

イヌのトキソプラズマ色素試験と原虫分離成績

米 谷 武 士

新潟大学医学部医動物学教室 (主任 大鶴正満教授)

横 山 政 徳

新潟県衛生研究所 (所長 篠川 至博士)

(1967年3月18日受領)

まえがき

イヌは愛玩動物として人と密接な関係を有することから、トキソプラズマ (以下 Tp と略す) 症についてイヌと人との関係が注目され、従来からイヌの Tp 症並びにその合併症、Tp 抗体保有率、Tp 虫体の分離、更にイヌに対する Tp 感染実験などいろいろな角度から多くの研究調査がなされた。また人 Tp 症の感染源としてイヌの意義についても種々の見解が述べられている。

イヌの Tp 抗体保有率に関しては、各地で幾多の調査が行なわれ、例えば色素試験による調査成績を見ても Miller & Feldman (1953) の 58.8%, Feldman & Miller (1956) の 43.1%, Gibson & Jumper (1960) の 15.9% などの報告があり、わが国においても松元・小池 (1957) の 29.1%, 田中ら (1958) の 52.2%, 村上・上木 (1958) の 20.4%, 石井ら (1966) の 29.3% (飼犬), 42.6% (抑留犬) の陽性率が報ぜられている。他方、イヌからの Tp の分離に関しては、過去においては主として自然感染イヌの斃死例 (浜田, 1951; 大越ら, 1955; 佐藤ら, 1958; Yamamoto *et al.*, 1955) からのもので、慢性あるいは不顕性に経過したイヌからの本原虫分離の報告は案外少ない。最近に至つて勝部ら (1966, a, b) は外見上健康と思われるイヌの横隔膜筋から 12.6% (11/87), 池上ら (1966), 徳富 (1967) は東京都内の野犬の肉から 10.2% (5/49) の割合で Tp を分離したと報じた。

イヌは Tp 感染に対する血清反応の陽性率は高いが大部分は不顕性に経過しているものと考えられ、慢性症では臨床診断が困難であり、またジステンパーや慢性肺炎あるいは胃腸炎などの鑑別診断も難しいとされている。石井ら (1966) は横浜地区におけるイヌについて臨床症状と抗体保有率との関連について調査した結果、症状の

発現は複合的であり、一般的には他の疾患との鑑別ははなはだ困難で臨床症状のみでの診断は厳に慎まねばならないと述べた。

Tp は人および各種動物の間に広範に蔓延していることは多くの調査成績から容易に推察されることであるが、われわれは今回、新潟県下各地のイヌについて色素試験による Tp 感染状況の調査を行なつた。他方、慢性感染の実態を知る目的で、新潟市および新潟市近郊のイヌの横隔膜筋から Tp の分離を試み、なお Tp 保有犬については肺、肝、脾、心などの主要臓器について病理組織学的検索を加えたので、それらの成績について報告する。

検査材料並びに方法

イヌの色素試験は 1966 年 4 月から 8 月までの 5 カ月間に、新潟県下各保健所において抑留されたイヌあるいは飼い主が屠殺処分を願い出たイヌなど 151 頭の血清について行なつた。採血は各保健所において屠殺時に心臓からの直接採血または屠殺後放血による採血を依頼し、分離した血清の送付を受けた。色素試験は Sabin-Feldman の原法に従い、血清は 4, 16, 64, 256, 1,024 倍の 5 段階に希釈し、判定に際しては陽性基準を 16 倍以上においた。

イヌの横隔膜筋からの Tp 分離試験は 1965 年 4 月から 1966 年 5 月までの約 1 年間、新潟市および新潟市近郊の抑留犬について、屠殺処分時にこちらから出向き外見上は一応健康と思われるものであつたが、それらのイヌ 47 頭について血液を採取し、屠殺剖検を行なつた後、横隔膜筋を取り、併せて肺、肝、脾、心などをも採取した。横隔膜筋からの Tp 分離試験は花木・信藤 (1963) によるトリブシン消化法によつた。すなわち横隔膜筋 30 g を細挫し、0.3% トリブシン食塩水 300 ml を加えスターラーを用いて室温で 1 時間消化した後、ガーゼ 2 枚で

濾過し、濾液を 1,500 rpm 10 分間遠心、沈渣を生食塩水で 2 回洗浄したのち、これの生食水による懸濁液に抗生物質（ペニシリン 50,000 u + ストレプトマイシン 40 mg/ml）を数滴加え、その 1.0 ml をそれぞれ 5 匹のマウスの腹腔内に接種した。これら 1 群のマウスは約 1 月目に殺し、血液はブルーして血清を採取し、またそれぞれのマウスの脳を取り出しその小片を圧扁標本（18×18 mm カバークラス 1 枚）として Tp cyst の有無を鏡検した。屠殺時に採取したイヌ血清および接種マウスの血清については色素試験を行ない抗体価を調べた。また横隔膜筋液剤を接種後観察期間中に斃死したマウスについては、腹腔洗浄液を遠心し、沈渣中に Tp の有無を鏡検した。

