

腔トリコモナスの研究

(1) 実験的並びに臨床的腔トリコモナス症に於ける 二、三の免疫反応に就いて

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34年5月30日受領)

緒 言

腔トリコモナス(以下 *T.v.* と略)の免疫血清学的研究は近年純培養法が確立されて以来盛んに行われる様になった。1932年 Riedmüller は *T.v.* 含有腔材料を以てモルモットを免疫し補体結合抗体を認めたが(山県, 1953による), 培養虫体を用いて系統的研究を行つたのは登倉(1935)が最初である。その後 Trussell(1946)は初めて *T.v.* の無菌培養虫体で家兎を免疫し Microagglutination を報告した。引続いて中林(1952)は *Trichomonas fetus* (以下 *T.f.* と略)の純培養虫体で家兎を免疫し Agglomeration, Agglutination を比較検討, 山県(1953)も *T.v.* 及び *T.f.* の純培養虫体で夫々の免疫学的特異性を証明, そして石井(1955)及び網野(1956)は *T.v.* の免疫学的性状に就て観察報告している。

然し乍ら, *T.v.* の診断的免疫血清反応の価値に関しては現在尙未だ確定的なものがなく, 種々の報告も一致した見群に至らぬ現状である。即ち, Wendlberger は1936年 *T.v.* の細菌随伴培養のアルコール抽出抗原を用い感染腔の症状の程度に一致して補体結合反応は感染婦人32例中22例陽性, 非感染婦人は全例陰性と云う結果を得たと述べている(山県1953による)。其の後, Trussell & Wilson(1942)は無菌培養虫体の生食水浮游抗原での補体結合反応で感染婦人 47.27%, 非感染婦人 16.55%陽性であつたが陰性状より検討すると有意の差を認めないと述べ, 本症における補体結合反応の診断的価値に関しては否定している。近年に至り, McEntegart(1952)

は感作赤血球凝集反応を以て可成り良好の成績を報告している。その他, 皮内反応は Wendlberger, Trussell(1947), 真柄他(1956)等により試みられたが何れも診断的価値は認められず, 血清の沈降反応において真柄ら(1956), 森(1956)が抗原の改良を行えば或程度の価値があるであろうと推論している。更に森(1956)は患者の感染帯下で沈降反応を試みている。

私は本実験で, *T.v.* 実験感染動物血清に就て凝塊反応, 補体結合反応, 感作血球溶血反応を行い, 併せて感染帯下で凝塊反応を実施したので此処に報告する。

I. 実験動物血清での凝塊反応と補体結合反応

実験材料並びに方法

実験に使用せる *T.v.* 株(B)は浅見(1952)のチンパイオン培地に300代以上無菌的に継代培養保存せるものである。

免疫血清を得るためにはマウス筋内に虫体を接種して感染を起させる方法と, 生虫体を反復して家兎静脈内に注入して免疫する方法との二法を用いた。37°C48時間培養した *T.v.* を滅菌生食水で無菌的に数回洗滌し標準の血球計算盤で虫体数を算定した後動物に接種した。

即ち, マウス(体重12gm 前後)では左大腿部を抜毛し, その下肢筋に0.3 ml(虫体数約180万)を1回筋内接種, その後, 毎週5匹より心採血しその非動性血清に就て凝塊反応及び補体結合反応を行つた。同時に実験の都度各2匹の健康マウス血清を対照として用い1週より21週に亘り経過を観察した。又, 家兎(体重3.0~3.5 kg 6)では予め2.0mlの前採血を行い, その後, 耳静脈より毎回1.0ml(生虫体数約200~350万)を隔日5回接種した。勿論家兎では虫体の接種によつて感染は起らない。第Ⅱ~第Ⅴ接種前には夫々2.0mlの採血を行つた。即ち, 各家兎は5回の接種と, 前採血を含む

HIROSHI ARAI: Studies on *Trichomonas vaginalis*.

(1) On immunological reactions in the experimental and clinical trichomoniasis (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

6 回の採血後、最終接種後10日目に全採血し、それらの非動物性血清に就て凝塊及び補体結合を実施し対照として毎回健康家兎血清を用いた。

免疫反応の術式は次の通りである。

凝塊反応

凝塊原 Agglomerinogen or Agglomeratinogen は48時間培養虫体の生食水浮游液(約1000万/ml)である。小試験管に原液より10×, 20×, 40×……と稀釈した非動物性被検血清0.25 ml と凝塊原 3 滴混和の上ホールグラス上に1滴取りカバーグラスで被つて37°Cで30分、1時間後に判定した。陽性の判定は次の基準に従つた。3~5個の虫体が凝塊しその他に単独原虫も多数認められる時を(+), 6~10個宛凝塊し他に尚少数の単独原虫の存在する時を(++)、10個宛以上の凝塊を示し他に単独原虫が極めて少数在るか又は存在しない時を(+++)とし、凝塊価は(+)を示す最高血清稀釈倍数で表わした。対照として採つた生食水において屢々2個、稀には3個の虫体の自然凝塊の見られる事もある。

