

Pneumocystis carinii および *Pneumocystis carinii* 肺炎の研究

VIII. ウサギおよびモルモットにおける誘発実験

山田 稔 猪飼 剛 荻野 賢二
松本 芳嗣 塩田 恒三 吉田 幸雄

(昭和59年6月26日 受領)

Key words: *Pneumocystis carinii*, animal experiment, rabbit, guinea pig, immunosuppressive treatment

緒言

Pneumocystis carinii (以下 *Pc* と略) を顕微鏡下にはじめて認めたのは Chagas (1909) でモルモットの肺からである。彼は翌々年に人の肺からも見出した (Chagas, 1911) が、いずれも *Trypanosoma cruzi* の生活上の一時期と考えた。*Pc* を命名記載したのは Delanoë et Delanoë (1912) であるが、この材料はラットの肺から得たものであつた。その後さらに多数の研究者によつて多くの動物から *Pc* の自然感染が報告された (吉田, 1981)。

一方、実験動物を用いての *Pc* の誘発実験が米国で Weller (1955, 1956) によつて確立された。彼は *Pc* 肺炎で死亡した小児の肺の suspension をラットの鼻腔内に滴下し、その後、副腎皮質ステロイドを一定の間隔で数週間にわたり投与したところ、ラットの肺の中に *Pc* を認め、形質細胞の浸潤および間質の増生を認めたと報告した。さらに Frenkel *et al.* (1966) はこの方法を改良し、ラット1匹当りコーチゾン25mg 週2回皮下注射を行うことにより良好な成績を得たと報告した。以後、我々も含め多くの研究者はこの方法に準じて実験を行っている。ラットにおける *Pc* 誘発実験の主な報告を挙げると Linhartová (1956, 1958), Göetz und Rentsch (1957), Pliess und Trode (1958), Ricken (1958), 樋

口ら (1972), 永井・鎌田 (1974), Takaoka *et al.* (1978), 灰塚 (1979), 奥田ら (1979) などである。

著者らの教室でも1974年 (吉田ら, 1974) 以来ラットを用いての *Pc* 誘発実験がくり返し行われており, Ogi-no (1978) は、その大要をまとめて報告した。たしかに副腎皮質ステロイドやその他の免疫抑制剤を投与して実験的に *Pc* 肺炎を起させるにはラットが好適な動物で、強力な免疫抑制操作によく耐えて好結果をもたらす。しかし、その他の動物においても *Pc* 肺炎誘発の難易とその特性を知っておくことは必要なことと考える。さらに動物の *Pc* と人の *Pc* とは同一なのか、換言すれば動物の *Pc* は人に感染しうるのか、あるいは *Pc* は1属1種か、というような問題を考える上でもこれら各種動物での発症実験が必要である。一方、免疫学的な研究を行うにはウサギを用いての実験が便利な場合が多い。一般にウサギやモルモットはステロイド剤に対してラットと同様に強い感受性があるといわれている (Claman, 1978) が、ウサギを用いた *Pc* 誘発実験は過去に Linhartová (1958), Sheldon (1959) および池本・森 (1973) の報告があるのみで知見に乏しい。一方モルモットを用いての *Pc* 誘発実験は Linhartová (1958), Farrow *et al.* (1972), 池本・森 (1973) の3報告があるがすべて誘発不成功に終っている。今回、我々はウサギおよびモルモットを用いて *Pc* 誘発実験を行い、光顕ならびに電顕的に検索した。これをラットで得られた所見と比較検討した結果を報告する。

京都府立医科大学医動物学教室業績第510号。本研究の一部は文部省科学研究費補助金一般研究 (課題番号58480170) の援助を得て行われた。
京都府立医科大学医動物学教室

材料および方法

1. ウサギでの誘発実験

体重 1.8~2.5kg (平均2.1kg) の雄ウサギ11羽を購入し、購入直後、1羽を屠殺し、*Pc* 自然感染のないことを確かめ、以後多数のウサギやモルモットが飼育されている部屋で飼育した。10羽のうち2羽ははじめから無処置のまま飼育し (control 群)、残り 8 羽は cortisone acetate 35mg/kg を週2回宛皮下注射を行い飼育をつづけた。免疫機能低下に伴う細菌感染を予防するため飲料水に塩酸テトラサイクリンを0.5~1mg/ml の割合で混合して与えた。

8羽のうち4羽は cortisone 処理と共に *Pc* 感染ラット肺の懸濁液を鼻腔内に約 0.3 ml 宛滴下し吸入させた (Group 1: コーチゾン処理+ラット *Pc* 接種群)。このラットは予め cortisone acetate 25mg per rat, 週 2 回10週間注射により *Pc* の重度感染を起させてあるものである。この懸濁液にはペニシリン500 IU/ml, ストレプトマイシン0.1mg/ml が加えてある。この鼻腔内接種は cortisone 投与開始後10日目および20日目の 2 回実施した。

