家畜の Toxoplasma 症に関する研究

II. マウスにおける Toxoplasma の増殖について

越 智 勇 一

東京大学農学部獣医学科家畜細菌学教室

佐 藤 平 二

東京農工大学農学部獣医学科家畜細菌学教室

(昭和 35 年 2 月 11 日受付)

I. 緒 言

Toxoplasma (以下 T と略す) は多くの哺乳類、鳥類に感染能をもち、感染により動物は Parasitemia を伴う急性または慢性の T 症の発現を見る。特にマウス、兎、モルモット、ハムスター等の実験動物には強い病原性を示す^{5,6)}。

かかる T 症の発症機序を知る上に、T の体内への侵入に初まるその増殖の様相を明らかにすることは極めて重要であるが、多くは Parasitemia の発現をもって虫体検索の指標としており、Parasitemia 発現以前における T の体内臓器での定量的検索は試みられていないようである。著者らは T 症の発症機序の解明にあたり、その基礎的研究として、マウス体内での T の増殖様式を知るために以下の如き実験を試みた。

II. 実験方法

実験的に感染せしめた動物の体内での T の増殖を追求する際には、使用すべき T の株と実験動物の選択について特に留意されなければならないが^{5,8,18)}、基礎的な実験成績を得るために、最も反応が強く、かつ整一な成績を期待できるものとして、T は RH 株¹⁹⁾、動物はマウス (市販 dd 系) を用いた。RH 株は分離後マウス継代 1250 代以上を経たもの、マウスは体重 15~18 g のものを用いた。感染マウス臓器内虫体の通時的定量を行うため、先ず各種濃度の RH 株腹腔内接種によるマウスの致死日数直線を求めておき、次に定量されるべき感染マウス臓器の一定量を別のマウス腹腔に接種し、その致死日数から被検臓器の虫体数を推定する方法をとった。マウス感染のための虫体はすべて、マウス

腹腔に 1000 万の虫体を接種した 3.5 日目の腹水を一頭当たり 2 ml の滅菌生理食塩水で洗滌抽出した液を原液とし (通常 1ml に約 1000 万~5000 万の T を含む)、これを注射筒で数回吸引圧出を繰返したのち、1000 rpm 1 分間軽く遠心沈澱して粗塊を落し、上清を血球計算板を用いて計数し、0.2 ml に所要の数の T を含ましめるように希釈し、その希釈液を 0.2 ml 宛 5 匹のマウスに腹腔接種した。

次に、臓器中の T を定量すべきマウスを感染せしめるに当り、接種の適量を決定するために健康マウス各 3 匹づつに対して脳内、静脈内、および皮下の各ルートより T 100 万、10 万、1 万、5000、1000、500、100、50、10 を接種し、その致死日数およびマウスを 100% 死亡せしめる最小虫体数を求めた。また、感染マウスでは Parasitemia が惹起せられるが⁹⁾、これは臓器中の T の定量に不都合であるから、Parasitemia の発現の阻止または遅延せしめるために、ワクチンをもって免疫したマウスについても死亡日数および最小 100% 致死量を求めた。使用したワクチンは CUTCHIN⁴⁾、瀬長¹⁷⁾の報告を参考として作った。即ち RH 株の大量腹腔内感染マウス 3.5 日目の食塩水洗滌腹腔液にフォルマリンを 0.2% の割合に加え、氷室に 2 週間保存したもので、1 ml 中に虫体約 3000 万を含んでいる。免疫は本ワクチンを 0.2 ml 腹腔内に接種し、3 週間を経たものを免疫マウスとして使用した。

以上二つの予備実験の成績から、使用すべき虫体数を 5000 と決め、これを無処置健康マウスおよび免疫マウスに、脳内、尾静脈、背部皮下の 3 ルートより接種したが、脳内には 0.02 ml、尾静脈には 0.1 ml、背部皮下では 0.2 ml の接種量を用い、その各々の量に虫体 5000 を含ませた。接種後致死

