

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

III. ラットへの感染実験およびその筋肉より得られた 幼若虫について

柴原 壽行

(昭和58年12月16日 受領)

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

緒言

アジアに広範に分布するウエステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) は、最近になって、その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型に分けられることが明らかにされた (Sakaguchi and Tada, 1976; Terasaki, 1980). そして、日本においては三倍体型のみならず二倍体型のものも東北地方から九州地方まで広範に分布していることが明らかにされてきた (鈴木ら, 1978; 西田ら, 1980, 1981a, b; 波部・宮崎, 1982; 柴原, 1982; Sugiyama *et al.*, 1983). 著者は兵庫県北部においてサワガニについて調査し、ウエステルマン肺吸虫二倍体型の濃厚な分布地を発見し、その地理的分布、第2中間宿主体内における寄生状況、メタセルカリアの形態、実験的終宿主 (イヌ・ネコ) への感染状況、得られた成虫および虫卵の形態的特徴などについて報告してきた (柴原, 1982, 1983). 本篇では、引き続き本虫の分類、生態などを解明する基礎的資料とするため、従来ウエステルマン肺吸虫三倍体型の非好適宿主とされてきたラット *Rattus norvegicus albinus* に対して感染実験を行い、その体内における発育状況、および得られた虫体とくに筋肉より得られた幼若虫の形態について観察し、諸家 (宮崎, 1946; 滝沢, 1964; 波部, 1978) による三倍体型の成績との比較を行った。また、ラットが本虫の待機宿主となることは北日本産のものについて既に証明されているが (Habe, 1983), 近畿地方北部産

のものについても実験的に証明しようと試みた。

材料および方法

感染実験に用いたラットは Wistar 系、4~6週齢のオス (♂) 14頭、メス (♀) 37頭の計51頭である。またメタセルカリアは、前報 (柴原, 1982) 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つて分離したもので、被囊内での動きが活発なものを用いた。感染実験ではエーテルで麻酔したラットに毛細管ピペット、あるいはカテーテルを用いてメタセルカリア15個ずつを少量の生理的食塩水と共に口から食道内深くに注入して投与し、投与後50~650日の間に経時的に剖検して虫体を回収した。剖検は、ラットをエーテルで麻酔したのち断頭して死に至らしめた。そして、腹部および胸部の諸臓器について、肉眼的に遊離虫体の検索を行い、さらに、腹腔および胸腔、特に肺について虫嚢形成の有無を観察した。その後、腹腔内および胸腔内を生理的食塩水でよく洗浄し、洗浄液中の遊離虫体を回収した。次いで、胸腔および肺に形成された虫嚢から虫体を取り出した。虫嚢を取り除いた後の肺、その他の諸臓器および筋肉内からの虫体回収については波部 (1978) の方法に準じ、これらを3~4mmの厚さに切り、生理的食塩水に入れて37°Cの孵卵器中に4~12時間放置し、組織中から容器の底に遊出してきた虫体を回収した。

一方、上述の実験とは別にラットの筋肉内から得られた幼若虫をネコに経口投与し、感染が成立するか否かを調べた。用いた実験動物は同じ Wistar 系、約6週齢の

ラット (♂) 4頭と2.5kgのネコ *Felis catus* (♀) 1頭である。ネコについて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。実験方法は、メタセルカリアを4頭のラットに各々6個ずつ経口投与し、20日後に剖検して前述の方法により筋肉内から得られた排泄嚢内に顆粒を有する幼若虫体10隻を、ケタラールで麻酔したネコに、少量の生理的食塩水と共に経口的に投与した。投与後30日目からは、ほぼ毎日糞便を採取し、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100日後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たのち剖検した。虫体の検索は、腹部および胸部の諸臓器についての肉眼検査のみによつて行い、肺に形成された虫嚢から虫体を回収した。

上述のふたつの感染実験で、ラットおよびネコから得られた虫体は、約3mm以下の小さい虫体の場合はスライドガラス上の虫体にカバーガラス(約18×18×0.15mm)をかぶせて圧平し、ブアン固定を行つた。それより大きい虫体では2枚のスライドガラス間に狭んだ形で圧平し、虫体の厚みがカバーガラス2枚程度(約0.3mm)になるように上載せするスライドガラスの枚数を加減し、70%エチルアルコールによつて固定した。染色

は共にカーミン染色を施し、脱水、透過ののち、バルサムで封じ、観察および計測に供した。

虫卵は、虫嚢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。

なお、得られた虫体は、その発育程度を示すために成虫、亜成虫、未熟虫、幼若虫の4つのタイプに大別した。子宮内に虫卵を有するまでに成熟したものを成虫、子宮内に虫卵を有してはいないが、貯精嚢内に精子が観察されるか、あるいは卵黄管内に卵黄細胞が観察されるものを亜成虫、虫卵、精子、卵黄細胞などが観察されず、また排泄嚢内に顆粒が認められないものを未熟虫、排泄嚢内に黒色の排泄顆粒を有し、脱嚢メタセルカリアと形態が似ているものを幼若虫とした。

統計学的処理はすべて Welch method によつて行つた。

成 績

1. ラットへの感染実験

1) 虫体の寄生状況

メタセルカリアをラットに経口投与後、死亡例6例も含めて、感染後日数12~17, 21~28, 50, 75~85, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300および650日の各時期に分けて剖検した。それぞれの時期についての用いたラット

Table 1 Results of experimental oral infection of rats with 15 metacercariae (Mc) of *Paragonimus westermani* -diploid type

Days after infection	No. of rats	No. of Mc fed	Total No. and (%) of worms recovered	muscle	No. of worms recovered from					No. and (%) of rats with eggs in pleural cavity or in cysts in lungs
					abdominal cavity	pleural cavity	cysts on pleural wall	cysts in lungs	lung tissue	
12-17*	3	45	12(26.7)	11	1					
21-28*	2	30	17(56.7)	13		3			1	
50	5	75	47(62.7)		1	7		34	5	
75-85†	5	75	29(38.7)	8		7(1)‡		14(1)		2(40.0)
100	5	75	25(33.3)		1	11	3	10(1)		2(40.0)
125	5	75	10(13.3)	1	1	4		4		2(40.0)
150	5	75	13(17.3)	3	1	5		4		4(80.0)
175	5	75	13(17.3)	6		6		1		2(40.0)
200	5	75	5(6.7)	3		1	1			2(40.0)
250	5	75	9(12.0)	5		4				1(20.0)
300	4	60	3(5.0)			3				3(75.0)
650	2	30	0(0.0)							2(100.0)

* Died during experiment. † Including one rat that died on day 85 of the experiment.