なお、イヌの剖検時に採取した肺、肝、脾、心などの臓器はすべて 10%ホルマリンに浸漬しておき、横隔膜筋液接種マウス脳を鏡検した後に、Tp cyst を検出したイヌ 7 頭およびこれの対照として cyst を検出しないイヌ 8 頭（色素試験で 1:4 陰性のイヌ 5 頭、1:16 陽性のイヌ 3 頭）計 15 頭についてそれぞれ前記の臓器を選び出し、切片標本を作製してヘマトキシリン・エオジン染色を施し、病理組織学的に検索を加えた。

成 績

1. イヌの色素試験

新潟県下各保健所から送付を受けたイヌ血清の色素試験成績は第 1 表に示す通りである。すなわち、新潟県を上越・中越・下越・佐渡の 4 地区に分けてその成績を比較してみると、上越 3/15、中越 12/44 (27.3%)、下越 23/80 (28.8%)、佐渡 4/12 計 151 頭中 42 頭 (27.8%) が陽性で、4 地区における陽性率の地域差はほとんど認められなかつた。

またこれら 151 頭のイヌの中、年令を確認することができた 104 頭について性・年令別の陽性率をみた成績は

第 1 表 イヌの色素試験成績 (1966.4~8)

地区	検 査 頭 数						陽性頭数 (%)
	≤1:4	1:16	1:64	1:256	1:1,024		
上越	15	12	1	1	1		3
中越	44	32	7	4	1		12(27.3)
下越	80	57	12	9	1	1	23(28.8)
佐渡	12	8	2	2			4
計	151	109	22	16	3	1	42(27.8)

第 2 表に示すごとくである。性別では♂57 頭中陽性 16 頭 (28.1%)、♀47 頭中陽性 15 頭 (31.9%) で差はみられなかつた。つぎに年令については 1 才未満 (幼犬)、1~4 才 (成犬)、5 才以上 (老犬) に別けて検討してみると、1 才未満は 30 頭中 3 頭 (10.0%)、1~4 才は 52 頭中 17 頭 (32.7%)、5 才以上では 22 頭中 11 頭 (50.0%) が陽性で、年令が進むにつれて陽性率の高くなる傾向がみられた。

2. イヌ横隔膜筋の Tp 検査

イヌ横隔膜筋液接種マウスの脳における Tp cyst の検出成績は第 3 表に示す通りである。新潟市 1/15、新津市 6/32 計 47 頭中 7 頭 (14.9%) から Tp cyst を検出した。横隔膜筋を採取した 47 頭のイヌ血清の色素試験成績は 1:4 38 頭 (1:4 陰性 30 頭、1:4 陽性 8 頭)、1:16 6 頭、1:64 3 頭であり、この中 Tp cyst を検出した 7 頭は 1:4 陰性 1 頭、1:16 3 頭、1:64 3 頭であつた。これらのイヌの性別は♂4、♀3、年令は 1~4 才、種類はスピッツ、テリア、セパード、柴などの雑種であつた。

これら 7 頭の陽性マウス群 (各 5 匹) の脳における Tp cyst の検出状況は第 4 表に示した。すなわち、5 匹のすべてのマウスから Tp cyst が検出されたもの 1 例、5 匹中 4 匹から検出されたもの 1 例、5 匹中 2 匹から検出されたもの 4 例で、他の 1 例は 5 匹中 1 匹のみから

第 2 表 イヌの性・年令別色素試験陽性率

年令	♂					♀					計		
	検査頭数	陰 性 数				検査頭数	陰 性 数				検査頭数	陽性頭数	陽性率 (%)
		≤1:4	1:16	1:64	1:256		≤1:4	1:16	1:64	1:256			
1 才未満	15	15				15	12	2			30	3	10.0
1~4 才	28	20	2	6		24	15	2	5	2	52	17	32.7
5 才以上	14	6	4	3	1	8	5	1	2		22	11	50.0
計	57	41	6	9	1	47	32	5	7	2	104	31	29.8
			16 (28.1%)					15 (31.9%)					

第3表 イヌ横隔膜筋接種マウスの脳における
Tp cyst 検出成績 (1965.4~1966.5)

地区	検査頭数	陽性頭数(%)	Tp 保有犬の色素試験価		
			<1:4	1:16	1:64
新潟市	15	1		1	
新津市	32	6	1	2	3
計	47	7 (14.9)	1	3	3

認められた。また標本1枚(18×18 m/m)中の Tp cyst の数は1~3個のものが最も多く、10個以上認められたものは cyst 検出マウス18匹のうち2匹に過ぎなかつた。なお、イヌ血清の色素試験価と接種マウス群の脳における cyst 陽性匹数との関係を見ると、1:4陰性犬の1頭は1/5匹、1:16の力価を示すイヌ3頭はそれぞれ5/5、2/5、2/5匹、1:64の力価のイヌ3頭は4/5、2/5、2/5匹に Tp cyst が認められ、イヌ血清の色素試験価の高低と接種マウスの脳における Tp cyst 陽性匹数との間には明らかな差は認められなかつた。ただ色素試験陽性犬の横隔膜筋液接種マウスは陰性犬横隔膜筋液接種マウスに比し Tp cyst 陽性匹数が多いようであつた。これに比べ陽性マウス群血清の色素試験価は、マウスを4~5匹ブールした血清について色素試験を行なつたので、5匹中5匹あるいは5匹中4匹から cyst を検出したマウス血清の色素試験価は1:1,024と高く、5匹中2匹のものでは1:256~1:64、5匹中1匹のみしか cyst を認めなかつた例では1:16と陽性匹数の多寡に比例してその力価に差を認めた。

