

昭和48年8月
August, 1973

原生動物学雑誌

第6巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology
Vol. 6 No 1*

日本原生動物学会
Japan Society of Protozoology

原生物誌
Jap. J. Protoz.

原生動物学雑誌 第6巻 第1号

目 次

第6回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演 「最近のゾウリムシ キラー粒子をめぐる諸問題」……小 泉 貞 明

一般講演

ニュース

本会記事

会員名簿

投稿規定

原稿作製上の注意

日本原生動物学会会則

編集後記

日本原生動物学会 幹 事

猪 木 正 三 (会長)

浅 見 敬 三 稲 葉 文 枝 尾 崎 文 雄 高 田 季 久 中 林 敏 夫

種 渡 宏 一 藤 田 壽 吉 松 林 久 吉

Committee of the Japan Society of Protozoology

Shozo Inoki (President)

Keizo Asami, Fumie Inaba, Fumio Osaki, Suehisa Takada, Toshio Nakabayashi,

Koichi Hiwatashi, Jinkichi Fujita, Hisakichi Matsubayashi

原生動物学雑誌 編集委員

猪 木 正 三 (委員長)

稲 葉 文 枝 尾 崎 文 雄 高 田 季 久 大久保 舜 三

Editorial Board

Shozo Inoki (Chief)

Fumie Inaba, Fumio Osaki, Suehisa Takada, Shunzo Okubo (Secretary)

第6回 日本原生動物学会大会記事特集

日本原生動物学会概況**大会長** 樋渡 宏一 博士**会場** 東北大学理学部生物学教室
仙台市荒巻字青葉**会期** 昭和47年12月2日(土)**日程**

8:55	開	会
9:00~11:00	一	般 講 演 (1~6)
11:00:12:00	特	別 講 演
13:00~13:30	総	会
	幹	事 報 告
13:30~15:30	一	般 講 演 (7~12)
15:50~17:30	一	般 講 演 (13~17)
17:30	閉	会

講演目次

特別講演

最近のゾウリムシ キラー粒子をめぐる諸問題……………小 泉 貞 明 (宮城教育大)

一般講演

1. 西日本産直翅目に寄生する真グレガリナ類について……………○星 出 一 巳 (山口大, 教育・生物)
星 出 兵 馬 (岩国短大)
2. 金魚, 錦鯉に寄居する *Epistylis longicorpora* について
……………盛 下 勇 (荏原インフィルコ, 中央研)
3. ウマの大腸内に見出された繊毛虫類……………○今井 壮一, 大関 好明 (東北大, 農・家畜衛生)
4. 反芻胃内原生動物の消長と飼料成分との関係について
—特に飼料中の窒素化合物の形態について—……………○高橋 直身, 後藤 正幸 (明治大, 農)
5. 海産ゾウリムシ (*Paramecium calkinsi*) の繁殖系……………宇 仁 茂 彦 (大阪市大, 医・医動物)
6. テトラヒメナの不完全分裂と分裂との関係……………渡 辺 良 雄 (予研, 病理)
7. 各種アメーバの運動 (16mm映画使用)
……………○石井圭一, 菅野文和, 堀上英紀 (法政大, 教養・生物)
8. 赤痢アメーバ栄養体の染色法の再検討と休止核内核酸の分布に関する
細胞化学的研究……………○小山 力, 熊田三由, 小向三郎, 権丈真弓, 吉田幸子 (予研, 寄生虫)
9. *Trypanosoma cruzi* の発育史の再検討……………○猪木正三, ワルニー スクスリー (阪大, 微研・原虫)
10. マウス感染 *Trypanosoma gambiense* に対する人血清および acriflavine の
効果, 特に宿主細胞と原虫との interaction に対する電子顕微鏡的観察
……………○小野 忠相, 猪木 正三 (阪大, 微研・原虫)
11. *Trypanosoma gambiense* 感染家兎血清中にみられる正常家兎脳組織に
対する自己抗体について……………○神原 広二, 猪木 正三 (阪大, 微研・原虫)
12. *Trypanosoma cruzi* における酸フォスファターゼの電顕細胞化学的証明
……………赤 尾 信 吉 (慶大, 医・寄生虫)
13. マウス実験トリコモナス症に対する特異抵抗性誘導に関する研究
……………○林 弘三, 林 宣子, 岡 好万 (徳島大, 養護教)
古谷正人, 土肥美代子, 尾崎文雄 (徳島大, 医・寄生虫)
14. トキソプラズマにおける偏性細胞内寄生機構についての一考察
……………竹 内 勤 (慶大, 医・寄生虫)

15. 実験 *toxoplasma* 症の研究 マウスにおける oocyste 攻撃に対する能動
および受動免疫の効果……○伊藤義博, 古谷正人, 土肥美代子, 尾崎文雄 (徳島大, 医・寄生虫)
林 弘三, 岡 好万 (徳島大, 養護教)
16. 実験トキソプラズマ症の免疫学的検討……○高田 季久, 井関 基弘 (大阪市大, 医・医動物)
17. ヒトに寄生する *Isospora belli* の人体内諸型の電顕所見
……○赤尾 信吉, 浅見 敬三 (慶大, 医・寄生虫)
道又 勇一, 村田 輝紀 (東北大, 医・鳥飼内科)

 特 別 講 演

最近のゾウリムシ キラー粒子をめぐる諸問題

小 泉 貞 明

宮城教育大学理科教育研究施設

Recent advances in the studies of Killer particles of Paramecium

Sadaaki Koizumi

Institute for Science Education, Miyagi College of Education, Sendai

1938年 Sonneborn が、ゾウリムシの異なった株を混ぜた場合に、一方が殺される現象を発見したことが、キラー形質研究の発端となった。続く40年代、Sonneborn はキラー形質には κ 因子と呼ばれる細胞質要素が関与していることや、その κ 因子は細胞質遺伝の単位であり、感染、増殖する際には核内遺伝子の支配を受けることなどを明らかにし、当時の遺伝学の分野で非常に注目を浴びた。その後、50年代になって Preer, Stark らによって、この因子は DNA を含む2種類の粒子から成り立っていることが発見された。すなわち、増殖型のN粒子と、位相差顕微鏡下で屈折率の異なった光る部分(R体)を含む非増殖型のB粒子である。そしてB粒子に殺害作用があることが示唆された。さらに Dippel は、R体は環状構造であることを電顕的に明らかにし、キラー毒の本体であろうと推定した。その間、 κ 粒子類似のキラー粒子や変異体が数多く発見されたが、それらは何れも細菌様の構造をとり、自己増殖し、変異性に富み、独特の致死作用を示し、これらの粒子が寄生するゾウリムシは、それぞれの粒子に対して特異的に抵抗性を持つことが明らかになった。1959年 Sonneborn は、それまでの論文を集約して総説を発表し、外来性寄生粒子と遺伝に関する多くの問題を提起した。60年代に入って、Preer, Jurand, Anderson および Beale らによってキラー粒子の超微細構造が次々に解明され、 κ 粒子はビールスを内蔵する細菌性寄生体であることが明白になった。一方、Kung は κ 粒子の呼吸系を研究し、細菌類似のチトクローム系が存在することを報告した。また Wagtendonk 一派は、無菌培地を用い、再感染が可能な λ 粒子の培養に成功した。さらに、Gibson, Sonneborn および Beale らは、 μ 粒子の増殖には核内因子Mの m-RNA と考えられるメタゴンが必要であることを巧みに実証し、メタゴンは、*Didinium* 中では自己増殖可能なビールスに変化することを証明し、最も魅力ある学説として大きな反響をよんだ。

Preer 一派の電顕的研究は70年代に及んで急激な進展を見せ、 κ 粒子中のビールス様体は、phage であることを解明し、その物理化学的性質を明らかにして現在に至っている。この間、キラーに関して約200の論文が発表されているが、キラー粒子感染の由来や寄生生活と宿主との関係に関する問題を始めとし、殺害物質とその作用機構、キラー粒子を保持することにより生じる免疫機構、キラー株と感受性株が特定の群に属している理由、感染と増殖に及ぼす核内因子の役割など、多くの未解決の問題を残している。

キラー形質発見当初から現在に至るまでの研究の進展の概略は以上のようなものであるが、本稿は主として60年代から70年代にかけてこの分野で特に著しく貢献したと思われる論文について総説し、いさ

か私見を加えて問題点を明らかにして見たい。

1. キラー粒子

κ 粒子の特徴は、すでに述べたN粒子とB粒子の2つの型をもつことであり、B粒子は通常1つあるいは2つ（ときにはそれ以上）のR体を含んでいる。R体を含むB粒子は直接殺害作用に関与しており、細胞外に放出されて感受性株に取り込まれると、致死作用を引き起こす。N粒子は、毒性を持たない増殖型粒子であるが、やがてB粒子に変化する。細胞中のB粒子の存在する率は、10—30%で、一般に培養条件に依存していると思われる。 κ 粒子は、大きさや形、R体の特性、感受性株に対する前致死状態の相違により、大別して2種類（株51と株7の κ で代表される）と多くの変異体に類別されている。株51 κ の致死作用は感受性株をhump状にするのに対し、株7 κ は右廻りのspinを引き起こさ死に至らせる。しかし、大きさは $1\sim 2\mu \times 0.5\sim 1\mu$ で極めて類似し、DNAの浮上密度は1.696（株51）；1.698（株7）と近似した値を示している（Preer, 1968）。代表的な変異体に π 粒子がある。この粒子は、R体を形成することができないために、毒性を持たない。そして、この粒子を持つゾウリムシは、もはやキラー粒子に対して抵抗性を失っている。

μ 粒子は、普通長さ約 2μ であるが、ある条件下、例えば飢餓状態などの場合には、 20μ に達することもある。また、細胞外に放出されず、接合によってのみ感受性株を殺す。おそらくこの粒子は接合過程で小核に直接作用していると考えられている。

λ と σ 粒子は感受性株に、2～3分から10分位で細胞崩壊を起こさせる強烈なキラー粒子である。これらは、殺害作用が非常に強いにもかかわらず、感受性株は、syngen 3, 5, 9に属する株に限られていることは興味深い。また、各々の粒子にはいくつかの種類があるが、いずれもR体は発見されておらず、細菌性の鞭毛を持ち、細胞質中の空胞に存在している。大きさは、 λ 粒子は約 5μ 、 σ 粒子は 15μ に達する。毒の本体については現在不明であるが、 λ に関しては λ 粒子自体が細胞外に放出され、直接感受性株に取り込まれる（Butzelら, 1963）と考えられている。しかし、この考え方では説明し難い現象も多い（小泉, 未発表）。

r 粒子は 0.7μ 程度の小粒子で、常に2個が単位となって存在している。そして、粒子を覆う二重膜の外側の第三膜には、リボゾームが付着しており、さらにその膜はERに伸びる構造が認められている。R体は存在しておらず毒の本体については不明である。

今まで述べてきたキラー粒子は、すべて細胞質中に寄生しているが、最近Preerら（1969）によって発見された α 粒子は、大核にのみ存在している。その大きさは、ゾウリムシが活発に増殖している場合は、小さく約 2μ であるが、飢餓状態においては長く薄くなり、 6μ 程度である。この粒子は、培養液を通じて容易に感染するが毒性はない。また、興味深いことに、 α 粒子を保持する株は、しばしばその細胞質中に κ 粒子を共存させていることが知られている。

その他 δ や γ などの粒子についても詳しい電顕構造が明らかになっているが、ここでは省略する。

上述のようにキラー粒子は、その大きさと形態からバクテリアであるとみなされ、多くの粒子、例えば κ 、 μ 、 λ はRNA、DNAを共に含んでいる。しかし、それぞれ形態を異にし、特異的な殺害方式を持ち、DNA浮上密度は、株51 κ で1.696（株7 κ で1.698）；株138 μ で1.700（株540 μ で1.701）；株239 λ で1.706；株114 σ で1.704（ゾウリムシ核DNAは1.688）（Preer, 1968）の値を示し、系統発生的に異なったものであることを示唆している。

2. R体の構造

種々のキラー粒子の中で、 κ 粒子はその構造が詳細にわたって研究され、毒性に関係しているB粒

6 特別講演

子に含まれるR体の微細構造も明らかにされている。これに関しては Preer 一派による見事な研究がある (1964—1972)。

R体は、B粒子を SLS, SDC などの表面活性剤や超音波で処理することにより、簡単に単離される。R体は巾 0.5μ 、長さ $15\sim 20\mu$ 、厚さ 130\AA のリボンがドーナツ状に10~12層に巻いた構造で、直径はおよそ 0.5μ である。しかし、この構成リボンは種々の条件下で可逆的にほどける。例えば株 51 κ のR体は、pH 6.0 またはそれ以下で完全に内側からほどけ、pH を 7.0 に上げると、すばやく巻き戻る。そして pH 6.5~7.0 付近では、部分的な巻き戻りが見られる。一般に、ほどけたリボンは軽くねじれた状態をとっており、このような状態では毒性はない。さて、R体リボンの内側には provirus あるいは capsomere 様の構造が見られる。これら κ -virus については後述することとする。

株7から単離されたR体の毒性に対する種々の酵素の影響について次のことが知られている。RNase, DNase, lysozyme, pectinase, β -amylase, cellulase, chitinase, trypsin による処理は影響を及ぼさないが、 $1\mu\text{g/ml}$ の chymotrypsin で処理 (30°C , 3時間) すると、前致死状態に変化を引き起こす。しかし、電顕的には何ら構造上の変化はなく、virus 様体の遊離も見られない。またリボンは、70% 蟻酸で容易に溶解し、吸収スペクトルは蛋白に典型的な $276\text{m}\mu$ を示すことから、ほとんど蛋白で構成されていると考えられる。 10^9 個のR体についての蛋白量は、およそ $40\sim 50\mu\text{g}$ である。核酸、糖および脂質に関しては、痕跡程度しか検出されていない (Preer ら, 1967)。