‡ Figure in parenthesis indicates the number of adult worms with eggs in the uterus.

Table 2 Cyst formation in the lungs and the pleural wall of rats at different times after infection

Days after infection	No. of rats used	No. and (%) of rats with cyst formation	Lung				Pleural wall				
			Total no. of cysts formed	No. of cysts containing				Total no. of cysts formed	No. of cysts containing		
				3 worms	2 worms	one worm	no worm		2 worms	one worm	no worm
50	5	5(100.0)	18	2	13	2	1				
75-85	5	4(80.0)	8(1)*		6	2(1)					
100	5	5(100.0)	16(1)		5(1)		11	3	1	1	1
125	5	2(40.0)	7		1	2	4				
150	5	4(80.0)	12			4	8				
175	5	1(20.0)	2			1	1	1			1
200	5	2(40.0)	4				4	1		1	
250	5	1(20.0)	2				2				
300	4	1(25.0)	1				1				

* Figure in parenthesis indicates the number of adult worms with eggs in the uterus.

数および虫体の回収数（回収率）は Table 1 に示したとおりである。虫体回収率の推移をみると、感染後50日目までは上昇し、それをピークとして漸次下降する傾向が認められ、650日目では用いたラット2頭からは1隻の虫体も回収されなかった。虫体の寄生状況を部位別の回収数でみると、12~17、21~28日のものでは、共に筋肉内からの回収が圧倒的に多数を占めたが、後者では胸腔内に遊離する虫体が若干数認められた以外に1隻が肺組織内に穿入しているのが観察された。50日目のものでは、得られた虫体の83%（39隻）が肺から回収され、その大半（34隻）は肺に形成された虫嚢（Photo. 1）内からのものであつたが、いずれも亜成虫（Photo. 6）であつて子宮内に虫卵を有する成虫は認められなかった。75~85日および100日目のものにも肺あるいは胸腔壁に虫嚢が認められたが、75~85日のものでは、筋肉内になお幼若虫の残存が認められる反面、胸腔内から得られた7隻の遊離虫体のうちの1隻と肺に形成された虫嚢内から得られた14隻のうちの1隻は、共に子宮内に虫卵を有する成虫であつた（Photos. 8, 10）。また、100日目の肺虫嚢内より得られた10隻のうち1隻にも子宮内に虫卵が認められた。125日以降については、肺に形成された虫嚢より得られる虫体数は漸減する傾向が見られ、200日以降に虫嚢より回収された虫体は皆無である。しかし、胸腔内に遊離する虫体は300日に至るまで認められた。また、筋肉内に残留したままの、排泄嚢内に顆粒の認められる幼若虫体（Photos. 2, 3）は、250日に至つてもなお回収された。しかし、650日のラット2頭からは全く回収されなかった。

そして、75~85日以降650日に至る各時期に剖検されたラットのなかには、成虫が認められないにもかかわらず胸腔内、特に虫嚢内に虫卵の残存する個体が約半数（41.5%）近く認められ、また胸腔内では、多くの場合、肺表面または胸膜にヘモジデリンの沈着を伴う虫卵の集塊が認められた（Photo. 11）。

感染後の各時期において、肺あるいは胸腔内に形成された虫嚢を検出虫体数別に分類したものを Table 2 に示した。虫嚢の形成は感染後50日以降のラットに認められ、肺における用いたラットに対する虫嚢形成を認めたラットの割合は、50日目をピークとしてその後低下する傾向が認められた。また、虫嚢を、その中から検出された虫体数別に分類してみると、感染後50日から75~85日までの早期のものでは、1虫嚢内から3隻あるいは2隻回収されるものが多数を占めるが、逆に、100日以降のものでは1隻、あるいは0隻のものが多数を占めるようになり、虫嚢そのものの数も漸次減少する傾向が見られた。内部に虫体を認めない虫嚢では、チョコレート色の内容物が認められるか、または虫嚢が暗褐色に変色し、スポンジ状に変性している場合が多かつた。

2) 虫体の発育状況

メタセルカリア経口投与後の各時期に、ラットの種々の部位から回収された虫体について、虫体の発育程度によつて分けたタイプ別にそれぞれ体長、体幅、口腹両吸盤の大きさを計測し、Table 3 および Table 4 に示した。また、これら部位別に得られた虫体について体長の経時的変遷を Fig. 1 に図示した。

筋肉内から得られた虫体にはふたつのタイプがあり、

Table 3 Measurements of juvenile and immature worms of *Paragonimus westermani* -diploid type recovered from various tissues of rats at various times after oral infection

Type	Days after infection	Recovered from	No. of worms measured	Body		Oral sucker	Ventral sucker	
				length (mm)	× width (mm)	width (μm)	length × width (μm)	
Juvenile*	12-17	Muscle	7	1.04±0.15†	×0.48±0.07	124±23	138±23×150±18	
	21-28	Muscle	3	0.97±0.10	×0.50±0.04	121±3	131±12×143±2	
	75-85	Muscle	8	0.88±0.15	×0.49±0.04	93±21	111±15×136±23	
	150	Muscle	3	0.91±0.02	×0.44±0.06	109±19	121±7×134±24	
	175	Muscle	6	1.02±0.13	×0.41±0.04	99±14	132±12×135±6	
	200	Muscle	3	1.09±0.18	×0.46±0.04	110±13	140±19×155±11	
	250	Muscle	2	0.97	×0.43	88	121 ×120	
Immature†	12-17	Muscle	3	1.72±0.43	×0.76±0.03	208±20	211±24×229±18	
		Abdominal cavity	1	1.85	×0.80	216	219 ×231	
	21-28	Muscle	6	2.33±0.19	×1.10±0.05	287±11	258±21×279±14	
		Pleural c.	3	2.03±0.03	×0.96±0.08	262±56	267±45×287±55	
		Lung	1	1.68	×1.08	234	219 ×268	
	50	Pleural c.	2	2.72	×1.95	474	402 ×464	
		Cyst in lungs	7	2.76±0.28	×1.75±0.25	396±38	428±28×427±25	
	75-85	Pleural c.	1	3.18	×1.46	444	389 ×466	
		Cyst in lungs	2	3.80	×2.06	384	420 ×463	
	100	Cyst in lungs	2	3.65	×2.09	432	397 ×445	

* With granules in excretory bladder. † With no granules in excretory bladder.

