

## 大腸バランジウムのマウス、ラツテに

## おける腹腔、皮下接種試験

## 特にムチンの影響について

ト 部 謹 也

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室 (主任 松林久吉教授)

(昭和 30 年 12 月 5 日 受領)

## 緒 言

豚の大腸バランジウムをラツテに感染せしめる実験は Hegner (1926), Rees (1927), Schumaker (1930), 野沢<sup>1)</sup> (1954) 等により, 又モルモットに感染せしめる実験は Schumaker (1930), Andrews (1930), Obitz (1931), 野沢<sup>2)</sup> (1954) 等により成功した事が既に明かにされているが, マウスに感染せしめ得るものであるかどうかは未だ判っていない。そこで私は先づ豚の糞便より分離し継代培養して得た運動活発な大腸バランジウム (以下 *B. coli* と略称する) 栄養型の可及的大量を用いてマウスに経口的, 及び開腹盲腸内投与を試み, 之によつて感染するかどうかを観察したのであるが結果は何れも陰性に終つた。

一方, 野沢<sup>3)</sup> (1954) は感染したラツテの盲腸内容より虫体浮遊液を採取し, この *B. coli* をモルモットの腹腔内へ接種する事によつて虫体がそこで増殖し得るかどうか, 又虫体と細菌との関係はどうかを追究しようとしたが注入した虫体の少数が数日間生存したと云うだけで増殖はおこらずその目的は達せられなかつた。

それ故に私はムチン ("C.M.C. 製" Gastric Mucin 和光純薬工業株式会社) を用いて *B. coli* をマウス, ラツテの腹腔及び皮下へ注入する事により或は之が生体の異局所に於て増殖感染するのではないかという想定の下に, 更に又ムチンが *B. coli* の生存増殖に如何なる影響を与へるのであるかを観察する為に今回の実験を行った。

既に山川<sup>4)</sup> (1954) は拡散因子剤 (Hyaluronidase) を

*Kinya Urabe: Intraperitoneal and subcutaneous injection of mice and rats with Balantidium coli with special reference to the effect to gastric mucin. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo, Japan)*

赤痢アメーバの培養虫体液に一定濃度に混じてモルモットの盲腸内に接種しその感染状況を観察したが, かかる拡散因子剤を加へても腸管内に於るアメーバ虫体の増殖感染にはあまり影響を及ぼさず, その感染率は対照群に比べて大差ない事が示されている。

又 Jones<sup>5)</sup> (1946) は 5% のムチンを赤痢アメーバ虫体浮遊液に加へて開腹した後ラツテの盲腸内へ注入し, 下痢, 粘血便等の症状をおこさせ, 潰瘍等高度の病変を発現せしめ, 且つ可成り高い感染率をあげる事に成功したと報じている。

而してムチンが 1932 年, W. J. Nungester 等によつて肺炎双球菌の喰菌現象探索に用いられて以来, 相次いでムチンの細菌に与へる効果が研究せられるようになり 1948 年 L. Olitzki<sup>7)</sup> は之等の諸実験の結果を一括してそれが細菌に対して Coating Action (被包的作用) を為すものであると述べた。即ち彼によればムチンを細菌と共に生体に注入すると, 喰菌現象の停止, 抗体産生の抑制, 殺菌作用の減退等を促進させる事により生体側の抵抗力を低下せしめ, かくしてムチンは所謂 Aggressine (侵襲素) のような役目をするものであるまいかと述べている。

若しそうであるならば, ムチンを *B. coli* 虫体浮遊液に一定濃度に混じてマウス, ラツテの腹腔, 皮下に接種する事により, *B. coli* の随伴細菌の菌力が増し, 組織への侵襲性が強まり, 次いで之等の細菌を食物として摂取する事により *B. coli* 虫体がある程度増殖し, 之に生体の腸管以外の場所に於ても *B. coli* が増殖するものではないかと思われたので今回の実験を行った次第である。

