口腔 Spirochaeta の形態に関する螢光顕微鏡的研究

東京歯科大学微生物学教室(主任 米沢和一教授)

神 里 兵 一 HEIICHI KAMISATO

(昭和 35 年1月 11 日受付)

目 次

- I 緒 言
- II 口腔 Spirochaeta の分類命名と口 腔内出現率
- Ⅲ 実験材料と実験方法
- IV 螢光顕微鏡装置と螢光色素
- V 口腔 Spirochaeta の旋転の形態
 - 1. 文献の概要
 - 2. 螢光顕微鏡標本の作り方
 - 3. 計測方法
 - 4. 計測成績
 - 5. 小 括

I 緒 言

口腔 Spirochaeta は、ヒトならびに各種の動物の口腔内に常在し、通常は病原性を示さないが、Plaut (1894)⁽¹⁾が、始めて記載して一般に信じられるようになつた所の Fusospirochetal symbiotic disease⁽²⁾という語が示すように、口腔の壊疽性、潰瘍性疾患や歯槽膿漏症などの罹患部位から極めて多数に検出され、紡錘菌とともに、これら疾患の原因とされている。しかし病原性の有無、あるいは病原性獲得の機転については、多数の研究があるにもかかわらず、現在においても、いまだに、その確証はない状態である。

また、口腔 Spirochaeta の命名ならびに分類については、Cohn (1875)(3)の Spirochaeta buccalis、Koch (1877)(4)の Spirochaeta dentium を初めとして、Miller (1892)(5)、Hoffmann & Prowazek (1906)(6)、Gerber (1910)(7)、Dobell (1912)(8)、Noguchi (1918)(9)、Hoffmann (1920)(10)らの記載があるが、一部を除いては塗抹標本のみに就ての分類で、可成りの混乱を免れ得ず、その分類同定は、純培養による解決以外にはないと考えられるようになつた。

そこで、Mühlens (1906)(11)らを初めとする口腔

- VI 口腔 Spirochaeta の形態と運動に 及ぼす薬物の影響
 - 1. 女献の概要
 - 2. 実験方法
 - 3. 実験成績
- ▼II 病原 Spirochaeta と口腔 Spirochaeta の旋転形態の比較
 - 付), 口腔 Spirochaeta の鞭毛様構造 物について
- WⅢ 総括と結論 文 献

Spirochaeta の培養に関する数多くの研究がなされて来たが、その成績は研究者によりまちまちで、幾多先進の努力にもかかわらず、現在までの培養法では、純培養により分類同定することは、不可能であるといつても過言ではない。

一方、当教室においては、病原 Spirochaeta について、田辺⁽¹²⁾は Treponeme pallidum を、鈴木⁽¹³⁾は Borrelia duttonii を、依田⁽¹⁴⁾は Leptospira icterohaemorrhagiae を螢光顕微鏡下に観察して、その旋転の様式を統計的に詳細に追求した。また市川⁽¹⁵⁾は鼠咬症病原の Spirillum minus を同じく螢光顕微鏡的に観察すると同時に、 Spirillum minus と前記 3 種の病原 Spirochaeta の形態を数値的に比較検討し、4 者の形態に、それぞれの特徴のあることを発表した。

わたしは、口腔 Spirochaeta の各種にも、数値 的にそれぞれの形態的特徴があるか否かを検討し、 現在混乱している口腔 Spirochaeta の分類に資す る目的で、これらを螢光顕微鏡下に観察し、かつ統 計的に処理して、幾多の知見を得たので、ここに報 告する。

II 口腔 Spirochaeta の分類命名と口腔内出現率

口腔 Spirochaeta は Cohn(3) の Spirochaeta

buccalis, Koch⁽⁴⁾の Spirochaeta dentium 以来, 分類命名に関する幾多の記載があるが, その主なも のを総括すれば表 1 の如くになる。

てれらを通覧すれば、Cohn、Koch が1種を記載した揺籃時代から、Miller⁽⁵⁾が2種を認めて次第に分類は細分し複雑化して混乱が起つた。Noguchi (1918)⁽⁹⁾が Treponema buccale、Treponema vincentii、Treponema macrodentium、Treponema microdentium、Treponema mucosum、Leptospira dentium の6種に分類整理したもの(後に Bergey⁽²⁹⁾は Treponema buccale、Trepo-

nema vincentii をそれぞれ、Borrelia buccalis、Borrelia vincentii に改めた)は、今日に至つても一般に用いられ、その声価を失わないのは偉大な業績と言つて差支えない。また、Hoffmann(1920) (10)が Grobe Form、Mittelfom、Feine Form の3つに分類した記載も、一面において当を得たものと言えるが、さらに、これら諸学者の意見には、大別して2つの主流がある様に見受けられる。すなわち、Miller(5)にはじまる Gerber(7)、Dobell(8)、Noguchi(9)らの細分命名法と、Hoffmann(10)らの総括分類命名法とである。

第 1 表 口腔 Spirochaeta の分類一覧表 (神里 調)

A control of		•	
Miller (1892) ?	Gerber (1910)	Dobell (1912)	Noguchi (1918)
Spirochaeta buccalis	Spirochaeta undulata Spirochaeta inaequalis		Treponema buccale
	Spirochaeta tenuis	,	Treponema vincentii
	Spirochaeta recta	Treponema intermedia	
Spirochaeta dentium	Spirochaeta dentium	Treponema dentium	Treponema microdentium
	Spirochaeta denticola	Treponema dentium	Treponema mucosum
0	<u> </u>	0	Leptospira dentium
Miller (1892)?	Hoffmann & Prowazek (1906)	Hoffmann (1920)	
Spirochaeta buccalis	Spirochaeta buccalis	Grobe Sp. crassa Sp. tenuis Sp. inaequalis	
Spirochaeta dentium	Spirochaeta media oris	Mittelform Sp. media oris	
Opirochaeta delitram	0	Feine Sp. orthodonts Sp. skoliodon	ta
	0	Sp. trimerodo	nta (Leptospira dentium)
Noguchi (1918)	高 桜 (1940)	堀 口 (1950)	神 里 (1959)
Treponema buccale Treponema vincentii	Borrelia 属	Borrelia 型 粗大深波型	Borrelia 型
Treponema macrodentium Treponema microdentium Treponema mucosum		Trepone- ma型 大型 小型 不正波型	Treponema 型
Leptospira dentium	Leptospira 属	Leptospira 平坦彎曲型	Leptospira 型
. 0	0	0	Spirillum 型 (?)

注: 歴史的には Cohn (1875) の Spirochaeta buccalis, Koch (1877) の Spirochaeta dentium, Trevisan (1879) の Spirochaeta cohnii, Arndt (1880) の Spirochaeta denticola などがある。

一方,純培養による分類は、細菌学の正道を行くもので、これに対する Mühlens (1906)⁽¹¹⁾, Schmamine (1912)⁽¹⁶⁾, Noguchi (1912)⁽⁹⁾, Ozaki (1915), Fortner (1928)⁽¹⁸⁾, 岡部 (1934)⁽¹⁹⁾, 小谷 (1939)⁽²⁰⁾, Hampp (1943)⁽²¹⁾ら極めて多数の研究者の報告があるが、その成績は全くまちまちで一致せず、現在培養出来たと言われるものは Borrelia 型とTreponema 型および Leptospira 型⁽³³⁾の一部の

ようであり、いまだに、純培養の方法に関する研究がなされている次第で、分類命名までに発展するに至つていない。なお、 $Berger^{(22)}$ の著書に記載された口腔 Spirochaeta の培養に関する研究の一覧表を表2に掲げる。

しかし,今日の螢光顕微鏡,さらに電子顕微鏡時代を経て,純培養が完成されると共に真の分類命名が確立される日も遠い将来ではないと思う。

第 2 表 随伴菌からの口腔 Spirochaeta 分離培養法 (Berger⁽²²⁾による)

術	ī	艾	創 始 者	摘 要
振 盪	培	養	Mühlens (1906), Paul (1909), Schmamine (1912), Wichelheusen (1942)	Veillon による
穿刺	培	養	Noguchi (1911), Ozaki (1915) Kritschewsky & Séguin (1918), Smith (1927), Ecker & Weed (1931), Vinzent & Daufresne (1934), Okabe (1936), Séguin & Vincent (1936), Klein (1943)	試験管、あるいは深いシャーレを用いる
Lochte	echnik		Rosebury & Foley (1941) Hammp (1943)	Wandung des Loches als Filter
培 地 表	面 発	育	Arnheim (1914), Reiter (1925)	濾過作用は上記の如し
ろうそく状 に よ る	濾過器通	通過育	Noguchi (1911), Wichelhausen & Wichelhausen (1942)	Berkefeld 氏濾過器; Chamberland L_3 , (L_5)
濾紙通過	こよる発	善育	Lobinson (1923), Kast & Kolmer (1940)	
マラヒット 培	トグリー	- ン 地	Kritschewasky & Séguin (1920) Séguin & Vinzent (1938)	各試験管に 2% 色素溶液を1, 2滴
ゲンチアナ 培	ビオレッ	ット地	Proca (1912)	終末濃度 0.01%
遠	七	法	Ecker & Weed (1931)	Überstand Treponema を用
U 字 管	接種	法	Kast& Kolmer (1940)	接種しない側の脚部中にスピ ロヘータは移動する
持続的	勺 培	養	Noguchi (1912), Séguin & Vinzent (1938) Kast & Kolmer (1940)	2~5 週間
動 物	通	過	Smith (1927), Proske & Sayers (1934), Wichelhausen & Wichelhausen (1942), Rosebury 他 (1951)	ガス形成菌を除くためにモル モットに接種する

