同定論と共に幾つかの報告が見られる（宮崎, 1978; 宮崎, 1979; 西田ら, 1981; 波部・宮崎, 1982）。前述した著者の成績（Table 5）と三倍体型のそれとを比較すると、二倍体型の虫卵は、

1) 大きさの上で前者をかなり下回ること (Fig. 1), 2) 形態的に変異に富むことは両型ともに認められるが, 三倍体型では最大幅部が前半部分にあるものが多数を占めるのに対し, 二倍体型では中央付近にあるものが多いこと, 3) 無蓋端側の肥厚が三倍体型程著明でなく, 大半のものにそれが認められないか, 認められても軽度のものであることの3点に特徴づけられる。これらは前述の諸家の観察とほぼ同様の特徴を示している。

ところで著者は, 従来, 主として受精嚢内に精子の存在が確認されることによつて, 兵庫県北部産のものを二倍体型と同定してきた。これに対し直接, 染色体数を観察しないで二倍体型とするのには疑問があるとの批判がなされていた。今回著者が5隻の成虫の培養生殖細胞について染色体数の観察を行ったところ, そのすべてにおいて $2n = 22$ の成績を得ることができた。このことから, 受精嚢内における精子の存在をもつて二倍体型と同定しても差しつかえないものと考えられる。

結 語

兵庫県北部但馬地方産ウエステルマン肺吸虫 (二倍体型) メタセルカリアを用いてイヌ, ネコへの感染実験を行い, 次のような知見を得た。

1) イヌおよびネコが, ウエステルマン肺吸虫 (二倍体型) の好適宿主であることを確認した。さらに, 虫卵排出開始までの日数では差が認められなかったが, 得られた虫体の大きさ, 虫体回収率, 成熟度などから, 二倍体型ではネコがイヌに比べてより高い宿主適合性を持つものと思われた。

2) 体長, 体幅および口腹両吸盤の計測値から成長の鈍化傾向が, イヌでは200日以降に, ネコでは175日以降にそれぞれ認められた。

3) メタセルカリア経口投与後, 虫卵排出開始までの日数は, イヌで61~81 (平均70.1) 日, ネコで62~93 (平均71.4) 日である。100~200日群における子宮内虫卵を有する成虫の割合は, 前者が89.0%, 後者が93.6%であった。

4) 成虫の大きさ (体長, 体幅) をモクズガニ由来の三倍体型のものと比較すると, 三倍体型の方が同一日齢の二倍体型をはるかに上回り, 統計学的にも有意の差が認められた ($p < 0.01$)。

5) よく成熟した虫体では, 口吸盤の計測値 (横径) は常に腹吸盤のそれを上回る。

6) 卵巣は通常6葉に分岐するが, 観察した80隻のうち2隻 (2.5%) に分葉異常 (5葉および7葉) が認めら

れた。

7) 虫卵は変異に富み, その大きさはモクズガニ由来の三倍体型より小型で, 無蓋端側における卵殻の肥厚もそれ程顕著ではない。

8) 染色体標本における生殖細胞の観察で, 多数の2価染色体や減数分裂像を認めた。核型の分析結果は $2n = 22$, $n = 11$ であつた。

稿を終るに臨み, 本研究の機会を与えられた動物実験施設長高島庸一郎教授, 吉田浩己助教授および直接の御指導を頂いた寄生虫学教室西田 弘教授に深甚の謝意を表し, また数々の貴重な御助言を頂いた本学医学部衛生学教室日野精二, 寄生虫学教室酒井雅博両兄に, さらに技術的な御援助を頂いた実験施設和田省三技官, 鈴木美枝技官, 戒能五月嬢に対し心から感謝の意を表します。

