

腔トリコモナスの研究

(2) 腹腔内感染マウス腹水による凝塊反応

新井 博大 浦 浩

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)

前の論文(1959)中で腔トリコモナス症(以下腔ト症と略)感染婦人帯下と、*Trichomonas vaginalis* (以下 *T.v.* と略)の純培養虫体との間に凝塊反応 Agglomeration が成立し、併もその陽性率は感染婦人の92.5%に達し将来腔ト症の補助診断法の一つとして、この反応は役立つかも知れない事を示唆した。この事実を動物実験で再検討する為の本実験を行った。

即ち、小動物(家兎、モルモット、ラッテ)の腔内に純培養 *T.v.* を感染せしめ、その帯下での凝塊反応を追試せんと試みたが、多くの研究者(Bland et al. 1932, Bonestell 1936, Trussell & McNutt 1941, 及び Trussell (1947)によれば Dock, Marconi, Bykhovsky et al. 等)の報告と同様に、これ等諸動物の腔内には *T.v.* の感染は成立しなかつた。

そこで既に Schnitzer et al. (1950), 岩井(1957)等により記述された如く腹腔接種で確実に感染し肝膿瘍の形成や腹水の貯溜の生ずるマウスを用い、その腹腔洗滌液を以つて凝塊反応を実施し感染と反応の経過を観察した。

実験材料及び方法

1. 小動物腔内接種実験：実施動物として2匹の成熟家兎(3000 g), 2匹のラッテ(150 g)及び3匹のモルモット(350 g)を使用した。接種前にそれ等の動物の腔粘液を前以つて鏡検した。即ち、腔中に白金耳の小環を深く挿入し1白金耳量の腔内容を採取し生食水で塗抹標本として *Trichomonas* 類の検索をした。これ等からは *Trichomonas* 類は発見されなかつた。

HIROSHI ARAI and HIROSHI OURA: Studies on *Trichomonas vaginalis* (2) Agglomeration test with peritoneal fluid of mice infected with *T. vaginalis* (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

接種虫体は浅見培地に400代以上継代保存せるB株で37°C48時間培養後洗滌する事無く遠沈し800万/mlの虫体をモルモット、ラッテでは0.1 ml, 家兎では0.2 ml宛ピペットで腔内深く注入、約10分間下半身を幾分高く静置して後飼育箱に戻した。その後毎日腔分泌物を2白金耳宛採取し、各々培養と鏡検に用いた。初回接種後16日目に再接種を行い同方法で再び観察した。その他、2匹の家兎、2匹のラッテ、5匹のモルモットに同操作の虫体を1白金耳量の *Strept. virid.* 及び *Staph. aureus* と共に接種し同様の方法で観察した。

2. *T.v.* 腹腔接種マウスの腹腔洗滌液の凝塊反応：20匹のマウス(15 g)の腹腔内に37°C48時間培養の洗滌虫体50万/mlの1.0 mlを腸管の損傷を避ける為に先端を多少鈍にした $\frac{1}{2}$ 針で注入した。始めは貯溜せる腹水を採取する目的であつたが、接種後5及び10日の試験穿刺で20例共腹水は認められなかつたので、接種後2週目より実験を終了した12週迄の間に10匹のマウスの各々より6回腹腔洗滌液を採取爾後の実験に供した。即ち、1.0 mlの無菌生食水を注射器で腹腔に注入し逆に引いて採取せる0.5~0.6 mlの洗滌液を遠沈し、沈渣はその都度培養し、上清を原液として $2 \times 2^{\square}$ に倍数稀釈し凝塊反応を行った。凝塊反応の方法は前報と同じである。同時に健康マウス2匹を同一方法で経過観察し対照とした。12週に至り生残せる9例の接種マウスを屠殺開腹し、肝膿瘍形成部分及び虫体の為と思われる腹腔内の他の病変部分を総て培養基中に無菌的に投入し、虫体の生存の有無を観察した。

