

トリパノソーマの研究

—われわれの研究の綜説—

長崎大学風土病研究所病理部(主任: 登倉 登教授)

登 倉 登
と くら のはる

Studies on Trypanosomes. A collective summary of our works thereon. Noboru TOKURA. Pathological Department (Director: Prof. Dr. N. TOKURA), Research Institute of Endemics, Nagasaki University.

この総合論文に就いては、1962年11月4日(長崎)、風土病研究所創立20周年記念のために、第IV回日本熱帯医学会に於いて特別講演として口演発表した。

演者は、九州帝国大学医学部細菌学教室に於いて、日本医学界に病原原虫学及び熱帯医学を導入された小川政修教授に就いて細菌学並びに原虫学を修得したものであるが、恩師小川先生の最後の弟子の一人として、碌々為す所もなく、この席上で粗笨な講演をするに至ったことは、恩師の英霊に対して、また、会員諸氏に対して、甚以って慚愧に堪えない所である。今日は、われわれのトハパノソーマに関する業績を簡単にまとめて話すつもりであるが、まづ、この機会と榮譽を与えて下さった北村学長と会員諸氏に対して満腔の謝意を表する次第である。

1) *Trypanosoma gambiense* 及び *Trypanosoma lewisi* の核酸分布の細胞化学的観察。川満恵光。長崎医学会雑誌, 32(11): 1398~1403 & 105, 1957.

このことについては、従来、2~3の報告があるに過ぎないが、われわれは、*Trypanosoma gambiense* 並びに *lewisi* について、Feulgen 反応, pyronine-methylgreen 染色, Brachet 試験を用い、DNA (= desoxyribose nucleic acid) 及び RNA (= ribonucleic acid) の虫体細胞内に於ける分布の状況を検査した。

まづ、*gambiense* に於ける Feulgen 反応の所見を観察すると、虫体、波動膜、鞭毛は、後染色に用いた light-green のために淡緑色に染まり、Feulgen 陽性の DNA の赤紫色に染まる顆粒状の物質が虫体中央の核の位置に相当する所に見られる。

図の1から6までが *gambiense* の DNA の形を現わ

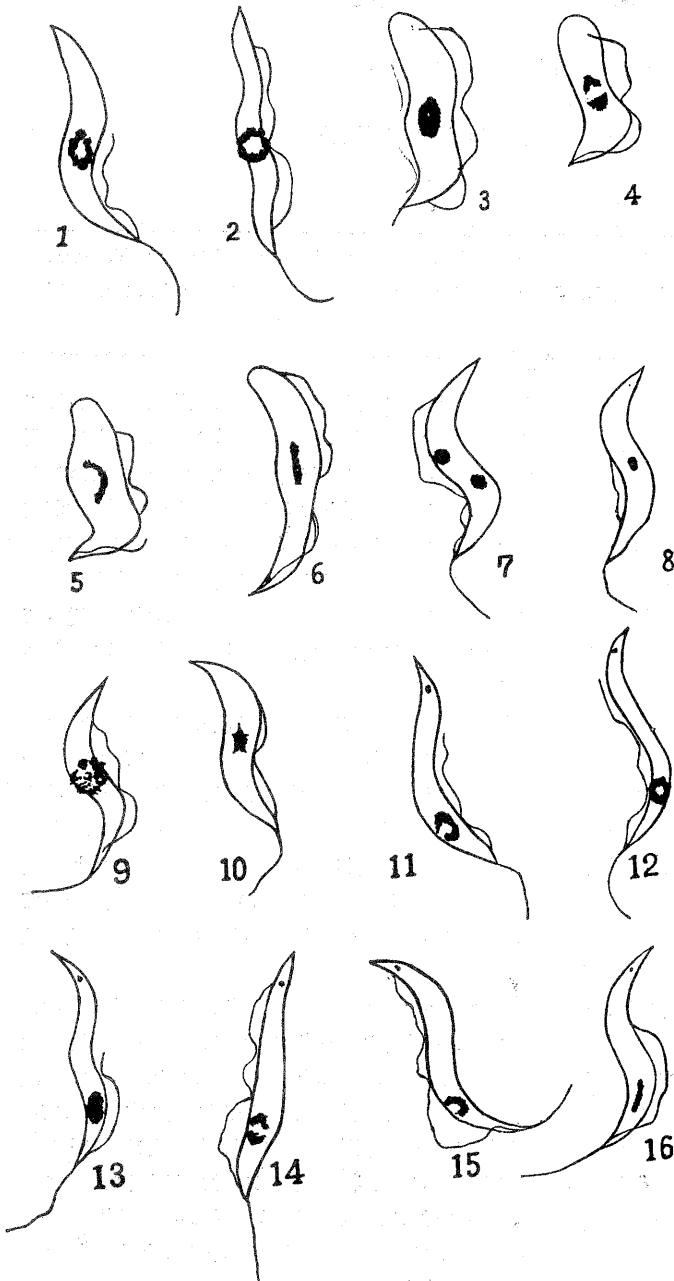
した像であるが、最頻繁に見られる形は、核周辺部に6乃至10個の顆粒が円形又は卵形の環状をなして並列する形であって、これが全虫体の90%を占めているので、それが正常の形と考えられる。また、顆粒群が核室に充満する像も見られるし、それが核室の両極に分かれ、あるいは弓状又は棒状を呈することもあるが、それらは接種マウスの斃死後時間の経過するに従って漸増する傾向があるので、退行した場合の形ではないかと思われる。

図の11から16までは *lewisi* の像であるが、核の位置が虫体の中央より前方に偏しているだけで、DNA の形は *gambiense* (前述)の場合と同じである。唯、特異の点として、運動核質(kinetoplast)の部分に1個の Feulgen 陽性顆粒が見られるが、それは Brachet 試験の5,000倍りボクレーゼの60°C/1時間の作用で消失しないので、やはり DNA に他ならないと考えられる。

Pyronine-methylgreen 染色の所見に於いては、DNA は核全体に淡緑色に染まり、Feulgen 反応のように顆粒状を呈することはない。これは DNA 物質が色素及び染色方法によって反応を異にするためであろう。RNAは、原形質全体を淡紅色に染めることによって認められるが、核周辺の染色性が強くて、核を遠ざかるに従って薄くなる。*Lewisi* の場合、kinetoplastの部分に DNA の顆粒が1個染まることは、Feulgen 反応の場合と同様である。

図の7から10までは *gambiense* 接種マウスの腹腔内と Mapharsemin 0.01mg を1回注射した場合の虫体の DNA の形である。EHRlich (Salvarsan 1909) 時代の化学療法は原虫性又はスピロヘーター性の疾患の治療を目標としたが、FLEMING (Penicillin 1928),

第 1 図



DOMAGK (Prontosil 1932)以後のそれは主として細菌性疾患に向けられて来たのであって、近頃作られた抗生物質の中、Achromycin が人及び動物のトリパノソーマ症に多少奏効すると言われているが、それとでも、われわれの実験の結果から見ると、その 1.0mg を感染マウスに注射しても全然無効であって、Trichomycin

(2256u/mg) 0.01mg の注射も同様に無効であった。しかるに、Mapharsemin 0.01mg を1回注射すると、5時間後には血液中の虫体は殆んど完全に消失し、すくなくとも数日以内に再発を見ることはない。消失前の虫体の核酸の所見を観察すると、図に示すように、二核に分裂したような形体が多数を占め、核自体が膨化して、DNAの顆粒が稀疎 (locker) の団塊を作つて淡染し、また核部分の顆粒の団塊が萎縮して濃染する形も見られる (Feulgen 反応)。RNA に特は記すべき変化は認められない (Pyronine-methylgreen 染色)。すなわち、砒素剤のトリパノソーマに対する作用は、RNAよりDNAに対する直接の影響と考えられる。

2) *Trypanosoma lewisi* による *Proteus OX₁₉* の抗元物質の吸着現象の観察。麻生卓郎。医学研究, 27(3): 483~500, 1957.