3. κ -virus

Preer ら (1971) は、株 562 を用い κ のR体から phage を単離することに成功した。このR体は大きさが $0.2\sim 0.5\mu \times 130\text{\AA} \times 20\mu$ であり、種々の方法により蛋白, DNA, RNA などが存在することが確認された。さらにR体を超音波で処理して phage を放出させ、CsCl 密度勾配法を用い、精製、分離した。単離された phage は約 1.47 の浮上密度を示し、1個当り $1.6 \times 10^{-16}\text{g}$ の DNA と $2.0 \times 10^{-16}\text{g}$ の蛋白を含み RNA は検出されなかった。phage DNA の浮上密度は 1.704 と測定され、一方、株 562 κ から抽出された DNA の浮上密度は 1.705 であり、両者の値は非常に類似している。さらに電顕的に T系 phage 類似の構造が明らかにされ (ときには欠陥 phage も認められる)、R体に存在する virus は DNA を含む phage であることは疑う余地がない。また κ 粒子の連続切片による観察では、この phage は、R体を持つB粒子において例外なく観察され、N粒子においても極めて稀に見られることがある。しかし、この際含まれる phage は少数である。

4. κ 粒子の毒作用

自家受精中または接合過程中 (この時期には口の再生が起る) の感受性株はキラーに対し抵抗性を持つことは早くから知られており、キラー粒子は囗部から取り込まれたのち、細胞質に入り込むことが予想されていた。Muller (1964) は光顕下でR体のリボンが食胞から細胞質へ突きささっているような像を観察し、続いて1967年 Preer らは、電顕によりこの事実を確認した。従って、 κ 粒子の致死作用機構は、酸性の食胞中でR体がほどけてリボン状となり、附着している phage virus を細胞質中に送り込むのであろうと推定されていた。

Jurand ら (1971) は、株7の κ を感受性株一株16に取り込ませた後、種々の時間に固定標本を作り、電顕下で感受性細胞の変化を追及した結果、次の事実が明らかにされた。食胞内に取り込まれたR体は、一般にほどけてリボン状になり、食胞膜の崩壊を引き起こす。最初、食胞膜は滑らかな球形であるが、次第にその滑らかさを失い、変形し始め、やがて食胞は崩壊する。その時、リボン状のR体は phage virus を担って細胞質中に入って行く。このような食胞膜の変化は、B粒子を取り込んだ

場合についてのみ起こり、N粒子やバクテリア等の場合は見られない。従って、R体が食胞膜をぜい弱にさせるものと考えられる。また、B粒子を取り込み始めると、食胞形成部位である囲口部の底にも異常が現われる。すなわち正常な場合は滑らかである囲口部の底が次第に萎縮し、食胞形成を起こさなくなるのである。一方、食胞形成に一連の変化を起こした感受性株の細胞質内に、膜構造を持った直径 $0.5\sim 1\mu$ の小体が多く現われ始めるが、それらの小体はキラー粒子の影響を受けない抵抗株にはほとんど見られない。また、その小体の中には直径 $200\sim 400\text{\AA}$ の粒子が含まれている。さらに、この小体はゴルジ体附近に端を発して現われ、細胞化学的に酸フォスファターゼが検出されることから、多分ライソゾームと思われ、この小体の出現が、恐らく結果的に細胞崩壊につながるものと推定される。

5. 論 議

ゾウリムシのキラー粒子は、長さ $0.5\sim 15\mu$ で、かなり明瞭な二重膜構造を持ち、細胞質や大核に存在するグラム陰性（例外もある）の寄生体である。そして恐らくバクテリアであると思われるが、その証拠は、RNA と DNA の両方を含んでいること、抗生物質で増殖を抑制することが可能なこと、チトクローム系酵素がバクテリアに類似していること、膜成分がバクテリア類似であることなどである。しかし、核構造が見出されないことや、一般に細胞外増殖ができないことなどバクテリアと相違する点も多い。一方前述したように、Wagtendonk ら (1963) は λ 粒子の細胞外培養に成功し、培養された粒子は再感染が可能であることを報告した。さらに同論文において、 λ 粒子は宿主細胞に葉酸を供給していると述べて、キラー粒子と宿主との関係について重要な示唆を与えて注目を浴びた。しかし、その後多くの研究者によって、これらの現象に対して追試が行われたが、現在まで確認された研究はない (Sonneborn および Preer, 私信)。

R体を含むB粒子が毒性粒子であり、それを含まないN粒子は増殖型粒子で毒性を持たないことの発見以来、前述のようにR体を究明する研究が進められ、遂に phage virus が発見された。この phage 1 粒子当りの DNA 値 $1.6\times 10^{-16}\text{g}$ および蛋白値 $2.0\times 10^{-16}\text{g}$ は各々 T_2 phage の $2.0\times 10^{-16}\text{g}$ および $2.7\times 10^{-16}\text{g}$ と極めて類似し、浮上密度 1.47 は T_4 phage の 1.45 と近似した値を示している (Preer ら, 1971)。そして、R体が形成される時には必ず成熟 phage が見出されることを考え合わせると、N粒子中の未熟 phage (prophage?) が成熟する際、あたかも T系 phage の前駆体合成に見られるような余剰蛋白合成が異常に過剰なため、それがR体リボン蛋白になるのであろうという推論が成り立つかもしれない。さらに、Preer ら (1967) が行なったR体リボンを chymotrypsin で処理することによって前致死状態を変えることができるという実験結果をも考慮すると、phage 構成蛋白とリボン蛋白を比較検討する研究が推進されるべきであると思われる。

さらに論議を進めるためには、キラー粒子の感染機構、キラー粒子の保持、増殖に関する核内遺伝子の役割、免疫性の諸問題、再検討されつつあるメタゴン説などの最近の進歩についても述べ、総合的に考察しなければならないのであるが、紙面の都合上、他の機会にゆずりたい。

 一般講演

1. 西日本産直翅目に寄生する真グレガリナ類について

星 出 一 巳

山口大学教育学部生物学教室

星 出 兵 馬

岩国短期大学

Studies on Eugregarines from Orthoptera in the west part of Japan

Kazumi Hoshide

Department of Biology, Faculty of Education, Yamaguchi University, Yamaguchi

Hyoma Hoshide

Iwakuni Junior College, Iwakuni

日本産直翅目より報告されている *Eugregarina* 類は10種であり、ハサミムシよりの1種を加えて次の11種となる。

Gregarinidae 科

1. *Gregarina blatterum* Siebold, 1839.
2. *G. concava* H. Hoshide, 1952.
3. *G. korogi* H. Hoshide, 1952.
4. *G. diestrarmena* H. Hoshide, 1953.
5. *G. monoducta* H. Hoshide, 1953.
6. *G. inago* H. Hoshide, 1957.
7. *G. scapsidae* H. Hoshide, 1957.
8. *G. acantholobae* H. Hoshide 1952.
9. *G. ovata* Dufour, 1826.

Acanthosporidae 科

10. *Coronoeppimeritus japonicus* H. Hoshide 1958.
11. *G. monospinus* H. Hoshide, 1958.

以上の中 *Acanthosporidae* 科の2種を除き、全て *Gregarinidae* 科 *Gregarina* 属のもので、外国よりよく報告されている同科 *Leidyana* 属のものはない。

演者等は1972年9～11月の間、西中国主として山口県、広島県産の直翅類を検し、多くのものから *Leidyana* 属に似た sporadin 期の寄生虫を見た。これらを含む宿主真翅類を飼養し、消化管内の sporadin, cephalin および胞囊よりの胞子放出状況と胞子の形態を観察した結

果、*Leidyana* 属と判定した3種、*Gregarina* 属1種について報告する。

1. *Leidyana* sp.宿主: *Gryllus yemma* Ohmachi et Matsuura

産地: 山口, 大島, 岩国.

Sporadin は長卵形～円筒状, 体長 400～500 μ の大形種, epimerite は小球形. 胞囊は直径 250～275 μ の球状をし, 成熟すると内容物が球の1側に集り, 反対側は半透明化する. 内容物の集合した表面に7～8個の小円板が生じ, その各々から長さ1.2mmに達する胞子管を突出しそれによって連鎖状に胞子を放出する. 胞子は樽状, 4×2.5 μ .

2. *Leidyana* sp.宿主: *Homoeogryllus japonicus* de Haan

産地: 田布施, 大島.

山口県田布施町白松氏飼養の宿主より発見. Sporadin は円筒形, 体長 300～350 μ . 胞子囊は球状, 平均直径 200 μ . 比較的短い70～75 μ 位の胞子管4～6本を胞子囊の全面から放射状に出し, 連鎖状に胞子を放出する. 胞子は短い樽状, 5.5×3 μ .

3. *Leidyana* sp.宿主: *Pteronemobius fascipes* Walker*P. taprobanensis* Walker

産地: 山口, 岩国

両宿主こん虫は山口大学構内、岩国城山付近の草地より採集した。これらは互いに草地内で棲み分けたり、混棲していたりする。両宿主ともいずれもの腸管、特に胃盲嚢内に本種と次の *Gregarina* 1種が同時に寄生することがしばしば見られた。この時 *Leidyana* sp. は sporadin, 胞嚢とも *Gregarina* sp. より大きく、容易に両者を識別できた。

本種の成熟 sporadin は幅広い卵形、 $280\sim 350\mu \times 110\sim 170\mu$ 。小さい体長 30μ 位の cephalin から成長期の sporadin がいろいろ観察される。

Epimerite は $18 \times 3\mu$ の長卵形。胞子嚢は球形、平均直径 155μ 、胞子管の長さ 60μ 、胞子管は 1~5 本生ずるが、その中 1 本が突出して胞子を放出する場合が多い。胞子は比較的大きく $6 \times 3\mu$ 、樽状である。胞子管を数本生ずる時は胞嚢の全表面から放射状に出され、1 本のみ発達する時は胞子嚢の残体は特異の巾着状となる。

4. *Gregarina* sp.

宿主 : *Pteronemobius fascipes* Walker.

P. taprobanensis Walker.

Sporadin は常に syzygy を形成し小形である。測定値の平均値 (単位 μ) は次の通り。

TL 112, LP 17, LD 45, WP 34, WD 39.

tl 70, lp 14, ld 56, wp 28, wd 36.

体比率 LP : TL = 1 : 3.6, WP : WD = 1 : 1.1.

lp : tl = 1 : 5.0, wp : wd = 1 : 1.3.

protomerite は生時扁平でその前端が平坦または凹むことが多い。幼時 cephalin ではこの凹みの縁に微鋸歯状の刻みが認められる。包嚢は球状、直径 $40\sim 55\mu$ 、内部が 2 個の sporadin の密着直後、配偶子形成期と思われる時期等見られたが、胞子の放出は未確認である。しかし cephalin, sporadin の形態より *Gregarina* 属の 1 種である。

質問 小山 力 (予研 寄生虫)

1. spore duct は急速に放出されるものでしょうか。
2. spore の特長は、グレガリナの仲間では分類学上のキーにはならないのでしょうか。

回答 星出 一巳 (山口大 教育)

1. spore duct が出て来る様子は水分と乾燥の 2 つの要素により手袋を反転するような状態で急速に押し出される。

2. spore と sporozoite の特徴は光学顕微鏡では明確にすることは困難なことが多い。今後電子顕微鏡の微細構造を取り入れる必要がある。

2. 金魚、錦鯉に寄居する *Epistylis longicorpora* について

盛下 勇

荏原インフィルコ株式会社中央研究所

Epistylis longicorpora from the gold fishes and carps

Isamu Morishita

Biological Laboratory, Research and Development Section, Ebara Inflico Co., Tokyo

46年夏から47年春にかけて全国の金魚錦鯉の養殖池において「アナアキ病」と称する疾病が多発し多大な損害を蒙った。本疾病に関しては新潟県内水面水産試験所鈴木、細谷の両氏、長野県水産指導所富永氏、東大江草教授らがその解明とその対策について研究を進められているが詳細な点についてはいぜんとして不明な点がある。本年9月、この疾病に関心をもちた山之内製菓、動物薬課から演者に対し、罹病した魚体に寄居する原虫の生体写真が送与され、その分類学的、生態学的検討を依頼し

て来た。今回はその結果と本疾病に関する2~3の知見について報告する。

本疾病の症状について説明すると、先ずウロコに白点が生ずる。(この時点でウロコを検鏡すると *Epistylis* とその他種々な細菌、菌類が認められる。) 続いてウロコが徐々に崩壊してその周囲においては充血が起り、小潰瘍あるいは粘液の分泌の増加などが起る。症状が進むと真皮の潰瘍性壊死(ウロコの内側がただれる)、ウロコの脱落が起り最終的に筋肉が露出する。そして水温が

30°Cを越えると自然に回復するようになり、ウロコが再生するものもある。

このような症状の段階を通じて本原虫がその患部の周囲に存在し大きなコロニーを形成するようになる。なお本疾病の人工感染率は高温、高収容密度の場合には比較的高いとその機構は不明な点が多い。