## 実験材料及び方法

実験材料としてはマウス 8~10g のものを主とし, 10~15g のものを若干用いた。それ等の糧食には小麦, 野

菜を以てし、実験使用迄4~5日間飼育を行い動物の健康状態の良好の時期を選んだ。*B. coli*の株はチステを含む豚の糞便を *Balamuth* 卵黄浸出培地にて約2ヶ月間継代培養して得た運動活発な栄養型である。この *Balamuth* 培地に米粉2, 3白金耳を加えて48時間培養を行い、実験直前にその虫体増殖部より約0.2cc虫体浮遊液をとり、之に滅菌生理的食塩水で1%に溶かしたムチン (*Gastric Mucin*) を0.1, 0.2, 0.3cc加えて夫々の系列をつくり、注入全液量は0.3~0.5 ccの間とし0.5ccを超過しないようにした。この混和溶液の注入に際しては先づ随伴細菌を含む虫体浮遊液をもちいて行い次いで細菌感染による死亡を幾分なりと防ぐ為にその虫体浮遊液を滅菌生理的食塩水で2, 3回洗って随伴細菌を減少せしめた洗滌虫体浮遊液を使用した。対照としてはそれ等の各々の場合にムチンを全く加へない細菌虫体浮遊液を用いて比較した。注入に際しては *B. coli* の増殖時期の最も活潑な移殖後48時間のものを選び、血球計算板で虫体数を検して培養液0.1ccに約20000~30000の虫体を浮遊せるものを用い注入液一定量に略々同数の虫体を含むようにした。之は染谷、Oblitz等がムチンを滅菌生理的食塩水に溶かして用いる有効濃度は3%であり、ムチンの注入有効量はマウスの腹腔内接種の場合0.2cc、ラットのそれは2ccであるとの実験を標準としたものであるが、菌力増強による細菌感染死を出来るだけ防ぐ為に濃度を1%とし、接種量はマウス腹腔接種の場合0.1~0.3 cc、皮下接種の場合0.2cc、又ラット腹腔内接種の場合2 cc、皮下接種の場合0.2ccとした。

#### 接種方法

1) 腹腔内接種、麻酔する事なくマウスの腹腔内に以上の濃度のムチンを混じた虫体浮遊全液量を0.3, 0.4, 0.5cc注入し、刺入部より混液の逆流しない事を確め、局所を沃度丁幾で消毒した。注入後、試験、対照群ともに殆ど大半が24時間後に随伴細菌による感染死を示したが剖検時、下腹部を大きく切開し、腹腔液少量の時には37°C加温滅菌生理的食塩水にて腹腔内をよく洗滌し、その液約3~4 ccをシャーレに受け、又腹腔液大量の時にはピペットで吸引して得た汚穢黄色の粘稠な腹腔液約2 ccをガーゼで濾過しながら小試験管に入れ暫次静置して得られた沈渣より約0.3~0.5 cc 採取した後、1匹について塗抹標本18×18 mm 4枚を作り、その中の虫体数を全視野について算定して平均値をとった。尚、剖検に際して肉眼的所見を求めたところ、癒着せる腸管、腸間膜血管の充血、粘濁性褐色腹腔液を認めたが、腸管粘

膜の潰瘍、壊死巣はなく、2, 3日間生存していた少数のマウスにも下痢、粘血便等の発症例は全く認められなかった。

2) 皮下接種、麻酔する事なくマウスの右腹股部皮下へ1%ムチン溶液0.2ccに虫体浮遊液0.1ccを加へ全量を0.3ccとして注入し、直後に沃度丁幾で消毒を行った。この場合、注入後日を経ても死亡するものは全く無かつたので逐次感染経過を観察する為に1日後よりマウスにエチルエーテルで麻酔を行い、右腹股部に1ccツベルクリン注射器に滅菌生理的食塩水を吸引したものを注入して局所皮下を洗滌せる液を採取し、その検液より1匹について4枚の塗抹標本を作り同上の算定法によつて1枚平均の虫体数を求め、以上の操作を7~10日にわたつて行い経過日数による虫体数の増減を追究した。又検液採取不能の時には局所を切開し、生理的食塩水を吸引せるピペットでよく洗つた後にこの洗滌液約2 ccをシャーレに受けてその沈渣より算定した。生存せるマウスにては下痢、粘血便は認められず、肉眼的所見に於ては腸管粘膜の潰瘍、壊死巣もなかつた。たゞ5日後頃から極く少数のものに注入局所の膿瘍形成が見られたが内容吸引によつて虫体陽性を示すものは皆無であつた。

以上がマウスの場合であるがラットの場合には約80 g位の比較的幼弱なものを選び、糧食は小麦、野菜を以て4~5日間飼育した後、健康状態の良好な時実験に供した。使用した *B. coli* の株や1%ムチンの使用法はマウスの場合と全く同様にして行つたが使用量は適当に増減した。即ち次の如くである。

腹腔接種ではエチルエーテルで軽く麻酔した後、虫体浮遊液1ccに1%ムチン2ccを加へて全量3ccとし対照として虫体浮遊液のみ3ccを夫々5匹宛腹腔内に接種したがすべて24時間以内に死亡し何れも剖検を行った。

