

日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

第13巻 第4号

昭和60年12月15日

内 容

原 著

- ケニア西部におけるリノスポリディオシス (英文)
 鳥山 寛, 宇津田 含, N. O. Kamidigo 269-277
- ヒト二倍体細胞株を用いた *Trypanosoma cruzi* の培養 (英文)
 川端 真人, 朝日 博子, 小山 力,
 山田堅一郎, Vicenta V. de Coronel 279-285
- Trimethoprim-Sulfamethoxazole および Pyrimethamine-Sulfamonomethoxine
 による *Pneumocystis carinii* 肺炎の発症予防に関する実験的研究
 山田 稔, 竹内 滋, 塩田 恒三, 松本 芳嗣,
 吉川 尚男, 岡林 加枝, 手越 達也, 吉田 幸雄 287-294
- 胸水中の *Trichomonas tenax* の1症例, および既報症例 (英文)
 大倉 俊彦, 鈴木 了司, 橋口 義久 295-299
- 輸血による三日熱マラリアの1例 矢野 健一, 中林 敏夫, 渡辺 知明,
 藤本 輝夫, 阪本 俊一 301-306
- 大平肺吸虫の生態学的研究 (英文) 松尾喜久男, 真喜屋 清 307-313

学 術 記 録

- 日本熱帯医学会九州支部第9回大会講演要旨 315-324

会 報

- 日本学術会議だより 325-328

投 稿 規 定

RHINOSPORIDIOSIS IN WESTERN KENYA

KAN TORIYAMA¹, FUKUMU UZUTA¹ AND N. O. KAMIDIGO²

Received July 13 1985/Accepted October 15 1985

Abstract: Epidemiology and histopathology of rhinosporidiosis in Western Kenya are reported. During the period of six years, 1979 to 1984, we found 10 cases of rhinosporidiosis out of 18,969 surgical specimens in Western Kenya (Rift Valley, Nyanza and Western Provinces). The disease was mostly confined to young generations. Mostly affected site of the infection was the nostril, followed by the bulbar conjunctiva. Nyanza Province and the central area of Rift Valley Province were highly infected. All patients came from agricultural areas. Histologically the disease showed characteristic appearances. The various stages in the life cycle of fungal cells were found in the subepithelial connective tissues which was covered by papillomatous hyperplasia of the mucosal epithelium and accompanied with relatively scant inflammatory cell infiltration in spite of huge number of fungal cells. These findings suggest that rhinosporidiosis is one of the unique fungal diseases showing characteristic histological features. And possible source of the infection was discussed.

INTRODUCTION

Guillermo Seeber described the first case of rhinosporidiosis in Buenos Aires in 1900. The disease is a chronic granulomatous disease which is caused by one of the zygomycetes, *Rhinosporidium seeberi* (Satyanarayana, 1960).

The most common affected site of the infection is the mucous membrane of the nose and nasopharynx (Karunaratne, 1964). The very vascular, easy-bleeding, cauliflower-like and polypoid lesion protrudes frequently from the nose and occasionally causes respiratory disturbance. Cases of multiple lesions or visceral dissemination of rhinosporidiosis have been reported (Desmond, 1953; Agrawal *et al.*, 1959) but such cases are extremely rare and the disease is seldom fatal (Rajam *et al.*, 1955).

Histologically rhinosporidiosis is characterized by the presence of fungal cells of various stages in the life cycle in the subepithelial connective tissue of infected site.

The disease is endemic in Sri Lanka and India (Karunaratne, 1964). Reports of sporadic cases have been issued from Argentina, Brazil, Iran, the United States, South Africa, Central and East Africa and South Asia.

The mode of transmission remained still unclear, although water-borne infection is suspected (Rippon, 1982). It is, therefore, highly necessary to carry out an epidemiological survey of the disease more intensively.

In the present communication, we report the prevalence of rhinosporidiosis in Western Kenya and histological characteristics of the disease.

1 Department of Pathology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

2 Provincial Pathologist of Rift Valley Province, Nakuru, Kenya

MATERIALS AND METHODS

Our study is based on the histological examination done on the surgical specimens which were brought to the two hospitals in Western Kenya, the Rift Valley Provincial General Hospital and Nyanza Provincial General Hospital.

During the period of six years, 1979 to 1984, a total of 18,969 surgical specimens were examined. When the specimens arrived the hospitals, the clinical data and general informations relevant to the disease were collected as completely as possible.

Histological examinations were performed by H.E., periodic acid Schiff (P.A.S.), reticulum, elastic van Gieson, methenamine silver and Azan Mallory stains.

RESULTS

I. Prevalence of the disease in Western Kenya

Out of 18,969 surgical specimens examined, 10 were diagnosed histologically as rhinosporidiosis. In Table 1, the age, sex, ethnic group and inhabitation of patients and site of infection

Table 1 Rhinosporidiosis in Western Kenya

Case	Age	Sex	Site of lesion	Ethnic group	District	Province
1	6	M	Nostril	Luo	South Nyanza	Nyanza
2	6	M	Nostril	Luo	Kisumu	Nyanza
3	12	M	Nostril	Luo	Kisumu	Nyanza
4	18	M	Nostril	Kikuyu	Kisumu	Nyanza
5	13	F	Nostril	Luo	Kisumu	Nyanza
6	13	M	Nostril	Luhya	Nakuru	Rift Valley
7	3	M	Bulbar Conjunctiva	Kikuyu	Nakuru	Rift Valley
8	10	M	Nostril	Luo	South Nyanza	Nyanza
9	A	F	Nostril	Luo	Nakuru	Rift Valley
10	?	M	Nostril	Kalenjin	Trans Nzoia	Rift Valley

A: Adult

Table 2 Age distribution

Age	No. exam.	Rhinosporidiosis
0-9	3,880	3
10-19	1,552	5
20-39	1,242	0
40-	8,461	0
Unknown	3,834	2

Table 3 Sex distribution

Sex	No. exam.	Rhinosporidiosis
Male	10,962	8
Female	7,192	2

Table 4 Ethnic distribution

Ethnic group	No. exam.	Rhinosporidiosis
Luo	4,682	6
Kikuyu	1,785	2
Kalenjin	3,420	1
Luhya	3,012	1
Kisii	1,124	0
Maasai	247	0

are described. Out of 10 cases, nine showed the lesion at the nostril. In Tables 2, 3 and 4, the age, sex and ethnic distribution of the disease are summarized. It is likely that the disease already occurred before patients had been younger than 20 years old ($P < 0.05$, test of independence by χ^2 distribution). Sex and ethnic incidence showed no significant differences. In Figure 1, geographical distribution of the disease is summarized. All patients were from

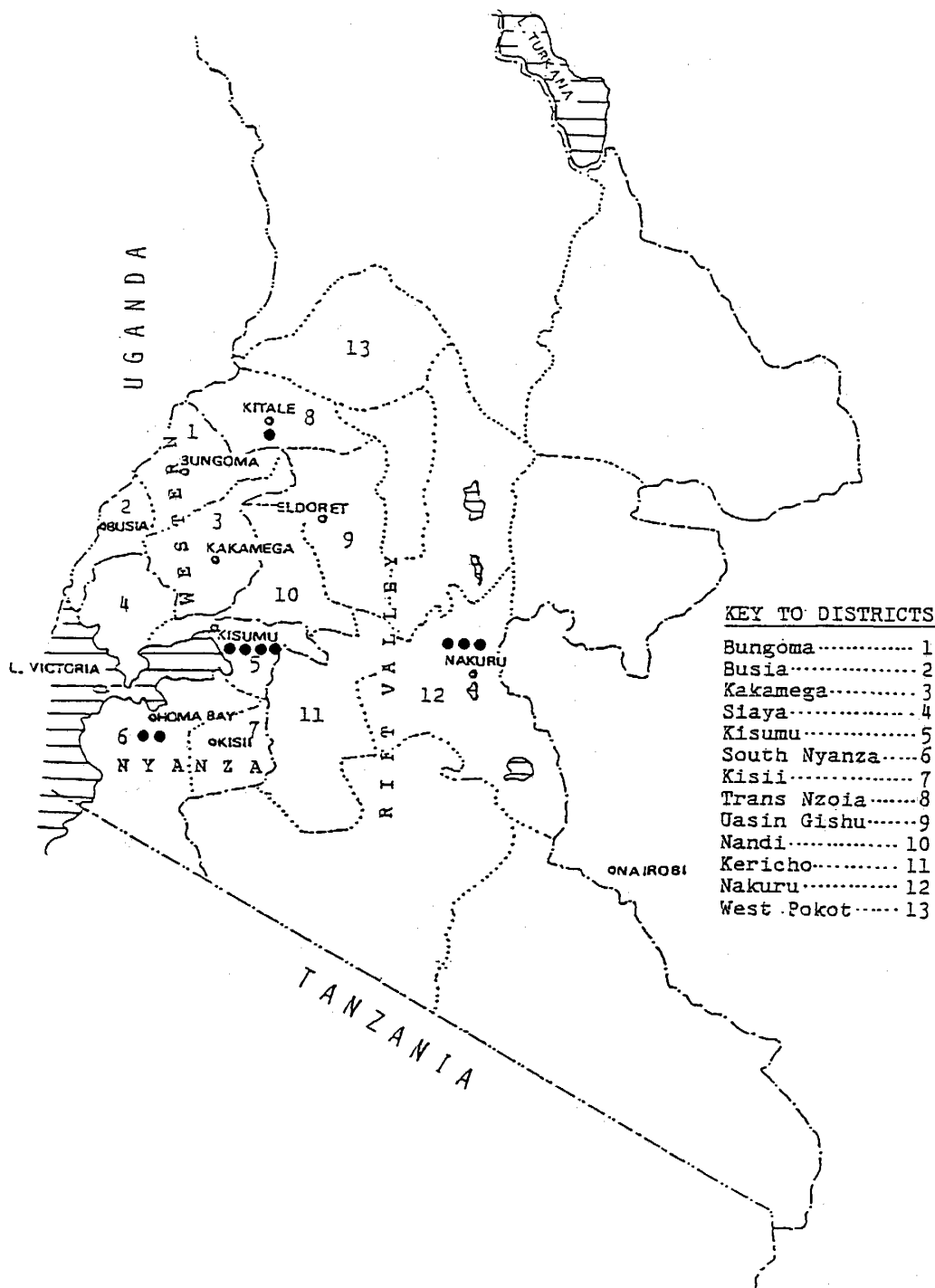


Figure 1 Geographical distribution of rhinosporidiosis in Western Kenya.

Nyanza Province and the central area of Rift Valley Province.

II. Histology

Histological examination revealed papillomatous hyperplasia of the mucosal epithelium. The mucosa was mostly covered by the stratified squamous epithelium and partially covered by the ciliated columnar epithelium, depending on the site of resection. There were various stages in the life cycle of fungal cells in the subepithelial connective tissue (Photo. 1). In some areas the stratified squamous epithelium was thickened with acanthosis and had a tendency to form down-growth and in other areas the epithelium was remarkably thin, especially where there were projecting mature sporangia or ruptured sporangia, and destruction of the epithelium was observed where sporangia were bursting or discharging spores (Photo. 2). The subepithelial connective tissue was usually loose and edematous and there were many spores, trophocytes and sporangia of variable sizes in it. Mature sporangia showed up to 300μ in diameter (Photo. 3). In the connective tissue around fungal cells, there were slight inflammatory cell infiltration, including plasma cells and lymphocytes, and vascular proliferation and dilatation. Areas of small hemorrhage were common (Photo. 4). Some of mature sporangia showed rupture and were empty or collapsed after discharging spores. Giant cells of foreign-body type appeared occasionally in and around sporangia which had ruptured (Photo. 5). In some areas discharged spores were accompanied with small number of pus cells (Photo. 6). Except the presence of secondary infection, these cases of rhinosporidiosis did not show a tendency to be suppurative.

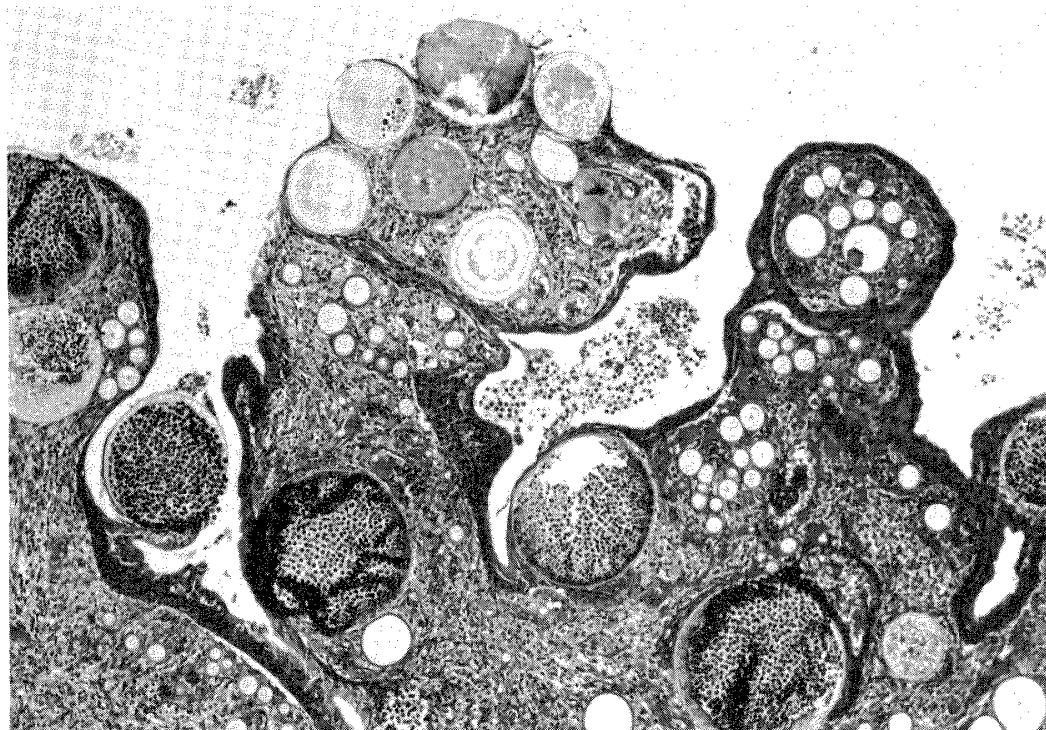


Photo. 1 Various stages in the life cycle of *Rhinosporidium seeberi* in the subepithelial connective tissue (H.E., $\times 40$).



Photo. 2 A mature sporangium is discharging spores (H.E., $\times 100$).

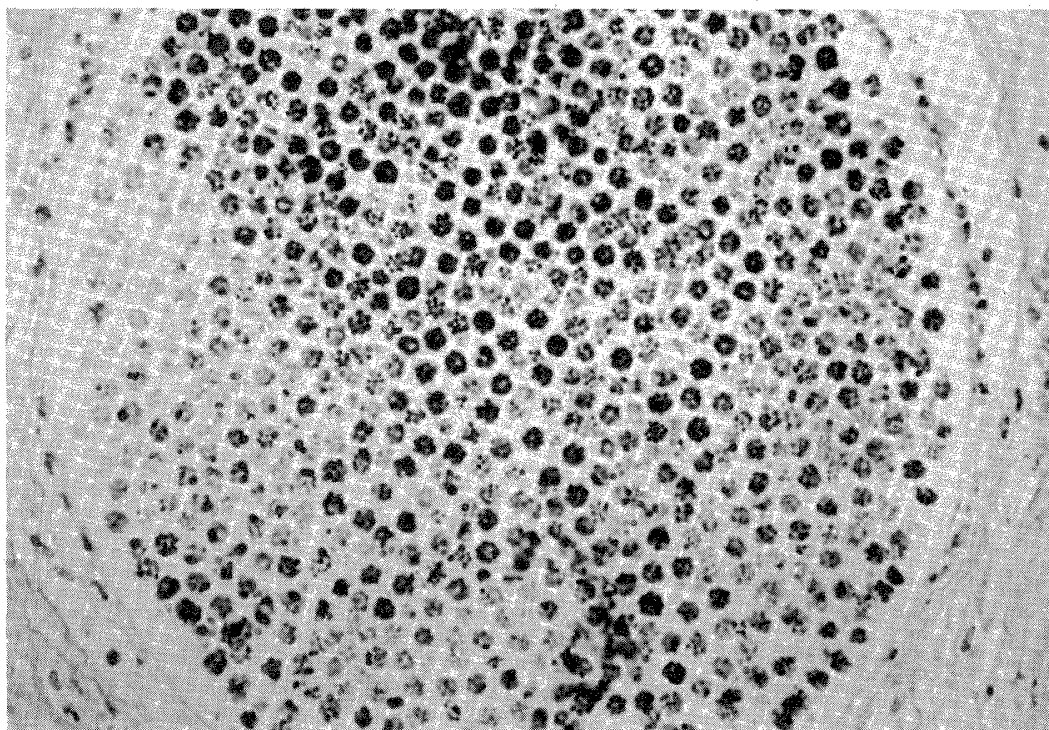


Photo. 3 Spores in a mature sporangium (methenamine silver, $\times 400$).

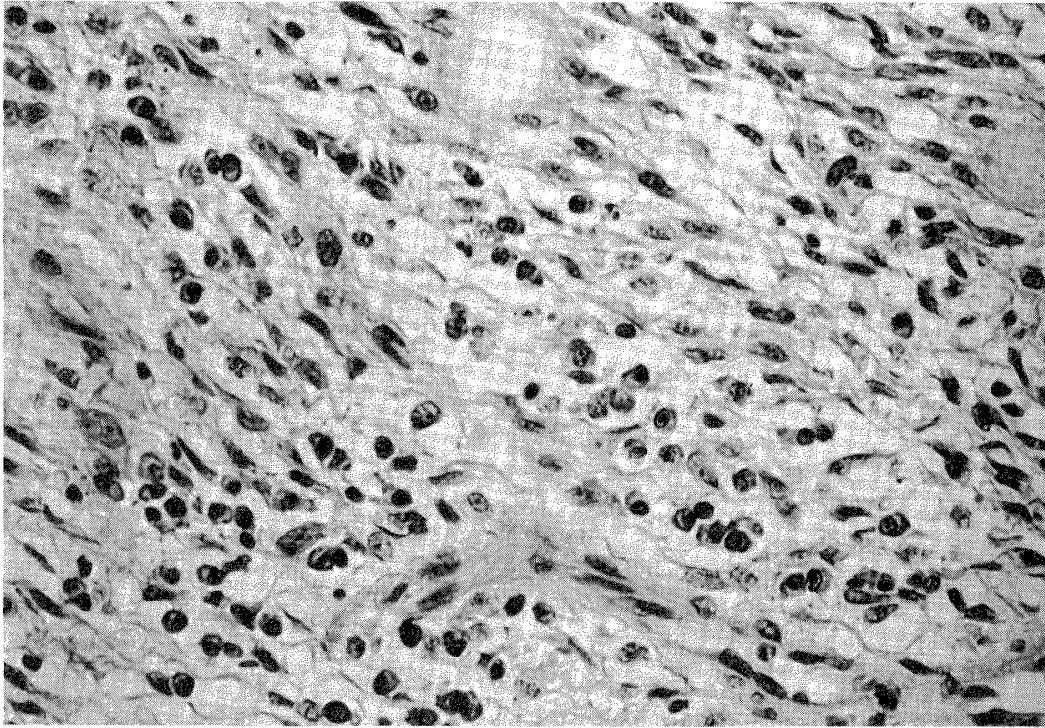


Photo. 4 Slight degree of inflammatory cell infiltration in the infected area (H.E., $\times 200$).

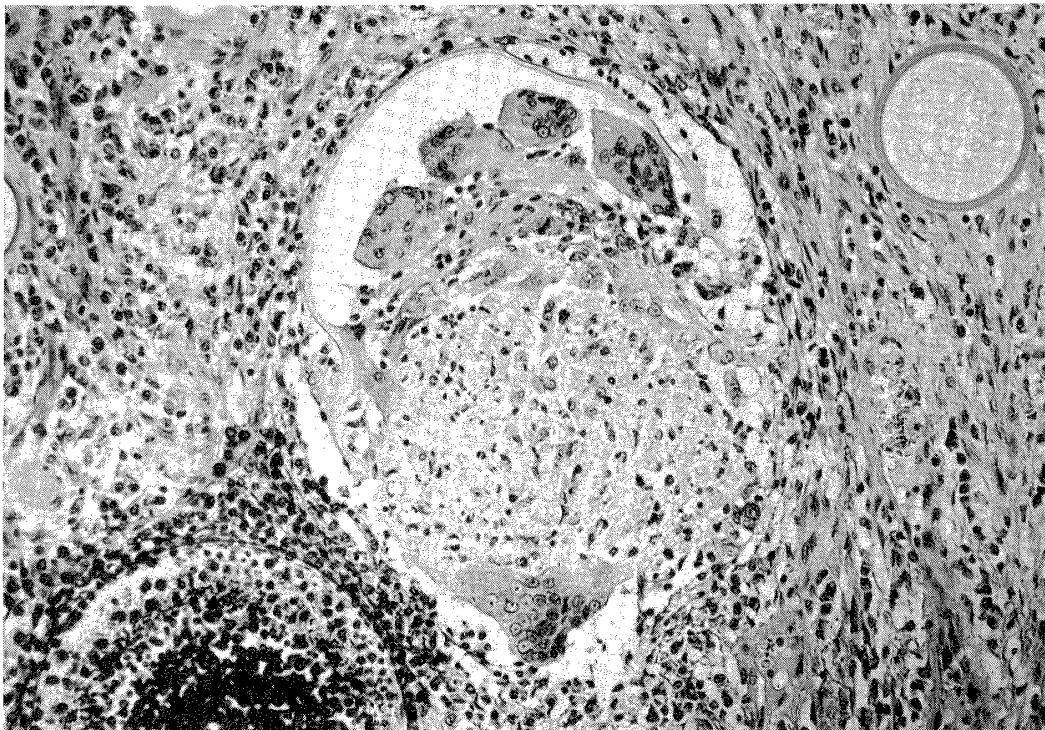


Photo. 5 Giant cell reaction in and around a ruptured sporangium (H.E., $\times 100$).

