

孵化鶏卵々黄囊内に於ける *Rickettsia* *prowazeki* の消長並に其の形態變化

金澤醫科大學細菌學教室(主任 谷教授)

眞 田 一 富

Kazutomi Sanada

鮎 谷 喜 兵 衛

Kihei Goriya

竹 多 外 志

Sctochi Takeda

(昭和24年9月30日受附)

第1章 緒 言

Rickettsia prowazeki (R. p. と略記) の形態に關しては da Rocha Lima の記述¹⁾以來多形性なる事が特長とせられてきた。即ち普通に見られる形は長さ 0.3~0.4 μ の球菌形のものであり、0.3~0.9 μ のビスケット型のももあり、Sikora²⁾ は亞鈴形のもは 0.3~0.9 μ と云ひ、Zettnow³⁾ は 0.4~1.4 μ に達すると報告した。又 Arkright⁴⁾ 等は球菌形のものに於ては長さ 0.2~0.3 μ 、桿菌形のものでは 0.5 μ と記述してゐる。同氏等並に Otto. Dietrich⁵⁾ は虱に於ては R. p. を接種した早期のものでは 2~3 μ 、時によつては 10 μ の絲狀をなすと述べてゐる。長與、田宮、三田村、羽里¹¹⁾等は家兎デッセメツ

ト膜に増殖せる R. p. は短連鎖のものでは 0.5~2.0 μ 、長連鎖の場合は 2~3 μ 、絲狀型では 3~10 μ であつたと云つてゐる。一方、Cox⁶⁾ の報告以來 *Rickettsia* の培養には孵化鶏卵々黄囊内培養が慣用せられる事は周知の事實であるが、R. p. 感染海狗腦を接種せる初代卵々黄囊(卵黄囊は以下 Y. S. と略記) 内に於ては R. p. は見出し難いものであるが⁷⁾、私等は發疹チフス罹患海狗腦乳劑を接種せる初代卵より R. p. の累代培養を行い、その間逐日的に R. p. の形態並に長さの變化及び Y. S. 内 R. p. の消長等に就て研究したので茲に報告する次第である。

第2章 實驗材料並に實驗方法

第1節 實驗材料

- 1) 接種 R. p. は教室保存の Breinl 株である。
- 2) 海狗は 400g のものを用い發熱第3日目に撲殺し、腦を無菌的に取り出し生理的食鹽水にて10%乳劑としたものを接種材料とした。
- 3) 鶏卵は市販白色レグホーン種を主とせる受精卵で 39°C の孵卵器内で7日間孵卵したものを使用した。

第2節 實驗方法

- 1) 接種方法は2孔法⁸⁾によりたる外は大體 Cox⁶⁾ 法に準據し腦乳劑の 0.3cc を上記鶏卵 Y. S. 内に接種した。2代卵以下にあつては R. p. 感染 Y. S. の 10%乳劑 0.3cc を接種した。
- 2) R. p. の染色は谷・盛永の方法¹⁰⁾により、1個の卵に對し3枚の Y. S. の塗抹標本を作り網眼レンズを使用し、各標本に就て10視野を檢鏡してその中央値

をとり1視野の R. p. 数とした。
長さの測定には Objectmicrometer と Ocularmicro-

meter の併用を以て測定した。實驗卵数は接種後の逐日的検索に於て毎回生存卵3個を使用した。

第3章 實驗成績

第1節 Y. S. 内 R. p. の消長 (第1表参照)

第1項 初代卵に於ける場合

R 感染脳乳劑を接種せる初代卵にあつては、接種後逐日的に検索したが、第7日に至るまで

全例に於てRは検出されなかつた。但し、第5、7日に検索した各1例に於て R. p. 様小體を4視野に1個の割合で検出したが、之等は卵黃小球との鑑別が困難なものであり、R. p. と斷定する事を憚り陰性とした。

第1表 Y. S. 内 R. p. の消長

日數 世代	1	2	3	4	5	6	7
1	—	—	—	—	—	—	—
2	2.7	6.8	102	132	136.4	139.7	144.3
3	7.7	22.2	385	466.3	472.7	483.5	489.3

