

Toxoplasma gondii の毒力に及ぼす各種 動物血清の影響

新 井 博

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32年1月18日受領)

緒 言

Toxoplasma gondii は、1908年に原虫として報告されて以来、広く自然界に認められ、虫体は人類を含む哺乳動物及鳥類に見出され、それ等は総て宿主と成り得る事は知られて居る。即ち、Sabin (1953)は、温血動物に対する *Toxoplasma* は、他の原虫と異つて宿主特異性の無い唯一の原虫であると述べている。

斯くして、温血動物である限り本原虫の実験的感染が全く不成功に終つたと云う報告は無いが、それらが宿主としての感受性の程度には、動物の種類によつてかなりの差異がある。そして、従来、各種動物の感染性の不一致は、宿主反応と株毒力の変化に基いたものであると述べられて居る (Jacobs L., 1953)。

Sabin & Feldman (1948)は、彼等の Dye-test を発見した際に、羊、牛、馬、犬、猿、家兎、ラット、そしてモルモット血清中には、試験管内で Accessory factor としての作用に不適當である “normal, heat-labile, anti-toxoplasma factor” の存在を暗示し、人間及びマウス血清中にはその因子が欠除する事を述べた。併し乍ら、之等の因子を示すいくらかの動物は、明らかに自然界に *Toxoplasma gondii* の宿主として知られて居り、そして、実験的に容易に感染し得る。その因子の本態は明らかでない。

Jacobs, Melton & Johns (1951)は、種々の液体中に於ける虫体の生残に関する実験を行い、血清を含む液体中で最も長時間生残し得る事を報告した。

そこで私は、虫体の生存に好影響を与える各種動物血清中に、虫体を浮遊せしめ、各血清の *Toxoplasma gondii*

の毒力に及ぼす影響を観察し、血清中の毒力抑制因子の存在に就いての小実験を行つた。

実験材料及び方法

実験動物は、体重12~15 gr の純系健康マウスを用いた。それ等は総て、抗体を保有しないものを必要とする為、50匹毎の各群より各5匹の血清に就いて Dye-test を行い、延30匹総て100%陰性の結果を得たので次後の実験に供した。

被検動物血清は、人、ラット、マウス、牛、馬、そして犬を用いた。人血清を除いて56°C 30' 非働性とした。マウス血清は約10匹分を混合使用した。各血清は Dye-test 陰性を前以て確かめた。

虫体懸濁液作成に使用せる実験株は、株毒力を一定にする為、マウス腹腔継代3日後のRH株を用いた。腹腔貯溜液は、無菌0.9%食塩水で稀釈し、500 r. p. m. 3分間遠沈後、遊離の虫体を含む上清を標準の血球計算盤で算定し、被検動物血清と混合、虫体数 $200 \times 10^4 / \text{ml}$ の50%血清食塩水懸濁液を作成し、同数の虫体を含む食塩水懸濁液を対照とした。その各々に、細菌抑制の為、水溶性 Pc G 2500 u/ml になる様混合した。以上の操作は虫体の温度影響を考慮して37°C の状態で行われた。

対照懸濁液は、37°C にて種々の異つた時間保存後、(2, 5, 8, 12, 15, 18, 20, 24, 29, そして48時間) 夫々、数匹のマウス腹腔中に0.5 ml 毎接種し、急性症状を呈する虫体の毒力保有の最大時間を観察した所 (表1) に示す様に、保存時間の経過と共にマウスの生存日数は延長し、生残する様になり、24時間以後は全く虫体の毒力は消失し、虫体は生存しない様に見られた。2~15、及20時間保存では、それを接種されたマウスは4~8日目に100%死亡、18時間保存では5匹中4匹死亡し、24時間保存では16匹中6匹死亡した。それ等の生残マウスは、4週後も異常を示さなかつた。29時間保

HIROSHI ARAI: Influences of sera of various animals upon the infectivity of *Toxoplasma gondii* in mice. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

第 1 表 0.9%無菌食塩水中に於ける *Toxoplasma gondii* の生存時間

虫体数 100×10 ⁴	37°C 保存時間													
	0	2	5	8	12	15	18	20	24		29	48		
マウス 死亡数/接種数	3/3	3/3	3/3	5/5	5/5	5/5	4/5	5/5	0/5	2/3	3/3	1/5	1/5	0/5
接種マウス 平均生存日数	4.0	4.3	5.0	5.0	5.8	6.8	7.2	8.0	14.0	10.2	9.8	18.0		

