

# 位相差顕微鏡による *Plasmodium inui* の 形態学的観察特に生態観察について

許 太 陽

京都府立医科大学微生物学教室 (主任 鈴木成美教授)

(昭和 34 年 6 月 1 日受領)

特 別 掲 載

## 緒 言

マラリア原虫の生活史に関する研究はその赤外型の問題に関連して、こゝ30年間、驚くべき進展を示して、人類に多大の知見を加えたが、これらの研究において原虫の形態の観察は勿論生活史の追究上決定的な意味を有するものである。原虫の観察はほとんど全部古典的な方法、即ちギムザ或はその他の染色法による標本で観察された。生物学一般において、生物の死体による保存標本での観察は勿論重要な事項であるが、同時に生存時においてその形態ないし生態を観察することも亦等閑に附することの出来ない、しかも生物学的に興味のある事項である。微生物学においても例外でなく、この故に染色標本と共に多数の生態観察が行われて来た。しかしこれらは使用する器具としての顕微鏡の性能に制約され、時には必ずしも万全とはいえない。第二次大戦後 Zernike の発明にかゝる位相差顕微鏡が一般に知られるや、この方面に関心を抱くもの競つてこの研究に従事し、先人未踏の境地も次第に開拓されるに至つた。マラリア原虫は位相差顕微鏡出現以前においても、生態観察はなされていたが、暗視野もしくは明視野における無染色標本において行われているのでその詳細を尽し難い。位相差顕微鏡出現後において、これによるマラリア原虫の生態観察の研究は余り多くないようである。1952年に公にされた水平氏の著書では位相差顕微鏡下のマラリア原虫像の所見につき、塗抹乾燥標本において Ethylenglycol 原液で封入し、あるいは原虫保有血液を Etylenglycol や血漿で稀釈したものにつき多少触れている。また 1947 年に

Richard, 1949年に Trager がマラリア原虫を蚊の胃中にあるものや塗抹標本についてみていると報ぜられている。1952年 Coudert & Chastel は *Plasmodium berghei* の位相差顕微鏡所見を発表しているが原著を入手出来なかつた為詳細を知ることが出来なかつたことは残念である。1950年 Trager は鳥類マラリア原虫、*Plasmodium lophurae* の細胞外培養の研究にその所見を位相差顕微鏡で観察している。このものは著者の計測した猿類または人類マラリア原虫の宿主内における生態観察とはやゝ趣を異にしているので詳細は割愛することとする。1956年 Stobb & Rind が *Plasmodium vivax* の位相差顕微鏡所見を詳細に亘つて発表している。この種の参考文献の乏しい現状においては、氏等の論文は著者にとつて非常に参考となつたのであるが、細部に亘つては氏等と見解を異にする部分もあり、詳細については本論において論述したい。

著者はマラリア原虫の生存時において位相差顕微鏡下に観察することが出来たら幾多興味ある所見が得られるであろうと思惟し、その準備に着手した。しかし著者の居住せる場所が台湾省の辺鄙な地域であつた為準備に長期の時間を要し、装置の完備せる頃には DDT の残留噴霧実施の結果マラリア患者は消失し、残念ながら人類マラリアについて観察を実施することが出来なかつたので猿類マラリア原虫 *Plasmodium inui* をもつて代替し、多少の所見を得たので次に記述し並びに卑見を述べることにした。原虫は台湾省立瘧疾研究所の好意により同所に保存せる株の分与を受け著者の所有猿 *Macacus cyclo-*  
*pis* に接種せるものである。記して謝意を表す。

## 実験材料の一般

### 1) 実験動物

野生の若き *Macacus cyclopis* の捕獲せるものを馴致

TAIYO KYO: Morphological observation on *Plasmodium inui* by means of phase-contrast microscope (Department of Microbiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)



第1表 猿マラリア原虫の種属大別 (Sinton & Mulligan の表)

原虫の種類	<i>P. kochi</i>	<i>P. inui</i>	<i>P. knowlesi</i>	<i>P. semnopitheci</i>	本実験に使用せる原虫
自然宿主	主としてアフリカ産の下級猿類 <i>Cercopithecus</i> 及び <i>Papio</i> 属の猿	主として東洋産の下級猿 <i>Silenus</i> ( <i>Macacus</i> ) 及び <i>Cercocebus</i> 属の猿	同 前	東洋産の <i>Colobidae</i> 科の <i>Pygathrix</i> ( <i>Semnopithecus</i> ) <i>eutellus</i> から報告されたのみである	<i>Macacus cyclopiis</i> から検出された
末梢血液に見られる原虫の発育各型	発育初期の栄養型のみ見られ、分裂体は見られない	発育各型が見られる	発育各型が見られる	栄養型のみ見られ、分裂体は見られない	発育各型が見られる
寄生赤血球の変化	膨大、褪色、斑点等を見ない	膨大せず、濃色を示すことあり、斑点常ならず	膨大せず、褪色することがある。しばしば歪曲を示す。特殊染色によつてのみ斑点を見る	膨大するも斑点は見られない	膨大せず、時に濃色を示すこと稀にあり、斑点なし ( <i>Giemsa</i> 染色)
無性発育 Schizogonic cycle に要する時間	不 明	48 時間	24 時間	不 明	48時間と思われる
他の同種又は異種の下級猿に接種感染の能否	不 能	能	能	不 能	可能と推定される

第2表 Malamos u. Nauk の分類表

<i>P. kochi</i>	<i>P. inui</i>	<i>P. brasilianum</i>	本実験に使用せる原虫
1. 主として <i>Cercopithecus</i> , <i>Papio</i> 属に発見されている	主として <i>Silenus</i> ( <i>Macacus</i> ) <i>Cercocebus</i> 属	主として <i>Mycetes</i> , <i>Ateles</i> <i>Cebus</i> <i>Brachyurus</i> 属	<i>Macacus cyclopiis</i> において検出された
2. 分裂型を末梢血液に認めない	通常総ての発育過程を末梢血液に認める	通常総ての発育過程を末梢血液に認める	発育各型を末梢血液に認める
3. 赤血球膨大せず、褪色特に斑点を認めない	膨大し褪色、斑点をしばしば認める	しばしば膨大褪色す。斑点を認めない	膨大しない。褪色しない。むしろ稀に濃色を呈することがある。斑点を認めない
4. 染色質通常少量	染色質常に多量。	通常染色質中等量	染色質多量
5. 病原性弱し。	病原性不定、時に重症。	病原性中等度	病原性弱し
6. 他の下等猿類への感染まだ不可能	他の下等猿類への感染可能	自然感染の認められる中部南部アメリカの猿類のみ感染可能	他の下等猿類への感染は可能と推定される

して使用した。実験前約1ヶ月飼養して余病なきを確かめ、又血液の塗抹標本につき精査して血球中に何等病変或は寄生性微生物の存在していないことを確認した上実験に供した。

2) 観察原虫

前述のごとく台湾省立瘧疾研究所に保存されている *Plasmodium inui* の或る株の分与を受け、これを使用した。由来猿類マラリア原虫は異名同種、或は同名異種、相錯綜し、しばしば研究者をして、自己所有の原虫の分類学的位置を判断するのに少なからず困難を感じしめるものがある。著者が実験に使用せるものは既に上述研究所

において *Plasmodium inui* と同定されたものであるが、一応この点につき些かの考察を試みてみよう。猿類マラリア原虫の種別については多く Sinton & Mulligan の分類表および Malamos und Nauk の分類表が用いられるようである。横川氏は台湾産黒肢猿に検出した2種のマラリア原虫の種別については、Sinton & Mulligan の分類表にしたがい、猪木氏が台湾猿 *Macacus cyclopiis* に発見した一種のマラリア原虫については Malamos und Nauk の分類表にしたがつている。両氏の論文原著よりこの2表を照合するに、原虫の特徴の記載に多少のくいちがいはあるようであるが、今両表をこゝに引用し



