

## トキソプラズマ症の疑のある200名よりの 虫体検出と検出方法について

中山 一郎

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

(1967年9月28日 受領)

トキソプラズマ(以下Tpと略記す)症は現在主として免疫血清学的方法、即ち色素試験、感作血球凝集反応(以下HAと略記す)によって診断される。この診断の確実化のためTp虫体の分離が行われるが、虫体検出の容易でないことは衆知の事実である。ヒトから虫体を検出するとき、材料として多くの場合髄液が使用されるが、Tpは本来細胞内寄生の原虫であり、髄液中に游出する頻度は少ない。また材料として使用される biopsy による摘出臓器の一小片中に虫体の存在する頻度もまた少ない。通常これらの材料を健康マウス腹腔内に接種して虫体の増殖をはかる方法が用いられるが、最も感受性の高い動物の一つと考えられるマウスにおいてさえ、必ずしも適合して虫体が増殖するとは限らない。しかしわが国に於て松林ら(1956)が確実な症例を報告して以来、既に100例近い症例から虫体が分離、検出されている。

1963年2月から1967年6月までの間に主として慶応病院とその関係病院から200例の材料を入手し、Tpの検出、分離を試みたので報告する。なお全例とも臨床上何らかのTp症の疑のある患者であって低年層のものが大部分を占めた。

### 実験材料及び方法

被検材料は患者の髄液、あるいは剖検、biopsyなどで得た組織片ですべて無菌的に採取し、採取後多くものは1~2時間以内にマウス腹腔内に接種した。最も遅いものでも24時間以内に接種した。髄液、羊水は1,500rpm、5分遠心沈澱し鏡検して虫体の検出につとめ、再浮游後直ちに各マウスに0.5-2.0ml宛腹腔内接種した。他臓器は生食水にて懸濁液を作り可成り濃厚な乳剤として、この1.0-2.0ml宛をマウス腹腔内接種した。

実験動物は多く市販の雑系マウスを使用し、一部のHAを検したマウスは凡て当教室に飼育繁殖させたICR

マウスを使用した。体重はすべて20g前後であった。

各例とも大部分6匹のマウスを用い、前記材料を接種した。増殖速度の早い強毒株と遅い弱毒株検出の目的でこれらマウスを2群に分けた。第1群は10日間隔にて殺し、全マウスの腹腔内における栄養型虫体の有無を検し、それらの肝、脾を摘出し一括して生食水5mlを加え懸濁液を作り、次代3匹に略等量宛腹腔内接種した。このようにして継代4代迄続け、4代目マウスは6週後殺して脳のスistol検出を試みた。この間死亡したマウスについては接種1~2日後死亡したものを捨て他は前記同様継代検索した。第2群は接種後6週間放置して殺し脳内スistolの有無を検し、全脳を摘出、一括して生食水5mlにて乳剤を作り、これまた略等量宛次代3匹の腹腔内に接種した。その後6週、これらマウスの脳内スistolの有無を検した。3代以後は検索しなかった。接種後6週迄に死亡したマウスは死亡時期によって腹腔内及び脳内の虫体の検出を試み、死亡マウスの肝、脾を健康マウスに再接種して虫体の検出につとめた。

上記の検出法のほかに、一部について著者(1967)の提唱した方法によって検出を試みた。これは材料を接種されたマウスにTp免疫が形成されたか否かを目標とするものである。即ち被検材料の接種をうけたICRマウスは接種後1カ月放置して眼窩より採血し花木・信藤・佐藤法(1963)によりHA値を検した。同時に強毒RHの浮游液0.3ml 3,000虫数の攻撃接種を行い、健康マウスにRHを接種した対照と比較して延命、生残を検した。接種後1カ月迄の間に死亡したマウスは前記の方法により肝、脾を健康マウスに接種して虫体の検出を試みた。

### 実験成績

被検材料は第1表に示すもので、材料数が被検例数よ

り多いのは、1検体から2個以上の材料を採取したもののあったためである。

被検者の年齢は第2表に示した。胎児及び死産児は0歳とした。その性別は男117例、女83例であった。第3表は被検者の病名又は症状を臨床的、病理組織学的診断によって分類表示したものである。

第1表 被検材料

髄液	168	(8)
脳脊液	16	
淋腺	9	
肝臓	9	
脾臓	2	
髄膜	2	
羊膜	2	
胎盤	1	
喀痰	1	
眼房水	1	
計	210	(8)

