

ツシマヤマネコ (*Felis bengalensis euptilura*) の糞便から 得られた *Arthrostoma hunanensis* のイエネコ (*Feli catus*) への感染実験

安田宣紘・丸山浩幸・阿久沢正夫^{*1}・伊沢雅子^{*2}・三好宣彰・清水 孜

(家畜病理学研究室・^{*1}家畜内科学研究室)

平成3年8月1日 受理

Experimental Infection of *Arthrostoma hunanensis* derived from Feces of Tsushima Leopard Cats, *Felis bengalensis euptilura*, to Domestic Cats, *Feli catus*

Nobuhiro YASUDA, Hiroyuki MARUYAMA, Masao AKUZAWA,
Masako IZAWA, Noriaki MIYOSHI and Tsutomu SHIMIZU

(Laboratory of Veterinary Pathology,

^{*1}Laboratory of Veterinary Medicine)

緒 言

わが国に生息する野生動物の保護推進の一環として、野生動物間に発生している疾病の現状を把握するために、長崎県対馬に生息するツシマヤマネコの内部寄生虫の検査を行い、前報^①の結果を得た。この中でツシマヤマネコには鉤虫科線虫が広く蔓延していることが明らかとなった。今回はツシマヤマネコの生息地で採材した糞便の寄生虫卵について虫種を検索し、併せてこれらの糞便の培養から得られた感染幼虫をイエネコに実験的に感染させ、成虫を回収して種の同定を試みた。特に強い病原性を示した *Arthrostoma hunanensis* については、さらに感染実験を行い、寄生虫学的および病理学的検査を行った。

材料と方法

1. 生息地で採材した糞便の検査

糞便は対馬で最も多くのツシマヤマネコの生息が確認されている田の浜、志多留、中山地区で1989年10月～11月、1990年2月、3月の3回にわたり採材した21検体について浮遊集卵法（ウイスコンシン変法^②）と沈殿集卵法の2法を用い、虫卵の検出を行った。

2. 粪便から得られた感染幼虫の感染実験

ツシマヤマネコの生息地で採材した糞便を29°Cで3～4日瓦培養し、得られた感染幼虫を感染実験に用いた。実験には体重0.6～3kg、約3～6カ月齢のイエネコ7頭(Dc-1～7)を徹底した駆虫を行った後、実験に供した。飼料は猫用飼料『キャネット フィッシュ』(ペットライン株式会社)を1日1回約50g、飲用水は水道水を自由摂取とし、飼育室内でゲージ飼いとした。

感染幼虫の投与は経口投与と経皮投与を試みた。経口投与にはラット用胃ゾンデを用い、投与後約6時間絶食した。経皮投与は感染幼虫を生理食塩水で十分に洗浄した後、ストレプトマイシン（注射用硫酸ジヒドロストレプトマイシン注協和250、協和醸酵工業株式会社）を100μ/mlとペニシリン（ベンジルペニシリンプロカイン、田村製薬株式会社）を1000U/ml添加した生理食塩水懸濁液として、頸部背側皮下に注射器で注入した。イエネコDc-1には経口投与100匹、経皮投与100匹。Dc-2には経口投与150匹、経皮投与100匹。Dc-3には経口投与300匹、経皮投与100匹。Dc-4には経口投与100匹。Dc-5には経口投与150匹。Dc-6には経口投与300匹。Dc-7には経皮投与150匹をそれぞれ投与した。投与後約1カ月間経過観察し、剖検した。寄生虫の検査は全臓器について詳細に観察した。特に小腸は6等分して粘膜を生理食塩水中でブラシで擦り虫体を遊離させ回収した。また、胆管、胆嚢については実体顕微鏡下で粘膜面を精査した。それより採取した虫体は、70°Cに加温した70%エタノールで固定を行い、グリ

^{*2}北九州市立自然史博物館、805 北九州市八幡東区西本町3-6-1

Kitakyushu Museum of Natural History, Nishimotomachi 3-6-1 Yahatahigashi-ku Kitakyushu-shi Hukuoka 805

セリン・アルコール液で保存した。糞便虫卵検査は投与1週間後から浮遊集卵法を行った。

3. *Arthrostoma hunanensis* の感染実験

感染実験ネコから得られた*Arthrostoma hunanensis* の虫卵を含む胆汁に獣炭末を加え、孵卵器内で29°C、4日間瓦培養して得られた被鞘感染幼虫をイエネコに投与し、寄生虫学および病理学的に検査した。実験には約3カ月齢の同腹4頭（体重0.6~1.0kg）2組の計8頭のイエネコを用いた。実験開始前に糞便検査を行い、寄生虫卵が確認されたものについては駆虫後に実験に供した。飼育法は前述と同様条件で行った。感染幼虫は経口投与とした。投与数は8頭のイエネコを4群各2頭に分け、第1群（DcE-1, 2）に50匹、第2群（DcE-3, 4）に100匹、第3群（DcE-5, 6）に200匹、第4群（DcE-7, 8）に300匹をそれぞれ投与した。実験期間は60日とし、投与後7日目から浮遊集卵法で虫卵検出を行いEPG（eggs per gram）を求めた。また、虫体の回収は剖検時に行った。寄生虫の検出は胆管、胆嚢を中心に消化器系を前述と同様の方法で行った。採取した虫体は70%エタノールで固定した。雄、雌20匹についてはグリセリン・アルコール液で透徹後、顕微鏡下で計測および形態的特徴を観察した。全臓器は肉眼的観察後、10%磷酸緩衝ホルマリン液で固定し、常法の如くパラフィン包埋、薄切標本とし、hematoxylin-eosin（H-E）染色、必要に応じてMasson trichrome染色等の特殊染色を行い、病理組織学的検査に供した。

