

## 実験的急性トキソプラズマ症の治療に対する コーチゾン使用の影響

中山一郎 青木豊治

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

(昭和47年3月13日 受領)

ステロイドは炎症およびアレルギー反応の抑制, 抗リウマチ作用, 解毒作用などの種々の薬理作用を有するため, 臨床上演範囲の疾患に使用され, しばしば著効を奏することがある。しかし, ACTH (adrenocorticotrophic hormone) を含めてステロイドを感染症の治療に化学療法剤と併用すべきか否かについては議論が分かれている。すなわち, これらのホルモン剤に消炎作用のあることは事実であるが, 感染症そのものの経過に有効に作用するかは疑問であるという意見がある。これらのホルモン剤を長期間投与すれば抗体産生能力の障害が起こることは注意すべきことである。現実においては内科, 整形外科領域では消炎を目的として, 主としてリウマチ性疾患に, また, 眼科領域では感染症を含める炎症の消退を目的としてステロイドの内服, 球結膜下注射は常用されている。

トキソプラズマ (Tp) がヒトに感染したとき, まず全身感染症を起こすが, 多くの場合, 不顕性感染の状態では虫体は中枢神経系および筋肉内に潜在して長期間生存を続ける。その結果, 産生される Tp 抗体の一般人の陽性率は調査地域年齢および集団によつて差があるが, わが国では20~30%の陽性率が認められる。このような成績から Tp はかなり広範囲に分布していることが推定される。また, 眼科疾患のうちブドウ膜炎, ことに中心性網脈絡膜炎, 黄斑部萎縮性変化の認められる患者のうちにはさらに高率に Tp 感染に起因するものがあると考えられている。このような状況下でのステロイド使用の可否については多数の報告例があるが未だ必ずしも決定的な指針は示されていない。

本文はまずマウスの生死に関して Cortisone acetate (Cort と略記, Merk and Co., Rahway, New Jersey) を連続的に皮下注射した場合の Cort の許容量を決定した。次いで, Tp の強毒および弱毒株虫体による感染マ

ウスに Cort 注射を行なつて, Cort 使用による Tp 虫体の増殖に及ぼす影響を観察した。その後, Macrolide 系抗生物質の Acetylspiramycin (Asp) と Cort の併用による実験的急性 Tp 症の治療効果について検討し, ステロイドの影響について観察した。

### 材料および方法

実験動物は当教室で飼育繁殖せしめた体重 $20 \pm 1$  g の ICR マウスを雌雄に分けて性別に関係なく使用した。

Tp 虫体は広く一般に Tp 研究に使用されている強毒 RH 株および弱毒 Beverley 株 (Bev) を使用した。両株とも十数年にわたつて当教室で継代接種によつて保持された株で前者はマウスに対して強毒性を示し, 後者は RH 株に比して遙かに毒性の弱い株である。RH 株虫体は感染3日後のマウス腹腔内に生食水2 ml を注入, 吸引して得られた虫体浮遊液を生食水にて稀釈し所定虫数を含むように調製した。これをマウス腹腔内に接種して実験に供した。Bev 虫体は慢性感染マウスの Bev シストを含む生食水による脳乳濁液を作り, これをマウス腹腔内に接種し, 直後 Cort 2.5mg を大腿皮下に注射した。3日後さらに同量の Cort 注射を行ない, 感染7日後に前記 RH 株体虫を採取したと全く同一方法によつて Bev 栄養型虫体を採取し, 所定虫数を含むように稀釈して使用した。

ステロイドとして Cort を用い, 滅菌生食水にて所定の濃度に稀釈して, 大腿皮下に3日間隔で左右交互に注射を継続した。

抗 Tp 剤としては Asp を使用した。本剤は Spiramycin の構造の一部の hydroxyl 基を acetyl 化して得られた誘導体である。N/10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を24%添加蒸溜水に純末 Asp の所定量を加え乳鉢にて乳剤化して調製した。使用の都度よく攪拌して1日量 0.5ml の乳剤中

定の Asp 量を含むものを Tp 接種と同時に胃内に直接注入投与し、1日1回観察期間中連続して投与した。Asp は酸性の Medium にのみ可溶性であるが、使用量多きため完全に溶解せず乳濁液とし振盪して使用した。

Cort 注射後の Tp 増殖状況を検するため、Tp 接種後 Cort の継続注射をうけたマウスは所定日に殺して、直後腹腔内に生食水 2 ml を注入し腹部を軽くマッサージして直ちに腹腔液を吸引採取した。この腹腔洗滌液は 20ml 容量の小ビーカーに入れ、ピペットにて十分攪拌して生鮮のまま血球計算盤にて虫数および腹腔内のリンパ球を除く大細胞数（主として大食球）を算定し、1 ml 中のそれらの数の平均値を表示した。なお、虫数が多数の場合は洗滌液を生食水にて 5 倍稀釈して算定を行ない正確を期した。