Table 1. Survival Time of RH Strain Infected Mice

No. Parasites	Non-vaccinated Mice				Vaccinated Mice		
	IP	IC	IV	SC	IC	IV	SC
1000000	6.0*			7.0**			7.7**
100000	6.6	4.0**	6.0**	7.0	4.0**	7.0**	10.0
10000	7.6	4.7	6.8	7.8	5.0	8.0	11.3
5000	7.8	5.0	6.8	8.0	5.0	8.7	10 11 S
1000	8.8	5.5	7.0	9.3	6.0	10.0	11 11 S
500	9.4	6.0	8.0	11 11 S	6.5	11 11 S	11 11 S
100	9.6	6.7	8.0	11 S S	7.1	12 S S	11 S S
50	9.8	7.0	8.3	S S S	6.8	S S S	S S S
10	10 12 S S S	8 8 S	9 10 S	S S S	S S S	S S S	S S S

*: Days, average of five mice

**: Days, average of three mice

S: Survived

に到るまで 24 時間毎にそれぞれの群から 1 頭づつとり、その血液、腹水、脳、肺、肝、脾および腎の一定量を健康マウス腹腔に接種し、斃死日数から臓器内の虫体数を推定した。接種材料調製の詳細は以下のようにして行なった。

血液：4% クエン酸ソーダ液 0.1 ml を入れた注射筒で心穿刺により 0.1 ml の血液をとり、混合してその 0.1 ml を 0.9 ml 健康マウス 1 頭に腹腔内接種し、残り 0.1 ml を 0.9 ml の食塩水に加えて 10 倍希釈し、その 0.1 ml を健康マウス 1 頭の腹腔内に接種した。従って、最初のマウスは原血液の実量 0.05 ml、後者は 0.005 ml を接種されたことになる。

腹水：食塩水 1 ml をマウス腹腔に注入し、採取した洗滌抽出液を 0.2 ml、更に 10 倍希釈したものの 0.2 ml を各 1 頭づつのマウスに腹腔内接種した。

その他の臓器は食塩水で 2 回洗滌した後秤量し、10 倍、100 倍の食塩水乳剤をつくり、各々 0.2 ml づつを健康マウス 1 頭づつに腹腔内接種した。

III. 実験成績

1. RH 株腹腔内接種による斃死日数

Table 1, Chart 1 に示すような結果が得られ、接種虫体数と斃死日数について、虫体数を対数にとり、斃死日数を 5 頭の平均値で示すと 100 万から 50 に到る間は略々直線的に表わされる。この図から、腹腔内に接種されたマウスの斃死日数から接種虫体数を概算することができる。

2. 無処置および免疫マウスにおける各接種ルート別斃死日数と最小 100% 致死量

臓器内虫体の定量を行う際の接種適量を知る本実験の結果は Table 1, Chart 2 に明らかな如く、脳内、静脈内、皮下の順で斃死日数は短く、また最小 100% 致死量は無処置群脳内で 50、静脈内 50、皮下 1000 であり、免疫群脳内では無処置群と変わらず、静脈内では最小 100% 致死量は 1000 に増加し、また斃死日数もやや延長し、皮下接種でも略々同様の傾向が認められた。

以上の成績から、感染マウス体内での T の通時

Chart 1. Survival Curve of IP Infected Mice

Chart 2. Survival Curve with RH Strain Inoculation in Vaccinated and Non-vaccinated Mice

的定量には虫体 5000 を各ルートより接種したものについて行うことにした。

3. RH 株 5000 脳内接種時のマウス体内の T の分布

本実験の成績は Table 2 の如くで、無処置群、

免疫群共臓器内虫体の増殖の様相はほとんど同様であった。即ち、脳では接種後 24 時間から虫体が証明せられ、以後斃死迄着実に増加し、肺、肝、脾および腎では 2 日目に漸く検知せられる程度の虫体が認められ、いずれの臓器においても漸次虫の増殖が見られる。血液には 3 日目、腹水には 4 日目より虫体が認められ、5 日乃至 5.5 日目には全例斃死した。