(註) 括弧内数字はTpの検出例を示す。

第2表 被検者の年齢

0-6月	72	(1)
-1年	36	(1)
-2"	18	(1)
-3"	9	
-4"	5	
-5"	7	(2)
-10"	15	(1)
-20"	6	(1)
-30"	16	
-40"	7	
-50"	4	
-60"	3	(1)
-70"	2	
計	200	(8)

(註) 括弧内の数字はTpの検出例を示す。

第3表 被検者の病類別

脳水腫	50	(1)
神経麻痺、障害	48	(3)
眼疾	17	(2)
髄膜疾患	11	
奇形	10	
頭痛	9	(1)
脳腫瘍、変性	6	
精神薄弱	4	
半脳児腫	4	
淋巴頭症	4	
小頭症	3	
発育自然障害	3	(1)
其の流産他	2	
	29	
計	200	(8)

(註) 括弧内の数字はTpの検出例を示す。

被検者総数200名からのTp分離、検出を試みた結果、8名を除いて他はすべて陰性であった。分離、検出例は第1、2及び3表に表示したが、これを総括して第4表に示した。

第1~3例はすでに著者(1964)が報告したが、すべてマウス継代1~2代に虫体を検出し以後虫体検出不能に終わった。第4、5例も著者ら(1966)が既に報告した例で共に強毒株が分離され、現在マウス継代200代以上に及び強毒RH株と共に実験に使用されている。

その後以下記載する3例から虫体が分離された。第6例は可成り広範囲の右網膜剥離のある比較的限局性の病巣をもった56歳男子である。HA値は1:16,384の高い値を示し、その5日後髄液8mlを採取して虫体の検出を試みた。髄液遠沈の沈査を直接検鏡したところ1スライド中に2~3個の遊離増殖型虫体を検出した。髄液を再浮游させ1ml宛8匹のマウス腹腔内に接種した。このうち3匹は1週間隔にて6代まで継代し、残り5匹は1月放置しHAを検しRHの攻撃接種を行った。1週

第4表 トキソプラスマ検出例

番号	年齢	性別	臨床病名	被検材料	Tp検出法	
					10日継代	6週継代
1	6月	♀	発育障害 (8週後再検)	髄液	(-)	1代C(+)
2	9日	♂	脳水腫	"	1, 2代 Tr(+)	(-)
3	8才	♂	頭痛	"	(-)	2代C(+)
4	1年4月	♀	瘰癧	"	2代 Tr(+)	(-)
5	20才	♂	右側同名半盲兼脳石灰化巣	"	(-)	2代以後 Tr(+)
6	56才	♂	右網膜炎	"	1~3代 Tr(+)	1代 Tr(+)
7	18日	♂	瘰癧	"	1代 Tr(+)	(-)
8	5才	♂	てんかん	"	1, 2代 Tr(+)	(-)

(註) Cはシストを示し、Trは増殖型虫体を示す。

第5表 被検材料接種マウスの接種1カ月後のHA値

例数	患者 HA(+)マウスをもつ例数	被検材料接種 マウス数	陰性	マウスのHA値		
				64	256	1024
42	8*	143	132	3	7	1

\* 9例中2例からTp虫体を検出す。

間隔例では初代マウス腹水の少量停滞が認められ1スライド中に数個の虫体がすべてに検出され、それらマウスの肝脾の継代をうけた、2, 3代には検出虫数減じ以後検出不能となった。6代マウス3匹は1カ月放置しHAを検したところすべて陰性でRH10,000コの攻撃接種で対照と同様に死亡した。よって継代の途次虫体死亡し継代不能となったものと考え。最初髄液の接種をうけた他の5匹は髄液接種後18日及び27日にそれぞれ1匹宛死亡した。18日死亡のマウス腹水中には頗る少数の増殖型虫体が認められたが、脳内のシスト検出は不能であった。27日死亡のものからは虫体は全く認められなかった。1カ月後まで生存の3匹のHA値を検したところ、1匹は陰性で他は1:64及び1:256の値を示したが、RH12,600虫数の攻撃でいずれも対照と同じく死亡し脳にシストの検出は不能であった。この患者のHA値が当初1:16,384を示したので直ちに加療したところ、加療後1週、2週及び3週後に検したHA値はすべて1:1,024であった。この例は眼科領域で興味があるので、追って詳細について発表される予定である。