結 果

1. 粪便の虫卵検査結果

採取した糞便は21検体であったが、排泄後かなり時間の経過したものが多く、また、採材量も一定せず、総量1gに満たない検体もあった。そのため虫卵が崩壊し、卵殻のみのものや虫卵内容が判然としない虫卵もかなりあった。検出は主としてウィスコンシン変法と沈殿集卵法を用いたが、一部判定不能のものについては、瓦培養で遊出させた幼虫の形態を観察し、同定の一助とした。

検出された虫卵の種類は条虫類1種、線虫類8種、胞子虫類1種の計10種類で、所属の明らかにできなかった線虫卵については大きさ、形状の差によりCapillaria属虫卵をC1, C2, C3. Ancylostomatoidea科虫卵をA1, A2, A3. 所属不明線虫虫卵をU1, U2, と分類するにとどめた。全く虫卵

を検出できなかつたものが3検体あった。虫卵検出率（陽性率）は85.7%（18/21）で、最高1検体で6種類の虫卵が検出されたものやNo.2のように虫卵がEPGで1600以上検出された例もあり、種類、虫卵数とともに多様性を示していた。検体別の虫卵の種類とEPGはTable 1.に示すとおりである。

次に各虫卵の計測値並びに形態学的特徴について述べる。

1) 条虫類 Cestoda

(1) *Spirometra erinacei*

本種虫卵は3検体（14.3%）にみられ、1検体あたりの最大EPGは62であった。虫卵は大きさが58.0~64.0×34.0~36μm（平均63.2×31.6μm）で、黄褐色を呈し、両端の尖った橢円形、左右不対称で、小蓋の外れた卵殻のみの虫卵が多数認められた。卵殻は比較的薄く、一端に小蓋がみられたが、無蓋端の外側突起構造は存在しなかった。

2) 線虫類 Nematode

(1) Capillaria 属虫卵

本種虫卵は12検体（57.1%）にみられ、今回の糞便検査の中で最も高率にみいだされたものである。その大きさの差により3型に分類した。

C1型

虫卵は細長い橢円形で、大きさは64.5~65.6×20.8~29.2μm。黄褐色で、両端に栓構造があり、卵殻表面には亀甲状の紋理がみられた。この型の虫卵は9検体でCapillariaの中で最も多く認められた。

C2型

この型の虫卵は4検体にみられ、大きさが58.3~60.8×26.7~29.2μmで、C1型虫卵に似ていたが、長径がやや短く、黄褐色を呈し、栓が僅かに突出しており、卵殻の表面に僅かに陥凹した網目模様が認められた。

C3型

1検体にみられたこの型は、前2型に比べ短橢円形で丸みがあり、大きさは53.5~58.3×24.3~29.2μmで、栓がやや突出し、両側は不対称で、表面の紋理はC2型とほぼ同様であった。

(2) Ancylostomatoidea（鉤虫上科）虫卵

本項に分類される虫卵は8検体（38.1%）から検出され、次の2種類に分類した。

A1型

この型の虫卵は8検体に認められ、卵円形で、大きさは平均72.9×43.7μmであり、ほとんど無色を呈し、卵殻は比較的薄く、内容は十数個の細胞～桑

Table 1. Species and EPG(OPG) of parasites eggs from feces in *Felis bengalensis euptilura*

No. of specimen	Prasite	EPG (OPG)	No. of specimen	Prasite	EPG (OPG)
No. 1	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	3	No. 12	Ancylostomatoidea(A1)	13
No. 2	<i>Spirometora erinacei</i>	62		<i>Toxocara cati</i>	1
	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	5	No. 13	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	4
	<i>Toxocara cati</i>	1600		<i>Capillaria</i> sp. (C2)	1
No. 3	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	4		Ancylostomatoidea(A1)	7
No. 4	<i>Spirometora erinacei</i>	62		unclassified nematoda(UI)	16
No. 5	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	1		unclassified nematoda(U2)	3
No. 6	Ancylostomatoidea(A1)	75		<i>Isospora rivolta</i>	100
	<i>Toxocara cati</i>	1	No. 14	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	3
No. 7	<i>Spirometora erinacei</i>	2		<i>Isospora rivolta</i>	3
	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	1	No. 15	undetected	
	Ancylostomatoidea(A1)	5	No. 16	undetected	
	<i>Toxocara cati</i>	53	No. 17	<i>Toxocara cati</i>	16
No. 8	<i>Capillaria</i> sp. (C3)	6	No. 18	<i>Capillaria</i> sp. (C2)	1
	Ancylostomatoidea(A1)	136	No. 19	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	7
No. 9	<i>Capillaria</i> sp. (C2)	3		Ancylostomatoidea(A1)	63
	<i>Toxocara cati</i>	318		Ancylostomatoidea(A2)	26
No. 10	Ancylostomatoidea(A1)	9	No. 20	undetected	
No. 11	<i>Capillaria</i> sp. (C2)	5	No. 21	<i>Capillaria</i> sp. (C1)	1
	Ancylostomatoidea(A1)	1		<i>Toxocara cati</i>	3

* ; Eggs per 1 gram (Oocysts per 1 gram)

C1: 64.5-65.6×20.8-29.2μm, conspicuous plug at both ends, hexagonal pattern on shell-surface.