4. RH 株 5000 静脈内接種時のマウス体内の T の分布

Table 3 に示す如く、脳内接種の場合とはかなり様相が異なり、特に免疫群での Parasitemia の発現時期の遅延および斃死日数の 2 日延長が認められた。無処置群にあっては肝への虫の発現が最も速かで、接種翌日から認められ、ついで 2 日目には少量の虫が脾、血液に現れ、3 日目には肺、腹水に認められるようになり、以後マウスが斃死する 7 日目迄漸次増殖する。之に対して免疫群では、肝、脾および肺における虫の発現は 2 日目より認められ、腎、血液、腹水への発現は 5 日目に漸く認められるようになる。いずれの臓器においても虫体の増殖度は無処置群に比較するとやや遅いが、斃死時迄には略々同様の虫体量を示す。

5. RH 株 5000 皮下接種時のマウス体内の T の分布

成績は Table 4 に示す通りで、無処置群では腹水中での T の増殖が注目せられる。即ち、接種翌日よりかなりの虫体が認められ、しかも着実に増殖しているが、他の臓器では脾に 2 日目、肝および腎に 3 日目、肺、血液には 4 日目に虫が認められ、以後斃死する 8 日目迄漸次増殖を続ける。免疫群では成績が一定せず、最初の実験 1 では 5 日目の肺に T が認められ、肝、脾、腎および腹水には 6 日目に認められた。しかし、8 日、9 日目の臓器を接種したマウスは全例生存し、10 日目のマウスでは腹水以外の材料に虫が見られた。これらの成績を臓器虫体量と時間的経過から見ると虫体の増殖は進行的であるとは思われなかった。皮下接種されたマウスのうち残り 2 頭は生存した。そこで同様の実験を繰り返して、接種後 5 日、6 日、8 日、9 日および 11 日目のマウスで得られた成績は Table 4 の実験 2 である。これによれば、マウス臓器内の虫体発現は実験 1 に比してやや早く、かつ増殖の姿は進行的で、接種 11 日目にマウスは斃死した。

Table 2. Distribution of Toxoplasma in Tissues of Mice Following IC Inoculation (RH Strain 5000)

Tissue \ Day		1	2	3	4	5
Non-vaccinated Mice	Brain	8/9*	6/7	5/6	5/5	6/5
	Lung	S	9/9	8/8	7/3	6/7
	Liver	S	7/9	7/7	6/6	5/9
	Spleen	S	9/10	8/8	6/7	5/6
	Kidney	S	9/S	9/S	7/8	7/8
	Blood §	S	S	10/13	8/S	7/7
	Perit. fluid §§	S	S	S	8/8	8/8
Vaccinated Mice	Brain	8/8	7/S	6/7	5/7	4/6
	Lung	S	9/S	8/10	8/9	7/7
	Liver	S	7/8	7/7	7/7	6/6
	Spleen	S	8/S	8/8	7/8	6/6
	Kidney	S	S	12/S	8/9	7/8
	Blood §	S	S	8/9	9/9	7/8
	Perit. fluid §§	S	S	S	S	8/9

*: Numerator denotes survival time of mice which inoculated with 0.2 ml of $\times 10$ emulsion; denominator denotes survival time of mice inoculated $\times 100$ emulsion. (ip)

—: Parasites were negative in the peritoneal fluid.

§: Exact quantities of inocula were 0.05 ml & 0.005 ml of original blood.

§§: Peritoneal washings with 1 ml saline and $\times 10$ dilutions were inoculated (0.2 ml ip).