3. イヌ横隔膜筋液接種マウスの色素試験

イヌ横隔膜筋47例の接種マウス群の血清(3~5匹ブール)について色素試験を試みた。その成績は第5表に示す通りである。1:4以下のものが38例(80.8%)で1:16以上陽性のものは9例(19.2%)認められ、

第4表 イヌ横隔膜筋接種マウスの脳における Tp cyst の検出状況

No.	イヌ血清の色素試験価	マウス脳中の Tp cyst	標本1枚中の Tp cyst 数 (18×18 m/m)	マウスブール血清の色素試験価
9	1:16	● ○ ● ○ ⊗	3, 2	1:64
14	1:64	○ ○ ● ●	1, 1	1:256
20	1:64	● ● ○ ○ ○ ○	3, 1	1:256
24	1:16	● ● ● ● ● ●	15, 3, 4, 32, 2	1:1,024
26	<1:4	○ ○ ○ ○ ● ○	1	1:16
27	1:64	○ ● ● ● ● ●	1, 1, 2, 2	1:1,024
34	1:16	○ ● ● ○ ⊗	3, 2	1:64

⊗.....実験途中マウス斃死、腹腔洗浄液虫体(-)
○.....cyst(-) ●.....cyst(+)

第5表 イヌ横隔膜筋接種マウスの色素試験成績

例数	色素試験*		Tp cyst 陽性例数(%)		
	血清希釈	例数(%)			
47	<1:	4	37 (78.7)	0	
	1:	4	1 (2.1)	0	
	1:	16	3	9 (19.2)	7 (14.9)
	1:	64	2		
	1:	256	2		
	1:	1,024	2		

* 3~5匹のマウス血清をブールしたものにつき実施

その内訳は1:16 3例、1:64、1:256、1:1,024が各2例であつた。

またこれらのうち Tp cyst の検出されたものは、1:16以上の力価を示す9例の中7例(1:16 1/3, 1:64, 2/2, 1:256 2/2, 1:1024 2/2)で色素試験陰性のマウスからは cyst を検出することができなかつた。

第6表 分離 Tp 株の継代試験

株 No.	継代経過
9	c-c-c-c-c-c-c-c- (64)(1024)(256)(64)(256)(256)(256)(256)
14	c-c-c-c-c-c-c- (256)(64)(64)(64)(64)(64)
20	c-c-c-c-c- (256)(64)(256)(256)(256)
24	c-c-c-c-c- (1024)(1024)(1024)(256)(256)
26	c-c-c-c- (16)(64)(64)(64)
27	c-c-c-c- (1024)(256)(256)(256)
34	c-c-c-c- (64)(256)(256)(256)

c : cyst () : マウス血清の色素試験価

第7表 Tp 検索犬の主な臓器の病理組織所見

Tp cyst	検索 No.	イヌの種類	性別	色素試験価	主な剖検所見	病 理 組 織 所 見			
						肺	肝	脾	心
	9	スピッツ雑	♂	1 : 16	(-)	うつ血(+)	(-)	貧血(+) 脾臓結合織増殖(+)	(-)
	14	テリア雑	♂	1 : 64	肺：軽度うつ血 軽度肺炎	気管支炎(+) 肺炎(+)	(-)	(-)	(-)
	20	日本犬雑	♀	1 : 64	(-)	(-)	肉芽腫(+)	(-)	(-)
(+)	24	〃	♀	1 : 16	軽度肺炎	出血(+) 間質の増加(+)	(-)	肝胞内に出血(+)	(-)
	26	セバード	♀	1 : 4	腹水ちよ溜 肝：腫脹・脆弱 脾：貧血性 肺：水腫性	肺胞壁細胞増殖(+) 小肉芽形成(+)	うつ血(+) 線維化(+)	脾髓細胞増加(+)	(-)
	27	スピッツ雑	♂	1 : 64	(-)	小出血(+)	微小膿瘍(+) うつ血(+)	(-)	(-)
	34	柴雑	♂	1 : 16	(-)	小出血(+)	うつ血(+)	線維化(+)	(-)
	5	スピッツ雑	♀	1 : 4	全般的に貧血性	無気肺(+)	うつ血(+) ヘモジデリン沈着(+)	萎縮性(+)	(-)
	16	テリア雑	♂	1 : 4	(-)	(-)	うつ血(+)	貧血(+) 小出血(+)	(-)
	22	日本犬雑	♀	1 : 4	(-)	肺胞壁肥厚(+)	うつ血(+)	貧血(+)	(-)
(-)	36	セッター雑	♀	1 : 4	(-)	(-)	小肉芽腫(+)	(-)	(-)
	47	テリア雑	♀	1 : 4	心に糸状虫	膿瘍(+)	うつ血(+)	貧血(+)	(-)
	21	日本犬雑	♂	1 : 16	(-)	小出血(+)	(-)	萎縮性(+) 血管内血栓(+)	(-)
	29	柴雑	♂	1 : 16	肺，脾貧血性	(-)	うつ血(+) 好酸球性小肉芽腫(+)	(-)	(-)
	42	ポインター雑	♀	1 : 16	(-)	無気肺(+)	うつ血(+)	(-)	(-)