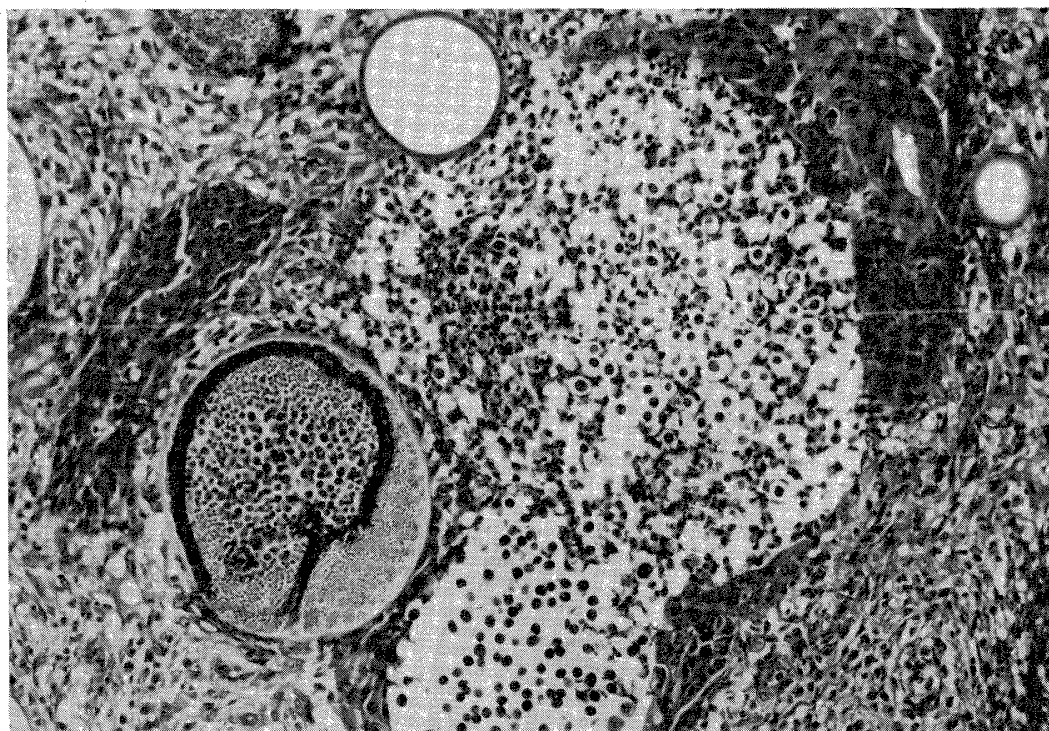


Photo. 6 Discharged spores and small amount of pus cells (H.E., $\times 100$).

DISCUSSION

Rhinosporidiosis which is caused by *Rhinosporidium seeberi* is a chronic granulomatous disease and endemic in Sri Lanka and India. About 90 per cent of the reported cases in the world were from the both countries (Karunaratne, 1964). Although number of patients is few, the disease has been issued from many countries of the world and we found 10 cases of rhinosporidiosis in Western Kenya, during the period of six years, 1979 to 1984. Our results showed that the most common affected site of the infection is the nostril, followed by the bulbar conjunctiva. Karunaratne (1964) reported that the most common affected site is the mucous membrane of the nose and nasopharynx in Sri Lanka and India. However, it occasionally affects other sites; the trachea (Grewal and Rangam, 1959), larynx (Pillai, 1974), external ear, lips, conjunctiva, lacrymal sac, penis, vulva, vagina and urethra (Kutty and Unni, 1969).

We reported the relatively high incidence of the disease in young generations. The youngest is a three-year-old boy in Western Kenya. In Sri Lanka and India the disease is likely to come on in the age of 15–39 years old (Karunaratne, 1964). Reports from Sri Lanka and India show that males are more frequently infected than females. This is more evident in older age groups. Young females are affected as frequently as males (Karunaratne, 1964). Mohapatra (1971) reported that the high incidence in males is due to the possible increased exposure to the source of the infection. However, we could not find any significant differences on sex incidence. Cameron *et al.* (1973), also, could not find the difference of the disease incidence by sex in Kenya.

Present paper reported that in Nyanza Province and the central area of Rift Valley

Province the high incidence of the disease was observed. Nyanza Province is a tropical savannah. A mean annual rainfall in Nyanza Province is 750 to 1,250 mm. A mean annual temperature is 30 to 34°C. The central area of Rift Valley Province is a tropical highland and a mean annual rainfall is 1,000 to 1,500 mm and a mean annual temperature is 22 to 30°C (Vogel *et al.*, 1974). We had examined over 1,000 surgical specimens obtained from the nomads who live in a desert or semi-desert area in Western Kenya but failed to find the disease. In Sri Lanka and India there is no significant difference of the incidence among the different races. However, the disease is likely to be found in the peasant or worker class who live in agricultural areas and drink water at water tanks, rivers and ponds (Karunaratne, 1964; Satyanarayana, 1960). In Western Kenya most of the patients were from agricultural areas and they used to take a bath and drink water on rivers, ponds and fresh-water lakes. These findings suggest that environmental factors play some important roles in the transmission of the disease and probably support the idea that water-borne transmission is one of the possible ways of infection (Cherian and Satyanarayana, 1949; Rajam *et al.*, 1955). There is another possibility that the domestic animals such as cattles, mules and dogs are the possible sources of the infection (Myers *et al.*, 1964; Stuart and O'Mally, 1975; Davidson and Nettles, 1977), but we could not find out any patient of the disease from the nomads in Western Kenya. Nyanza Province and the central area of Rift Valley Province are suitable investigation areas where research on mode of the transmission of the disease will be done.

Histologically rhinosporidiosis shows characteristic appearances. There are slight inflammatory cell infiltration around fungal cells and suppurative changes are rarely seen in spite of the presence of huge number of fungal cells. Such lesions are histologically very different from the changes of other fungal infections. These findings suggest that rhinosporidiosis is one of the unique fungal diseases showing characteristic histological features.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to express our appreciation to Professor H. Itakura, Department of Pathology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University for his encouragement throughout this study.

REFERENCES

- 1) Agrawal, S., Sharma, K. D. and Shrivastava, J. B. (1959): Generalized rhinosporidiosis with visceral involvement, report of a case, *A.M.A. Arch. Dermt.*, 80, 22-26.
- 2) Cameron, H. M., Gatei, D. and Bremner, A. D. (1973): The deep mycoses in Kenya. a histological study. 4. Rhinosporidiosis, *East Afr. Med. J.*, 50, 413-416
- 3) Cherian, R. V. and Satyanarayana, C. (1949): Rhinosporidiosis. *Ind. J. Otolaryng.*, 1, 15-19
- 4) Davidson, W. R. and Nettles, V. F. (1977): Rhinosporidiosis in a wood duck, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 171, 989-990
- 5) Desmond, A. F. (1953): A case of multiple rhinosporidiosis, *J. Laryg. and Otol.*, 67, 51-55
- 6) Grewal, G. S. and Rangam, C. M. (1959): Rhinosporidiosis of the trachea, an unusual case, *J. Laryg. and Otol.*, 73, 849-852
- 7) Karunaratne, W. A. E. (1964): Rhinosporidiosis in man, University of London, The Athlone Press, London
- 8) Kutty, M. K. and Unni, P. N. (1969): Rhinosporidiosis of the urethra, *Trop. Geogr. Med.*, 21,

- 338-340
- 9) Mohapatra, L. N. (1971): Rhinosporidiosis, the pathologic anatomy of mycoses, Baker, R. D. ed. Springer-Verlag, Berlin, 676-683
 - 10) Myers, D. D., Simon, J. and Case, M. T. (1964): Rhinosporidiosis in a horse, J. Am. Vet. Med. Assoc., 145, 345-347
 - 11) Pillai, O. S. (1974): Rhinosporidiosis of the larynx, J. Laryg. and Otol., 88, 277-280
 - 12) Rajam, R. V., Vismanathan, G. C., Rao, A. R., Rangiah, P. N. and Anguli, V. C. (1955): Rhinosporidiosis: a study with report of a fatal case of systemic dissemination, Ind. J. Surg., 17, 269-298
 - 13) Rippon, J. W. (1982): Medical mycology, 2nd ed. W.B. Saunders Co., 325-334
 - 14) Satyanarayana, C. (1960): Rhinosporidiosis with a record of 255 cases, Acta Otolaryng., Stockholm, 51, 348-366
 - 15) Stuart, B. P. and O'Mally, N. (1975): Rhinosporidiosis in a dog, J. Am. Vet. Med. Assoc., 167, 941-942
 - 16) Vogel, L. C., Muller, A. S., Odingo, R. S., Onyango, Z. and De Geus, A. (1974): Health and Diseases in Kenya, East African literature bureau

ケニア西部におけるリノスポリディオシス

鳥山 寛¹・宇津田 含¹・N. O. KAMIDIGO²

リノスポリディオシスは *Rhinosporidium seeberi* (Seeber, 1900) によって引き起こされる慢性肉芽腫性疾患である。本病原体はまだ分離培養されておらず、生活史は不明であるが、一部では藻菌類に属すと言われている。易出血性、カリフラワー状の肉芽腫は主として鼻腔、咽頭に生じるほかに稀には眼球結膜、陰茎、尿道などを侵し、臓器散布例の報告もある。スリランカやインドでは風土病的に比較的頻繁に見られる疾患であり、他の熱帯、亜熱帯からも散発例が報告されているが、本邦からの報告例はない。

我々は1979年から1984年に亘ってケニア西部、リフトバレー、ウェスタン、ニヤンザ州の外科生検材料を病理組織学的に検索するとともに疫学的調査を行い、ケニア西部においてリノスポリディオシスは高温で比較的湿潤なビクトリア湖沿岸、および湿潤な高原地帯であるリフトバレー州中央部に多発し、その感染経路は水系であろうと言う結果を得た。

1 長崎大学熱帯医学研究所病理学部門 2 ケニア共和国, リフトバレー州病理医

CULTIVATION OF *TRYPANOSOMA CRUZI* USING HUMAN DIPLOID CELLS

MASATO KAWABATA¹, HIROKO ASAHI¹, TSUTOMU KOYAMA¹,
KEN-ICHIRO YAMADA² AND VICENTA V. DE CORONEL³

Received October 5 1985/Accepted November 8 1985

Abstract: Interaction between normal diploid cells which had been established from human lung tissue and *Trypanosoma cruzi* (T. c) stock newly isolated from an Ecuadorian patient with Chagas' disease was studied. Normal diploid cells were found to have susceptibility to invasion by T. c and capacity to support the parasite growth. Intracellular parasites multiplied with a doubling time of 16.9 hours, and after 4 days of infection, trypomastigotes were released into culture supernatant. Development of T. c was relatively synchronized in the infection with parasite: host cell ratio of 20:1, providing broad form trypomastigotes with purity of more than 95 per cent in culture supernatant on day 4. Amastigotes were observed during the later stage of cultivation, resulting from degeneration of host cells. Two morphologically distinct forms of trypomastigotes, broad and slender, were obtained. Broad form predominated at early stage of cultivation and then proportion of slender form gradually increased.

INTRODUCTION

A wide range of host cell systems including primary cell cultures and permanent cell lines has been reported to support growth of *Trypanosoma cruzi* (T. c), the causative agent of Chagas' disease (Brener, 1973). Such growth, however, varies depending upon host cell types and parasite strains, influencing multiplication and transformation of the parasite in host cells (Dvorak and Howe, 1976; Bertelli and Brener, 1980). Until now, the techniques for a large scale and standardized in vitro production of trypomastigote forms free from contamination with other forms have been exploited. A culture system using rat muscle cells irradiated for stopping host cell division (Schmatz and Murray, 1982), and a combination of murine muscle-derived cell line with cloned T. c in continuous culture system (Hudson *et al.*, 1984) have been established for production of large homogenous populations of trypomastigotes. Sander-son *et al.* (1980) succeeded in obtaining trypomastigotes with a very low level of contamination with other forms by employing human diploid cells MRC-5 as host cells. In the present study, we employed normal diploid cells which had been established from the human fetal lung tissue in our laboratory, in an attempt to assess their susceptibility to invasion by T. c and capacity to support complete differentiation of amastigotes to trypomastigotes. In addition, we attempted to establish an Ecuadorian stock of T. c, since little is known about the characterization of T. c strains or stocks from Ecuador.

1 Department of Parasitology, and 2 Department of Virology and Rickettsiology, National Institute of Health, 2-10-35, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141, Japan

3 Departamento de Parasitologia, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical, Apartado 3961, Guayaquil, Ecuador, South America

MATERIALS AND METHODS

Parasite: Parasites of *T. c* used in the present study were newly isolated from an Ecuadorian patient with Chagas' disease in 1982. The patient, 10-year-old male, resided at Balzal, Guayaquil city, where the infection with *T. c* is sporadically endemic. He was pointed out the signs that appeared to be Chagas' disease at a local hospital, and consulted INHMT (Instituto Nacional Higiene y Medicina Tropical, Guayaquil) to confirm diagnosis. Examination of the fresh blood and blood smear, and xenodiagnosis using *Triatoma dimidiata* were positive for *T. c*. The parasites obtained from the peripheral blood were maintained in Novy, MacNeal, and Nicoll's (NNN) medium by serial passage. The stock of *T. c* was referred to as "Guayas E".

Normal diploid cell: Normal diploid cells with a finite life, HAIN-55, were used as host cells. They were fibroblastic cells established from human fetal lung tissues in our laboratory in 1973 and have been maintained since then (Okumura *et al.*, 1979). HAIN-55 were grown in Basal Medium Eagle (BME) supplemented with 10 per cent fetal calf serum (FCS) and were incubated at 37°C in air with 5 per cent CO₂ in a tissue culture plastic dish. They showed stable non-dividing monolayers at confluence. Before transfer, the cells were dislodged from plastic dish after a brief treatment with 0.25 per cent trypsin and then seeded into a new dish.

Parasite infection: Initially, normal diploid cells were infected by addition of *T. c* grown in NNN medium, and trypomastigotes obtained from the first passage were used in subsequent experiments in order to minimize the biological alteration which may occur during continuous passages. Host cells (4×10^5 in 2 ml of BME with 10% FCS) were seeded into a tissue culture dish (35 mm in diameter) in which coverslip was set, and were incubated at 37°C in air with 5 per cent CO₂ for 24 hours to allow attachment on the dish. Infection was initiated by adding trypomastigotes at various parasites: host cell ratios ranging from 1:1 to 20:1. Five hours later, *T. c* remained in culture supernatant were removed by repeated washing with the medium, then continued the cultivation.

Morphological observations: The progress of infection was monitored using an inverted microscope with phase-contrast optics. At various periods of time after infection, each coverslip was removed, washed in phosphate-buffer saline, fixed with methanol and stained with Giemsa. The percentage of host cells infected with *T. c* and the average numbers of amastigotes per infected cell were determined by light microscopic examination. The number of parasites released into culture supernatant was counted in a haemocytometer. The morphology of parasites was assessed by examination of Giemsa-stained preparations.

RESULTS

Growth of parasites in normal diploid cells: Susceptibility of normal diploid cells, HAIN-55, to infection with Guayas E stock of *T. c* was examined by adding various concentrations of parasites, and percentage of infected cells with *T. c* was determined at 24 hours after inoculation. Percentages of infected cells in these culture system depended on levels of inoculum and more than 80 per cent of infected cells were obtained when infected with parasite: host cell ratio of 20:1 (Table 1). The development of intracellular stage of parasites is shown in Figure 1. The intracellular parasites multiplied exponentially within host cells and

Table 1 Susceptibility of normal diploid cells (HAIN-55) to invasion by T.c at various parasite : host cell ratios

Ratio (parasite/cell)	Infected cells (%) ^{a)}
20 : 1	80.9 ± 4.5 ^{b)}
10 : 1	38.3 ± 0.8
5 : 1	15.7 ± 3.3
2.5 : 1	11.4 ± 2.1
1 : 1	7.6 ± 1.5

^{a)} Determined from the number of infected cells/500 counted.

^{b)} Mean ± S.D. of at least three experiments.

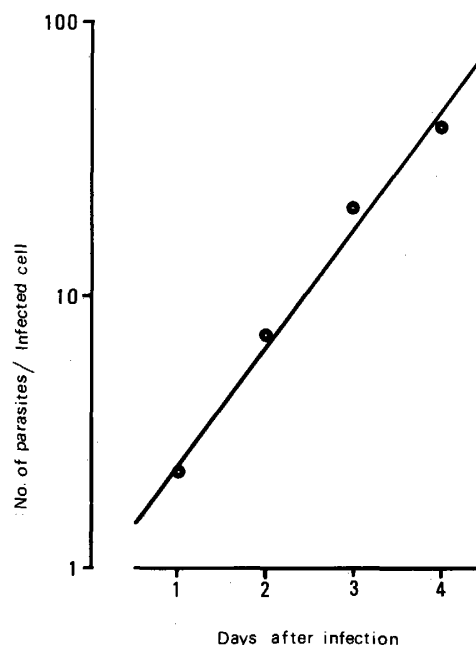


Figure 1 Growth of intracellular parasite of T. c in normal diploid cells, HAIN-55.

the average number of parasite per infected cell reached 43.5 on day 4 after inoculation wherein transformation into trypomastigotes were commonly observed in host cells loading a large number of intracellular parasites. Doubling time was estimated to be 16.9 hours from growth curve during log-phase multiplication of the trypanosoma population.

Parasite yield: Figure 2 shows number of trypomastigotes released from host cells into culture supernatant. The time necessary to yield peak production and to persist production of trypomastigotes was closely related to levels of inoculum; in the infection with parasite : host cell ratio of 20 : 1, number of trypomastigotes yielded reached a maximum population of 2.4×10^7 on day 5, and then decreased rapidly. The 5 : 1 infection gave trypomastigote production

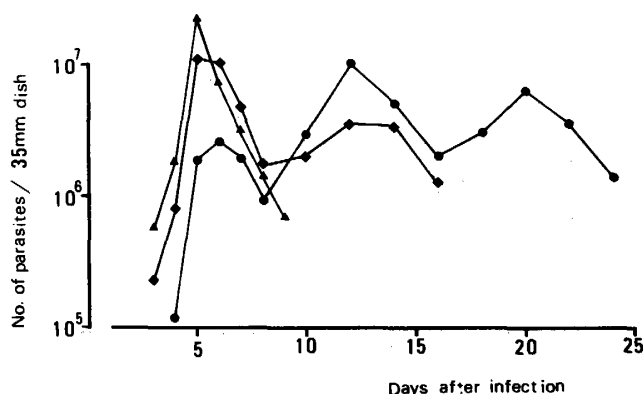


Figure 2 Production of trypomastigote forms at various levels of inoculum. Each point represents the number of trypomastigotes released into culture supernatant in the infection with parasite : host cell ratio of 20 : 1 (▲), 5 : 1 (◆), and 1 : 1 (●).

from day 3 to 16, displaying biphasic pattern of parasite development: First peak from day 5 to 6 and second peak from day 12 to 14. The longest trypomastigote production was obtained in the infection with parasite: host cell ratio of 1:1, in which release of trypomastigotes persisted until day 24. However, infections with 1, 5 and 20 parasites/host cell gave similar overall yields: The number of parasites produced were 4.3 , 3.9 and 4.0×10^7 per dish, respectively. Amastigotes resulted from degeneration of host cells were identified in culture supernatant later than appearance of trypomastigotes (Figure 3). The time of appearance of amastigotes varied in relation to levels of inoculum, and a minimum contamination with amastigotes was obtained when host cells were infected with parasites: host cell ratio of 20:1. The overall productions of amastigotes in the infections with 1, 5 and 20 parasites/host cell were 1.4 , 2.0 and 0.6×10^7 per dish, respectively.