### 実験成績

#### 1. Cortisone 注射の許容量

実験動物に Cort を使用するので Cort をマウスに 3 日間隔にて継続注射後、マウスが元気に生存を続ける Cort 量を決定する必要がある。使用の Cort の量ごとにマウスを 3 群に分けて検し、それぞれ計 20 匹についての成績を表示した（第 1 表）。稀釈した Cort 量は 0.1

Table 1 Effect of cortisone on survival of mice

Daily dose of cortisone	No. of mice exam.	No. of mice survived				
		1wk.	2	3	4	5
0.25 mg.	20	20	19	19	19	19
0.75 "	20	20	17	15	12	7
1.50 "	20	20	15	6	3	1

Cortisone was injected into mice subcutaneously every 3 days for 5 weeks.

ml 中に 0.25mg (約 12.5mg/kg)、0.75mg (約 37.5mg/kg) および 1.50mg (約 75 mg/kg) として、それぞれ所定の間隔にて 5 週間にわたって継続投与した。

Cort 0.25mg 注射例では 20 匹中注射開始後 10 日に死亡した 1 匹を除いて 19 匹が 5 週後元気に生存した。0.75 mg および 1.50mg 注射例では 5 週後の生存数はそれぞれ 7 匹および 1 匹で Cort 注射に起因する多数のマウスの死亡が認められた。以上の成績から Cort 1 回の注射量 0.25mg はマウスの生死に関して  $SD_{100}$  の上限に近い安全量と考えて以下の実験には 3 日間隔にて 1 回の使用量を 0.25mg とした。

#### 2. Cortisone 注射の Toxoplasma 増殖に及ぼす影

響

Tp のマウス腹腔内接種直後 Cort を注射した場合、栄養型虫体の増殖が旺盛に認められることはすでに明らかな事実であるが、Cort 0.25mg/day の 3 日間隔の連続注射による腹腔内虫数の増殖状況の詳細を知るために本実験は行なわれた。

強毒 RH 株の場合：RH 株虫体 500 コを腹腔内接種直後 Cort の注射を開始し、2 回注射後の実験開始 4 日後の 13 匹のマウスについて検した。腹腔洗滌液 1 ml 中の虫数の平均値は  $5.5 \times 10^6$  コであり、対照の Cort を使用しない同数の RH 虫体接種マウス 13 匹の平均虫数は  $1.5 \times 10^6$  であつた（第 2 表）。腹腔内細胞の平均数について前者は  $14.6 \times 10^6$  で後者は  $9.9 \times 10^6$  であつた。すなわち、Cort 使用によつて虫数は Cort の投与を受けない対照より明らかに大であつた。腹腔内細胞数も虫数と平行して多数に遊出されたことを知つた。さらに、Cort 注射を受けた実験開始 6 日および 8 日後の検査においても平均虫数は同様な傾向を示したが、平均細胞数については実験例、対照例とも漸次減少の傾向を示し、ことに 8 日後の成績は両者とも正常マウスの平均数に近接した値を示した。8 日以後は全マウスが Tp 症による死亡のため検査の続行は不能であつた。なお、参考として正常マウス 10 匹の腹腔内細胞数を算定したところ平均  $3 \times 10^6$  であつた。

弱毒 Beverley 株の場合：Bev 株シスト 25 コを含む生食水脳乳剤 0.1ml をマウス腹腔内に接種すると同時に Cort 0.25mg/day の注射を開始し、3 日間隔で 4 週継続注射した。実験開始 1 週後、その間に Cort 3 回の注射を受けたマウス 9 匹の腹腔内栄養型虫体の平均数は  $52 \times 10^3$  で Cort を投与されない対照マウス 9 匹の平均数は  $4 \times 10^3$  であつた（第 2 表）。腹腔内細胞の平均数は前者  $6.5 \times 10^6$  で後者は  $3.8 \times 10^6$  であつた。Cort 注射 6 回を受けた実験開始 2 週後の実験マウス 6 匹の平均虫数は  $10 \times 10^3$  であり、対照マウスでは  $3 \times 10^3$  と減少した。腹腔内細胞数は前者  $9.8 \times 10^6$  に対し後者は  $7.1 \times 10^6$  であつた。Cort 注射を 8 回および 10 回受けた実験開始後 3 および 4 週の検査では実験例および対照例とも顕微鏡下で虫体を検出できなかつた。しかし、腹腔内細胞数は正常の細胞数と比してすべて明らかに多数に認められた。

Bev シストを倍量の 50 コ接種し、Cort を増量して 2.5mg/day とした場合、3 回 Cort 注射後の実験開始 1 週の腹腔内虫数は実験マウス 8 匹の平均は  $812 \times 10^3$  で

Table 2 Numbers of trophozoites and abdominal cells\* in peritoneal fluid\*\* of mice injected with cortisone\*\*\* immediately after the parasite inoculation