第 3 表 Malamos u. Nauk の *Plasmodium inui* の分類表

	<i>P. inui</i> sens. stric.	<i>P. inui</i> var. <i>cynomolgi</i>	<i>P. inui</i> var. <i>gonderi</i>	<i>P. knowlesi</i>	<i>P. semino- pitheci</i>	本実験に使用せ る原虫
自然寄生	<i>Silenus</i> (=Ma- cacus) <i>irus</i> <i>S. nemestrinus</i> <i>S. rhesus</i> <i>S. latiotis</i> <i>tcheliensis</i>	<i>S. irus</i> (= <i>M. cyno- molgi</i> )	<i>Cercocebus</i> <i>fuliginosus</i> <i>C. aethiopicus</i>	<i>S. irus</i>	<i>Pygathrik</i> sp. <i>S. irus</i>	<i>Macacus cyclo- pis</i> において検 出された
地理的分布	ボルネオ, ジャ バ, スマトラ, トンキン	ジャバ, マレ イ	ジャバ, マレ イ	アフリカ	インド	台湾において検 出された
繁殖体発育 時間	48 時間	48 時間	48 時間	24 時間	不 定	推定 48 時間
a) 核	複核 (小なる 副核なし)	副核あり	副核あり	副核あり	副核あり	副核あり
b) アメーバ型	僅少又はなし	多数	多数	僅少又はなし	なし	多数
c) 空 胞	しばしば存在	初期に存在	初期に存在	稀	なし	しばしば存在
d) 色 素	多量 (赭色, 微細, 早期に 出現)	中等量 (赭色, 比較的末期に出 現)	少量 (黄緑— 褐色, 早期に 出現)	多量 (赭色— 黒色, 早期出 現)	多量 (淡褐色, 微細)	多量 (黄—黄 緑—褐色, 粗 大, 比較的早 期に出現)
e) 分裂体	12~16	8~16	8~16	8~16 (一般に10)	分裂体出現せず	12~16
生殖母 体	a) 大きい 赤血球大	正常赤血球より 大	正常赤血球よ り大	正常赤血球よ り大	正常赤血球よ り大 遙かに大	赤血球大
b) 色 素	多量 (黄褐色, 微細)	少量 (褐色, 黒 色粗大)	多量 (褐色, 粗大)	多量 (褐色, 黒 色, 中等大)	多量 (黄色, 黒 色, 中等大)	多量 (黄褐色, 中等大)
赤血球	a) 大きさ 膨大せず,	膨 大,	膨 大,	膨大せず, 変形 著し	膨 大	膨大せず
b) 染 色	しばしば濃染	褪 色	褪 色	褪 色	褪 色	褪色せず, 稀に濃染
c) 斑 点	不 定	しばしば出現	実験的感染に のみ出現	不 定	皆 無	皆無(ギムザ)
病 原 性	不定, 多くは軽 症	不定, 軽症又は 無症状	軽 度	自然寄生におい ては軽度 <i>M. rh- esus</i> には致命的	重症, 致命的	軽症殆んど 無症状
感 染 実 験	他の下級猿に容 易	他の下級猿に容 易しばしば重篤 症状を示す	他の下級猿に 容易人類には 不可能	他の下級猿に容 易, 人類及び Gibbon にも可 能	他の猿類に感染 不可能	他の下級猿類 にも恐らく可 能, 人類には 不明

て本実験に使用する原虫の種属に対し多少の考慮を払うことゝしよう (第 1 表, 第 2 表)。

上記両表と本原虫とを照合すれば, 記載に多少の差異はあるが, Sinton & Mulligan の表の *P. inui* とよく一致している。Malamos u. Nauk は Sinton & Mulligan が *P. knowlesi* を別に一種たてたのを *P. inui* の変種として *P. inui* の下に統括した為差異を生じたものと思われる。更に Malamos u. Nauk の *P. inui* の変種分類表と照合すればこの消息が尚明瞭になると思われるので次に掲げよう (第 3 表参照)。なおチンパンジー及びゴリラには *P. falciparum* に類似する *P. reichenowi* が感染するものがあり, ボルネオ産のオランウータンに

寄生する *P. pitheci*, *Macacus* 猿に寄生する *P. inui* と *P. knowlesi* は *P. vivax* に類似し, *P. brasiliense* は *P. malariae* に類似していることが知られている。

上表を比較参照するに, *P. inui* sens. stric. が本原虫によく酷似するもの一, 二の点で十分に一致しているとわいえない。しかし本原虫の分類上の位置を追究するのが目的でないので, *P. inui* の一変種として用いることにし, 只本原虫は, その赤血球内発育圏に要する時間, およびその他の所見により, 又色素顆粒の色調, 被寄生赤血球の状態, 本原虫を *M. rhesus* に接種せるも症状軽微であつたことなどからそれぞれ横川氏の検出せる *P. taiuanesis* n. sp. 及び猪木氏の記載になる *P. inui*



var. *cyclopis* Inoki, Tamura, Makiura u. Honda とは別種ならんことを附記するのみに止めよう。

**P. inui の流血中發育圈に要する時間**

猿類マラリア原虫は多くの場合、流血中に同時に無性生殖圈の各型を検出することが出来、又臨床にも多くは何等著明の症状なく慢性に経過するので、原虫の發育圈所要時間を定めることは往々にして困難を感じる。本例においてもそうであつて、しかし原虫の種別の決定、又この次になさるべき位相差視野における観察の参考に供する為にも、發育圈を確認しておくことは種々便宜の得られる場合が多いので、次のような方法で観察することにした。即ち4昼夜に亘り3時間毎に採血し、これをギムザ染色標本にして、各標本に対し、恰も白血球の分類をなすが如く、原虫200個を数え、この間に出現せる原虫の各型の百分率を算出し、その結果を曲線図表に表してみた。その結果は第1図に示す。血液塗抹染色標本に出現する原虫の中、アメーバ型と生殖母体とは、原虫の發育圈を知るには余り明瞭でないように思われるが、輪状体と分体とは曲線の昇降が明瞭で、しかも両者の間

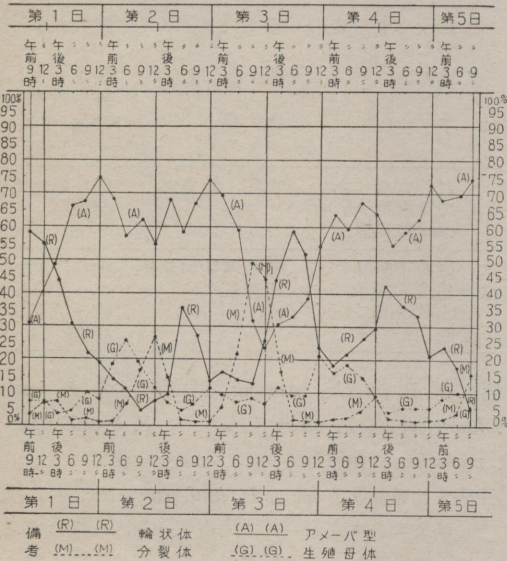
移行するが為であろうと推察する。

今輪状体についてみるに、最高出現率を示したのは、第1日目の午前9時及び第3日目の午後6時であつて、夫々58%を示し、この二つの山の間にはさまれているが如く第2日目の午後6時と第4日目午後3~6時にそれぞれ各一つの小山を形成している。これに対応して分裂体の方は輪状体に先んずること大約3~9時間でそれぞれ第2日目正午、第4日目正午に、小山を、第3日目の午前9~12時に最高出現率を示している。第1日午前9時、輪状体が最高出現率を示している分に対応する分裂体の山は、この時が第1回目の採血である為確認することが出来なかつたが、採血最終回、すなわち第5日の午前9時には分裂体の出現率は上昇を示し、来るべき輪状体の最高頂点に対応して次に山を形成しつつある状態にあることが推測される。上記のような状態から推断するに、本例では、大部分が大約57時間毎に分裂するものと、一部48時間毎に分裂するものとが混合しているように思われる。48時間分裂の方は成書にも記載されている通りで又曲線を見ても山の高さがほぼ同じく問題は存しないように思われるが、57時間分裂のものは、やはり48時間分裂のものが、何代かの継代培養と、長期の感染の為、各原虫間に世代毎に多少とも時間的のずれのあるのが次第にそのずれが大きくなって相混合したものと思われる。血中に各型のもが同時に容易に検出されることからそのような推測されて、見かけ上57時間の態を呈しているのが実はやはり *P. vivax* のように48時間の發育圈を有するものと推察される。すなわち本原虫の末梢血液内における一發育圈の所要時間は48時間と見做すべきものであらうと思う。

**P. inui の血液塗抹ギムザ染色標本所見**

末梢流血中に出現する原虫の型は、輪状体、アメーバ形、分裂体、生殖母体等各型共同一標本中に容易に検出することが出来る。被寄生赤血球は膨大したり、褪色することなく極く稀であるが却つて濃染していると思われるものも出現する。但し原虫がよく発達せる分裂体及び生殖母体にまで發育すれば、赤血球も褪色を呈するに至る。シコフェル氏斑点やその他類似の斑点は認められない。染色質は多量で濃紫紅色を呈し、原形質は灰青色に染色される。一般に黄色ないし黄緑色から黄褐色に至るまでの色調を呈する色素顆粒を有し且粗大である。

幼若な輪状体では極めて微細な塵埃様の顆粒が灰青色の原形質の中に見出されるが、微細な為はその色調を確



第1図 *M. cyclopis* 流血中に出現する *P. inui* 各型の時間的推移

には、ある程度まで相関関係を有していることがうかがわれる。恐らくアメーバ型や生殖母体の發育に要する時間や流血中に滞留する時間が割合に長く、これに比し、輪状体や分裂体は割合に短時間中に他形態のものに変化



めることは困難である。染色質は大きく明瞭でしばしば 2 個認められる。アメーバ型、輪状体、或はそれ以上に發育せるものでは、顆粒もかなり大きくなって、黄色ないし黄褐色であることを確かめることが出来る(附図〔I〕1, 2, 3 参照)。

アメーバ型では染色質豊富明瞭で、十分に發育せるものでは、顆粒も粗大で形も不規則なものが混り、又原形質中にも空胞のあるものしばしば見出される(附図〔I〕3, 4 参照)。

分裂体は成熟したものでは顆粒の数は割合少く見られるが、粗大で虫体の中央部、或は一側に偏して集合することが多く、時に帯黄褐色の斑としてしか認められないものも少なくない(附図〔I〕5 参照)。

分裂体の染色質は成熟したものでは、12~16個であった(附図〔I〕5 参照)。

雄性生殖母体は虫体やゝ小さく染色質は大きく、網糸束状を呈し、原形質は紅味を帯び、顆粒は雌性のものに比し小さく且疎に体部の辺縁に多く分布している。雌性生殖母体においては、原形質はアメーバ型や分裂体と同じく灰青色で染色質は雄性のものに比し小さく且顆粒状を呈し、色素顆粒はやゝ大きく又分布状態やゝ密である。中には粗大な顆粒のみが虫体全体に亘つてまばらに分布されているものも少数認められた(附図〔I〕6~9 参照)。

