

トキソプラズマ慢性感染動物における 強毒株再感染に対する抵抗性

山 森 芬

大阪市立大学医学部医動物学教室 (主任: 田中英雄教授)

(昭和47年4月1日 受領)

I 緒 言

Toxoplasma gondii (以下 Tp と略す) の感染予防に関しては従来より、しばしば、その可能性について、論議されているところであり、多くの研究者により追求されているが、未だ結論を得ていない。主に検討されている点としては、死虫体接種免疫による感染防禦および、弱毒株生原虫接種による、一定期間後の強毒株攻撃接種に対しての感染防禦、の2点がある。

死虫体ワクチン接種免疫に関しては、Cutchins & Warren (1956), 佐藤(1963), Beattie (1963), Nakayama (1965), 中山 (1969) らをはじめとする多くの報告があり、Beattie (1963), Nakayama (1965) らは死虫体ワクチン単独接種の効果をほとんど認めていないが、Cutchins & Warren (1956), および佐藤 (1963) はアジュバント加死虫体ワクチンにより、やや効果を認め、また、中山 (1969) は死虫体ワクチン頻回接種による効果を認めてはいるが、いずれも、Tp の感染を、完全に防禦し得たわけではない。

次に、弱毒株生原虫前接種による強毒株に対する感染防禦に関しては、従来より、Tp 原虫には系統により毒性の強弱があることが知られており、一般に、侵入後急速に増殖し、急性感染をひき起し、当該動物を致死せしめるものを強毒株と呼び、他方、侵入後、徐々に増殖し、時日の経過と共に、脳内その他にシストを形成し、慢性感染経過を取り、当該動物を致死せしめることが少ないか、あるいは、ほとんど無いものを弱毒株と呼び区別している。

この弱毒株をあらかじめ接種感染せしめ、一定期間後、強毒株を接種した場合、この強毒株の感染に対して強い抵抗性を示し、全く感染を認めないもの、あるいは軽微な感染は見るが耐過するもの、および、強毒株のみ

接種した場合に比し、生存期間のかなりの延長を見ることが等が認められている。

そして、それらについては、Weinman(1943, 1952), Frenkel (1956), Beverley (1958), 上田 (1960), De Roever-Bonnet (1963, 1964), Beattie (1963), Stahl & Akao (1964), Nakayama(1964, 1967), 中山 (1967) ら多くの報告があり、また、これを利用して、Tp 症の診断に用い様とした、Nakayama (1967), 中山 (1967) らの報告も見られる。

しかるに一方、この弱毒株生虫体前接種による感染防禦が、ほとんど認められないという報告があり、岡・尾崎 (1965), 田中ら (1967) および新里 (1968) らがそれである。新里はその相違を、マウスの系統差および弱毒株の毒力により考察しているが、そのみで解決できない問題点も多い。すなわち、Stahl & Akao (1964), Nakayama (1964, 1967), 中山(1967)らにより用いられた強毒株は RH 株で、岡・尾崎 (1965), 田中ら(1967)および新里(1968)らにより用いられた強毒株も同じく RH 株ではあるが、本株は中山らの所属する慶応大学医学部寄生学教室より約10数年前に分与され、当教室で累代継代した全く同系の RH 株(以後 RH-O 株と仮称する。)である。

そこで著者は、この様に両者の間に、成績の相違を見たのは、約10数年の間に、病原性あるいは毒性に変異を来たしたのではないかと考え、今回、同上教室より原株 (RH-K 株と仮称する。)の再分与を受け、種々の系統の弱毒株および数種の実験動物を用い、その相違の詳細について、比較検討を加えると共に、弱毒株その他の前処置後に示される強毒株の感染経過、および感染防禦効果等についても観察し、いささかの知見を得たので、ここに報告する。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

供試 Tp 原虫：強毒株である RH 株は前述のごとく、2種であるが、当教室保有の株を RH-O 株、また、新たに、慶応大学医学部寄生虫学教室より再分与されたものを RH-K 株と仮称する事とした。弱毒株としては、比較的弱毒である Beverley 株2種、および、マウスには、ほとんど毒力を示さないシスト形成株である HS 株と S273 株の計4株を用いた。Beverley 株(以下 Bev 株と略す。)は RH 株と同様、10数年来当教室で継代している株と、今回新たに、慶大寄生虫学教室より分与をうけたものとの2種で、前者を RH 株の場合に準じ Bev-O 株、後者を Bev-K 株と称する事とした。また、HS 株は当教室で、豚肉より分離したものであり、S273 株は、RH-K 株および Bev-K 株と共に、慶大寄生虫学教室より分与を受けたものである。

RH 株は栄養型虫体約1000万をマウス腹腔内に接種し、3日後に形成される腹水内栄養型虫体を用いた。次に、Bev 株では、シスト5-10個をマウス腹腔内に接種し、約1カ月後に、脳内に形成されるシストを用い、時には、シスト20~50個をマウス腹腔内に接種し、7-14日後に、腹水内に形成される栄養型虫体を用いた。他の、HS 株、S273 株では、Bev 株と同様の方法により、形成されるシストを用いた。

供試実験動物：マウス、ハムスター、およびモルモットを用いた。マウスは dd 系と ICR 系を用い、dd 系では体重 20~25g、ICR 系では 30~35g のものを雌雄の別なく用いた。ハムスターはゴールデンハムスターで、体重 150g 前後の雌を、モルモットは、体重 350~400g の雄を用いた。

供試薬剤：トキソプラズマ症の治療剤として、最近開発された SDDS (2-sulfamoyl-4,4'-diaminodiphenyl sulfone) を 100~200mg/kg/day 用いた。

2. 実験方法

実験 I：弱毒株前接種後強毒株を攻撃接種する場合 (Challenge 実験)

RH 株と Bev 株の栄養型虫体を用いる場合には、前記のように、RH 株では感染3日後、Bev 株では感染7~14日後のマウスの腹腔内に、滅菌生理食塩水を 2.0 ml 注入し、洗滌、吸入した液を、Bürker-Türk 血球計算板により液中の原虫数を計数し、RH 株では $10^6 \cdot 10^5 \cdot 10^4 \cdot 10^3 \cdot 10^2 / 0.1\text{ml}$ となるように、また、Bev 株では $10^4 \cdot 10^3 \cdot 10^2 / 0.1\text{ml}$ となるよう、いずれも、生理食塩

水で希釈した。また、シスト型虫体を用いる場合には、脳磨砕液を作製し、0.025ml 中のシスト数を顕鏡下で4回算定後、その平均数 4倍し、0.1ml 中のシスト数とし、5~10コ/0.1ml となるよう調製した。

以上のように調製した(弱毒株および強毒株)原虫を、目的に応じ、一定間隔をおいて、マウス、ハムスター、モルモットの腹腔内または皮下に、必要量を接種した。すなわち、マウスにおいては、弱毒株接種1~6カ月後に、RH 株で攻撃し、その生死を対照と比較しつつ、1カ月に亘り観察し、致死例については、脳内シストおよび腹腔内栄養型原虫の有無を検索した。また、ハムスター、モルモットにおいては、弱毒株接種1カ月後に、強毒株で攻撃し、マウスの場合と同様な観察を行なった。

実験 II：強毒株を前接種し、治療後に強毒株を再接種する場合

RH-O 株を $10^2 \sim 10^3$ コ接種し、2~3日後、SDDS を生食により懸濁液とし、100~200mg/kg/day を21日または14日間、連日皮下注射し、終了後、それぞれ、14日ないし45日後、強毒株を再接種 ($10^2 \sim 10^3$ コ) し、その経過を、実験 I と同様に観察した。また、再接種にあたり、数頭の治療マウスの半脳を鏡検し、残りの半脳および肝臓、脾臓を健康マウスに接種し、RH 株原虫の有無を検索した。また、同時に、当該マウスより採血し、花木一信藤法による赤血球凝集反応(HA)により、抗体価を測定した。

実験 III：攻撃後の RH 株原虫のマウス体内での分布

RH 株原虫攻撃接種後、RH-O 株では2~37日間、RH-K 株では2~374日間に亘り、マウスの脳・肺臓・心臓・肝臓・脾臓・腎臓・血液・腹水の各臓器、体液を、健康マウスに接種し、RH 株原虫の有無を検索した。

すなわち、脳では、半脳を圧平標本として鏡検、残りの半脳を、肺臓・心臓・肝臓・脾臓・腎臓については、全体を磨砕乳剤化したものを、次に、血液は約1mlを、腹水は腹腔洗滌生食液2mlを、それぞれ2分して、2頭のマウスに接種した。

その後1カ月間、生死を観察し、致死したものについては、腹水内の原虫の有無を検索した。一方、1カ月間、生存したものについては、脳を圧平標本となし、脳内シストの有無を観察した。

III 実験成績

1. 弱毒株を前接種し、一定期間後強毒株で攻撃した場合

第1表 健康マウスにおける Tp 強毒株の感染経過

Tp 系統	接種量 (虫体数)	実験頭数	接種後の生存日数及び生存頭数						平均生存日数
			5日	6	7	8	9	10	
RH-O	10 ⁶	5	5						5
	10 ⁵	10		6	4				6.4
	10 ⁴	10			4	6			7.6
	10 ³	10			2	5	3		8.1
	10 ²	10			1	7	2		8.1
RH-K	10 ⁵	5		2	3				6.6
	10 ⁴	5				4	1		8.2
	10 ³	5					4	1	9.2

マウス系統: dd 系

第2表 弱毒株慢性感染マウスに対する強毒株攻撃後の感染経過 (弱毒株接種2カ月後に攻撃)

Tp 系統	接種量 (虫体数)	実験頭数	攻撃後の日数及び生存頭数				29日以内 死亡頭数	30日以上 生存頭数	死亡率 %	平均生 存日数
			≤9日	10—14	15—19	20—29				
RH-O	10 ⁶	5	3	2			5	0	100	8.2
	10 ⁵	10	3	5	2		10	0	100	11.6
	10 ⁴	10	1	6	3		10	0	100	13.0
	10 ³	10	1	5	2	2	10	0	100	14.2
	10 ²	10		6	3	1	10	0	100	14.7
RH-K	10 ⁵	10					0	10	0	—
	10 ⁴	10					0	10	0	—
	10 ³	10					0	10	0	—

1) 死亡率は攻撃30日後に判定。

マウス系統: dd 系

1) 強毒株の多少による攻撃後の経過 (第1表および第2表)

まず対照実験として、弱毒株を接種していない dd 系健康マウスに、第1表のごとく、RH-O 株の場合、10⁶・10⁵・10⁴・10³・10²コを、また RH-K 株では、10⁵・10⁴・10³コの栄養型虫体を、それぞれ接種し、その生存日数を観察し、死後の腹腔内原虫の有無を検索した。

