

イヌ蛔虫幼虫の電子顕微鏡学的研究－横断面の超微形態について－

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小西, 喜彦 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/8408 |

イヌ蛔虫幼虫の電子顕微鏡学的研究

—横断面の超微形態について—

金沢大学医学部寄生虫学講座（主任代理：近藤力王至助教授）

小 西 喜 彦

（平成4年11月24日受付）

トキソカラ症の確定的な診断は、その病変組織中にトキソカラ属線虫幼虫を検出し、同定することによってなされる。この方法は現在においても光学顕微鏡による幼虫の形態学的判定が主であって、幼虫虫体の詳細な形態、特に微細構造についてはほとんど検討されていなかった。本論文においては、トキソカラ属線虫のうち、人体への感染が最もよく知られているイヌ蛔虫幼虫について、その微細構造を走査型および透過型電子顕微鏡により観察した。走査型電子顕微鏡による幼虫頭部表面形態は成虫と異なり、三つの唇は観察されず、双器の開孔部が認められたのみであった。透過型電子顕微鏡による幼虫頭部断面像では、唇形成前と思われるY字形の三つの唇内面構造、一対の双器と6つの感覚乳頭、層板状複合構造が観察された。神経環より前部の断面像では、食道を取り囲むようにミトコンドリアの集合がみられ、幼虫のエネルギー代謝が活発であることが示唆された。中央部断面像では、無数の小嚢胞を含む大きな2つの排泄細胞の断面がメガネ状にみられた。また腸管形成前の消化管細胞と大きな腹索がみられた。排泄細胞の中心部は小嚢胞を欠き、細胞質のみで管状構造は認められなかった。この排泄細胞は他蛔虫幼虫のそれより長く大きいものであった。尾部の形態では走査型、透過型電子顕微鏡像とも蛔虫属を含むファスミディア (Phasmodia) 綱の特徴であるファスミッドは観察できなかった。角皮は5層からなり、各層の厚さは他線虫幼虫の計測値と比較して差がみられるが、種を特徴づける微細構造ではなかった。角皮の内側には角皮下層と一層の筋細胞層があり、筋細胞はまだ中空筋細胞型の形状ではなく、背索、腹索および2つの側索で4つに区切られ、それぞれの区画に8個の筋細胞がみられた。一つの筋細胞内には平均 120.9 ± 54.6 個の筋繊維があった。以上の微細構造は、イヌ蛔虫幼虫移行症の電子顕微鏡による鑑別診断の基礎資料として有用であると思われる。

Key words *Toxocara canis*, second-stage larva, ultrastructure, cuticle, excretory cell

トキソカラ症 (Toxocariasis) はイヌ蛔虫症およびその他トキソカラ (*Toxocara*) 属線虫の幼虫による疾病を含み、人畜共通感染症 (Zoonoses) の範疇に入り、更に幼虫移行症 (larva migrans) の一つとして、近年、強い関心がもたれる疾患である。

このイヌ蛔虫症は、1952年、Beaver¹⁾によって提唱された内臓幼虫移行症 (visceral larva migrans, VLM) と称する疾患群のうち、イヌ蛔虫幼虫によって起きる疾病を指している。彼らの提唱する VLM の症例では、小児における白血球および好酸球増多を伴う肝腫大、さらに肝生検標本に見られた好酸球性肉芽腫内、あるいは網膜芽腫と診断された眼球の病理標本中のいずれにも幼線虫の断端がみられた。そしてこの幼線虫について、Smith and Beaver²⁾の人体実験や、Nichols³⁾、Sprent⁴⁾などによる動物実験の結果から、この幼線虫がイヌ蛔虫幼虫であることが明らかとなり、多くの研究者によりその感染病理、非好適宿主体内の移行様式、光学顕微鏡レベルでの比較形態学など、種々な面から、本症発症の原因、診断根拠に関する研究がなされてきた。

本症の病理学的診断には、Nichols³⁾によって1956年に示された幼虫断面像による同定基準が現在においてもなお用いられており、電子顕微鏡による形態学的な研究はほとんどなされていなかった。また、病理組織学的検索で幼虫断面が検出されることにより確定的な診断を下せるが、幼虫を検出することは極めて希である。従って、免疫・血清学的方法に頼らざるを得ないことから、この方面の研究は大いに進歩したが、いずれもイヌ蛔虫 (*Toxocara canis*)、ネコ蛔虫 (*Toxocara cati*) など、種を決定し確定的な診断を得るにはいたらない。しかしながら、トキソカラ属線虫幼虫の断面像の研究は、その後ほとんどなされておらず、現在でもなお病理学的診断は光学顕微鏡像から行われている。

最近、抗原排出に関する研究の一環として、Kondo⁵⁾はイヌ蛔虫幼虫排泄細胞の透過型電子顕微鏡による観察を行い、排泄・代謝物抗原の局在部位を排泄細胞内の小嚢胞膜上に証明した報告と、Talluri⁶⁾のイヌ蛔虫幼虫の頭部と、排泄細胞の形態につ

Abbreviations: Am, amphid; An, anus; AP, amphidial pore; BL, basal layer; Cu, cuticle; DCd, dorsal chord; DL, dorsal lip; Es, esophagus; EC, excretory cell; ECL, external cortical layer; ED, excretory duct; EP, excretory pore; HyL, hypodermis layer; HL, homogeneous layer; IC, intestine cell; ICL, internal cortical layer; ISL, inner surface of lip; LmC, lamellar complex; LA, lateral ala; LCd, lateral chord; M,

いての電子顕微鏡学的観察報告があるに過ぎず、系統的な幼虫断面像について、電子顕微鏡学的に観察した報告はない。このようなことから、著者は今回イヌ蛔虫幼虫の各部分の断面像を系統的に電子顕微鏡により観察した。

材料および方法

I. イヌ蛔虫幼虫の採集

観察のために用いたイヌ蛔虫幼虫は、近藤⁹⁾、近藤ら⁹⁾の方法に準じて得たものである。まず、イヌ蛔虫卵は生後3カ月前後のイヌを過麻酔により屠殺、剖検し、その腸管内のイヌ蛔虫雌成虫を採集した。この雌成虫の膣および子宮を分離後、その膣、子宮内卵を30℃孵卵器内で0.5%ホルマリン液中に拡散させ、30日間飼養して幼虫包蔵卵にまで发育させた。この幼虫包蔵卵（以下虫卵と略す）を50%アンチホルミン（次亜塩素酸ソーダ）水に5分間浮遊させ、虫卵周囲の蛋白膜を除いた。その後、蒸留水を重層し、1500回転で3分間、3000回転で3分間遠沈。上部の一層に浮遊配列した虫卵のみを取り出した。虫卵は蒸留水で3回、さらに生理食塩水で2回洗浄した。この虫卵をテフロン・ホモジナイザーを用い、卵殻を物理的に破壊した。脱殻幼虫はベールマン氏変法⁹⁾により、幼虫洗浄液（phosphate buffered saline, PBS; 300ml: フェンギゾン; 0.6ml: ペニシリン; 0.5ml: ストレプトマイシン; 0.38ml: カナマイシン; 0.15ml）中に遊出、分離した。回収した幼虫は幼虫洗浄液で繰り返し洗浄、無菌化した後、de Savigny¹⁰⁾の方法に従いイーグル改変培地（pH7.2, 日本、東京）中にて37±1℃の孵卵器内で飼養した。実験観察には5週間飼養した幼虫を用いた。用語は寄生虫学用語集¹¹⁾に従った。

II. 電子顕微鏡学的観察

電子顕微鏡学的観察は近藤ら¹²⁾、Kondo ら⁵⁾の方法に準じて行った。まず上記幼虫約100隻を、体表に付着している培養液などを除去するために、生理食塩水で数回洗浄、さらに蒸留水で数回洗浄した。

走査型電子顕微鏡による観察のために、幼虫を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、酢酸アミルから液体炭酸ガスに置換、臨界点乾燥 HCP-2 型（日立、東京）を行った。乾燥した虫体は白金蒸着 HUS-5 型（日立、東京）を行った後、加速電圧 2~10KV により走査電子顕微鏡 S-510 型（日立、東京）で観察した。