本虫について提供された種々な倍率および部位の生体写真について検討した結果、虫体の長さは250~500 μ 程度の円筒型であり、検鏡条件の変化によってはその体形は著しい変化を起す。虫体の巾は30~70 μ であるが体長の変化にともない2~4倍に変化する。柄は表面に細かい突起物があり、2分岐する。柄巾は10~15 μ 程度で柄基から虫体接合部まで同一巾である。その長さは一様でなく数mmにも達する。細胞咽頭は全伸長時の体長の4分の1の長さがあり、2膨1綫型である。本虫の特長は頭部円盤および口囲縁部にあり頭部円盤は体軸に対してやや傾斜し、頭部繊毛冠は2重に弧を描く。大核はC字形で虫体の中心部に存在する。なお他の詳細な体構造については新鮮標本が入手しえないため明らかでない。種々な検討結果から本種は上村(1938)が *Anodonta lauta* v. *Marten* の殻あるいは鰓部に寄居しているものを *Epistylis longicorpora* として報告した種と同一のものと同定した。(上村(1938)の原記載に不明確な部分があり、また不一致の形質が有るがさらに検討が行えるまで仮同定とする。)

なお寄居性の *Epistylis* については福井(1952)、盛下(1957)の報告があるが本種と同一のものではなく、また江草によれば現在まで本症のごとき例においては本種あるいは他の種が報告された事例はないと云う。魚病学的にみた場合、縁毛目原虫によるものとしては *Scyphidiidae*, *Urocoelariidae* の2群のみであり、本原虫の魚病学的意義は今後検討する必要がある。

本疾病に対しては、鈴木、細谷(1972)等によるとニ

フルプラジン 1ppm の薬浴、あるいはマラカイトグリーン 0.3~0.5ppm、それにネグホン 0.5~1.0ppm の併用、メチレンブルー 1ppm、ネグホン 0.4ppm の併用による長期間薬浴で本原虫の駆除と本疾病の治癒が可能であると報告されている。

「アナアキ病」と本原虫との因果関係はかならずしも解明されたわけではなく、今後さらに検討を加えられなければならないが、諸資料を総合した場合、本原虫を疾病の病原生物と考えるよりも本疾病を発病させる「引き金」的存在であり、本原虫が多量に発生する環境条件と、そこに存在する微生物生態系そのものが問題としてとらえられなければならないと考える。

質問 小山 力(予研 寄生虫)

1. 感染経路はまだ不明とのことですが、シストの形成その他現在推定されているところを御説明下さい。

2. 有効な治療法がありましたら御教示下さい。

回答 盛下 勇(荏原インフィルコKK中央研)

1. 感染経路については現在もよくわかりませんが輸入したウナギ稚魚と混養している池から発生し各地の市場立を経て全国各地に広がったと推測されます。本種についての life cycle は不明ですが同属のものでは cyst を形成することも知られているので水中の cyst の伝播による感染も考えられます。

2. 有効な治療法としてはニフルプラジンの薬浴(例アイベット水溶散 1ppm 48hr)あるいはマラカイトグリーン 0.3~0.5ppm、ネグホン 0.5~1.0ppm の併用(12hr 薬浴)あるいはメチレンブルー 1ppm、ネグホン 0.4ppm の併用による長期間薬浴で本原虫の駆除と本疾病の治癒が可能です。なおニフルプラジンの場合薬浴中は通気をする必要があり太陽光線によって分解して効力を失うので晴天時の薬浴は避けた方がよい。またフラン剤以外の薬浴をした場合その後抗菌剤で治療する必要があります。

3. ウマの大腸内に見出された繊毛虫類

大関 好明, 今井 壮一
東北大学農学部家畜衛生学教室

Ciliated protozoa in the large intestine of horse

Komei Ozeki and Soichi Imai

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai

ウマの大腸(盲腸, 結腸)内に反芻胃内原生動物と酷似した繊毛虫類が棲息することは古くから知られており, 海外においては Bundle (1895), Hsiung (1930) らの詳しい記載があるが本邦では詳細は報告がなされていない。演者らは, 本邦におけるこれらの繊毛虫類の同定を目的とし, 山形県新庄市の屠場で得た栄養状態の異なるウマ6頭の盲腸, 大結腸, 小結腸内容を検索し, 見出された繊毛虫の種の同定, 棲息部位, 各部での原虫数の属別の割合および原虫密度を調査した。

方法は, 原虫数計測用試料として, 屠場で得た材料をその場で2重ガーゼ濾過し, 一定量を10%中性フォルマリン固定してもちかえり, 遠沈して上清をすて, 一定量の中性フォルマリンで保存したものをプランクトン計算盤で測定した。また, 種の同定および写真撮影用として, 得られた材料をマホービンに入れて原虫を生かしたままもちかえり, 2重ガーゼで濾過した後1時間37°Cでincubateし, 底部に集合した原虫をピペットで吸い上げ熱10%中性フォルマリン中に滴下し, 瞬間的に固定した。固定試料を1,500rpm., 5分間遠沈し, 沈渣を30%ショ糖液でさらに1,000rpm., 3分間遠沈し沈渣を0.8%食塩水で3回洗浄してゴミ, バクテリアを除いた原虫試料を得た。これに0.1%メチルグリーン, 0.8% NaClを含む10%中性フォルマリンを投入し, 染色, 保存した。

検索の結果, ウマ6頭の大腸内容から, 全毛亜綱(*Holotricha*)に属するもの25種, 旋毛亜綱(*Spirotricha*)に属するもの15種, 計40種の繊毛虫が認められた。Hsiung (1930)によるモノグラフにより, *Holotricha*では *Bütschliidae*に属する *Ampullacula*, *Holophryoides*, *Prorodonopsis*, *Bundleia*, *Blepharosphaera*, *Blepharoprosthium*, *Polyomorpha*, *Alloiozona* 属から各1種, *Didesmis*, *Blepharoconus* 属各3種, *Paraisotrichidae*に属する *Paraisotricha* 属3種および *Blepharocoridae*に属する *Blepharocorys* 属6種, また吸管虫目(Suctoria), *Acinetidae*の *Allantosoma*

属2種の計4科13属25種が同定され, *Spirotricha*では *Cycloposthiidae*に属する *Spirotrichium*, *Tripalmaria*, *Ditoxum* 属の各1種, *Triadinium*, *Tetratoxum* 属各3種および *Cycloposthium* 属6種の1科6属15種が同定された。この結果, 従来記載のあったウマ大腸内繊毛虫のほとんどの種が我が国のウマにおいても棲息することが明らかとなった。これらの繊毛虫類の棲息部位は, *Holotricha*では, *Ampullacula*, *Prorodonopsis*, *Blepharocorys angusta* など一部の種が結腸内にも認められるほかは全体的に盲腸, 結腸を問わず見出された。 *Blepharoconus hemicyliatus* および *Blepharocorys cardionucleata* は今回の調査では盲腸内には認められなかったが, Hsiung はこれらを結腸内に見出しており, おそらく盲・結腸共通に棲息するものと思われる。これに対して *Spirotricha*では, 盲・結腸共通に見出されたものはわずかに *Cycloposthium* 属に限られ, 他の属はすべて結腸内には認められなかった。これらの結果は上記一部のものを除いて Hsiung の報告とよく一致する。

繊毛虫数については, 6頭のウマのうち, 最も栄養の高かったと思われるウマで, 平均 5×10^6 /ml を示し, 部位では大結腸に最も多く, 7×10^6 /ml であった。また, 最も栄養状態の悪かったものでは, 平均 1.8×10^4 /ml であり, 最も少なかった部位は盲腸で 2.5×10^3 /ml であった。普通の栄養状態と思われたウマでは $10^5 \sim 10^6$ /ml の原虫が認められた。いずれのウマにおいても, 大結腸内が最も繊毛虫数が多く, 栄養状態の変化と共に各部の繊毛虫数が全体的に増減する傾向がみられた。

また, 大腸各部の繊毛虫数の属別の割合について調査した結果, *Paraisotricha*, *Blepharocorys*, *Cycloposthium* がいずれのウマにおいても多数認められ, 大腸内の優性種であると思われた。これらの種は栄養状態の悪化している状態でもよく生存する傾向がみられ, これに反して良栄養状態の際にも数が少ない種では, 栄養状態の悪いウ

マにおいてはほとんど見出しされなかった。また、棲息部位に関して、全ての部位にわたって棲息するものうち、*Didesmis* は大結腸内に最も多く、*Cycloposthium* は盲腸～大結腸に多く棲息し、*Blepharocorys* は各部平均して分布している傾向がみられた。これらの傾向については、さらに多くの例数を必要とするものと思われるが、宿主ウマとこれらの繊毛虫類との関連性を考察する手段の1つとして興味あるものと思われる。

質問 小山 力(予研 寄生虫)

この類の同定のために有効な染色法、特にお使いになつたメチルグリーンを主体にした染色法について御教示下さい。

回答 今井 壮一(東北大 農)

種の同定のための染色法は種々考えられますが、各部の構造を全般的に見られるもの、および操作の簡易性から考えて、我々は0.1%メチルグリーンを10%中性フォルマリンに加えたものを固定、染色、保存液として用いております。メチルグリーンは核のみを染色いたしますので、特に分類基準の手段となっている大核の形状がよくわかりますので、同定のためには現在最も簡便な方法ではないかと思ひます。

質問 藤田 淳吉(日本獣医大)

今後走査電子顕微鏡による形態学検討を希望します。

回答 今井 壮一(東北大 農)

走査電子顕微鏡のための試料はすでに作成済みでございますので、機会があり次第研究を行いたいと思っております。

質問 扇元 敬司(東北大 農)

このウマ大腸に棲息する原生動物は、この御報告から、あたかも反芻動物ルーメン内の原生動物と類似の

パターンで、宿主に影響を与えていると思われるが、この点今後の研究方向に御示唆いただければ幸いである。

回答 大関 好明(東北大 農)

ご報告申し上げました点から馬の大腸内に於ける栄養代謝はルーメン内代謝と類似しているものと考えられますので、馬の腹部にフィフテラを装着、検討して見たいと存じます。

質問 栗原 康(東北大 理)

1. skeletal plate の有無について。
2. 分類の規準に skeletal plate の形と数を使われたか。

回答 大関 好明(東北大 農)

1. *Cycloposthium*, *Sprinium* には明瞭な骨板が認められました。

2. *Cycloposthium affinae* は骨板をもって、分類の規準としました。

Cy. affinae では骨板が左右2つあり、脊側骨板は短いことが認められました。

質問 高橋 直身(明治大 農)

栄養条件の相違と云われますが、それは飼料に由来する条件のことでしょうか。

回答 大関 好明(東北大 農)

飼料条件が大きく原虫の存在に影響を与えるものと思われませんが、今回供試しました馬はご報告申し上げましたように屠場から、その内容物を採取したもので、それら馬の栄養状態は馬の

- ① 被毛、皮下織、粘膜の状態
- ② 内容物の色、臭気、および量の状態により区分致しました。

4 反芻胃内原生動物の消長と飼料成分との関係について

—特に飼料中の窒素化合物の形態について—

高橋 直身, 後藤 正幸
 明治大学農学部

*On the influence of the substances contained in the diet on the
 biochemical action of rumen protozoa*

*—the effect of the nitrogenous compounds contained in the diet on the rumen
 microorganisms—*

Naomi Takahashi and Masayuki Gotō

Faculty of Agriculture, Meiji University, Kawasaki

研究目的. 大豆粕を主要蛋白源とする天然物より成る濃厚飼料と牧草とを給与してウシ, ヤギ, メンヨウなどを飼育すると, それらの動物の第一胃内において, 細菌, 原生動物の二群より成る微生物群が常時活動し, その作用によって, 飼料中の蛋白質, 非蛋白態窒素化合物は分解と合成の過程を経て微生物の体蛋白質に転換され, それはさらに寄生 (host) によって消化吸収されて, その蛋白質栄養に資することが知られている. 本研究者は, 第一胃内微生物群中原生動物の窒素化合物の転換において果たす役割と飼料成分との関係を明らかにする目的で本研究を行なった.

