

諸種実験動物の腹腔液に見られる球菌様の 顆粒群について

長崎大学風土病研究所病理部

登 倉 登 ・ 本 村 一 郎
と くら のぼる もと むら いら ろう

Microbion-like Granules in Cluster in the Peritoneal Fluid of Laboratory Animals. Noboru TOKURA and Ichiro MOTOMURA, Pathological Department, Research Institute of Endemics, Nagasaki University.

昭和37年10月14日、熊本市に於ける日本細菌学会第15回九州支部総会に於いて、“諸種実験動物に感染している微生物の一種について”と題して口演発表した。その後、再検討の結果、本編に於いては表題及び論旨の変更が施されてある。

“無菌動物”の飼育が容易に出来ない現在、われわれが日常正常動物と呼んでいる動物は、生後諸種の微生物による自然感染を受けていると考えられ、外観的には健康状態にありながら、内部に病巣を作っていたり、また、不顕性感染を受けているような場合もあり得るので、これらの動物を用いて、或特定の疾患から病原菌を分離する際には、両者を混同し、実験成績を混乱に陥れることもないとも限らない。

われわれは、*Toxoplasma* 検索中、たまたま、1961年末にマウスの腹水に於いて *Toxoplasma gondii* の pseudocyst によく似た微生物様のものに遭遇したが、これは諸種実験動物に意外に高率に存在していると思われるので、その性状について報告する。

実験材料及び実験方法

1. 実験に着手するまでの経緯

1961年12月の末、諫早市及び佐世保市近郊の某養豚場で、多数の豚を相次いで斃していった一種の伝染性疾患に遭遇し、その死因を究明するために、重篤な症状を呈している豚2頭を解剖し、トキソプラズマ症の疑いから、各臓器乳剤を健康マウスの腹腔内に接種した。その後、マウスの腹水を検査したところ、*Toxoplasma gondii* の pseudocyst-like 塊物の存在を認め、以後盲目接種継代したマウスの腹水中からも同様の塊物を認めた。しかしながら、腹水中に遊離し

た *Toxoplasma gondii* の trophozoiteform が1個も見られないことと、この塊物は *Toxoplasma* の pseudocyst とは形態学的にかなり差異がみられることなどから疑問を抱くようになり、試みに健康マウスの腹水を検査したところ、この中にも同一の塊物が存在しているのを認めた。われわれが *Toxoplasma* の pseudocyst と考えていたものは、図らずも、異種の微生物らしく考えられた。このような混乱を生じた原因は、検査材料接種前に健康マウスの腹水の寄生物検査を厳密に実施していなかったためであるが、従来、健康マウスの腹水中に、このような“微生物”が存在することは、全然知られていなかったことである。

2. 検査材料

マウス、ラット、ハムスター、モルモット及びウサギなどの日常身近な実験動物を対象とした。

3. 検査方法

外見上、健康な動物を雌雄の区別なしに用い、腹部被毛をピンセットで脱毛した後、稀ヨードチンキで充分消毒乾燥後、滅菌硝子毛細管を刺入して腹水を採取し、スライド硝子上に滴下して、自然乾燥の後、メタノール液中に約5分間浸漬固定後、ギムザ液（原液1滴：水1.0ml）中に約40分間置いて染色を施した。顕微鏡下で弱拡大及び強拡大にて全視野を隈なく検査して、*Toxoplasma* の pseudocyst-like 塊物を、1個以上認めたものを腹水出現陽性とし、1個も認めなかったものを陰性として判定した。ウサギのような腹部皮膚、腹膜等の鞏固なものは、硝子毛細管の刺入が困難なので、滅菌注射器を代用した。

上記のギムザ染色法は染色時間が長いことと、固定染色に手数がかかること、生体のまま観察できない等の難点があるので、われわれは、もっと操作が簡単で、

染色時間が短縮される生体染色による簡易検査法を考案した。この方法に於いては、メチレン青原液 0.5ml を蒸溜水 100ml に稀釈した液を用い、まず上述の如く腹水を採取してスライド硝子上に 1 滴落とし、ほぼ同量の上記メチレン青液をこれに加えて、カバーガラスで覆って鏡検する。染色は数分以内に完了し、腹水細胞は淡青色に染まり、目標の蒐塊物は濃青色に染まるから、一目で識別が可能である。

実 験 成 績

1. 諸種実験動物腹水からの検出状況

われわれの研究室に於いて、種々の実験に供用する目的で飼育管理していたもので、外観的には全く健康な、正常と言われる動物を用いた。いづれも前記の検索方法に従って検査した結果、マウス、ラット及びハムスターから一種独特の細胞寄生性の微生物と思われる小体の存在を確認した。この“微生物”の自然感染は、意外に高率であって、マウス 260 匹中 124 匹 (82%)、ラット 7 匹中 6 匹 (86%)、ハムスター 3 匹中 3 匹 (100%) から検出された。ウサギ 7 匹、モルモット 19 匹の腹水からは、このような“微生物”は 1 例も検出されなかった。マウスの場合を例に挙げると、マウスコロニーの所在地 (広島市、熊本市、東京都) の地域差は認め

