

免疫血清を作用せしめた *Toxoplasma* 虫体の細胞化学的検討

新 井 博

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室 (主任 松林久吉教授)

(昭和 32 年 7 月 3 日受領)

緒 言

Toxoplasma gondii は、最初に Nicolle & Manceaux (1908) により北阿 Tunis で齧歯類の一種 *Ctenodactylus gondii* から発見されて以来、その後、各種動物間に広く分布している事が知られ今日に至っている。*Toxoplasmosis* の診断は勿論虫体の証明によつて確定化されるが、その血清学的診断に関しては色素試験、補体結合反応等が広く利用され、就中、1948 年 Sabin & Feldman の発表した Dye-test は比較的簡単に実施され、*Toxoplasmosis* に相当高い特異性を有するところから今日盛んに用いられている。一部その特異性に就いて疑いを持つ人々もあるが、*Trichomonas*, *Trypanosoma* の Dye-test を行つた阿部(1956, 1957) は、その特異性を強調している。

Dye-test の最も重要な部分を占むる免疫血清作用による虫体の色素不染性の成立に関しては、未だ、その本態は不明の点も多く僅かに Bringman & Holz(1953~4) が電子顕微鏡で、Lelong et Desmonts (1951) が位相差顕微鏡で追求観察しその所見を記述するに過ぎない。

私は Sabin & Feldman の原法に準じて、虫体に健康人血清 Accessory factor (以下 A. f. と略) 存在下で免疫血清を作用せしめ種々の細胞化学的検索を行つたので此処に報告する。

実験材料及び方法

染色に際し使用する虫体はマウス腹腔継代接種後 3 日目の腹水中に含まれる Rh 株虫体である。Sabin & Feldman によれば、この時期に於ては未だ宿主の抗体産生は発現せず従つて虫体は免疫の作用を蒙っていないと見る可きであつて、そのために特にこの時期の虫体を選ん

だわけである。

免疫血清は Cutchins 他 (1956) の formaldehyd-killed vaccine の方法に準じて Rh 株で免疫されたモルモットの心採血による血清を用いた。即ち、数匹の感染マウス腹水を生理的食塩水で稀釈採取し、その後、生理的食塩水で 2 回遠沈洗滌し、沈渣に 0.2% formaldehyd-生理的食塩水溶液を加え 30,000 × 10⁴/ml の虫体を含む様に標準の血球計算盤で算定調整し、5°C 氷室中に一週間保存後その 0.2~0.3 ml (虫体数約 6,000~9,000 × 10⁴) をモルモットの背部皮内に接種した。一週間後に概部には痂皮形成をみる。

Cutchins の実験と同様に接種モルモットの Dye-test 抗体は早期に現われ急激に上昇し 4 週で少くとも 1:64 6 週で多くの場合 1:256 に達した。すべての動物は顕性感染を起さなかつた。次後の実験に際しては、常に 1:64~1:256 の血清を使用した。

A. f. は、その都度採血せる健康人新鮮血清を用いた。塗抹標本作成に用いた虫体浮游液は、Rh 株虫体に略 0.2ml の A. f. を加え、更に同量の免疫血清を添加したもので、これを 37°C 1 時間加温後カバーガラスに薄く塗抹し未だ乾燥せざる時に湿性固定して種々の染色を行つた。

対照として感染マウスの腹水を 37°C 1 時間加温し塗抹染色した。その外にマウス腹水中の虫体を採取後直ちに染色した標本 (腹水塗抹標本) も併せて検査した。

染色方法

DNA はホルマリン緩衝液 (pH 7.0) にて湿性固定後、pH 3.8~4.0 の Schiff 氏試薬に 24 時間浸漬した。RNA は pyronin-methylgreen 染色を用い純アルコールで固定した。多糖類はホルマリン緩衝液固定後、Hothkiss McManus (1948) の過沃度酸 Schiff 氏反応を用いた。フオスファターゼ (以下フオスと略) はアルカリ性、酸性共 Gomeri (1949) の変法を用い、アセトン-アルコ

HIROSHI ARAI: Histochemical studies on *Toxoplasma gondii* affected by immune serum. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

