こりばのぞーま・れびじーノ鶏胎感 染試験ニ就テ

京都帝國大學醫學部微生物學教室（主任 木村教授）

新 美 修

Osamu Niimi

飯 田 正 彦

Masahiko Handa

（昭和16年3月26日受付）

【内 容 抄 録】

家鶏種子卵及び孵化卵内ニ生活セル *Trypanosoma lewisi*ヲ注入シ、ソノ卵黄内、胎兒心臟血液中ニ於ケル生活狀況ヲ檢シ、尙37°C及び25°Cニ於テ Pouillon 及び家雞胎兒組織細片含有 *Tyrod* 氏液中ニ於ケル生活狀況ト比較檢討セリ。

目 次

第1章 緒 言	第3章 實驗成績
第2章 實驗材料及實驗方法	第4章 總括及考按
第1節 實驗材料	第5章 結 論
第2節 實驗方法	

第1章 緒 言

鶏卵内ニ於テ病原體ヲ培養セントスル企ハ、遠ク1888年 *Huppe*⁽¹⁾ニ依リ *Cholera vibrio*ヲ無精卵ニ接種セラレテヨリ、夙ニ諸學者ニ依リ注目セラレタリ。我が國ニ於テハ井關、西山、龜田、奥田⁽²⁾ハ白痢菌ヲ、窪田、高橋⁽³⁾ハ結核菌、癩菌、釀母菌、糸狀菌及び水すびろへーにヲ夫々受精卵及び無精卵ニ注入セル業績ヲ發表セリ。

無生體培地ニ於ケル培養未ダ不可能ナル濾過性病原體ノ培養ヲ、斯ル方法ニ據ラントスル實驗ハ近時相次イデ報告セラレタリ。即チ痘毒ニ關シ *Woodruff* u. *Goodpasture*⁽⁴⁾ハ *Geflügelpocken Virus*ヲ *Woodruff*, *Goodpasture* a. *Buddingh*⁽⁵⁾等ハ *Neurotesticulare strain*ヲ *Stevenson* a. *Buller*⁽⁶⁾等ハ *Dermal strain*ヲ、夫々卵殻膜下ニ接種シ増強セシメタリト報ゼリ。

木村教授並ニ西⁽⁷⁾ハ牛痘毒ヲ用ヒ鶏卵内接種ヲ行ヒ脈絡尿囊膜及ビ胎兒ニ痘毒ノ増強ヲ認メ、谷口、小來田、岡本、川村、曾我⁽⁸⁾等ハ同様實驗成績ヲ發表シ、宮澤⁽⁹⁾ハ恙虫病原體ヲ孵化鶏卵内ニ注入シ、胎兒ニ於テ病毒ノ増強スルヲ認メタリ。

田中⁽¹⁰⁾ハ *Spirochaeta Duttoni* ノ鶏胎内培養ニ依リ 22 代繼續シ、又氏ハ *Trypanosoma gambiense* 及ビ *Trypanosoma evansi* ノ 28°Cニ於テ鶏胎内ニ培養セシニ、鶏胎死滅セザル限リ微量ヲ接種セバ 10 日前後ニ著明ナル増殖ヲ來タシ、鶏胎血液及ビ卵液内ニ多數ノ病原體ヲ發見セリ、斯クシテ前者ヲ 14 代後者ヲ 11 代繼續培養セリト報ゼリ。教室ノ奥川⁽¹¹⁾ハ *Trypanosoma lewisi* 感染ラツテ血液ヲ第 5 日孵化卵内ニ接種シ、第 9 日目ニ鶏胎心血ニ移行シ胎兒ハ障礙ヲ被ラズ發育スト發表セリ、又同ジク教室ノ水口ハ⁽¹²⁾再歸熱スビロヘーニ及ビ *Trypanosoma gambiense* ノ孵化鶏卵内及ビ種子卵内ニ接種シ胎兒血液及ビ卵黄ニ著明ナル増殖ヲ認メ、前者ヲ 19 代後者ヲ 9 代迄培養セリ。