他の 4 羽には懸濁液の接種は行わず cortisone 投与のみを行いつつ飼育した (Group 2: コーチゾン処理群)。

ウサギは1羽を除き死亡するまで観察し、死亡した場合は直ちに剖検して肺の塗抹標本、組織切片標本 (10%ホルマリン固定後、パラフィンで包埋、7 μ m の切片を作成) および我々の開発した集シスト法 (猪飼ら, 1977) により検索した。すぐに集シスト法を実施できないときは、-80°C の freezer に凍結保存し、適宜融解して行つた。肺塗抹標本はギムザ染色, Chalvardjian's トルイジンブルー-0 染色 (Chalvardjian and Grawe, 1963) (以下 TBO 染色と略) を、組織切片にはヘマトキシリン・エオジン重染色 (以下 HE 染色と略) ならびに TBO 染色を施した。感染濃度の判定は集シスト法によるシスト定量法と、Hughes *et al.* (1974), 吉田ら (1974) が報告した感染濃度表示法の両方を用いて行つた。また電子顕微鏡用材料採取のために別のウサギ 2 羽を用意し、Group 2 と同じ方法で *Pc* を誘発させ、43日および75日目に屠殺し、直ちに材料を採取し固定した。固定は 2.5% グルタルアルデヒド (0.05M カコジル酸緩衝液, pH 7.2) で2.5時間固定し、その後 1% オスミウム酸 (同緩衝液) で後固定し、ついで常法通りエポキシ樹脂包埋、薄切、酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色後、JEM-100S によ

り 80~100KV で観察した。

2. モルモットでの誘発実験

体重約 200g の Hartley 系雄モルモット 24 匹を購入し、購入直後 3 匹を屠殺して前検査に供し、残り 21 匹を同じ室内で飼育した。この室内には他に *Pc* 誘発実験中の多数のラットが飼育されていた。モルモット 1 匹当たり cortisone acetate 25mg を週 2 回宛皮下注射し、実験開始 4 週目から毎日、細菌感染防止の目的でアンピシリン 10mg を各々に皮下注射した。*Pc* 誘発状況の経過観察のためモルモットは実験開始後、毎週 2~3 匹宛屠殺剖検したが 30 日以後は死亡が相ついたのでその都度剖検し、34 日で観察を終つた。剖検時における材料の採取法、染色法、検査法は前述のウサギの場合と同様である。しかし、モルモットにおいては *Pc* 感染ラット肺懸濁液の接種は行わなかつた。

成 績

1. ウサギでの誘発実験

コントロール群の 3 羽のうち 1 羽は購入直後に屠殺し、他の 2 羽は cortisone 投与を行わずテトラサイクリンのみを飲料水に混じて与え、121 日目に屠殺剖検したものである。その成績は表 1 に示す如く組織切片、集シスト法いずれの方法によつても *Pc* は検出されなかつた。

コーチゾン処理+ラット *Pc* 接種群 (Group 1) の 4 羽のウサギは cortisone 投与を行い、かつテトラサイクリンを与え、実験開始 10 日目および 20 日目に *Pc* に重度感染したラット肺の懸濁液を鼻腔に滴下し吸入させたものである。その結果は表 1 に示す如く全例に *Pc* が検出されたが、そのうち 24 日目に死亡したウサギの *Pc* シスト数は集シスト法で 1,600~2,100/肺 1g と少なく、軽感染の範疇に属し、直接の死因は細菌性肺炎であつた。次に 35 日目に死亡した 2 羽のうち 1 羽は約 20~30 万/肺 1g と中等度感染であつたが、他の 1 羽は約 240~300 万/肺 1g で高度の感染を示した。図 1 はこの No. 6 ウサギの集シスト法標本におけるシストを示したものである。*Pc* シストの少ない No. 5 ウサギの方はやはり細菌性肺炎ならびに胸膜炎の所見を示していた。61 日目に屠殺したウサギではほぼ 200 万/肺 1g と濃厚な感染を示していた。

これらの動物の肺の塗抹標本を検査すると、まずギムザ染色では 8 個の嚢子内小体を有するシストが多数認められ (図 2, 3)、一方 TBO 染色では紫青色に染まるシストが散在して認められた。肺組織切片標本では Hughes *et al.* (1974) の方法により、感染濃度を段階評価

表 1 酢酸コーチゾンによるウサギにおける *Pneumocystis carinii* の誘発実験

実験動物	No.	コーチゾン処理 開始後の日数	肺切片標本における 感染濃度の判定* (Grade)	肺 1 g 中の cyst 数 ($\times 10^3$)†	
				左肺	右肺
対 照 群	1	0 S	0	0	0
	2	121 S	0	0	0
	3	121 S	0	0	0
コーチゾン処理+ ラット Pc 接種群 (Group 1)	4	24 D	1	2.1	1.6
	5	35 D	1	298.1	214.8
	6	35 D	3	2975.8	2391.2
	7	61 S	3	2048.1	1997.5
コーチゾン処理群 (Group 2)	8	83 D	1	167.0	342.0
	9	83 D	3	1670.9	313.6
	10	91 D	3	2329.3	2177.6
	11	121 D	2	312.6	670.7

