中国産剛棘顎口虫成虫 Gnathostoma hispidum と輸入ドジョウ由来の顎口虫成虫 の走査電子顕微鏡的比較

古 賀 正 崇¹⁾ 石 井 洋 一¹⁾ 赤 羽 啓 栄²⁾ MAO SHOU-PAI³⁾

(昭和59年3月15日 受領)

Key words: *Gnathostoma hispidum*, morphology, scanning electron microscopy, imported loaches, gnathostomiasis

剛棘顎口虫 Gnathostoma hispidum Fedtschenko, 1872は豚の胃壁に寄生する線虫でヨーロッパ,東南アジアに広く分布する.本邦では今までその存在が確認されていなかった.最近になって中国,台湾,韓国方面から輸入されたドジョウ Misgurnus anguillicaudatus から顎口虫幼虫が見出され(西村ら,1981;石井ら,1982;赤羽ら,1982a),その実験感染の結果,赤羽ら(1982b)によりはじめて成虫が得られ剛棘顎口虫と報告された。今回,著者の1人石井は中華人民共和国を訪問する機会があり,古くから本虫の分布地域とされている同国から成虫が入手できたので本邦(福岡大学)で実験的に得られた成虫と走査電子顕微鏡(SEM) レベルで比較検討を行なった.

材料および方法

中華人民共和国(中国)産剛棘顎口虫は上海の豚に自然感染していた成虫で中国医学科学院寄生虫病研究所に保存されていたホルマリン固定標本である. 試料は雄1, 雌2匹(内雌1は特に尾端と虫卵観察に用いた)で24時間流水中で脱ホルマリンした後,20ml ねじ口びんに15ml の水と試料を入れ,手中で激しく振盪する操作を3回繰返して試料表面の洗浄を行なつた.しかし SEM 試料として用意された標本ではなかつたため完全洗浄は困難であつた.

本邦(福岡大学医学部寄生虫学教室)で感染実験の結 果得られた成虫はドジョウに寄生する顎口虫幼虫をラッ

1) 九州大学医学部寄生虫学教室 2) 福岡大学医学部寄生 虫学教室 3) 中国医学科学院寄生虫病研究所 トに感染させ、1~2カ月後ラットの筋肉内から回収した幼虫を豚に経口投与して得られたものである。用いたドジョウは福岡市内および下関市内の鮮魚業者が東南アジア方面から輸入した外国産のものと思われる。回収した成虫は雄3個体で、このうち1個が同教室から SEM 試料のため分与された。試料は同様の振盪洗浄後10%ホルマリン固定を行なつた。

ともに試料は1%オスミック酸 [Millonig's buffer solution (pH 7.4)] 中で2時間後固定し、アルコール系列により脱水、酢酸イソアミールに置換して、炭酸ガス中で臨界点乾燥を行なつた。その後スパッターコーティング法により金を蒸着して JSM-U3型走査電顕 (SEM) により加速電圧15kV で観察した。

紅 里

中国産剛棘顎口虫はホルマリン 固定時で 雄の 大きさ約 19×1.0 mm(体中央部),雌は約 21×1.5 mm, 23×1.6 mm(体中央部)であつた. 頭球の大きさは約 600×180 μ m(雄),頭球表面には12列の頭球鉤が見られ(Fig. 1),鉤の大きさは第 5 列目付近で約 15.4×5.3 μ m,鉤の形は先端鋭利である (Fig. 3).

体部には頭球のすぐ後方から体末端部まで輪節に沿つて皮棘が密生する. 輪節の起始部付近の皮棘は先端が 3 分岐するものが多く,大きさ約 $43 \times 20 \mu m$ であるが,輪節の第10列目付近から太くなり(約 $47 \times 26 \mu m$),先端も $5 \sim 10$ 分岐となる(Fig. 5). 輪節の第 $10 \sim 11$ 列目に体表面に突出した頸乳頭(約 $33 \times 23 \mu m$)が 1 対見られ,こ の周囲の皮棘は疎である(Fig. 7). 皮棘は後方になる

にしたがって次第に長くなり($104 \times 12 \mu m$)、 再び先端 3 分岐となるが、特徴的なことはその中央のものが著しく長い (Fig. 9). 体前部 1/3 付近の皮棘は先端 2 分岐となり、この部位の皮棘が最も長い(約 $115 \times 5 \mu m$)が、Fig. 11 は皮棘の先端が 2 分岐を示すため角度をかえて撮影したためやや短かく見える。体中央部ではすべての皮棘は単皮棘(約 $65 \sim 80 \times 2 \mu m$)で輪節に沿つて密生する (Fig. 13). 体後部に至ると皮棘は短かくなる ($35 \times 2 \mu m$) (Fig. 15).