その結果、全例が5~10日以内に斃死し、腹腔内に多数の栄養型虫体を検出した。その生存日数別頭数と平均生存日数は、第1表に示したごとくである。

これに対して、あらかじめ弱毒株接種後、強毒株で攻撃した場合は第2表のごとくである。すなわち、RH-O 株の攻撃群では、Bev-O 株栄養型10²コ、HS 株シスト10コを腹腔内に接種した各5頭(計10頭、但し、RH-O 株栄養型10⁶コ攻撃群では、Bev-O 株接種マウス5頭のみ)に2カ月後、対照群と同量で攻撃した。また、RH-K 株攻撃群では Bev-K 株・S273 株共シスト10コを接種したマウス各5頭に、2カ月後、対照群同量で攻撃した。その後30日に亘って、攻撃後の経過を観察した。

各群の生存日数別頭数、平均生存日数および29日以内の致死率(%)は表2に示したごとくである。例えば、RH-O 株10⁶コ攻撃群では、5頭の内、9日までに、3頭が斃死し、ついで10~14日の間に、2頭が斃死し、5頭の平均生存日数は8.2日で、29日以内の致死率は100%であり、また、RH-K 株10⁵コ攻撃群では、全例30日以上生存したため、30日以上生存頭数は10で、致死率は0%であった事を示している。

以上の結果、RH-O 株の場合は、対照群、実験群ともに、攻撃量と平均生存日数には相関性が見られ、攻撃量の多いほど、その生存日数は短い。また、実験群は対照群に比し、平均生存日数にして、3~7日の延長が認められたが、全例が30日以内に斃死し、その最短の生存日数は、10⁶コの6日、最長のそれは、10³および10²コの23日であった。実験群致死例中、腹腔内栄養型原虫の検出された例は、45例中30例で、12日以前致死例では、全例より検出した。また、脳内シストは全例より検出された。

次に、RH-K 株の場合、対照群では、RH-O 株とほぼ同様の傾向を示した。すなわち、虫体接種量の多くな

第3表 慢性感染期間の差による攻撃後の経過

マウス 系 統	慢性感 染期間 (月)	実験頭数	攻撃後の日数及び生存頭数				29日以内 死亡頭数	30日以上 生存頭数	死亡率 %	平均生 存日数
			9日	10—14	15—19	20—29				
(1) RH-O 株 10 ⁴ コで攻撃										
dd	1	10	1	8	1		10	0	100	11.7
	2	10	5	3	1		9	1	95	10.7
	3	5	2	2		1	5	0	100	12.4
	6	12	10	1		1	12	0	100	9.1*
ICR	1	10	2	4			6	4	60	11.2
	2	10	3	1	1		5	5	50	10.8
	3	10		3	4		7	3	70	14.9
(2) RH-K 株 10 ⁴ コで攻撃										
dd	1	10		3			3	7	30	12.0
	2	10	1	1			2	8	20	9.5
	3	5		3	2		5	0	100**	13.6
	6	12	4	4		1	9	3	75**	11.1
ICR	1	10				1	1	9	10	21
	2	10	1		1		2	8	20	13.0
	3	10		3	3		6	4	60**	14.7

* 他の3群との間に有意差あり (P<0.05)

** 他の2群との間に有意差あり (P<0.05)

るにつれ生存日数は短かくなつた。しかし、RH-O 株に比し、若干、平均生存日数は延長し、RH-K 株 10⁴ コの平均生存日数は RH-O 株 10³~10² コのそれに匹敵し、RH-K 株 10³ コのそれは 9.2 日と延長した。これに反し、実験群では、全例が 30 日以上耐過生存し、RH-O 株の場合とは、明らかに異なる結果を得た。

以上より、RH-O 株は RH-K 株より、攻撃力(毒力)において、明らかに強い事が示された。

2) 強毒株攻撃までの期間の差による攻撃後の経過 (第3表)

dd 系マウスおよび ICR 系マウスを用い、弱毒株接種後 1 カ月、2 カ月、3 カ月および、dd 系についてはさらに 6 カ月目にも強毒株で攻撃した。すなわち、弱毒株は 1 カ月目、2 カ月目については、Bev-O 株シスト 5 コ接種 5 頭、HS 株シスト 5 コ接種 5 頭の計 10 頭を用い、3 カ月以後は、dd 系には Bev-O 株シスト 5 コ、他の ICR 系 3 カ月目、dd 系 6 カ月目には、S273 株シスト 10 コ接種したものをを用いた。また、強毒株攻撃量は RH 株栄養形 10⁴ コである。

その結果、RH-O 株攻撃では、第3表(1)に示した如く、dd 系マウスにおいても、ICR 系マウスにおいても、3 カ月目までは明らかな差は認められなかつたが、dd 系マウスで、6 カ月目の群は、他の群に比して、生存日数が短かく (P<0.05)、抵抗力の低下が認められ

た。また、dd 系マウスでは、攻撃までの期間にかかわらず、ほとんどのものが 30 日間耐過し得なかつたが、ICR 系では、各群とも、かなりの生存マウスが認められた。

次に RH-K 株では、第3表(2)の如く、dd 系、ICR 系マウスともに 3 カ月目攻撃以後に、致死率の上昇 (P<0.05) が認められ、特に、dd 系 3 カ月目においては、致死率 100% と RH-O 株のそれに匹敵し、6 カ月目のそれらも、かなりの上昇を示しているのは注目に値する。この場合も、第2表と同様、RH-K 株に比し、RH-O 株は、より強毒であることが示された。

3) 弱毒株系統の差による強毒株攻撃後の経過 (第4表)

Bev-O 株・HS 株・Bev-K 株・S273 株の 4 種の弱毒株のシスト 5 コを接種した dd 系マウス各群に、1 カ月後 RH-O 株および RH-K 株栄養形 10⁴ コで攻撃した。

その結果は第4表の如く、RH-O 株攻撃の場合、Bev-O、Bev-K 株前接種群共に平均生存日数が 11.7 日以上で、致死率 90% であつたに対し、HS 株、S273 株ともに、平均生存日数 10.8 日、致死率 100% と、Bev-O 株と Bev-K 株の間には差を認めえず、また、HS 株と S273 株の間にも差は認めえなかつたのに反し、Bev 株と HS 株・S273 株との間に、やや差が認められた。この様な

第4表 弱毒株系統の相違による攻撃後の経過

Tp 系統	実験 ¹⁾ 頭数	攻撃後の日数及び生存頭数				29日以内 死亡頭数	30日以上 生存頭数	死亡率 %	平均生 存日数
		≤9日	10—14	15—18	20—29				
(1) RH-O 株 10 ⁴ コで攻撃									
Bev-O	10	3	4	2		9	1	90	11.7
HS	10	3	7			10	0	100	10.8
Bev-K	10	2	5	2		9	1	90	12.1
S273	10	3	7			10	0	100	10.8
(2) RH-K 株 10 ⁴ コで攻撃									
Bev-O	20		1			1	19	5	13
HS	20	2	3	1	1	7	13	35*	12.7
Bev-K	20	1		1	1	3	17	15	16.0
S273	20		2			2	18	10	13.0

¹⁾ 弱毒株接種1カ月後、2カ月後の個体を各半数ずつ含む

* 他の3群との間に有意差あり (P<0.01)

第5表 マウスの系統の相違による攻撃後の経過

マウスの 系統	強毒株の 系統	実験頭数	攻撃後の日数及び生存頭数				29日以内 死亡頭数	30日以上 生存頭数	死亡率 %
			≤9日	10—14	15—19	20—29			
dd	RH-O	20	6	11	2		19	1	95*
	RH-K	20	1	4			5	15	25
ICR	RH-O	20	5	5	1		11	9	55*
	RH-K	20	1	1	1	1	4	16	20

* 両者の間に有意差あり (P<0.01)

第6表 健康マウスにおける強毒株感染経過 (対照実験)

マウスの 系統	強毒株の 系統	実験頭数	接種後の日数及び生存頭数					平均生 存日数
			6日	7	8	9	10	
dd	RH-O	45	1	27	17			7.4
	RH-K	45		5	24	16		8.2
	小 計	90	1	32	41	16		7.8
ICR	RH-O	10		4	4	2		7.8
	RH-K	10			1	7	2	9.1
	小 計	20		4	5	9	2	8.5
計	RH-O	55	1	31	21	2		7.4
	RH-K	55		5	25	23	2	8.4

RH: 10⁴ コ接種

結果は Bev 株が弱毒株のうちでも、やや強毒であることや、HS 株と S273 株は共に、特に弱毒であり、かつブタより分離されたという点で、興味もたれる。

次に、RH-K 株の場合は、HS 株に、特に致死率の上昇(P<0.01)が認められたのみで、S273 株は Bev 株と同様の傾向を示した。これらは、RH-O 株の場合と比べ、HS 株と S273 株の性質の間にも、若干の相違があ

ることを示すものとも受け取れる。

4) 各種系統 (dd, ICR) のマウスにおける強毒株攻撃後の経過(第5表, 第6表)

dd 系, ICR 系の両系統マウスを用いて、Bev 株および HS 株を前接種した各10頭のマウスを2群(5頭ずつ)に分け、1カ月、2カ月後に、RH-O 株および RH-K 株で攻撃した。すなわち、各系共、Bev 株シスト5

コ接種1カ後強毒株攻撃5頭, 2カ月後攻撃5頭, HS株シスト5コ接種1カ月後攻撃5頭, 2カ月後の攻撃5頭の計20頭を1グループとし, 4グループについて実施した。その成績は第5表に示した通りである。また, これらの対照として, RH株 10^4 コのみを健康マウスに接種したが, その成績を第6表に示した。

以上の結果, RH-O株では, 対照においては全例斃死しその平均生存日数は, dd系よりICR系の方が0.4日間長い, 明らかな差とは言いがたく, 健康な状態では, 両系統間に明白な差は認められなかった。しかし, 実験群では, 致死率において, ICR系の方が低く ($P < 0.01$), 明白な差が認められ, dd系よりもICR系の方が, 弱毒株接種によるRH-O株再感染に対する抵抗性を, よりよく発現させることが認められた。

一方, RH-K株においては, 対照では, 平均生存日数はICR系の方が0.9日長く, また, 実験群でも, ICR系の方が, 致死率で5%低い, それらの差は, RH-O株の場合程著明ではなく, RH-K株に対しては, 両マウス系統間に, 明白な差は認められなかった。

次に, 第6表の下段に, 各強毒株別の集計を付記したが, この様に, 対照では, 平均生存日数においてRH-O株の方が1.0日短かい程度で, 有意の差とは言い難い。しかし, 第5表に示した実験群では, 致死率に大きな差が認められ, RH-O株の方が, 弱毒株前接種による防禦免疫をしのぐ, より強い毒力を有するものと考えられた。

