

ネズミマラリア *Plasmodium berghei* Vincke et Lips, 1948 の研究 (1)

マウス及びラットに対する血液接種の経過

田 中 寛 神 田 鍊 藏

東京大学伝染病研究所寄生虫研究部 (主任 佐々学助教授)

(昭和 29 年 3 月 30 日受領)

1. ま え が き

Vincke et Lips (1948) は *Anopheles durenii* Edw. に感染している Sporozoite を研究し、遂に 1948 年ネズミの一種 *Thamnomys surdaster* に感染している *Plasmodium* の新種を発見した。これが *Plasmodium berghei* Vincke et Lips, 1948 であり、次で Vincke and Lips (1948), Schneider 等 (1949^a) Thurston (1950), Schneider (1950^{a, b}), Mercado (1951) 等はマウスへの感染に成功し、Vincke and Lips (1948) Vincke 等 (1949^b) 及び Fabiani 等 (1952) はラットへの感染に成功し、又 Mercado (1951), Fabiani (1952) はその感染経過も観察した。筆者等の手元にある *Plasmodium berghei* は Dr. Brig J. S. K. Boyd Burroughs Welcome Laboratory, London より Malaria Institute of India の所長を経て、W. H. O. の周欽賢博士により 1953 年 8 月 18 日佐々学助教授に寄贈された物であり、それまでにすでに 74 代を経過していた。この原虫は従来のマラリアの研究に用いられた、人・猿・鶏・カナリア等のマラリア原虫と異り、最も便利に入手しうるマウス、ラットなどに感染し、マラリア原虫の研究を甚だ容易にし、今後利用される可能性が大きい。

こゝに日本に初めて輸入された本原虫の基礎資料に供する目的をもつて、先ずマウス及びラットに血液接種を行つた場合の経過を報告する。

2. *Plasmodium berghei* の形態の概要

これについては別に詳報する予定であるが、Giemsa 染色での所見では、感染初期に見られる原虫は多くは赤

血球内 1 コで、やゝ血球の周辺に見られ、環状型は赤く染る核のまわりに空胞があり、空胞の一番外かくに細い青色に染る部分がある。この青色に染る部分は、細い物からかなり太い物まで見られ、次第にこの青染部の中に濃く染る顆粒がはつきり見られる様になり、アメーバ型になる。大きさは種々で、赤血球の $\frac{1}{4}$ から $\frac{2}{3}$ 位までの変異がある。この時期では、赤血球は全体が塩基好性になり、大きさも普通血球の直径の 1 倍半位になる。又感染後日がたつにつれ、1 血球中の原虫の数も増えて 7 コ位入つているのも現れ、2, 3 コ入つて居るのは普通になる。又 1 血球中の各原虫の型も、種々の物がまざつていくことが多くなる。マウスが死亡に近づく頃になると、しばしばアメーバ型の中で核が非常に分裂しているのが見られ、分裂型も見られる。分裂型の大きさは血球の約 $\frac{1}{2}$ をしめ、Merozoite は 10 前後である。又時に Gamete も見られ、大きさは血球の約 $\frac{1}{3}$ を占め、楕円型である。時には 1 血球中に 2 コ入つている事がある。全体として *Plasmodium vivax* に似るが、*Pl. vivax* や *Pl. malariae* の如く、各原虫が揃つて同期的に変型することは認められない。又環状型、アメーバ型の比率も一定した経過をたどらぬ。その例を第 1 表に示す。1 血球中の原虫数は、被寄生血球率が高くなる程多くなる傾向にある。その例を第 1 図に示す。

3. 実験方法

本実験は発症動物の血液を他の動物の腹腔内に接種して、接種された動物の発症状態を観察するものである。実験動物はマウス 10 匹とラット 4 匹で、マウス M₁ より M₅ までとラット R₁ R₂ へは、75 代目の接種後 9 日目のラット R₀ より、M₁₁ より M₁₅ 迄へは、76 代目の接種後 13 日目のマウス M₃ より、R₃ R₄ へは 76 代目、接種後 17 日目のマウス M₉ より接種をした。