Toxoplasma Strain	No. of parasite inocul.	Daily dose of cort.	Duration of treatment	Mean number of			
				Trophozoites		Abdominal cells	
				Exp.	Cont.	Exp.	Cont.
RH	500 troph.	0.25 mg	4 days	$5.5 \times 10^6$ (13)	$1.5 \times 10^6$ (13)	$14.6 \times 10^6$ (13)	$9.9 \times 10^6$ (13)
			6 "	$36.1 \times 10^6$ (10)	$25.6 \times 10^6$ (10)	$8.1 \times 10^6$ (10)	$5.8 \times 10^6$ (10)
			8 "	$43.8 \times 10^6$ (6)	$38.0 \times 10^6$ (6)	$4.7 \times 10^6$ (6)	$3.6 \times 10^6$ (6)
Beverley	25 cysts	0.25 mg	1 wk.	$52 \times 10^3$ (9)	$4 \times 10^3$ (9)	$6.5 \times 10^6$ (9)	$3.8 \times 10^6$ (9)
			2 "	$10 \times 10^3$ (6)	$3 \times 10^3$ (6)	$9.8 \times 10^6$ (6)	$7.1 \times 10^6$ (6)
			3 "	0 (6)	0 (6)	$5.7 \times 10^6$ (6)	$6.5 \times 10^6$ (6)
			4 "	0 (5)	0 (5)	$10.1 \times 10^6$ (5)	$7.4 \times 10^6$ (5)
	50 cysts	2.50 mg	1 wk.	$812 \times 10^3$ (8)	$18 \times 10^3$ (10)	$4.3 \times 10^6$ (8)	$3.9 \times 10^6$ (10)
Normal mice				—	—	$3.0 \times 10^6$ (10)	

Figures in parenthesis indicate the number of mice examined.

\* Abdominal cells were counted except for small lymphocytes.

\*\* The mice received intraperitoneal injection with 2 ml saline and the fluid drawn back was examined for number of trophozoites and cells per ml.

\*\*\* Subcutaneous injection with cortisone was started at the intraperitoneal inoculation with toxoplasmas and continued to the end of observation at intervals of 3 days. Control mice did not receive cortisone injection and were inoculated with parasites alone.

あり、Cort を使用しない対照マウス 10 匹の平均数は  $18 \times 10^8$  であった (第 2 表)。腹腔内細胞の平均数は前者  $4.3 \times 10^6$ 、後者  $3.9 \times 10^6$  で両者に有意差は認められなかった。

### 3. Acetylspiramycin の虫体の増殖抑圧効果

抗 Tp 剤として Asp が Tp の増殖を抑圧する程度を知るために以下の実験を行なった。まず、RH 株虫体 3,000 コを 3 群のマウス腹腔内に接種し、第 1 および第 2 群は同時にそれぞれ Asp 8 mg/day および 16 mg/day の連続投与を開始し、第 3 群は Asp を投与せず対照とした。その後 3、5、6 および 7 日に前述した方法により腹腔内虫数を算定し、各群 5 匹の平均値を求め図示した (第 1 図)。

Asp の投与を受けなかつた対照マウスでは RH 接種後虫数は急上昇し 5 日には  $90 \times 10^6$  に達し、6 および 7 日には 1 億をわずかに超える虫数に達した。その後の検査はマウス死亡のため不能であった。Asp 8 mg 投与例では 3 日に 27 万コ、5 日に 248 万コと虫数上昇し、これを頂点として 7 日には 62 万コに減少した。Asp 16 mg 投与例では 3 日に 6 万コ、5 日に 36 万コを示し、これまた 5 日を頂点として 7 日には 14 万コと減少した。

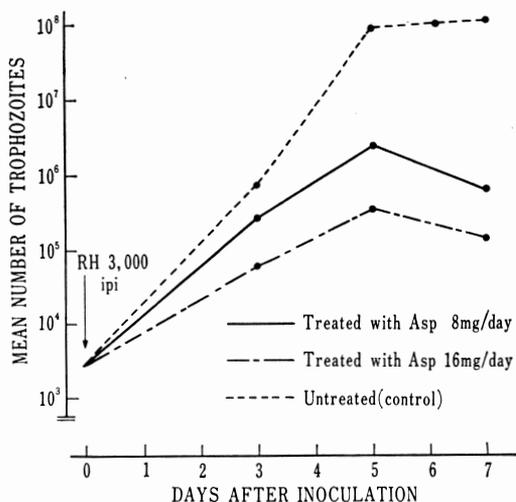


Fig. 1 Mean number of parasites detected in 1 ml of the fluid\* during daily administration of acetylspiramycin

\* Counting of parasites was made on the fluid obtained by washing with 2 ml saline injected into the peritoneal cavity of the mice, and the mean numbers indicated were obtained from 5 mice in each sample.

Table 3 Suppressive effect of acetylspiramycin on the multiplication of RH-toxoplasma in mice

Acetylspiramycin		No. of troph. inocul.	No. of mice exam.	No. of surviving mice					RH-eradicate. mice		
Daily dosage	Period of administration			1 wk.	2 "	3 "	4 "	5 "	No.	%	
8 mg	5 wks.	3,000	30	30	20	7	6	6	6	20	
16 "	5 "	"	30	30	28	27*	26*	25*	28	93	
40 "	1 "	"	20	20(sacrificed)					3	15	
40 "	2 "	"	20	20(sacrificed)					20	100	
Control		"	25	14	0					0	0

\* Mice dying after 3, 4 and 5 weeks of infection were shown to have no parasites by subinoculation. All other dead mice were shown to have parasites by direct examination or subinoculation. Acetylspiramycin was daily administered by stomach tube.