これは MIDDLEBROOK & DUBOS (1948) の赤血球凝集反応 (haemagglutination) の術式に於ける赤血球の代わりに *Trypanosoma lewisi* の虫体を用いたものであって、細菌性抗元物質としては *Proteus OX₁₉* の20%浮遊液の自家融解による菌体抽出液 (V液) を実験に供した。V液を三塩化醋酸法及びアルコール法によって蛋白劃分 (Eiweissfraktion) と含水劃分 (Kohlehydratfraktion) に分別した。湿菌量 150g から蛋白劃分 1.6g と含水炭素劃分 0.45g が得られた。その化学的性状を次

の表に示すと、両劃分とも, ninhydrin, Molisch, Bial が陽性であつて、むしろ, protein-polysaccharide complex と考えられるが E-F は phloroglucin 反応以下が陰性で、K-F は biuret 反応以下が陰性であるから、量的關係から考へて、蛋白劃分と含水炭素劃分に略々分けられていると思われる。まづ、V液、E

第3表 化学的性状

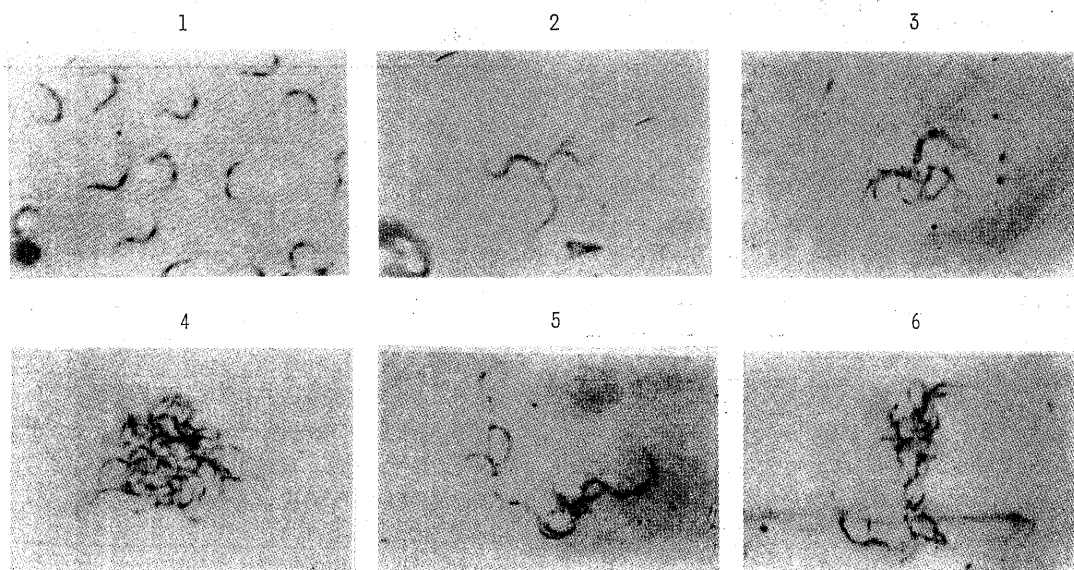
反 応	劃 分		
	V	E-F	K-F
ninhydrin	+	+	±
biuret	+	+	-
xanthoprotein	+	卅	-
Folin's phenol reagent	+	+	-
Neubauer-Rose	+	+	-
Sakaguchi	+	卅	-
diazo	+	卅	-
sulfosalicylic acid	+	卅	-
lead sulfide	-	-	-
Molisch	+	+	+
Bial	+	±	+
phloroglucin	+	-	+
diphenylamine	-	-	+
anthrone	-	-	+
Fehling	-	-	+
Nylander	-	-	+

劃分, K劃分の抗元性を検べたが, これは本題には直接の関係がないので, 要約して話すと, V液及びE液で免疫された家兎血清は, *Proteus OX₁₉* に対して1:1024乃至1:40%の凝集反応を示し, また, 相当広い沈降反応の場を展開したが, K液の免疫元性は完全に

零ではないけれども甚以って微弱であった。また, V液免疫家兎血清は Middlebrook & Dubos の赤血球凝集反応並びに溶血反応を著明に現わしたが, K劃分の抗元性は此処でも劣っていることを示した。発疹熱患者3例の血清は, V液を以て感作された赤血球に対して, 32倍乃至128倍の凝集価を示した。

本試験に於いては, *Proteus OX₁₉* の抗元物質を吸着させた *Trypanosoma lewisi* の凝塊反応(Agglomeration)で *Proteus* 免疫家兎血清によって発現することを観察したものであるが, 1視野(400倍)に30~50虫体の見られる原虫浮遊液にV液, 0.5% E液及びK液の0.4ccmを混和し, 雑菌混入を避けるためにペニシリン1,000単位とストレプトマイシン40mgとを加え, 25°C前後の室温に24~48時間放置した後, 遠心洗滌, 1視野(400倍)30~100虫体の浮遊液を作って, それをスライド・ガラスの上で免疫血清を1滴ずつ混ぜてカバー・ガラスで覆い, 2時間に亘って鏡検した。冬期は20~26°Cの恒温装置を用いた。凝塊反応(Agglomeration)のあらわれは, 写真に示すごとく, (卅), (卅), (+), (-)の記号を以て記録した。

第20表は, V液免疫家兎血清によるV液感作原虫の凝塊反応の時間的のあらわれであるが, 60分の(+)が120分で(-)になっているのは, 所謂凝塊解離

附 図 説 明 *Trypanosoma* の Agglomeration

1. 遊離原虫 (-)
2. 菊花状環列 (Rosettenbildung) (+)
3. 菊花状環列 (Rosettenbildung) (卅)
4. 毛毯状密合集団 (卅)
5. 樹枝状又は繩状型の軽度のもの (+)
6. 樹枝状又は繩状型 (卅)

第20表 V液免疫家兎血清によるV液感作原虫の Agglomeration (家兎No. 47)

時間	血清稀釈					
	1×	2	4	8	16	32
5分	卅	卅	+	-	+	-
10	卅	卅	卅	+	-	-
20	卅	卅	卅	卅	-	-
30	卅	卅	卅	卅	+	-
40	卅	卅	卅	卅	+	-
60	卅	卅	卅	卅	+	-
120	卅	卅	卅	+	-	-

備考 WFR (1280+)

(Desagglomeration) の現象である。20~60分で最高 1 : 8 ~ 1 : 16 の陽性反応を示している。しかし、正常家兎血清でも 1 : 4 までは陽性に出ることもあるので、毎回、無感作の原虫を対照に供する必要がある。表中、WFR とあるのは、Weil-Felix 反応の略符であって、*Proteus OX*₁₉ の凝集価を示す。