ール同量液で固定し基質として β -グリセロリン酸ソーダ溶液を両者共に用いた。その際常にアルカリでは pH 9.2~9.4, 酸性では pH 4.6~4.8 である様調整した。鍍銀染色は, Romanes(1950)の方法により Bouin 氏液(飽和ピクリン酸80, 醋酸5, 40%ホルマリン15が最適)で湿性固定後, 70%アルコール20分毎3回通し水洗に続いて硝酸銀液を水酸化アンモニウム溶液で pH 7.8に調整37°C48時間浸漬し, ハイドロキノン, 塩化金, 蔞酸, そしてハイポの各溶液を通した。蛋白質の染色は Mazia (1953)の昇汞B-P-B法を用い, その際試薬中に室温で15分間投入後, 0.5%醋酸で約3分間脱色し褐色のものが青藍色を呈するに至って水洗鏡検した。

結果及び観察所見

(1) DNA. 対照ではDNA陽性部分は核のみで, 恰も大小不同の顆粒を連らねた念珠様の環状を示し, その中心部は不染性で明るく抜けて見える(附図Iの1)。免疫血清標本(以下免血と略)では, 核の念珠様顆粒は幾分大小不規則で周囲との境界は余り明瞭でなく核自体が膨大せる如く認められ中心部は不明瞭のものもある。極く少数の虫体では原形質に軽度の陽性反応が見られ虫体の周辺部, 殊に両端に, 又は核に接する部に認められた(附図Iの2)。原形質のライトグリーン染色性には差はなかつた。

(2) RNA. 対照ではRNA陽性部分は核以外の原形質に現われるが, 殊に核周囲, 辺縁の一部は強陽性を呈し, 両端部は屢々反応は弱く一見原形質は不平等に見え, 核そのもの, 即ち Cross の云う nuclear matrix とと思われる部分が明らかである。少数の虫体では核の中心部に赤い小点状の強陽性物質を認める。屢々阿部(1955)の記載せる如き横走の陰性帯状構造, 又は原形質を縦に走る非染性部分が認められた(附図Iの3)。免血では原形質は対照程強く反応せず一般に弱く不平等で前述の構造物質の存在は見られる事は殆んどなく, 核の中心部の陽性物質も少なかつた。nuclear matrix とと思われる部分も明瞭ではない(附図Iの4)。

(3) 多糖類. 腹水塗抹標本ではグリコーゲンは虫体の鈍端部にルビー様に輝く2~3ヶの顆粒として存在し, その他屢々核の周囲, 虫体の辺縁にも認められる(附図Iの5)。免血と対照の間に大した変化は認められなかつたが, 腹水塗抹標本よりもグリコーゲンは若干減少している様に思われた(附図Iの6)。

(4) 酵素, 特にフォスファターゼに就いて。

フォス反応は酸性, アルカリ性共に差はなかつたが腹

水塗抹標本(附図Iの7)に比較すると対照, 免血共に若干反応は弱い様である。即ち, 反応は辛うじて虫体周辺部に淡褐色に判別出来る程度で核の周囲には見られず(附図Iの8), それも必ずしも全部の虫体に見られない。概して陽性と判定し難い不明瞭の事が多かつた。

(5) 鍍銀. 対照と免血の間に差異は見られず, 同様に腹水塗抹標本も同所見を呈した。この染色法では種々の構造が観察されたので詳述する。陽性反応は濃紫乃至黒紫色を呈する。

遊離虫体: 静止期と思われる半月形乃至弧状虫体の核は輪廓は明瞭で顆粒性塊状として濃染し屢々中心部の反応は弱い。この小体は実際は核仁に相当するものであろう。その核仁の周辺部には Cross の云う nuclear matrix とと思われる比較的反応の弱い辺縁不正形の暈状部分が多く虫体に見られる(附図Iの11a)。原形質で特記すべき所見は鈍端極より虫体の両縁を縁取るようにして鈍端極に向い虫体の約1/3位迄次第に細くなる境界明瞭な二条の強陽性物質があること(附図Iの11, IIの1b), 時には半月状として観察される事もある。屢々この二条の陽性物質の中心に虫体の長軸に沿って鈍端極より核に向って走る直線構造が見られ(附図Iの11b IIの2), その先端は核と連なる様に観察されるものもあつて(附図Iの11h), 濃染せる時は之等の3本の黒線がフォーク状に配列している。その中央の直線構造に沿って細い非染性部分が見られることがあつて, その鈍端極部は外界と解放せる如く認められる事もあつた(同上f)。核より鈍端極にかけては概して無構造の如くである。