### *P. inui* の位相差顕微鏡観察方法及び器具

#### (1) 観察方法

余は次の如く 4 段階に区分して観察した。

I) 原虫を移植せる実験猿の耳朶より血液を 1 滴採取してこれを載物ガラスに載せ少量の稀釈液にて適宜稀釈して覆ガラスをかぶせ周囲をワセリンで封じて位相差顕微鏡下に鏡検する。

II) 実験猿の脾臓を開腹露出し、注射針で深く穿刺して湧出する血液を I) の如く処理して観察に供する。

III) 実験猿の脾臓を剔出し、剔出直後まだ新鮮な中にその一小細片を同様に処理して観察に供する。

IV) 脾臓剔出後の実験猿より I) の如く耳朶採血して観察する。

稀釈液の処方は次の通りである。

食 塩	0.38 g
枸橼酸ソーダ	1.50 g
蒸 溜 水	100.0 ml

本稀釈液は正常血液と等張を示し、実験前無稀釈無染

色生鮮標本と比較し、血球、原虫とも最も正常な形態を保持し得ることを確かめた。

染色時の形態と比較する為、同時に採取した材料を塗抹乾燥後ギムザ氏法にて染色せる標本を併用した。

#### (2) 実験器具

上記 I) の観察にはツアイス・ウインケル工場出品のスタンダード位相差顕微鏡、並びにこれに附属せる撮影装置及びカメラを用いた。附属の対物レンズは P. H. Positive med. 100×(油浸)である。なお撮影用接眼レンズは 10×、撮影装置の倍率 0.5×、従つてネガの像は 500 倍になる。これを約 3.5 倍に引伸して得たのが附図〔II〕、〔III〕の像で、総合倍率約 1750 倍である。出来上り印画の赤血球の直径は約 12mm である。

撮影光源には附属の電気閃光装置を用いた。この装置の閃光時間は  $1/500$  sec. である。なお本装置には標本の恒温装置も附属していたが、血球及び原虫共室温の程度でも、観察長きに失しない限り形態を崩すことが認められなかったのを比較考察して確かめたので本装置は使用せずに観察を進めた。

II), III), IV) の観察には日本光学製 S 型双眼顕微鏡及び附属位相差装置、撮影装置を使用した。倍率は対物レンズ 100×(油浸)、接眼レンズ 15×、撮影装置の倍率 0.5×で約 2.5 倍になるまで引伸を行い、赤血球の直径を I) の時と同様約 12mm 保持する様にして比較検討に便宜を得るようにした。附図〔IV〕〔V〕の写真はかくして得られたものである。

#### (3) 観察結果

##### I) 実験猿の末梢血液中における原虫の観察

位相差視野における原虫の状態を概括的に述べると、赤血球の暗い陰影の中に原虫は明い光輝部として認められた。赤血球との境界をなす辺縁は十分明確でないけれども割合に明瞭である。虫体は一様の明るさでなく、体部の中央部や、辺縁部でも顆粒を含まない部分の中、あるものは幾分か暗く観察された。これに反し辺縁部、或は顆粒をその中に含んでいる部分は虫体の厚さに幾分の差異があるらしく、多くの場合明るく見える。虫体は多くの場合、自己の有する顆粒によつてのみならず、赤血球内の成分液の流動か、或は赤血球内の微粒子の分子運動かによるものか、かすかに振動をなしている。この現象は原虫の幼若な程明らかで、多分幼若な程虫体の重量や比重もそれだけ少なく、虫体内外のこうした影響を受け易いものと思われる。これは原虫の固有運動とは考えられない。



虫体内部に顆粒の認められた場合は死滅せざる限り、毎常活潑な分子運動を認める。顆粒はかなり大きく、見かけ約直径  $1/3 \sim 1/4$  mm 未満の暗点として認められる。分子運動は極めて活潑で著者はこの顆粒を静止の状態において撮影せんものと試み、撮影照明に閃光時間  $1/500$  sec. の電気フラッシュ装置を使用した。なお十分に静止した状態で撮影することが出来ず、又肉眼で観察したものよりもその数は遙かに減少している。これらの顆粒は染色標本で黄～黄緑褐色に見られるマラリヤ色素顆粒と思われる。

核やそれらしき部分は認められない。ギムザ染色標本において美しい紫紅色に染め出される染色質も、位相差視野における生鮮標本では何等その痕跡をも認めることは出来ない。虫体内部に空胞の存在は認められない。

Stobb & Rind によれば位相差視野では不明瞭ながら核を認めると記載されている。但し氏等の記載ではその位置を指摘していない。又所掲の附図写真にも核を思わせる部分が存在しない。著者の観察では、輪状体では多く、その輪状虫体の一部は、時にはその存在さえ認識し難い程細くなつており、対蹠的にその対向側は太く幅広く明るく輝いている。この明輝部は一見この部に核の存在を示すが如く思われるが、ギムザ染色標本と比較対照すれば、核内部の構成の一部と思われる染色質の存在は輪状虫体の細部にあり、広部は青灰色の原形質部である。従つて位相差視野においてのみ輪状虫体の広部に核が存在していると推断するには少なからざる困難を感じる。又アメーバ型では多くは虫体内部の側に偏して顆粒を含有し、その対向側には顆粒がなくて、しかも明るく輝いている部分がある。この部は恰も核の存在を示すが如く思われるが、確実に核に間違いないと推断すべき何等の根拠を持つことが出来ない。

しばしば一赤血球の中に虫体が2～3個の各独立した円形ないし楕円形の光輝斑として見えたり、或は不整形の虫体の中に、恰も中空を思わせる円形の光輝斑があつて、その中に顆粒ある如く見えることがあるが、これは虫体が立体的に厚味を有するか、或は虫体が立体的に屈曲して、深度の浅い位相差レンズではその全体にピントを合せることが出来ずに出来た光学的断面であると考えられる。

しかし一赤血球内に原虫が2個以上重複寄生をなすことも稀でなく、この時は虫体の運動、変形を待つか、或は顕微鏡のピントを種々に変化せしめて、各分離した虫体内に確かに連絡のないことを確めて定める(附図〔Ⅱ〕

15～17:附図〔Ⅲ〕28, 29. 附図〔Ⅱ〕22, 23参照)。

幼若な輪状体は他の型の原虫よりも虫体はやゝ暗く認められる。虫体内には顆粒は全然認められなく、赤血球の一部に定着したまゝ前記の振動様の微動をなす。固有運動は認められない。染色標本で見られる形そのままに見られ、その状態恰も水平氏がその著書において形容せる如く、ドーナツ型の如き観を呈する。成長するに従つて、原形質の幅は増大し、体部の明度も増加し、且体内に微細塵埃様の顆粒が活潑な分子運動をなすのが見られるようになる。

よく成長した輪状体においては輪状の原形質部の幅広く、明度は殆んどアメーバ型と比して変らない。原形質部中には、微細な顆粒に混じて粗大な顆粒が出現して、やがては全部が粗大な顆粒に占められるようになる。但し顆粒の数はアメーバ型に比しなお著しく少数である。普通栄養空胞と称されている中空部には顆粒の存在を見ない。

輪状体は赤血球の側に偏して存在し、多くは赤血球の辺縁部に接近する側において細狭となるが、一部反対に細狭部を赤血球の中心部に向けているものも少なからず見られる。

しかし染色標本で見られる染色質は恐らくこの細狭部に存在すると思われるが、位相差視野では染色標本で見られる染色質、ないしは核に該当すると思われる部分は見出されない。

又栄養空胞をなしている輪状体の中央空胞の明度は赤血球の他部とは大きな差異は認められない(附図〔Ⅱ〕10～12参照)。

アメーバ型程に發育をとげた原虫では毎常その体内に1～2～3個所に局限して顆粒が運動する。顆粒はアメーバ型のよく発達せる虫体の辺縁部に限られて存在し、時にはかなり広範囲に亘ることもあるが、大体においてその存在個所はほゞ局限されていて、虫体の中央部に顆粒の見られることはない。たとえ一原虫体内に2個所以上に顆粒群が存在しても、各群相互の間で顆粒が流動したり混合したりする現象は見られない。アメーバ型の虫体は顆粒の存在しない側、又は体部の中央部に近い部分において、他部に比し著しく明るい部分の存在するのを認める。恐らく核ないし染色質の存在する場所であろうと思われるが、周囲との移行が漸進的で判然たる境界なく、明らかにそれと断定することは出来ない。従つて染色標本では原形質中顆粒の存在しているのとはほゞ反対側の方に染色質が見られるが、位相差視野下では該部



に該当する場所にはそれらしき、或は核部と思われる部分を判然と指摘することは出来ない。又空胞は染色標本でしばしば見られるが、位相差視野下の生鮮標本では見られない(附図〔Ⅱ〕14~17参照)。