次に1群30匹からなる2群のマウスに RH 株3,000虫数を腹腔内に接種し、同時にそれぞれ Asp 8mgおよび16 mg の5週連続投与を行なつて、マウスの生残数およびマウス内の虫体根絶について観察を試みた(第3表)。

8 mg 投与群では5週後6匹が元気に生存し、これらはすべて虫体を潜有しなかつたことが、脳の再接種の結果証明された。観察期間中死亡した24匹については直接に腹腔から虫体を証明するか、マウスへの再接種で虫体を保有することが証明された。16mg 投与群では25匹が5週後生残し、2週から5週までに死亡した3匹のマウスを含めて28匹(93%)に虫体が根絶されたことが証明された。さらに、Asp 量を増量して40mg/day として1週連用した結果、死亡マウスは認められなかつたが、虫体の根絶は20匹中わずか3匹(15%)に認められたにすぎなかつた。同一量の Asp を2週に延長して投与した場合は20匹のすべてが生残し、すべてに虫体の根絶が認

められた。Asp の投与を受けなかつた対照マウスはすべて2週以内に Tp 症で死亡した。

4. Acetylspiramycin 加療に Cortisone を併用した場合の Cortisone の影響

RH 株虫体3,000コの腹腔内接種を受けたマウスに Asp 8 mg/day を連用し、Cort 0.25mg/day を3日間隔にて連続投与した場合の5週後のマウス生存状況とマウス内の虫体の根絶状況について検討した。また、Cort を注射して得られた Bev 株栄養型虫体3,000コの接種を受けたマウスについても同様に検索した。

RH 株の場合: Asp および Cort の併用の場合、60匹中21匹(35%)が5週生残し、このうち17匹(28%)に虫体の根絶が再接種によつて証明された(第4表)。期間中死亡マウスは直接または再接種によつて虫体の保有が証明された。対照として Cort を注射せず Asp だけ投与を続けられたマウス48匹中16匹(33%)が5週生

Table 4 Survival of toxoplasma-infected mice and eradication of parasites after combined use of cortisone and acetylspiramycin

Toxoplasma Strain	No. of troph. inocul.		Dosage*		No. of mice exam.	No. of mice survived					Tox. eradicate. mice**	
			Asp	Cort		1 wk	2 "	3 "	4 "	5 "	No.	%
RH	3,000	Exp 1	8 mg	0.25 mg	60	57	44	28	22	21(35%)	17	28
		Exp 2	8 mg	—	48	48	39	17	16	16(33%)	16	33
		Cont	—	—	24	14	0				0	0
Beverley	3,000	Exp 3	8 mg	0.25 mg	30	30	30	29	29	29(97%)	20	67
		Exp 4	8 mg	—	20	20	20	20	20	20(100%)	16	80
		Exp 5	—	0.25 mg	30	30	30	30	30	30(100%)	0	0
		Cont	—	—	15	15	15	15	15	14(93%)	0	0

\* Acetylspiramycin was given into stomach daily, and cortisone was injected subcutaneously at intervals of 3 days for 5 weeks.

\*\* Eradication of parasites in the surviving mice was shown by subinoculation of brain tissue into clean mice.

存し、これらすべてに虫体の根絶が認められた。期間中死亡したマウスはすべて虫体の保有が認められた。以上の成績を比較して実験例と対照例の間にマウス生残率と虫体根絶率について少なくとも顕著な差異は認められなかった。さらに対照として Asp および Cort を使用しなかつたマウスはすべて1週余で Tp 症で死亡した。

Bev 株の場合：Asp と Cort を併用した場合、30匹中29匹 (97%) が5週生存した(第4表)。この観察期間中19日に死亡した1匹のマウスは脳の再接種で虫体が証明された。生残した29匹のマウスについて直接脳内シストを検したところ、すべて虫体検出不能であつた。これらの脳を各1匹のマウスに再接種した結果は5匹が4週までに死亡し、すべて虫体が証明され、24匹が生残した。これらの24匹について花木、信藤、佐藤法(1963)による感作血球凝集価(HA)を検したところ、3匹は1024倍、1匹は4096倍陽性ですべて脳からシストが検出された。他の20匹はHA値陰性でシストも検出されなかつた。結局、30匹中20匹(67%)にBev虫体の根絶が認められた。Cortを投与しないでAspの投与を受けたマウス20匹はすべて5週生存し、これらマウスもすべて直接シストを検出はできなかつたので、前記同様脳を各1匹のマウスに接種してBev虫体の保有状況を観察した。観察中2匹死亡し、ともに虫体の保有が認められ、生残した18匹のマウスのうち2匹はHA値それぞれ256倍および1024倍陽性を示しシストも証明されたが、残り16匹(80%)はHA値陰性でシストも検出されなかつた。以上の成績からBev株感染の場合においてもAspを連用したとき、Cortの併用の有無によつて感染マウスの生存数とマウス体内の虫体根絶の状況には少なくとも明らかな差異は認められなかつた。さらに対照としてAspを投与せずCortのみを3日間隔で5週連用したマウス30匹は5週後すべて生残し、直接に脳内からシストが検出された。これらマウスの5週後のHA値は陰性7例、256倍7例、1024倍8例および4096倍8例で陽性率は76.7%であつた。このほか、全く無処置の感染マウス15匹は8日後1匹が死亡し、14匹(93%)は5週後生存した。死亡マウスを含めて生存マウスのすべての脳内シストが直接検出された。5週後生存マウスのHA値は陰性0、256倍2例、1024倍8例および4096倍4例で陽性率は100%であつた。