第21表は、*Proteus* 菌体免疫家兎血清によるV液感作原虫の凝塊反応であるが、無感作原虫を同一血清に混

第21表 *Proteus OX* 19 免疫家兎血清によるV液感作原虫の Agglomeration

家 兎	血清稀釈							
	WFR	1×	2	4	8	16	32	64
No. 20	320(+)	卅	卅	卅	±	-	-	-
対 照		卅	-	-	-	-	-	-
No. 22	1260(+)	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
対 照		卅	+	+	-	-	-	-
No. 23	1020(+)	卅	卅	卅	±	-	-	-
対 照		卅	-	-	-	-	-	-
No. 25	80(+)	卅	卅	卅	+	-	-	-
対 照		卅	+	-	-	-	-	-
No. 28	160(+)	卅	卅	+	-	-	-	-
対 照		-	-	-	-	-	-	-

じて対照に供してあるので、被検免疫血清によって免疫価に多少の高低はあるけれども、原虫体の抗原性が他種抗原物質の吸着によって相当著明に変化していることが窺われる。

第22表は、発疹患者2例の血清によるそれであるが、WFR も既に下がった血清であるために、著明な反応は得られていないけれども、無感作の対照に較べれば、抗原感作の効果は見られないことはない。

第22表 発疹熱患者血清によるV液感作原虫の Agglomeration

氏 名	血清稀釈						
	WFR	1×	2	4	8	16	32
E. K.	320(+)	卅	卅	卅	+	-	-
対 照		卅	卅	+	-	-	-
O. K.	160(+)	卅	卅	卅	-	-	-
対 照		卅	-	-	-	-	-

これはV液免疫家兎血清による両劃分感作原虫のそれであるが、抗原感作能に於いて、E劃分はK劃分に

第23表 K液及びE液感作及原虫の Agglomeration (家兎No. 47)

抗原	血清稀釈				
	1×	2	4	8	16
K	+	±	-	-	-
E	卅	卅	+	+	-
対 照	-	-	-	-	-

勝るけれども、E劃分とてもV液そのものを凌駕しないとは、他表に較べて明瞭である(第28表)。

このように *Proteus* 抗原物質(V液)を吸着させたトリパノソーマの虫体を充分に洗滌し、それで家兎を

第24表 V液感作原虫免疫の家兎血清のWFR

家 兎	血清稀釈週	血清稀釈							
		2×	4	8	16	32	64	128	256
No. 64	II	卅	+	+	+	-	-	-	-
	III	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
	IV	卅	卅	卅	±	-	-	-	-
No. 65	II	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	III	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-
	IV	卅	卅	卅	+	-	-	-	-

免疫すると、第24表に示すように、WFR が 1 : 64 ~ 1 : 128 の凝集価を示す血清が得られた。また、同様の血清の沈降反応は、E劃分に於いて最著明に見られた(血清稀釈×抗原稀釈 : 5×80,000, 10×40,000, 20×40,000, 40×10,000)。

なお、同様の血清について、V液、K液、E液をもって感作された赤血球による Middlebrook & Dubos の赤血球凝集反応並びに溶血反応を観察すると、次の表に示すように、V液及びE液の抗原感作能が強くて、K液のそれが基以って微弱であることが知られるが、

第28表 感作原虫免疫の家兎血清の赤血球凝集及及び溶血及応 (家兎No. 67)

及応	抗元	血清稀釈										
		2×	4	8	16	32	64	128	356	512	1024	
凝集反応	V	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	
	K	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	E	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	
溶血反応	V	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	
	K	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
	E	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	±	-	

備考 WFR (128+)

それは原虫と赤血球の抗元物質の吸着性の異なるためかも知れないし、また、われわれの抗元物質分割の方法又は手技にも関係するかも知れない。

要するに、トリパノソーマ虫体の抗元性は、他種抗元物質の吸着によって、それが世代を通じて遺伝し得る化成 (Transformation) であるか否かは別として、すくなくとも、一時的変態 (Modifikation) を生じ得ることは、或程度証明されたわけである。なお、凝塊反応の発現機序については、PROWAZEK (1905) 以来諸説に分かれているが、われわれは、KUCZYNSKI (1914/18) —BRESLAU (1928) —TOKURA (1935) と進展した免疫血清の刺戟による虫体粒滑物質 (Tektin) の異常分泌によるという説を採っている。

3) *Trypanosoma* に対する諸種疾患に於ける人血清の作用。蒲原誠。長崎大学風土病紀要, 1(4): 376~397, 1959.

次は——トリパノソーマに対する諸種疾患の人血清の凝塊反応 (Agglomeration) の作用を見たのであるが、*gambiense* 及び *lewisi* に対する凝塊価 (Agglomerintiter) に於いて、正常血清、諸種疾患の間に推計学的に有意の差が認められなかったため、今日の講演からは省略し、*gambiense* (マウス累代保存株) に対する人血清の感染予防試験について抄叙する。

実験の方法は、供試人血清 0.5ccm をマウスの腹腔内に注射し、以後毎日動物の死亡に至るまで流血中に出現する原虫を検べたのであるが、一度でも原虫の見られた動物は例外なく死亡するのであって、接種前日に人血清の注射を行なわなかったマウスは、接種後3~4日から流血中に虫体をあらわし、43例中平均6.07日 (5~7日) を以って全例 (100%) 斃死し、個体差の極めて少ないことが知られた。しかるに、接種感染前日に健康者血清 0.5ccm を腹腔内に注射されたマウスに於いては、34例中9例 (26.47%) が斃死した

だけであって、推計学的に有意の差 (危険率0.15%以下) を以って致命率の低下が見られ、また、生存日数 (死亡の場合) も平均10.11日 (8~12日) となって対照と較べて4.04日の延長を来たしたが、これは潜伏期の延長によるものである。

多少異常な状態にあると考えられる血清を以って同様の実験を行なったが、まづ、妊婦血清を用いると、第

第14表 *gambiense* 株の妊婦血清による感染防禦

マウス番号	経過日数														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++	D	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

14表に示すように、10例中1例 (10%) の致命率を示し、健康者血清との間に有意の差のない抗トリパノソーマ作用を示す (危険率9.15%)。孰方かと言えば、むしろ、それは妊娠という事実によって多少促進されているかも知れない。また、軽症肺結核患者の血清を用いると、第15表に示すように、8例中1例 (12.50%) の感染致死を示すだけであって感染防禦率に於いて健康者血清との間に有意の差がない (危険率34.58%)。

悪性腫瘍については、肝以外の癌患者の血清を用いると (第16表下段)、10例中4例 (40%) の致命率を示し、健康者血清との間に有意の差はない (危険率44.1%)。しかるに、肝癌患者の血清を用いると (第16表上段)、