S: survived

Table 3. Distribution of Toxoplasma in Tissues of Mice Following IV Inoculation (RH Strain 5000)

Tissue \ Day		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Non-vaccinated Mice	Brain	S	S	S	10/13	8/8	8/10	6/7		
	Lung	S	S	11/S	9/10	8/9	7/7	6/6		
	Liver	11/S	9/S	8/9	7/7	8/8	7/7	6/6		
	Spleen	S	11/11	8/9	7/7	7/8	6/7	6/7		
	Kidney	S	S/16	9/S	9/11	10/10	7/8	5/6		
	Blood	S	12/13	9/9	8/9	8/8	7/7	6/6		
	Perit. fluid	S	S	11/11	7/7	5/7	7/7	7/7		
Vaccinated Mice	Brain	S	S	S	S	9/S	6/7	7/7	6/8	6/6
	Lung	S	9/S	18/14	S	8/9	4/6	5/6	6/6	5/5
	Liver	S	9/9	9/S	8/9	7/7	5/6	5/6	5/6	4/4
	Spleen	S	11/S	9/S	8/9	7/7	5/6	5/5	5/6	4/5
	Kidney	S	S	18/S	S	8/11	7/7	6/7	5/6	5/6
	Blood	S	S	S	S	8/S	7/7	7/8	7/7	5/6
	Perit. fluid	S	S	18/S	S	9/9	7/7	7/7	7/7	5/6

Remarks same as Table 2

Table 4. Distribution of Toxoplasma in Tissues of Mice Following SC Inoculation (RH Strain 5000)

Tissue \ Day		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Non-vaccinated Mice	Brain	S	S	S	S	8/9	9/9	8/8	6/7			
	Lung	S	S	S	10/S	6/6	6/7	6/6	2/6			
	Liver	S	S	8/10	7/9	5/5	5/6	4/5	6/4			
	Spleen	S	9/8	8/8	7/7	5/6	6/6	5/5	3/2			
	Kidney	S	S	9/S	9/9	7/8	7/8	5/6	6/6			
	Blood	S	S	S/4	6/S	7/8	8/8	7/7	—			
	Perit. fluid	8/9	7/7	7/7	6/6	5/7	3/5	3/4	—			
Vaccinated Mice	Exp. 1†	Brain	S	S	S	S	S	S/9	S	S	8/9	—
		Lung	S	S	S	S	10/S	S	9/9	S	S	8/9
		Liver	S	7/S	S	S	S	8/8	8/8	S	S	7/9
		Spleen	S	S	S	S	S	8/S	7/8	S	S	8/9
		Kidney	S	S	S	S	S	8/S	9/S	S	S	9/9
		Blood	S	S	S	S	S	9/9	S	S	9/9	—
		Perit. fluid	S	S	S	S	S	7/7	S/7	S	S	S/13
	Exp. 2	Brain	—	—	—	—	S	S	—	7/11	7/9	—
		Lung	—	—	—	—	9/S	9/S	—	8/8	7/9	—
		Liver	—	—	—	—	8/9	8/8	—	7/7	7/8	—
		Spleen	—	—	—	—	7/9	8/8	—	7/7	7/9	—
		Kidney	—	—	—	—	S	10/S	—	7/7	7/9	—
		Blood	—	—	—	—	S	8/8	—	8/9	8/9	—
		Perit. fluid	—	—	—	—	S	S	—	S	8/9	—

Remarks same as Table 2 † Two challenged mice survived

IV. 考 察

マウス体内での T の増殖を時間を追って、定量的に明らかにする実験はその例に乏しく、親和性組織の有無および T の感染に伴う特徴的な Parasitemia に関する詳細な発生機序等については十分明らかにせられてはいないようである。Parasitemia に関しては CARINI²⁾, NICOLLE¹²⁾, LEVADITI¹⁰⁾, WOLFSON¹⁹⁾, JACOBS⁶⁾ らは鳥類の血中に T が出現することを報告しており、哺乳類では BLAND¹⁾ が兎から兎へ血液をもって感染せしめ、SABIN¹⁵⁾ は齧歯類、猿の血液をもってマウスに感染せしめ、PINKERTON¹³⁾ は人の T 症血液をモルモットに接種してこれを感染せしめた。又 CROSS³⁾ は血液接種による他への感染は虫を含む白血球、RES 系の細胞が血中に剥落した所謂汚染血液によることをのべている。JACOBS⁶⁾ はマウス、兎、鶏、鳩に対し、各種濃度の虫体を接種し、これによっておこ