透過型電子顕微鏡による観察は、幼虫を2.5%グルタールアルデヒドに約15時間浸漬、その後1.0%オスミウム酸で3時間固定する二重固定を行った。脱オスミウム酸を行うため30%エタノール液で数回洗浄した。ついで材料はエタノール系列による脱水を行い、エポン樹脂に包埋した。このようにした材料を超薄切片にしたものをウラニール酸と鉛化クエン酸による染色をほどこし観察した。観察は透過型電子顕微鏡 LEM-200（明石製作所、八王子）を用い加速電圧 100KV にて行った。

成 績

I. イヌ蛔虫幼虫の走査型電子顕微鏡像

走査型電子顕微鏡による全体像を図1に示した。頭部のやや

下部から、ほぼ尾端近くまで側翼 (lateral ala, LA) が長く延びており、同属のネコ蛔虫幼虫、タヌキ蛔虫幼虫との差異は全くみられなかった。頭部の形態（図2）は成虫にみられるような3つの唇 (lip) は見られなかった。左右の腹唇 (subventral lip, SVL) とする部分（腹唇; ventral lip, VL）は背唇 (dorsal lip, DL) とする部分よりも突出していた。唇の感覚乳頭 (sensory papilla, SP) は観察できなかったが、双器 (amphid, Am) の開孔部 (amphidial pore, AP) は両腹唇 (VL) に、1対存在することが確認できた。頭端から 35~38μm の下方に排泄孔 (excretory pore, EP) が開孔していた（図2）。一方、尾部においては、尾端から 30~36μm の部位に肛門 (anus, An) が開孔しているが、ファスミッドの開孔は観察できなかった（図3）。また、虫体全域にわたって横条線 (transverse striation) がみられ、その間隔は 0.87~0.89μm であった。

II. イヌ蛔虫幼虫の透過型電子顕微鏡像

透過型電子顕微鏡による幼虫観察を行う前に、まず光学顕微鏡による観察を行った。光学顕微鏡によるイヌ蛔虫幼虫の各部の計測値は、幼虫包蔵卵から人工的に脱殻させ、飼養後5週目のものである。幼虫 (n=15) の体長は 381.6±16.9μm (Mean±SD)、体幅は 17.9±1.1μm、食道長は 111.0±5.6μm であった。

図4は幼虫包蔵卵を人工的に脱殻させた直後の無染色イヌ蛔虫幼虫光学顕微鏡像である。DL と突出した VL、食道 (esophagus, ES)、神経環 (nerve ring, NR)、EP、排泄細胞 (excretory cell, EC)、多数の顆粒で形成された消化管細胞 (intestine cell, IC)、An が観察された。腹索 (ventral chord, VCd)、LA、筋細胞 (muscle cell, MC) はこの像からは観察されなかった。

図5は、今まで述べた形態を模式図化し、次に示す横断面像の位置を示したものである。横断面像は代表的な10ヶ所を選び、図6~15に示した。

1. イヌ蛔虫幼虫の横断面像

図6は頭端の部分である。この像及び以下に示す断面像はすべて右下方が腹側である。図6の像は直角横断面像ではなく、腹側に向かって深く、さらに左側から右側に斜めに薄切されたものである。図の左上方に DL が位置し、右下方に向かい左右の SVL がある。左下方の SVL には、大きな Am の断面が見られるのに対し、右上方の SVL には管状で中には細い繊維断面と、さらに細い管状構造が見られた。また、各口唇にはそれぞれ2つずつの神経繊維束と思われる構造が見られ、いずれも SP の一部と思われる。しかし、走査型電子顕微鏡像では、SP は認められなかった。一方、唇の内側は唇内側表皮 (innersurface of lip, ISL) が見え、これによって三叉状の口腔前庭腔 (vestibular lumen, VeL) を形成していた。ISL の外側は細形の囊胞の集束として層板状複合構造 (lamellar complex, LmC) がみられた。

図7は図6の部分のやや下部の横断面像で口腔の食道起始部に近い部分である。口腔壁 (stomatol wall, StW) はこの位置では Es 断面と同様Y字形を呈しており、その回りを LmC が取り囲んでいた。LmC は細い袋状を呈し、明らかに腺組織の形態

mitochondria; MC, muscle cell; MF, muscular filament; N, nucleus; NR, nerve ring; StW, stomatol wall; SL, striped layer; SP, sensory papilla; SVL, subventral lip; VCd, ventral chord; VEC, vesicle of excretory cell; VeL, vestibular lumen; VL, ventral lip; VLM, visceral larva migrans

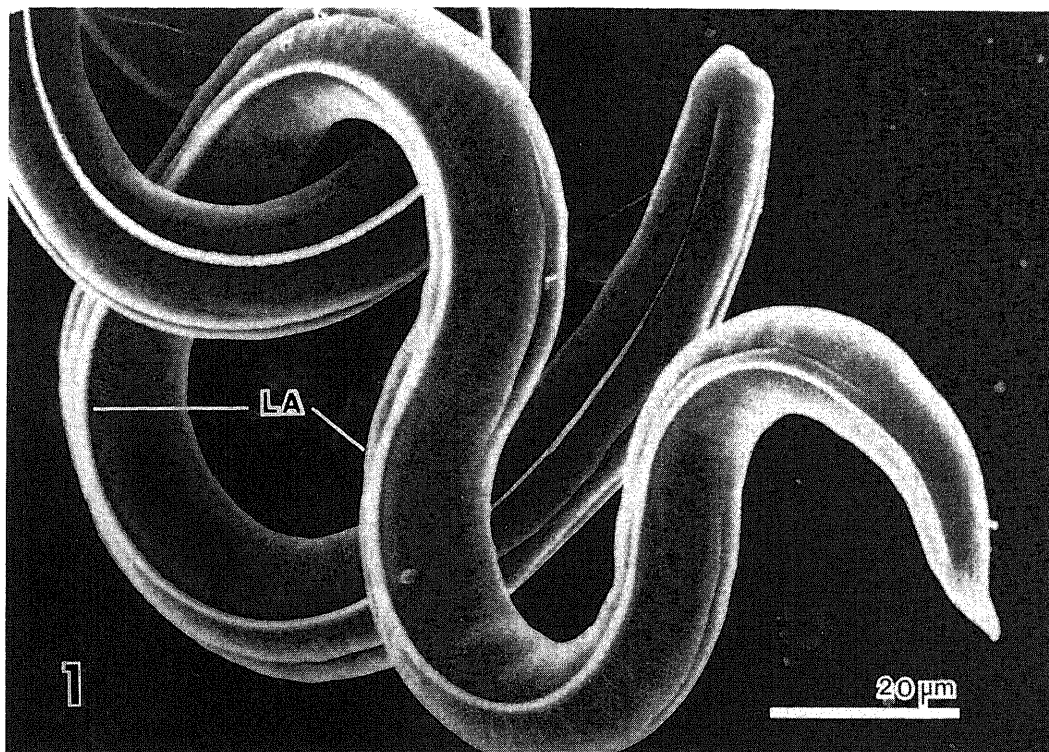


Fig. 1. Whole view of the infective larva. Two lateral alae (LA) run along the both side of the larva.

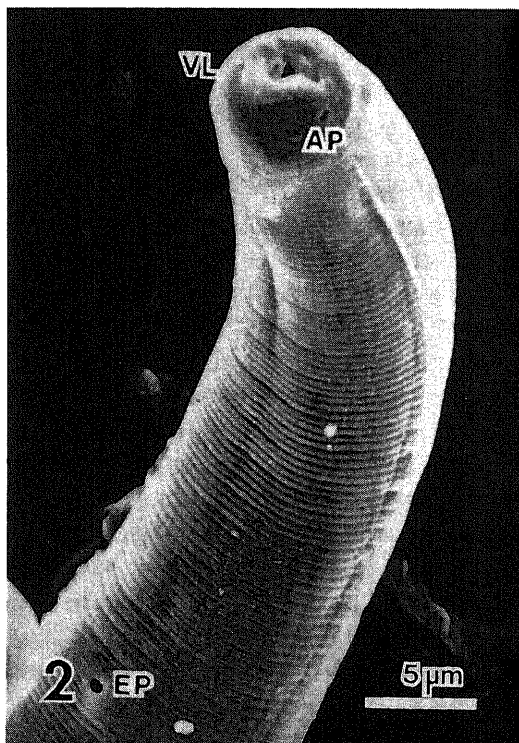


Fig. 2. Anterior portion of *T. canis* larva. The openings of amphids (AP) were observed and the ventral lip (VL) was formed at the ventral margin. The excretory pore (EP) opened out at the ventral region approximately 35~38 μm from the tip of the head.

