

剛棘顎口虫 (*Gnathostoma hispidum* Fedtschenko, 1872) の走査電子顕微鏡像

近藤力王至 赤尾信明 高倉吉正
大西義博 小西喜彦 吉村裕之

(昭和59年5月24日 受領)

Key words: *Gnathostoma hispidum*, morphology, scanning electron microscopy (SEM)

はじめに

近年、わが国各地で発症がみられた顎口虫症は、近隣諸国から輸入されたドジョウに寄生する、これまで本邦に分布していなかった剛棘顎口虫 (*Gnathostoma hispidum* Fedtschenko, 1872) の幼虫によるものであろうと推察され、その形態学的所見が明らかにされている (赤羽ら, 1982; 石井, 1983). 著者ら (1984) も、中国産輸入ドジョウから得た小型の顎口虫幼虫をラットに投与し、その体内で発育させたものをラットから回収、子豚に感染させ雌雄の成虫を採取して、本虫が剛棘顎口虫であることを確認した。

顎口虫の種による形態学的鑑別には、成虫および幼虫の頭球、あるいは体部にみられる皮棘の形態、その数や分布状況が異なっていることが指標となつているが、これらの鑑別は、おおむね光学顕微鏡によるものであつた (Miyazaki, 1960; 宮崎, 1963; Daengsvang, 1972; Wang *et al.*, 1976; 赤羽ら, 1982). 最近、走査電子顕微鏡 (以下 SEM) を用いて観察された報告 (石井, 1972; Koga and Ishii, 1981; 石井ら, 1982 a, b; 石井, 1983; 古賀ら, 1984) がなされているが、*G. hispidum* についての SEM 像による形態的仔細についての記載は乏しい。

そこで著者らは、今回輸入ドジョウから得た第Ⅲ前期幼虫と、ラット体内で発育した第Ⅲ後期幼虫、並びに子豚から得た雌成虫の SEM 像による形態的観察を行なつたので、その知見の概要を報告する。

本研究は昭和59年度文部省科学研究、総合研究A (課題番号59372001) の補助をうけて行なつた。記して謝意を表す。
金沢大学医学部寄生虫学教室

材料および方法

ドジョウからの第Ⅲ前期幼虫の採集:

中国産輸入ドジョウは、金沢市内淡水魚専門店から購入し、肝臓を含む全内臓を摘出、約20倍の人工消化液中に投入、37°C、3時間、恒温槽内で攪拌しながら消化した。消化し終つた液はまず200メッシュ (74 μ m 目) の金網で濾過、残渣をさらに70メッシュ (210 μ m 目) の金網で濾過、その濾液を充分沈殿させた後、その沈渣中から小型幼虫 (第Ⅲ前期幼虫) を回収した。

ラットへの幼虫感染と第Ⅲ後期幼虫の採集:

ドジョウから得た小型幼虫を経口的に50~250隻ずつ、150~250g の Wistar 系ラットに投与した。第Ⅲ後期幼虫は、小型幼虫投与後5週以上を経過した後、そのラットを屠殺、各臓器を前述と同様の方法で消化、消化液を濾過、沈渣中から採集した。

子豚への幼虫感染と成虫採集:

感染に用いた子豚は生後30日目 (約7kg) のLWD種の雌で、投与幼虫はラットから得た第Ⅲ後期幼虫である。この幼虫の30~50隻を経口か経腹腔感染させ、12~15週目に屠殺し、胃壁に寄生していた成熟虫体を採取した。

走査電子顕微鏡 (SEM) による観察:

観察に供した幼虫および成虫は、数回生理食塩水中でよく洗滌し、10%中性ホルマリンで固定した。脱水は脱ホルマリンした虫体をエタノール系列により行い、酢酸アミルからLCO₂に置換、臨界点乾燥 (日立 HCP-2型) を行つた。虫体は金蒸着 (日立 HUS-5型) を行なつた後、加速電圧2~10KVにより走査電子顕微鏡 (日立 S-510型) で観察した。幼虫および成虫の計測値は、SEM像により図に示したのものからそれぞれ計測し

Table 1 Measurements of the larvae and an adult female of *G. hispidum*

	Early third-stage larva	Advanced third-stage larva	Adult female
Body (length×width)	418×64 μ m	2.045×0.247mm	22.59×1.50mm
Head bulb (length×width)	25×48 μ m	50×148 μ m	135×535 μ m
Hooklets of head bulb (length×width)	5-6×2-3 μ m	5-7×3-4 μ m	11.8-13.5 μ m
Cuticular spines	0.8-1.7 μ m*	2.3-4.1 μ m*	a 30-38×23-39 μ m b 98-114 μ m c 140×4.5-10.0 μ m

Note : Measurements were made on each figure of SEM

* : Zone of body next to neck

a : Zone of body next to neck

b : Zone of anterior 1/4 of body

c : Zone of anterior 3/4 of body

求めた。

成 績

ドジョウから得た第Ⅲ前期幼虫 :

第Ⅲ前期幼虫の大きさは体長418 μ m, 体幅(ほぼ中央部)64 μ m であり (Table 1), Fig. 1 は全体像を示し, Fig. 2 では頭球, Fig. 3 は体前部の輪節と皮棘を示したものである。