† Values of the means and the standard deviations.

ひとつは排泄嚢に顆粒を有し、ほとんど成長することのないまま、感染後12~17日から250日の長期にわたって回収される幼若虫であり(後述)、もう一方のタイプは排泄嚢に顆粒をもたず、生殖器官の分化もある程度進んだ幾分大きめの未熟虫である(Photos. 4, 5)。このものは感染後12~17日目には筋肉内および腹腔内から回収され、その体長、体幅の大きさは、筋肉内からのもので平均1.72×0.76mm、腹腔内からのもので1.85×0.80mmであり、大きさについてもこれらは排泄嚢に顆粒を有する幼若虫よりも若干成長していた(体長: $p < 0.05$, 体幅: $p < 0.005$)。また、21~28日目にもこれらと同じ顆粒をもたない虫体が筋肉内、胸腔内および肺から回収され、その体長、体幅の計測値は、12~17日目のそれに比べ若干の増加が認められた(体長: $p < 0.05$, 体幅: $p < 0.005$)。この型の未熟虫は100日まで認められ、次第に成長して大きくなる傾向が認められたが、50、75~85および100日目における肺に形成された虫嚢内から得られた虫体の一部にもこの型の未熟虫が認められた。

子宮内に虫卵は認められないが、貯精嚢内に精子

(Photo. 7)、あるいは卵黄管内に卵黄細胞が認められる。亜成虫は、Table 4に示すように感染後50日以降に得られる虫体の大半を占め、胸腔、虫嚢などから回収されるものに多いが、一部には、50日以降では腹腔内、あるいは筋肉内からも回収されている。これらの虫体の体長、体幅の大きさは、肺に形成された虫嚢内から得られるものについてみれば、50日目のもの3.49×2.30mm、75~85日目のもの4.75×2.63mm、100日目のもの4.89×2.79mm、125日目のもの5.13×2.77mm、150日目のもの4.29×2.22mm、175日目のもの5.71×2.51mmと日を追うにつれて計測値に増加を認めており、100日頃までは徐々に成長しているが、それ以降は鈍化の傾向が認められる(Fig. 1)。そして300日に至るまで胸腔内に遊離する虫体が回収された。亜成虫のうちで、175日目に筋肉内から得られた2隻は、体長、体幅の平均が4.97×2.71mmで、いずれも生殖器官がよく発達しており、卵黄細胞の形成も認められ、ほぼ成虫に近いものであった。

成虫は、75~85日目のラットの胸腔および肺虫嚢内から各1隻と100日目の肺虫嚢内から1隻の計3隻が得ら

Table 4 Measurements of pre-adult and adult worms of *Paragonimus westermani* -diploid type-recovered from various tissues of rats at various times after oral infection

Type	Days after infection	Recovered from	No. of worms measured	Body		Oral sucker	Ventral sucker	
				length (mm)	× width (mm)	width (μm)	length (μm)	× width (μm)
Pre-adult*	50	Abdominal cavity	1	3.05	×2.31	503	453	×474
		Pleural c.	5	3.13±0.36†	×2.03±0.21	454±47	419±15	×479±32
		Lung	4	3.40±0.18	×2.10±0.22	466±52	437±17	×490±29
		Cyst in lungs	13	3.49±0.39	×2.30±0.23	456±50	444±33	×485±36
	75-85	Pleural c.	4	3.69±0.84	×2.24±0.37	429±85	443±32	×518±69
		Cyst on pleural wall	1	4.50	×2.85	496	537	×576
		Cyst in lungs	10	4.75±0.58	×2.63±0.31	491±57	487±50	×572±41
	100	Abdominal c.	1	4.76	×2.28	453	548	×574
		Pleural c.	11	5.24±0.87	×2.51±0.30	490±71	553±102	×579±56
		Cyst on pleural wall	2	4.31	×2.48	543	447	×543
		Cyst in lungs	8	4.89±0.38	×2.79±0.37	530±55	514±45	×583±41
	125	Pleural c.	1	4.50	×2.90	576	607	×678
		Cyst in lungs	4	5.13±0.59	×2.77±0.39	567±69	628±31	×659±44
	150	Abdominal c.	1	3.70	×2.46	546	528	×586
		Pleural c.	4	4.80±1.34	×2.72±0.56	537±89	547±142	×607±112
		Lung	2	5.28	×2.93	488	548	×597
		Cyst in lungs	3	4.29±0.45	×2.22±0.52	492±90	514±42	×514±53
	175	Muscle	2	4.97	×2.71	491	628	×640
		Pleural c.	4	5.70±0.31	×2.66±0.16	532±38	584±23	×605±41
		Cyst in lungs	1	5.71	×2.51	488	667	×602
200	Pleural c.	1	5.75	×2.69	451	588	×610	
250	Pleural c.	3	4.34±0.80	×2.79±0.62	556±111	567±101	×640±128	
300	Pleural c.	3	5.55±1.09	×3.26±0.76	544±122	546±69	×600±114	
Adult†	75-85	Pleural c.	1	5.35	×2.54	480	555	×596
	75-85	Cyst in lung	1	4.71	×2.90	509	511	×625
	100	Cyst in lung	1	4.97	×2.42	429	525	×555

* With sperm in seminal vesicle or with vitelline cells in vitelline duct.

† With eggs in uterus. ‡ Values of the means and the standard deviations.

れた。前2隻の大きさは、平均で5.03×2.72mm、後者は4.97×2.42mmであつた。

3) 成虫と虫卵の形態的特徴

得られた成虫の形態的特徴は、単生する皮棘 (Photo. 9)、6葉に分岐した卵巣、5~6葉に分岐する精巣の他に貯精囊内には精子が充満するのが認められ、ウエステルマン肺吸虫二倍体型の特徴をよく示していた (Photo. 8)。また、卵黄巣もよく発達していて卵黄管には無数の卵黄細胞が認められた。しかし、ウエステルマン肺吸虫三倍体型との重要な鑑別点とされている受精囊内の精子はこれを認めなかつた。また前報 (柴原, 1983) で報告

した卵巣の分葉異常も認めなかつた。

肺虫囊内から得られた虫卵30個の計測および形態観察の結果は次のとおりである。すなわち、虫卵の大きさは、長径が57.3±5.0 (46.8~65.3) μm、短径は41.2±2.8 (35.0~46.5) μmで形態的にはイヌ、ネコから得られた虫卵と比較してかなり小型である (Photos. 12, 13)。形態は比較的球形に近い逆卵形のものが多く、最大幅部分の位置については、小蓋端側にあるもの10個 (33.3%)、中央部分にあるもの16個 (53.3%)、無蓋端側にあるもの4個 (13.3%)と中央部分にあるものが最も多かつた。相称性については、左右相称のもの8個