わたしが、歯垢の螢光顕微鏡標本で観察した結果から、Noguchi⁽⁹⁾、Hoffmann⁽¹⁰⁾、Berger⁽²²⁾ および教室同人の田辺、鈴木、依田、市川らの記載を考慮に入れて、口腔 Spirochaeta を Borrelia 型、Treponema 型、Leptospira 型、特殊型としての Spirillum 型の4型に分類する事を提唱したい。また、以下述べる実験成績も、この分類に従うこととした。

口腔 Spirochaeta の口腔内出現率については、Gerber (1910)⁽⁷⁾は、健康歯頸部から 20%、扁桃から 25%、齲歯から 100%、病的口蓋扁桃から 30% 証明したと述べ、岡部 (1934)⁽¹⁹⁾は健康歯頸部から Buccalis 型を 100%、Dentium 型を 94% に認め、常態時の口蓋扁桃から Dentium 型 100%、Buccalis 型を 94% に検出し、疾患時の口蓋扁桃からでは Buccalis 型 95%、Dentium 型 67% と、Dentium 型が減少することを報告している。

また、諸橋 (1928)⁽²³⁾、森岡 (1956)⁽²⁴⁾、緒方・ 渡辺 (1959)⁽²⁵⁾らは、歯の存否は口腔 Spirochaeta の出現率に重要な関係があるとし、乳歯萠出前と、全歯喪失後には口腔 Spirochaeta の検出率の極めて低いことを指摘している。さらに、渡辺は、有歯口腔の Spirochaeta の検出率は100%であり、その常在機転として、歯頸部、歯齦嚢、歯間空隙には必然的に食物残渣の停滞ならびに歯垢の付着が起り、空気の流通も阻害され、好気性菌の発育に伴つて適度の嫌気度が形成されて嫌気性菌増殖の好条件となることを挙げている。

わたしは、口腔 Spirochaeta の出現率を調査する目的で、本学学生の口腔細菌学実習の際、学生135名(主として男子)について、各自に歯垢の塗抹標本を作製させ、Giemsa 染色 (Methanol で3分間固定後、蒸留水1ccに1滴の割合に希釈したGiemsa 液で37°C30分染色)を行わせたものを、1標本につき10視野ずつ観察した。その結果によれば、口腔 Spirochaeta の検出率は表3の如くであつた。すなわち、135例中47例(34.8%)にSpirochaetaを認めた。この成績は、わたし自身が

行つた後述の検出率の成績(100%)に比較すれば、 可成り劣るものであるが、 こ の こ とは材料の選出 広範囲にわたつており,ラセン形を屢々示す紡錘菌, 法,固定法,染色法がいかに口腔 Spirochaeta の 検出に大きな影響を及ぼすかを物語るものであろ

う。なお口腔内におけるラセン状微生物は、極めて あるいは Leptotrichia などとの詳細な鑑別はここ では割愛した。

第3表 本学学生よりの口腔 Spirochaeta の検出率 (学生自家実験)

		Spir	rochaeta Ø	認められた	もの	Spirochaeta の認められ	計
		+	++	##	 	なかつたもの	, F T
例	数	20	12	3	12	88	135
9	6	14.8 (42.6)	8.9 (25.5)	2.2 (6.4)	8.9 (25.5)	65.2	100.0

注 十: 2条以下のもの(1視野中の平均)

十: 3~6条 ₩: 7~9条

₩: 10条以上のもの

又括弧内は Spirodhaeta を認めたもの 47 例についての百分率

III 実験材料と実験方法

1. 実験材料

わたしの診療所の歯科部を訪れた成人患者90名 の歯垢を採取し、暗視野装置で検査した結果、ほと んど 100% に検出し得たので、そのうちの男女それ ぞれ 20 名計 40 名を実験に供した。被験者 40 名中 2名は齲食と高度の歯槽膿漏症を合併しており、2 名は齲食と知歯周囲炎に罹患し、他の36名は齲食を 有する患者であつた。その詳細は後日発表する。

2. 実験方法

採取した歯垢を滅菌小試験管内の滅菌蒸留水 1 cc に希釈して、均等な浮遊液を作り、その1白金耳量 を,のせガラス上に,白金耳が触れぬよう極めて静 かに拡げて塗抹し、自然乾燥させる。ついで後述の 方法で、螢光顕微鏡標本を作製し、実験に供した。

IV 螢光顕微鏡装置と螢光色素

螢光顕微鏡は(26)(27), 可検物に紫外線またはそれ に近い短波長の光線(紫色および青色光線)を照射 して, それによつて励起される可検物の螢光を拡大 観察する装置である。この装置は光源, 集光装置, 光源フィルター, 顕微鏡および接眼フィルターより なる。

わたしの使用した螢光顕微鏡装置は光源として Philips の超高圧水銀灯 (CS 150 W) を装置し、熱 線吸収フィルターおよび BG12フィルターで励起光

線を得るように設計された Leitz 製 Dialux であ る。集光器は N.A.:1.4 であり, また対物 lens と して Leitz 製のものは盲螢光が強いので Olympus 製 Semiapochromat Fl 100を使用し、接眼 lens は, Leitz 製 Periplan (×8) である。 ただし接眼 filter は、接眼 lens の下部にねじ込み式に取り付 けて使用する構造になつている Leitz 製 filter が, 盲螢光が強いので、イワキ FY3, FY4, FY5 を適 宜使用した。口腔 Spirochaeta 観察用の螢光色素 として、片山(28)は Auramin O, Rivanol, Acridingelb, Thioflavin S, Trypaflavin, Al-morin, Acridinorange その他約20種を使用しているが, わたしは、 この中で最も普遍的に用いられている Auramin O を使用した。

本色素の構造式は次の如きものである。(保土ケ 谷化学製)

V 口腔 Spirochaeta の旋転の形態

1. 文献の概要

従来報告された資料にもとづいて口腔 Spirochaeta の形態その他の特徴について記載すれば次 の通りである。

(1) Borrelia buccalis (Steinberg 1862)⁽²⁹⁾

体長 $7\sim20~\mu$, 体幅 $0.4\sim0.9~\mu$ で口腔 Spirochaeta 中最も大きい。運動は不活発で、蛇行、回転、屈曲運動をする。 Anilin 色素でも染色され、 Giemsa 染色では紫色に染まる。真の純培養は未だ成功していない。暗視野装置下では二重輪郭(Double contour)を示し、Borrelia vincentii との重要な鑑別点となつている。

(2) Borrelia vincentii (Blanchard 1906) $^{(20)}$ 体長 $8\sim12~\mu$, 体幅 $0.3~\mu$, 旋転は不視則で, 旋転長は長く,旋転高は低い。旋転数は $3\sim8$, 運動の速度が早く, Borrelia 属に特徴のある伸縮運動をする。普通 Anilin 色素で染まる点も一般 Borrelia に共通する。暗視野で二重輪郭を示さない。 Hampp $(1947)^{(21)}$ はその純培養に成功したと報告している。

(3) Treponema macrodentium

Treponema microdentium とともに Noguchi $^{(9)}$ が純培養したもので、体長 $4\sim15~\mu$ 、体幅 $0.7\sim1.0~\mu$ 、旋転数 $2\sim8$ で、培養上腐敗臭がない。

(4) Treponema microdentium

1912年 Noguchi⁽⁹⁾が記載したもので、同氏の人工培養所見に従えば、中央部の体幅約 $0.25\,\mu$ で両端に向つて次第に細くなり、先端は尖つている。培養初期には体長は短いが、陳旧培養のものでは、体長約 $8\,\mu$ に達する。平均14の旋転を示すが、Bareliaの旋転に比較して小さく、規則正しく、峻嶮である。Giemsa 染色では淡紅色に染まる。Treponemaに共通の特徴であるコルクの栓抜き様回転運動を行い、前進後退する。両端は時に細い真直な鞭毛様突起を示すことがある。また、同氏の培養所見によれば、管底に新鮮組織片を含む血清水(半凝固寒天)培地の穿刺線から離れて組織片に近くワタ絮状の発育を遂げ、強い腐敗臭を放つとされている。

(5) Treponema mucosum

前2者とともに Noguchi が記載したもので、同 氏によれば、体長 8~12 μ 、体幅 0.25~0.3 μ で、旋 転数は 6~8 である。旋転は、旋転高が高く、規則 正しい。両端は尖つていて、しばしば細い彎曲した 突起を示すことがある。 Giemse 染色で赤染され る。偏性嫌気性であるが、培養により mucin を形 成する。 Treponema micaodentium に似ている が、培養が比較的容易なこと、mucin を作ること、 更に強い腐敗臭を有する点が、異るとしている。 Treponema pallidum とは形態上非常によく似てい るが、Treponema pallidum は明らかに病原性を 示し、培養では mucin を形成せず、また腐敗臭を 有せず,弱い発育を呈する点が異る。

(6) Leptospira dentium

1920年 Hoffmann⁽¹⁰⁾が Feine Form の中で Spirochaeta trimerodonta と記載したもので、後 に氏が Noguchi の分類⁽⁹⁾に従って Leptospira dentium と改めたものである。

