

赤痢アメーバのモルモット感染実験殊に ウエルシ菌の影響に就て

山 川 速 水

慶應義塾大学医学部寄生虫学教室

緒 言

アメーバ赤痢の発症に関しては現在まで多くの人によつて論じられて来た。Dobell (1919) は赤痢アメーバには非病原性の株は存在しない事を強く主張している。赤痢症状の現われないのはアメーバが破壊する組織を人間の側が絶えず修復するために其の損傷が拡大する事がない為であると考える。赤痢症状が発現するためにはそれを誘発する種々な因子が考えられるのであり、現在考えられているものは次の4因子であると云われて居る。即ち 1) 株による病原性の強弱, 2) 寄主側の抵抗の減弱, 3) 気温の影響, 4) 腸内細菌の影響である。以上のうち腸内細菌の影響は普通培養基内に於ても又生体内に於ても極めて密接な関係があると云われている。培養基内に於ける細菌の作用でアメーバに重大なる影響を与えるものは、その増殖によつて酸化還元電位を下げるという事である。Chang (1948) は仔猫に肛門より培養虫体を感染せしめる際に肛門を結紮しないもの、結紮するもの、及び *Clostridium welchii* の培養を同時に注入して結紮したものについて観察し、第3群に於いて感染し深い潰瘍が形成されたと報告している。私はさきに赤痢アメーバ培養の際に *Cl. welchii* を随伴させる事によつて、アメーバの増殖に極めて好影響を与える事を実証した。更に今回 *Cl. welchii* を随伴せしめた場合赤痢アメーバの病原性が如何に変化するか、且モルモットは赤痢アメーバに対してどの程度の感受性をもっているかを知る為に感染実験を行ったので茲に報告する。

実験材料及び方法

アメーバ接種の方法として肛門より直腸内に注入する

Hayami Yamakawa: Experimental infection of *Entamoeba histolytica* in guinea pig with special reference to the effect of *Clostridium welchii* upon the infection. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo, Japan)

方法と、腹壁を開いて直接盲腸内に注入する2つの方法を試みた。

直腸内注入：モルモットは出来るだけ幼弱のものを用いた。(体重100~150g)。これは幼弱であれば其の感染率が高いと云われているからである。併し材料取得の関係上一部に於ては200g内外のものも混じた。動物の食餌はフスマ、人参、青草として実験までに4~5日飼育を行つて動物の健康状態の良好の時期を選んで実験を行つた。新鮮便の検査によつて自然に出るアメーバは見当らなかつた。この研究にはcystより培養を行つた吉村株と、赤痢アメーバ患者の粘血便から得て10数代継代培養を行つた広瀬株の2種類を用いた。培養基は馬血清7, Ringer 3, を混じて加熱凝固斜面となし液体部はRinger氏液のみとし、それに滅菌米粉を加えた。培養基の斜面、液体部の量は一定にして *Cl. welchii* を24時間培養した培地に赤痢アメーバを移植して、増殖良好で運動活潑な栄養型を含む培養液を用いた。対照としては *Cl. welchii* を共棲せしめないアメーバ培養液を用いた。

アメーバの増殖に関しては24時間~72時間と検して最も分裂増殖の活潑な時期と思われる時間後に血球血算板にて虫体数を検査して培養液1cc中に15~20万程度のものを用いた。即ち培養液1定量に略々同数の虫体を含む如くして出来るだけ各実験条件を一定にした。注入に先立つて、あらかじめ除去しておいた最上部の培養液(アメーバを含まぬ)1.0~1.5ccを肛門部より徐々に流入、流出せしめると2~3分にして直腸部の大便は多くは自然に排出された。然る後、前記アメーバの浮游する攪拌混和された培養液の1.0ccを肛門より直腸内にネラトンカテーテル、又は注射器にて注入し肛門は予め準備操作しておいた巾着縫合を確実に締めて、糞便並に注入液の自然流出を防止した。注入した培養液1.0ccは肛門上方3~5cmに達している事は予め剖検によつて確めておいた。縫合糸は24時間後抜去して排便を自

由にせしめた。対照としては培養液の上層部にてアメーバの存在しない部分即共棲細菌だけを含むもの 1.0 cc を注入した。接種後飼育箱はそれぞれ区別をした。以後連日糞便よりアメーバ虫体並に cyst の排出の有無を検査して糞便は一部培養を行った。肛門部よりの注入接種に際しては通常極めて浅い麻酔を行った。注入後は排便の状態、下痢の状態を検した。動物は肛門を閉鎖される事により甚だしく苦痛を感じる様で、むしろ後述する様に開腹して盲腸部に接種する方が苦痛を伴うことが少い様に見えた。一部体重の測定を行ったが多くは体重は減少し食欲も概して衰えて、運動は不活潑となつた。24 時間後速やかに抜糸する事が特に必要である。モルモットは多くは死後、一部は死の直前、又他の一部は死亡前と比較的元気のものも一定日後には殺して剖検をした。

