

剛棘顎口虫幼虫による子豚への感染実験と虫体所見

高倉吉正 大西義博 赤尾信明
近藤力王至 吉村裕之

(昭和59年9月4日 受領)

Key words: *Gnathostoma hispidum*, morphology, infection

はじめに

最近、わが国で輸入ドジョウから検出された小型の顎口虫幼虫は、剛棘顎口虫第Ⅲ前期幼虫であることが、赤羽ら(1982)、石井(1983)により明らかにされた。ところで本虫の成虫の形態については、Dissamarn *et al.* (1966)、Daengsvang (1972)、Wang *et al.* (1976)、赤羽ら(1982)の記載がある。赤羽ら(1982)はドジョウから回収された幼虫をラットに投与し、充分発育した第Ⅲ後期幼虫を得、その幼虫をミニブタに感染させ、採取した雄成虫について形態学的な所見を報告した。

著者ら(1984)は赤羽ら(1982)とはほぼ同様の方法で、ラットから得た第Ⅲ後期幼虫を子豚8頭に感染させたところ、うち2頭から雌雄の成虫を採取することができ、とりあえず要旨を報告した。ここにその実験結果の詳細について報告する。

材料と方法

第Ⅲ前期幼虫の採取とラットへの感染：

1982年2月から翌年11月までの間に、逐次金沢市内淡水魚専門店から、輸入ドジョウ(主として中国産)を購入し、そのドジョウの肝臓を含む内臓のみを約20倍量の人工胃液(0.25%の塩酸液1,000mlに、1:10,000ペプシン1gを溶解せしめたもの)により、37°C、3時間攪拌しながら恒温槽内で消化した。その消化済みの液はNo. 200メッシュ(74 μ m目)の金網で濾過、残渣をさらにNo. 70メッシュ(210 μ m目)の金網で濾過し、その濾液を充分沈澱させた後、沈澱中の幼虫を採取した。採取した幼虫のうちから、寄生数の少なかった大型の幼虫を除き、小型幼虫のみをWistar系ラット(生後6~7週、200g前後)に、1頭あたり100~333隻を経胃的か、経腹

腔的に投与した。幼虫は投与後2~30週の間、それぞれのラットを屠殺、筋肉および種々な臓器を前述と同様の方法をもって消化した後、その消化し終わった液をNo. 70メッシュの金網で濾過、残渣をさらにNo. 32メッシュ(500 μ m目)の金網で濾過、その濾液を充分沈澱させてから、発育した第Ⅲ後期幼虫を回収した。

第Ⅲ後期幼虫の子豚への感染と成虫の採取：

前述のようにして集めた第Ⅲ後期幼虫を、生後30日目(約7kg)のLWD系子豚8頭に、1頭あたり35~50隻を投与した。投与は軽麻酔下で行い、うち4頭は経口的にビニール管を用い確実に胃内へ投与し、他4頭は腹壁を小切開し、ポリチューブにより腹腔内へ投与した。これら子豚は感染後4週目以降は3、4日間隔で週2回、できるだけ直接排便により糞便を採取し、AMSⅢ法により虫卵排出の有無と排卵数を調べた。子豚の剖検は排卵数が最高値に達し、減少しはじめた時点でを行い、胃内は筆と生食水とを用い、粘膜面を洗いながらこすり、注意深く穿入虫体を摘出採取した。採取虫体は生食水でよく洗い、直ちに10%ホルマリン液に投入固定し、先に採取してある幼虫とともに形態的な観察を行った。

成績

1. 輸入ドジョウから検出した剛棘顎口虫第Ⅲ前期幼虫：

輸入ドジョウ(体長5.5~21.8cm)からは、顎口虫の小型幼虫ならびに大型幼虫を得た。このうち、小型幼虫64隻の虫体各部の計測値はTable 1に、全体像はFig.1に示した。小型幼虫の体長は $586.4 \pm 100.1 \mu\text{m}$ 、体幅 $73.8 \pm 13.1 \mu\text{m}$ 、頭球 $30.2 \pm 4.8 \times 60.5 \pm 6.7 \mu\text{m}$ 、食道長 $242.8 \pm 34.9 \mu\text{m}$ であった。頭球の鉤数は、20隻の平均値では第1列38.0、第2列39.8、第3列41.6、第4列44.7で、虫体表面は全体が小皮棘をもつ輪節で覆われ、その数は189(158~214)節であった。