虫体の全表層には皮棘を有する輪節がみられ, その輪節数は191まで数えられたが, 尾端の近くでは不鮮明となり数えられなかった。頭球直下の輪節から数えて10列目と11列目との間に, 頸部乳頭がみられた。頭球は幅48 μ m, 高さ25 μ m で, 頭頂中央に位置して1対の口唇が左右に相對峙し, その各々の背側と腹側に1個ずつの感覚乳頭が存在した。口唇をとりまく鉤はいずれも鋭く, 体後方に向つて規則正しく4列に配列し, 大きさに差はあるが長さは5~6 μ m, 最も太い部分で2~3 μ m であつた。各列の鉤数はこの写真から算定できなかつたが, ほぼ40個前後と推定される。体部皮棘は頭球鉤よりかなり小さく0.8~1.7 μ m で尖り, 体後方に行くに従つて更に小さくなる傾向がみられた。体前部の頭球に近い輪節は, 時として二重にみえるものもあつた。

ラットから得た第Ⅲ後期幼虫 :

Fig. 4 は第Ⅲ後期幼虫の全体像で, 大きさ体長2,045 μ m, 体幅247 μ m であつた (Table 1)。Figs. 5, 6 は頭球とその鉤を示し, Fig. 7 は体前部にみられる輪節と皮棘を, Fig. 8 は尾端部を示した。

虫体は尾端まで皮棘を有する輪節がみられ, その輪節数は192まで数えられた。頭球は第Ⅲ前期幼虫にくらべ

大きく平たく, 幅148 μ m, 高さ50 μ m で, 4列の鉤列をそなえ, その鉤の数は1列目から38, 37, 37, 42と規則正しく配列していた。この鉤は第Ⅲ前期幼虫のそれとくらべ, 鋭く尖り猛禽類の嘴を思わせる形をしているが, 大きさはあまりかわらず5~7×3~4 μ m で, しつかりした円板状の基部をもつていた。頸部乳頭はこの写真からは確認しえなかつた。

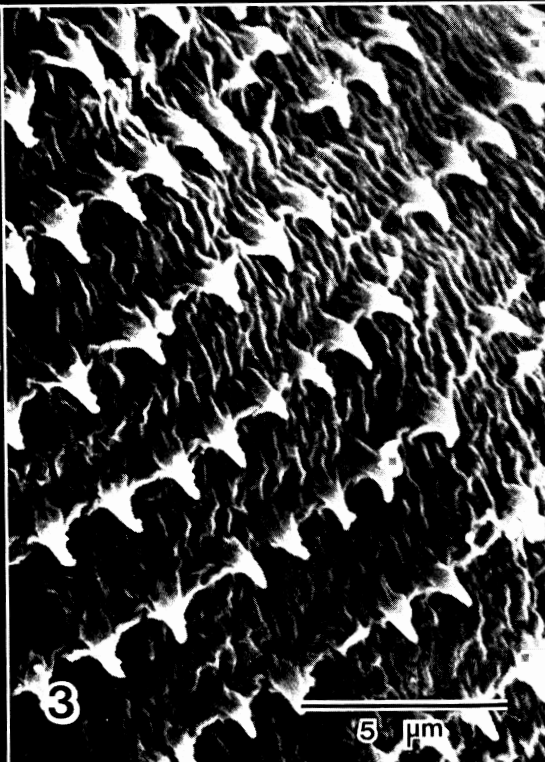
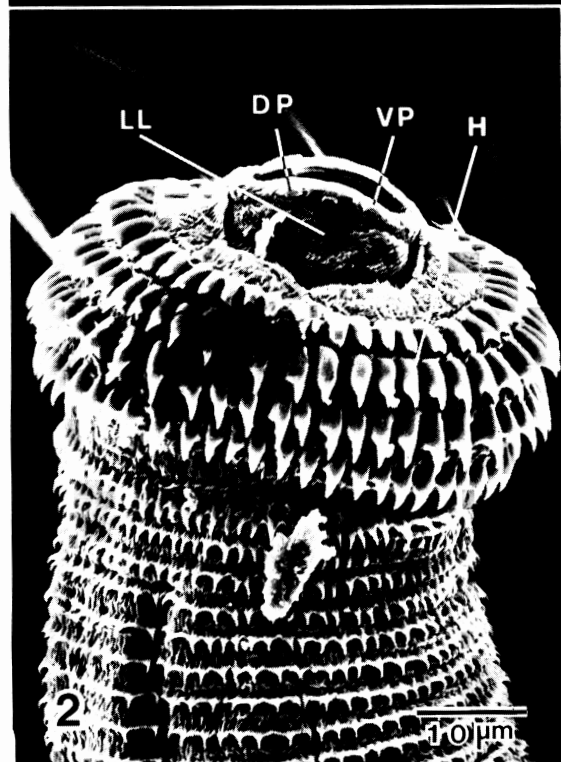
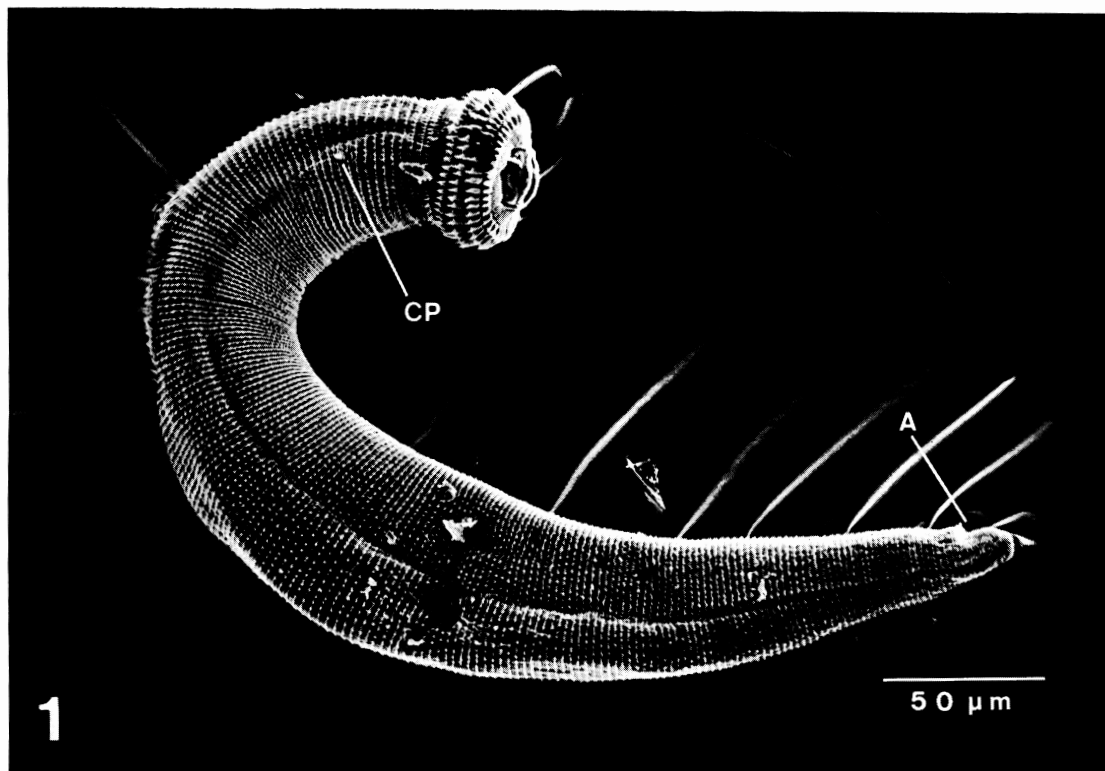
体部の皮棘は小さく, 三角形で尖つている。輪節はやや高まつておりその下端に前記皮棘が存在し, この輪節と輪節との間は輪節溝で隔てられている。体前部にみられる皮棘は2.3~4.1 μ m と, 第Ⅲ前期幼虫のそれと大きさではかわらなかつたが, 尾端付近ではほぼ1 μ m 前後と小さかつた。輪節と輪節との間隔は体前部では狭く, 虫体後方に行くに従つて広がつていく傾向がみられ, 輪節にはさらに横輪線がみられる。体前部の輪節ではほぼ1条であるが, 体後方に行くに従つてその数は増し, 3~4条となり, 輪節溝は浅くなつた。

