



Title	走査型電子顕微鏡によるTrypanosoma cruziの表層構造と線維芽細胞への侵入過程の観察
Author(s)	Pongpan, Kongtong
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31774">https://hdl.handle.net/11094/31774</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	Pongpan Kongtong
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3806 号
学位授与の日付	昭和52年2月3日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学 位 論 文 題 目	走査型電子顕微鏡による <i>Trypanosoma cruzi</i> の表層構造と 線維芽細胞への侵入過程の観察
論文審査委員	(主査) 教 授 中林 敏夫 (副査) 教 授 伊藤利根太郎 教 授 深井孝之助

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

*Trypanosoma cruzi*はシャーガス病の病原体であるが、この原虫はその生活環の中で3型すなわちtrypomastigote, epimastigote, およびamastigoteをもち、これらは形態的に相違を示すだけでなく、宿主細胞内侵入性についても大きな違いを示す。*T. cruzi*の微細構造に関する研究は従来、透過型電子顕微鏡によってなされており走査型電子顕微鏡を用いた研究は未だ行なわれていない。そこで本研究は走査型電子顕微鏡によって *T. cruzi* の trypomastigote と epimastigote の表面構造を比較観察し、更に原虫の培養線維芽細胞への侵入過程を明らかにすることを目的として行った。

### 〔方法ならびに成績〕

#### 1. 原虫の表層構造の観察

*T. cruzi* の trypomastigote は感染マウスの血液または腹水および感染 HeLa 細胞から、また epimastigote または modified monophasic medium から、それぞれ採取した。原虫は洗滌後、0.1 M 磷酸緩衝液 (pH. 7.4) 中で2%グルタルアルデヒドによる固定を行い更に、1%四酸化オスミウムで1時間、2重固定を行った。その後、標品は上昇アルコール系列によって脱水し、ついで自然乾燥或は日立臨界点乾燥器で乾燥させ、最後に炭素および金で蒸着し、日立HSM-2B走査型電子顕微鏡で観察した。観察の結果 trypomastigote および epimastigote には2つの型がみられ、1つは比較的小さな丸みを帯びた短厚型で、他は紡錘状を呈する細長型である。HeLa細胞から採取した trypomastigote では前者が多く monophasic medium から採取した epimastigote では後者が多かった。trypomastigote では虫体の後端近くに比較的大きな kinetoplast が明瞭に認められ、虫体表面には、ら

旋状に走る波動膜の他に、体軸に平行して走行する線状隆起が観察された。また短厚型 *trypomastigote* の中には鞭毛末端部にこぶ状構造を示すものがあった。 *epimastigote* では kinetoplast は分裂時のみ、明瞭に観察され、また虫体表面の線状隆起は *trypomastigote* にみられるものとは異なり体軸をらせん状にとり巻くように走向していた。 *trypomastigote* にみられた鞭毛末端部のこぶ状構造は *epimastigote* では細長型にのみ認められた。 *epimastigote* の後端部は先き細り状になっており波動膜は不明瞭なものが多く、 *trypomastigote* にみられるものに比べて短かった。

## 2. 原虫の線維芽細胞への侵入過程の観察

培養 2 日後の Balb-C 線維芽細胞に *trypomastigote* または *epimastigote* を含む培養液を加え、ひき続き、37°C で培養後、経時的に培養基中のカバーグラスをとり出し、光学顕微鏡、および走査型電子顕微鏡の標品とした。後者の処理方法ならびに標品の観察方法は、実験 1 と同じである。 *trypomastigote* の細胞内への侵入は 2 時間以内に開始され、原虫は、活発な鞭毛運動によって鞭毛先端部から侵入した。時間の経過と共に感染線維芽細胞数が増加し、培養 5～6 時間後には 1 細胞に多数の原虫が侵入している像が見出された。侵入原虫は細胞内でまもなく分裂を始め、培養 3 日後には、分裂像が最も多くみられ、宿主細胞質は新生した *trypomastigote* によって充満されるに至った。感染 2～3 日後には感染線維芽細胞数が最大となった。従って *trypomastigote* を培養細胞に加えた後、3～7 日後には各種の細胞内発育期の原虫と、原虫増殖の結果として破壊された線維芽細胞が多数検出され、細胞から放出された *trypomastigote* が再び新しい細胞へ侵入し始めている像も見出された。これらのことから、 *trypomastigote* を培養細胞に加えた場合には細胞内で原虫が増殖する期間は大体 3 日間前後であると推定された。一方 *epimastigote* を培養細胞に加えた場合にはやはり、日数の経過と共に感染細胞数が増加していくが、その程度は極めて遅く、かつ少数であることがわかった。

### 〔総括〕

走査型電子顕微鏡によって *Trypanosoma cruzi* の *trypomastigote* と *epimastigote* の表層構造を観察し、これらの原虫の形態的相違点を一層明瞭にすることができた。更にこの成績をもとにして、これらの原虫の線維芽細胞への侵入過程を詳細に観察し、次のような成績を得た。

1. *trypomastigote* と *epimastigote* は虫体後端部の形態および kinetoplast の位置により、容易に区別し得たが、更に虫体表層部の線状隆起が異なり、前者では体縦軸に平行に、後者ではらせん状に走向することが認められた。

2. *trypomastigote* の短厚型および *epimastigote* の細長型の鞭毛末端部にこぶ状構造がみられた。

3. *trypomastigote* は鞭毛運動によって 2 時間以内に培養細胞へ侵入することがわかった。5 日後には原虫の細胞内増殖の結果、破壊された線維芽細胞数が最高となり、細胞から放出された *trypomastigote* が再び新しい細胞へ侵入し始めている像もみられた。

4. *epimastigote* を培養細胞に加えた場合には感染細胞の出現は極めて遅く、かつ少数であり、この原虫が細胞侵入性を持つか否かについて未だ明確な結論を導き得ない。

## 論文の審査結果の要旨

*Trypanosoma cruzi*はその生活環境の中で形態的变化を示し、それとともに宿主細胞内侵入性に違いを生じる。従来、この原虫の微細構造は、主として透過型電子顕微鏡によって観察されてきた。そこで著者は、*T. cruzi*が示す3つの形態の中、trypomastigoteとepimastigoteの2型について、その微細構造ならびにこれらの原虫の培養細胞内侵入性を走査型電子顕微鏡によって検討した。その結果、これら2型の原虫はその表層構造によって容易に区別しうることを、またtrypomastigoteは鞭毛側から培養線維芽細胞に侵入し、2時間以内に原虫が細胞内に証明され、その後、原虫は細胞内型として増殖することなどを明らかにした。この論文はtrypomastigoteとepimastigoteの形態、特に、表層微細構造の相違点を明確にするとともにtrypomastigoteの細胞内侵入過程を走査型電子顕微鏡で明示したものとして、評価されるべきものと思う。