

Trichomonas vaginalis によるマウス腹腔内感染実験 4FM 株原虫による致死感染および原虫の マウス継代による維持

中林 敏夫 西村 猛 分野 寛治
北村 孝雄 隅本 修

大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部 (猪木正三教授)

(昭和37年3月10日受領)

はじめに

Trichomonas vaginalis (以下 T.v.) の動物感染実験は、この原虫の病原性や感染の発生机転を探るため、また抗トリコモナス剤の生体内検定などの応用に資するためにも、きわめて重要な研究である。したがって、これまでも、T.v. の動物感染実験については多くの報告に接することができた。これらの研究は、各種実験動物の腔内に接種する方法や、腹腔内、皮下、筋肉内などの元来の人体寄生部位である腔あるいは尿路以外の部位に接種し、全身のあるいは局所的な感染の有無や原虫増殖のいかんを検討したものである。

その主な報告は、Schnitzer (1950)、浜田 (1953, 1954, 1956)、Inoki & Hamada (1953)、山根 (1954)、岩井 (1957)、Combescot *et al.* (1957)、Cavier *et al.* (1960)、織田 (1960)、Newton *et al.* (1960)、Reardon *et al.* (1961)、Honigberg *et al.* (1960, 1961)、星合 (1961) などの成績といえよう。

これらの中で、注目すべき報告の1つとして、浜田によるマウス腹腔内感染の成績をあげることができる。それによると、nitrogen mustard、雛血球などによつて処理したマウスの腹腔内で、接種した原虫が増殖し、しかも腹水接種によつてマウス継代ができるという興味ある成績であつた。しかしながら、この感染原虫は、培養によつて維持した T.v. とは生物学的性状が大いに異なり、形態的、免疫学的その他の性状が、牛生殖器トリコモナスである *T. foetus* と全く同様なものであつた。この培養原虫とマウス腹腔内の感染原虫とが全く異なつた生物学的性状を示す点についての解析はほとんど進められなかつたようである。

その後の報告では、浜田の成績を追試確認したものは

なく、また T.v. の培養株を実験動物の腹腔内に接種して、致死感染をきたし、しかも腹水接種によつてマウスで継代維持できるような感染をえたとの報告には接しないものようである。

著者らは T.v. のマウス感染実験において、浜田の実験と同様な方法で腹腔内感染を検討しつつある間に、1つの新しい方法として、Ehrlich 癌細胞と原虫の両者をマウス腹腔内に接種した。この実験で、著者らの保有する1培養株(4F株)が、マウス腹腔内で活潑に増殖し、かつマウスに累代接種を行へることを見出した。またこの感染株はマウス継代を続けると、もはや Ehrlich 癌細胞の共存なくして感染をおこした。

この感染原虫は形態的、免疫学的に全く元の培養株と同様で、*T. foetus* とは明確に相異なるものであつた。故に著者らは、この4F株によるマウス腹腔内感染の成立は、これまでの報告には見られない新しい知見と考えこの感染株および感染マウスについて研究を進めた。

その感染実験および感染原虫についての各種研究成績の詳細に関しては、いづれ稿を改めて報告することとしここにはその概要を述べることにする。

実験材料と方法

実験材料

当初、実験にはその成績を比較するために、10数株の原虫を用いたが、それらの中で初期の目的通りのマウス腹腔内感染をきたしたのは、4F株ただ1株であつた。したがって、本実験成績はすべて4F株によるものである。

培養は V-bouillon を用い、37°C、48時間毎に継代した(参考論文参照)。

マウスは阪大純系動物飼育場から供給をうけた ddO

系マウスで、体重 20~30 g の比較的大きいものを使用した。

Ehrlich 癌細胞(以下 E 細胞)は、マウス腹腔内接種により継代し保存したもので、必要に応じて腹腔液を採取した。

実験方法

1. 原虫および E 細胞のマウス腹腔内接種

大量培養の 48 時間培養原虫を遠心沈澱 (3,000 r.p.m. 5 分間) し、沈渣原虫部を生理的食塩水で適度に稀釈、hemocytometer で原虫数を数え、さらに必要濃度の浮游液とするために稀釈した。腹腔内への接種原虫数は実験により異なつたが、およそ $1 \sim 5 \times 10^7$ の間で、0.1~0.5 ml の浮游液であつた。