5) 前接種弱毒株の発育形態および接種量の差による強毒株攻撃後の経過(第7表)

Bev-O株のシスト10コおよび5コ, または, 栄養型を $10^4 \cdot 10^3 \cdot 10^2$ コを第7表のように, dd系とICR系マウスに接種し, 1カ月後に, RH-O株を, シスト前接

種群に対して 10^4 コ, 栄養型前接種群に対して 10^3 コ攻撃接種した。

その結果, 接種量による差は, dd系マウスにおいては, ほとんど認められず, ICR系については, 栄養型前接種 10^3 コ群において, はなはだしいばらつきが認められ, 栄養型前接種による防禦効果の発現が不安定であると考えられる成績を得たが, 10^4 コと 10^2 コの両群間には大差がなく, 接種量の差による効果はほとんどないものと考えられる。

次に, シスト型前接種と栄養型前接種とによる差は, 栄養型前接種群へのRH-O株攻撃量がシスト型前接種群への攻撃量の $1/10$ であり, かつ, 全体的に見て, 栄養型前接種群の致死率がやや高いが, 特に有意の差は認められなかった。

6) 弱毒株接種経路(皮下, 腹腔内)の差による強毒株攻撃後の経過(第8表)

Bev-K株シスト10コおよびS273株シスト10コを皮下および腹腔内に接種し, 1カ月後各群10頭として, RH-K株 10^4 コで攻撃し, その成績を第8表に示した。

その結果, dd系では, 全群とも30日以上生存し, 一方ICR系においても, 致死例はあつたが大差なく, 全体的に見て, 接種経路による差は, ほとんどないものと考えられる。

なお, 第5表に示したRH-K株攻撃例ではdd系, ICR系とも, ほぼ同様の防禦効果を認めているが, この実験では, ICR系のみが第5表と同様の成績を得たが, dd系では, 全く致死例を認めず, 第5表の成績と, やや相違するが, この理由については不明である。

7) ハムスターまたはモルモットを用い, 弱毒株前接種後, 強毒株で攻撃した場合(第9表, 第10表)

ゴールデンハムスターにはS273株シスト5コを前接

第7表 前接種弱毒株の接種量および発育形態の相違による攻撃後の経過

発育形態	接種量	マウスの系統	実験頭数	接種後の日数及び生存頭数				29日以内死亡頭数	30日以上生存頭数	死亡率 %
				≤9日	10-14	15-19	20-29			
シスト型	10コ	dd	10	2	5	2		9	1	90
	5	dd	10	3	4	2		9	1	90
	5	ICR	10	1	4	1		6	4	60
栄養型	10^2	dd	10		7	2	1	10	0	100
	10^4	ICR	6		2	1	2	5	1	83.3
	10^3	ICR	6	2	3		1	6	0	100
	10^2	ICR	6	2			1	3	3	50
	10^4-10^2	ICR	18	4	5	1	4	14	4	77.8

Bev-O株接種1カ月後RH-O株を栄養型前接種群に 10^3 コ, シスト型接種群に 10^4 コで攻撃

第8表 弱毒株の接種経路の相違による攻撃後の経過 (RH-K: 10⁴ コ攻撃)

接種経路	マウスの系統	実験頭数 ¹⁾	攻撃後の日数及び生存頭数				29日以内死亡頭数	30日以上生存頭数	死亡率%
			≤9日	10-14	15-19	20-29			
腹腔内	dd	20					0	20	0
	ICR	20		1	1	1	3	17	15
	合計	40		1	1	1	3	37	7.5
皮下	dd	20					0	20	0
	ICR	20		2	2		4	16	20
	合計	40		2	2		4	36	10

¹⁾ 弱毒株接種後1カ月目に攻撃した

第9表 健康ハムスターおよびモルモットにおける強毒株感染経過 (対照実験)

実験動物の種類	強毒株		実験頭数	接種後の日数及び生存頭数						平均生存日数
	系統	接種量		6日	7	8	9	10	11	
ハムスター	RH-O	10 ⁴ コ	5		3	1	1			7.6
	RH-K	10 ⁴	5			1	3	1		9
モルモット	RH-O	10 ⁵	2	2						6
	RH-K	10 ⁵	2		2					7

第10表 ハムスター及びモルモットにおける攻撃後の経過

動物種	弱毒株系統	強毒株		実験頭数	29日以内死亡頭数	30日内上生存頭数	死亡率%
		系統	攻撃量				
ハムスター	S273	RH-O	10 ⁴ コ	5	0	5	0
		RH-K	10 ⁴	5	0	5	0
モルモット	Bev-O	RH-O	10 ⁵	3	0	3	0
		RH-K	10 ⁵	3	0	3	0

攻撃: 1カ月後

種し、1カ月後、RH株10⁴コで攻撃し、また、モルモットに対しては、Bev-O株シスト10コを前接種、1カ月後、RH株10⁵コで攻撃し、その後は、いずれも、マウスの場合と同様に経過を観察した。なお、対照実験として、健康ハムスターおよびモルモットに、RH株のみを接種したが、それらの成績は第9表および第10表に示した。

その結果、対照群(第9表に示した)では、RH-O株接種例の方が、RH-K株接種例よりも、ハムスターにおいては1.4日、モルモットにおいては1日間、平均生存日数の短縮が認められた。しかし、攻撃群(第10表に示した)では、両RH株攻撃例とも30日以上耐過生存した。

以上のことより、健康ハムスターおよびモルモットにおいても、健康マウスと同様に、RH-O株の方が、RH-

K株より毒力の強いことが示された。他方、攻撃例においては、これらの動物では、マウスよりも、防禦効果が顕著に示される事が明らかとなった。

8) 強毒株攻撃後29日以内致死マウスの腹水内原虫の有無(鏡検による)(第11表)

弱毒株前接種マウスを強毒株で攻撃した場合、当該強毒株の増殖傾向の表われの1つとして、腹腔内増殖が考えられる。そこで、29日以内の致死例について、生鮮標本とギムザ染色標本の併用により、検索を行った。

その成績を、6~8日、9~11日、12~14日および15~29日の4期間に分け、第11表に示した。

その結果、6~8日の致死例では、RH-O株では全例より検出され、RH-K株においても、ほとんどの例より検出されており、また、RH-O株では9~11日においても、ほとんどのものより、また、12~14日では約半数

第11表 攻撃後29日以内致死マウスの腹水内原虫の有無(鏡検による)

強毒株 の系統	マウスの 系統	6—8日			9—11日			12—14日			15—29日			合計		
		致死 頭数	検出 頭数	%	致死 頭数	検出 頭数	%	致死 頭数	検出 頭数	%	致死 頭数	検出 頭数	%	致死 頭数	検出 頭数	%
RH-O	dd	18	18	100	44	40	91	25	12	48	30	1	3	117	71	61
	ICR	5	5	100	12	10	83	5	2	40	10	0	0	32	17	53
	小計	23	23	100	56	50	89	30	14	47	40	1	3	149	88	59
RH-K	dd	5	4	80	8	2	25	5	0	0	3	0	0	21	6	29
	ICR	1	1	100	2	0	0	5	0	0	8	0	0	16	1	6
	小計	6	5	83	10	2	20	10	0	0	11	0	0	37	7	19
総計		29	28	97	66	52	79	40	14	35	51	1	2	186	95	51

のものより検出されている。しかし、RH-K 株では9～11日に10例中2例(9日目 $1/1$, 10日目 $1/3$)において検出されたのみで、それ以後の致死例には全く検出されなかった。また、マウスの系統別に見ると、dd 系の方が若干、検出率の高い傾向が見られた。

なお、表示しなかつたが、検出し得た RH 株栄養型原虫の数は、RH-O 株 10^6 コ攻撃例において、対照群(RH 株のみ接種)の致死時と、ほとんど変わらない数(10^7 ～ 10^8)を得た場合があつたが、他の攻撃数(10^5 以下)では、対照群より少く、 10^4 ～ 10^6 /ml程度であつた。

以上のことより、RH-O 株においては、14日以前、また、RH-K 株では10日以前の致死例では、ほぼ全例に、腹水内原虫が存在する事が明らかとなり、しかも、このことは、当該マウス体内での RH 株原虫の増殖を裏付けるものである。そしてまた、dd 系マウスは ICR 系マウスより、RH-O 株に対して感受性の高い事も示すものと考えられる。

9) 小括(第12表)

弱毒株接種後に示される強毒株の攻撃に対して示される防禦効果を検討した以上の成績を要約すると、以下の如くである。

強毒株の攻撃量を変えることにより、RH-O 株の場合では、攻撃量の多いほど、マウスの生存日数が短くなる傾向を示し、その傾向は、対照の場合と、ほぼ同様であつた。そして、攻撃されたマウスのほとんどは30日以内に斃死した。一方、RH-K 株の場合では、ほとんどが30日以上耐過生存し、攻撃量による差は見られなかつた。

しかしながら、攻撃までの期間の差によつては、RH-K 株の攻撃後の経過においても相違が見られた。すなわち、RH-O 株では、3カ月まで、明らかな差は認められなかつたが、dd 系マウスでの6カ月例において、抵

抗力の低下が示され、RH-K 株では dd 系、ICR 系両系マウスとも、3カ月以降、抵抗力の低下が示された。前接種弱毒株の系統により、防禦効果に、差があることが認められた。すなわち、RH-O 株に対しては、両 Bev 株(Bev-O, Bev-K)に比し、HS 株と S273 株接種群では、やや弱い傾向を示し、RH-K 株に対しては Bev 株と S273 株の間には、ほとんど差が認められなかつたが、HS 株のみが特に弱いことを認められた。

マウスの系統間(dd 系, ICR 系)に、若干の差異があることを認め、特に RH-O 株に対しては、dd 系マウスの感受性が、健康マウス並びに免疫マウスの双方共に高いことが示された。一方、RH-K 株に対しては、健康マウスでは dd 系が、免疫マウスでは ICR 系がやや感受性の高い傾向を示すが、免疫マウスでは、各実験において、ばらつきを認め、必ずしも明らかだとは言えない。

前接種弱毒株の接種量および発育形態による攻撃防禦効果では、接種量による差はほとんど認めず、また、シスト型接種と栄養型接種では、後者の効果にばらつきが大きく、不安定であることが認められたが、両者の間に有意の差は認めなかつた。

弱毒株接種経路(皮下, 腹腔内)による差はほとんど認められなかつた。

ハムスターモルモットを用いた場合は、対照群では、マウスと同様に RH-O 株の方が、RH-K 株に比し、毒力の強い傾向を示したが、攻撃群では、両 RH 株間に全く差を認めず、すべてが耐過生存した。このことより、RH-O 株は、マウスに、特に毒性が強いと考えられる。

強毒株攻撃後29日以内に致死したマウスの腹水内原虫を検索した結果、RH-O 株では、14日以前、また、RH-K 株では10日以前の致死マウスの大半より栄養型虫体

第12表 弱毒株慢性感染マウスに対する強毒株攻撃実験の総括

強毒株の系統	マウスの系統	実験頭数	攻撃後の日数及び生存頭数				29日以内死亡頭数	30日以上生存頭数	死亡率%
			≤9日	10—14	15—19	20—29			
RH-O	dd	97	28	47	15	5	95	2	97.9
	ICR	48	9	13	6	4	32	16	66.7
	合計	145	37	60	21	9	127	18	87.6*
RH-K	dd	117	6	12	2	1	21	96	17.9
	ICR	70	1	7	5	3	16	54	22.9
	合計	187	7	19	7	4	37	150	19.8*

強毒株攻撃量は $10^8 \sim 10^4$ コ 弱毒株は Beverley 株, S273株および HS 株を使用.