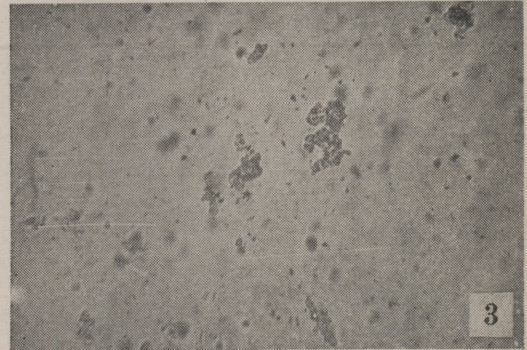
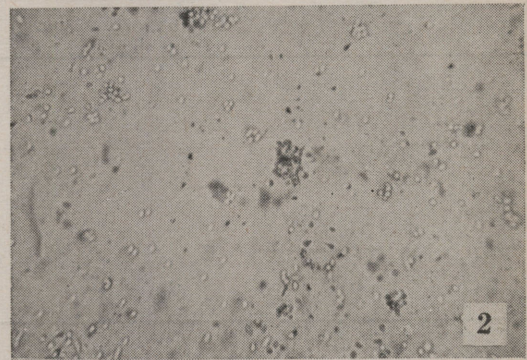
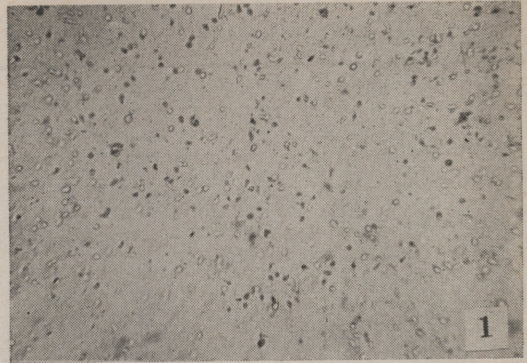
補体結合反応 (C.F.T と略)

溶血素、補体及び抗原の力価測定法はアメリカ陸軍軍医学学校法(細菌学実習提要、1952)に基いた伝研変法に準じた。本試験に際しては被検血清を2倍階段稀釈法で稀釈し各管に抗原4単位、補体2単位を加え温浴中に37°C1時間後、之に3%ヒツジ血球浮游液と溶血素3単位含有の溶血素血清稀釈液を等量に混和した感作血球液を加へ更に37°C30分置いて判定した。対照群としては血清対照、血球対照、補体対照、正常抗原対照、陽性血清並びに陰性血清対照をおいた。上記対照群に異常を認めない時に被検血清を入れた管の溶血の程度に従い、0(完全不溶血)、1、2、3、4(完全溶血)の記号をもつて記載し1以下を示す管の最高血清稀釈倍数をもつて抗体価とした。

補体結合反応に使用する抗原は次の如くにして作成した。

(1) 超音波処理抗原：充分に数回洗滌した生原虫を超音波管に入れ超音波(960 kc)で処理した。560W15分(完全に破壊)、380W5分(極く少数生残)、200W6分、187W4分(少数生残)、100W6分(全く破壊されず)の各方法で処理し各々マーズソンの1/10容量を加え水室24時間保存後40,000 r.p.m 15分超遠沈し上清を抗原とした。

(2) アルコール抽出抗原：洗滌生原虫に純アルコールを加へ1日数回振盪10日後同様に超遠沈し上清を抗原



附 図 説 明

- 1. 凝塊反応陰性(—)
- 2. " 陽性(++)
- 3. " 陽性(+++)

反応が強い時は血清が高濃度の試験管では不規則な原虫塊を形成する。

とした。

(3) 凍結融解抗原：洗滌生原虫を三角コルベン中に入れアセトン+ドライアイス(-30°C)及30°C温水中に反復10回投入し虫体を完全に破壊し以後前述と同様の方法で抗原とした。

第1表 超音波処理抗原；1100 V, 170 mA (187 W) 4分

	抗 原 稀 釈						対照	
	2	4	8	16	32	64		
抗血清稀釈	2	0	0	0	0	1	4	4
	4	0	0	0	0	2	4	4
	8	0	0	0	2	4	4	4
	16	2	3	1	4	4	4	4
	32	4	4	4	4	4	4	4
対 照	4	4	4	4	4	4	4	血球対照 0

第2表 アルコール抽出抗原

	抗 原 稀 釈						対照	
	2	4	8	16	32	64		
抗血清稀釈	2	0	0	0	0	4	4	4
	4	0	0	0	2	3	4	4
	8	0	0	1	2	4	4	4
	16	1	4	4	4	4	4	4
	32	4	4	4	4	4	4	4
対 照	4	4	4	4	4	4	4	0

第3表 凍結融解抗原

	抗 原 稀 釈						対照	
	2	4	8	16	32	64		
抗血清稀釈	2	0	0	0	0	1	4	4
	4	0	0	0	3	4	4	4
	8	0	0	0	4	4	4	4
	16	0	0	4	4	4	4	4
	32	1	4	4	4	4	4	4
対 照	4	4	4	4	4	4	4	0

第4表 自然融解抗原

	抗 原 稀 釈						対照	
	2	4	8	16	32	64		
抗血清稀釈	2	0	0	0	0	0	4	4
	4	0	0	0	0	2	4	4
	8	0	0	0	2	4	4	4
	16	4	4	4	4	4	4	4
	32	4	4	4	4	4	4	4
対 照	4	4	4	4	4	4	4	0

第5表 加熱処理抗原

	抗 原 稀 釈								対照	
	2	4	8	16	32	64	128	256		
抗血清稀釈	2	0	0	0	0	0	0	3	4	4
	4	0	0	0	0	0	1	3	4	4
	8	0	0	0	0	3	4	4	4	4
	16	0	0	0	1	4	4	4	4	4
	32	0	0	2	2	4	4	4	4	4
	64	0	0	4	4	4	4	4	4	4
	128	4	4	4	4	4	4	4	4	4
対 照	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0