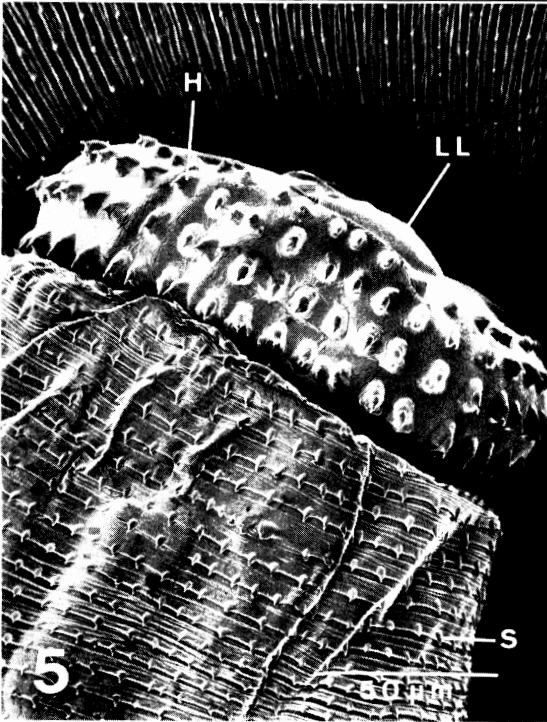
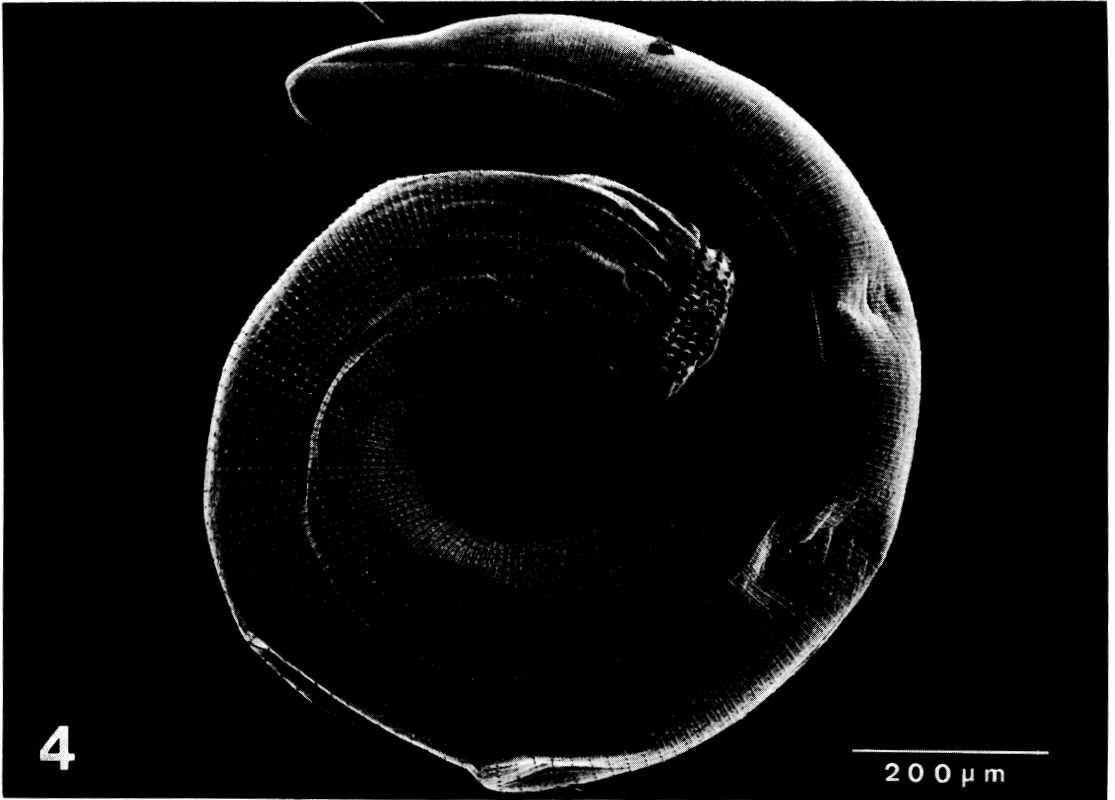
また尾部の形態からは雌雄の判別はできないが, 尾端の側面には1対の乳頭様突起があることを確認した。