### 考 察

Spiramycin および Asp の抗 Tp 作用については報告されている(Garinら(1958), Nakayamaら(1963),

青木(1969), 中山ら(1970))。これら薬剤の作用機序は同系抗生物質の一般としてリボソームに結合することで伝令RNAの機能を妨げタンパク質合成の阻害をきたして静的に作用するものと考えられる。本実験の成績からすればAspによる抗Tp効果はAspの投薬量と期間によつて左右される。腹腔内接種によるTp感染と同時に投薬されても虫体の増殖は感染5日後を頂点として上昇し以後低下する。この上昇率は無投薬の対照に比して著しく低いことから、服薬後早く吸収され腹腔内虫体に作用するものと考えられる。

本実験においてステロイドとしてCortを使用したのが、0.25mg/day(約12.5mg/kg)をマウス皮下に注射し3日間隔にて5週に及んだがほとんどすべてのマウスは逆毛、下痢など認められず元気に生存した。Cort量を増量すると多くのマウスは死亡し、その死亡がCort接種に起因することは明らかである。一般にCortの薬用量使用は消炎作用あり、化学療法との併用で劇的な効果をおさめることもある。しかし、一方において、炎症巣への化学療法剤の移行を妨げ感染の増悪をきたし、局所的感染から全身感染に拡大し死亡の経過をとることもある。また、長期間の使用はTpによる抗体産生能の抑圧をきたすといわれている(Metzgerら(1963), Frenkelら(1960), Taliaferro(1857))。本実験にてもTp強・弱毒株感染例ともにCort適量単独皮下注射によつて虫数の増加は明らかであつた。また、抗体価はCort使用マウスに陽性率低く無使用のマウス群との間に明らかに差異が認められたが、個々のマウスの抗体価については必ずしもCortマウスに低い価が示されなかつた。Frenkelら(1966)はTp近縁の*Besnoitia jellisoni*を用いてcortisolを皮下投与した場合、抗体産生は軽く阻止されるが、経口または腹腔内投与では阻止効力は認められず、Corticoidsの皮下使用は細胞性免疫の阻害および破壊をきたすものであろうと考えている。Stahlら(1956)はBev感染と同時にCort1mgを48時間間隔にて3回筋注し、後日少数の生残マウスにRHを再感染せしめると8日以内にすべて死亡したと述べている。この事実はhypersensitivityによる死亡ではなく、Cort注射のため細胞性免疫に影響を与えた結果攻撃虫体の増殖が旺盛となり直接臓器の破壊が起こり死亡したものと推定される。Cort注射を受けずBevで前処置されたマウスは4週後ほとんどすべてRH攻撃に耐過生残する(Nakayama, 1964)。Sabinら(1948)は流血抗体は細胞外虫体には作用し、これを殺滅するが細胞内虫体には作用しないことを述べている。液性抗体は抗Tp

作用を有するが、宿主中における虫体拡散がすべて虫体露出の状態では血流にのつて行なわれるものではないことから考えても宿主内の虫体を全滅するほど強力でないことは当然である。これは中山 (1969, 1970) の連続死虫ワクチン注射後すべて高い値の Tp 抗体価を有するマウスがワクチン注射後短期間に限り RH 攻撃に一部のマウスは耐過するが、すべての生存マウスは Tp 虫体を保有していたことで明らかである。しかし、死虫ワクチンと抗 Tp 剤の併用は抗 Tp 剤のみの投与例と比してマウス生残率に著明な効果を示し、Tp 根絶率についても効果が認められた。