一方濾過性病原體ノ培養ニ當リテハ生活組織、就中該病原體ニ感受性強キ組織ノ存在ヲ必要トセル事ハ先人ノ努力ニ依リ認メラル、所ニシテ 1907 年 *Harrison*⁽¹³⁾ガ組織培養法ヲ用ヒ其ノ端ヲ發シテヨリ、*Levaditi*⁽¹⁴⁾、*Erdmann*⁽¹⁵⁾、*Parker a. Nye*⁽¹⁶⁾、*Nauck u. Paschen*⁽¹⁷⁾、*Hallauer*⁽¹⁸⁾、*Hecke*⁽¹⁹⁾等ニ依リ、組織培養法ニヨル此ノ方面ノ研究ハ日ヲ逐ヒテ盛ントナリ其ノ業績亦顯著ナルモノアリト云ヘ、其ノ手技方法ノ煩雜ナルニ鑑ミ近時之ガ單純化企圖セラル、ニ至レリ。即チ 1927 年 *Carrel, Rivers*⁽²⁰⁾ハ *Carrel* ノ種法ニ依リ家鶏胎兒卵ト家鶏血清トヲ培地トシ痘毒ヲ培養シ、其ノ増強スルヲ見タリ。本法モ亦諸學者ニ依リ生活組織細片ヲ加ヘシモノヲ培地トシ、諸濾過性病原體ノ培養ニ成功セリ。其後 *Li a. Rivers*⁽²¹⁾及ビ其ノ一派ハ更ニ本法ヲ簡略化シ、一躍 *Tyrodé* 氏液ノミニ家鶏胎兒組織細片ヲ加ヘシ培地ニ於テ痘毒ノ繼代培養ニ成功シ、翌年 *Herzberg*⁽²²⁾之ヲ追試ニ認セリ。吾ガ教室ノ西⁽²³⁾及ビ増永⁽²⁴⁾ハ *Rivers* ノ方法ヲ追試シ、鶏胎組織、脾、腎、肝、肺組織等ヲ含有セル *Tyrodé* 氏液中ニ於テ前者ハ痘毒ヲ後者ハ鶏ベすとノ培養ニ成功シ詳細ナル業績ヲ發表セリ。

以上ヲ通覽スルニ孵化卵ハ細菌、濾過性病原體、*Spirochaeta*、*Trypanosoma* 等ノ良好ナル培養基タルト共ニ、*Rivers* ノ唱フル培養法モ亦諸種病毒ノ優秀ナル培養法ナリ。

余等ハ *Trypanosoma lewisi* ノ鶏胎内培養ヲ行フト共ニ、鶏胎組織細片ヲ含有セル *Rivers* 氏法ニ依リ果シテ培養可能ナリヤ否ヤヲ觀察セリ。茲ニ其ノ結果ヲ報告シ諸賢ノ批判ヲ請ハントス。

第 2 章 實驗材料及實驗方法

第 1 節 實 驗 材 料

第 1 項 とりばのぞーま・れびじー

Trypanosoma lewisi (以下と、ト略ス)ハ當教室構内及ビ附近ノ捕鼠 Rattus norvegicus ヨリ分離シ、2代らつてヲ經過セルモノヨリ採血使用セリ。即チと、罹患らつて心血ヲ1%枸櫞酸加ぶいよん(Ph7.2)ニテ稀釋シ、此ノ際血液ハ3倍稀釋トナル如ク吸引シ、此ノ稀釋血液中1視野15匹内外ノと。ヲ含有セルモノヲ使用セリ。著者ノ1人新美ガ當教室及ビ附近ニ於テ捕獲セル家鼠ヨリ證明セル家鼠と。保有率ニ就テハ次表ニ示スガ如シ。

鼠 屬	頭 數	と、保有 頭 數	と、保有率
Rattus alexandrinus.	1	0	0
Rattus rattus.	7	1	14.3%
Rattus norvegicus.	44	6	13.6%
合 計	52	7	13.5%

第 2 項 家鶏卵

家鶏卵ハ無精卵、種子卵、
孵化日數6日目卵、孵化日數
14日目卵ノ4種ヲ選ビ、何レ

モ當地人工孵化場ヨリ購入シタルなごやこーらん種ノモノナリ。

第 2 節 實 驗 方 法

第 1 項 鶏卵内接種方法

鶏卵ノ氣房ノ存在スル卵殼表面即チ鈍端ヲ、沃度丁幾ニテ消毒ス、其ノ中央ニ $\frac{1}{3}$ 注射針ヲ挿入シ得ル程度ノ小孔ヲ穿テ、次ニ注射針ヲ該小孔ニ挿入シ針先ガ略々脈絡尿囊膜下ニ達シタリト思ハル、時注入ス。無精卵ニ在リテハ深ク卵黃内ニ注入ス。注入後ハ高溫ニ溶解セルばらふいんニ浸シタル日本紙ノ小片ヲ以テ小孔ヲ封鎖セリ。