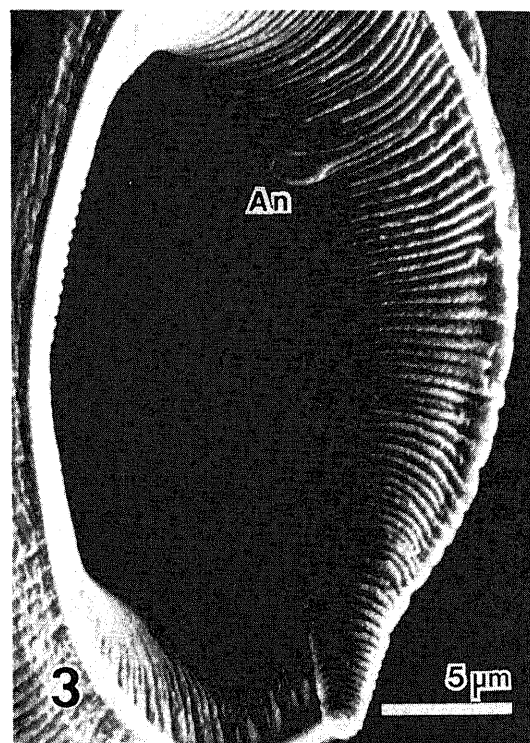


Fig. 3. Posterior portion of *T. canis* larva. Distance from anus (An) to the tip of tail was approximately 30~36 μm . The openings of phasmids were not observed.

Figs. 1-3. Scanning electron micrographs of *Toxocara canis* infective larva.

を有していた。また、Am は管状をなしているのが観察された。

図8は頭部とNRの間に位置している部分である。この部分から角皮 (cuticle, Cu) の内側に角皮下層 (hypodermis layer, HyL), MC の層が見られた。また、VCd がはっきりとみられ、十字状に食道をとりまき極めて多数のミトコンドリア (mitochondria, M) の集合がみられた。

図9はNRが見られる位置である。Esを中心に、神経細胞が輪状に並び束をなしていた。この位置の前後から体腔が見られるようになった。

図10はNRの後方である。虫体断面は背側から腹側に向かいやや斜めに薄切りされたものである。Esを取り巻く組織には神経細胞はみられず、Esの下部の組織で、大きな核を有する細

胞で構成されていた。また、EPに至る排泄管 (excretory duct, ED) が認められた。

図11は食道球部の断面像である。ECは一個であるが、大きな核 (nucleus, N) を持つと断面と、小嚢胞 (vesicle of excretory cell, VEC) を包含する断面と二つに見えた。ECの背側には腺組織様の構造の食道球部があり、腹側には大きなVCdが見られた。この位置あたりから、幼虫の体幅は最大値となった。固定後の体幅は15~19 μ mであった。

図12は光学顕微鏡による病理標本でよく観察される像で、虫体の中程の位置で薄切されたものである。腹側には大きな

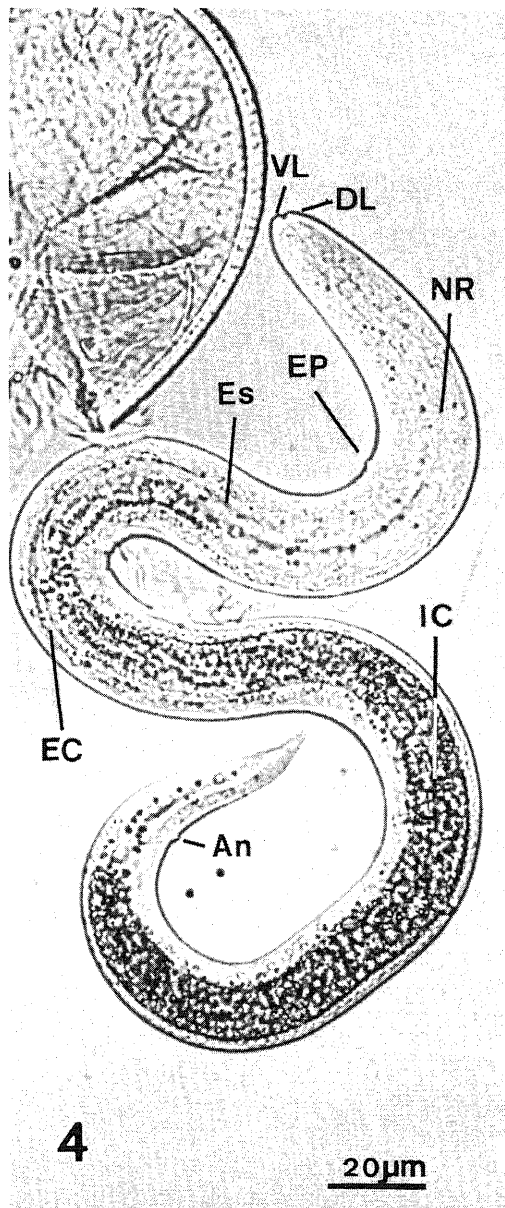


Fig. 4. Light micrograph of *T. canis* larva. The anterior margin of the larva consisted of the ventral lip (VL) and the dorsal lip (DL). The esophagus (ES), nerve ring (NR), excretory pore (EP), excretory cell (EC), intestine cell (IC) and anus (An) were seen in the pseudocoel.

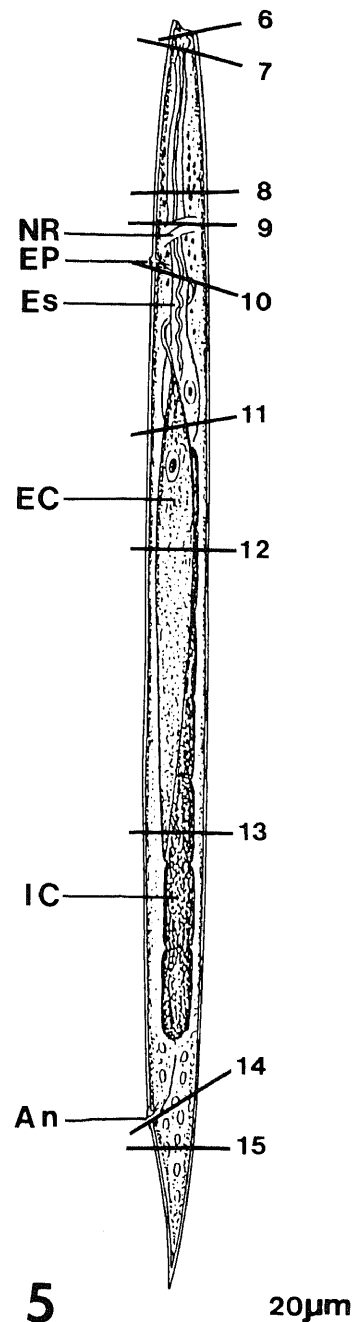


Fig. 5. Illustration of *T. canis* larva. The numbers in the right-hand side and the bars indicate the numbers of the Figures and cutting levels of the larva, respectively.