分裂期乃至成熟期と思われる球形に近い虫体では, 核仁周辺部の暈状部分是不明瞭で核は巾を広げて肥大せる様に見られ, 核と鈍端極の間には前者より一層複雑なる構造が見られた(同上c, d, e)。鈍端極は丸味を帯びているために二条の辺縁陽性構造の岐点是不明瞭で半月状に認められ, 一見鈍端極の如きであり, 体の中軸に沿った直線構造も太く2ヶの虫体の融合せる様に見られ, 屢々核は肥大せる様に見え, その為鈍端極は一層膨大している(附図IIの1b)。原形質には静止期虫体よりも溝の様に見える非染性構造の観察される事が多い(附図Iの11d, e)。之は2核の虫体では各々の核から1本ずつ出ているのも認められた。分裂直前の虫体では核は明瞭に2ヶで鈍端極は縦分裂を始めているので上述の黒染の部分はW字形を示している(附図IIの5)。之は Pulvertaft (1954)が Serum-agar culture の際記述せる

ものと一致する。

細胞内虫体：宿主細胞原形質には空胞が形成されその中に虫体が入っている。虫体は初め円形で中央に丸味を帯びた弱陽性反応を呈する核がある。虫体はその後すべて縦分裂して2ヶの虫体は平行して並ぶ(附図Ⅱの4)。その際、鋭端と思われる極には遊離虫体に比して弱い不鮮明の反応が現われ漸次強くなり遂には遊離虫体と同程度の二条の辺縁構造を発現する。原形質は全く均等で何らの反応も見られず無構造の様である。

寄生細胞内の空胞の数は一定せず小さい細胞では1ヶ、大きなものでは数ヶ見られる。各空胞中の虫体は同一細胞内では略々同じ発育時期を示す場合が多く(附図Ⅱの3)、一ヶの空胞中の虫体はすべて2ヶである。分裂は Cross (1949), Pulvertaft (1954), Chernin (1957) の観察せる如く縦分裂である。

(6) 昇承 B-P-B 法。蛋白質の存在は全て青藍色に反応し、高濃度部分では赤藍色を呈すると云う。対照及び腹水塗抹標本では均等に反応する青藍色の視野(血清及び腹水中の蛋白質の反応による)に、虫体はそれより僅かに強く反応する。遊離虫体の核は顆粒性塊状に強く現われ、大部分の虫体の nuclear matrix は量状に弱反応を呈するが medium の反応に覆われて不明瞭のこともある。原形質では虫体辺縁部及核周囲の一部は僅かに反応は強いが一般に核より弱く一見不平等に認められ、RNA A, 鍍銀で観察された如き構造も見られるが余り明らかではない(附図Ⅱの6)。分裂期乃至成熟期虫体の反応は一般に弱い様に思われ、核と原形質は同じ程度の反応で核周囲量状部及種々の構造も不明瞭で虫体は無構造に見える。

免血では原形質の構造物質は明瞭に判別し難く、一様に不平等の反応として観察されるが対照よりも弱い様である。核も対照より弱く見える。

宿主細胞の核は顆粒状に強く、原形質は弱く不均等で空胞は白く非染色性で、核と原形質の区別の出来ない程強陽性反応を呈する虫体が見られる。分裂後も虫体は同じ反応で、遊離虫体より反応は強い。分裂は縦分裂によって行われ、それによって生じた2個の虫体は平行して位置しているが、時には数個の虫体はその一端を集合せしめ Rosette を形成せるのを観察した(附図Ⅱの7)。宿主細胞中の Rosette は Chernin も roller tube culture による辜丸組織内に認めている。