第 2 表 *Toxoplasma gondii* の毒力に対する各種動物血清の影響 (50%血清懸濁液のマウス接種実験)

37°C 保存時間	50% 血清	マウス	人	ラ ッ テ	馬	犬	牛
24 時間 後		3/5 (9.0)	5/5 (6.0) 5/5 (6.0)	5/5 (6.0)	5/5 (6.8) 5/5 (7.2)	5/5 (7.0)	5/5 (8.6)
48 " "		3/5 (14.0)	5/5 (13.4) 5/5 (12.0)	3/5 (13.0)	5/5 (9.2) 5/5 (8.6)	5/5 (9.6)	5/5 (9.6)
対照 24 "		3/5 (9.6)	3/5 (11.7) 5/5 (10.6)	0/5	5/5 (9.4) 5/5 (9.6)	5/5 (9.8)	5/5 (8.6)

〔註〕 接種虫体数……100×10⁴
 4/5 ……………マウス 5 匹接種して 4 匹死亡
 () ……………死亡マウス平均生存日数

存では僅かに 1 匹が 18 日目に死亡したが、虫体は腹水中にも、又、脳、肝及び脾臓の乳剤接種継代後も検出されなかつた。48 時間保存では総て異常は認められなかつた。生残者に就いてのその後の Dye-test の結果では、18 時間保存虫体接種マウスで、低価ではあるが 4×を示したが、24、29、48 時間保存では、抗体価の上昇は認められなかつた。

そこで、37°C に 24 時間保存の食塩水懸濁液を対照とした。

本実験は既述したように、血清と生理的食塩水とを等量に混じた液に、所定の虫体数を浮游させ 37°C に保存し、24、48 時間後、対照は 24 時間後に、夫々、マウス腹腔に 0.5 ml (虫体数 100×10⁴) 宛接種し、4 週に亘りマウスの生死を観察した。

実験成績

50%血清懸濁液中に 24 時間保存した虫体を接種したマウスは、何れも対照に比して早期に発症死亡した。48 時間保存では、マウス、ラッテ血清を用いた例で各々 2 匹宛 4 週後に至る迄生残したが、その他は対照と殆んど同時期、又は遅れて死亡した。対照は人、ラッテ例を除いて全例死亡した。

考 察

Toxoplasma の血清中に於ける生残実験に関しては、既述せる如く、Jacobs, Melton & Johns (1951) に依つて行われた。食塩水、10%血清、そして肉汁に浮游した

虫体を接種すると、室温に於て 10%血清食塩水中の虫体は長時間生残し、24 時間に於てもマウスの感染を起す能力の大部分は尚失われなかつた。それに反して、他の二者中の虫体は短時間にて失われる事を報告した。本実験に於ても、37°C 保存で明らかに 50%血清中の虫体は対照に比し多数生残し、毒力は保たれ、尚 48 時間に於ても対照に比し多少の毒力は低下するとは云え、マウスの大部分を発症し得た。24 時間では勿論全く早期に発症した。この事は、動物血清は虫体の生存に関して、食塩水よりも適した環境を示すもので、毒力の減少は少く、虫体は長く生存し得ると考えられる。

Jacobs (1953) は、虫体に対する宿主の感受性の差異に就き種々の動物実験を行い、マウス、家兎、ハムスター、そしてモルモットは、ラッテより容易に急性感染を生じ易く、ラッテは脳以外の部位への接種で一吋した短かい熱性感染を起すに止まり、猿と犬は亜急性感染を起す。然し乍ら、比較的抵抗性のある宿主の組織から実験接種後比較的早期にも、又末期にも虫体は分離し得るから、*Toxoplasma* で温血動物の感染の不成功は無いと述べて居る。然るに、それ等自然界の動物間に於ける Dye-test 陽性率を考察するに明らかに著明の差が見られる。即ち、Feldman (1953) は、成人の 20~40% に血清学的に Subclinical Toxoplasmosis を見出し、又長谷川他 (1954) は、屠殺場で得た大動物の血清で Dye-test を行い、牛と馬は殆んど陰性であり、豚と緬山羊では比較的高率に抗体を保有し、そして我国に於ては欧米に比して低率ではあるが不顕性感染は広範囲に人及動物に披