S : 屠殺 D : 死亡

* Hughes *et al.* (1974) の判定基準による

† 猪飼ら (1977) の方法による

すると、4羽中2羽が Grade 1、残り2羽が Grade 3であった。HE染色では細菌性肺炎の認められたウサギに間質の増生を認めたが、他のウサギでは間質性肺炎像は認めなかった。TBO染色ではPcの嚢子が肺胞壁に沿って集合して認められた(図4)。

次にラットPcの接種を行わずコーチゾンのみ投与した群(Group 2)の4羽のウサギにおける成績を表1に示す。この場合、ウサギは比較的長期間生存し、かつ全例にPcが検出された。まず83日目に死亡した2羽のウサギは集シスト法によるシスト数がそれぞれ約16~34万/肺1gと約31~167万/肺1gで、個体により、また左右の肺によつて差が認められた。91日目に死亡したウサギは両肺にほぼ均等に約200万/肺1g以上の濃厚なPc感染を示していた。121日目に死亡したウサギはPcシスト数が31~67万/肺1gとむしろ少なく、かつ左右の肺で差がみられた。

組織切片ではHughes *et al.* (1974)の方法により判定したところ、83日目に死亡した2羽のウサギはGrade 1と3、91日目に死亡したウサギはGrade 3、121日目に死亡したウサギはGrade 2であった。HE染色では、肺胞腔内に脱落した上皮細胞やマクロファージが認められ、間質は好中球、リンパ球の浸潤を伴い増生を認めたが形質細胞の浸潤は認められなかった。

電顕的所見: cortisone投与開始43および75日目に屠殺したウサギの肺胞をみると、trophozoite(栄養型)が

I型肺胞上皮細胞に密着して存在するもの、あるいは肺胞内に遊離して存在するものなどがみられたが(図5)、II型肺胞上皮細胞に密着するものは見られなかった。これはラットにおいても同様で、恐らくII型肺胞上皮細胞に存在する微絨毛のためと思われる。

trophozoiteは図5, 6, 7に示す如く不定形を示し、切片上の大きさは変異に富むが大体1.5~4 μ mの範囲であった。内部には核、仁、ミトコンドリア、ERなどがみられた。pellicleは薄く30~40nmで、内側の単位膜と外側のelectron denseな層の2層からなっていた。虫体の周囲には管状突起が多数認められた。

precyst(前嚢子)はtrophozoiteからcyst(嚢子)への移行型と考えられている。precystは図8に示す如く、外形が円形ないし楕円形となり、3~4 μ mの直径を有し、pellicleはtrophozoiteのそれより次第に厚くなり、ほぼ50~120nmとなる。そのpellicleは内側の単位膜と外側のelectron denseな層の間にelectron lucentな層が現われ、3層構造を示してくる。内部にはミトコンドリアの集合がみられ、そのほか核、空胞などがみられた。

cystは図9に示す如く類円形で3~4 μ mの直径を有し、cyst内には直径約1 μ mのintracystic body(嚢子内小体)が存在し、pellicleの厚さならびに構造は後期のprecystとほぼ等しかった。intracystic bodyの形態は円形またはバナナ形を示す場合が多いが時にアマー