第 2 項 Rivers 氏 Kolben 内培養法

培養容器ハ Rivers ノ法ニ從ヒ、内容50cc壺口ニ磨リ合セ硝子きやつ付キ Kalben ヲ使用セリ。培地ニ使用セル鶏胎組織ハ、孵化6日目鶏胎ヲ無菌的ニ摘出後、滅菌食鹽水ヲ以テ2回洗淨セル後、蓋ニテ掩ヒタル滅菌しやーれ内ニテ銳利ナ鋏ヲ用ヒ可及的1—1.5mm平方ノ均等ナル細片ニ細切シ、廣口びべつとヲ用ヒ、組織片0.1cc宛ヲ Kolben 内ニ採リ底面上ニ薄層ニ擴ゲ、次ニ此ノ組織片層上ニと。含有血液0.25ccヲ注下シ、之ニ新鮮ナル Tyrode 氏液ヲびべつとヲ用ヒ全量5ccトナル如ク注加セリ。

第 3 項 と・含有ぶいよん試験管

上記ぶいよん中ニ於ケルと・生存時日ヲ知ランガ爲、前述と・含有血液ヲ更ニ10倍量ノぶいよん(Ph7.2)=稀釋シ試験管ニ分注セリ。

第 4 項 培 養 法

と・含有血液ノ注入ヲ終ハリタル鶏卵、及ビ Kolben, 試験管ノウチ無精卵, Kolben, 試験管ノ各1部ヲ25°C他ヲ37°C孵籠ニ收メ、1定時日ノ後實驗ニ供セリ。

第 5 項 検 査 方 法

検査方法ハ接種後一定時日ノ後卵殻ヲ靜カニ破壊シ鶏胎心血及ビ卵黄ヲ暗視野ニテ40視野精査セリ。鶏胎検査ハ外部ヲ丁寧ニ數回生理的食鹽水ニテ洗滌シ、附着血液ヲ除去セル後開胸セリ。未ダ鶏胎小ナル場合ハ、開胸セル際出ヅル血液ヲ以テ心血ニ代ヘタリ。

第 3 章 實 驗 成 績

第 1 節 孵化卵接種成績

家驗第1；未ダ孵卵室ニ納入セザル所謂種子卵10個ニ上記接種量ヲ接種シ、直ニ37°C孵卵器ニ收ム。然ル後第3日第5日ト隔日ニ檢シタリ。(第1表參照)

第1表ニ見ルガ如ク第3日ヨリ第7日迄卵黄中と・ヲ認メシモ、第9日ニ檢シタルNo.4ハ鶏胎腐敗シと・ヲ檢出スルヲ得ズ。第11日ヨリ第15日迄ニ檢シタルNo.5, No.6, No.7ハ何レモ胎兒心血、卵黄中ニ活潑ナルと・ヲ認メタリ。第17日卵 (No.8) ハ胎兒心血中ニノミと・ヲ認メ卵黄中ニハ認ムルヲ得ズ。第19日卵 (No.9) ハ已ニ鶏胎死滅シと・ヲ證明セズ。第21日卵 (No.10) ハ孵化シ孵化翌日翼下面血液ヲ精査セルモと・ヲ認ムル能ハザリキ。

第 1 表 (種 子 卵)

經過日數 卵番號	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
No. 1 胎兒 卵黄	- +									
No. 2 胎兒 卵黄	• •	- +								
No. 3 胎兒 卵黄	• •	• •	- +							
No. 4 胎兒 卵黄	• •	• •	• •	死						