(4) 自然融解抗原：洗滌生原虫を氷室(4℃)に10日間1日数回振盪し放置し以後同様の方法で抗原とした。

(5) 加熱処理抗原：洗滌生原虫を100℃重盪煎中で30分加熱し冷却後同様方法で抗原とした。

以上の抗原価測定には前記方法による同一家兔免疫血清を用いて力価を比較した。

又、抗原作成に際し従来大量の原虫を得る事が困難であつたが、次の方法により簡単に虫体の大量を培養し抗原調製に用い得た。即ち、容量300ccの滅菌三角コルベンに約330mlの浅見培地(人血清50mlを含む)を入れ虫体を継代すると48時間後に底部に雲絮状の大量の虫体が発育増殖する。

実験成績並びに結果

補体結合反応に用いた抗原は前記の如くにして調製した抗原について抗原性を比較せる結果、比較的に加熱処理抗原が優れていたのて爾後の実験には之を用いた。各種抗原の比較については第1～5表に示す。但し超音波処理抗原は最も抗原性の高い例のみ記載した。

A. 感染マウス血清を用いての凝塊反応及び補体結合反応に就て

マウス筋内に虫体を接種し感染を起させた際の病変所見は次の様である。接種後2週では5例共局所に腫脹が見られたが外部より波動は触れなかつた。3～4週に至ると全例膿瘍形成しその大きさは1.0×1.0に達するものもあり外部より波動を認める。5週には5例中1例の膿瘍は自潰し排膿、6～7週に全例が排膿した。岩井(1957)は筋肉接種により一部のものは自潰すること無く膿瘍は次第に縮小し吸収された例を報告しているが、本実験の接種虫体数は岩井の例よりも大量なので全例排

膿に至つたものであろう。又、彼は鏡検で活動性の虫体が膿瘍に見られると述べている。その後、次第に治癒の経過をたどり10週では腫張のみで硬結を伴つた。15~20週は外見上は硬結のある腫大を呈し内部は膿瘍の痕跡である厚い結締織層に覆われた乾酪様塊を残すのみであつた。

(1) 凝塊反応による接種マウスの抗体産生過程の観察

前項の術式により37°C30分及1時間後判定した。凝塊価は1時間値は30分値に比し1管低い場合が多かつたが、その後1時間半、2時間では殆んど差を認めなかつた。従つて第6表では1時間値を以つて示してある。接種後1週で既に被検例5匹中3匹は320×他の2匹は160×を示した。3週より漸次上昇して6週において最高値に達した。即ち5匹中4匹は10240×他の1匹は5120×を示し、10240×を示した中の1匹は30分値は20480×であつた。10週では1例は640×、他は夫々160×、320×を示し15週、20週に至ると1例の40×の他は80~160×を示した。この実験の対照例は6週に40×を示した1例の他は総て10~20×であつた。即ちマウス血清中にも自然凝塊素が存在することを示した。最高の凝塊価を示した6週では全例共接種部位の病変は甚だ著明であつた。

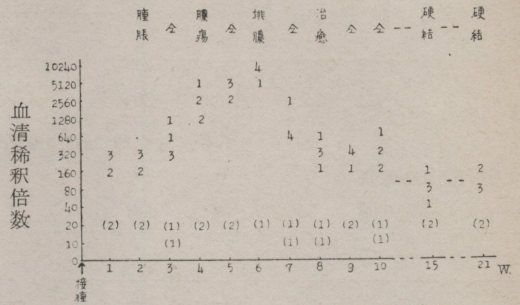
(2) 感染マウス血清での補体結合反応

前項の如き術式による C.F.T は何れも満足すべき結果は得られなかつた。即ち、1~10週に至る被検群50匹は対照例と同じく全例陰性であつた。15週では C.F.T を行わなかつたが、20週において5例中4例が僅かに最小稀積倍数の2×陽性を示したに過ぎない。その陰性の1例の凝塊価は80×で、接種部位は固い結締織層を形成するのみであつたが弱陽性例中3例は凝塊価は160×2例、80×1例で局所の結締織層の内部に乾酪様塊を含み他の1例は80×で局所の所見は無く開腹せるに肝臓は凹凸不平に腫大し大きな数個の膿瘍を形成していたが之は接種に際して誤つて腹腔にも注入したのかも知れない。

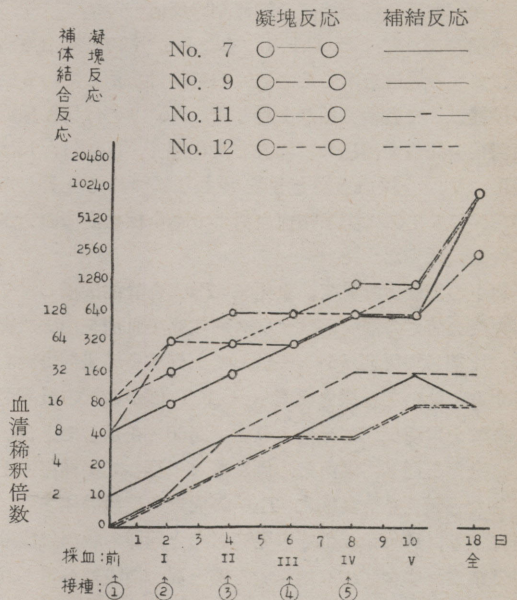
以上の実験よりマウスに *T.v.* を筋内接種する事により凝塊反応は早期から著明に発現し、凝塊反応に遅れて僅かではあるが C.F.T 値の上昇もある事が判つた。即ち、*T.v.* 筋内接種によりマウス血清中に多量の凝塊素と少量の C.F.T 抗体が産生される。