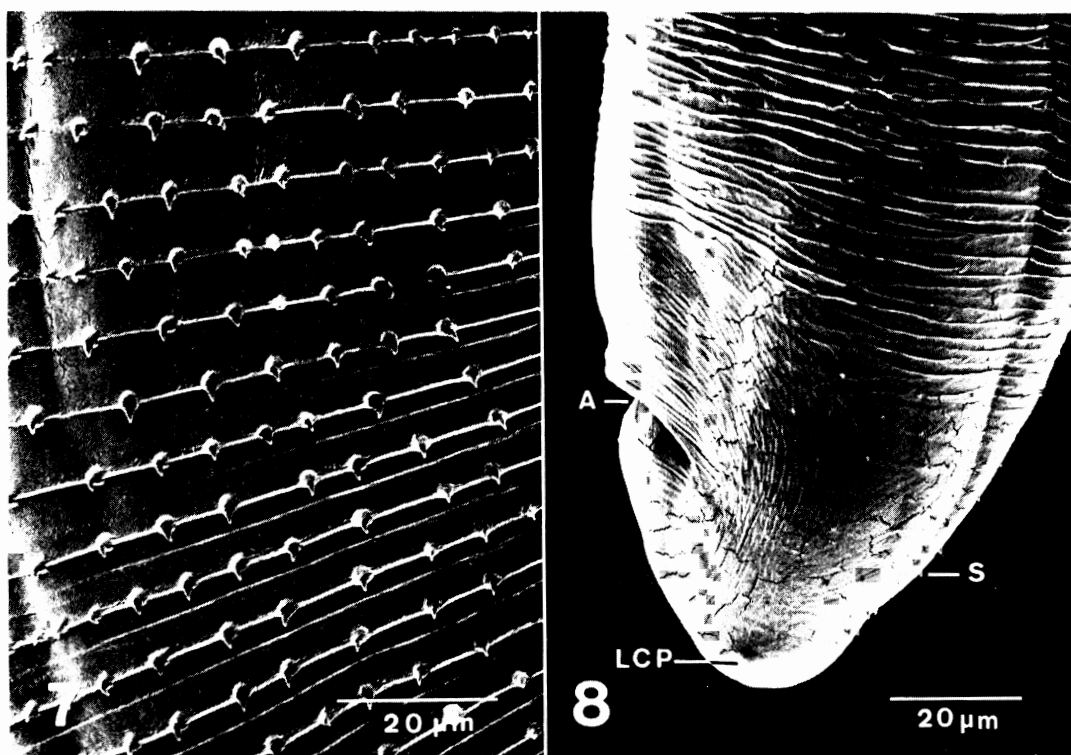
雌成虫 :

虫体の大きさは体長22.59mm, 体幅1.50mm で (Table 1), Fig. 9 は体前部と頭球, Fig. 10 は頭球を上面からみたもので, Fig. 11はその鉤を示し, Figs. 12-14までは体表にみられる種々な皮棘, Fig. 15は尾部を示したものである。

頭球の大きさは幅535 μ m, 高さ135 μ m で, 頭頂中央部に1対の口唇がみられ, それぞれに2個の感覚乳頭がみられたほか, 口唇の基部には1対の amphid を思わせる小さな開孔もみられた。頭球の鉤は長さが11.8~13.5 μ m







Figs. 1-3 The early third-stage larva of *Gnathostoma hispidum* collected from internal organs of the loaches.

Fig. 1 Lateral view of whole body.

Fig. 2 Enlarged view of head bulb.

Fig. 3 Enlarged view of cuticular spines on the anterior part of body.

Figs. 4-8 The advanced third-stage larva of *Gnathostoma hispidum* collected from muscle of experimentally infected rat with early third-stage larvae.

Fig. 4 Whole body of larva.

Fig. 5 Enlarged lateral view of head bulb.

Fig. 6 Hooklets on the head bulb.