考按並びに総括

1948年に新しい免疫現象を報告せる際 Sabin & Fel-

dman は生存虫体の原形質は塩基性 Methyleneblue に大きな親和力を有するが、抗体の作用を受けた虫体は易熱性抗トキソプラズマ因子を持たない人又はマウスの健康血清中の Complement-like A.f. の存在により親和力は失われ、原形質は染色性を失う、と記載し、人、動物、鳥は感染すると Cytoplasma-modifying antibody を現わすと云つて居る。此の現象を説明する場合には、虫体の染色性の妨げられるのは抗原抗体層が出来るためか、或はそれ以外の作用機転によるかが問題であると述べ、彼等はその機転について特異抗体と著明に結合した A. f. が虫体に働いた後のみ色素に対する正常の親和性を失う程原形質の構造上に変化が起り染まらないのであると強調し、それにも拘らず chromatin が染まる事は虫体の表面に色素を通さない膜が出来るとか云う解釈はうなずけないと云っている。そして尚 Sabin は、色素に対する虫体原形質の親和性は生命のある事の指標にはならないが、その喪失は死の指標になるとし、抗体の作用した虫体の死をも暗示している。原形質の構造上の変化に就いて、Bringman & Holz (1953) は免疫血清作用虫体を電子顕微鏡で観察し、原形質の好塩基性の消失に平行して或種の物質の消失を明瞭に認めた。彼等はこの物質を核酸殊に RNA であると考え、それが分解され且同時に溶出するものであるとし、Cytoplasmic RNA 代謝の平衡のくづれる為に好塩基性が失われると推論している。私の実験でも、免疫血清の作用により RNA の反応所見に多少の変化が見られたが、之は Bringman & Holz の推論を裏書きしているように見える。Lelong et Desmonts (1951) は位相差顕微鏡で観察し、免疫血清作用虫体は染色性減退と一致して不動性となり、Toxoplasma 特有の屈折性の消失と粗大顆粒構造を認めている。柴谷 (1956) によれば細胞が死ぬと核は種々の形態学像を示して崩壊し、その際或時は好塩基性を失う(核融解)が、之は核酸の消失によるものに違いないとし、又或時は好塩基性の強いかたまりになる(核濃縮)が、之は非ヒストン型蛋白質の分解と関係していると仮定出来るかも知れないと云っている。我々が色素試験を行う場合虫体原形質が抗体作用を受けない時は好塩基性であり、受けると好塩基性を失ってしまう事は衆知の事実である。私の認めた原形質の RNA の不平等の弱い反応は Bringman & Holz の観察した RNA 代謝異常による RNA の分解溶出に起因するものと思われ、このことは抗体作用の結果と推測される。又、色素試験の際、抗体作用虫体の核は屢々形が不正になり chromatin は色素に強く染まるが

作用を受けない核は円形で不染性である。これは柴谷の云う核濃縮像と思われ、Lelong et Desmots も位相差で顆粒の稀薄化した核の萎縮を見ている。故にその時核に含まれる核蛋白は分解され同時に虫体原形質中に一部溶出して、それが Feulgen 陽性を呈するものであろうと思われる。

Bringman & Holz は之等の所見をその他の因子即ち抗生物質を作用せしめた際にも観察して免疫血清の作用機序に対して特異的でないといふ述べ、又 Lelong et Desmots も加温によつて生ずるかも知れないし或は防腐剤の添加でも生ずるであろうと述べている。私の実験では 37°C 1 時間の加温であるから RNA 代謝異常が加温によるものでないことは確実である。