E 細胞は E 細胞感染マウス腹腔液を注射器で採取し、それをマウス腹腔液内に注射した。腹腔液は予め hemocytometer で E 細胞数を数え、必要量を接種するようにした。接種 E 細胞数はおよそ $1 \sim 2 \times 10^7$ で、0.1~0.3 ml の量であつた。

2. 感染マウスの腹腔内原虫の採取

腹腔内原虫の存在、生死、あるいは増殖の有無を知るために、少量の腹腔液を採取し検鏡した。これには約 0.1 ml の生理的食塩水を予め注射器に吸引し、腹腔内に針を刺入後、食塩水を抽出し、軽く洗滌するように注射筒内圧を加減しつつ、腹腔液を吸引し、その 1 滴を検鏡した。また必要に応じて塗抹標本とした。

原虫の移殖継代には、普通 0.3 ml またはそれ以上の食塩水(時には V-bouillon を用いた)を用いて、腹腔液をできるだけ多量採取し接種材料とした。マウスへの継代接種量は約 0.3 ml で、 3×10^7 以上の原虫を含むものであつた。

3. 腹腔液中の原虫の塗抹ギムザ染色標本

従来、本原虫はメタノール固定、ギムザ染色で良好な染色標本がえられないというのが通説であつた。しかし最近 Bauer (1959) は、11~15 時間染色で良好な標本をうることを報告している。われわれも染色時間および温度を変えて検討した結果、45°C、2 時間染色で満足すべき染色標本がえられたので、本実験での染色標本はすべてこの方法によつた。この場合、染色液の蒸発が著しいので、大量の染色液中に標本を浸漬して染色した。

その他の実験方法は、各実験成績の項で述べることにする。

実験成績

1. E 細胞接種マウスに対する原虫の腹腔内接種

a. E 細胞と原虫との同時接種

この場合、両者の接種は E 細胞か原虫のいずれか一方を注射し、ひきつづいて他方を注射した。接種後、毎日あるいは適当な間隔でマウス腹腔液を採取し、生存原虫の有無、多少、運動性などを生鮮標本または塗抹標本で検鏡した。腹腔液中に原虫の増殖をきたした場合、すなわち感染が進行した場合、原虫接種の数日後(多くは 3 日または 4 日後)に腹腔液を次代マウスに移殖し、同様な観察をつづけて、継代の可否を検討した。

2 代以後のマウスは、健常マウスのみならず、初代同様の E 細胞接種マウスをも適宜使用した。初代マウスの感染および継代成績を第 1 表に示した。

第 1 表 培養 T.v. 株 (4F 株) によるマウス腹腔内感染及びマウス継代に関する実験成績

マウス No.	初代感染			継代代数			
	E 接種	接種原虫数	感染	2	3	4	5
1	○	5×10^6	—				
2	○	10×10^6	—				
3	○	15×10^6	+	+	+	+	+
4	○	20×10^6	+	+	+	+	+
5	○	30×10^6	+				
6	×	5×10^6	—				
7	×	10×10^6	—				
8	×	15×10^6	—				
9	×	20×10^6	+	±	±	—	
10	×	30×10^6	+	+	±	±	—
11	○	5.8×10^6	—				
12	○	17.4×10^6	+	E*+	+	+	+
13	○	29×10^6	+	E*+	+	+	+
14	×	5.8×10^6	—				
15	×	17.4×10^6	—				
16	×	29×10^6	±	±	—		

