

短 報

青森県における日本顎口虫の第1中間宿主に関する検討

小山田 隆 太田洋一 野口智志 工藤 上 吉川 堯

(北里大学獣医畜産学部獣医寄生虫学教室 〒034 青森県十和田市東23番町35-1)

(掲載決定:平成8年4月16日)

Key words: *Gnathostoma nipponicum*; early third-stage larva; copepod; intermediate host.

日本顎口虫 *Gnathostoma nipponicum* は、イタチの食道壁に寄生する線虫であり、広く本邦各地に分布している (Yamaguti, 1941; Miyazaki, 1960; 行天・西田, 1978; 安藤ら, 1988; Oyamada *et al.*, 1995a)。近年、本寄生虫の人体感染例が三重県、岡山県および北日本 (秋田県, 青森県) で相次いで報告され、新たな人獣共通寄生虫の一つとして注目されている (Ando *et al.*, 1988; Sato *et al.*, 1992)。しかし、その自然界での生態には未解決な多くの問題が残されている。顎口虫類の生活環完成には一つあるいは二つの中間宿主が必要である (Prommas and Daengsvang, 1933; Miyazaki, 1960; Wang *et al.*, 1976)。実験的な日本顎口虫の第1中間宿主にはケンミジンコ類, 第2中間宿主としては種々の淡水魚, 両生類, 爬虫類および哺乳類などがその役割を担うとされている (Koga and Ishii, 1981; Ando *et al.*, 1992)。自然界での第1中間宿主は未だに特定されていないが、実験的には *Eucyclops serrulatus*, *Cyclops strenus*, *C. vicinus*, *Mesocyclops leukarti* および *Thermocyclops hyalinus* などのケンミジンコ5種が報告されている (宮崎, 1952; 有田, 1953; 馬淵, 1957; Koga and Ishii, 1981; Ando *et al.*, 1989)。中でも, *C. vicinus* および *T. hyalinus* は本邦に広く分布する一般種であることから (水野, 1991), 青森県内でもその役割を果たしていることが推測されていた。しかし, 著者らは, 県内の日本顎口虫浸淫地域で多数採取される種が *E. serrulatus*, *Macrocyclus fuscus* および *Acnthocyclops vernalis* であることに気付いた。後2者は, これまでに第1中間宿主としての検討がなされていない種である。そこで, 最近

に至って本州最北の地理的分布が確認された日本顎口虫について, それら3種ケンミジンコが当地方の自然界で第1中間宿主となっている可能性を探ってみた。

本実験には青森県東部地域の沼や水田などで4~6月に採取された *M. fuscus* (Mf), *E. serrulatus* (Es) および *A. vernalis* (Av) の3種ケンミジンコを用い, 第2期幼虫 (L2) の感染性を検討した。L2はイタチの食道から分離された雌成虫の産出卵 (4℃, 4~5カ月保存) を20℃で培養し, 20~27日の間に自然孵化したものを, および幼虫形成卵浮遊液を攪拌などの刺激で孵化させたものを用いた。ケンミジンコへの感染は, ケンミジンコ1匹当たり3虫のL2を小型シャーレ (径35mm) 内で同居させ, 自然に捕食させる方法で行った。それら3種の各96匹について, 曝露後24時間目に実体顕微鏡下で捕食状況を観察した。その後, 3虫のL2を捕食したケンミジンコ3種の各60匹を選び, 曝気水を入れた小型シャーレに1匹ずつ移して25℃のインキュベーター内で飼育し, 12日後にL2捕食ケンミジンコの生存率をみた。ついで, ケンミジンコから第3前期幼虫 (EaL3) の回収を実体顕微鏡下で剖検的にを行い, 分離されたEaL3の形態観察およびドジョウへの感染に供した。感染には2種ケンミジンコ (Av, Mf) 由来のEaL3を用い, 12尾のドジョウに1尾当たり8または10虫を細いポリエチレンチューブを用いて経口投与した。感染ドジョウから第3後期幼虫 (AdL3) の回収は, 感染後16~62日の期間内に圧平法および人工消化法 (Oyamada *et al.* 1995b) で行った。得られた幼虫は10%加熱ホルマリンで固定後, ラクトフェノール液で透過し観察した。なお, 計測には接眼マイクロメーターを使用した。