寄生原虫類に於ける多糖類の存在意義は早くから比較的よく解明され、そのグリコーゲンは虫体のエネルギー源となる事が知られている。又、フオスの存在に関しても先に Amoeba に、近年 Trichomonas (野村, 1957), Toxoplasma (阿部, 1955) に於て報告されている。私の実験では対照群と免疫血清作用群との間にグリコーゲンフオス共に差は見られず僅かに腹水塗抹標本に比し若干の反応減退を見た。グリコーゲンの対照に於けるこの減少は 37°C 1 時間保存によつて、その間にグリコーゲンがある程度分解される為と思われる。同様にフオス活性度の低下は、37°C 1 時間保存中に何等かの原因により或る程度破壊されたためであろう。電子顕微鏡で Bringman & Holz の認めた mitochondria の磷酸増加もフオス活性低下による磷酸代謝異常の結果であろう。中村 (1956) はフオスの細胞機能との関係は今日未だ不明であり、細胞機能とフオス反応とは必ずしも一致するとは限らないと推論しているが、Sabin の暗示の如くに死に値する状態の免疫血清作用虫体では勿論グリコーゲンの合成は全く行われぬものと思われ同様にフオス活性低下の招来も否定し得ないであろう。野村 (1957) は *Trichomonas muris* の分裂過程に於てフオス、多糖類、核酸の三物質はその消長に明らかな関連性を有するといふ、それ等の現わす現象より細胞内代謝の旺盛なる事を推論しているが、その逆に私の実験の如くにフオス、グリコーゲンの減退、加えて RNA, DNA の代謝異常は Sabin の暗示の如くに虫体機能の消失が考えられる。

鍍銀に於て最も特有なる所見は、既に阿部も報告したが、その一端に現われる虫体辺縁に沿つた二線条であり、この反応は他の如何なる染色法によつても認められない。この反応物質は Bringman & Holz (1954) の記

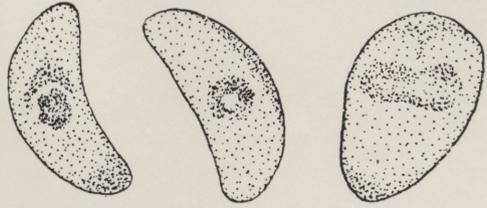
述せる鋭端極に形成される Fibrinnetz の部分に相当している。Romanes (1950) は神経組織を染色して神経線維並びに核に陽性反応を認め、又、馬場 (1956) は *Trichomonas vaginalis* に用いて鞭毛に特有の反応を見ているが、*Toxoplasma* では多分 Fibrinnetz が反応して中央部は薄く両辺縁では重畳して恰も強い反応として観察されるのではないかと想像もされる。又、Bringman & Holz は Fibrinnetz に囲まれた鋭端極に Zellmund 並びに festsaugen する器官の存在を暗示したが、前述せる如く屢々外界と交通せる如き非染性部分の存在は之を裏付けるものかも知れない。又 Cross の Axostyle に似て命名した Cytostyle に一致する陽性物質が特に分裂期虫体に多く縦に走つて見られたが、Cross の云う鞭毛は認め得なかつた。その他に遊離虫体では阿部の鉄ヘマトキシリン標本の如く種々の構造物質を見たが特に分裂期虫体と思われる卵円形の大型のものに多く見られた。之等の構造物質は腹水塗抹生鮮標本でも詳細に観察すれば一部相当するものが屢々認められる。宿主細胞内虫体は細胞に侵入直後は Cross の観察の如く円形で核も円形である。虫体の分裂に関しては従来種々の説があり、その主なるものでは Cross (1947), Pulvertaft (1954) は共に重複感染及び縦分裂を認めているが、前者は 1 個の空空中の虫体は反復分裂をし遂に pseudocyst を形成すると推論し、後者は二分分裂はそれ以上の新しい虫体を作らない事を観察している。そして共に Schizogony の誤りである事を指適している。Schizogony に関しては Splendore (1908, 1909 より引用) が観察し報告しているが、今日では全く否定されて居り、蛋白質染色の際見られた Rosette を誤つて記載したものであろう。この Rosette は Chernin & Weller (1957) も roller tube culture で見ている。私の観察では 1 個の空空中には常に 2 個以上の虫体を認める事は殆んど無かつたが重複感染像としての多数の空空中が 1 個の宿主細胞中に共存することは常に見られた。腹水中に種々の發育時期の虫体が見られるのは宿主細胞が破裂して種々の發育時期の虫体が腹水中に遊離するからである事が前述の各像にても充分理解され得る。

蛋白質染色の為の昇昇 B-P-B 法は, Mazia により 1953 年に検討報告され、蛋白及それ等の Peptid に対して特異的に反応すると云われ、彼は *Amoeba proteus* に応用して核の蛋白質濃度は原形質の含有する蛋白より多いことを示すと云つて居る。Gotō (1956) は本法を試みて蛋白質染色に用いられる Aloxan-Schiff 法よりも優秀で