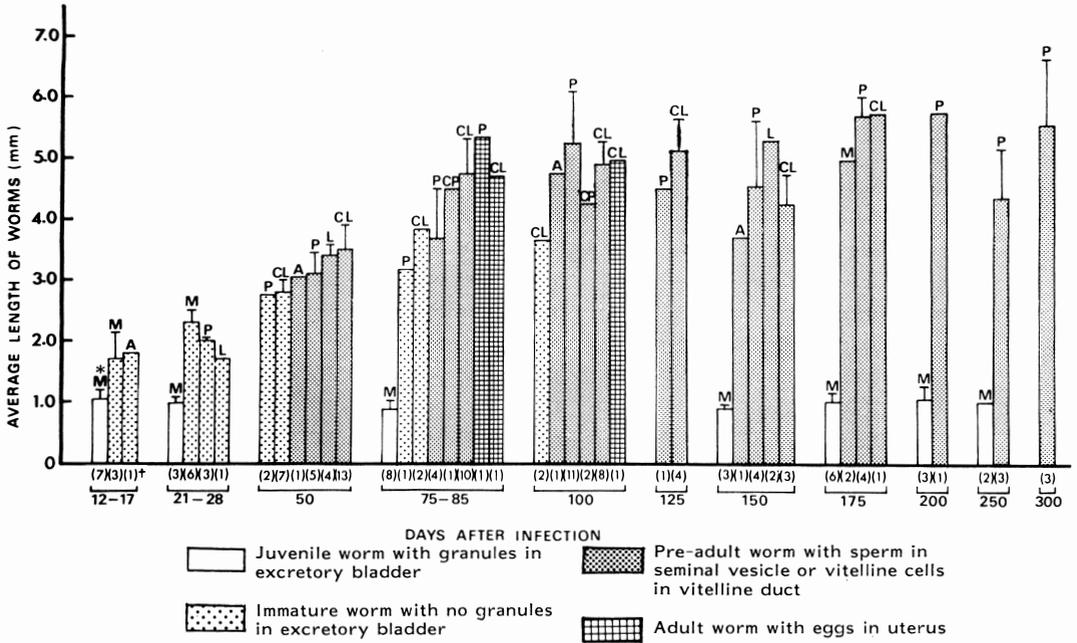


Fig. 1 A comparison of the sizes of the worms recovered from various tissues of rats at various times after oral infection with metacercariae of *P. westermani* -diploid type.

* Symbols represent various tissues from which the worms were recovered; M: muscle, A: abdominal cavity, P: pleural cavity, L: lung tissue, CL: cysts in lungs, CP: cysts on pleural wall

† Figure in parenthesis indicates the number of the worms.

(26.7%), 非相称のもの22個 (73.3%) であった。また、卵殻の厚さは 1.1 ± 0.1 ($0.8 \sim 1.4$) μm で、小蓋反対側の卵殻の肥厚は軽度であるが18個 (60.0%) に認められた。

2. ラットの筋肉内から得られた幼若虫の形態と計測値

ラットの筋肉内から得られた虫体のうち排泄嚢に顆粒を有する幼若虫は、感染後12~17日から250日の長期にわたって回収され、形態的にも脱嚢メタセルカリアに類似して、内部構造、生殖器官の分化の状態などには明らかな相違点を見出すことはできなかった。しかし、前報(柴原, 1982)で報告した脱嚢メタセルカリアのほとんど全てに認められる穿刺棘は、この幼若虫では感染後の早い時期(12~17日, 21~28日)のものには認められたが、それ以降のものでは認めることはできなかった。

得られた幼若虫32隻の固定染色標本について、体長、体幅および口腹両吸盤を計測し、脱嚢メタセルカリアの計測値および既報の波部(1978)による三倍体型幼若虫

との比較を試みた (Table 5)。なお Table 5 に示した二倍体型幼若虫の大きさは、感染後日数によって100日未満, 100日以上200日未満, 200日以上の3群に分けてその平均値を比較したところ、3群の間に統計上有意の差が認められなかったため、得られた幼若虫すべての平均をもつて表した。表に示すように、二倍体型の幼若虫の大きさは、体長が $0.98 \pm 0.14\text{mm}$ 、体幅が $0.46 \pm 0.06\text{mm}$ 、口吸盤横径は $107 \pm 21\mu\text{m}$ 、腹吸盤の縦径、横径はそれぞれ $127 \pm 18\mu\text{m}$ 、 $140 \pm 18\mu\text{m}$ である。これらの計測値を二倍体型の脱嚢メタセルカリアと比較すると、二倍体型幼若虫は、体長および口腹両吸盤の計測値を共に有意に上回っている (体長: $p < 0.025$, 口腹両吸盤: $p < 0.005$)。また、三倍体型幼若虫(波部, 1978)と比較した場合には、体長、体幅、口腹両吸盤すべての計測値において、これを有意に下回っている ($p < 0.005$)。

3. ラットの筋肉内から得られた幼若虫のネコへの感染実験

メタセルカリア投与後20日目のラット筋肉内から得られた排泄嚢に顆粒を有する幼若虫10隻を、ネコへ経口投

Table 5 A comparison of the measurements of juvenile worms* of *P. westermani* -diploid type- and -triploid type- and excysted metacercariae of the diploid type

Stage of larvae	No. of worms	Body		Oral sucker	Ventral sucker		Author
		length	width	width	length	width	
Excysted metacercariae of <i>P. westermani</i> -diploid type	30	0.90±0.11§	0.44±0.04	93±7‡	106±11‡	121±10‡	present author
Juvenile <i>P. westermani</i> -diploid type- from the muscle of rats	32	0.98±0.14	0.46±0.06	107±21	127±18	140±18	present author
Juvenile <i>P. westermani</i> -triploid type- from the muscle of rats	26	1.20±0.18‡	0.53±0.05‡	121±11‡	132±14‡	153±11‡	Habe (1978)

* Excretory bladder was filled with granules.

‡, † Significance of differences between juvenile worms of *P. westermani* -diploid type and -triploid type- or excysted metacercariae of the diploid type. (†: $p < 0.025$, ‡: $p < 0.005$)

§ All values are the means and the standard deviations.