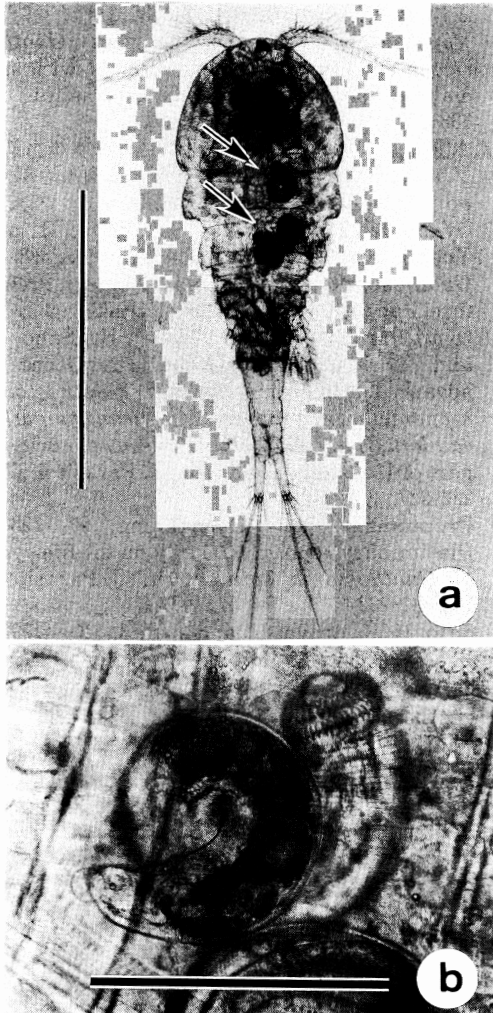
虫卵培養で得られたL2は被鞘を備えた扁平な形態を示し, 内部の幼虫は体長218~320 (平均270) μm, 体

Table 1 Experimental infection with the second-stage larvae of *Gnathostoma nipponicum* to three species of copepods collected from eastern Aomori Prefecture

Species of copepods	Survival rate of copepod (%)	Infection rate of copepod (%)	Recovery rate of EaL3 (%)
<i>M. fuscus</i>	47/60 (78.3)	8/47 (17.0)	15/141 (10.6)
<i>E. serrulatus</i>	43/60 (71.2)	23/43 (53.5)	45/129 (34.9)
<i>A. vernalis</i>	36/60 (60.0)	26/36 (72.2)	62/108 (57.4)

EaL3: the early third-stage larvae. The data determined on the 12th day after infection with the second-stage larvae.

幅12~26 (16) μm であった。3種ケンミジンコはいずれもL2に対する捕食能を示し、24時間以内にすべて



が曝露された3虫を捕食した。その後、それらのケンミジンコを25°Cで飼育し、12日目の成績をTable 1に示した。生存率はMfが78.3%、Esが71.2%、およびAvが60.0%であった。また、ケンミジンコにおける幼虫の感染率と回収率は、各々Mfで17.0%と10.6%、Esで53.5%と34.9%、およびAvで72.2%と57.4%であった。ケンミジンコ体内のEaL3は外部から透視され、体腔内に回旋状を呈しながら緩慢な運動を示していた(Figs. a, b)。捕食後11~13日目にケンミジンコから回収されたEaL3は、平均的に体長521~557 μm 、体幅59~64 μm であり、ケンミジンコの種に係わらず、ほぼ一定していた。また、その形態と計測成績から、日本顎口虫の第3前期幼虫(Early third-stage larvae)(馬淵, 1957; Ando *et al.*, 1989)にほぼ一致することが確認された。2種ケンミジンコ(Mf, Av)に由来したEaL3のドジョウに対する感染成績はTable 2に示した。Av由来EaL3を投与し、16~62日の期間内に検索した9尾中の7尾に感染が認められ、合計40虫が検出された。また、Mf由来のEaL3を投与した3尾のすべてが感染し、合計13虫が回収された。回収率と平均寄生数は、前者で各々45.5%と5.7虫、後者で43.3%と4.3虫であった。得られた幼虫の平均体長は、Av由来EaL3感染例の16日目で770 μm 、32日目で1,133 μm 、および65日目では1,293 μm となり、経時的経過に伴って緩慢ながらも発育傾向を示していた。なお、Mf由来EaL3を感染させた30日目の幼虫は、32日目のAv由来感染例と同等な発育状態にあった。すべての幼虫の形態所見と

Figs. a and b An *Acanthocyclops vernalis* experimentally-infected with the second-stage larvae of *Gnathostoma nipponicum* on 21st day after infection, and the larvae were grown into the early third-stage (arrows) in the body cavity (Bar: a=500 μm , b=200 μm).

Table 2 Recovery rates of the advanced third-stage larvae of *Gnathostoma nipponicum* from experimentally-infected loaches (*Misgurnus anguillicaudatus*)

Host species of EaL3	Days after infection	No. of loaches infected/examined	No. of larvae recovered/infected (%)
<i>A. vernalis</i>	16	1/1	3/8 (37.5)
	32	3/4	21/40 (52.5)
	62	3/4	16/40 (40.0)
<i>M. fuscus</i>	30	3/3	13/30 (43.3)

計測値は, Ando *et al.* (1988) および Oyamada *et al.* (1995b) が記載している日本顎口虫の第3後期幼虫 (Advanced third-stage larvae) に一致していた。

以上の成績から, 新たに Mf と Av が本寄生虫の実験的第1中間宿主になり得ることが判明し, それらを含む3種ケンミジンコが当地方の自然界でも日本顎口虫の第1中間宿主となっていることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり, 本研究に使用したケンミジンコの種の同定と貴重な参考文献のご分与を賜りました元大阪教育大学教授, 水野寿彦博士に深謝する。