(-)……………著変を認めない。 (+)……………軽度の変化を認める。 (+)……………変化を認める。

4. 分離株の継代試験

イヌ横隔膜筋液から分離した7株について、接種マウス脳を約10倍乳剤とし、1月ないし1月半間隔で次代のマウスの腹腔内に接種する方法で継代を重ねたが、その経過は第6表に示す通りである。分離株7株はすべてcyst-cystで継代され、増殖型に移行するものはなかった。なおこれらマウスの血清の色素試験は1 : 16~1 : 1,024といずれも高い陽性を示した。

5. Tp 検索犬の主な臓器の病理組織学的検索

Tp cyst 陽性犬7頭と対照としてcystを検出しないイヌ8頭(色素試験で1 : 4陰性のイヌ5頭, 1 : 16陽性のイヌ3頭)について屠殺剖検時に採取した肺, 肝, 脾, 心などの主な臓器切片標本を作製し, 病理組織学的に検討した。その成績は第7表に示す通りである。各臓器における病理組織所見はTp cyst 検出群, 不検出群を問わずそれぞれ各臓器には何らかの病変を認めるものが多く, Tp cyst 検出群と不検出群との間に明らかな差を

認めることはできなかった。また病理組織学的には種々の慢性病変に遭遇したが, Tp cyst 検出群に明らかにTp 感染に起因すると推測できるような共通的な病変は認められなかった。ただ Tp cyst 検出群において剖検で腹水のちよ溜を認めた例では, 肺に肺胞壁細胞増殖, 小肉芽形成, 肝にうつ血と線維化, 脾に脾髓細胞の増加などが認められ, 他の例に比べて慢性病変がやや著しかった。

総括並びに考察

Tp 症を人畜共通伝染病として考えるとき, 人とイヌとはその生活が密接な関係にあることから, 従来より深い関心が払われてきている。

人Tp 症の感染源としてイヌの意義については, Otten et al. (1951)はイヌと飼育家族について色素試験を行ない両者の抗体保有率の間には相関があると述べ, 臨床的

に神経炎，不全麻痺，強直痙攣などの神経障害や慢性胃腸カタル症状を伴う Tp 感染犬が最も人の感染源となり得ると述べた。また Cole *et al.* (1953) は色素試験陽性犬を飼育していた家族の調査において人とイヌのそれぞれから虫体を分離し，イヌから人への感染を認めている。わが国では，小池ら (1959) の報告例では頭痛と微熱を主徴とする小児 Tp 症の家庭で飼育していた仔犬が3頭とも相次いで死亡し，それらのイヌの臓器から Tp 虫体が検出され，イヌが感染源であろうと推測された。他方，Jacobs *et al.* (1955) は人とイヌの抗体保有率の相関から直ちにいずれが感染源であるか判じ難いといい，両者に共通の感染源があり，それぞれ別個に感染することがあり得ると述べた。またわれわれは過去における新潟市内の飼い犬の色素試験で 52.2% の高い陽性率を得，すでに報告した (田中ら，1958；篠川ら，1964) が，色素試験陽性犬の飼育家族がイヌを飼っていない家族に比しとくに本症感染の危険性が多いと推定されるような成績は得られなかつた。このように Tp 症の感染源としてのイヌの意義については，Tp が人畜間に広範に蔓延している状況から，この問題の究明はなかなか困難であり，軽々しく論ずることはできないといえよう。石井ら (1966) は人畜共通伝染病の感染様式には未だ不明あるいは未知の問題が数多く残されており，結論を急ぐのあまり一種の動物，一つの感染経路に捉われて一般世人に無用の誤解を招かぬよう特に慎重に取り扱わねばならないと述べた。

われわれはこの点を考慮し，新潟県下における人および各種動物における Tp 慢性感染の状況を調査中であるが，その一つとして今回，県下各地のイヌについて色素試験による Tp 感染状況の調査を行ない，併せて慢性または不顕性感染の実態を知る目的で新潟市および新津市新郊のイヌの横隔膜筋から Tp の分離を試みた。

まず，色素試験では試験成績で述べたごとく 27.8% の陽性率が得られた。イヌの色素試験についてはすでに多くの調査がなされ，欧米における 15.9 ないし 58.8%，わが国における 20.4 ないし 52.2% という陽性率が報ぜられており，今回得られた成績も既報の陽性率の範ちゆうに入る成績であつた。またイヌの性別に関しては，自然感染例や感染実験での発症は早に多いという報告がなされているが，抗体調査成績では一般に性別による差はないとする報告が多く，われわれの今回の成績でも性別による差はみられなかつた。イヌの年令に関しては，石井ら (1966) は中枢神経系の障害，眼疾患，呼吸器疾患，