皮下接種では同様にエーテル麻酔を施し、虫体浮遊液0.3ccに1%ムチン0.2ccを加へて全量0.5ccとしたものを右腹股部皮下へ6匹接種、虫体浮遊液のみのものを同所へ6匹接種した。然るにマウスの皮下接種と同じく死亡するものなく、その経過を全くマウスの場合と同様にして観察する事が出来た。又3日後に局所に膿瘍形成を見たものがあつたがその内容より *B. coli* 虫体を発見する事は出来なかつた。虫体数の算定方法は全くマウスの場合と同様にして行つた。

尚、之より先にこのムチンが試験管内にて *B. coli* の生活力、増殖に如何なる影響を与へるかを知る為に予備実験を行った。即ち、前述の *Balamuth* 培地3ccを含

む管径の一定せる小試験管に1%ムチン溶液約1ccを加へて全量4ccとしたものを5本、Balamuth 培地4ccのみの5本を用意し、之等に夫々2, 3白金耳の米粉を加へ B. coli 栄養型の運動活潑な増殖期にある虫体約0.5ccを加へて孵卵器に1週間にわたつて放置し、毎日その虫体の生活力、増殖程度の経過を比較観察した。虫体数の算定は試験管一本について3, 4枚の標本を作り、その平均数を経過を追つて追究した。

### 実験成績

#### 1. 予備実験.

Balamuth 培地に1%ムチンを加へて虫体浮遊液を移植した場合と、加へずに移植した場合とを比較する時、注加後2日目迄は大差がないけれども3日後にはムチンを加へた試験群に既に虫体の消失するものが現われた。即ち3日後に生存虫体の見られた試験管数は5本のうち試験群3本に対して対照群は5本であり、4日後には試験群2本に対して対照群4本、5日後には試験群1本に対して対照群2本となり6日後に至つて両群ともに虫体は消滅して了つた。(第1表)表中の(卅)は虫体数101以上、(卅)は11~100、(十)は1~10なる事を示す。表示したように虫体の生存日数はムチンを加へない対照群の方が稍々延長するものようである。

第1表 試験管内に於けるムチンの  
B. coli に与える影響

No.	移植後虫体の生存日数					
	1日後	2日後	3日後	4日後	5日後	6日後
試 験 群	1	卅	卅	—	—	—
	2	卅	卅	—	—	—
	3	卅	卅	卅	+	—
	4	卅	卅	卅	+	+
	5	卅	卅	卅	—	—
対 照 群	1	卅	卅	卅	+	—
	2	卅	卅	卅	—	—
	3	卅	卅	卅	+	—
	4	卅	卅	卅	+	+
	5	卅	卅	卅	+	+

既に Seneca, Henderson<sup>6)</sup>, 山川<sup>4)</sup>等はヒアルロニダーゼを赤痢アメーバ培養液に種々の濃度に混じてその試験管内に於る影響を観察しているが、ヒアルロニダーゼは水溶液にすると不安定となり37°C, 24時間では15%の効力の低下があり、以後漸次その活性度は減少し、虫

体の増殖率、生存率にはかゝる拡散因子剤を加へても大した影響はないと述べて居る。

又 C. G. Anderson, R. K. Oag はムチンの活性度はその化学状態殊にプロテイン屑にあるであろうと云う事を述べている。

何れにせよ、この予備実験の結果、試験管内にはムチンを加へても B. coli の増殖には影響を及ぼさず、時間の経過と共にムチンの活性度は漸次失われてその作用は遂には消失し、むしろ虫体の発育、運動、生存に幾分の悪影響を与えるものではないかと思われる。

#### 2. 本実験

##### 1) マウスの腹腔内接種の場合.

接種後、実験手技、気温によると思われるもの、その他の判然としない原因により死亡したと思われるものはすべて除外した。

洗滌しない(即ち随伴細菌を洗わない) B. coli 虫体浮遊液にムチンを混じて注入した試験群20匹の内すべてが、又対照群20匹の内18匹が、即ち合計40匹の内実に38匹が注入後20~24時間で細菌感染の為に死亡した。その何れに於ても死亡直後剖検したところ、試験群20匹中15匹(75%)に、又対照群20匹中4匹(20%)に虫体が認められ、試験群の虫体は活潑な運動を示す栄養型で時に少数の分裂型を認めたのであるが、対照群の虫体は殆ど運動しない栄養型でその中に多数の虫体破壊像を混じて居るのが認められた。又何れに於ても虫体の接合型は全く認められず随伴細菌は可成り増殖して居るもの様であった。試験群、対照群に見られた虫体平均数は略々注入量に比例して残存しているものであつて、増殖して居る所見は全く見られなかつた。唯、試験群の中には注入前よりも虫体の運動が或は激しい旋回性を示し、或は速かに行われている運動亢進像を示したものが存在していた。又何れに於ても腸管の潰瘍壊死の如き病変は認められなかつたが腸管の癒着、腸間膜血管の充血を示すものが多数存在し腹膜炎の所見を呈して居た。(第2表)。