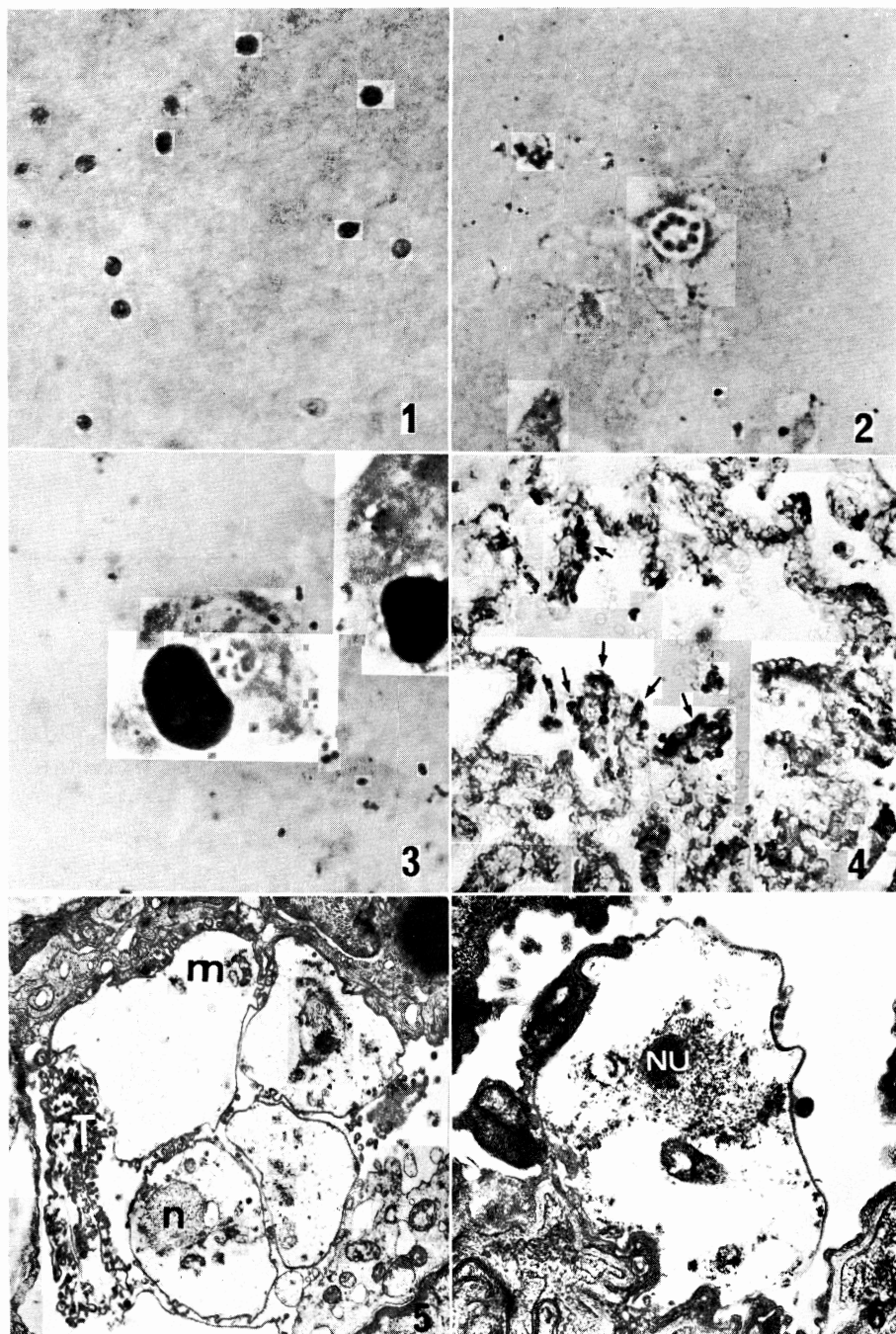


図 1-12 コーチゾン処理によりウサギ (1-10) およびモルモット (11, 12) の肺に誘発した *Pneumocystis carinii*.

図 1 集シスト法により集められた囊子 (TBO 染色, $\times 600$)

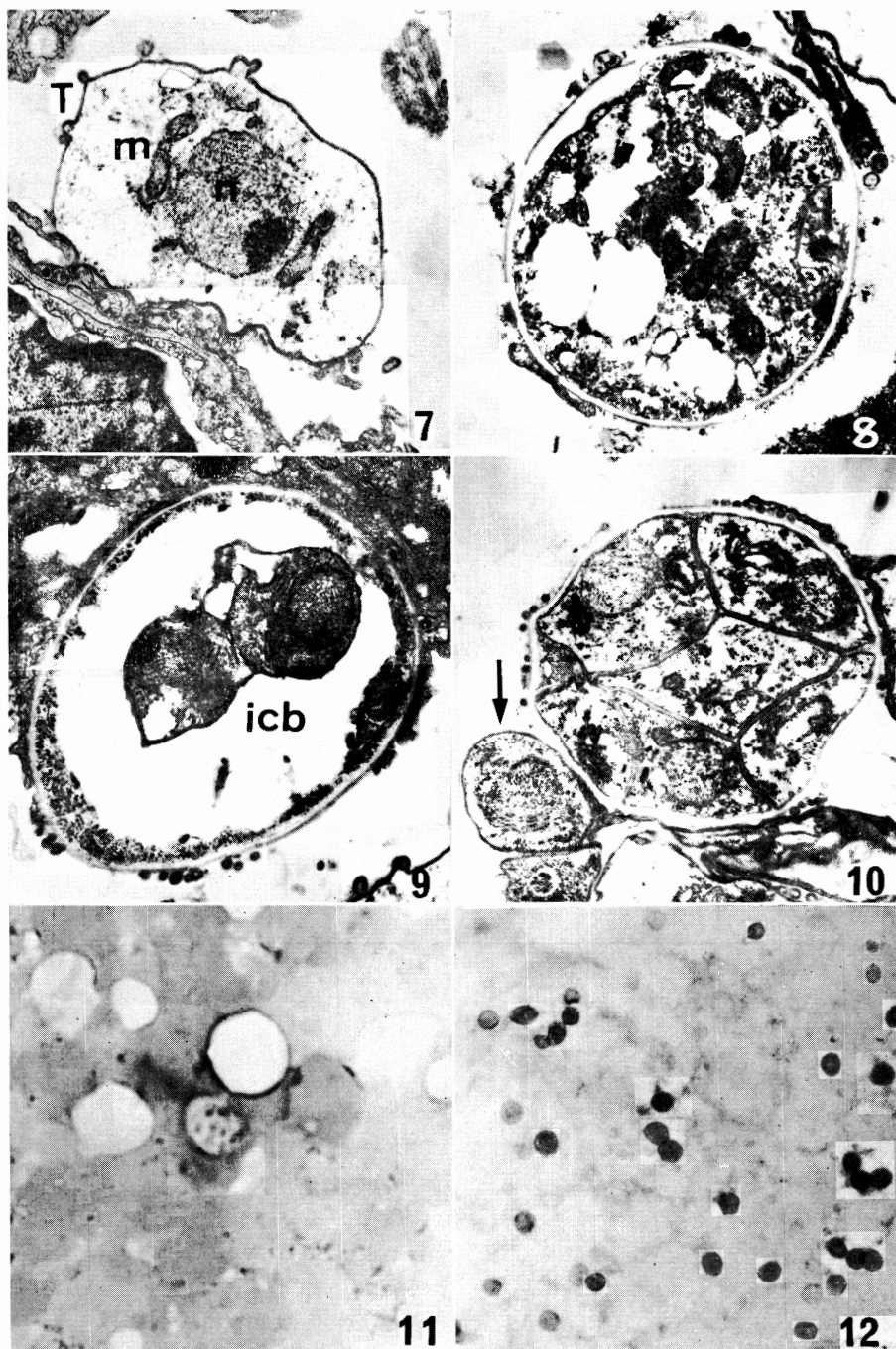
図 2 8個の球状の囊子内小体を有する成熟囊子 (肺塗抹標本ギムザ染色, $\times 1,600$)