福岡大学で豚から実験的に得られ、観察に用いた成虫 (以下本邦産成虫) は雄1匹で、 未固定時の 大きさ約 17×2.0mm (赤羽ら、1982b) であつた. 頭球の大きさ 約520×200µm で頭球表面には9列の頭球鉤が見られ (Fig.2), 鉤の大きさは第5列目付近で約16×6.6µm, 鉤の形は先端鋭利である(Fig. 4). 体部には頭球のすぐ 後方から体末端部まで輪節に沿つて皮棘が密生する. 皮 棘の形態は前述の中国産のものと同様、頭球のすぐ後方 から体前部1/3までは著しく変化する(Figs. 6, 10, 12) が、体中央部ではすべて先端が単皮棘で、後方に至るに したがつて次第に短かくなる (Figs. 14, 16). 頸乳頭は 同様に輪節の第10~11列目に1対見られ,体表面に突出 している(Fig. 8). 本邦産の雄尾端には約25~35×2μm の単皮棘が見られ (Fig. 17), その腹側面には Fig. 18 (矢印) に示すように4個の尾乳頭が 観察できたが、 試 料作製時の収縮のため他の4個は確認できなかつた. 尾 乳頭は大きさ約35µm,円形でドーム状に隆起し、中央 部は皮棘を欠き、周囲の皮棘(約15~20µm) は短かく 疎である. 中国産の雄尾端は試料保存が悪く洗浄不能で あつたため1個の尾乳頭しか確認できなかつたが、上記 と同様の形態をしていた. 以上のように中国産雄成虫の 図を Figs. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 に示し,本邦産雄 成虫の ほぼ同位置の図を 同倍率で Figs. 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 に示したが、 図に示されるように、 表 面構造に差異は認められなかつた.

中国産雌成虫に関しても SEM で観察したが、皮棘の形態は雄のものと同様であつた。雌尾端は体末端部まで単皮棘(約20~30×2 μ m)で被われ (Fig. 19)、末端に1対の尾乳頭が認められるが、密生する皮棘に被われるため1対同時に確認することは 困難で あつた。 Fig. 19の矢印に示された 皮棘を欠く部位を 拡大したものが Fig. 20 に示す乳頭で大きさ約30 μ m であつた。

虫卵は大きさ約 60μ m で、1端に卵蓋が見られ (Fig. 21)、卵表面には大きさ約 $0.7\sim1.2\mu$ m の や や深い多数 の陥凹部が認められた (Fig. 22).

考 察

現在,世界で報告された顎口虫は20種以上にのぼり (Miyazaki, 1960; Anderson, 1964; Le-Van-Hoa, 1965; Miyazaki and Dunn, 1965), その宿主および 寄生部位,皮棘の形態・分布,頸乳頭の位置,虫卵の形態等は分類上の重要な種別標徴になっている。それらは 光顕写真や描写によって記載されているが,光顕レベルでの観察は不明なところもあり,SEM レベルでの知見は非常に有効と考えられる。