Fig. 7 Cuticular spines and transverse row on anterior part of body.

Fig. 8 Tail part of the larva.

Figs. 9-15 An adult female worm of *Gnathostoma hispidum* obtained from stomach of experimentally infected piglet with advanced third-stage larvae.

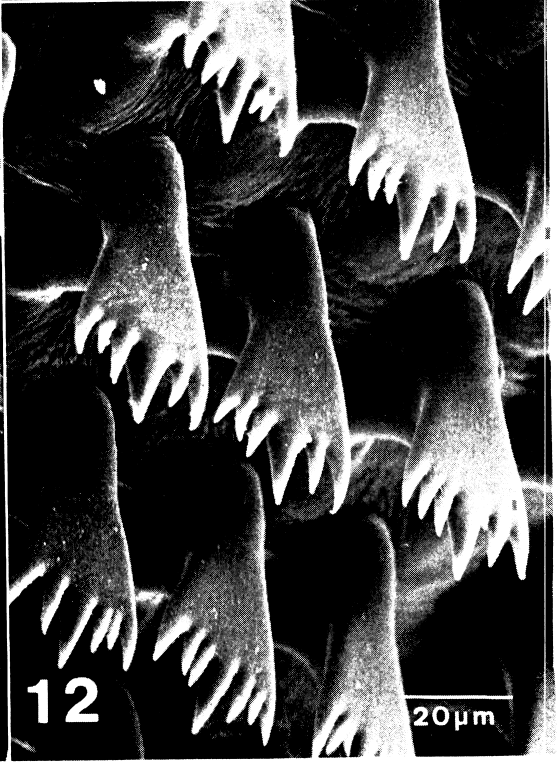
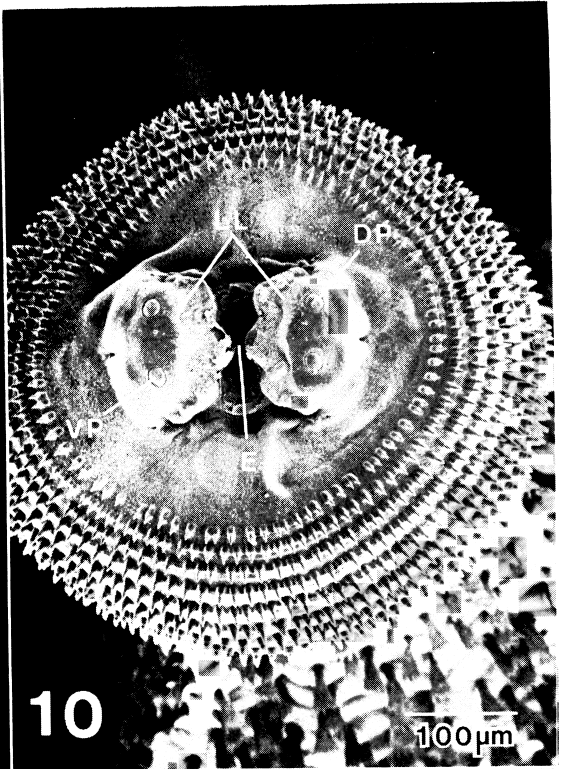
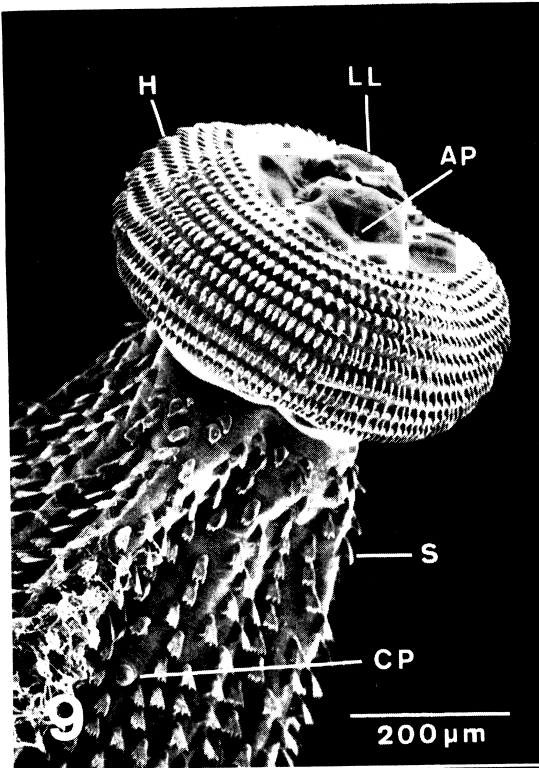
Fig. 9 Head bulb and following part of body.

Fig. 10 Enlarged frontal view of head bulb.

Fig. 11 Hooklets on head bulb.

Fig. 12 Cuticular spines near the neck of the worm.