第15表 *gambiense* 株の結核患者血清による感染防禦

マウス番号	経過 日数														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	D

8例中6例(75%)の致命率を示し、健康者血清の場合と較べて、危険率1.64%を以て防禦率の低下が認められる。

すなわち、マウス接種のトリパノソーマに対する感染防禦能は、肝障害によって失われるのであって、肝以外の癌腫によっては影響されないという結論がでることになる。

従来、マウス接種のトリパノソーマは、人血清によ

って感染を防禦されるが、黄疽を伴う場合は例外であるということが定説になっているが、果たしてそうであろうか。一われわれは、今度は、肝障害の場合だけをまとめてみたが(第17表)、上段8例の黄疽を伴う急性及び慢性の肝炎に於いては、1例の斃死もなく、健康者血清との間に有意の差がない(危険率44.33%)。中段5例の肝硬変について見ると、4例(80.00%)の感染致死があつて、健康者血清と較べて、危険率3.45%を以て抗トリパノソーマ作用の低下が認められる。下段8例の肝癌については前述のとおりである。

最後の一表は、実験成績のすべてを纏めたものであるが(第18表)、要するに、マウス接種トリパノソーマに対する人血清の感染防禦作用は、肝癌及び肝硬変によって著明に低下することは疑えないが、単純な肝炎の黄疽によっては何等の影響も受けないのであって、この点、従来定説は補遺または修正を受けねばならない。なお、人血清の抗トリパノソーマ作用については、凝塊反応因子と感染防止因子とは全然別個のものであつて、両者が量的に並行するとは限らないと思われる。

第16表 *gambiense* 株の癌患者血清による感染防禦

マウス番号	経過 日数														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
66	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
67	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

〔備考〕 上段8例は肝癌 下段10例はその他の癌

第17表 *gambiense* 株の肝疾患患者血清による感染防禦

マウス番号	経過日数														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D				
70	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D						
71	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D						
72	-	-	-	-	+	+++	+++	+++D							
73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D				
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	+	+++	+++D							
64	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D				
65	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D					
66	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D					
67	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++D						
68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

〔備考〕 上段 8 例は急性及び慢性肝炎 中段 5 例は肝硬変 下段 8 例は肝癌

第18表 *gambiense* 株の人血清による感染防禦（総括）

血 清	例数	平均 致死日数	死亡率 %	健康者血清との比較		
				危 険 率		有意差
対 照	43	6.07	100.00	P<0.0015	(YATES 修正法)	あり
健 康	34	10.11	26.47			
肺 結 核	8	10.00	12.50	P=0.3458	(FISCHER 法)	なし
妊 娠	10	11.00	10.00	P=0.0951	(FISCHER 法)	なし
癌(全 癌)	18	9.70	55.55	P=0.0392	(YATES 修正法)	あり
{ 肝 癌	8	10.00	75.00	P=0.0164	(FISCHER 法)	あり
{ (その他の癌	10	9.25	40.00	P=0.441	(YATES 修正法)	なし
肝 疾 患	21	9.70	47.61	P=0.1096	(X ² 検定)	なし

肝 炎 肝 硬 変 肝 癌	8	0.00	0.00	P=0.4433	(FISCHER 法)	なし
	5	9.25	80.00	P=0.345	(FISCHER 法)	あり
	8	10.00	75.00	P=0.0164	(FISCHER 法)	あり
人血清注射群	83	9.84	30.12			
人血清注射群 : 対 照				P<0.0015	(YATES 修正法)	あり
肝硬変 + 肝癌 : 健 康				P=0.001625	(YATES 修正法)	あり

〔備考〕 FISCHER 法=R. A. FISCHER の直接確率計算法

4) “トリパノトキシン”に就いて. 登倉 登. Ueber Trypanotoxin von *Trypanosoma gambiense und equiperdum*. Noboru TOKURA. 医学研究, 9(6): 1~14, 1935.

病原性トリパノソーマが一種の毒素 (Toxin) を産生するかという問題については, 1900年初期から若干の研究が行なわれ, 肯定的な報告が少々優勢であるが, 否定的な報告も幾等かはないわけではない。われわれは, GILDEMEISTER & WATANABE (1930) のデフテリア毒素微量定量法に倣い, *Trypanosoma gambiense* 並びに *equiperdum* の虫体を食塩を以って磨砕した抽出液を家兎角膜内に注射し, それをフルオレスツェインで染め, 潰瘍の発生を認め, それが能動性全身免疫及び能動性並びに受動性の局所免疫によって阻止されることを証明し, 特異的抗原性を持つ所謂トリパノトキシン (Trypanotoxin) の存在を報告した。このことは, J. T. CULBERTSON (1941) の著書=Immunitg against Animal Parasites (New York) に引用されているが, 大分古い報告なので, 簡単に略述する。

表中, (G-Trypanotoxin = *gambiense* トキシン, E-Trypanotoxin = *equiperdum* トキシン, T=定型的潰瘍形成, M=中等度潰瘍形成, G=軽微潰瘍形成,

N=全然潰瘍を形成しない, F=白斑を遺して治癒, H=痕跡なく治癒を意味する。37°C/2時間加湿した *gambiense* 及び *equiperdum* の両トキシンは, 10倍稀釈まで中等度又は軽微な潰瘍を作るが (表I), それを60°C/30分加熱すると, 80倍稀釈まで陽性に出る (表II)。これは虫体毒性物質の化学的分解過程が比較的高い温度によって促進された結果であろう。しかし, 80°C/30分加熱すると, 潰瘍形成作用は完全に消失する (表III)。

なお, このトリパノトキシンの作用は, 殆ど規苛性カリ及び塩酸の24時間の作用で破壊され, また, 紫外線照射1時間15分又は直射日光2時間30分の照射で完全に毒性を失ったが, 陰圧乾燥20日後でも毒性は保たれていた。

このトリパノトキシンの抗原性を検べたが *gambiense* 及び *equiperdum* のフォルモール・ワクチンを以って数回に亘って全身的並びに局所的に一角膜内注射一免疫すると, 次の表に示すように, *gambiense* 免疫家兎ではGトキシンに対する反応が軽減し, Eトキシンに対するそれは格別の阻止を受けず, また, *equiperdum* 免疫家兎に於いても同様な特異的関係が認められる (表X)。また, 受動的局所免疫試験として, 同種又は

Tabelle I: 29/VIII Intrakornealinjektion.

Zweistündige Erwärmung bei 37°C.	G-Trypanotoxin				E-Trypanotoxin			
	Kaninchen-11.		Kaninchen-15.		Kaninchen-16.		Kaninchen-17.	
	rechts (Orig)	links (1:10)	rechts (1:20)	links (1:40)	rechts (Orig)	links (1:10)	rechts (1:20)	links (1:40)
30/VIII	G	G	N	N	G	G	N	N
31/VIII	M	G	N	N	M	G	N	N
1/IX	M	G	N	N	M	G	N	N
2/IX	M	G	N	N	M	G	N	N
3/IX	M	G	N	N	M	G	N	N
4/IX	G	H	N	N	G	H	N	N
5/IX	H	H	N	N	F	H	N	N

Tabelle II : 5/IX Intrakornealinjektion.

½stündige Erhitzung auf 60°C.	G-Trypanotoxin				E-Trypanotoxin			
	Kaninchen-20.		Kaninchen-18.		Kaninchen-19.		Kaninchen-21.	
	rechts (1 : 20)	links (1 : 40)	rechts (1 : 80)	links (1 : 160)	rechts (1 : 20)	links (1 : 40)	rechts (1 : 80)	links (1 : 160)
6/IX	G	G	G	N	M	M	G	N
7/IX	M	M	G	N	T	M	M	N
8/IX	T	T	M	N	T	T	M	N
10/IX	T	M	G	N	T	T	M	N
12/IX	M	M	G	N	T	T	M	N
14/IX	G	G	F	N	M	M	G	N
22/IX	F	F	F	N	F	F	F	N

Tabell III : 8/IX Intrakornealinjektion.

