

# 蛔虫飼養液中に於ける「ヒヨリン」 誘導体について (化学的検索)

吉 沢 利 雄

(慶応義塾大学医学部寄生虫学教室 主任 松林久吉教授)

(昭和 29 年 7 月 13 日受領)

蛔虫の病害作用の成り立ちは種々の機転に於て考えられるが、その化学的物質の関与から由来する蛔虫症は、蛔虫自体中に単に存在する物質ではなくて、蛔虫から分泌又は代謝終産物として排泄せられる物質、或は更に之れより分解されて出来る物質中に存在する筈である。この理由から私は自然に近い状態、即ち宿主の腸管内の要約に近い条件で飼育し、この飼育液について検索を進めて来たものである。先に私は墓心臓洞房標本を使用して生物学的に種々の物質の存在を知った。その中で、特にアセチルヒヨリン、ヒスタミン等の自律神経系に作用する物質の存在は蛔虫アレルギーを論ずるに将来役立つものと考えられる。即ち蛔虫症の一症状として起る疝痛の一機転として、腸蠕動の異状亢進乃至は痙縮は、副交感神経の興奮によつて生起し得る。そこで副交感神経刺激物質たるアセチルヒヨリンの存在することは意義あることと云わねばならぬ。

そこで更にアセチルヒヨリンを化学的方法によつて確認しようとして此の実験を行った。扱てアセチルヒヨリンは不安定な物質であり、分解されてヒヨリンに変じている可能性が多く、この後者は比較的安定であるので、之を証明する方法をとつたものである。

## I 実験材料

屠場より保温リングル氏液に入れ速に運搬した豚蛔虫を、0.95%食塩水を 10 隻に対し、200 cc の割合に使用して 37°C の孵卵器中で飼育し、48 時間の飼養液 100 隻分を 1 回の材料として用いた。

## II 実験方法

上記の飼養液を減圧装置のもとで 60°C で沸騰蒸発せしめて乾固物とする。之を略々純アルコール約 20 cc で

抽出し、之に同容量の昇汞の飽和アルコール溶液を加えてヒヨリンと昇汞の複塩を作らしめる。次で、硝子フィルター No. 4 で濾過し、残渣をよくアルコールで洗い、熱水を加えて複塩を分解せしめ、この溶液をエルレンマイエルコルベンに採り、温いうちに硫化水素を通じて水銀を硫化物として落す。次に濾紙にて濾過し濾液を 60°C 以下で水を追放する。この時、稀薄塩酸を加えるとヒヨリンは塩酸塩となつて得られる筈である。大凡乾燥した時、アルコールで抽出し、次で扇風機でアルコールを飛ばす。残渣中に塩酸塩の水溶液となつて残つて来る筈である。更に精製するため CdCl<sub>2</sub> の飽和水溶液 (常温、49%) を加えカドミウムとの複塩としておとし、あとは前と同様な方法に従つてヒヨリン塩酸塩の精製採収を試みたものである (Schmidt, 1907)。この結果得られた水溶液を試料として、以下に述べる様な諸実験を行つて成績を出し、いろいろな角度から多角的にヒヨリンの存在を証拠づけようとした。

## III 諸種の検出方法と成績

(一) ペーパークロマトグラフィーに依るヒヨリンの検出実験

100 隻分の飼養液を上述の如く処理して得た試料を次の様に三通りに展開を試みた。

1) ペーパーは東洋濾紙 50 号 2×40 cm を 48 時間水を加えて飽和して使用した。展開剤はブタノール・醋酸・水 (4:1:2) の混液の上澄液を用いた。検出はニンヒドリンの 2% ブタノール溶液を噴霧し、10 分間 90°C に熱して発色せしめた。

成績としては、Rf: 0.45 に Spot を認めた。之は対照のヒヨリンと同値である。然し乍ら他に 2~3 の Spot が存在するので、アミノ酸やペプチッドの混入して来ていることを考慮しなければならない。従つてこの成績のみでは確定を躊躇するのである。

2) ペーパーは上と同様に使用し、展開剤はベンチル

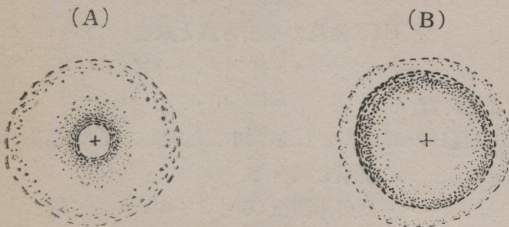
Toshio Yoshizawa: Detection of cholinderivate in the medium in which *Ascaris lumbricoides* were kept alive. (Dept. of Parasitology School of Medicine, Keio University, Tokyo, Japan)