(B) 家兎免疫血清を用いての凝塊反応及び補体結合反応

第6表 *T. vaginalis* 接種マウスの凝塊反応による抗体産生過程の観察



註：数字は被検マウス匹数
()内数字は対照正常マウス匹数



第1図 家兎免疫血清による凝塊反応及び補体結合反応

前記の6回に及ぶ採血により得られた夫々の血清の凝塊及び補体結合反応値の推移は第1図に示してある。

(1) 凝塊反応による抗体産生過程の観察

被検例4例中の2例の前採血血清は40×、他の2例は80×を示し正常血清中の自然凝塊素の存在を現わした。第I接種後2日目、即ち第II接種直前の第I血清ではNo. 11, 12は凝塊価の著明の上昇を見たが以後は各例共漸次上昇し最終接種後2日目の第V血清では1280×~640×で全採血血清では3例 (No. 7, 11, 12) は10240×、No. 9は2560×であつた。各実験の際の正常血清対

第7表 感作赤血球溶血反応の術式

本 試 験	対 照 試 験							
	1		2		3		4	
被 検 血 清	10×2 ⁿ 0.1	10× " 0.5%正常血球	20× "	NaCl Sol. " 0.5%感作血球	NaCl Sol. " 0.5%正常血球	0.5%感作血球	10×2 ⁿ 陽性血清 " 感作血球	10×2 ⁿ 陰性血清 "
0.5%感作血球液	0.2	"	"	"	"	0.4	"	"
10 倍 補 体	0.05	"	"	"	"		"	"
	37°C				1 時 間			
判 定	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)

照は常に40~80×であつた。

(2) 家兎免疫血清での補体結合反応

前項の方法による C.F.T では No. 7の前採血血清では2×の陽性を示したが他は総て陰性を示した。5回の接種により各例共値が上昇した。No. 9では第IV採血血清後全採血血清迄32×陽性と変化無く、No. 11, 12は第IV, V, 全採血血清と回を重ねるにつれて上昇したが、No. 7のみは第V採血血清よりも全採血血清の方が陽性価は低くなつた。

以上の実験より見て、家兎に *T.v.* を静注接種し、その免疫血清での両反応はマウス筋注感染血清を用いた実験に比較し両反応が略々平行して上昇する結果を得た。No. 9において全採血血清の C.F.T 価が32×の最高であり乍ら凝塊反応では他より低い2560×を示したとはいえ、全例を通じて両反応の価は略々平行して接種毎に上昇したと云える。動物に *T.v.* の大量を反復静注することにより、Parasitemia を発症したと同様の状態に成り得る事がマウスでの筋内感染の際と異つた成績が得られた原因と考えられる。

II. 免疫家兎血清及び患者血清を用いての感作赤血球溶血反応

I. の実験結果の如くに大量の虫体を反復静注によつてのみ著明な C.F.T 抗体の発現を見るのでは、局所に寄生するのみの感染婦人血清で C.F.T が特異的に陽性に表われる事は先ず期待出来ないと思像されるので、より鋭敏な反応と云われる加熱処理抗原を用いての感作赤血球溶血反応を試みた。

実験材料並びに方法

6匹の家兎の5回の静注接種後10日目の全採血血清及び14例の腔トリコモナス症(以下腔ト症と略)婦人血

清に就て行つた。

感作赤血球溶血反応の術式

抗原としては加熱処理抗原を用い、抗原による感作と免疫血清及補体の自然溶血素吸収の為の赤血球としてヒツジ赤血球を用い、Mg 食塩水で洗滌使用した。抗原による血球の感作方法として次の如き方法を用いた。即ち、5倍稀釈の加熱処理抗原 2.0 ml に洗滌沈渣血球 0.1ml を加え37°Cの恒温槽中で2時間接触させて感作した後、生食水で5~6回充分に洗滌し20 ml の生食水に浮遊せしめて0.5%感作血球浮遊液とする。同時に0.5%正常血球浮遊液を作り対照とする。

免疫血清及びモルモットの補体は多少の自然溶血素を含有しているから之を除去する必要がある。被検血清を非働性とした後、その1.0 ml に同量の生食水と洗滌血球 0.2ml を加え、1時間室温放置後遠沈しその上清に更に0.2 ml の洗滌血球を加え上清のみ静かに攪拌、室温に30分放置の後再び遠沈し、その上清を吸収抗体とし試験に際しては2倍稀釈血清として使用する。補体は数匹のモルモットの血清を混合しその1.0ml に等量の生食水(共に予め0°C近くに冷却)と洗滌血球 0.2 ml を加え4°C10分後遠沈、その上清に更に血球 0.2 ml を加え4°C10分放置後再び遠沈して、その上清を吸収補体(2倍稀釈補体)として本試験に際して10倍稀釈補体として使用する。この補体は4°Cに保存し3~4時間以内に使用する必要がある。

術式及び採つた対照を表示すると第7表の如くである。即ち、小試験管に0.1ml の血清稀釈列(10×2ⁿ)を作り、0.2 ml の感作赤血球浮遊液を加え更に10倍稀釈補体0.05 ml を添加充分に混和し37°C 1時間恒温槽に置きその後判定した。判定方法は完全溶血を起した最高血清稀釈度を以て溶血価とした。対照としては血清対照

第 8 表 家兎免疫血清による凝塊反応, 補体結合反応, 感作赤血球溶血反応の比較

	凝塊反応	補体結合反応	感作赤血球溶血反応
家兎免疫血清			
No. 2	2560	(0) 8	160
" 3	5120	(0) 16	640
" 7	(80) 10240	(2) 16	640
" 9	(40) 2560	(0) 32	5120
" 11	(40) 10240	(0) 16	1280
" 12	(80) 10240	(0) 16	320
対照			
" 13	80	0	0
" 14	80	0	0