実験成績並びに結果

1. 小動物腔内接種実験

モルモット、ラッテ、家兎共接種翌日の鏡検で極く少数の不活潑に動く虫体を発見した。併し乍ら腔分泌物の

第 1 表 *T.v.* 腹腔接種マウスの腹腔洗滌液の凝塊反応の経過並びに沈渣の培養、腹腔内病変及びその培養結果

	凝塊反応の経過						肝膿瘍 及び他 の病変	12週 での 培養	
	2	3	5	8	10	12週			
No.									
接 種 マ ウ ス	1	64	16	16	16	16	+	-	
	2	64	64	32	16	16	+	-	
	3	64*	64	64	32	64	△ 1個	+	
	4	16	16	16	16	8	8	- 2個	-
	5	32	16	16	16	16	16	- 数個	-
	6	32	死	亡
	7	16	16	16	16	8	8	+	-
	8	16	16	16	16	16	16	- 3個	-
	9	16	16	16	8	16	16	+	-
	10	16	16	8	8	16	16	+	-
対	1	8	8	8	4	8	16		
照	2	8	16	8	8	16	8		

註：表中の数字は腹腔洗滌液稀釈倍数を示す。
 *：○は、腹腔洗滌液遠沈渣培養で虫体検出例。
 △：No. 3 腹膜に接して乾酪様塊が1個
 No. 4 小腸壁に // 2個
 No. 5 胃後部に // 数個
 No. 8 小腸壁に接して // 3個

増加は認められなかった。ラッテ、家兎は第2日目に虫体は鏡検培養共に陰性であったが、モルモット腔内容のみは第2日、第3日には不動性の虫体を散見したが培養では増殖し得なかった。その後はすべて虫体は見られない。初回接種後16日目の再接種の結果も同様に感染は不成立に終った。

Staph. aureus, *Strep. virid.* を同時に接種せる実験では、モルモットにおいて接種後5日目迄少量の膿性分泌物を認め鏡検で多数の膿球が見られたが、虫体は第2日には不動性となりその後は陰性であった。家兎、ラッテは接種後2日目には腔分泌物も少量で膿球の存在以外に虫体も検出されなかった。大部分の動物の腔分泌物中の細菌は接種後1週後の細菌は接種後1週後の単染色鏡検で殆んど確認出来なかった。

2. 腹腔接種マウスの腹腔洗滌液の凝塊反応及び開腹所見

T.v. を腹腔接種後2, 3, 5, 8, 10及び12週の腹腔洗滌液で行った凝塊反応の経過、各沈渣の培養結果及び病変部の培養結果を第1表に示した。

即ち、凝塊反応の陽性価は64×が最高であった。多くは第2週或いは第3週において夫々のマウスでの最高価を示し爾後次第に低下するが最初から高い価を示さず、その儘12週迄それが続くものもあつた。第2週の洗滌液沈渣の培養の結果 No. 3, 8, 9のマウスでは虫体陽性となり、その中3, 9では夫々64×及び32×と云うそのマウスでの最高価を示した。又、第3週においても3, 9が虫体陽性で、この時期においても尚腹腔中に生虫体の存在した事を示した。第5週以後の沈渣の培養では虫体の増殖は何れにおいても見られなかった。第12週に至った時は No. 3が依然64×の値を示した事を除いて健康対照マウスのそれと殆んど差はない様であった。対照試験は正常マウスの腹腔洗滌液中にも4~6×に及ぶ自然凝塊素の含まれる事を示した。従つて最高16×の値を示す4例 (No. 4, 7, 8, 10) では厳密には抗体の産生を決定し得ぬかもしれないが、それ等においても全経過を見ると対照に比べて幾分高いレベルに在る。