* 両者の間に有意差あり (P<0.05)

第13表 RH-O 株急性感染治療後のマウスに RH-O 株を再感染した場合の感染経過

実験群	再感染頭数	RH-O 株再接種量	致死頭数	平均生存日数	腹水内原虫検出頭数	治療後の原虫の有無 ¹⁾	
						検出頭数	陽性頭数
1 対照	2	10^2 コ	2	10	2	2	1
	5	10^2	5	10	5		
2 対照	5	10^3	5	8.2	5	4	4
	5	10^3	5	7.8	5		

治療: SDDS 100mg/kg/day×14 days, 又は200 mg/kg/day×21 days.

¹⁾ 原虫検索は脳, 肝臓, 脾臓のマウス再接種法による.

を検出し, RH-O 株の14日以前, RH-K 株の10日以前の致死例は, RH 株の急激な増殖によるものと推定された. また, dd 系の方が, ICR 系よりも, 高い検出率を示し, 感受性の差がうかがわれた.

以上の攻撃実験を, 攻撃株およびマウス系統別に総括して, 第12表に示したが, RH-O 株は dd 系マウスに対し, 常に致死性であつて, 致死率は97.9%と非常に高率を示した. また, ICR 系に対しても強い毒性を示し, 半数以上を致死せしめた. 一方, RH-K 株は, 両系マウスに対して, 共に, 弱毒株前接種による防禦力に抗し得ず, 3カ月, 6カ月目攻撃例を除いて(第3表(2)参照), ほとんどのマウスが30日以上耐過生存した. それ故に, RH-O 株は RH-K 株よりも, 健康マウスに対しても, 弱毒株前接種マウスに対しても, 強い毒力を有することが示された.

2. 強毒株感染後, SDDS 治療マウスへの強毒株再感染経過(第13表)

強毒株の攻撃に対する弱毒株前接種による感染防禦効果の発現は, マウスを用いた RH-O 株の場合, 成立が困難で, 特に dd 系マウスでは, 全くと言ってよい程, 不可能であることは, 上述の成績で明らかである. そこで, 前接種において, RH-O 株を用い, これを薬剤で治

療し, 治癒あるいは慢性感染に導き, それによつて, 再感染を防禦しうるかどうかを, dd 系マウスを用いて検討した.

すなわち, RH-O 株接種より, 治療期間を含めて, 初めに2カ月後, 次に約1カ月後の再接種実験を行なつた. 2カ月後再接種群では, RH-O 株栄養型虫体 10^8 コを腹腔内に接種し, 原虫の一応の増殖を計るため2日間放置, 2日後より, SDDS, 200mg/kg/day を14日間皮下に, 連続投与し, 投薬終了後45日間, 飼育観察した. 投薬終了後45日目(前接種より61日目)まで, 治癒生存例は20頭中9頭であつた.

この内, 5頭に RH-O 株 10^3 コを再接種し, 同時に, 他の4頭の脳, 肝臓, 脾臓を健康マウスに再接種し, RH-O 株の有無を検討した. その結果, 第13表の下欄の如く, RH-O 株の再接種に耐え得るものなく, 全例が対照とほとんど同期間に斃死し, その平均生存日数も, 再接種群8.2日, 対照群7.8日とほとんど差がなかつた. また致死マウスの全例より, 腹水中に, 対照群と同程度の多数の栄養型虫体を検出した.

一方, 4頭のマウスにおける臓器検索の結果は, 4頭全例の脳より, また1頭の肝臓より RH-O 株原虫を検出し, これらのマウスが, SDDS により完全治癒した

第14表 RH-O 株攻撃後のマウス体内における原虫の分布 (dd 系マウス)

弱毒株 系統	攻撃後 日数	マウス No.	検 索 臓 器					検出 ¹⁾	
			B	PE	Hi	Le	M		N
Bev	7	1	+ (7)	+	+*(8)	+	+	+	+
		2	+ (7)	+	+*(8)	+	+	+	+
	10	3		+	+*(9)	+	+	+	+
		4		+	+*(8)	+	+	+	+
	14	5			+*(5.5)	-	-	+	+
		6	+	+	+*(7)	+	+	+	+
	21	7	+	+	+*(6)	+	+	+	+
合計	7頭中	4/4例	6/6	7	6	6	7	7頭	
HS	7	8	-	+	-*	+	+	+	+
		9	+	+	+*(9.5)	+	+	-*	+
	10	10	+	+	+*(8.5)	+	+	+	+
		11	+	+	+*(7)	+	+	+	+
	14	12	+	+	+*(7.5)	+	+	+	+
		13	+	+	+*(7.5)	+	+	+	+
	21	14	+	+	+*(6)	+	+	+	+
	合計	7頭中	6例	7	6	7	7	6	7頭

B: 血液, PE: 腹水, Hi: 脳, Lu: 肺臓, He: 心臓, Le: 肝臓, M: 脾臓, N: 腎臓. * 弱毒株も検出
() 内: 再接種マウスの平均生存日数. b/a: aは検索頭数, bは陽性頭数. ¹⁾ 被検マウスよりの検出の有無

のではなく、慢性感染の状態であったことは、疑問の余地なく、したがって、攻撃実験に用いた5頭においても、大半は慢性感染の状態であったものと考えられる。しかし、結果として、防禦効果の発現を全く見なかつた。

そこで、原虫前接種より投薬までの期間をさらに延長し、原虫を十分増殖せしめ、より多くの臓器に侵入せしめて後、ゆるやかな治療を行ない、十分なる防禦免疫の獲得を計り、しかるのち、再接種までの期間を短縮し、マウスの体力の回復をみて、再接種を行なつた。

すなわち、前接種として、RH-O 株栄養型 10² コを腹腔内に接種し、原虫の増殖侵入を計るため3日間放置、3日後より薬量を前回の半量 100mg/kg/day にし、前回より1週間長く、21日間に亘って投与した。そのため、前回より激しい急性症状を示し、瘦削、下痢、貧血、被毛阻喪等を呈し、投薬開始後5~7日頃が最も激しい様子を見せたが、10日目を過る頃より回復に向つた。マウスはこの時点で致死するものが最も多く、以後15日頃には、ほとんど回復の徴候を示し、21日目の投薬終了時には、軽度の瘦削が認められる程度であつた。投薬終了後、2週間の観察期を設け、前接種より38日後に再接種を行なつた。38日目までの耐過頭数は30頭中6頭で、こ

の内、2頭には RH-O 株 10² コを再接種し、別の2頭を採血による抗体価測定および、脳内シストの有無(半脳の圧平標本)と、脳を健康マウスに再接種し、RH-O 株の有無を検索するために供した。また、残りの2頭は対照として観察した。

その結果は、第13表の上欄の如く、再接種の場合、前回と同様、対照 (RH-O 株 10² コ接種5頭) と全く同日数、すなわち、接種後10日目に全例が致死、防禦効果は全く認められなかつた。一方、脳の圧平標本では2頭中1頭にシストを認め、当該マウスの半脳を接種したマウスは致死し、腹水中に多数の RH-O 株原虫を検出した。しかし、別の1頭は検出されなかつた。また抗体価は、原虫検出例では×1024倍陽性、他方検出されなかつた例は(-)であつた。このことより、前回とも考え併せて、再接種された2頭のマウスも、慢性感染の可能性が大であると思われる。

以上のことより RH-O 株では、同じ株の慢性感染ないし感染後治癒による防禦効果も、ほとんど無いと考えられる。

3. 攻撃後の RH 株原虫のマウス体内での分布

先の実験で、両 RH 株、マウスの系統、弱毒株の系統等によつて、攻撃後の経過に明らかな相違が認められ

第15表 RH-O 株攻撃後のマウス体内における原虫の分布 (ICR 系マウス)

攻撃後 日数	マウス No.	検 索 臓 器						検出
		B	PE	Hi	He	Le	M	
7	15	+(10.5)	+(9)	+*(10.5)	+(11.5)	+(12)	+(9)	+
	16	+*(11)	+(9)	+*(10.5)	+(10.5)	+(9)	+(8)	+
	17	-	+*(11)	+*(9)	-*	+(8)	+(10.5)	+
10	18	+(9.5)	+(9)	+*(9)	+***(9)	+(9)	+(9)	+
	19	+(7.5)	+(6.5)	+*(8.5)	+(8.5)	+(7.5)	+(8.5)	+
	20	-	+(11)	+*(14)	+(15)	-	-	+
14	21	-	-	+*(9)	-*	+*(14)	-	+
	22	-	-	+*(9)	-*	-	-	+
	23	+*(12)	+(11)	+*(10)	-	-	+(12)	+
21	24	-	+(9)	+*(8)	-*	-	+(10.5)	+
	25	-	-	+*(7)	+(8.5)	-	-	+
	26	+(9)	-	+*(11.5)	+(9)	-	+(10)	+
合計	12頭中	6例	8	12	7	6	8	12頭

前接種弱毒株：Bev-O 株栄養型 $10^2 \cdot 10^3 \cdot 10^4$ コ接種の各1頭を各群に含む ($10^2 \cdot 10^3 \cdot 10^4$ の順)

*：再接種マウス2頭中1頭が1カ月生残，当該マウスより原虫不検出。

() 内：再接種マウスの平均日数

たが，その原因をさぐることもおよび，攻撃後耐過せず致死したマウスの死因と攻撃強毒株の動向との関連等を知るため，攻撃後のRH株のマウス体内での動向を検索した。

すなわち，攻撃後のマウスの各臓器を，一定期間ごとに，健康マウスの腹腔内に再接種し，RH株の当該臓器内における有無を，再接種マウスの致死と，その腹腔内増殖虫体の確認により決定し，また，再接種マウスの致死日数により，当該臓器内に存在していた原虫数の多少を推定し，増殖の傾向の判断に供した。また，1カ月まで生存した再接種マウスについては，脳を圧平標本とし，弱毒株の有無を検索した。