る Parasitemia を調べ、マウスおよび兎の急性感染では、血中への T の出現は死の 3 日乃至 4 日前からかなり多数認められ、無症状感染の場合でも少数の T が流血中に見られることを明らかにし、特に鳩、鶏にあっては偶発的 Parasitemia が長期にわたり屢々認められることをのべている。また RUCHMAN¹⁴⁾ および JACOBS⁷⁾ はラットおよび鳩における血中虫体の消失は血中抗体の発現の時期と一致することをのべているが、かかる Parasitemia の発現およびそれ以前における T の増殖の様相を知ることは感染発症の機転を知るためにも、また治療上からも極めて必要なことと思われる。

マウス臓器中の T の定量のための基準として、T のマウス腹腔内接種量と斃死日数との関係を求めた実験成績から 100 万以下では Chart 1 の如き直線を示すことがわかったが、図の性質上マウスを 100% 斃死せしめる最小量即ち 50 の点までしか求めなかった。それ以下の虫体でもマウスは一部斃死

するものがあるが、図からは虫体数は算出不能である。また極く少数の T の有無を知るには接種マウスの盲継代により検知可能な場合もあるから、Table 2 以下の成績で臓器材料を接種せられて生残したマウスにおいても、原材料の T を厳密に否定することはできないが、比較的大量の虫体の場合にはある程度の量的比較は可能であると思われる。

無処置マウスと免疫マウスでの最小 100% 致死量および接種量と斃死日数との関係を調べた成績によれば、脳内接種群では両者の間にほとんど差は認め難く、静脈内接種、皮下接種のものにおいては免疫群の死期の延長と一部斃死からの防禦が認められた。T の免疫に関しては、LEVADITI¹¹⁾ は兎において、生虫による脳内、眼内（前眼房内、眼後室内）、皮内および静脈内接種に生存したものは全身性の免疫が成立するが、55°C 30 分処置の死虫体では免疫が成立しないことを報告し、WEINMAN¹⁸⁾ は弱毒株の生虫を脳以外のルートから接種して免疫したマウスは脳内 Challenge に対し強い免疫がみられたことを報告している。これに対して FRENKEL⁵⁾、JACOBS⁹⁾ はマウスで、瀬長¹⁷⁾ はモルモットでいずれも死期の延長、一部斃死の防禦程度の免疫しか成立しないことを報告している。本実験での免疫による効果を最小 100% 致死量の増大でみると、静脈内接種では 20 倍、皮下接種では 10 倍程度で、本実験に使用したワクチンの効果は強いものとはいえないが、マウスを用いて T の免疫実験を行う場合、十分な効果を期待することが可能かどうかについてはなお検討の余地があるものと思われる。

脳内接種による虫体の増殖をみると、脳内の虫体は接種翌日からマウスの斃死まで着実に増殖し、肺、肝、脾および腎には 2 日目から認められるようになり、検知可能な Parasitemia はこれに遅れて 3 日目から現れた。T の体内伝播については従来その詳細な報告が乏しく、ただ LEVADITI¹⁰⁾ は初生雛において脳内接種の際脊髄にも虫体が出現することをのべているのが注目される。Parasitemia 以前の臓器への虫の伝播を考えるにあたって、これらの点から次の如き小実験を試みた。即ちマウス脳内に RH 株 100 万を接種して、2 時間後および 4 時間後の心血について T の有無を検査したところ、2 時間後の心血を接種されたマウスは 6 日目に、4 時間後の心血を接種されたマウスは 5 日目にそれぞれ T により斃死した。この成績から、脳内接種によって T は