第 1 表 諸種実験動物腹水からの検出状況

	コロニー所在地	購入後の飼育期間	系統年令	性別	検査例		
					検出例数	陽性匹数	陽性率%
マウス	広島市	2ヶ月 約1年	dd系	合	90	73	81
			ddK	合	30	27	90
	熊本市	?※ 1日	ddK	合	16	10	60
			ddK	合	27	25	92
	東京都	1日	ddN	合	97	79	81
小計					260	214	82
ラット	広島市	4ヶ月	Wistar系	合	7	6	86
ハタムス	広島市	7日			3	3	100
モルモット	広島市	7日		合	9	0	0
	熊本市	1日		合	10	0	0
ウサギ	長崎市近郊	7日		合	7	0	0

※印は本学小児科学教室より分与されたマウスでこの項不詳

られず、本“微生物”の浸淫が広範囲に亘っているものと推測された。また、各地のコロニーから購入後、われわれの研究室内で感染を受けたかどうかということは、この表が示すように、購入後の飼育期間が僅か 1 日のマウスから検出されている事実から、一応否定されてよいものと考えられる。所謂純系マウスから本“微生物”が多数検出された。

2. 生物学的性状

(1) 形態：直径 1.0~2.5 μ の円形又は楕円形の単球菌状微生物と思われ、腹水内の細胞に集簇寄生し、莓実状を呈するのが特徴である。腹水 1 滴中の莓実状集簇塊の数は、マウスによって個体差があり、1~2 個のものから数十個に及ぶものもあった。このような多数の集簇塊を含む腹水は、一般に白濁しており、リンパ球の数も増していた。この集簇塊の最外周縁には、*Toxoplasma* の psuedocyst に見られるような嚢子膜は認められず、ギムザ染色によって、宿主細胞の核と思われる物質が集簇塊のほぼ中央部に淡赤色に染まってみえた標本が多数を占め、本蒐塊物は宿主細胞の原形質内、または細胞外を圍繞密着しているもののように観察された。また、宿主細胞の原形質内に 2~3 個浸入寄生しているものや、細胞外に孤立単在しているものも認められた。腹水をメチレン青簡易検査法で生体染色を行ない、カバーガラスを被覆して、上から少し圧迫すると、莓実状集簇塊はバラバラに散らばり、凡その数を算することができた。一個の集簇塊は、約 100~200 個の単球菌様顆粒によって構成されており、その集簇塊の大きさは、直径 18~25 μ の類円形でリンパ球 (6~12 μ) よりもやや大きい。

(2) 染色性：このものは、種々の染色液に好染するが、いづれの場合でもすべて平等に染まり、核・原形質の区別は認められなかった。上記メチレン青液では、腹水細胞は淡青色に、本“微生物”は濃青色に染まり、ギムザ液では、本“微生物”は赤紫色~青紫色に染まって見えた。

グラム染色に於いては、染色手技の誤差を無くするためにグラム陽性菌である *Clostridium welchii* 菌浮遊液を 1 滴スライドガラス上に置き、これに硝子細管で採取した被検マウスの腹水を混和し、自然乾燥後、メタノールで 5 分間固定してから常法の如く染色を行った。その結果、グラム陽性のウエルチ菌は濃青紫色に染まったが、本“微生物”はすべて赤褐色に淡く染まり、グラム陰性と判定された。

この他、抗酸性染色 (Ziehl-Neelsen の法) では陰性であり、莢膜染色 (Hiss の法、Churchman の法) で

は莢膜を認めず、芽胞染色 (Möller の法) では芽胞の形成は見られなかった。これらの染色法のうち、特に固定を必要とするものには自然乾燥後メタノール固定を行なった。以上の特殊染色法に依り、本“微生物”は、芽胞、莢膜及び鞭毛を有せず、抗酸性なく、グラム染色陰性であることが明らかとなった。

(3) 培養：使用した培地は、普通寒天、血液寒天、サブロウ寒天、Zeissler 寒天及び肝片加ブイオンであった。

腹水中に本蒐塊物の存在を確認したマウスを、エートルで殺処分して、その肺、肝、腎、脾、脳、腹水の一部を上記培地に濃厚に塗抹培養した。好気性培養に於いては、37°Cと23°Cの孵卵器内で1週間逐日観察を続け、また嫌気性培養に於いては、嫌気性瓶の底部にドライアイスの小片を置き、発生する炭酸ガスによって、内部の空気を追出し、水中を通過させることによって、空気との置換を行なった後、37°Cの孵卵器に納めて培養したが、いずれの方法によっても培養は不成功であった。