A	anal pore	AP	amphidial pore
CP	cervical papilla	DP	dorsal papilla of lip
E	entrance of esophagus	H	hooklet
HB	head bulb	LCP	lateral post cloacal papilla
LL	lateral lip	S	spine
VP	ventral papilla of lip		



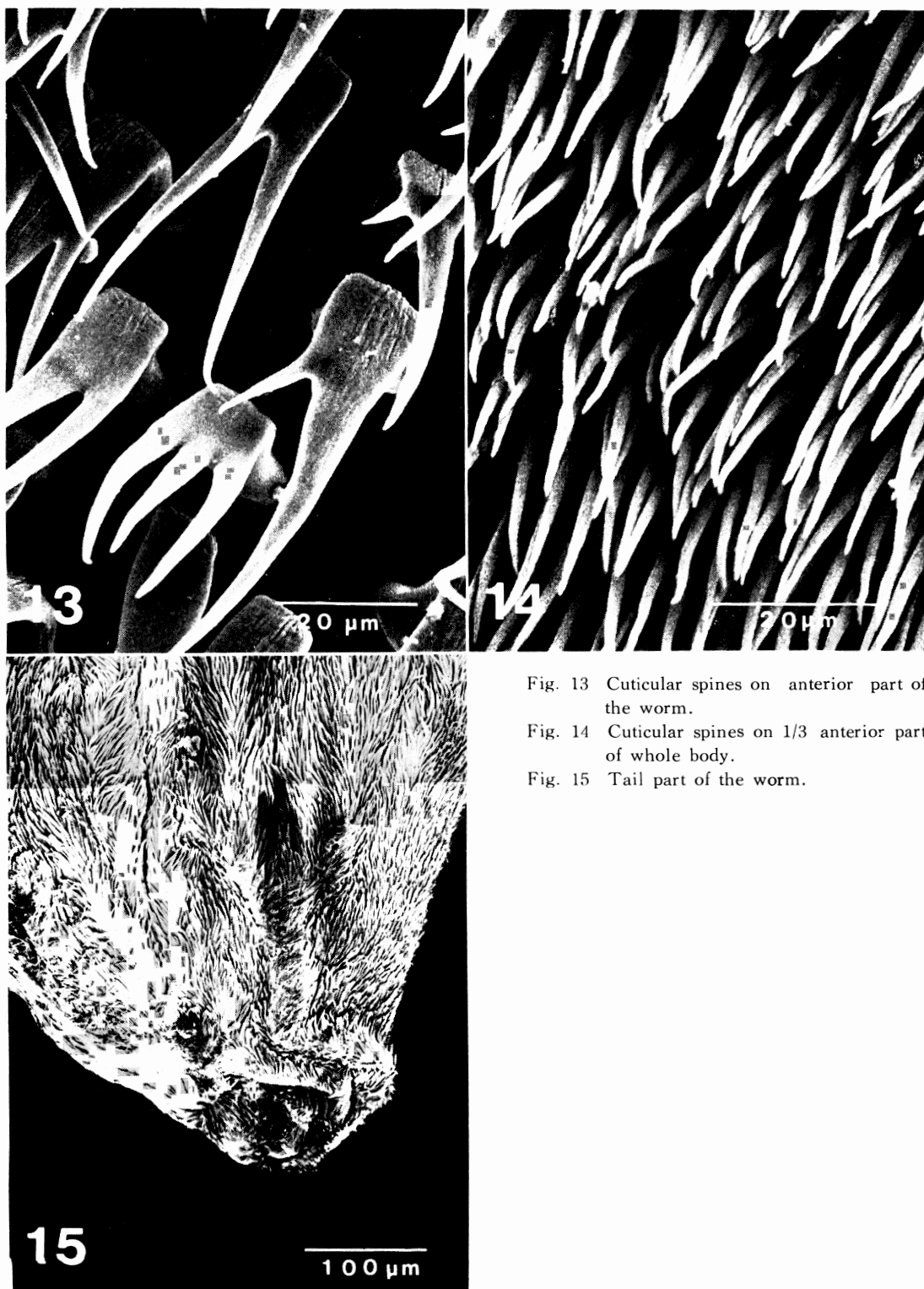


Fig. 13 Cuticular spines on anterior part of the worm.

Fig. 14 Cuticular spines on 1/3 anterior part of whole body.

Fig. 15 Tail part of the worm.

と大きく、しつかりした基部を持ち、形は第Ⅲ後期幼虫のそれに似ていた。鉤列は11~13列みられるが、渦巻状であった。このため各列の鉤数は一定とはいえず、この像から一円を数え2列目になるところまでは88個、次の列で104個、更に110個、4列目は106個の鉤が数えられたが、それ以上の列については算定することは困難であった。なお頸部乳頭は皮棘の11列目と12列目との間にみられた。

皮棘は虫体全部を覆うが、体前部から体後部に向けてその形態に著しい変化がみられた。Fig. 12から14に示す様に頭球に近い体前部の皮棘は手指を上げた様な形で、 $30\sim 38\mu\text{m}\times 23\sim 39\mu\text{m}$ と短く、分岐は浅くその分岐数は6~9であった。さらに体後方に行くに従って皮棘は $98\sim 114\mu\text{m}$ と縦長になり、分岐数も4~2と減少してゆき、分岐は深くフォーク状となった。この様な分岐をもつ皮棘は、頭球下から $1/4$ ぐらい体後方にむかったあたりまでで、それより後方では、長いものでは $140\mu\text{m}$ を越えるもの、幅は $4.5\sim 10.0\mu\text{m}$ と1本の長い針状の皮棘であった。しかし、頭球下からほぼ $7/8$ から尾端までは、 $50\mu\text{m}$ より短い小型の1本の針状皮棘となり、尾部では逆に体前部にむかつて群生していた。