½stündige Erhitzung auf 80°C.	G-Trypanotoxin				E-Trypanotoxin			
	Kaninchen-24.		Kaninchen-29.		Kaninchen-31.		Kaninchen-33.	
	rechts (1 : 10)	links (1 : 20)	rechts (1 : 40)	links (1 : 80)	rechts (1 : 10)	links (1 : 20)	rechts (1 : 40)	links (1 : 80)
9/IX	N	N	N	N	N	N	N	N
10/IX	N	N	N	N	N	N	N	N
11/IX	N	N	N	N	N	N	N	N
12/IX	N	N	N	N	N	N	N	N
13/IX	N	N	N	N	N	N	N	N
14/IX	N	N	N	N	N	N	N	N
15/IX	N	N	N	N	N	N	N	N

異種の免疫血清とトキシンを同量に混じて角膜内に注射すると、或程度免疫血清に該当するトキシンの作用が軽減することが認められる(表XI)。

Gトキシン及びEトキシンは、家兎角膜に潰瘍を形成するという毒性に於いては同一の物質に他ならない

筈であるが、それぞれ、該当免疫血清でなければ中和されないということは、潰瘍形成因子とともに結合して働く異種特異的抗原因子が虫体にあつて、それが同種免疫血清だけによって中和され、その結果、潰瘍形成能が阻止されるのであろう。

Tabelle X : 3/IX Intrakornealinjektion.

Aktive Immunität.	G-Immuntiere				E-Immuntiere			
	Kaninchen-7. (Gener. Immun.)		Kaninchen-2. (Lokal. Immun.)		Kaninchen-10. (Gener. Immun.)		Kaninchen-9. (Lokal. Immun.)	
	rechts G-Tox. (1 : 10)	links E-Tox. (1 : 10)	rechts G-Tox. (1 : 10)	links E-Tox. (1 : 10)	rechts G-Tox. (Orig)	links E-Tox. (Orig)	rechts G-Tox. (Orig)	links E-Tox. (Orig)
5/IX	G	T	G	T	T	G	T	G
7/IX	F	T	F	T	T	M	T	M
9/IX	F	T	F	T	T	G	T	M
11/IX	F	T	F	T	T	F	T	G
13/IX	F	T	F	T	T	F	T	F
15/IX	F	T	F	M	T	F	T	F
17/IX	F	M	F	G	M	F	M	F

Tabelle XI: 20/IX Intrakornealinjektion.

Passive Immunität.	Normalserum (Original)		G-Immunsrum (Original)		E-Immunsrum (Original)		E-Immunsrum (1:10)	
	Kaninchen-40.		Kaninchen-37.		Kaninchen-34.		Kaninchen-35.	
	rechts G-Tox. (1:5)	links E-Tox. (1:5)	rechts G-Tox. (1:5)	links E-Tox. (1:5)	rechts G-Tox. (1:5)	links E-Tox. (1:5)	rechts G-Tox. (1:5)	links E-Tox. (1:5)
21/IX	M	M	G	M	M	N	G	M
22/IX	T	T	F	T	T	N	M	G
23/IX	T	T	F	T	T	G	T	F
24/IX	T	T	F	T	T	G	T	F
25/IX	T	T	F	T	M	F	T	F
26/IX	T	T	F	M	M	F	T	F
27/IX	T	M	F	M	M	F	T	F

5) *Trypanosoma gambiense* の毒素産生に関する知見補遺. 川満恵光. 長崎医学会雑誌, 33 (11), 増刊号: 22~39 & 3~4, 1958.

しかるに, 一方に於いては, SCHERN (1925/28) 一派によって, トリパノソーマ感染動物の代謝障害及び死亡の原因は, 病原体の産生する毒素のためでなくて, 病原体の糖消費による奪糖中毒(glycoprival intoxication)

のためであるという説が樹てられている。われわれは, トリパノソーマ虫体内にも低血糖を起こす一種の毒素が含まれているのではないかと考えて, 一連の実験を試みたものであるが, まづ, 予備実験として, *gambiense* 接種ラツテの死亡するまでの血糖値の変動を Hagedorn-Jensen の法で日を逐うて測定した。

表 1 *gambiense* 接種ラツテの血糖値の消長

動物番号	血 糖 値 (mg/dl)					
	接 種 前	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日
1	91	(-) 95	(+) 87	(#) 37		
2	94	(-) 80	(+) 84	(#) 30		
3	96	(-) 91	(#) 95	(#) 25		
4	88	(-) 94	(+) 92	(#) 41		
5	104	(-) 110	(+) 97	(#) 77	(#) 43	
6	96	(-) 94	(+) 88	(#) 84	(#) 55	
7	98	(+) 80	(#) 40	(#) 21		
8	101	(+) 98	(#) 94	(#) 24		
9	121	(-) 118	(+) 61	(#) 48		
10	99	(-) 94	(+) 124	(+) 82	(#) 80	(#) 32
11	98	(-) 100	(+) 98	(#) 104	(#) 65	(#) 45
12	97	(-) 82	(+) 76	(#) 46		
13	97	(-) 103	(+) 98	(#) 78	(#) 48	
14	100	(-) 102	(+) 102	(#) 76	(#) 32	
15	91	(-) 87	(+) 103	(#) 55		
16	95	(-) 85	(+) 80	(#) 63	(#) 47	
17	100	(+) 82	(#) 73	(#) 35		
18	112	(-) 96	(+) 91	(#) 85	(#) 50	
平 均	99	94	88	57	53	39

接種前の正常ラツテの血糖値は100mg/dl前後であって、接種後は原虫の増殖(+, ++, #)に従って次第に低血糖に移行し、最高55mg/dl, 最低21mg/dlに至って動物の死を来し、それを接種前のそれと比較すると、それぞれ、60%及び21%となり、18例平均40%という血糖値の著明な低下である(表1)。Lewisラツテ16例の血糖値は、生理的動揺範囲であって、低血糖の発現は認められない。

本試験に於いては、10% gambiense 虫体浮遊液を60°C/30分加熱滅菌し、それに所謂トリパノトキシンが含まれていると仮定し、その1.0ccmを前以って10~15時間絶食させたラツテの腹腔内に注射し、以後5時間に亘って毎時間の血清値を測定したが、注射前のそれをmg/dlであらわし、注射後のそれを注射前のそれに対する百分率で示した(表5)。すると、最高83%、最低55%、16頭平均で68%までの低下が認められ、gambiense 虫体には一生きていなくても一低血糖作用を以って表現される一種のトキシンが含有されているという想定に達することができた。

このトリパノトキシンを含む管の原虫浮遊液の遠心上清の化学的性状は、表7に見られるように、蛋白質、多糖体の複合体若しくは混合物と考えられる。所謂ト

表7 Trypanotoxin 液の化学的性状

反	応	成	績
ninhydrin		+	
biuret		+	
xanthoprotein		+	
Sakaguchi		+	
diazo		-	
sulfosalicylic acid		+	
Molisch		±	
Bial		±	
Fehling		±	
Nylander		±	
pH		6.3	