2. ラットから回収した剛棘顎口虫第Ⅲ後期幼虫：

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)の補助をうけて行った。
金沢大学医学部寄生虫学教室

Table 1 Morphological features of *Gnathostoma hispidum* larvae collected from imported loaches

Body length	586.4±100.1μm
width	73.8± 13.1μm
Head bulb height	30.2± 4.8μm
width	60.5± 6.7μm
Esophagus length	242.8± 34.9μm
Number of hooklets of head bulb	
1st row	38.0(33-45)
2nd row	39.8(36-45)
3rd row	41.6(35-49)
4th row	44.7(39-50)

Worm sizes are determined by 64 specimens, data on hooklets by 20 specimens.

() : Range

前記輸入ドジョウから得た剛棘顎口虫第Ⅲ前期幼虫を、ラット13頭に感染させ、2~30週後に回収した幼虫の計測値は Table 2に、全体像は Fig. 2に示した。これら幼虫の回収率は平均43.7%で、うち96.0%の幼虫は筋肉内から回収され、ついで肝臓からは1.5%、その他腸壁、横隔膜、心臓などからわずかではあるがそれぞれ回収された。これら幼虫のうち18隻の計測値は体長2.89±0.25mm、体幅0.23±0.03mm、頭球の幅154.9±12.4μm、高さ68.5±7.9μm、頭球の鉤列は4~5列で、平均鉤数は第1列38.5、第2列38.6、第3列41.6、第4

Table 2 Morphological features of advanced third-stage larvae from rats infected with early third-stage larvae of *Gnathostoma hispidum**

Boby length	2.89± 0.25mm
width	0.23± 0.03mm
Head bulb height	68.5 ± 7.9μm
width	154.9 ±12.4μm
Esophagus length	0.89± 0.12mm
Number of hooklets of head bulb	
1st row	38.5(31-42)
2nd row	38.6(34-44)
3rd row	41.6(37-45)
4th row	44.3(41-49)
5th row	0.3(0- 3)

* Number of larvae examined : 18

() : Range

Table 3 Results of experimental infection to piglets with advanced third-stage larvae of *Gnathostoma hispidum*

Piglets	Infection	Number of larvae given	Oviposition		EPG (Min.-Max.)	Days from infection to necropsy	Worms recovered
			Prepatent period	Duration			
1	Intra-abdominally	50	70	14	5 - 42	87	None
2	Intra-abdominally	35	70	35	70 - 529	105	4 adult males and 8 adult females
3	Intra-abdominally	35	86	11	2	161	None
4	Intra-abdominally	50	(-)			148	None
5	Orally	50	49	35	10 - 150	84	2 adult males, 2 adult females and one immature worm
6	Orally	50	63	24	10 - 91	87	None
7	Orally	35	74	26	2 - 4	161	None
8	Orally	50	(-)			148	None

(-) : Negative EPG : Number of eggs per gram of stools

Table 4 Measurements of adult worms from piglets infected with advanced third-stage larvae of *Gnathostoma hispidum*

	Male*	Female†
Body length	17.3 mm	18.2 -29.5mm
width	1.41mm	1.37- 1.95mm
Head bulb height	220 μ m	210-342 μ m
width	553 μ m	547-699 μ m
Number of hooklet rows on head bulb	11	11-13

* Two worms were examined (Size indicates the average)

† Four worms were examined (Range)

列44.3, 第5列0.3であった。なお虫体表面全体は小皮棘をもつ輪節で覆われ、その数は196(177-221)列であった。

3. 子豚への幼虫感染と採取虫体所見:

