

# HeLa 細胞に対する脛トリコモナス原虫接種実験 —特に脛トリコモナス原虫の組織破壊作用について—

福島医科大学産科婦人科学教室 (主任 貴家寛而教授)

大川 知之 吾妻 達郎 小寺 敏雄

**概要** 1940年 Trussel 等が脛トリコモナス原虫 (以下「ト」原虫と略す) を健康人の脛に接種して脛炎を惹起することに成功して以来「ト」原虫の病原説がほぼ確立するに至った。

しかし「ト」脛炎患者の脛内容物を鏡検すると「ト」原虫の外に多数の多種類の細菌, 白血球及び破壊された脛上皮細胞が認められる。従つていわゆる「ト」脛炎が「ト」原虫自体によつて惹起されるのか或いは「ト」原虫と他の細菌の共同作用によるものか, 又脛上皮細胞の破壊現象が「ト」原虫自体によつて起るとするならば「ト」原虫の運動によるものか或いは「ト」原虫が Toxin を出すと仮定し, この Toxin によるものか等の問題は完全に解明された問題とはいいきれない。

我々はこの問へのアプローチとして HeLa 細胞に純培養した「ト」原虫及び濾過液を投与し「ト」原虫単独による HeLa 細胞への影響を追及し次のような知見を得た。

- 1) 他の細菌との共同作用によらず「ト」原虫単独でも組織破壊作用は起し得る。
- 2) 「ト」原虫接種後24時間で HeLa 細胞に小孔が形成され, 次いで細胞の破壊及び変性が周囲に向つて進み72時間後には HeLa 細胞は殆んど全部破壊された。
- 3) 「ト」原虫の組織破壊作用は「ト」原虫の出す Toxin によるというよりも「ト」原虫の活発な運動が主体を演ずると思われる。

以上のことより「ト」原虫の組織破壊作用は予想以上に強力で「ト」脛炎の脛発赤, 出血, 脛上皮細胞の破壊等の臨床所見の発来は容易にうなずける。

## 1. はじめに

1836年 Donie によつて脛トリコモナス原虫 (以下「ト」原虫と略す) が発見され, Hoehne によりその病原性が指摘されて以来, 絶対性病原説, 相対性病原説, 或いは非病原説等, 種々論議されて来た。

しかし1940年 Trussel 及び Plass<sup>1)</sup> が「ト」原虫を健康婦人に接種して脛炎を惹起することに成功し「ト」原虫に病原性のあることがまず間違いないことと考えられるに至った。

しかし「ト」脛炎の患者の脛内容物を鏡検すると「ト」原虫の外に必ず多種類の細菌と白血球及び破壊された脛上皮細胞が存在するのがみられる。従つていわゆる「ト」脛炎が単に「ト」自体によつて惹起されるのか或いは「ト」と他の細菌との共同作用によるものか, 又脛上皮細胞の破壊現象が「ト」自体によつて起るとするならば「ト」の物理的作用によるものか或いは「ト」が Toxin を出すと仮定してこの Toxin による化学的作用による

ものか等の問題は完全に解明された問題とはいいきれない。そこで我々は HeLa 細胞に純培養した「ト」を接種し, 「ト」単独による HeLa 細胞への影響を追及してみた。

## 2. 実験材料並びに実験方法

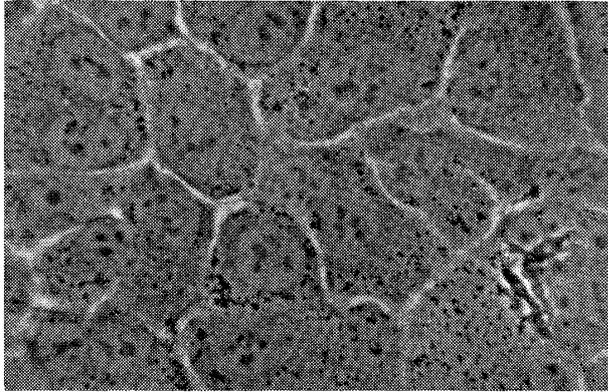
S.Y.S. 培地<sup>2)</sup>にて純培養した「ト」を Y.L.E. 培地<sup>3)</sup>にて継代培養した HeLa 細胞に接種した。この際 HeLa 細胞は丸型試験管による短冊培養を行ない, 継代後3日目のものを用いた。観察は位相差顕微鏡にて次の2項目について24時間毎に行なつた。