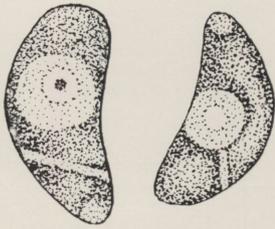
附 圖 I



1



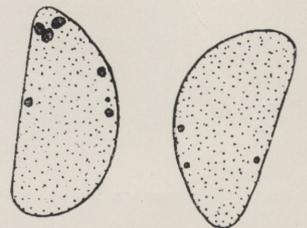
2



3

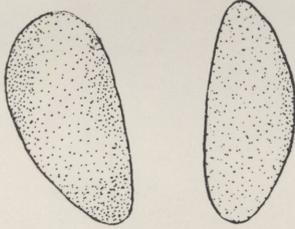


4



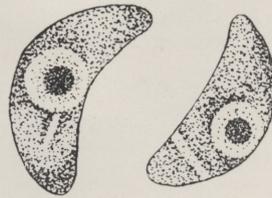
5

6



7

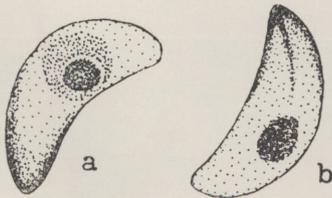
8



9

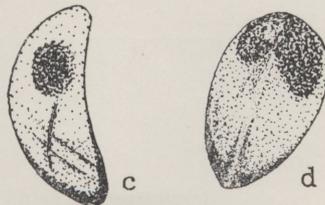


10



a

b

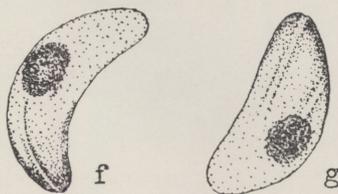


c

d



e



f

g

11

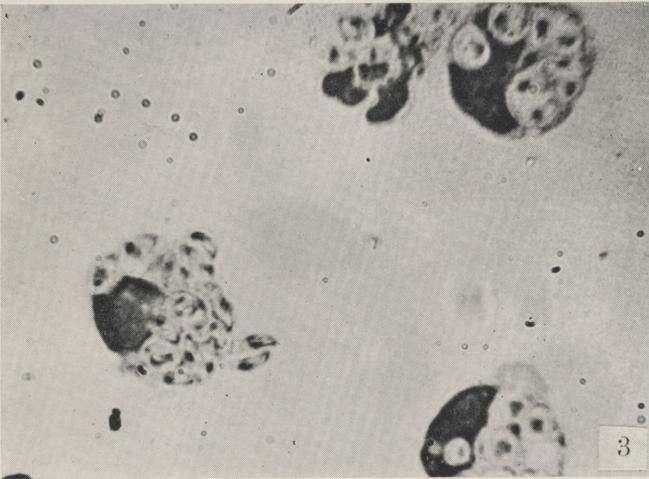
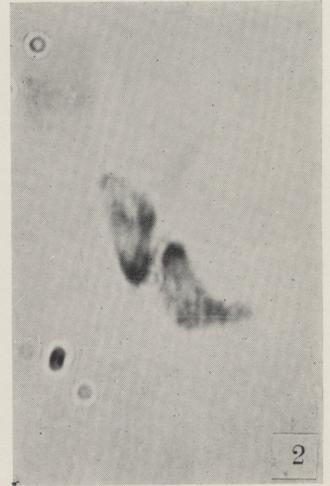


h



i

附 图 II



あり、肝組織標本に応用して原形質、核に中等度の反応を見、核小体を屢々蛋白質高濃度含有を示す赤紫色を呈すると述べている。私の実験に於ても核は原形質に比較して明瞭に強く反応する事を認めた。免血で原形質に多少の変化の見られるのは、原形質代謝異常特に前述のRNA代謝異常に平行して蛋白合成の低下を示すものと推測される。

結 論

Toxoplasma gondii に Sabin-Feldman's Dye-test と同様の操作により A. f. 及び免疫血清を作用せしめ、免疫抗体の虫体に与える影響に就いて細胞化学的検索を行った。