検査は内臓全般に亘つたが主として直腸回盲部を検査し一部に於いてアメーバを培養し、腸変化のあるものについては組織学的の検索を行った。注入行為によつて少数例の死亡を見た。

盲腸内注入： 実験材料は直腸注入の場合と全く同様である。方法としては、モルモットには出来るだけ軽いエーテル麻酔をほどこして、腹壁を約 2 cm 程開腹して回盲部を求め、回腸の終末部に近く Tenia の上にて前記肛門内に注入したと同様の条件を具備したアメーバ浮游液 1.5 cc を出来るだけ細い注射針を以て注入し、液の盲腸内に注入された事並に針の穴より注入液の流出なきを極めて速やかに腹膜、筋層、皮膚、と 3 層縫合を行つて腹腔を閉鎖したが、一部のものについては腹膜筋層と皮膚との 2 層縫合をしたものもあつた。手術創はマーキヨ塗布程度にて特に嚴重な消毒は行わなかつたが、腹壁縫合の化膿は見られず、手術創は殆んどの例に於て一期癒合し、直接手術死と思われるものはなかつた。死後剖検時腸管並に腹膜の癒着は可成り速やかで、且高度のものが屢々あつた。既述した如く手術後は肛門閉鎖の場合より動物は元気であつた。術後の運動、其の他の動作も前記実験の時よりも活潑で、食欲の衰えも特に著明のものはなかつた。対照としては培養液の最上部のアメーバの存在しない液 (共棲細菌含有) の 1.5 cc を注入して接種後は飼育箱を区別した。

実験成績

肛門より注入した場合： 接種日の死亡、又は原因不明の死亡は除外した。第 1 表に示した様に翌日より少数例の死亡が見られたが、第 3 日より第 7 日の間に於いて死亡するものが大多数であつた。殊に第 3、4 日目の死

亡が多かつた。対照 (C) 20 頭はよく生存して 6 日目と 8 日目に屠殺剖検を行った。第 2 表には病変の程度と、アメーバの検出、下痢の状態を示した。即ち S 株 (広瀬株にては、実験頭数 22 頭中軽度の病変 (+) のあつたもの 10 頭 (45.4%) であり、その中 1 頭は 2 日目に、7 頭は 3 日目に、他の 2 頭は 4 日目に夫々死亡した。中等度 (++) 並に高度 (+++) の病変を呈するものはなかつた。病変のあつた 10 例中に於いて、第 3 日目に死亡した 7 頭中 3 頭以下痢、並に腸内容にアメーバを認めた。病変 (±) の 3 頭は 2 日目に 1 頭、6 日目に 2 頭死亡している。共に下痢並にアメーバは証明されなかつた。病変 (-) の 9 頭は、2 日目に 1 頭、3 日目に 6 頭、4 日目に 2 頭、夫々死亡し、下痢アメーバは検出されなかつた。Sw 株 (広瀬株に *Cl. welchii* を随伴せしめたもの) には実験 26 頭中 14 頭 (53.8%) に病変を見た。即ち、7 頭に軽度、1 頭に中等度、1 頭に高度の病変があつた。軽度病変 (+) 7 頭中 1 頭は翌日死亡し、2 頭は 2 日目に、3 頭は 4 日目に、残りの 1 頭は 5 日目に天々死亡した。4 日目に死亡した 3 頭中 1 頭以下痢を認めたがアメーバは検出されなかつた。中等度病変 (++) 6 頭中 1 頭は 2 日目に死亡し、下痢並にアメーバを証明し、3 頭は 4 日目に死亡し、3 頭共に下痢を認めたが、腸内容からアメーバは検出されなかつた。残りの 2 頭は 5 日目、6 日目に死亡し共に下痢、アメーバは見られなかつた。高度の病変 (+++) 1 頭は第 4 日目に死亡している。これには著明な下痢が見られたが、アメーバは検出されなかつた。病変 (±) の 4 頭中 2 頭は翌日に、1 頭は 2 日目に、他の 1 頭は 5 日目に夫々死亡している。下痢及びアメーバは共に認められなかつた。病変 (-) の 8 頭中 3 頭は 3 日目に、3 頭は 4 日目に、残りの 2 頭は 5 日目に夫々死亡して下痢、アメーバは何れにも認められなかつた。