- 1) 「ト」約 1,000個を HeLa 細胞に接種した。
  - 2) 培養中の「ト」を濾紙にて濾過し「ト」1,000個含有に相当する量の濾液を HeLa 細胞に接種した。
- なお S.Y.S. 培地, Y.L.E. 培地共無菌テストを行ない「ト」以外無菌であることを確認した。

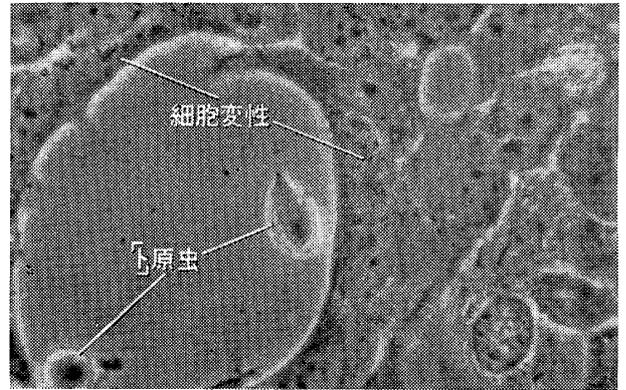
## 3. 実験結果

「ト」を HeLa 細胞に接種し24時間後に鏡検してみ

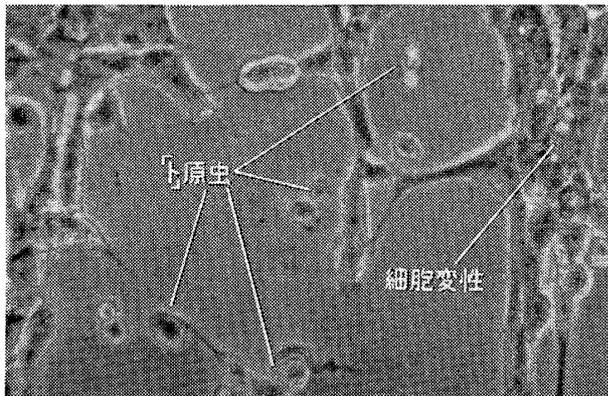
第1図 「ト」原虫接種前の HeLa 細胞 400×



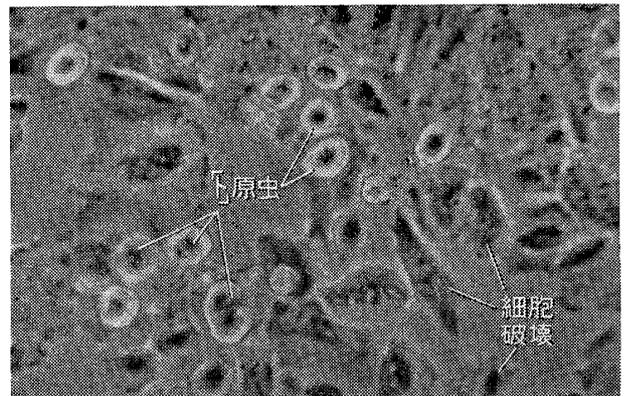
第2図 「ト」原虫接種24時間後、HeLa 細胞内に小孔が形成され、その中に「ト」原虫がみられる。小孔の周囲の HeLa 細胞は変性を起している。400×



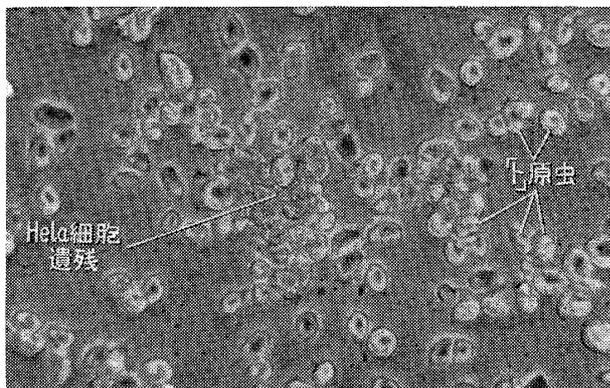
第3図 「ト」原虫接種48時間後。随所に小孔が形成され、それが周囲に向つて拡大破壊され、融合している。「ト」原虫は増殖し、細胞変性、破壊はより進んでいる。200×