与し、100日後に剖検した結果、肺に3個の虫嚢形成を認め、各虫嚢から虫体2隻と、胸腔内に遊離していた虫体2隻の計8隻を得ることができた。これらはいずれも十分に発育した成虫であり (Photo. 14)、子宮内には無数の虫卵が、また、貯精嚢および受精嚢内にはおびただしい数の精子が認められた (Photos. 15, 16)。しかし、胸腔内に遊離していた2隻には受精嚢内の精子を確認することができなかつた。肺虫嚢内より得られた成虫の大きさは、6隻平均で、長径が 8.5 ± 0.4 mm、短径が 4.5 ± 0.2 mmであつた。また、口吸盤横径は 833 ± 31 μm、腹吸盤の縦径、横径はそれぞれ 663 ± 23 μm、 699 ± 44 μmであつた。

ラットから得られた幼若虫をネコに経口投与した後、ネコの糞便内にはじめて虫卵が認められたのは64日目であつた。

得られた虫嚢内虫卵30個の観察では、メタセルカリアを直接ネコへ経口投与して得られた虫卵と比較して形態的な差異は認められず、大きさについても長径 75.8 ± 4.4 μm、短径 42.9 ± 2.3 μmで、前報 (柴原, 1983) のネコ5頭での平均値と比較して統計上有意の差は認められなかつた。

考 察

各種肺吸虫の実験小動物に対する感受性には著しい差異のあることがよく知られている。特にラットに対してはその傾向が顕著であり、多くの先人達によつてラットに対する宿主適合性、あるいは体内における発育状況などが詳細に研究されてきた。日本における5種の肺吸虫

のうち、ウエステルマン肺吸虫を除く他の4種の肺吸虫、すなわち大平肺吸虫 *P. ohirai*、小型大平肺吸虫 *P. iloktsuenensis*、宮崎肺吸虫 *P. miyazakii*、佐渡肺吸虫 *P. sadoensis* にとつてはラットは好適な終宿主であり、実験的にもよく成熟した虫体を得られることが明らかにされている (宮崎, 1939, 1946; 富村ら, 1958; Kamo *et al.* 1961; 大倉, 1963, a, b; 初鹿, 1967; 橋口ら, 1968; 多田, 1969; 吉田, 1970; 橋口, 1973)。ところが、ウエステルマン肺吸虫のみはラットに感染し難く、感染しても成熟した虫体を得ることはできないとされている (安藤, 1915, 1920; 宮崎, 1946; 横川, 1961; 波部, 1978)。しかし、これらの成績はすべてモクズガニ由来の三倍体型での成績であつて、二倍体型についてのラットへの感染実験成績の報告は比較的少ない。すなわち、日本産二倍体型ではわずかに宮崎・波部 (1979) および Habe (1983) の秋田県産のものを用いた成績が見られるに過ぎない。少数例ではあるが、これらの成績では得られた虫体はいずれも幼若な虫体で、筋肉内以外からは得られていない。一方、外国産二倍体型のものについては、宮崎・波部 (1979) によるフィリピン産のもの他に、横川ら (1982) によるソビエト沿海州産二倍体型についての成績が見られる。後者が日本産三倍体型に似て成熟することなく深部筋肉に留まるのに反し、前者すなわち宮崎・波部 (1979) がウエステルマン肺吸虫の亜種としているもの—フィリピン肺吸虫 *P. w. filipinus*—はラットに対して極めて高い適合性を有し、虫体の多くが肺に虫嚢を形成して性的にも成熟する。フィリピン産のものがラットに対してこのように高

い宿主適合性をもつことで別種であるとする意見もあり (Ito *et al.*, 1978), このことについてはその後も論議は継続しており, 未だ結論は得られていない。

今回著者が兵庫県北部に見出した二倍体型の感染実験では, イヌ, ネコほど良好な感染成績ではなく, かつ感染率も高いとは言えないが, 虫体回収率の最も高い50日目のものでは, 得られた虫体の98% (46隻) が, 胸腔および肺から回収されており, 回収された虫体のうち胸部から回収される虫体の占める割合が極めて高く, 肺における虫嚢形成も盛んであるという事実が認められた。しかも, これらの虫体のなかに少数ではあるが75~85日および100日目のものに成虫が認められ, また成虫が得られなかったラットでも, かつて成虫が寄生していたことをうかがわせる胸膜などに虫卵の残存したのも75~85日以降のものでは17頭 (41.5%) に認められた。従って, ラット時には終宿主となることが証明された。また, このことは同じ二倍体型である秋田県産のものとの大きな相違点であり, 極めて興味深い。

感染ラットにおける虫嚢形成と検出虫体数の関係は, 前述したように50日目のものを最高に, 肺には多数の虫嚢が形成され, その後漸減する傾向にあるが, 虫嚢数の減少に伴い1個の虫嚢内から検出される虫体数も2隻, 1隻, 0隻と徐々に少なくなる傾向が認められた (Table 2)。虫嚢形成の意義については宮崎ら (1981) による詳細な研究報告があるが, 氏らはこのなかでウエステルマン肺吸虫の三倍体型だけを除き, 肺吸虫属の成虫が同棲するのは主として相互受精を目的とするためと述べている。今回の著者の成績では, 肺において2隻寄生の虫嚢数が認められるのは感染後50日目から125日目までで, それ以降のものでは1隻寄生の虫嚢あるいは虫体の認められない虫嚢のみとなる。このことから, 50日前後で相互受精を目的として盛んに虫嚢を形成して同棲するが, イヌ, ネコなどの好適宿主とは異なつて, 虫嚢内では虫体は宿主側の何らかの作用によつて, あるいは虫体側の何らかの原因によつて発育が阻害されて成熟するまでに至らないものと思われる。従つて, 一部のものが成熟することがあつても多くのものは比較的早い時期に死滅するか, あるいは虫嚢から外へ出て胸腔内を徘徊し, 肺の表面や胸膜などに虫卵を産みつけるのではないかと考えられる。日本産三倍体型の中にも, 少数ではあるがラットの肺に虫嚢を形成するものがあることが報告されており (横川, 1961; 滝沢1964; 波部, 1978; 宮崎, 1979), なかにはごく少数ではあるが成虫にまで発育したのも認められている。しかし, 今回の著者の成績と比べると