今回観察した中国産剛棘顎口虫の SEM による観察 はこれが最初のものである. 今回観察された成虫の皮棘 のそれぞれの部位における大きさ、形態は光顕レベルの 宮崎 (1955), Dissamarn et al. (1966), Daengsvang (1972) の報告と一致した. また, 中国産のものと輸入 ドジョウから の顎口虫幼虫を豚に 感染実験(赤羽ら, 1982b) して得られた成虫とを SEM を用いて 直接比 較した結果, 基本的に差が認められなかつた. 今回 SEM を用いることによつて皮棘の立体的構造,頸乳頭 の形態,雄,雌の尾乳頭の状態,虫卵の表面構造がはじ めて詳細に観察された. 雌の尾乳頭に関しては宮崎 (1950), 石井 (1956) はドロレス顎口虫成虫の尾端部に 1対の乳頭を認め、武市(1956)は有棘顎口虫成虫を組 織学的に観察し,同様に1対の乳頭を認め,尾乳頭と記 載している. 今回, 剛棘顎口虫の雌尾端にも同様に乳頭 が認められたが、 尾部にはファスミッド (phasmid) 構 造もあるので SEM のみの観察では断定できず、今回 は武市の報告にならつて尾乳頭と表現し、今後さらに追 究の予定である.

虫卵表面には大きさ約 $0.7\sim1.2\mu m$ の大小不同でやや深い多数の陥凹部が認められた。有棘顎口虫卵の表面には大きさ $0.8\sim2.3\mu m$ の浅い陥凹部が見られ,ドロレス顎口虫では $0.8\sim1.6\mu m$ で前者よりやや深い(石井・徳永、1970)。日本顎口虫は大きさ $0.5\sim1.0\mu m$,大小不同で不定形である(Koga and Ishii,1981)。 剛棘顎口虫卵殻表面構造はドロレス顎口虫に類似する。

今回, SEM を用いて剛棘顎口虫を観察したが,これらの知見から,今日市販されているドジョウに寄生する顎口虫幼虫のうちの1種は中国産剛棘顎口虫と同種のものと考えられる.

まとめ

剛棘顎口虫をはじめて SEM レベルで観察した. 試料は中国の豚に自然感染していた成虫(雄1, 雌2)で,

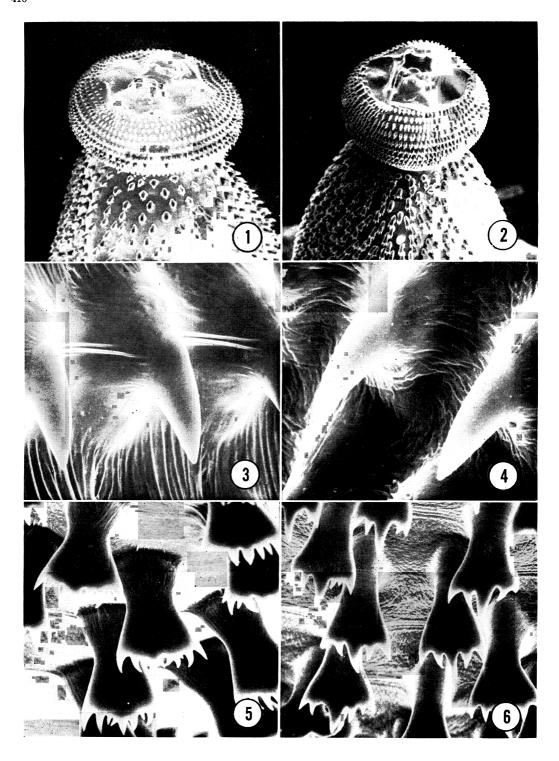
常法により試料作製した.輸入ドジョウに寄生する顎口虫幼虫の実験感染から得られた成虫(雄1)についてもSEMで観察した.ともに頸乳頭は輪節の11~12列目の間に1対あり、体壁角皮から隆起していた.体皮棘は頭球のすぐ後方から体末端部まで輪節に沿つて密生し、頭球に近いところの皮棘は短かく先端3~10分岐であるが、体前部1/3付近では先端2分岐となる.体後半は単皮棘となり、これが体末端部まで密生する.雄尾部には隆起した尾乳頭が見られ、その付近は皮棘を欠く.上記両試料間に差が認められず、実験感染により得られた成虫は剛棘顎口虫であることが直接比較により証明できた.中国産のものの雌尾部にも尾乳頭が認められ、その周辺は皮棘を欠く.卵殻表面は多数の陥凹部が認められ、その形態はドロレス顎口虫のそれに類似する.