先ず発症動物の尾を消毒し、はさみで切つて出血させ、

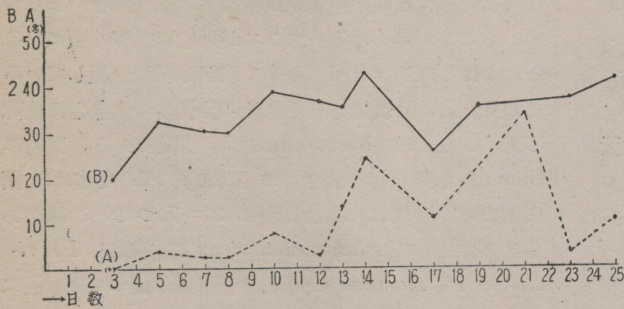
Studies on *Plasmodium berghei* Vincke et Lips, 1948 (I) The pathogenicity of *Plasmodium berghei* to laboratory white mice and rats.

Hiroshi Tanaka & Tōzō Kanda (Dept. of Parasitology, Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo)

第1表 プラチスモウム各型の出現率(%)

実験動物	接種後日数																									
	アスモラ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
マウス	環状型				46	17	40		44		14	11	37	2	24											
	アメーバ型				54	77	58		54		82	84	60	89	75											
	分裂型				0	5	2		2		4	0	1	7	1											
	1 ガメート				0	1	0		0		0	0	2	2	0											
マウス	環状型				18	36	11		18		10	13	26		8					12		2				0
	アメーバ型				72	62	88		76		87	79	56		82				81		72					83
	分裂型				6	1	1		6		3	7	18		6				4		18					17
	2 ガメート				4	1	0		0		0	1	0		4				0		8					0
ラット	環状型				18	21	31		16		26	25	67		8											
	アメーバ型				82	77	69		84		71	73	28		90											
	分裂型				0	0	0		0		3	2	5		1											
	2 ガメート				0	2	0		0						1											

第1図 被寄生血球率と血球内平均原虫数



A 赤血球 500 個中の被寄生血球率
 B 1 被寄生血球中の Plasmodium 平均数

滅菌生理的食塩水に約 1 cc に 5~15 滴の割合に血液を混ぜる。此時、薄層標本を作つて置く、この稀釈血液をマウスには 0.2 cc, ラットには 1 cc を腹腔内に注射する。残つた稀釈血液から Thoma 血算盤にて 1 立方 mm 中の赤血球数を計り、前に作つた薄層標本から原虫寄生血球の比率を調べれば、計算により動物に何コノ原虫寄生血球(被寄生血球)が接種されたか分かる。

観察は始めは毎日、後には数日おきにした。検血には尾を少し切つて出血させ、これを薄層標本にし、メチルアルコール固定 1 分、pH 6.3~6.4 の水 1 cc に 1.5 滴の割合に薄めたギーム液で 40 分染色した。又約 5 日

置きに血球計算をし、赤血球数の変化を調べた。

4. 実験結果

A. 潜伏期間

前記薄層標本を油浸顕微鏡で 100 視野を見て原虫の有無を検した。その結果は第 2 表に示す。マウス・ラットとも感染率は 100% である。マウスに於ては潜伏期間はほぼ 3 日で平均及び標準偏差は 3.30 ± 1.05 日である。一方ラットは、被寄生血球接種量 130,000 の R₁ R₂ が共に潜伏期 3 日でマウスに比し感受性は低い様である。又ラットの R₃ R₄ 群の方が潜伏期は短い、体重 1 g 当りの接種量はさして差異はなく、総接種量に倍以上の差があるので、潜伏期の長短は総接種量に關係あると思われる。又此の傾向はマウスにも見られる。