Polymorphism of produced trypomastigote: Two forms of trypomastigote were distinguished after staining preparation with Giemsa. The broad form has the characteristic "C" shape with a terminal kinetoplast, an undulating membrane and a flagellum. The slender form

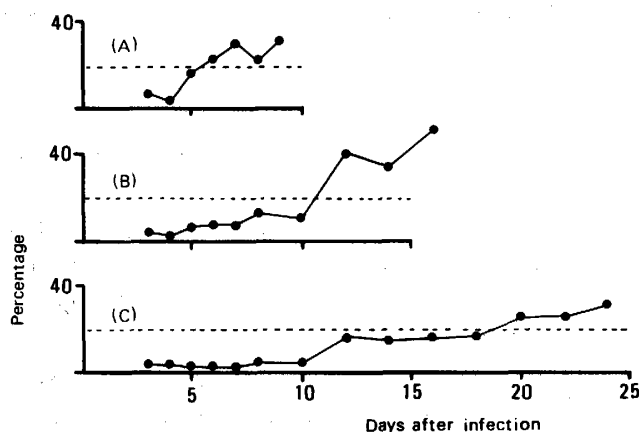


Figure 3 Appearance of amastigote form at various levels of inoculum. Each point represents the number of amastigotes released into culture supernatant in the infection with parasite: host cell ratio of 20:1 (\blacktriangle), 5:1 (\blacklozenge), and 1:1 (\bullet).

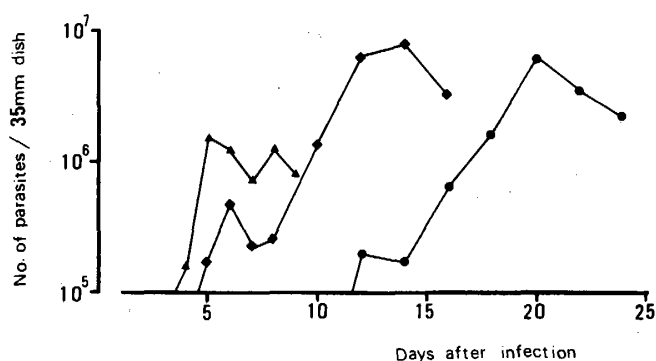


Figure 4 Proportion of slender form in total trypomastigotes produced. Each point represents the percentage of slender form in total trypomastigotes released into culture supernatant in the infection with parasite: host cell ratio of 20:1 (A), 5:1 (B), and 1:1 (C).

is narrower and longer, with a sub-terminal kinetoplast and no obvious undulating membrane. Figure 4 shows the percentage of slender form in total trypomastigotes. Broad form predominated in the early stage of cultivation and thereafter proportion of slender form gradually increased to around 40 per cent. These patterns were observed in all levels of inoculum employed in the present study.

DISCUSSION

An employment of normal human diploid cells for the production of materials for use in human was recommended by Jacobs *et al.* (1970). In order to develop a standardized culture system for *T. c.*, we also employed normal diploid cells which had been established from human fetal lung tissues in our laboratory.

The results demonstrated that normal diploid cells, HAIN-55, were susceptible to invasion by Guayas E stock of *T. c.* and capable of supporting parasite growth. Amastigotes of *T. c.* were multiplied within the host cells with a doubling time of 16.9 hours, and after 4 days of infection, bloodstream form, trypomastigotes, were released into culture supernatant. A relatively synchronized development of *T. c.* was provided in the infection with high ratio of parasite: host cell (20:1). More than 80 per cent of host cells were infected and 10^7 trypomastigotes per dish were produced on day 5 of infection. Amastigotes appeared in culture supernatant possibly as a result of host cell rupture before complete transformation of *T. c.* when the monolayer became fragile or detached. The condition of host cells appears, therefore, to be an important factor for the purpose of obtaining homogenous trypomastigotes.

Two morphologically distinct forms of trypomastigote, broad and slender forms, were obtained from culture supernatant. Sanderson *et al.* (1980) reported that the broad form predominated in early tissue-culture passage using human diploid cells, but after about 10 passages the slender form predominated. In the case of HAIN-55 and Guayas E of *T. c.* combination, slender form predomination was not noted after multiple tissue-culture passages, although the proportion of slender form increased to around 40 per cent at the later stage of cultivation. Brener (1965, 1968), in a study on polymorphism of *T. c.* in experimentally infected mice, has observed the correlation between polymorphism and the course of parasitemia, the mortality rate and susceptibility to host's immune response. However further biological significances of the polymorphism are unclear.

It has been well documented that the prevalence and severity of Chagas' disease are confined to certain geographic areas may be associated with different strains of parasites (Miles, 1983). The characterization of *T. c.* stocks from various regions of South America and the relationship between geographical distribution and pathology of Chagas' disease in man has been reported recently (Miles *et al.*, 1981; Tibayrens and Miles, 1983; Miles *et al.*, 1984; Widmer *et al.*, 1985). Further studies for clarifying the characteristics of Guayas E stock are presently undertaken.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to express our appreciation to our Ecuadorian and Japanese collaborators in the Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical in Ecuador.

REFERENCES

- 1) Bertelli, M. A. M. and Brener, Z. (1980): Infection of tissue culture cells with bloodstream trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*, J. Parasitol., 66, 992-997
- 2) Brener, Z. (1965): Comparative studies of different strains of *Trypanosoma cruzi*, Ann. Trop. Med. Parasitol., 59, 19-26
- 3) Brener, Z. (1969): The behaviour of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood-stream of normal and immune mice, Ann. Trop. Med. Parasitol., 63, 215-220
- 4) Brener, Z. (1973): Biology of *Trypanosoma cruzi*, Ann. Rev. Microbiol., 27, 347-382
- 5) Dvorak, J. A. and Howe, C. L. (1970): The attraction of *Trypanosoma cruzi* to vertebrate cells *in vitro*, J. Protozool., 23, 534-537
- 6) Hudson, L., Snary, D. and Morgan, S. J. (1984): *Trypanosoma cruzi*: continuous cultivation with murine cell lines, Parasitol., 88, 283-294
- 7) Jacobs, J. P., Jones, C. M. and Baille, J. P. (1970): Characteristics of a human diploid cell designated MRC-5, Nature, 227, 168-170
- 8) Miles, M. A. (1983): The epidemiology of South American Trypanosomiasis-biochemical and immunological approaches and their relevance to control, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 77, 5-23
- 9) Miles, M. A., Cedillos, R. A., Povoá, M. M., De Souza, A. A., Prata, A and Macedo, V. (1981): Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (Zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas' disease, Lancet, i, 1338-1340
- 10) Miles, M. A., Apt, B. W., Widmer, G., Povoá, M. M. and Schofield, C. J. (1980): Isozyme heterogeneity and numerical taxonomy of *Trypanosoma cruzi* stock from Chile, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 78, 526-535
- 11) Okumura, H., Udagawa, Y., Yamada, K., Tsukasaki, K., Azuma, Y and Nozawa, S. (1970): Effect of temperature on the proliferation and viability of normal and malignant human cells in culture, Proceedings of the Japan Academy, 55, 135-140
- 12) Sanderson, C. J., Thomas, J. A. and Twomey, C. E. (1980): The growth of *Trypanosoma cruzi* in human diploid cells for the production of trypomastigotes, Parasitol., 80, 153-162
- 13) Schmatz, D. M. and Murray, P. K. (1982): Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in irradiated muscle cells: improved synchronization and enhanced trypomastigote production, Parasitol., 85, 115-125
- 14) Tibayrenc, M. and Miles, M. A. (1983): A genetic comparison between Brazilian and Bolivian zymodemes of *Trypanosoma cruzi*, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 77, 76-83
- 15) Widmer, G., Marinkelle, C. J., Guhl, F. and Miles, M. A. (1985): Isozyme profiles of *Trypanosoma cruzi* stocks from Colombia and Ecuador, Ann. Trop. Med. Parasitol., 79, 253-257

ヒト二倍体細胞株を用いた *Trypanosoma cruzi* の培養

川端 真人¹・朝日 博子¹・小山 力¹
山田堅一郎²・VICENTA V. DE CORONEL³

エクアドル国産の Guayas E 株 *Trypanosoma cruzi* (T. c) のヒト正常二倍体細胞への感染と、その増殖を試みた。実験に用いた T. c は、エクアドル国グアヤキル市在住の急性シャーガス病患者より分離し、Guayas E 株と命名した。宿主細胞として用いた細胞株は、ヒト胎児肺組織由来の二倍体線維芽細胞である。35mm シャーレに 4×10^5 宿主細胞を植え込み、虫体：宿主細胞を 1：1 から 20：1 の割合で感染し、24時間後に感染率を観察すると 20：1 では、感染率は80%以上であった。宿主細胞内での T. c 増殖は、指数関数的増加曲線を示し、感染後4日目の細胞内虫体数は 43.5 で doubling time は、16.9時間と推測された。35mm シャーレを用い、虫体：宿主細胞を 1：1, 5：1, 20：1 で感染すると、遊出した全 trypomastigote は、それぞれ 4.3, 3.9, 4.0×10^7 で大差はみられないが、遊出全 amastigote は、それぞれ 1.4, 2.0, 0.6×10^7 であり、20：1 比率での感染早期に amastigote の混入が少なく、多量の trypomastigote が回収できる。遊出した trypomastigote には slender 型 T. c と broad 型 T. c の両型が確認され、培養早期には、90%以上が broad 型であるが、培養を持続すると slender 型の遊出割合が増加する傾向にあった。

1 国立予防衛生研究所寄生虫部 2 同, ウイルス・リケッチャ部

3 Departamento de Parasitologia, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical

Trimethoprim-Sulfamethoxazole および Pyrimethamine-Sulfamonomethoxine による *Pneumocystis carinii* 肺炎の発症予防に関する実験的研究

山田 稔・竹内 滋*・塩田 恒三
松本 芳嗣・吉川 尚男・岡林 加枝
手越 達也・吉川 哲也・吉田 幸雄

昭和60年10月20日 受付/昭和60年11月12日 受理

緒 言

Pneumocystis carinii 肺炎 (以下 Pc 肺炎と略) は日和見感染症の1つで、免疫不全状態の患者に発症し、適切な治療を施さなければほぼ全例が死亡する。本肺炎は強い栄養不良、先天性免疫不全、悪性腫瘍、特に白血病や悪性リンパ腫などに対する抗癌化学療法、腎移植後や自己免疫疾患に用いられる抗免疫療法などの経過中に発症し、直接の死因となる場合が多い。さらに最近問題となってきた後天性免疫不全症候群 (AIDS) の患者において、米国の統計によるとその60%に本肺炎が発症し、やはり直接の死因となる場合が多いとされている。わが国では諸外国に比し AIDS の症例は少なく、昭和60年11月現在、11例が厚生省 AIDS 調査検討委員会で認定されたにすぎないが、その内5名が Pc 肺炎を併発している。

Pc 肺炎の治療には pentamidine isethionate, pyrimethamine とサルファ剤の合剤、および trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤の3剤が一般に用いられ、筆者らも主としてあとの2剤について検討し42症例の治療成績を報告した (吉田ら, 1979)。

米国の Hughes *et al.* (1977) は St. Jude Chil-

dren's Research Hospital において大規模な小児白血病の化学療法を行ってきたが、頻発する Pc 肺炎に苦慮し、これの発症予防の研究を行った。その結果、trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤の治療量の約1/5量を Pc 肺炎発症の危険のある期間、連日投与する方法ではほぼその目的を達したと発表し、さらにその後の好成績が同じく Hughes *et al.* (1984) によって報告された。筆者らの大学の小児科学教室においても1978年以来、この方法が全白血病患者に用いられ、適用以前には Pc 肺炎の発症率が30.6%であったのを、3.4%の発症率におさえることができた (今宿ら, 1984)。

この方法は一般に予防薬剤を数カ月から年に年余にわたって連日投与するもので、副作用の心配もあり (新川ら, 1980; 小泉ら, 1981), 出来れば間歇投与などを加味した有効最少量の検討が望まれる。そこで筆者らは pyrimethamine と sulfamonomethoxine の合剤と trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤の間歇投与による Pc 肺炎発症予防法について動物実験を行った。

実験材料および実験方法

実験に供した動物は体重 200g 前後の Wistar 系雄ラット、総数116頭である。これらを A, B,

京都府立医科大学医動物学教室 〒602 京都市上京区河原町広小路

* 現住所: 富田林病院 〒584 大阪府富田林市大字甘山

医動物学教室業績番号第528号。本研究は文部省科学研究、一般研究 (課題番号 58480170号) の補助を受けて行われた。記して謝意を表す。

C, D, E, F の6群に分け、いずれも週2回宛 cortisone acetate 25mg を筋注して Pc 肺炎を誘発し、同時に飲料水中に塩酸テトラサイクリンを 50mg/dl の濃度になる様に溶解混入し、細菌の二次感染を防止した。この cortisone 処置開始と共に以下の処方による薬剤の予防投与を開始した。予防薬剤の投与法は薬剤を5%アラビアゴム水溶液中に懸濁し、2ml 中にその有効量が含まれる様に調製し、ゾンデを用いてラットの胃内に注入した。

A群 (30頭): 対照群 (cortisone acetate 処理を行い予防薬剤を含まぬアラビアゴムのみを与えた群), 観察期間92日。

B群 (21頭): cortisone acetate 処理を行い, pyrimethamine 15mg/kg, sulfamonomethoxine 300

mg/kg, 週1回投与, 観察期間92日。

C群 (10頭): cortisone acetate 処理を行い, trimethoprim 100mg/kg, sulfamethoxazole 500mg/kg, 週1回投与, 観察期間92日。

D群 (12頭): cortisone acetate 処理を行い, trimethoprim 200mg/kg, sulfamethoxazole 1,000mg/kg, 週1回投与, 観察期間90日。

E群 (21頭): cortisone acetate 処理を行い, trimethoprim 100mg/kg, sulfamethoxazole 500mg/kg, 週2回連続投与, 観察期間90日。

F群 (22頭): cortisone acetate 処理を行い, trimethoprim 100mg/kg, sulfamethoxazole 500mg/kg, 週2回間歇投与 (3~4日間隔), 観察期間90日。

感染の有無は, ①肺塗抹ギムザ染色および

Table 1 Prophylactic effect for *Pneumocystis carinii* pneumonia in rats treated with cortisone

Group	A (Control)	B	C
Cortisone acetate	25 mg twice a week	25 mg twice a week	25 mg twice a week
Prophylactic drug	none	PRM* 15 mg/kg + SMM† 300 mg/kg once a week	TMP‡ 100 mg/kg + SMZ§ 500 mg/kg once a week
Number of rats examined	30	21	10
Days at autopsy (average)	26D, 37D, 41D, 41D, 42D, 44D, 46D, 46D, 47D, 48D, 49D, 52D, 57D, 57D, 58D, 62D, 63D, 63D, 63D, 68D, 68D, 69D, 69D, 71D, 75D, 78D, 79D, 85D, 89D, 92S (60)	49D, 55D, 57D, 58D, 62D, 62D, 65D, 68D, 69D, 69D, 70D, 73D, 83D, 90D, 90D, 90D, 90D, 90D, 92S, 92S, 92S (75)	60D, 64D, 66D, 72D, 72D, 72D, 88D, 92S, 92S, 92S (77)
Number of cysts of <i>P. carinii</i> per 1g. of the lung [$\times 10^4$] (average)¶	0, 37, 351, 408, 22, 3, 56, 576, 402, 331, 329, 988, 328, 680, 1773, 988, 1110, 3020, 4102, 975, 1131, 50, 202, 608, 223, 1398, 3739, 1163, 70, 4597 (989)	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 10, 0, 8, 15 (1.6)	0, 0, 0, 0, 0, 306, 1284, 12, 281, 189 (207.2)

* PRM: pyrimethamine, † SMM: sulfamonomethoxine, ‡ TMP: trimethoprim,

¶ Each number of cysts corresponds to the rats mentioned in the above column

D: died, S: sacrificed

Toluidine blue-O (TBO) 染色 (Chalvardjian and Grawe, 1963), ②肺組織切片 HE 染色, TBO 染色ならびに Gomori's methenamine silver nitrate 染色を用いて判定した。感染濃度については集シスト法 (猪飼ら, 1977) を用い, 肺 1g 中の Pc シスト数を算定し定量的に表現して各群の Pc 肺炎発症予防効果を比較した。

成 績

実験 A から F までの成績をまとめて, 表 1 に示した。

実験 A 群 (予防薬非投与対照群)
cortisone 処理開始 26 日から 92 日までの間に
いて総数 30 頭中 29 頭に Pc の増殖を認め, 従来著

者らがくり返し行ってきたラットにおける Pc 肺炎発症実験成績と同じパターンを示した。すなわち cortisone 処理開始後, 日の浅い 26 日のみは陰性であったが日数を経るに従って Pc は肺胞中で増殖し, 2 カ月以降は多少の例外はあるが肺 1g 当たり 1,000 万個以上, 時に 4,000 万個以上のシストを検出し, 重度の Pc 肺炎像を示した。

実験 B 群 (pyrimethamine 15 mg/kg · sulfamonomethoxine 300 mg/kg, 週 1 回投与)

21 頭について実験開始後 49 日から 92 日にわたって観察したところ, 83 日まではすべて陰性であったが, 90 日目と 92 日目に剖検した計 3 頭から肺 1g 中にそれぞれ 10 万個, 8 万個および 15 万個の少量のシストが検出された。以上の結果は, この合剤のこの投与量によってほぼ Pc の増殖を抑え

acetate by several ways of intermittent drug regimens

D				E				F			
25 mg twice a week				25 mg twice a week				25 mg twice a week			
TMP 200 mg/kg + SMZ 1,000 mg/kg once a week				TMP 100 mg/kg + SMZ 500 mg/kg twice a week, 2 consecutive days				TMP 100 mg/kg + SMZ 500 mg/kg twice a week, 3-4 days interval			
12				21				22			
49D, 55D, 62D, 63D, 65D, 70D, 77D, 78D, 78D, 87D, 90S, 90S (72)				64D, 70D, 79D, 83D, 85D, 86D, 86D, 89D, 89D, 89D, 89D, 89D, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S (86)				48D, 62D, 63D, 72D, 74D, 76D, 76D, 83D, 84D, 84D, 84D, 84D, 85D, 86D, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S, 90S (81)			
0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0 (0)				0, 0 (0)				0, 0 (0)			

§ SMZ: sulfamethoxazole
respectively

ることが出来るが、長期の場合は尚完全でないことを示している。

実験C群 (trimethoprim 100 mg/kg・sulfamethoxazole 500 mg/kg, 週1回投与)

10頭について cortisone 処理を行いながら予防投与開始後60日から92日の間に剖検し観察した。その結果、66日までの3頭はすべて陰性であったが、72日目の3頭中1頭から306万個のシストを検出し、その後も4頭のラットすべてからかなり多数のPcシストが検出された。この結果は、この合剤のこの投与量ではPc肺炎発症予防効果は充分ではないことを示している。

実験D群 (trimethoprim 200 mg/kg・sulfamethoxazole 1,000 mg/kg, 週1回投与)

実験C群における薬剤量では充分な予防効果をもたせることができなかったため、本群は trimethoprim を 200 mg/kg, sulfamethoxazole を 1,000 mg/kg と各薬剤を2倍量とし週1回投与を行った。表1に示す如く、12頭について cortisone 処理を行い、予防投与開始49日から90日の間に剖検して観察したところ、12頭すべてにおいてPcのシストは検出されなかった。この結果は、この投与量でPc肺炎の発症をほぼ完全に予防できたことを示している。

実験E群 (trimethoprim 100 mg/kg・sulfamethoxazole 500 mg/kg, 週2回連続投与)

週1回投与方法ではC群に与えた薬剤量では効果が不十分であり、その2倍量を与えたD群ではほぼその目的を達したので、さらに本群ではC群と同じ量を週2回、それも2日間続けて投与するという方法を試みた。21頭についての成績は表1に示す如く、実験開始後64日から90日の間に剖検し、観察したところ、21頭のすべてにおいてPcは陰性で予防効果のあったことを示している。

実験F群 (trimethoprim 100 mg/kg・sulfamethoxazole 500 mg/kg, 3~4日間隔で週2回投与)

本群は上記E群と同じ薬剤量を週2回投与する点では同じであるが、異なる点は3~4日間隔で投与する点である。その成績は表1に示す如く22頭について実験開始後48日から90日にわたって剖検・観察したところ、すべての動物からPcのシ

ストは検出されず実験D、E群と同様、予防効果のあることが明らかとなった。

すなわち pyrimethamine・sulfamonomethoxine 合剤を用いるときはそれぞれ 15 mg/kg, 300 mg/kg 週1回投与ではほぼ発症予防の目的を達したが、trimethoprim・sulfamethoxazole 合剤の場合はそれぞれ 100 mg/kg, 500 mg/kg 週1回投与では予防効果が充分ではなかった。しかし2倍量に増量すると、週1回投与でも、2回に分けて与えても満足すべき発症予防効果が得られた。週2回に分けて投与する場合、2日連続で与えても3~4日間隔で与えても、その効果はほぼ同じと判断された。

考 察

Pc肺炎は適切な化学療法を施さないとはほぼ全例が死亡する重篤な肺炎であるが、早期に診断し、早期に治療を開始すればその多くを救命することができる。有効な薬剤として最初に現れたのは pentamidine isethionate (Ivány and Páldy, 1958, 1976) で現在もなお用いられている。しかし本剤は副作用が強く (Western *et al.*, 1970), さらに有効・安全な薬剤が望まれていたのであるが、抗マラリア剤である pyrimethamine とサルファ剤の合剤がPc肺炎に有効であることが示された (Frenkel *et al.*, 1966; Rifkind *et al.*, 1966; Ruskin *et al.*, 1967; Post *et al.*, 1971; Kirby *et al.*, 1971)。さらに1976年には1種の抗菌剤である trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤がPc肺炎に卓効のあることが知られ (Hughes, 1976; Hughes *et al.*, 1973, 1974, 1975, 1978), その後広く用いられている。