接種後速かに起る Parasitemia のために体内に伝播せられ、各臓器に吸着されて分裂増殖を開始するという様式があることは推測される。

静脈内接種による実験では、無処置群と免疫群での増殖像の差異がみられ、免疫群における血中および臓器への虫体発現は無処置群に比して遅れる。Parasitemia 出現以前の臓器中の T について考えると、静脈内接種による第一次的 Parasitemia の存在は当然考えられるので、この段階において T は全身に撒布せられ、各臓器に定着し、それから一斉に増殖を開始するものと思われる。肝、肺および脾において比較的速かに虫が認められるのは、最初の Parasitemia の際にこれらの臓器の虫体捕捉量がその他のものに比して多いためであろうと考えられる。そしてこれら臓器中での T の増殖が進み、遂には流血中に溢出し、斃死迄持続する所謂二次的 Parasitemia が現れるのであろう。Parasitemia の際の血中虫体数が臓器中のそれに比して少いことなどからもこの推測は裏付けられるものと思われる。免疫群において Parasitemia の出現が無処置群に比して 3 日遅れ、斃死期が 2 日延長することは、全身臓器中での T の増殖度が遅延したことによるものと考えられる。

皮下接種群にあっては、無処置群での腹水への T の出現が早いのに対して、免疫群では腹水への T の出現が遅延するのが顕著であった。免疫群での皮下接種が脳内接種、静脈内接種のものに比して免疫の影響が強く現れることの理由としては、T が臓器に到達する間、抗体の作用をうける過程が他の場合よりも長いためと考えられる。免疫群皮下接種では接種後 8 日目、9 日目のマウスは全臓器共 T 陰性であり、またその他のものでも時間の経過に伴う T の増殖度が弱く、皮下接種した残り 2 頭も生残したので、再度同様の実験を繰り返した。再実験は接種目、6 日目、8 日目、9 日目、11 日目のマウス臓器後 5 日について T の検索を行ったが、いずれのマウスにも虫体が認められ、かつ T の増殖も進行的であり 11 日目には全例斃死した。Table 1 の成績でも免疫群へ 5000 皮下接種した場合は 100% にはマウスを斃死せしめないが、この点が免疫による斃死防禦の一つの限界点近くにあるものとも考えられ、最初の実験における 8 日目、9 日目のマウスは本来生残るべきものがこの日に選ばれて実験に供され、T が陰性におわったものと考えられる。かかる条件

を斃死と生残との境界点と考えると、これは発症機転を解明する際の一つの手掛りになるものとして興味あることである。

V. 総 括

無処置健康マウスおよび免疫マウスに対して、脳内、静脈内および皮下の各ルートより T を感染せしめて、その各々の場合における体内臓器の T を通時的にマウスを用いて定量し以下の如き結論を得た。

1) 感染マウス臓器中の T は接種ルートの差異によって、その増殖の様相をやや異にし、脳内接種では脳、肝、肺、脾の順に、また静脈内接種では肝、肺、脾の順に、皮下接種では腹水、脾、肝に比較的速度かに T の出現を見た。

2) T はマウス各臓器において増殖可能であり、特に強い親和性を示す臓器は認められなかった。肝、脾、肺において虫体の検出が早く、また虫体量も多いが、これはかかる臓器が感染初期に体内に散布せられた接種虫体を保持する量が多いためと思われる。

3) 出現後斃死迄持続する Parasitemia はいずれの場合においても認められるが、血中の虫体量と臓器中の虫体量との量的関係および発現の時期等より推測して、先に臓器中で増殖した虫体が血中に流出して生ずる二次的な Parasitemia であると思われる。

4) フォルマリン不活化ワクチン接種を受けたマウスは T 感染に対して、皮下接種、静脈内接種による Challenge の際にはその影響が認められたが、脳内接種による Challenge では無処置マウスとほとんど差異は認められなかった。皮下および静脈内接種による Challenge では、腹水、血中への虫体発現を遅延せしめかつ死期の延長が認められた。しかしいずれの場合においても、マウスの斃死を強く防禦するような免疫効果は認め難かった。