Hoffmann は Leptospira dentium を 40% の割合に口腔内に証明し、 Saponin に対して抵抗力があり、他の口腔内微生物の増殖する場合には減少するか、あるいは検出出来なくなると記載している。

Smith $^{(30)}$ (1932) は暗視野鏡下で 100 日以上に亘る長期間標本検索の結果,ヒトとイヌの口腔内にそれぞれわずか 1 例ずつを検出したに過ぎないと述べている。

Perrin (1922)⁽³¹⁾は、歯槽膿漏患者の35%に検出し、山元 (1932)⁽³²⁾は、歯垢ならびに歯槽膿漏の膿汁を暗視野鏡検により151例中に2例 (1.3%)を観察したが、Giemsa染色では50例中1例をも検出出来なかつたと報告している。

また、森⁽³³⁾によれば、暗視野鏡下では、光つた点の連鎖として認められ、両端あるいは一端が必ず鈎状に屈曲し、運動は極めて活発で、横位から直ちに垂直位に移動して光の点として認められる。Giemsa 染色では、赤紫色に染色され、両端あるいは一端が、彎曲しているが、暗視野ほど典型的な鈎状ではない。

また Fontana 法, 今井・日高法などの鍍銀法では黒褐色に染まり、体長 $6\sim13~\mu$ 、体幅 $0.4\sim0.7~\mu$ と記載されている。

(7) 口腔 Spirillum

口腔の Spirillum については、Miller (1889)⁽⁵⁾ が発見し、Mühlens (1909) が純培養に成功した Spirillum sputigenum⁽³⁴⁾、Gins⁽³⁵⁾ が記載している Spirillum buccale Forther と Spirillum buccale Koch が挙げられるが、Spirillum buccale Forther は Forther (1931) が歯髄壊疽の材料から分離し、Spirillum buccale Koch は Gins (1934)が壊疽性虫垂炎の材料から分離して、新種として紹介しているものである。 Gins は嫌気性口腔細菌の培養を系統的に行い、いかなる菌群にも分類出来ないものをとりあげて、Spirillum buccale と名付けた。しかも口腔 Spirochaeta と Spirillum は形態上では全く区別が不可能で、血液平板に容易に嫌気性培養出来るものは、Spirillum に属せしめるという見解を示しているようである。また一方 Macdo-

nald⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾らの口腔 Vibrio に関する新しい意見も ある。

さらに渡辺 (1959)⁽²⁵⁾は、各種動物のうち10例ずつのイヌとネコの口腔から、Spirochaeta buccalis、Spirochaeta dentium に類似するものの他に、イヌに6例、ネコに5例の特殊型として Rattenbiss-Spirorochaeta に類似した Spirochaeta を検出し、この特殊型は Spirochaeta dentium をきらに太く大型にした形態的特徴を持つと述べているが、高桜⁽³⁵⁾、市川⁽¹⁵⁾らの Rattenbiss-Spirochaeta すなわち、Spirillum minus についての計測成績に従えば、Spirillum minus が Spirochaeta dentitm より太いが大型であることは考えられないので、説明の不足と原図が無いためもあつて、いかなる点が類似するのであるか、理解に苦しむところである。

さて、Spirillum sputigenum $^{(34)}$ は、Vibrio 型が基本型であつて、体長 $2.25\,\mu$ 、体幅 $0.39\,\mu$ 、旋転高 $0.42\,\mu$ 、Index $0.51\,\tau$ 、時として Vibrio 型 $2\,$ 個が連接してラセン型を呈するものがあるが、その $1\,$ 個を切り離して見ると Vibrio 型よりも小型であるが、近似の形態を示す。固有運動は歯垢を暗視野鏡下で検した場合は活発であるが、純培養のものはやや不活発である。

以上のことから、口腔内 Spirillum は、形態的には、Spirochaeta より小型のものであると考えた方が妥当ではなかろうか。

口腔 Spirochaeta を螢光顕微鏡下に初めて観察したのは、片山 (1952)(28)である。片山は、口腔 Spirochaeta と各種螢光色素との関係について、詳細に検討した結果、口腔 Spirochaeta 観察用の色素としては、Auramin O、Rivanol、Thioflavin S、Al-morin、Acridinorange が適当であるとしているが、これらは何れも生鮮浮遊標本によるもので、乾燥標本については満足すべき結果が得られなかつたと述べている。しかも同氏は口腔 Spirochae-

ta の形態学的分類については何等触れていない。 しかし、口腔 Spirochaeta の観察には螢光顕微鏡 法が最も優れていることを指摘している。

以上口腔 Spirochaeta の形態その他に関する研 究の概要につき記載したが,始めて形態の統計的研 究をなしたのは、ただ高桜 (1940)⁽³⁶⁾と堀口 (1950) (37)の記載があるのみである。 高桜は 口腔梅毒の診 断の際、Treponema pallidum と鑑別をする必要 上, 口腔 Spirochaeta のうち Treponema 型の みをとり上げ、 Giemsa 染色により、これを大型 Trepeonma dentium と小型 Treponema dentium の2型に分けて計測したものである。そして大型 Treponema dentium 12 Treponema pallidm 12 比べて, 体長と旋転長がやや短く, 旋転高が低く, Index は小さな値を示す。 また小型 Treponema dentium は Treponema pallidum に比べて,体 長と体幅がやや小さく、旋転形態は微小で、 Index は小であつたと述べている。また、堀口は Borrelia 型(粗大深波型), Treponema型(大型, 小型, 不正波形),Leptospira型(平坦彎曲型)の3型に 分けて, 旋転の細部まで計測をおこない, 高桜が, Treponema 型のみについて計測を行なつたものに 比べれば、計測の範囲は広くなつているが、計測値 は算術平均であり、 しかも例数が少い うらみがあ

2. 螢光顕微鏡標本の作り方

螢光顕微鏡標本を作るのに際し、予備実験として行つた固定法と染色液の検討での結果、固定法としては Ruge の変法液(表 4)、染色液は 5% Phenol加 500 倍 Auramin O 溶液で 15 分間染色する方法が最も良いことがわかつた(表 5)。従つて前述の塗抹標本をこの方法により染色した。なお、5% Phenolで Auramin O を希釈する際、あらかじめ Auramin O を少量の無水 Alcoholで溶解せしめれば容易に希釈され、染色性も良くなることを知つた。また、この成績は 20° C 前後で得られたも

第 4 表 固定法の比較 (5% Phenol 加 500 倍 Auramin O で 15 分間染色)

	r),		
標本所見	自然乾燥火炎固定	Ruge 変法 オスミウム酸	メタノール
標本汚染度	# #	- #	土
ハレーション	++ ++	- +	<u>±</u>
菌体の変形度	# #	- +	_ :
菌体の染色性	+ +	# +	+

注 固定時間は, Ruge 変法: 3分, オスミウム酸: 1分, メタノール: 3分

第5表 Auramin Oと Phenol の濃度ならびに染色時間についての検討(菌体の乾燥標本上での)

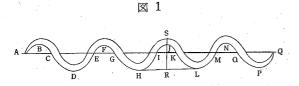
	型	<u> </u>		E	Borre	elia 🏻	Ū					Tre	pon	ema	型							oira		<u> </u>				Spi	rillı	ım 🧃	텔		
Ph 染 色	enol 度	2.5	%	3	%	4	%	5	%	2.5	%	39	%	49	%	5	%	2.59	%	3%	,	4%	,	5%	ó	2.5	%	3%	ó	4%	6	5%	<u> </u>
色 時間 Aura- min O 濃 度	標本所見	螢光 輝 度	賕	螢 光 輝 度 性	形の明瞭度	螢光 輝 度 性	の明瞭	螢染 光輝 度性	形の明瞭度	螢光 輝 度 性	形の明瞭度	螢光 輝 度 性	の明瞭	螢光 輝 度 性	形の明瞭度	螢光 輝 度 性	形の明瞭度	光輝色	の明瞭	光輝色	の明瞭	光 輝色	の明瞭	一色	の明瞭	螢光 輝 度 性	瞅	登 光 輝 度 性	の明瞭	登 光 輝 度 性	の明瞭	陣	形の明瞭度
300×	5 10 15 20 25	+ + + +	± + + # #	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+++++	++++	± + + + +	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	++++	± + + + +	± + + + +	+++++	± + + # #	++++	± + + + +	+ + + +	± + + + + +	± ± + +	± + + + +	± ± ± + +	± + + + +	H H + + +	± + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+ + +	± + + +	± ± + + #	+ + + + +	± + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + #	± ± + + # #	± ± + + #	± ± + + #	± ± + #
500×	5 10 15 20 25	± + + + +	++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	± + # # +	+ + # #	土 + # # +	± + + + + +	± + + + + + +	+++++	# # + + #	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+ + + +	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + # # +	+ + + +	± # # # #	+ + + +	+ + + +	± ± ± + +	+ + + + +	+ + + +	± + + + +		± + + + +	± + + + +	± + # + + +	± + + + + +	+ + + +	± + + + + +	± + + + +	± ++ ++ ++	± + + + +
1000×	5 10 15 20 25	± + + +	± + + + +	± + + + + +	+ + + +	++++	+ + + +	+ + + #	± ++ ++ ++	± + + +	± ± + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + + +	+ + + + =	± ± + + + = = = = = = = = = = = = = = =	± + # # +	+ + + #	± + + + + + +	± ± ± ± +	+++++	± ± ± +	± + + + +	± + + + +	++++	± + + +	± + + +	± ± + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± ± + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± ± + +	+ + + + +	± ± + + + +	± + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + +
2000×	5 10 15 20 25	+ + +	± ± ±	# # + + +	± ± + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + + + +	++++	± + + + + +	± + + + +	± ± ± + +	± ± + +	±	± ± + +	± + + + +	± + + + +	± + + + +	++++	± ± ± + +	± ± + +	± + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± ± + +	± ± + + +	± + + +		± + + + +	± ± + +	± ± + + +	± ± + +	± + + +	± ± + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	± + + + +	++++