第Ⅲ後期幼虫を感染させた子豚は、経口感染群4頭と経腹腔感染群4頭の計8頭である。これら感染子豚の顎口虫卵排出状況と、剖検結果はTable 3にまとめて示した。

幼虫感染子豚のうち排卵を認めたものは両群とも3頭ずつで、いずれも49日目から86日目の間に排便中の虫卵が確認された。このうち両群とも1頭ずつ(表中No. 3とNo. 7の子豚)は、初回の虫卵が確認されてから11~26日間に、少数(EPG:2~4)の虫卵が検出されたので、感染後161日目(初回の排卵をみとめた日から75, 87日後)に剖検したところ、いずれからも虫体はみづからなかった。また両群の子豚のうちNo. 1は70日目から14日間、No. 6は63日目から24日間排卵(最高EPG 42および91)がみられていたが、虫卵数が減少しはじめたので感染後共に87日目(初めて虫卵が検出されてから14, 17日目)に共に剖検したが、虫体を確認することはできなかった。

一方、幼虫の経腹腔感染を行ったNo. 2子豚は70日目、経口感染を行ったNo. 5は49日目から排卵をみとめ、最高EPGが529および150となったが、虫卵数が減少しはじめたので、感染後105日目および84日目(初めて虫卵が検出されてから共に35日目)にそれぞれ剖検した。その結果、前者の子豚では雄成虫4, 雌成虫8隻、後者の子豚では雄, 雌成虫各2隻ずつと、未成熟虫1隻とを主に胃大彎部粘膜面に頭部を穿入、寄生しているのを確認、採取した(Figs. 3, 4)。

なお、No. 4とNo. 8の子豚では、共に148日目まで糞便の検査を行ったが、虫卵は認められず、剖検でも虫体の寄生は認められなかった。

4. 虫卵の形態:

虫卵の形態はFig. 5に示した如く、淡黄色で一極に顎口虫卵特有な蓋様のタカマリがあり、厚い卵殻を有する虫卵であった。これら虫卵66個の計測値は $65.4 \pm 2.5 \times 37.2 \pm 1.4 \mu\text{m}$ 、タカマリは $6.7 \pm 0.7 \mu\text{m}$ であった。

5. 成虫の形態:

採取成虫のうち雄成虫2, 雌成虫4隻の計6隻の計測値はTable 4に示した。雄成虫は平均体長17.3mm, 平均体幅1.41mm, 平均頭球 $553 \times 220 \mu\text{m}$ 、頭球の鉤列は共に11列であった。また雌成虫は体長18.2~29.5mm, 体幅1.37~1.95mm, 頭球 $210 \sim 342 \times 547 \sim 699 \mu\text{m}$ 、頭球の鉤列は11~13列であった(Fig. 6)。一方、虫体は種々な形態を示す皮棘で体表面が覆われ、頭球の下部に近い部分の皮棘は手の指をひろげた様な形(Fig. 7)をし、その分岐は6~8に分れているものが多く、虫体の後方に行くに従って皮棘の縦は長くなり、分岐数も少なくなった(Fig. 8)。これらの分岐皮棘は、ほぼ体前部の約1/4を占めるが、この他の体部では1本の長い針状の皮棘が密生しているのが確認された。なお、頭部および体部の皮棘の形態の詳細については、近藤ら(1984)の報告があるのでここでは省略する。

考 察

今回、著者らは中国産輸入ドジョウから検出された剛棘顎口虫第Ⅲ前期幼虫をラットに投与、2~30週を経過した後回収した同第Ⅲ後期幼虫のそれぞれの形態的特徴は、すでにDaengsvang(1972), Wang *et al.*(1976), 赤羽ら(1982)の報告している虫体所見とよく一致していることを再確認した。著者らは今回、この第Ⅲ後期幼虫を子豚に感染させて排卵開始時期、虫卵および成虫の形態について検討した。

