— Note —

Studies on *Hepatocystis* sp. in Rhesus Monkeys from Yunnan, China

Tsutomu TAKENAKA, Kazuya HASHIMOTO, Hirohiko GOTOU,
Satoshi MATSUMOTO, and Tooru NISHIKAWA

Drug Safety Research Center, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., 463-10
Kagasuno, Kawauchi-cho, Tokushima-shi, Tokushima 771-01, Japan

(Received 14 June 1989/Accepted 25 October 1989)

A survey for the prevalence of *Hepatocystis* sp. was done on 10 rhesus monkeys (*M. mulatta*) from Yunnan, China. Examinations were performed on blood smears to detect erythrocytic gametocytes of the parasite, and on livers to detect merocysts. In 6 out of 10 monkeys, *Hepatocystis* sp. infection was confirmed. The gametocytes took about 6 days to reach maturity. The fully grown macrogametocytes were about 8 μ m in diameter. The cytoplasm was stained pale lilac and the nucleus consisted of dense chromatin dots lying in an unstained zone. The microgametocytes had cytoplasm dyed a biscuit color and large nuclei dyed pink. In the pathological section of livers, the merocyst measured about 3 mm in diameter and had a smooth outline without any projecting limb. The characteristics of this protozoan species were very similar to those of *H. taiwanensis*. However, more work should be done to clarify the relationship between this species and *H. taiwanensis*.

中国、雲南省産のアカゲザルにみられた *Hepatocystis* sp. について

竹中 務・橋本一也・後藤浩彦・松本智志・西川 徹

大塚製薬安全性研究センター

Hepatocystis 属原虫は旧世界のリス、コウモリおよびサル類など数種の哺乳類に感染していることが知られている。サル類ではアフリカ産サルで5種、東洋産サルで2種の *Hepatocystis* 属原虫 (*H. semnopithecii* and *H. taiwanensis*) が報告されている [2,4]。

H. semnopithecii は南アジアの広い地域からカンクイザルなどで報告されているが [1,3,6], *H. taiwanensis* は台湾のタイワンザル (*Macaca cyclopis*) のみ報告されている [5,7,9]。

今回、我々はこの *H. taiwanensis* に近似する原虫を中国、雲南省産のアカゲザル (*M. mulatta*) で認めたのでここに報告する。

中国、雲南省で繁殖された年齢3.5～6.5歳の雄のアカゲザル10頭を実験用に輸入した後、当研究所にて2ヵ月間検疫を実施した。

検疫終了後約6ヵ月間、連日または数日おきに1日1回往血原虫の検査のためサフェナ静脈より採血し、末梢血塗抹標本を作成、5%ギムザ液（和光純薬）にて染色し鏡検した。

生殖母体の認められた個体については組織学的検査を実施した。すなわち主要臓器を摘出後アルコール固定し、固定後切り出し、薄切した切片をヘマトキシリン-エオジン (H. E.) で染色した。

血液塗抹標本の鏡検の結果、10頭中6頭の末梢血より

Hepatocystis sp. の輪状体並びに生殖母体を認めた。検査期間中赤血球内に分裂体を認めることはなかった。

赤血球内の早期栄養体、いわゆる輪状体はわずかな細胞質と点状の核を認めるだけであった (Fig 1)。

検査開始初期に、赤血球内に原虫が認められなかった個体の末梢血内に、検査途中より原虫が出現した例で検討し、原虫が赤血球内に侵入し、後期栄養体 (Fig 2) を経て成熟生殖母体となるまでに約 6 日かかることを認めた。

雄性生殖母体は赤血球を完全に占有し、全体にビスケット色を呈し赤味を帯びた糸くずのかたまりのような核を持っていた (Fig 3)。

雌性生殖母体の細胞質は全体に青味がかり、染色されにくい空胞のような部分の中にクロマチンの点状の核が見られた (Fig 4)。

被感染赤血球は原虫の発育初期に他の赤血球よりも若干小型となるが被感染赤血球の膨大は認められなかった。両生殖母体とも、成熟時の大きさは赤血球の大きさとほぼ同等で約 $8\mu\text{m}$ であった。

検査個体や検査日によって生殖母体数は大きく変動し一定しなかった。雄性生殖母体と雌性生殖母体の出現比率は後者のほうが多い傾向にあった。

次に組織学的検査の結果、生殖母体を認めた個体の肝臓にメロシストを認めた (Fig 5)。

メロシストの大きさは約 3mm で、その表面は滑らかで半透明、半隆起状を呈していた。細胞浸潤を受けたメロシストは混濁し、黄白色を呈していた。また肝表面のみならず、肝内部にもメロシストは散見された。

組織学的なメロシストの形状は円形であって、またその表面はなめらかであり、いわゆる *H. kochi* 型を呈していた [4] (Fig 6)。

メロシストは $1\sim 2\mu\text{m}$ の膜におおわれ内側のまわりには多数のメロゾイトを有し、その内側に好酸性のコロイドを有していた。メロシストの外側にはリンパ球を主体とした細胞浸潤が見られた (Fig 6~8)。