虫嚢の形成数も少なく, また成虫にまで発育した虫体数は甚だ少ない (宮崎, 1979)。従つて, 三倍体型においてはその阻害作用がより強いものと推測される。

得られた虫体は, その発育程度によつて幼若虫, 未熟虫, 亜成虫, 成虫の4段階に分けたが, 幼若虫および成虫を除くふたつのタイプの虫体は, 100日目頃までは経時的に発育して大きくなる傾向が見られる。また未熟虫から亜成虫への分化発育はほぼ100日目頃には終了するようである (Fig. 1)。亜成虫は50日目から回収され, 100日以降については著しい発育は認められないが, 300日目以降に至つてもなお胸腔あるいは肺に形成された虫嚢の他に, 胸腔, 腹腔, 筋肉などから回収された。

成虫は, 前述したようにメタセルカリア感染後75~85日および100日目のラットから計3隻を回収したが, その平均体長は5.01mm, 平均体幅は2.62mmで, このうち100日目の成虫について, イヌ, ネコから得られた同一日齢の虫体 (柴原, 1983) と比較すると, ラットから得られた成虫は極めて小型であつた。また, 虫卵についても30個平均の長径 ($57.3 \pm 5.0 \mu\text{m}$) および短径 ($41.2 \pm 2.8 \mu\text{m}$) を, イヌ, ネコでの成績 (柴原, 1983) と比較するとラットからのものは極端に小さく, 従来言われているように, 虫体および虫卵の大きさは宿主の違いによつてかなりの幅があることが認められた。

脱嚢メタセルカリアと形態上極めて類似している幼若虫は, その大きさの比較において, 100日未満, 100日以上200日未満および200日以上のものとの間に統計上有意差を認めなかつたが, 脱嚢メタセルカリアとの比較ではそれを幾分上回り, 同じく三倍体型の幼若虫との比較においては体長をはじめとするすべての計測値でこれを下回つていた。前報 (柴原, 1983) でも述べたように, 成虫においては三倍体型は二倍体型に比べかなり大きい, 待機宿主の筋肉内から得られた幼若虫においてもすでにこの傾向が見られることは甚だ興味深い。形態的な特徴については脱嚢メタセルカリアとの間に特に相違を認めなかつたが, 脱嚢メタセルカリアの殆んどに認められる穿刺棘は, 幼若虫においては感染後21~28日目のものまで認められ, 50日目以降のものではすでに認めることができなかつた。長期にわたつて同じ大きさ, 同じ形態のまま筋肉内に留まる幼若虫が, 他の形態的特徴については変化が認められないにもかかわらず, 早い時期の幼若虫が穿刺棘を有する反面, 50日以降のものではこれが認められなくなることは興味深い。

また, 排泄嚢に顆粒を有する幼若虫が, そのまま発育しないものと未熟虫へと分化発育するものとに分かれる

ことについては、横川(1961)が示唆しているように第2幼弱期発育の有無、すなわち腸管内から一旦腹腔内へ出た脱囊幼虫が、腹壁筋に移行してそのまま深部筋肉内に留まるか、あるいは腹腔内へ再移行するかによつてその後の分化発育の方向に差異を生ずるものと思われるが、横川(1961)の実験は三倍体型を用いたものであるため、適合度の異なる二倍体型のラットでの体内移行経路についても今後更に検討したいと考えている。

ところで、この幼若虫をネコに経口投与して100日後に得られた成虫の大きさ(6隻平均、長径: 8.5 ± 0.4 mm, 短径: 4.5 ± 0.2 mm)を、メタセルカリアを感染させて得たネコでの100日および125日目の成績(柴原, 1983)と比較すると、100日目の大きさ(25隻平均、長径: 7.2 ± 1.0 mm, 短径: 4.8 ± 0.6 mm)に比べて若干大きく、125日目のもの(30隻平均、長径: 9.0 ± 0.9 mm, 短径: 4.8 ± 0.3 mm)に比べるとわずかにこれを下回った。これらのことから、ラットの筋肉内に留まる排泄顆粒を有する幼若虫は、終宿主に対する感染能力を有したまま成長を止めた状態にあるものと考えられ、その待機宿主としての役割を、ラットが十分に果しうることが明らかにになった。

最近 Habe (1983) は、秋田県産ウエステルマン肺吸虫二倍体型を用いて、メタセルカリア感染後126~150日目に筋肉内から得た幼若虫をイヌに経口投与し、成虫を得ることに成功したと報じている。すなわち、秋田県産二倍体型ではラットが待機宿主となることはすでに報告されているが、今回の実験で兵庫県北部産のものもラットが実験的待機宿主となることを明らかにした。

ところで、最近宮崎(1983)は、日本産のウエステルマン肺吸虫二倍体型は地理的隔離によつて生じた別亜種であるとして、秋田県を模式産地とする本土ウエステルマン肺吸虫 *P. w. japonicus* Miyazaki を提唱し、その根拠として卵巣の分葉異常が多いこと、精巣の位置異常が多いこと、そして虫卵の性状が異なることなどを挙げている。著者が今回ラットを介してネコから得た成虫8隻の観察では、卵巣の分葉異常あるいは精巣の位置異常は認められず、また、前報(柴原, 1983)のイヌ、ネコから得られた成虫80隻の観察結果でも卵巣の分葉異常は僅かに2隻(2.5%)に認められたに過ぎない。また精巣の位置については宮崎(1983)が述べているような異常は認めなかつた。日本における二倍体型は、前述のように、次々とその分布が明らかにされつつあるが、幼虫の形態と大きさ、あるいは成虫の形態的特徴などにはその分布地の違いによる変異の幅もかなり大きいように見

受けられる。また今回、兵庫県北部産二倍体型のラットに対する宿主適合度が、秋田県産のそれに比べて著しく異なることが明らかとなったように、生物学的な相違も認められる。さらに、本種の分布は東アジア全域に及んでいることが報告され、諸地のものについての形態学的、生物学的特徴が報告されているが、それらは本土ウエステルマン肺吸虫も含めて基産地(インド)のものとの間で、十分な比較検討がなされていないように思われる。これらのことを考慮すると、日本産ウエステルマン肺吸虫二倍体型を亜種として分け、かつ東北地方、近畿地方、九州地方の二倍体型のすべてをこの亜種に包括することにはなお多くの検討されねばならない問題が残されているように思われる。このことについては今後さらに検討してゆきたい。

結 語

兵庫県北部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ラット51頭への経口感染実験を行い、12~17, 21~28, 50, 75~85, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300および650日後に剖検して虫体を回収した。また、これとは別に、ラット4頭にメタセルカリアを経口感染させて20日後に剖検し、筋肉内より得られた排泄嚢に顆粒を有する幼若虫をネコに経口投与し、100日後に剖検して虫体を回収した。その結果、次のような知見が得られた。