註: 免疫血清は最終接種後 10 日目の全採血清
数字は血清稀釈倍数, () 内数字は前採血清
清, 対照は正常家兎血清

として 0.5% 正常な血球浮游液を用い被検血清①と補体③の自然溶血素が完全に吸収されているかを見, 補体対照②として被検血清を加えず補体中の特異的抗体の有無を見, その他血球対照, 陽性及び陰性血清対照④を置く。

実験成績並びに結果

(A) 免疫家兎血清での感作赤血球溶血反応及びそれと凝塊, 補体結合反応との比較

陸ト症感染婦人血清に就いて同反応を実施する前に家兎の全採血清について三法を比較した。その結果は第 8 表に示す。

No. 2 血清は他の被検血清に比し接種虫体数は少数(毎回約 50~100 万)である。この表より観察すると溶血反応価は略々 C.F.T 価に平行する様であり, 凝塊反応価は他の二法とは平行せる価を示していない。前採血清では No. 7 のみが C.F.T で弱陽性を示したが, 溶血反応では被検群 6 例及び正常家兎血清 2 例の全例陰性であった。

以上の結果より感作赤血球溶血反応は三者の中, 最も信頼出来る免疫反応と思われる少くとも同一性質の抗原で行った C.F.T より優れた免疫反応であろう。

(B) 陸トリコモナス症婦人血清での感作赤血球溶血反応

溶血反応は第 9 表に示す如く陸帯下中の虫体が鏡検 ⊕ 9 例, 鏡検 ⊖ 培養 ⊕ 3 例, かつて鏡検 ⊕ であったが数回の治療で現在両法で ⊖ である 2 例及び 2 例の現在既往共に陰性例の計 16 例に就て実施した。対照として No. 9 の陽性家兎血清及び No. 13 の陰性家兎血清を用いた。その結果は被検例はすべて陰性であった。

第 9 表 陸トリコモナス感染婦人血清の感作赤血球溶血反応の結果

鏡 検	陽 性	9	} 14	全例陰性
培養 (鏡検 (-))	陽性	3		
治 療 中		2		
対照 (鏡検, 培養 (-))		2		

即ち, 動物実験感染に比較して人間での感染では局所的感染に終る為, 血中の抗体産生は乏しいものと思われる。従つて前述の如き他の免疫反応と同様に感作赤血球溶血反応の値も動物実験感染では意義を有するが血清診断学的には期待出来ない様である。

III. 感染帯下の凝塊反応

局所寄生性の原虫である *T.v.* による動物実験感染では, その血清中に免疫抗体の産生される事は前述の諸実験の如く明らかである。然らば感染局所の分泌物である感染婦人帯下中にも当然感染虫体による局所抗体が存在するであろう事は否定し得ない。そこで比較的簡単に実施し得る凝塊反応を以つて局所帯下中の凝塊素の有無を検索した。

実験材料並びに方法

被検帯下は某産婦人科外来を訪れた主として陸ト症の疑いある婦人, 若干の他の主訴を持つ婦人及び妊婦の計 47 例より採取した。

陸帯下は全例鏡検後陰性のものには浅見培地で無菌の培養検索をも併用して確認した。検索法としての培養法がより正確である事は既に知られている。

陸帯下の採取は次の如くにして行つた。即ち, 1.0ml の無菌生食水で陸内部を洗滌し出来る限り採取, その後 3000r.p.m 10 分遠沈後上清を原液として実験に供した。

被検帯下は原液より 2×2^m に倍数稀釈し血清の凝塊反応と同様の方法で凝塊原を添加 37°C 1 時間で判定した。陽性及び陰性対照としては免疫家兎血清及び正常家兎血清を用い, 同時に生食水浮游液も用いた。判定方法は前項の場合と全く同様である。併し実際問題として被検帯下は個々の場合において, 量的に又濃度の点で甚しい差があり, それに 1.0 ml の食塩水を加えて採取した「原液」なるものも, 濃度の点では決して一様ではあり得ない。判定に当つてはこの「原液」での成績で陽性か陰性かを決定した。併し多くの場合, 陽性のものは 8 倍乃至 16 倍まで陽性を示した。

実験成績並びに結果

第10表 脛トリコモナス感染婦人帯下の凝塊反応

虫体	鏡検	培養	凝塊反応		総計	陽性率
			(+)	(-)		
+	+	17	17	0	27	92.5%
	-	8	6	2		
	*-	2	2	0		
	(+)					
-	-	-	2	18	20	10.0%

* 鏡検陽性であつたが治療で陰性になつた例

被検帯下47例に就いての凝塊反応の結果は第10表に示す。

T.v. 陽性27例の内訳は、鏡検⊕17例、鏡検⊕培養⊕8例、及び虫体が認められた為治療中のもので現在は両法共に虫体は認められない2例である。この虫体陽性群では培養⊕8例中の2例に凝塊反応の陰性を認めたのみで25例は凝塊反応陽性、陽性率92.5%である。

鏡検培養共⊖は20例で、その中2例は凝塊反応陽性を示し陽性率は10.0%であつた。

即ち、凝塊反応陽性27例中 *T.v.* ⊕25例、⊖2例でありこの虫体陰性2例中の1例は既応歴の無い妊娠例で他は既応歴は不明であるが臨床的症状は脛ト症を疑わしめるのでその後反復培養し経過を観察した。この結果は後述する(治療実験第4例)。凝塊反応陰性20例では *T.v.* ⊕2例、⊖18例であつた。