VCd が体腔内に突出していたのに対し、背索 (dorsal chord, DCd), 側索 (lateral chord, LCd) は極めて小さかった。一つの EC はメガネ状の二つの断面としてみられた。その細胞内には無数の VEC が輪状に配列しており、中央部は VEC を欠き細

胞質以外の構造は見られなかった。この断面像においては腸管の構造はみられず、腸管形成前と思われる IC が観察された。LA は走査型電子顕微鏡像でみられた肉厚感はなく、全断面像を通じ薄い形態を示していた。

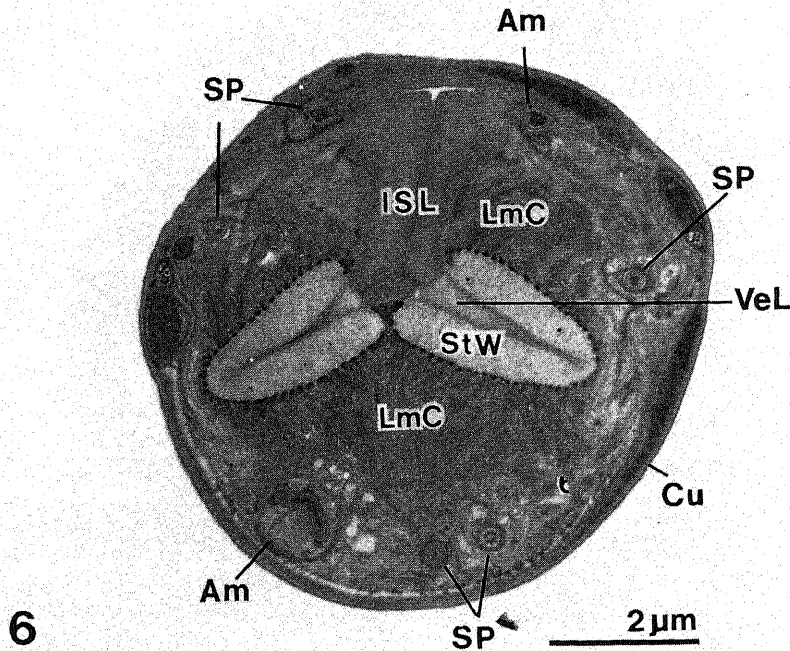


Fig. 6. Slightly oblique section of the anterior portion of *T. canis* at the level of the vestibular lumen (VeL). The Y-shaped VeL was bounded by three lips, which were covered with the inner surface of lips (ISL). A pair of amphids (Am) were observed on the both sides of subventral lips (SVL). The lamellar complex (LmC) was situated at the outside of ISL.

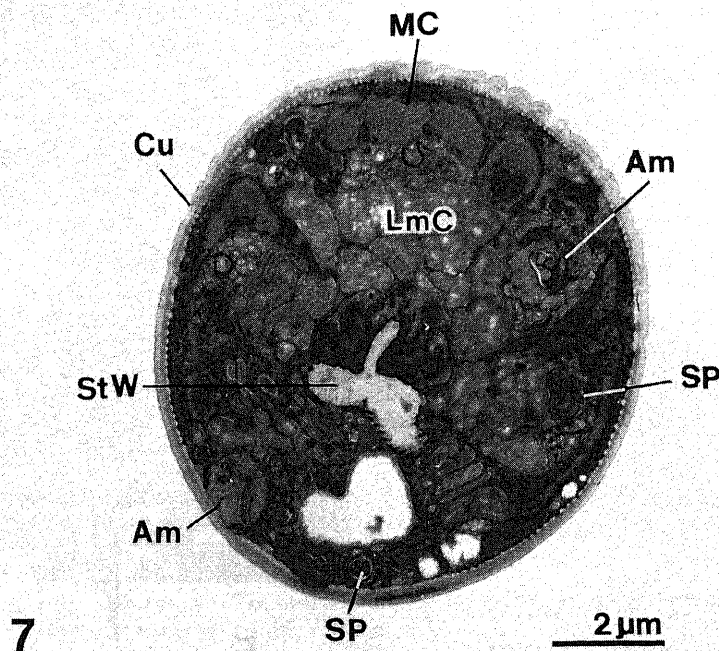


Fig. 7. Cross section of the posterior portion of the buccal cavity. The Y-shaped stomatol wall (StW) was surrounded by the lamellar complex (LmC). A pair of amphids (Am), two sensory papillae (SP) and a few muscle cells (MC) were observed.

MC の配列 (図 8, 9, 10, 11, 12, 13) を見ると, VCd, 二つの LCd, DCd によって大きく 4 区分に分けられる. 1 区分に配列する MC は 8~10 個であった. 一つの MC 内には 39~280 個の筋単繊維 (Muscle filament, MF) があり平均 120.9 ± 54.6 個が観察された. MC は紡錘型をしているものと思われ,

少数の MF を含む小細胞はその先端部分と考えられる. これらの小細胞を除くと MC は 8 個で, 計 32 個の MC で多筋細胞型 (polymyarian type) の層を構成しているが, この期においてはまだ中空筋細胞型 (coelomyarian) が形成されていなかった.

図 13 は EC がほとんどみられなくなった虫体後方の断面像で

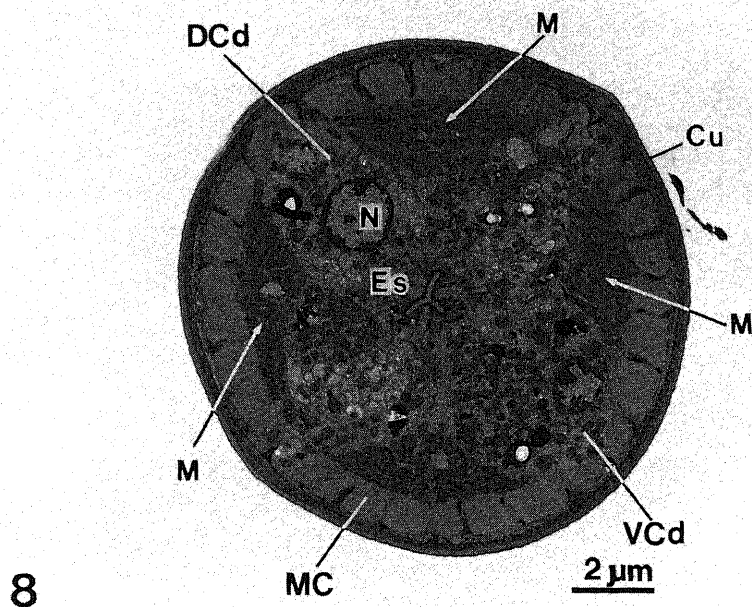


Fig. 8. Cross section of the anterior portion of the nerve ring. The muscle cells (MC) were located just beneath the cuticle (Cu). The dorsal chord (DCd) and the ventral chord (VCd) were observed under the muscle cell (MC). The esophagus (Es) was surrounded by somatic cells that contained a large number of mitochondria (M).

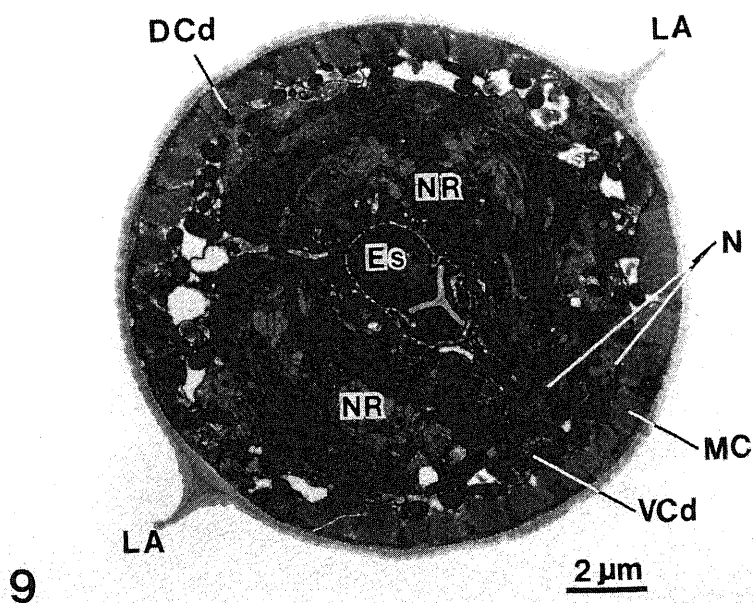


Fig. 9. Cross section of the nerve ring (NR). The esophagus (Es) was surrounded by nervi cells, that formed NR. Two lateral alae (LA) were began to appear at this portion through the tail portion of the larva (see Fig. 15).