1) dd系マウスで，RH-O株攻撃の場合(第14表)

前接種弱毒株として，Bev-O株とHS株を用い，それぞれシスト10コをdd系マウス腹腔内に接種し，2カ月後，RH-O株 10^3 コで攻撃し，攻撃後，7日，10日，14日，21日目に，各2頭(21日目のみ各1頭-21日目まで生残したのは各1頭のみであつた)のマウスの血液，腹水，脳，肝臓，脾臓，腎臓について検索した。以上の成績すなわち臓器内原虫の有無および，再接種マウスの平均生存日数を第14表に示した。

すなわち，Bev-O株，HS株前接種群ともに，全マウスよりRH-O株を検出，また全期間に亘り，検索臓器のほとんど全部より検出した。次に，再接種マウスの平均生存日数においては，7日目では，Bev-O株前接種

群の方が，HS株前接種群より短かく，初期にはHS株群の方が，RH-O株の増殖に，やや抵抗する傾向が見られたが，10日目以降では，ほとんど差を認めず，一部の例外を除き，共に21日目に至るまで短縮の動きを示し，RH-O株は徐々に徐々ではあるが，弱毒株前接種による防禦力に抗して，増殖している事が認められた。

以上の点より，攻撃したRH-O株は徐々に増殖しつつ，当該マウスを死に至らしめる事が明らかとなつた。

2) ICR系マウスで，RH-O株攻撃の場合(第15表)

前接種弱毒株として，Bev-O株栄養型 $10^2 \cdot 10^3 \cdot 10^4$ コを用い，それぞれをICR系マウスの腹腔内に接種し，1カ月後，RH-O株 10^3 コで攻撃し，攻撃後，7日，10日，14日，21日目に，弱毒株接種量ごとに各1頭，計3頭のマウスの血液，腹水，脳，心臓，肝臓，脾臓について検索した。以上の成績，すなわち臓器内原虫の有無および再接種マウスの平均生存日数を第15表に示した。

すなわち，RH-O株はdd系の場合と同様に，全マウスより検出されたが，ICR系マウスでは，14日目より，原虫検出臓器が減少し，RH-O株の増殖の低下あるいは停止が認められる。しかし，若干の臓器においては，21日目に至るも検出され，完全に死滅するわけではなく，特に脳においては，14日目，21日目も，全例より検出されている。次に再接種マウスの平均生存日数では7日目よりも10日目の方が全般的にやや短縮する動向を示し，各臓器における検出率からみても10日目までRH-

第16表 RH-O 株, RH-K 株攻撃後のマウス体内における原虫の分布の比較

強毒株 系統	攻撃後 日数	マウス No.	検 索 臓 器							検出	
			B	PE	Hi	Lu	Le	M	N		
RH-O	2	27	—	+(8)	+*(10.5)	+(8.5)	+(8.5)	+(9)	+(10)	+	
		28	—	+(10.5)	—*	—	+(10)	+(10)	—	+	
	4	29	—	—	+*(7.5)	+(9.5)	+(9.5)	+(9)	+(8)	+	
		30	+(9)	+(8.5)	—*	+(9)	+(8)	+(8)	+(8.5)	+	
	6	31	+(7)	+(6)	+*(4.5)	+(5.5)	+(6.5)	+(6)	+(6)	+	
		32	—	+(7)	+*(5.5)	+(6.5)	+(7)	+(7)	+(5.5)	+	
	10	33	+(10)	+(8.5)	—*	+(7.5)	+(8)	+(9)	—	+	
		34	+(11.5)	—	+*(11.5)	+(8)	+(9)	—	—	+	
	合計 8頭中 4例			4	6	5	7	8	7	5	8頭
	RH-K	2	35	—	—	+*(10)	—	—	—	—	+
36			—	—	—*	—	—	—	—	—	
4		37	—	—	+*(10.5)	—	+(10)	—	+(11)	+	
		38	—	—	—*	—	—	—	—	—	
6		39	—	+(14.5)	+*(14.5)	—	—	—	—	+	
		40	—	—	—*	—	—	—	—	—	
10		41	—	—	+*(11.5)	—	+(15)	+(11)	—	+	
		42	—	—	—*	—	+(12.5)	—	—	+	
合計 8頭中 0例			0	1	4	0	3	1	1	5頭	

マウス： dd 系， 弱毒株： HS， 攻撃： 1 カ月後
() 内： 再接種マウスの平均生存日数。

○ 株の各臓器内での増殖の傾向がうかがわれるが14日以後は臓器よりの検出率とも考え合せ，増殖の停滞がみられる。

ところが，脳の場合のみは，日数の経過と共に再接種マウスの生存日数に，やや短縮の動向が認められ，弱毒株においても，接種後，シスト形成は，脳において，最も顕著に認められる点と考え合せれば，興味深い。

3) RH-O 株と RH-K 株の攻撃経過の比較(第16表)
前接種弱毒株として，HS 株を用い，シスト5コを dd 系マウスの腹腔内に接種し，1 カ月後に，RH-O 株および RH-K 株10⁴コで攻撃し，攻撃後，2日，4日，6日，10日目に各2頭のマウスの血液，腹水，脳，肺，肝臓，脾臓，腎臓について検索した。以上の成績，すなわち臓器内原虫の有無および再接種マウスの平均生存日数を第16表に示した。

すなわち，RH-O 株攻撃時では，検査全マウスより原虫が検出され，2日目の血液および10日目の腎臓を除き，他の全臓器より検出され，増殖の動向は明らかである。一方，RH-K 株では，2日目においてすでに，全く RH-K 株原虫の検出されないマウスを認め，10日目までに，8頭中3頭からは検出されなかつた。また，検出された例でも，脳よりの場合が多く(8頭中4頭)，次

に肝臓(8頭中3頭)で，他に若干の臓器より散発的に検出せられ，血液および肺臓からは全く検出されなかつた。以上の結果から，RH-K 株では，RH-O 株とは逆に，弱毒株前接種による防禦力に抗し得ず，原虫の増殖停止，停滞または死滅するものと考えられた。

次に，再接種マウスの平均生存日数では，RH-O 株は2日目以後6日目まで短縮の傾向を示し，原虫の増殖が認められ，10日目でもやや延長し，停滞を示した。一方 RH-K 株の場合，第16表に示すように，検出臓器も少く，再接種マウスの生存日数も非常に長く，増殖の傾向を示すとは認めがたい。

4) 健康マウスに，RH-O 株，RH-K 株接種経過の比較(対照実験)(第17表)

上述の3)項の成績の対照実験として，弱毒株を接種していない健康マウスに，RH-O 株および RH-K 株10⁴コを接種し，2日，4日，6日後に，各2頭のマウスの血液，腹水，脳，肺臓，肝臓，脾臓，腎臓について検索した。以上の成績，すなわち臓器内原虫の有無および再接種マウスの平均生存日数を第17表に示した。

すなわち，RH-O 株2日目，血液の2例および脳の1例において検出されなかつたが，4日以後は全例より検出された。一方，RH-K 株では，2日目は RH-O

第17表 健康マウスに RH-O 株, RH-K 株接種後の体内における原虫の分布の比較 (対照実験)

強毒株 系統	接種後 日数	マウス No.	検 索 臓 器							検出
			B	PE	Hi	Lu	Le	M	N	
RH-O	2	43	—	+(7)	+(9)	+(8.5)	+(8)	+(9.5)	+(8)	+
		44	—	+(7)	—	+(8.5)	+(9.5)	+(7.5)	+(10)	+
	4	45	+(8)	+(5)	+(7)	+(6)	+(5)	+(5.5)	+(6)	+
		46	+(10)	+(5)	+(7.5)	+(6.5)	+(6)	+(5.5)	+(6)	+
	6	47	+(7)	+	+(5.5)	+(3)	+(4)	+(4)	+(5)	+
		48	+(6)	+	+(6)	+(4)	+(4)	+(4)	+(5)	+
	合計	6頭中	4例	6	5	6	6	6	6	6頭
RH-K	2	49	—	+(7)	—	+(8.5)	+(8)	+(10.5)	+(8.5)	+
		50	—	+(7.5)	—	+(8)	+(10)	+(9)	+(9)	+
	4	51	+(12)	+(6)	+(10.5)	+(8)	+(7)	+(6)	+(6.5)	+
		52	—	+(6)	+(12)	—	+(8)	+(8)	+(8)	+
	6	53	+(11)	+	+(8)	+(11)	+(8.5)	+(9)	+(9.5)	+
		54	—	+	+(9.5)	+(11)	+(11.5)	+(11.5)	+(11.5)	+
	合計	6頭中	2例	6	4	5	6	6	6	6頭

() 内：再接種マウスの平均生存日数

株とはほぼ同様であつたが、4日以後も、検出しえない臓器が散発し、RH-O 株より、侵入増殖力が弱いことを示した。

また、再接種マウスの平均生存日数においても、2日目では、ほぼ同様であつたが、4日以後、明らかな差を示し、RH-O 株の方が、急速に増殖する事を認めた。そして、RH-K 株では、肺臓、肝臓、脾臓、腎臓の各臓器で、4日目より6日目の再接種マウスの生存日数が延長した。このことは、各臓器での増殖の停止とそれによる原虫数の減少を示すとも考えられる。一方、RH-O 株では、全く逆の動きを示し、6日目では、各組織において急激に増殖していることが明らかであり、RH-K 株と比べ、隔段に増殖力が強く、各臓器への親和性も強いことが示された。この成績は、2種の RH 株のマウス臓器内における増殖性の差を示すものであつて、極めて興味深い。

各臓器別に見ると、血液への出現が遅く、また、出現数も、最も少ないことが認められ、このことは、血液中での増殖よりも、血液は移行の手段であると考えられ、各臓器での増殖の進展によつて、血中への出現数が増加すると考えるのが妥当であろう。次に脳での出現が遅く、その増殖度合も、他の組織より低いことが示されたが、これは脳が、初期の原虫の急速な増殖に好適な臓器とは言えないが、しかし脳での増殖は長期に亘り着実であり、特に RH-K 株において、他の各臓器での原虫の増殖の停止にもかかわらず、脳では、再接種マウスの生

存日数の短縮、すなわち、増殖を認めた。このことは、脳よりも血液量、すなわち、抗体分布の多い各臓器での原虫数の減少に、体液性免疫が関与しているのではないかと、という感を抱かしめる。

両株とも血液、脳以外の臓器では2日目で、全てに原虫が分布していることが認められ、RH-K 株の場合はすでに述べたが、RH-O 株では、その好適な臓器としては、肺、肝、脾の各臓器が示された。そして6日目の腹水については、各マウスとも、その中に多数の虫体が検出される様になつたので、特に再接種を行なわなかつた。