現在Pc肺炎に有効な薬剤は上記の3剤が主なものであるが、わが国で販売されているのは trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤のみである。著者らは1975年以来Pc肺炎の治療に関する研究を行い、pyrimethamine と sulfamonomethoxine の合剤と trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤との有効性について動物実験 (吉田ら, 1977) を行うと共に、42症例について臨床実験

(吉田ら, 1979) を行い, その成績を報告した。

一方 Pc 肺炎の発症予防投与に関する研究をみると, まず Hughes *et al.* (1973) がラットを用いた実験系で pyrimethamine と sulfamonomethoxine を用いたが予期した効果が得られなかったと報告した。しかし最近 Gottlieb *et al.* (1984) によれば AIDS 患者の Pc 発症予防に pyrimethamine と sulfadoxine の合剤が有効であったと述べている。一方, trimethoprim の毒性が pyrimethamine より低いことが Meyer *et al.* (1976) によって示されたこともあり, Hughes *et al.* (1977) は, St. Jude Children's Research Hospital で trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤による大がかりな Pc 肺炎発症予防実験を行いその成績を発表した。さらにその後この方法を続け, 1980年以後は全く Pc 肺炎の発症をみなくなったと報告した (Hughes *et al.*, 1984)。筆者の大学の小児科学教室においても 1978年以來この方法が全白血病患者に応用され, それ以前には Pc 肺炎の発症率が 30.6% の高率であったのを 3.4% に抑制することができた (今宿ら, 1984)。しかし, この方法は予防薬剤を数カ月から時に年余にわたって連日投与するもので, 皮疹, 肝障害, 骨髄抑制などの副作用も報告され, さらに最小有効量の検討が望まれていた。

Pc 肺炎発症予防投与に関する動物実験としては, まず Hughes *et al.* (1974) の報告がある。彼らは 15頭のラットを用い, cortisone 投与と並行して trimethoprim 50 mg/kg と sulfamethoxazole 250 mg/kg の連日投与を行ったところ, すべてに Pc 肺炎の発症をみなかったと報告した。また, 最近 Hughes and Smith (1983) は同じ薬剤の同じ量を毎日投与しなくても, 週 3 回連続投与することにより, 発症を予防できると報告した。

著者らの今回の実験はこれらを参考として, pyrimethamine-sulfamonomethoxine 合剤と trimethoprim-sulfamethoxazole 合剤について, 薬量を変え, かつ投与法を週 1 回投与, 週 2 回投与それも 2 日続けて投与する方法と, 3~4 日間隔で投与する方法などを試み, 発症予防効果を比較した。その結果, 週 1 回投与方法では pyrimethamine 15

mg/kg・sulfamonomethoxine 300 mg/kg の場合, ほぼ Pc 肺炎発症予防の目的を達することができたが, trimethoprim 100 mg/kg・sulfamethoxazole 500 mg/kg では充分ではなかった。そこで後者の合剤の同じ量を週 2 回投与したが, その場合, 2 日連続して与えても, 3~4 日間隔で与えても共に Pc 肺炎発症の予防効果が認められた。また週間投与量を合し, 週 1 回投与しても同様, 発症を予防することができた。動物実験に用いる薬剤量と臨床例に用いる量は当然異なり, 動物実験には多量を試みるのが常であるが, 少なくとも本実験により一定の有効量は 1 回に投与しても, また間歇投与しても効果は同じであることを示している。臨床においても週 2 回程度の間歇投与が実用的であり, その際の臨床有効量の検討が将来必要であると考ええる。

ま と め

Pc 肺炎発症を抑制するための予防投与はすでに臨床において広く用いられている。しかしその方法は trimethoprim と sulfamethoxazole の合剤の予防量を数カ月ないし年余にわたって毎日投与するもので, 間歇投与などを考慮した改良法が望まれる。本論文ではこの点を明らかにする目的で動物実験を行った。ラットに cortisone acetate を投与して Pc 肺炎を誘発する操作に並行して以下の薬剤を投与し発症予防効果を比較した。Pc 感染の濃度は集シスト法により, 肺 1g 中のシスト数を定量的に示すことによった。

1. A群 予防投与を行わなかった 30頭の対照群のうち, 29頭は Pc 感染を示し, 日数の経過と共に重篤化した。
2. B群 pyrimethamine 15 mg/kg・sulfamonomethoxine 300 mg/kg 合剤, 週 1 回投与群では, 21頭中 3頭に Pc の軽い感染を認めたのみで, かなりの予防効果があると考えられた。
3. C群 trimethoprim 100 mg/kg・sulfamethoxazole 500 mg/kg 合剤, 週 1 回投与群では, 10頭中 5頭に中等度の Pc 感染を認め, 予防効果は充分でないことを示した。

4. D群 上記3の合剤の2倍量を週1回投与した群では、12頭中Pcを認めたものはなく、予防効果のあることを示した。
5. E群 上記3の合剤の同じ量を週2回、連続して投与した群では、21頭中全例がPc陰性で予防効果を認めた。
6. F群 上記5と同じく週2回の投与であるが、3～4日間隔で投与した22頭でも、全例がPc陰性を示し予防効果を認めた。
- 以上の如く、有効量であれば週1回あるいは2回の間歇投与でPc肺炎の発症を予防できることが明らかとなったが、副作用などの点からも1回に大量与えるより週2回程度に分けて与える方がよいと考えられる。

文 献

- 1) 新川正治, 東道伸二郎, 竹内 滋, 今宿晋作, 沢田 淳, 楠 智一, 吉田幸雄, 水川公直, 水田隆三, 三宅宗隆 (1980): *Pneumocystis carinii* 肺炎—Trimethoprim-Sulfamethoxazole 予防投与の成績, 最新医学, 35 (8), 2086-2090
- 2) Chalvardjian, A. M. 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
- 3) Frenkel, J. K., Good, J. T. and Schultz, J. A. (1966): Latent *Pneumocystis* infection of rats, relapse, and chemotherapy, Lab. Invest., 15 (10), 1559-1577
- 4) Gottlieb, M. S., Knight, S., Mitsuyasu, R., Weisman, R., Roth, M. and Young, L. S. (1984): Prophylaxis of *Pneumocystis carinii* infection in AIDS with Pyrimethamine sulfadoxine, Lancet, 2 (8399), 398-399
- 5) Hughes, W. T., Kim, H-K., Price, R. A. and Miller, C. (1973): Attempts at prophylaxis for murine *Pneumocystis carinii* pneumonitis, Curr. Ther. Res., 15 (8), 581-587
- 6) 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 Chemother., 5 (3), 289-293
- 7) Hughes, W. T., Feldman, S. and Sanyal, S. K. (1975): Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonitis with trimethoprim-sulfamethoxazole, Can. Med. Assoc. J., 112, 47s-50s
- 8) Hughes, W. T. (1976): Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonitis, N. Engl. J. Med., 295 (13), 726-727
- 9) Hughes, W. T., Kuhn, S. R. N., Chaudhary, S., Feldman, S., Verzosa, M., Aur, R. J. A., Pratt, C. and George, S. L. (1977): Successful chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonitis, N. Engl. J. Med., 297 (26), 1419-1426
- 10) Hughes, W. T., Feldman, S., Chaudhary, S. C., Ossi, M. J., Cox, F. and Sanyal, S. K. (1978): Comparison of pentamidine isethionate and trimethoprim-sulfamethoxazole in the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia, J. Pediatr., 92 (2), 285-291
- 11) Hughes, W. T. and Smith, B. L. (1983): Intermittent chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia, Antimicrob. Agents. Chemother., 24 (2), 300-301
- 12) Hughes, W. T. (1984): Five-year absence of *Pneumocystis carinii* pneumonitis in a pediatric oncology center, J. Inf. Dis., 150 (2), 305-306
- 13) 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 (5), 314-322

- 14) 今宿晋作, 東道伸二郎, 新川正治, 長井隆夫, 中島久明, 橋田哲夫, 楠 智一, 吉田幸雄 (1984): 小児の *Pneumocystis carinii* 肺炎—本邦小児科領域における発生状況とその問題点—, 最新医学, 39 (6), 1219-1225
- 15) Ivády, G. and Páldy, L. (1958): Ein neues Behandlungsverfahren der interstitiellen plasmazelligen Pneumonie Frühgeborener mit fünfwertigem stibium und aromatischen Diamidinen, Mschr. Kinderhk., 106 (1), 10-14
- 16) Ivády, G. and Páldy, L. (1976): Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in infancy, Nat. Cancer Inst. Monogr., 43, 201-208
- 17) Kirby, H. B., Kenamore, B. and Guckian, J. C. (1971): *Pneumocystis carinii* pneumonia treated with pyrimethamine and sulfadiazine, Ann. Intern. Med. 75, 505-509
- 18) 小泉晶一, 奥田則彦, 鈴木祐吉, 上野良樹, 山上正彦, 三浦正義 (1981): ニューモシスチス肺炎と Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤による予防, 診断と治療, 69 (7), 163-168
- 19) Meyers, F. H., Jawetz, E. and Goldfien, A. (1976): Review of medical pharmacology, 5th ed., 518-519, Maruzen Co., Tokyo
- 20) Post, C., Fakouhi, T., Dutz, W., Bandarizadeh, B. and Kohout, E. E. (1971): Prophylaxis of epidemic infantile pneumocytosis with a 20:1 sulfadoxine plus pyrimethamine combination, Curr. Ther. Res., 13 (5), 273-279
- 21) Rifkind, D., Farris, T. D. and Hill, R. B. Jr. (1966): *Pneumocystis carinii* pneumonia. Studies on the diagnosis and treatment, Ann. Intern. Med., 65 (5), 943-956
- 22) Ruskin, J. and Remington, J. S. (1967): The compromised host and infection I. *Pneumocystis carinii* pneumonia, JAMA, 202 (12), 1070-1074
- 23) Western, K. A., Perera, D. R. and Schultz, M. G. (1970): Pentamidine isethionate in the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia, Ann. Intern. Med., 73, 695-702
- 24) 吉田幸雄, 竹内 滋, 荻野賢二, 猪飼 剛, 山田 稔 (1977): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎に関する研究 III. Pyrimethamine + Sulfamonomethoxine および Trimethoprim + Sulfamethoxazole の治療効果に関する動物実験, 寄生虫誌., 26 (6), 367-375
- 25) 吉田幸雄, 猪飼 剛, 竹内 滋, 荻野賢二, 山田 稔, 楠 智一, 伊地知浜夫, 橋本 勇 (1979): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎の研究 VII. 本症42例の治療成績, 寄生虫誌., 28 (6), 455-464

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE CHEMO- PROPHYLAXIS FOR *PNEUMOCYSTIS CARINII* PNEUMONIA WITH INTERMITTENT ADMINISTRATION OF TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE AND PYRIMETHAMINE-SULFAMONOMETHOXINE

MINORU YAMADA, SHIGERU TAKEUCHI*, TSUNEZO SHIOTA,
YOSHITSUGU MATSUMOTO, HISAO YOSHIKAWA, KAE OKABAYASHI,
TATSUYA TEGOSHI, TETSUYA YOSHIKAWA AND YUKIO YOSHIDA

Received October 20 1985/Accepted November 12 1985

Chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia with trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) has recently been widely applied in the clinical field since Hughes *et al.* (1977) established a regimen, which indicated daily administration of the drug for several months or sometimes over a year. In order to avoid the adverse effect, search for a minimum-effective dose or more convenient way of administration has been desired. The present paper describes the chemoprophylactic effect of *P. carinii* pneumonia by means of intermittent administrations of TMP-SMZ and pyrimethamine-sulfamonomethoxine (PRM-SMM) in immunosuppressed rats. The results are summarized as follows:

- Group A. Twenty-nine out of 30 control rats which were not given prophylactic drug but given cortisone acetate showed severe *P. carinii* pneumonia.
- Group B. In a group of prophylactic regimen as PRM 15 mg/kg-SMM 300 mg/kg, once a week, 3 out of 21 rats showed light infection with *P. carinii*.
- Group C. In a group of TMP 100 mg/kg-SMZ 500 mg/kg administration, once a week, 5 out of 10 rats were moderately infected with *P. carinii*. The prophylactic effect seemed not enough by this procedure.
- Group D. All of 12 rats which received TMP 200 mg/kg-SMZ 1,000 mg/kg (twice as much as Group C), once a week, showed negative for *P. carinii*.
- Group E. All of 21 rats which received TMP 100 mg/kg-SMZ 500 mg/kg, twice a week (2 consecutive days), were negative for *P. carinii*.
- Group F. All of 22 rats which received TMP 100 mg/kg-SMZ 500 mg/kg, twice a week (3-4 days interval), were also negative for *P. carinii*.

From the results mentioned above, it can be said that intermittent prophylactic regimens in Group D, E and F showed satisfactory effect for preventing the onset of *P. carinii* pneumonia. Among those, the method used in Group F seems to be most applicable in the clinical field, considering the side effects and in practical point of view.

Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto 602, Japan.

* Present Address: Tondabayashi Hospital, Osaka Prefecture

OCCURRENCE OF *TRICHOMONAS TENAX* IN PLEURAL EFFUSION: A CASE REPORT AND A BRIEF REVIEW OF LITERATURES

TOSHIHIKO OHKURA, NORIJI SUZUKI AND YOSHIHISA HASHIGUCHI

Received March 7 1985/Accepted September 17 1985

Abstract: *Trichomonas tenax* was observed in the pleural effusion of Japanese male patient (70-year-old) with purulent pleuritis. The trichomonad protozoan was found to be concomitant infection with *Escherichia coli* in the purulent effusion. The protozoan measured an average size of 12.44μ in length and 8.52μ in width ($n=30$). Based on the morphological features, such as size of trichomonad, number of flagella and short undulating membrane, the organism was identified as *T. tenax*. The aetiological aspects in this case, however, still remained uncertain, though the patient might be partially affected by a great number of *T. tenax* in the pleural cavity. As to the two organisms found in the pleural effusion, the route of invasion was not known. The homosexual behaviour of the patient, however, might have some connection with the route of invasion.

In 1867, Leyden and Jaffe described the first case of trichomonad infection from the human respiratory tracts in Germany (Walton and Bacharach, 1963; Memik, 1968). Thereafter, few cases have been reported in the world; only one case in Japan so far as is known. Due to the paucity information, invasion of the respiratory tracts by trichomonads is little understood among parasitologists or physicians. To have more information on the human infection with this protozoan, such a case report seems to be important, though there still remain certain doubts regarding the exact pathogenesis.

Recently, we have had an opportunity to observe trichomonad protozoans from the pleural effusion of a patient with acute pleural disease from Kochi, Japan.

CASE REPORT

A 70-year-old male from a nearby village presented himself to the Kochi National Hospital, Kochi City. The patient was hospitalized from 28 April 1981 to 4 June 1981, because of hemoptysis associated with shortness of breath, wheezing, cough, tachypnea and fever with severe chest-pain. In the past history, the patient had had fractures of the right 6th and 7th ribs, having been treated in 1976. Moreover, he had fallen down on the street and injured his right chest in the middle of April, 1981. The patient had no history of gastrointestinal disease and diabetes or tuberculosis, but he was suffering from alcoholism and had a homosexual behaviour.

Physical examination revealed a well-developed and wellnourished man. Vital signs on the day (28 April, 1981) of admission were: temperature, 38°C; pulse, 98; respiration, 36; and blood pressure, 100/60. The liver and spleen were not palpable. The extremities had no cyanosis or edema. Chest X-ray showed a cured picture of fractures of the 6th and 7th ribs (1976) and a high retention of the right pleural effusion. The X-ray, after removal of the effusion, revealed an adhesion of the pleura, caused by purulent pleuritis. By a test thoracocentesis on the day of admission, purulent materials were obtained and they were positive for Gram positive and negative bacteria in smear specimens. The fresh materials were also positive for *Trichomonas tenax*. Moreover, in culture of the materials, *T. tenax* and *Escherichia coli* were found, but not *Mycobacterium tuberculosis*. Sensitivity test of *E. coli* for the following drugs were: PcA, -; PcB, -; PcS, -; TC, +; AMK, +; CER, +; CET, +; PIP, +; CM, +; CFS, +; CEP, +; and CEX, +.

Laboratory examinations showed the following value at the time of admission: hemoglobin, 11.9 g/100 ml; white blood cell count, 22,400/mm³, with 92 per cent neutrophil and 8 per cent lymphocyte; red blood cell count, 367 × 10⁴/mm³; hematocrit, 38 per cent; blood platelet, 32.4 × 10⁴/cm³; total bilirubin, 0.8 mg/100 ml; total protein, 5.4 mg/100 ml; A/G ratio, 0.74; GOT, 10 u; GPT, 65 u; alkaline phosphatase, 11.0 King-Armstrong units; and LDH, 220 u. The patient revealed a decrease of total protein and a slight liver failure.

According to the results of laboratory examinations, the following treatments were performed on and after the day of admission: as a wide spectrum chemotherapy against bacteria, Cephalothin (Shionogi Co.) was daily given 6 g/day for the first 15 days and thereafter Cefotiam (Takeda Co.), 3 g × 16 days; Cefsulodin (Takeda Co.), 2 g × 10 days; and against trichomonads, Metronidazole (Shionogi Co.), 0.5 g × 10 days. At 24 hours after admission, the 2nd thoracocentesis was performed and yielded 1,900 ml of purulent fluid. In order to remove the pleural effusion, a chest tube was inserted on the right side and this alleviated the symptoms, such as cough, chest pain and tachypnea, of the patient gradually. A total of 400 ml to 600 ml per day of the pleural fluid was removed during the first 3 days after insertion of the tube. From the 4th day onward, amount of the fluid ranged between 100 ml and 300 ml per day, showing a gradual decrease, and the body temperature of the patient fluctuated between 36.5°C and 37.5°C. The tube was removed on the 21st day of admission when no pleural fluid flowed from his chest. *E. coli* disappeared on the 11th day of admission and *T. tenax*, on the 4th day by the treatment mentioned above. The patient recovered and was discharged in good condition on the 38th day of admission.

OBSERVATION OF TRICHOMONADS

Both the fresh and Hematoxylin-Eosin stained materials revealed a great number of trichomonad protozoans. The organism was readily identified as *Trichomonas* by its typical features, such as pear-shaped form with flagella, undulating membrane and protruding axostyle, and also by its characteristic wobbly, rolling movement. The trichomonad has four free flagellae of equal length and a fifth one on the margin of the undulating membrane. It measured 12.44 ± 1.60 (9.09–16.16) μ in length and 8.52 ± 2.41 (4.04–12.12) μ in width (n = 3). These features observed suggested the organism to be *T. tenax*.

COMMENTS

In the present study, *T. tenax* and *E. coli* were recovered from the purulent pleural effusion of a male patient with acute pulmonary disease. The patient suffered from the pleuritis probably caused after spontaneous pneumothorax at the time of thoracic bruise in the middle of April, 1981. In this case, therefore, the pleural effusion might be produced mainly by the pleuritis. Moreover, the concomitant infection of the two organisms would have an influence against a bad turn of the present illness. The patient recovered from the disease by 38th day of hospitalization, having treatment with Cephalothin, Cefotiam, Cefsulodin and Metronidazole.

In general, it is considered that both *T. tenax* and *E. coli* are nonpathogenic for man in their normal sites of parasitism, such as the mouth and the large intestine respectively. In case of the present abnormal parasitism, however, it would be quite probable that the two organisms, *T. tenax* and *E. coli*, could partly affect the patient, in particular the latter being a causative agent of such a great amount of the pleural effusion. As to *T. tenax* and *E. coli* found in the pleural effusion, the route of invasion was not known. The homosexual behaviour of the patient, however, might have some connections with the route of invasion.

In the genus *Trichomonas*, three species, *T. vaginalis*, *T. hominis* and *T. tenax*, are found in man. Of these, *T. vaginalis* is the most popular trichomonad in ordinary practice of physicians. Thus, most of the literatures are concerned with the case found in the vaginal, urinary and intestinal tracts. On the other hand, invasion of the respiratory tract by trichomonad protozoans is a relatively rare case (42 in total in the world) in human infections (Table 1). Walton and Bacharach (1963) made a chronological summary of 16 literature references to pulmonary trichomonads reported during the period from 1867 to 1942; they summarized 30 cases from Germany, France, U.S.A., Holland, Switzerland, Argentina and Japan, adding 3 own cases from U.S.A. In these earlier literatures, as the variety of names was applied to flagellates from the respiratory tract, no reliable identification was available (Walton and Bacharach, 1963). In 1961, Kott and Adler demonstrated serotype differentiation among *T. vaginalis*, *T. hominis* and *T. tenax*. However, a clinically reliable serologic test is not yet available (Walzer *et al.*, 1978). The above 3 cases of Walton and Bacharach (1963) were considered to be *T. tenax* based on the morphological characteristics of the trichomonads which measured 13μ in an average length, while *T. vaginalis* showed the length of 18μ in similarly fixed and stained materials. Memik (1968) reported a case of *T. tenax* recovered from the pleural effusion of a patient with chronic pulmonary disease, and insisted the importance of examination of the pleural fluid of patients by direct microscopic means, in order to diagnose trichomonad infections. Recently, Osborne *et al.* (1984) reported a case of trichomonads in the respiratory tract, along with a review of reported 10 cases of respiratory trichomoniasis during the years from 1956 to 1984 in the world.