B. 原虫出現期間及び死亡迄の日数

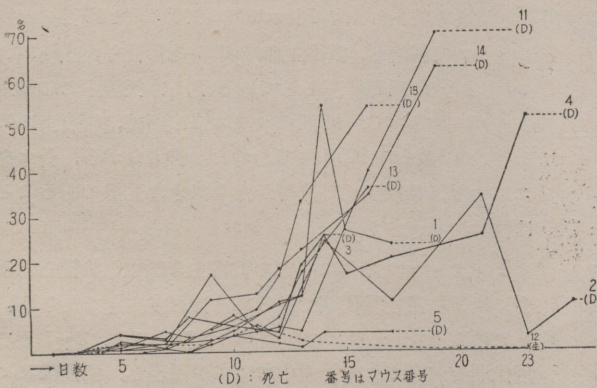
結果は第 2 表に示してある。マウスの血中原虫出現期間は平均 16.5 日、ラットの方は 9.8 日であり、マウスの方が原虫出現期間は長い。又この原虫出現期間はラット・マウス共に一定の値を示さず、特にラットではその個体差が大きい。又致命率はマウスに高く、この実験以外の記録を合わせると、マウスでは 44 匹中 1 匹の生存を見るのみであり、致命率は 97.8% である。ラットの致

第 2 表 プラスモジウム接種のマウス・ラットの経過

マウス	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₁₁	M ₁₂	M ₁₃	M ₁₄	M ₁₅	平均
体重 (g)	18.0	17.0	9.5	19.0	13.0	16.5	19.0	19.7	17.4	17.7	
潜伏日数	4	3	3	3	6	3	3	3	3	2	3.30
接種被寄生血球数	26,000					31,600					
”(体重 1g 当り)	1.450	1.530	2.740	1.370	2.000	1.910	1.660	1.600	1.815	1.770	
原虫出現期間	13	23	12	22	12	20	16	14	18	15	16.50
死亡迄の日数	17	26	15	25	19	23	生存	17	21	17	18.0

ラット	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	平均
生重 (g)	159	171	226	225	215	
潜伏日数	3	3	2	2		2.5
接種被寄生血球数	130,000		264,800		1,000,000	
”(体重 1g 当り)	8.170	7.600	13,000	11,900	46,500	
原虫出現期間	6	13	14	6		9.8
死亡迄の日数	9	16	生存	生存	生存	

第 2 図 マウスの被寄生血球率の経過



命率は低く 5 匹中 2 匹が死亡したのみであつた。又生存した 3 匹はいずれも治癒している。この生死は接種後 40 日後の判定である。

C. 原虫数の変化

被寄生血球率即ち全血球に対する被寄生血球の比率は、マウスに於ては経過中に不規則な増減があるが、(第 2 図)原虫接種後 2 週間後頃には概ね 10~30% の間にあり、多くは死亡直前に最高率を示す。その最高率は個体

により、10%より 70% の間にあり、被寄生血球率と死亡との関係を認める事は出来なかつた。一方ラットは例数は少いが経過は法則を欠いて、一定の傾向をつかみ得なかつた(第 3 表)。マウス・ラットともに生残つたものについては、必ず途中より被寄生血球率の下降が認められた。

一方被寄生血球絶対数は、1 立方 mm の赤血球数×被寄生血球率で求められるが、これは貧血が起る為、被寄生血球率との平行関係は成立せず、その絶対数は死亡前で、1 mm 立方の 10 万より 120 万の大きな変動を示し、死亡との直接関係は見出されない。

D. 貧血

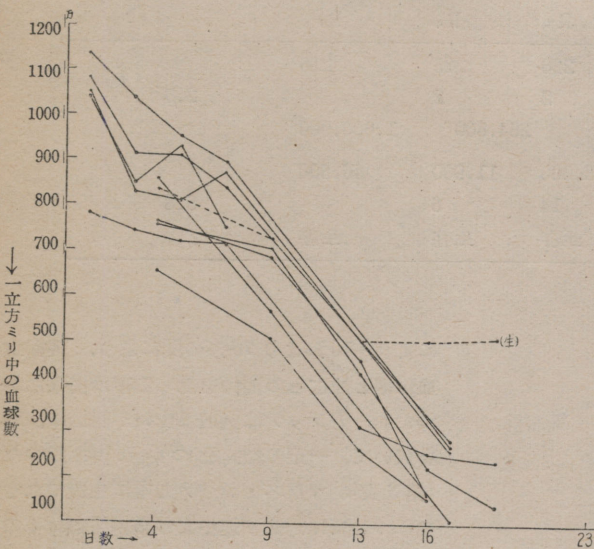
貧血は必発であり、流血中にごく小数の原虫を認められる頃でもすでに赤血球減少を始め、マウスでは接種後 10 日目には平均 50% になり、16 日後には平均 1 mm 立方中 200 万位になり、死亡前には 100 数万と云うひどい貧血を起すものもある。そして 300 万以下になつたものは必ず死亡している。ラットでも貧血は著明である。一方生存したマウスでは経過の途中より貧血は回復して来ている。ラットでもほぼ同様で、生存した R₃ の観察後半