C2: 58.3-60.8×26.7-29.2μm, carved meshy pattern on shell-surface.

C3: 53.5-58.3×24.3-29.2μm, un-symmetrical, same shell pattern as C2.

A1: 72.9×43.7μm (mean), thin shelled, morula staged.

A2: 68.0×36.5μm (mean), same structure as A1.

U1: 53.5-58.3×24.3-26.7μm size, colorless, thick shelled, smooth surfaced, embryonated.

U2: 68.0×19.4μm (mean), colorless, long oval, thin shelled, smooth surfaced, morula staged.

実胚であったが仔虫を形成しているものもあった。

A 2 型

この虫卵は平均68.0×36.5μmで、前者と構造はほとんど同じであり、1検体に認められた。

(3) *Toxocara cati*

本種は7検体(33.3%)に認められ、大きさが直徑69.4-64.5μmで、ほぼ無色を呈し、やゝ角ばった卵円形で、卵殻が厚くタンパク膜に覆われており、表面はやゝ粗造であった。内容は単細胞からなり、卵殻との間隙はほとんどみられなかった。EPG1600を示す検体もあった。

(4) 属種不明の線虫卵

これらの虫卵は1検体に認められたもので分類不能な2種類の虫卵であった。

U 1 型

虫卵は無色で、大きさは53.5-58.3×24.3-26.7μmであり、卵殻が厚く、表面は平滑な卵円形で、仔

虫を含んでいるものが多く、EPGは16であった。

U 2 型

この虫卵もまた無色であったが、大きさは平均68.0×19.4μmの長い楕円形で、卵殻は薄く表面は平滑で、内容は桑実胚であった。

3) 胞子虫類 Apicomplexa

(1) *Isospora rivolta*

このオーシストは無色で、平均24.3×21.9μm(長径短径比は1.11)の卵円形を呈し、一端がやや尖り、卵殻は薄く他方端の卵殻は僅かに厚くなっていた。内容は単細胞のものが多かったが、2個のスプロシストを形成し、不明瞭な残体が認められるものもあった。大きさから *Isospora rivolta* と同定した。

2. 粪便から得られた感染幼虫の感染実験結果

ツシマヤマネコの糞便の瓦培養で遊出した感染幼虫の成虫を得るために、約3カ月齢のイエネコ7頭に経口並びに経皮投与を行って感染実験を試みた。

投与 1 週間後から糞便内虫卵検査を開始した。投与後約 1 カ月間経過を観察した後に麻酔下放血殺を行い、全臓器を詳細に検索した。

経口投与で 100 匹、経皮投与で 100 匹投与した Dc-1 は、投与後 18 日目に EPG250 の虫卵を排泄した。投与 36 日目の回腸から種不明の *Uncinaria* 属線虫 (*Uncinaria* sp.) 雄 2 匹、雌 4 匹を得た。経口投与 150 匹、経皮投与 100 匹の Dc-2 は、投与後 13 日目に EPG23 であり、投与 32 日目に回収された虫体は胆管、胆嚢から *A. hunanensis* 雌のみ 2 匹、結腸から *U. felidis* 雄 1 匹、雌 1 匹であった。胆嚢内(胆汁)には虫卵は認められなかった。経口投与 300 匹、経皮投与 100 匹の Dc-3 には投与後 17 日目に EPG100 の虫卵の排泄が見られ、投与 55 日目に回収された虫体は回腸から *Uncinaria* sp. 雄 4 匹、雌 11 匹であり、結腸から *U. felidis* 雄 1 匹であった。経口投与のみ 100 匹の Dc-4 は、投与後 14 日目に EPG46 の虫卵を排泄した。投与 28 日目に回収された虫体は胆管、胆嚢から *A. hunanensis* の雌のみ 4 匹と結腸から *U. felidis* の雌雄それぞれ各 1 匹を得たが、胆汁には虫卵は認められなかった。経口投与 150 匹の Dc-5 は、投与後 14 日目の EPG が 1300 であった。投与 28 日目に回収された虫体は胆管、胆嚢から *A. hunanensis* 雄 3 匹、雌 11 匹、結腸から *U. felidis* 雄 2 匹、雌 4 匹であった。胆汁内には多数の *A. hunanensis* の虫卵が認められた。経口投与 300 匹の Dc-6 は、投与後 18 日目に EPG450 の虫卵を排泄し、投与 61 日目の回腸から *Uncinaria* sp. 雄 8 匹、雌 5 匹を得た。しかし、*A. hunanensis* は回収されなかった。経皮投与のみ 150 匹の Dc-7 は実験期間中虫卵の排泄はみられず、剖検時にも寄生虫は認められなかった。経皮投与以外のネコ全例に寄生虫感染がみられ、投与後 13~18 日目から EPG23~1300 で虫卵の排泄が開始した。得られた成虫は胆管、胆嚢から 1 種 (*Arthrostoma hunanensis*)、回腸から 1 種 (*Uncinaria* 属種不明線虫)、結腸から 1 種 (*Uncinaria felidis*) の計 3 種類の鉤虫科 (Ancylostomatoidae) の線虫であった。