尾端はやや尖り、1対の感覚乳頭と思われる突起が末端部近くにみられたが、排泄孔は確認できなかった。

考 察

剛棘顎口虫は Fedtschenko (1872) によつて、野豚の胃壁からみいだされたのが最初で、その後ヨーロッパのほか、ベトナム、中国、タイなど東南アジア諸地域からもそれぞれ報告されている (Baylis and Lane, 1920; 赤羽ら, 1982)。以来、本虫の生活史、中間宿主としての脊椎動物、ラットをはじめ哺乳動物への感染動物への感染実験が行われ、各期幼虫あるいは成虫の形態の仔細な報告がなされた (Miyazaki, 1960; Dissamarn *et al.*, 1966; Daengsvang, 1972; Wang *et al.*, 1976; 赤羽ら, 1982)。しかし、これらの報告は光学顕微鏡により観察された結果をもとにしたもので、SEM 像による報告はほとんどみあたらない。石井ら (1982 a, b)、石井 (1983)、古賀ら (1984) は、最近、本虫第Ⅲ後期幼虫の頸部乳頭、尾部、若干の体表皮棘の形態について述べている。

著者らは、今回上記第Ⅲ前期、後期幼虫ならびに成虫について、SEM 像によるこれら虫体の表面構造を比較観察した。

頭球鉤の形態では、第Ⅲ前期幼虫とその後期幼虫のそ

れは、鉤列数が4列と差はないものの、形には明らかな差がみられた (Figs. 2, 5)。しかし、成虫の鉤列は11~13列、鉤の大きさは $11.8\sim 13.5\mu\text{m}$ と差があるが、その形は鳥の嘴状を呈し、基部はしつかりとした台座があり、第Ⅲ後期幼虫のそれと形の上では類似していた (Figs. 6, 11)。Daengsvang (1972) は本虫成虫の鉤列数について、11列みられるものは過半数を占め、12、10列とそれに次ぐことを報告している。また、宮崎 (1963) は有棘顎口虫、ドロレス顎口虫、日本顎口虫の第Ⅱ期と、第Ⅲ期幼虫の鉤の形態にはそれぞれ差があり、stage による変化がみられることから、分類上重要な視点であると述べているが、剛棘顎口虫についてはふれていない。Dissamarn *et al.* (1966) は、ドロレス顎口虫と剛棘顎口虫のそれぞれの stage について所見を示している。赤羽ら (1982) は剛棘顎口虫第Ⅲ後期幼虫の鉤の所見が、有棘顎口虫幼虫のそれよりも、ドロレス顎口虫のそれと似ていると報告している。

頸部乳頭は、第Ⅲ前期幼虫では皮棘をとともう輪節の10列目と11列目との間にみられたが、第Ⅲ後期幼虫のそれは今回は確認できなかった。成虫のそれは皮棘列の11列目と12列目との間に存在した。第Ⅲ後期幼虫の頸部乳頭は、光顕レベルで11~13輪節間に (赤羽ら, 1982)、SEM 像では10、11輪節間に (石井ら, 1982 b) みられると述べていることから、第Ⅲ前期幼虫とほぼ近い位置に存在するものと思われる。

輪節数は、光顕レベルと SEM 像とによる計測数に差がみられた。今回の SEM 像からは、第Ⅲ前期幼虫で191、同後期幼虫で192まで数えられたが、輪節には輪節後縁に皮棘があり、明瞭な輪節溝で隔てられていて、識別は容易であった。しかし、この輪節後縁の皮棘は体後方に行くに従って小さくなり、また輪節溝は浅く、輪節にみられる横輪線も1本から3、4本とその数を増し、個々の輪節を判別するのは困難であった。このことは石井 (1972) も有棘顎口虫第Ⅲ期幼虫の SEM 像で同様の所見を示している。

今回、著者らが観察した剛棘顎口虫成虫の皮棘の形態、分布については、前述のごとくであるが、Miyazaki (1960)、宮崎 (1963)、Dissamarn *et al.* (1966)、Daengsvang (1972)、赤羽ら (1982) の光顕レベルでの観察所見とほぼ一致した。しかし、成虫についての SEM 像による報告では、石井 (1972) が、ドロレス顎口虫および日本顎口虫成虫について、Koga and Ishii (1981) は日本顎口虫成虫について、それぞれ皮棘の形態を報告している。これらの記載と著者らが観察した剛棘顎口虫

とは、明らかに分岐数、分岐の切れ込み、それら皮棘の分布位置にも差がみられた。

著者らの今回行った第Ⅲ前期幼虫、第Ⅲ後期幼虫および成虫の SEM 像による所見は、先人達の光顕および SEM による所見を、より詳細に観察したもので、剛棘顎口虫の同定に役立つものと思われる。

結 論

輸入ドジョウから得た剛棘顎口虫第Ⅲ前期幼虫、その幼虫を感染させたラットから得た同後期幼虫、およびこの幼虫を感染させた子豚から得た同雌成虫について、それぞれの体表構造を走査電子顕微鏡により観察した。

1) 頭球の形態、鉤の配列は、第Ⅲ前期幼虫 (25×48 μm) および第Ⅲ後期幼虫 (50×148 μm) では4列、成虫 (135×535 μm) のそれは螺旋状で11~13列であった。また鉤の形態は第Ⅲ後期幼虫のそれは類似し、鳥の嘴状を呈していたが、第Ⅲ前期幼虫のそれとは明らかに差がみられた。

2) 顎部乳頭の位置は、第Ⅲ前期幼虫では10, 11輪節間に、成虫のそれは11, 12輪節間にみられた。

3) 体部皮棘は幼虫、成虫ともに虫体全部を覆つており、第Ⅲ前および後期幼虫は小さな三角形の皮棘で、輪節の下縁に並び、その輪節は前者では191, 後者では192まで数えられた。成虫の皮棘は形態的に種々変化した形がみられ、体前部のほぼ1/4あたりまでは人の手指状の2~9に分岐した形状がみられ、それ以後の尾部末端まで1本の針状の皮棘が密生していた。