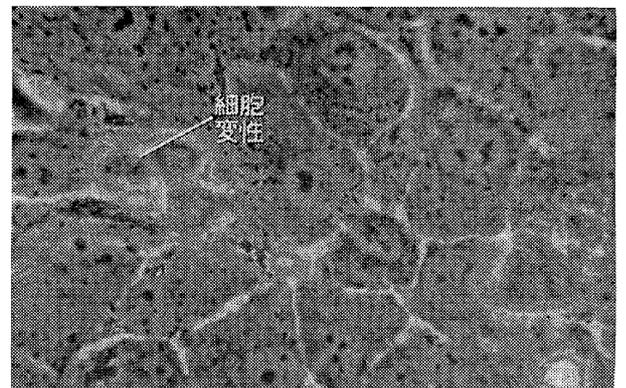
第4図 「ト」原虫接種48時間後、「ト」原虫は増殖し HeLa 細胞の破壊、変性は著明である。400×



第5図 「ト」原虫接種72時間後。HeLa 細胞は殆んど破壊され、大部分「ト」原虫によつて占められている。ほど中央に HeLa 細胞の遺残がみられる。200×



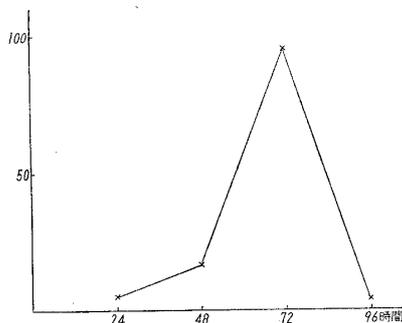
第6図 「ト」原虫濾過液投与48時間後。HeLa細胞の一部に細胞変性がみられるが、第3、第4図のような細胞破壊、変性はみられない。400×



ると、接種前第1図のように HeLa 細胞が一面に敷きつめられている一画に第2図に示すように小さい孔が形成されこの中に「ト」の存在が認められる。この小孔は HeLa 細胞の随所に多数みられる。24時間後では「ト」の存在は一視野平均5個である。

48時間後では第3図及び第4図に示される如く敷きつめられた HeLa 細胞の一画に形成された小孔は周囲に向つて破壊が進行し、その破壊作用は急激かつ強力である。48時間後の虫体数は一視野平均17個である。

第7図 HeLa 細胞に接種した「ト」虫体数の消長。縦軸は一視野に於ける平均虫体数を示す。



更に72時間後では第5図に示す如く HeLa 細胞は大部分崩壊されほとんど「ト」により占められるに至る。この時点での「ト」は一視野平均95個である。

96時間後では HeLa 細胞の存在はほとんどなく「ト」も急速に死滅し一視野平均4個である。この「ト」の消長を図示すると第7図の如くなる。

一方「ト」純培養液を濾過した濾液を HeLa 細胞に投与し48時間後に検鏡すると第6図に示す如く軽度の細胞変性はみられるが「ト」自体を接種した48時間後の場合のような HeLa 細胞の破壊像はみられない。

#### 4. 考 按

冒頭に述べた如く「ト」の病原性は現在一般に認められてはいるが、その病態生理に関しては必ずしも明確化されているとはいきれない。即ち「ト」患者のスメアを検鏡すると「ト」の外にこれと共棲する多種類の細菌及び破壊された陸上皮細胞が認められる。ちなみに Lash<sup>4)</sup> は「ト」症 104例より27種類の細菌を分離している。「ト」の病原説を確立したといわれる Trussell 及び Plass, Hesseltin<sup>5)</sup>, Kessel 及び Gafford<sup>6)</sup> 等の「ト」人陸接種実験にしても人陸内では他の細菌が共棲していたはずである。