その結果、子豚の経腹腔感染群4頭のうち1頭は感染後70日目、経口感染群4頭のうち1頭は49日目に、はじめ

で糞便中に虫卵が検出された。そして前者は感染後105日目に剖検したところ、成虫12隻（うち雄成虫4、雌成虫8隻）、後者は84日目の剖検では成虫5隻（うち雄成虫2、雌成虫2、未成熟虫1隻）がそれぞれ胃壁内に頭部を穿入、寄生していた。しかし、残りの子豚6頭のうちの4頭は、一時的に排卵を認めたが、虫卵数が減少しはじめた時点での剖検では寄生を認めえなかった。この他の2頭は排卵も認められず、感染が成立しなかったものか早期に排虫されたものかいずれも明らかでなかった。

Wang *et al.* (1976) は第Ⅲ後期幼虫を子豚に経口的に投与し、5か月後に雌雄の成虫をえたとし、Daengsvang (1972) もまたブタへの感染実験で極めて多数の第Ⅲ後期幼虫を投与したにもかかわらず、感染後210日目、または再感染後152日目の剖検ブタ2頭からは、少数の雌雄の成虫および幼虫が胃壁に穿入、あるいは軽く接着していることを報告している。赤羽ら (1982) は、ミニブタを用いた同様の実験で、感染5か月後にはじめて検便により虫卵を認め、剖検で雄成虫3個体を採取し、その形態学的所見を明らかにした。著者らの成績からは、排卵が初めてみられた時期は経口感染のものが49日目、経腹腔内感染のものが70日目であり、先人のそれらよりもかなり早い時期に糞便内虫卵が検出されていることから、既にこの時期において虫体が成熟していることがわかった。しかし、この2頭とも排卵数は日を追って次第に増加して行くが、突然減少し始める傾向が明らかとなったので、幼虫感染後84~105日目に剖検した。この他の経腹腔内感染および経口感染それぞれ2頭（計4頭）の排卵状況についてもよく似ており、幼虫感染後63~86日目の間に糞便内虫卵が陽性となり、経過とともに増加したが、突然減少し始めたため剖検したところ、何れの子豚からも虫体の寄生はみとめられなかった。この結果から、子豚においては一時的には感染が成立して虫体は成熟しうるのであろうが、長く胃壁内に穿入して寄生を持続することは必ずしも容易でないと推察される。また投与した第Ⅲ後期幼虫の数も35~50隻であった点からも、子豚の本虫に対する感受性は余り高いものではないと思われる。

従来、本顎口虫の終宿主が野豚であることが知られているが、本実験や上記報告者のごとき実験豚の成績については、今後ブタの種類や年齢などにより感受性に差があるか否か、また感染方法などによる違いについても検討する必要がある。

虫卵、幼虫および成虫の形態的特徴は、前述の報告者

や Miyazaki (1960)、宮崎 (1963) の記載とほぼ一致していた。頭球鉤の鉤列数や鉤数には若干の個体差が認められるが、皮棘の分布、形態については赤羽ら (1982) の報告とも一致していた。Miyazaki (1960)、宮崎 (1963)、Koga and Ishii (1981)、赤羽ら (1982) が記載している有棘顎口虫、ドロレス顎口虫、日本顎口虫の皮棘の形態とは、著者ら (1984) の今回観察した光顕的ならびに SEM 像所見では明らかに識別しうるものであり、本種顎口虫成虫の形態学的知見を明らかにした。

ま と め

輸入ドジョウ（主として中国産）から得た剛棘顎口虫第Ⅲ前期幼虫をラットに投与し、そのラットから回収した同第Ⅲ後期幼虫を子豚に経口、経腹腔感染させると、雌雄の成熟虫が胃内に寄生することを認めた。

輸入ドジョウから得た第Ⅲ前期幼虫は、平均体長586.4 μ m、体幅73.8 μ m で、頭球の鉤列は4列、体表は全体を小皮棘で覆われ、体部輪節数は189節であった。これら幼虫をラットに投与し、数週を経た後ラットの筋肉などから回収された幼虫は、体長2.89mm、体幅0.23mm で、頭球の鉤列は4列、体表は全体を小皮棘で覆われ、体部輪節数は196節であった。

