



Title	腸トリコモナスの生物学的研究 第Ⅰ報 無菌培養と 電子顕微鏡による形態学的観察 第Ⅱ報 マウス腸管 内接種試験
Author(s)	中井, 丈夫
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36012
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	中 井 丈 夫
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8109 号
学位授与の日付	昭和 63 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科社会系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	腸トリコモナスの生物学的研究 第 I 報 無菌培養と電子顕微鏡による形態学的観察 第 II 報 マウス腸管内接種試験
論文審査委員	(主査) 教 授 中林 敏夫 (副査) 教 授 三輪谷俊夫 教 授 井上 公蔵

論文内容の要旨

〔目 的〕

第 I 報 腸トリコモナス *Pentatrichomonas hominis* は熱帯に広く分布する腸管寄生原虫で、わが国でも輸入感染症として重要である。本原虫の生物学的、医学的基礎研究はきわめて少ない。本研究では、今後の研究に資する目的で、原虫の無菌培養の確立と、電子顕微鏡の観察を行い、従来の知見との比較検討を行った。細菌共存培養腸トリコモナスを無菌のかつ良好な増殖を得るために、Diamond 培地使用 Gas Pak 法 (BBL) を試み無菌培養の確立を意図した。つづいて無菌培養となった原虫を用いて各種培地 (変法 Diamond 培地等)、各種通気条件 (N_2 , O_2 , CO_2) にて比較検討し、さらに原虫の形態を、走査型電子顕微鏡及び透過型電子顕微鏡にて観察した。

第 II 報 本原虫の腸管内寄生における原虫の増殖性、病害性等の病態生理学的知見を得る目的でマウス腸管内接種実験を試みた。抗生物質及び免疫抑制剤を投与したマウスを用いて、無菌培養腸トリコモナスを経口的に胃内接種し、盲腸内増殖率と電子顕微鏡観察による組織侵入性について観察した。

〔材料と方法〕

第 I 報 細菌共存の田辺千葉培地培養より遠心集虫法にて集めた腸トリコモナスを 60mm dish に移し、Diamond 培地 9 ml, 原虫 0.5 ml (1×10^4 / ml), Penicillin G 2,000 u / ml, Streptomycin sulfate 1 mg / ml, Kanamycin sulfate 0.1 mg / ml, Chloramphenicol 0.1 mg / ml 添加し Gas Pak 法にて無菌培養を試行した。つづいて各種培地 [1) 変法田辺千葉培地, 2) 抗生物質添加変法田辺千葉培地, 3) 変法 TYM 培地, 4) 変法 V. Bouillon, 5) システイン・ブイヨン血清培地, 6) トリコモナス培地 (ニッスイ), 7) Diamond 培地, 8) 変法 Diamond 培地] を Gas Pak 法 (BBL) による嫌気性培養において

て比較検討した。通気性は、1) N_2 100%, 2) N_2 90% + CO_2 8% + O_2 2%, 3) CO_2 2~3% (Candle jar method), 4) O_2 5~6% + CO_2 10% + N_2 85% (CampyPak system), 5) CO_2 4% (Gas Pak, CO_2 system), 6) CO_2 10% + H_2 90% (GasPak anaerobic system) の各条件下で変法Diamond培地を用いて比較検討した。また、大気中の培養では、変法Diamond培地と変法田辺千葉培地を用いて比較検討した。形態学的検査は無菌培養した原虫を2%グルタルアルデヒドと1%オスミウム酸で重固定し白金パラジウムで蒸着し走査型電子顕微鏡で観察した。また、透過型電子顕微鏡観察のため、超薄切片標本を作製し、観察に供した。

第Ⅱ報 ICR系雄4~5週齢マウス148匹、1) Penicillin G 40,000 u/kg/day, 2) Kanamycin sulfate 50mg/kg/day, 3) Chloramphenicol 50mg/kg/day, 4) Latamoxef sodium (LMOX) 35mg/kg/dayはマウスに原虫接種前日より10日間、マウス用経口ゾンデで胃内接種、5) Cyclophosphamide 30mg/kg/dayは原虫接種6日前より14日間腹腔内投与した。6) Cyclophosphamide 30mg/kg/day 5) 同様) + LMOX 35mg/kg/day 4) 同様) の処置後、Gas Pak法にて変法Diamond培地で48時間培養原虫を0.5ml (20×10^5 /ml) 経口的胃内接種し毎日12日間剖検後盲腸内原虫数をhemocytometerで算定した。実験後、マウス腸管(盲腸)を約1mm角の細片にした後、第Ⅰ報の方法に従って、走査型電子顕微鏡、透過型電子顕微鏡にて観察した。

[成績]

第Ⅰ報 無菌培養法の検討では、変法Diamond培地、抗生物質増量Diamond培地が他培地に比べ著しく良好な増殖を示し、通気性では、 N_2 100%下と CO_2 10% + H_2 90%下増殖が顕著であった。形態学的観察では、前鞭毛は5本で内1本が独立してやや腹面の頭部より出て体壁に沿い後方に向い先端が遊離鞭毛となっていること及び従来よりその存在が討議されていて細胞口に相当する構造は見られないことが走査型及び透過型電子顕微鏡像により明らかになった。

第Ⅱ報 無処置マウスでは時間を追って原虫数の減少を見たが、LMOX処理及びCyclophosphamide + LMOX処理では、盲腸内原虫数の著しい増殖がみられたが、走査型及び透過型電子顕微鏡による観察では、原虫の明らかな組織侵入像はみられなかった。

[総括]

(1) 変法Diamond培地使用GAS Pak法による嫌氣的培養法において、腸トリコモナスの無菌培養法を確立した。本培養法では原虫は接種後48時間後までは著しい増殖を示し、以後次第に減少した。

(2) 本原虫種の持つ5本の前鞭毛の1本は体壁に沿って後走する独立鞭毛であること、また、細胞口に相当する構造は検出しないことを確認した。

(3) マウス腸管内接種では、LMOX処理マウスにおいて、その盲腸内で活発に増殖することを認めたが、原虫の組織侵入性は見られなかった。

論文の審査結果の要旨

第Ⅰ報 本研究は腸トリコモナスの無菌培養の確立と形態学的特徴を明らかにする目的で実施した。変法Diamond培地使用Gas Pak anaerobic system (BBL)により無菌培養法を確立した。電子顕微鏡的観察により、前鞭毛の1本が独立鞭毛であること細胞口構造は検出しえないことを確認した。

第Ⅱ報 本原虫の実験感染を検討しLatamoxef sodium処理マウスの盲腸内で活発に増殖することを認めたが、組織侵入性はみられなかった。

本成績は本原虫の生物学的、医学的特性を明らかにする基礎的研究としてきわめて有意義であり、学位論文にふさわしいものと判断される。