第2項 2代卵に於ける場合

接種後第1日に於ては1視野に2.7個、第2日に於ては6.8個、第3日では102.0個、第4日132.0個、第5日136.4個、第6日139.7個、第7日144.3個であつた。

第3項 3代卵に於ける場合

第1日では7.7個、第2日では22.2個、第3日385.0個、第4日では466.3個、第5日472.7個、第6日483.5個、第7日では489.3個であつた。

第2節 R. p. の形態變化

初代卵に於ては前述の如く R. p. は見出し難いので2代卵以降に就て實驗した。

第1項 2代卵に於ける場合

接種後第1日に於けるものは橢圓形のもののみからなり、その長徑は最小なもので0.35 μ 最大で0.41 μ 、中央値は0.38 μ であつた。

第2日に於ては橢圓形のもの93%、桿菌形のもの7%で、その長徑は橢圓形の0.34 μ のものが最小で最大は桿菌形の0.52 μ で中央値は0.43 μ であつた。

第3日では橢圓形のもの69%、桿菌形のもの24%で連鎖形も出現して7%を占め、R. p. の

長さは最小なるもので橢圓形の長徑0.35 μ 、最大は連鎖形の1.03 μ 、中央値は0.69 μ であつた。

第4日に於ては橢圓形のもの49%、桿菌形のもののは稍増加して30%となり、連鎖形のものも21%に出現して來た。R. p. の長さは最小が橢圓形のもの長徑0.36 μ 最大が連鎖形の1.88 μ 、中央値は1.12 μ であつた。

第5日に於ける所見は橢圓形のもの21%、桿菌形のもの増加して43%となり連鎖形は16%と僅かに減少を示した。長徑の最小なものは橢圓形の0.36 μ 、最大は連鎖形の1.28 μ で中

第2表 2代卵に於ける場合

接種後日數	應 形			長 さ (μ)	
	%			測 定 値	
	桿菌形	橢圓形	連鎖形	最小~最大	中央値
1	—	100	—	0.35~0.41	0.38
2	7	93	—	0.34~0.52	0.43
3	24	69	7	0.35~1.03	0.69
4	30	49	21	0.36~1.88	1.12
5	43	21	16	0.36~1.28	0.82
6	40	54	6	0.35~1.01	0.68
7	23	77	—	0.33~0.59	0.46

中央値は 0.82μ となり前日に比し減少した。

第6日では桿菌形40%，連鎖形6%，橢圓形のもの54%で長さの測定値では最小は橢圓形の長徑 0.35μ ，最大は連鎖形の 1.01μ であつて中央値は 0.68μ となり僅かに縮小した。

第7日に於ては桿菌形23%，連鎖形のものはなく橢圓形のもの77%となつた。長徑は最小なもので橢圓形の 0.33μ ，最大では桿菌形の 0.59μ で測定値の中央値は前日に比して更に縮小して 0.46μ であつた。

第2項 3代卵に於ける場合

第3表に示した如く接種後第1日に於ては桿菌形のもの54%，橢圓形46%で長徑は最小なもので橢圓形の 0.38μ ，最大は桿菌形の 0.83μ でありその中央値は 0.61μ であつた。

第2日では桿菌形のもものが66%，橢圓形34%で長徑測定値の最小は橢圓形の 0.42μ ，最大は桿菌形の 0.99μ で中央値は 0.71μ であつた。

第3日に於ては桿菌形56%，橢圓形17%で連鎖形は始めて出現しその百分率は27%であり，長徑の最小なものが橢圓形の 0.49μ ，最大が連鎖形の 1.85μ であつた。

第4日に於ては桿菌形45%，橢圓形は減少して14%となり，絲狀形のは始めて出現し絲狀及び連鎖をなすものは41%で長さの測定値の最小は橢圓形の長徑 0.58μ ，最大は絲狀形の 3.26μ で中央値は 1.92μ であつた。

第4章 總 括

以上行つた實驗成績に就て總括すれば次の如くである。

1) R. p. 感染海狸腦乳劑を Y. S. 内に接種した初代卵にあつては，接種後第5，7日に於て各4視野に1個の割合で R. p. 様小體を檢出したが，之等は卵黄小球との鑑別が困難なものであり，初代卵に於ては R. p. の檢出は容易ではなかつた。