5) RH-O 株攻撃後、致死マウスの体内での原虫の分布(長期観察成績)(第18表)

弱毒株前接種マウスに対し RH-O 株で攻撃後、比較的長期に亘り生残した後斃死したマウスの腹水、脳、肝臓、脾臓について検索し、その成績を第18表に示した。

その結果、No. 58 以外のマウスからは RH-O 株を検出したが、特に、16日目致死の No. 55 では、検査全臓器より検出し、また、No. 56(20日目致死)および No. 59(24日目致死)からも、腹水以外の全臓器より RH-O 株原虫を検出した。

これらの検出例において、共通して言えることは、脳内の原虫数が最も多いと認められることであり、上記 No. 56, No. 59 と、他の脳のみよりの検出例3例は、原虫による脳の破壊が死因と考えられ、No. 55 においては、脳と他の臓器の破壊が重なつたためとも考えられる。しかし一方、No. 58 のように、全く、原虫の検出

第18表 弱毒株前接種後 RH-O 株攻撃により斃死したマウスの臓器内原虫の有無（長期観察成績）

致死までの 日数	マウスの 系統	弱毒株 の系統	マウス No.	検 索 臓 器				検出
				PE	Hi	Le	M	
16	ICR	Bev	55	+(9.5)	+*(5)	+(8)	+(7.5)	+
20	ICR	Bev	56	-	+*(8)	+(12)	+(10.5)	+
			57	-	+*(9.5)	-	-	+
22	dd	HS	58	-	-*	-	-	-
24	ICR	Bev	59	-	+*(7)	+(9.5)	+(10)	+
29	ICR	Bev	60	-	+*(8.5)	-	-	+
37	ICR	Bev	61	-	+*(9)	-	-	+
合計 7頭中				1例	6	3	3	6頭

() 内：再接種マウスの平均生存日数

第19表 RH-K 株攻撃後長期生存マウスの臓器内原虫の有無（長期観察成績）

攻撃後の 日数	マウス 系統	弱毒株 系統	マウス No.	検 索 臓 器							検出	
				B	PE	Hi	He	Lu	Le	M		N
57	dd	S273	62	-	-	-*	-	-	-	+(13)	-	+
			63	-	-	-*	-	-	-	-	-	-
69	dd	S273	64	-	-	+*(13)	-	-	+(11)	-	-	+
			65	-	-	+*(14.5)	-	-	-	-	-	+
152	dd	HS	66	-	-	-*	-	-	-	-	-	-
			67	-	-	-*	-	-	+(18)	+(16)	-	+
374	ICR	S273	68	-	-	+*(14)	-	-*	-	-	-	+
			69	-	-	-*	-*	-*	-	-	-	-
合計 8頭中				0例	0	3	0	0	2	2	0	5頭

() 内：再接種マウスの平均生存日数

されなかつた例もあり、この場合の斃死は、弱毒株、あるいは、他の原因によると考えられる。

また、RH-O 株攻撃の場合でも、長期生残例では、原虫の存在が、抗体の少ない脳内に限られる傾向が認められ、体液性免疫との関連性も考えられる。しかしその反面、No. 59(24日目致死)のように、長期生残例でも、肝臓や脾臓に RH-O 株原虫が検出されたことは、この原虫が、宿主の弱毒株前接種による防禦力に、よく抵抗し、生存、増殖を続けうることをも示している。

6) RH-K 株攻撃後の長期生存マウス体内での原虫の分布(第19表)

弱毒株前接種マウスに対して RH-K 株で攻撃後、長期に亘り生存したマウスの血液、腹水、脳、心臓、肺臓、肝臓、脾臓、腎臓の各臓器について検索し、その成績を第19表に示した。

すなわち、RH-K 株攻撃例でも、多くのものに、長期に亘り、体内に、RH-K 株原虫の存在を認め、脳内に3

例(69日目：2例、374日目：1例)、肝臓に2例(69日目、152日目：各1例)、脾臓に2例(57日目、152日目：各1例)で、8頭中5頭に検出された。

以上の結果より、RH-K 株は弱毒株を前接種のした免疫マウス体内において慢性感染し、特に、脳内では長く、1年余に亘り生存し得ることが明らかとなった。しかし、その再接種マウスの致死日数が、非常に長いことから、概して、増殖は、少数であると推定され、且つ、臓器内での増殖は、ほとんど示さなかつた事がうかがわれ、その形態は、おそらくは、小形シストであろうと想像される。

7) 小括(第20表、第21表)

以上の成績を要約すると、RH-O 株の場合は、dd 系マウスで、攻撃2日後には、すでに、血液を除く検査全臓器に分布し、4日以後、血液を含み、全臓器に分布増殖を続け、攻撃までの月数あるいは、弱毒株の系統により、増殖の動向にいくらかの相違はあるが、21日目ま

第20表 RH-O 株攻撃後のマウス体内分布成績の総括

攻撃後 の日数	検査頭数	検 索 臓 器 及 び 陽 性 数								RH-O 株 陽 性 数
		B	PE	Hi	He	Lu	Le	M	N	
2	2	0	2	1		1	2	2	1	2
4	2	1	1	1		2	2	2	2	2
6	2	1	2	2		2	2	2	2	2
7	7	5	7	6	2/3		7	7	3/4	7
10	9	6	8	8	3/3	2/2	8	7	4/6	9
14	7	4/6	4/6	7	0/3		4	4	4/4	7
16	1		1	1			1	1		1
20	2		0	2			1	1		2
21	5	3	3	5	2/3		2	4	2/2	5
22	1		0	0			0	0		0
24	1		0	1			1	1		1
29	1		0	1			0	0		1
37	1		0	1			0	0		1
計	41	20/33	28/40	36	7/12	7/8	30	31	18/22	40

分数で示した場合は全例について検索し得なかつたもので分母は検索頭数を分子は RH-O 株陽性頭数を示す。

で、増殖の傾向を示した。また、ICR 系マウスを用いた場合では、dd 系とは、やや異り、10日目までは増殖の動向を示したが、それ以後、14日目、21日目と、増殖の停滞もしくは減少の傾向を示した。しかし中には、なお多くの臓器より検出された長期観察での致死例もあり、増殖傾向を示すものも認められた。

以上の事実より、RH-O 株は、dd 系マウスに対して、非常に毒性が強い事が示された。また、臓器別増殖の動向を見ると、脳以外の臓器においては、比較的短期間に増殖し、その後、減少するが、脳においては、徐々に増殖し、その傾向が、長期間持続することが示された。

以上の RH-O 株攻撃の成績の総括を、第20表に示したが、総計41頭のマウスについて、血液、腹水、脳、心臓、肺臓、肝臓、脾臓、腎臓の諸臓器を検索した。その結果、41頭中40頭のマウスより、RH-O 株を検出し、脳より、最も長期に亘り、高率に検出した。他の臓器でも高率に検出したが、脳ほど長期には亘らなかつた。このように、RH-O 株では、攻撃後、どの臓器でも、増殖の傾向を示すことが認められた。

そこで、RH-O 株攻撃による死因としては、早期の死(dd 系での21日以前、ICR 系での10日以前)は、弱毒株前接種によって獲得されることでの防禦力に対抗してなされる RH-O 株の急激な増殖によると考えられ、後期では、脳内侵入原虫の徐々に増殖による脳の破壊、あるいは、弱毒株との協力、弱毒株シストの破壊等による病巣の拡大等の、種々な要因が関与するものと想像され

る。

次に、RH-K 株の場合、攻撃後2日目において、1例の脳より検出され、それ以後、10日目に至るも、脳および若干の臓器に、散発的に検出されたのみで、再接種マウスの生存日数もかなり長く、増殖の傾向は、全く認められなかつた。しかし、長期観察例で、374日目の脳から検出された例があり、増殖の動きは示さないが、宿主の防禦力に耐えて、長期間残存し得ることが示された。

以上の RH-R 株攻撃結果の総括を第21表に示したが、総計16頭のマウスの内、10頭より RH-K 株原虫を検出し、RH-O 株と同様に、脳より、最も長期に亘り検出され、検出率でも、脳が16頭中7頭と最も高く、以下、肝臓の16頭中5頭、脾臓の16頭中3頭の順であつた。このように、RH-K 株では、攻撃後、原虫は、若干の例外を除き、大半が防禦力に抗し得ずに死滅し、少数の生残原虫が、何らかの形で、弱毒株と共に、慢性感染の状態となることが示された。

健康マウスへの RH 株感染経過では、RH-O 株は、全臓器で、急激なる増殖の動向を示したが、RH-K 株では、RH-O 株よりも増殖が遅く、6日目では、脳以外では、逆に、増殖の低下の傾向を示した。このことより、健康マウスにおいても、RH-O 株の増殖力および各臓器への親和性が、RH-K 株より、隔段に高いことが示された。

IV 総括および考察

弱毒株感染による強毒株再感染への防禦効果について

第 21 表 RH-K 株攻撃後のマウス体内分布成績の総括

攻撃後の 日数	検査頭数	検 索 臓 器 及 び 陽 性 数								RH-K 株 陽 性 数
		B	PE	Hi	He	Lu	Le	M	N	
2	2	0	0	1		0	0	0	0	1
4	2	0	0	1		0	1	0	1	1
6	2	0	1	1		0	0	0	0	1
10	2	0	0	1		0	2	1	0	2
57	2	0	0	0	0	0	0	1	0	1
69	2	0	0	2	0	0	1	0	0	2
152	2	0	0	0	0	0	1	1	0	1
374	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1
計	16	0	1	7	0/8*	0	5	3	1	10

* 第20表の場合と同様である。

は、著者の今回の実験において、従来よりの定説に、肯定的な成績と否定的な成績の両者を得た。すなわち、緒言にも述べたように、RH-K 株では、Weinman (1943) に始まり、中山(1967)までの報告と同様、弱毒株前接種(以下、前接種と略す)によって、RH-K 株の攻撃に耐えることが、マウス、ハムスター、モルモットにおいて示された。しかし、RH-O 株では、ハムスターおよびモルモットでは、RH-K 株と同様の成績を得たが、マウスにおいては、対照に比して、若干の生存期間の延長を見るのみで、大半が致死、ことに dd 系マウスでは、RH-O 株攻撃例、97頭中95頭(97.9%)が29日目までに致死し、感染防禦能力の低さをものがたっている。