リパノトキシンの低血糖作用は、60°C/30分、80°C/30分の加熱に耐えるが、100°C/30分の加熱によって略々完全に失なわれる。注射量を増加すると、2.0ccmでは5例平均67%となり、3.0ccmでは5例平均62%となり、血糖値の低下も促進されるが、概して、注射後3時間前後で最低値に達し、大体5時間後には正常値に恢復するのが常である。Lewis加熱死体浮遊液では低血清作用は全然見られない。

表5 加熱原虫死体浮遊液を注射した場合の血糖値の消長

動物番号	体重	調製後の時間	血糖値					
			前(mg/dl)	1(%)	2(%)	3(%)	4(%)	5(%)
46	150	24	84	95	76	60	57	63
47	160	"	100	99	89	99	66	59
48	150	"	89	110	92	88	88	83
49	145	"	93	112	108	88	70	87
50	150	48	99	105	96	76	55	69
51	130	"	96	104	109	99	76	71
52	135	"	109	96	100	105	81	72
53	150	"	95	107	105	101	86	81
54	170	72	86	85	90	95	90	76
55	160	"	95	100	91	92	76	73
56	130	"	120	97	97	77	82	74
57	150	"	104	88	78	75	61	72
58	140	240	100	105	94	62	76	75
59	140	"	132	91	90	72	61	72
60	150	"	89	100	71	79	81	83
61	150	"	120	83	79	75	68	75
平均			101	99	92	84	73	74

註: No. 47 及びNo. 50 は注射後6時間に死亡した。

なお、所謂トリパノトキシンの低血糖作用に対する免疫性を検べたが、19例の平均を一表にまとめてみると(表19)、第1回注射によって血糖値は76%まで低下したが、5~7日の間隔をおいて注射を重ねると、

2種の異なるトキシシンによるものか、孰方とも断定し難いが、細菌学的常識によれば、同一免疫血清で中和される1種のトキシシンの多面の作用と考えるのが妥当であろう。

表 19 Trypanotoxin の低血糖作用に対する免疫効果

注 射 時 間	血 糖 値					
	前 (mg/dl)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	5 (%)
第 1 回	106	93	92	84	76	79
第 2 回	109	92	89	86	82	83
第 3 回	104	94	90	88	88	88
第 4 回	97	113	114	106	100	98

低血糖作用は漸次に軽減され、第4回では殆んど無効になっている。

また、所謂トリパノトキシシン 0.5ccmを腹腔内に注射されたラットの肝糖原量を測定したが、1, 3, 5時間後には、それぞれ、5例を平均して、42.8%、26.5%、14.2%と著明な低下が見られた(表19)。

6) *Trypanosoma gambiense* の産生する毒素(Trypanotoxin)による低血糖と諸種ホルモンとの関係について。川満恵光。長崎医学会雑誌, 33(11), 増刊号, 115~123 & 121, 1958.

まづ、予備実験として、インシュリンのラツテに於ける低血糖を検べて参考供したが、0.1単位の場合

表 21 Trypanotoxin 注射マウスの肝糖原量の消長

正 常 時	肝糖原量 (mg/dl)	注 射 後 1 時間後	肝糖原量 (mg/dl)	注 射 後 3 時間後	肝糖原量 (mg/dl)	注 射 後 5 時間後	肝糖原量 (mg/dl)
No. 1	1631	No. 7	1750	No. 9	719	No. 12	226
No. 2	3036	6 No.	520	No. 10	647	No. 13	414
No. 3	2452	No. 8	836	No. 11	572	No. 14	393
No. 4	1592						
No. 5	3303						
平 均	2423	平 均	1036	平 均	643	平 均	344
百 分 率	100	百 分 率	42.8	百 分 率	26.5	百 分 率	14.2

以上、要約すると、*Trypanosoma gambiense* は低血糖作用を以て表現される一種の体内毒素を産生し、それは特異的抗元性を有するものと考えられる。Trypanosomiasis に於ける低血糖の発現は、病原体生体の糖消費によるばかりでなく、所謂トリパノトキシシンによる糖原の生産、貯蔵の破壊もこれにあずかっていると思われる。われわれは、所謂トリパノトキシシンについて、家兎の角膜に潰瘍を形成する作用と、ラツテに低血糖を惹起する作用とを証明したが、それが1種のトキシシンの両面の作用をあらわすのか、または

は4例平均67%、0.01単位の場合は4例平均76%まで血糖値の低下が見られ、注射後1~2時間の中に最低値の発現があって、以後漸次に正常に復する傾向を示す(表2)。これはトリパノトキシシンの低血糖作用が注射後3時間以上で最著明に現われることに対して時間的作用を示すものであって、高血糖作用をおこす他のホルモンとトリパノトキシシンを同時に注射しても、この作用時間の差位は截然と見られるのである。例えば、アドレナリンとトリパノトキシシンを同時に注射すると、最初1時間でアドレナリンによる高血糖があらわれ、

表 2

動物 番号	体重 (g)	イン リン ユ (u)	血 糖 値					
			注射前 (mg/dl)	1時間 (%)	2時間 (%)	3時間 (%)	4時間 (%)	5時間 (%)
19	165	0.1	124	60	72	76	81	86
20	160	"	112	78	81	82	82	96
21	150	"	100	90	65	76	85	83
22	130	"	92	84	66	80	84	95
平 均			107	77	71	79	83	88
23	150	0.01	97	85	79	84	89	96
24	140	"	103	77	80	85	87	94
25	130	"	96	75	70	78	86	88
26	130	"	105	82	76	80	87	92
平 均			100	80	76	82	87	93

表 7

動物 番号	体重 (g)	Toxin液 (cc)	アドレ ナリン (mg)	血 糖 値					
				注射前 (mg/dl)	1時間 (%)	2時間 (%)	3時間 (%)	4時間 (%)	5時間 (%)
43	165	1.0	0.02	87	125	98	76	69	55
44	150	"	"	117	112	107	84	74	85
45	155	"	"	95	132	101	112	76	73
46	170	"	"	94	121	127	98	80	65
平 均				98	123	108	93	75	70
47	150	1.0	0.002	119	104	105	103	88	77
48	150	"	"	92	102	97	84	75	70
49	140	"	"	94	122	99	96	72	77
50	150	"	"	110	120	119	103	72	89
平 均				104	112	105	95	77	81

表 5

動物 番号	体重 (g)	Toxin液 (cc)	コーチ ゾン (mg)	血 糖 値					
				注射前 (mg/dl)	1時間 (%)	2時間 (%)	3時間 (%)	4時間 (%)	5時間 (%)
27	170	1.0	2.0	93	122	101	101	86	94
28	180	"	"	93	130	111	88	88	98
29	170	"	"	115	102	102	96	88	90
30	150	"	"	110	104	109	97	94	89
平 均				103	115	106	96	92	93
31	170	1.0	0.2	96	108	119	108	102	109
32	145	"	"	98	109	106	102	84	94
33	175	"	"	110	114	96	97	95	99
34	140	"	"	95	120	105	100	103	102
平 均				100	113	107	102	96	101