洗滌した(即ち移植培養せる虫体を2, 3回にわたつて滅菌生理的食塩水で洗つた) B. coli 虫体浮遊液にムチンを混じた場合には試験群は24時間以内に死亡したものの20匹中17匹、72時間後のもの3匹、対照群は24時間以内のもの20匹中13匹、72時間後のもの7匹で合計40匹中30匹が24時間以内に細菌感染死を遂げたのであるが72時間迄生存し続ける事を得たものが10匹あり、マウスの生存日数は細菌を洗滌した虫体浮遊液を注入した場合の方が幾分延長した。この場合、虫体陽性率は試験群20匹

第2表 B. coli 虫体浮游液のマウス腹腔内接種（洗滌しない虫体浮游液の場合）

	接種量		例数	死亡数		陽性数	虫体平均数	虫体運動	陽性率
	虫体+細菌 cc	1%ムチン cc		1日後	3日後				
試験群	0.2	0.1	8	8	0	6	20~30	+	15 20 (75%)
	0.2	0.2	4	4	0	3	10~15	+	
	0.2	0.3	8	8	0	6	40~50	+	
対照群	0.3		8	8	0	4	10~15	-	4 20 (20%)
	0.4		6	6	0	0	0	-	
	0.5		6	4	2	0	0	-	

第3表 B. coli 虫体浮游液のマウス腹腔内接種（洗滌した虫体浮游液の場合）

	接種量		例数	死亡数		陽性数	虫体平均数	虫体運動	陽性率
	虫体+細菌 cc	1%ムチン cc		1日後	3日後				
試験群	0.2	0.1	15	12	3	11	1~5	+	15 20 (75%)
	0.2	0.2	5	5	0	4	10	+	
対照群	0.3		15	9	6	2	1~2	+	6 20 (30%)
	0.4		5	4	1	4	20~30	+	

中15匹(75%)であるのに比べ対照群は僅に20匹中6匹(30%)に過ぎなかつた。然し虫体の運動はこの場合緩慢ながら対照群にも見られた。之は細菌を洗滌してかゝる随伴細菌数を減少させる事が虫体の發育、運動、生存に比較的好影響を与へ、一方マウスの生存日数を若干延長せしめる原因ともなるのであろう。何れにせよ腹腔内接種にては虫体の増殖は全く認められず、虫体陽性率はムチンを加へたものの方が遙かに高率であつた。(第3表)。

思うに虫体の細菌浮遊液を腹腔へ接種するならば虫体の増殖するより速く細菌の激しい増殖が行われ之等は血行へ速かに侵襲して全身感染を惹起せしめ、更にムチンによる生体側の抵抗力減弱が加へられて腹膜炎をおこしかくして生体はその過半数が24時間を待たずして死亡するものと思われる。

#### 2) マウス皮下接種の場合。

皮下へ接種した場合には細菌を随伴しても試験、対照群共に死亡するものは1匹もなかつた。之は細菌の大部分のものが局所リンパ腺組織球に摂取せられて長く停滞し、細菌の血行中への移行が腹腔接種よりも遙かに遅い為である。又動物皮下に於ての注入液の拡散は部位、

圧迫、運動等の条件でも異なり、同一物質でも溶液濃度、pH 値、食塩濃度等によつて大いに影響されると思われる。それ故に、注入後生存して居るマウスの右腹股部に滅菌生理的食塩水を注入吸引して得た検液中の虫体数の増減の経過を見ると、試験群、対照群夫々の1匹平均の生存虫体数は第4表に示される如くである。即ち注入後、試験群にては何れも虫体数が3日目より漸次に減少して4日目迄陽性、5日目に猶過半数のものが陽性であるのに、対照群にては何れも2日目に急激に減少して3日目には全く虫体は消失して了つた。検出された虫体の運動は緩慢ではあるが何れに於ても見られた。局所の膿瘍形成は試験群にては注入5日後15匹中2匹に、対照群にては8日後15匹中1匹に認められたが、その内容からの虫体検出は塗抹、培養とも陰性に終つた。又何れに於ても虫体の分裂型、接合型は認められなかつた。之より推察するにムチンは生体皮下にては B. coli の生存日数を可成りに延長せしめるのであるが虫体の増殖と発症とを助長すると云うまでの作用は及ばさず、むしろその栄養、運動、生存に若干の好影響を与えるものであろうと思われる。