そこで1つの問題は共棲する細菌と共同してではなく

「ト」単独で陸上皮に対し病変を起し得るかどうかである。

この問題に対するアプローチとして我々は HeLa 細胞に他の細菌を含まない純培養した「ト」を接種してみた。実験結果でも述べた如く HeLa 細胞に対する「ト」の破壊作用は著明であり臨床的には他の細菌と共棲しない「ト」はみられないが「ト」自身だけでも陸上皮細胞に病変を起し得ると考えられる。

もう1つの問題は「ト」陸炎における陸上皮細胞の破壊は「ト」のいかなる作用によるものかという問題である。即ち「ト」が代謝産物としてある種の Toxin を出すと仮定してこの Toxin の影響によるものか或いは「ト」の運動による物理的作用によるものかということである。

Houge<sup>7)</sup> によるとこの組織の破壊作用は「ト」の出す化学的物質によるといい、この物質は蛋白分解酵素というより比軸的熱に弱い Toxin であるという。又「ト」の培養濾過液にも組織破壊作用があるという。

しかし Kotcher and Hoogasian<sup>8)</sup> 及び Christian<sup>9)</sup> は「ト」の濾過液には toxic factor は認められなかつたという。

我々も「ト」の純培養の濾過液で試みたが HeLa 細胞に軽度の変性は認められたが破壊現象は認められなかつた。従つて「ト」の組織破壊現象は「ト」の代謝産物である或る種の Toxin 等によるというよりは「ト」の運動による物理的作用がその主役を演ずるものと思われる。

「ト」陽性婦人の子宮癌細胞診の際異型細胞が現れ疑陽性となり細胞診に困難を感じたり、「ト」患者の陸の出血斑や Chappaz<sup>10)</sup> のいう「ト」陽性妊婦の性器出血と切迫流産の出血とのまざらわしき等の臨床上の問題は HeLa 細胞に接種した「ト」の強力な細胞破壊作用から容易に想像される所である。

#### 5. 結 論

1) 「ト」の病態生理を究明するため、HeLa 細胞に純培養した「ト」を接種し24時間毎にその経過を追及した。

2) 「ト」と他の細菌との共同作用によらずとも「ト」単独でも組織破壊作用は起し得る。

3) 「ト」の組織破壊作用は代謝産物の Toxin によるというよりは「ト」の運動がその主体を演ずると思われる。

4) 「ト」接種後24時間で HeLa 細胞に多数の小孔が形成され、次いでこれらの周囲に向つて細胞変性、破壊作用が行なわれ、72時間後で HeLa 細胞は殆んど全部破壊された。

5) 「ト」の組織破壊作用は予想以上に強力であり「ト」腔炎の腔発赤、出血、腔剝脱細胞の破壊等の臨床所見の発来は容易にうなずける。

#### 参考文献

1) *Trussel, R.E. and Plass, E.D.*: Am. J. Obst. & Gynec. 40: 883, 1940. — 2) 池内恵二: 阪市大医誌, 8: 853, 1959. — 3) 堀田進・大山昭夫: 組

織培養の基本と実際, 永井書店, 1963. — 4) *Lash, J.J.*: Am. J. Obst. & Gynec. 67: 138, 1954. — 5) *Hesseltine, H.C., Wolters, S.L. & Campfell, A.*: J. Infect. Dis., 71: 127, 1942. — 6) *Kessel, J.F. & Gafford, J.A.*: Am. J. Obst. & Gynec., 39: 1005, 1940. — 7) *Houge, Mary Jane*: J. Parasitol., 33: 199, 1947. — 8) *Kotcher, Emil, and Hoogasian, Alicia, C.*: J. Parasitol. 43: 39, 1957. — 9) *Robert, T., Christian, Norman, F., Miller, Peter, P. Ludovici, Gardner, M. Riley*: Am. J. Obst. & Gynec. 85: 947, 1963. — 10) *G. Chappaz* (代田訳): 産婦実際, 13: 877, 1964.

(No. 1990 昭41・11・7 受付)