産科疾患などの有症状群では各年令層ともほぼ同程度の高い陽性率を示したが，無症状群では陽性率は年令とほぼ平行的に増加することを認め，また，田中 (1958) が報告した新潟市の飼犬の成績，村上・上木 (1958) の東京都における野犬の成績でも年令が進むにつれて陽性率の高くなることを報じた。われわれの今回の成績でも年令に比例して陽性率が高くなる傾向が認められ，この年令と陽性率の関係は各種動物に一般的に認められる傾向で，とくに論議すべき点ではないと思われる。

つぎにイヌ横隔膜筋からの Tp 検索成績は，47 頭中 7 頭 (14.9%) から Tp が分離された。この成績は勝部ら (1966 a) の外見上健康なイヌからの 12.6%，池上・徳富 (1966) の東京都内の野犬からの 10.2% とほぼ似た成績で，これらの事実はイヌにおける Tp 保有状況がかなり高率であることを示すものと推測される。Tp を検出したイヌ血清の色素試験は 7 頭中 6 頭が 1 : 16 以上陽性を示した。勝部ら (1966 a, b) はイヌからの Tp 分離に際し血球凝集反応を行なっているが，この血球凝集反応の成績と原虫分離と一致した成績が得られず，原虫の分離された宿主イヌの血球凝集反応は約半数が陰性であつたと報じている。この点については血球凝集反応に使用する抗原と検査手技上にも問題があり，勝部らは血清反応に関する諸因子，Tp 感染の時期，イヌの種類および抗原原虫の条件等について更に検討する必要があると述べた。

色素試験は Tp 血清反応の中で特異性が高く，また色素試験抗体は他の抗体に比し出現が早いこともすでに認められている。信藤 (1965) はブタにおける自然感染例で Tp を分離したものは色素試験はほとんどのものが高い陽性を示し，ブタにおける色素試験の陽性限界を 1 : 64 以上とすることを提唱している。しかし熱発初期あるいは慢性無症状感染では 1 : 16 でも意義があり，色素試験抗体価と原虫の関係ははなはだ興味深いと述べた。われわれはイヌからの Tp 分離に際し色素試験を行なつたが，Tp の分離されたイヌの色素試験はほとんどのものが 1 : 16 以上陽性を示し，色素試験が 1 : 4 陰性であつたイヌ 38 頭からは 1 頭のみから Tp が分離されたに過ぎなかつた。他方，色素試験 1 : 16 以上陽性のイヌで原虫の分離できなかったものは 3 頭で，もし被検臓器を変えたりあるいはもつと精細の分離試験を重ねれば Tp 分離率の向上も考えられることから，イヌにおいては色素試験抗体価と原虫保有の関係はかなり併行し意義あるものと考えられた。なお Tp を分離したイヌの性別は♂

4, ♀3で性別の差はなく, またイヌの種類も種々のものから分離され差は認めなかつた。

イヌに対する *Tp* 感染実験は *Jacobs et al.* (1955), 常松ら (1958), 小池 (1958) により試みられているが, イヌは *Tp* 感染に比較的好く耐過し, 実験的感染においては発症することが少なく, 極く幼令のものを除いて重症に陥ることなく軽症または無症状に経過する場合が多いと述べている。これらの成績から自然界におけるイヌの *Tp* 感染は石井ら (1966) が述べたように, 発症という形で起こり難く, 比較的大量の感染があつた場合でも軽症ないし無症状に経過する場合が多いことは容易に推測できる。更に小池 (1960) はイヌに対する感染実験で長期にわたつて色素試験および補体結合反応の抗体価の変動を観察した。それによると初感染では色素試験は1~3週後に陽転し, 3~4週後に最高値に達し, その後次第に低下して9~12カ月後にはほとんど陰性になると述べている。これらのことから, 今回のわれわれの得たイヌ横隔膜筋から *Tp* を14.9%に分離した成績およびこれらのイヌの色素試験抗体価の成績とを併せ考察すると, これらのイヌはその感染時期は詳らかではなく, また感染経路あるいは感染時の症状などは不明ではあるが, いずれも *Tp* 感染に耐過し, 横隔膜筋肉中に *Tp* を *cyst* として保有している慢性感染と解することができる。

今回, われわれが用いたイヌ横隔膜筋からの *Tp* の分離法は, 花木ら (1963) のトリプシン消化法によつた。信藤 (1965) は慢性無症状感染動物からの *Tp* 分離は *cyst* をねらつて実施するため消化法によらなければ目的を達することができなかつたとし, 消化した筋液沈渣はマウスの腹腔内に接種して1月以上観察を続けるが, この方法ではマウスが発病することは一般に少ないと述べた。われわれの分離試験においても, それぞれ5匹のマウス群に接種し1カ月観察を行なつたが, 観察期間中に発病した例はなかつた。