実験方法ならびに結果. 動物はすべてヤギ, メンヨウのいずれかを用いて実験を行なった. まず濃厚飼料と牧草とを給与する方法を標準飼育 (対照) とし, これらの飼料中のほとんど全部の窒素成分をウレイド化合物の一種である 1, 1-diureidoisobutane (DUIB) の窒素で置き換え, さらにパルプ, でんぷん, 無機塩類, 酵母抽出物などを添加したウレイド添加無蛋白合成飼料をヤギ, メンヨウに給与し, それらの窒素代謝を測定すると, この種のウレイド中の窒素は, 第一胃内微生物体蛋白質に転換され, これらの動物の蛋白質栄養はそれのみにて維持されることが認められた. このような条件の下で, これらの動物の第一胃内微生物群を観察すると, 原生動物はほとんど消滅し, 第一胃における蛋白質生成作用の主要部分は細菌群によって営まれることが明らかとなった. ついでこの種の飼料摂取後24時間における第一胃内容物中の蛋白質の生成量を測定した結果, 全窒素中の約76%

が微生物により合成された蛋白質であったが, 対照の場合の86%に比し若干低いことが認められた. しかし, これらの蛋白質のアミノ酸組成を調べた結果, そのパターンは対照, ウレイド給与区ともに大きな相違は無く, 動物に対する蛋白質栄養の質的な面においては, 細菌—原生動物群, 細菌群による作用の間に相違は認められなかった. ついで, この種のウレイド添加無蛋白合成飼料に加うるに牧草を給与すると, 原生動物の活動は再び復活した. これらの結果から, 第一胃内原生動物の生存活動には, 少なくとも牧草成分の関連する事が明らかとなった. そこで, エノコログサ, ススキ, クズ, クローバー, アカザなどのアセトン抽出区分, 脂質区分をヤギ, メンヨウに投与し, 併せて *in vitro* 法で第一胃内微生物の培養実験を行なうと, 第一胃内原生動物の分裂増殖が促進され, さらに第一胃内細菌の醗酵作用が高められ, ガス生成量が増加するのが認められた. しかし, 細菌の場合は, その菌体細胞の増殖は認められなかった. ついでその脂質区分をさらに分画した結果, その不けん化物中ステロール区分にその作用の中心の存在する事が認められ, とくにその区分中 sitosterol にその作用が高く, その中でも β -sitosterol がその本体の一部である事が確認された. したがってこれらの結果から, 第一胃内原生動物は, 第一胃内微生物群による蛋白質の生成において, 飼料中の蛋白質自体の微生物体蛋白質への転換と, 生成における量的な面にその役割を有し, その生存活動は, 牧草中のステロール類によって維持されるものと解される. また, 牧草中ステロールによって第一胃内

細菌の醗酵作用が高まり、ガス生成量が増加する事は、それによって第一胃内における酸素の分圧を低下せしめ、その結果、第一胃内原生動物の anaerobiosis を助長せしめ、第一胃内微生物活動全体を促進するものと考えられる。

質問 栗原 康 (東北大理)

1. 原生動物の数が低下したルーメン内容と正常なルーメン内容の Lysin 量に差がないのは、従来の知見と矛盾すると思われるが。

2. β -sitosterol がルーメン原生動物の増殖に貢献していることは、我々の研究からも分っているので、これは正しいと思う。

回答 高橋 直身 (明大 農)

1. この点は我々も認めている。ただ用いた NPN の材料によるのか、それとも他にそのような要因があるのか、この点に関しては、目下我々の方でも検討していません。

2. 御教示に対し深謝します。

質問 武智 辰夫 (東北大理)

N源を DUIB で置換した場合、および、乾草を添加した場合の pH の変動はどうか。

回答 高橋 直身 (明大 農)

DUIB 置換の場合：pH 6.8-7.0 濃厚飼料・乾草：pH 6.5-6.8 若干合成飼料の場合に上ります。

5 海産ゾウリムシ (*Paramecium calkinsi*) の繁殖系

宇 仁 茂 彦

大阪市立大学医学部医動物学教室

The breeding system of Paramecium calkinsi

Shigehiko Uni

Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School, Osaka

海産ゾウリムシ (*Paramecium calkinsi*) の接合型はすでに Sonneborn および Wichterman によって、1および2 syngen が発見されている。また日本において中田によって1 syngen が報告されている。しかしそれらの syngen について、詳細な繁殖系 (breeding system) の研究は明らかにされていないようである。特に本種における接合型遺伝様式については報告されていない。

筆者は、すでに報告された本種の株が現在保存されていないことから、新たに日本の各地 (長崎, 福岡, 宇和島, 高知, 徳島, 広島, 仙台) の海水および淡水域から約 250 株を採集し、それらの接合型分析をした。その結果、186 株から 1 syngen 当り 2つの相補的接合型からなる 3 syngen (6 接合型) の存在がわかった。交配反応を示さないそれ以外の株はさらに新たな syngen の存在の可能性を示すものかまたは未熟期に属するものと思われる。3 syngen 間の細胞における形態上の相違はほとんど認められないが、syngen 1 の株 Hu5 の細胞の平均体長は 132μ , syngen 2 (株 Ka2) では 148μ , syngen 3 (株 Ha10) では 114μ であった。Sonneborn (1957)

は繊毛虫における繁殖系の研究から種を論じ、多くの繊毛虫が同系交配種 (inbreeder) と異系交配種 (outbreeder) に分けられることを述べているが、それらの特徴によれば、本種 (syngen 1) は後述のように未熟期が長く、遺伝様式は synclonal であり、老衰期において自系接合 (selfing) を示すことから異系交配種と考えられる。

クロンの生活環を明らかにするために syngen 1 に属する Hu5 (接合型 I) と Hu7 (接合型 II) の交配後、 25°C で 10 クロンを継続移植法 (daily isolation method) によって培養し、接合能発現までの分裂回数と日数を測定した。この条件下で 1 細胞環の所用時間はほぼ正確に 8 時間である。すなわち 1 日当り分裂比は平均 3.1 ± 0.3 である。これらのクロンは受精直後から平均 73.8 ± 10.6 回分裂 (28.0 ± 3.4 日) までの間は全く性的反応性を示さない。その後約 20 回分裂の間にしだいに接合能は増大し、ほぼ 100% の細胞が強い接合能を発現した。その後 3~4 カ月の間安定した高い反応性を示す。その後 selfing を示す株が出現しはじめた。この結果から、*P. calkinsi*, syngen 1 のクロンでは受精後一定期間の未熟期

が存在し、その後しだいに接合能が発現し成熟期に入ることがわかった。さらに selfing の出現から老衰期の存在をも推察される。一方、接合後このような生活環の特徴を示さず、接合対解消直後から高い反応性を示すクローンが見い出されるが、これは大核再生(MR)による結果であろうと考えられる。

つぎに Uw12 (接合型 I) と Uw57 (接合型 II) の交配の際 Uw57 にはまれに selfing がおこるため中性赤 (0.000025%) によって生体染色し、これらの細胞と染色していない Uw12 の細胞とを混合し接合対を形成させた。120 接合対を単離し、その内未熟期を示す77接合対について接合型遺伝様式を調べた。細胞学的観察から本種では接合にともなう核改造によって1接合対当たり4 caryonide が得られる。約1カ月後、クローンが成熟期に達した後すべての caryonide について接合型を調べると、1接合対由来の4 caryonide についてはすべて同じであった。また syngen 1 に属する他の交配、Hu5(I) × Hu7(II), Hu2a(I) × Hu7(II) においても、すべて1接合対由来のどの細胞の cloning を行ってもそれらの接合型は同一であった。この結果は、*P. calkinsi*, syngen 1 における接合型遺伝様式は一般に synclonal であることを示している。接合は同じ遺伝子型を持つ接合完了体を産み出すと考えられるので、この synclonal uniformity を示すことは、syngen 1 における接合型は大核の遺伝子型によって直接支配されていることを示唆している。

Uw12 × Uw57 の交配の結果生じた F₁ synclone の接合型 I と II の分離比は 41 : 36 であり、これは 1 : 1 からのずれは有意であるとは言えない ($\chi^2=0.325$, $0.70 > P > 0.50$)。次にそれらの中から1クローン 92 a (接合型 II)

を選び親株 Uw12(I) と交配させ、その子孫における接合型 I, II の分離比は 28 : 29 であり、1 : 1 からのずれは有意であるとは言えない ($\chi^2=0.017$, $0.9 > P > 0.8$)。この結果から *P. calkinsi*, syngen 1 における接合型 I, II が1対の対立遺伝子によって支配されているという仮説が考えられる。すなわち Uw12(I) は劣性遺伝子 mt^1 のホモ (mt^1/mt^1)、Uw57(II) は接合型 II を決定する優性対立遺伝子+についてヘテロ ($mt^1/+$)、と考えることによって、この結果は説明されるように思われる。しかし selfing を高頻度で示す株 H201(II) の selfing によって生じた200接合対を単離したが、大核再生 (MR) の高い出現と低い生存率を示し、未熟期を有する子孫は得られていない。また selfing を示している細胞が10~20時間で細胞分裂なくして接合型 I から II へ型転換をおこす例を観察した。また接合型 I を示すいくつかの株の中にまれに selfing を示す株が見られた。これらの観察は接合型決定についての上記の仮説の外に補助因子の存在をも考えなければならないかもしれない。

質問 茗原 宏爾 (東北大 理)

1. selfing clone は synclonal におこるか、caryonidal におこるか。
2. mating type I における selfing は型変わりなのかどうか。

回答 宇仁 茂彦 (大阪市大 医)

1. 少数例の観察であるが synclonal の例を見た。
2. mating type II のクローンではしばしば selfing を観察したが、mating type I のクローンでは非常に少数例しか見つかっていないので、型変わりかどうかについては調べておりません。

6. テトラヒメナの不完全分裂と分裂との関係

渡辺良雄

国立予防衛生研究所病理部

Relation between cell division and abortive cell division in Tetrahymena pyriformis

Yoshio Watanabe

Department of Pathology, National Institute of Health, Tokyo

テトラヒメナは完全合成培地からアミノ酸を欠如させると、RNA 合成や蛋白合成は可成りの程度持続的に起るのに DNA 合成は欠如後急速に停止する。そして細胞分裂も行われなくなりそれに代って不完全分裂とみなされる球形化が周期的に起るようになる。完全合成培地では温度処理で同調分裂が誘導されるに対して、アミノ酸欠如培地では同じ温度処理で同調分裂が誘導される時期に同調球形化が観察される。

アミノ酸による DNA 合成の制御機構を明らかにするため cell-free 系で DNA polymerase の活性の性状を検討した。対数期の細胞のホモジェネートやトルエン処理細胞で、DNA polymerase 活性を調べたところ、この標品では、exogenous template DNA の要求性が少ないこと、ATP generation 系の添加で活性が約10倍になること、sub-lethal な高温で活性が極度に低下することなどの性質があり、トルエン処理大腸菌で認められる如く、DNA 複製に関する生体内のユニットを比較的よく保有していることが判明した。この様な標品を用いて、アミノ酸欠如下においた細胞の活性を測定してみると、生体の DNA 合成能の消失に呼応して酵素活性が失われることがわかった。この消失は標品中の DNase の賦活でも polymerase inhibitor の活性化にもよっておらず、DNA polymerase 又はその関連因子の消失または失活によると考えられる。同様な標品で RNA polymerase の活性を測定したところ、アミノ酸欠如下において対数期の細胞の約40%の活性が維持されており、アミノ酸欠如の効果が特に DNA 合成系に重大な影響を及ぼすことを知った。

次にアミノ酸欠乏細胞にアミノ酸を再添加した時の DNA 合成と細胞分裂（細胞増殖）の状態を検討した。対数期の細胞をアミノ酸欠如合成培地に移し不完全分裂

がランダムに起っている系にアミノ酸を添加すると約3時間のラグの後に DNA 合成が開始され一定の率でその後合成が続く。一方細胞分裂は約6時間後に再開し細胞数は添加後6時から12時間までに直線的に2倍になった。不完全分裂を温度処理で同調させ同調球形化時にアミノ酸を再添加しても上と全く同じ結果が得られた。

このことは、細胞の分裂の前提条件として DNA 合成が必須で、たとえ細胞の周期的な活動のリズムを描えても、DNA 合成系に依存して分裂が起ることを暗示している。分裂サイクルでは細胞分裂への周期的活動が DNA 合成サイクルと共軛しているらしいが、不完全分裂系では両サイクルは独立的になっているらしく、アミノ酸添加後再び DNA 合成サイクルに依存した形で両サイクルが共軛的になるらしい。

DNA 合成系が活性化されると球形化を起す時点でも球形化が現われない。すなわち、一度 DNA 合成系が動き出すと不完全分裂のサイクルは抑制されることが示された。アミノ酸欠乏細胞にアミノ酸を添加後経時的に DNA polymerase 活性を測定すると、細胞の DNA 合成回復と並行して活性が回復することが判明した。この DNA 合成の回復にはアミノ酸添加後に起る蛋白合成が必須であった。また DNA 合成の回復は、temperature-sensitive であり、アミノ酸添加しても同調用の高温処理を行うと DNA 合成の回復は起らない。そしてこの条件下ではアミノ酸存在下にも拘らず不完全分裂が同調的に起ってしまう。以上述べたごとく、不完全分裂はアミノ酸欠如下で DNA polymerase またはその関連因子の欠除によって DNA 合成が停止した場合に限り、DNA 合成サイクルと細胞の周期的活動のサイクルが共軛的でなくなり、細胞のある種の周期的サイクルのみが廻ると考えられる。

DNA 合成系の活性化が起ると、停止していた DNA 合成サイクルが廻りはじめ、細胞の周期的活動は DNA 合成サイクルに全く依存する形となり、DNA 合成後一定時間後に分裂が現れる。したがって不完全分裂サイクルと分裂サイクルとの関係に介在する DNA 合成は重要な意義を持っているといえる。アミノ酸再添加後に起る DNA 合成は不思議なことに初期にはすべての細胞の細胞質に起ることが³H-チミジンのオートラジオグラフィで判明した。ひきつづき核にグレインを持つ細胞の数が増加するが、このような DNA 合成と分裂の関係は今の所不明である。しかし細胞質の DNA 合成は明らかに

核の DNA 合成制御機構と違っており、今後さらに検討されねばならぬ問題であると思う。

質問 竹内 勤 (慶大 医)

どういふアミノ酸がもっとも DNA 合成の回復に対して効果があるか。一種類でも効果があるか。

回答 渡辺 良雄 (予研 病理)

テトラヒメナの合成培地中に16種のアミノ酸が入っているが、そのうち1種を欠如した場合にも同様なアミノ酸欠如による不完全分裂が起り、それは今のところ16種のうち9種のアミノ酸でおこる。DNA 合成は欠如アミノ酸を加えれば同様な効果で回復する。

7 各種アメーバの運動

石井 圭一, 菅野 文和, 堀上 英紀

法政大学教養部生物学教室

Modes of several amoeboid movement

Keiichi Ishii, Fumikazu Kanno and Hideki Horikami

Laboratory of Biology, Hosei University, Tokyo

アメーバ運動は細胞内部のゾル・ゲルの相互転換をとまなう原形質流動の循環系による内部ゲルの付加成長的移動と、それらを力源とした細胞の変形・移動の2つの問題に大別することができる。今まで、主として *Amoeba proteus* を材料として得た前者の機構に関する知見によってプロテウス型以外の運動様式をとるアメーバの種々の細胞の変形・移動がどの程度説明できるか検討した。