第7例は生後18日の瘻癰を主訴とする男子の髄液を材料とした。髄液0.5ml宛4匹のマウス腹腔内注射したところ1匹は接種11日後に死亡し少量の腹水停滞が認められた。この腹水中に400X鏡検にて1視野数個の増殖型虫体が認められ、更にギムザ染色にて中央に存する大きな核と虫体両極が比較的濃染した定型的虫体を証明し得た。このマウスの肝、脾を3匹のマウスの腹腔内に注射したところ1カ月後も元気に生存し、この間虫体の検出は不能であった。1カ月後のこれら3匹のHA値は陰性で同時に行ったRH3,000虫数の攻撃接種で対照と同じく8日迄に死亡した。再接種に使用された肝、脾中の虫数少く接種をうけたマウス体内で虫体は増殖せず死亡したものと思われる。なお初め髄液の接種をうけ1カ月後迄生存した3匹のHA値も陰性でRH3,000の攻撃で対照と同じくすべて死亡した。この患者のHA値は虫体検出の材料採取後11日、17日に検したが、それぞれ陰性及び1:64と低かった。この患児の母は患児から虫

体を検出した日より12日後はHA値1:256であったが17日後には1:4,096と上昇した。これは妊娠時に母にTp初感染又は再燃があって胎児への虫体移行が認められ、その後抗体値の急激な上昇をみたものと考えられる。母のHA値1:4,096の時、母の髄液を採取して虫体検出を試みたが陰性であった。この兄のHA値も同時期に1:1,024を示した。患児からの虫体は生後18日採取の髄液から検出されたが、生後7, 54, 66日の3回採取された髄液からは検出されなかった。

第8例は癩癰の診断をうけた5歳の男子である。HA値陰性の時髄液採取し0.7ml宛3匹のマウス腹腔内に接種したところ、1匹は接種6日後に死亡した。死亡マウスの腹腔から極めて少数の増殖型虫体様のものを検出した。このマウスの肝、脾を次代3匹に腹腔内接種したが、接種4日後に2匹死亡した。このうち1匹の腹腔内より増殖型虫体少数を検出した。残りの1匹は1カ月後迄生存しHA値1:64を示したが、RH3,000虫数の攻撃で対照と同じく死亡した。虫体検出マウス脳を3代3匹に接種したがすべて1カ月迄生存し、この時のHA値は陰性でRH攻撃によって対照と同じく死亡した。初め髄液の接種をうけた3中2匹は1月迄元気に生存しHA値陰性でRH攻撃に耐過しなかった。200例中42例について被検材料をICRマウスに接種1カ月後にマウスのHA値を検し同時にRHの腹腔内攻撃接種(大部分は3,000虫数)を行った。このうち8例はHA値陽性を示した。この8例中2例は接種1カ月後迄に死亡したマウスからTp虫体が検出されたのであった。42例からの材料の接種をうけたICRマウスは143匹であって、このうち132匹はHA値陰性であった。残り11匹が陽性値を示した。即ち1:64が3匹、1:256が7匹、1:1,024が1匹であった。このうち1:64の2匹と1:256の1匹は上述のTp検出例からのものである。1:256を示した7匹のうち3匹は同一患者からbiopsyにより摘出した淋巴腺を材料として接種されたマウスのHA値である。この患者は両側頸部淋巴腺が小豆大に約10個触知され圧痛殆どなく体温38°C前後であり、全身状況良好

な63歳の男子であった。患者血清のHA値は1:1,024であった。淋巴腺の接種をうけたマウス3匹は腹腔内から増殖型虫体検出されず1カ月後RH 3,000虫数の攻撃で対照と同じく8日迄に死亡し腹腔内に多数の攻撃株増殖型虫体を認め脳にはシストが検出されなかった。

他のHA値陽性例5は3~5匹の最初材料の接種をうけたマウスのうち何れも各1匹に認められたものであった。これらマウスはすべてRHの攻撃に耐過せず対照と同じく死亡した。