被検帯下47例中既応歴の明らかなもの11例に就て観察するとその中10例は鏡検培養の何れかで虫体が検出され凝塊反応も陽性であつたが1例のみは培養で虫体は検出されたが凝塊反応は陰性であつた。又、妊娠例は12例あつたがその1例は鏡検培養共⊖で凝塊反応陽性であつたが、残りの11例は虫体は検出されず凝塊反応も陰性であつた。つまり妊娠がこの反応に特別の影響を与える事は無い様である。

次に凝塊反応陽性27例中の4例に就て治療による虫体と本反応の出現消失経過を観察した。治療方法はペニシリン及びトリコマイシン脛錠を用いた。4例中 No. 2 以外は脛ト症の既応歴をもち有している。

第1例：初診時鏡検⊕、凝塊反応⊕、治療後 *T.v.* ⊖になつたが凝塊反応は尚⊕で月経後培養により虫体を検出し反復せる治療で虫体は消失するが2カ月の中に度々培養によつてのみ虫体が検出された。この例では凝塊反応は常に陽性であつた。

第2例：数回の既応歴を有し初診時鏡検⊕、凝塊反応

⊕、治療後虫体⊖になつたが培養と凝塊反応を度々行つた所、虫体消失後3カ月目に再び培養のみ⊕となつた。その間常に凝塊反応は陽性であつた。

第3例：初診時臨床症状及び自覚所見は無く培養で虫体を検出した。その時凝塊反応も⊕である。治療後虫体は消失したが凝塊反応は陽性であり月経後再び培養のみ⊕、再び治療で消失した。その後1カ月間数回の培養でも虫体⊖で凝塊反応は次第に弱くなつて来たが反応が陰性になる前に観察は中止された。

第4例：初診時脛ト症の臨床症状を有したが *Candida albicans* ⊕で鏡検培養共に *T.v.* ⊖、凝塊反応も陰性であつたが1カ月後同様の主訴で再び来診虫体は検出されず凝塊反応⊕であつたのでその後2カ月に11回の観察をしたが常に虫体は陰性で凝塊反応は陽性であつた。これにより *Candida* 症によつて類属反応が起る事も考えられる。

考按並びに総括

マウスが *T.v.* に対して極めて感染性の高い事は、Schnitzer (1950)、岩井 (1957) 等の虫体接種実験で既に知られて居り、又、それに依り抗体の生ずる事は生活虫体を接種して発症防禦実験を行つた Kelly et al. (1954) の報告で明らかであるが、著者の行つた本実験においても筋感染マウス血清を用いた凝塊反応の結果は *T.v.* 接種により血清中に著明な凝塊素の生ずる事を示した。

Trichomonas 類の凝塊反応は1935年、登倉により始めて研究され、*T.f.* の家兎血清中で *T.f.* の生虫体は菊花状の集塊を形成することを観察している。其の後、中林 (1952) は *T.f.* 家兎免疫血清で詳細にこの現象を観察し *Trichomonas* の凝塊反応成立に関して最終的な知見を述べた。そして正常家兎血清中にも自然凝塊素が存在し、生食水中でも往々2個位の非特異的凝塊のある事を記した。

T.f. と同様に *T.v.* を以つてしても凝塊反応を生ぜしめる事は当然推察される事であり、*T.v.* 感染動物血清を用いた本実験においても亦、生虫体静注家兎血清においても *T.v.* 生虫体の凝塊反応成立を証明し得た。又、正常家兎及びマウス血清中に *T.v.* の自然凝塊素の存在する事がわかつた。

T.v. の C.F.T は Riedmüller (1932) により C.F.T 抗体の発生を認められて以来、種々の液性抗原を使用して登倉 (1935)、Trussell (1946)、石井等 (1955)、網野 (1956) 等により追試確認されたが血清診断学的に之を

用いた場合の成績は報告者により異論があつて実用化の域に達していない。

加熱処理抗原を用いての C.F.T の結果は生虫体を静脈内に注入した家兎免疫血清では第 1 図に示す如く著明な C.F.T 抗体の発現を見た。併し乍ら筋内接種せるマウスの血清では可成り遅い時期に始めて弱陽性を呈したに過ぎなかつた。即ち、この事実は実験動物に大量の虫体を反復静注すると Parasitemia を起したと同様になり血中に一時的に抗体が産生される為と推察され、この点に就き網野 (1956) も *T.v.* 免疫家兎血清で行つた各種の免疫反応の結果、実験的にも生じた抗体はその持続は一過性であり比較的速まかに減退すると記述している。以上の如く実験感染で大量の虫体を静脈内に注入した時のみ一過性の C.F.T 抗体を産性し、そして 16~32×と云う低い陽性価を示すのみであるならば、局所感染である脛トリコモナス症の患者血清に就ての加熱処理抗原を用いて C.F.T を行つても、その成果は多くは期待出来ない事は当然想像される。斯くして少くとも C.F.T に優る鋭敏な免疫反応が必要であらうと云う観点より加熱処理抗原を用いて感作赤血球溶血反応を試みた。

赤血球は種々の抗原性物質の吸着能力を有し、その抗原に対する抗体を含む血清との間に特異的な抗原抗体反応に基く赤血球凝集反応を起すが、Middlebrook (1950) は更に本反応系に補体を加える事により新しい形の溶血反応を行い、従来の溶血反応と區別して hemolytic modification of the hemagglutination test と呼んだ。彼はこの抗原の本態に就いて多糖体であらうと推定したが、その化学的本態は未だ必ずしも明確でない。この感作赤血球溶血反応に用いる抗原の性質について進藤 (1956) は必ずしも多糖体抗原だけがこの反応の因子抗原でなく唯それ等抗原物質の赤血球表面に吸着する難易が問題となると述べている。*T.v.* で始めて感作赤血球凝集反応を試みた McEntegart (1952) は Fuller (1938), Lancefield (1933) の行つた多糖体抽出法に基く抗原を用い感染婦人 84%, 未感染婦人 6%, 男子 6%, 男女小児 0% に陽性と云う良好の成績を報告している。真柄 (1959) に依れば石井も最近 Middlebrook-Dubos 血球凝集反応で良い結果を得たと云う。又、橋本 (1954) はレプトスピラ症で加熱処理抗原を用い感作赤血球溶血反応の成立を観察している。