なお, 本論文の要旨の一部は第49回日本寄生虫学会大会および第36, 37回日本寄生虫学会西日本支部大会において発表した。

文 献

- 1) 安藤 亮 (1917): 肺ダストマの研究 (第6回報告) 虫体の发育体制並に構造について. 中央医会誌, 131, 42-116.
- 2) 初鹿 了 (1967): 宮崎肺吸虫 *Paragonimus miyazakii* Kamo, Nishida, Hatsushika et Tomimura, 1961の生物学的特徴に関する研究. 米子医誌, 18, 241-271.
- 3) 波部重久 (1978): ウエステルマン肺吸虫の感染経路に関する実験的研究. 寄生虫誌, 27, 261-292.
- 4) 波部重久・宮崎一郎 (1982): 大分県北部のサワガニから見出されたウエステルマン肺吸虫の有性生殖型. 寄生虫誌, 31, 275-380.
- 5) 金子清俊・角坂昭貴・秋山 潔 (1982): 岐阜県の野犬から見出されたウエステルマン肺吸虫について. 愛知医大医会誌, 10, 25-28.
- 6) 宮崎一郎 (1977): ウエステルマン肺吸虫に関する新しい疑問. 日医新報, (2788), 43-46.
- 7) Miyazaki, I. (1978): Two types of the lung fluke which has been called *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878). Med. Bull. Fukuoka Univ., 5, 251-263.
- 8) 宮崎一郎 (1979): ベルツ肺吸虫の問題をめぐって. 福大医紀, 6, 267-276.
- 9) Miyazaki, I. and Chiu, J. K. (1980): Examination of the so-called *Paragonimus westermani* in Taiwan. Med. Bull. Fukuoka Univ., 7, 277-279.
- 10) 宮崎一郎・波部重久 (1979): フィリピン Leyte 島に分布する肺吸虫 *Paragonimus westermani*

- mani filipinus* Miyazaki, 1978, stat. n. について. 福大医紀, 6, 447-462.
- 11) 西田 弘・酒井雅博・上本驥一・柴原壽行 (1981): 滋賀県においてサワガニから見出されたウエステルマン肺吸虫 (二倍体型) について. 寄生虫誌, 30, 331-336.
 - 12) 柴原壽行 (1982): 兵庫県北部におけるウエステルマン肺吸虫 (二倍体型) に関する研究 I. 豊岡市と出石郡における地理的分布およびメタセルカリアの形態的特徴について. 寄生虫誌, 31, 547-562.
 - 13) Sugiyama, H., Sonoda, J., Tomimura, T. and Nishida, H. (1983): Studies on the geographical distribution of the lung fluke, *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) in the southern prefecture of the Kinki district, Japan: Observations on the incidence of encysted larvae of *P. westermani* in *Geothelphusa dehaani* in Higashi-Yoshino area, Nara Prefecture. Jpn. J. Vet. Sci., 45, 227-236.
 - 14) 鈴木俊夫・谷 重和・石田和人・大森康正・菅原道義・坂西昭夫 (1978): 秋田県で見出された肺吸虫の皮下寄生例. 寄生虫誌, 27, 91-96.
 - 15) 滝沢明祐 (1964): ウエステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) Braun, 1899の好適及び非好適宿主体内における発育について. 寄生虫誌, 13, 181-199.
 - 16) 寺崎邦生・中村経紀 (1978): 吸虫類における染色体標本作成の簡易法. 麻布獣医大研報, 3, 273-278.

Abstract

STUDIES ON THE LUNG FLUKE, *PARAGONIMUS WESTERMANI*
-DIPLOID TYPE-, IN NORTHERN PART OF
HYOGO PREFECTURE, JAPAN

II. EXPERIMENTAL ORAL INFECTION WITH METACERCARIAE TO
DOGS AND CATS, WITH REFERENCE TO MORPHOLOGICAL
CHARACTERISTICS OF ADULT WORMS AND EGGS

TOSHIYUKI SHIBAHARA

(*Institute for Comparative Medicine and Animal Experimentation,*
Ehime University School of Medicine, Shitsukawa, Shigenobu-cho,
Onsen-gun, Ehime, 791-02, Japan)

It is well known that the growth and development of the lung fluke depends on the species of the host-animals. One of intentions of the present study was to get more detailed informations about adult worms and eggs of the diploid type of *Paragonimus westermani* obtained from different hosts, and the other was to compare the results with those of the triploid type of *P. westermani* taken from *Eriocheir japonicus*.

Fifteen dogs and 10 cats were used for this study. They had been experimentally fed with 15 to 70 metacercariae and were autopsied during the days from 42 to 383 after infection. The worms were periodically recovered from the host and observed their internal and external characters.

The results obtained in the present study were summarized as follows:

1) It was confirmed that both dogs and cats were suitable hosts for the diploid type of *P. westermani*, though cats seemed to be a better host for the lung fluke judging from the sizes, the well growth and high recovery rates of the worms.