図 3 肺胞マクロファージに食食された囊子 (肺塗抹標本ギムザ染色, $\times 1,600$)

図 4 肺胞上皮細胞に接着して寄生している囊子 (矢印) (肺切片標本 TBO 染色, $\times 200$)

図 5 肺胞中の栄養型の4つの断面. I型肺胞上皮細胞に密着しているもの, および遊離しているもの. n:核, m:ミトコンドリア, T:管状突起 ($\times 7,700$)

図 6 I型肺胞上皮細胞に密着している栄養型. 外被は薄く (30nm) 多形性. NU:仁 ($\times 15,300$)



- 図7 一部I型肺胞上皮細胞に接着し、肺胞中に存在する典型的な栄養型 (×15,300)
- 図8 外形が球状となり、外被が厚くなり、ミトコンドリアの増生・集塊がみられる前嚢子 (×15,300)
- 図9 2個のほぼ完成した嚢子内小体の断面がみられる嚢子。嚢子内小体(icb)の中に核、仁、粗面小胞体が見られる (×13,800)
- 図10 アメーバ状の嚢子内小体を含む嚢子。その横(矢印)に脱嚢直後と思われる若い栄養型がみられる (×12,600)
- 図11 モルモットの肺塗抹標本にみられた成熟嚢子。8個の嚢子内小体をもつ(ギムザ染色, ×1,600)
- 図12 集シスト法によって集められた嚢子 (TBO 染色, ×600)

表 2 酢酸コーチゾンによるモルモットにおける *Pneumocystis carinii* の誘発実験

No.	コーチゾン処理 開始後の日数	感染濃度の判定 (Grade)		肺 1 g 中の cyst 数 ($\times 10^3$) \ddagger
		肺塗抹標本*	肺切片標本 \dagger	
1	0 S	0	0	0
2	0 S	0	0	0
3	0 S	0	0	0
4	5 D	0	0	0
5	7 S	0	0	0
6	7 S	0	1	25
7	7 S	0	1	82
8	14 S	0	0	0
9	14 S	0	1	1
10	14 S	0	1	118
11	19 D	0	1	13
12	21 S	0	0	0
13	21 S	0	0	0
14	21 S	0	1	0.2
15	26 D	1	1	81
16	28 S	1	2	1339
17	28 S	1	2	1532
18	30 D	1	1	129
19	30 D	1	2	2294
20	31 D	1	1	311
21	32 D	1	1	307
22	33 D	1	1	80
23	33 D	1	1	474
24	34 D	2	3	10645

S : 屠殺 D : 死亡

* 吉田ら (1974) の判定基準による

 \dagger Hughes *et al.* (1974) の判定基準による \ddagger 猪飼ら (1977) の方法による

バ状を呈しシスト内に充満するものがあつた (図10)。これは円形またはバナナ形からさらに発育したものか、あるいはその逆なのか目下結論を得ていない。

以上の如くウサギの肺に増殖した *Pc* を電顕的に検討した結果は、ラットにおける *Pc* と比較し特に異なる点は見出されなかつた。

2. モルモットでの誘発実験

表2に示すように、購入直後に屠殺剖検した3匹のモルモットは塗抹、切片、集シスト法のいずれの方法によつてもシストを見出さなかつたが、コーチゾン処理群では21匹中16匹に *Pc* が検出された。肺塗抹標本では実験開始後26日目からシストが認められたが、肺切片標本および集シスト法ではもつと早く7日目からすでに認めら