- 1) 虫体回収率は、感染50日後の62.7%をピークとして日を経るに従つて漸減し、300日(回収率5%)まで回収され、650日では全く回収されなかつた。
- 2) 排泄嚢に顆粒を有する幼若虫は、感染後12~17日から250日に至るまで長期にわたつて筋肉内より回収された。虫体の大きさは100日未満、100日以上200日未満および200日以上3群の間に有意の差を認めず、その平均長径は 0.98 ± 0.14 mm, 平均短径は 0.46 ± 0.06 mm で、脱囊メタセルカリアより大きく ($p < 0.025$)、三倍体型の幼若虫よりも小さい ($p < 0.005$)。
- 3) 幼若虫から分化発育したと思われる排泄嚢に顆粒を有しない未熟虫は、感染後12~17日の筋肉および腹腔内から回収され、100日後の肺虫嚢内からもなお回収された。しかし、それ以降は全く回収されないことから、この頃までに亜成虫への分化発育が終了するものと考えられる。
- 4) 感染後50~100日の間で得られた虫体101隻の内訳は、幼若虫8隻(7.9%)、未熟虫15隻(14.9%)、亜成虫75隻(74.3%)、成虫3隻(3.0%)であつた。そして、

このなかで虫体数の最も多かつたのは亜成虫であつて、大部分が胸腔内および肺虫嚢内より回収された。

5) 子宮内に虫卵を有する成虫は少数ながら認められ、他に、虫体は認められないが、胸腔内あるいは虫嚢内に虫卵の認められるラットが75~85日以降のものでは17頭(41.5%)に存在した。このことは、幼若虫のみを筋肉内から見出した秋田県産二倍体型を用いた成績と比較して大きな相違点と思われる。

6) 得られた成虫は、形態的にはウエステルマン肺吸虫(二倍体型)の特徴をよく示しているが、その大きさはイヌ、ネコなどの好適宿主より得られたものより小さく、また、虫嚢内より得られた虫卵も、イヌ、ネコより得られたものに比べかなり小型であつた。

7) ラットの筋肉内より得られた幼若虫10隻の、ネコへの経口感染実験によつて8隻の成虫を得た。このことから、兵庫県北部産二倍体型でもラットが実験的待機宿主となることを明らかにした。

8) 日本産の二倍体型を包括して本土ウエステルマン肺吸虫 *P. w. japonicus* とするにはなお多くの検討されねばならない問題が残されているように思われる。

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衛生学教室日野精二助手と実験動物のお世話を頂いた動物実験施設和田完成、和田省三、鈴木美枝の技官各位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36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 (1915): 肺ヂストマの研究 (第3回報告). 中外医事新報, (851), 1109-1127.
- 2) 安藤 亮 (1920): 肺ヂストマの小動物試験に関する研究続報. 医事新聞, (1052), 963-994. (1054), 1110-1133.
- 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) Habe, S. (1983): A newly recognized paratenic host of *Paragonimus* spp.. Japan. J. Trop. Med. Hyg., 11, 1-6.
- 5) 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.
- 6) 橋口義久 (1973): 鼠類と肺吸虫の宿主寄生体関係に関する生物学的研究. 高知大学報, 22, 27-102.
- 7) 橋口義久・武井次雄・宮崎一郎 (1968): 宮崎肺吸虫 *Paragonimus miyazakii* Kamo, Nishida, Hatsushika et Tomimura, 1961によるドブネズミとダイコクネズミへの感染実験. 寄生虫誌, 17, 115-120.
- 8) 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.
- 9) Ito, J., Yokogawa, M., Araki, K. and Kobayashi, M. (1978): Studies on the morphology of larval and adult lung fluke in the Philippines, with a proposition of new name, *Paragonimus philippinensis* n. sp.. Jpn. J. Parasitol., 27, 97-112.
- 10) Kamo, H., Nishida, H., Hatsushika, R. and Tomimura, T. (1961): On the occurrence of a new lung fluke, *Paragonimus miyazakii* n. sp. in Japan (Trematoda: Troglotremitidae). Yonago Acta Med., 5, 43-52.
- 11) 宮崎一郎 (1939): *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 (大平肺吸虫)の動物実験成績. 福岡医誌, 33, 336-344.
- 12) 宮崎一郎 (1946): 肺吸虫に関する研究 (XII). 大平肺吸虫とウエステルマン肺吸虫との白鼠体内に於ける發育比較. 鹿児島医専学報, 2, 17-21.
- 13) 宮崎一郎 (1979): ベルツ肺吸虫の問題をめぐつて. 福大医紀, 6, 267-276.
- 14) 宮崎一郎 (1983): 日本に分布するウエステルマン肺吸虫の新亜種について. 福大医紀, 10, 67-76.
- 15) 宮崎一郎・波部重久 (1979): フィリピン島のレイテ島に分布する肺吸虫 *Paragonimus westermani filipinus* Miyazaki, 1978, stat. n. について. 福大医紀, 6, 447-462.
- 16) 宮崎一郎・波部重久・寺崎邦生 (1981): 肺吸虫はなぜ同棲するのか?. 福大医紀, 8, 159-167.
- 17) 西田 弘・酒井雅博・久納 巖・柴原壽行 (1981a): 福井県嶺南地区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, 31 (2・補), 57.
- 18) 西田 弘・酒井雅博・柴原壽行 (1980): 京都府丹後地区においてサワガニから見出したウエステルマン肺吸虫について. 寄生虫誌, 29 (増), 77.
- 19) 西田 弘・酒井雅博・上本驥一・柴原壽行 (1981b): 滋賀県においてサワガニから見出し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.