Tp は偏性細胞寄生の *Isospora* 属の原虫で栄養型虫体の増殖は細胞内でのみ可能であるので免疫の主役は液性抗体より細胞性抗体によるものと考えられる。Frenkel (1957, 1967) は Cort 2.5mg 皮下注射を毎週 1 回受けた Tp 慢性感染マウスで高い抗体価の認められるにもかかわらず、一部で細胞内の著明な虫体の増殖と拡散が起これ、この現象はヒトの場合でも起これ得ることと述べている。さらに、脾およびリンパ節から得られた生存のリンパ網内系細胞は Tp 症の免疫の主役を演ずることを isologous のハムスターで証明している。Taliaferro (1957) は Cort にはリンパ細胞殺滅の作用がありリンパおよび骨髄組織中で組織学的変化が認められると述べている。中山ら (1970) は Bev 感染マウスに細胞性免疫を抑制する目的で抗リンパ球血清を使用したとき、抗体価はすべて陽性を示したが、RH 攻撃に対する抵抗性は喪失することを知った。これらの事実は Cort 使用は細胞性免疫の阻害または破壊を意味するものであろう。細胞内免疫機構についてはその本態は未だ不明確であるが、細胞内侵入虫体の代謝産物および endodyogeny による増殖分裂によつて生ずる残体の消化は重要な因子と考えられる。corticoid の作用は細胞質中の Lysosome の膜を安定させ、消化酵素の細胞内遊出を阻害する作用を示し、その結果、細胞性免疫形成阻害が考えられる。

Tp 症の病因として虫体侵入による臓器細胞の直接の破壊とシスト破裂などで出現する遊離虫体に起因する hypersensitivity が考えられる。corticoid の感受性はそれぞれの動物の種類によつて差異が認められるが、Frenkel (1969) によれば corticosteroids の薬用量は一般に獲得免疫よりむしろ hypersensitivity に影響を与え細胞性免疫とは無関係に hypersensitivity を減弱すると述べている。Eichenwald (1952) は慢性 Tp 感染で血虫症の認められないマウスに高い抗 Tp 血清値をもつ血

清を 1 回腹腔内に注射すると短時間後に血虫症と炎症性病ソアの再発が出現し、これらは間もなく消失するが、ACTH または Cort の前処置を受けたマウスにはこれらの発症は認められなかつたと述べている。Frenkel (1960) は Cort に強い感受性をもつ *Besnoitia* 不顕性感染のハムスターに Cort を使用すると早い期間で虫体の増殖による致死的再発が起こるが、これは hypersensitivity によるものでなく獲得免疫の破壊に起因するものであろうといつている。本実験において、マウスに対する弱・強毒株を使用して、Asp のみ投与例と Asp と Cort の併用継続投与を行ない 5 週後のマウスのそれぞれの生残率および Tp 根絶率にとくに著しい差異は認められなかつた。しかも、強・弱毒株感染の両群とも Cort 併用の有無にかかわらずマウスから直接虫体の検出は虫数少ないため不能で再接種によつて始めて虫体の検出されたものであつた。この場合、Asp 投与量はヒトの通常薬用量を上廻る量を使用した。また、Bev 感染マウスに Cort のみ継続使用したとき、5 週後すべてのマウスは何らの発症もなく元気に生存を続け、脳直接検査で多数のシストを検出した。Jacobs ら (1953) は弱毒 113 株を接種し 17 日間 Cort を本実験とほぼ同量皮下に連日注射を続けられたマウスは 7 週後も生存し Tp 症の発症をみなかつたと本実験に一致した成績を報告している。ここで興味あることは本実験にて腹腔内接種を受けた Bev-Cort マウスの腹腔内虫体の出現は 2 週後の検査で顕微鏡下で検出され、3, 4 週後の検査では検出不能であり、Bev のみ接種されたマウスとの間に腹腔内虫体出現期間に差のなかつたことである。中山ら (1961) は無処置腹腔内接種された Bev 感染マウスの腹腔内虫体の直接検出は感染 18 日後に最終の検出があり、腹腔内洗滌液のマウスへの再接種による検出は感染 33 日後が最終であつた。すなわち、腹腔内虫体出現について Cort 使用の有無に関せず短期間腹腔内に存在し、腹腔内細胞数とは関係なくその後は他臓器、ことに中枢神経系、筋肉中に移行する性状を有する虫体である。

本実験では強、弱毒株を腹腔内に接種されたマウスに Cort の皮下注射を継続して虫数の算定と平行して腹腔内細胞 (主として大食球) 数を算定したところ、細胞数は虫数と平行して増多した。この成績を Cort 無投与のマウス群と比較すると投与群に多数の細胞が検出された。これは虫体の増殖に起因する生態反応として腹腔内に遊出する細胞数に相異のあることが認められ Cort の影響によるとは考えられない。Gell ら (1953) は Cort によつて食菌作用に影響を与えないことを Cort 投与、

非投与群のマウス腹腔細胞について明らかにしている。Nakayama (1965) は diffusion chamber を用いて Tp 虫体は正常大食球中でも増殖し大食球を破壊するが、弱毒株感染による免疫マウスからの大食球中では増殖力の弱いことを認めた。