れ、これらの方法が軽感染の摘発に優れていることを示している。ほぼ1週間毎に2-3匹宛検査したところシスト数は経日的に増加し、実験開始後28日ないし34日目では最低8万/肺1gから最高1,000万/肺1gを数えた。肺の塗抹標本に見出されたシストおよび集シスト法で見出された多数のシストを、それぞれ図11および図12に示した。それらの形態ならびに染色性はラットおよび上述のウサギから得られたものと異なるところはなかつた。従来、モルモット肺において *Pc* を実験的に増殖させた成績はなかつたが、今回の実験によりやや検出シスト数にばらつきはあるもののモルモットは *Pc* の研究に実験動物として十分用いられることが明らかになつた。

考 察

1. ウサギでの誘発実験

ウサギではじめて *Pc* の誘発実験を行ったのは Linhartová (1958) で、15羽のウサギを用い2～57日間、毎日 cortisone を投与した。cortisone の総量は5～450mg であった。その結果12羽 (80%) に *Pc* 感染を見出し、そのうち総量90 mg 以上を与えたものでは全例に感染を誘発しえたと報告した。一方5羽のコントロールは陰性であった。

次に Sheldon (1959) はウサギを用いてかなりまとまった実験を行った。彼は体重205～1,800g の雌雄を問わないウサギに5～10 mg/kg の cortisone を毎日2回筋注し、さらにペニシリンとストレプトマイシンを併用した。その実験結果をみると、① *Pc* に感染しているウサギまたは患者の肺の懸濁液を鼻腔接種して cortisone 処理を行った群は中等度ないし高度の感染と肺炎像を示した。②上記の材料を煮沸して鼻腔接種を行い、cortisone 処理を同様に行った群の感染状態は①と同等であった。③抗生剤と *Pc* 感染ウサギ肺懸濁液を与え、cortisone を与えなかつた群でも少数の *Pc* 感染を認めた。④何も与えなかつた正常ウサギ群においてもごく少数の *Pc* と、ごく小さい肺炎病巣を認めた。以上の所見からこれらウサギの間には *Pc* の潜在感染が広く存在し、宿主の抵抗力の減弱に乗じて活性化するものであらうと結んだ。

わが国では池本・森 (1973) がモルモットやウサギにストレプトマイシン、ペニシリン、プレドニゾロンを投与したが *Pc* 感染を誘発することはできなかつたと報告した。

筆者らの成績を上記報告と比較考察してみると、まずコーチゾンの投与方法が異なり、Linhartová (1958) は毎日少量ずつコーチゾンを与えるとして良好な感染を起しうるとし、Sheldon (1959) は全実験期間を通じ、1日2回毎日コーチゾンを投与を行った。しかし我々は週2回のみ cortisone 投与で濃厚な感染を誘発させることができた。次に *Pc* 感染肺の鼻腔接種の意義について、Sheldon も我々も接種を行った群と行なわなかつた群との間に差を認めておらず、感染はこの様な方法に依存したとは考えられない。次に感染濃度の評価の問題であるが、Sheldon は組織切片を鏡検し、*Pc* シストのないものを Grade 0、稀にみられるものを Grade 1、少数のものを Grade 2、やや多いものを Grade 3、非常に多

いものを Grade 4 と分類した。*Pc* 感染肺の組織像を観察していると病巣は必ずしも均一でなく、シストの非常に多いところもあれば全くないところもある。筆者らは勿論組織像も検索したが、感染濃度を云々するときには肺の各所から1g の材料を採取し、集シスト法 (猪飼ら、1977) を行つて定量的にシスト数を表示しており、この方がより客観性があると考えられる。

次に *Pc* 肺炎は両肺にはほぼ均等に発生すると一般に考えられており、患者の肺のX線像の経過をみてもそのように推定される。今回、ウサギというかなり大きな動物に *Pc* 誘発実験を行ったので両肺の感染量の差を検討することができた。その結果、8羽中5羽までが左右肺の1g 当りのシスト数はほぼ一致している。しかし、残りの3羽は、一方が他方の2倍 (2羽) ないし5倍 (1羽) の感染量を示した。このことはヒトの場合でも、大低の場合は左右ほぼ平等に病変が進行するが、時には一方に偏して局所的増殖がありうることを示唆している。

2. モルモットでの誘発実験

現在までにモルモットを用いて *Pc* の誘発実験を試みたのは Linhartová (1958)、Farrow *et al.* (1972) および池本・森 (1973) であるが、いずれも失敗に終わっている。Linhartová は7匹のモルモットに、10～25 mg /日の cortisone を70日間投与し (総量980～1,000 mg) 検索したが、対照動物と共にすべて陰性に終わったと報告した。Farrow *et al.* (1972) は多数の *Pc* に感染していたイヌの肺の懸濁液をモルモットの肺に注入し毎日プレドニゾロンを投与したが感染に成功しなかつた。池本・森の結果はウサギの項で述べた通りである。ところが今回の筆者らの誘発実験によるとモルモット1匹当たり cortisone acetate 25 mg を週2回皮下注射することにより容易に *Pc* を誘発させることができた。塗抹標本検査では実験開始26日に初めて *Pc* を検出したが、組織切片検査および集シスト法では7日目に既に *Pc* を検出しており、ラット、ウサギ、マウスなどよりむしろ増殖が早いように思われる。ただ30日以後は死亡するものが多く、この点、実験にやや困難がある。今後 cortisone の量をさらに検討すれば好適な実験動物として利用できるものと思われる。