アルコール、プロピルアルコール、水(2:5:2)を使用し(Whittaker & Wijesundera, 1951), ニンヒドリン反応で呈色せしめた。

成績は、対照のヒヨリンに相当する Rf: 0.25 に Spot をかすかに認められ、且つその外に 0.32, 0.42, 0.50, の Spot が在つて、前項と同様に確定出来ないが、ヒヨリンとしての条件は有ち判定の資料となるものである。

3) 濾紙(東洋濾紙, 定性用)上に試料を一滴滴下し、そのまま乾燥をまち、アルカリ性としたヒドロキシラミンアルコール溶液(10% [W/V])のヒドロキシラミン塩酸塩の含水アルコール溶液に10%苛性カリアルコール溶液を加えてアルカリ性となし濾過して塩化カリを除いたものを噴霧し、乾燥後、3% (W/V) 過クロール鉄の酸性エーテル溶液を噴霧した。成績は、黄色の地に滴下試料の作った斑点の中心部に近い同心円上に薄紫色の Ring を生じた。ヒヨリンは斯の様な呈色をなすものである(Whittaker 1951)。対照の試薬塩化ヒヨリンによりても同様に呈色せしめることが出来た。尙この際、被検体処理に当り混入して来るアミノ酸の中に同様な過クロール鉄反応を生ずるものがあることを考慮し、二つの対照実験を試みた。その第一はニンヒドリン反応を為さしめたところ、結果は主として外層部に濃厚に発色して(第1図B参照)アミノ酸は外層部に多く存在し、前記ヒヨリンの過クロール鉄反応は(第1図A参照)中心部に近いところに於て生じているものである。

第1図



次に種々のアミノ酸の溶液の Spot を作り過クロール鉄反応を試みたところ色彩は何れも褐色系のものであつた。過クロール鉄反応は褐色系の色は判定の資料となり難いものである。

#### (二) Perjodid を作らしめる方法

Rosenheim, Stanek (1905), Schaw (1938) 等は Perjodid を作らしめてヒヨリンを検出した。私も 100 隻分の飼養液より得た試料 1 滴を載物硝子にのせ之に Stanek の試薬又は Rosenheim の試薬を 1 滴加える (H-

awk, Oser & Summerson 1948)。前者はヨード 153 g, ヨードカリ 100 g を 200 cc の水に溶解したもので、後者はヨード 2 g, ヨードカリ 6 g を 100 cc の水に溶かしたものであり、前者の方が好結果を得た。この標本を鏡検すれば油滴状の物質の間に、針状の淡い褐色の結晶を見ることが出来る(第2図A)。ヘミンの結晶に似ているがそれよりずつと長くなることが多い。何本も束になつたり、交叉して出来ることもある。観察していると屢々結晶は一端又は両端から滴状に凝縮して来て太く短くなり、遂に黒褐色の 1 箇の油滴の如くなつてしまう(第2図B, C)。第2図Dは第一化学薬品製造の試薬塩化ヒヨリンより作った Perjodid の結晶であつて、前記蛔虫試料より得た結晶とその形態、晶結、凝集等に於て何等区別するところはない。