#### 3) ラットの腹腔内接種の場合。

第 4 表 B. coli 虫体浮遊液のマウス皮下接種

	接 種 量		例数	死亡数	注入後虫体平均数							虫体運動	膿瘍形成
	虫体+細菌 cc	1%ムチン cc			1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日		
試験群	0.1	0.2	15	0	Ⅲ (200~ 300)	Ⅲ (50~ 100)	+	+	+	-	-	+	5日後2匹 虫体 (-)
対照群	0.3		15	0	Ⅲ (300~ 400)	+	-	-	-	-	-	+	8日後1匹 虫体 (-)

第 5 表 B. coli 虫体浮遊液のラッテ皮下接種

	No.	接 種 量		死亡	注入後虫体平均数					虫体運動	膿瘍形成
		虫体+細菌 cc	1%ムチン cc		1日	2日	3日	4日	5日		
試験群	1	0.3	0.2	15	5	0	0	0	+	3日後4匹 虫体 (-)	
	2	〃	〃	5	2	0	0	0	+		
	3	〃	〃	0	5	2	0	0	+		
	4	〃	〃	2	2	0	0	0	+		
	5	〃	〃	5	0	0	0	0	+		
	6	〃	〃	5	0	0	0	0	+		
対照群	1	0.5		0						なし	
	2	〃		0							
	3	〃		0							
	4	〃		0	(何れも虫体破壊像) 多数						
	5	〃		0							
	6	〃		0							

ラッテの腹腔へ虫体 1 cc に 1%ムチン溶液 2 cc を混ぜたものを 5 匹、虫体浮遊液のみ 3 cc のものを 5 匹夫々の腹腔内へ接種したが何れも激しい細菌感染をおこし 24 時間以内に死亡した。その腹腔液をマウスの場合と同様にして検査したが虫体は何れに於ても全く認められなかった。

4) ラッテの皮下接種の場合。

ラッテの右腹部皮下へ虫体浮遊液 0.3cc に 1%ムチン 0.2cc 加へて全量 0.5cc としたものを 6 匹、虫体浮遊液のみ 0.5cc のものを 6 匹接種して比較したところ、試験、対照群ともにマウスの皮下接種の場合と同様死亡するものはなかった。それ故に注入後、毎日経過を追って局所を滅菌生理的食塩水で洗って検液を採取し、その 1 匹宛について平均虫体数を求めたところ、試験群は 6 匹のすべてに於て虫体は注入後 1 日目陽性、4 匹が 2 日目迄陽性で活潑な運動を示している少数の虫体栄養型を認めたが、対照群 6 匹に於ては注入後 1 日以内に既に多数の虫体破壊像を認めたに過ぎず生存虫体陽性のものは全く存在しなかった。又試験群に於ては注入後 3 日目に局所に小指頭大の膿瘍形成を見たものが 6 匹中 4 匹あったが塗抹、培養によるその内容よりの虫体検出は陰性に終つ

た。(第 5 表)。

この場合にもムチンは B. coli の生存日数を 2, 3 日延長させた過ぎずその増殖発症に格別の好影響を与へたとは思われなかった。

考 按

1932年, W. J. Nungester, C. P. Miller 等が始めて肺炎双球菌, 溶血性連鎖球菌, ブドウ球菌をもちいムチンの細菌感染発症に及ぼす影響を観察して以来、その細菌に与へる効果は C. G. Anderson, J. Oerskov, G. Rake 等により腸チフス菌, インフルエンザ菌, パラチフス菌, 志賀菌をもちいて行われた可成り広範囲に及ぶ実験によつて継続せられた。そしてそれ等の諸実験から、1)之等の細菌はムチンと共に腹腔内に接種せられると著しく小量菌にてマウスを感染致死させる事、2) 血行中に細菌は侵襲し激烈な敗血症を惹起する事、3) 腹腔局所の喰菌細胞の能力を著しく阻害する事、4) 生体側に於る抗体接着の阻止を見る事等の諸作用のある事が明かにせられた。L. Olitzki<sup>7)</sup> (1948) は以上の諸作用を一括してムチンは生体の抵抗力を低下させるような物質 Resistance lowering substance であると指摘し、恰もヒアルロナーゼの如き侵襲素 Aggressine の役目を

為すものであらうと述べて居る。而してこの生体側の抵抗力を低下させる作用はムチンが注入菌体を被覆すると云う所謂被包的効果 **Coating Effect** によるものであらうと云う表現を用いて居る。