本実験の概要は第 48 回日本獣医学会において報告した。

終りに本研究の一部は文部省科学研究費により行われた。ここに記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) BLAND, J. O. W.: *Brit. J. Exp. Path.*, **12**, 311 (1931).
- 2) CARINI, A.: *Bull. Soc. Path. Exot.*, **2**, 465 (1909).
- 3) CROSS, J. B. and L. ANIGSTEIN: *Amer. J. Trop. Med.*, **29**, 473 (1949).
- 4) CUTCHIN, E. C. and J. WARREN: *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, **5**, 197 (1956).
- 5) FRENKEL, J. K.: *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, **2**, 390 (1953).
- 6) JACOBS, L. and F. E. JONES: *J. Inf. Dis.*, **87**, 78 (1950).
- 7) JACOBS, L. and M. L. MELTON: *J. Parasitol.*, **38**, 12 (1952).
- 8) JACOBS, L.: *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, **2**, 365 (1953).
- 9) JACOBS, L. and M. L. MELTON: *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, **3**, 447 (1954).
- 10) LEVADITI, C. and R. SCHOEN: *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 1126 (1928).
- 11) LEVADITI, C., LEPINE, P. and R. SCHOEN: *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 1130 (1928).
- 12) NICOLLE, C. and M. CONOR: *Bull. Soc. Path. Exot.*, **6**, 160 (1913).
- 13) PINKERTON, H. and R. G. HENDERSON: *J. Amer. Med. Ass.*, **116**, 807 (1941).
- 14) RUCHMAN, I. and C. F. JOHN: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **76**, 793 (1951).
- 15) SABIN, A. B. and P. K. OLITZKY: *Science*, **85**, 336 (1937).
- 16) SABIN, A. B.: *J. Amer. Med. Ass.*, **116**, 801 (1941).
- 17) 瀬長: *日新医学*, **44**, 429 (1957).
- 18) WEINMAN, D.: *J. Inf. Dis.*, **73**, 85 (1943).
- 19) WOLFSON, F.: *Amer. J. Trop. Med.*, **21**, 653 (1941).

STUDIES ON TOXOPLASMOSIS IN DOMESTIC ANIMALS

II. MULTIPLICATION OF TOXOPLASMA IN MICE

Yuichi OCHI

*Department of Bacteriology, Division of Veterinary Science,
Faculty of Agriculture, University of Tokyo*

Heiji SATO

*Department of Bacteriology, Division of Veterinary Science,
Faculty of Agriculture,
Tokyo University of Agriculture and Technology*

(Received for Publication Feb. 11, 1960)

The present work is intended for the investigation of the distribution and multiplication of toxoplasma in the tissue of mice following inoculations via ic, iv, and sc routes in order to analyse the mechanisms of the development of toxoplasmosis.

The inoculation of the RH strain into mice was followed by the developmet of an acute toxoplasmosis. The characteristic parasitemia following infection with toxoplasmosis has been described by many other workers, but the details of its experiment with vaccinated mice.

Different results were obtained in the case of mice inoculated intravenously. The presence of parasites was shown in the 24th hour after subinoculation of the mice with liver materials. In the mice inoculated with the materials from the spleen and blood, the presence of parasites was shown two days after inoculation.

In the vaccinated mice, a delay in the occurrence of parasitemia and a delay of the death time, were recognized. The same tendency was found in the mice inoculated subcutaneously. The extention of the survival period and the delay of the occurrence of parasitemia in vaccinated mice were, however, greater than in those inoculated intravenously.

Toxoplasma likewise multiplied in all types of tissues. It seemes, therefore, that toxoplasma has no specific tissue affinity. The faster and higher degree of the development of toxoplasma in the liver, spleen and lung seems not to be due to any specific affinity but due to the harbouring of abundant parasites in those organs by initial parasitemia. By all of the routes of inoculation, parasitemia which resulted in the death of the mice, was developed.

From the results of the quantitative and periodical examination of the parasites, it is concluded that parasitemia was caused by the flow of parasites from the viscera into the blood stream.

The influence of vaccination with formaline-vaccine was investigated. Especially, the relationship between the route of challenge, and the protective effect, was studied. With the dosage of 5000, little protective effect was demonstrated when challenged intra-cerebrally. On the other hand, it was more effective in the case of the iv challenge, but the extension of the survival period was just two days. Although the effect of the vaccination seemed to be greater when challenged subcutaneously than by the other routes of challenge, the potency of this vaccine did not seem to be so high in mice, so far as was shown by these results.