第3表 ラットの被寄生血球率の経過(%)

日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
R	1		+		3.2		3.0	4.0	D									
	2		+		1.4		6.2	3.0		9.2		31.5		71.0		D		
	3		0.4	5.4	2.6		6.2	7.2	14.4	49.0		58.0				0.4	生	-
	4		1.0	7.0	2.2		1.4	0.4	0.2	0		0				0	生	-

D: 死 亡

第3図 マウスの赤血球数の変化



では貧血の進み方がゆるやかになっている。死亡前にはラッテ・マウス共に、目・尾・手足が黄色味を帯びた蒼白になり、高度の貧血が認められる。それに伴ない尾端よりの採血が困難になり、しぼり出した血液は殆んどが血漿で薄層標本作製及び観察に非常な困難を伴う。この貧血は死亡と密接に関係があり、死亡前には必ず著しい貧血を伴う(第3図)。

5. 考 察

Plasmodium berghei をマウス、ラッテに感染させてその経過を追つたのであるが、マウスの方がラッテより扱いが楽であるばかりでなく、いくつかの経過がかなり一定して現れ、実験動物として適して居る様に思われる。*Plasmodium berghei* の各原虫が同様に生長する周期的な型態の変化があるかどうか、これだけの結果では断定出来ないが、少くとも *Pl. vivax* の如ききれいな周

期的変化はないと思われる。この事は Fabiani 等(1952)のラッテに関する観察でも同様の結果が現れている。又この原虫の形態は環状型とアメーバ型との区別がむづかしく、筆者らは顆粒の有無をもつて判定した。Fabiani 等(1952)は形態の分類を Trophozoite très jeunes, Trophozoites moyens, Trophozoite très gros, Schizontes, Rosaces, と五段に分けて記載しているが、確かにそれに当てはまる形態のものはあるが、これだけではつきり判定分類することは困難である。Fabiani 等(1952)はラッテにおける観察で、貧血と被寄生血球率が必ずしも関係しない事を図示しているが、筆者等の観察でもラッテにおける経過はまちまちであつた。Mercado (1951) は90匹のマウスで観察し、被寄生血球4000を静注し、感染97.8%致命率100%として居るが、本実験もこの結果に似ていて、44匹のマウスについて、感染率100%、致命率97.8%であつた。併しながら、各マウスにより、被寄生血球率等かなり大きな変異のあることは注目すべきである。

ラッテ・マウス共に一定の被寄生血球数を接種した場合、ほぼ一定の潜伏期である事は注目すべきであろう。又この原虫を、マウスの腹腔内に接種すると、3~7日の潜伏期をおいて、末梢血中に原虫が出現し、接種後ほぼ10~20日の間に死亡するので、この株の保存には、マウス3~5匹を用いて、10~14日目毎に心臓穿刺で得た血液を次代腹腔内に接種していけば確実である。ラッテに慢性に感染させて保存するのも良いと思うが、上述の如く一定の経過を取らないこともあり、原虫保存に適當かどうか確実でない。

6. ま と め

1. *Plasmodium berghei* の腹腔内血液接種では、マウス44匹では感染率100%、致命率97.8%であり、ラ

ッテは5例であるが全部感染し、その中2匹が死亡した。(感染率100%, 致命率40%)

2. 原虫の各型は, *Pl. vivax* の如く, 各原虫個体がそろつて変化する有様を見ることは出来なかつた。

3. 被寄生血球率の変動にともない, 赤血球1コ当りの原虫数はこれとほぼ平行して増減する様である。

4. 血液接種後, 被接種動物の流血中に原虫の出現する迄の潜伏期は, 一定接種量ではほぼ一定になり, マウスで26,000と31,600コの被寄生血球を接種した10匹の平均は 3.30 ± 1.05 日で, ラッテでは130,000と294,800コを接種した5例で, 平均3.5日であつた。