この第Ⅲ後期幼虫を、経口または経腹腔的に感染させた子豚8頭のうち2頭は、それぞれ感染後49日目および70日目で排卵をみとめ、感染後84、105日目に剖検したところ、成虫計16隻（雄6、雌10）と、未成熟虫1隻が胃壁に穿入寄生していた。その雄成虫の平均体長は17.3mm、平均体幅1.41mm、雌成虫の体長18.2~29.5mm、体幅1.37~1.95mm で、頭球の鉤列は11~13列であった。虫体は全身皮棘で覆われ、頭球下で6~8分岐皮棘、体後方に行くに従ってその分岐数は少くなり、体前部から1/4あたりから尾端まで針状の単皮棘が密生していた。他の4頭は63~86日目に最初の排卵がみられ、11~26日間持続するか、間歇排卵が認められたが、剖検時には成虫を発見できなかった。一方残りの2頭は排卵もみられず、剖検時に虫体も確認されなかった。

虫卵は一極に蓋様のタカマリがあり、卵殻の厚さは65.4 \pm 2.5 \times 37.2 \pm 1.4 μ m であった。

文 献

- 1) 赤羽啓栄・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 re-

- vison of the nematode Family Gnathostomae. Proc. Zool. Soc. Lond., 245-340.
- 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 adults and larval stages. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 3, 376-389.
 - 4) 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. Ass., 17, 1-10.
 - 5) 石井洋一 (1983): 輸入淡水魚由来の顎口虫の形態. 寄生虫誌, 32 (増), 5.
 - 6) 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.
 - 7) 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 (1984): 剛棘顎口虫 *Gnathostoma hispidum* Fedtschenko, 1872の走査電子顕微鏡像. 寄生虫誌, 33, 577-586.
 - 8) Miyazaki, I. (1960): On the genus *Gnathostoma* and human gnathostomiasis, with special reference to Japan. Exp. Parasitol., 9, 338-370.
 - 9) 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, 275-319, 目黒寄生虫館, 東京.
 - 10) 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.
 - 11) Wang, P., Sun, 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, 45-52.

Abstract

STUDIES ON EXPERIMENTAL INFECTION TO THE PIGLETS
WITH *GNATHOSTOMA HISPIDUM* LARVAE AND
MORPHOLOGY OF THE WORMS

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

The advanced third-stage larvae collected from rats orally infected with the early third-stage larvae of *G. hispidum* were confirmed to develop to mature worm in the piglets by experimental infection.

(1) The early third-stage larvae were collected from the viscera of loaches imported from China and measured $586 \times 74 \mu\text{m}$ on an average. The larva had 4 rows of hooklets on the head bulb and the body was entirely covered with minute cuticular spines (Table 1, Fig. 1).

(2) The advanced third-stage larvae measuring $2.89 \times 0.23 \text{ mm}$ in size had 5 rows of hooklets, being possessed of 38.5, 38.6, 41.6, 44.3 and 0.3 spines from the first to the fifth rows respectively (Table 2, Fig. 2).