Yw 株 (吉村株に *Cl. welchii* を伴つたもの) には実験 9 頭中 9 頭 (100%) に病変があり、その中 6 頭に軽度、2 頭に中等度、1 頭に高度の病変があつた。軽度の病変 (+) 6 頭中 2 頭は 2 日目に、1 頭は 3 日目に、他の 3 頭は 7 日目に夫々死亡した。全例にアメーバ並に下痢を証明出来なかつた。中等度病變 (++) 2 頭中 1 頭は 3 日目に死亡し、下痢を伴つていた。他の 1 頭は 4 日目に死亡してこれには下痢並にアメーバを証明した。高度の病變 1 頭は 3 日目に死亡している。これには下痢並にアメーバを認めた。対照群 20 頭中 1 頭に (0.5%) に軽度の病變を証明し、之は第 3 日目に死亡している。下痢、アメーバは認めなかつた。他の 19 頭は 6 日目と 8 日目に

屠殺したが剖検の結果病変を認めず、且全例に下痢並にアメーバは認められなかつた。

以上を要約するとアメーバを検出出来たものは、S株に於ては3日目に死亡した3例、Sw株に於ては2日目死亡の1例、Yw株に於ては3日目、4日目に死亡した2例であつた。下痢を証明し得たものはS株に於ては、3日目に死亡した3例、Sw株に於ては2日目に死亡した1例と4日目に死亡した5例、Yw株に於ては3日目死亡の2例、4日目死亡の1例であつた。対照群については全例に下痢、並にアメーバを証明しなかつた。

盲腸内接種の場合：当日、翌日の死亡例はなかつた。第3表の如く接種後、第2日目に死亡は急激に増加している。2日目より4日目に大部分の死亡を見た。対照群は2日～6日に10頭死亡し、他はよく生存した。8日目に残り11頭を屠殺剖検した。

病変の程度から見ると、(第4表)、S株に於て、15頭中10頭(66.6%)に病変を見た。内病変の軽度のもの5頭、中等度のもの5頭であつた。軽度病変5頭中4頭は2日目に他の1頭は3日目に夫々死亡している。下痢、アメーバは5頭共認められなかつた。中等度病変(++)5頭中3頭は2日目に死亡し、内1頭に軽度の下痢とアメーバを証明した。他の2頭は3日目に死亡している。下痢、アメーバは共に認められなかつた。病変高度(+++)のものは見られなかつた。病変(±)の4頭は全て2日目に死亡している。下痢、アメーバは共に見られなかつた。病変(-)のもの1頭は4日目に原因不明で死亡している。Sw株に於ては16頭中10頭(62.5%)に病変が見られた。他の6頭は病変(±)であつた。病変軽度(+)のものは4頭あり、内1頭は2日目に死亡し、アメーバを証明した。2頭は3日目に死亡し、その2頭中1頭に下痢とアメーバを証明した。他の1頭は4日目に死亡している。アメーバは変性していると思われ存在は不明であつた。病変中等度のもの(++)は4頭あり、その内の1頭は2日目に死亡し、アメーバを証明した。2頭は3日目に死亡し2頭共アメーバと下痢が見られた。他の1頭は6日目に死亡してアメーバは変性したものと思われ存在を断定する事は出来なかつた。病変高度のものは(+++)2頭あつた。共に6日目に死亡している。下痢、アメーバは見られなかつた。病変(±)のもの6頭あり1頭は2日目に、3頭は3日目に、2頭は4日目に、又残りの1頭は6日目に死亡している。3日目に死亡した3頭中1頭にアメーバを証明した。対照21頭中2日目に4頭、3日目に2頭、6日目に4頭夫々死亡した。他の11頭は

8日目に屠殺した。対照群は全例に下痢とアメーバは認められなかつた。

以上を要約するとアメーバを証明したものはS株に於ては2日目に死亡の1頭、Sw株に於ては2日目死亡の2頭、3日目死亡の4頭であり、下痢を証明したものはS株に於ては3日目死亡の1頭、Sw株に於ては3日目に死亡の3頭であつた。対照群に於ては全例に下痢もアメーバも証明されなかつた。

1表 直腸内注入後 死亡迄の日数

株	頭数	1	2	3	4	5	6	7	8日
S	22	0	3	13	4	0	2	•	•
Sw	26	3	4	3	10	5	1	•	•
Yw	9	0	2	3	1	0	0	3	•
C	20	0	0	1	0	0	7殺	0	12殺