3. *Pc* の形態

今回、ウサギの肺で増殖した *Pc* について光顕的ならびに電顕的に、またモルモットの *Pc* については光顕的に検討した結果、その形態、染色性、肺胞内における寄生状態などは従来ラットで得られた所見と異なる点は見

出されなかつた。

結 語

Pc の感染実験動物として従来ラットが主に用いられてきたが、今回、ウサギとモルモットを用いて *Pc* 誘発実験を行った。

まずウサギについては従来の報告より簡便な cortisone acetate 35 mg/kg, 週 2 回皮下注射という方法により、投与開始後 24 日から 121 日の間の 8 羽中のすべてに種々の濃度の *Pc* 感染を誘発させることができた。この際、*Pc* に感染したラットの肺の懸濁液をウサギの鼻腔内に接種した群も接種しなかつた群も、その後の感染量に差異はなかつた。また左右の肺の感染量を比較した所、多くのものは、左右ほぼ同等であつたが、左右差を示すものもあつた。このことは、*Pc* 肺炎は一般に両肺ほぼ均等に進行するが時に focal な病巣を生じうることを示している。

次にモルモットにおける *Pc* 誘発実験は従来成功したものがなかつたが、今回 cortisone acetate 1 匹当たり 25 mg, 週 2 回の投与により、投与開始後 7 日から 34 日の間に、剖検した 21 匹中 16 匹 (76.2%) に *Pc* の感染が成立し、中には重度感染を示すものもあつた。モルモットはこの種の実験に有用な動物であることが明らかとなつた。

上記、ウサギおよびモルモットの肺に増殖した *Pc* を光顕的ならびに電顕的に検討した結果、その形態、染色性、寄生状態などの点で従来ラットにおける所見と異なるところは見出されなかつた。

文 献

- 1) Chagas, C. (1909): Nova tripanozomiase humana. Mem. Inst. Oswald. Cruz., I, 159-218.
- 2) Chagas, C. (1911): Ein neuentdeckter Krankheitsporozess des Menschen. Bericht über die ätiologischen und klinischen Beobachtung. Mem. Inst. Oswald. Cruz., III, 219-275.
- 3) Chalvardjian, A. W. and Grawe, L. A. (1963): A new procedure for the identification of *Pneumocystis carinii* cysts in tissue sections and smears. J. Clin. Path., 16, 383-384.
- 4) Claman, H. N. (1978): Corticosteroids and lymphoid cells. N. Engl. J. Med., 287, 388-397.
- 5) Delanoë, M. et Delanoë, M^{me}. P. (1912): Parasitologie-Sur les rapports des kystes de Carini du poumon des rats avec le *Trypanosoma lewisi*. C. R. Acad. Sci., 155, 658-660.
- 6) Farrow, B. R. H., Watson, A. D. J., Hartley, W. J. and Huxtable, C. R. R. (1972): *Pneumocystis pneumonia* in the dog. J. Comp. Path., 82, 447-453.
- 7) Frenkel, J. K., Good, J. T. and Schultz, J. A. (1966): Latent pneumocystis infection of rats, relapse, and chemotherapy. Lab. Invest., 15, 1559-1577.
- 8) Göetz, O. und Rentsch, L. (1957): Weitere Untersuchungen zur experimentellen Ratten *Pneumocystose*. Z. Kinderheilk., 79, 578-585.
- 9) 灰塚隆敏 (1979): *Pneumocystis carinii* 肺炎に関する基礎的研究 I. ラットに於ける *Pneumocystis carinii* 肺炎の誘発—数種ステロイド剤の phosphate 及び acetate による比較. 広島大医誌, 27, 305-314.
- 10) 樋口英嗣・亀山宏平・小島国次 (1972): *Pneumocystis carinii* 感染症の一剖検例ならびに動物実験について. 日胸疾会誌, 10, 517.
- 11) Hughes, W. T., McNabb, P. C., Makress, T. D. and Feldman, S. (1974): Efficacy of trimethoprim and sulfamethoxazole in the prevention and treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonitis. Antimicrob. Agents and Chemoth., 5, 289-293.
- 12) 猪飼 剛・吉田幸雄・荻野賢二・竹内 滋・山田 稔 (1977): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎の研究 II. 集シスト法. 寄生虫誌, 26, 314-322.
- 13) 池本秀雄・森 健 (1973): ニュー モシスティス症. 内科, 31, 1393-1398.
- 14) Linhartová, A. (1956): Experimentelle *Pneumocystose* bei Ratten. Z. Bakt. I. Abt. Orig., 167, 178-186.
- 15) Linhartová, A. (1958): Weitere Beiträge zur experimentellen Lungenpneumocystose. Zbl. Allg. Path., 98, 393-400.
- 16) 永井一徳・鎌田義正 (1974): *Pneumocystis carinii* 肺炎の実験的研究. 最新医学, 29, 399-408.
- 17) Ogino, K. (1978): *Pneumocystis carinii*—Experimental pulmonary pneumocystose in rats. Jpn. J. Parasitol., 27, 77-89.
- 18) 奥田俊郎・高坂 登・仙田房雄 (1979): *Pneumocystis carinii* 肺炎の研究(1) Cortisone 処理ラットにおける実験的 *Pneumocystis carinii* 肺炎. 衛検, 28, 44-47.
- 19) Pliess, G. und Trode, H. (1958): Experimentelle *Pneumocystose*. Frankf. Z. Path., 69, 231-246.