つぎにイヌ横隔膜筋液を接種したマウスの脳における *cyst* の検出状況について考察すると, われわれは接種マウス5匹のそれぞれの脳の小片から1枚 (カバーガラス18 m/m) の圧扁標本を作つて鏡検し, 計5枚の標本中における *cyst* の有無によつて陽性率を求めた。陽性標本1枚中の *cyst* の数は1~3個のことが多かつた。また接種マウスから集めたブール血清の色素試験では1:16以上陽性のものが19.2%で *cyst* の陽性率 (14.9%) よりやや高かつた。これらのことは, われわれがさきに行なつた豚ひき肉からの分離成績 (米谷・横山,

1966) でも同様の傾向が認められた。なお, 信藤はマウス血清の赤血球凝集反応が強陽性を示すときは, 必ず *cyst* がみられるから根気よく数回調べる必要があると述べた。われわれは本調査では, さきの豚ひき肉からの分離試験の経験をもとにこの点を考慮し, マウス血清の色素試験陽性のものについては標本数を増してみたが, 1:16陽性マウス3例中2例からは遂に *cyst* を認めることができなかった。

イヌ横隔膜筋から分離した *Tp* 7株のマウス継代試験では, 7株共に *cyst-cyst* で継代され, 継代によつて増殖型になる株はなかつた。勝部ら (1966 b) はイヌから分離した11株のうち2株はマウスに対し次第に病原性を増し RH 株に近い病原性を示したと述べた。信藤 (1965) は株によつて速かに増殖型に変わるものと病原性の弱いものがあるが, 現在の知識では抗原的に株間の差異を明瞭にすることは難しいとした。また消化法で分離した株のうちマウス脳内 *cyst* 数の多い株でもマウス継代を重ねて病原性の増強しないものがあり, その腹腔液に *Tp* 出現がみられない株もあると述べた。われわれはさきに豚ひき肉から分離した7株についてマウス継代試験を行なつたが, その成績では *cyst-cyst* で継代されるものと *cyst*-増殖型で継代されるものがあり, また最近行なつた屠殺豚からの分離株では, *cyst-cyst* で継代されるものより *cyst*-増殖型で継代されるものの方が多いことを経験した。このように分離 *Tp* 株はマウスに対し病原性に差があるようで, この問題は今後の研究にまつところが多い。なお, 接種マウスで脳内に *Tp cyst* の認められるマウス血清の色素試験では, 花木ら (1963) の成績と同様いずれも高い力価が認められた。

つぎに *Tp* 保有犬の肺, 肝, 脾, 心など臓器の病理組織学的所見は成績で述べたごとく, *Tp* 検出犬群と不検出犬群の間には著しい病変の差はなく, *Tp* 保有犬に明らかに *Tp* 感染に起因すると推測できるような共通的な病変は認められなかつた。*Tp* 症の病理組織学的所見について, 自然感染斃死例の各臓器における病変あるいは種々の動物に対する実験感染例の病理学的所見をもとに多くの見解が述べられている。一般に *Tp* 症の病理組織学的所見として成書に記載されているものは主として急性期あるいは亜急性期のものが多く, 従つてこれらの所見と今回われわれが行なつた *Tp* 保有犬のごときいわば潜伏性感染と見られるものの所見を直接比較することはできない。三木 (1960) はマウス, ラット, モルモット, イヌ, ネコなどを用いて実験的に感染せしめて主として肺の病

変について観察しているが、病変は宿主が急性感染期に斃死する場合と感染に耐えて比較的長く生きのびた場合とでは著しく異なると述べた。われわれの今回の調査では、Tp 症の病理組織学的所見として一般に記載されているような所見には遭遇しなかつた。また信藤(1955)は豚の Tp 症診定上必要な主臓器の病理組織所見について述べたが、その決定的要素は Tp 原虫または cyst の検出であるとした。そして慢性例の大部分では同一材料から Tp が分離されているにもかかわらず切片標本上ではたとえ綿密に検査しても原虫や cyst が確認できない場合が多く、Tp が切片標本で容易に確認できるのは斃死例に限られ、慢性に移行したものと治療を施して軽快した例では定型の Tp を捉えることが困難であると述べた。なお信藤は標本に原虫がみえないからといって Tp 症を否定することはできず、血清学的診断や疫学調査その他を参考として診断を誤らないようにしなければならないとした。勝部ら(1966b)もイヌ、ネコなどからの分離試験において宿主の臨床症状上並びに病理学的所見から顕性の Tp 症を疑うにたる所見は得られなかつたと述べた。われわれの本調査でも横隔膜筋液接種マウスに Tp cyst を認めながら、これら Tp 保有イヌの臓器には Tp 症を疑うにたる病変を認めず、切片標本上でも原虫または cyst を認めた例はなかつた。しかし今回は脳の組織学的検索を行なわなかつたので、その病変を明らかにすることができなかつた。以上のことを総合し、イヌの Tp 不顕性感染例における内臓主臓器の病理組織学的所見は必ずしも一定したものではないと判断された。

まとめ

新潟県下各地のイヌについて色素試験による Tp 抗体保有率の調査を行ない、またイヌにおける慢性感染の実態を知る目的で新潟市および新津市近郊から集められたイヌの横隔膜筋から Tp の分離を試み、併せてこれらのイヌの主要臓器を病理組織学的に検索した。その成績を要約すると次の通りである。