In the present case, a great number of active *T. tenax* was found in the fresh materials of the pleural effusion. Such an abundance in numbers of the flagellate might be due to the concomitant infection with *E. coli*, in spite of the abnormal site of parasitism; *T. tenax* was normally cultured only in the presence of bacteria (Carneri and Giannone, 1964). The aetiological aspects of *T. tenax* in this case still remained uncertain, but pulmonary forms of trichomonads should not be considered completely benign yet (Memik, 1968).

Table 1 Summary of references of pulmonary trichomonads from different countries*

Author and year	No. of cases	Materials found	Name applied	Associated disease	Country
Leyden and Jaffe, 1867	2	Sputum	Infusorien	Putrid bronchitis	Germany
Kannenber, 1879	5	Sputum,	Monas lens,	Lung gangrene	Germany
1880	6	lung abscess (1)	cercomonas		
Stockvis, 1884	1	Sputum	Paramecium	Hemoptysis-purulent sputum	Holland
Litten, 1886	1	Pleural exudate	Cercomonas	Tuberculous hydropneumothorax	Germany
Streng, 1892	3	Sputum, histologic section (1)	Monaden	Exudative pleuritis & abscess, lobar pneumonia	Germany
Roos, 1893	1	Sputum, pleural exudate	Cercomonas	Purulent pleuritis, lung abscess	Germany
Grimm, 1894	1	Sputum, liver abscess	Flagellaten	Lung and liver abscess	Japan
Schmidt, 1895	3	Sputum, Dittrich's plugs, bronchus (1)	<i>Trichomonas pulmonalis</i> **	Carcinoma of larynx, bronchiectasis, chronic pleuritis	Germany
Artault, 1898	1	Sputum	<i>T. pulmonalis</i> **	Lung gangrene	France
Dollet, 1910	1	Sputum	<i>T. intestinalis</i>	Pneumonia, lung gangrene	U. S. A.
Honigman, 1921	1	Sputum	<i>T. hominis</i>	Chronic bronchitis	Germany
Parisot and Simonin, 1921	1	Sputum	<i>T. intestinalis</i>	Lung gangrene	France
Marx, 1927	1	Sputum	<i>T. pulmonalis</i> **	Putrid bronchitis, bronchiectasis, chronic pneumonia	Switzerland
Navarro and De Alzaga, 1933	1	Sputum, pus from thoracic abscess	<i>T. hominis</i>	Hepatic and thoracic abscess	Argentina
Glabach and Guller, 1942	1	Sputum	<i>T. buccalis</i> **	Pneumonia	U. S. A.
Tumka, 1956	1	Pleural fluid	<i>Trichomonas</i>	Tuberculosis	U. S. S. R.
Walton and Bacharach, 1963	3	Sputum, bronchial washings	<i>Trichomonas</i> (<i>T. tenax</i> ?)	Pulmonary fibrosis (1) pulmonary carcinoma (2)	U. S. A.
Rebhun, 1964	1	Sputum	<i>Trichomonas</i>	Chronic bronchitis	U. S. A.
Abed <i>et al.</i> , 1966	1	Pleural fluid	<i>Trichomonas</i>	Bronchopleural fistula	France
Memik, 1968	1	Pleural fluid	<i>T. tenax</i>	Pleural pleuritis	U. S. A.
Fardy and March, 1969	2	Pulmonary tissue	<i>Trichomonas</i>	Tuberculosis	Canada
Walzer <i>et al.</i> , 1978	1	Pleural fluid	<i>Trichomonas</i>	Aspiration pneumonia	U. S. A.
Osborne <i>et al.</i> , 1984	1	Pleural fluid	<i>Trichomonas</i>	Purulent pleuritis	U. S. A.
Ohkura <i>et al.</i> , 1985	1	Pleural fluid	<i>T. tenax</i>	Purulent pleuritis	Japan

* Modified based on Walton and Bacharach (1963), and Osborne *et al.* (1984).

** Considered to be *T. tenax*.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are greatly indebted to Dr. Humio Osaki, Vice President of Kochi Medical School, Nankoku City, Kochi for suggestions on the identification of *Trichomonas tenax*. Thanks are also due to Messrs. Yoshio Yokota and Kazuyoshi Yamahana for their skillful technical assistance throughout the examination of the patient.

REFERENCES

- 1) Carneri, I. and Giannone, R. (1964): Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis* infections and absence of correlation between oral and vaginal protozoans in Italian women, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 13, 261-264
- 2) Kott, H. and Adler, S. (1961): A serologic study of *Trichomonas* species parasitic in man, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 55, 333-334
- 3) Memik, F. (1968): Trichomonads in pleural effusion, *JAMA.*, 204, 1145-1146
- 4) Osborne, P. T., Giltman, L. I. and Uthman, E. O. (1984): Trichomonads in the respiratory tract, a case report and literature review, *Act. Cytol.*, 28, 136-138
- 5) Walton, B. C. and Bacharach, T. (1963): Occurrence of trichomonads in the respiratory tract, report of three cases, *J. Parasit.*, 49, 35-38
- 6) Walzer, P. D., Rutherford, I. and East, R. (1978): Empyema with *Trichomonas* species, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 118, 415-418

胸水中の *Trichomonas tenax* の 1 症例および既報症例

大倉 俊彦・鈴木 了司・橋口 義久

膿胸を伴う胸膜炎患者 (70歳, 男性) の胸水中に活発な運動性を有する多数のトリコモナスを見いだし, 虫体の計測値や鞭毛の形態等から口腔トリコモナス *Trichomonas tenax* と同定した。また同時に多数の大腸菌 *Escherichia coli* も検出された。これらの原虫や細菌の本症例における詳細な関わりについては不明である。日本における *T. tenax* の症例は1894年以来第2例目に当たる。口腔トリコモナスに対して Metronidazole を, 大腸菌には Cephalothin, Cefotiam および Cefsulodin を用いて治療を試みたところ, 前者は入院4日後に, 後者は11日後に, それぞれ胸水中から消失し, その後の再発はなく, 患者は入院38日後に退院した。口腔トリコモナスと大腸菌の胸腔内への侵入経路は明らかでないが, 自然気胸や患者の同性愛癖が何らかの形で関与していることも考えられる。

輸血による三日熱マラリアの1例

矢野 健一¹・中林 敏夫¹・渡辺 知明²
藤本 輝夫³・阪本 俊一³

昭和60年10月7日 受付/昭和60年11月11日 受理

はじめに 症 例

日本における土着マラリア、戦後輸入マラリアは、ほぼ1950年頃に終息し(大鶴, 1958), 戦後輸入マラリアによる輸血マラリアも1965年を最後に終息した(花田ら, 1966)。

しかし、近年海外渡航者の増加に伴い輸入マラリアが増加してきている(中林ら, 1975; 大友ら, 1976; 大友, 1984)。最近7例のマラリア国内感染症例が報告されるようになった(大友ら, 1973; 天野ら, 1976; 大友, 日置, 1985)。

我々は、来日外国人の献血より感染したと思われる輸血三日熱マラリアの1例を経験したので報告する。

患者: 60歳男, 包装工。

既往歴ならびに海外渡航歴: 1944年10月中国へ出征, 1945年8月シベリア捕虜収容所に抑留された。1946年10月黄疸で捕虜収容所の病院に1カ月間入院。1948年10月帰国。輸血歴なく, その他特記すべきものなし。

家族歴: 特記すべきものなし。

発病の経過: 1985年1月30日自転車に乗っていて雪道で転倒し, 右大腿骨頸部骨折。直ちに入院, 修復手術を行った。骨折部位の骨の再生状態悪く, 1985年6月19日人工骨頭に置換すべく, 右股関節形成術を行い, 術日O型濃厚赤血球3単位

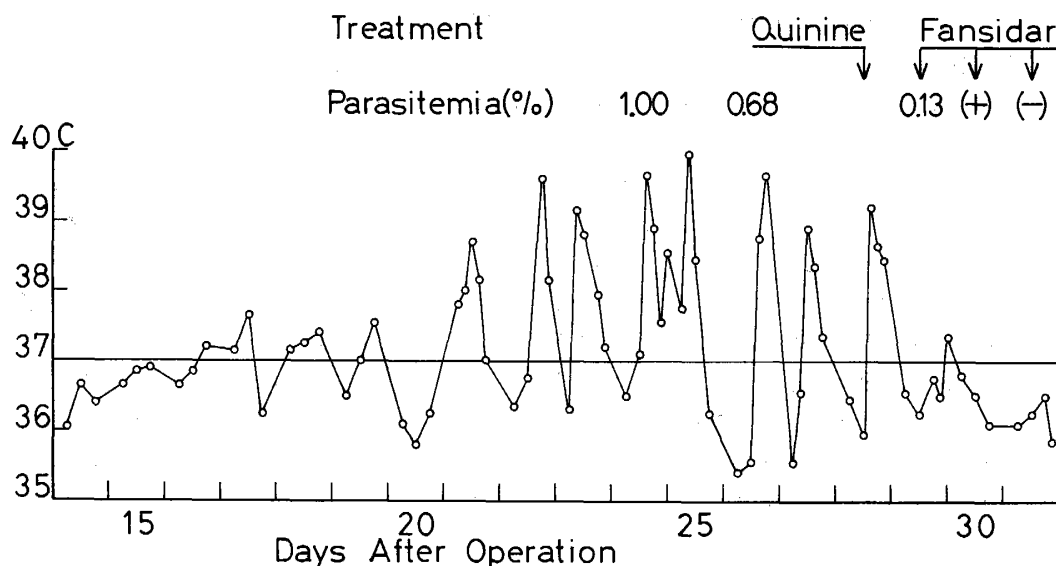


Figure 1 Temperature chart and parasitemia of the patient.

1 大阪大学微生物病研究所原虫学部門 2 大阪府赤十字血液センター 3 藤本病院外科
要旨は第27回日本熱帯医学会総会(神戸, 1985年11月1日)に発表した。

Table 1 Clinical laboratory data of the patient

Days after the operation	14	21	24	25	26	29	33	37
WBC (1/cmm)	7,100	4,600	5,100	3,700	4,000	4,600	4,900	4,000
RBC (10 ⁴ /cmm)	366	407	386	373	304	337	308	317
HGB (g/dl)	11.3	12.2	11.5	11.2	8.9	9.9	9.1	9.5
HCT (%)	34.9	37.3	35.3	33.4	28.1	38.9	27.7	28.6
PLT (10 ⁴ /cmm)	43	9	4		3	3	3	16
GOT (IU/l)	13				30	28	29	26
GRT (IU/l)	7				19	15	20	17
ALP (K. A. F.)	8.5				18.4	17.0	12.0	9.9
LDH (IU/l)	349				491	346	369	301
γ -GTP (U/l)	23				84	88	55	44
ZTT (U)	7.6				8.2	8.4	9.9	8.4
T. Bil. (mg/dl)	0.2				3.4	4.7	1.4	1.3
T. P. (g/dl)	6.8				5.3	4.7	6.2	6.8
Alb. (g/dl)	3.5				2.3	2.4	3.7	4.4
T. Cho.	198				74	79	109	120
CRP (mg/dl)			20.1					0.1
BUN (mg/dl)					35.7	15.8	9.7	
Crnn. (mg/dl)					1.6	1.0	1.0	

と凍結血漿 4 単位、翌日濃厚赤血球 2 単位を輸血した。

術後16日目より微熱、術後21日目より高熱、悪心をきたし血小板減少を示した (図1, 表1)。その後も高熱、悪心、嘔吐が続き、対症療法として輸液、Cefotaxime (2g), Indomethacine (25mg) 等を投与した。術後27日目には、貧血改善のために濃厚赤血球 2 単位を輸血した。

術後24日目に急激な血小板減少を示し、血小板数を染色標本により再検し、同時にマラリア原虫と思われるものを認めた。術後26日目には貧血と軽度の黄疸が現れ、肝脾腫脹と圧痛があり、マラリア原虫を認めた。術後28日目にマラリア原虫は三日熱マラリアと同定した。そこで Fansidar 2錠投与したが嘔吐したので、quinine dihydrochloride 400mg を 5% glucose 500ml に加え点滴静注した。翌日より解熱し悪心も消失したので、Fansidar 1錠を 3日間投与し、その後根治療法としてプリマキン 1錠を14日間投与した。

末梢血中のマラリア感染赤血球は、術後24日目 1.00%、26日目 0.68%、29日目 (治療開始 2日

後) では変性したマラリア原虫 0.13% を認め、30日目では、厚層塗抹のみ陽性を示したが、それ以後は、厚層塗抹でもマラリア原虫は陰性であった (図1)。

術後26日目の末梢血標本で、感染赤血球の膨化は見られなかったが、アメーバ型栄養型原虫の細胞質は大きく (写真1)、半月体生殖母体は認めず、成熟分裂型のメロゾイト数は、12、14個が主で、16、18個のものも認めたので三日熱マラリアと同定した。

臨床検査所見として、輸血後26日目 (発症後10日目) に貧血、血小板減少、血清アルブミン、総コレステロールの減少、アルカリ性フォスファターゼ、総ビリルビン、C-reactive protein、尿素窒素、クレアチニンの上昇を示した (表1)。治療開始5日目には貧血、血小板減少、アルカリ性フォスファターゼ、総ビリルビンの上昇以外は正常値に回復し、9日目には、全てほぼ正常値に回復した。

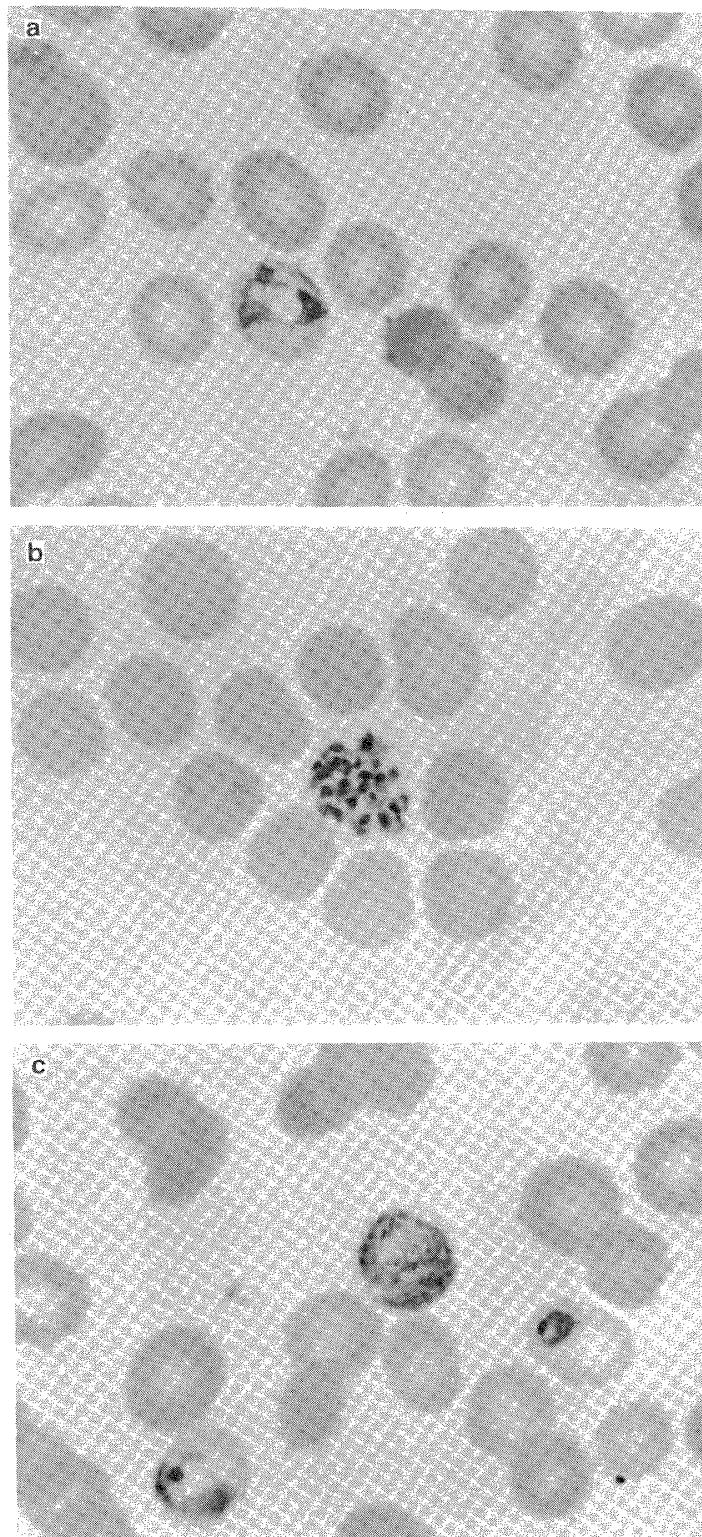


Photo. 1 Malaria parasites were found in the smear of peripheral blood on 15 July (26 days after operation). Stained with Giemsa stain. $\times 1,000$: a) Ameboid form. Schüffner's dots can be seen in the lower part of the cytoplasm. b) Mature schizont with more than 16 merozoites. c) Gametocyte in the center and two ameboid forms.

考 察

土着マラリアが終息し、身近に感染源となる三日熱マラリア患者も存在しなかった本症例のマラリア感染の由来については、次の2つの可能性が想定される。1つは、1946年10月シベリア捕虜収容所での黄疸を三日熱マラリアによるものと考え、右股関節形成手術による侵襲のために39年目に再発したとの想定である。三日熱マラリアの再発は、感染後通常3年以内で、長くても5年である。また収容所の場所は不明ではあるが、寒さと栄養失調による死亡が多くマラリア発症の噂はなかった。黄疸による収容所での1カ月の入院は寝ているだけで一切治療は受けず、この黄疸が三日熱マラリアとすれば、その後全く再発も起こさなかったとは考え難い。

もう1つは、輸血マラリアの可能性である。5単位の濃厚赤血球は、全て6月9日に献血された。4名の献血者は日本人で海外渡航歴はなく、家族歴にもマラリアとの関連は認められなかった。もう1名の献血者は1984年10月来日の27歳のインド人である。本人はマラリアとの関連は否定した。この献血者はマラリアの流行地域 (WHO, 1983) のパンジャブ州カプラ市で27歳まで育った。その間に、たとえ記憶にないとしても三日熱マラリア感染を全く否定できるかについては疑問が残る。インドには温帯性三日熱マラリアの存在の可能性があり (Horstman, 1973), 温帯性三日熱マラリアの 10 sporozoites 接種では、末梢血の検査で628日目に原虫を認めたが、その間全く無症状な場合もある (Shute *et al.*, 1976)。また三日熱マラリアは感染後6~8年間輸血による感染力を存続し得る (Besson *et al.*, 1976; Garnham, 1977)。これらのことを考えると、状況判断として、このインド人の献血に由来する輸血マラリアと断定せざるを得ない。術後16日目よりの発熱を三日熱マラリアの発症と考えると Bruce-Chwatt (1972) による輸血三日熱マラリアの潜伏期 16.6 ± 8.2 日に一致する。また本症例の熱型 (図1) は、術後21日目より解熱剤 Indometachine の使用で典型的で

はないが、初期の微熱よりしだいに高熱に移行しているのは明らかである。これは輸血による赤内型原虫が流血中でしだいに増殖してきた結果と思われる。供血による日本国内での輸血マラリアは、1945年より1965年の間、戦後マラリアによる51例が報告され (花田ら, 1966), そのうち輸血三日熱マラリアは49例で輸血四日熱マラリアより早く1959年に終息している。その後輸血マラリアは途絶えたが、海外渡航者が増加した近年、輸入マラリアによるとおもわれる輸血卵型マラリアが報告された (天野ら, 1984)。そこで本症例は、輸入マラリアによる輸血マラリアとしては2例目となる。ちなみに1984年5月より約1年間に大阪府赤十字血液センターで扱った来日外国人の献血は、197件であった。これら来日外国人の献血は、濃厚赤血球と凍結血漿の製造のみに供される。凍結血漿には $5,000/\mu\text{l}$ 以下の赤血球が含まれ、このインド人の献血による凍結血漿は6月12日に使用されたがマラリアの発症は認められなかった。

本症例では、治療開始は発症12日目で、悪心が強く抗マラリア剤の経口投与は困難であった。良性マラリアでも悪心の強い時は、熱帯熱マラリアに準じて (海老沢, 田辺, 1984) キニーネ静脈内注射を考慮すべきである。プリマキンの根治療法は輸血三日熱マラリアでは不必要であるが、(大友, 日置, 1985), 当初、戦後三日熱マラリアの再発も考えられ (岩倉ら, 1973), 根治療法が行われた。