4) 第Ⅲ後期幼虫と雌成虫の尾端には、1対の感覚乳頭と思われる突起を観察した。

本研究にあたり、九州大学医学部寄生虫学教室石井洋一教授に種々有益な御助言をいただきました。記して謝意を表します。

文 献

- 1) 赤羽啓榮・岩田久寿郎・宮崎一郎 (1982) : 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.
- 2) Baylis, M. A. and Lane, C. (1920) : A revision of the nematode Family Gnathostomidae. Proc. Zool. Soc. Lond., 1920, 245-310.
- 3) Daengsvang, S. (1972) : An experimental study on the life cycle of *Gnathostoma hispidum* 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.
- 4) Dissamarn, R., Thirapat, K, Aranyakamada, P. and Chai-Anan, P. (1966) : Studies on morphology and life history of *G. doloresi* and *G. hispidum* in Thailand. J. Thai. Vet. Med. Ass., 17, 1-18.
- 5) 石井洋一 (1972) : 走査電子顕微鏡による寄生蠕虫の構造. 寄生虫誌, 21 (増), 25-26.
- 6) 石井洋一 (1983) : 輸入淡水魚由来の顎口虫の形態. 寄生虫誌, 31 (増), 53.
- 7) 石井洋一・古賀正崇・石橋純子・古賀晋 (1982 a) : 輸入淡水魚由来の顎口虫および顎口虫症. 2. ドジョウに寄生する顎口虫の各種哺乳動物への実験感染. 寄生虫誌, 31 (増), 34.
- 8) 石井洋一・古賀正崇・石橋純子 (1982 b) : 輸入淡水魚由来の顎口虫および顎口虫症. 3. ドジョウに寄生する大型幼虫と中国産有棘顎口虫幼虫との比較. 寄生虫誌, 31 (増), 53.
- 9) Koga, M. and Ishii, Y. (1981) : Larval gnathostomes found in reptiles in Japan and experimental life cycle of *Gnathostoma nipponicum*. J. Parasitol., 67, 565-570.
- 10) 古賀正崇・石井洋一・石橋純子 (1984) : 輸入淡水魚由来の顎口虫および顎口虫症. 4. 剛棘顎口虫幼虫および雌成虫尾端の走査電顕の観察. 寄生虫誌, 33 (1・補), 33-34.
- 11) Miyazaki, I. (1960) : On the genus *Gnathostoma* and human gnathostomiasis, with special reference to Japan. Exp. Parasitol., 9, 338-370.
- 12) 宮崎一郎 (1963) : 顎口虫と顎口虫症の研究. 日本における寄生虫学の研究, 3, 目黒寄生虫館, 東京, 275-319.
- 13) 高倉吉正・赤尾信明・大西義博・近藤力王至・吉村裕之 (1984) : 顎口虫および顎口虫症に関する研究 (2) 子豚への感染実験と虫体の形態. 寄生虫誌, 33 (2・補), 53.
- 14) Wang, P., Sum, Y. and Zhao, Y. (1976) : On the development of *Gnathostoma hispidum* in the intermediate host with special reference to its transmission route in pigs. Acta Zool. Sinica., 22, 45-50.

Abstract

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM) OF LARVAE
AND ADULT WORMS OF *GNATHOSTOMA HISPIDUM*

KAORU KONDO, NOBUAKI AKAO, YOSHIMASA TAKAKURA, YOSHIHIRO OHNISHI,
YOSHIHIKO KONISHI AND HIROYUKI YOSHIMURA
(Department of Parasitology, School of Medicine, Kanazawa
University, Kanazawa City 920, Japan)

Morphological features of early third-stage larvae (EL), advanced third-stage larvae (AL) and an adult female worm (AW) of *G. hispidum* Fedtschenko, 1872 were examined by SEM.

EL collected from imported loaches, AL obtained from muscle tissues of experimentally infected rats with EL, and AW recovered from stomach wall of a piglet infected with AL were prepared for the SEM study, according to our previous report (Takakura *et al.*, 1984).

Results obtained were summarized as follows:

Measurements of EL, AL and AW and of their spines were as shown in Table 1. There were significant differences in size or shape of the body, head bulb and hooklets or spines among three specimens. A pair of lips of EL, AL and AW were located at central and anterior end of head bulb. Each lip had a pair of sensory papillae at ventral and dorsal parts, respectively.

The head bulb of EL and AL had 4 transverse rows, but adult worm had 11 to 13. The figure of hooklets of AL and AW on head bulb was of beak-like shape, but that of EL was somewhat longer in length (Fig. 6). Each transverse row on head bulb of EL or AL possessed about 40 hooklets, and adult worm had more than 100. The whole body of three specimens were entirely covered with various shapes of cuticular spines. Transverse rows of EL and AL of the body were counted to 191 or 192.

The cuticular spines at anterior one fourth of body of AW had 2 to 9 teeth or fingers resembling human hand, and they were much longer and needle-like in shape at posterior part of the body (Figs. 12-14). Cervical papilla of EL was seen between 11th and 12th of transverse rows. A pair of projections suspecting of sensory papillae were observed at terminal part of AL or AW.

Morphological features of *G. hispidum* obtained in present study were available for differentiation from other species of *Gnathostoma*.