3. *Arthrostoma hunanensis* の感染実験

1) イエネコへの感染実験結果

糞便培養から得た感染幼虫を、約 3 カ月齢のイエネコ 8 頭を 4 群各 2 頭に分け、第 1 群 (DcE-1, 2) に 50 匹、第 2 群 (DcE-3, 4) に 100 匹、第 3 群 (DcE-5, 6) に 200 匹、第 4 群 (DcE-7, 8) に 300 匹をそれぞれ経口投与した。投与 1 週間後から糞便虫卵検査を開始し、投与 60~62 日後に剖検を行い、胆管、胆

嚢を中心に消化器系の検索を行った。幼虫投与後イエネコは 8 頭とも発育不良となり、300 匹投与した第 4 群では 2 頭とも全く増体がみられず、下痢、嘔吐を繰り返し漸次削瘦、衰弱した。また、全頭とも投与後 20 日頃から触診で胆嚢の腫大が認められた。糞便は約 2 週間後から軟便化し、徐々に黄白色を呈するようになった。8 頭のうち 7 頭は投与後 20~25 日から虫卵の排泄がみられたが、1 頭のみが実験期間中全く虫卵を排泄しなかった。しかしながら全頭から *A. hunanensis* の虫体が回収された。寄生部位は全頭とも胆管、胆嚢が主で、その他に大十二指腸乳頭周囲や膀胱内に認められる個体もあった。回収虫体総数は雄 44 匹、雌 63 匹の計 107 匹であり、感染率 (回収虫体数 / 幼虫投与数) は 1~14% (平均 8.25 %) であった。

群別の虫卵排泄開始日 (prepatent period) と回収虫体数は以下のとおりである。

第 1 群 (DcE-1, DcE-2, 感染幼虫 50 匹投与群)

虫卵排泄は DcE-1 が投与後 23 日目に開始し、48 日目に最大 EPG100 を示した。DcE-2 は 25 日目から虫卵排泄がみられ、46 日目に最大 EPG91 を示した。DcE-1 は投与後 60 日目に、DcE-2 は 61 日目に剖検した。回収した虫体は、DcE-1 が雄 3 匹、雌 3 匹の計 6 匹で感染率は 12% であった。DcE-2 は雄 1 匹、雌 6 匹の計 7 匹で感染率が 14% であり、今回の実験で最大の感染率を示した。

第 2 群 (DcE-3, DcE-4, 感染幼虫 100 匹投与群)

DcE-3 は検査開始から剖検時まで虫卵の排泄が認められなかった。

DcE-4 は投与 25 日目に排泄がみられ、36 日目に最大 EPG36 を示した。DcE-3 は投与後 60 日目に、DcE-4 は 61 日目に剖検した。回収した虫体は、DcE-3 が雌のみの 5 匹で感染率は 5%，DcE-4 が雄 1 匹、雌 2 匹の計 3 匹で、感染率は 3% であった。

第 3 群 (DcE-5, DcE-6, 感染幼虫 200 匹投与群)

DcE-5 と DcE-6 共に投与 25 日目から虫卵排泄がみられ、DcE-5 は投与 35 日目に EPG284 となり今回の実験において最大 EPG を示した。DcE-6 は投与 44 日目に 107 であった。DcE-5 は投与後 60 日目に、DcE-6 は 62 日目に剖検、検索した。回収した虫体は、DcE-5 が雄 9 匹、雌 11 匹の計 20 匹で感染率は 10% であり、DcE-6 は雄 1 匹、雌 1 匹の計 2 匹で感染率は 1% と今回最も低い値を示した。

第 4 群 (DcE-7, DcE-8, 感染幼虫 300 匹投与群)

DcE-7 は 23 日目から虫卵排泄がみられ、投与 31 日

目に最大 EPG59 を示した。DcE-8 は 20 日目から排泄がみられ、投与 33 日目に最大 EPG187 を示した。DcE-7 は 40 日目に、DcE-8 は 57 日目に瀕死状態となつたため、麻酔下放血殺後剖検した。回収した虫体は DcE-7 が雄 10 匹、雌 23 匹の計 33 匹で感染率は 11% であった。また、DcE-8 は雄 19 匹、雌 12 匹の計 31 匹が寄生しており感染率は 10% であった。

2) 回収した *Arthrostoma hunanensis* 成虫の計測値並びに形態観察結果

1) で回収した *A. hunanensis* の雌、雄それぞれの成虫 20 匹について虫体の各部位の計測を行い形態を観察した。虫体は生理食塩水中で洗浄後、70°C に加温した 70% エタノールで固定を行い、グリセリン・アルコール液で透徹し、顕微鏡下で観察した。

生存している虫体は半透明淡黄色で、死滅した虫体は白色を呈していた。虫体はツシマヤマネコから採取した虫体とほぼ同じ大きさであった。体表は角皮で被われ、角皮には多数の微細な横紋理がみられた。口孔は橢円形で開口部には一对の小型の歯板がみられた。口腔は洋梨状を呈し、口腔底には一对の歯が存在した。頭部は 8 枚の板状構造 (separate plates) [腹板(1枚), 後板, 側腹板(V字状, 2枚), 側板(耳状, 2枚), 側背板(橢円形, 2枚)] で構成されており、背食道腺の導管は口腔内側の背溝に開口していた。食道は後方に食道球をもつ rhabditis 型であり、明瞭な食道腸管弁がみられた。