#### IV 総括並に考按

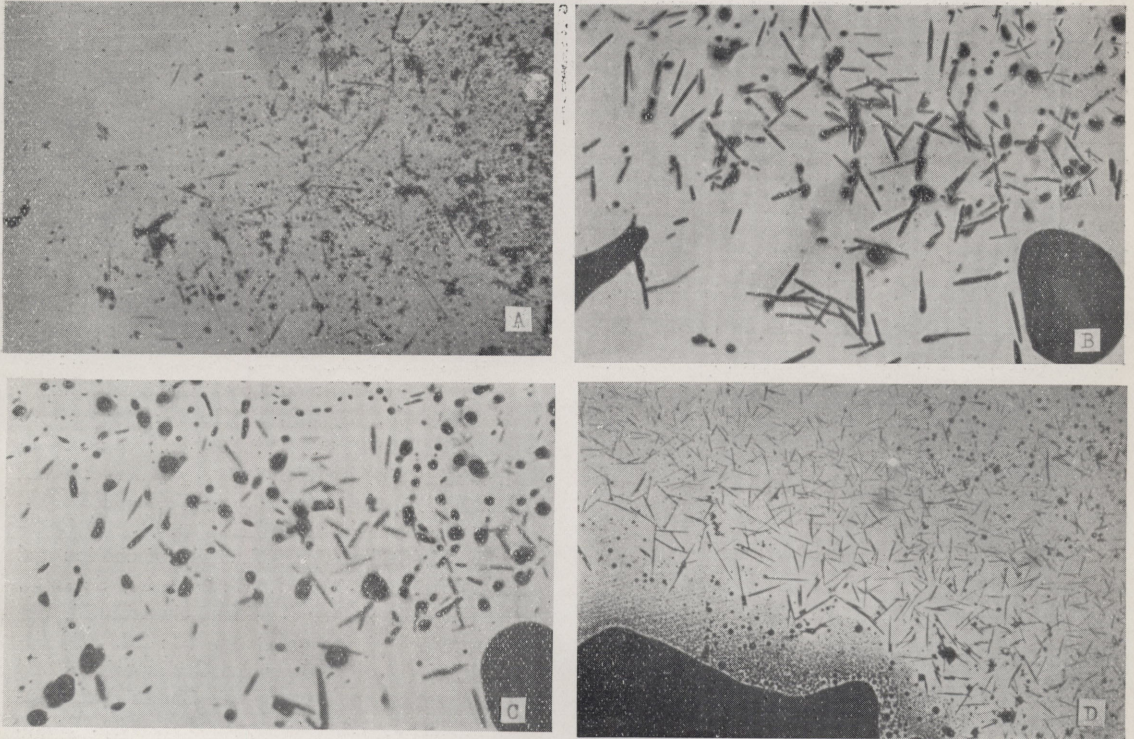
蛔虫の飼養液中に、或は代謝産物中にヒヨリン又はヒヨリン様物質が存在すると言う報告は著者寡聞にして未だ聞かない。私(1954)は先に墓心臓洞房標本を利用した実験に際して、飼養液中にアセチルヒヨリン又は同様物質が微量に存在するという結果を得たので報告した。この裏付けとして今回化学的方法で更に確証を得たものである。アセチルヒヨリンは極く不安定な化合物であつて脱醋酸の結果ヒヨリンになつている場合が多いと考えられる。本実験ではヒヨリンを検出しようとしたものである。目的物は極く微量である関係上、普通のヒヨリンの結晶を取出す方法では不可能なわけである。

ペーパークロマトグラムに於ては、上述の如く、ブタノール、醋酸、水(4:1:2)による展開でも、ベンチルアルコール、プロピルアルコール、水(2:5:2)の展開でも、夫々 Rf: 0.45(佐竹, 1952), Rf: 0.25(Whittaker, 1951)の位置に Spot を認めているのでヒヨリンの存在は可能である。唯、その他の位置にも同時に若干の Spot が出て来るので、混入を予想されるアミノ酸群の一つであることを慮るのである。

以上二つのクロマトグラムはニンヒドリン反応による検出であるが Whittaker の原法を第三に応用してみたもので、この際展開すると、微量のものが更に分散して過クロール鉄の呈色反応が極めて淡くして明瞭なる色彩を得ることが出来なかつたので、濾紙上に試料を滴下して、その儘乾燥して(約1糎半径に拡がる)既述の様な紫色の呈色反応を見たもので、対照実験では現われて来ない。

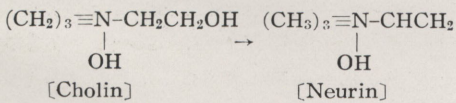
之を要するに、ペーパークロマトグラフィーによりヒ

第 2 図



ヨリンとしての条件を具備しているという事が言われる。

更にヒヨリンは過剰に沃度を結合させることにより Perjodid を作る性質を利用して試験した。実験の結果は定型的且つ試薬ヒヨリンと全く同形態の結晶を得ることが出来た。そして両結晶共に 1~10 分時にして油滴状に消え去る不安定なものである。本結晶は Stanek によれば  $C_5H_{14}NOI \cdot I_3$  なる分子式を有つと言う。この様な Perjodid は、今までの実験で混入して来た アミノ酸では出来ないが、然しヒヨリンに特有な反応では勿論なく Neurin 等でも出来る。Neurin はヒヨリンが微生物などの作用で酸化されて出来るもので有毒物質である (鈴木, 小幡, 1940)。依て Neurin の存在も亦考えられるのである。