この様な結果は、岡・尾崎(1965)、新里(1968)の成績と一致を見ており、RH-O 株はマウスに、特に強い毒力を有すとも考えられる。このことは、RH 株接種量の多少においても示され、RH-O 株では、対照群で 10^8 コ以上、 10^6 コに至るまで、平均生存日数の短縮が認められるが、前接種群においても、 10^2 コから 10^6 コまで、攻撃量の増加するにつれ、対照群よりも、3.2~6.6日の平均生存日数の延長が認められるのみで、同様に、生存期間の短縮が認められた。以上のことから、前接種による防禦効果は全くないとは言えないが、非常に弱く、それに打克つて、RH-O 株原虫が増殖を続けるものと考えられる。一方、RH-K 株では、対照群においては、RH-O 株と同様、RH-K 株接種量の多い程、平均生存日数の短縮が認められたが、前接種群では、30日に至るも、ほぼ全例が耐過生存し、前接種による感染発症防禦効果は、一応、成立している。

次に、前接種より攻撃までの期間による攻撃後の経過についても、多くの研究者の報告があり、まず、Jacobs

(1953)は前接種より攻撃までの期間が長くなる程、生存期間が短くなると述べており、また、上田(1960)は、前接種(Bev 株)後、3日より7週までの攻撃(RH-K 株)実験で、4週以後、かなりの生存日数の延長を認め、7週目攻撃群が最も長かつたと、述べている。さらに、Stahl & Akao (1964) は、防禦効果の発現は、前接種後2週目より見られ、7カ月後も認められたと述べ、中山(1964)も、前接種(Bev 株)後5日~8カ月目 RH-K 株で攻撃し、Stahl & Akao (1964)と同様の経過を示したと、述べている。次いで、De Roever Bonnet(1963)は、弱毒株 Bark Strain と強毒株 Ang Strain を用いて、前接種後13カ月目まで防禦効果を示したと述べている。

この様に長期間、防禦能が保持されるとの成績が多いが、しかし著者の成績では、RH-K 株攻撃では3カ月以降、防禦効果の著しい低下を示し、致死率の上昇を示した。このことは、De Roever Bonnet (1963)、Stahl & Akao (1964)、Nakayama (1964)らの成績と異なっており、この原因については、使用株およびマウスの系統等の種々の要因が考えられ、さらに今後の検討を要するものと思う。特に RH-O 株では、6カ月目攻撃で、極端な平均生存日数の短縮が見られ、ほとんど対照との差は認められなかつた。この様な事実は、Jacobs (1953)も述べているところであり、Tp の防禦免疫に関して、興味ある知見であると考えられる。

前接種弱毒株の系統別による防禦効果の発現については、Nakayama (1964) は、弱毒株として、Bev 株、S273 株、S31 株を用い、1カ月後の攻撃で、株間に差異を認めなかつたと述べている。しかし、著者の成績では、RH-O 株攻撃では、Bev 株に比して、HS 株、S273

株は防禦効果の発現が弱い傾向を示し、一方、RH-K 株では HS 株が弱いことを示しており、弱毒株間には、防禦効果発現に差異のあることを認めた。

さらに、マウスの系統の差による感染経過について、新里(1968)は Bev 株に対する感受性に、若干の差を見ているが、著者は、攻撃後の経過について、dd 系と ICR 系マウスを用いて比較した結果、RH-O 株において、ICR 系マウスの方が高い防禦性を示し、マウス系統間に、防禦能発現に差のあることを認めた。これらの点は、Tp の防禦免疫を検討する上に考慮せねばならない極めて重要な事実と考えられる。

前接種弱毒株の接種量、発育形態、接種経路の違いによる強毒株攻撃後の経過については、若干、異なる傾向もあつたが、明らかな差を認めなかつた。これは、接種方法等よりも、前接種株の体内における増殖の仕方が重要である事を示していると考えられる。

攻撃後の RH 株の体内での動向については、RH-K 株では、一応、感染は成立するが、増殖の動向を示さず、脳、肝臓、脾臓等に、慢性感染の状態で長期存在することもあることが明らかとなつた。この点に関しては、Nakayama (1964) は、マウス再接種法により、7 週に亘り、腹水、血液、脳について検索したところ、腹腔内および血液中に 1 週目まで、脳には 7 週後まで RH-K 株を検出し、また Nakayama (1965) は、RH-K 株を静脈内接種により攻撃後、マウス再接種法により、8 週に亘り、血液、脳、脾臓について検索し、8 週後も、血液、脳、脾臓よりの検出を見ている。

また、De Roever Bonnet (1963) は強毒株(Ang Strain) 攻撃後、マウス再接種法により、9.5 カ月目までのハムスターの脳より、また 3 カ月目までのマウスの脳より強毒株を検出しており、さらに、攻撃後の脳内シストについて、ハムスターで 2~5 カ月、マウスで 2.5~3 カ月に亘つて調査し、強毒株のシストと弱毒株のシストが混在し、強毒株のシストが弱毒株のシストの約 2 倍の数に当ることを見出している。ついで、De Roever Bonnet (1964) は、Ang Strain 攻撃後、5 週より 11 カ月に亘つて、マウス再接種法により、ハムスター、マウスの脳、肺臓、心臓、肝臓、脾臓、胃、小腸、大腸、腸間膜、腎臓、膀胱、子宮、睾丸、卵巣、筋、舌、陰茎、眼、血液について検索し、時期は明らかにしていないが、脳、肺臓、心臓、肝臓、脾臓、大腸、腎臓、膀胱、眼より Ang Strain を検出したと述べ、1963 年の報告と併せて、弱毒株前接種により、動物は強毒株の感染に耐え得るが、それは、感染後、直ちに、原虫を死滅させる様な免疫で

はなく、強毒株は、全身の臓器に分布して、弱毒株のようにシストを形成し、慢性感染となり、それらの毒性を保持したまま、各臓器にひそむものと述べている。

著者もまた、先に述べたように、長期に亘り、各臓器より、RH-K 株を検出しており、De Roever Bonnet とほぼ同様の成績を得ているが、中には、RH-K 株が陰性であつた場合もあり、感染は防禦されないが、原虫の増殖および発症はかなり抑制される作用、すなわち、発症防禦免疫作用が認められた。

この様な防禦免疫の本態については、すでに、2, 3 の報告もあり、*in vitro* において、抗体と組織培養の組合せによつて、体液性抗体の原虫への影響を、Lycke *et al.* (1964), Strannegård & Lycke (1965) らは追究しているが、その結果、若干の影響は認めてはいるが、液性抗体が、Tp の培養細胞への侵入および増殖を、阻止する様な作用は認められなかつた。また、免疫動物の細胞を用いて、細胞性免疫の観点より、Visher & Suter (1954), Nakayama (1966), 高柳ら (1969) らの検討した例や免疫リンパ球の、MIF と blast formation を検討し、解明の緒を得んものとする Tremonti & Walton (1970) らの報告もあるが、それのみで充分に説明は出来ないもの様で、著者は、これらの免疫現象に何らかの虫体側の要因、その他が、かなり関与しているものと思考する。

次に、RH-O 株の攻撃後のマウス体内での動向は、RH-K 株とは、同じ RH 株であるにもかかわらず、非常に異なり、対照におけるほど急速ではないが、徐々に増殖することが認められ、特に dd 系マウスの前接種 2 カ月後の攻撃例では、攻撃後 21 日に至るも、増殖の傾向を有し、長期生残後の致死例においても、1 例を除く他の全例の脳より、また、数例においては、肝臓、脾臓より RH-O 株を検出し、RH-K 株の場合よりも、高率に且つ多数の原虫が認められた。

また、攻撃後の致死例全例の腹水を鏡検したところ、ほぼ 60% 以上から、特に 14 日以前致死例の場合では、ほとんどのものから、攻撃した RH-O 株原虫が検出されている。この成績と、体内での動向、すなわち、腹水に原虫を検出した例の全ては各臓器での原虫の増殖が認められることを考え合せると、これら、腹水より原虫を検出したマウスの死因は、明らかに RH-O 株の増殖によるものである。

そしてまた、De Roever Bonnet (1963) は、脳内に見られる攻撃後のシストについては、強毒株の方が多いことを認めており、このことは、攻撃後、強毒株が脳内で

増殖することを示し、また、著者の成績においても、同様の傾向は認められた。以上の事柄より、他の臓器に強毒株が認められない場合でも、RH-O株の増殖による脳組織の破壊が死因となる場合も、考えられた。

ところで、新里(1968)は、Bev株前接種後、RH-O株のi.p.再感染によつて、全例が短時日のうちに斃死したことを認め、それ故、RH株のi.p.再感染により、免疫効果を判定することが、妥当かどうかは検討を要すと述べ、その理由として、これらの死因が、RH-O株によつたものでなく、前接種のBev株によつたものではなからうかとの考も、持たれている様である。確かに、Bev株は、弱毒株とは言え、かなり毒性が強く、Bev株のみの接種によつても、場合によつては、1カ月以上耐過生存するものが約半数か、時には $\frac{1}{3}$ 以下のことも見られる。従つて、上記の推定も、当然のこととは考えられる。ところが、著者が、Bev株の代りに、単独接種によつては、ほとんどマウスを斃死せしめる事のない程の弱毒株であるHS株およびS273株を前接種したマウスに、RH-O株を攻撃したところ、ほとんど100%近くの致死率であり、むしろ、Bev株前接種の場合よりも致死率が高かつた。これによつて、前記の推定は全く否定は出来ないが、攻撃したRH-O株により致死したと考える方が、より妥当の様に思える。但し、攻撃接種によつて、前接種弱毒株が賦活化され、強毒化されるか否かの点が、まだ残された問題ではあるが、この点については、更に今後の検討を要するものと思う。

以上の如く、RH-O株は、健康なマウス、ハムスター、モルモットに接種した場合のみならず、前接種マウスに接種した場合でも、原株のRH-K株より、極めて強い病原性を発揮する事が明らかになつたが、この事実は、我々が分与を受けて以後、継代されている10余年の間に、いずれかの株の毒力が変化したものと考えざるを得ない。いずれにしても、この様に、同じRH株でも、その毒力に変化を示すものである事は、今までに、あまり報告の見られないところである。今後、種々の実験成績を比較検討する上にも、極めて重要な事実であつて、標準株として、広く用いられているRH株、その他についても、比較、再検討を要するものとする。

ところで、Nakayama(1967)、中山(1967)は、弱毒株前接種による感染防禦効果を利用し、Tp原虫検出ないしTp症診断方法を考案したが、RH株原虫が、このように毒性の変異を来たすものである事実、並びに著者の成績の様に、弱毒株によつて、防禦効果発現に差があること等の点より考え、確実性並びに応用について

は、なお、種々な問題点が残されているものと思われる。

また、著者は、弱毒株前接種による、RH-O株に対するの感染発症防禦効果の発現が不可能であることから、同じRH-O株の慢性感染による防禦効果の発現の可能性を追求したが、RH-O株の慢性感染には、一応成功したものの、感染防禦の発現は全く認められなかつた。この点については、未だ、例数が少ないため、更に今後の検討に俟ちたい。