- 20) 大倉俊彦 (1963a) : 大平肺吸虫 (*Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939) の終宿主体内における発育に関する研究. 第1篇. ラット体内における移行経路について. 寄生虫誌, 12, 57-67.
- 21) 大倉俊彦 (1963b) : 大平肺吸虫 (*Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939) の終宿主体内における虫体の発育について. 寄生虫誌, 12, 99-118.
- 22) Sakaguchi, Y. and Tada, I. (1976) : Chromosomes of a lung fluke, *Paragonimus westermani*. Chrom. Inf. Serv., 20, 23-24.
- 23) 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, 545-559.
- 24) 柴原壽行 (1983) : 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. 寄生虫誌, 32, 293-304.
- 25) 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 prefectures 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.
- 26) 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.
- 27) 多田 功 (1969) : ダイコクネズミにおける宮崎肺吸虫の実験感染, 特に大平肺吸虫との比較. 寄生虫誌, 18, 34-51.
- 28) 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.
- 29) Terasaki, K. (1980) : Comparative observations on the development of germ cells between *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) and *P. pulmonalis* (Baelz, 1880). Jpn. J. Parasitol., 29, 127-136.
- 30) 富村 保・荒川 皓・小野忠相 (1958) : 小型大平肺吸虫脱囊幼虫 (excysted metacercaria) の白鼠への感染試験. 寄生虫誌, 7, 376-379.
- 31) 横川宗雄 (1961) : 肺吸虫の終宿主体内における発育. 終宿主体内移行経路に関する新知見を中心として. 日医事新報, (1963), 19-25.
- 32) 横川宗雄・畑 英一・小林 仁・伊藤二郎・大島智夫・Kurochkin, J. V. (1982) : ソビエト沿海州産肺吸虫のラット体内移行経路および成虫の形態について. 寄生虫誌, 31 (1・補), 14.
- 33) 吉田哲夫 (1970) : 宮崎肺吸虫 *Paragonimus miyazakii* の実験小動物への感染実験, 特に宿主寄生虫関係について. 寄生虫誌, 19, 76-91.

Abstract

STUDIES ON THE LUNG FLUKE, *PARAGONIMUS WESTERMANI*
-DIPLOID TYPE- IN THE NORTHERN PART OF
HYOGO PREFECTURE, JAPAN
III. EXPERIMENTAL ORAL INFECTION WITH METACERCARIAE
OF RATS, WITH REFERENCE TO JUVENILE WORMS RE-
MOVED FROM THE MUSCLE

TOSHIYUKI SHIBAHARA

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

Recently, it was revealed that *Paragonimus westermani* was divided into two types, i.e. triploid and diploid type. Rats have been regarded as unsuitable hosts for *P. westermani*, particularly of the triploid type. This study is an attempt to further clarify the development and growth of these worms in rats, with special reference to those of the diploid type.

I. Experimental oral infection of rats with metacercariae.

Fifty-one rats were used for this study. Each was infected orally with 15 metacercariae and was periodically autopsied during the period from 12 to 650 days after infection. The worms removed from the rat tissue were classified into four types by the stage of worm development: 1) juvenile worms with granules in their excretory bladders, 2) immature worms with no granules, 3) pre-adult worms with sperm in their seminal vesicles or with vitelline cells in their vitelline ducts and 4) adult worms with eggs in their uterus.

The results obtained are summarized as follows:

1) The recovery rates of worms reached a peak of 62.7% on day 50 after infection, and then steadily decreased. Five percent of the worms were recovered on day 300 after infection, but no worms were recovered on day 650 after infection.

2) The juvenile worms, averaging 0.98 ± 0.14 mm in length and 0.46 ± 0.06 mm in width, were recovered from the muscle of rats 12 to 250 days after infection. These worms were slightly larger than the excysted metacercariae ($p < 0.025$), but a little smaller than those of the triploid type ($p < 0.005$).

3) Of the 101 worms removed from rats 50 to 100 days after infection, 8 worms (7.9%) were juvenile, 15 worms (14.9%) immature, 75 worms (74.3%) pre-adult and 3 worms (3.0%) adult. Most of the pre-adult worms were removed from the pleural cavity and/or cysts in the lungs.

4) Through the entire experiment, 3 adult worms were obtained from three different rats. Other than these, no adult worms were found. However, eggs were found in the pleural cavities or cysts in the lungs of 17 other rats. These findings differed greatly with those of the host-suitability to rats of the diploid type distributed in Akita Prefecture, where worms were not recovered, except from the muscle, and all the worms that recovered were juvenile.

5) The adult worms obtained indicated the typical morphology of *P. westermani* -diploid type.

Both adult worms and eggs were quite smaller than those recovered from such suitable hosts as dogs and cats.

II. Experimental oral infection of a cat with juvenile worms removed from the muscles of rats.

One cat and four rats were used for this study. The cat was infected orally with 10 juvenile worms removed from the muscles of four rats 20 days after infection. Eight adult worms were recovered from cysts in the lung of the cat. Consequently, it was found that the diploid type of *P. westermani* in the northern part of Hyogo Prefecture also accepts the rat as its experimental paratenic host.

-
- Photo. 1 The lung of the rat 100 days after infection with metacercariae of *Paragonimus westermani* -diploid type, showing a worm cyst (arrow). Scale: 10mm
- Photos. 2 and 3 Juvenile worms of *P. westermani* -diploid type- recovered from the muscle of the rat 21 days after infection with metacercariae. Scale: 500 μ m 2: Living specimen, ventral view. 3: Balsam-mounted specimen, ventral view.
- Photos. 4 and 5 Immature worms of *P. westermani* -diploid type- (balsam-mounted specimen, dorsal view). Scale: 500 μ m. 4: Small immature worm recovered from the pleural cavity of the rat 28 days after infection with metacercariae. 5: Large immature worm recovered from the cyst in lungs of the rat 100 days after infection with metacercariae.
- Photo. 6 Pre-adult worm of *P. westermani* -diploid type- recovered from the cyst in lungs of the rat 75 days after infection with metacercariae (balsam-mounted specimen, dorsal view). Scale: 2mm
- Photo. 7 Seminal vesicle of the pre-adult worm of *P. westermani* -diploid type- filled with spermatozoa.
- Photo. 8 Adult worm of *P. westermani* -diploid type- recovered from the pleural cavity of the rat 75 days after infection with metacercariae (balsam-mounted specimen, dorsal view). Scale: 2 mm
- Photo. 9 Cuticular spines on the dorso-anterior part of the adult worm, spacing singly.
- Photo. 10 Eggs in the uterus of the adult worm (arrows). OV: ovary, T: testes.
- Photo. 11 A mass of eggs found on the surface of the pleura of the rat.
- Photos. 12 and 13 Eggs removed from the cysts in the lung of the rat, preserved in 10% formalin ($\times 280$).
- Photo. 14 Adult worm of *P. westermani* -diploid type- recovered from the cyst in lungs of the cat 100 days after infection with juvenile worms (balsam-mounted specimen, dorsal view). Scale: 2 mm
- Photo. 15 An egg removed from the worm cyst in the lung of the cat, preserved in 10% formalin ($\times 280$).
- Photo. 16 Seminal receptacle of the adult worm of *P. westermani* -diploid type- filled with spermatozoa, egg and vitelline cells.