排泄孔は腹側に開口しており、周囲の横紋理は不整で円形であった。二段の頸乳頭が食道後部付近の体表にみられ、下段は太く短く上段は細長く、先端は全体として斜め後方を向いていた。雄は体長が 4.865-5.747mm で体幅は 0.199-0.243mm であった。口腔長は 0.063-0.073mm で幅は 0.063-0.068mm、食道は長さ 0.525-0.593mm、幅 0.078-0.107mm であり、頭端より神経輪、排泄孔、頸乳頭までのそれぞれの長さは 0.292-0.331mm, 0.379-0.452mm, 0.398-0.486mm であった。交接囊は左右対称の大きい側葉と小さな背葉からなり、側肋部の表面に左右 1 対の腹角突起を認めた。肋の構成は、2 対の腹肋と 3 対の側肋、1 対の外背肋からなり、交接囊辺縁まで伸びる腹腹肋と側腹肋は基部で一つに融合していた。同一基部に起始する 3 対の側肋は肋の半ばで 3 分し、前側肋が腹側に曲がり短く、中、後側肋は長く辺縁に達して背側に湾曲していた。外背肋は左右対称で背肋の基部 0.041-0.053mm 位置から分枝していた。背肋は 0.165-0.194mm で下方に伸

長し、左右とも末端が 3 枝に分かれ、内側枝のみが内転していた。交接刺は左右同長で長さ 1.176-1.356mm、最大幅基部 0.007-0.012mm と細長く糸状を呈し、先端は尖鋭であった。副交接刺は交接刺の遠位腹側の排泄腔 (cloaca) の付近に位置し、長さ 0.083-0.093mm、最大幅は 0.012-0.015mm でほぼ長方形を呈し、先端は鉤状となっていた。雌は体長 6.252-7.108mm、体幅 0.233-0.306mm で雄と比較するとやや大型であった。口腔長は 0.068-0.078mm で、幅は 0.073-0.085mm であった。食道長は 0.578-0.656mm、幅は 0.092-0.126mm であり、頭端より神経輪、排泄孔、頸乳頭まではそれぞれ 0.311-0.365mm, 0.428-0.481mm, 0.467-0.525mm であった。陰門は尾端より 2.138-2.751mm の位置に開き、前唇は半月状を呈し、陰門翼 (prevulvar flap) や乳頭 (vulval papillae) などの構造物はみられなかった。尾は 0.146-0.190mm で長円錐形をなし、先端に長さ 0.010-0.016mm の横紋理の認められない小棘 (terminal spine) が 1 個存在した。排泄虫卵は長径 0.061-0.070mm、短径 0.039-0.045mm の橢円形で、卵殻は薄く、内容は 4 ~ 8 分裂胚であった。

3) 病理学的検査結果

主な肉眼的病変は肝外胆管と胆嚢の肥厚・腫大であり、寄生虫数、寄生期間の増加に伴って胆管の拡張・腫大、壁の肥厚と充出血などの病変が重度となつた。胆嚢の膨満は通常のイエネコの約 5 倍もの大きさに達するものもあった。肝外胆管内は白色化胆汁や白色透明ゼリー状物の貯留と虫体による栓塞がみられた。しかし、大十二指腸乳頭開口部の閉塞はみられず、虫体が尾部を出している状態も頻繁に認められた。肝臓は肝外胆管の変状に伴い白色斑や小葉間胆管の拡張も顕著となつた。

組織学的には肝外胆管は粘膜上皮の脱落と壞死が顕著で、また、粘膜固有層の結合織の増生や胆嚢腺の過形成がみられ、多数の好中球と好酸球の浸潤や細菌塊も認められた。肝臓は小葉間結合織にリンパ球や組織球の結節性増殖、好酸球の瀰漫性浸潤と水腫がみられた。また、小葉間胆管の腺腫様増生や好中球を主体とする小葉間胆管周囲の炎症と線維増生が認められた。小葉間胆管は上皮の重層するものや腔内に脱落細胞や壞死細胞、好中球を充満するものもみられ、虫体の栓塞している像も散見された。類洞内には組織球の結節性増殖巣が散在し、周囲の肝細胞には圧迫性萎縮も認められた。胆嚢は胆管の病変と同様に上皮の過形成と脱落・壞死が顕著で、周

囲の結合織の増生や胆嚢腺の過形成と好中球や好酸球の瀰漫性浸潤が主変状であった。その他に肺管内に虫体の見られた個体の肺臓は間質にリンパ球、好中球、好酸球、形質細胞などの炎症性細胞の浸潤が顕著で、水腫を呈する部位と著明な結合織の増生、肺管の腺腫様増生が認められ、肺細胞の萎縮、チモーゲン顆粒の消失、肺細胞の壊死、肺島の減数などの変状も観察された。

考 察

本邦のヤマネコの糞便内寄生虫卵については、イリオモテヤマネコの詳細な報告があるが¹⁾、ツシマヤマネコについては十分な検査がなされていない。今回は前回の調査でツシマヤマネコから多数の虫体と、それぞれの虫卵が採取、同定されていることから、それらを参考にして比較、同定を試みたところ、21検体中18検体から条虫類1種、線虫類8種、胞子虫類1種の計10種類の虫卵が検出された。