卵番號	經過日數	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
No. 5	胎兒	•	•	•	•	+					
	卵黃	•	•	•	•	+					
No. 6	胎兒	•	•	•	•	•	+				
	卵黃	•	•	•	•	•	+				
No. 7	胎兒	•	•	•	•	•	•	+			
	卵黃	•	•	•	•	•	•	+			
No. 8	胎兒	•	•	•	•	•	•	•	+		
	卵黃	•	•	•	•	•	•	•	-		
No. 9	胎兒	•	•	•	•	•	•	•	•	死	
	卵黃	•	•	•	•	•	•	•	•		
No. 10	胎兒	•	•	•	•	•	•	•	•	•	孵化
	卵黃	•	•	•	•	•	•	•	•	•	(-)

實驗第2；孵卵室納入6日目鶏卵ニ接種セリ。(第2表参照)

第2表ニ示セルガ如ク第3日及ビ7日ニ檢シタル孵化卵(No.1, No.3)ハ何レモ卵黃中ニと。
ヲ檢シタルモ, 第5日(No.2)ハ鶏胎死滅シと。ヲ檢出スルヲ得ズ。第9日(No.4)日ニ於テハ
胎兒心血, 卵黃中ニ生活セルと。ヲ認メタリ。第11日卵(No.5)ニハ既ニ鶏胎死滅腐敗シと。
ヲ見ズ。第13日(No.6)ニハ胎兒心血, 卵黃中ニと。ヲ檢出スル能ハズ。No.7, No.8, No.10ハ
孵化シ翌日ノ檢査ニテ何レモ翼下面血液ニと。ヲ認メズ。No.9ハ鶏胎已ニ死滅腐敗シ居レリ。

第 2 表 (孵 化 6 日 卵)

卵番號	經過日數	3	5	7	9	11	13	15
No. 1	胎兒	-						
	卵黃	+						
No. 2	胎兒	•	死					
	卵黃	•						
No. 3	胎兒	•	•	-				
	卵黃	•	•	+				
No. 4	胎兒	•	•	•	+			
	卵黃	•	•	•	+			
No. 5	胎兒	•	•	•	•	死		
	卵黃	•	•	•	•			
No. 6	胎兒	•	•	•	•	•	-	
	卵黃	•	•	•	•	•	-	

経過日数		3	5	7	9	11	13	15
卵番號								
No. 7	胎兒	・	・	・	・	・	・	孵化
	卵黃	・	・	・	・	・	・	(-)
No. 8	胎兒	・	・	・	・	・	・	孵化
	卵黃	・	・	・	・	・	・	(-)
No. 9	胎兒	・	・	・	・	・	・	死
	卵黃	・	・	・	・	・	・	
No. 10	胎兒	・	・	・	・	・	・	孵化
	卵黃	・	・	・	・	・	・	(-)

第3表 (孵化14日卵)

経過日数		2	4	6	7
卵番號					
No. 1	胎兒	-			
	卵黃	-			
No. 2	胎兒	・	-		
	卵黃	・	-		
No. 3	胎兒	・	・	-	
	卵黃	・	・	-	
No. 4	胎兒	・	・	・	孵化
	卵黃	・	・	・	(-)
No. 5	胎兒	・	・	・	孵化
	卵黃	・	・	・	(-)

實驗第3；孵卵室納入14日目ノ孵

化卵ニ試ミタリ。(第3表参照)

第3表ニ觀ルガ如ク第2日、第4日、第6日ニ檢シタル各卵共ニト。ヲ認メズ、No.4、No.5ハ7日目ニ孵化セルモ翼下面血液中ニト。ヲ檢出スルヲ得ザリキ。

第2節 無精卵内接種

成績

前記方法ニ依リ無精卵10個ニ接種

シ、7個ヲ25°Cニ3個ヲ37°C孵卵室ニ收メ、一定時日ノ後ト。接種血斑局部及ビ他ノ卵黃部分ヲ檢査セリ、孵卵器ノ溫度ヲ37°C及ビ25°Cニ分チタルハ、試験管内ニ於ケルと。純培養ノ至適溫度ガ25°Cナル點ヨリ試ミタリ。(第4表参照)

第4表ニ示セルガ如ク25°Cニ收メタル無精卵ハ48時間内ニ於テハ正常ノ生活セルと。ヲ觀ルモ、3日目ヨリ運動緩慢トナリ、其後次第ニ虫體圓形ヲ帶ビ不正型トナリ、9日目ニハ全ク運動ヲ停止セルと。ヲ認ムルノミナリ、11日目ニ於テハ全ク虫體ヲメズ。25°Cノ無精卵ニ於テハ注入血斑部以外ノ卵黃部分ニ於テハト。ヲ認ムル能ハザリキ。