ある。写真の右上方にわずかに EC の断端が見られることから、この部分は肛門より少し前方の部分と思われる。即ち、中央部には大きな IC が見られ、中には電子密度の高い大小不同の円形物質がみられた。VCd のみ大きく、体腔はいくつかの擬体腔に分かれていた。また、全体を通じて生殖原基となる細胞は確認できなかった。

図14は肛門付近の斜めに切られた像である。像の右下に An と、大きな VCd が見られる他、大型の核、および少数の MC が見られた。

図15は肛門より尾端までの位置にある横断面像である。この像の VCd の占める割合は大きく、MC の分布も極めて少なかった。像の左下方に腺組織を思わせる構造が見られたが、

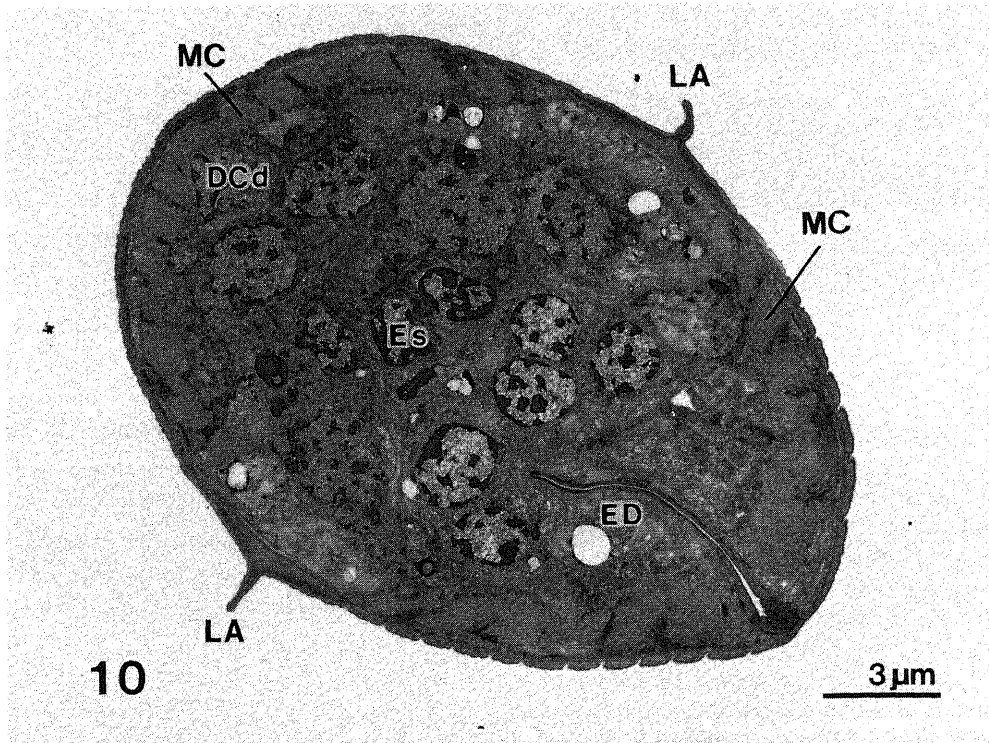


Fig. 10. Cross section of the excretory duct (ED). At the posterior region of the esophagus (Es), more than 10 somatic cells, each had a large nucleus (N), were seen. At this level of the larva, ED run toward the outside.

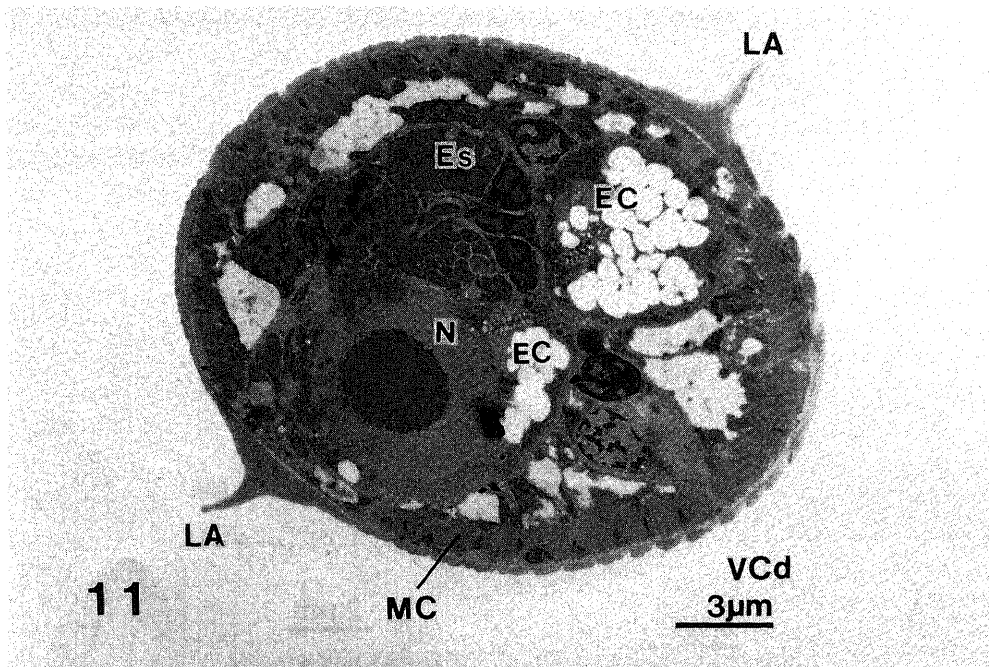


Fig. 11. Cross section of the esophageal bulb. The unicellular excretory cell (EC) was seen two large oval shaped. One side of EC was composed of numerous vesicle. The other side was occupied by a huge nucleus (N). The esophagus (Es) was situated the dorsal part of EC. The cytoplasm of this part of Es appeared a gland structure.

ファスミッドであるか否かは判断できなかった。

2. 角皮と尾端像

Cu の構造 (図16) は外皮層 (external cortical layer, ECL), 内外皮層 (internal cortical layer, ICL), 均質皮層 (homogeneous

layer, HL), 縞紋様層 (striped layer, SL), 基底層 (basal layer, BL) の5層に分けられる。これらの厚さはそれぞれ 0.02 ± 0.003 , 0.11 ± 0.01 , 0.08 ± 0.01 , 0.04 ± 0.01 , $0.09 \pm 0.02 \mu\text{m}$ であった。SL の縞の間隔は $0.02 \pm 0.002 \mu\text{m}$ で整然と並んでい

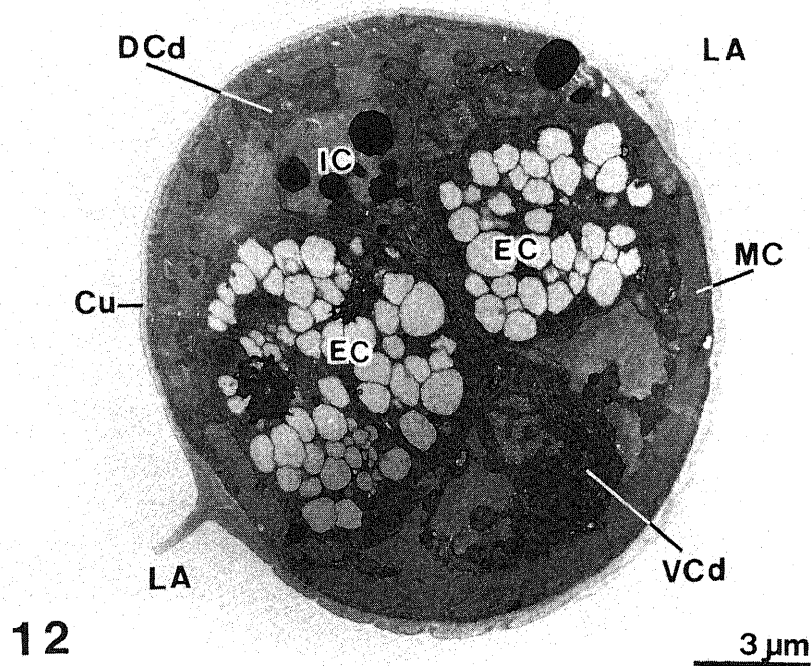


Fig. 12. Cross section of the middle part of the larva. Two columns of an excretory cell (EC) were predominant at the level of this portion. EC was filled with numerous small vesicles (VEC), except for the central part of EC. An intestinal cell (IC) forced dorsad by EC. A large ventral chord (VCd) was observed. The muscle cells (MC) were divided into four sections by a dorsal chord (DCd), VCd and two lateral chords. In each compartment, 8~10 muscle cells (MC) were seen.