そして既に染谷<sup>8)</sup> (1941) は以上の諸細菌に対するムチンの効果を試験管内、動物実験で追試し、ムチンは細菌の少量感染致死に極めて有効な物質であり激しい **Aggressive** と見做される事を確認し得た。

然るに近時に至り、次第にヒアルロナーゼ、ムチンを用いた原虫類の感染実験が相次いで行われるようになり、それ等の原虫に与へる影響が色々と観察せられるようになった。

先づ Jones<sup>9)</sup> (1946) が5%のムチン溶液を赤痢アメーバの虫体浮遊液に混じてラットの盲腸内投与を試み、高度の感染率をあげる事に成功し、下痢、粘血便等の症状を発現せしめ、アメーバの明瞭な組織への侵入、腸管の潰瘍形成を見たと報じて居る。

更に Seneca, Henderson, Harvey<sup>6,23)</sup> 等 (1948) は又ヒアルロナーゼの赤痢アメーバに与へる影響を試験管内で観察したが、之を加へる事によつて赤痢アメーバの増殖(その数)、死滅状態(破壊、消失)は対照となんら変る事なく、ただ活動力(運動亢進)に幾分の陽性の結果を得たと云つて居る。然るにヒアルロン酸を加へると構造上、虫体の硝子化退行変性、破壊が見られ遂にすべての赤痢アメーバは消失して了つたと云つて居る。そしてヒアルロナーゼもヒアルロン酸も赤痢アメーバの成長しつゝある培地に対しては著しく刺戟的であり毒性をさへ有するのではあるまいかと述べている。又同時に Seneca (1948) はヒアルロナーゼを加へた *Leishmania donovani* も *Trypanosoma cruzi* もなんら影響を受けず、ヒアルロン酸によつて之等の運動減退像が認められたと云つて居る。

その後、相沢<sup>9)</sup> 橋本、野宮等 (1952) はムチンのマウス腹腔内接種により、腸管以外には寄生し得ない *Hexamitus muris* なる鞭毛虫が時によると腹腔内にて増殖する事があると述べ、ムチンも亦他の抵抗力低下物質と同じく正常血清の殺菌性を喪失させるような補体の非働性化剤でこの様な非働性化剤をマウスの腹腔内へ接種する事により以上の現象の見られる事は広く原虫類の感染実験にある示唆を与へるものではあるまいかと結論している。

次いで山川<sup>4)</sup> (1954) はヒアルロナーゼの赤痢アメーバ感染に及ぼす影響を追究し、試験管内ではその増殖

率に変化なく、動物実験では感染率は対照に比べて殆ど差異が認められなかつた。

一方、山県<sup>10)</sup> (1954) は *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas foetus* の純粋培養をもちいたマウスの感染実験に際して牛涎ムチンを以て前処置した後、虫体はその腹腔内へ接種し若干の興味ある成績を取めた。それによると、*T. vaginalis*, *T. foetus* の何れに於ても致死感染率は対照に比し極めて高率であり、致死した牛涎処置マウスの腹腔より得られた虫体が正常マウスに更に致死感染をおこす馴致試験は陰性に終つたが原虫の変異と云う問題にある示唆を与へないかと述べている。

かくして既に指摘されている如く<sup>11-20)</sup>、原虫類の感染実験に於ても亦求められるものは **Invasiveness** (侵襲性) と **Toxigenicity** (毒性) の容易な発生とその機序を明確にする事にあるであらう。而して侵襲性とは生体中へ侵入した細菌虫体浮遊液が生体内にて増殖を始め、親和性臓器への占居を意味するものであり「感染」という概念を狭義に解釈するならば「発症」をみなくてもかゝる「増殖」をみた以上は「感染した」と云つてよいであらう。即ち、投与虫体が長く腸管に保有せられ、腸管を通過して便中に排泄されるにしてもその一部は腸管内で死滅する事なく経過と共に増殖を始め数日にしてかゝる臓器、又は他の組織内で大量に達するならばその間に多少の遅速の差はあつても感染の概念はゆるされ得ると思われる。かくして原虫類による感染発症の要因は、A) 生体側因子として、1) 生体の抵抗力の減弱、2) 環境要素、特に気温の影響、3) 臓器(腸管)内の物理化学的性状が挙げられ、B) 病原体側因子として、1) 株による病原性の強弱、2) 腸内細菌の影響が数へられる。特に所謂随伴細菌としての腸内細菌は培養基内にてても、生体内にてても原虫と密接な関係があると思われ、それ等細菌の毒性、その生化学的活性、細菌群の攪乱とそれ等菌群組成の差の微妙な変化等が感染に与へる影響は複雑多岐にして而も可成り重要な要素を占めると思われる<sup>21), 22)</sup>。