アメーバ型も亦前記振動様微動を虫体の辺縁各部において認めることが出来る。但し前述通り虫体の固有運動とわ考えられない。マラリア原虫のアメーバ様固有運動は古来記載されて来たが、著者の観察せる運動は些か今まで述べられて来たのと趣を異にするように思われる。アメーバ型原虫は不規則なかなり長い間歇において突発的発作的な激しい一挙動の運動をする。かくて虫体の一部はいきなり突出し、或は収縮する。突出或は収縮して形を変えた虫体は、或はそのまゝの形をつまげ、或は徐々に反対に収縮、若しくは伸出して、もとの形に復元する。この突発的発作的運動の間歇時において、いわゆる緩慢なアメーバ様運動をなすのである(附図〔Ⅲ〕参照)。

染色標本では輪状体、アメーバ型と成長するに従つて虫体の含有する顆粒の色調も強くなり、数も多く且大きさも増している。従つて毎常アメーバ型を輪状体よりも成長の進んだものとして考えられ得るが、位相差視野下の生鮮標本では必ずしもそうではない。しばしば顆粒のない、或はあつても識別し得ないような微細なものしか虫体内に認められないにも拘らず虫体は既にアメーバ状を呈し、固有運動の認められることが稀でなく、これに反し、未だ輪状を呈しているに拘らず、虫体内にかなり多数の、又かなり大きな顆粒が活潑な分子運動をしているのが見られることがある。これは原虫が未だ輪状体を示す程成長しなくても輪状体を呈する前に一時期アメーバ型を呈し固有運動を示す時期があるものと思われる。顆粒の状態を原虫成長を判断する尺度の一つに考えることは著者も考えるところであるが、生鮮標本でアメーバ型を毎常輪状体よりも成長したものとして取扱うことは必ずしも常に妥当であると思ふことは出来ないものと思われる(附図〔Ⅱ〕12, 13参照)。

位相差視野で分裂体を識別することは困難である。ギムザ標本では美麗に染め出される染色質を第一の識別点として分裂体を識別するのであるが、位相差視野では染色質に該当すべき部が見られない為、他型のものとのはっきりした鑑別点なく、僅かに原虫の大きさ、運動性等を目標にして、鑑別を試み、又原虫の血液中への出現率を調べ、その時間的關係に基いて採血する等、百方手を尽し、苦心を重ねたけれども、同時に採血、作成せるギ

ムザ染色標本では容易に分裂体を検出し得たのにも拘らず、位相差視野では遂に明確にこれと断定し得る客観的条件を具備せるものを検出し得なかつた。唯一言出来ることは、ギムザ標本では分裂体は、十分に成熟せるものでは、多くの場合、色素顆粒は一個所に集合し、その周囲に美麗な染色質を有せる *Merozoites* が菊花状ないし桑実状に配列されて見えるが、位相差視野では、これに匹敵するような顆粒の集合をその虫体の中に見出される様なものを、少なくとも著者の観察せる条件下では見出されなかつたことである。

分裂体に比すれば、生殖母体の判定は割合に容易である。位相差視野では生殖母体は円形或はやゝ楕円形に見え、赤血球とほゞ同大かやゝ小である。顆粒は活潑な分子運動を営んでいるが雌雄共に余り密ではない。多くの場合、赤血球をほゞ一様に充す。虫体の一部にかなり大きな面積を占めて割合に明るく、顆粒のない部分を認める。これを染色標本と対照比較することによつて、この部が染色質ないし核の存在個所であると推定される。この部の大きなものは体部の顆粒に粗大なものが少く、又割合に顆粒の分布も疎で、雄性生殖母体と思われ、小さなものは顆粒粗大で割合に密に分布し、雌性生殖母体と考えられる。雄性生殖母体では虫体部にほゞ平均して分布している顆粒の外に核の存在個所と思われる大きな類円形の明部の近傍に特に小さな円形に限局して、密に顆粒が分子運動を営みつゝ集合している。これが如何なる意義を有するかは不明であるが、雌性生殖母体では見られなかつた(附図〔Ⅱ〕18~21参照)。

生殖母体のみにおいて核の所在と思われる明部を認めることが出来、又この部には顆粒が存在しないのであるが、この明部も強く光を屈折する光輝部という程でなく、只アメーバ型の顆粒の存在しない体部に比し幾分か明るくという程度であり、又雌雄両生殖母体の区別にしても染色標本程明確に区別出来ないのは如何にも残念なことである。

生殖母体は輪状体と同様固有運動を有しない。又体部の振動様微動も極めてかすかである。

以上の如く位相差視野生鮮標本において見られた原虫については染色質や核の性状を明らかにすることは出来なかつたけれども、生きた原虫の運動状態や顆粒の状態などにつき興味の深い所見を得ることが出来た。以上の所見は全部室温において観察されたものである。(本顕微鏡装置には熱遮断装置を施さなかつたので照明光源による標本上の温度の上昇については考慮されていない。



従つて厳密な意味では室温とはいえないけれども、その影響は小さなものと考えてこれを無視した。又観察時の室温は $15^{\circ}\text{C}\sim 20^{\circ}\text{C}$ 前後である。) 著者はこの外にも顕微鏡に恒温装置を施し、標本上の温度を $38^{\circ}\text{C}$ に一定した場合についても観察しているが、この場合における原虫の状態も又上記と何等異ならなかつたことを附言したい。

原虫の赤血球寄生部位についてはまだ十分に確認された所まで探究されていないようである。著者も又この点に十分注意して観察したが十分な結論を得るところまでには至っていない。血液生鮮標本を観察している中、赤血球が流動によつて時々縦断面を見せるものがあることや、赤血球が廻転して一時縦断面を見せて再びもとの位置に戻ることのあることは何人もしばしば経験するところである。この時たまたま原虫の寄生したものがあつて縦断面を見せた赤血球中に原虫を見ることがしばしばある。これによつても或程度まで原虫の寄生部位を知ることが出来るのであるが、出現頻度が低く、又観察せる数も少ないので確定的な判断を下すことが出来ない。又大部分が最も出現率の高いアメーバ型に見られ、輪状体その他の型のものについては見ることが出来なかつたので原虫全般についても何等かの結論を下すことは許されない。しかし少なくともアメーバ型についていうならば、毎常赤血球の中においてのみ見られ、赤血球表面上に原虫の全部或は一部を見ることは出来なかつた。従つてアメーバ型については原虫は赤血球の内部に侵入寄生しているものと推断してよいものと思われる。

以上でI)の観察を終えるがこの観察結果は爾後の観と推論の基礎となるものであるので要点を次に要約しよう。

1. 原虫の中輪状体、アメーバ型、生殖母体を血球の暗影の中に明るい光輝部として検出することが出来たが、著者の努力にも拘らず分裂体を確認することが出来なかつた。
2. 原虫が十分に発育すれば、体内には色素顆粒が活潑に分子運動をなし、顆粒の分布は原虫体の周辺近くに群集し、中央部には見られない。又幼若な原虫では顆粒は見られない。輪状体でも顆粒を有するもの稀でなく、このものは顆粒のないものより成長の進んだものと思われる。
3. 十分に発育せるアメーバ型では顆粒の群が一つのみでなく、2ないし3群見られることが多いが、各顆粒群の間で相互融合したり又顆粒の交換を見ることはない。

4. 輪状体は普通固有運動は見られない。但しまた輪状を呈さない程に幼若なものは一時期偽足を有してアメーバ型を呈するものがあると思われ、このものはよく成長せるアメーバ型と同性質のアメーバ状運動をなす。よく成育せる輪状体でアメーバ型に移行しつゝあるものも又偽足を出し固有運動が認められる。

5. アメーバ型は緩慢なアメーバ状固有運動と、間歇性の急激な一挙動の運動とが混在する。

6. 生殖母体には固有運動は認められない。核ないしそれと思われる構造は生殖母体に至つてはじめてうかがわれる。但し明瞭でなく、僅かに推断される程度である。

II) 並に III) 脾実質細片の浮游懸濁液及び脾臓穿刺血液による観察

著者は先に *Macacus cyclopis* に寄生せる *P. inui* をその末梢流血中において位相差顕微鏡によつてその生態を観察したが、まだその分裂体の様態を明らかにすることが出来なかつたので、実験猿に開腹術を行い、その脾臓を剔出してその実質を前実験に用いた稀釈液に懸濁浮遊せしめ、又注射針によつて深く穿刺し、流出する血液を同じく稀釈液中に稀釈して無染色生鮮標本を作成しこれを位相差顕微鏡下に鏡検し、又同時に作成した塗抹乾燥せるギムザ染色標と比較観察を試みた。脾実質より作成せる標本では、無染色生鮮標本でも又ギムザ染色標本においても、標本中に多数のマラリヤ色素を貪食せる大形の網内系細胞や、多数の淋巴球の出現を認め、又間質にも各所にマラリヤ色素塊の沈着があることは勿論のことであるが、脾臓穿刺によつて得られた血液より作成せるものでも、無数の赤血球に混じて、これら諸細胞やマラリヤ色素塊を認め得てかくて得た材料については、十分に末梢血液とは異つた意義を持たすことが出来るものと信ずる(附図〔IV〕参照)。

然るにその中に認められた原虫は末梢血液中におけるものと何等異なることなく、ギムザ染色標本では、輪状体、アメーバ型、分裂体、生殖母体等を認め得たに拘らず、生鮮無染色標本では、輪状体、アメーバ型、生殖母体を認め得たのみで、又その状態も末梢流血中のものと何等差異を分つことなく、分裂体はついに依然として検出することが出来なかつた。