第12週の観察後、生残せる9匹のマウスを屠殺開腹し腹腔内の病変に就て観察した。9匹中6匹の肝臓に明らかに肝膿瘍を認めたがその6匹中3匹は64×、1匹は32×、2匹は16×の最高の凝塊価を示しており膿瘍形成の認められなかった例には64×と云う高い値を示したものはない。この肝膿瘍は No. 3を除いては乾酪性粟粒大の塊として見られピンセットで触れると出血する事なく簡単に剥離しその跡は周縁の明らかな軽度の凹陷となつた。その乾酪様塊は押せばつぶれるが多少の硬さを有する程度である。No. 2, 7, 9では肝左主葉前面に各1個、No. 1, 10は肝右主葉前面に各1個存在した。No. 3の肝膿瘍は肝左右主葉前面に各々1個ありその所見は前述の5匹と全く異つた。即ち、大いさとは同じであるが扁平でピンセットで肝実質より容易に剥離し得ず無理に除去すると出血した。そして他の5例程硬くはない。No. 3は肝膿瘍の他に腹側腹膜に接して移動性の粟粒大長卵形の乾酪様塊があり之は押しても簡単につぶれず固い Kapsel を有したが内容は同様の乾酪性物質であつた。

No. 4, 5, 8の3例の肝臓には膿瘍及びそれ等の痕跡を思ひしめる病変は欠除したが、No. 4は小腸壁に附着して2個、No. 5は胃後部大網に附着した移動性である数個、そして No. 8は小腸壁に接して簡単に遊離し得る3個の夫々 No. 3の腹腔に見られたと同様の硬い乾酪様塊が存在した。以上の各例よりの肝及び腹腔内の病変部を全て無菌的操作のもとに取り出し、内容物を夫々浅

見培地で培養観察した結果、No. 3の肝膿瘍部分を投入した培地は2日目より虫体が増殖し鏡検で確認し得た。他は総て培養5日目に継代培養せよも陰性で虫体は検出されなかつた。

考按並びに総括

従来、*Trichomonas vaginalis*の動物接種実験は多く試みられ皮下、腹腔及び筋内接種に関しては成功の報告は多いが、腔内接種実験に関しては牛、豚、羊、山羊、猿、ラッテ、家兎、モルモット、wood rat、猫そしてマウス等に就て多くの研究者により試みられたにも拘らず僅かに猿において1936年 Vasquez Colet et al. (Trussell 1947による)、Kessel & Gafford (1940)、及び Trussell & McNutt (1941)等が感染に成功したにすぎず、他の接種動物は全て不成立に終つた。併し乍ら同じ *Trichomonas* 類である *T. foetus* では Trussell & McNutt (1941)が牛で、Kradolfer (1954)によれば MacDonald が1948年、Morgan et al. が1949年家兎で、そして Kradolfer (1954)はハムスターで成功している。この *T.v.* 感染不成功の原因としてラッテで試みた Bland et al. (1932)は *T.v.* が之等の動物の何れの腔にも自然に発生すると云う記録の無い事から不感染に終るのは当然であると云い、更にラッテ、モルモット、家兎で試みた Bonestell (1936)は下等動物の腔のグリコーゲンの欠除によるものであろうし、それに加えて人体腔 pH が酸性であるに反して動物のそれはアルカリ性であり、例えばラッテ 7.0、モルモット 7.2、家兎 8.0を示す事も原因の一つになると推論している。即ち、*T.v.* の増殖にグリコーゲンの占むる位置の大きい事は既知の事柄であり岩井 (1957)は小動物の広範な接種実験の結果 *T.v.* は臓器特異性を有すると考えられ、そして感染臓器のうち虫体の旺盛な増殖が見られる筋肉、肝臓が多量のグリコーゲンを有している事は、この原虫が増殖に多くの糖質を必要とする事に関係があると思われると推論している。

現在腔ト症の発症要因として腔内グリコーゲンの消長、虫体自体の起炎性、共在細菌の助長作用の三つを挙げる者もあるが(浅見1958)、第三の点、即ち、動物腔接種実験において細菌との混合接種を行つたと云う報告は無く僅かに神津 (1957)が雑胎を用いての生体内での両者の関係を観察しているのみである。久保田 (1954)は培養腔トリコモナスの増殖と腔内好気性菌の關係に就て観察し、*T.v.* の増殖を助長する18株の細菌を挙げて