2) The adult worms recovered more than 200 days after infection in dogs and also more than 175 days in cats did not show the significant development in the sizes of the body and both oral and ventral suckers.

3) The eggs appeared for the first time in the feces of dogs 61-81 days (70.1 days in average) after infection with metacercariae, and 62-93 days (71.4 days in average) in cats. During 100 to 200 days after infection, 89.0% of the worms from dogs and 93.6% from cats had eggs in their uteri.

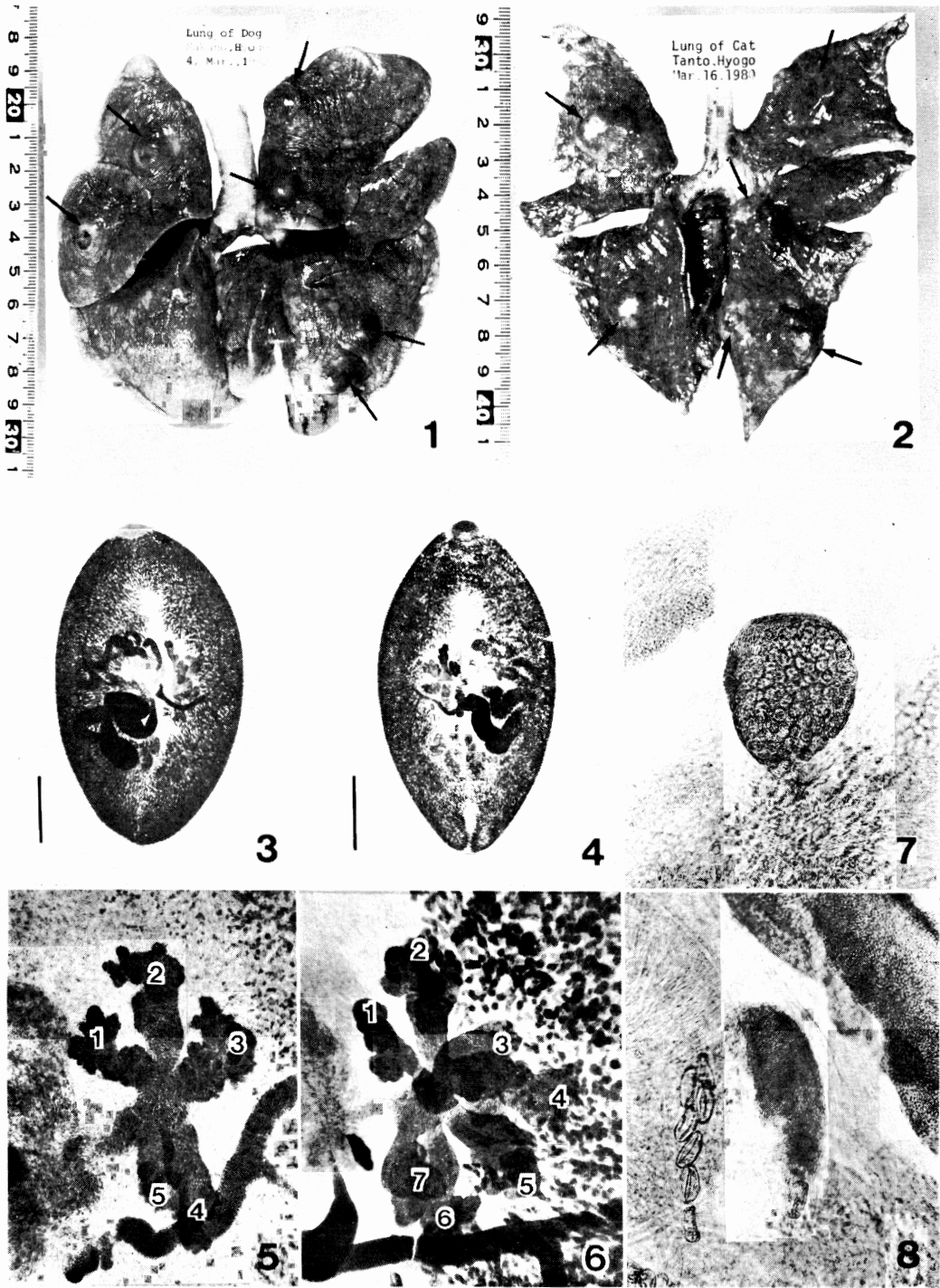
4) In the same age, the body size of the diploid type was apparently smaller than that of the triploid type ($P < 0.01$).