IV) 脾臓剔出猿の末梢流血中における原虫の観察

脾臓を剔出された実験猿の末梢流血中では急速に原虫の数を増し、遂に赤血球1000個中に450個前後の原虫を数えるに至つたのでこれを耳朶より採血、前実験と同様



第 4 表 分裂体出現率比較表

採血時期	採血回数	普通猿		脾臓出猿	
		ギムザ染色	位相差視野	ギムザ染色	位相差視野
第一日採血	第 1 回採血	5.2%	4.9%	11.3%	10.7%
	2	7.8%	7.7%	13.4%	12.7%
	3	12.4%	11.3%	7.8%	8.1%
第二日	4	3.1%	2.6%	8.3%	7.4%
第三日	5	4.3%	3.7%	9.5%	8.3%

の方法によつて、位相差顕微鏡下に鏡検、ギムザ染色標本と比較検討を試みた。位相差視野における原虫の状態は脾臓を剔出せざる実験猿より得たものと、輪状体、アメーバ型、生殖母体等何等差異を認めないがこゝに上記の何れの型にも属さずしかも明らかに原虫と思われる異様な原虫体が多数認められた。原虫をその成育状態から従来の如く輪状体、アメーバ型、分裂体、及び生殖母体に分類するならば、このものは今まで観察された輪状体、アメーバ型、生殖母体の何れにも属する様な特徴をそなえていないので結局今まで識別することの出来なかつた分裂体に属するものと考えざるを得ない。試みに原虫 100 個に対するこのものゝ出現率を脾臓出猿と普通猿の両者につき採血計算し、これと同時に採血作成せる標本の分裂体の出現率とを数回比較せるに、毎常よく一致するのを認めた(第 4 表)。

こゝでこのものを分裂体と断定し、少しくその様相を詳細に述べよう。

このものは静止して固有運動を示さない。

完全な円形をなすものも可成認められるが多くは一部に欠損部を有する不完全円形を呈し(附図〔V〕46, 47 参照)、時に弦が外側にすこし張り出した半月形を呈するものも少からず見られる(附図〔V〕48)。完全円形をなしたものはその外側に一部、不完全円形のものはその欠損部に、又半月形を呈せるものはその弦部に赤血球の残影と思われるものを認める。円形及び不完全円形をなせるものはその中央部に、又半月形をなせるものは赤血球残影部で虫体との境界中央部に明るく光線を屈折する部分があるが、周囲の暗部との境界は十分に明瞭ではない。虫体内部には、不規則な形状のマラリヤ色素塊が極

めて明確な境界線に割られて散布し、大きさはまちまちであるが、一体に今まで観察して来た他型の原虫に比し極めて大きいものが混在している。形の大きなものは主に虫体の最外側及び中央光輝部との境界近く散在しその間に割合に小さなものが不規則に散在する。時にこの両者の区別が判然として恰も二重の同心円を見るような様子をなしたものがある。これらの色素塊は今まで観察して来た型のものに比し形の著しく大きいのが混在するが、数は少い。分子運動は不活潑で時には全く静止して分子運動を示さない顆粒を含有する虫体を見ることは極めてしばしばである(附図〔V〕46~50 参照)。但し中央明部に少数の性状、大きさ共にアメーバ型ないし成長せる輪状体のものと異なる顆粒が暗点として活潑に分子運動をなしているものも認められる(附図〔V〕46, 47, 50 参照)。これは恐らく全部の原虫が明部に分子運動をなす小顆粒を有するのであるが、明部における屈折せる光輝に妨げられて、時に見えなくなるのであろうと想像される(附図〔V〕49)。この明部に時に明確な境界を有し著しく光輝するか時には反対に暗黒を呈する色素塊の集積しているのを見ることがある。これは恐らく末梢血液の中では最も成熟せる分裂体であろうと思われる(附図〔V〕51, 53 参照)。

以上が位相差視野における分裂体の様態であるが、ここに注意すべきことは原虫体の分裂がその痕跡をさえも見られないことである。ギムザ染色標本では美麗な紅紫色に染出される染色質が分裂して菊花状ないし桑実状に排列されるので原形質部も亦分裂している様な印象を受けるのであるが、以上の位相差視野下の観察に基づくならば、原形質部の分裂は認められないのであるから、染色標本における印象をもつて、原虫の分裂は行われていると考えるのは早計のようである。元來位相差視野下においては原虫の核部ないし染色質に該当する部を識別することが出来ないのであるから分裂体においてもその核部ないし染色質部を見ることの出来ないのは当然であろう。従つて位相差視野下にある所見を以つて核分裂や染色質分裂の存否を論ずることは当を得たものでないと考えるのであるが少くとも原形質部の分裂は行われていないと言えると思う。又核部の分裂についても染色標本における染色質が分裂して見られるが故に核も分裂しているとの考えに対しては懐疑的な態度を取らざるを得ない。何となれば分裂の行われていない原形質部を仮定するならば、染色質が核の構成要素の一つであるとしても、その分裂せる状態は核分裂を意味するものでなく、核分



裂の行われる直前の状態を示したものと考える方がより妥当と考えられるからである。

然らば、以前の実験観察において何故にこのような原虫体を見なかつたのであろうか、今にして思えば、このような原虫体を見なかつたのでないのである。その固有運動を有さない虫体と、分裂を呈さない外観及び虫体内部に含まれた顆粒の分子運動が微弱か又は欠如していたが為に、又出現せる数が少かつたので断定の根拠を失い、恐らくは観察中に死滅せる原虫体であろうと考えて看過していたことを附言したい。

### 総括

著者は *Plasmodium inui* を *Macacus cyclopis* に接種して、その末梢血液中に、次に脾臓を穿刺して湧出する血液中に、又脾臓を剔出して脾の実質中に、最後に脾臓剔出猿の末梢流血中に、原虫を求めてこれを位相差顕微鏡下に捉え、ギムザ染色標本と比較対照しながら、これが形態及び生態観察をなした。位相差顕微鏡下に見られる原虫は特異な運動をなし虫体内に活潑な分子運動をなす顆粒を見るのが普通であるが、輪状体の固有運動は著明でなく又生殖母体及び分裂体には固有運動は認められない。分裂体の顆粒は著しく大きなものをも含み分子運動は極めて不活潑か又は見られない。核部は生殖母体に至つてやゝそれと思われる部分をようやくにして認められる程度に見られ、普通はその存在を識別することが出来なく、ギムザ染色標本で見られる美麗な染色質はその痕跡をさえ見ることが出来ない。従つて分裂体では分裂せる核の存在を見ることは出来ないが、原形質部においても分裂せる状態を見ることは出来ず、恐らく末梢血液中においては原虫の分裂、新血球への寄生等の現象は行われないものと思われ、原虫の分裂、並に新血球への侵襲は一観察例数が少い為断定的な判断を避けるが恐らく脾臓をも含め一少くとも末梢血液以外のある特定の場所において行われるものと考えられる。

この観察結果は今までの Schizogony に関する古典的な記載に一部反するもので、近年マラリア原虫の生活史の研究は殆んど赤外型の研究に注意が払われ、赤外型を除外した従来の Schizogony の記載に対しては完全なものと考えられていたが、赤内型の生活史の記載に対しても何等かの改変ないしは追加の必要あるものと信ずる。

### 考 按

マラリア原虫は周知の如く、1880年フランスの軍医 Alphonse Laveran によつてマラリア熱の病原原虫として発見されて以来、その生活史の研究は殆んど完璧に達していた。併し原虫が人体内に侵入せる後の発育に関しては、マラリアの特効薬であるキニーネがマラリアの感染を予防し得ないことや、マラリアの長期潜伏及び再発の原因などについて明かな説明が得られなかつたことなどがついに従来の Schaudin 以来の説を一部否定して、マラリア原虫には赤血球侵入以前に一定の特異な発育変態をとげるものであるとの赤外型の学説を胚胎して、為に近年マラリア学に関する知見は劃期的な進展をとげるに至つた。例えばマラリア原虫における代謝の研究は最初 Christophers & Fulton (1938) により赤血球より遊離した *P. knowlesi* について行われ、Coggeshall (1941) は猿類の *P. knowlesi*, *P. inui* 及び *P. cynomolgi*, 鳥類の *P. cathemerium* 及び *P. lophurae* の酸素摂取について研究しており、Velick (1942), Weudel (1934), Moulder & Evans (1946), Morrison & Jeskey (1947) もマラリア原虫の蛋白合成について述べ、Speck, Moulder & Evans (1948) は *P. gallinaceum* を用い、Bovarnick, Lindsay & Hellerman (1946) は *P. lophurae* を用い原虫の関与する解糖 cycle 及び酸化系を測定し、Cyanide, Atabrine 又は quinine は本呼吸を阻止すると共にブドウ糖の附磷作用を阻止すると云う。その他 Geiman ら (1948) は宿主赤血球内における *P. knowlesi* の24時間の生活史における発育増殖に必要な代謝反応を模式化しており、Mekee & Geiman (1948) は *P. knowlesi* の *in vivo* 並に *in vitro* の増殖に Methionine の必要性を強調している。

次にマラリア原虫の赤血球外培養については、Bess & Gohns (1912) は *P. vivax*, *P. falciparum* を、Christophers & Fulton (1939), Geimam ら (1946, 1948) は *P. knowlesi* を、Trager (1943) は *P. lophurae* をそれぞれ培養しえたことを述べ、最近 Jacobsen (1951) は *P. knowlesi* の *in vitro* の培養を試み、無性生殖史 (Asexual cycle) と物理化学的要求性と代謝の関係を図式化し、Geimam (1951) は *P. knowlesi*, *P. cynomolgi* 及び *P. vivax* の *in vitro* の培養、なかんずく単純培地に肝臓エキス、アミノ酸及びアスコルビン酸を添加した完全合成培地について報告している。今後この種の研究がマラリア学特に抗マラリア剤の研究に一大進歩を