文 献

- Ando, K., Tanaka, H., Taniguti, Y., Shimizu, M. and Kondo, K. (1988): Two human cases of gnathostomiasis and discovery of a second intermediate host of *Gnathostoma nipponicum* in Japan. *J. Parasitol.*, 74, 623-627.
- 安藤勝彦・田中英之・大川親久 (1988): 三重県北中部及び奈良, 京都, 滋賀の3府県の一部地域における日本顎口虫の分布調査. *寄生虫誌*, 37, 263-267.
- Ando, K., Tanaka, H. and Chinzei, Y. (1989): Influence of temperature on development of eggs and larvae of *Gnathostoma nipponicum* Yamaguti, 1941. *Jpn. J. Parasitol.*, 74: 31-37.
- Ando, K., Tokura, H., Matsuoka, H., Taylor, D. and Chinzei, Y. (1992): Life cycle of *Gnathostoma nipponicum* Yamaguti, 1941. *J. Helminthol.*, 66, 53-61.
- 有田道夫 (1953): イタチに寄生する2種の顎口虫に関する研究. *医学研究*, 23, 1729-1749.
- 行天淳一・西田 弘 (1978): 香川県における日本顎口虫について. *寄生虫誌*, 27, 411-416.
- 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.
- 馬淵茂樹 (1957): 日本顎口虫のケンミジンコ体内に於ける発育. *岐阜県医科大学紀要*, 4, 587-636.
- 宮崎一郎 (1952): 日本にいる顎口虫の第1中間宿主について. *医学と生物学*, 24, 35-37.
- Miyazaki, I. (1960): On the genus *Gnathostoma* and human gnathostomiasis, with special reference to Japan. *Exp. Parasitol.*, 9, 338-370.
- 水野寿彦 (1991): ケンミジンコ目: 日本淡水動物プランクトン検索図説 (水野寿彦・高橋永治編), pp. 17-50, 東海大学出版会, 東京.
- Oyamada, T., Kudo, N., Sakashita, H. and Yoshikawa, T. (1995a): The first record of *Gnathostoma nipponicum* in Aomori Prefecture. *Jpn. J. Parasitol.*, 44, 128-132.
- Oyamada, T., Kudo, N., Narai, H., Sano, T. and Yoshikawa, T. (1995b): Prevalence of advanced third-stage larvae of *Gnathostoma nipponicum* in loaches (*Misgurnus anguillicaudatus*), in Aomori Prefecture, northern part of Honshu, Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, 44, 222-227.
- Prommas, C. and Daengsvang, S. (1933): Preliminary report of a study on the life-cycle of *Gnathostoma spinigerum*. *J. Parasitol.*, 19, 287-292.
- Sato, H., Kamiya, H. and Hanada, K. (1992): Five confirmed human cases of gnathostomiasis nipponica recently found in northern Japan. *J. Parasitol.*, 78, 1006-1010.
- 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 Zoologica sinica*, 22, 45-52.
- Yamaguti, S. (1941): Studies on helminth fauna of Japan. Part 35. Mammalian nematodes, II. *Jpn. J. Zool.*, 9: 409-438.

Abstract

Research Note

ASSESSMENTS OF THREE SPECIES COPEPODS AS THE FIRST INTERMEDIATE HOST
TO *GNATHOSTOMA NIPPONICUM*, IN AOMORI PREFECTURE, JAPAN

TAKASHI OYAMADA, YOICHI OHTA, SATOSHI NOGUTI,
NOBORU KUDO AND TAKASHI YOSHIKAWA

*Department of Veterinary Parasitology, School of Veterinary and Animal Sciences,
Kitasato University, Towada, Aomori 034, Japan*

To assess the first intermediate host of *Gnathostoma nipponicum* in eastern Aomori Prefecture, an experimental study was carried out. Three species of cyclopoid copepods, *Acanthocyclops vernalis* (Av), *Eucyclops serrulatus* (Es), and *Macrocyclus fuscus* (Mf) collected from an endemic area of this parasite, were infected with the second-stage larvae hatched from the incubated eggs, and the larvae developed into the early third-stage (EaL3) in each copepod after 12 days of infection at 25°C. The infection and recovery rates differed among the copepods species, and those were 72.2% and 57.4% in Av, 53.5% and 39.5% in Es, and 17.0% and 10.6% in Mf, respectively. Additionally, the EaL3 recovered from Av and Mf developed into the advanced third-stage larvae (AdL3) in loaches (*Misgurnus anguillicaudatus*) used as the second intermediate host.

From these results, it confirmed experimentally that new two copepods species, Av and Mf, can serve as the first intermediate hosts. And, it also suggested that three species of copepods reported here were important, at least, as the first intermediate hosts in the natural life cycle of *G. nipponicum* in eastern Aomori Prefecture.