- 20) Ricken, D. (1958): Histologischen Untersuchungen bei experimentellen Pneumocystis-pneumonia. Virch. Arch. Path. Anat., 331, 713-728.
- 21) Sheldon, W. H. (1959): Experimental pulmonary *Pneumocystis carinii* infection in rabbits. J. Exp. Med., 110, 147-169.
- 22) Takaoka, M., Matsui, Y., Nakajima, Y., Shinonaga, S. and Kano, R. (1978): Provocation of *Pneumocystis carinii* pneumonia in rats by various regimens and routes of steroid administration. Jpn. J. Parasitol., 27, 417-426.
- 23) Weller, R. (1955): Zur Erzeugung von Pneumocystosen in Tierversuch. Z. Kinderheilk., 76, 366-378.
- 24) Weller, R. (1956): Weitere Untersuchungen über experimentelle Ratten-pneumocystose im Hinblick auf die interstitielle Pneumonie der Frühgeborenen. Z. Kinderheilk., 78, 166-176.
- 25) 吉田幸雄・荻野賢二・有菌直樹・近藤力王至・松野喜六 (1974): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis* 肺炎に関する研究(1) cortisone 処理ラットにおける原虫の出現. 寄生虫誌, 23(増), 23.
- 26) 吉田幸雄 (1981): ニューモシスチス・カリニ肺炎, 初版, 28-30頁, 南山堂, 東京.

Abstract

STUDIES ON *PNEUMOCYSTIS CARINII* AND *PNEUMOCYSTIS CARINII*
PNEUMONIA. VIII. PROVOCATION EXPERIMENT IN
RABBITS AND GUINEA PIGS

MINORU YAMADA, TSUYOSHI IKAI, KENJI OGINO, YOSHITSUGU MATSUMOTO,
TSUNEZO SHIOTA AND YUKIO YOSHIDA
(Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural
University of Medicine, Kyoto, Japan)

As an animal model for *Pneumocystis carinii* pneumonia, rat has been mainly used by giving successive immunosuppressive treatment. The present paper describes the results of experimental provocation of *P. carinii* in rabbits and guinea pigs. Eleven adult male rabbits, weighing 1.8-2.5 kg, were composed of 3 rabbits without any treatment for control and 8 rabbits with immunosuppressive treatment by giving cortisone acetate 35 mg/kg, twice a week, for 3-17 weeks. The test animals were further divided into 2 groups, in which 4 rabbits (Group 1) were intranasally inoculated with the emulsion of *P. carinii* heavily infected rat's lungs, and the other 4 rabbits (Group 2) were not.

All of the test animals showed various grades of *P. carinii* infections in the lungs whereas the control animals were all negative when examined at the time of beginning and ending of the experiment. Our procedure, intermittent immunosuppressive administration mentioned above, seems to be more convenient than the daily or twice-daily administration shown by Linhartová (1958) or Sheldon (1959). The fact that the number of *P. carinii* cysts estimated by the cyst concentration method (Ikai *et al.*, 1977) was not different as a whole between Group 1 and 2, suggests the less significance of such kind of artificial inoculation. The number of cysts per 1g of right and left lungs was almost the same in 5 animals and was different in 3 animals. These results lead us to the understanding on the clinical similarities that the X-ray findings progress bilaterally in most cases but are one-sided in some cases.

An attempt on the experimental pneumocystosis in guinea pigs has been carried out by some workers in the past resulting all with failure. In the present investigation, 21 Hartley-strain male adult guinea pigs were treated with cortisone acetate, 25 mg per animal twice a week for 5-34 days. In addition, 3 were examined at the beginning of the experiment. *Pneumocystis carinii* was found in 16 (76.2%) out of 21 guinea pigs treated although the number of cysts showed considerable variety among the animals. The authors propose the guinea pig as an useful and susceptible animal for *Pneumocystis* study.

The light microscopic and electron microscopic investigation on *P. carinii* obtained in the present study did not show any difference from those found in rat's lungs and in human lung in their shapes, staining characteristics and pattern of the infection in the alveolus.