今回の私の *B. coli* 虫体浮遊液にムチンを加へて行つた感染実験の目的は、この随伴する腸内細菌がムチンの所謂 **Coating Action** によつて被包せられ、生体側の抵抗力を減弱せしめると共に虫体の病原性及び増殖力をたかめ、かゝる腸管親和性の寄生原虫が生体の異局所に於て増殖を始め、或は感染するのではあるまいかとの想定の下に行つたのであるが結果は増殖を見るに至らず、腹腔、皮下の何れの場合にもムチンは *B. coli* 虫体の生

存日数を 2, 3 日延長せしめ、時に虫体の運動を亢進せしめたに過ぎず、即ち虫体の増殖に関与するよりはしるその生存、運動、栄養に関与し、虫体の生存日数を延長せしめるような **Enduring Action** を及ぼすものではないかと考へられる。

それ故に、私の今回の実験及びその他のヒアルロナーゼ、ムチンを使用して行つた諸氏の感染実験より、所謂 **Aggressine** なる名称で一括せられる諸物質の中でヒアルロナーゼは原虫に対して殆ど影響を与へず、ヒアルロン酸はむしろ抑制的に作用するが、ムチンの場合その投与量の量的質的条件を更に検討するならば或は原虫類の生体内増殖に若干の好影響を与へるのではあるまいかという事が考へられる。

### 結 論

1) 豚の糞便から分離継代培養して得た *B. coli* の運動活潑な栄養型浮遊液に 1%ムチンを加へてマウス、ラットの腹腔、皮下接種を行いその経過を観察した。

2) マウスの腹腔内接種に於ては細菌を洗滌しないそのまゝの虫体浮遊液 0.3~0.5 cc 注入したところ、試験群、対照群ともに大半のものは 24 時間後に死亡し、虫体陽性率は試験群 75% に対して対照群 20% で前者に於ては時に虫体の運動亢進像が認められたが後者に於ける虫体の運動は認められなかつた。洗滌した虫体浮遊液を接種した場合、マウスの生存日数は若干延長する。虫体陽性率は試験群 75% に対して対照群 30% であつた。又虫体の運動はこの場合緩慢ではあるが対照群にも認められた。

3) マウスの皮下接種に於ては注入後死亡したものはなくその経過を観察するに試験群の虫体平均数は 3 日後より漸次減少して 6 日後消失したのに反して、対照群のそれは何れに於ても 2 日後急激に減少して 3 日後には全く消失して了つた。又膿瘍形成を見たものは試験群 5 日後に 15 匹中 2 匹に、対照群 8 日後 15 匹中 1 匹に発現したがその内容からの虫体検出は陰性であつた。

4) ラットの腹腔内接種に於ては試験群 5 匹、対照群 5 匹のすべてが 24 時間以内に死亡しその腹腔液からの虫体検出は陰性であつた。

5) ラットの皮下接種に於ては試験群 6 匹はすべて生存し、過半数のものが 2 日目迄陽性であるに反して、対照群 6 匹も亦すべて死亡する事はなかつたが何れに於ても虫体は 24 時間以内に崩壊消失して了つた。試験群に於る虫体陽性の場合、活潑に運動する少数の栄養型を認めたとに過ぎなかつた。又試験群 6 匹中、3 日後その 4 匹に膿瘍形成を認めたが虫体は存在しなかつた。

6) ムチン (*Gastric mucin*) を *B. coli* 虫体浮遊液に加へてラット、マウスの腹腔、皮下という異局所へ接種したが増殖感染をみるに至らず、腹腔接種に於ては試験群の方が虫体陽性率が高く、又皮下接種に於ては虫体の生存日数を 2, 3 日延長せしめ、時に虫体の運動亢進像を認める事があつた。かゝる結果からムチンは *B. coli* 虫体に対してその生存日数を延長せしめるような **Enduring Action** を及ぼすものと考へられる。