検出された条虫卵は1種類で、21検体中の3検体(14.3%)に認められた。その形状、大きさから*Spirometra erinacei* (マンソン裂頭条虫)と同定した。本虫は前回のツシマヤマネコの剖検時に、採取された唯一の条虫類である。本邦のイエネコでは寄生率は高く、また、イリオモテヤマネコからも多数の虫体と虫卵が確認されている^{1,2)}。しかし、今回の検査で14.3%と低い寄生率であった。このことはツシマヤマネコの年齢的な要因が考えられるが、虫卵の状態から採取時の糞便が古かったことも大きく影響しているものと思われる。

線虫卵は*Capillaria* 属(毛細線虫), *Ancylostomatoidae* 科(鉤虫), *Toxocara* 属、属種不明線虫などの虫卵が認められたが、虫卵の大きさや形状の差により*Capillaria* 属虫卵を3型(C1, C2, C3)に、*Ancylostomatoidae* 科虫卵を2型(A1, A2)に、属種不明虫卵を2型(U1, U2)に分類し、全部で総8種類が確認された。

Capillaria 属の虫卵は今回の糞便検査の中で最も高率にみられ、12検体(57.1%)から検出された。虫卵は黄褐色の楕円形を呈し、両端に栓構造をもつ特徴があり、その大きさと表面の紋理より大きく3つの型に分類できた。しかし、中間的な形態を示すものもあり、これらが全て別々の種なのか、あるいは同一種の虫卵なのかについては特徴が乏しいために、明確にすることは困難であった。糞便中に虫卵を排泄する*Capillaria* 属は、気管、気管支に寄生

する*C. aerophila* と小腸に寄生する*C. linearis* が一般に知られているが、膀胱に寄生する*C. plica* と*C. felis-cati* の虫卵が尿中に排泄され糞便中に混入してみられる場合と捕食した齧歯類などの肝臓に寄生していた*C. hepatica* の虫卵が糞便中に出現することも考えられる。前回の調査でツシマヤマネコから気管に*C. aerophila*, 胃と膀胱に種不明の*Capillaria* 属虫体2種類が検出されており、ツシマヤマネコにはかなり高率に*Capillaria* 属の線虫が寄生していることが推察される。一方、イリオモテヤマネコからは8型の*Capillaria* 属の虫卵が高率に検出されているが¹⁾、成虫の種名については不明である。

Ancylostomatoidae 科の虫卵は、8検体(38.1%)から検出された。虫卵は卵円形、無色透明で、卵殻は比較的薄く、内容は十数個～桑実胚からなり、虫卵の大きさにより2型に分類された。前回の調査でツシマヤマネコの腸管から*Ancylostoma tubaeforme*, *Arthrostoma hunanensis*, *Uncinaria felidis*, 種名不明の*Uncinaria* 属線虫の4種の鉤虫が検出されていることより、糞便中にこれらの虫卵が存在することが考えられたが、虫卵の計測値からの虫体の判別は困難であった。

Toxocara 属の虫卵は、7検体(33.3%)にみられた。この虫卵は回虫特有の厚い蛋白膜に覆われており、その大きさと内容と卵殻の間隙が認められないことなどの特徴から、*Toxocara cati* (猫回虫)の虫卵と考えた。*T. cati* は主に幼獣に寄生が認められる寄生虫であることから、この虫卵が検出された糞便は幼獣のものである可能性が強い。また、この虫種は過去の調査においても多数の虫卵が採取されている^{7,8)}。

21検体中、1検体のみに分類不能な線虫卵が2種類認められた。これらの虫卵は、ツシマヤマネコから得た寄生虫13種の虫卵とは大きさ、形状が全く異なっていた。既報⁷⁾のツシマヤマネコの寄生虫で、今回認められなかった寄生線虫に*Porrorchis* sp.(鉤頭虫)があるが、この虫卵とも異なっていた。また、イリオモテヤマネコ寄生の虫体にも該当する虫卵はなかった。ヤマネコの本来の寄生虫のものであるか疑問がもたれる。

胞子虫類のオーシストが1検体から検出され、その大きさと形状から、*Isospora rivolta* と同定した。イエネコに認められる胞子虫類は*I. felis*, *I. rivolta*, *I. bigemina*, *Hammondia hammondi*, *Besnoitia* sp. などが知られており⁵⁾、本邦のイエネコ

には *I. felis*, *I. rivolta* が最も多くみいだされてる。しかし、今回の虫卵検査では、ツシマヤマネコからの胞子虫の検出率が本邦のイエネコに比べてかなり低く、対馬における胞子虫類の汚染状況が極めて低いことがうかがえる。

前回の検査からツシマヤマネコに複数の *Ancylostomatoidae* (鉤虫) 科線虫が寄生していることが判明したが、本実験では感染させたイエネコから回収した虫体について虫種の同定を行い、さらに宿主の病状、病変などについて寄生虫学的および寄生虫病学的検索を行った。感染実験の結果、経口投与を行ったイエネコからのみ投与後13~18日目に虫卵排泄がみられ、ツシマヤマネコから採取された鉤虫と同じ *Arthrostoma hunanensis*, *Uncinaria felidis*, 種不明の *Uncinaria* 属線虫の3種類が、それぞれ胆管、胆嚢、小腸、結腸から多数回収された。しかし、経皮投与例からはどの寄生虫も回収されなかつた。*Uncinaria* 属の鉤虫は経口感染が主な感染経路とされているが、本実験で、感染経路の不明であった *A. hunanensis* もまた、経口感染により感染が成立することが明らかとなった。剖検時にツシマヤマネコから得た種不明の *Uncinaria* 属線虫はその寄生数が少なく同定が困難であったが、実験的に感染させたイエネコからは多数の雌雄の虫体を回収でき、この虫体について詳細な観察を行ったところ、既知の *U. felidis* とは異なる種であることが判明した。このように限られた地域のみに生息するツシマヤマネコには、本邦のイエネコにはみられない種々の寄生虫が存在することが明らかとなった。