(4) 10%牛血清加 Hanks 液内 slide-culture：予じめ滅菌した短冊形スライド上に家鶏血漿を塗布し、乾燥後、生理食塩水で稀釈したマウスの腹水を1滴落として自然乾燥の後、10%牛血清加 Hanks 液を4 ml入れた小角瓶内に短冊形スライド4枚を静かに置き、密栓して37°Cに入孵した。6日後、スライドを出してメタノール固定後、ギムザ染色を行ない鏡検した。その結果、スライドガラス上の諸処に密着して発育している本“微生物”を認めた。この時見られた集団は、通常、腹水中にみられる莓実状ではなく、宿主細胞から離れて、基石を盤面に敷き並べたような状態で見られた。

(5) マウス体内での分布と寄生状況：腹水中に本微生物の存在を確認したマウスを解剖し、血液、肝、脾、肺、腎、横隔膜、膈、腹膜、脳の一部をスライド上に押捺し、メタノール固定後ギムザ染色を施して精査した結果、血液中には莓実状蒐塊物は孤立的に散在する球菌を認めたに過ぎず、他臓器には青紫色に染まった単球菌様の特徴的な莓実状の集塊をなす“微生物”を数個認めた他、細胞内にそれらしいもの数個入っているのが見られた。ただし、横隔膜及び腹膜の標本からは、同様の小体は一個も検出できなかった。

(6) 色素試験 (Sabin-Feldman's dye test)：SABIN and FELDMAN (1948)らによって紹介された方法に従い、まず、腹水中に本蒐塊物の存在を確認したマウスを、心臓穿刺によって全採血して血清を分離し、

56°C/30分非働化の後、0.1 mlを小試験管にとり生理的食塩水で4倍、16倍に稀釈したものに、予じめ準備した *Toxoplasma gondii* 生鮮虫体と、アクセッサリーファクターとしての人血清との混合液 0.1 ml宛を混和し、37°Cの恒温槽に1時間保った後、PHを11に補正したメチレン青液を2滴滴下して、5分後、鏡検により、*Toxoplasma* 虫体のメチレン青染色の程度を調べた。その結果、被検血清は色素試験陰性と判定された。

上述の実験結果から考えて、われわれが検出した“微生物”は、*Toxoplasma* を含む原虫類の一種と見做すことは困難であって、単球菌 *micrococcus* 属の一種に他ならないと思われた。

(7) *Trichomonas* への感染試験：文献に依れば、YAKIMOFF(1930)が蛙 (*Hyla alborea* 及び *Rana viridis*) から分離した *Trichomonas batrachorum* の原形質内に寄生している微生物を発見して、これに *Micrococcus batrachorum* (sic) と命名したが、われわれの検出した“微生物”は形態上これと似ている点があるので、その鑑別のために次の実験を行なった。実験材料として *T. batrachorum* が入手できないので、*T. vaginalis* を代用した。同じ頃、教室員の松尾(1962)が *T. vaginalis* の純粋培養を目標とした実験を試みていて、随伴細菌の発育を強度に抑制することができた株を持っていたので、この株の分与をうけて実験に供用した。培地は猪木等(1950)の考案した WB₂培地を用い、腹水中に蒐塊物の寄生を確認したマウス2匹の腹水を採取して、この中に入れ *T. vaginalis* と混合培養した。マウス腹水を加えない *T. vaginalis* のみの培養を対照とした。48、72時間後に培養液の一部をギムザ染色鏡検し、*T. vaginalis* 原形質内に特徴ある蒐塊の存否を検査した。YAKIMOFFによれば、*Mc. batrachorum* の *Trichomonas* に於ける寄生率は約 1.89%であるというから、*T. vaginalis* を100匹以上検査したが、特徴的な蒐塊は一匹も見られなかった。

(8) マウス及びモルモットへの感染試験：前記実験成績 I に記載したようにマウス、ラット、ハムスターから本“微生物”を高率に検出したにもかかわらず、モルモット、ウサギからは1例も検出できなかった。マウス腹水中に出現する本“微生物”をモルモットの腹腔内に接種した場合、マウスと同様の感染が成立するものか否かを知るために、次の実験を行なった。実験に先行して、マウスの腹水中に本“微生物”の蒐塊が1個も認めないマウス2匹と、モルモット4匹を選び、その各々に本“微生物”の存在を確認したマウスの腹水を、生理的食塩水で適宜に稀釈して、その 0.2 ml宛

を腹腔内に注射した。接種後2, 4, 6, 8, 10, 20, 30日の間隔を置いて各動物の腹水を検査したが、マウスでは2~30日まで連続して本“微生物”の寄生が認められ、日を経るに従って若干数を増す傾向がみられた。しかしながら、モルモットにおいては2日以降30日までの検査では、腹水中に本“微生物”は1個も存在せず、感染試験は不成功であった。