以上、Tp原虫の弱毒株前接種によつて惹起される強毒株に対する感染発症防禦について検討したが、その防禦能は、決して絶対的なものではなく、対照に比し、若干の生存期間の延長が見られる程度の弱いものから、全てが、耐過生存しうる様な、比較的強いものまで、種々な段階があり、それらは、前接種株、使用動物、および攻撃株の種類等々により、かなり影響されるものである事が明らかにされた。これらの防禦免疫の発現の機作については、寄生虫類によく見られるPremunition現象とも考え合せ、今後、興味のもたれるところである。

V 結 論

トキソプラズマ弱毒株の接種により、慢性感染した動物において示される、強毒株に対する感染発症防禦作用について、数種の動物およびトキソプラズマ株を用いて観察し、供試動物並びに原虫株による相違、攻撃後の強毒株原虫の動物体内における動向、強毒株のRH株の毒力の変異等について検討すると共に、薬剤を用いて、強毒株を慢性感染せしめた動物における、再感染による発症防禦作用の有無についても併せ検討したが、その結果は以下の通りである。

1) 原株を同一にし、別個に10数年以上継代保存されている2種のRH株(慶大株:RH-K株および大阪市大株:RH-Oと仮称)を用いて、弱毒株前接種マウスに攻撃接種したところ、RH-K株の場合は、ほとんどのマウスが耐過生存したが、RH-O株では、生存日数の延長が見られたのみで、ほとんど全てが斃死した。

両株の毒力の相違は無処置健康マウスにおいても認められ、RH-O株の方が強力であつて、長期継代の間に、いずれかの毒性が変化したものと考えられる。

2) ハムスター、モルモットに弱毒株を前接種し、2種のRH株を接種した場合、いずれも、全てが耐過生存し、両株の間には、差は見られなかつた。

3) 弱毒株慢性感染マウスに、2種のRH株を接種した場合、いずれも感染は立成するが、その後、RH-K

株では、マウス体内で増殖する動向は少なく、徐々に死滅する。しかし、長期に亘り、少数ではあるが、脳を中心として、各臓器から検出される場合もあった。これに反し、RH-O 株では、脳を含む各臓器で、徐々に増殖し、遂には、マウスを斃死せしめた。

4) 弱毒株前接種による RH-O 株に対する防禦効果において、dd 系、ICR 系マウスの間に相違が認められ、dd 系マウスの方が弱かった。

5) 弱毒株接種後に示される防禦効果は、マウスにおいて、1 カ月後から3 カ月に亘り示され、それ以後は低下する傾向が認められた。

6) 前接種弱毒株の系統によつては、防禦効果の発現に差が認められた。

7) RH-O 株前接種後、SDDS により治療し、治癒あるいは慢性感染状態のマウスにおいて、RH-O 株再接種に対する防禦性は、全く認められなかった。

本論文の要旨は第36回日本寄生虫学会総会（昭和42年3月）、第23回日本寄生虫学会西日本支部大会（昭和42年11月）、第37回日本寄生虫学会総会（昭和43年4月）、第2回日本原生動物学会総会（昭和43年12月）および第118回大阪市医学会（昭和45年6月）において発表した。

稿を終わるにあたり、終始御指導御鞭撻を賜わり且つ御校閲の労を煩わした恩師田中英雄教授に深甚なる謝意を表すると共に、御指導御厚情を賜わつた高田季久助教授を始め、教室員各位に深謝の意を表する。また、種々なる御助言、御援助をいただいた生物学研究室生沢万寿夫助教授、米本申一講師並びに、推計学研究室北島暁助教授に対しても感謝の意を表する。

文 献

- 1) Beattie, C. P. (1963) : Immunity to *Toxoplasma*. A Symposium of the British Society for Immunology, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 253-258.
- 2) Beverley, J. K. A. (1958) : A rational approach to the treatment of *Toxoplasmic uveitis*. *Trans. Ophth. Soc.*, 78, 109-121.
- 3) Cutchins, E. C. and Warren, J. (1956) : Immunity patterns in the guinea pig following *Toxoplasma* infection and vaccination with killed *Toxoplasma*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 5, 197-209.
- 4) De Roever-Bonnet, H. (1963) : Mice and golden hamsters infected with avirulent and a virulent *Toxoplasma* strain. *Trop. geogr. Med.*, 15, 45-60.
- 5) De Roever-Bonnet, H. (1964) : *Toxoplasma* parasites in different organs of mice and hamsters infected with avirulent and virulent strains. *Trop. geogr. Med.*, 4, 337-345.
- 6) Frenkel, J. K. (1956) : Pathogenesis of toxoplasmosis and of infection with organisms resembling *Toxoplasma*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 64, 215-251.
- 7) Jacobs, L. (1953) : The biology of *Toxoplasma*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2, 365-389.
- 8) Lycke, E., Lund, E., Strannegård, Ö. and Falsen, E. (1965) : The effect of immune serum and activator on the infectivity of *Toxoplasma gondii* for cell culture. *Acta. path. et Microbiol. scandinav.*, 63, 206-226.
- 9) Nakayama, I. (1964) : Persistence of the virulent RH strain of *Toxoplasma gondii* in the brain of immune mice. *Keio J. Med.*, 13, 7-12.
- 10) Nakayama, I. (1965) : Effects of immunization procedure in experimental toxoplasmosis. *Keio J. Med.*, 14, 63-72.
- 11) Nakayama, I. (1966) : On the survival of high virulent strain of *Toxoplasma gondii* inoculated intravenously into immune mice. *Keio J. Med.*, 15, 13-24.
- 12) Nakayama, I. (1967) : A method of detection of *Toxoplasma* infection in man. *Jap. J. Parasit.*, 16, 381-388.
- 13) 中山一郎 (1967) : トキソプラズマ症の疑のある200例よりの虫体検出と検出方法について。寄生虫誌, 16, 464-468.
- 14) 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, 539-548.
- 15) 岡好万・尾崎文雄 (1965) : *Toxoplasma gondii* Beverley株のマウスに対する病原性と免疫原性。寄生虫誌, 14, 638.
- 16) 佐藤平二 (1963) : *Toxoplasma* 症の免疫について。動物と微生物(越智勇一博士還暦記念出版), 南江堂, 124-130.
- 17) 新里仁達 (1968) : *Toxoplasma gondii* の免疫に関する研究, 数種マウスに対する Beverley (弱毒) 株の病原性と防禦抗原性について。寄生虫誌, 17, 429-435.
- 18) Stahl, W. and Akao, S. (1964) : Immunity in experimental toxoplasmosis. *Keio J. Med.*, 13, 1-6.
- 19) Strannegård, Ö. and Lycke, E. (1966) : Propionin and the antibody-effect on *Toxoplasma gondii*. *Acta. path. et Microbiol. scandinav.*, 66, 227-238.
- 20) 高柳坦・神原宏二・猪木正三 (1969) : トキソプラズマ免疫マウスの腹腔細胞のトキソプラズマ

- 感受性について. 寄生虫誌, 18, 373.
- 21) 田中英雄・高田季久・山森芬・佐野龍藏(1967): トキソプラズマの免疫に関する研究, (1) 弱毒株接種マウスにおける強毒株の感染経過について. 寄生虫誌, 16, 268.
- 22) Tremonti, L. and Walton, B. C. (1970): Blast transformation and migration-inhibition in toxoplasmosis and leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 19, 49-56.
- 23) 上田春人(1960): *Toxoplasma* (チステ形成株)の毒力及び免疫について. 慶応医学, 37, 1631-1638.
- 24) Visher, W. A. and Suter, E. (1954): Intracellular multiplication of *Toxoplasma gondii* in adult mammalian macrophages cultured in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 86, 413-419.
- 25) Weinman, D. (1943): Chronic toxoplasmosis. J. Inf. Dis., 73, 85-92.
- 26) Weinman, D. (1952): Toxoplasma and toxoplasmosis. Ann. Rev. Microbiol., 6, 291-298.

Abstract

ON THE PROTECTIVE EFFECT AGAINST THE CHALLENGE INFECTION OF HIGH VIRULENT STRAIN IN ANIMALS PREVIOUSLY INOCULATED WITH LOW VIRULENT STRAIN OF *TOXOPLASMA*

KAORU YAMAMORI

(Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School, Osaka)

In order to clarify the protective effect against the challenge infection of high virulent strain of *Toxoplasma* in animals previous inoculation with low virulent strain, the variation of the virulence of the high virulent RH strain, the effect in the various species and strains of animals, the effect on the various low virulent strains of *Toxoplasma* and the survival and distribution of high virulent strains after their challenge infection in the animals have been examined.

Further observation was made on the course of challenge reinfection of RH strain in mice which were therapeutically treated after previous inoculation with RH strain.

The results obtained were as follows:

1) Two lines of RH strain, tentatively designated as RH-K and RH-O strain, were used for challenge infection. They have been transferred from original RH strain and maintained individually in the different two laboratories for more than 10 years.

Almost all animals survived for more than 30 days after the challenge infection with the RH-K strain to the mice previously inoculated with low virulent strain, but in the case of the RH-O strain almost all mice were died within 30 days.

The difference in pathogenicity between these two strains was also recognized in normal clean mice, the virulence of the RH-O strain was higher than the RH-K strain.

Hence it appears that the variation in the virulence of RH strain occurred during the maintenance in the different laboratories for more than 10 years.

2) In hamsters and guinea pigs previously inoculated with low virulent strain of *Toxoplasma*, all animals survived after the challenge infection of the RH-O strain or the RH-K strain. While in healthy animals, none has survived after the inoculation with RH-O or RH-K.

strain.

3) When RH-O or RH-K strain was inoculated into mice previously infected with low virulent strain, both strains always infected these animals, but the tendency of subsequent proliferation of the RH-K strain in the mice was small and the parasites were exterminated gradually. In some cases, however, the RH-K strain was detected for a long period of the experiment in the brain and other organs of the infected mice.

On the other hand, the RH-O strain multiplied gradually in every organs, finally causing death of the mice.

4) In regard to the protective effect against the RH-O strain derived from the previous inoculation with low virulents strain in mice, some difference between dd strain and ICR strain of mouse was recognized, the dd strain revealed less protective effect than ICR strain.

5) The protective effect against the challenge infection was observed in the mice over a period of three months from one month after inoculation with the low virulent strain, thereafter, this effect tended to diminish.

6) Some difference in the development of the protective effect against the challenge infection was recognized between various low virulent strains previously inoculated.

7) The protective effect against the reinfection of RH-O strain in the mice which were treated with SDDS after previous inoculation with RH-O strain was not recognized.