注: 染色性は Borrelia→Spirillum→Treponema→Leptospira の順に染色性が悪くなり, Phenol 濃度 3% は Halation が少いが, 菌体の染色性はやや 劣り, 5% のものが最もよい成績を示した。染色時間は 15 分が最も好結果を得た。 のであるから、冬季気温の低下を見る場合には同一 温度に加温する必要がある。

3. 計測方法

口腔 Spirochaeta 1条の細部の形態を計測するに 先だち、わたしは、種々標本を観察した結果から、 口腔 Spirochaeta を Borrelia 型、Treponema 型、Leptospira 型、Spirillum 型の4型に分類す ることが最も妥当ではないかと考えた。そこで、40 名の被検者の同一材料から同時に作製した螢光顕微 鏡標本と Giemsa 染色標本のそれぞれの標本につ き各50 視野における、これら4型の分布を調査し た。

つぎに、細部の形態の計測に際しては、当教室において、田辺⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾らが病原 Spirochaeta の計測に採用した方法に準じて行つた。すなわち ¹/₂₀ mm 副尺付のノギスおよび曲線計を用い、計測部位は図1に示す如くである。曲線 ABCD………Q(体長)、直線 HL(旋転長)、直線 JR(旋転高)、直線 RJを延長して得た直線 JS(体幅)の数値を計測した。Index としては「旋転高/旋転長」をもつて表現した。なお、旋転の細部と体幅の計測に使用する標本は任意抽出によつて得た 40条につき行つた。以上の計測は先ず標本について口腔 Spirochaeta の螢光顕微鏡写真を撮影し、この像を最終郭大1万倍にした写真上で直接計測したものである。



注 ABC·····PQ: 体 長 RJ: 旋転高 HL:旋転長 JS: 体 幅

4. 計測成績

(1) 口腔 Spirochaeta の型別出現率

型別出現率については表 6 (a と b) に示す如く であつて、 Borrelia 型の出現率が最も多く、つい で Treponema 型、Leptospira 型、Spirillum 型 の順に少くなる傾向を認めた。

また、Giemsa 染色に較べて螢光染色法は、Spirochaeta の検出数からいつて口腔 Spirochaeta の 染色、特に難染性の Leptospira 型、Treponema 型および Spirillum 型の検出率が高くなる点が優れていることを見出した。

第 6 表 口腔 Spirochaeta の型別出現率

(a) Auramin O 染色の場合

性別	型別	B型	Τ型	L型	S型	合計
♂	条数	2350	417	340	107	3214
	%	73.4	12.9	10.5	3.2	100.0
우	条数	2431	428	233	105	3197
	%	76.1	13.4	7.3	3.2	100.0
計	条数	4781	845	573	212	6411
	%	74.6	13.1	9.0	3.3	100.0

(b) Giemsa 染色の場合

性別	型別	B型	T型	L型	S型	合計
৳	条数	2031	378	235	48	2692
	%	75.7	14.0	8.7	1.6	100.0
<u></u>	条数 %	1989 80.8	244 9.9	175 7.1	54 2.2	2462 100.0
#	条数	4020	622	410	102	5154
	%	78.0	12.1	7.9	2.0	100.0

(2) 口腔 Spirochaeta の形態

i) Borrelia 型 (以下B型と略) について

体長は 7.9~23.5 μ の間に分布し、 その平均値 M =12.74±0.54 μ である (表 7, 8, 図 2)。 体幅は, $0.35\sim0.84~\mu$ の間に分布し、その平均値 $M=0.56\pm$ 0.008 µ を示す (表 7, 9, 図 3)。 各個の旋転につい てみると、旋転数は2~8旋転の間に分布し、その 平均値 M=4.18±0.27 である (表 7, 10, 図 4)。旋 転長は 0.95~4.88 µ とその分布範囲は極めて広く, 平均値 M=2.31±0.053 μ であつた。そして, 最長 の 4.88μ のものは Thompson の棄却検定によれ ば、棄却しても良い様に思われるので、むしろ分布 範囲は $0.95 \sim 3.86 \mu$ で平均値は, 2.29μ と言つた方 が妥当かも知れない (表7,11,図5)。 旋転高は $0.12\sim1.04~\mu$ の間に分布し、平均値 $M=0.46\pm0.018$ μ であつた (表 7, 12, 図 6)。 したがつて Index は 0.04~0.54 の間に分布し、 その平均値 M=0.192± 0.001 であつた (表 7, 13, 図 7)。 これらの成績を堀 口が計測したB型口腔 Spirochaeta の成績と比較 すれば、やや細く、長く、旋転数は多い。各個の旋 転の形態ならびに大きさは非常に異つていた。すな わち, 小型であると同時にその旋転は非常にゆるや

第7表 口腔 Spirochaeta の旋転計測値

			体 長 μ	体 幅 μ	旋転数	旋転長μ	旋 転 高 μ	Index
В	型	M±m σ	12.74±0.54 3.40	0.56±0.008 0.099	4.18±0.27 1.76	2.29±0.048 0.684	0.46±0.018 0.231	0.192±0.001 0.144
T	型	M±m σ	8.30±0.29 1.82	0.46±0.005 0.071	5.40±0.22 1.39	1.29±0.022 0.318	0.22±0.006 0.096	0.166±0.004 0.059
L	型	M±m σ	11.60±0.35 · 2.24	0.43±0.007 0.094	4.97±0.30 1.91	1.87±0.055 0.776	0.25±0.012 0.171	0.131±0.005 0.068
S	型	M±m σ	5.00±0.21 1.34	0.46±0.009 0.092	2.85±0.13 0.85	1.28±0.024 0.256	0.25±0.008 0.087	0.181±0.006 0.065

第8表 体長の度数分布

型別	体	長 (μ)	2.0	4.0	6.0 } 8.0	8.0 } 10.0	10.0 12.0	12.0	14.0	16.0	18.0	20.0 } 22.0	22.0 } 24.0	合計
В	型	度 数		_	1 2.5	8 20.0	9 22.5	11 27.5	6 15.0	·	4 10.0	0	1 2.5	40 100.0
Т	型	度 数%		2 5.0	19 47.5	11 27.5	7 17.5	1 2.5	<u>-</u>	, — , —	_	— —	_	40 100.0
L	型	度数%	_	_	2 5.0	7 17.5	15 37.5	10 25.0	5 12.5	1 2.5	_ _	_ _		40 100.0
S	型	度数%	8 20.0	25 62.5	6 15.0	1 2.5	_	_	_ _	_	— —	_		40 100.0

第 9 表 体幅の度数分布

型	体别	幅 (µ)	0.20	0.30 } 0.40	0.40	0.50	0.60 } 0.70	0.70	0.80	0.90 } 1.00	合 計
В	型	度数		6 3.5	44 26.3	59 35.3	48 28.8	8 4.9	2 1.2	. —	167
Т	型	度数		37 17.1	128 59.3	43 19.9	8 3.7				216 100.0
L	型	度数 %	8 4.0	73 36.3	75 37.3	33 16.4	12 6.0	-	<u>-</u>	_	201 100.0
S	型	度数	3 2.6	26 22.8	50 43.9	27 23.7	8 7.0		_ _	_	114 100.0

かであつたが、堀口の計測数は僅か9条であるので 実際に差があるか否かは一応疑問としておきたい。 (表14)

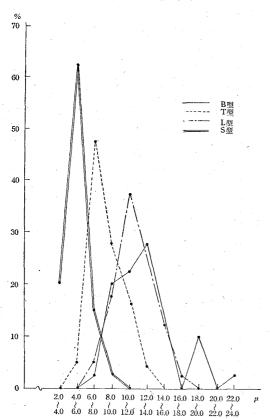
ii) Treponema 型 (以下T型と略) について体長は 5.5~12.5 μ の間に分布し、その平均値 M =8.30±0.29 μ であつた (表 7, 8, 図 2)。体幅は、0.32~0.68 μ と非常に分布範囲が狭く、その平均値

 $M=0.46\pm0.005~\mu$ であつた(表 7, 9, 図 3)。つぎ に各個の旋転について見ると、旋転数は、3~8 旋転の間に分布し、その平均値 $M=5.40\pm0.22$ であった(表 7, 10, 図 4)。一方旋転長は $0.67\sim2.28~\mu$ とその分布範囲は B型に比較し非常に狭く、その平均値 $M=1.29\pm0.022~\mu$ であつた(表 7, 11, 図 5)。 旋転高は $0.09\sim1.74~\mu$ の間に分布し、平均値は 0.26