+ 感染, — 不感染, ± 原虫は次第に減少し、マウスは治癒する

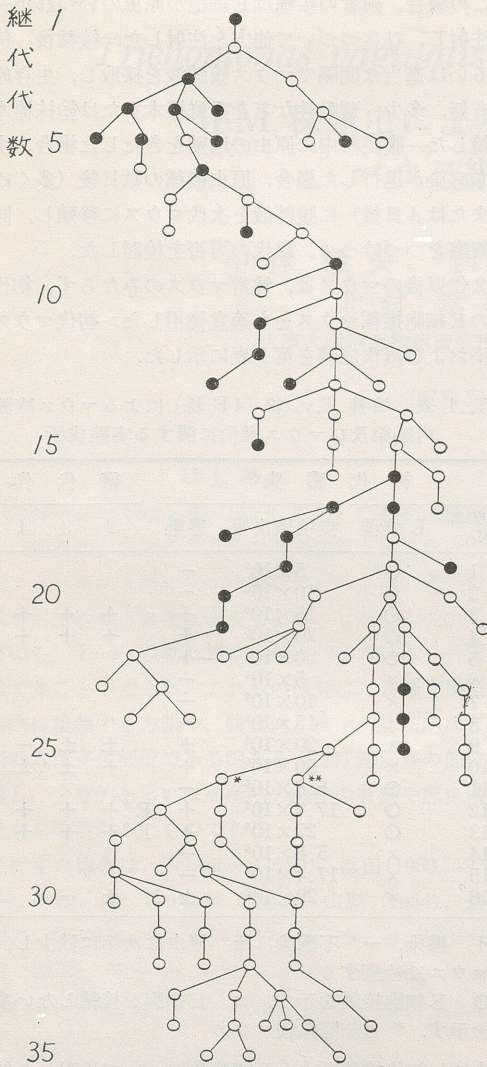
○ E 細胞接種を示す, × E 細胞を接種しない事を示す。* E 細胞接種マウス

次に、初代接種原虫と E 細胞数について検討した結果原虫数 2×10^7 以上、E 細胞数 1×10^7 以上の接種例ではすべて感染は成立し、かつ継代接種も可能であつた。

b. 原虫および E 細胞接種の時期

予め E 細胞を接種して後、何日かたつて原虫を接種した場合、感染が成立するか否かを検討した。約 1×10^7 の E 細胞を接種したマウス群から、以後毎日 2 匹のマウスを選び、それぞれに 2×10^7 、および 4×10^7 原虫を接種し、その感染の有無および継代の可否を観察した。その結果、E 細胞接種後 4 日目までの実験例ではすべて感染し、継代も可能であつたが、5 日目以後では感染は不確実となり継代も不可能となつた。

c. E 細胞を処理した場合の感染



第1図 マウス腹腔内感染原虫(4F M株)の継代成績の1例

- * Mitomycin C 20 $\mu\text{g/ml}$ による処理を行つた
- ** " 10 $\mu\text{g/ml}$ による処理を行つた
- 健常マウス
- Ehrlich 癌細胞接種マウス

これまでの実験に用いたE細胞は、E細胞感染マウスより採取した、無数のE細胞を含む腹水そのものであつた。そこで、腹水を遠心沈澱した上清部および腹水の凍結融解した無細胞 homogenate を接種材料とした。接種量は0.1および0.5 ml とし、約 2×10^7 原虫を同時接種した。その結果、初代の感染を起しえる場合もあつ

たが、継代感染は不可能であり、これらの材料によるマウス処理では、4F株による感染は確実に達成できないと考えられた。

2. 感染原虫のマウスによる継代維持

マウス腹腔内に増殖した4F株原虫を、マウスによつて継代維持することができるか否かを検討した。継代に用いたマウスは、正常マウスの他に適宜にE細胞処理(原虫と同時接種)を行なつたマウスを用いた。マウスへの接種量は約0.3 ml で、その中に $3 \sim 4 \times 10^7$ 時にはそれ以上の原虫を含むものであつた。

成績は第1図に見るごとく、4F株原虫はマウス腹腔内感染によつて、継代維持することができる。さらに第1図継代表における10代あるいは18代以後の継代に見るように、継代代数を経れば、E細胞接種は不必要となり、原虫のみの継代が可能であつた。なお、この場合、E細胞は新しく接種されなくとも、それ以前の継代代数において接種されたE細胞がマウス腹腔中で増殖し、次代に移殖され、原虫とともに長く継代されていくものと考えられる。この点についての吟味を進めるために次の実験を試みた。

3. 原虫と共存するE細胞についての実験

a. 健常マウスに継代した場合の細胞数の変化

初代感染のみならず、継代感染でも適宜にE細胞接種を行なつたが、これらの接種されたE細胞もマウス腹腔中で増殖するのは当然である。しかし、原虫のきわめて迅速な増殖速度と比較すると、E細胞のそれは緩徐で健常マウスに継代を重ねると、遂にはE細胞は検出できなくなる。この点を以下の実験によつて確めた。

健常マウスでの継代を少なくとも数代重ねた後、感染マウスの腹腔液とE細胞感染マウスの腹水のそれぞれ1定量を混合し、新しい健常マウスに接種した。この場合の接種原虫数とE細胞数はあらかじめ算定したものである。以後健常マウスに継代をつづけ、それぞれの継代時に採取した腹腔液について、原虫数と、E細胞数の比を染色標本によつて算出した。