もたらすものと思われる。

又英国軍医 S. P. James (1931) は数年に亘り多数の麻痺狂患者に試みられたマラリア感染の経過を各種の観点から検討して、過去における Schaudin の考からは実験臨床における種々な現象を説明することが出来ず、Sporozoites は直接赤血球を侵さず、結合組織或は網状内皮細胞の中に潜むのであろうと提示し、この考えは Raffaele が1934年から1936年に亘つて、カナリヤの *Plasmodium elongatum* の發育を闡明せる中に網状内皮細胞の中に大形の無色素性の Schizonts が存在することを指摘することによって大なる支持を得たのである。続いて1937年 James は Tates と共に *Plasmodium gallinaceum* によつて鳥類の脳毛細管の網状内皮細胞に前赤血球期 (Pre-erythrocytic stage) の Schizogony の存することを記述し、“Exoerythrocytic Form” なる名称を提唱するに至つて、本問題は斯界の注目を浴び、ついにほぼ闡明されるに至つた。1944年に発表された Huff & Coulston の *Plasmodium gallinaceum* の研究は大きな規模と厳密な条件を保持し且つ詳細を極め、Sporozoites が幼鶏の体内に侵入してから後の發育の経過を逐一追及したものである。氏等によれば幼鶏の皮下に接種された Sporozoites は Lymphoid-macrophage system の細胞に撮取されて次第に發育し、氏等のいう Cryptozoic generation を営む。更にこれによつて生ずる Merozoite 即ち Cryptozoic merozoite はその附近にある Lymphoid-macrophage system の細胞又は他の臓器に移動して内皮細胞又は大喰細胞に侵入する。これを氏等は Metacryptozoic generation と称している。即ち sporozoite が赤血球感染を起すまでには二世を要しそれらの一代に要する時間は赤血球内發育と等しく概ね36時間を要することが推定されている。その後 Cryptozoic merozoite は Metacryptozoite として Metacryptozoic schizogony を継続するのみならず赤血球内にも侵入するものと考えられ、又赤血球起源の Merozoite も、内皮細胞に寄生することが明らかにされた。このようにして鳥類マラリアに関する研究は進展してその知見は大いに具備するに至つたのである。

しかし猿類及び人類のマラリア原虫については、実験動物が入手しにくいと Anopheles 蚊の育成が容易でない為、やゝもすれば遅れがちであつたが、1948年に至り、Shortt, Garnham & Malamos は *Plasmodium cynomolgi* を用いて、初めて結論的な結果が得られるに至つた。氏等は *Plasmodium cynomolgi* の Sporozoite

は蚊によつて猿の体内に注入した後は、肝実質の実質細胞の中に赤外型として大型無染色性 Schizonts の存在を見、それ以外の諸臓器にはこれを見なかつたと主張し、又 biopsy によつて赤外型の發育の過程を詳細に観察した。この実験はその後、Hawking によつて確認され、Shortt 及び Garnham 並びにその協同研究者達はこの結論を人類マラリアにまで延長し、*Plasmodium vivax* を用いての実験では、biopsy によつて得られた肝細胞の実質細胞の中に *Plasmodium vivax* の前赤血球期 (Pre-erythrocytic stage) の Schizonts の存在するのを証明し、且その發育過程を明らかにした。その後 *Plasmodium cynomolgi* と *Plasmodium vivax* の前赤血球期 Schizonts の記述が Shortt 及び Garnham によつて述べられ、如上の結果が更に確認されるに至つた。彼らはこれを又組織期 (Tissue stage) と呼んでいる。

1951年に至つて *Plasmodium falciparum* の前赤血球期の發育過程が Shortt 及びその協同研究者達によつて記載され、*Plasmodium falciparum* においても肝実質細胞にその前赤血球期 Schizonts の存在を認め、且その發育が観察された。

これに反し横川氏等は1942年自然感染の *Macacus cyclopis* に検出された *P. taiwanese* Yokogawa につき探索せる所被験猿の脳の毛細管内皮細胞に無色素性の Schizont 及び脳、脊髄の塗抹標本において毛細管に赤内型の血球から遊離したものと殆んど選ぶところのない發育各期の Schizont を証明し、原虫の赤外型發育は細網系の細胞又は血管内皮細胞において行われ、赤外型 Schizont には有色素性及び無色素性の二型あることを指摘し、前者は Sporozoite 又は Merozoite から由来するものであり、後者は赤内型のアメーバ型又は分裂体から由来するものとなし、同氏の構想の下になる独特の原虫發育環の存在を主張した。又 Africa 及び Casini はそれぞれ1944年、及び1939年に *Plasmodium falciparum* を罹患屍の脳の毛細管内皮細胞及び肝、脾の塗抹標本において、それらの遊離型が認められたと報告している。1950年に発表された Telcherow & Tadorowa は *Vivax malaria* の45例から得られた biopsy specimen 及び感染猿の肝の412連続切片について研究したものであるが、人類の1例では巨大な Schizont が1個見られ、又猿肝からは巨大 Schizonts が2個見出され、此等は何れも網状内皮細胞の中に見出されたものであつて、Shortt 及び Garnham によつて記載されたように、肝実質細胞の中には見出されなかつたと述べている。



猿類及び人類マラリア原虫の赤外型については、どうやら肝実質細胞にあると考えられるに落着いているようである。しかし E. W. Dennis & D. A. Berberian がその著書で、“猿類及び人類マラリア原虫の赤外型発育が肝実質細胞に限定されているという命題がむしろより疑問である。過去10年間人類マラリアの赤外型 Schizont として診断されたマラリア患者の組織或は骨髓において観察された無色素性巨大小体の報告は少くとも30はある。これらの報告は勿論疑いのものであろう。しかしそれに記載され又図示された小体は極めて Schizont を暗示するものであり、又色素の欠如は赤外型原虫に特有のものである”と述べ更に“Shortt & Garnham は Cynomolgi 及び *Vivax malaria* の再発型を肝内における原虫発育の tissue cycle の残留にあるとした。しかし再発の諸現象は肝及び骨髓をも含めて身体各部の細網内皮細胞の中にある赤外型から起り得ることを暗示している”。と主張している。もしこの観点よりすれば、横川氏等の見解は今後の赤外型、及びこれに関連する諸問題の解明について、極めて示唆に富んだ注目すべきものと思わねばならないであろう。

本来赤外型なる名称は上述においても明らかな如く、*Malaria sporozoite* が蚊体内を離れて、寄生動物体内に侵入した後、赤血球を直接侵襲する以前に特殊の生活史を持ち、これがマラリア病の潜伏や再発に関係あるものと考えられて、この時期にある原虫に与えられた名称である。従つて横川氏等のいわゆる分裂体やアメーバ型に基因する、すなわち氏等の云う赤内型より発生せるものについてはこの名称を冠するのは必ずしも妥当でないと考え、この意味での、Shortt & Garnham の赤外型肝実質細胞説は或は実証済みのものであろう。しかし若し赤外型を只単なる寄生部位による原虫の区別という意味に取るなら、著者が本論において述べたように、分裂型以後の原虫にも、なお何等かの、今なお不明であるが、より複雑な生活史を有して、特有の発育過程を辿るものと設定するならば、横川氏等の所説は Shortt & Garnham 等の赤外型肝実質細胞説とは又別に、価値あるものと評価されねばならない。こゝにおいて分裂体以後の原虫の発育過程に関する著者の見解には著しく横川氏等の所説との間に一致する部分のあることを示唆するものであると考える。但し横川氏等は分裂体のほかにアメーバ型も又赤外型を作るものと考え、又分裂体より生じた Merozoite の中一部生殖母体に発育する部を除き、残部の一部はそのまゝ赤血球を侵し、一部は赤外型

となると主張しているが、アメーバ型については姑く措き、末梢血液において分裂体の分裂が見られなかつた著者の位相差視野における観察にもとづき、分裂体以後の発育過程に、ある特殊な発育過程を設定することによつて、恐らくは生殖母体として発育する部を除いた残部のもはことごとくある特殊の発育過程をとる可能性のあるものと想像し得ると信ずる。

擧筆するに当り、本論文の前半実験において種々装置や試薬の装備に努力され、終始応援激励指導を惜しまなかつた省立高雄医院旗山分院院長呉基生博士、及び原虫の寄贈、実験猿の貸与、その他種々な雑事につき非常な便宜を与えられた台湾省立瘧疾研究所所員各位、特にマラリア学を専攻されてその豊富な学識と体験に基づいて種々有益な忠言を寄せられた当時の同研究所研究室主任謝猷臣博士（現高雄医学院寄生虫学教授）に満腔の謝意を表わし、遠隔をも厭わず、遙かに御指導を頂き、本稿の御校閲を賜つた恩師鈴木成美教授に謹んで敬謝の意を捧げる。

又後半実験につき終始御指導賜つた恩師鈴木成美教授、並びに応援と激励、友情を示すことを惜しまなかつた本教室第7研究室岸田綱太郎講師以下教室員諸兄に深甚の謝意を呈し、特記して敬意を捧げる。