第10表 旋転数の度数分布

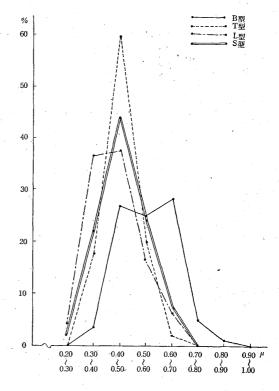
型別	旋転数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	合計
B型	度数 %		8 20.0	11 27.5	4 10.0	6 15.0	6 15.0	10.0	1 2.5	_				40 100.0
Τ型	度数 %	_		2 5.0	11 27.5	10 25.0	6 15.0	8 20.0	3 7.5		-	_		40 100.0
L型	度数 %	1 2.5	10.0	1 2.5	8 20.0	11 27.5	8 20.0	6 15.0	_				1 2.5	40 100.0
S型	度数 %		17 42.5	13 32.5	9 22.5	1 2.5			<u> </u>	— ·				40 100.0

図2 体長の度数分布



 μ の様に思われる。然しながら Thompson の棄却検定によれば $1.30~\mu$ 以上のものは棄却して も良さそうなので,それを棄却すると,分布範囲は $0.09\sim0.90~\mu$ の間に分布し,平均値 $M=0.22\pm0.006~\mu$ と言つた方が妥当の様に思われる。そ して又 $1.30~\mu$ 以上のものは 216 例中, 6 例であり,このものは別の群とみても良さそうである (表 7, 12, 図 6)。つぎに Index は $0.01\sim1.11$ の間に分布し一見平均 0.182 の様であるが,前と同様に Thompson の棄却検定の結果 $0.01\sim0.45$ の間に分布し平均値 M=

図3 体幅の度数分布



 0.166 ± 0.004 であつた (表 7, 13, 図 7)。 これらの計測値を高桜が計測した Treponema dentium の形態と比較すれば,旋転高は高桜の大型,小型の平均値に近似であるほかは旋転長,体長,体幅ともに大型のものよりさらに大きく,その旋転はゆるやかであつたが旋転数は逆に少なかつた。また堀口の成績と比較すれば,旋転数が多いほかは,堀口の小型よりもすべてにおいて小さかつた。すなわち,わたしの成績は高桜と堀口の成績の中間に位する値を得たものと言えよう (表 14)。

iii) Leptospira 型 (以下L型と略) について 体長は $7.0\sim16.5\,\mu$ の間に 分布 し、平均値 M=

彤
ਪੁ
د/ا 0

第	11	表	旋	転	長	Ø.	度	数	分	布	

型別	旋転長 (μ)	0.40	0.60	0.80 } 1.00	1.00	1.20	1.40 } 1.60	1.60 1.80	1.80 } 2.00	2.00 } 2.20	2.20 } 2.40	- }	. ₹	2.80 } 3.00	₹	} }	3.40 } 3.60		3.80 } 4.00	- }	4.20	4.40 } 4.60	4.60 4.80	4.80 } 5.00	合計
B 型	度 数		_	1 0.6	1 0.6	12 7.1	13 7.8	18 10.8	17 10.2	17 10.2	17 10.2	16 9.6	14 8.3	12 7.2	10 6.0	8 4.9	6 3.5	3 1.8	1 0.6			_	-	1 0.6	167 100.0
T 型	度 数	_	10 4.6	31 14.4	47 21.8	50 23.1	37 17.1	33 15.3	5 2.3	2 0.9	1 0.5			_					_	_	-	_	. —		216 100.0
L 型	度 数	3 1.5	5 2.5	9 4.5	17 8.4	21 10.4	33 16.4	19 9.5	22 10.9	18 9.0	7 3.5	17 8.4	11 5.5	3 1.5	3 1.5	4 2.0	1 0.5	2 1.0	2 1.0	2 1.0	_	0.5	1 0.5		201 100.0
S 型	度 数	_	0.9	16 14.0	26 22.8	37 32.5	21 18.4	10 8.8	3 2.6		_	_ _	_	-		_	_ _	_	<u>-</u>	-	. —	_	_ ·	_	114

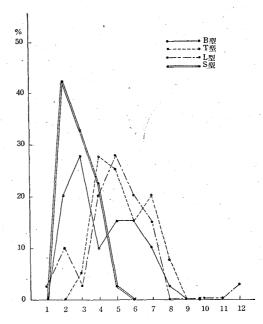
第12表旋転高の度数分布

型別	旋転高 (μ)	0.00 } 0.10	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50 } 0.60	0.60 } 0.70	0.70	0.80 } 0.90	0.90 } 1.00	1.00 } 1.10	1.10 } 1.20	1.20 } 1.30	1.30 } 1.40	1.40 } 1.50	1.50 1.60	1.60 1.70	1.70 } 1.80	合 計
B 型	度 数	_	27 16.1	28 16.7	19 11.4	19 11.4	26 15.5	16 9.6	20 12.0	8 4.9	2 1.2	2 1.2	-	_	_		- -			167 100.0
T型	度 数	3 1.4	96 44.4	83 38.4	9.7	5 2.3		_	1 0.5	1 0.5		_	_		0.9	1 0.5	0.5	_	2 0.9	216 100.0
L 型	度 数	8 4.0	111 55.2	33 16.4	22 10.9	10 5.0	8 4.0	3 1.5	0.5	2 1.0	2 1.0	0.5	_			_			_	201 100.0
S 型	度 数 %	1 0.9	48 42.1	42 36.8	16 14.0	5 4.4	_	-		-	_	_	_	2 1.8	_				_	114 100.0

卡 今 数 麼 0 Index 麦 13 無

红抽	167	216 100.0	201	114
$\begin{vmatrix} 1.10 \\ -1.15 \\ \end{vmatrix}$	1 1.	0.5	1 1	
$\begin{vmatrix} 1.05 \\ 1.10 \end{vmatrix}$	1 1		1 1	1.1
1.00	1 1			
	<u> </u>	0.9	1 1	2.1.8
).90 - 1.95	1 1	1 1	1.1	1. 1
0.85	1.1			li
0.80			1 0.5	
0.75	-	0.5	1. 1.	1 1
0.70		17		1 1
0.70			2.0	
$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$			2 1.0	1 1
0.55				1 · 1
0.50	1 0.6			1 1
0.45	1 0.6	'	1. 1.	
0.40	3.	0.5		
0.35	2.1.2	0.5	5.2.6	2.1.8
0.30	5.3.0	2.3		3.6
0.25	26 15,5	3.7	5.2.6	12 10.5
0.20	40 23.9	34 15.7	14 7.0	20 17.5
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	1 20 .33 35 40 26 0.6 12.0 19.8 21.0 23.9 15.5	2 14 76 71 34 0.9 6.4 35.2 32.9 15.7	8 64 65 35 4.0 31.4 32.4 17.5	8 32 35 20 7.0 28.1 30.7 17.5
$\begin{vmatrix} 0.10 \\ \\ \\ 0.15 \end{vmatrix}$	33	76	65 32.4	32 28.1
0.05	20	14	64 31.4	8 7.0
0.00	1 0.6	0.9	8 4.0	1 1
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	数 %	数 0		※
Ind	废	展 %	康 %	
	· 型	T 樹	尉	副
型配	В	T	h	တ

旋転数の度数分布



 $11.60\pm0.35~\mu$ であり (表 7, 8, 図 2), 体幅は 0.25~ $0.66\,\mu$ の間に分布し、平均値 $M=0.43\pm0.007\,\mu$ で あつた (表 7, 9, 図 3)。 つぎに各個の旋転について 見れば、旋転数は1~12個の間に分布し、その平均 旋転数は M=4.97±0.30 であつた (表 7, 10, 図 4)。 しかし、 各個の旋転の大きさは、 旋転 長 は 0.53~ 4.68 μの間に分布するという非常に大きな分布範 囲を示し、その平均値 $M=1.87\pm0.055~\mu$ であつた (表 7, 11, 図 5)。 一方旋転高は $0.09\sim1.08~\mu$ の間 に分布し、その平均値 M=0.25±0.012 μ であつた (表7, 12, 図6)。 したがつてその Index は 0.03~ 0.84 の間に分布し、 平均値は 0.145 の様であるが、 0.60 以上のものは、Thompson の棄却検定にした がえば、 棄却出来る様に思われる。 したがつて、 0.60 以上の 5 例を除外すれば, Index の平均値 M= 0.131±0.005 であつた (表 7, 13, 図 7)。 堀口の成 績では3条の平均値であるので比較の対象となるか 否かについては疑問であるが、一応その数値を比較 すれば、体幅はやや細いが、旋転の大きさは 1/2 に 縮少したものと近似しており、しかもその数は約2 倍の多きに達し、体長も約1.5倍の長さであつた (表14)。

iv) Spirillum 型 (以下S型と略) について 体長は2.5~9.0 μ の間に非常に密に分布し、その 平均値 $M=5.00\pm0.21\,\mu$ で前述の3種より短い(表 7, 8, 図 2)。体幅は 0.22~0.68 μ の間に分布し、平 均値 $M=0.46\pm0.009$ μ を示した (表 7, 9, 図 3)。 次に各個の旋転について見れば, 旋転数は前述3種

第14表 口腔 Spirochaeta の計測値(高桜, 堀口による)

報告者	種別	測	値	計測数(条)	体 (<i>µ</i>)	体 幅 (µ)	旋転数	旋転長 (μ)	旋転高 (μ)	Index
高桜	Treponema dentium	大小	型 型	260 110	8.00 7.66	0.32 0.27	6.5 8.0	1.00 0.86	0.25 0.17	0.26 0.21
堀	Treponema 型	大小不正	型 型 波型	10 12 13	13.44 13.30 14.72	0.76 0.54 0.55	4.23 4.09 4.77	3.86 2.63 2.58	0.66 0.52 0.68	0.17 0.20 0.26
	Borrelia 型(粗大深	9	10.8	0.59	2.31	3.69	1.13	0.31		
П .	Leptospira 型(平均	3	7.83	0.46	2.33	4.05	0.49	0.12		