いるが、その中で最も好適に働く *Strept. virid.*、*Staph. aureus* の二株を使用した結果は虫体単独接種と同様に失敗に終つた。

生活 *T.v.* をマウス腹腔内に接種して肝膿瘍を形成する事は Schnitzer et al. (1950)により報告され、既述せる如く岩井(1957)の詳細なる観察で衆知の事である。岩井は本実験に用いたと同様のB株100万/mlを1.0mlマウス腹腔に接種し6週後15例中8例に肝膿瘍形成を見、その7例に生虫体を確認したが腹水貯溜例は1例に過ぎなかつたと云う。本実験では接種後3週の時9匹中2匹の腹腔洗滌液に尚生活虫体を認めたが岩井の数字との相異は検出方法及接種虫体数によるものと思われる。そして12週後の開腹時には9匹中6匹に肝膿瘍を認めNo. 3以外の5例の肝膿瘍は外見上治癒機転にあることを示し、又、肝膿瘍形成の無い3例の乾酪様塊も厚い結締織に被胞され治癒機転を示していた。No. 3マウスでは肝膿瘍は肉眼的にも治癒して居らず、加えてその培養では虫体が旺盛に増殖しこの例においてのみ実験の最終の12週に尚凝塊反応の陽性価が依然として下降しなかつた。この例のみから考えると凝塊反応の陰転(この場合は対照と同じ陽性価になる事を云う)は即ち実験感染腔ト症の治癒を示すものの様に思われるが一方No. 8の如く明らかに腹水中に虫体が存在した時期においても特に高い価を示さぬ例もあり、又No. 7、10の如く肝膿瘍の形成はあり乍ら第2週においてすら既に値が低い(16×)のもあつた。この様な不一致な成績の得られた原因としては先ず第一に抗体含有物として腹腔洗滌液を用いた事が挙げられよう。浜田 (1953)、山泉 (1954)の云う如くマウス腹腔の *T.v.* 感染では腹水貯溜型と然らざる型があるから、腹水貯溜例においては当然高い値の抗体が腹水洗滌液中にも現われようが、腹水量の少い場合には稀積が高度となる故洗滌液中の抗体価は当然極めて低い筈である。一方前報において用いた腔洗滌液は必ず相当量の腔分泌物の在る腔腔よりの高濃度の帯下稀積液である故明白な成績と成つたものと思われる。

前の論文において臨床的腔ト症の治癒を決定する為の感染帯下の凝塊反応の意義に就て論じたが、本実験における動物実験の結果は部分的には前報告の結論を支持する事実もあつたが全体的に見て的確な免疫反応と感染との關係を示すものとは思われぬ成績が得られた。

結 論

前の論文で腔ト症感染婦人帯下を以て行つた凝塊反応

で92.5%の陽性率を示した事を報告したが、本実験において診断学上に占むる帯下の凝塊反応の価値に関して動物実験により裏付ける事を試みた。

1) 実験動物の腔に *Trichomonas vaginalis* を感染せしめ、その帯下に就て凝塊反応を試み様としたが、モルモット、ラッテ、家兎では虫体単独或いは *Staph. aureus*, *Strept. virid.* を同時に接種しても腔内感染は成立せず接種後2~3日で虫体は消失した。

2) マウス腹腔に *T.v.* を接種しその腹腔洗滌の凝塊反応の経過を観察した結果では、12週後にも腹腔から生虫体の証明された1例においてのみ凝塊反応の陽性価は全経過を通じて高い価を示した。その他の12週後において虫体は消失し膿瘍も治癒していた例の多くでは接種2~3週後に一時的に凝塊価は上昇したが、直ちに低下して対照と同程度の価を示した。併し乍ら感染や肝膿瘍の形成があり乍ら低い値を続けた例も見られた。