(9) 病原性：マウスの飼育中に、時々、原因不明の斃死例に遭遇することがあった。或る日、たまたま、一匹のマウスが飼育箱の片隅にうづまり、被毛を逆立て悪感蹙蹙の状況を呈しているのを見つけたので取出してみると、体全体冷感があり、様子から瀕死期のもものと推察された。尾をピンセットで強く圧迫すると、反射的に前進しようとするけれども、後肢麻痺のため一歩も進めず一個所をもがいていた。解培してみると、各臓器には肉眼的に著変なく、ギムザ染色押捺標本で、脳に、腹水中に見られた“微生物”の菌実状集簇塊が、多数撒布されているのを認めた。また、本“微生物”の存在しているマウスの腹水を生理的食塩水で稀釈した後、0.1ml宛を6匹の健康マウスの皮下、脳内、静脈内に注射したが、1ヶ月以上を経過しても1匹も死亡するものがなく、接種前と変らぬ元気であった。これらのことから、本“微生物”の病原性は、無いか或いは有るにしても極めて軽微であろうと推測され、通常、共棲的に存在すると思われるが、偶然中枢神経のような敏感な組織細胞に寄生した場合には病原性が発揮されるのかも知れない。

考 察 並 び に 要 約

実験動物の自然感染症に関する報告は、わが国においても古くから多数の詳細な研究がなされ、その原因として種々の微生物が分離報告されている。すなわち、マウスの細菌性疾患からは、*Salmonella* 群のうち、*Sal. typhi-murium* (柳沢1918 ; 島田1936), *Sal. enteritidis* (韓1930 ; 添川, 外1936)が分離され、*Corynebacterium* 群のうちでは、*Coryn. kutscheri* (福見, 外1951 ; 上野, 外1959) *Coryn. murisepticum* (財前外1952), *Coryn. pseudopyogenes* (佐藤外1953), *Streptococcus* では *Str. haemolyticus* (平尾1939 ; 伊藤等1951), *Str. non-haemolyticus* (添川外 1954), また、*Streptobacillus moniliformis* (鈴木1953), *Pasteurella multocida* (伊藤等 1952) が分離されている。*Pleuropneumonia-like organisms* (PPLO)の分離は Endo et al(1947), 草野 (1951) の報告がある。原虫類では、小池等 (1960)

によって、マウスから *Encephalitozoon* を検出したという報告がある。わが国で報告されたラットの細菌性疾患については、添川, 大坪 (1936) によって、斃死ラットからチャコ型ゲルトネル菌を分離したという報告があり、伊藤等 (1960) は PPLO によるラットの一疾患について報告している。ハムスターの疾病については詳しく知られてない。野兎からは井上 (1960) が *Sal. enteritidis* を報告している他、野兎病は別としてもウサギ及びモルモットの疾病はこれまでも多数報告されているが、本論文とは直接の関連性に乏しいと考えるので省略した。

なお、以上の文献の引用については、安藤, 田嶋編 : 「動物実験法」(1956) から多大の便益を受けたことを感謝する。

前述のように、実験動物が微生物の侵襲を受けて病状を呈した場合、この原因を究明して、病原と見做される微生物を分離したという報告は多数みられるが、これに反して、外観的には全く健康状態でありながら、体内に微生物の寄生を許している不顕性感染のような場合は、この問題に関する詳細な報告はその数は極めて寡ない。

今回、われわれは、外観的に全く健康な純系マウス260匹の腹水を検査した結果、214匹(82%)から細胞寄生微生物様のものを見た。同様に、ラット7匹中6匹(86%), ハムスター3匹中3匹(100%)から同一の“微生物”を確認した。この“微生物”の塊団を見ると、形態上 *Toxoplasma gondii*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Pneumocystis carinii* の pseudocyst と似ていないこともないし、*Micrococcus batrachorum* (YAKIMOFF, 1930)の集団とも類似しているので文献上これらと比較鑑別した。また、これが白血球の顆粒か否かという問題もあるが、10%牛血清加 Hanks 液内で増殖したこと、白血球の顆粒よりも大きく、球菌状を呈し、細胞外に游出したものも認められ、細胞膜や核の存在が不明確で、形、大きさが不規則であること、すべてのマウスに必ず存在するとも思われず、マウスからマウスへの感染試験では成功し、1ヶ月を経過しても消失せず、僅かながら増殖が認められたこと等から考えて、白血球の顆粒であるとは容易に除去されると思われる。

1. *Toxoplasma gondii* との鑑別

NICOLLE & MANCEUX (1909) によって発見された *Toxoplasma gondii* は、半月形のやや大きな原虫であって、通常、マウスの腹水中では細胞外に遊離の trophozoite-form の状態で見出され、pseudocyst の形を生じないのが普通である。ギムザ染色すると、核は泡沫

状赤色を呈し、原形質は青色顆粒状に染まって見え、Sabin-Feldman's dye test 陽性、病原性も可成り強いとされている。われわれの検出した“微生物”は、前者よりも小さく(1.0~2.5 μ)、マウス腹水の細胞に集簇しており、細胞外に遊離したものはごく稀にしか見られず、ギムザ染色すれば、核、原形質の区別は見られず、Sabin-Feldman's dyetest も陰性であって、病原性も無いか或いは有るにしても極めて軽微であろうと考えられ、また、個体が小球状を呈している。