T.v. の生物学的、生化学的性状より虫体は比較的多量の高糖類を含有している事は野村 (1957) の細胞化学による証明、或いは松元 (1955) の虫体成分の分体によ

つて明らかであり、後者は虫体の総糖は 10.5~12.4% に達すると云う。加熱処理抗原を調製する際、洗滌虫体を加熱し超遠沈せる時、熱影響により含有される蛋白成分の大部分は凝固し除外され、その上清中には多糖体性質のものが比較的多く残存するであらうと思われる。この抗原を用いて同一家兎免疫血清に就いて凝塊及補体結合反応と本法を比較した結果は、第 8 表に示す如く本法が前二法の免疫反応より信頼度の高い優れた方法である事を示した。併し乍ら感染婦人血清では陽性反応は全く現われず臨床血清診断学的にはその価値は甚だ否定的であつた。

T.v. は本来局所寄生性原虫である為、感染局所の寄生虫体数は実験感染に比し甚だ微量であり、それ故に血中の抗体産生が乏しいものと思われる。又、上述の感染婦人血清での成績の他に Lanceley (1953) は実験的に *T.v.* を尿道感染させた男子患者の血清中に抗体を見なかつたと述べている。然らば局所寄生性ならば当然寄生部位に何らかの形で抗体の存在する事も推測し得る問題である。近年森 (1956) もこの点に着目し感染婦人の帯下で沈降反応を試みたが 3 被検例共疑陽性に止まつた事を報告している。本実験中の感染帯下の凝塊反応の結果は、この推測を明らかに証明したものである。即ち、帯下中の *T.v.* 陽性の基準を単に鏡検のみおこなずに総て培養結果に基いて分類して感染帯下で 92.5%, 非感染帯下で 10.0% の陽性率を示した事は前記 McEntegart の成績に劣らぬ好成績と云えよう。

4 例の陽性者の継続観察で第 4 例は Candida 症により非特異的凝塊反応を示したものと思われるが、他の 3 例で *T.v.* ⊖ になつても凝塊反応陽性であり培養を反覆した所遂に虫体が検出された事実は興味がある。虫体消失治療の判定を鏡検に頼るのみでは不確実な場合が多い事は云われているが、この諸事実より脛ト症の治療には帯下の凝塊反応の陰性化と、帯下中の虫体消失の両者を以つて完全治療と決定する事がより確実であると思われる。

結 論

免疫家兎血清、筋接種マウス血清、感染婦人血清及び帯下について純培養 *T. vaginalis* の凝塊反応、補体結合反応、感作赤血球溶血反応を実施した。

1. *T.v.* 生虫体をマウスに筋内接種し、又、家兎に静脈内注入する事により、その血清中に著明の凝塊素を生ずる。正常マウス及び家兎血清中にも少量の自然凝塊

素が存在する。

2. *T.v.* 生虫体を大量反復静脈内注入する事により家兎血清中に補体結合抗体が一時的に産生されるが、マウス筋内接種では遅れて生じその抗体は微量である。

3. 加熱処理抗原を使用し *T.v.* で始めて行つた感作赤血球溶血反応は動物実験では凝塊反応、補体結合反応より信頼度が高い特異的な優れた免疫反応であるが、患者についての血清診断学的価値は無い。

4. 感染婦人帯下の凝塊反応は、感染帯下92.5%、非感染帯下10.0%の陽性率を示し、将来陸トリコモナス症の補助診断の一助として役立つであろう。

稿を終るに際し御懇篤なる御指導御校閲を戴いた松林久吉教授並びに浅見敬三助教授に厚く御礼を申し上げる。又、実験に種々御援助下さつた小池医学士、大浦医学士に感謝する。

本論文の一部要旨は第27回、28回日本寄生虫学会総会及び第38回慶応医学総会に発表した。

文 献

- 1) 網野栄作 (1956) : 陸トリコモナスの生物学的並びに免疫血清学的研究, 日産婦学会雑誌, 8, 1291-1300.
- 2) Asami K. (1952) : Bacteria-free cultivation of *Trichomonas vaginalis*. *Kitasato Arch. of Exp. Med.*, 25 (2), 149-159.
- 3) 伝染病研究所学友会編 (1952) : 細菌学実習提要, 丸善出版株式会社.
- 4) Fuller A. T. (1938) : The formamide method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic streptococci. *Brit. J. Exp. Path.* 19, 130-139.
- 5) 橋本喬 (1954) : レプトスピラ加熱抽出抗原感作赤血球の溶血反応について, 日本細菌学雑誌, 9(7), 517-520.
- 6) 石井次男・林公健 (1955) : 陸トリコモナスに関する研究, 第3編 陸トリコモナスの免疫学的性状, 信州医学雑誌, 4(2), 192-195.
- 7) 岩井澄雄 (1957) : 陸トリコモナスの小動物接種実験, 寄生虫学雑誌, 6(2), 136-144.
- 8) Kelly D. R. & Schnitzer R. J. (1952) : Experimental studies on Trichomoniasis. II. Immunity to reinfection in *T. vaginalis* infections of mice. *J. Immunol.* 69, 337-342.
- 9) Lancefield R. C. (1933) : A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.* 57, 571-595.
- 10) Lancely F. and McEntegart M. G. (1953) : *Trichomonas vaginalis* in the male, the experimental infection of a few volunteers. *Lancet* 264, 668-671.
- 11) 真柄正直, 網野栄作, 伊藤英雄 (1956) : 陸トリコモナスに就て, 産婦人科の実際, 5(8), 501-506.
- 12) 真柄正直 (1959) : 陸トリコモナスの臨床, 日本医事新報, 1817, 21-27.
- 13) Middlebrook G. (1950) : A hemolytic modification of the hemagglutination test for antibodies against tubercle bacillus