なお、三日熱マラリアでも発症後9日目で1.0%と感染赤血球が多いと、double infection が認められ、熱帯熱マラリアと診断される恐れがあり注意を要する。

おわりに

1985年7月、60歳の男性が右股関節形成手術のために、来日外国人献血者を含む5単位の濃厚赤血球を輸血され、術後16日目に三日熱マラリアを発症した。塩酸キニーネの点滴静注と Fansidar 投与により本症は完治した。

近年、海外との人的交流が増加し、日本人の海外渡航者からの輸血マラリアのみならず、来日外国人の献血による輸血マラリアにも、注意を払う必要がある。

文 献

- 1) 天野博之, 山本利雄, 左野 明, 高橋泰生, 蔵田駿一郎, 市島国雄, 山辺博彦 (1976): 国内二次感染と思われる脳性熱帯熱マラリアの一剖検例, 日熱医学会誌., 4, 195-205
- 2) 天野皓昭, 大島智夫, 原野 浩, 蘇鴻 偉, 伊藤 章, 大久保隆男, 渡辺真一郎, 毛利 博 (1985): 輸血により感染したと思われる卵型マラリアの1例, 日熱医学会誌., 13, 145-146
- 3) Besson, P., Robert, J. F., Revivron, J., Richard-Lenoble, D. and Gentilini, M. (1976): A propos de deux observations du paludisme transfusionnel. Essai de prévention associant un test d'immunofluorescence indirecte aux critères de sélection clinique, Rev. Fr. Transf. Immuno-Hématol., 19, 369-373
- 4) Bruce-Chwatt, L. J. (1972): Imported malaria: an uninvited guest, Brit. Med. Bull., 38, 179-185
- 5) 海老沢 功, 田辺清勝 (1985): 熱帯熱マラリアのキニーネ静脈内注射療法, 日熱医学会誌., 13, 147-148
- 6) Garnham, P. C. C. (1977): The continuing mystery of relapses in malaria, Protozoological Abstracts, 1, 1-12
- 7) Horstmann, P. (1973): Delayed attacks of malaria in visitors to the tropics, Brit. Med. J., 3, 440-442
- 8) 岩倉勝雄, 吉原宣方, 中野達雄 (1973): 33年目に再発したと思われるマラリアの1例, 香川県医師会誌., 25, 10-11
- 9) 花田十衛, 砂辺孝和, 森下正一郎 (1966): 注意すべき輸血マラリアの経験, 日医新報., 2208, 53-54
- 10) 中林敏夫, 大友弘士, 海老沢 功, 石崎 達 (1975): 輸入マラリアの現状, 公衆衛生情報, 5, 1-4
- 11) 大友弘士, 小山 力, 小早川隆敏, 塩之入 洋 (1973): 三日熱マラリアの国内感染症例, 日医新報., 2579, 30-32
- 12) 大友弘士, 中林敏夫, 海老沢 功, 石崎 達 (1976): 1975年の国内マラリア発生状況, 公衆衛生情報, 6, 40-45
- 13) 大友弘士 (1984): マラリア: わが国における現状と対策, 日熱医学会誌., 12, 101-102
- 14) 大友弘士, 日置敦巳 (1985): 国内で起こりうるマラリア感染の機序, メディヤサークル, 30, 91-101
- 15) 大鶴正満 (1958): 戦後輸入マラリアの推移, 医学の動向, 22, 107-138
- 16) Shute, P. G., Lupascu, Gh., Maryon, M., Constantinescu, P., Bruce-Chwatt, L. J., Draper, C. C., Killick-Kendrick, R. and Garnham, P. C. C. (1976): A strain of *Plasmodium vivax* characterized by prolonged incubation: the effect of numbers of sporozoites on the length of the prepatent period, Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 70, 474-481
- 17) WHO (1983): TDR/MAL/SC-SWG (80-83)/83.3, pp. 5

A CASE OF *PLASMODIUM VIVAX* MALARIA INDUCED BY BLOOD TRANSFUSION

KENYICHI YANO¹, TOSHIO NAKABAYASHI¹, TOMOAKI WATANABE²,
TERUO FUJIMOTO³ AND SHUN-ICHI SAKAMOTO³

Received October 7 1985/Accepted November 11 1985

We have experienced a case of transfusion vivax malaria. A man aged 60, a wrapper, had been in Siberia from October, 1944, to October, 1948, where he suffered jaundice for a month in October, 1946. He had no other trip abroad and no history of malaria in the past. He was in a hospital to treat fracture of the right femoral neck since January 30, 1985, and an orthopedic surgery of the right hip joint was done on June 19, 1985. He was transfused with three packs of red cell concentrates on June 19 and two on the 20th to cover the bleeding at the surgery. He developed moderate fever from July 5 (16 days after the operation), and high fever and nausea and anorexia from July 10, and anemia from July 13. He was diagnosed as *Plasmodium vivax* malaria on July 17 (28 days after the operation) and treated intravenously with quinine dihydrochloride (400 mg), and then Fansidar (3 tablets for 3 days). He was completely cured by the treatment.

Four of 5 blood donors were Japanese and had no association with malaria. Another donor was an Indian from Punjab State, a known malaria endemic region. After coming to Japan in October 1984, she stayed in Osaka without any malarial symptom. The vivax malaria was most possibly induced by the red cell concentrate from this blood donor. This is the second case of transfusion malaria in Japan since the war-induced transfusion malaria had disappeared in 1965.

Since personnel interchange between Japan and many malaria endemic foreign countries increased heavily in recent years, we have to pay attentions to transfusion malaria in Japan again.

1 Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University.

2 Osaka Red Cross Blood Center.

3 Department of Surgery, Fujimoto Hospital.

ECOLOGICAL STUDIES ON THE LUNG FLUKE, *PARAGONIMUS OHIRAI* MIYAZAKI, 1939

1. INFECTION RATE WITH *P. OHIRAI* METACERCARIAE OF BRACKISH WATER CRABS COLLECTED FROM THE SIX RIVERS IN THE TOKAI DISTRICT, CENTRAL JAPAN

KIKUO MATSUO¹ AND KIYOSHI MAKIYA²

Received October 20 1985/Accepted November 13 1985

Abstract: A survey for the detection of *Paragonimus ohirai* metacercariae in brackish water crabs was carried out during the period from October 1982 to September 1985 in the six rivers in the Tokai district, central Japan. These rivers are the Ibi, Nagara, Kiso, Nikkou, Shin and Shounai river which flow into the Ise Bay between Aichi and Mie Prefectures. The brackish water crabs collected were of the species *Sesarma dehaani*, *S. intermedia*, *Helice tridens* and *Chasmagnathus convexus*. *Paragonimus ohirai* metacercariae were detected in the first two species. Metacercariae were detected in crabs collected at 17 out of 19 study sites which are situated from about 5.5 to 13.0 km from the estuaries of the Ibi, Nagara and Kiso rivers. The infection rate was 2.7-100 per cent for *S. dehaani* and 0.9-100 per cent for *S. intermedia*, while the average number of metacercariae per positive crab was 1.0-96.0 and 1.0-30.2, respectively. The infection rate was higher among the crabs collected from the twelve study sites situated about 6-11 km up from the estuaries of the three rivers. Although a survey done in 1958 reported that only two sites in the Nagara river were positive for crabs, the present study revealed that the infected areas were distributed widely along the three rivers. In the present survey, a new *P. ohirai*-infected area was found along the Shin river for the first time, despite only limited investigations in the other three rivers. No crabs with metacercariae were observed along the Nikkou river, where *P. ohirai* had been found in the past.

INTRODUCTION

It has already been reported by Miyazaki (1944) and Yoshida *et al.* (1958) that the crabs with *P. ohirai* were distributed in some areas of the estuary of the Nagara river, Mie Prefecture, central Japan. However, no intensive survey has been conducted in the Tokai district.

The present authors started ecological studies on *P. ohirai* in 1982 in the Tokai district, where six main rivers flow into the Ise Bay at the boundary between the north-eastern part of Mie Prefecture and the western part of Aichi Prefecture. This report deals with the infection rate with *P. ohirai* metacercariae of the brackish water crabs in the study area.

1 Department of Medical Zoology, School of Hygiene, Fujita-Gakuen Health University, Toyoake, Aichi Prefecture, 470-11 Japan.

2 Department of Medical Zoology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Yahata-nishi-ku, Kitakyushu, 807 Japan.

SURVEY AREAS AND METHODS

The survey was made during the period from October 1982 to September 1985 in the estuary areas of six rivers, the Ibi, Nagara, Kiso, Nikkou, Shin and the Shounai (Figure 1). Brackish water crabs from these areas were examined for *P. ohirai* metacercariae.

The Ibi, Nagara and Kiso rivers flow into the Isè Bay in the border area between Mie and Aichi Prefectures, after forming dry riverbeds of various sizes. The first two are about 500 m and the third about 750 m wide, at their estuary. Long breakwaters are constructed on the right side of the Ibi river, on the left side of the Nagara and on both sides of the Kiso river. There are many dry riverbeds of various sizes along their waterways, which are covered with reed communities (*Phragmites communis*) and flooded partially or entirely at high tide.

The Nikkou river, about 700 m wide, flows into the Ise Bay about 8 km east of the Kiso. The Shin and the Shounai between 100–200 m wide, are close to the Nikkou. Sandbanks with reed vegetation develop between the waterway and the long breakwaters on both sides of the Nikkou, on the right side of the Shin and the left side of the Shounai. Between the Kiso and the Shounai are wide stretches of reclaimed land which are utilized for farming, industrial areas and

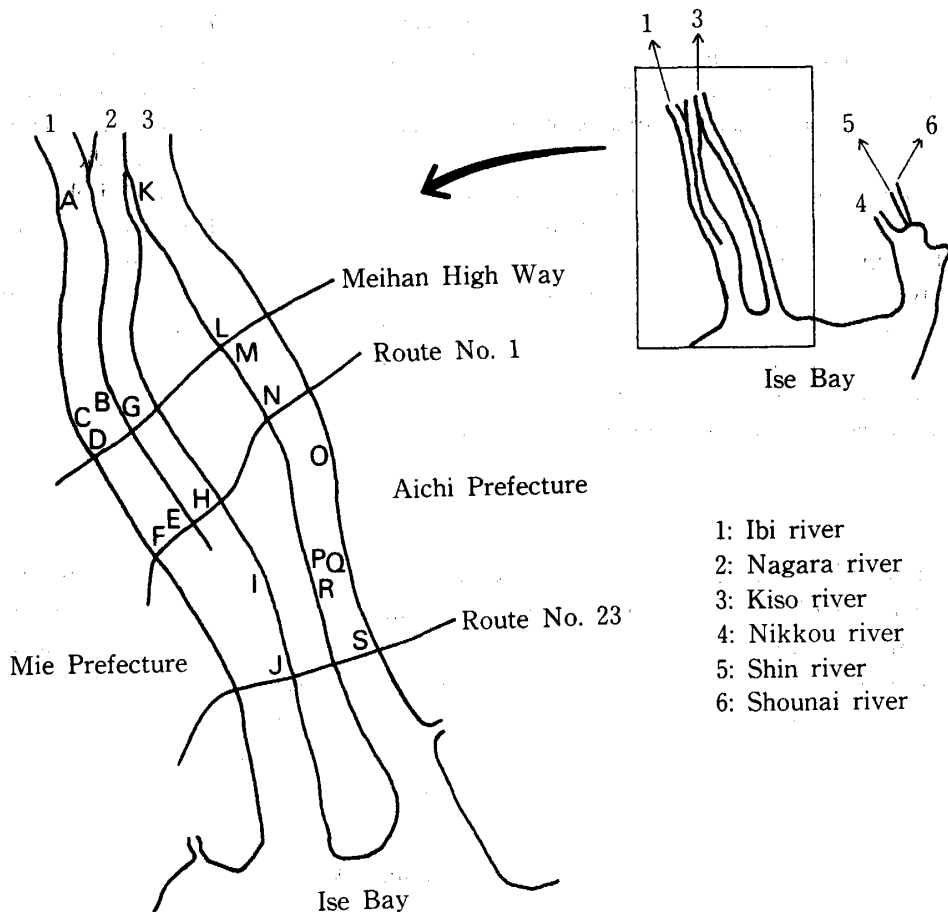


Figure 1 Sketch map showing the six rivers where the surveys were carried out. A-S: Collection sites on the Ibi, Nagara and Kiso rivers.

seaports. In September 1959, the survey areas were hit by a big typhoon and flooded.

After measuring the maximum carapace width of the collected crabs, their livers and gills were removed and separately compressed between two glass plates. The specimens were checked for metacercariae under a stereo-microscope. The metacercariae detected were identified as those of *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 based on their morphological characteristics. In some cases this was corroborated by checking the morphology of adult worms obtained from experimentally infected animals (Figure 2). Although Iwata and Nagayoshi (1985) are of the opinion that *P. ohirai* is not an independent species, the authors here adopt the current theory that *P. ohirai* is an independent species within the genus *Paragonimus*.

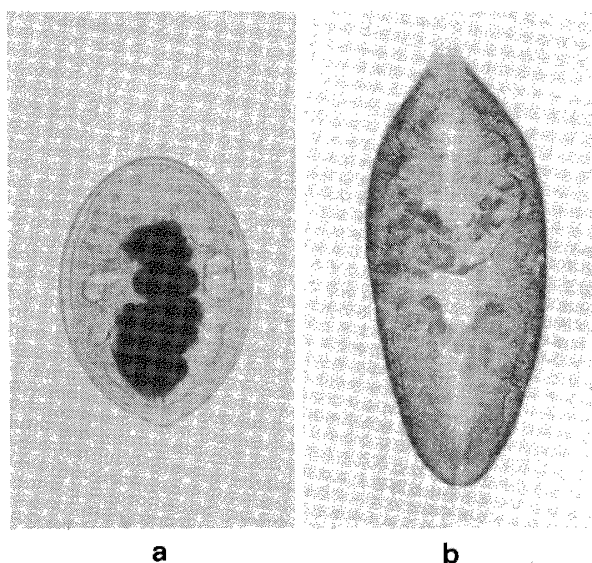


Figure 2 a: Metacercaria of *P. ohirai* obtained from *Sesarma dehaani* collected from Kiso river.
 b: Adult worm of *P. ohirai* recovered from experimentally infected rat (59 days after infection, balsam-mounted specimen).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Infection rate of crabs with *P. ohirai*: In our preliminary experiments for elucidating the relative abundance of metacercariae in different organs of crabs, the infection rates for liver, gills, muscles and reproductive organs were 90, 10, 5 and 0 per cent, respectively, in 20 specimens of *Sesarma dehaani* collected from the Kiso river. According to Yoshida *et al.* (1959), the rates for 29 specimens of *S. dehaani* from the Yura river, Kyoto Prefecture, were 93.0, 17.2, 20.7 and 6.9 per cent, respectively. Only one crab was observed to have negative liver and positive reproductive organs, while another had a negative liver but positive muscles and gills. Based on the present results and the previous report, the examination for metacercariae was carried out on the whole liver and gills which could easily be removed for this survey.

Four species of brackish water crabs were collected; *Sesarma dehaani*, *S. intermedia*, *Helice tridens* and *Chasmagnathus convexus*, in order of abundance. The majority of the crabs collected were *S. dehaani* and *S. intermedia*, in which *P. ohirai* metacercariae were detected as shown in Table 1. A total of 985 crabs was examined and metacercariae were recovered from 454. The

Table 1 Infection rate of crabs (*Sesarma dehaani* and *Sesarma intermedia*) with *Paragonimus ohirai* metacercaria (mc) collected from five rivers in the Tokai district

Locality	Site*	Date of survey	<i>Sesarma dehaani</i>			<i>Sesarma intermedia</i>		
			No. examined	No. infected (%)	Average No. of mc per positive crab (range)	No. examined	No. infected (%)	Average No. of mc per positive crab (range)
Ibi river	A	May 16 1984 Jul. 10 1984 Aug. 30 1984	16	0		108	1 (0.9)	1.0 (1)
	B	Oct. 17 1982 Nov. 14 1982 Feb. 20 1984	42	38 (90.5)	7.8 (1-39)	6	5 (83.3)	5.0 (1-19)
	C	May 16 1984	3	3 (100)	19.7 (14-23)	14	11 (78.6)	6.6 (1-22)
	D	Apr. 17 1984	17	15 (88.2)	31.2 (4-167)	1	1 (100)	10.0 (10)
	E	Jul. 10 1984	20	18 (90.0)	28.2 (1-95)	9	8 (88.9)	12.4 (1-30)
	F	Apr. 17 1984	55	31 (56.4)	13.4 (1-156)	2	2 (100)	5.0 (2-8)
Nagara river	G	Jul. 10 1983	12	5 (41.7)	28.4 (1-81)	1	1 (100)	5.0 (5)
	H	Jul. 10 1984	24	17 (70.8)	12.2 (1-27)	7	4 (57.1)	9.5 (5-14)
	I	Sep. 22 1983	7	1 (14.3)	20.0 (20)			
	J	Oct. 13 1982	10	0				
Kiso river	K	Jul. 23 1985	37	1 (2.7)	1.0 (1)	19	1 (5.3)	1.0 (1)
	L	Jul. 23 1985	54	18 (33.3)	1.7 (1-4)	11	1 (9.1)	1.0 (1)
	M	Nov. 14 1982	24	21 (87.5)	11.3 (1-44)	13	10 (76.9)	7.6 (1-17)
	N	Nov. 7 1983 May 5 1985	54	34 (63.0)	9.6 (1-57)	6	4 (66.7)	21.3 (7-46)
	O	Sep. 4 1985	19	11 (57.9)	6.7 (1-23)	25	11 (44.0)	6.9 (1-24)
	P	Oct. 17 1982 -Jul. 23 1985	179	124 (69.3)	23.1 (1-255)	35	30 (85.7)	30.2 (1-114)
	Q	Oct. 18 1983 -Sep. 4 1985	39	13 (33.3)	2.6 (1-12)	17	5 (29.4)	1.8 (1-4)
	R	Feb. 2 1983	10	8 (80.0)	96.0 (20-219)	1	0	
S	Sep. 4 1985	59	0					
Shin river	T	Aug. 10 1983	18	0		4	1 (25.0)	1.0 (1)
Nikkou river	U	Sep. 6 1983	7	0				

* Collection sites A-S are indicated in the sketch map in Figure 1.

infection rate for *S. dehaani* and *S. intermedia* was 50.7 and 34.4 per cent, respectively (overall infection rate=46.1%). The infection rate for liver and gills was 50.1 and 4.5 per cent in *S. dehaani* and 33.7 and 3.9 per cent in *S. intermedia*, respectively. A total of 7,866 metacercariae was recovered from the two species of crabs (average number of metacercariae per positive crab =17.3), of which 7,752 were obtained from the liver (98.6%). The number of crabs with positive gills and negative liver for *P. ohirai* was four in *S. dehaani* and two in *S. intermedia*.

The relation between metacercaria infection and crab size was analyzed for *S. dehaani* at Site P of the Kiso river, where many crabs were collected. The infection rate increased with the size of the crabs; 0 per cent in crabs of less than 9 mm carapace width, 62.9 per cent in those of 10–19 mm, 78.1 per cent in those of 20–29 mm and 100 per cent in those of over 30 mm. The corresponding values for the average number of metacercariae per positive crab were 0, 20.1, 29.5 and 31.3. A similar relation was observed in *S. dehaani* from the Maruyama river by Miyamoto (1961); 2.0–14.5 per cent in the group of less than 10 mm carapace width, 46.2–60.4 per cent in the 11–20 mm, 75.7–84.1 per cent in the 21–30 mm and 87.5–87.9 per cent in the 31–40 mm group, respectively. The average number of metacercariae per positive crab increased with the size of the crabs. This indicates that larger crabs with a longer life span and more chance of being infected, have a higher infection rate and heavier worm burden.

2. Distribution of the infected crabs in the survey areas: As shown in Table 1, *S. dehaani* and *S. intermedia* with *P. ohirai* metacercariae were collected from 17 (A-I and K-R) of the 19 study sites of the three rivers, Ibi, Nagara and Kiso, and one site on the Shin river.

Along the Ibi, a high infection rate was observed at Sites B-F on both sides of the river (56.4–100%), and the maximum number of metacercariae per crab was 167 in *S. dehaani* at Site D. The average number of metacercariae per positive crab was 7.8–31.2 for *S. dehaani* and 5.0–12.4 for *S. intermedia*, respectively. The infection rate was lowest at Site A, about 2.5 km up from Site B, where only one metacercaria was detected among 16 *S. dehaani* and 108 *S. intermedia* (infection rate: 0% for *S. dehaani* and 0.9% for *S. intermedia*).

Along the Nagara, a high infection rate was observed at Sites G and H (41.7–100%). The average number of metacercariae per positive crab was 12.2–28.4 in *S. dehaani* and 5.0–9.5 in *S. intermedia*, respectively. A low infection rate was observed at Site I (about 1.5 km down from Site H), where the rate was 14.3 per cent for *S. dehaani*, while no *S. intermedia* was collected. Metacercariae were not found at Site J, about 4 km from the estuary.