2. *Encephalitozoon cuniculi* との鑑別

Encephalitozoon は、最切、WRIGHT & CRAIGHEAD (1922) に依り幼若家兎の麻痺性疾患の病原体として記載されて以来、数種類の鳥類、哺乳類に自然感染のあることが報告されている。本原虫は形態、臨床症状、分布の上で、前記 *Toxoplasma* と極めて類似した原虫であり、このため研究の初期においては、両者を混同して同種の原虫であると考えた報告 (PINKERTON & WEINMAN 1940) もみられたほどであるが、現在では、分類学上の位置は未だ確定されていないとは云え、*Toxoplasma* とは別種の原虫であることが判明している。*Encephalitozoon* は *Toxoplasma* よりやや小さく1.5~2.5 μ で、米粒状の原虫で、マウスの腹水細胞内で増殖するが、細胞外に遊離したものはごく稀である。ギムザ染色すれば、虫体の輪郭は明瞭で、原形質は青色又は染色されずに白く抜けてみえ、核は点状赤色又は帯状に2個認められ、宿主細胞の原形質内に、通常、単独又は10~50個存在している。グラム染色は陽性である。マウスの自然感染率は、PERRIN (1943) によれば、Swiss mouse 502頭中5例(1%)に確認したといい、小池、京、飯野(1960)らは、市販雑系マウス20匹の肝、脾を別々に次代マウス20匹に接種して、2代目における腹水出現率は、20匹中3匹(15%)であり、dd系マウスでは40匹中2匹(5%)の自然感染を報告し、*Encephalitozoon* の自然感染率は、少なくとも、10数%には存在する筈であるが、50%を超えるような高率ではないと考えてよいであろうと報告している。これに対して、われわれの検出した“微生物”は、球菌状を呈し、マウスの腹水細胞の原形質内に数個侵入したのものもあるが、通常、細胞に附着して発育増殖したと見做されるものが多く、1個の集塊を構成する“微生物”の数は約100~200個であった。ギムザ染色の状況も、前記の如く核、原形質の区別なく、グラム染色は陰性であった。また、マウスの自然感染率も極めて高く、81%であった。

3. *Pneumocystis carinii* との鑑別

CHAGAS (1909) は、*Trypanosoma cruzi* 感染モルモットの肺に原虫様の微生物が寄生しているのを確認し、彼はこの寄生物が、*T. cruzi* の特殊な発育環における一時期 (schizogony) の形であると考えた。しかしながら、この報告の誤りは、間もなく、DELANOË (1912) によって証明された。彼は、パリ市内の鼠から、CHAGAS の云う微生物と同一のものを発見し、*Trypanosoma* とは全く無関係であること、これは孢子虫類の或る種の原虫の schizogony であるといい、この寄生体を *Pneumocystis carinii* と命名した。この微生物は、組織内で見られる *Leishmania* の形よりも小さく、核分裂によって8核に分れて発育し、後には鞭毛が見られるようになるとも云われ、pseudocyst を作るというが、この *Pneumocystis carinii* に関する研究は極めて少なく、その信頼性も薄いとされている。いづれにもせよ、われわれの検出した“微生物”とは、形態上差異のあることは明瞭である。

4. *Micrococcus batrachorum* との鑑別

YAKIMOFF (1930) は、19匹の蛙 (*Rana viridis*, *Hyla arborea*) のうち13匹の蛙の排泄物から鞭毛虫類の一種である *Trichomonas batrachorum* を分離したが、この原虫の原形質内に、球菌様微生物が寄生しているのを認め、これを *Micrococcus batrachorum* と命名した。彼の報告に依ると、それは直径1.0~1.5 μ の球菌で、不規則な形の集合体を形成し、*T. batrachorum* における自然感染率は1.89%であって、通常、*Trichomonas* の原形質内に3~100個の集団として認められるが、時として、遊離の状態で見られることもある。染色すれば、芽胞、莢膜、鞭毛なく均等に染まってみえる。要するに、YAKIMOFF は以上のことを報告しているが、肝腎の培養性状または生化学的性状については一切触れていない。

われわれの検出した“微生物”は、この *micrococcus batrachorum* と可成り類似しているけれども、この記載が不充分であって、同種と同定することも困難であり、*Trichomonas batrachorum* の代りに用いた *T. vaginalis* への感染実験にも成功せず、これらの点を考慮すると、多分原虫にのみ寄生する微生物とは考えられない。この検出“微生物”は、前記の *Toxoplasma*, *Encephalitozoon* 及び *Pneumocystis* 等の原虫の pseudocyst とは形態上明らかな差異が認められ、培養性状、形態、染色性を考えると、真菌類、リケツチアーとは鑑別できる。結局、この“微生物”は、細菌類のうちの単球菌 *micrococcus* に属するものと考えるのが妥当と思う。しかしながら、他面において、haematoxylin-eosin 染色(-)、PAS