糸状偽足は従来、内部に対向流があること、顆粒を含む明瞭なゲル構造が認められないこと、その偽足先端部が尖端で終っている点などで、明らかにプロテウス型などの有する葉状偽足と区別され、アメーバ分類上の標徴の1つにもなってきた。しかし今回カリウムイオンを外部から作用させることによって、プロテウス型のアメーバで糸状偽足を形成させることができ、その形成・伸長の機構は、葉状偽足とよく似ていることが判った。また *Dinamoeba*, *Mayorella*, *Radiosa* や有殻アメーバでは、葉

状偽足と糸状偽足の間型もみられ、本来葉状偽足と糸状偽足とは中間型によって移行できるものらしいことが判った。

また葉状偽足も種によって運動様式は非常にちがっていて、偽足のくびれ運動、交互ふん出運動 (赤痢アメーバ)、片側ふん出による偽足形成 (*Limicola* 型)、ジグザグ運動 (*Limax* 型)、巾の広い葉状偽足で行われる典型的なふん出運動 (*Arcella* 型)、単一偽足の直進泉流運動 (*Limax* 型)、マガタマ状の非対称泉流 (*Limax* 型) など、非常に変化のあるアメーバ運動がみられる。

細胞を切断して体積を縮小させる方法、油層上を歩かせる方法、カルシウムイオンを外部から多量に与える方法、などの組合せによってプロテウス型アメーバで人工的に誘導することが可能であることが判明した。したがって上記諸様式はいずれも同様の機構の存在の可能性を示すものであることが判った。

8 赤痢アメーバ栄養体の染色法の再検討と休止核内核酸の分布に関する細胞化学的研究

小山 力, 熊田 三由, 小向 三郎, 権丈 真弓, 古田 幸子
国立予防衛生研究所寄生虫部

Reexaminations of staining methods on Entamoeba histolytica trophozoites and cytochemical studies on the distribution of nucleic acids in the interphase nucleus

Tsutomu Koyama, Mitsuyoshi Kumada, Saburo Komukai, Mayumi Kenjo and Sachiko Furuta
Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo

従来、本原虫の検査には、Schaudinn 固定 (Sch)-Heidenhain 鉄 haematoxylin 染色 (HH) による核構造の精査が一般的におこなわれていて、Giemsa 染色(G)が本原虫に用いられることはなかった。後者は、方法として簡便なので、近年開発された電子顕微鏡用固定液のこの方面への適用を加味して再検討した。虫体は、*Entamoeba histolytica* La2 株で、田辺・千葉の培地により25℃で培養し、培養5～8日の interphase trophozoites を使用した。Sch または Carnoy 固定(C)-Gは、乾燥—methanol 固定—Gより細胞質の荒れがすくないが、核内分別はやや悪く、glutaraldehyde 固定 (Glu) の場合は、スライドガラスから虫体が剝離しやすい。また核と細胞質の分別はよいが、核内分別はよくなく、この傾向は、OsO₄ 蒸気固定 (OsO₄) の際にもみられる。HH の場合における核内分別は、Glu および OsO₄ で悪く、Sch, C で良い。Sch あるいは C-HH では、G のいずれのものよりも、コントラスト強く、結局、本研究の範囲では、核構造をもとにした各種アメーバの同定鑑別には、従来の Sch-HH か C-HH が優れていると考えられた。Glu や OsO₄ などは、ともに artifact がすくなく、細胞構造をよく保存する優れた固定剤ではあるが、核内分別度においては、いずれも、Sch, C などにおよばなかった。これは、Glu, OsO₄ などの核質固定作用が比較的弱いことによるものと推定している。

次に、本原虫の休止核内核酸の分布に関する細胞化学的研究においては、従来の Sch-HH により認める特異な核構造、すなわち、核膜内面の chromatin 顆粒や endosome などと、核酸分布との関係を追究した。固定液として Glu, OsO₄, Sch, C, 染色液として pyronin-

methyl-green 液と Feulgen 試薬を用い、無処理群のほか、RNase 処理群、DNase 処理群などを併置した。以上の各種固定—染色法の組合せにより検討の結果、RNA 成分は、従来 Sch-HH で認められてきた chromatin 顆粒部に、DNA 成分は、nuclear matrix 部と endosome 部に認められ、nuclear matrix 部および endosome 部における RNA の存在と、chromatin 顆粒部における DNA の存在は、この研究の範囲では確認できなかった。微量ながら存在するものか、低重合化のために染色されなかったものかについては、別の検討が必要である。今まで、Sch-HH の処置で出現する核膜内面の chromatin 顆粒や、endosome などの構造は、一種の artifact ではないかと考えられてきた。しかし、*Entamoeba histolytica* や *E. invadens* などにおける最近の電顕的検討 (Miller et al., 1961; Siddiqui & Rudzinska, 1965; El-Hashimi & Pittman, 1970; Lowe & Maegraith, 1970 a, b; Rosenbaum & Wittner, 1970) により、核周辺部に electron dense な顆粒塊があり、これは光顕レベルの核膜内面の chromatin 顆粒に相当する、また、endosome は、核中央部に存在し、小粒子からなる electron dense な塊が多数集合したもので、光顕レベルで通常認められるような単一顆粒体ではないなどが明らかにされた。したがって、近年では、Sch-HH で認められる核内構造は、実際に存在する構造ではないかと考えられるに至っている。本原虫核にたいしての細胞化学的研究は、比較的すくないが、Pan & Geiman (1955) は、Feulgen 反応で、DNA の存在を endosome 部に認めているが、nuclear matrix 部における DNA の存在には触れていない。また、toluidine blue-methyl-green

染色で、核膜内面の chromatin 顆粒部に RNA を検出しているが、この点は著者らの結果とよく一致している。Siddiqui & Rudzinska (1965) は、*E. invadens* の trophozoites で OsO₄ 固定後、methacrylate 包埋し、2 μ の切片としてから Feulgen 反応を試みて、核周辺部の chromatin 物質と endosome は反応陽性であるとしている。核周辺部に DNA が存在するという結果は、著者らのものや、Pan & Geiman のものと異なるが、虫種が異なること、方法に差異のあることなどから、さらに検討の必要があろう。また、こうした特異な核酸分布のもとでの核分裂は、DNA および RNA の動向を中心として極めて興味ある問題であり、今後この方面の追究を試みる予定である。

質問 赤尾 信吉 (慶大 医)

Entamoeba histolytica の電顕写真を 2~3 観察しましたが、その中の 1 つに核質中に結晶状の構造物を認めました。このような substance について何か知見がありましたら御教示下さい。

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

電顕的検討ははまだ結果がでていませんので御説明できません。同じような構造物を認めた文献はかなり出ておりますが、性状についてはまだわかっていないよう

です。

質問 伊藤 義博 (徳島大 医)

核膜内側に観察されました RNA は、他の細胞に見られます核外膜細胞質側の ribosomal RNA と考えられますが、

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

最近の多くの電顕的解析からそうした考えは否定的だと思います。それらの像をみますと、核膜の外側に ribosome の附着は認められませんし、核膜内面の chromatin 物質は electron dense な像として核内にかなり拡散して伸びているからです。

質問 角田 清 (家衛試)

1. Schaudinn 固定液は加える acetic acid によって核の染色がことなるといわれていますが、検討されていますか。

2. acridin-orange 染色で蛍光顕微鏡で観察していますか。

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

1. 特に検討していません、アメーバ類の検査同定のための簡易な手法を得ようというのが目的なので通常の処方によっています。

2. まだ観察していません。

9 *Trypanosoma cruzi* の発育史の再検討

猪木 正三, ワルニー・スクスリー

大阪大学微生物病研究所原虫学部

Reexamination of life cycle in Trypanosoma cruzi

Shozo Inoki and Varunee Sooksri

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Suita

T. cruzi はサシガメ類によって媒介される一種の鞭毛虫で、中・南米のシャーガス病の病原体である。この原虫の発育はアフリカ睡眠病病原体の *T. gambiense* や *T. rhodesiense* と異なり、trypomastigote 型では分裂増殖できず、ヒトの体内では細胞内で、しかも amastigote 型として、またサシガメの体内では消化管内で epimastigote 型として分裂するというのが、一般常識となっている。しかし、この発育史を電顕レベルで追ってみると、そこに多くの疑問点が浮びあがる。

さきにわれわれは、組織培養中の HeLa 細胞に培養原虫 (epimastigote 型) を加え、その HeLa 細胞内への侵入、侵入後の発育を電顕で仔細に観察し、宿主細胞内への侵入は trypomastigote 型で、侵入後の発育は epimastigote 型で行われることを明らかにした。さらにこの実験において少くとも *Trypanosoma* 属の原虫には、厳密な意味での amastigote 型が存在しないのではないかという推論を得た。そこで今回は in vitro の実験を、感染マウスを用いて in vivo に移し、同様な電顕観察

を試みたところ、全く *in vitro* の成績と一致し、細胞内での増殖は *epimastigote* 型のみで行われることを確認した。

したがって、同じ方法で *Leishmania* 属の原虫の發育史を再検討する必要を痛感した。

本研究には強毒の Tulahuén 株が使用され、發育型の鑑別には kinetoplast の微細構造（とくに kinetoplast fiber の形態）が有効に利用された。

質問 竹内 勤（慶大 医）

形態変化とキネトプラストの変化とどちらが先かキネトプラストと核との関連を示すような構造物が見られるか。

回答 猪木 正三（阪大 微研）

1. どちらが先かわかりません。その決定は大変むずかしい問題だと思います。

2. キネトプラストと鞭毛基始部とを連絡する細管を観察していますが、核と連絡する構造物は見られないようです。

質問 小山 力（予研 寄生虫）

Leishmania donovani の *leishmania* 型虫体でも同じようなことが考えられるのでしょうか。

回答 猪木 正三（阪大 微研）

1. 恐らく同じように考えられると思いますが、今後の検討に待たねばなりません。

2. さきに小山さんに動物感染性の *Leishmania donovani* 株をお願いしたのも、そのためでした。

10 マウス感染 *Trypanosoma gambiense* に対する人血清および acriflavine の効果、特に宿主細胞と原虫との interaction に対する電子顕微鏡的観察

小野 忠相, 猪木 正三

大阪大学微生物病研究所原虫学部

The effects of human serum and acriflavine on the interaction between host cell and parasite in Trypanosoma gambiense infected mice as observed by electron microscopy

Tadasuke Ono and Shozo Inoki

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Suita

Trypanosoma gambiense はヒトの睡眠病の病原体であるが、長年、マウスに継代を続けるとヒトに対する病原性を失い、逆に人血清によって感染マウスが治癒する。この現象は古くから知られており、従来、多くの人々が人血清中の有効成分の抽出、その作用機序の解明に関する実験を行なっているが、未だ成功していない。人血清の作用として、人血清は *in vitro* では殺トリパノソーマ作用がないが、*in vivo* では直接、トリパノソーマを殺す作用があらわれるのか、あるいは殺トリパノソーマ作用は直接的ではなく、原虫と抗体産生細胞との interaction に関与し、抗体産生を促すことによって二次的にトリパノソーマが殺され、マウスが治癒するのかがということが問題となる。そこでこの実験では *T. gambiense* 感染マウスに人血清を注射したのち、原虫および腹水細

胞がどのような反応を示すか、また、直接トリパノソーマを殺すと思われる acriflavine ではどうかなどを光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡で検討した。*T. gambiense* 感染マウスの腹腔内に人血清 1 ml を注射し、20分後の光顕像において、一部の原虫がマクロファージに吸着しているのがみられ、電顕でみたところ原虫は腹水細胞内に入っているのがみられ、原虫のまわりには cytoplasmic membrane が認められた。1時間後においては phagosome の中に多数の lysosome が入り、原虫を lysis させている像がみられ、一方、原虫の侵入とともに細胞全体が lysis し、細胞が多数の大小不同の vesicles の集まりのように見える細胞も存在した。6時間後では原虫の隣界が認められないものが多く、原虫が入っていたと思われる phagosome は大きくなり、さらにまわりの

cytoplasm が種々な程度に lysis し、それらが融合して隣り不明瞭な大きな空胞に変化していた。人血清ではこのように原虫と腹水細胞との間に interaction がみられたので、つぎに直接、トリパノソーマを殺すと思われる acriflavine の効果を調べた。これは *T. gambiense* 感染 3 日後のマウスの腹腔内に acriflavine 10 γ /g マウス量を注射する方法によって行なったが、やはり注射 20 分後の電顕像で腹水細胞内に原虫が認められ、原虫の内部には vesicles あるいは膜状構造が多くみられた。しかし、人血清の場合と違って、原虫をとり込んだ腹水細胞の変化は少く、lysosome の増加もわずかであり、原虫をとりまく cytoplasm にも変性、融解の像はあまりみられなかった。6 時間後でもほぼ同じであり、phagocyte された原虫の変性のみが進み、小さな層状構造の集まりが腹水細胞の cytoplasm 中にみられた。このように、人血清、acriflavine のいずれの場合も原虫はかなり早期に腹水細胞の中に取り込まれるが、人血清では原虫が細胞にとり込まれたのち、細胞側の反応が強いことがわかった。つぎに、in vivo で抗体存在下でおこる phagocytosis の電顕像を調べ、上記の所見と比較した。抗体は 2 種類、すなわち人血清での治療後の抗体と acriflavine での治療後の抗体を用いたが、前者では好酸球による

phagocytosis が顕著であり、また、多くのマクロファージが融合して巨大細胞の形成される像がみられた。後者の抗体でも phagocyte した原虫を接着点としたような状態で 3~4 個のマクロファージの融合がみられたが、前者の場合のような大きな融合はみられなかった。

以上のごとく、人血清、acriflavine および抗体の注射などによって、腹水中のトリパノソーマ原虫はかなり早期にマクロファージの phagocytosis を受けるが、その電顕像には違いがみられた。人血清を注射した場合には phagocytosis を行なった細胞の側での変化が大きく、腹水中および血液中よりの原虫消失が人血清注射後約 8~10 時間頃より急激におこることなどを考慮すると人血清の殺トリパノソーマ作用は間接作用が大きな役割を演じているのではないかと想像される。

質問 渡辺 良雄 (予研 病理)

人血漿の効果に関して具体的になにをお考えですか?