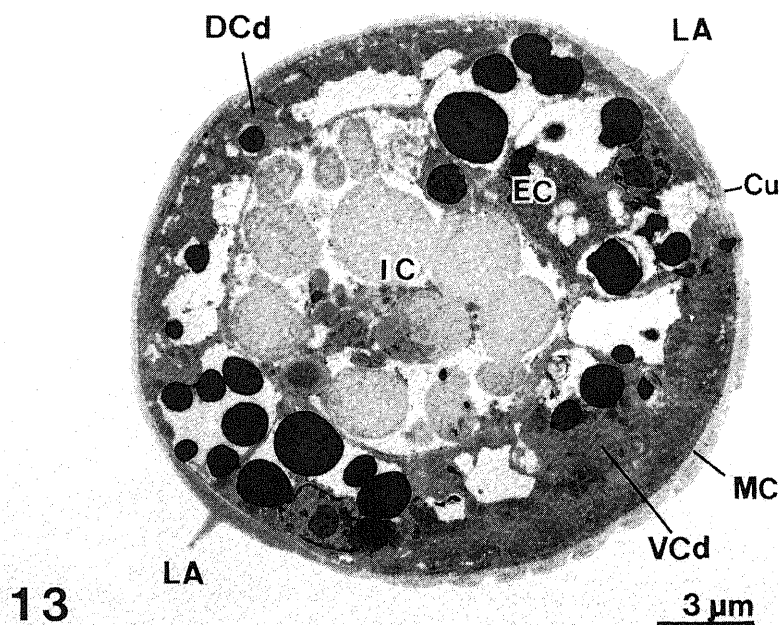


Fig. 13. Cross section of the intestinal region. A large intestine cell (IC), which was not developed into a luminal structure, was filled with the body cavity.

るのが観察された。

尾端の縦断面像(図17)では、図14, 15で示した像と大差ないが、IC と An との連絡は見られなかった。また、縦断面でファスミッドを確認することはできなかった。

考 察

近年、トキソカラ症の診断には、種々な免疫、血清学的な方

法が用いられている。しかし、これらの方法は、抗原あるいは手技がそれぞれ研究者により異なり、必ずしも一致した結果が得られていない。本症の確定的な診断は、病変組織の病理学的検索、さらに検出虫体の同定の結果によってなされる。現在においても光学顕微鏡による観察結果に基づいて診断されている¹³⁾。しかし、虫体の検出は非常に困難で、病理組織学的診断による患者の発見率は極めて少ないが、Glickman and

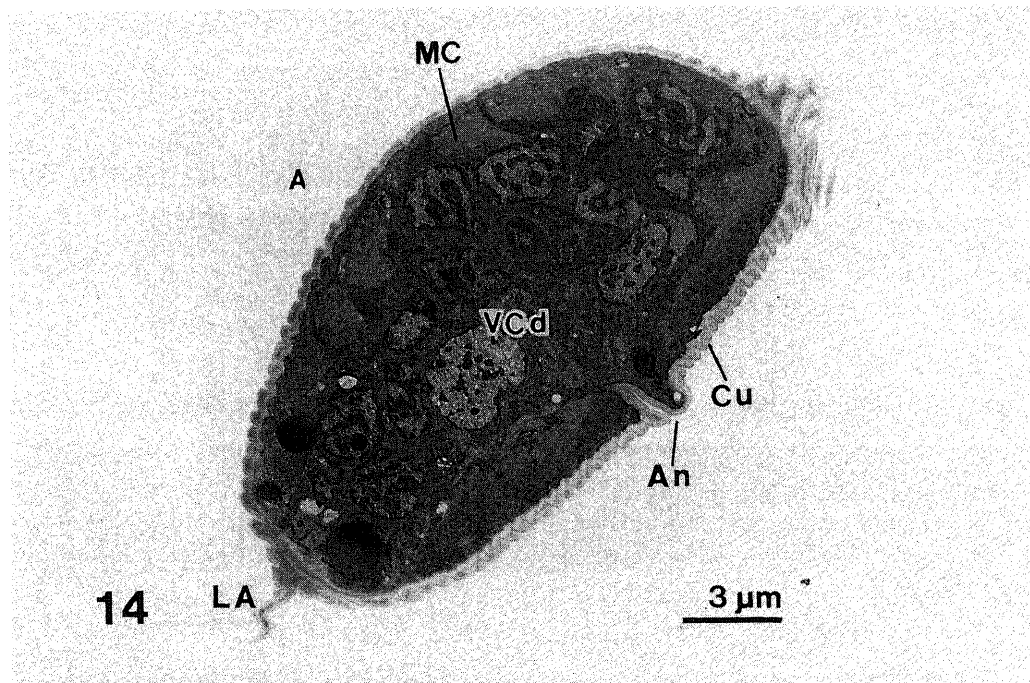


Fig. 14. Cross section of the anus (An). The opening of the An was situated on the ventral cuticle (Cu).

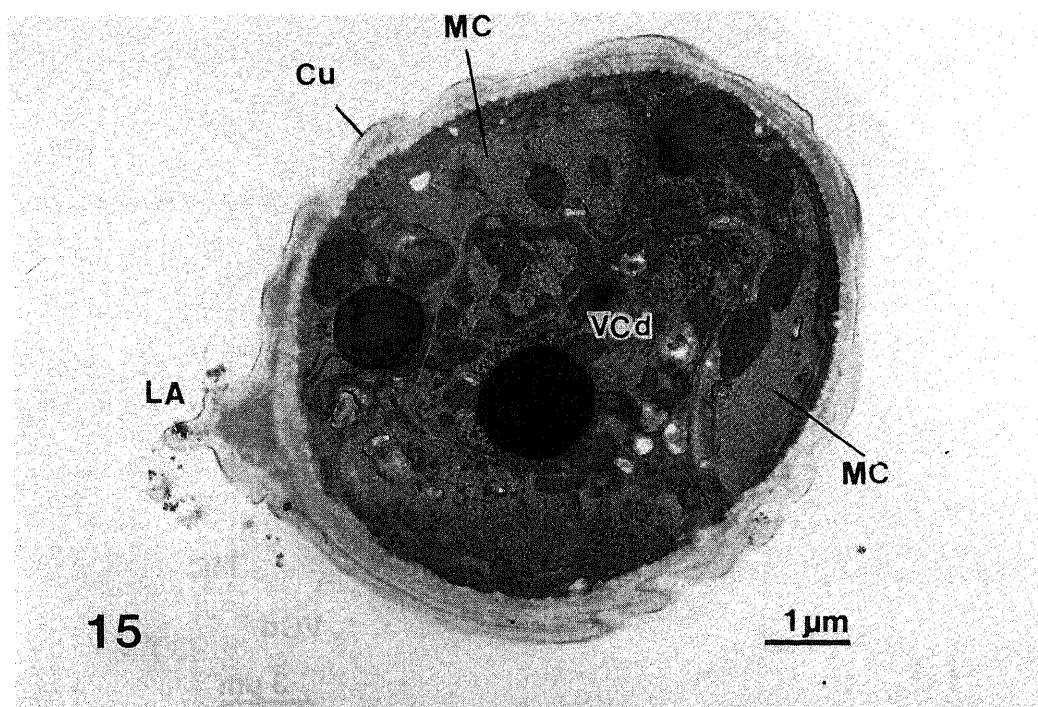


Fig. 15. Cross section of the posterior end of the larva. The ventral chord (VCd) was large and tall with narrow base, and was filled with the body cavity.

Figs. 6-15. Transmission electron micrographs of cross sections of *T. canis* larva.