染色(±), Goodpasture 染色(+)及び toluidine blue 染色(+)の結果を考慮すると, 所謂肥肝細胞 (mast cell) の可能性も生じてくるのであって, 現在まだ決定の運びに至っていないが, この問題の解明は今後には課されているけれども, いづれにしても, マウス, ラット, ハムスターなどの腹腔液にこのような球菌様顆粒群が存在していることは, これらの動物の腹腔内注射によって病原菌を検出しようとする時, 被検病原体と錯誤する可能性もあり得ることなので, 今後一層の注意を払わなければならないと考える。

結 語

われわれは, 外観的に健康なマウス, ラット, ハムスター, モルモット及びウサギの腹水にギムザ染色を施して鏡検し, マウス, ラット及びハムスターから, 一種独特の細胞寄生性微生物らしいものを見た。この“微生物”の自然感染は, 意外に高率であって, マウス260匹中214匹 (82%), ラット7匹中6匹 (86%), ハムスター3匹中3匹 (100%) から検出され, 直径1.0~2.5 μ の球菌で腹水内の細胞に集簇寄生して莓実状を呈した。グラム染色は陰性。ギムザ液に好染し, 核と

原形質の区別なく, 諸種培地に好気性並びに嫌気性に発育せず, 例外として, 10%牛血清加 Hanks 液内での slide-culture に増殖を示した。形態上, *Toxoplasma gondii*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Pneumocystis carinii* 等の pseudocyst とは鑑別された。文献を参照すれば, *Micrococcus batrachorum* (sic) YAKIMOFF (1930) に似ているように思われたが, この記載が不充分であって, 同種と同定することも困難なので, 一応, “*Micrococcus cellulipetalis*” と名付けておいたが, 他面に於いて, haematoxylin-eosin 染色(-), PAS 染色(±), Goodpasture 染色(+), toluidine blue 染色(+)を試みると, 所謂肥肝細胞 (mast cell or mastocyte) の可能性も高いのであって, 現在決定の運びに至っていない。しかし, いづれにしても, マウス, ラット, ハムスターなどの腹腔内注射によって病原体を検出しようとする時, 被検病原体と錯誤する可能性がないではないので, 慎重な注意を要すると思われる。

“肥肝細胞”の検査については, 本学医学部第二病理教室の西森一正助教授の御支援を蒙ったので, ここに明記して謝意を表する。

参 考 文 献

- 1) 安藤洪次, 田嶋嘉雄: 動物実験法. 東京, 1956.
- 2) Chagas, C.: Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus des *Schizo-trypanum cruzi*, n. gen., Erreger einer neuen Krankheit des Menschen. Mem. Inst. O. Cruz, 1:159, 1909. cit. by Knowles, R. (1928).
- 3) Delanoé, p.: Sur les rapports des kystes de Carini du poumon des rats avec le *Trypanosoma lewisi*. C. R. Acad. Sci. 155:658, 1912. cit. by Knowles, R. (1928).
- 4) Endo, M., Homma, U. et Kusano, N.: Sur une souche des microbes du groupe de la peripneumonie isolée de la pneumonie spontanée des souris. Japan. J. Exp. Med., 21:187, 1951. cit. by Ando, K. et al. (1956).
- 5) 福見秀雄, 砂川澄子: *Corynebacterium kutscheri* について. 伝研, 予研集団会, 1951. cit. by Ando, K. et al. (1956).
- 6) 平尾良明: マウスにおける流行性疾患より分離せる溶血性連鎖球菌に就いて. 朝鮮獣医畜産学会報, 7:17, 1939. cit. by Ando, K. et al. (1956).
- 7) 井上千代子: 野兎から分離した *Salmonella enteritidis* の1株について. 長崎大学風土病紀要, 2(4):243-247, 1960.
- 8) 猪木正三, 永井 光, 高田季久, 北浦敏行: 赤痢 Amoeba の培養に関する研究. (1) 余等の所謂全血加培地. 大阪大学医学誌, 2:71, 1950.
- 9) 伊藤昭吾, 今泉 清, 田中利男, 田嶋嘉雄: マウスの溶連菌症について. 日本獣医学雑誌 (学会号), 13:352, 1951.
- 10) 伊藤昭吾, 田中利男: 市販マウスの菌検索, 実験動物集報, 1:27, 1952.
- 11) 伊藤昭吾, 今泉 清, 田嶋嘉雄: Pleuropneumonia-like organisms (PPLO) によるラットの一疾患について. 実験動物, 9:25, 1960.
- 12) 韓 耀武: 死菌免疫マウス群に偶然勃発せるゲルトネル菌の爆発性流行に就て. 細菌学雑誌, 486:495,