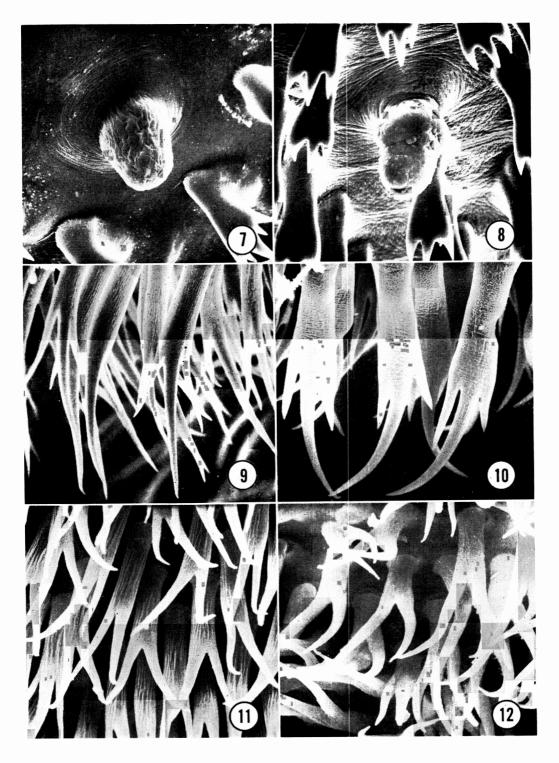
稿を終るにあたり、 貴重な御助言を頂いた米国 Tulane University の Dr. P. C. Beaver に深謝する.

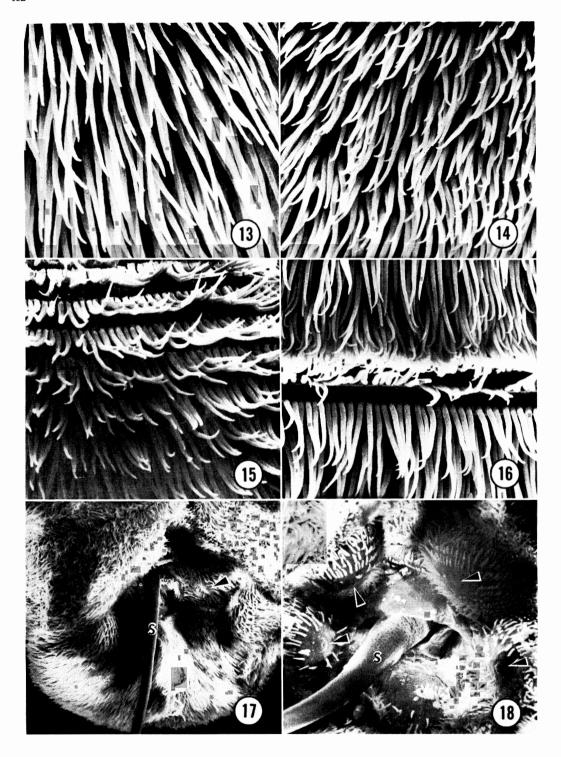
文 献

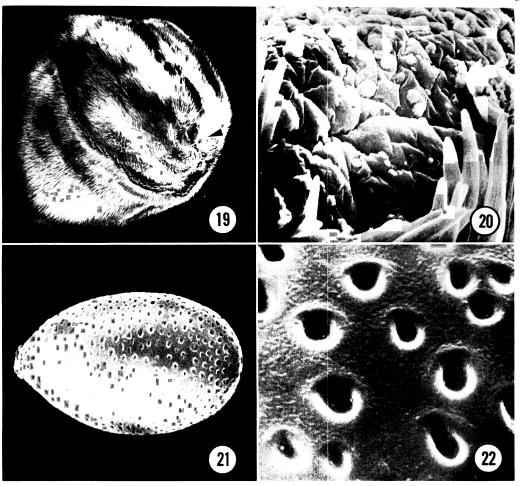
- 赤羽啓栄・岩田久寿郎・宮崎一郎(1982a):中 国産輸入ドジョウに寄生していた顎口虫(予報), 寄生虫誌,31(1・補),35.
- 赤羽啓栄・岩田久寿郎・宮崎一郎 (1982b):中 国から輸入されたドジョウに寄生していた剛棘 顎口虫 Gnathostoma hispidum Fedchenko, 1872. 寄生虫誌, 31, 507-516.
- Anderson, R. C. (1964): Gnathostoma miyazaki n. sp. from the otter (Lutra c. canadensis) with comments on G. sociale (Leidy, 1858) of mink (Mustela vison). Can. J. Zool., 42, 249-254.
- 4) Daengsvang, S. (1972): An experimental study on the life cycle of *Gnathostoma his*pidum Fedchenko, 1872 in Thailand with special reference to the incidence and some significant morphological characters of the adult and larval stages. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health, 3, 376-389.
- 5) Dissamarn, R., Thirapat, K., Aranyakanada,