回答 小野 忠相 (阪大 微研)

人血清は in vitro では殺トリパノソーマ作用がなく in vivo では原虫と腹水細胞との interaction に関与し、抗体産生を促すことによって感染マウスを治癒させるのではないかと考えます。

11 *Trypanosoma gambiense* 感染家兎血清中にみられる正常中枢神経組織に対する自己抗体について

神原 広二, 猪木 正三
大阪大学微生物病研究所原虫学部

The presence of auto-antibody to normal central nervous tissues in rabbits infected with Trypanosoma gambiense

Hiroji Kambara and Shozo Inoki

Department of Protozoology, Research Institute of Microbial Diseases, Osaka University, Suita

アフリカにおける睡眠病の中枢系障害の要因の一つとして、自己免疫機構の存在を予想し、1971年1月より1ケ年にわたり、西アフリカ、ナイジェリアにおいて人トリパノソーマ症患者の血清抗体について研究した。その結果患者血清中に正常ラット脳抽出液を抗原としたとき、間接赤血球凝集反応により、抗体価は低いが陽性所

見が認められた。

今回は家兎に *T. gambiense* を感染させ、その血清中に出現する正常家兎脳組織に対する自己抗体を追求した。三匹の家兎に $2 \sim 5 \times 10^6$ のトリパノソーマ原虫を感染させた。その内1匹は感染の早い時期(27日目)に死亡したのでこの実験より除外。他の感染家兎の一方は79

日目、他方は132日目に全採血を行こない、各臓器を組織学的観察に用いた。この感染実験中を通じて感染後2週目より0.5ccの血液をマウスに注射することにより parasitemia の有無を検査したが、すべて原虫陽性であった。79日目に全採血された血清の一部に常用手段により螢光色素標識を行ない、感染および非感染家兎のいろいろな臓器の直接染色を行なった。この結果感染家兎の皮膚病巣における *Trypanosoma* 原虫が染色されるほか、感染、非感染両者の脳脊髄白質部が特異的に染色された。この染色能は脊髄ホモゲネートおよび *T. gambiense* ホモゲネートにより吸収される。

一方脊髄ホモゲネートと感染後17日目、79日目に採血した血清、他の感染家兎より132日目の血清を働かせた後

0.2M glycine-HCl buffer (pH 2.4) にて分離した中枢組織に対する抗体を家兎全血清に対する山羊血清および家兎 IgG に対するラット血清を用いて免疫電気泳動を行ない、この抗体は主に IgG 抗体であることが判明した。これらの結果と感染家兎の組織学的所見は、感染家兎においては、皮膚病巣において強い組織アレルギーの存在を示すと共に、中枢組織に対する自己抗体の存在は、感染家兎では中枢障害を引き起こすことが出来なかったが、アフリカ人トリパノソーマ症が、1年以上もの長期感染のうちに中枢障害を引き起こす事実と考え合わせると非常に興味深い結果である。またこの抗体がトリパノソーマ抗原で吸収されることは、トリパノソーマと中枢組織抗原との共通抗原の存在が考えられ合わせて興味深い。

12 *Trypanosoma cruzi* における酸フォスファターゼの電顕細胞化学的証明

赤尾 信吉

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Ultramicroscopic studies of the localization of acid phosphatase in Trypanosoma cruzi

Shinkichi Akao

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

Trypanosoma cruzi における acid phosphatase の局在を証明し、その生理上の意義と organella との関係明らかにすることを目的として本実験を行った。原虫類における acid phosphatase の証明は光顕的な方法では幾つかの報告があるが電顕細胞化学による報告は少ない。*Trypanosoma* における報告は Brooker & Vickerman (1964) 等が *T. brucei* について acid phosphatase 活性があることを簡単に記述している。一方 Steinert & Novikoff (1960) は ferritin を用いて *Trypanosoma* に pinocytosis が起ることを電顕で証明した。しかしながらその vacuole 中の顆粒については lysosome であろうと推察したのみに止まっている。これに対し Brooker & Vickerman (1964) は Gomori 法による acid phosphatase 証明を行い、これが lysosome であることを報告したが、他の organella との関係やその生理的意義については触れていない。よって本実験ではこれらの点についてさらに検討することを試みた。

実験方法. 実験に用いた試料は Liver Infusion Tryp-
tose にて培養 (5~7 日間) した虫体を実験材料とした。虫体を遠心にて集め沈渣とし生理的食塩水にて遠心洗滌を施し、その沈渣を 2.5% glutaraldehyde にて前固定した。前固定後、Tris-maleate buffer (pH 5.0) で再び遠心洗滌し次の基質液にて酵素反応を行なった。

酵素反応液 Barka & Anderson (1962)

1.25%	Sodium β -glycerophosphate	10ml
0.2M	Tris-maleate buffer (pH 5.0)	10ml
0.2%	lead nitrate	20ml
	aq. dest. water	10ml

対照実験としては基質を除いたものと酵素阻害剤である sodium fluorid 2mM を添加したものを用意し各々行なった。反応時時間は15~30分とし37°C温浴法で行った。反応終了後、Tris-maleate buffer (pH 5.0) にて洗滌した後1% osmic acid にて後固定を行なった。固定後、alcohol 脱水, epon 包埋, 超薄切片とした。なお電子染色は鉛

法は行なわず, uranyl acetate 法のみを施し電顕 (HU-113) にて観察撮影した。

結果および考察. acid phosphatase 活性の観察された場所は虫体内 vacuole, lysosome 顆粒, Golgi area, 虫体細胞膜周囲 (特に microtubules), 鞭毛周囲および鞭毛基部の reservoir 付近である. その他 kinetoplast にもやや弱い活性が認められた. reservoir 付近の vacuole は初めは小さな vesicle を形成しているが, これらの内側にかなり強い酵素反応を示している. 虫体細胞質内の vacuole は先に述べた vesicle が発達し phagosome に成長したものと考えられ, この内側にも強い酵素活性が認められている. さらに phagosome と lysosome が phagolysosome を形成している場合にはともに強い酵素反応が認められている. 虫体細胞膜周囲の酵素反応は主に虫体細胞膜下の microtubules に活性が認められたが細胞膜上の cytosol は観察されなかった. kinetoplast における反応は他の反応部位と比較してかなり弱く一部分にしか認められないことから他の phosphatase 群による非特異的の反応と考える. *T. cruzi* における vacuole の形成は鞭毛基部の reservoir から行なわれることが判ったが, Brooker & Vickerman (1964) 等も *T. brucei* を用いた実験で reservoir 付近に強い acid phosphatase 活性のあることを認めている. また, *Trypanosoma* における pinocytosis は Steinert & Novikoff (1960) が ferritin を用いて電顕により観察している. さらに彼等は鞭毛基部に inclusion bodies があるがこれを lysosome であろうことを示唆している. 本実験では幾つかの dense body すなわち lysosome に強い酵素反応のあることを観察している. 以上のことから *T. cruzi* における phagosome の幾つかは autophagosome に分類されるものと考え. 一方 Steinert & Novikoff (1960) 等の報告した inclusion bodies は phagosome に取り込まれた lysosome を観察したものであろう. *T. cruzi* におけるこのような phagosome 形成過程は大橋 (1972) が

Trichomonas vaginalis において acid phosphatase を観察した結果と良く似ている. しかし *T. vaginalis* における pinocytosis は不定の個所で起り細胞膜には酵素活性を認めていない. この相違は microtubule の有無, 培養条件等によるのかも知れない. 一方著者 (1971) は *Toxoplasma gondii* における acid phosphatase を証明したが, その中で一部の lysosome が phagosome と一緒になり phagolysosome を形成する過程を報告している. またその細胞膜下にも酵素活性のあることを報告した. この点を本実験結果と比較すると *T. cruzi* では microtubule に強い acid phosphatase 活性を示している. 同じような反応は Sommer (1965) が鞭毛虫類の *Euglena gracilis* の pellicular ridge に酵素反応のあることを認めている. このようなことから *T. cruzi* の細胞膜は (特に microtubule) lysosome と共に多くの加水分解反応に関与しているものと考え.

質問 小山 力 (予研 寄生虫)

1. 使用虫体は crithidia 型と思いますが,

2. *Toxoplasma* の dense body とこの虫体の dense-body とは酸フォスファターゼの性質の上で相異点がありますか, また *Trypanosoma cruzi* の dense body は lysosome と考えてよろしいでしょうか.

回答 赤尾 信吉 (慶大 医)

1. 実験に用いた試料は Liver Infusion Medium にて培養したものです. 大部分は crithidia form です.

2. *Toxoplasma* にも dense body が観察されますがこれは明らかに phagosome に関与する lysosome で, その周囲膜にも acid phosphatase 活性が認められています. これに対し *Trypanosoma* における dense body は全体に acid phos. 活性が認められますが, やはり lysosome と考えて良いと思います. 何れも phagosome に関与し, その一部は phagolysosome を形成するようです.

13 マウス実験トリコモナス症に対する特異抵抗性誘導に関する研究

林 弘三, 林 宣子, 岡 好万

徳島大学養護教諭養成所

古谷 正人, 土肥 美代子, 尾崎 文雄

徳島大学医学部寄生虫学教室

*Acquirement of specific resistance to experimental trichomoniasis in mice**Hiromi Hayashi, Noriko Hayashi and Yoshikazu Oka**Training School for Nurse Teachers, Tokushima University, Tokushima**Masato Furuya, Miyoko Doi and Humio Osaki**Department of Parasitology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima*

いくつかの細菌および原生動物の ribosomal preparations が実験感染症において防御抗原となりうるという記録がある。われわれは寄生性原虫 *Trichomonas foetus* (Tf) を材料にして、マウス実験トリコモナス症における“防御免疫”成立の機序を追求してきた。そして、Tf の crude ribosome に防御抗原能を認め、その詳細をたびたび公表した。今回は精製した Tf-ribosome およびその構成素材である ribosomal protein と ribosomal RNA の3つの preparations について防御抗原情報の存在の有無を調べた。さらに、この“防御免疫”の成立には細胞性免疫が主たる役割を演じていると考えているが、“防御免疫”成立後の致死の再感染に対して、液性抗体が原虫に及ぼす影響についても検討した。

洗浄虫体を teflon homogenizer で温和に破壊したのち、遠心分画法によって精製した Tf-ribosome に complete adjuvant を添加したもの、添加しないものを抗原として1カ月令の18~20g の DDy 系マウスの腹腔内に免疫感作を施した。3週後にマウス当り Tf 生原虫 $3 \sim 3.5 \times 10^7$ の致死の感染を施し、その後30日間観察した。その結果、Tf-ribosome+adjuvant 免疫群にのみ生残マウスが得られ、Tf-ribosome 免疫群は無処理の対照群と全く同じであった。このことは、“防御免疫”成立に adjuvant 効果を必要とするけれども、Tf-ribosome に有効な防御抗原情報が存在することを示している。

ribosome に存在する上記の防御抗原性が ribosome を構成する protein あるいは RNA のいずれに存在するかという問題について検討を加えた。すなわち、Tf-ribosome の RNase 処理によって得た crude ribosomal

protein (r-protein) および phenol 抽出法によって得た ribosomal RNA (r-RNA) をそれぞれ抗原として実験した。その結果、いずれの実験においても adjuvant を添加した場合にのみ生残するマウスがみられ、r-protein 免疫群では $9.1 \mu\text{g}$ protein (RNA $0.25 \mu\text{g}$ を含む) 免疫感作でほとんどのマウスが生残した。これに対し、r-RNA 免疫群では $685 \mu\text{g}$ RNA (protein $24 \mu\text{g}$ を含む) で約73%、 $68.5 \mu\text{g}$ RNA (protein $2.4 \mu\text{g}$ を含む) では約56%しか生残しなかった。それに加えて、RNA 免疫群の耐過生残例のなかには、腹水の貯留と、その中に多数の活動原虫を認めるものがかなりの比率で存在した。この結果は、防御抗原情報が r-RNA よりも r-protein に局在していることを示唆しているが、それぞれの画分に混入している protein または RNA の影響などさらに詳細な検討が必要と考える。

他方、宿主の Tf 清掃作用に血清抗体がどのように働くかを追求する目的で、血清抗体の原虫増殖に及ぼす影響を in vitro で追跡した。マウス免疫血清は、生原虫ならびに細胞分画物の homogenate, soluble protein fraction (SPF) および microsomal fraction (MF) をそれぞれ注射し3週後に採血して得た。被検血清は非動化処理と未処理グループに分けて使用した。原虫増殖抑制効果の判定は MEM に血清が最終濃度8%になるよう添加した反応液を用い、相対的増殖比 (RGR) を求めることによって比較検討した。RGR は (一定時間反応後の生原虫数/反応開始時の原虫数) の式によって得た。その結果、1) 非動化処理グループの反応24時間目の RGR は生虫, homogenate, MF, SPF 免疫血清の順で、それ

