

マウスの *Encephalitozoon* 自然感染について

小池 保 京 吉美 飯野 洸朗

慶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9月12日受領)

Encephalitozoon の自然感染についての報告は、始めて Wright & Craighead (1922) が幼弱家兎の自然麻疹性疾患の病原体として発表して以来、野兎については、多くの同様の報告がある。又 Levaditi (1924), Cowdry & Nicholson (1924) はマウスにおける *Encephalitozoon* の自然感染を報告しているし、Perrin (1943) は、マウス、ラッテ、モルモットでの感染態度について報告した。さらに田崎 (1955) は、スズメから虫体を分離している。以上の中で Perrin らは、中枢神経系統の組織標本を作製し、その中に虫体を認めているが、*Encephalitozoon* の自然感染を認めたと報告されたものの中、動物の臓器をエムルジオンとして他の小動物特にマウスの腹腔内に継代を重ねて、その継代動物より分離した報告が相当数ある。この様な場合、継代に用いたマウスにおける自然感染の有無が非常に重大な意義をもつて来ると考えられる。即ち、継代に用いられた小動物に元々感染していた *Encephalitozoon* が被検動物中に存在していたものと重なって同時に出現して来ると、最初の目的動物での感染の有無は判定が全く不可能となることもありうるからである。Perrin (1943) によると、種々の動物の中枢神経系の切片標本検査において、マウスでは 502 例中 5 例より虫体を発見している。しかし、我々の実験によると中枢神経系以外にも種々の臓器、血液、腹水等に相当濃厚に虫体の出現が認められること (飯野, 1959)、及び組織標本内の *Encephalitozoon* 虫体を発見する事が非常に困難な処から (京, 1957)、Perrin の云う中枢神経系のみ切片標本検査では、検出率において必ずしも正確ではないと考える。一方この様にマウスでの自然感染という根本問題が明かにされていないにも拘らず、マウスは *Encephalitozoon* に対する感受性も強く、多くの点から実験に用いるに便利であるので、本原虫を取扱う実験には多くマウスが用いられている。そこでこのマウスにおける *Encephalitozoon* の自然感染率及び自然感染の際の腹水中への虫体出現頻度がある程度正確に把握する目的

で下の如き小実験を試みた。

材料及び方法

感染、非感染の不明なマウスの臓器を新マウスの腹腔に接種し、継代による腹腔中の虫体出現を以つてそのグループでの自然感染を推定する方法と、無作意に取り出したマウスの腹腔穿刺によつて得た腹水中から直接虫体を証明して感染度を知る方法による二通りの実験を行った。著者の前報 (1959, 日新医学印刷中) によつて感染マウスの臓器乳剤を腹腔内に接種すればそのマウス腹水中に一定期間後に相当数の虫体が出現して来ること及び感染後或る期間が経過し腹水中から虫体の消失したマウスに感染マウスの肝脾乳剤を接種しても腹水中に再び多数の虫体が出現する事はないという事実が判つているので継代によつて多数の虫体が現れれば元のマウスに自然感染のあつた事が略々確実に云い得ると思われる。

用いたマウスは全て東京附近の動物商人より購入したものである。一部に DD 系マウスを用いた以外は特にマウス系統の撰択はしなかつた。

腹腔内に接種継代する場合には、初代ではマウスを殺した後無菌的に肝、脾を 1 群としたものと、腎、脳との 3 材料を取り出し、夫々別々にホモチナイザーにて 10 倍の生理的食塩水を加えてエムルジオンとし、その 0.5 cc 宛を別々のマウス腹腔内に注入した。爾後の継代では、マウスの肝脾のみを取り出して作ったエムルジオンを同様に腹腔内に注入した。初代から第 4 代までの継代を行ったが、3 代以前において虫体の検出されたものはその後の継代は行はなかつた。継代および腹水採取の期間は、著者の前報 (京, 1959) によつて好適と判明している種接後 2 ~ 3 週を撰んだ。継代接種の方法を第 1 図に示した。また、初代マウスの肝脾のみを次代マウスに接種し、そのマウスでの虫体出現を検べた実験も行つている。

腹水中の虫体の証明は、次の如くにして行つた。滅菌硝子毛細管を消毒したマウス腹面皮膚を通じて腹腔え刺

し入れ、管内に流入して来た液をスライド上に置き、カバーガラスで覆つて油浸装置で鏡検した。この生鮮標本での検出が染色法に勝ることは、前報(京, 1959)で判明している。

成績

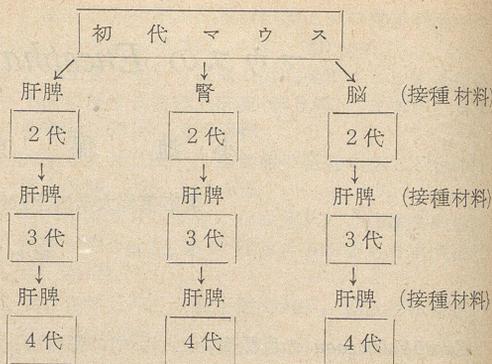
先ず直接腹水を採取してそこから虫体を証明し自然感染率——正確に云うと自然感染の際の虫体の腹水内出現率——を確かめようと試みた。用いたマウスはDD系でその40匹中の2匹において腹水細胞中に虫体を検出し得た。これによつてこのマウス群では、少くともこの率以上に自然感染があり、また自然感染の経過中に虫体が腹水中に出現することもあることが確実となつた。