その結果を第2表に示したが、少なくとも健常マウスでの継代では3ないし4代の継代でE細胞は腹腔液から検出しにくくなることが明らかとなり、さらに代数を経ればE細胞は自然消滅的に無くなるものと思われた。

b. Mitomycin C によるE細胞の処理

抗ガン性をもつ抗生物質である Mitomycin C (以下MC) と感染マウスの腹腔液とをある時間試験管内で接触させてのち、マウス腹腔内に注射することによつて、

第2表 マウス継代において移植される Ehrlich 癌細胞数の減少度を示す実験成績

実験番号	継 代 代 数				
	1	2	3	4	5
1	78	8	0	0	0
2	78	13	1	0	0
3	78	14	5	0	0

表中の数字は腹腔液のギムザ染色標本中の500細胞(原虫とE細胞を数え、浸出細胞は計算に加えない)中のE細胞数を示す。計算値はマウス接種材料について行つたもの(例、2代マウスの8は原虫492, E細胞8の割を含む初代感染マウス腹腔液を2代マウスに接種した事を示す)

第3表 Mitomycin C による Ehrlich 癌細胞の処理

MC 濃度 $\mu\text{g/ml}$	0	2.5	5	10	20	40
	予 備 試 験					
E細胞感染	+	+	+	-	-	-
	本 試 験					
原虫感染	/	/	/	+	+	/

共存するE細胞の絶滅を計つた。そのために、予備試験として、E細胞感染マウスの腹腔液とMCとを *in vitro* で接触させ、MCのE細胞に対する作用を測つた。E細胞腹水とMC溶解液の各0.2mlとを混じ、37°C、1時間、時々振盪しつつ保温し、遠心沈澱後、生理的食塩水で遠沈洗滌し、生食水に再浮游してマウス腹腔内に注射した。30日間、腹水を検査した結果は、第3表に示す様にMC 10 $\mu\text{g/ml}$ 以上ではE細胞の増殖をみなかった。

本試験ではMC 10および20 $\mu\text{g/ml}$ 濃度で、原虫感染マウス腹腔液を処理したが、表に見るようにどちらの場合も原虫感染は認められた。

その後の継代は、この感染マウスから実施し、長く継代可能であることを確認した(第1図)。

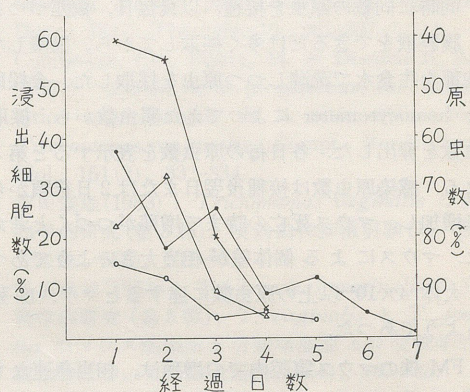
かくして、4F株がE細胞なくしてマウス腹腔内で増殖し、継代しえることが明らかとなり、以後このマウス継代株を4FM株と呼ぶこととした。

4. 感染マウス腹腔液中の浸出細胞数

4FM株の感染マウス腹腔液中には原虫とともに相当多数の浸出細胞が認められる。この浸出細胞の構成は塗抹ギムザ染色標本で検鏡すると、リンパ球を主とする浸

出細胞で、その検査例の一つを示すと、リンパ球67%、中性多核白血球32%(分葉状18%、桿状14%)単球1%であつた。

この浸出細胞数の多少は、感染の成立および経過に関係が深いようで、感染が不成立の例では無数の浸出細胞によつて腹腔液は占められ、原虫数はきわめて少ないか全く認められなくなる。感染後毎日の腹腔液について、塗抹ギムザ染色標本で原虫数と浸出細胞数とを計算しその比をとつた。その成績は第2図に示されたように、感染翌日は相当高い浸出細胞率が、以後急速に低下し、3ないし4日後には数%になる。他方、原虫は急激な増殖



第2図 感染マウス腹腔液中における原虫と浸出細胞の数の比の日次的変化

○—○) 各経過日数毎に3匹のマウスについて行つた実験値(平均値)