37°C孵卵器ニ收メタル無精卵ハ接種セル血斑部ニ於テ、24時間後ニハト。ヲ認ムルモ運動緩徐ニシテ一部ハ既ニ運動ヲ停止セルモノアリ、他ノ卵黃部分ニハト。ヲ檢出セズ。48時間後ニハ形態長徑ヲ減シ虫體ハ不正型トナリ、運動極メテ緩慢ニシテ既ニ運動ヲ停止セルモノ大多數ナリ。3日目ニハ全ク虫體ヲ認メズ。

第 4 表 (無 精 卵)

温 度	経過日数	1	2	3	5	7	9	11
	卵番號							
25°C	No. 1	+						
	No. 2	•	+					
	No. 3	•	•	+				
	No. 4	•	•	•	+			
	No. 5	•	•	•	•	+		
	No. 6	•	•	•	•	•	+	
	No. 7	•	•	•	•	•	•	-
37°C	No. 8	+						
	No. 9	•	+					
	No. 10	•	•	-				

第 3 節 試験管内ぶいよん中ニ於ケル成績

25°Cニ於テハ3日目迄殆ソド正常ノト。ヲ觀ルモ以後運動緩慢トナリ, 7日目頃ヨリ著明ナル虫體變形ヲ呈シ運動性殆ソド無ク, 10目ニ至リテハ運動全ク消失シ鞭毛ヲ失ヒ死滅ス。11日目ニハ全ク陰性ニ終ル。

37°Cニ於テハ24時間後既ニ運動性ヲ殆ソド失ヒ僅ニ鞭毛ヲ蠢動スルノミニシテ, 48時間後ニハ全ク死滅シ虫體ヲ認ムル能ハザリキ。

第 4 節 鶏胎組織含有 Tyrode 氏液培地ニ
於ケル成績

25°Cニ於テハ5日目迄ハ活潑ナル運動ヲ營ム正常ノト。ヲ檢出セルモ, 7日目頃ヨリ運動緩徐トナリ所々ニ變形體ヲ現ハシ, 9日目ニハ運動殆ソド無ク鞭毛ヲ失ヒ靜止セルト。多數ヲ認ム, 11日目ニハ全ク虫體ヲ證明セズ。

37°Cニ於テハ24時間後不正型ナル虫體ヲ少數認ムルモ大多數ハ尙正常ニ活潑ナル運動ヲ行ヒツ、アリ, 48時間後ニ至レバ運動極メテ緩徐ニシテ大多數ハ鞭毛ヲ失ヒ死滅ス。3日目ニハ全ク虫體ヲ認メズ。

第 4 章 總 括 及 考 按

無精卵, 種子卵, 孵化6日卵, 孵化14日卵ニ夫々生活セルト。ヲ注入シ, 該ト。ガ増殖スルヤ否ヤヲ檢索セリ。無精卵ハト。純培養至適溫度ガ25°Cナル點ヨリ其ノ1部ヲ25°C孵卵器ニ收メタリ。

種子卵，孵化6日卵ニ於テハ9日目乃至11日目ニ胎兒心血中ニ正常ノト。ガ移行シ孵化2—3日前ニ心血中ヨリ消失ス。其ノ際胎兒ハ何等ノ障碍ヲモ蒙ラズ正常ノ發育ヲ遂ゲ，孵化後翼下面血液中ニ全クと。ヲ認ムル能ハザリキ。孵化14日卵ニ於テハト。ノ胎兒心血中ニ移行スルヲ認メズ。

種子卵，孵化6日卵ノ卵黄内ニ於ケルと。ハ，孵化前5—6日迄生存スルヲ認ムルモ以後全ク陰性ニ終ル，恐ラク胎兒ノ急劇ナル發育ニ從ヒ新陳代謝旺盛トナリ，卵黄ノ生物學的變化ヲ現ハシト。ノ生存ヲ阻害スル結果ナフン。孵化14日卵ノ卵黄中ニハ全クと。ヲ認メズ。