Along the Kiso, a high infection rate was observed at Sites M-P and R; 57.9–87.5 per cent for *S. dehaani* and 44.0–85.7 per cent for *S. intermedia*. The maximum number of metacercariae was 255 at Site P, and the average number of metacercariae per positive crab was 6.7–96.0 in *S. dehaani* and 6.9–30.2 in *S. intermedia*, respectively. The infection rate was not so high at Sites L and Q; 33.3 per cent for *S. dehaani* and 9.1–29.4 per cent for *S. intermedia*. The minimum infection rate was 2.7 per cent for *S. dehaani* and 5.3 per cent for *S. intermedia* at Site K (about 5 km up from Site L). There were no metacercariae at Site S, which is about 4 km from the estuary.

Some of the areas in the present study had already been surveyed 27 years ago for *P. ohirai* infection in crabs by Yoshida *et al.* (1958). During this quarter-century the estuary area has been greatly altered by various factors, such as flooding caused by a typhoon (1959), expansion of harbour facilities following land reclamation, development of industrial and farming areas, and construction of breakwaters along the rivers. One area of the Nagara river where crabs with *P. ohirai* metacercariae were collected 27 years ago is close to Site J of the present survey.

The infection rates in 1958 were 11.1–25.9, 5.6 and 7.0–33.3 per cent for *S. dehaani*, *S. intermedia* and *C. convexus*, respectively. At present, the riverbed is markedly narrower than before and is submerged at high tide. The population density of the crabs was very low, and the few crabs collected were negative for metacercariae. However, the present study revealed that *S. dehaani* and *S. intermedia* with *P. ohirai* metacercariae are distributed in wide areas along the riverbeds 5.5 to 13.0 km from the estuaries of the Ibi, Nagara and Kiso rivers, and that the infection rate for *P. ohirai* was highest among crabs at a distance of 6–11 km from the estuaries. There are two endemic areas of *P. ohirai* near the present study area, the Shimoda area in Shizuoka Prefecture and the Maruyama river area in Hyogo Prefecture. The former is small, and the infection rate for crabs was 2.4 per cent (Sano *et al.*, 1981). In the Maruyama river area, a high percentage of *P. ohirai* metacercaria infection was observed on the wide riverbed along 0–2.5 km to 7.5–10 km from the estuary by Miyamoto (1961). But these endemic areas are narrower than those in the present study.

Along the Nikkou river, the eastern part of the present survey area, a limited number of crabs collected were negative for metacercariae of *P. ohirai*, although this area was positive in *S. dehaani* and *S. intermedia* in 1958. In the whole Shin and Shounai river area, a single *P. ohirai* metacercaria was detected in one specimen of *S. intermedia* from the Shin. This result reveals that *P. ohirai* is distributed in this river area for the first time, though the infection rate is low.

CONCLUSION

The examination of *Paragonimus ohirai* in crabs was carried out for three years from October 1982 in the rivers, Ibi, Nagara, Kiso, Nikkou, Shin and Shounai in the Tokai district of Japan. The majority of crabs collected were *Sesarma dehaani* and *S. intermedia*, in which *P. ohirai* metacercariae were detected. This study revealed that crabs with *P. ohirai* are distributed in wide stretches along the Ibi, Nagara and Kiso rivers, and that the infection rate was higher in crabs collected in areas 6–11 km distant from the estuary. Despite a limited number of surveys on the other three rivers, a new *P. ohirai*-infected area was found in a stretch of the Shin river for the first time in the present survey.

REFERENCES

- 1) Iwata, S. and Nagayoshi, K. (1985): The species name of *Paragonimus* in Japan, J. Kurume Med. Assoc., 48, 383–396 (in Japanese)
- 2) Miyamoto, M. (1961): Studies on *Paragonimus* and Paragonimiasis in the Northern District of Hyogo Prefecture. Part II. An ecological studies on *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 in its endemic area along the banks of the Maruyama River, J. Kyoto Pref. Med. Univ., 69, 1669–1684 (in Japanese)
- 3) Miyazaki, I. (1944): On the distribution of lung-fluks, *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 (I), Medicine and Biology, 6, 23–26 (in Japanese)
- 4) Sano, M., Ishii, A., Kino, H., de Guzman, T. S. and Kanematsu, K. (1981): Epidemiological studies on lung fluks in Shizuoka Prefecture. (3) Survey of *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 in Izu District, Jpn. J. Parasit., 30, 67–71 (in Japanese)
- 5) Yoshida, Y., Matsuo, K. and Nakanishi, Y. (1958): On the distribution of *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 in Mie and Aichi Prefectures, Medicine and Biology, 49, 1–4 (in Japanese)
- 6) Yoshida, Y., Okano, K. and Shimatani, T. (1959): Distribution of *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 in Kyoto Prefecture, Medicine and Biology, 51, 203–206 (in Japanese)

大平肺吸虫の生態学的研究

1. 東海地方の6河川産カニにおける 本種メタセルカリア検出成績

松尾喜久男¹・真喜屋 清²

1982年10月から1985年9月の3年間に、伊勢湾に注ぐ三重、愛知県下の揖斐川、長良川、木曾川、日光川、新川、庄内川の河口周辺に生息するカニを採集し、大平肺吸虫メタセルカリアの検出を行った。採集されたカニの大部分はクロベンケイ、ベンケイガニの2種で、他に少数のアシハラガニ、ハマガニが採集された。揖斐川、長良川、木曾川では河口から約5.5~13km間の17地点のクロベンケイ、ベンケイガニから本種メタセルカリアが検出された。地点別感染率はクロベンケイ2.7~100%、ベンケイガニ0.9~100%であった。特に河口から約6~11km間のカニに高い感染率(41.7~100%)が認められ、陽性カニ1個体当たりのメタセルカリア最大寄生数は、クロベンケイの255虫体であった。1958年のこの地域における調査では、調査範囲が小さく、長良川河口付近の2地点産のカニにメタセルカリア寄生を認めたに過ぎなかったが、今回の調査により、揖斐川、長良川、木曾川流域に広大な大平肺吸虫分布地のあることが初めて明らかになった。他の3河川においては調査地点が非常に少なかったが、新川では初めて本種の分布が認められた。なお、過去に分布を認めた日光川では陰性であった。

日本熱帯医学会九州支部第9回大会講演要旨

会 期: 昭和59年1月15日(火)
 会 場: 産業医科大学ラマツイーニホール
 会 長: 産業医科大学医動物学教室 塚本増久

特 別 講 演

- I Parasitic Infections: The Viewpoint from Northern Thailand
 Chirasak Khamboonruang
 (タイ国立チェンマイ大学・医・寄生虫)
- II 熱帯医学と産業医学
 大瀬 貴光 (日本熱帯医学会名誉会員)

野田 伸一 (鹿児島大・医・医動物)
 David K. Migwe, Gideon N. Ziro
 (Division of Vector Borne Diseases,
 Ministry of Health, Kenya)

- 6 フィジー国におけるフィラリア症対策とその現状
 木村 英作 (長崎大・熱帯医研・寄生虫)
 J. U. Mataika (フィジー国・厚生省)

一 般 演 題

- 1 ブユの室内コロニゼーションの試み
 高岡 宏行 (大分医大・医動物)
- 2 大分県南部におけるウェステルマン肺吸虫および宮崎肺吸虫の分布調査
 鈴木 浩司, 立川 洋一, 福島 直喜,
 松本 俊郎, 溝口 博本, 守口 篤
 (大分医大・学生)
 馬場 稔, 高岡 宏行
 (大分医大・医動物)
- 3 市販淡水産カニの肺吸虫寄生状況
 多胡 典郎, 岩永 資隆, 山口 剛司
 (福岡大・医・学生)
 波部 重久 (福岡大・医・寄生虫)
- 4 *Trypanosoma cruzi* の感染経過にともなう臓器親和性
 柳 哲雄, 福岡 利英, 神原 廣二
 (長崎大・熱帯医研・原虫)
- 5 Filtration method と Animal exposure method による Cercariometry の比較成績
 佐藤 克之
 (長崎大・熱帯医研・寄生虫)

- 7 糞線虫症の検討
 一内視鏡検査施行例について—
 山下 行博, 渋谷 正, 原田 隆二,
 尾辻 義人, 橋本 修治
 (鹿児島大・医・二内科)
- 8 Kaposi's sarcoma の3型
 板倉 英世, 鳥山 寛, 宇津田 含
 (長崎大・熱帯医研・病理)
- 9 フィリピン・イサベラ州・イラガン教区の地域保健活動と協力上の諸問題
 華表 宏有 (産業医大・公衆衛生,
 日本カトリック医師会)

ワークショップ

海外調査研究に必要な手続と各国の事情

- 1 フィリピン
 川島健治郎 (九州大・医療技術短大)
- 2 タイ
 塚本 増久 (産業医大・医動物)
- 3 マレーシア
 宮城 一郎 (琉球大・医・保健)
- 4 インドネシア

- | | | |
|--|---------------------------------|---------------------|
| 堀田 進
(神戸大・医・医学研究国際交流センター,
金沢医大・熱帯医研) | 7 ケニア
板倉 英世
(長崎大・熱帯医研・病理) | 寺師 慎一
(鹿児島大・南海研) |
| 5 中華人民共和国
石井 洋一
(九州大・医・寄生虫) | 8 中南米
多田 功
(熊本大・医・寄生虫病) | |
| 6 南太平洋諸国 | | |

特 別 講 演

I Parasitic Infections: The Viewpoint from Northern Thailand

Prof. Chirasak Khamboonruang

(タイ国立チェンマイ大学・医・寄生虫)

(抄録なし)

II 熱帯医学と産業医学

大瀬 貴光 (日本熱帯医学会名誉会員)

熱帯医学も産業医学も、生産単位である個人及びその集団の健康を阻害する因子を除去して安全な環境をつくり社会経済開発のため生産性を向上させようとする目標は同じであるが、我々が戦う対象が相異なる。現在迄産業医学は先進工業国を舞台として来たが、発展途上国に於ける我々の戦うべき相手が熱帯に多い各種の疾病であり、しかも人の集団の大部分が、農業・鉱業などの一次産業に従事している時期に在るというだけのことと思われる。

現在、アフリカなどの後進地域で住民の生産性を低下させ貧困の原因となっている熱帯病の主なものは：

マラリア (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*)

住血吸虫症 (*Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*)

アフリカ睡眠病 (*T. gambiense*, *T. rhodesiense*)

オンコセルカ症 (*Onchocerca volvulus*)

などが最も重要だと考えられる。フィラリア (*Wuchereria bancrofti*), Kala azar (*Leishmania donovani*) 及びハンセン氏病 (Leprosis) などが続く。

主要な疾病がどんな形で産業開発に影響を与えているかに就いて、時間のゆるす限り説明して見た。尚、今後、臨床医学者、寄生虫学者、貝学者、社会人類学者、経済学者、水利土木専門家、農業・牧畜・水産専門家たちの有機的協力体制樹立の必要を痛感する。これなくしては飢餓大陸は将来がない。現在鳴物入りで行われている食料その他の援助は短期救急処置に過ぎない。

一般講演

1 ブユの室内コロニゼーションの試み

高岡 宏行 (大分医大・医動物)

ブユの生態や疾病伝搬についての基礎的研究には、ブユの室内累代飼育が重要と思われる。しかし、蛹から羽化した成虫に交尾および吸血行動を起こさせることの困難さから、欧米産の2, 3のブユ種を除いて成功していない。演者は、本邦産ブユ種について累代飼育の可能性を検討するため、主に成虫の生態観察を行っているが、今回、*Simulium takahashii* が室内でも容易に交尾をする、いわゆる狭所交尾性をもっていることを見出した。そこで本種の室内における交尾・吸血・産卵について更に検討を行ったので報告する。

交尾: 羽化当日の雌雄成虫各1個体を小試験管(7.5×1cm)に入れ交尾の有無をみた結果、43組全てに交尾が観察された。解剖により、全ての雌の受精嚢に精子が確認された。また、精包も全ての雌に認められた。別の実験により、1個体の雄は2~4個体の雌を連続して受精せしめることも判った。**吸血:** 羽化当日、11~34個体の受精雌をポリエチレン袋に入れ、この中に人の手を入れて約30分間吸血の機会を与えたところ、合計89個体中13個体の雌(14.5%)が吸血した。未受精雌11個体のうち2個体(18.2%)にも吸血が認められた。ウサギの耳を用いた実験では16個体の受精雌のうち6個体(37.5%)が吸血した。**産卵:** 途中死亡した雌を除いて、水を3分の1程入れた試験管で毎日産卵の機会を与えた結果、2個体の未受精雌を除く全ての受精雌(11個体)が吸血後3~4日目に産卵した。産卵数は、人およびウサギを吸血したブユで、それぞれ平均158と195であった。産下された卵のうち8塊を水中で保ったところ、産卵後5~12日目に80.9~97.9% {1例(38.31%)を除く}の卵が孵化した。このように室内において困難とされた交尾・吸血・産卵が容易に観察されたことから、*S. takahashii* は累代飼育に好適なブユ種と思われる。

2 大分県南部におけるウェステルマン肺吸虫および宮崎肺吸虫の分布調査

鈴木 浩司, 立川 洋一, 福島 直喜,
松本 俊郎, 溝口 博本, 守口 篤
(大分医大・学生)

馬場 稔, 高岡 宏行

(大分医大・医動物)

大分県下におけるウェステルマン肺吸虫および宮崎肺吸虫の分布を明らかにする目的で1983年7-11月、県南の1市4郡の山間溪流28カ所において中間宿主のサワガニを採集しメタセルカリア(以下mcと略)の寄生状況を調べた。その結果、竹田市、三重町、清川村、本匠村の合計7カ所でmcが検出され、陽性率は4.8-50%であった。またカニ1匹当たりの寄生mc数は1-3と低かった。更に竹田市倉木、三重町奥畑、本匠村宇曾河内の3地点で再調査を行い、カニの筋肉も詳しく調べた。その結果、mcの感染率は倉木で50%から73.5%、奥畑で10.0%から21.6%、宇曾河内で8.8%から31.4%と前回より高くなった。次にmcを経口的に犬に感染させ、後日肺から成虫を回収した。得られた成虫を圧平し、カーミン染色を行い、形態観察を行った結果、倉木の標本はウェステルマン肺吸虫の有性生殖型、奥畑および宇曾河内の標本は宮崎肺吸虫と同定された。一部の標本について染色体観察を行ったところ全て2倍体であった(熊本大・平井氏による)。イヌの糞便に排出された虫卵の観察では、ウェステルマン肺吸虫が得られたイヌからの虫卵(長径 $75.7 \pm 6.83 \mu\text{m}$)が宮崎肺吸虫の回収されたイヌの糞便中の卵(奥畑 73.4 ± 7.05 , 宇曾河内 71.0 ± 4.53)より大きかった。一方、mcの長径について比較してみると、ウェステルマン肺吸虫と思われる倉木のmc(平均 $414.6 \pm 27.2 \mu\text{m}$)が、宮崎肺吸虫と思われる奥畑、宇曾河内のmc(それぞれ 452.6 ± 32.5 , 456.8 ± 30.3)より統計的に有意に小さかった。今回の調査により、ウェステルマ

ン肺吸虫の有性生殖型は県北の安心院だけでなく、県南にも広く分布していることが明らかになった。また宮崎肺吸虫も隣接して分布するという興味ある知見を得た。

3 市販淡水産カニの肺吸虫寄生状況

多胡 典郎, 岩永 資隆, 山口 剛司
(福岡大・医・学生)
波部 重久 (福岡大・医・寄生虫)

福岡市内の某鮮魚店で販売されているモクズガニおよびサワガニでの肺吸虫寄生状況を1984年9-11月にかけて調べた。モクズガニは島根県産13匹、福岡県柳川産64匹を調べ、いずれも1匹のものから2個および1個のメタセルカリアを得た。島根県産のものはイヌに感染させたが、虫は回収できなかった。しかし、メタセルカリアのカニ体内での寄生状況および形態から、いずれのものもウェステルマン肺吸虫(3n)と思われる。サワガニは長崎産のもの98匹中3匹に、柳川産のものでは57匹中12匹に肺吸虫メタセルカリアを認め、それぞれ6および26個を得た。これらをイヌに感染させ、80および105日後に回収した虫体を圧平染色標本として観察したところ、すべて宮崎肺吸虫であった。この様に市販カニに肺吸虫寄生がみられることは、食品衛生上注意を要する。また福岡市近郊の立花山、油山など5カ所から211匹のサワガニを集め検査したが、これらのものからは肺吸虫メタセルカリアを見い出せなかった。

4 *Trypanosoma cruzi* の感染経過にともなう臓器親和性

柳 哲雄, 福岡 利英, 神原 廣二
(長崎大・熱帯医研・原虫)

T. cruzi は生体に感染するとほとんどの臓器を侵襲するが、中でも筋組織、網内系組織、神経組織に親和性があるとされている。一方この原虫には reticulotropic strain と myotropic s. とがあり、私たちが用いている Tulahuen 株は前者に属している。そこで本株の原虫が in vivo でいかなる臓器に親和性があるか経時的に調べてみた。

マウス (ddY, 2-3カ月齢) に 5×10^4 trypo-

mastigotes を腹腔内接種し、接種後3, 5, 7, 10, 14, 18日に心、肝、脾、腎、腹壁と大腿部の筋、胃(食道と一部の小腸をともなったもの)ならびに腹壁の皮膚をテフロンホモゲナイザー(900-1,200 rpm で4-5回)で破碎したのち、Ficoll-Conray 液(比重 1.087)上に重層して遠沈(1,600 × g, 30 min)し、中間層に集中した原虫をスライドグラスに塗布した。それをギムザ染色し amastigotes を計数して組織内の感染濃度を求めた。感染濃度を求めるには他に病理組織学的に薄切片中から tissue stage を見出す方法もあるが、本法の方がはるかに簡便である。

その結果、網内系の脾や肝では接種7日後に原虫濃度が最大に達するのに対し、心と皮膚では14日後に、筋では18日後に最高濃度に達した。また脾、肝、心、皮膚では4-5日間の内に最高濃度に達して速やかに元に減少した。この増減の傾向は parasitemia のそれに一致していた。最大濃度に達したときの生重量当たりの臓器別密度は脾が最大で他は脾の1/10以下であった。なお本法では腎と胃の両者からは原虫を見い出せなかった。以上から組織内の amastigotes の増殖曲線を得ることはできたが reticulotropic strain である所以と臓器親和性を決める要因の1つである組織侵入性の比較については他の検討に待たねばならない。

5 Filtration method と Animal exposure method による Cercariometry の比較成績

佐藤 克之

(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

野田 伸一 (鹿児島大・医動物)

DAVID K. MIGWE, GIDEON N. ZIRO

(Division of Vector Borne Diseases,
Ministry of Health, Kenya)

住血吸虫症の流行地では、河川水が生活用水として日常利用されておりそれにより住民は住血吸虫の感染を受けている。従って本疾患の伝搬調査のためには、このような水が住血吸虫セルカリアによってどの程度汚染されているかを知ることが必要である。Cercariometry は、この汚染度測定のための方法であり、それは Filtration method と

Animal exposure method に大別される。

今回演者らは、ビルハルツ住血吸虫症の流行地であるケニア国クワレ地区において、両者を同時に行いその成績を比較した。調査地区で住民によく利用される Water contact site を2カ所選び、正午に Filtration method による Cercariometry でセルカリアの回収を試みた。また Animal exposure は、1カ所につき4匹のハムスターを用い正午から1時間行った。その結果 Filtration により水1ℓ中に27隻のセルカリアが検出された Water contact site では Animal exposure により4匹のハムスターに合計31個体の成虫の感染が見られた。またもう一方の Water contact site ではセルカリア及び成虫の回収はなかった。

フィールド調査で Cercariometry を実施する際には、簡便でありしかもくり返し行えるという利点からどうしても Filtration method が優先されるが、できれば今回のように Animal exposure method も併用して Filtration で得られたデータが実際にどの程度の感染を引き起こすかということをも明らかにしていく必要があると思われる。

6 フィジー国におけるフィラリア症対策とその現状

木村 英作

(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

J. U. MATAIKA (フィジー国・厚生省)

フィジー国のフィラリア症は、昼間亜定期出現性バンクロフト糸状虫で、主な媒介蚊は *Aedes polynesiensis* と *Ae. pseudoscutellaris* である。地域によっては *Ae. fijiensis* が重要な役割を果たすといわれ、また Rotuma 州では *Ae. rotumae* が媒介蚊とされている。フィジー国におけるフィラリア症対策には、ジエチルカルバマジン (DEC) による集団治療が採用され、1969年1月26日より全国を5つの地域に分けて、当初6年の計画で開始された。治療法は DEC 5mg/kg/week を6週、引き継ぎ毎月1回22カ月、総計140mg。治療効果は著明で、治療前10-20%もあった仔虫陽性率は1%以下にまで下降した。しかし、プロジェクトの成果が上りフィラリア症が減少するにつれ、ま

た長期にわたる治療のため、人々の関心はしだいに弱まった。特に首都スバヤとその周辺部では住民の協力が得難い場合があり、十分な治療は行われなかったと思われる。最近再びフィラリア症の増加が懸念されているが、1983-1984年、Rotuma 州及び Lau 州で 60mm 厚層塗抹法による血液検査が行われた。その結果、Rotuma 州では平均仔虫陽性率21.2%、仔虫密度41.4に達し、Lau 州でもそれぞれ7.9%、22.4であった。