×—×) 1匹のマウスについて連日行つた実験値

△—△) 1匹のマウスについて連日行つた実験値

に伴つて、その率も急上昇し、感染極期には90%以上になる。

感染の不成立例では、浸出細胞率が低下せず、むしろ逆に増加し、原虫は減少し、遂には全く認められなくなり、マウスは完全に健常に復する。

5. 感染マウスの病状並に死亡日数

4FM株感染マウスは多くの場合、原虫接種2日後頃から次第に増悪する病変を呈するようになる。主な変化としては、食物摂取の減少または停止、無気力、運動の減少または停止、うずくまつて静止を続ける、立毛、体温の低下(触手して明らかに感知しえる)、やせ(次第に背椎骨の隆起が目立つようになる)下痢などをあげる。

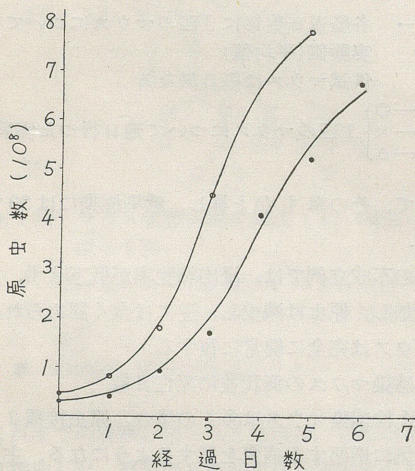
しかし、腹部の膨満はさほど著明ではなく、殊に初期には全く認知されないが、4日ないし5日後ともなると幾分膨満する。この時期のマウス腹腔内には、白色ないし乳白色粘張な液体が貯溜し、中に無数の生原虫を認めえる。

感染が進行するとマウスは例外なく死亡するが、原虫接種から死亡までの日数を数えると、135例の感染でその90%以上は接種後4ないし7日の間に、平均5.4日で死亡した。

6. 感染原虫の増殖

マウス腹腔中での4FM株原虫の増殖を知るため、次の実験を試みた。30ないし40匹からなる1群のマウスに、同時に同数の原虫を接種、以後毎日、数匹づつを取り、腹腔液をできるだけ多く採取してから、開腹して腹腔内部を生食水で洗滌しつつ原虫を採取した。全採取液量とhemocytometerによつてえた原虫数から、採取全原虫数を算出した。各日毎の原虫数を表示すると第3図となる。感染原虫数は接種後翌日または2日後頃から急速に増加し、マウス死亡の時まで増殖がつづくと考えられた。マウスによる個体差が相当大きいようであったが、大体 4×10^8 以上の原虫数に達するとマウスは死亡するようであった。

4FM株のマウス腹腔内での増殖は、相当急速なものであることを知つたが、しかしこの増殖速度もなおV-



第3図 4FM株による感染マウスの腹腔内原虫数の日次的変遷
各数値は2乃至5匹のマウスについて計算した原虫数の平均値

bouillon 培地中での増殖速度に比べると緩徐なものと思われる。

考 察

Schnitzer *et al.* (1950) が T.v. 接種によつて、マウス腹腔内、皮下組織などに膿瘍形成を認めて以来、本原虫の動物感染に関する報告は多い。それらの多くは、接種部位に膿瘍形成を認めているが、致死的障害を与えるようなものではなく、むしろ自然治癒傾向の強い感染であつた。故に、本原虫の病原性や、薬物検定などの応用を考えるに当つては、より確実な感染法、あるいは感染力の強い原虫株の分離が望まれていた。本研究はこのような現状にかんがみ、確実に致死感染をきたし、かつ動物感染によつて継代しえるような感染を与える目的で行なわれたものである。

著者らがえた4FM株によるマウス腹腔内感染は、数多の供試原虫の中からえられたただ1つの感染株であつたが、この目的にかなつたものであるといえる。

4FM株によるマウス腹腔内の初代感染は、E細胞との共存によつてえられたものである。しかし、実験成績に示したように、健常マウスに3~4代以上の継代を経れば自然的に、またMC処理によつて人為的に、全くE細胞と共存しないで、原虫単独の感染がえられ、しかもマウス継代によつて維持できるものとなつた。