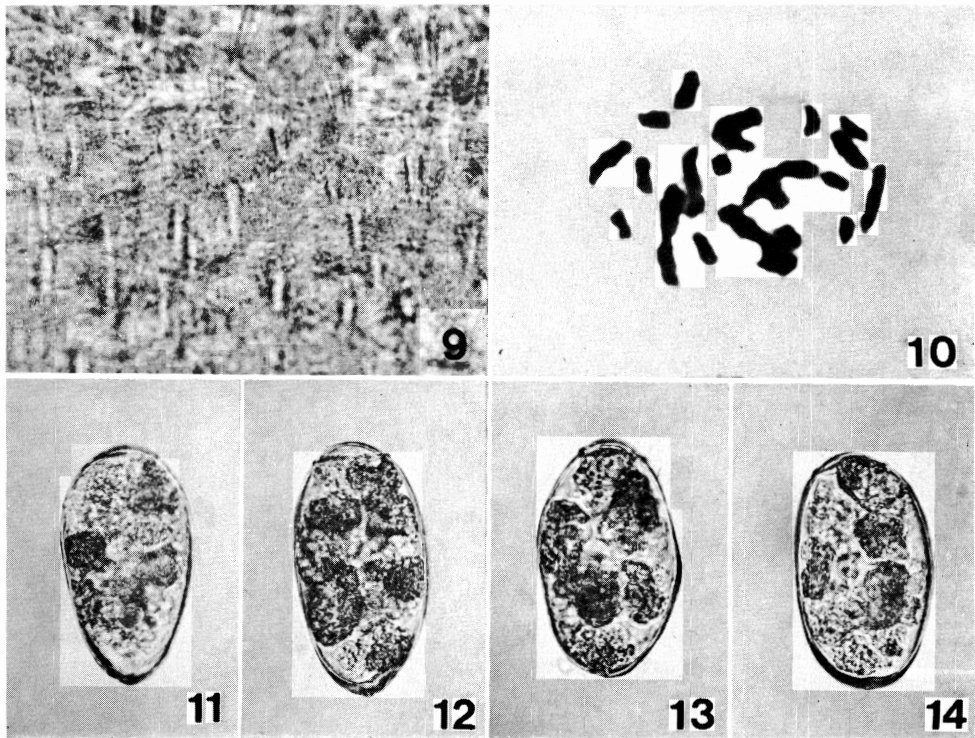
5) The width of the oral sucker is always larger than that of the ventral sucker in fully matured worms.

6) Such the abnormal branching as 5- or 7 lobed ovary instead of 6 was observed in 2 (2.5%) of 80 worms examined.

7) The eggs vary in shape, and their sizes are smaller than those of the triploid type. The thickening of egg-shell at the abopercular end is not so distinct.

8) Many meiotic figures and bivalent chromosomes were observed in cultured germ cells prepared by a simple air-drying method and chromosome number was $2n=22$ ($n=11$).





Explanation of Photographs

- Photos. 1 and 2 The lungs of hosts infected with metacercariae of *Paragonimus westermani* -diploid type-. (Arrows indicate worm cysts.) 1: The lung of the dog 125 days after infection. 2: The lung of the cat 150 days after infection.
- Photos. 3 and 4 Adult worms of *P. westermani* -diploid type- (balsam-mounted specimen, dorsal view). 3: Adult worm from the dog 125 days after infection. 4: Adult worm from the cat 150 days after infection. Scale: 2 mm
- Photos. 5 and 6 Abnormally branched ovaries of the matured adult worms. 5: Ovary divided into 5 lobes. 6: Ovary divided into 7 lobes.
- Photo. 7 Seminal receptacle of the adult worm of *P. westermani* -diploid type- filled with spermatozoa, egg- and vitelline cells.
- Photo. 8 Seminal vesicle of the adult worm of *P. westermani* -diploid type- filled with spermatozoa.
- Photo. 9 Cuticular spines on the dorso-anterior part of the adult worm, spacing singly.
- Photo. 10 Chromosomes in the metaphase of a cultured germ cell prepared by air-drying method.
- Photos. 11-14 Eggs removed from worm cysts of the lung of a cat, preserved in 10 % formalin.