ぞれ 3.6 ± 0.6 , 5.0 ± 0.6 , 5.2 ± 0.9 , 5.7 ± 0.8 であった。非動化未処理グループも増殖抑制効果の順は非動化グループと同じで、それぞれ 2.5 ± 0.2 , 3.9 ± 0.1 , 4.0 ± 0.8 , 5.0 ± 1.0 であった。一方、対照血清のそれは前者が 5.9 ± 1.1 , 後者が 4.1 ± 0.4 であった。以上の結果から、血清の Tf 増殖に及ぼす影響を非動化処理の有無に関して比較すると、非動化未処理グループ血清が有意な差をもって原虫増殖を抑制することが考えられる。

2) 免疫血清間では homogenate, MF, SPF 免疫血清の RGR は対照血清のほぼ同じ値を示したのに対して、生虫免疫血清は対照血清に比べ有意な差をもって原虫増殖を抑制することがわかった。3) これら免疫血清の抗体

価を赤血球凝集反応によって測定した結果、SPE 免疫血清が 8,192 倍以上の高い抗体価を示し、他のものは 2,048 ~ 4,096 倍であった。しかしながら、この抗体価と RGR との間には相関は存在しなかった。

以上の結果から、生虫免疫血清にかなりの原虫増殖抑制効力が存在することが判明したが、RGR の値が 1 以上であることは、血清抗体が強力な殺原虫力を発揮していないことを示唆している。宿主体内において血清抗体が単独で攻撃原虫を清掃していることは考えにくく、むしろ原虫を凝塊させ、他の細胞性抗体の発現を補助しているように考えられる。

14 トキソプラズマにおける偏性細胞内寄生機構についての一考察

竹内 勤

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Studies on the mechanism of obligate intracellular parasitism in Toxoplasma gondii

Tsutomu Takeuchi

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

トキソプラズマにおける偏性細胞内寄生現象の解明のため、マウス腹水より純粋分離した RH 株増殖型虫体を用いて種々の実験を行ない、以下に述べるような結果を得た。(1) グルコースからのピルビン酸の形成は確かに見られ、種々の cofactor——マグネシウムイオン、カリウムイオン、アデニン、ヌクレオチドなど——によって活性化または阻害をうける。(2) ピルビン酸キナーゼ、および乳酸脱水素酵素の活性が見られた。ピルビン酸キナーゼはマグネシウム、およびカリウムイオンの存在下で最大活性を示したが、一方のみの存在下ではマグネシウム存在下の方が高い活性を示した。乳酸脱水素酵素は ADP によって活性化され、ADP、および無機リンの共存下で完全に阻害された。ADP、およびマグネシウムイオンの共存下で最大活性が見られた。(3) グルコース 6 リン酸脱水素酵素はきわめて高い活性を示した。(4) Acetyl Co A の形成がほとんど見られなかった。(5) ピルビン酸脱水素酵素の活性も低く、これはピルビン酸の消費実験からも推測された。(6) Coenzyme A

の形成は確かに見られ、マンガンイオンの存在下で最高の形成量が見られた。(7) NAD、および NADP の生成はカリウムイオン 150mM の存在下で最高に促進された。合成系路としてはトリプトファン、およびニコチン酸からはほとんど無視し得る量のみしか形成されず、ニコチン酸アミドのみから形成された。(8) NAD pyrophosphorylase、および NAD kinase の活性も見られ、ニコチン酸アミドからの NAD、NADP 合成はおそらく従来知られている、ニコチン酸アミド \rightarrow NMN \rightarrow NAD \rightarrow NADP の系路を通るものと推測された。(9) endogenous messenger RNA directed のアミノ酸のとり込みは NAD、NADP 合成の場合と同様、150mM のカリウムイオンの存在下で著明に促進された。(10) 細胞外にあるトキソプラズマの 30,000 \times g 上清、および 105,000 \times g 上清ではカリウムイオンよりナトリウムイオンの方が多いことが推測された。(11) リンゴ酸、クエン酸などの TCA 回路の中間体からの ATP 合成も確かに見られ、TCA 回路がおそらく存在するであろうことを推測させ

た。(12) コハク酸, および NADH よりの ATP 合成はカリウムイオン 15mM の存在によって促進された。(13) ピルビン酸カルボキシラーゼ, ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ, リンゴ酸脱水素酵素 (decarboxylating) および glutamic oxaloacetic transaminase の活性が見られた。

以上の実験結果, およびその他, 当教室で行なわれた種々の実験からトキソプラズマにおける偏性細胞内寄生のメカニズムを次のように考えている。すなわち NAD 合成, および endogenous messenger RNA directed のアミノ酸のとり込みに対してはナトリウムイオンは全く効果がなく, 細胞外にあるトキソプラズマ虫体内ではおそらくナトリウムイオンの方がカリウムイオンより多い

ことから, トキソプラズマが宿主細胞をなんらかのメカニズムで認識して細胞内に侵入すると宿主細胞内に多くあるカリウムイオンとトキソプラズマ虫体内のナトリウムイオンとの exchange がおこり, その結果, NAD, NADP, ATP, 蛋白合成系路が switch on されて, トキソプラズマ虫体の分裂にむかうと推察される。

さらに, ニコチン酸アミドは高等動物では diet から摂取されるものであり, トキソプラズマがニコチン酸アミドからのみ NAD, および NADP を合成することが可能という事実は, トキソプラズマがニコチン酸アミドを宿主細胞よりとっているであろうことを示唆するものと思われる。

15 実験 *Toxoplasma* 症の研究 マウスにおける oocyst 攻撃に対する能動および受動免疫の効果

伊藤 義博, 古谷 正人, 土肥 美代子, 林 弘三, 岡 好万, 尾崎 文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

On experimental toxoplasmosis. Protective effects of active and passive immunizations to the challenge of oocysts in mice

Yoshihiro Ito, Masato Furuya, Miyoko Doi, Hiromi Hayashi, Yoshikazu Oka and Fumio Osaki
Department of Parasitology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima

Toxoplasma gondii oocyst のマウス経口投与は, 常に致死的高い病原性を表す。Beverley 株 (弱毒) 感染マウスの脳組織をネコに捕食させると, 5~7 日後の糞便中に oocyst が検出され, これを 2.5% 重クロム酸カリ液中で成熟させるとマウスに経口感染が可能となる。oocyst のマウスに対する病原性は, 10^4 コ以上で致死率 100%, 少数コでも約 10 日で死に至らしめる。われわれはさきにマウス実験 *Toxoplasma* 症において RH 株 (強毒) の致死感染に対する最も効果的な免疫方法は, Beverley 株 cyst 由来生虫の前処置であることを実証している。Work と Hatchison (1969) の報告以来 oocyst が自然界の感染型と考えられるようになったが, われわれはマウス実験 *Toxoplasma* 症において, oocyst 感染に対する防御免疫の至適条件を解明することを目途として次の実験を行なった。

1. 生虫免疫の効果: Beverley 株実験感染マウスの脳組織から得た組織型 cyst のホモジネートを遠心操作

で分離後, 軽くトリプシン消化して得られた原虫の 10^4 コを, マウス腹腔内もしくは皮下に接種して免疫した。60 日の免疫期間後 2×10^3 oocysts / マウスを経口接種して, 免疫マウスの抵抗性を観察した。その結果, 対照群は 80% (8/10) が死亡したのに反し, 腹腔内免疫群は全例, 皮下免疫群は 91% (10/11) が 60 日以上耐過し, 両免疫経路に有意差を認めなかった。次に oocyst の攻撃量と生虫免疫との関係を求めた。すなわち弱毒生虫 2×10^3 コを腹腔内に接種して免疫し, 60 日後に 10^2 , 10^3 および 10^4 oocysts で攻撃した。その結果, 10^2 および 10^3 oocysts の場合対照群はそれぞれ 79% (11/14) および 86% (12/14) の死亡率を示したが, 免疫群は全例 (11/11) 60 日以上耐過した。 10^4 oocysts の場合の対照マウスは 9 日以内に全例 (14/14) 死亡したが, 免疫群は 11 例中 17 日以後に 1 例死亡したのみで, 他は 60 日以上生残した。すなわち弱毒生虫免疫は oocyst 感染に対してきわめて有効であり, 強毒型腹腔内攻撃の場合とはほぼ同様の成績であ

った。

2. 死虫免疫の効果：マウス腹腔内継代を重ねた Beverley 株 cyst 由来原虫は、強毒株と同様の高い病原性を有するようになる。この強毒型原虫をマウス腹腔から採取し、遠心操作で大半の宿主細胞を除いたものを、60°C 1時間処理の上免疫に使用した。最初の実験は 10^8 死虫/マウスの免疫量で一部はさらに complete adjuvant を等量加えてマウス腹腔に接種し、60日間の免疫後 10^4 oocysts の攻撃を行なった。なお無処置および complete adjuvant のみを腹腔内接種した群を対照とした。その結果、死虫単独免疫および対照群は共に攻撃後9日以内に全例死亡し、死虫に adjuvant を添加した群も6~16日で全例が死亡した。以上から1回の免疫ではじゅうぶんな効果があがらなかつたと考えられるので、赤血球凝集反応で血清抗体価を測定しながら、死虫およびその分画物(20,000×g上清)で追加免疫した。前回と同様の方法で免疫したマウスの抗体価は、初回免疫後3週目まで上昇が見られず、4週目で死虫に adjuvant を添加した群の6例中3、死虫単独免疫の6例中1が陽性限界(1:512)に達した。しかし5週目で再び陰転したので、6、7および8週目にそれぞれ追加免疫したところ、9週目にはじめて全例1:8,000以上の抗体価に達した。これらのマウスに 10^4 oocysts の攻撃をかけた結果、無処置、adjuvant 単独および死虫に adjuvant を添加した群はそれぞれ死亡率83%(5/6)、100%(6/6)および83%(5/6)であった。しかし、死虫単独免疫の場合の死亡率は17%(1/6)にとどまり、残余のマウスは60日以上生存した。1回の免疫処置の場合 adjuvant 添加群がわずかに延命したことから、免疫効果を強化する意図で追加免疫の実験に adjuvant を使用したが、その効果はみられなかつた。

3. 受動免疫の効果：死虫免疫で血清抗体価を上昇させてマウスに特異抵抗性を与え得たが、oocyst に対する

防御免疫が液性抗体で得られることも考えられるので、最も防御能の著しかった生虫免疫マウスの血清を受動免疫に使用して、その効果を検討した。まず0.2mlの血清をマウス尾静脈に接種し、ただちに 10^4 oocysts で攻撃2日目に0.2mlの血清を腹腔内に追加免疫した。なお血清の抗体価は1:8,000以上のものを使用した。その結果対照および免疫群は全例死亡し免疫群の平均生存日数は対照群より2日延長したにすぎなかつた。次いで追加免疫法により連続5日間0.1mlずつ腹腔内接種を行なった。免疫血清は1:8,000以上のものを使用した。1部非動化しさらに oocyst 感染に耐過したモルモット血清(抗体価1:256)についても免疫効果を調査した。その結果、前回同様1~2日の延命効果を認めたが、対照群同様全例死亡し、マウス原血清、非動化血清およびモルモット血清の間にも有意差を認めなかつた。

質問 渡辺 良雄(予研 病理)

弱毒株の多数個体を使用した方が感染に対して致死率が高いという所謂 immunological enhancement ようの現象がみられていますが、感作動物の血清の transfer で延命効果がでるといふ一見矛盾したような感じを私はもちました。前者の現象をどう解釈しておられますか。

回答 伊藤 義博(徳島大 医)

1. 生虫免疫の場合多数個体を使用しますと、宿主(マウス)はかなりの障害を受けると考えられます。少数コの場合60日の免疫期間で生虫感染による障害はほとんど回復しますが、多数原虫では後遺症として残ることが考えられますので、一つにはその影響と思われまふ。

2. 血清抗体は攻撃時8,000倍程度に上昇していますので多数原虫を接種された場合、過剰防衛による一アレルギー反応—耐過率の下降もまた否定できないと考えています。また血清の transfer で表現されなかつたのは本原虫の免疫反応が遅延型アレルギーでありますので、液性抗体ではその結果が出なかつたと思います。

16 実験トキソプラズマ症の免疫学的検討

高田 季久, 井関 基弘

大阪市立大学医学部医動物学教室

Immunological studies on the experimental toxoplasmosis

Suehisa Takada and Motohiro Iseki

Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School, Osaka

従来から、トキソプラズマ(Tp と略す)弱毒株感染動物に対して強毒株を接種しても、強毒株により発症斃死することなく耐過生存することが知られている。そこでこの発症防御機作に関して、体液性および細胞性免疫の両面から解析するため、まず弱毒株(HS株およびBeverley株)感染動物に強毒株(RH株)を接種した場合の動物の生死並びにHA抗体価の変動を観察すると共に、遅延型アレルギーのin vitroにおける確認法の一つとされているmacrophage migration inhibition test(MI-test)を用いてTp症における広義の細胞性免疫の出現状況について観察した。その結果は以下の通りである。

1) モルモットにHS株またはBeverley株のcyst 10コを腹腔内に接種し(それぞれHSモル、およびBev.モルと略す)、そのHA抗体価(花木・信藤法による)を追跡したところ、いずれのモルモットも初期(1~1.5カ月)の抗体価の上昇に引続き、2~3カ月目に一旦低下し、再び上昇(1:256~1024)したのち若干の変動を示しながら6カ月以上経過する。そしてHSモルの方がその変動が著明でかつ低抗体価を示す場合が多かった。