1. 新潟県下各地のイヌ 151 頭について色素試験を試みたところ、1 : 16 以上陽性のもの 42 頭 (27.8%) が認められた。
2. イヌの色素試験では、地域的な差はなく、また性別による差も認められなかつた。しかし年齢が進むにつれて陽性率は上昇する傾向を示した。
3. 外見上健康と思われるイヌ 47 頭の横隔膜筋についてトリプシン消化筋液をマウスに接種して Tp の分離

を試みたところ、7 頭 (14.9%) から Tp が検出された。これら陽性イヌの色素試験は 1 : 4 陰性 1 例、1 : 16 および 1 : 64 それぞれ 3 頭であった。

4. イヌ横隔膜筋 47 頭の各筋液を接種した各マウス群プール血清について色素試験を行なったところ、1 : 16 以上のもの 9 例 (19.2%)、これらのうち Tp cyst の検出されたものは 1 : 16 1 例、1 : 64 2 例、1 : 256 2 例、1 : 1,024 2 例の計 7 例で、1 : 16 の 2 例および陰性 ($\leq 1 : 4$) のマウスからは cyst は検出されなかつた。

5. 分離 Tp 株のマウス脳から腹腔への継代試験では、7 株はすべて cyst-cyst で継代され増殖型に変わる株はなかつた。なお、これらの継代に使用したマウスプール血清の色素試験は 1 : 16~1,024 といずれも高い陽性を示した。

6. Tp 陽性イヌおよび対照の Tp 非分離犬の肺、肝、脾、心などの病理組織学的所見は、Tp 陽性犬においても Tp 感染に由来すると推測できるような共通的な病変はなく、また Tp 陽性群と非分離群の間に明らかな病変の差も認められなかつた。

イヌ血清の採取については、県下各保健所のご協力をいただき、組織標本の製作は新潟県衛生研究所臨床病理課新保技師を頼り、また病理組織学的所見については県立ガンセンター新潟病院研究部長薄田七郎博士に御指示、御指導をいただいた。付記して謝意を表する。

本研究の要旨は昭和 41 年 10 月 5 日第 26 回日本寄生虫学会東日本大会において発表した。

文献

- 1) Cole, C. R., Prior, J. A., Docton, F. L., Chamberlain, D. M. and Saslaw, S. (1953) : Toxoplasmosis III. Study of families exposed to their *Toxoplasma*-infected pet dogs. Arch. Int. Med., 92 (3), 308-313.
- 2) Feldman, H. A. and Miller, L. T. (1956) : Serological study of toxoplasmosis prevalence, Am. J. Hyg., 64 (3), 320-335.
- 3) Gibson, C. L. and Eyles, D. E. (1957) : *Toxoplasma* infections in animals associated with a case of human congenital toxoplasmosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 6, 990-1000.
- 4) Gibson, C. L. and Jumper, J. R. (1960) : The prevalence of canine toxoplasmosis in Memphis, Tennessee. J. Parasit., 46 (5), 559-565.
- 5) 浜田輔一(1951) : 犬の *Toxoplasma* 自然感染例。