旋転長の度数分布

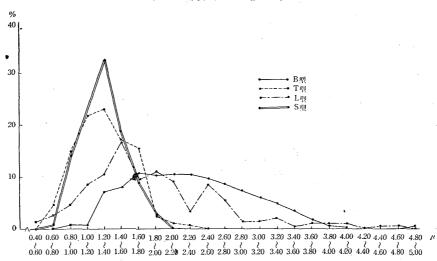
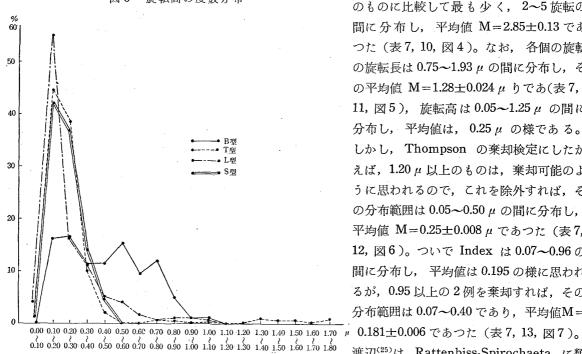
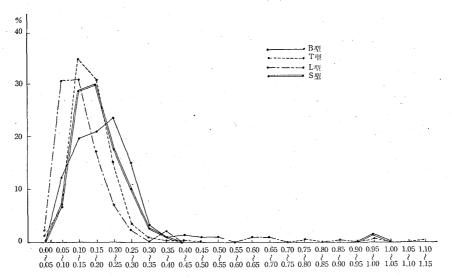


図 6 旋転高の度数分布



のものに比較して最も少く、2~5族転の 間に分布し、平均値 M=2.85±0.13 であ つた (表 7, 10, 図 4)。なお、各個の旋転 の旋転長は 0.75~1.93 μ の間に分布し、そ の平均値 $M=1.28\pm0.024~\mu$ りであ(表 7, 11, 図5), 旋転高は0.05~1.25 μ の間に 分布し、平均値は、 $0.25\,\mu$ の様である。 しかし、Thompson の棄却検定にしたが えば、 1.20μ 以上のものは、棄却可能のよ うに思われるので、これを除外すれば、そ の分布範囲は 0.05~0.50 μ の間に分布し, 平均値 $M=0.25\pm0.008$ μ であつた (表 7, 12, 図6)。ついで Index は 0.07~0.96 の 間に分布し、平均値は0.195の様に思われ るが、0.95以上の2例を棄却すれば、その 分布範囲は 0.07~0.40 であり、平均値M= 渡辺⁽²⁵⁾は Rattenbiss-Spirochaeta に類

図7 Index の度数分布神



似する口腔 Spirochaeta は、 Dentium 型よりも大型であると記載しているが、わたしの計測成績では、むしろT型より小型である特徴をもつものとみとめた。しかし詳細の比較については計測値の数字が挙げてないのでこれを行うことは出来なかつた。

5. 小 括

以上の計測成績から 4型の口腔 Spirochaeta を比較すれば、体長においては、B型、L型が長く、T型がこれにつぎ、S型が最も短かかつた。そしてこれら 3 群の間には、有意の差を認めることが出来た。

体幅について見れば、B型が最も太く、S型、T型の2種がこれにつぎ、L型が最も細かつた。しかし、B型とS型およびT型との間には有意の差を認めたが、S型およびT型とL型との間には、やや有意の差を認めたに過ぎなかつた。

つぎに、各個の旋転について検討すれば、旋転数においては、T型、L型が最も多い群に属し、次いで B型、S型の順に少くなる傾向を認めた。しかし、T型、L型とB型との間には、やや有意の差を認めるに過ぎないが、B型とS型との間には、有意の差をもつて、S型の旋転数が少いことを示していた。

旋転長を比較すれば、最も長いものはB型で、L型は中等長、S型、T型が最も短く、B型、L型の間、およびL型とS型、T型との間には、それぞれ有意の差が認められた。

旋転高はB型が最も高く、L型、S型がこれに次ぎ、T型が最も低かつた、しかしながら、B型とL型、S型との間には、有意の差を認めることが出来

たが、L型、S型とT型との間には、やや有意の差を認めるに過ぎなかつた。

最後に、旋転の様式を表現する Index について見れば、最も大きい値を示すものはB型であり、S型、T型、L型の順に小さくなる傾向を認めた。しかし、B型とS型ならびにS型とT型との間には、ほとんど差がなく、B型とT型との間には有意差を認めることが出来た。また最も小さいL型においても、T型との間に、有意の差を認めることが出来た。

これらの事実にもとづき、B型、T型、L型、S型の特徴を要約すれば、B型は太く、長く、大型の旋転であり、T型は小型の旋転で、旋転数が多い。体長、体幅は中等大であつた。L型は細く、長く、旋転数も多いが各個の旋転はB型とT型の中間型を示し、S型は旋転数が少く、体長は著しく短かいという特徴を認めるが、各個の旋転の形態は、前述3種と大同小異であつた。以上で、口腔 Spirochaetaは、形態学的に分類が可能であると考えられる。

また、これらの成績を高桜および堀口の成績と比較検討すれば、T型では堀口、高桜の中間の値を示した。また堀口のB型、L型と比較してみると、各個の旋転は $^2/_3$ ~ $^1/_2$ の小型のものが、数多く存在しており、体幅は大同小異であるが、体長は長くなる傾向を認めた。すなわち、太さにおいては変りがないが他の計測値に著しい差のあることを認めた。

VI 口腔 Spirochaeta の形態と運動に及ぼす 薬物の影響

1. 文献の概要

病原 Spirochata に対して、Salvarsan が効果的に作用するという理由で、Vincent's angina に対して Salvarsan 療法が試みられたが、他種細菌との共生を必ず伴うという、口腔内特殊条件のためか、期待するような効果を挙げることは出来なかつた。

Penicillin を初めとする抗生物質の出現以来, Vincent's angina に対して, 各種抗生物質は著効 を示すようになつた。

Atkinson (1945)(38)が Penicillin による潰瘍性 口内炎 100 例の治療成績を発表しているほか、この 種の報告は枚挙に暇がないが、 vincent's angina に著効を奏する抗生物質も、それが直接口腔 Spirochaeta に作用した結果であるか否かに就いての 証明は充分とは言えない。

Fitzgerald & Hampp $(1952)^{(39)}$ は, H_2O_2 , Sulpharsphenamine,Lupulon,Tyrothricin,Chloromycetin,Aureomycin,Streptomycin,Notatin,Bacitracin,Penicillin G などの薬剤を培地に加えて Borrelia vincentii 3株と Treponema microdentium 3株の発育阻止に関する実験を行い,Notatin に比較的不感受性であつたのを除いて,他の薬剤にはすべて感受性を示したと報告している。

また、病原 Spirochaeta の形態に及ぼす化学療法剤の影響については、当教室の田辺⁽¹²⁾、鈴木⁽¹³⁾、田辺ら⁽⁴²⁾と市川⁽¹⁵⁾の Spirillum minus についての報告があり、近時電子顕微鏡下での川田⁽⁴⁰⁾、伊藤⁽⁴¹⁾らによる報告があるが、口腔 Spirochaeta については森岡⁽²⁴⁾の他報告はないようである。わたしは螢光顕微鏡下に、各種化学療法剤の口腔 Spirochaeta の形態と運動に及ぼす影響について、種々検討したので、以下これらについて報告する。

2. 実験方法

歯垢を採取して検体とした。

供試薬物としては、Penicillin (Pc)、Streptomycin (SM)、Chloromycetin (CM)、Achromycin (AC)、 Mapharsen (MA)、Neo-Neo-Arsemin (NNA)を用い、対照として生理食塩液を使用した。Pc は5,000、1,000、500、100、50 u/cc、SM、CM、AC、MA、NNA はそれぞれ1,000、500、100、50、 10γ /cc の生理食塩液による各濃度の希釈液を調製した。

小試験管に各種薬物の各希釈液1ccをとり、これに歯垢を1白金耳量混入して37°Cに保ち,30分,2、

4,6時間毎に前述したような螢光顕微鏡標本を作製して口腔 Spirochaeta の形態を観察した。一方運動の有無は、生理食塩液で6,000倍に希釈したAcridinorange 溶液を用いて螢光法で検し更に在来の暗視野法をも併用した。

3. 実験成績

上記薬剤の口腔 Spirochaeta の形態に及ぼす影響については表 15 の如くである。即ち SM, CM,

第 15 表 各種薬物による口腔 Spirochaeta の形態変化

	u/cc 時間	5,000	1,000	500	100	50
	0.5	+	_	· <u></u>	_	
_	2	+	+	_	_	<u> </u>
Pc	4	+	+	_		<u> </u>
	6	+	+	±		