5. 原虫出現期間, 及び死亡迄の日数は, 潜伏期の如き一定値を示さないが, マウスでは死亡迄の日数は平均18日である。又生存した1例を除き死亡迄, 原虫は消滅しない。

6. 被寄生血球率は, マウスに於ては接種後ほぼ2週間迄は一樣に増すが, 其後は個体差ひどく, 死亡前には10~70%の範囲にあつて, 変動が大きく, 死亡との直接関係は認められなかつた。

7. 貧血はマウス, ラッテ共必発で死亡前に高度であり, マウスでは1mm立方中, 赤血球数300万以下になると死亡する。

8. マウスで10日ないし2週間間隔で次代へ血液を接種すれば, 株の保存が出来る。

終りに臨み種々御指導頂いた佐々学助教授に深く感謝し, 論文を検討, 校正して頂いた林滋生氏に深く謝意を表す

文 献

1) Fabiani, G., Grellet, P., Vargues, R., Fu-

Ichiron, G. et Verian, A. (1952) La parasitémie au cours de l'infection expérimentale de rat blanc par *Plasmodium berghei*; étude quantitative et qualitative. Ann. Inst. Pasteur, Par. 82 (6) 721~737. 2) Mercado, T. I. and Coatney G. R. (1951): The course of the blood-induced *Plasmodium berghei* infection in white mice. J. Parasit. 37(5) 473~482. 3) Schneider, J., Decourt, P. H. and Montézin, G. (1949): Sur l'utilisation d'un nouveau *Plasmodium* (*Pl. berghei*) pour l'étude et la recherche de médicaments antipaludiques. Bull. Soc. Path. Exot. 43: 449~452. 4) Schneider, J. and Montézin, G. (1950 a) Technique d'utilisation au laboratoire de la nouvelle souche de *Pl. berghei* pour l'étude et la recherche des médicaments antipaludiques. Bull. Soc. Path. Exot. 43: 144~148. 5) Schneider, J. and Schneider, C. R. (1950 b) *Pl. berghei*. Absence "d'incubation" au cours du passage de souris à souris par voie intrapéritonéale. Bull. Soc. Path. Exot. 43: 324~332. 6) Thurston, June P. (1950): The action of anti-malarial drugs in mice infected with *Plasmodium berghei*. Brit. J. Pharm. and Chemo. 5: 409~416. 7) Vincke, I. H. and Lips, M. (1948): Un nouveau *Plasmodium* d'un rongeur sauvage du Congo, *Plasmodium berghei*, n. sp. Ann. Soc. Belge. Méd. Trop. 28: 97~104. 8) Vincke, I. H. and Van Den Bulcke. M. A. (1949 a) Observation sur l'entretien de la souche K 173 du *Plasmodium berghei*, Vincke et Lips. Ann. Soc. Belge. Méd. Trop. 29: 525~536. 9) Vincke, I. and Van Den Bulcke. M. A. (1949 b) Réaction des *Rattus rattus* vis-a-vis du *Plasmodium berghei*, Vincke et Lips. Ann. Soc. Belge. Méd. Trop. 29: 537~544.

寄 生 虫 学 雜 誌 第 2 卷 第 3・4 号 正 誤 表

アメリカザリガニ分布前後に於ける肝吸虫被囊幼虫の浸淫度に就て

誤植訂正	誤	正
33 頁 17 行	Sarcocheilithys	Sarcocheilichthys
37 頁 第 19 表 6 行	調査数 1	調査数 6
37 頁 第 22 表 7 行	一尾平均寄生数 0.3	一尾平均寄生数 0.5
37 頁 最下行	1953 年	1935 年
38 頁 8 行	195 年	152 年
38 頁 27 行	滋賀県イ課生課	滋賀県イ生課
38 頁 文献 5 行	Pseudorasbava	Pseudocrasbora
38 頁 文献 7 行	1395	1397