#### 参考文献

- 1) 石井信太郎 (1940) : マラリア学。—2) 横川定 (1942) : 台湾産黒肢猿 *Macacus cyclopiis* (Swinhoe) に始めて検出した二種の「マラリア原虫」に就いて、日本医学及健康保険。—3) 横川定 (1942) : 台湾産黒肢猿に検出した二種のマラリア原虫の種別に就いて、日本医学及健康保険。—4) 猪木正三他 (1942) : 台湾産 *Macacus cyclopiis* (Swinhoe) に発見した一種の猿類「マラリア」原虫即ち *Plasmodium inui* var. *cyclopiis* Mok, Makimura und Honda, 1941 に就いて、大阪医学會雑誌。—5) 宮川米次監修 (1945) : 新撰熱帯病学。—6) Shortt, Grnham, Malamos (1948) : British Medical Journal。—7) Shartt, Garnham (1948) : Trans. Ray. Soc. Trop. Med. Hyg. —8) Trager (1950) : J. Explt. Med. —9) 横川定 (1951) : 最新寄生虫病学第 II 編マラリア原虫の赤外発育に関する最新の知見。—10) 稲垣克彦 (1951) : 位相差顕微鏡の臨床応用。—11) Shortt, Fairley, & Garnham (1951) : Trans. Ray. Soc. Trop. Med. Hyg. —12) 水平敏知 (1952) : 位相差検鏡法とその応用。—13) Dennis aud Berberian (1953) : Ann. Rev. Med. Vol. 4. —14) 森下薫 (1955) : 日本に於ける血液及び組織内寄生原虫並びに同虫研究の展望 I. マラリア原虫



及マラリヤに関する研究. 日本医学の発達. —15) H. Stobb und Rind (1956): Phasenoptische Beobachtungen von Malaria-Parasiten., Zeitschrift für die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete. —16) Stitt, Clough, & Clough: Practical Bacteriology, Haematology, and Animal Parasitology, 9th Ed., P. Blahiston's Son & Comopay, Inc. Philadelphia. —17) Most (1951): Parasitic Infections in Man, Columbia University Press, New York. —18) Christophers & Fulton (1939): Ann. Trop. Med. Parasit., 33, 161. —19) Maier & Coggeshall (1941): J. Infect. Dis., 69, 87. —20) Velick (1942): Am. J. Hyg., 35, 152. —21) Weudel (1943): J. Biol. Chem. 148, 21. —22) Brown (1911): J. Exp. Med., 13, 290. —23) Moulder & Evans (1946): J. Biol. Chem., 164, 15. —24) Marrison & Jeskey (1947): Fed. Proc., 6, 279. —25) Speck, Moulder & Evans (1946): J. Biol. Chem., 164, 119. —26) Bovarnick, Lindsay & Hellerman (1946): J. Biol. Chem., 163, 535. —27) McKee, Ormsbee, Anfinsen, Geiman, & Ball (1946): J. Exp. Med., 84: 569. —28) Ball, McKee, Anfinsen, Cruz, & Geiman (1948): J. Biol. Chem., 175, 547. —29) Geiman, Anfinsen, McKee, Ormsbee, & Ball (1946): J. Exp. Med., 84: 583. —30) Ball (1946): Fed. Proc., 3, 397. —31) McKee, Geiman & Cobbey (1946): Fed. Proc., 6, 276. —32) McKee, & Geiman (1948): Fed. Proc. 7: 172. —33) Huff & Coulston (1944): J. Infect. Dis., 75, 231. —34) Bas & Jahns (1912): J. Exp. Med., 16: 567. —35) Sinton & Mulligan (1932): Rec. Malaria Survey India., 3, 357, 381. —36) Trager (1941): J. Exp. Med., 74: 441, O'ibid., 77, 411 (1943). —37) Anfinsen, Geiman, McKee, Ormsbee & Ball (1946). J. Exp. Med., 84, 607.

### Summary

The process of observation for *Plasmodium inui* was divided into four portions as follows:

(1) The author inoculated this parasite to normal macacus monkey (*M. cyclopis*), drew some peripheral blood, put a drop of blood on the slide glass, then mixed with a diluent especially prepared, covered this material with cover glass, around which one pasted with vaseline, and observed immediately using the phase contrast microscope or the Giemsa's stained films. (2) By laparotomy, one obtained blood by puncture of the spleen and observed the blood specimen using the same procedure as (1). (3) One extirpated the spleen of the same monkey, and observed its small piece using the same procedure as (1). (4) Also the peripheral blood of the monkey which underwent splenectomy was observed

using the same procedure.

It is commonly observed that trophozoites of *P. inui* in the phase contrast field appeared clearly as round or oval bodies, slightly more refractile than the substance of the erythrocyte, having many granules with very active molecular movement. Though inactive in amoeboid movement, plasmodia do sometimes violent proper movement. Generally, ring-form movement can not be recognized or it can be observed as very slight one. The gametocytes do not show amoeboid movement, but possess abundant fine granules. The nucleus can not commonly be discerned, but there is a luminous part which is judged as nuclear site in the well matured amoeboid form or gametocyte, and the border line is obscure. The granule can not always be observed in this part.

In the cases (1), (2) and (3) one could not observe typical "rosette" form of merocyte. In the case (4), that is, in the monkey which underwent splenectomy, increased the parasitemia up to 40 parasites per 100 erythrocytes. At this time one could detect typical merocyte ("rosette") resembling *P. vivax*.

These segmenters differed from previously observed mature schizont in cases (1), (2) and (3) in respect that these were irregular round in shape, having no proper movement, and the inner granules tended to clump into one or exceedingly large, irregular masses, having no or slight molecular movement. In the center of parasite, there was an obscured bordered luminous part, in which a few small granules, having active molecular movement may be observed.

In this part, the clumping of pigment mass may sometimes be found, but small granules could not be recognized in this segmenter stage. The nucleus not be discerned, one could not judge whether these merocytes were in the condition of the nuclear division or not. The liberation of merozoites could not be found.

Judging from the evidence above mentioned, it seems that there are no rupture of merocytes and no penetration phenomenon of merozoites liberated from the mature schizont in the peripheral blood stream.

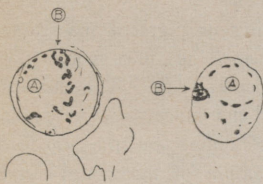
This conclusion will be able to apply to every malarial parasite, at least to *P. vivax*. One can believe that the rupture of merocyte liberating merozoites and invasion of the other erythrocyte to start the erythrocytic or schizogonic cycle will be happening on the certain other tissue cells than the peripheral blood vessel. So the previous descriptions concerning erythrocytic life cycle in man need to be corrected and supplemented.



## 附 図 説 明

[I] ギムザ染色像(1~9): 1~2, 輪状体, 3~4, アメーバ型, 5, 分裂体, 6~9, 生殖母体, 6, 幼若生殖母体, 7~8, 雌性生殖母体, 9, 雄性生殖母体。

[II] 位相差像(10~24): 撮影条件光源: 電気フラッシュ装置, 閃光時間:  $\frac{1}{500}$  sec. 対物 P.H. 100×接眼 10×, 撮影装置倍率 0.5×, 3.5 倍引伸. 総合倍率約 1750 倍, フォルム, Trixi, 10. 原虫がなお幼若である為, 輪状体内の顆粒の存否は少くともこれを認めることは出来ない. 輪状体は恰もドーナツの如く見える. 11, 輪状体は幅広く明るく光を屈折し内部に多数の微細塵埃様の顆粒が分子運動をなしているが写真がはうまく撮れていない. 12, 顆粒が数個撮影されている: 実際にはもつと多く見えるがうまく撮影されていない. 13, 虫体内 顆粒を見ず, 又繊細幼若な感じであるにも拘らず既に偽足を出してアメーバ様運動を示す. 恐らく輪状体からアメーバ型への移行型でなく輪状体より幼若な段階のものが輪状体に移行しつつあるものと考えられる. 輪状部を有せず一見顆粒のない幼若繊細なアメーバ状のものでしかも緩慢な固有運動をなすものも見られた. 14~17, アメーバ型の種々相を示す. 18~20, 雄性生殖母体, 21, 雌性生殖母体, 生殖母体では雄性においては顆粒の分布は余り密でなく又割合に小さい. 雌性では顆粒は大で又分布も割合に密である. 又核部或は染色質が存在していると思われ明部は雄性では大きく, 雌性では小さい. この外に雄性生殖母体ではこの明部の近傍に特に顆粒が小円形に密集しつつ分子運動を営んでいる部分がある. 写真



- ① 核又は染色質が存在すると思われ明部  
② 特に顆粒が円形に密集しているを示す

では実感とすこし異なるので第 19 図につき写生図と模型図とを次に添える. 22~23, 1 個の赤血球に 2 個の原虫が重複寄生しているのを示す. 24, 被寄生赤血球の縦面像. 原虫は赤血球内部膨大せる一側に存在する.

[III] 原虫の運動(25~32)撮影条件その他 II. に同じ, (I). 25→26→27, 同一原虫を連続撮影してアメーバ型の緩慢なアメーバ様運動を示す. アメーバ型原虫はこの外に辺縁全域に亘つて繊細微弱な振動様の運動が見られる. これは原虫自体の或は赤血球内に含まれている不可

視の微粒の分子運動によるものかそれとも赤血球の内容液の流動によるものか不明であるが原虫自体の固有運動とは考えられない. 写真ではこの運動は撮影されていないが原虫と赤血球との境界のボケはこの運動によるものと思われる. 又写真の原虫は顆粒が 3 個所に分れて集り写真では 1~2 の微かな黒点或は線条陰影となつて撮影されている. 28→29→30→31→32, 同一原虫を 1~2 分間隔で連続して 5 枚撮影してその運動状態を示す. 28~30 までは緩慢なアメーバ様運動を示しているが, 30~31. において原虫は突発的発作的な激しい一挙動の運動をなす. 写真に示したのは虫体が激しく収縮して三つの円となつて撮影され収縮せる他の体部は対物レンズの焦点深度の関係で撮影されていない. 32. に至つてやま原形に復したところである.

[IV] 脾臓より得たる材料に見られた細網系細胞(33~35). 撮影条件: 千代田顕微鏡用照明燈, 1 sec. 対物 DM 100×, 接眼 15×, 撮影装置 0.5×, 引伸約 2.5×, 総合倍率 1800×, ミニコビーフィルム. 33, 脾実質中に見られもの. 34, 35, 脾穿刺湧出血液に見られたもの. 共に細胞内に多量のマラリヤ色素塊を含有する.

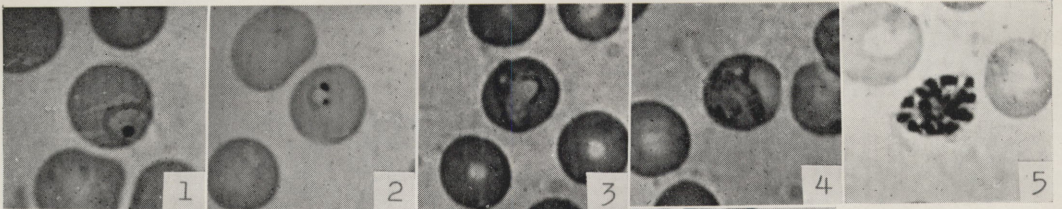
[V] 脾臓出猿の末梢血液に見られた分裂体(36~44)撮影条件 IV. に同じ, 原虫が分裂しているとは思われぬ. 露出時間の長いのに比し虫体内の顆粒がよく撮影されているのは顆粒の分子運動が微弱であるか又は皆無であることを示す. 37, の虫体中央部に暗点が 1~2 個撮影されている. 分子運動の活潑な小顆粒の存在を示す. 実際にはもつと多いが撮影されていない. 36, は原虫の重複寄生を示す. 上方の輪状アメーバ型のアメーバ形状部には分子運動の活潑な顆粒が多数存在していたが撮影されていない. 本項の他の写真と比較の為掲示した.

[VI] ギムザ染色標本に見られる分裂体(45~53), V と対比する為掲示した. 染色質を無視するならばその形状が如何に V の諸写真と相似しているかに注目されたい.

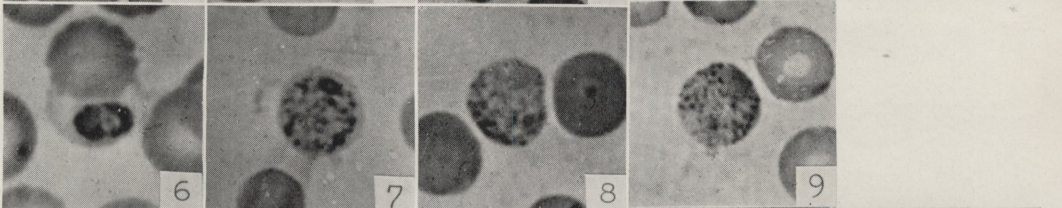
[VII] 塗抹乾燥無染色標本における原虫の位相差像(プロビレン・グリコール封入)(54~63), 54, 55, 輪状体, 56, 輪状体とアメーバ型, 57~62, 分裂体, 63, 雌性生殖母体. 死屍標本であるが染色質は 54~56 に見られるように一般の先入印象に反して白く抜いて見える. この概念で 57~62 までの分裂体を見るなら染色質は認められないか極めて不著明である. 虫体の分裂は見られない. V, VI と対比すれば形状の極めて相似するのに気附くであらう.



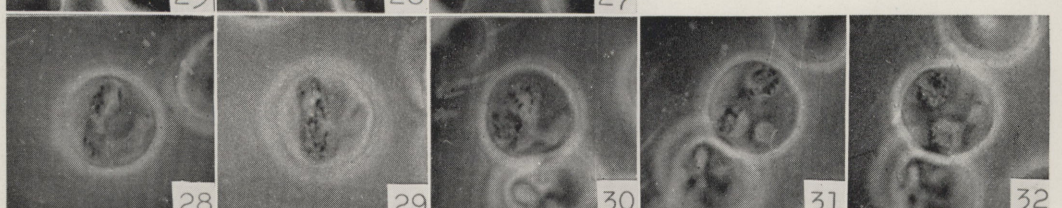
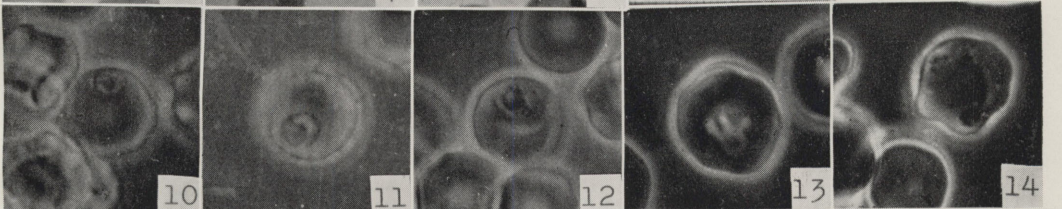
I  
(1-9)



II  
(10-24)

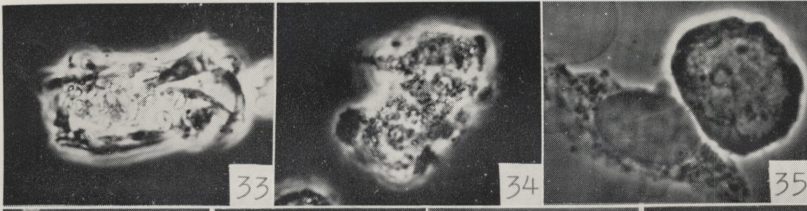


III  
(25-32)

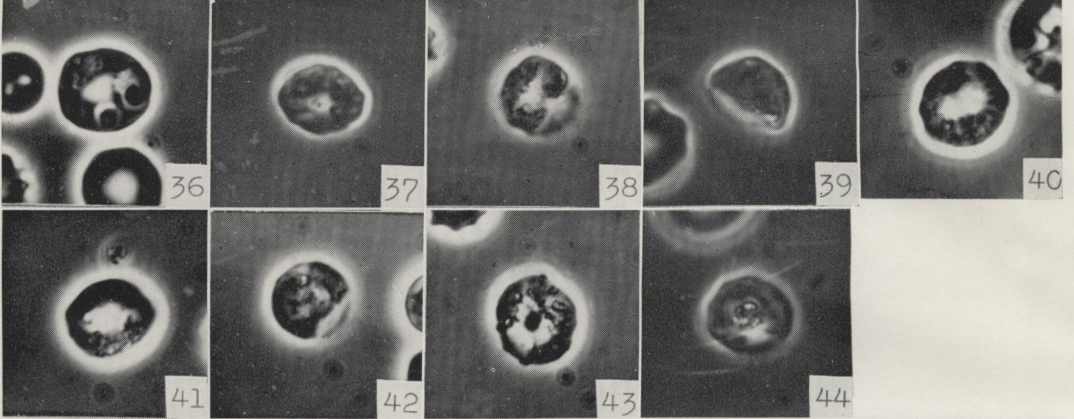




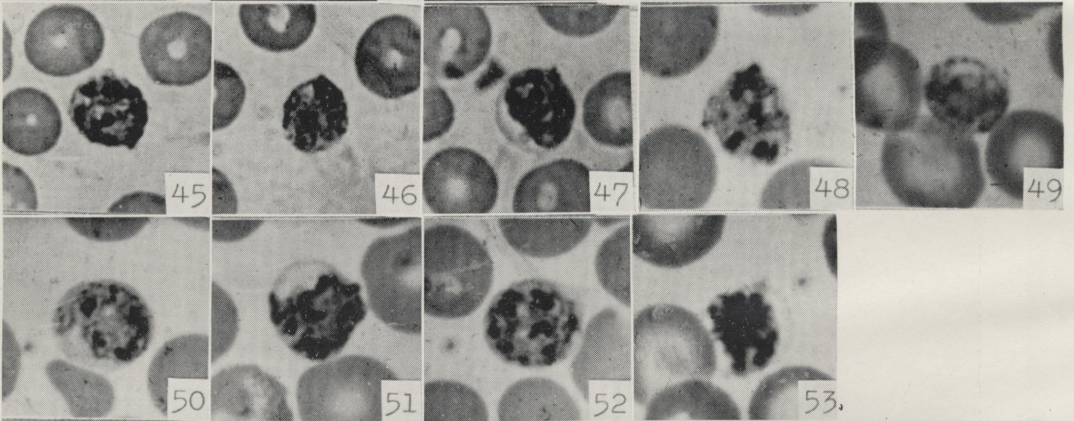
IV  
(33-35)



V  
(36-44)



VI  
(45-53)



VII  
(54-63)