	γ/cc 時間	1,000	500	100	50	10
	0.5	+		_	_	<u>-</u>
~	2	+	+	-		· —
SM	4	+	+	-	_	_
	6	+	+	土	_	-
СМ	0.5	+			_	
	2	+	+	— .		
	4	+	+ .	—	_	
	6	+	+	±	<u> </u>	
	0.5	+		_	_	_
	2	+		_	. —	— .
AC	4	+	-			 .
	6	+	+	-	_	
	0.5	+	_	_		_
	2	+		_	<u> </u>	
MA	4	+	. —		_	_
	6	+	+			
NNA	0.5	+				_
	2	+	_	· —		
	4	+		_	_	_
	6	+	+			_

注 Pc: Penicillin

AC: Achromycin

SM: Streptomycin

MA: Mapharsen

CM: Chloromycetin NNA: Neo-neo-arsemin

十:変化のあるもの 土:やや変化のあるもの

一:変化のないもの

Pc は他の薬剤に比してやや影響が大きいように思 われた。最も多く見られる形態的変化を総括する と、菌体が破壊されて不明瞭となるもの、膨化する。 もの、菌体内に顆粒の出現するもの、菌体の鋭角的 屈曲、旋転の消失等であつた。

運動に及ぼす影響を一括すれば、表16の如くで ある。すなわち AC, Pc, SM の順に影響が強いよ うであつた。また、 高濃度では瞬時に 運動が停止 し、中等度の濃度の場合には約4時間後に運動は停 止し、低濃度においては8~10時間後に運動は停止

第16表 各種薬物による口腔 Spirochaeta の運動性の変化

	u/cc 時間	5,000	1,000	500	100	50
	0.5	_	土	+.	+	+
-	2	_	, —	土	+	+
Pc	4		_	<u>.</u>	土	+
	6			·—		+

	γ/cc 時間	1,000	500	100	50	10
	0.5	<u> </u>	<u>±</u>	+	+	+
C) N. C	2		_	土	+	+
SM	4	_	<u></u>	<u> </u>	+	+
	6				_	+
	0.5		土	-+	+	+
CM	2	· · — ·,	_	土	+ .	+ .
CM	4	_	<u></u>		+,	+
	6	_	<u> </u>	· —		+
	- 0.5		+	+	+	+
	2	_	土	+	+	+
AC	4			士	+	+
	6	-		_	+	+
	0.5	_	+	+	+	+
254	2	_	土	+	. +	+
MA	4	_		土	+	+
	6		<u> </u>		+	+
NNA	0.5	_	+	+	+	+
	2	· —	土	+	+	+
	4		<u> </u>	+	+	+
	6				+	+

注 薬物の略記法は表 15 に同じ

一:運動性のないもの

した。 なお対照においても、 およそ 12 時間後には 運動は停止した。これらの成績は、主としてB型と T型におけるもののように思われた。

VII 病原 Spirochaeta と口腔 Spirochaeta の旋転形態の比較

病原 Spirochaeta と Spirillum minus の旋転 形態について見ると、 われわれの同人・鈴木は, Borrelia duttonii (以下 BD と略) を螢光顕微鏡 下に観察し、次の所見を得た。すなわち、菌体は太 く、長く、旋転数は少く、各個の旋転は最も大型で あると報告している。

同じく同人・田辺の Treponema pallidum (以 下 TP と略) について得た所見では、旋転は規則正 しく, 峻嶮強直性で, 体長, 体幅ならびに旋転の形 態は中等大で、しかも円錐台に纒絡しているものの 如き形態をしていると述べている。

同じく同人・依田の Leptospira icterohaemorrhagiae (以下 LI と略) について得た所見では、 菌体は以上両種 Spirochaeta に比較して、細く、 短く,個々の旋転も小さく,旋転数は最も多く,か つ難染性であると記載している。

同じく同人・市川の観察した Spirillum minus (以下 SM と略) は上述の3種の病原 Spirochaeta と比較して,体幅は最も太い。体長は最も短く,最 長の BD の約 $^{1}/_{5}$, 最短の LI の約 $^{1}/_{3}$ にあたる。 旋転数は最も少く,上述の3種の 1/3~1/5 弱にあた る。個々の旋転についてみると、旋転の形態は中等 大の TP と近似であるが、 旋転高が低く、 したが つて、その旋転の様式はゆるやかである特徴を持つ ものであると報告している (表 17)。

今回, わたしは, 口腔 Spirochaeta を形態上か ら分類することが出来たので、それらの成績を上述 病原 Spirochaeta ならびに Spirillum minus の 形態と比較して次の結果を得た。

(1) BD とB型との比較について

体長、体幅について見れば、体長はB型がBDよ り短かく,その間には有意の差を認めることが出来 たが、体幅は逆にB型がやや太くなる傾向を認め、 その間には有意差はなかつた。つぎに、各個の旋転 について見れば、B型は旋転数が少く、旋転長は長 く、旋転高も高かつたが、Index は小さい。すな わち、旋転はゆるやかであつた。そしてこれらの間 十:運動性のあるもの 士:運動性のにぶいもの には、旋転高を除くほかは、すべて有意差を認める てとが出来た。

第17表 口腔 Spirochaeta と病原 Spirochaeta との比較

		体 長 (μ)	体 幅 (µ)	旋転数	旋転長 (µ)	旋転高(μ)	Index
B型	ロ 腔 スピロヘータ	12.74±0.54	0.56±0.008	4.18±0.27	2.29±0.048	0.46±0.018	0.192±0.001
Ь型	B D	16.02±0.30	0.54±0.008	5.41 ± 0.042	1.87±0.007	0.42±0.04	0.26±0.002
T 型	ロ 腔 スピロヘータ	8.30±0.29	0.46±0.005	5.40±0.22	1.29±0.022	0.22±0.006	0.166±0.004
上型	TP	12.38±0.39	0.37±0.005	6.92 <u>±</u> 0.18	1.26±0.013	0.32±0.04	0.26 ±0.003
T rest	ロ 腔 スピロヘータ	11.60±0.35	0.43±0.007	4.97±0.30	1.87±0.055	0.25±0.012	0.131±0.005
L型	L I	6.37 ± 0.33	0.27 ± 0.05	9.76 ± 0.29	0.60±0.009	0.11±0.004	0.18±0.29
C TEIL	ロ腔ション菌	5.00±0.21	0.46 ± 0.009	2.85±0.13	1.28 ± 0.024	0.25 ± 0.008	0.181±0.006
S型。	SM	2.57	0.56	1.76	1.22	0.23	0.19

(2) **TP** と**T**型との比較について

T型は、TP に比して、体長が短かく、体幅は太 く,両者の間には,それぞれ有意の差を認めること が出来た。各個の旋転においてT型は、旋転数は少 く、 旋転長は長く、 旋転高は低く、 したがつて Index は小さい。そして、旋転長、旋転高において は、両者間に、有意の差を認めることは出来なかつ たが、旋転数と Index においては、有意差を認め

(3) LI とL型との比較について

L型は、LI に比して太く、 長く、 旋転数は少な い。旋転長、旋転高は、いずれも、 L型が大きく、 Index は逆にL型が小さかつた。そして、これらい ずれにおいても、両者の間には有意差があつた。

(4) SM とS型との比較について

S型は SM に比較して、細く、長く、旋転数は、 多いが、旋転長、旋転高および Index は両者間に 大差を認めなかつた (表 17)。

(5) 小 括

以上の結果から、体長に関しては、口腔 Spirochaeta はB型, T型は病原のものよりも短く, L型、S型は長い。体幅は、S型を除くほかは、い ずれも、口腔のものが太かつた。旋転数では、 S型 が多い他は同様にいずれも少く、旋転長はB型、L 型が長く、他の2型では両者間に大差を認めなかつ た。旋転高においては、B型、L型は口腔のものが 高く、T型、S型はやや低い傾向を示した。 Index については、全種とも、口腔のものは病原のものよ りも小さい。すなわち、旋転はゆるやかであつた。

付), 口腔 Spirochaeta の鞭毛様構造物について

観察し,その際,鞭毛様構造物を認めたと記載して いる。 Hampp も電子顕微鏡像により、 培養 した Borrelia vincentii に鞭毛を、小型口腔 Treponema に終末線維を認めたと述べているが、その後 の研究によれば, これら鞭毛様構造物あるいは終末 線維と称せられるものは、Spirochaeta の菌体を構 成している細線維が標本作成時の処理の影響をうけ て、ほぐれたものであるという見解に達している。

わたしは, 今回の研究の際, おびただしい螢光顕 微鏡標本を観察中、これら鞭毛様構造物ならびに終 末線維を認めたので、 その二三を付図 5, 6, 7, 8 に 示し,参考に供したい。

VIII 総括と結論

わたしは、今般、口腔 Spirochaeta の形態につ いて、螢光顕微鏡下に観察して、その形態を明らか にするとともに、その形態と病原 Spirochaeta の 形態とを比較検討して以下の知見を得た。

1 口腔 Spirochaeta の型別出現率

型別出現率は、 Borrelia 型が最も多く、 次いで Treponema 型, Leptospira 型, Spirillum 型の 順に少くなる傾向を認めた。なお,螢光法は, Giemsa 染色法の場合に比べて口腔 Spirochaeta の観察に適していることを認めた。

2 口腔 Spirochaeta の形態

(1) 体 长

Borrelia 型, Leptospira 型は長く, Treponema 型は中等長で Spirillum 型は短く, これら3群の 間に明らかに有意差を認めた。