表 9

動物 番 号	体 重 (g)	Toxin 液 (cc)	ACTH (mg)	血 糖 値					
				注射前 (mg/dl)	1 時間 (%)	2 時間 (%)	3 時間 (%)	4 時間 (%)	5 時間 (%)
59	190	1.0	1.0	103	127	108	91	78	89
60	180	"	"	98	116	132	95	84	90
61	175	"	"	120	138	116	98	106	103
62	170	"	"	114	103	85	94	104	88
平 均				109	121	110	95	94	93
63	170	1.0	0.1	117	95	95	90	90	97
64	140	"	"	87	101	112	101	95	103
65	130	"	"	120	113	86	98	100	105
66	150	"	"	102	121	100	95	103	95
平 均				107	108	68	96	97	100

後4～5時間でトリパノトキシンによる低血糖を生じ(表7), アドレナリンのためにトリパノトキシンの作用が抑制されないことがわかる。しかるに, コーチゾンを一緒に注射すると, コーチゾンの高血糖作用のために拮抗されて, トリパノトキシンの低血糖作用が抑圧されるという形を呈する(表5)。すなわち, トリパノトキシンの低血糖作用は副腎皮質ホルモンによって抑制され, 副腎髄質ホルモンによっては抑制されないという結論に達するわけである。ACTH に於い

てもコーチゾンと同様の抑制作用が見られた(表9)。

以上, *Trypanosoma gambiense* の加熱死体浮遊液に低血糖作用を示す1種の体内毒素が含まれていると仮定した実験の結果であるが, 目下, 音波又は凍結・融解によって虫体からトキシンを抽出して, より精密な実験を行ないつつある。

筆者は, 1963年3月31日を以て定年退職する身であるが, この最後の機会に於いて, 協同研究者の誠実かつ熱意ある努力に満腔の謝意を表するものである。

Summary

This collective summary of studies on trypanosomes by our coworkers was spoken on the Twentieth Anniversary of this Institute, 4. November 1962, at Nagasaki.

1) Cytochemical observation on the distribution in *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma lewisi* of nucleic acid. Keikô KAWAMITSU. Nagasaki Igakkai Zassi (Nagasaki Medical Journal), 32 (11) : 1398~1403 and 105, 1957.

As a typical figure occurring most frequently, the round or elliptical nuclear room was rimmed with the Feulgen-positive substance, 6 to 10 violet-stained granules, lining the inside of the nuclear membrane, while the Feulgen-negative central zone seemed wholly empty. The pyronine-methylgreen staining revealed the presence in the cytoplasm of RNA stained diffusely light rosy. After treatment with 1 : 5000 ribonuclease 60°C/60 minutes, the Brachet's test, the rosy reaction disappeared. The nucleus, DNA, showed a diffusely light green reaction which did not disappear after treatment with ribonuclease. Such granular segmentation of DNA as seen in the Feulgen's reaction did not come in sight here. It seemed to be an essential peculiarity

to *Trypanosoma lewisi* that the presence in the kinetoplasma of a DNA granule was detected by the Feulgen's reaction as well as by the pyronine-methylgreen staining. This finding was first described by the author. In *Trypanosoma gambiense* from mice treated with 0.01 mg mapharsemin, an oxophenarsine derivative, forms with binary fission of the nucleus were seen more frequently than in the untreated cases, and the Feulgen-positive granules showed sometimes an irregular or sparse aggregation in the swollen nucleus, sometimes a compact concentration in the center of the nuclear room. Nevertheless there was nothing the matter with the RNA staining. Mapharsemin, therefore, played apparently a selective action upon DNA.

2) Experimental Studies on Adsorption by *Trypanosoma lewisi* of antigenic substance from *Proteus OX19*. Takurô Asô. Igaku-Kenkyu (Acta Medica), 27 (3) : 483~500, 1957.

A series of experimental examinations were carried out with the purpose for demonstrating probable variations in the antigenicity of the protozoan organism, *Trypanosoma lewisi*, which, in place of erythrocytes in the Middlebrook-Dubos' method, was made adsorb or absorb some heterogeneous antigenic substances from the bacterial organism. The antigenic substance was prepared by autolysis of bacterial bodies, *Proteus OX19*, which, being suspended in distilled water (20%), were placed in the refrigerator and incubator alternately every other day for a week, and then the suspension was heated at 100°C for an hour and centrifugalized. The supernatant fluid (V-extract) was divided into protein fraction (E-F) and polysaccharide fraction (K-F), by means of precipitating them by trichloroacetic acid and alcohol. Thus 1.6g E-F and 0.45g K-F were obtained from 150g wet bacterial bodies. Living trypanosome bodies, *Trypanosoma lewisi* isolated from the rat blood infected therewith and suspended in saline or Ringer's solution with 1% glucose, were brought into contact with the extract and its fractions (V-extract 0.05-0.2ml, 0.5% E-F and 0.5% K-F 0.3-0.5ml, for the trypanosome suspension 1.0ml), for 24-48 hours at 24 to 26°C, to be sensitized therewith. Sera of rabbits, immunized with bacterial bodies of *Proteus OX19* or the V-extract from them, gave rise to typical agglomeration of the trypanosomes previously sensitized with the said substances, in the titres of 1 : 4 to 1 : 32, and Weil-Felix-positive sera of patients suffering from the exanthematic fever also realized the same reaction. Furthermore, sera of rabbits immunized with these sensitized trypanosome bodies proved to have precipitins for the V-extract and its fractions, and agglutinins for the Weil-Felix reaction (1 : 32 to 1 : 128), as well as antibodies for the Middlebrook-Dubos' haemagglutination and haemolysis tests by using the said substances. In these examinations the E-F exceeded the K-F in the antigenicity. The interest of this study, at all events, was to find in the variability in the antigenicity of the trypanosome organism which was made adsorb or absorb a bacterial heterogeneous antigen to be sensitized thereby, even if no hereditary transformation but a temporary modification was concerned.

3) Antagonistic actions on trypanosomes of human serum from patients with various diseases. Makato KAMOHARA. Endemic Diseases Bulletin of Nagasaki University. 1(4) : 376~397, December, 1959.

A peculiar antagonistic action on *Trypanosoma lewisi* and *Trypanosoma gambiense*, a strain