- antigens. *J. Clin. Invest.* 29 : 1480-1485.
- 14) 松元重達 (1955) : 陸トリコモナスに関する実験的並びに臨床的研究, 鹿児島大学医学部雑誌, 7(2), 124-164.
- 15) McEntegart M. G. (1952) : Application of a Haemagglutination technique to the study of *Trichomonas vaginalis* infections. *J. Clin. Pathol.* 5(3), 275-280.
- 16) 森英男 (1956) : トリコモナスの沈降反応に関する研究, 岐阜医科大学紀要, 4(5) : 338-341.
- 17) 中林敏夫 (1952) : トリコモナスの免疫学的研究, 特に *T. fetus* を用いての凝塊, 凝集両反応の比較分析について, 大阪大学医学雑誌, 4(5, 6), 341-348.
- 18) 野村弘 (1957) : 寄生原虫類の細胞化学的研究 (II), *Trichomonas* 類に於ける多糖類及び脂質の分布の形態学的研究並びに澱粉分解酵素の存在について, 慶応医学, 34(2), 75-88.
- 19) Schnitzer R. J., Kelly D. R. and Laiwant B. (1950) : Experimental studies on Trichomoniasis. I. The pathogenicity of Trichomonad species for mice. *J. Parasit.* 36, 343-349.
- 20) 進藤宙二 (1956) : 血清反応とその実際, 医学書院, 東京.
- 21) 登倉登 (1935) : *Trichomonas* の生物学的及免疫学的研究, 医学研究, 9, 817-908.
- 22) Trussell R. E., Wilson M. E., Longwell F. H. & Laughlin K. A. (1942) : Vaginal Trichomoniasis; Complement fixation, Puerperal morbidity and early infection of newborn infants. *Am. J. Obst. Gyn.* 44 : 292-295.
- 23) Trussell R. E. (1946) : Microagglutination tests with *T. vaginalis*. *J. Parasit.* 32, 563-569.
- 24) Trussell R. E. (1947) : *Trichomonas vaginalis* and Trichomoniasis. C. C. Thomas publisher, Springfield Ill.
- 25) 山県宏 (1953) : *Trichomonas* の研究, 医学研究, 23(7), 1341-1379.

Summary

Agglomeration test, complement fixation test and hemolytic modification of the hemagglutination test were tried with sera of mice and rabbits which were inoculated with *T. vaginalis*. In mice, trichomonads were inoculated into muscles where the organisms grow and produce abscess. Five mice were killed every week for 21 weeks and sera obtained from them were tested for the presence of antibody of those reactions stated above. In rabbits, trichomonads were inoculated intravenously 5 times with 2 days intervals. Blood was taken before every inoculation and also 10 days after the last inoculation.

Trichomonads used were growing in bacteria-free cystein-bouillon-serum medium. The inoculum contained 1.8 million trichomonads in the cases of mice and 2.0-3.5 million in the cases of rabbits.

In the agglomeration tests of mouse sera, the titre began to rise 1 week after the inoculation and attained the maximum level (1:10,240-1:20,480) 6 weeks after the inoculation to become almost normal at

about 20th week. The CF tests with same sera gave almost negative results, the titre attaining only 1:2 at the 20th week.

In the agglomeration tests of rabbits sera, the titre began to rise 2 weeks after the first inoculation and attained mostly 1:10,240 when the whole blood was drawn 10 days after the last inoculation. In the CF tests the titre became gradually higher by each inoculation and attained 1:32 in the last examination. Titres of agglomeration and CF test run almost parallel line in the rabbit sera.

The hemolytic modification of the hemagglutination test was also tried with the rabbit sera. This test gave much higher titre than CF test giving mostly 1:640 or 1:5,120 while CF titre were mostly 1:16 or 1:32, though both titres run parallel. As this hemolytic modification of hemagglutination test looked like prospective, it was carried out with 14 human sera obtained from cases of *Trichomonas vaginalis* infection. They, however, all gave negative results.

The agglomeration test with infected leucorrhoea was carried out. Among 27 trichomonas positive

cases 25 were positive, giving a titre varying from 1:6 to 1:32. Among 20 trichomonas negative cases, only 2 gave a positive result.

Four cases of *T. vaginalis* infection were treated with penicillin-carbarson or trichomycin and the agglomeration test was made repeatedly during the treatment. In two cases the trichomonads disappeared by the treatment, but they reappeared very often in cultures during 2-3 months of the subsequent investigation. The agglomeration reaction was always positive. In the third case the treatment seemed to be successful and the trichomonads were never found after the treatment, the agglomeration titre became gradually lower. The investigation, however, had to be discontinued before the titre would have become negative. In the fourth case, trichomonads had never been detected, though the agglomeration always gave positive results. This case had the candida infection which might have been the cause of the positive reaction. The agglomeration test with patient's sera looks prospective in determining the presence or eradication of the trichomonad infection.