1936. cit. by Ando, K. et al. (1956).
- 13) 草野信男: *Pleuroneumonia* 群の微生物によるマウスの特発性肺炎の病理, 日本病理学会会誌, 40 (総会号): 249, 1951. cit. by Ando, K. et al. (1956).
- 14) Knowles, R.: An introduction to medical protozoology. Calcutta, 1928.
- 15) 小池保, 京吉美, 飯野洸朗: マウスの *Encephalitozoon* 自然感染, 日本寄生虫学雑誌, 9: 129, 1960.
- 16) Nicolle, C. & Manceaux, L.: Sur une infection á corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. Compt. Rend. Acad. Sci., 147:763, 1908. cit. by Knowles, R. (1928).
- 17) 松尾幸子: *Trichomonas vaginalis* の無菌培養について. 日本寄生虫学会南九州支部大会 (1962年11月4日) 口演発表
- 18) Pinkerton, H. & Weinman, D.: *Toxoplasma* infection in man. Arch. Path., 30: 374, 1940.
- 19) Perrin, T. L.: *Toxoplasma* and *Encephalitozoon* in spontaneous and in experimental infections of animals. Arch. Path., 36:568, 1943.
- 20) Sabin, A. B. & Feldman, A. H.: Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). Science, 108:660, 1948.
- 21) 佐藤卯三郎, 藤江昇, 小池和明, 成田亮一, 阿部尚人: 実験小動物より分離せる *Corynebacterium pseudopyogenes* について. 日本細菌学雑誌, 8: 221, 1953.
- 22) 島田久治: マウス間における鼠チフスの自然爆発性流行に就て, 日本細菌学雑誌, 490: 725, 1936.
- 23) 鈴木敏雄: *Streptobacillus moniliformis* に関する研究. 第1報 *Streptobacillus moniliformis* の分離と性状について, 日本細菌学雑誌, 8: 261, 1953.
- 24) 添川正夫, 大坪太郎: 斃死白色ラッテ並にマウスの心血より分離せるチャコ型ゲルトネル菌及び其自然凝集性菌株について. 附自然に分離せるバクテリオファージについて日本細菌学雑誌 (490号), 683, 1936. cit by Ando, K. et al. (1956)
- 25) 添川正夫, 宮手多助, 今泉清: マウスから分離された *Streptococcus non-haemolyticus* について, 日本細菌学雑誌, 9: 223, 1954.
- 26) 上野一恵, 鈴木祥一郎, 井上幸平, 高木哲郎, 一の瀬弘: マウスの肝濃瘍より分離した *Corynebacterium kutscheri*, 実験動物, 8: 158, 1959.
- 27) Wright, J. H. & Craighead, E. M.: Infectious motor paralysis in young rabbits. J. Exp. Med. 36:135, 1922.
- 28) Yakimoff, W. L.: Zur Frage über Parasiten bei Protozoa. Arch. Protistenk., 72:135, 1930.
- 29) 柳沢賛治: モルモット及びマウス間に流行せる鼠チフス菌の一菌型に就て. 細菌学雑誌, 274: 433, 1918. cit. by Ando, K. et al. (1956).
- 30) 財前旭夫, 松沢八郎, 黒田定男: マウスの敗血症より分離せる *Corynebacterium murisepticum* について. 日本獣医学雑誌, 14: 311, 1952.

Summary

The microbion-like granules in intra- or pericellular cluster, making a strawberry-like shape, in the Giemsa-stained peritoneal fluid of laboratory animals were accidentally found in and around the lymphocytes. The granule was 1.0 to 2.5 μ in diameter. The cluster of them, each consisting of 100 to 200 coccus-like granules, was 18 to 25 μ in diameter and one or two to several tens in number in each smear. The granule was Gram-negative. There were the intra- or extracellular subjects small in number too. Examined animals were wholly healthy in appearance. The incidence rate of them was 82 per cent (214/260) in mouse, 86 per cent (6/7) in rat, 100 per cent (3/3) in hamster. Rabbit and guinea-pig were free from the granule.

Aerobic and anaerobic cultures showed no growth in or on several media, with the exception that a growth of coccus-like granules in cluster, without association of host cells, was shown on slide culture in Hanks' solution with 10 per cent bovine serum. The cluster was distinguished morphologically from the pseudocysts of *Toxoplasma gondii*, *En-*

cephalitozoon cuniculi and *Pneumocystis carinii*, as well as *Fungus* and *Rickettsia*. It bears some resemblance to *Micrococcus batrachorum* (sic) YAKIMOFF 1930, but the description of his report was not complete enough to identify the both as the same organism. Thus, if it were one of microbes, the previous name for it would be *Micrococcus cellulipetalis*. On the other hand, there is a possibility that it might be a so-called mast cell or mastocyte. But, strange to say, only coccus-like granules showed a luxuriant growth in Hanks' solution, being freed from host cells.

In either case, we must pay attention to the fact that there is such a subject liable to be mistaken for some of intraperitoneally inoculated germs in these laboratory animals.

(Authors)

Received for publication November 30, 1962.