1. RNAに於ては原形質の好塩基性の消失に平衡して代謝異常が見られ、分解溶出せる反応を呈した。

2. DNAでは Feulgen 陽性物質が原形質に屢々弱反応を呈して出現した。之も核に含まれる核蛋白の分解溶出による結果と思われる。

3. フォスファターゼ、グリコーゲンでは対照と差は見られなかった。

4. 鍍銀により特異な虫体周辺の二条の強陽性物質を認めた。その他種々の構造物質が見られた。対照、免血に差はなかった。

5. 虫体に蛋白質陽性反応を明瞭に認めた。その際原形質中の構造物質部分は陰性であった。之も同様に差は見られなかった。

即ち、色素試験の際、抗体の作用を受けた *Toxoplasma gondii* は原形質RNAの代謝異常を生じ、その為に原形質の好塩基性は消失し塩基性メチレンブラウに対する親和性を失うものと思われる。

稿を終るに臨み御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜りました松林教授、浅見助教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

1) 阿部道夫(1955): *Toxoplasma gondii* の細胞化学的検索, 寄生虫学雑誌, 34 (1), 20. —2) 阿部道夫(1956): Sabin-Feldman's test の特異性有無に関する研究 (I), 各種 Trichomonas による実験的感染動物について, 寄生虫学雑誌, 5(2), 65. —3) 阿部道夫(1957): Sabin-Feldman's test の特異性有無に関する研究 (II), トリパノゾーマ感染ラットに就ての検討. 第26回日本寄生虫学会総会発表, —4) Bringman, G. und Holz, J. (1953-54): Licht und elektroenmikroskopische Untersuchungen zum Sero-Farb test auf Toxoplasmose nach Sabin und Feldman. Ztschr. f. Hyg. Inf. Kht., 138, 151-

154. —5) Bringman, G. und Holz, J. (1954): Die Bewegungsorganellen des *Toxoplasma gondii*. Ztschr. f. Trop. Med. Parasitol., 5, 54-58. —6) 馬場弘志(1956): トリコモナスの研究 (I), *T. vaginalis*, *T. foetus* 及び *T. gallinae* の試験管及び生体内培養時の形態について, 寄生虫学雑誌, 5(2), 64. —7) Cross, J. B. and Anigstein, L. (1949): The inflammatory reaction to toxoplasma in omentum and peritoneal fluid of the mouse. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 29, 473-479. —8) Cross, J. B. (1947): A cytologic study of *Toxoplasma* with special reference to its effect on the Host's cell. J. Infect. Dis., 80, 278-296. —9) Cutchin's, E. C. & Warren, J. (1956): Immunity patterns in the guinea pig following *Toxoplasma* infection and Vaccination with killed *Toxoplasma*. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 5, 197-209. —10) Chernin, E. & Weller, T. H. (1957): Further observations on the growth of *Toxoplasma gondii* in roller tube cultures of mouse and primate tissues. J. Parasitol., 43, 33-39. —11) Gotō, T. (1956): A cytochemical investigation on the mouse liver after alloxan injection. Acta Anatomica Nipponica, 31 100-104. —12) Gomeri, G. (1949): Histochemical specificity of phosphatase. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 70, 7-11. —13) Hothkiss, R. D. (1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparation. Arch. Biochem., 16, 131-141. —14) 市川收(1953): 細胞化学. その理論と術式. 本田書店(東京). —15) 飯沼守夫(1956): 新しい組織学研究法. 医歯薬出版株式会社(東京). —16) Jacobs, L. (1953): The biology of *Toxoplasma*. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 2, 365-389. —17) Lelong, P. M. et Desmonts, G. (1951): L'emploi du microscope à contraste de phasés dans la réaction de Sabin-Feldman. C. R. des Soc. Biol. Paris., 145, 1660-1661. —18) Mazia, D. (1953): The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric Bromphenol blue. Biol. Bull., 104, 57-67. —19) 野村弘(1956): 寄生原虫類の細胞化学的研究 (I), 二, 三のトリコモナスに於けるグリセロフォスファターゼの分布について. 慶応医学, 33 (5), 241-247. —20) 野村弘(1957): 寄生原虫類の細胞化学的研究 (II), *Trichomonas* 類に於ける多糖類及び脂質の分布の形態学的研究並びに澱粉分解酵素の存在について. 慶応医学, 34 (2), 75-88. —21) 野村弘(1957): 寄生原虫類の細胞化学的研究 (III); *Trichomonas muris* の各分裂期に於ける核酸, 多糖類, フォスファターゼの消長について. 慶応医学, 34(3) 131-140. —22) 中村滋(1953): 家兎肝臓に於ける結核アレルギー反応の肝臓フォスファターゼに及ぼす影響. 大阪大学医学部雑誌, 5, 385-391. —23) Pi-