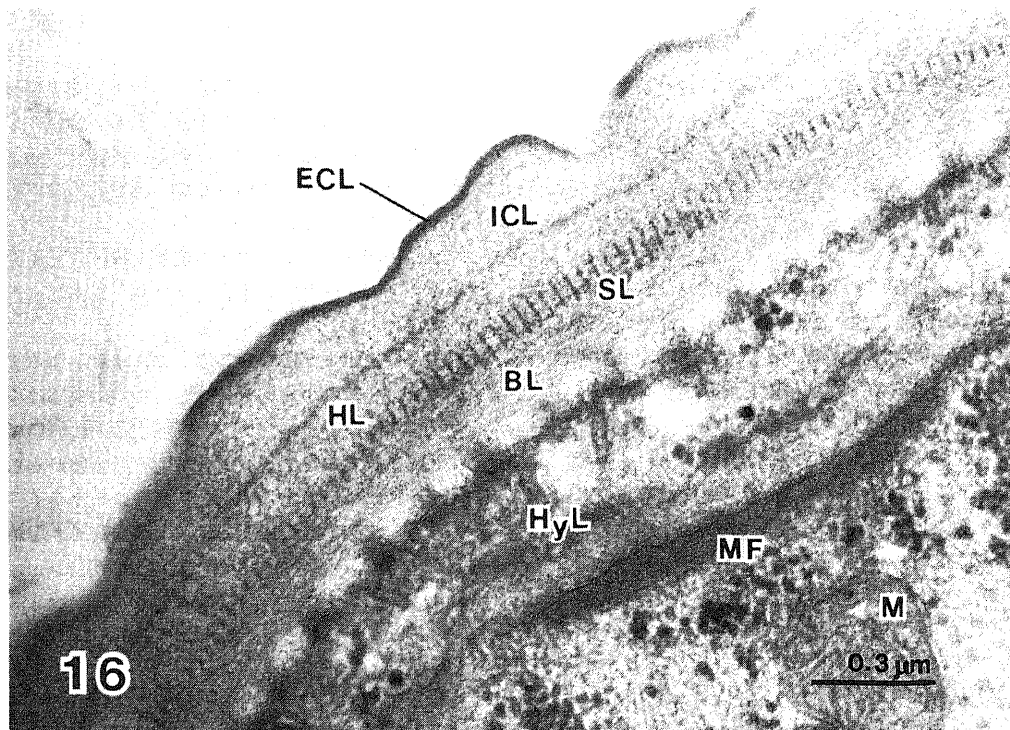


Fig. 16. Cross section of the cuticle. The cuticle was constituted of external cortical layer (ECL), internal cortical layer (ICL), homogeneous layer (HL), striped layer (SL) and basal layer (BL). BL was closely adherent to the hypodermis layer (HyL). A large number of muscular filaments (MF) and a few of mitochondria (M) were observed in a muscle cell.

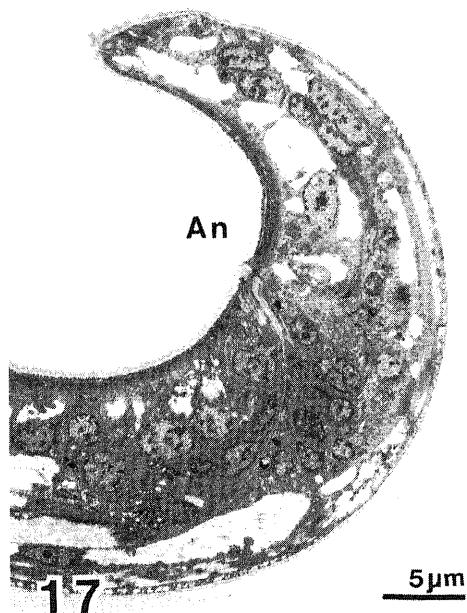


Fig. 17. Longitudinal section of the posterior end of the larva. The anus (An) opened out to the ventral cuticle. The connection between An and the intestinal cell was not clear.

Schantz¹⁴⁾ は、本症と診断された症例が1981年までに約1900例に達すると述べている。一方、わが国においては、1990年9月までに75例が報告されている¹⁵⁾。わが国の例では、ほとんどが免疫、血清学的方法であって、虫体を検出したのは吉岡¹⁶⁾の例が1例あるに過ぎない。

病変中にみられる寄生虫虫体断面の病理学的検索にあたって重要な点は、その寄生虫に特徴的な形態を指摘し得るか否かにかかっている。今までは、既に述べたごとく Nichols³⁾の報告にみられたように光学顕微鏡による断面像がイヌ蛔虫幼虫の同定基準となっている。即ち、トキソカラ属線虫幼虫の排泄細胞は他線虫のそれよりも大きく、特に、イヌ蛔虫幼虫のそれは特に長く大きい。このことは病変組織中における同様な形態の出現頻度も高いことを示しており、著者の透過型電顕像においても、それを裏付ける像であった(図12)。しかし、Nichols³⁾は排泄細胞内の構造については、その中心部に排泄小管の存在を記載しているが、著者の透過型電顕像からは見いだすことはできなかった(図12)。著者の観察結果では、排泄細胞内には無数の小嚢胞が同心円状にみられ、中心部には小嚢胞は存在せず、細胞質のみで、管状の構造は観察されなかった。この点で、Nichols³⁾の記載とは異なっていた。これは、光学顕微鏡による観察であったためと、排泄細胞の機能の推測から小管と考えたのは当然と思われる。しかし、排泄細胞外にある排泄管は明らかに存在し、排泄孔に開孔していることが観察された(図10)。また Talluri ら⁷⁾は、排泄管は小嚢胞の集合部から派生していると述べているが、著者も同様な構造を観察した。しかし、それが排泄管とは決定できなかった。

一方、頭部形態を見ると成虫で観察される形態と全く異なっていた¹⁷⁾。走査型電顕像では3つの唇は見られないが、透過型

電顕像では将来、脱皮して背唇、2つの腹唇が形成されると思われる3つの唇と口腔前庭腔が見られた。さらに頭部感覚乳頭の神経束、双器の管が確認された。また層板状複合構造が食道壁に向かって形成されている。前頭部におけるこれら形態は、Talluriら⁵⁾も報告しているが、これらの像からのみではこの組織の機能を推測することはできなかった。しかし、図8にみられるように部分的ではあるが、層板状複合構造周辺から神経環にかけて無数のミトコンドリアが集まっていた。この特徴は、他線虫の幼虫断面像では全く知られていない。他の断面像において、ミトコンドリアは主として筋細胞の層およびその付近に多くみられることから本幼虫の発育期と、その活動性に関係があるのではないと思われる。筋細胞の配列を見ると、第Ⅲ期幼虫においてはこの属の寄生虫の筋細胞は中空筋細胞型で、多筋細胞型の配列を示すのであるが、今回観察した幼虫においてはまだ中空筋細胞形成には至っておらず、角皮下に筋細胞の配列が見られるのみである。また、筋細胞の配列は腹索、背索、両側索により4区分に分割された間にそれぞれ8~10個の筋細胞がみられているが、最小限度8個の筋細胞によって構成されている。筋細胞の配列個数は、ブタ蛔虫 (*Ascaris suum*) 幼虫では5~9個で平均6個であり¹⁸⁾¹⁹⁾、明らかに差が認められた。筋細胞内の筋線維は平均して120個が観察された。

消化管については、腸管を示す管状の構造はみられず(図12, 13)、1層の膜様物で形成された消化管細胞がみられた。また、透過型電顕像による縦断面像と光学顕微鏡による形態から、これらの像は Sprent⁴⁾が示している消化管細胞を示唆し得るものであったが、氏が示す7つの消化管細胞から成っているということは認められなかった。さらに、これら消化管細胞と肛門との連結はみられず(図14, 17)、肛門から将来消化管となると思われる管状の形態と大きな核が点在する構造が観察された。また、本虫が属するファスミディア綱 (Class Phasmodia) の特徴的な付属器官であるファスミッドは、この時期の幼虫においては観察されなかった。これらの結果からは、Chitwood²⁰⁾によって示されているファスミッドの形態を確認することは出来なかった。Sprent⁴⁾もⅡ期幼虫ではファスミッドを記載していない。

角皮の構造は多くの研究者が示している他の線虫類幼虫の構造とはほぼ類似した形態を示していた。特に Bird²¹⁾、稲垣ら²²⁾はその縞紋様層を模式図により示し厚さを測っているが、著者の計測値との間に相違があった。この差異は成虫と幼虫、あるいは種との差と思われる。角皮下には電子密度の高い角皮下層が観察された。これらの構造からは、脱皮に際しどの部分が被鞘部分となるのかは推定できなかった。

今回著者は病理標本中にみられるイヌ蛔虫幼虫の光顕レベルによる断面像の特徴を電子顕微鏡によりさらに詳細に観察し、今まで知られなかった形態を明らかにした。すなわち、口唇、筋細胞および消化管細胞はまだ未形成か、形成途上であること、幼虫の活動源となるミトコンドリアが極めて多数神経環上部に集まっていること、排泄細胞中に小嚢胞が満たされているが中央部に小管はみられず細胞質のみであった。このような形態の特徴と、まだファスミッドが見られなかったことから、脱殻飼養幼虫は形態的すでに Sprent⁴⁾、Nichols³⁾などを示しているⅡ期幼虫であることが示唆された。

結 論

本論文においては、今までほとんど知られていなかった電子

顕微鏡によるイヌ蛔虫幼虫像について、次のような観察結果を得た。

1. イヌ蛔虫幼虫頭部形態について、走査型電子顕微鏡像では双器の開孔部以外は成虫でみられるような3つの唇、頭部感覚乳頭はみられなかった。しかし、横断面の透過型電子顕微鏡像からは発育過程と思われる唇、感覚乳頭及び双器、層板状複合構造がみられた。