which had been passed through mice successively for a number of years, of various human sera was observed in the its agglomeration (von PROWAZEK, 1905) as well as in the protective property. The *lewisi* strain was found to be agglomerated by normal serum from healthy persons, in 7 out of 17 samples (52.94%), mostly at a titre of 1 : 8. The property was seen in pulmonary tuberculosis at 17/27 (62.96%), in syphilis at 13/22 (59.09%), and in liver diseases except cancer at 10/14 (71.42%), showing no significant difference among these groups according to the small sampling theory. Furthermore, the majority of serum samples from pregnant women and liver cancer patients was found to be heightened in the agglomerin titre to 1 : 32 to 1 : 64. The result made the *gambiense* strain off from the *lewisi* strain in the agglomeration test with normal human serum. The incidence of a positive reaction was 6/6 (100%), showing a serum titre of 1 : 32 to 1 : 64 mostly, and that of 1 : 256 at the highest. All mice inoculated with the *gambiense* strain died after 6.07 days on the average. But the fatality rate of mice which had been intraperitoneally injected with 0.5 ccm of normal human serum the day before the inoculation were only 9/34 (26.47%). The fatality rate of mice pretreated with serum samples from patients of pulmonary tuberculosis, liver diseases with jaundice except cancer and cirrhosis, and cancer of several organs except liver were respectively 1/8 (12.50%), 0/8(0%), and 4/10(40%). There was no significant difference among the four groups above-mentioned. On the other hand, in cases of liver cancer and liver cirrhosis the trypanocidal property of the human serum was found to be considerably weakened, being ineffective severally at 6/8 (75.00%) and 4/5 (80.00%). There was a significant difference in comparison with the virtue of serum samples from healthy persons each at 1.64% level and at 3.45% level. Conclusions : — 1) Anti-*lewisi* and anti-*gambiense* agglomerins in normal human serum are distinct factors independent of each other. 2) Agglomerins and trypanolysins in normal human serum are distinct factors running not quantitatively parallel to each other. 3) The anti-*gambiense* protective action of human serum is not influenced by hepatitis with jaundice, which is contradictory to former reports in this respect, but it is significantly weakened by liver cancer and liver cirrhosis.

4) Trypanotoxin of *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma equiperdum*. Noboru TOKURA, Igaku-Kenkyû (Acta Medica), 9 (6) : 1 - 14, 1935.

This work was based upon Besredka's method of extracting endotoxins from bacteria and Gildemeister-Watanabe's method of demonstrating diphtheria toxin in a small amount. The supernatant fluid of 2% emulsion of trypanosome bodies ground together with salt into pieces as fine as possible and suspended in isotonic saline, was named "trypanotoxin". Then 0.1cc of the toxin — either the original solution or various dilutions thereof — was injected into the cornea of rabbits. In order to examine the reaction a fluorescein solution was dropped in the eye on the following day and each day afterwards for a week. The ulcerated region appeared more or less strongly green or yellow. The cornea of rabbits immunized generally or locally with *gambiense* or *equiperdum* formalized vaccines was less susceptible to the corresponding trypanotoxin. Similarly the reaction was modified if the animal was given a dose of the corresponding antitrypanosomal serum, but not if a heterogenous antitrypanosomal serum was

administered. *Gambiense* or *equiperdum* trypanotoxin seems to be the same one in the point to form the ulcer at the eye of the rabbit. But, curious to say, it is neutralized by each specific antiserum only. It is possible, the author thinks, that there is another specific antigenic agent, being combined with the ulcer-forming agent. This supplementary agent should be neutralized by each corresponding antiserum only. As a natural course of event the ulcer-forming activity of trypanotoxin is made ineffective thereby. See Warrington Yorke's abstract in *Tropical Diseases Bulletin*, 33 (3) : 198~199, 1936 and J. T. Culbertson's *Immunity Against Animal Parasites* : 120~121, New York, 1941, also.

5) A contribution to studies on toxin production by *Trypanosoma gambiense*. Keikô KAWAMITSU. *Nagasaki Igakkai Zassi* (Nagasaki Medical Journal), 33(11), Supplement : 22~39 and 3~4, 1958.

Some investigators, including TOKURA (1935), have described some toxic phenomena in experimental animals due to dried or lysed pathogenic trypanosomes. Others, on the contrary, have reported negative results following their attempts to demonstrate "trypanotoxin". On the other hand, there is the well-known hypothesis by SCHERN's school that the sugar consumption of the flagellate is responsible for the pathological changes in the host whose death may be caused by a glycoprival intoxication, but this supposition is considered as insufficient by itself to explain all of the pathogenetic mechanisms in trypanosomiasis. In search of evidence of a toxic substance, "trypanotoxin", produced by *Trypanosoma gambiense*, the present author attempted to demonstrate the occurrence of hypoglycemia in the rat by injecting heat-killed flagellates into it. The blood sugar level, measured by means of Hagedorn-Jensen's method, in rats inoculated with *Trypanosoma gambiense* revealed a pronounced lowering in the terminal stages, amounting to 21 mg/dl at the lowest and to 55 mg/dl at the highest, corresponding to 40% on the average of the normal level. When rats intraperitoneally inoculated with 1.0, 2.0 and 3.0cc of a 10% emulsion of heat-killed *Trypanosoma gambiense*, provisionally called "trypanotoxin", the occurrence of a marked hypoglycemia, that is, a lowering of the blood sugar respectively to 71%, 67% and 62% on the average of the normal level, was seen 3 to 5 hours later thereafter. The same treatment of rats by means of heat-killed *Trypanosoma lewisi*, however, yielded no such result. The hypoglycemic effect of trypanotoxin was found to be completely lost after treatment of it with n/10-NaOH for 24 hours followed by neutralization with n/10-HCl, and vice versa. Moreover, the toxin proved stable to heating at 60° to 80°C for 30 minutes, but it was completely destroyed by heating at 100°C for 30 minutes. In rats, when they were injected with trypanotoxin at five to seven day intervals, a resistance to the hypoglycemic effect of the toxin occurred step by step. At the fourth injection they were not completely sensitive thereto. Thus trypanotoxin proved to have an immunogenicity. The glycogen content of the liver in rats injected with 1.0cc of trypanotoxin was found to be much lower than in controls, for the period of 3 to 5 hours thereafter, which suggested that a derangement of glycogen metabolism in the liver was caused by trypanotoxin. To conclude : —*Trypanosoma gambiense* is capable of producing a certain toxin which expresses its activity by causing a disturbance of the glycogen storage of the liver accompanying a marked hypoglycemia. The occurrence of a pronounced hypoglycemia in trypanosomiasis is probably ascribed not only to the

sugar consumption of the flagellates but to a impairment by its toxin of the carbohydrate metabolism in the host also.

6) The relation of several hormones to the hypoglycemic action of trypanotoxin from *Trypanosoma gambiense*. Keikô KAWAMITSU. Nagasaki Igakkai zasshi (Nagasaki Medical Journal), 33 (11), Supplement : 115~123 and 12, 1958.

When 1.0cc of trypanotoxin, a 10% emulsion of heat-killed *Trypanosoma gambiense*, was administered simultaneously with 0.1 U of insulin to the rat, the hypoglycemic action of insulin was little accelerated by trypanotoxin, and vice versa. The insulin effect occurred early and disappeared within 3 hours (early effect), while the hypoglycemia induced by trypanotoxin occurred 3 to 5 hours following injection (delayed effect), and it was not modified by the presence of insulin. When trypanotoxin was administered together with 2.0 mg of cortisone to the rat, the delayed hypoglycemic action of trypanotoxin did not occur even after the complete disappearance of the previous hyperglycemia induced by cortisone — which was not very pronounced. This observation was considered as indicating that the hypoglycemic effect of trypanotoxin was completely inhibited by cortisone. Besides 1.0mg of ACTH injected together with trypanotoxin proved to be able to protect the animal from the hypoglycemia in the same manner as cortisone. In case of a simultaneous administration of trypanotoxin and 0.02 mg of adrenalin the hypoglycemia induced by trypanotoxin properly occurred, after 4 to 5 hours, following the adrenalin-induced hyperglycemia. This was considered as an indicating that the action of trypanotoxin was not essentially antagonized by adrenalin.

TOKURA, N.

Received for publication December 5, 1962.