次で53匹の雑系マウスにつき、腹水採取によつて虫体の出現していないことを確かめ、その20匹の肝脾を1匹宛別々に磨碎して夫々次代の20匹のマウスに接種し、2代目における腹水中虫体出現率を検した。その結果20匹中3匹において虫体が証明された。

第3の実験として、4代までの継代接種による腹水中虫体出現を観察した。すなわち同一グループのマウスから無作為に取り出した20匹を前記の方法で2代から4代まで接種し、夫々の代で腹水を採取して虫体の出現を観察した。ただし、第2代は全て盲目的に第3代に移した。その結果を第1表に示す。

第1表 マウス臓器接種継代によるエンセファリトゾーン出現状況

初代マウス No.	第2代マウス			第3代マウス			第4代マウス		
	脳	肝脾	腎	脳	肝脾	腎	脳	肝脾	腎
1	—	—	—	死	死	—	/	/	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	—	死	—	—	/	—	—	/	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	+	—	—	/	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	+	+	+	/	/	/
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	死	—	—	/	+	+	/	/	/
12	—	—	—	+	—	—	/	—	—
13	—	—	—	+	—	—	/	—	—
14	—	—	死	—	死	/	+	/	/
15	—	—	—	—	—	—	—	+	死
16	—	死	—	+	/	+	/	/	/
17	—	死	—	—	/	—	—	/	—
18	—	—	—	—	+	—	—	/	—
19	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	死	+	+	/	/	/



第1図 虫体検出のための接種継代様式

すなわち、第3代において肝脾、腎、脳の何れかの接種で虫体の現われたものは8系統であり、第4代において更に2系統が追加された。つまり20系統中10系統において虫体が証明された。

虫体の証明されたマウス系統で被接種臓器によつて分類してみると、脳接種からは6系統、肝脾接種からは5系統、腎接種からは4系統であり、脳肝脾腎の何れからも見られたものは1系統、肝脾腎からは2系統であり、脳のみからは4系統、肝のみからは2系統、腎のみからは1系統も無かつた。しかしこれは継代途中で死亡して継代不能となつた例も混ざるため厳密に正確な相を示すものとは云えぬ。

考 按

エンセファリトゾーンが市販の実験用マウスにも自然感染しているであろうことは、Perrin (1943) の報告によつても明かであるがその正確な感染率は殆んど分つていない。そのためにマウスを用いて行つた本原虫に関する実験は全て基礎が不確実となり、実験結果の判読が不可能となることさえありうる。

本実験で相当程度の自然感染が存在することは確実となつたが、その感染率を表すことは一概に容易ではない。DD系マウスでは40匹中2匹に腹水から虫体が検出されたのであるから、この群では5%以上の感染があることは確かである。京(1959)の接種実験によると腹水中に虫体の現れるのはむしろ感染の初期であり、一定時期を過ぎると腹水からの虫体の証明は困難となることが判つている。それに従つてDD系の場合には、感染の初期のものが5%という意味となり、慢性感染マウスの数は更にこれを高く上廻るであろう。

臓器接種によつて腹水中から虫体が証明され、元の臓器中に虫体が入つたか否かを云々する場合には、接種さ

れた新マウスの既往感染の有無および感染している場合にはその時期が問題となるであろう。接種されたマウスに感染がなかつた場合、感染臓器を接種されると、腹水中に数日中に増殖した虫体がみられることは、くりかえして行われた飯野(1959)、京(1959)、田崎(1956)の実験から明かである。また慢性感染となつて腹水中に虫体の見られぬ時期に接種された場合、感染臓器を接種されても、未感染マウスでの場合のように著明に虫体が増殖することは無いし、また非感染臓器を接種されたために刺激されて他部位に潜在していた虫体が再び腹水に現れて来ることもない(京, 1959)。接種されたマウスが感染の初期で、腹水中に虫体のある場合は接種材料に拘りなく虫体が見られるのは当然である。従つて接種によつて虫体が多く見られる場合は、接種された新マウスが未感染であつたか、または感染初期であつた場合に限ると思われる。この様なことは日常の継代時に感染の判つた同一材料を接種しても、マウスによつて著しく増殖に差があり、時としては殆んど完全に虫体増殖の起らぬものがあることから充分に考えてよいことである。

腹水採取によつて予め腹水中には虫体の存在せぬことを確めたマウスのみを用いて、その肝脾を次代のマウスに接種した実験で、20匹中3匹に虫体が認められたことは、初代の20匹中に少くとも3匹の慢性感染マウスが居たことを示すものであるが、なおこの他にも何匹かの慢性感染マウスがいたが、接種された2代目も慢性感染をしていたために虫体の腹水出現が無かつた為にそれは覆いかくされてしまつたのであつたであろうということも推察される。すなわち少くとも15%以上は感染していることになる。