また肝、脾の細網内皮系細胞にはマラリア色素を認めた。その他の臓器には特に異常を認めなかった。

Hepatocystis 属原虫の同定は主として生殖母体とメロシストの形状による。

アジアのサルで感染が知られている *H. semnopithecii* と *H. taiwanensis* との間で成熟した生殖母体に関しては形態的に大きな差異はないが *H. semnopithecii* は輪状体の時に赤血球の膨大をひき起こす [3]。

また、今回見いだした生殖母体はその成熟に 6 日間を要した点で、アフリカのグリーンモンキー (*Cercopi-*

theus aethiops) などで報告されている *H. kochi* (成熟には 4 日間を要する) とは明らかに異なっている [3, 8]。

次に、メロシストについてみると *H. semnopithecii* が特徴のある指状形 (finger-processes) を呈するのに対し、*H. taiwanensis* はなめらかな円形 (simple-rim) を呈する [4]。

今回我々が、調査したアカゲザルからの、*Hepatocystis* sp. は、その生殖母体とメロシストの形状が *H. taiwanensis* のそれと近似した。

しかし、後者の宿主がタイワンザルで宿主が異なること、また媒介昆虫については両原虫とも全く不明であるなど、今後解決すべき問題が多い。従って本種の種名の確定も後日の研究に委ねたい。

今までにこのような報告がなされなかったのは、中国政府が雲南省でアカゲザルの繁殖を 1980 年頃より始め、4~5 年前まで雲南省産のアカゲザルが研究者の眼にふれる機会が少なかったためと考えられる。

要 約

中国、雲南省産のアカゲザル (*M. mulatta*) 10 頭につき *Hepatocystis* sp. の感染状況の調査を実施した。原虫の赤血球内発育体については血液塗抹標本で、またメロシストについては肝臓の組織学的検索を行なった。検査の結果、10 頭中 6 頭に *Hepatocystis* sp. が確認された。生殖母体の成熟には約 6 日を要した。完全に成熟した雌性生殖母体の直径は約 $8\mu\text{m}$ であった。細胞質は青紫色で、核は染まりにくい空胞のような部分にクロマチンが点状に存在していた。雄性生殖母体は、ビスケット色を呈する細胞質とピンク色を呈する核を持っていた。肝臓の組織標本では、メロシストの直径は約 3mm で表面は滑らかであった。メロシストはいかなる指状形をも呈さなかった。これらの性状は、*Hepatocystis taiwanensis* のものに類似していた。しかしながら、*H. taiwanensis* の種名の確定には、さらに検討を重ねなければならない。

文 献

- [1] Eyles D. E. (1963). *J. Parasitol.*, **49**, 891.
- [2] Fallis A. M. and Desser S. S. (1977). *Parasitic protozoa*, Vol. III, pp. 239-266, Academic Press Inc., New York.
- [3] Garnham P. C. C. (1966). *Parasites and Other Haemosporidia*, pp. 829-871, Oxford Blackwell Scientific, London.

- [4] Garnham P. C. C. (1977). Festschrift in honour of C. A. Hoare, F. R. S. on the occasion of his 85 th birthday, In Protozoology Vol. 3, pp. 135-142, Granham P. C. C., and Kendrick R. K. (edit.), London School of Hygiene and Tropical Medicine, London.
- [5] Manwell R. D. and Kuntz R. E. (1966). *J. Protozool.*, **13**, 670-672.
- [6] Nakazawa M., Taniyama H., Narama I., and Ono T. (1987). *Jpn. J. Vet. Sci.*, **49**, 295-301.
- [7] Ryan M. J., Cousins O. B., and Bhandari J. C. (1986). *Lab. Anim Sci.*, **36**, 56-58.
- [8] Vickers J. H. (1966). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **149**, 906-908.
- [9] 横川 定 (1941). 台湾医学雜誌, **40**, 2182-2186.

Explanation of Figures

Fig. 1-4. *Hepatocystis sp.* from rhesus monkeys
The protozoa are in an erythrocytic stage.
Giemsa $\times 1250$

Fig. 1. A ring form

Fig. 2. A young gametocyte

Fig. 3. A mature microgametocyte

Fig. 4. A mature macrogametocyte

Fig. 5. The liver of a rhesus monkey infected with *Hepatocystis sp.* : A right arrow shows a white merocyst ; A left arrow shows an old lesion caused by this protozoon.

Fig. 6-8. A pathological section through rim of a mature merocyst in the liver of a rhesus monkey. There are found innumerable merozoites, thin wall of merocyst and cellular reactions in the hepatic tissue. H. E.

Fig. 6. The typical kochi pattern with a simple plasmodial rim $\times 27$

Fig. 7. The section of an area in Fig 5 through a white merocyst $\times 54$

Fig. 8. Higher magnification of an area in Fig 7 $\times 320$