殺……屠殺

2表 直腸内注入感染

株	頭数	病 変					%	アメーバ	下痢
		-	±	+	++	+++			
S	22	9	3	10	0	0	45.4	3	3
Sw	26	8	4	7	6	1	53.8	1	6
Yw	9	0	0	6	2	1	100	2	3
C	20	19	0	1	0	0	0.5	0	0

3表 盲腸内注入後 死亡迄の日数

株	頭数	1	2	3	4	5	6	7	8日
S	15	0	11	3	1	0	•	•	
Sw	16	0	3	7	2	0	4	•	•
C	21	0	4	2	0	0	4	0	11殺

殺……屠殺

4表 盲腸内注入感染

株	頭数	病 変					%	アメーバ	下痢
		-	±	+	++	+++			
S	15	1	4	5	5	0	66.6	1	1
Sw	16	0	6	4	4	2	62.5	6	3
C	21	16	5	0	0	0	0	0	0

即ち第2、第4表によつて病変の程度を観察すると、直腸内注入の場合、Sw株では腸内変化を呈している14例中7例に強度の病変を示しているが、S株の場合は10例中強度の病変を示しているものは無かつた。Yw株の場合には9例中3例に強度の病変を示した。盲腸内接種の場合に於ては略々同様に、Sw株にては10例中6例に

病変が強く、S株のみの場合は10例中5例に強度の病変を示している。次にアメーバの検出は病変のあるにも不拘少数例に過ぎなかつた。しかも検出されたアメーバは殆んど変性に傾いている。これは死後に於て剖検したためアメーバの速やかな変性により検出が困難であつたものと思われる。

本実験の後に行つたモルモット感染実験に於ては悉く屠殺剖検したのであるが、これでは病変の存している腸管内には100%に活潑に増殖しているアメーバを検出した。亦本実験に於ては直腸内接種でも盲腸内接種でも下痢を起している例は少数である。下痢は肛門部附近の汚染している程度のもを挙げた。腸内に病変があつても必ずしも下痢症状を示していない様である。

考 按

現在に至るまで、モルモット、家兎、白鼠、猫等について赤痢アメーバの栄養型をもつての感染実験が屢々報告されている。而して感染に関しては本実験に於ける随伴細菌の作用以外に既述の如き株による病原性、動物の種類による感受性、実験実施の季節的關係等が相互に關聯作用をしているものと考えられる。株による病原性については古くから論じられている如く、例えばアメーバに非病原性の株は存在しないにしてもその病原性に強弱のある事は一般に認められて居り最近岡本は白鼠の感染実験に於ても感染並に潰瘍の形成に可成りの差があると報じている。而し私の本実験に於ては cyst より得た吉村株(Y株)と、アメーバ赤痢患者の血便より得た10代継代培養を行つた広瀬株(S株)との両者に於いて感染状態に特に差異は認められなかつた。これは後者が10代継代培養を既に重ねて居り、且此株の提供者は比較的輕症患者であり、アメーバの病原性も前者に比して必ずしも強くないという事が想像される。次に気温の關係も問題になり既に柳内(1950)によつて報告されてある様に白鼠実験に於いて夏季が冬季より容易に感染すると云つて居る。特にモルモットに於ては白鼠よりも寒暑に対する抵抗が弱く僅かな不注意によつても自然死をおこし易いので私は特に4, 5, 6, 10, 11月を選んで実験を行つた。自然死の状況から見て、同一飼育条件に於いて体重の少い幼弱モルモットの方が体重の多いものより抵抗が弱いとは断じられない。亦食物との關係であるが、Böe(1939)は白鼠に含水炭素の多い食飼を与えておくと赤痢アメーバに感染し易くなると云つて居る。

私は本実験に於てはフスマ、人参、青草を主として、水分の多い野菜は出来るだけ避けた。モルモットは水分

の多い野菜食にては容易に下痢を起して死亡する様である。又過食は動物に悪影響があり食餌の量は毎日略々一定にした。次に感染実験としては Jones (1946) はモルモットの盲腸部に接種する方法で幼弱のものに感染させる事が出来たと報じて居る。