無精卵ノ實驗ニ於テ25°Cニ保テシモノハト。次第ニ變形シ運動緩徐トナリツ、アルモ尙10日間生存シ12日以後全ク陰性ナルニ反シ，37°Cニ保チタルモノハ24時間後既ニ運動性ヲ失ヒ，48時間後ニハ全ク死滅ス。

次ニぶいよん及ビ孵化6日鶏胎組織片ヲ含有セル *Tyrode* 氏液中ニ夫々生活セルと。ヲ注入シ，25°Cニ保チシモノハ何レモ3—5日ニシテ不正型ヲ呈スル虫體出現スルモ10日前後迄生活セルと。ヲ認ム。然レニ37°Cニ於テハ何レモ48時間乃至72時間以内ニ全ク虫體ヲ認ムル能ハズ。此ノ際ぶいよん内ニ於ケルと。生存期間10日前後ナル點ヨリ觀察セバ無精卵及ビ鶏胎組織細片含有 *Tyrode* 氏液中ニ於テハト。ハ單ニ殘生 (*Überleben*) セルニ過ギザルモノト思考セラル。

第 5 章 結 論

1. 初期孵化鶏卵ノ卵黄，胎兒心血ハト。ノ生育ニ好影響ヲ與フルモ，晚期孵化鶏卵ハト。ノ生育ニ適セズ。
2. 25°Cニ保チタル無精卵及ビ家鶏胎兒組織含有 *Tyrode* 氏液中ニ於テト。ハ10日前後生存スルモ之レハ單ニ殘生スルニ過ギザルモノト思考セラル。

摺筆ニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導御校閲ノ勞ヲ賜リタル恩師木村教授ニ滿腔ノ謝意ヲ捧グ。

文 献

- 1) **Huppe**; Zent. f. Bakt. I. Org. 1883, Bd. 4, S. 80.
- 2) **井關, 西山, 龜田, 奥田**; 病理學紀要, 4巻, 2號, 頁237, 昭和2年.
- 3) **窪田, 高橋**; 北海道醫學會誌, 8巻, 10號, 頁1691, 昭和5年.
- 4) **Woodruff u. Goodpasture**; Zent. f. Bakt. Ref. 1932, Bd. 101, S. 187.
- 5) **Woodruff, Goodpasture; a. Buddingh**; Amer. Journ. of Pathol. Vol. 8, 1932, P. 271.
- 6) **Stevenson a. Butler**; Lancet. 1933, Vol. 2, P. 228.
- 7) **木村, 西**; 東京醫事新誌, 2880號, 頁1293, 昭和9年.
- 8) **谷口, 小來田, 岡本, 川村**; 衛生學傳染病學誌, 30巻, 3, 4號, 頁213, 昭和9年.
- 9) **宮澤**; 日本微生物學誌, 29巻, 5號, 頁543, 昭和10年.
- 10) **田中**; 第9回聯合微生物學會誌, 1935.
- 11) **奥川**; 日本微生物學會誌, 28巻, 11號, 頁1329, 昭和9年.
- 12) **水口**; 日本微生物學會誌, 29巻, 12號, 頁1475, 昭和

- 10年. 13) **Harrison**; Proc. Soc. Exp. Biol. a, Med. Vol. 4, P. 140, 1907.
14) **Levaditi**; Compt. rend. Soc. Biol. Vol. 75, P. 202, 1913. 15) **Erdmann**;
Arch. f. Protistenk, 1920 Bd. 41, S. 190. 16) **Parker a. Nye**; Amer. Journ. of Pathol,
Vol. 1, P. 337, 1925. 17) **Nauck ü. Paschen**; Zent. f. Bakt. I. Org. 1932, Bd. 124,
S. 91. 18) **Hallauer**; Zschr. f. Hygiene, Bd. 113, 1932, S. 61. 19) **Hecke**; Zent.
f. Bakt. I. Org. Bd. 128, 1933, S. 335. 20) **Carrel a. Rivers**; Compt. rend. Soc.
Biol. Vol. 96, 1927, P. 848. 21) **Li a. Rivers**; Journ. exp. Med, Bd. 52, 1930, S. 465.
22) **Herzberg**; Zent. f. Bakt. I Org. Bd 131, 1934, S. 358. 23) **西**; 日本微生物學
誌, 30卷, 5號, 頁585, 昭和11年. 24) **増永**; 日本微生物學會誌, 33卷, 1號, 頁112, 昭
和14年.