## 考 察

ヒトの材料からTpを検出するとき、急性症で而もその感染株がマウスに強毒性を呈する場合さして困難ではないが、慢性症で増殖性の弱い株による感染者から虫体を検出することは頗る困難である。急性症の場合、一般に虫体はいろいろな細胞に侵入して増殖し細胞を破壊し血行を介して更に各臓器に侵入するので検出は容易であろうが、この時期は短く而も患者は不顕性感染をおこすことが多いのでこの時期を捉え難い。實際上慢性感染者からの検出が問題となる。わが国におけるヒトからの最初の確実なTp検出は松林ら(1956)によってなされた。これは3歳の脳炎男子の脳切片標本からシストを検出したものであって患児の生前の虫体検出は不成功に終わっている。このように確実にTp寄生のあるヒトから採取された髄液中からでも虫体検出は不能であった。Jacobsら(1950)は血虫症について動物実験を行いTp接種後の日数の少ない時期には血中に虫体の出現を認め日数を経過すれば虫体は血中に極めて稀に出現し、しかも出現虫数は少なく、その出現期間も短いといっている。その他の研究者及び著者も同様な成績を得ている。この事実はTp感染によって宿主に産生される抗体のため増殖が抑圧されることに起因すると考えられる。慢性感染のこのような環境下で被検材料中から虫体を検出することは頗る困難であるのは自明の理である。しかも被検材料は宿主のほんの一小部分であり、更に材料中の虫体が接種されるマウスに必ずしも適合し増殖するとは限らない。本報告第6例をみてもわかる通り、当初患者髄液の接種をうけて1カ月放置された5匹中観察期間途中で死亡した2匹中1匹からTp虫体を証明し得たが、生存した3匹のマウスでHA値陽性のものからでも虫体を証明し得られなかった。これは初め接種された髄液中の虫体がマウス体内で短期間生残したか、あるいは一時的に多少増殖後死亡したためにHA値陽性となったが、RH攻撃に

耐過しなかったもので宿主にその虫体が適合せず死亡した例と考える。また第7例は虫体検出の材料を採取した時期と前後して他に計3回材料を採取し虫体の検出につとめたがすべて陰性であった。このように材料中に虫体の含まれる機会は少ないものである。虫体検出のため通常数代のマウスに継代接種されるが、これまた宿主不適合のためや産生された抗体のために虫体が観察期間中に死滅し、検出不能になることが多い。Hiraoka(1957)らがTpを分離、検出して以来、数多くの検出報告があるが継代して株の保持された例は僅少で多くは数代のマウス継代で絶えている。本報告に於ても虫体の検出された例は200例中8例であり、ただ2例において200代以上の継代保持をみたにすぎなかったが、継代可能株の分離は寧ろ高率に検出されたものと考えられる。

前述のように虫体検出の機会は少ないためTp症の診断は免疫血清学的方法によってヒトの抗体値を検して陽性の場合、Tp症とする傾向がある。マウスよりTp感受性の弱いと考えられるヒトにTpが侵入した場合、一時的に増殖しヒトに虫体が不適合のためや産生された抗体のために、虫体が死亡することは当然考えられる。その結果宿主にTp生虫体が寄生しないで抗体値陽性となることも考えられる。Beattie(1963)及び他の研究者は死虫ワクチン接種によって抗体の産生を認めた。著者(未発表)も動物実験で死虫体ワクチンの数回接種によってHA値陽性を認め、しかも長期に亘り陽性値を存続する事実を認めている。したがってヒトの抗体値陽性が直接生虫体寄生を裏づけるものとは限らない。本実験の一部について実施したヒト材料接種マウスの接種1カ月後のHA値陽性で強毒RH株の攻撃に耐過せず虫体を検出されなかったものは、接種材料中に生虫体が含まれているものと思われる。この点について少しく考察を試みると、著者の実験成績(未発表)では多数のTp死虫体をただ1回接種したときは、其後のHA値はほとんど陽転しなかったが、数回以上続けて死虫体接種した後には陽転し長期間にわたって陽性値を示した。そこで、この場合、ヒトからの材料中に少数の虫体が含まれ、これがマウス体内で多少増殖し短い期間生存した後に産生された抗体の影響をうけるか、マウスにその虫体がよく適合しないために死亡したものと考えられる。

したがって、マウスにおける陽性値は単にヒトの血清抗体値陽性ということより遙かに有意義と考える。併し材料中に虫体の存する機会は前述の通り少ないものである。200例中42例について材料接種マウスの1カ月後

のHA値を検し8例に陽性マウスを検出し得た。この8例中2例は虫体検出された材料の接種をうけたもので問題ないと考えられが、残りの6例も前述の理由からTp生虫体が材料中に存したすこぶる濃厚な疑がもたれる。この実験に使用されたマウスはICRマウスで当研究室で厳重な監理下で飼育増殖したものであって、材料接種前のHA値については各個に検索しなかったが、かなり広範囲に検索した範囲内では陽性マウスは1匹もなかったことから凡て陰性であったと考えられる。