2. 神経環より上方の横断面像では、食道を囲み、極めて多数のミトコンドリアが集合しており、幼虫活動源を意味するものと思われる。

3. 幼虫中央部横断面ではメガネ状を呈する大きな排泄細胞があり、多数の小嚢胞を含むが、細胞中央部は小嚢胞を欠き、管状構造は認められなかった。消化器系に於いては、まだ腸管は形成されておらず、消化管細胞の断面像がみられた。

4. 尾部では消化管細胞と肛門の連絡はなく、生殖器原基とこの属の特徴であるファスミッドは観察できなかった。

5. 角皮 (0.29~0.39 μ m) は外皮層 (0.02 μ m)、内皮層 (0.11 μ m)、均質皮層 (0.08 μ m)、縞紋様層 (0.04 μ m)、基底層 (0.09 μ m) の5層からなり、それぞれの計測平均値は他線虫幼虫の値とは異なっていた。

6. 角皮の内側は、角皮下層と筋細胞の層とで構成され、筋細胞は側索、背索、腹索で4区分され、それぞれの区分には8個の筋細胞が並び、細胞内には120.9 \pm 54.6個の筋繊維があり、ブタ蛔虫幼虫のそれとは明らかに差があった。

以上の形態的特徴は、他蛔虫幼虫と異なりイヌ蛔虫幼虫の第Ⅱ期幼虫を示している。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御懇切なる御指導と御校閲を賜りました近藤力王至助教授に深謝すると共に、終始御協力頂きました赤尾信明講師、加えて電顕標本作成に御協力頂きました国際精工、特に広瀬治子博士に深く感謝致します。また、御校閲をいただきました病理学第一講座、中西功夫教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) Beaver, P. C., Snyder, C. H., Carrera, G. M., Dent, J. H. & Lafferty, J. W.: Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics*, 9, 7-19 (1952).
- 2) Smith, M. H. D. & Beaver, P. C.: Persistence and distribution of *Toxocara* larvae in the tissues of children and mice. *Pediatrics*, 12, 491-497 (1953).
- 3) Nichols, R. L.: The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. *J. Parasitol.*, 42, 349-392 (1956).
- 4) Sprent, J. F. A.: Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. *Parasitology*, 48, 184-209 (1958).
- 5) Kondo, K., Akao, N., Konishi, Y., Yoshimura, H. & Hirose, H.: Immuno-electron microscopic observation of excretory cell of *Toxocara canis* larva. *Jpn. J. Parasitol.*, 36, 187-189 (1987).
- 6) Talluri, M. V., Paggi, L., Orecchia, P. & Dallai, R.: Fine structure of buccal cavity and esophagus in *Toxocara canis* (Nematoda, Ascarididae) infective larvae. *J.*

- Ultrastruct. Mol. Struct. Res., 97, 144-157 (1986).
- 7) Talluri, M. V., & Dallai, R.: Ultrastructure of the excretory-secretory system in *Toxocara canis* (Nematoda, Ascarididae) infective larvae. *Boll. Zool.* 56, 285-290 (1989).
- 8) 近藤力王至: 移行性幼線虫症の実験的研究. 京府医大誌, 79, 32-56 (1970).
- 9) 近藤力王至, 小泉 勤, 坪田宣之, 大西義博, 吉村裕之: 実験的移行性幼線虫症の研究(3)イヌ蛔虫幼虫家兎の抗体価の推移. 寄生虫誌, 30, 549-556 (1981).
- 10) Savigny, de, D. H.: In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* E S antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J. Parasitol.*, 61, 781-782 (1975).
- 11) 寄生虫学会用語委員会: 寄生虫学用語集. 寄生虫誌, 40, 459-513 (1991).
- 12) 近藤力王至, 赤尾信明, 大西義博, 小西喜彦, 吉村裕之: 剛棘顎口虫 (*Gnathostoma hispidum* Fedtschenko, 1872) の走査電子顕微鏡像. 寄生虫誌, 33, 549-556 (1981).
- 13) Nelson, J., Frost, J. L. & Schochet Jr, S. S.: Unsuspected cerebral *Toxocara* infection in a fire victim. *Clin. Neuropathol.*, 9, 106-108 (1990).
- 14) Glickman, L. T. & Schantz, P. M.: Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiol. Rev.*, 3, 230-250 (1981).
- 15) 近藤力王至, 赤尾信明, 大山卓昭, 高倉吉正, 小西喜彦: 現代のペット病とその対策—イヌ, ネコからの病気について. 環境動物昆虫, 3, 175-180 (1991).
- 16) 吉岡久春: 網膜膠腫と誤診した犬蛔虫幼虫 (*Toxocara canis*) による眼内炎. 臨眼, 20, 149-154 (1966).
- 17) 織田 清: 移行性幼線虫症の研究, 特に猫蛔虫と犬蛔虫について. 京府医大誌, 85, 517-532 (1976).
- 18) 小西喜彦, 赤尾信明, 近藤力王至: イヌ蛔虫幼虫の電子顕微鏡学的研究. 寄生虫誌, 37, suppl., 109 (1989).
- 19) 近藤力王至, 赤尾信明, 小西喜彦, 大山卓昭: 犬蛔虫幼虫の頭部形態の電子顕微鏡学的観察. 寄生虫誌, 38, suppl., 71 (1989).
- 20) Chitwood, B. G. & Chitwood, M. B.: Introduction to Nematology, 1st ed., p213, University Park Press, Baltimore, 1974.
- 21) Bird, A. F.: The Structure of Nematodes, 1st ed., p178-197, Academic Press, New York & London, 1971.
- 22) 稲臣成一, 作本台五郎, 板野一男, 田中 寛: 幼線虫体表構造の電子顕微鏡的研究. 寄生虫誌, 12, 16-39 (1963).

Electron Microscopic Observations of Cross Sections in *Toxocara canis* Infective Larvae Yoshihiko Konishi, Department of Parasitology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med Soc., 101, 994—1005 (1992)

Key words *Toxocara canis*, second-stage larva, ultrastructure cuticle, excretory cell

Abstract

Toxocariasis, one of the important zoonoses in humans, can be precisely diagnosed by detecting the presence of *Toxocara* nematode larvae in pathological sections. The larva of the roundworm in dogs, *Toxocara canis*, an ascarid nematode, is one causative agent of the disease. Morphological features of the larva have been described using a light microscope. However, no detailed fine structure of the larva has been available for morphological differentiation among the relative species of *Toxocara* larva. In this paper, fine structures of the entire body of *Toxocara canis* larvae were described by a scanning electron microscope (SEM) and a transmission electron microscope (TEM). In the surface structure of the head portion of the larva under the SEM, the openings of amphids were observed, but no lip was seen on the anterior end of the larva, unlike that of the adult worm. In the cross-sectional views of the head portion under the TEM, the Y-shaped internal lip-like structure that was thought to be the pre-lip structure, a pair of amphids, six sensory papillae, and a lamellar complex structure were observed. In the cross section at the anterior portion of the nerve ring, a large number of mitochondria were aggregated in the somatic cells around the esophagus. This suggested that energy metabolism in the larva was active at this portion. In the central part of the larva, two excretory columns containing numerous small vesicles were seen. In addition, an intestinal cell, which was not developed into a lumenal pattern, and a large ventral chord were observed. The central part of the excretory cell lacked small vesicles and was filled with the cytoplasm, instead of the excretory canal described by Nichols (1971). The excretory columns were longer and larger than those of other ascarid larvae. In the tail structure, a phasmid, which is a feature of the phasmidia class including *Ascaris*, was not observed by either the SEM or TEM at this stage of the larva. The cuticle consisted of five layers. The thickness of each layer was different from those of the other nematode species. In the inner part of the cuticle, hypodermis lay between the cuticle and the muscle cells. The muscle cells were not of the coelomyarian type, and were partitioned into four sections by a dorsal chord, a ventral chord and two lateral chords. In each compartment, eight muscles were seen. A muscle cell had 120.9 ± 54.6 muscle filaments on average. The above fine structures of the larvae observed are deemed to be useful as basic data for the differential diagnosis of toxocariasis using an electron microscope.