Hypersensitivity と Cort の問題に触れてみたい。従来 Tp 性ブドー膜炎の大部分は hypersensitivity による再発と考えられていたが、鬼木 (1970) は再発の機序を hypersensitivity だけで説明ができないのでステロイド剤単独投与はいきすぎと考えている。Cort の大量投与は免疫獲得を阻止し、慢性感染の再発を招来するが、使用量と使用期間によつては抗体産生を抑圧するよりは hypersensitivity による発症の減弱をきたすと Frenkel (1971) は述べている。Ghosh ら (1965) および Acers (1964) は pyrimethamin, sulfa 剤, Cort の 3 者を併用し、ヒト Tp 性網脈絡膜炎の病ゾーの沈静を認め、Acers は Cort のみで治療し 3 者併用とほとんど差のない治療効果を報告している。Duke-Elder ら (1966) は corticosteroid はアレルギー反応著明なときは確実に有効ではあるが、アレルギー反応に起因することの判定困難のため、最少量を消炎的目的で使用し抗 Tp 剤の併用が望ましいと述べている。

慢性症に関しての Cort の影響は今後検討を続ける予定である。本文の急性期から慢性期に入る早期のマウスを使用しての成績では感染マウスの生残性および Tp 根絶については抗 Tp 剤と Cort 併用群および抗 Tp 剤単独投与群との間に少なくとも著明な差異は認められなかった。

## 結 語

強毒 RH 株または弱毒 Bev 株感染マウスに感染と同時に Asp の胃内注入投与を連日継続し、同時に Cortisone を 3 日間隔にて皮下注射を行なつた。その結果 Cort の Tp 症治療に関する影響を観察し、同時にマウスの Cort に対する耐過性と Asp の抗 Tp 効果を検討し、次の結果を得た。

1) Cort 0.25 mg/day を 3 日間隔にて注射し 5 週に及んだが、マウスの生死に影響なく SD<sub>100</sub> の上限に近い値であることを知り、実験に使用した。Cort 使用による Tp 増殖の速進が確認された。しかし、Bev 感染、Cort 投与 3 週以後の鏡検による検査では Cort 非投与の対照マウスとともに腹腔内虫体の検出は不能であつた。

2) Asp の継続投与による抗 Tp 効果はその投与量

と投与期間によつて左右された。しかも、Asp は服薬後早期から腹腔内虫体に作用して、出現虫数は服薬 5 日を頂点として以後著明に減少した。

3) RH または Bev 虫体の腹腔内接種を受けた Asp. Cort マウス群と Asp マウス群との間にマウス生存率と Tp 根絶率にとくに顕著な差は認められなかつた。また、Asp を投与せず Cort 注射の Bev 感染マウスは 100% 生存し、すべてのマウス脳からシストが検出されたが、感作血球凝集反応陽性率は 76.7% であつた。無処置の感染マウスは 93% が生存し、すべてシスト検出がみられ陽性率は 100% であつた。

4) 以上の成績から、Cort 使用は急性期から慢性初期にわたる Tp 症のマウスに関する限りとくに支障のあるものとは考えられない。

## 文 献

- 1) Acers, T. E. (1964) : Toxoplasmic retinochoroiditis. A double blind therapeutic study. Arch. Ophth., 71, 58-62.
- 2) 青木豊治 (1969) : マウスの実験的急性トキソプラズマ症に対する acetylspiramycin の治療効果について, 寄生虫誌, 18, 190-195.
- 3) Duke-Elder, S. and Perkins, E. S. (1966) : Diseases of the uveal tract. System of ophthalmology, 9, 413-438.
- 4) Eichenwald, H. (1952) : New phenomenon : Production of recurrent parasitemia in toxoplasmosis by the injection of potent specific antisera and its inhibition by corticotropin (ACTH) and cortisone. Am. J. Dis., Child, 83, 73-75.
- 5) Frenkel, J. K. (1957) : Effects of cortisone, total body irradiation and nitrogen mustard of chronic, latent toxoplasmosis. Am. J. Path., 33, 618-619.
- 6) Frenkel, J. K. (1960 a) : Pathogenesis of infections of adrenal gland leading to Addison's disease in man : The role of corticoids in adrenal and generalized infection. Ann. N. Y. Acad. Sci., 84, 393-439.
- 7) Frenkel, J. K. (1960 b) : Evaluation of infection-enhancing activity of modified corticoids. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 103, 552-555.
- 8) Frenkel, J. K. and Lunde, M. N. (1966) : Effects of corticosteroids on antibody and immunity in *Besnoitia* infection of hamsters. J. Inf. Dis., 116, 414-424.
- 9) Frenkel, J. K. (1967 a) : Adoptive immunity to intracellular infection. J. Imm., 98, 1309-1319.