Carrera 及び Faust (1949) はモルモットを開腹して直接に栄養型を盲腸部に接種して34例中31例に感染せしめ得たと云つて居る。又他の多くの人によつて種々な動物を用いて盲腸部、直腸部に接種実験を行つて居るが、感染しているもの、感染しないもの等其の感染率は極めて区々たる成績を示している。動物実験に多くの外的条件が影響して、この様な結果を示していると想像される。又石井(1950)は白鼠を用いて最近の実験に於て、肛門より栄養型を注入して肛門を閉鎖したもの50例中21例に感染し、その中の9例には潰瘍が生じたと報告している。Chang (1948) は肛門を閉鎖するか或は *Cl. welchii* の培養をアメーバと同時に注入する事によつて感染が容易になることを認め、これは腸内容の酸化還元電位が右の操作によつて著しく低下するためと説明している。岡本(1951)は最近白鼠を用いて *Cl. welchii* を同時に注入したものと、しないものに於て感染状態に差異を生じないと云つて居る。併し私の実験に於ては感染率に於て大なる差は認められないが感染の程度(病変の程度)については *Cl. welchii* を随伴せしめた方が病害作用は稍々強い様である。

結 論

1) 吉村株・広瀬株を使用して先づ *Cl. welchii* を24時間乃至48時間培養後、上記2株に各々随伴せしめて、その培養液の一定量をモルモットの直腸内、盲腸内に接種をした。

2) 盲腸内容、直腸内容又は組織内にアメーバの見出されたものは勿論、アメーバは見出されなかつたが潰瘍の形成されたものをも感染と見做せば、直腸内注入に於て、広瀬株に *Cl. welchii* を随伴させた場合53.8%、広瀬株のみの場合は45.4%、又吉村株と *Cl. welchii* を用いた場合は100%に感染が見られた。

3) 盲腸内注入の場合は、広瀬株に *Cl. welchii* を随伴させたものでは62.5%に、広瀬株のみの場合は66.6%にそれぞれ感染が見られた。

4) *Cl. welchii* を伴つたアメーバ栄養型とそれを伴わないアメーバ栄養型を使用した場合感染の百分率に於ては大なる差異は認められなかつたが、*Cl. welchii* を伴つた方が全般に稍々強い病変を示した。

5) 対照群 36 頭には盲腸部、直腸部共に認め得べき腸内変化はなかつた。

6) 死後剖検が多かつたためかアメーバが検出されたのは比較的少数例であつた。

7) cyst の形成は見られず、一部の例に下痢と大部分のものに体重の減少が証明された。但し被胞前期のものは可成り見られた。

8) 死亡は接種後 3~9 日に於いて多く見られた。

稿を終るに臨み恩師松林教授の御指導並びに御校閲の勞に深く感謝する。

文 献

1) Carrera, G. M. and Faust, E. C. (1949): Susceptibility of the guinea pig to *Entamoeba histolytica* of human origin., *Am. J. Trop. Med.*, **29**, 647~667. 2) Chang, S. L. (1948): *Proc. 4 th, Internat. Congr. Trop. Med. Malar*, Vol. 2, 1065. 3) George W. Luttermoser, W. T. Haskins, Nell Coleman, and J. R. Jumper (1952): Experimental *Entamoeba histolytica* infections in Rabbits with Reference to chemotherapy, *Am. J. of Trop. Med.* 162-170. 4) 猪木正三, 高田季久, 中村敏夫: 寄生性疾患研究委員会 26 年度研究成果報告. 5) Ishii Y. (1950): On the In-

fluences of Extracts of *Rhizoma rhei* and *Semen pharbitidis* upon the Infection of *Entamoeba histolytica* in rats. *Kitasato Arch. of Exp. Med.* Vol. **23**, 27-31. 6) 松林久吉 (1947): 赤痢アメーバ. 東京出版社. 7) 松林久吉 (1951): アメーバ赤痢発症機轉, 慶應医学, **28**, 89-89. 8) 岡本二郎 (1951): 赤痢アメーバの白鼠感染に於けるウエルシ菌の影響について. 第 20 回日本寄生虫学会総会講演要旨. 9) 島津優 (1952): 赤痢アメーバの猫感染試験及びその治療. 慶應医学, **29**, 247-51. 10) Taylor, D. J., Greenberg, J., Highman, B. and Coatney, G. R. (1951): Experimental infection of Guinea pigs with *Euamoeba histolytica*. *Am. J. of Trop. Med.* **30**: 817~828. 11) Tobie, John, E. (1949): Experimental infection of the Rabbit with *Entamoeba histolytica*. *Am. J. Trop. Med.* **26**: 859~870. 12) Jones, W. R. (1946): The Experimental infection of rats with *Entamoeba histolytica* with a method for evaluating the anti-amebic properties of new compounds. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **40**: 130~140. 13) Yanai T. (1950): On the Influence of Seasonal Factors upon the Experimental Infection of *Entamoeba histolytica* in Rats. *Kitasato Arch. of Exp. Med.* **23**. 145~147. 83.