2代卵に於ては接種後早期即ち第1，2日に於ては R. p. 數は夫々1視野平均2.7個，6.8個で

第5日では桿菌形41%，橢圓形は再び増加して24%となり，連鎖形及び絲狀形のは減少して35%であつた。長さの測定値の最小は橢圓形の長徑 0.66μ ，最大が絲狀形の 2.02μ ，中央値は縮小して 1.34μ となつた。

第6日に於ては桿菌形，橢圓形は増加して夫々46%，42%となり，連鎖形は前日に比し急激に減少し12%となり絲狀形のは見られなかつた。長さの最小は橢圓形の長徑 0.55μ ，最大は連鎖形の 1.73μ で中央値は 1.14μ であつた。

第3表 3代卵に於ける場合

接種後 日數	形 態			長 さ (μ)	
	%			測 定 値	
	桿菌形	橢圓形	連鎖形及 系狀形	最小~最大	中央値
1	54	46	—	0.38~0.83	0.61
2	66	34	—	0.42~0.99	0.71
3	56	17	27	0.49~1.85	1.17
4	45	14	41	0.58~3.26	1.92
5	41	24	35	0.66~2.02	1.34
6	46	42	12	0.55~1.73	1.14
7	50	45	5	0.46~1.00	0.78

第7日では桿菌形50%，連鎖形は更に減少し5%に過ぎず，その長さの測定値は最小が橢圓形の長徑 0.46μ ，最大は連鎖形の 1.10μ ，中央値は更に縮小して 0.78μ となつた。

あるに對し，第3日に於けるそれは102個であり，R. p. は第2日より第3日に至る間に対數的増殖をなし，以後の増殖は比較的緩慢で第7日に於て144.3個に達した。

3代卵では Y. S. 内 R. p. 數は1視野平均第1日7.7個，第2日22.2個であるのに比して第3日に至り R. p. は第2代卵に於けると同様に對數的増殖をなし385個となり，その後比較的緩慢に R. p. 數を増し，第7日に於て R. p. 數は489.3個となつた。この成績は眞田⁹⁾が先に

報告した累代培養(第7代卵以降)に於けるものと同程度のものである。

2) 次に Y. S. 内 R の形態變化に就て觀察した所、Y. S. 内 R は初代卵にあつては前述の如くその検出は困難であるが、2代卵に於ては接種後早期に於て第1日では橢圓形のもののみからなり第2日に於ても大部分橢圓形のもので桿菌形のは7%であるに過ぎないが、接種後中期の第3日に至りRの對數的増殖に至つて橢圓形は減少し桿菌形は増加して夫々69%、24%となり、連鎖形のは始めて出現し7%を占め Y. S. 内増殖Rは所謂多形性を示すに至る。連鎖形のは第4日に於て最高となり21%を占めるが第5日以降その%を減じ、第5日に於ては桿菌形は最高、橢圓形は最低となる。後期の第6日に於ては桿菌形は減少して40%、橢圓形は増加して54%を占めるが連鎖形のは6%であり、第7日に於ては連鎖形は見られず桿菌形のは少く大部分橢圓形のもので77%であつた。

3代卵に於ては接種後早期(第1、2日)には桿菌形及び橢圓形のもののみからなり、第3日に至りRの對數的増殖と同時に連鎖形が出現して27%に達するが未だ絲狀形のは見られなかつた。第4日に於ては絲狀形のは始めて出現し、連鎖形のもも増加して41%となり桿菌形、橢圓形のは減少して夫々45%、14%となる。第5日では連鎖形(絲狀形を含む)及び桿菌形のは僅かに減少し夫々35%、41%となり、橢圓形のは増加して24%となつた。接種後後期に於ては連鎖形のは減少し絲狀形のは見られず桿菌形並に橢圓形のは漸増して第7日に於ては桿菌形50%、橢圓形45%で連鎖形5%であつた。