この感染に関し、先づ問題となるのは、初代感染の成立に果すE細胞の役割であり、次いで、感染株とその起源である培養株との生物学的比較であろう。感染に果すE細胞の役割については、先づE細胞により生じつつある腹水が原虫増殖に役立つのであろうと考えられる。しかし、単にそれだけではなく、他に重要な要因があるかもしれないが、それに関する検討は、なお今後の実験によつて明らかにしたいと思つている。感染株(4FM株)とその起源である培養株(4F株)とは、少なくとも染色標本による形態的比較、凝塊反応による免疫学的比較、およびカタラーゼ活性に関する知見では、これら両者間には相異点がなく、他方比較の1対象とした *T. foetus* とは感染株は明確に区別できた。ただ、大きさ(長, 短径)の点で感染株は培養株よりやや大きい値(感染株の長, 短径の平均値は 16.1μ , 12.6μ , 培養株のそれは、 12.7μ , 9.2μ)を示したが、おそらくこれは増殖速度の相異によるものであろうと思われる。また感染株を培養すれば、その大きさは培養株の大きさになることから本質的な相異点とは考えられなかつた。

浜田(1953, 1954, 1956)が報告したマウス腹腔内感染

原虫は、その感染の様相が4 FM 株のものとは相当異なっている以外に、原虫の形態、凝塊反応による免疫学的所見などが、培養 T.v. とは全く異なり *T. foetus* と識別できないものであつた。この事実から考えれば、著者らのえた4 FM 株感染は、浜田のかつて報告した感染とは全然異つた新しい実験結果といふことができる。その意味で、4 FM 株感染に対しては、新たな観点から検討を加えるべきものと考へている。

4 FM 株が培養 T.v. と同じ性状を持つことは、T.v. の病害作用や、薬物検定などの検討にきわめて役立つことである。すでに2,3の薬物について行なつた効力検定の結果も、この感染が検定に応用できることを示している。その成績は改めて報告することとしたい。

なお、現在までの実験結果では、4 FM 株以外に同様な感染株をえていないが、その実験成績についても機会を改めることとする。

最近 Combescot *et al.* (1957), Cavier *et al.* (1960) が卵巣摘出ラットに estradiol benzoate を投与しつつその腔内に T.v. 接種を試み、興味ある成績をえ、またこれを薬物検定に用いている。T.v. の動物感染については、今後もさらに各種の検討が加えられ、多くの成果が期待されるべきものと思われるが、著者らのえた感染成績もその1つとして大きな意義をもつものであろう。

結 論

培養 T.v. によるマウス腹腔内感染を試み、著者らの持つ1原虫株(4 F株)によつて致死感染をきたすことを認め、その感染株(4 FM 株)について若干の検討を加えた。実験結果は次のごとくである。

1. 培養4 F株原虫と Ehrlich 癌細胞とをマウス腹腔内に接種する事によつて、原虫による致死感染を起すことができ、この感染原虫はマウスによつて継代できる。

2. 感染原虫と共存する Ehrlich 癌細胞は、3, 4代以上のマウス継代によつても、また Mitomycin C 処理によつても除去することができ、原虫のみの感染をえることができる。またこの感染原虫もマウスによつて継代してゐる。

3. マウスに致死感染を起すに必要な4 FM 株の接種数は約 3×10^7 以上である。腹腔内で原虫は急速に増殖し、接種後4または5日以後には、 $4 \sim 8 \times 10^8$ 原虫数に達する。