- 10) Frenkel, J. K. (1967 b) : Models of infectious diseases. Fed. Proc. 28, 179-190.
- 11) Frenkel, J. K. (1971) : Pathology of protozoal and helminthic diseases with clinical correlation. 13. Toxoplasmosis. Williams and Wilkins Co. Baltimore., 254-290.
- 12) Garin, J. P. and Eyles, D. E. (1958) : Le traitement de la toxoplasmose experimentele de la souris par la spiramycine. Press. Med., 66, 957-958.
- 13) Gell, P. G. H. and Hinde, I. T. (1953) : The effect of cortisone on macrophage activity in mice. Brit. J. Exp Path., 34, 273-275.
- 14) Ghosh, M., Levy, P. M. and Leopold, I. H. (1965) : Therapy of toxoplasmosis uveitis. Am. J. Ophth., 59, 55-61.
- 15) Jacobs, L. and Melton, M. L. (1953) : The effect of cortisone in murine toxoplasmosis. J. Parasit., 39, 12.
- 16) Metzger, M. and Przerwa-Tetmajer, A. (1963) : The influence of zymosan, cortisone and X-rays on the course of experimental toxoplasmosis in white rats. Arch. Imm. Therap. Exp., 11, 217-223.
- 17) Nakayama, I. and Matsubayashi, H. (1961) : Comparative studies on the growth of high and low virulent strains of *Toxoplasma gondii* with special reference to the production of cyst. Keio J. Med., 10, 43-57.
- 18) Nakayama, I. and Matsubayashi, H. (1963) : Effects of spiramycine on experimental toxoplasmosis in mice. Keio J. Med., 12, 117-125.
- 19) Nakayama, I. (1964) : Persistence of the virulent RH strain of *Toxoplasma gondii* in the brains of immune mice. Keio J. Med., 13, 7-12.
- 20) Nakayama, I. (1965) : Effects of immunization procedures in experimental toxoplasmosis. Keio J. Med., 63-72.
- 21) 中山一郎 (1969) : トキソプラズマ死虫ワクチン注射動物における感作血球凝集反応抗体値の持続性と強毒株攻撃に対する抵抗性. 寄生虫誌, 18, 539-549.
- 22) 中山一郎, 青木豊治 (1970 a) : トキソプラズマ感染マウスの抵抗性に対する抗リンパ球血清注射の影響. 寄生虫誌, 19, 573-582.
- 23) 中山一郎, 青木豊治 (1970 b) : トキソプラズマ死虫ワクチンによる免疫が感染と治療効果に及ぼす影響. 寄生虫誌, 19, 290-295.
- 24) 鬼木信乃夫 (1970) : 眼トキソプラズマ症の問題点. 眼科, 12, 525-531.
- 25) Sabin, A. B. and Feldman, H. A. (1948) : Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Sci., 108, 660-663.
- 26) Stahl, W., Matsubayashi, H. and Akao, S. Experimental toxoplasmosis : Effects of suppression of the immune response of mice by cortisone and splenectomy. Keio J. Med., 15, 1-12.
- 27) Taliaferro, W. H. (1957) : Modification of the immune response by radiation and cortisone. Ann. N. Y. Acad. Sci., 69, 746-747.

**Abstract**INFLUENCE OF CORTISONE ON THE TREATMENT OF  
ACUTE TOXOPLASMOSIS IN MICE

ICHIRO NAKAYAMA and TOYOHARU AOKI

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

In the first series of the present experiments, the tolerant dosage of cortisone in mice was determined. No influence on survival of mice was recognized by subcutaneous injection of cortisone in dosage of 0.25 mg per day at intervals of 3 days for 5 weeks. Administration of cortisone to mice, which were inoculated intraperitoneally with RH or Beverley (Bev) strain *Toxoplasma*, resulted in producing more trophozoites than those in control mice. In case of Bev strain, however, no trophozoite was demonstrable microscopically 3 or 4 weeks after the infection in both cortisone-injected and control mice.

Oral administration of acetylspiramycin (Asp) caused prolongation of survival period or no death in mice infected with toxoplasmas. Partial or complete eradication of the parasite occurred depending on the dose and administration period of Asp.

Experimental treatment by Asp combined with or without cortisone was started immediately after the inoculation of RH toxoplasma. Dosage of Asp was 8 mg every day for 5 weeks, and that of cortisone 0.25 mg/day at intervals of 3 days for 5 weeks. Survival rate and rate of eradication of the parasite in mice treated by combination of Asp and cortisone were 35% and 28% respectively, whereas these rates were 33% in both even in mice treated by Asp alone.

In Bev strain infections, the survival and eradication rate of mice treated by Asp together with cortisone were 97% and 67% respectively. On the other hand, in mice treated with Asp alone, the rates described above were 100% and 80% respectively. Judging from these results, it was likely that the survival of mice and eradication of the parasites were not affected markedly by cortisone. Mice treated with cortisone alone survived Bev infection for 5 weeks having cysts in their brains. Incidence of positive HA titer ( $>1:256$ ) among the mice was 77%. In control mice receiving no treatment, survival rate was 93%, and all of the survivors showed positive reaction for HA test. These findings seem to indicate that pharmacological dose of cortisone which was given to Bev infected mice enhances multiplication of the parasites without causing death of the animals. Use of cortisone together with Asp had no apparent effect on the survival rate of mice or the eradication rate of the parasite, regardless of the difference of virulence of toxoplasmas inoculated. Therefore, it is supposed that use of cortisone in acute stage of experimental toxoplasmosis in mice does not cause any harmful effects on the status of the disease.