3) 以上の動物実験結果は前報の感染婦人帯下の凝塊反応の成績程明白に感染と凝塊反応との関係を示すものではなかつた。

稿を終るに当り種々御懇篤なる御指導、御校閲を戴いた松林久吉教授並びに浅見敬三助教授に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 新井博(1959): 腔トリコモナスの研究, I- 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, 第28回日本寄生虫学会総会発表.
- 2) 浅見敬三(1958): 腔トリコモナスの生理とその発症機転への結びつき, 寄生虫学雑誌, 7(3), 310.
- 3) Bland P. B., Goldstein L., Wenrich D. H. and Weiner E. (1932): Studies on the biology of *Trichomonas vaginalis*. Am. J. Hyg., 16: 492-512.
- 4) Bonestell A. E. (1936): Inoculation experiments with *Trichomonas hominis*, *T. buccalis* and *T. vaginalis*. J. parasit., 22: 511-512.
- 5) 浜田義雄(1953): *Trichomonas vaginalis* の生物学的研究(第3報), 実験動物接種試験(1), 阪大医学誌, 5, 511-521.
- 6) 岩井澄雄(1957): 腔トリコモナスの小動物接種実験, 寄生虫学雑誌, 6(2), 136-144.
- 7) Kessel J. F. and Gafford J. A. (1940): Observations on the pathology of *Trichomonas vaginitis* and on vaginal implants with *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas intestinalis*. Am. J. Obst. Gyne. 39: 1005-1014.
- 8) 神津鉄兵(1957): 無菌的腔トリコモナスの孵化鶏卵内接種実験, III. 細菌の同時接種による影響, 寄生虫学雑誌, 6(1), 25-29.

—9) Kradolfer F. (1954): Experimental vaginal infection of Hamsters with *Trichomonas foetus*. Exp. Parasit., 3(1), 1-8.

—10) 久保田一彦(1954): 培養腔トリコモナスの増殖と腔内好気性菌の關係について, 産婦人科の世界, 6(8), 780-786.

—11) Schnitzer R. J., Kelly D. R. and Leiwant B. (1950): Experimental studies on trichomoniasis; I. The pathogenicity of trichomonad species for mice. J. parasit. 36, 343-349.

—12) Trussell R. E. and McNutt S. H. (1941): Animal inoculations with pure cultures of *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas foetus*. J. Infect. Dis. 69, 18-28.

—13) Trussell R. E. (1947): *Trichomonas vaginalis* and Trichomoniasis. C.C. Thomas publisher, Springfield, Ill.

Summary

In the previous paper, one of the authors (H. A) reported on the agglomeration test of vaginal discharge infected with *T. vaginalis*. This test was prospective in determining the trichomonad infection. In the present experiments an attempt was made to demonstrate the reliability of the test by experimentally infected animals. At first, much effort was made to infect the organisms in vaginae of rabbits, guinea pigs and rats, all resulting in failure.

Then, the test was carried out with the peritoneal fluid of mice which were intaperitoneally inoculated with the trichomads. The fluid was drawn 6 times (2, 3, 8, 10 and 11 weeks) after the inoculation and tested for the agglomeration. In most cases, the titre became highest 2-3 weeks after the inoculation and dropped gradually to become almost the same level as in control animals about 12 weeks after the inoculation.

Autopsy was carried out after 12 weeks when the titre became almost normal. Mice which had shown high titre had generally a marked pathology in the peritoneal cavity due to trichomonas infection. Trichomonas, however, were not detected by the autopsy except one mouse which showed high titre (1:64) continuously throughout the investigation period. On the other hand, some mice showed only a low titre at the period when the trichomonads were actively growing. This agglomeration test with peritoneal fluid of mice supports in part the results of the test carried out with human vaginal discharge, but the titre and the degree of infection did not always coincide with each other.