本邦で報告のみられない *A. hunanensis* の感染幼虫が得られたので、この虫体についてさらに感染実験を試み、寄生虫学的検索を行った。*A. hunanensis* は鉤虫の中でも希な種で、他の鉤虫類が腸管内に寄生するのに対し、胆管、胆嚢内に寄生することが特徴である。感染実験の結果、イエネコにも容易に感染することが明らかとなり、その平均の感染率(回収虫体数/投与幼虫数)は平均8.25%で、50匹投与群では12%以上の感染率を示したが、他の鉤虫と比較すると幾分感染率が低い。虫卵排泄開始日 (pre-patent period) は20~25日であり、虫卵は一旦胆嚢内胆汁に停留した後、胆汁の排泄と共に排出されることを考慮にいれると、虫体の成熟には約20日を要するものと推測され、他の鉤虫類と比較するとやや成熟が遅いように思われる。回収された虫体はツシマヤマネコから得た虫体と形態並びに計測値の差異

はほとんど認められず、宿主の違いによる虫体の変化は少ないものと考えられる。

A. hunanensis を除く他の *Arthrostoma* 属の鉤虫や *Ancylostomatoidae* 科の線虫は、腸管内に寄生し、腸管壁にその頭部口器(切板)で吸着し、吸血する。そのため貧血、血様下痢を呈し、削瘦、衰弱などの症状を示し、腸管には点状出血や潰瘍を生じ、カタール性炎がみられるが、重度の感染による貧血を来さない限り症状は悪化しないとされている³⁾。本実験では *A. hunanensis* を感染させたネコは発育不良となり、投与数が多いほど下痢や嘔吐などの激しい臨床症状を呈し300匹投与群では投与後40日で衰弱が重度となり、瀕死状態となった。病理学的変状として感染数の増加に相当して、胆管、胆嚢の肥厚、腫大が顕著となり、肝臓では小葉間胆管の拡張、結合織の増生や胆管炎および胆管周囲炎が主変状として挙げられ、また、重度感染の例では瀰漫性的胆汁色素の沈着や、小葉間結合織の増生により肝細胞の圧迫性萎縮、壊死が認められた。これらの病変は胆管壁の反応性の肥厚と胆管閉塞による慢性的な胆汁うつ滞によるものであり、本虫が寄生した結果生じた変状であることは明らかで、豚回虫の胆管内迷入による肝病変³⁾との類似性がみられた。また、脾管内に寄生が見られた例では脾臓間質の炎症像が顕著で脾細胞の萎縮、壊死、脾島の減滅などを呈し、*Eurytrema coelomaticum* (小型脾蛭) 寄生の脾臓病変⁶⁾に類似していた。本虫は本来胆管が固有の寄生部位であるが、多数感染時には脾管内への迷入がみられることが明らかとなった。このような現象は牛の脾管に寄生する *E. coelomaticum* が多数感染時に胆管内に迷入寄生する状況と類似する。本虫寄生によるこのような変状は、食欲不振や下痢による衰弱を来し、重度感染では、胆嚢の破裂、黄疸、胆汁うつ滞性肝硬変へと進展し、脾管内に異所寄生すると脾管炎、間質性脾炎(脾硬変)を生じ、さらに症状を悪化させることが考えられる。このように *A. hunanensis* は他の鉤虫には類をみない病原性の強い寄生虫であるといえる。

以上のように、ツシマヤマネコの糞便内に多種多様の寄生虫虫卵がみいだされ、前報と同様ツシマヤマネコにはかなりの寄生虫が蔓延している実態が判明した。中でもツシマヤマネコの胆管に寄生する *Arthrostoma hunanensis* は感染実験の結果、病原性の強いことが判明し、幼獣では容易に重度感染し、死亡率も高いことが示唆された。このような寄生虫

が現存することはツシマヤマネコの減少の原因が、現在指摘されている落葉広葉樹林の減少や、餌のノネズミ類の減少のみならず寄生虫病などの疾患の蔓延によるヤマネコの生存率低下も1要因となっているものと思われ、野生動物の保護を考える時、寄生虫性疾患を含む各種の伝染病に関する基礎的な調査・研究を進め、実情を把握し、治療、予防など総合的な防遏対策を講ずる必要性がある。

要 約

わが国において現在絶滅の危機にまで減少し、その保護が提唱されている天然記念物のツシマヤマネコ (*Felis bengalensis euptilura*) の個体減少の原因の一つとして病的要因が考えられている。