4代継代で感染状況を検べた実験は、途中の死亡マウスが多いこと等実験上の失敗によつて正確な数字を求めることは出来ないが、腹水中の虫体出現を総て接種によつて生じたと考え、感染初期で元々腹水中にいたものを無視するとすれば、4代までの継代で20系統中10系統に虫体が認められたことは、4代までに検出された10系統が総初代の感染のみに基因するものと単純に見れば50%の自然感染があつたこととなる。併し乍ら、この数字が正しくないことは当然であつて、その内の幾つかは2~4代マウスの感染の混入によることは確かである。また各代に用いたマウス中の自然感染率(a)を総て同一と考え、継代によつて自然感染マウス同志が重なつたことが無いと仮定すれば、各代で等差級数的に感染率が増し、4代目の感染率は4aとなるから元の自然感染率は12.5%

ということになる。併し乍ら実際には感染マウス同志が重なつて腹水中に虫体の現れないものがあるであろうから真の自然感染は此の数字より当然高くなる筈である。

以上の成績から大雑把にマウスでの *Encephalitozoon* の自然感染を求めて見ると、少くとも10数%には存在する筈であるが、50%をこえる様な高率ではないと考えて良いであろう。Perrin(1943)の云うマウスで約1%という数字は脳切片標本からの検出であるから当然著しく低いであろう。著者等の実験(京, 1957)で臓器からは虫体を顕微鏡的に証明することは極めて困難で、むしろ殆んど不可能とさえ思われるからである。斯様に実験用マウスに相当数の *Encephalitozoon* 自然感染があり、その大部分が慢性経過であることは、臓器別に継代を行つた実験で脳を接種したマウスから虫体の検出が高いことから充分考えられる。飯野(1959)の実験によれば *Encephalitozoon* の虫体は、感染後時日の経過とともに臓器に固定し、7カ月以後になるとそれが脳のみ限定されるからである。

むすび

実験用マウスにおける *Encephalitozoon* の自然感染の頻度を知る目的で2, 3の小実験を試みた。無処置DD系マウスでは腹水採取によつて40匹中2匹から虫体が証明された。雑系マウスでマウス臓器乳剤の腹腔内接種を続けて検討した所では、少くとも10数%以上には自然感染が慢性の形で存在しているであろうことが推定された。

擧筆するに当り、ご指導ご校閲を賜つた松林久吉教授 浅見敬三助教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) Cowdry, E. V. & Nicholson, F. M. (1924): The coexistence of protozoan like parasites and meningoencephalitis in mice. *J. Exp. Med.*, 40, 51-62.
- 2) 飯野光朗(1959): *Encephalitozoon* に関する研究 II. *Encephalitozoon* 感染マウス体内における虫体の出現状況について, 慶応医学, 36, 502-506.
- 3) 京吉美(1957): *Encephalitozoon* の細胞化学的検査, 日新医学, 44, 480-486.
- 4) 京吉美(1956): *Encephalitozoon* 感染特にマウスでの Parasitaemia についての知見, 日新医学, 45, 500-504.
- 5) 京吉美: *Encephalitozoon* のマウス腹腔内における増殖状況, 日新医学, 印刷中.
- 6) Perrin, T. L. (1943): Spontaneous and experimental *Encephalitozoon* infection in laboratory

animals. Arch. Path., 36, 559-567.

- 7) 田崎光 (1956) : アカネズミおよびスズメよりの
Toxoplasma 検索, 慶応医学, 33, 275-279.

- 8) Wright, J. H. & Craighead, E. M. (1922) :
Infectious motor paralysis in young rabbits. J.
Exp. Med., 36, 135-140.

ON THE SPONTANEOUS INFECTIONS OF ENCEPHALITOOZON IN MICE

TAMOTSU KOIKE, YOSHIMI KYO & HIROAKI IINO

(*Department of Parasitology, School of Medicine Keio University, Tokyo, Japan*)

Mice are quite susceptible to the *Encephalitozoon* infection and are used very often for the experimental study of this parasite. The spontaneous infections in mice, however, have not been investigated in detail in this country. An experimental study was made to elucidate how often mice may be spontaneously infected with this parasite.

The experiments were carried out by direct examination of peritoneal fluid of mice and also the inoculation of their organ-emulsion into mice, peritoneal fluid of which were negative for parasites by direct smear. By the direct examinations of smears of peritoneal fluid of mice taken at random 2 were found infected among 40 mice examined. Organ emulsion of 20 mice were inoculated separately into mice and 3 were found infected in the first passage mice: that is to say, at least 3 out of 20 mice were spontaneously infected. Another series of experiment was carried out by inoculation of organ emulsion of 20 mice through 4 generations. In the third passage, 8 were found infected and in the fourth passage, 2 more mice were found infected. Thus altogether 10 out of 20 mice appeared to be spontaneously infected. Some of the second or third passage mice, however, might have been spontaneously infected. So the incidences of the spontaneous infection of the original 20 mice may not be so high. Accurate figures of spontaneous infection could not be given from these experiments. What can be said is that mice are very often spontaneously infected with *Encephalitozoon*.