4. 感染マウスは接種後4ないし7日の間、平均5.4日後に死亡する。

稿を終るにあたり、有益な御助言をいただいた猪木正

三教授に感謝します。

本論文要旨は、第30回日本寄生虫学会総会(昭和36年、久留米)、及び第17回同学会西日本支部大会(昭和36年、大阪)において報告した。

文 献

- 1) Bauer, H. (1959): Microscopic demonstration of manifest and latent Trichomoniasis urogenitalis in males. Proceed. First Canadian Symposium on Non-Gonococcal Urethritis and Human Trichomoniasis, Montreal. 28-44.
- 2) Cavier, R., Savel, J. & Quemerisis, M. J. (1960): L'essai pharmacologique des médicaments trichomonocides sur la rate expérimentalement infestée par *Trichomonas vaginalis* Donnè 1837. Therapie, 15, 361-367.
- 3) Combescot, Ch., Pestre, M. & Domenech, A. (1957): Action de la progestérone sur l'infestation expérimentale de la ratte albinos par *Trichomonas vaginalis*. Compt. Rend. Soc. Biol., 151(2), 332-334.
- 4) 浜田義雄(1953): *Trichomonas vaginalis* の生物学的研究(第3報), 実験動物接種実験(1). 阪大医誌, 5(6), 511-521.
- 5) 浜田義雄(1954): *Trichomonas vaginalis* の生物学的研究(第5報), *T. vaginalis* と *T. foetus* のマウス感染型と分離培養型との免疫学的関連性について. 阪大医誌, 6(4), 340-348.
- 6) 浜田義雄(1956): *Trichomonas vaginalis* の生物学的研究(第7報), マウス通過型の形態学的観察. 阪大医誌, 5(3), 358-364.
- 7) Honigberg, B. M. (1961): Comparative pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas gallinae* to mice. I. Gross pathology, quantitative evaluation of virulence, and some factors affecting pathogenicity, J. Parasit., 47(7), 545-571.
- 8) Honigberg, B. M. & Read, C. P. (1960): Virulence transformation of a *Trichomonas* protozoan. Science, 131, 352-353.
- 9) 星合孟(1961): ラットの腔における実験的腔トリコモナス症の研究. 慶応医学, 38(5), 435~442.
- 10) Inoki, S. & Hamada, Y. (1953): Experimental transmission of *Trichomonas vaginalis* (pure culture) into mice. J. Infect. Dis., 92, 1-3.
- 11) 岩井澄雄(1957): 腔トリコモナスの小动物接種実験. 寄生虫誌, 6(2), 136-144.
- 12) 中林敏夫・河原勉・分野寛治・隅本修・北村孝雄(1961): *Trichomonas vaginalis* の化学療法に関する実験的研究(1), 培養原虫に対する薬剤の効力(Trichomycinを中心に). 寄生虫誌, 10

- (6), 650-656.
- 13) Newton, W. L., Reardon, L. V. & deLeva, A. M. (1960): A comparative study of the subcutaneous inoculation of germfree and conventional guinea pigs with two strains of *Trichomonas vaginalis*. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 9(1), 56-61.
- 14) 織田行正(1960): 膾トリコモナスのマウス接種実験並びに *in vivo* における薬剤検定への応用について. 阪大医誌, 9(6), 1873-1896.
- 15) Reardon, L. V., Ashburn, L. L. & Jacobs, L. (1961): Differences in strains of *Trichomonas vaginalis* as revealed by intraperitoneal infections into mice. J. Parasit., 47(4), 527-532.
- 16) Weld, J. T. & Kean, B. H. (1958): Further studies on experimental ocular Trichomoniasis. The role of injury to the lens in the production of infection. Exp. Parasit., 7(4), 391-398.
- 17) 山県宏(1954): *Trichomonas* (*T. vaginalis* 及び *T. foetus*) 純粋培養のマウス感染試験. 長崎医誌, 29(4), 375-379.

STUDIES ON THE INTRAPERITONEAL INFECTION OF
MICE WITH *TRICHOMONAS VAGINALIS*
FATAL INFECTION PRODUCED BY 4FM STRAIN PROTOZOA AND
MAINTAINANCE OF PROTOZOA BY MOUSE-PASSAGES

TOSHIO NAKABAYASHI, TAKESHI NISHIMURA, KANJI WAKENO,
TAKAO KITAMURA & OSAMU SUMIMOTO

(*Department of Parasitology, Research Institute for Microbial
Diseases, Osaka University, Osaka*)

The intraperitoneal inoculation of cultured *Trichomonas vaginalis* were examined in mice which received an intraperitoneal inoculation of the Ehrlich's cancer cells at the same time or several days before. 4F strain, one of the cultured protozoan strains tested, was found producible the fatal infection to mice and maintainable by serial mouse-passages.

The Ehrlich's cancer cells growing in coexistence with protozoa in the abdominal cavity of mice infected could be completely removed from the coexistence with protozoa by means of passing through three or four mice, or of receiving a treatment with Mitomycin C. Thus, the fatal infection of mice caused by protozoa only, without accompanying the Ehrlich's cancer cells, could be made up and this infecting protozoa was also maintainable by mouse-passages and was named 4FM strain.

In the experiment of 4FM strain, it was found that about 3×10^7 protozoa or more were needed for producing the fatal infection to mice and also that protozoa inoculated into the abdominal cavity of mice could multiply rapidly and increase up to $4-8 \times 10^8$ numbers after four or five days from inoculation. As to the condition of mice infected, some observations were made and it was ascertained that mice infected by protozoa died between 4 and 7 days and in 5.4 days on average after inoculation of protozoa.