- 日獣誌, 10 (3-4), 127.
- 6) 花木琢磨・佐藤卯三郎・西村豊・信藤謙蔵(1963): 豚のトキソプラズマ病における皮内反応と原虫保有の關係および無症状豚から分離されたトキソプラズマ株の性状について. 農林省動薬検年報, 3, 69-79.
 - 7) 長谷川秀治・常松之典・田中信男(1954): トキソプラズマの研究 I. 普通人および動物のトキソプラズマ抗体保有率について. 日細誌, 9, 455-458.
 - 8) 池上竹二・徳富剛二郎(1966): 牛・犬および豚からのトキソプラズマならびに猪肉胞子虫の検出成績. 日獣誌, 28 (学会号), 515.
 - 9) 石井俊雄・小林昭夫・熊田三由・小宮義孝・小菅保孝・鳥山祐之・宮崎祐一・野田強・小島健亮・石川栄二・田中延吉・村田春義・益田寛・広瀬静夫・広瀬喜久・鈴木秀人・水谷一也・河合晴二・早崎行雄・藤井勇(1966): 横浜地区における犬および猫のトキソプラズマ(色素試験)抗体保有率, とくに臨床症状との関連について. 日獣会誌, 19 (1), 3-1.
 - 10) Jacobs, L., Milton, M. L. and Cook, M. K. (1955): Observations on toxoplasmosis in dogs. J. Parasit., 41(4), 353-361.
 - 11) 勝部泰次・萩原敏且・上田雄幹・新井敏子・滝沢康江・今泉清(1966 a): 犬, 猫および人の横隔膜筋肉からのトキソプラズマの分離について. 国立予防衛生研究所年報, XIX, 昭和40年度.
 - 12) 勝部泰次・萩原敏且・上田雄幹・今泉清・花木琢磨・信藤謙蔵(1966 b): 犬, 猫及び人の横隔膜筋よりの *Toxoplasma* の分離について. 日獣誌, 28 (学会号), 454-455.
 - 13) 小池保(1958): イヌにおけるトキソプラズマ感染実験の研究 I. 臨床症状, parasitemia ならびに抵抗性について. 日新医学, 45, 208-216.
 - 14) 小池保・辻山タカ子・瀬良長三郎(1959): 頭痛及び微熱を主訴とする *Toxoplasma* 症の1例及び分離株の性状 イヌから感染したと思われる小児 *Toxoplasma* 症. 小児科診療, 22, 1380-1385.
 - 15) 小池保(1960): イヌにおけるトキソプラズマ感染実験の研究 2. 色素試験と補体結合反応との比較. 日新医学, 47, 322-336.
 - 16) 米谷武士・横山政徳(1966): 市販豚ひき肉からの *Toxoplasma* の分離. 寄生虫誌, 15(2), 110-115.
 - 17) 松林久吉(1963): トキソプラズマ. 日本における寄生虫学の研究, 3, 1-43.
 - 18) 松元陽郎・小池保(1957): イヌにおけるトキソプラズマおよびその他の原虫類の検索. 日新医学, 44, 149-151.
 - 19) 三木太郎(1960): 実験的トキソプラズマ症における肺病変の病理組織学的研究. 大阪医大誌, 20, 817-826.
 - 20) Miller, L. T. and Feldman, H. A. (1953): Incidence of antibodies for *Toxoplasma* among various animal species. J. Inf. Dis., 92, 118-120.
 - 21) 村上一・上木英人(1958): 東京都における野犬のトキソプラズマ抗体保有率について. 日獣会誌, 11(9), 392.
 - 22) 信藤謙蔵(1965): トキソプラズマ症とその診断. 日本動物薬事協会シリーズ 1.
 - 23) 大越伸・高橋剛男・石井俊雄・薄井万平・友田勇・福井正信・板垣博(1955): 犬および猫のトキソプラズマ症の臨床所見. 日獣会誌, 10(10), 472-473.
 - 24) Otten, E., Westphal, A. and Kajahn, E. (1951): Klin. Wschr., 29, 343-346. 9) から引用.
 - 25) 篠川至・米谷武士・横山政徳(1964): 新潟県におけるトキソプラズマ症の検索. その 1. 昭和31年9月から35年9月までの成績. 新潟衛研業報, 106.
 - 26) 佐藤平二・佐伯百合夫・武藤健・大石勇・小林茂雄・宮本讓(1958): 家畜の *Toxoplasma* 症に関する研究. I. 豚, 犬よりの *Toxoplasma* の分離. 日獣誌, 20(5), 213-222.
 - 27) 田中宏・小島誠司・米谷武士(1958): トキソプラズマ症の研究. II. イヌおよび家畜の色素試験成績. 医学と生物学, 48(4), 142-146.
 - 28) 徳富剛二郎(1967): 私信.
 - 29) 常松之典・柳沢勝治・直江敏郎・斉藤正雄・小倉学・仁木和三郎・美甘正文(1958): トキソプラズマの研究. III. 犬の実験的トキソプラズマ症. 東京医事新誌, 75(4), 191-196.
 - 30) Yamamoto, S., Ishida, K., Fujiwara, K., Ito, S. and Ueda, K. (1955): Studies on toxoplasmosis in animals. II. Report on two canine cases. Jap. J. Vet. Sci., 17, 79-85.

Abstract

THE PREVALENCE OF CANINE TOXOPLASMOSIS IN NIIGATA PREFECTURE,
JAPAN, WITH SPECIAL REFERENCE TO ISOLATION OF *TOXOPLASMA*
FROM DIAPHRAGM MUSCLE SAMPLES

TAKESHI MAITANI

(*Department of Medical Zoology, Niigata University, School of Medicine, Niigata, Japan*)

MASANORI YOKOYAMA

(*Public Health Laboratory, Niigata, Japan*)

A total of 198 unlicensed stray dogs or rejected ones have been examined in their infectivity with *Toxoplasma* by means of the dye test and of research of the brain after the intraperitoneal inoculation of the following test material into mice. The outlines were as follows :

1) In the first series of the study made in 1965, sera from 151 dogs were dye tested. Antibodies were demonstrated in 42 (27.8%) out of 151 dogs at 1:16 or higher serum dilutions. Principally, there was no difference of dye-test-titer according to the varying sexes or habitats of dogs. The positive rate in the test, however, has reasonably become high in parallel to the age-increase of dogs.

2) In the second series, during 1965 to 1966, dye test was examined in sera from 47 dogs, and the dog's diaphragm muscle suspension by individual, after homogenization and treatment with hydrochloride and pepsin, was inoculated intraperitoneally into mice to discover the protozoa from the mouse brain. Of 47-muscle samples, 9 (19.1%) produced the dye test antibodies (1:16 or higher) in the mice after the inoculation. *Toxoplasma* was isolated from 7 of these 9 samples, and all the strains isolated during this study were of so much low virulence that the cyst form only became evidenced in the brain of mice inoculated intraperitoneally the infected materials, and that the mice did not die of generalized infection with the proliferative form though the latter form, of course, never appeared practically. Histopathologically, there was no significant difference in various organs between the infected- and uninfected-dog groups.