つて居ると述べ、人7.2%、牛2.8%、馬0%の陽性率を示すと報告している。Morris 他(1956)は、犬25%、又 Louise & Miller 他(1953)は、犬59%、猫34%そして家兎45%と可成り高率に抗体を認め、それ等よりの人体感染の注意を喚起して居るが、牛は感染の頻度は少いと推論して居る。

以上の如くに、実験感染は可能でもその抗体保有率は可成りの差異を認められる。それ等の動物血清に就いて、若し抗体保有率の低い動物血清中に、*Toxoplasma* の毒力を何らかの方法で抑制すると思われる因子の存在が仮定されれば、その50%血清懸濁液中で虫体の毒力は抑制され、マウスに急性感染を生ぜしむる能力の消失、又は減弱を示し、対照と同時期にマウスは死亡するか、又長く生存するであろう。それに反して抑制する因子の欠除する血清中の虫体は、48時間後に於ても、尙対照より早期に発症せしむる毒力を保有せねばならないであろうと思われる。

然るに、本実験に於ては、第2表に示す如くに多少の差は認められるが、48時間後のマウスの生存日数の著明の変動、殊に短縮は見られなかつた。之は各血清に共通に見るところである。

Toxoplasma gondii に対する宿主としての各種動物の感受性の差異、即ち、抗体保有率の差に関しては、本実験に於ては、血清中に抑制作用を現わす因子の存在は推察されず、少くともこの問題に関しては、血清は関与しない様に思われる。此の点に就ては、将来、血清以外にその意義を求めべきであろう。

結 論

1. 37°C 保存で、生理的食塩水中の *Toxoplasma gondii* は比較的長時間マウスを発症せしむる能力を保有し、24時間後に於ても尙マウスを死に至らしめ得た。血清中ではそれ以上に生存した。

2. 動物血清中には、*Toxoplasma gondii* の生存を特に抑制する如き因子の存在は認められない様に思われる。*Toxoplasma* に対する感受性の異なる数種の動物の血清中に *Toxoplasma* を浮遊せしめて見ても、その生存時間に差は見られなかつた。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導を賜りました松林教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

1) Feldman, H. A. (1953): The clinical manifestations and laboratory diagnosis of *Toxoplas-*

mosis. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 2(3), 420-428. —2) 長谷川秀治他(1954): *Toxoplasma* 症の研究 I. 普通人及び動物の *Toxoplasma* 抗体保有率について、日本細菌学雑誌, 9(6), 455-458. —3) Jacobs, L. (1953): The Biology of *Toxoplasma*. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 2(3), 365-389. —4) Jacobs, L., Johns, F. E. and Melton, M. L. (1951): The Survival of *Toxoplasma gondii* in various fluids. J. Parasit., 38, 293-297. —5) Morris, J. A., Aulisio, C. G. and McCown, J. M.: (1956): Serological evidence of *Toxoplasmosis* in animals. J. of Inf. Dis., 98(1), 52-54. —6) Miller, L. T. and Feldman, H. A. (1953): Incidence of antibodies for *Toxoplasma* among various animal species. J. Inf. Disease, 92(2), 118-120. —7) Sabin, A. B. (1953): *Toxoplasmosis*. Current status and unsolved problems. Introductory remarks. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 2(3), 360-364. —8) Sabin, A. B. and Feldman, H. A. (1948): Dyes as microchemical indicators of a new Immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science, 108, 660-663.

Summary

Most of the mammals are susceptible to the infection of *Toxoplasma gondii*. Some of them are highly susceptible and suffer severe illness ending in death. Others are more resistant and manifest only a transient or chronic infection and rarely die of the infection.

In the present study, normal sera of various mammals were taken and toxoplasms were immersed in these sera and were kept in 37°C incubator for various lapses of time. These organisms were then inoculated intraperitoneally into mice and their infectivity was investigated. The sera were taken from white rats, mice, cows, horses, dogs and man. It was ascertained beforehand that these sera had no antibody for dye-test. Control experiment was carried out with normal saline. After 24 hours' conservation in normal saline, toxoplasma lost its infectivity to mice.

In the experimental group in which toxoplasms were kept in sera, they retained their infectivity for longer period than in normal saline. Mice which were inoculated with toxoplasma kept in the serum for 24 hours were successfully infected in all cases and died after 4-5 days. Most of the mice inoculated with the organisms kept for 48 hours were also infected and died after 4-5 days. There was no difference between dach serum in its effect upon the toxoplasma.