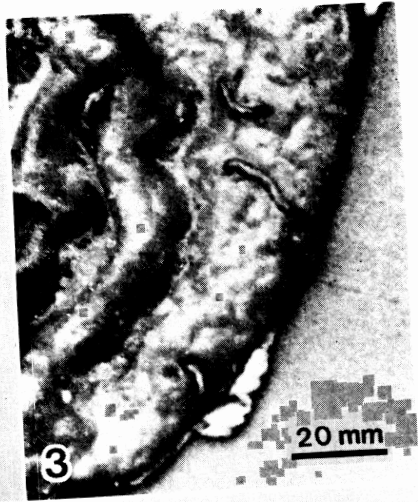
(3) Eight piglets (LWD strain) were inoculated intra-abdominally or orally with 35 or 50 advanced third-stage larvae and all of them were sacrificed during the period from 84 to 161 days after infection. Six out of 8 piglets were found to discharge the eggs in feces after 49 to 70 days of the infection. The eggs measuring about $65 \times 37 \mu\text{m}$ were of *G. spinigerum* type (Table 3, Fig. 5). The two remainders were negative for the egg throughout the experiment. At necropsy, two out of 6 infected piglets harbored 4 adult males and 8 adult females/and 2 adult males, 2 adult females and one immature worm from the stomach respectively (Table 4, Figs. 3 and 4). The sizes of adult male and female worms were $17.3 \times 1.4 \text{ mm}$ (average) or $18.2\text{--}29.5 \times 1.37\text{--}1.95 \text{ mm}$ and had 11 or 11-13 hooklet rows on the head bulb respectively (Fig. 6). The bodies of the male and female adult worms were entirely covered with cuticular spines having various shapes, being useful for differentiation from *G. spinigerum*, *G. doloresi* or *G. nipponicum* (Figs. 7 and 8).



100µm



500µm



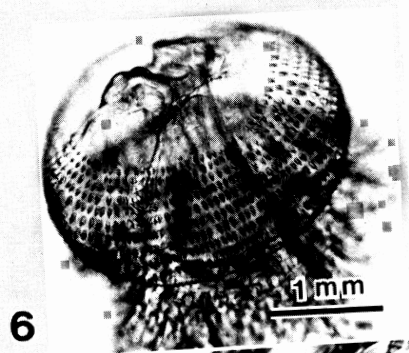
20 mm



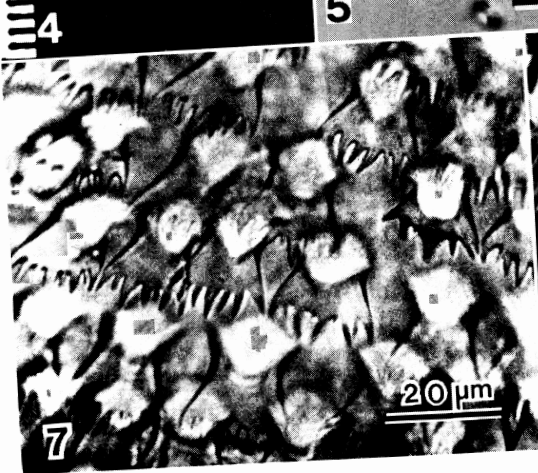
4



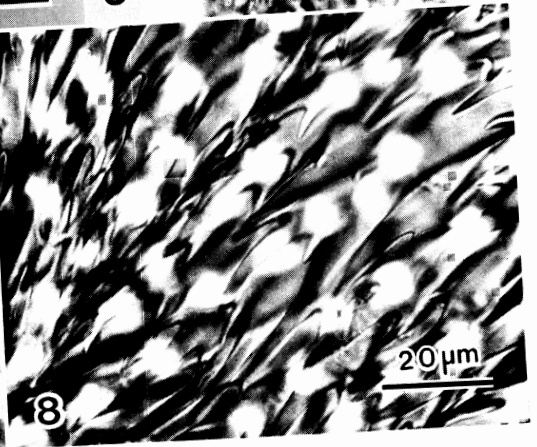
20µm



1mm



20µm



20µm

- Fig. 1 The early third-stage larva of *Gnathostoma hispidum* from imported loaches.
- Fig. 2 The advanced third-stage larva of *Gnathostoma hispidum* from rat experimentally infected with early third-stage larvae.
- Fig. 3 The adult worms penetrating into stomach wall of the piglet (No. 2 in Table 4) infected with advanced third-stage larvae.
- Fig. 4 The adult worms of *Gnathostoma hispidum* recovered from the piglet (No. 2 in Table 4).
- Fig. 5 The egg in stool of infected piglet.
- Fig. 6 Hooklets and head bulb of the adult female worm.
- Fig. 7 Cuticular spines near the neck of the adult worm.
- Fig. 8 Cuticular spines on anterior part of the adult female worm.