更にその氧化物たる Betain  $CH_3 \equiv N - CH_2$  ではこの結晶は出来ないし又それは無毒である。混入を予想される

Methylamin, Dimethylamin, Trimethylamin 等でも Perjodid の結晶は出来ない (上代 1955)。

以上の実験を総合し、既に報告の墓の心臓洞房標本に対するアセチルヒヨリン作用物質の存在の事実と相俟て飼養液中にヒヨリンが存在することは確実である。先頃洞房標本による成績を発表の際、偶然同時に細川, 樋谷 (1953) は蛔虫体内にコリン顆粒 (広瀬, 1929) の存在することを報告した。これに依て之をみるに、虫体内に存在するヒヨリン又はその誘導体は何等かの機転で体外に排出されるのであろう。誘導体の一つたるアセチルヒヨリンは不安定な物質であつて pH は 3.8 に於て安定度は高いのであるが、宿主腸内容は一様に pH 6.5~8.0 で特に弱アルカリ性の場合が多いので、間もなく分解してしまうであろう。一方、阿部 (1948) によれば pH 2.5~7.5 に於ては 24 時間までは蛙直腹筋に対する作用に変化はないが 8.8 又はそれ以上では 10 時間後には全く作用はなくなる。然し家兎の剔出小腸内では速に、即ち 20~50 分間でアセチルヒヨリンの蛙直腹筋に対する作用は失われ、それは小腸粘膜に存在するヒヨリンエステラーゼに接し分解されるものである、としている。之等に

依て按ずれば、虫体内のアセチルヒヨリンは何等かの機転に依て体外に排出され、短時間と雖も宿主腸管内に存在する時間がある筈で、偶々多量に蓄積した場合、副交感神経末梢を刺戟興奮せしめ、又吸収作用が表われて然る可きであろう。殊に副交感神経緊張症にある人は特に感受性は高く、腸管に於ては痙縮、疝痛など、一般に副交感神経異常症状を発症する可能性あるものと考えられる。又近時、アレルギー研究の諸家（本邦では中村敬三1944, 1951）がアレルギー症状に対しヒスタミンよりもアセチルヒヨリンを重要化学的原因体として指摘し症状発生の機転を説明している見地からみても、蛔虫アレルギーの論ぜられる今日ヒヨリンの飼養液中に於ける存在は注目すべき事実であろう。

### V 結論

私は嚢に蕁心臓洞房標本による実験で蛔虫飼養液中にアセチルヒヨリン様物質の存在する結果を得たので、更に化学的に此を証拠づけようとして、飼養液の分析を行い次の様な結論を得た。

- 1) 三様の方法でペーパーパーティションクロマトグラフィーを行いヒヨリンの位置に Spot を得た。
- 2) 顕微鏡下にヒヨリンの Perjodid の結晶の出来るのを確認した。
- 3) 以上の成績を、著者既発表の蕁心臓洞房標本に対するアセチルヒヨリン様作用と相俟て、蛔虫飼養液中にヒヨリンが存在することは確実である。
- 4) 蛔虫体内にあるヒヨリン又はその誘導体は分泌若くは代謝終産物、或は何等かの機転で排泄され、恐らくアセチルヒヨリンの形で一時的にでも蓄積した場合に、

副交感神経を刺戟興奮せしめることは可能であつて蛔虫症を論ずるに当り重要な事実と思推される。

脱稿に際し御指導並に御校閲を賜つた松林教授に深謝する。

### 主要文献

- 1) 阿部忠光(1948) : コリン誘導体の消化管内に於ける安定性に関する研究. 昭和23年第45回日本内科学会総会.
- 2) Hawk, Oser & Summerson(1948) : Practical physiological chemistry, p. 262 (Rose-nheim's test).
- 3) 広瀬平次(1921) : ヒヨリンの組織化学的研究. 東京医学会雑誌, 43 : 888.
- 4) 細川修治, 植谷薫(1953) : 寄生虫体内に於ける所謂広瀬コリン顆粒の分布に就て. 寄生虫学雑誌, 2 : 23.
- 5) 上代皓三(1953) : コリンの定量法. 医事新報, No. 1526, 75.
- 6) 中村敬三(1944) : アレルギーは如何に理解すべきや. 内科及び小児科, 4 : 20.
- 7) 中村敬三(1951) : 免疫とアレルギーの関係を解く最近の諸研究. 臨床, 4 : 853.
- 8) 佐竹一夫(1952) : クロマトグラフ(共立全書)三版, p. 91.
- 9) Schaw, F. H. (1938) : The estimation of choline and acetylcholine, Bioch. J. 32 : 1002.
- 10) Schmidt, F. W. (1907) : Über Cholincadmiumchlorid, Hoppe-seyler's Z. f. phy. Chem. 53 : 428.
- 11) Staneck, V. (1905) : Über das Cholinperjodid und die quantitative Fällung von Cholin durch Kaliumtrijodid, Hoppe-seyler's Z. f. phys. Chem. 46 : 280.
- 12) 鈴木文助, 小幡彌太郎(1940) : 生物化学. 初版, 東京, p. 363.
- 13) Whittaker, V.P. & Wijesundera, S. (1951) : The separation of esters of choline by paper chromatography, Bioch. J. 49 ; Proc. Bioch. Society, XIV.
- 14) 吉沢利雄(1954) : 蕁心臓標本を以て検索し得た蛔虫飼養液中の有害物質に就て. 寄生虫学雑誌, 2 : 180.