3) R. p. の長さの變化は第2代卵にあつては接種後第1日では中央値が 0.38μ 、第2日では 0.43μ で接種後早期には餘り變化がないが第3日に至り 0.69μ 、第4日に於て更に増大して最長となり 1.12μ となる。第5日では體長を縮小して 0.82μ となり接種後後期では再び體長を

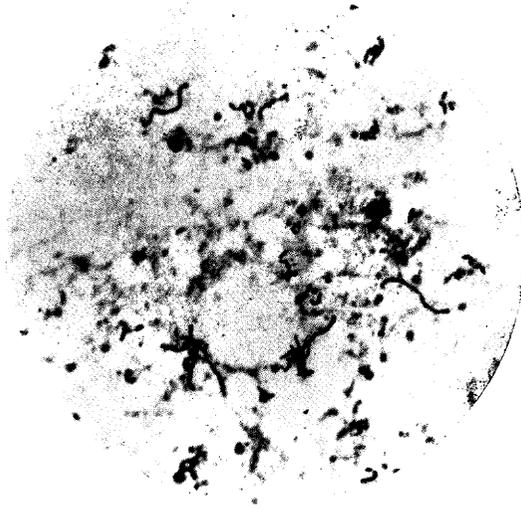
減じて第6日 0.68μ 、第7日 0.46μ となつた。又その測定値の最小は接種後全期を通じ橢圓形のもの長徑 $0.33\sim 0.36\mu$ でさしたる變化はないが、最長は接種後早期では桿菌形の 0.43μ 、中期では連鎖形の 1.88μ 、後期では同じく連鎖形の 1.01μ で第4日に於て最大であつた。

第3代卵では接種後早期の第1、2日では R. p. の長さの中央値は夫々 0.61μ 、 0.70μ で大した差はないが第3日に至り急に伸長して 1.17μ 、第4日 1.92μ で最長となり、第5日以降は長さは縮小し第5日 1.34μ 、第6日 1.14μ 、第7日に於ては 0.78μ となつた。R. p. の測定値の最小は接種後早期では 0.38μ 、中期では 0.49μ 、後期では 0.46μ (何れも橢圓形のもの長徑)であり、最大は早期では桿菌形の 0.83μ 、中期では絲狀形の 3.26μ 、後期では連鎖形の 1.73μ であつた。

以上要するに發疹チフス罹患海猴腦乳劑を接種した初代卵にあつては R. p. の検出は困難である。2代卵では接種後早期に於ては橢圓形が大多數を占め桿菌形のは少い。中期では Y. S. 内 R. p. の對數的増殖と共に桿菌形のは増加し連鎖形のもも出現し橢圓形のは減少する。後期では桿菌形、連鎖形のは減少し第7日に於ては R. p. は橢圓形が大多數を占める。長さの變化は接種後早期では $0.38\mu\sim 0.43\mu$ でさしたる差はないが、中期に至り R. p. の對數的増殖と同様に第3日 0.69μ 、第4日では 1.12μ で最長となり以後長さを減じ第7日では 0.46μ となつた。

3代卵では接種後早期では桿菌形及び橢圓形のみからなり、中期では連鎖形のもものが第3日に始めて現れ第4日に最多となり以後その%を減ずる。絲狀形のは第4~5日に於て見られるが第6日以降では出現しなかつた。接種後後期では桿菌形、橢圓形のは略相半ばし連鎖形のは僅かに殘存するが短連鎖形のものであつた。長さは接種後早期では $0.61\mu\sim 0.71\mu$ で餘り差はないがRの對數的増殖と同時に第3日に至り 1.17μ となり第4日では 1.92μ で最長

眞田・鮎谷・竹多論文附圖



第3代卵第4日に於ける *Rickettsia prowazekii* の糸状形其の他各形の混合圖を示す
(谷・盛永染色法)

(OK. Homal III) (×1200)
(Ob. Apochr. 90)