- P. and Chai-Anan, P. (1966): Studies on morphology and life history of *G. doloresi* and *G. hispidum* in Thailand. J. Thai Vet. Med. Asso., 17, 1–12.
- 6) 石井洋一 (1956): ドロレス顎口虫の 発育史 に 関する研究, 福岡医誌, 47, 1474-1494.
- 7) 石井洋一・徳永純一(1970): 走査電子顕微鏡の世界(28) 寄生蠕虫卵の構造(4)―顎口虫Gnathostoma. 医学のあゆみ, 75, 133-134.
- 8) 石井洋一 ・ 古賀正崇 ・ 肥後広夫・石橋純子・ Choi, D. W., Lo, T. Y. (1982): 輸入淡水魚 由来の顎口虫および顎口虫症, 1.台湾産, 韓国 産および福岡市販のドジョウにおける顎口虫幼 虫の感染率とその形態. 寄生虫誌, 31 (1・補), 36.
- Koga, M. and Ishii, Y. (1981): Larval gnathostomes found in reptiles in Japan and experimental life cycle of *Gnathostoma nip*ponicum. J. Parasitol., 67, 565-570.
- 10) Le-Van-Hoa (1965): Étude d'un nouveau gnathostome G. vietnamicum n. sp., chez Lutra elioti du Viet-Nam. Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales, 58, 228-235.
- 11) 宮崎一郎 (1950):日本では、はじめて得られたドロレス顎口虫について、臨床と研究、27、617-619.
- 12) 宮崎一郎 (1955): 外国産顎口虫の紹介. 福岡 医誌, 46, 1237-1245.
- 13) Miyazaki, I. (1960): On the genus Gnathostoma and human gnathostomiasis, with special reference to Japan. Exp. Parasitol., 9, 338-370.
- 14) Miyazaki, I. and Dunn, F. L. (1965): Gnathostoma malaysiae sp. n. from rats on Tioman Island, Malaysia (Nematoda: Gnathostomidae). J. Parasitol., 51, 382-384.
- 15) 西村 猛 · 佐野龍蔵 · 福間利英 · 新家荘平 (1981):輸入ドジョウを感染源 と する 顎口虫症:輸入ドジョウにおける顎口虫幼虫の検査成績,寄生虫誌,30 (増),93.
- 16) 武市 仟 (1956):有棘顎口虫成虫の構造に関する研究,医学研究,26,2600-2634.









Figs. 1-15 (odd numbered), 19, 20 Adult Gnathostoma hispidum from China.