今回、病的要因として最も重要視される寄生虫について現地で採取した糞便を対象に寄生虫学的検索を行ったところ、次の結果が得られた。

1. ツシマヤマネコの糞便21検体の虫卵検査で *Spirometra erinacei* の虫卵1種、*Capillaria* 属の特徴を示す虫卵、*Ancylostomatoidea* 科の特徴を示す虫卵、*Toxocara cati*、所属不明の線虫卵、*Isospora rivolta* のオーシストの計10種類が検出され、糞便検査からもツシマヤマネコに広く多種の寄生虫が蔓延していることが推察された。

2. ツシマヤマネコ (*Felis bengalensis euptilura*) に多数寄生する鉤虫科線虫について、その感染幼虫をイエネコに実験的に感染させ、寄生虫学および寄生虫病学的検索を行った。糞便培養で得られた鉤虫感染幼虫をイエネコに感染させたところ、胆管、胆嚢から *Arthrostoma hunanensis*、結腸から *Uncinaria felidis*、小腸から種不明の *Uncinaria* の3種類が多数回収された。更に *A. hunanensis* は、経口投与ではイエネコに容易に感染したが（感染率平均8.25%）、経皮感染は成立しなかった。Prepatent periodは20~25日であったが、虫卵が一旦胆嚢内に

停留した後、胆汁と共に排泄されると考えると、約20日で成熟するものと思われる。感染数が多いほど激しい下痢や嘔吐などの重度の臨床症状を呈した。病理学的には、胆管壁の肥厚と充出血、胆汁の白色化、増量、胆嚢の膨満、小葉間胆管の拡張などの変状がみられ、組織学的には胆管炎、胆管周囲炎が主変状で、肝細胞は圧迫性萎縮、壊死を来し、軽度な線維化がみられた。脾管内に寄生がみられた例では脾臓間質の炎症性反応が顕著でその周囲には脾細胞の萎縮、壊死、脾島の減数も認められた。

以上のことより、ツシマヤマネコにはかなりの寄生虫が蔓延していることが明らかとなり、さらに胆管に寄生する *Arthrostoma hunanensis* は、感染実験の結果病原性の強いことが判明し、幼獣では死亡率も高いことが示唆された。

文 献

- 長谷川英男・安里龍二・岩附信紀：イリオモテヤマネコの糞便内寄生虫調査。沖縄島嶼研究, 2, 1-7 (1984)
- 長谷川英男・安里龍二・岩附信紀：イリオモテヤマネコの寄生虫 (II)。沖縄島嶼研究, 3, 5-12 (1985)
- 板垣 博・大石 勇：新版家畜寄生虫病学。朝倉書店、東京 (1984)
- 伊東季春：消化管内線虫症。臨床獣医, 2, No 6, 36-42 (1984)
- 獣医臨床寄生虫学編集委員会：獣医臨床寄生虫学。文永堂、東京 (1979)
- 河野猪三郎・坂本 司・安田宣紘：小型脾蛭多数寄生牛の病理学的研究。とくに globule leucocytes について。鹿大農学部学術報告, No.30, p. 111-116 (1980)
- Machida, M.: Helminth parasites of a wildcat in Japan. Res. Bull. Meguro Parasitol. Mus., No. 3, 33-36 (1970)
- 安田宣紘・丸山浩幸・阿久沢正夫・伊沢雅子・清水 孜：ツシマヤマネコ (*Felis bengalensis euptilura*) の内部寄生虫調査。鹿大農学部学術報告, No.42, 45-58 (1992)

Summary

Tsushima leopard cats (*Felis bengalensis euptilura*) are currently represent an endangered species and now the preservation of the species are advocated in Japan. Since the disease is thought to be an important factor of decrease in the species, larvae obtained from fecal samples of the Tsushima leopard cats were administered to the domestic cats and examined parasitological lesions after the autopsy. Following result was obtained.

- Examination of 21 fecal samples revealed 1 species of cestode egg, *Spirometra erinacei*, 6 species

of nematode eggs, *Capillaria* sp., Ancylostoidae gn., *Toxocara cati*, and 2 species unclassified nematode eggs and 1 species of Apicomplexa, *Isospora rivolta*. Various species of eggs and oocysts in feces indicated that many parasites harboured in the wildcats.

2. After the administration of larvae from hatched eggs of fecal samples to the domestic cats, *Arthrostoma hunanensis* from the gall bladder and the bile duct, *Uncinaria felidis* from the colon and *Uncinaria* sp. from the small intestine were obtained. *Arthrostoma hunanensis* could be infected from peroral but not from subcutaneous route (mean infection rate 8.25%). Prepatent period was 20-25 days after the infection. As it was hypothesized that eggs were excreted with bile after a short retention within the gall bladder. *Arthrostoma hunanensis* were thought to be matured in 20 days. The more larvae were infected, the more severe clinical signs such as vomiting and diarrhea appeared. Pathological findings were hypertrophy, hyperemia and hemorrhage of the bile duct wall, increased whitish bile, dilated gall bladder and distended interlobular bile ducts. While histological main lesions were fibrosis as well as atrophy and necrosis in the liver cells by the suppression. In the cases parasitized in the pancreatic duct, marked inflammatory response were seen in the interstitial tissue. There were atrophy and necrosis in the pancreatic cells and the decrease of pancreatic islands around the inflammatory lesions.

It was revealed that parasitism were prevalent in Tsushima leopard cats. *Arthrostoma hunanensis* was ascertained to harbour in the bile duct and was detected to have strong pathogenicity by the experimental infection, which suggested to be fatal especially in young cats.