7 糞線虫症の検討

—内視鏡検査施行例について—

山下 行博, 渋谷 正, 原田 隆二,
尾辻 義人, 橋本 修治

(鹿児島大・医・二内科)

糞線虫症は、熱帯、亜熱帯に広く分布する糞線虫 (*Strongyloides stercoralis*) の感染により発症する疾患で、わが国では、南九州・沖縄地方に多くみられる。臨床症状は、消化器症状、呼吸器症状が主であるが、自家感染を繰り返し重症化すると死亡する例もみられる。

今回、我々は糞線虫症の内視鏡施行例について検討を加えた。症例数は12例で、主訴としては、腹部膨満感、上腹部痛、下痢などがみられた。十二指腸内視鏡所見では、びらん、粘膜粗造化、白濁した顆粒状粘膜がみられ、重症になると出血、粘膜ヒダの消失、狭小化がみられた。胆膵疾患合併の有無を検査するため ERCP (内視鏡的逆行性胆膵管造影) を施行した5例には、乳頭炎による乳頭不全が原因と考えられる胆膵管の拡張をみた。内視鏡検査施行時に行った十二指腸液採取では、採取した8例全例に Rhabditis 型幼虫がみられ、また粘膜生検では8例中6例について、粘膜組織内に、虫体、虫卵を検出した。治療は現在、thiabendazole にて行い、良好な結果が得られている。

糞線虫症に、内視鏡検査を行う目的としては、1) 十二指腸粘膜の観察、2) 十二指腸液の採取、3) 十二指腸粘膜生検、4) ERCP により胆膵疾患合併の有無をみる事があげられる。十二指腸粘膜の特徴として、粘膜粗造化、白濁した顆粒状粘膜、

粘膜浮腫があり、重症化するに従い、びらん、出血の程度が強くなり、粘膜ヒダの消失、潰瘍、狭小化がみられる。糞線虫症では、糞便中に虫体を検出した場合、診断、重症度、治療効果判定のため内視鏡検査が重要であると思われた。

8 Kaposi's sarcoma の3型

板倉 英世, 鳥山 寛, 宇津田 含
(長崎大・熱帯医研・病理)

Kaposi's sarcoma は、1980年前後から米国を主とした男子同性愛者に急激に流行している後天性免疫不全症候群 (AIDS) に高率に併発することが報告され、にわかに注目されることになった。そして Kaposi's sarcoma はもともと地中海沿岸地方や赤道アフリカに風土病的に存在していたので、Kaposi's sarcoma を併発する AIDS の起源をもアフリカに求める風潮にある。しかし、AIDS の Kaposi's sarcoma とアフリカ風土病的な同腫瘍が全く同一のものであるか否か検討する必要がある。腫瘍疾患を検索するにはやはり病理組織学的方法が中心である。演者らは1974年以来、赤道東アフリカを中心にアフリカにおける Kaposi's sarcoma の病理学的調査研究を行っているが、最近 AIDS の組織材料を米国から入手し検索を続けている。その結果と、多くの文献を考察し、以下の如く Kaposi's sarcoma を3型に分類した。

1) アフリカ風土病型 Kaposi's sarcoma: これをさらに以下のように分ける。a) 成人型: 概して中高年男子が罹患しやすく、四肢の皮膚に原発することが多い。慢性の疾患であると思われる。ときには内臓原発で経過がやや急性である。b) 小児型: 乳幼児が罹患し、頸部リンパ節の腫脹が特徴的で、肉眼的に Burkitt's lymphoma に酷似しており地理的にもほぼ同じ地域に分布する。やや急性に経過するものと思われる。病理組織学的には成人型も小児型とともに線維肉腫に類似している。

2) 欧米古典型 Kaposi's sarcoma: 元来、地中海沿岸、南欧にあり、欧米ではイタリア人、ユダヤ人に多いとされている。基本的にはアフリカ風土病型の成人型と同じであると思われる。病理

組織像は線維肉腫類似である。

3) AIDS 型 Kaposi's sarcoma: AIDS に併発する。若年者に多い。病巣部位は四肢、軀幹の皮膚やリンパ節が多い。病理組織像は血管肉腫類似である。

9 フィリピン・イサベラ州・イラガン教区の地域保健活動と協力上の諸問題

華表 宏有 (産業医大・公衆衛生,
日本カトリック医師会)

ルソン島北部のイサベラ州 (面積 10,664 km², 1980年の人口約84万人, 37の地方自治体, 住民の85%がカトリック教徒) のイラガン教区 (州全体でひとつの教区を形成, M. Purugganan 司教) では、過去10年来教区の目標である全人的な人間開発を目指す諸計画のひとつとして、Community Based Primary Health Training and Service Program を策定し、現在 Preparatory phase を終わって、Training phase に入っているが、人的、財政的その他のことでいくつかの課題に直面している。

このイサベラ教区には1977年1月に聖母訪問会 (本部鎌倉市) から3人 (うち2人は看護婦) が派遣され、州都 Ilagan に近い Gamu (人口約17,000人) の中のひとつのバリオである Guibang (約60世帯, 500人, 1981年より電気が入った) に定住し、住民とともに生活するかたわら、教区の諸活動に側面から参加している。(現在は、常時4人)。

演者は1984年11月中旬、日本カトリック医師会の現地視察団 (一行6人) に加わり、2泊3日の行程でその現状をみるとともに、教区関係者とこれからの連帯のあり方について協議する機会をもった。

1) 1980年現在イサベラ州には公立7、私立6の医療機関があり、病床数はそれぞれ370、489である。このほか Rural Health Unit 39 などがある。公的な地域保健活動として、バリオのレベルで見ると Gamu の中心地にある Rural Health Unit から Guibang にある Health Center に助産婦が週2回派遣されてきているが、実質的な活動はほとんどなされていない。

2) 1978年に Guibang に聖母訪問会の修道女を主体として教区立のクリニックが開設され、現在その拡張計画がはかられている。

3) このような現状の中で、これからの協力(または連帯)上の諸問題として、両方の窓口の

あり方、診療におけるライセンスの問題、Basic Christian Community について、専門的見地からのフィールドワークについての位置づけなどを考察した。

ワークショップ

海外調査研究に必要な手続きと各国の事情

1 フィリピン

川島健治郎 (九州大・医療技術短大)

最近、わが国の研究者が諸外国、特に発展途上国において研究や技術指導を行う機会が多くなった。海外において、これらの仕事が成功するか否かは、いつに人と人との信頼関係にその基礎をおくものと考えられる。その関係が成立するために、少なくとも本部の研究者は、1) 高度な学問的知識技術 (academic knowledge), 2) 誠実な人格 (personality), 3) 語学力 (language ability) の正三角形的関係が成立する人が必須のものであると痛感する。1) と 3) が優れていても、誠実さを欠き、相手を理解できないような 2) が欠落した研究者ではうまくいかない。1) と 2) が満足されても 3) が極めて不十分であれば実務は果たせない。相手国の研究者との信頼関係が成立して、初めて手続きに入り得る。フィリピンにおける医学研究も 1982年4月1日からヘルシンキ宣言 (1975年) に基づく保健省の指針がもうけられ、保健省の許可なくしては研究を開始できなくなった。特に水処理、新しい殺虫剤の撒布試験のような生態系に影響を及ぼす可能性のあるもの、新しい予防薬や治療薬の開発試験のように人体に直接影響がある可能性のあるものは保健大臣の許可を必要とする。又、人を対象とした研究では科学的にも道義的にも妥当と判断されたもののみが許可される。更に人に対する補償は常に放棄されてはならないこと、個人の情報の秘密は常に守られなければならないことなども規定されている。研究終了後は、その

成績の総てを保健大臣あてに提出することになっている。すなわち、レベルの高い研究は総て奨励され、又援助されるが、計画書の提出、委員会での検討、保健大臣の承認、研究開始、成績の保健大臣あて報告の順をふむことになる。

2 タイ

塚本 増久 (産業医大・医動物)

タイ国での外国人による研究活動は全てタイ国学術会議 (National Research Council of Thailand, NRCT) を通し、法規に沿って許可され実施される。期間が90日以内の場合と90日を超える場合とでは条件や手続きがやや異なるので、計画の際は事前によく知っていて注意しないと予期しない事態が起こる可能性がある。全ての外国人研究者は少なくとも90日前までに申請書に2名からの推薦状を添えて提出し、許可を待たなければならない。書類受付けや許可の手紙は自宅に送付される。申請が許可されて入国したら7日以内に NRCT に出頭し、手数料として1名当たり200バーツ (約20,000円) を納入し、タイ語と英語でタイプされた身分証明書の交付を受けてから活動が開始される。この証明書はパスポート以上に重要で携行が義務づけられており、英語を解しない辺地の人々の中でのフィールドワークには極めて有効であった。滞在期間も終りになる頃 NRCT に再び出頭し、原則として報告書要旨を提出して帰国することになる (実際には日本へ帰ってから郵送してもよいと告げられることもあるが、送付が遅れると自宅へ督促状が来るので、なるべく出国前に提出

しておいたほうがよい)。また研究期間終了後3年以内に得られた結果を刊行して、NRCTに3部提出することが求められるが、申請すればもう1年延期は認められる。90日以上滞在する研究活動の場合は以上述べたこと以外にさらに種々の取り決めがあり、NRCTから許可が得られてからビザを申請し、タイ国政府機関との共同研究とすること、研究終了時持込んだ機材はタイ国側に寄贈すること、期間中半年毎に中間報告を提出すること、1件当たり4,000パーツの供託金を納めることなどが決められている。NRCTの資料によると申請件数は諸外国に比べて日本が抜群に多い。

3 マレーシア

宮城 一郎 (琉球大・医・保健)

演者は1981年より「東南アジアの蚊科に関する系統分類学的研究」をテーマにフィリピン、タイで野外調査を実施してきた。近い将来マレーシアでの本調査を計画中で、1984年7月27日から8月8日にかけて現地協力者との交渉を中心とした予備調査を行った。外国人がマレーシアで調査研究を行うに当たっての手続き、注意事項に関しては以下の通りである。

マレーシア大使館〔東京都渋谷区南平台20-17, Tel. 03 (463) 0241~5〕へ「Application to conduct research in Malaysia」を申出ると“Procedures for conducting research in Malaysia” (小冊子) と4枚つづりの Application form が送られて来る (人数分請求すること)。この記入された Application は大使館を経由して Socio-Economic Research Unit (SERU), Prime Minister's Department Jalan Dato onn Kuala Lumpur へ送られ審議され、許可が出される。このホームの提出に際し、注意すべきことは、調査予定日より6カ月前に提出すること、マレーシア側の共同研究者 (カウンターパート) と前もって十分打合せし、すべての点で同意が得られていることである。マレーシア側の共同研究者は別のホームを「SERU」から各人がとりよせ記入して直接「SERU」に送ることになっている。「SERU」では各委員が申出の Application につい

て審議するが、「マレーシアにとって如何にプラスになるか」が重要なポイントになるようである。従ってしっかりしたカウンターパートのサポートが必要である。次に Application に記入した以外の「調査事項」は絶対に行わないこと、つまり途中で research topic を変更しないこと。調査が終了し、帰国する際は必ず調査の概要を報告すること、また、後に学術雑誌に公表した際必ず別刷を1部「SERU」に送ることが義務づけられる。

最後にマレーシアは3つの民族 (マレー人、中国人、インド人) が共存する複合社会であることも充分念頭に置き、お互いの立場を尊重して調査することが重要と思われた。

4 インドネシア

堀田 進

(神戸大・医・医学研究国際交流センター、
金沢医大・熱帯医研)

インドネシアにおける学術調査に当たっては、まず LIPI と称される公的機関の審査を通らねばならない。このために所定の書類を英文で作成して提出する。その手続きについては駐日大使館または領事館にて、文化学術アタッシェの助言と指導を仰ぐこととなる。この原則は他国の場合と全く異なる。

次に重要なことは、学術カウンターパートの確定である。これには、大学 (医学部あるいは附属病院) または国立研究所 (医学・衛生学関係) が設備や人材の点で最適であることは論をまたない。ただ、大学は高等教育総局 (Directorate General for Higher Education, DGHE), 国立研究所は保健省 (Ministry of Health) の管轄下にあるため、調査研究の目的からいずれを選ぶかが問題となる。微生物学・ウイルス学を例にとれば、病原体分離や免疫反応のための血液等試料採取に当たって、DGHE 関係では大学病院に受診する患者のみに限定され、民衆一般に接触するためには保健省を通じて保健所 (Health Center) の指示を受けなければならない。

神戸大学は過去20年にわたってインドネシア研究者と共同研究を実施したが、これはほぼ3期に

分けられる。第1期（最初の5年間）は大学独自の努力で行い、第2期（約10年間）はJICA（旧称 OTCA）の援助を受け、第3期（最近の5年間）は日本学術振興会（JSPS）の援助を受けている。JSPS プロジェクトは、重点目標として学位（医学博士）の授与を挙げている。

いずれの場合にも共通することであろうが、交流の成否のカギは、学術的能力と人間的誠意と語学力の3点にあると痛感される。

5 中華人民共和国

石井 洋一 (九州大・医・寄生虫)

中国は日中国交正常化（中日邦交正常化）13年目を迎え友好条約も定着し、各領域での交流が盛んに実施されており、現代化された高度の民主と文明をもつ社会主義国家に向けて発展している。そして日中両国の友好協力は新たな深まりと広がりを示して前進している。

九州大学では国際交流の一環として中華人民共和国間においても交流促進が実施されている。1984年は中国首都医科大学（中国医学科学院関連大学）および江西医学院と九大医学部間に交流協定が締結された。それは両国民の友好協力促進の基礎の上にたって相互の自主的権利を尊重し、互惠平等の精神に基づいて医学教育、研究を進展させるため人物の交流、医学資料および出版物の交換などについて努力しようとしているものである。

演者は交流雑務のため1982年、1984年訪中したが、渡航手続上特記するものはない。ただ、外国人入境過境申請表を提出し査証を得るまでに14日間を必要とする。

中国国内の対外開放地区は1984年2月から148カ所（甲類地区30、乙類地区118）と制限が緩和されている。なお、甲類地区は外国人旅行証をとることもまた事前に通知しなくとも入れる地区で、乙類地区は旅行証を申請して入れる地区である。

6 南太平洋諸国

寺師 慎一 (鹿児島大・南海研)

文部省特定研究経費により、フィジー、ソロモン諸島、バブア・ニューギニア（PNG）での学術

調査を行った。

公的な必要書類「便宜供与」は大学→文部省学術国際局→外務省情報文化局→在外公館経由が正式の調査許可の中心となった。しかも同書類は充分なる事前連絡により、フィジーは University of the South Pacific (USP) と Institute of Marine Resources, ソロモンは USP 経由による USP ソロモン分校へ、PNG へは University of PNG と University of Technology の各大学（南海研は文・理総合調査）よりの公的機関への助力が必要であると同時に、共同研究体制も形作られた。

いずれの国でも政府の許可のほか、さらに州の承諾を必要とするソロモン、PNG があった。PNG は Institute of PNG Studies が調査許可の中心であるが、医学調査に限りさらに Medical Research Advisory Committee の許可証は不可欠である。

各国の調査許可、VISA の取得に関しては、在日公館の資料や次の文献を参照されたい。

- ○ —————
- 1) 海外学術調査に関する各国事情（米州・大洋州）—外務省文化局文化第二課，昭57
 - 2) 日本オセアニア学会 (News Letter No. 12-13) パプア・ニューギニア，ソロモン，フィジー
 - 3) オセアニア諸国の学術研究体制について
(海外学術調査総括班)
オーストラリア，ニューージーランド，パプア・ニューギニア，ソロモン諸島，フィジー，1981年
 - 4) 同上
ミクロネシア連邦，マーシャル共和国，ペラウ共和国，北マリアナ連邦，1982年
 - 5) A guide for foreign research workers seeking to research permits to enter Papua New Guinea, 在日 PNG 大使館

7 ケニア

板倉 英世

(長崎大・熱帯医研・病理)

赤道東アフリカに位置するケニア共和国はその豊かな自然と風土、情緒ある原住民、交通の便利

さ、政治・経済・社会情勢の安定性、観光の名所それにかつての少年雑誌に連載された「少年ケニア」など、数々の要因が相俟ってわが国では大変親しまれている国である。ケニアは歴史的にも西洋人に最も関心を持たれた地域である。これらの理由から、英国のほか欧州各国は熱帯医学の進展の一環として、医学研究所を設置したり、また米国も含めて各種の学術調査研究を行ってきた。わが国でも前述の理由や背景のもとに各専門領域の学術調査を行っており、それなりの成果を挙げている。

ケニアの首都ナイロビは、上述の如くわが国の研究者にとっても交通至便であることをはじめ、多くの好条件に恵まれているので、多くの研究者が散集し、日本学術振興会もナイロビ事務所を設けて研究者の便宜を計っている。ケニアにおける学術調査を行う手続きとして、まず大統領府から調査許可証を取得せねばならぬ。これは定められた申込用紙に記入し、学術調査計画書、研究者の現職や簡潔な紹介事項、写真、申請料などを揃えて申請する。ケニア側はこれを原則として学術審査委員会で審査してから許可を出す。許可には、許可される研究者一人ひとりに身分証明書のようなカードを発行し、研究者名、研究課題および許可番号を明記する。ケニア政府機構の変更に基づき、学術調査許可担当局が科学技術省に移ったこともあるが、何れにせよどの時点においても大統領府へ問い合わせるとよいと思われる。担当官が顔見知りであると一層都合がよい。

なお、ナイロビ大学やその他の研究機関、国立病院などケニア側の研究者との対等の共同研究に際しては、学術調査許可証を取らなくとも研究活動が出来ることもあるようである。最近、資料収集だけが目的の研究者を見かけることがあるが、いろいろな意味で研究者としてのモラルを守りたいものである。

8 中南米

多田 功 (熊本大・医・寄生虫病)

広大な中南米のうち、グアテマラ・ベネズエラ

について述べる。グアテマラではオンコセルカ症についての研究を遂行する上で、相手は厚生省(特に対外コーディネーター)であった。この国では特に手続きがルチンになっていない。従って外国の研究者は個人的にグアテマラの知人に連絡をとり、共同研究の形で実施していることが多い。医療協力としてのJICAプロジェクトの対象も厚生省(マラリア防圧局)であり、その活動はいわゆるRecord of Discussionという形でオーソライズされている。

ベネズエラではアマゾナス州における研究はアマゾナス州熱帯病研究防圧計画(PROICET)の枠の中でその規則に同意しなければならなかった(1982)。しかし、その研究センターであるCAICETが1985年より厚生省に配置転換されたので、今後の同地での研究については新しく出来る規則に則る予定で、その内容はまだ明らかでない。一方、これ以外の土地ではグアテマラと同様と考えられる。例えばモナガス州では厚生省の有力者であるC博士の全く個人的な研究者としての好意的なアレンジによって研究を完遂出来た。

ラテンアメリカの体質から考えて、友好的なかつ有力な知人とのコンビネーション形成がすべてに優先するようである。ラテンアメリカはもともと甚だしい法律・規則好きの国家である。しかし、このような友人とのよい関係がこれら規則に優先する。従ってこのことは、どんなよいお墨つきを事前にもらっていても、体制の変化に伴い全く無価値の紙片になる可能性をも指し示している。従って結論的に言えば、共同研究が原則となっている海外研究に求められるのはよい人間関係を作りうるパーソナリティ・語学力・責任ある態度および当方の研究実績とが前提となる。手続きなどは二次的な問題である。

JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

Vol. 13 No. 4

December, 1985

CONTENTS

Original article

- Toriyama, K., Uzuta, F. and Kamidigo, N. O.
Rhinosporidiosis in Western Kenya 269-277
- Kawabata, M., Asahi, H., Koyama, T., Yamada, K. and de Coronel, V. V.
Cultivation of *Trypanosoma cruzi* Using Human Diploid Cells 279-285
- Yamada, M., Takeuchi, S., Shiota, T., Matsumoto, Y., Yoshikawa, H.,
Okabayashi, K., Tegoshi, T., Yoshikawa, T. and Yoshida, Y.
Experimental Studies on the Chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii*
Pneumonia with Intermittent Administration of Trimethoprim-sulfamethoxazole
and Pyrimethamine-sulfamonomethoxine (in Japanese) 287-294
- Ohkura, T., Suzuki, N. and Hashiguchi, Y.
Occurrence of *Trichomonas tenax* in Pleural Effusion: A Case Report
and a Brief of Literatures 295-299
- Yano, K., Nakabayashi, T., Watanabe, T., Fujimoto, T. and Sakamoto, S.
A Case of *Plasmodium vivax* Malaria Induced by Blood Transfusion (in Japanese) 301-306
- Matsuo, K. and Makiya, K.
Ecological Studies on the Lung Fluke, *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939.
1. Infection Rate with *P. ohirai* Metacercariae of Blackish Water Crabs Collected
from the Six Rivers in the Tokai District, Central Japan 307-313

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

c/o Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University
12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan