

## *Strongyloides ratti* Sandground, 1925

### の染色体に関する研究

阿部 康男 田中 寛

鹿児島大学医学部医動物学教室

(1965年7月5日受領)

#### はしがき

糞線虫属の生活史は複雑で従来多くの研究が行なわれてきたにもかかわらず、いまだに解明されていない部分が多い。雌型のみ寄生世代成虫から發育する幼虫は二つの方向に生長し、あるものは *filaria* 型幼虫に (直接發育)、あるものは自由世代の雌あるいは雄に發育する (間接發育)。こうした方向の發育がどんな機序で分れていくかはいまだに不明であるが、従来からの説明としてはすでに寄生世代の雌から發育する時に細胞学的に發育方向が定められているという考え方と幼虫の發育途上で外因によつて分けられていくという考え方 (錦織, 1928) とがある。これらの發育方向についての研究は多くは幼虫の培養によつて進められているが、本研究では *Strongyloides ratti* Sandground, 1925 を用い各期の染色体を調べ、その差違から究明しようとして試みた。

同様な試みとしては Nigon & Roman (1952) が *S. ratti* について、Chang & Graham (1957) が *S. papillosus* について行っているが、各々の結果はかなりの相違がある。本研究では従来の方法とは異つた染色法を用いて観察した結果 Nigon らの結果と一致し、自由世代雄の染色体数が他の期のものと異つている結果を得た。

#### 材料および方法

*S. ratti* は鹿児島市内で捕獲した *Rattus rattus norvegicus* から分離し、これをラットに感染させ、2週間毎に継代しているものを用いた。自由世代成虫の培養はラットの便少量に蒸留水4倍量を加え、直径45mmのシャーレに入れ25°Cの孵卵器に入れて行つた。

染色の方法は神田(1965)が蚊の染色体の研究に用いた方法に準じて行なつた。まず虫体を0.1%クエン酸ソーダ水溶液に入れ、1~2分浸し、それをスライドガラス

上に移し、必要に応じて解剖針で虫体を切断し、しばらく置いて乳酸酢酸オルセイン液一滴をたらし、18×24mmカバーガラスをのせ、強く指で圧平して標本を作成した。染色液は75%乳酸溶液10ccと45%酢酸溶液10ccの混合液にオルセインを0.2gの割合に溶かし加熱後これを濾過して用いた。

#### 観察結果

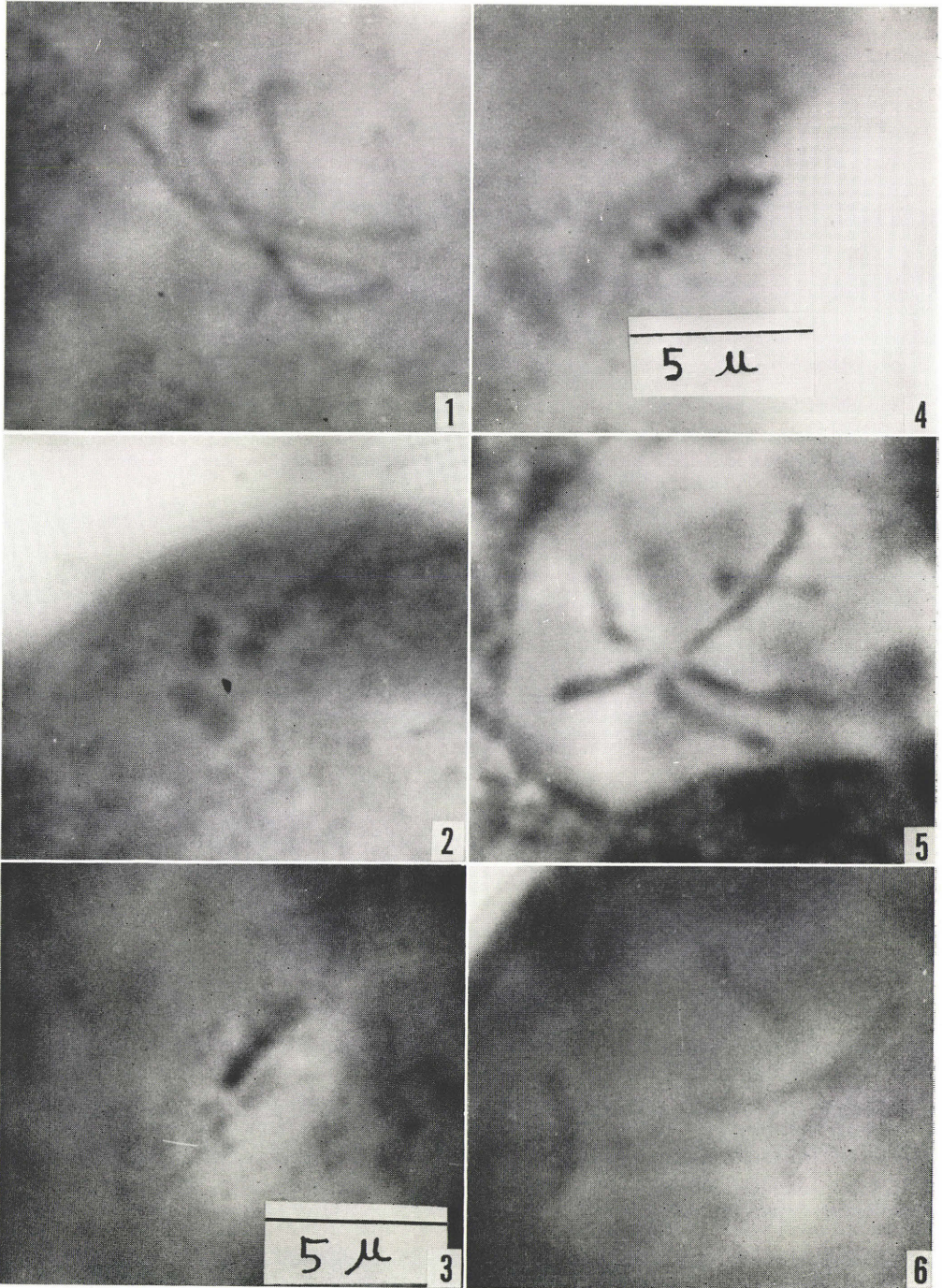
**寄生世代雌**：卵細胞の成熟過程を観察すると卵巣内細胞は子宮に近い約10コが個立分離して1列にならんでいる。それより奥の卵細胞の核は無構造の静止核であるが、この1列にならんだ部分では核が活動を始め、染色紐がみられ、子宮に近いものではなくすでに切断されて染色体が形成されている。しかし細胞の分裂は子宮に入ってから起る。

子宮内での細胞分裂の際、染色質削減が起るため、中期において染色体数を数えられる機会は少なく、この期での決定はできなかつた。

しかし前核内における染色体はしばしばよく観察され、その最大数は長4短2の6で、しばしば相遇する型であつた(写真1)。またその途中経過のものと思われるが、しばしば4のものが認められた。

この成虫の幼若期から成熟期までを観察したが、精子形成過程はみられず、子宮内にも精子が認められず、卵に授精の像も認められ得なかつた。

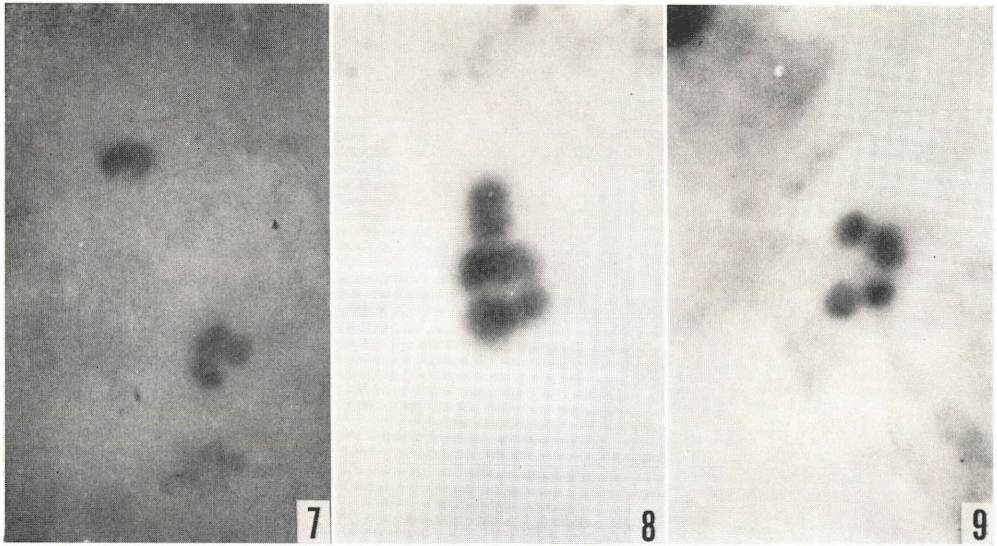
**自由世代雌**：卵巣内の卵細胞は寄生世代雌と異り、全て核は静止状態にあつて、子宮に接近した1ないし2コの卵細胞が遊離しているに過ぎない。卵巣端の子宮内部分には精子細胞および精子がみられ、子宮内に入つた卵細胞はただちに分裂活動を始める。子宮内卵のうち卵巣端の1ないし2コにはしばしば極体の形成がみられ、写真2に示すような粒状の分裂している3対(大2, 小1)の



Photographs are all illustrated at the same ratio of enlargement and details of each photograph are given in the sketch of a corresponding numeral.

1. Chromosomes in pronucleus of the egg in parasitic female

2.~6. Eggs in females of free living stage. 2: Chromosomes in a polocyte.



3 : Syngamy, upper three chromosomes are male origin. 4 : Chromosomes at metaphase. 5 and 6 : Chromosomes in pronucleus. 7.~9. Spermatogenesis in males of free living stage. 7 : Chromosomes in the primary division of spermatocyte. 8 and 9 : Two kinds of chromosomes in the secondary division of spermatocyte.

染色体がみられる。授精後の核融合の際本種では均一な融合核の形成はない模様で、卵細胞中央に精子および卵子由来の染色体が各々3つづ集つて接近している(写真3)。卵細胞のその後の分裂では寄生世代と同様染色質削減があつて中期の観察は中々困難であるが、写真4では粒状の染色体6が算えられ、各染色体は分裂を開始している。卵細胞の少ない時期のものでは前核内に形成された紐状の染色体がしばしば認められ、数は一定して、長4短2の6であつた(写真5, 6)。

**自由世代雄：**雄では精子形成過程の精母細胞の分裂が観察できたが、1回目の分裂は写真7のように2と3に分れ、2回目は写真8および9のように各々分裂し、したがつて細胞内には6または4の染色体がしばしば認められた。

## 考 察

以上の結果から各期の染色体数を求める場合、培養による発育経過が重要な参考となり、これと併せ考えなければならぬことを知つた。

自由世代の雌を考えると、培養の結果未授精卵は全く発育せず、またこれからできる次代の型はほとんど全て *filaria* 型幼虫で、成虫は1万分の1位の割合にしか出現しない。この雌からの卵は授精により、染色体3の極体を放出し、雌雄双方から3つづの染色体を導入することによつて、染色体6の *filaria* 型幼虫が生ずることから、自由世代雌の染色体数は6と考えられる。また自由世代雄の精子細胞の第1次分裂で染色体が2と3に分れ第2次分裂の際に6と4のものが出現することから染色体数は5と考えられる。

寄生世代雌からの卵の前核内染色体数のうち最も頻度が高くみられるのは6で、またそれが最大値であることと、寄生世代雌から最も頻度が高く発育するのは *filaria* 型幼虫であり、しかも *filaria* 型幼虫はそのまま寄生世代雌に発育する所から、寄生世代雌と直接発育の *filaria* 型幼虫は共に染色体6と考えられる。

これをさらに総括すると、染色体数6の寄生世代雌から単為生殖的に、しかも恐らく Nigon & Roman (1952) のいう成熟分裂を経て、染色体数6の *filaria* 型幼虫、同じく6の自由世代雌、5の自由世代雄を産出する。また自由世代雌からは染色体数3の卵に、同じく3の精子が授精して染色体数6の2代目の *filaria* 型幼虫を発生させる。これらの結果は Nigon & Roman (1952) がホイルゲン反応を用いて *S. ratti* で観察した結果とよく

一致した。一方 Chang & Graham (1957) はホイルゲン反応を用い *S. papillosus* の各期の前核中の染色体数を観察した結果、1対を基本にして、その3倍体迄の多価ですべてを考察しているが、その結果とは著るしく異つていた。

寄生世代雌は単為世代のものであり、Sandground (1926) のいう雌雄同体でなく、また Kreis (1932)、Faust (1933) のいう雌雄異体の雌でもないという結果、および自由世代雌からは授精なしには卵は発育しないという結果は Nigon & Roman (1952)、Chang & Graham (1957) と共に一致していた。

なお寄生世代雌から発育するものうち、自由世代雄は染色体5で、初めから発育方向が決められてしまうが、*filaria* 型幼虫と自由世代雌は共に6である所から Nigon & Roman (1952) は Beach (1936) の培養結果を引用して、両者は発生学的に本来等質のものであつて、発育途上の外因によつて発育形態が決まると考えている。しかし分裂中期の染色体が全部粒状で、各々の特徴に乏しく、また非常に小さいためたとえ数の上からは同じであつても、質的な差異がないとはいえない。しかも形態学的に光学顕微鏡下でこれ以上細かな差異を検出することは困難と考えられる。また Beach (1936) の培養結果は必ずしも決定的なものとは思われないので、さらに培養飼育の方法に検討を加えた上で、発育方向を支配する因子が細胞学的なものか、あるいは外因的のものであるかを定めるべきものとする。

## ま と め

1) *Strongyloides ratti* の各期の染色体数を調べるため、寄生世代成虫、自由世代雌雄をそれぞれ乳酸・酢酸オルセイン染色、圧平法を用いて観察した。

2) 寄生世代成虫の卵は卵巢前端近くで核は活動期に入り、子宮内の卵の前核内にみられる紐状の染色体数は長4短2の6であることが確認できた。なお精子形成過程や授精像は認められず、単為生殖が行なわれていると考えられる。

3) 自由世代雌の子宮内の卵は授精なしでは発育せず、授精に伴い粒状の染色体大2小1の3をもつた極体が放出され、両核融合時には雌雄各側より3つづの染色体の集合がみられる。分裂中期には粒状の染色体6が認められ、前核内には長4短2の紐状の染色体6が観察された。この卵はほとんどすべて *filaria* 型幼虫に発育した。

4) 自由世代雄の精母細胞の第1次分裂時には染色体は2と3に分れ、第2次分裂で各々さらに対に分裂する。

5) 以上の観察より、寄生世代雌は染色体6で、単為生殖的に染色体6と5の幼虫を産出し、5のものは自由世代雄になり、6のものは自由世代雌あるいは *filaria* 型幼虫に発育する。自由世代雌からは授精により雌雄各側より3の染色体を得て、ほとんどすべてのものが *filaria* 型幼虫に発育する。この結果は Nigon & Roman (1952) のホイルゲン反応での観察結果と一致していたが、染色体数同数の自由世代雌と *filaria* 型幼虫への分化の機序はさらに培養法の検討等によつて決定されるべきものと考えられる。

本研究に際し、文献を提供され、種々御教文を賜つた Prof. E. Roman, Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon, 東大伝研寄生虫研究部神田鍊蔵博士並びに岐阜大学学芸学部生物学教室只野正志助教授に深く感謝の意を表す。尚本報文の大意は第34回日本寄生虫学会総会において発表した。