7) ムチンの濃度、投与量及び腸内細菌群そのものに与へる直接の影響等に関しては更に今後の検討を要する問題と思われる。

稿を終るに臨み、松林教授の御指導、御校閲に深謝する。本論文の要旨は昭和 30 年秋第 15 回日本寄生虫学会東日本支部大会に於て発表した。

### 文 献

- 1) 野沢孝 (1954) : 豚の *Balantidium* 栄養型を以てするラット感染試験. 慶応医学, 31 (4), 131~135.
- 2) 野沢孝 (1954) : *Balantidium coli* 栄養型によるモルモット、仔猫感染試験. 慶応医学, 31 (6) 192~194.
- 3) 野沢孝 (1954) : *Balantidium coli* のモルモット腹腔内接種試験, 慶応医学, 31 (7), 232~236.
- 4) 山川速水 (1954) : 赤痢アメーバのモルモット感染実験 (特に拡散因子剤の影響). 寄生虫学雑誌, 3 (2), 136~140.
- 5) Anderson, H. H. : (1953) : Amebiasis, 154~173.
- 6) Seneca & Henderson (1948) : Effect of Hyaluronidase and of Hyaluronic Acid on Cultures of *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani* and *Amoeba*. Science, 108, 714~715.
- 7) Olitzki L. (1948) : Mucin as a resistance lowering Substance. Bac. Rev, 12, 149~172.
- 8) 染谷明 (1941) : Gastric Mucin の細菌発症感染に及ぼす影響, 細菌学雑誌, 547, 591~606.
- 9) 相沢憲 (1952) : 感染実験に関する二、三の問題, 日大医学雑誌, 11 (7), 515~522.
- 10) 山根宏 (1954) : *Trichomonas* のマウス感染試験. 長崎医学雑誌, 29 (4), 375~379.
- 11) 松林久吉 (1947) : 赤痢アメーバ, 東西出版社.
- 12) Frederick, P. G. & Richard, W. L. (1935) : Agents of Disease and Host Resistance. 1320~1323.
- 13) Robert Hegner (1927) : Host-parasite Relations between man and his Intestinal protozoa. 172~186.
- 14) 谷友次 (1954) : 医学微生物学, 南山堂.
- 15) 安東洪次 (1953) : 感染と免疫丸善.
- 16) 北本治 (1955) : 感染症の展望, 日本医事新報, No. 1605, 507~524.
- 17) 白井俊明 (1954) : 大腸バランチジウムの培養と随伴細菌との関係. 日新医学, 41 (12), 658~661.
- 18) 白井俊明 (19

53) : 大腸バランチジウムチステの脱殻並びにその後の増殖に及ぼす細菌の影響, 日新医学, 42 (4), 250~254. —19) 山川速水 (1954) : 赤痢アメーバのモルモット感染実験 (特にウェルシュ菌の影響), 寄生虫学雑誌, 2 (3, 4), 194~198. —20) 大林静男 (1941) : 拮抗作用より出発せる腸内細菌の腸内増殖の能否に関する研究, 細菌学雑誌, 547, 520~540. —21) 合田朗 (1955) : 腸内細菌概論, 臨床病理, 3 (2), 133~139. —22) 小酒井望 (1955) : 腸内細菌の病原性に関する考察, 公衆衛生, 17 (6), 23~31. —23) 加来道隆 (1951) : 拡散因子 (医家叢書) 43, 医学書院.

### Summary

It is well known fact that gastric mucin supports the growth of various kinds of bacteria in animal host. An experiment was carried on to investigate whether the substance also supports the growth of *Balantidium coli* when they are injected into abnormal localization such as the peritoneal cavity or subcutis of rats and mice. *Balantidium coli* growing in Balamuth's medium with mixed bacterial flora were suspended in 1% solution of gastric mucin in normal saline, and were injected into the peritoneal cavity or subcutis. In another series of experiments, organisms were suspended after they were washed by centrifugation to get rid of as much bacteria as possible from the inocula.

Mice injected with *Balantidium* without washing all died within 24 hours. At the time of death the organisms were found in 15 (75%) out of 20 mice injected. Control mice which were injected with the organisms without mucin also died within 24 hours in most cases (18 within 24

hours and 2 within 74 hours). At the time of death, organisms were found in 4 out of 20 mice injected.

Mice injected intraperitoneally with washed *Balantidium coli* mostly died within 24 hours and several survived until 74 hours in both the test and control series. At the time of death, the ciliates were found in 15 out of 20 mice of test series and in 6 out of 20 mice of control series.

By the subcutaneous injection of *Balantidium coli*, all of the mice, both in test and control series, survived the injection. The site of injection was examined daily for the presence of *Balantidium*. In test animals they were detected until after 5 days in an average while in the control animals, they were detected until only after 2 days in an average.

Rats injected intraperitoneally with *Balantidium* suspension all died within 24 hours and the organisms were found in none of them in test and control animals.

By the subcutaneous injection, all rats survived the infection. *Balantidium* were detected until after 2 days in test animals while they were found in none of the control animals after 24 hours.

These experimental results indicate that gastric mucin is likely to have an effect to prolong the term of the survival of *Balantidium coli* in abnormal localization of abnormal host. *Balantidium*, however, cannot multiply in those localization. Therefore, it may be concluded that gastric mucin exerted an enduring effect upon *Balantidium coli*.