ヒトにTpの感染があっても虫体の検出される機会の少ないことから本成績をみて、疾患、性別及び年齢と感染との関係を論ずるわけにはいかない。

### 結 論

1963年2月から1967年6月までの間にTp症の疑のある200例について虫体の検出を試み8例から虫体を検出し得た。この8例は発育障碍、脳水腫、頭痛、右側同名半盲兼脳石灰化巣、右網膜炎及びてんかんの各1名と痙攣2名の髄液を材料として検出し得たものであった。このうち6例はマウス継代1～3代の腹腔又は脳から虫体検出され、4代以後の検出は不能であったが、2例よりの分離株は既に200代以上継代を続けマウスに強毒性を示した。

200例中42例についてマウスに材料接種後1カ月のHA値を検したところ8例からHA陽性マウスを得たが、これらマウスはRHの攻撃接種に耐過せず対照と同じく死亡した。Tp株のマウスへの適合性から考えて、HA陽性マウスは接種材料中にTp虫体の存在した疑が濃厚にもたれる。被検材料中に虫体の出現する機会は寧ろ少ないが、Tpの生物学的性状殊にマウスへの適合性とマ

ウス体内に産生される抗体の2点から考えて、被検材料接種1カ月後のマウスHA値陽性を示すことは診断の一助たり得るものと考えられる。

終りに御校閲、御助言を賜わった松林久吉教授に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Beattie, C. P. (1963): Immunity to *Toxoplasma*. In: Immunity to protozoa. Edited by Garnham P. C. C., Peirce, A. E. and Roitt, I. Blackwell Scie. Pub. Oxford, 253-258.
- 2) 花木琢磨・信藤謙藤・佐藤卯三郎(1963): トキソプラズマ血球凝集反応のBDB結合、凍結乾燥感作血球(B抗原)の創製について. 第23回日本寄生虫東日本支部大会記事, 10.
- 3) Hiraoka, T. (1957): A study of toxoplasmosis. Report 1. The first 5 cases of human toxoplasmosis in western Japan. *Kyushu J. Med. Sci.*, 8, 41-56.
- 4) Jacobs, L. and Jones, F. E. (1950): The parasitemia in experimental toxoplasmosis. *J. Inf. Dis.*, 87, 78-89.
- 5) 松林久吉・瀬長良三郎・大塚博太・渡辺陽之輔・田崎光・小沢明・鏡味数行・浜野健二(1956): トキソプラズマ症の研究(2)(トキソプラズマ性脳炎症例). *日本医事新報*, (1674), 23-26.
- 6) 中山一郎(1964): 小児よりの *Toxoplasma* 検索. *慶応医学*, 41, 519-522.
- 7) 中山一郎・伊東俊一・田仲其宏(1966): 虫体分離により確認したトキソプラズマ症の2例. *慶応医学*, 43, 489-494.
- 8) Nakayama, I. (1967): A method of detection of *Toxoplasma* infection in man. *Jap. J. Parasit.*, 16, 69-76.

**Abstract**

SURVEY ON TOXOPLASMOSIS IN 200 PATIENTS SUSPECTED OF  
TOXOPLASMOSIS WITH SPECIAL REFERENCE TO THE  
METHOD OF ITS DETECTION

ICHIRO NAKAYAMA

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

In the period from February 1963 to June 1967, examinations of spinal fluid and other organs of 200 patients more or less suspected of toxoplasmosis were carried out for the detection of *Toxoplasma*-infection. These materials of patients were intraperitoneally inoculated into mice and serial transplantations from mice to mice were carried out every 10 days in one series and every 6 months in another. Besides this, mice inoculated with the materials were examined for HA titer and protection against challenge infection with RH-trophozoites one month after the inoculation. The results were as follows.

1) *Toxoplasma* organisms were found from spinal fluid of 8 cases. They were: each one of patients, being in retarded development, having headache, hydrocephalus, homonymous hemianopsia with cerebral calcifications, chorioretinitis and epilepsy, and two cases of patients having convulsions.

2) Forty two among 200 cases were examined for HA titer of mice inoculated with the human materials. The mice showing positive titer were found in 8 of them. All these mice, however, showed no protection against the challenge with RH-trophozoites. Among these 8 positive cases, two were shown to have *Toxoplasma* organisms. Another 6 cases were also strongly suspected of toxoplasmosis.