#### 参考文献

- 1) Beach, T. D. (1936) : Studies on the free-living phase of the life cycle of *Strongyloides* (Nematoda). *Am. J. Hyg.*, 23, 253-277.
- 2) Chang, P. C. H. & Graham, G. L. (1957) :

- Parasitism, parthenogenesis and polyploid ; The life cycle of *Strongyloides papillosus*. *J. Parasit.*, 43(5), Sec. 2(Suppl.) 13.
- 3) Faust, E. C. (1933) : Experimental studies on human and primate species of *Strongyloides*. 2. The development of *Strongyloides* on the experimental host. *Am. J. Hyg.*, 18, 114-132.
  - 4) 神田鍊蔵 (1965) : アカイエカ染色体の観察法について. *衛生動物*, 15(4), 227-232.
  - 5) Kreis, H. A. (1932) : Studies on the genus *Strongyloides* (Nematodes). *Am. J. Hyg.*, 16, 450-491.
  - 6) Nigon, V. & Roman, E. (1952) : Le déterminisme du sexe et le développement cyclique de *Strongyloides ratti*. *Bull. Biol. de la Franc. et Belg.*, 86(4), 403-448.
  - 7) 錦織正雄 (1928) : ストロングロイデス・ステルコラーリスの外界に於ける発育機転に及ぼす各要約並に自家感染に就て, *台湾医学会雑誌* (276). 291-311 ; (277), 397-431.
  - 8) Sandground, J. H. (1926) : Some biological studies of the life-cycle in the genus *Strongyloides*. *Arch. Schiffs- u. Tropen Hyg.*, 30(9), 528-533.
  - 9) 只野正志 (1957) : 久米・団編 : 無脊椎動物発生学. 436 pp. 培風館. 東京.
  - 10) 田中寛 (1962) : 糞線虫. 森下・小宮・松村編 : 日本に於ける寄生虫学の研究 II. 569, pp. 241-277, 目黒寄生虫館, 東京.

STUDIES ON THE CHROMOSOME OF *STRONGYLOIDES RATTI*  
SANDGROUND, 1925

YASUO ABE & HIROSHI TANAKA

(*Department of Tropical Medicine and Parasitology, Faculty  
of Medicine, Kagoshima University*)

1) In order to determine the number of chromosome in all stages of *Strongyloides ratti* Sandground, 1925, the parasitic females and the free-living adults were observed using the lactoacetic orceine staining method.

2) In the parasitic females, spirems began to appear gradually in the nuclei of the eggs, which were already produced in ovary at parts adjacent to uterus. The chromosomes in pronuclei of the eggs in uterus were six in number; four long and two short (Pl. 1). Since there was no picture of spermatogenesis or fertilization through all developing process, heterogenic development of the eggs was considered to take place.

3) The development of the eggs did not take place without fertilization in the free-living females. Upon fertilization, there was observed a polocyte, in which the three granular chromosomes (two large and one small) were distinguishable (Pl. 2).

At syngamy, six chromosomes were observed gathering on the center of egg, and each set of three ones was considered to be originated from both sex (Pl. 3). In metaphase of cell division, six granular chromosomes (Pl. 4) or in pronuclei six elongated chromosomes (four long and two short) were observed (Pl. 5 and 6).

4) At spermatogenesis in the free-living males, five granular chromosomes were seen to divide to two sets of two or three chromosomes, each set having separated into different cells at the primary division of spermatocyte (Pl. 7). And each set of chromosomes became double phase in each cell at the secondary division (Pl. 8 and 9).

5) From above observations it was concluded that the parasitic females with six chromosomes were heterogonic in nature and produced two types of the rhabditoid larvae with five or six chromosomes. The larvae with five chromosomes developed to the free-living males and the larvae with six chromosomes to the filariform larvae or the free-living females. And the free-living females produced the larvae with six chromosomes after fertilization; the infective filariform larvae.

These results were coincident closely with the results applied the Feulgen's staining method by Nigon & Roman (1952).