- Figs. 2-16 (even numbered), 17, 18 A male G. hispidum obtained from an experimentally infected pig in Japan.
- Figs. 1, 2 Anterior views of the worms with head bulbs bearing 9 or 12 transverse rows of hooks. ×75.
- Figs. 3, 4 Sharp hooks about $16 \times 7 \mu \text{m}$ in size at the fifth transverse row on head bulb. $\times 2250$.
- Figs. 5, 6 Cuticular spines bearing five to ten denticles lying around the anterior quarter regions of the body. ×750.
- Figs. 7, 8 Cervical papillae situated between the tenth and eleventh transverse rows of spines. × 750.
- Figs. 9, 10 Longer spines (about $94 \times 16 \mu m$ to $104 \times 12 \mu m$) bearing three denticles situated over the anterior third regions of the body. The middle denticle is much longer than the lateral two. $\times 750$.
- Figs. 11, 12 The tridentate spines turn to two-toothed ones around the anterior third regions of the bodies. \times 750.
- Figs. 13, 14 Single pointed spines (about $73 \times 2 \mu m$) at the middle part of the body. $\times 750$.
- Figs. 15, 16 Single spines decrease in size to $15-30\times2\mu$ m at the posterior part of the body. $\times750$.
- Figs. 17, 18 Ventral views of a male terminal end covered entirely with small cuticular spines. Arrows indicate caudal papillae. S: spicule. ×150 and ×300.
- Fig. 19 A female extremity also covered wholly with cilia-like spines. The whole naked area indicated by an arrow is caudal papilla. ×75.
- Fig. 20 A caudal papilla. High magnification of the naked area indicated by an arrow in Fig. 19. $\times 2250$.
- Figs. 21, 22 An egg (about 60μ m in length) with an operculum, collected from the uterus of a female of Chinese specimen, and the shell surface having many pits (about $0.7\text{--}1.2\mu$ m in diameter). $\times 750$ and $\times 7500$.

Abstract

SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC COMPARISON OF ADULT GNATHOSTOMA HISPIDUM FEDTSCHENKO, 1872 FROM CHINA WITH A MALE GNATHOSTOMA SP. OBTAINED EXPERIMENTALLY FROM A PIG IN JAPAN

Masataka KOGA $^{1)}$, Yoichi ISHII $^{1)}$, Hiroshige AKAHANE $^{2)}$, and Shou-Pai MAO $^{3)}$

(1) Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan; 2) Department of Parasitology, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka 814-01, Japan; 3) Institute of Parasitic Disease, Chinese Academy of Medical Sciences, People's Republic of China)

Gnathostoma hispidum Fedtschenko, 1872, has been found among pigs widely in Europe and Southeast Asia, whereas until recently there has been no report on existence of this parasite in Japan. Since 1980, gnathostomiasis has occurred chiefly in western Japan among a considerable number of humans, who had eaten live loaches imported from Southeast Asia. Examination revealed many gnathostome larvae (up to 1 mm in length), encapsulated or not, mainly in stomach wall of these loaches. Larvae, about 3 mm in length, were found encapsulated in skeletal muscles of rats orally given the larvae collected from the loaches. The larvae from rats matured when given orally to a pig (Akahane et al., 1982b).

Comparative scanning electron microscopic studies were made on adult male and female G. hispidum obtained in Chana and an adult male worm obtained from a pig experimentally infected in Japan. The head bulbs of worms from both sources were armed with 9-12 rows of hooks and the rest of the bodies were densely covered with spines which varied regionally in size and shape. Those immediately behind the head bulbs were small (about 43×20µm) and had three or four teeth. One pair of cervical papillae measuring about 33×23µm was situated between the tenth and eleventh transverse rows. The spines between the anterior quarter and the third of the body change remarkably their sizes and shapes. Around the anterior quarter regions situated the stumpy spines (about $47 \times 26 \mu m$ in size) having five to ten teeth (Figs. 5, 6), and they progressively increased their sizes to about $105 \times 12 \mu m$ bearing three teeth with middle one markedly elongated, over the anterior third regions (Figs. 9, 10). Then the spines immediately changed their shapes to those with two denticles up to the anterior third regions (Figs. 11, 12). The spines with one denticle followed the two denticles ones under the anterior third regions. These one toothed spines entirely covered the rest of the body, the size of which around the mid-body regions was about $65-35\times2\mu\mathrm{m}$ (Figs. 13, 14) and the spines with one denticle gradually became smaller in size to about 25-35×2 μ m (Figs. 15, 16, 17) up to the posterior extremity.

No differences in surface structures were detected the males from the two sources mentioned above. Eight caudal papillae had been found on the ventral surface of an adult male light-microscopically but only four of them were detected due to shrinkage of the specimen by scanning electron microscope (Fig. 18). The papillae looked elevated from the tegument where there were no spines. Female had two caudal papillae having no spines on a ventral area. The egg bore surface pits about $0.7-1.2\mu$ m in diameter and had one operculum.