(2) 体

最も太いのは Borrelia 型であり、最も細いのは 片山⁽²⁸⁾は、口腔 Spirochaeta を螢光顕微鏡下に Leptospira 型で、Spirillum 型と Treponema 型 は中等大の幅であり、Borrelia 型と Spirillum 型、Treponema 型との間には有意差を認めたが、Spirillum 型、Treponema 型と Leptospira 型との間にはやや有意の差を認めたに過ぎなかつた。

(3) 旋転数

Treponema 型, Leptospira 型の一群が最も多く, Borrelia 型, Spirillum 型の順に少くなり, これら 3 群の間には、有意差があると言つて差支えない成績を得た。

(4) 旋転長

Borrelia 型が最も長く, Leptospira 型は中等大の長さで, Spirillum 型, Treponema 型は短かく, これら 3 群は, 明らかに異なつた値を示した。

(5) 旋転高

Borrelia 型が特に高く、中等度の高さの Spirillum 型、Leptospira 型との間には有意差を認めた。しかしながら、Spirillum 型、Leptospira 型と最低の Treponema 型との間には、やや有意の差しか認めることが出来なかつた。

(6) Index

Leptospira 型を除くほかは、ほとんど大差なく、Borrelia 型、Spirillum 型、Treponema 型の順にやや小さくなるが、Leptospira 型は非常に小さく、Treponema 型との間に、有意差を認めることが出来た。

3 口腔 Spirochaeta の形態と運動に及ぼす薬 物の影響

各種薬剤の口腔 Spirochaeta の形態に及ぼす影響については、Streptomycin、Chloromycetin、Penicillin などは影響が大であつた。そして最も多く見られる形態変化は、菌体の破壊、膨化ならびに菌体内顆粒の出現および、旋転の消失などで、これらの変化は薬物の濃度が高くなるにつれて顕著であつた。なお、形態変化はその運動性の停止と関係があることがわかつた。

- 4 病原 Spirochaeta と口腔 Spirochaeta の形態の比較
- (1) Borrelia duttonii と Borrelia 型とを比較すれば、Borrelia 型は Borrelia duttonii に比して太く短く、旋転数は少く、各個の旋転は大きくて、ゆるやかであつた。
- (2) Treponema pallidum と Treponema 型 とを比較すれば、 Treponema 型は Treponema pallidum に比して、太く、短く、 旋転数は少く、 各個の旋転は旋転長が長いのに反して、 旋転高は低

くなり、 したがつて、 その旋転はゆるや かであった。

- (3) Leptospira icteroheamorrhagiae と Leptospira 型とを比較すれば、Leptospira 型は太 く長く、大型の旋転で、旋転数が少く、ゆるやかであつた。
- (4) Spirillum minus と Spirillum 型とを比較すれば、Spirillum 型は細く、各個の旋転は、殆んど同じ大きさであるが、旋転数が多く、その結果として体長も長い。すなわち、Spirillum minusの旋転数を多くしたものと近似の形態を研すものと言えよう。

以上要するに、わたしは口腔 Spirochaeta を螢光 顕微鏡により形態学的に 4型に分類可能であること を認めたが、これらのものは、純培養の病原 Spirochaeta ならびに Spirillum minus とはその形 態が明らかに異つていることを認めた。なお、各種 薬物が口腔 Spirochaeta の形態と運動性に影響を 及ばすことを見出した。かつ口腔 Spirochaeta の 鞭毛様構造物についても付言した。

擱筆するにあたり、ご指導、ご鞭撻下された 恩師米沢和一教授に深謝するとともに、本研究 のうち Treponema, Borrelia に関しては田辺 明博士、 Leptospira に関しては依田胤正博 士、Spirillum に関しては市川博保博士、顕微 鏡写真撮影には三木洋博士の御援助によること を銘記して感謝し、かつ森山徳長、高添一郎、 大森直樹 3 博士を始め当教室員一同に御礼申し 上げます。なお種々御鞭撻を戴いた故入交直重 ドクトルに感謝致します。

文 献

- 1) Plaut: Dtsch. Med. Wschr., 20, 920, 1894.
- 2) Smith & Conant: Zinsser Bacteriology, 11, Ed., 1957.
- 3) Cohn: Beitr. Biol. Pflanzen, 1, 141, 1875.
- 4) Kooh: Beitr. Biol. Pflanzen, 2, 399, 1877.
- 5) Miller: Die Mikrooganismen der Mundhöhle, Leipzig, 2, Aufl. 1892.
- 6) Hoffmann & Prowazek: Zbl. Bakt., I. Orig., 41, 741, 817, 1906.
- 7) Gerber: Zbl. Bakt., I. Orig., 56, 508, 1910.

- 8) Dobell: Arch. Protistenk., 26, 117, 1912.
- Noguchi: J. Exper. Med., 15, 81, 90,
 1912: ibid. 16, 194, 1912: ibid. 27, 667,
 1918.
- 10) **Hoffmann:** Dtsch. Med. Wschr., 46, 257, 625, 1920.
- 11) **Mühlens:** Dtsch. Med. Wschr., **32**, 797, 1906.
- 12) 田辺: 十全医会誌, 60, 550, 1958.
- 13) 鈴木: 十全医会誌, 60, 1468, 1958.
- 14) 依田: 京都府立医大誌, 65, (3) 1959. 掲載予定
- 15) 市川(博): 京都府立医大誌, **66**, (3) 1959. 掲載 予定
- 16) Schmamine: Zbl. Bakt., I. Orig., 65, 311, 1912.
- 17) Ozaki: Zbl. Bakt., I. Orig., 76, 469, 1915.
- 18) Fortner: Zbl. Bakt., I. Orig., 108, 155, 1928.
- 19) 岡部: 千葉医会誌, 12, 394, 698, 1934.
- 20) 小谷: 千葉医会誌, 17, 2641, 1939.
- 21) Hampp: J. Amer. Dent. Ass., 30, 1066,
 1943: Amer. J. Publ. Health, 35, 441,
 1945: J. Amer. Dent, Ass., 34, 317, 1947,
 ibid. 40, 1, 1950.
- 22) Berger: Die Treponemen der Mundhöhle und ihre Bedeutung für die Pathogenese der Oralen Fusospirochätosen (Beitr. Hyg. u. Epid. Heft 12, 1958)
- 23) 諸橋: 口腔病会誌, 2, 1, 1928.
- 24) **森岡:** 十全医会誌, 58, 397, 404, 671, 680, 1956.

- 25) **緒方・渡辺**: 口腔細菌学の進歩, **II**, 133, 1959.
- 26) 矢崎: 成医会誌, 64, 14, 1949: 医学のあゆみ, 16, 279, 1953.
- 27) 工**藤·趙:** 螢光顕微鏡学, 第1版, 1950.
- 28) 片山: 慈恵医大誌, 67, 60, 65, 69, 1952: 同誌 68, 157, 161, 165, 168, 1953: 同誌 69, 138, 1954: 歯科学報, 53, 617, 1953.
- 29) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7, Ed. 1957.
- 30) Smith: Oral spirochetes and related organisms in fusospirochetal disease, 1, Ed. 1932.
- 31) Perrin: Rev. mex. biol., 2, 171, 1922.
- 32) 山元: 大日歯医会誌, 23, 199, 1932.
- 33) **森**: 歯科医学, **14**, 65, 340, 1950: 臨床歯科, (180) (190) **19**50.
- 34) 米沢: 口腔細菌学, 7版, 1957.
- 35) 米沢訳: 新編臨床歯科細菌学, 1955.
- 36) 高桜: 十全医会誌, 45, 632, 1874, 1940: 同誌, 46, 49, 1088, 1109, 0112, 1941.
- 37) 堀口: 日歯医師会誌, 3, 215, 1950.
- 38) Atkinson: Brit. Dent. J. 79, 317, 1945.
- 39) Fitzgerald & Hampp: J. Dent. Res., 31, 20, 1952.
- 40) 川田他: 日細菌誌, 12, 349, 1957.
- 41) 伊藤: 日細菌誌, 13, 176 1958.
- 42) 田辺他: 大日歯医会誌, 1, 10, 1959.
- 43) 谷: 医学微生物学, 6 版, 1957.
- 44) Macdonald & Madlener: Can. J. Microbiol., 3, 679, 1957.
- 45) Macdonald et al.: J. Bact., 77, 559, 1959.

神里論文付図(螢顕像)



Fig. 1. Borrelia 型の正常像 (×2,000)

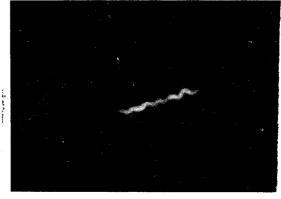


Fig. 2. Treponema 型の正常像 (×2,000)



Fig. 3. Leptospira 型の正常像 (×2,000)



Fig. 4. Spirillum 型の正常像 (×2,000)

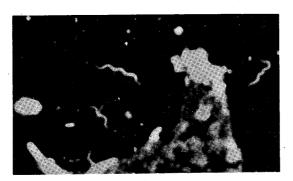


Fig. 5. Borrelia 型の鞭毛様構造物 (×1,200)

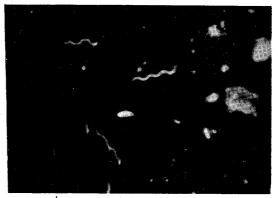


Fig. 6. Borrelia 型の終末線維 (×1,200)



Fig. 7. Borrelia 型の終末線維 (×1,200)



Fig. 8. Leptospira 型の終末線維 (×1,200)