となり以後長さを減じ第7日では 0.78μ となり略早期の長さに復歸する。

Otto. Dietrich²⁾, Arkright. Bacot⁴⁾ 等は接種後早期の虱では $2\sim 3\mu$, 時によつては 10μ の絲狀をなすと云ひ, 長興・田宮・三田村・羽里¹¹⁾ 等も家兎デッセメット膜に増殖せる R. p. は $3\sim 10\mu$ の所謂絲狀形のを報告し同時に羽里¹²⁾ は絲狀形及び連鎖形のものゝ發育の分裂に近い型であると云ひ, Pinkerton. Hass⁵⁾ も組織培養に於て 20μ に及ぶ絲狀形を報告し, 之等は増殖期にあるものであると云つておる。

孵化鶏卵 Y. S. 内 R. p. は接種後全期を通じ桿菌形, 橢圓形のものゝ長さは先人諸家の成績

と略同様であるが, その對數的増殖の初期に連鎖形及び絲狀形のものゝ出現し第4日に最高となり, 後期には減少する事から之等のものは老廢形ではなく發育形であると思考されるが $10\sim 20\mu$ に達する様な絲狀形のものゝ見られなかつた。尙2代卵に於ける連鎖形のものゝ最長なもので 1.88μ で短連鎖のものゝのみであり, 第3代卵に見る如き絲狀形のものゝ出現しなかつた。之は初代卵では R. p. の檢出は困難であり2代卵に於ては3代卵に於けるよりもRの發育が低い事から Y. S. 内 R. p. が未だ Y. S. に慣れず好適發育條件を得ないためと考へられる。

第5章 結 論

1) 發疹チフス感染海狸腦乳劑を卵黄囊内に接種した初代卵にあつてはRの檢出は容易ではないが, 2代卵に於て R. p. は接種後第2日より第3日に至る間で對數的増殖をなし以後その發育は緩慢であるが第7日に至り最高となる。3代卵に於ても同様であるが R. p. の發育は更に上昇し, 以降の累代培養に於けると同等の發育を示すに至る。

2) Rの形態變化は2代卵では接種後早期に於て橢圓形が大部分で桿菌形のものゝ少い。中期では R. p. の對數的増殖と共に連鎖形のものゝ出現し, 桿菌形のものゝ増加し, 同時に R. p. の長徑も伸長して最長となり後期に於ては之等の形のものゝは減少し橢圓形のものゝ増加し R. p.

の長徑も減ずる。

3代卵に於ても接種後早期には桿菌形, 橢圓形のものゝからなりその長さには餘り差はないが, 中期では2代卵同様 R. p. の對數的増殖と同時に連鎖形のものゝ出現し絲狀形のものゝ見られ長さは最長に達する。後期では R. p. の長徑は縮小し, 絲狀形のものゝ見られず連鎖形のものゝは僅かに殘存し, 桿菌形及び橢圓形のものゝは略相半ばする。即ち孵化鶏卵々黄囊内 R. p. の増殖と形態, 及び長さの間には一定の相關性をもつて推移するものゝ如くである。

(拙筆するに臨み, 終始御懇篤な御指導と御校閲を辱うした恩師谷教授に對し滿腔の謝意を表する)

文 獻

1) Otto. Munter: Handbuch. pathogenen Microorganismen, III Auflage, VIII, H. 2, 1106, (1930)., (Gustav Fischer, Jena)
 2) Otto. Dietrich: Deuts. med. Wschr. 43, 577, (1917) 3) Sikora: Zbl. f. Bakt. 89, 271, (1923) 4) Arkright. Bacot: Parasitology, 15, 43, (1923) 5) Pinkerton. Hass: J. exp. med. 54, 307, (1931) 6) Cox: Publ. Health Rep. 53, 2241, (1938) 7) 橋

本: 綜合醫學, 3, 414, (昭21) 8) 鉢谷: 十全醫學會雜誌, 51, 191, (昭24) 9) 眞田: 卵黄囊内に接種せる *Rickettsia prowazeki* の鶏胎仔各臟器内に於ける分布に就て, (近く十全醫學會雜誌に發表の豫定) 10) 谷: 醫學微生物學, 283, (昭23), 南山堂書店 11) 長興・田宮・三田村・羽里: 實驗醫學雜誌, 14, 487, (昭5) 12) 長興・田宮・三田村・羽里: 日本病理學會雜誌, 22, 723, (昭8)