ekarski, G. (1950) : *Toxoplasma gondii* als parasit des Menschen und Tiere. Ztschr. Parasitenk., 14 582-625. —24) Pulvertaft, R. J., Valentine, J.C. & Lane, W. F. (1954) : The behaviour of *Toxoplasma gondii* on serum-agar culture. J. Parasitol., 44, 478-484. —25) Romanes, G. J. (1950) : The staining of nerve fibres in paraffin sections with silver. J. Anat., 84, 104-114. —26) Sabin, A. B. & Olitzky, P. K. (1937) : *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism. Science, 85, 336-338. —27) Sabin, A. B. & Feldman, H. A. (1948) : Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science, 108, 660-663. —28) 柴谷篤弘 (1951) : 核酸及び核蛋白質 (下巻). 共立出版株式会社, 東京.

Summary

An investigation was made into the morphology of *Toxoplasma gondii* which were treated beforehand with immune serum under the presence of the accessory factor according to Sabin-Feldman dye-test. RNA reaction in the nucleus became much weaker in the serum-treated organisms than in the control.

RNA reaction in untreated organisms was distinct in the cytoplasm, especially around the nucleus and near the surface of the body. Several hand-like structures were detected in the cytoplasm. A small RNA-positive granule was sometimes seen amidst the nucleus. In the organism

treated with immune serum, RNA-reaction was much weaker in general and neither the structure in the cytoplasm nor the positive granule in the nucleus was recognizable.

No definite difference was seen in the polysaccharide reaction between the test and control organisms. The phosphatase reaction was quite indistinct both in test and control organisms and no difference was seen between them. The silver impregnation technique did not reveal any difference in morphology between test and control organisms. But, this technique indicated several finer structures in the cytoplasm. Three dark staining lines run from the smaller pole of the body towards the center. Two run along each margin of the body and the third runs amidst the cytoplasm towards the nucleus. Many finer structures were seen in the cytoplasm of the dividing forms by this techniques. Protein staining was also tried. The reaction was, however, weak in general. Organisms treated with immune serum indicated weaker reaction than the untreated organisms.

It was conjectured from these observation that *Toxoplasma gondii* affected by immune serum became to have some abnormalities in the RNA-metabolism and this might be one of the reasons why the organisms lost their affinity to the alkaline methylenblue staining in Sabin-Feldman dye test.

附 図 説 明

附 図 I

1. DNA, 腹水標本及び対照
2. DNA, 免疫血清標本
3. RNA, 腹水標本及び対照
4. RNA, 免疫血清標本
5. Glykogen, 腹水標本
6. " 対照及び免疫血清標本
7. フォスファターゼ, 腹水標本
8. " 対照及び免疫血清標本
9. 昇汞 B-P-B 染色, 腹水標本及び対照
10. " 免疫血清標本
11. 鍍銀染色, 腹水標本, 対照及び免疫血清標本

附 図 II

1. 鍍銀染色. 宿主細胞破潰後, 二条の強陽性構造を示す
2. 鍍銀染色. 左方虫体に Cross の云う Cytosyle を見る
3. 鍍銀染色. 宿主細胞内虫体の種々相
4. " 縦分裂像
5. " Pulvertaft の云う縦分裂による W 字形の二コの虫体
6. 昇汞 B-P-B 法, 遊離虫体蛋白質反応
7. " 宿主細胞の Rosette 像