Fig. 1

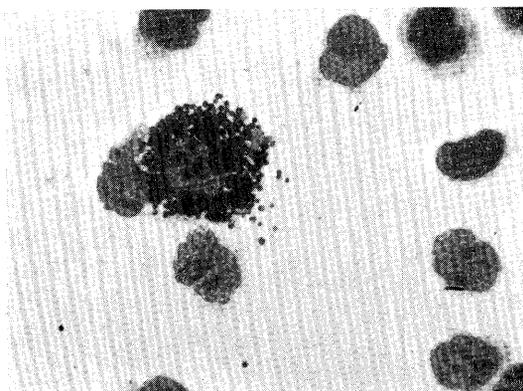


Fig. 2

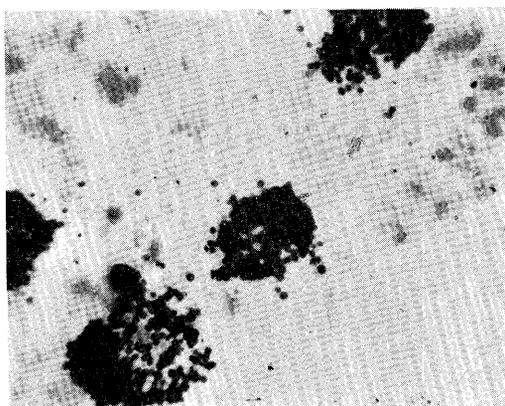


Fig. 3

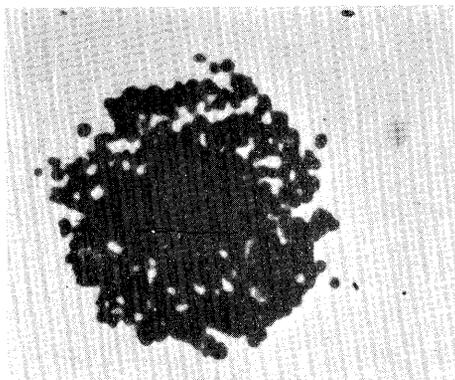


Fig. 4

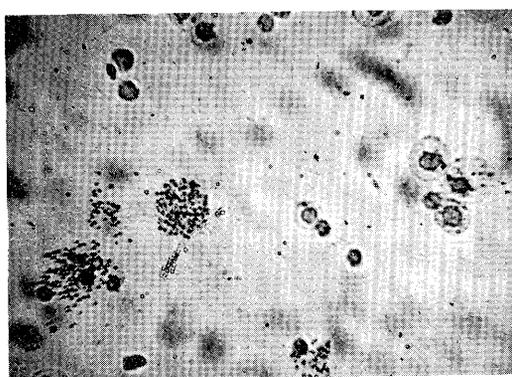


Fig. 5

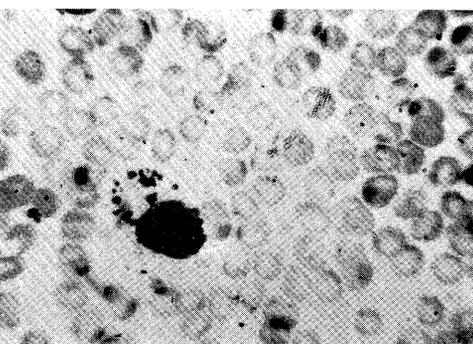


Fig. 6

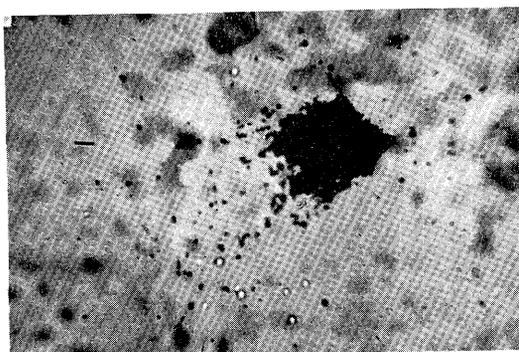


Fig. 7

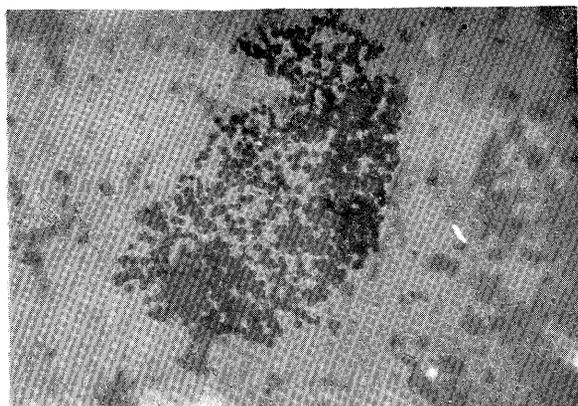


Fig. 1 マウスの腹腔液に見られた球菌様の顆粒群.
ギムザ染色

Fig. 2 同 上

Fig. 3 上記の拡大

Fig. 4 マウスの腹腔液の生体染色. メチレン青染色

Fig. 5 マウスの肺に見られた顆粒群

Fig. 6 マウスの脳に見られた顆粒群

Fig. 7 10%牛血清加 Hanks 液内 slide culture における増殖