これらHSモルに対し感染2カ月目にRH株 1×10^4 コを腹腔内に攻撃接種したところ、多くはHA抗体価が低下または陰性化した。以後3カ月以上耐過生存した。また5カ月目にRH株を攻撃接種した群ではHA抗体価がやや低下を示したのみで陰性化することなくほとんどが以後6カ月間以上生存した。

一方Bev.モルにRH株を同様に接種した場合は、いずれの時期でもまた2度接種の場合でも攻撃後抗体価のやや上昇することが多く、ほとんどが6カ月以上生存した。なお対照健康モルモットではRH株の接種により80~90%が10日以内に斃死した。

次に兎に2種の弱毒株cyst 20コをそれぞれ腹腔内に接種した場合、いずれの株でも抗体が3週間目に出現し

はじめ、4週間目には全例陽性となり、6週目から8週目ではほぼ最高値(1:4,096~16,384)に達し若干の変動を示しながら6カ月以上経過した。これらの兎に感染2カ月目にRH株 5×10^4 コを接種したところ、モルモットの場合と異なり特に大きな抗体価の変動を示すことなく、以後10週間以上耐過生存した。すなわちモルモットよりもHA抗体価も高かつ安定している。[なお対照健康兎ではRH株の接種により全例10日以内に斃死した。]

2) 慢性感染モルモットの腹腔内に流動パラフィンを注入し、得られた腹水細胞(主にmacrophage)を用いて容量1.55mlの特製chamberにより、仔牛血清およびグルタミンを加えた199培地をmediumとしてMI-testを実施した結果、HA-test用Tp粗抗原でLowryらのFolin-phenol法による蛋白量が17.1~28.5 μ g/0.1mlのものを1.55mlの培地に加えた場合、50%以上のMIが認められた。また抗原蛋白量が0.8~14.2 μ g/0.1ml/1.55mlの場合でも感染2カ月後には30%以上のMIが認められ、感染6カ月以後では50%以上のMIを示すようになった。また感染モルモットの腹水細胞におけるMI現象の出現は、感染後3週間目よりはじまり、以後6カ月目まで増強し、1年以上保持される。

3) 慢性感染マウスおよびモルモットのリンパ節細胞、脾細胞および血液白血球を用いて、これらにTp抗原を加えて培養しMIF(macrophage migration inhibitory factor)産生の有無を観察したが、マウスおよびモルモットのリンパ節の場合は、細胞数 1×10^7 /ml、マウス脾細胞では 2×10^7 /ml、モルモットの血液白血球では $2 \sim 3 \times 10^6$ /mlをそれぞれ血清を含まない199培地浮遊液とし、Tp抗原を蛋白量が68.3~113.8 μ g/l~1.5mlとなるように加えて5%CO₂の存在下で24時間培養することによりMIFが産生される。このようにして得られた粗MIF液(培養上清)を0.2ml/1.55ml以上の割合

に test chamber の培地に加えることにより、正常モルモット腹水細胞に対し著明な MI 現象を示した。

本法により感染マウスリンパ節細胞および脾細胞の MIF 産生能の出現時期を観察したところ、リンパ節細胞では感染後 4 週間目より、一方脾細胞では感染後 3 週間目とともに 40~50% 以上の MI を示す MIF を産生するようになり、以後ともに 50% 以上の MI を示す安定した MIF 産生能が示された。この成績は前述の感染モルモットの腹水細胞における成績と良く一致している。

4) 明らかに眼 Tp 症と考えられる症状を示した患者の血液より白血球を分離し、 1×10^7 /ml の割合に 199 培地に浮遊し、抗原蛋白量が 79.5 μ g/ml となるように添

加したところ、50% 以上の MI を示す MIF 産生能を有することに確認した。

質問 神原 広二 (阪大 微研)

Toxoplasma 症においては遅延型反応が主で即時型反応は殆どないとのことですが、実際の *Toxoplasma* 感染において、はっきりと何本かの沈降抗体が認められるのに、即時型反応が殆どないのは何故ですか。

回答 高田 季久 (大阪市大 医)

液性抗体があったとしても皮膚反応における出現の仕方とは病原体により異なるもので、Tp 症の場合は遅延型として出るものです。

17 ヒトに寄生する *Isospora belli* の人体内諸型の電顕所見

浅見 敬三, 赤尾 信吉
慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

道又 勇一, 村田 輝紀
東北大学医学部内科学教室

Electron microscopic observation of various forms of Isospora belli

Keizo Asami and Shinkichi Akao

Department of Parasitology, School of medicine, Keio University, Tokyo

Yuichi Michimata and Teruki Murata

Department of Internal Medicine, Tohoku University School of Medicine, Sendai

演者等は *Isospora belli* に感染した患者から、その試料を得る機会を得たので電顕による観察を試みた。患者は東北地方に在住し数年来難治な下痢に罹患していたものであり、その小腸生検材料から虫体を検出し得た。

生検材料は、グルタルアルデヒド固定後、型通りの方法で電顕用試料とした。

組織標本の光顕による観察では macrogamete cyte, microgamete, schizont, merozoite 等の虫体が腸管粘膜内細胞に散在している像が確認された。一方電顕像では schizogony の過程にあると考えられる細胞では核が 7~8 個に細胞内に分裂している像、さらに比較的核の大きな macrogamete cyte 等が確認された。schizont は merozoite より大型で虫体中心に核を有し先端には *Toxoplasma* と良く似た conoid, microneme 様構造物を有している。一方 merozoite は形態的には schizont と類

似しているがその microneme 様構造物は少なくやや小型である。興味深いことはこの merozoite が宿主細胞の間隙より粘膜上皮細胞下へと侵入していくと思われる像を得たことである。

従来の解釈では細胞に直接侵入するものといわれていたが、これは光顕的な観察であったために見落されていたのではなからうか。microgamete については現在観察を続けている。その他 2-3 分類不明な stage の虫体像を得られたがこれについてはさらに検討している。

Isospora の腸管内の life cycle についてはいまだ不明な点が少ない、特に電顕による観察は行なわれておらず今回の試料により一応の微細構造を腸管内 life cycle と合わせて明らかにすることができた。

質問 尾崎 文雄 (徳島大 医)

本症例の臨床症状を簡単におきかせ下さい。

回答 道又 勇一（東北大 医）

6年前からくり返す下痢，るいそう，腹部膨満感を主症状とする．ときに38℃台の発熱もみとめられた．下痢は水様で酸味を帯びた臭気がある．多いときは1日10数行．

質問 井関 基弘（大阪市大 医）

1. 下痢便の oocyst 排出数はどの程度でしょうか．

2. 組織切片の部位はどの辺でしょうか．

回答 道又 勇一（東北大 医）

1. 具体的数字はわかりかねるが各スライドで1000×にて2～3視野に1ヶ

2. Triz band から約30cm末梢の部．

ニ ュ ー ス

トリコモナス研究会記事

昭和47年度トリコモナス研究会は社会保険神戸中央病院産婦人科、青河寛次先生のお世話により次のような会合が持たれた。

日時：昭和47年9月9日(土) 10時～15時

場所：神戸商工貿易センタービル内

レストラン「パーク」

参加者：猪木正三会長以下約30名

話 題：

- 1) *T. vaginalis*, *T. foetus* のリンゴ酸脱水素酵素
土肥美代子(徳大・医・寄生虫)
- 2) *T. foetus* の ribosome の分離に関する二、三の
問題点
林 弘三(徳大・医・寄生虫)
- 3) *T. foetus* に対する血清抗体の *in vitro* 反応
古谷正人(徳大・医・寄生虫)
- 4) マクロファージは *Trichomonas* を喰べるか?
伊藤義博(徳大・医・寄生虫)
- 5) Nitroimidazole 系薬剤に抵抗した症例
長峰敏治(順天堂大・産婦)
- 6) エストロゲン レベルからみた *T. vaginalis* 感染
の成立
青河寛次(神戸中央病院・婦)
- 7) 細胞診における *Trichomonas* の誤診率
大川知之(福島産婦)
- 8) 細胞診における *Trichomonas* 検出の可否の提案
大川知之(福島産婦)

外にトリコモナスの走査電子顕微鏡写真が大久保舜三、小野忠相(阪大・微研)により共覧された。

Dr. Beale 教授訪日

エジンバラ大学動物遺伝学研究所 Dr. Jeffrey Beale 教授が英国ロイヤルソサイエティと日本の学士院との交換協定にもとずいて去る4月下旬来日、約1ヶ月間東北大学、国立遺伝研(三島)、京都大学、大阪大学、広島大学などを訪問、主に原生動物の遺伝関係の研究者と交流を行って、5月下旬帰国された。同教授は主として

Paramecium の遺伝学の研究で有名で、“Genetics of *Paramecium aurelia*”の著書で、我国でも知ってる方が多いと思う。最近はずウリムシのミトコンドリアの研究、とくにミトコンドリア DNA の突然変異による細胞質遺伝の研究をフランスの Beisson と共に精力的に進めており、日本各地でのセミナーも、この題目で行なわれた。日本各地での関係者の歓待に非常に感謝しておられ、呉々もよろしくとのことで、紙上を借りてお世話下さった皆様にお伝えいたします。(樋渡宏一)

第4回国際原生動物学会記事

1973年9月2日から10日までフランスの Clermont-Ferrand で国際原生動物学会が開られています。

Executive committee よりの報告

1. The Vth Congress (1977)
will take place in New York, U.S.A., probably in June, 1977. W. Trager, president of Vth Congress.
2. The workshop reviews of the present (IV th) Congress will be published as “ACTUALITÉS PROTOZOLOGIQUES”, “Summaries of round-table discussions of the IVth International Congress of Protozoology”
These summaries should be in the hands of Dr. de Puytorac by October 1, 1973.
3. Renewed resolutions of the IVth Congress in favor of free communication among scientists will be published in the protozoological press.
4. The 4 languages of simultaneous translation for future congresses remain, in principle, English, French, German and Russian.
5. Funds are not currently available to support an international protozoological documentation service, although all agree that such a service would be very valuable.
6. IUBS contributed 15,000F in aid of travel by distant colleagues (India, Australia and etc.) to the present congress. These were distributed in sums of about 500F each. (猪木正三)

日本原生動物学会会則

- 第1条 本会は日本原生動物学会 (Japan Society of Protozoology) と称する。
- 第2条 本会は原生動物植物に関する研究をすすめ、その知識の普及、向上を図ることを目的とする。
- 第3条 第2条の目的を達成するために、年1回大会を開催し、会誌を発行するほか必要な事業を行なう。
大会においては、本会の運営を議する総会および学術講演を行なう。総会および学術講演会は、それぞれ臨時にまたは別個に開くことができる。これらの会合は会長の委嘱する委員が運営する。
会誌は原則として年1回発行する。このほか、不定期に別刊を発行することがある。但し、別刊は実費をもって会員に配布する。
- 第4条 本会会員は正会員、賛助会員および名誉会員とする。正会員は年会費1,000円を前納するものとし、会の主催する各種の会合に参加し、幹事を互選し、会誌に投稿し、会誌の無料配布をうけることができる。賛助会員は本会の主旨に賛同し、会の維持発展のため1口10,000円以上を納入するものとし、会誌の無料配布をうけることができる。名誉会員は幹事会の推薦により総会において決定する。
- 第5条 本会運営のため、会長1名、幹事若干名をおく。幹事は会員の互選により、会長は幹事の選挙によって決定する。
会長及び幹事の任期は3年とし、重任を妨げない。
会長は会を代表して会務を統轄する。幹事は幹事会によって会務を処理し、庶務、会計および編集の業務を分担する。
- 第6条 本会の事務年度は暦年とする。
- 第7条 本会に入会を希望するものは、別に定める手続きによって申し込むものとする。
- 第8条 会則の変更は幹事会の議をへて、総会において行なう。

付 則

1. 本会の事務局は当分の間、大阪大学微生物病研究所原虫学部門内におく。
2. 入会手続きは所定の申し込み用紙を用い、会費1年分以上を添えて会長あて事務局に提出するものとする。
3. 納入した会費は返却しない。会費を2年間滞納した場合は退会とみなす。

編集後記

今年度も原著の投稿がなく大会特集号の形となりました。同じ発表するならもっとサーキュレーションのよい雑誌と思われるためでしょうか。Review ものをのせて、少しでも魅力のあるものになりたいと思いますが、ご意見をきかせて下さい。

物価も上り、学会台所も苦しくなってきました。粘菌や外の原生動物を扱っておられる人々、興味をもっておられる人々に入会を呼びかけて下さるようお願いいたします。

会員の方で、所属・住所の変られた方は事務局までご一報下さい。英文住所もお忘れなくお書き下さい (大久保)。

原生動物学雑誌 第6巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol. 6 No. 1

昭和48年8月15日 印刷

昭和48年8月31日 発行

編集兼発行人：猪 木 正 三

発 行 所：日本原生動物学会

吹田市山田上(565) 大阪大学微生物病研究所原虫学部門内

電話 (06) 877-5121代 (内線3132)

振 替 口 座：大阪 7 7 9 6

印 刷 人：前 田 政 昭

印 刷 所：株式会社 前田進行堂印刷所

京都市中京区西ノ京南上合町81 電話(075)802-0366

Office of the Editorial Board

c/o Department of Protozoology, Research Institute for
Microbial Diseases

Suita, Osaka, 565, Japan