

放射性物質 Cobalt-60 照射による蛔虫卵殺滅に関する研究* I.

浅見 敬三** 小林 昭夫*** 齋藤 昭三**

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室 *国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 30 年 8 月 13 日受領)

1934年 Curie-Joliot 夫妻によつて人工放射性元素が発見され、同年 E. Fermi が中性子を照射することによつて多数の元素につき人工放射性同位体をつくり、さらに同じ年に E. O. Lawrence がサイクロトロンによつて強い放射能を有する人工放射性元素をつくることに成功してから、これら放射性同位元素 (radioactive isotope) の利用による学問の進歩は実にめざましく、たとえば radioactive indicator を用いての複雑な生体代謝機構の解明、化学分析さらに悪性腫瘍の治療等、その応用方面も多岐にわたっている。

一方、これら放射性物質の放出する γ 線を用いてする微生物体殺滅への試みも既に 1920 年頃よりみられており、たとえば沢田・大木 (1924) はラジウムの γ 線照射は蛔虫卵に対し、その少量では発育促進的に大量では発育障害乃至は破壊的に作用することを述べている。が、とくに今次大戦以後、米国にあつては国民に蔓延している (約 25%) といわれている trichinosis の防遏のためのその実用をめざした研究が行われている。すなわち核反応炉から大量に製成される radioactive isotope ($^{27}\text{Co}^{60}$, $^{55}\text{Cs}^{137}$ 等) を用い、食肉内の trichina larvae 殺滅の実験とその大幅な実際計画が活潑に展開されつゝある。

trichinosis はわが国にあつては殆んど皆無の状態であるが、これに代つて蛔虫及び鉤虫の淫侵が甚だ高率にみられる。とりわけ蛔虫の主要な感染ルートの一つは野菜を介してのそれと考えられている。もしかゝる radioactive isotope を用いて食品に附着する寄生虫卵を容易

Keizo Asami**, Akio Kobayashi*** and Shyozo Saito**: Observations on the ovicidal effects of irradiation with cobalt-60 on the development of *Ascaris lumbricoides* ova. I (**Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University. ***Division of Parasitology, National Institute of Health of Japan.)

* 本研究は厚生科学研究費の補助によつた。記して謝す。

に殺滅しうるとすれば、将来 isotope の大量入手が可能となつた際には、その公衆衛生的意義は大きい。

以下私たちは将来におけるかゝる実現性を顧慮しつつ、 γ 線の殺卵線量決定を目標に寄生虫卵中最も抵抗力の強いといわれている蛔虫卵を対象として、その殺滅に関する二、三の基礎実験を行った。

材料及び実験方法

1. 虫卵材料

虫卵材料は各回とも屠場にて得られた豚蛔虫につき、虫体の個体差を小さくするため、十数匹分の新鮮子宮内 (下部 1.5cm) 卵をよく攪拌混合したものを使用した。

本試験において単細胞期卵を用いた理由は、卵細胞の γ 線に対する感度は発育の旺盛な時期のものほど高く、したがつてその致死線量は逆に発育期の卵よりも単細胞期の卵の方がより高線量を要するであらうことが予想せられ、予防的な観点から最も安全度の高い殺卵限界線量をまづ求めてみる必要があつたためである。但し、仔虫形成卵の死滅線量もかなり高線量を要するであらうことが想像されるが、これら単細胞期以外の卵に対する γ 線的作用については別の機会にゆづる。

2. γ 線源

cobalt-60 は東大および慶大所有のもの (source の強さはいずれも 40 curie) を用いた。一定の強さの source より照射される γ 線量は照射時間に比例し、距離の 2 乗に反比例することがわかっているため、実験における各線量は source から一定距離、一定時間内に照射せられる実測線量を基準として算出することによつて簡単に求めることができる。

3. 照射の方法

虫卵に対する照射はできるだけ均等であることが必要とされるため、上記虫卵を 1%ホルマリン加寒天平板 (小宮、小林) に極めて薄く (1mm 以下) 塗布するか又は 5%アンチホルミン液に 30 分間浸漬蛋白質膜除去後、蒸留水洗滌を 3 回くり返し、均一な虫卵懸濁液としたものをポリエチレン製小袋に入れ、前後に薄く圧平したものを作製し、

これを被照射材料とした。ホルマリン加寒天平板はメタアクリル酸樹脂による底の平坦な特製シャーレに1%ホルマリン水をメヂウムとし、5mmの厚みに寒天を混入、凝固させたものであり、容器として何れも有機ガラスを用いた理由は、無機ガラスよりも γ 線のself-absorption, secondary irradiationの程度が小さいということにもとづくものである。これらの材料は source に対して一定距離、垂直方向に正しく設置された。たゞしこの場合、材料を source に極めて接近させるときは source 自身はかなり大きな容量を有するため、点中心と見做すことに無理を来し、したがって照射される線量も照射面上部分的に不均一となり、そのため算出される線量の精度もわるくなることが考えられたので、本実験における一連の成績はすべて source より5cm以上の距離にはなして実施し、えられたものである。

4. 照射後の虫卵培養

照射を完了した虫卵は対照卵とともに実験室にもち来り、そのまま27°C孵卵器内に収めて培養を行い(ポリエチレン製小袋に入れたものではホルマリン加寒天平板に移して) γ 線による卵の被曝効果を各週毎に第16週まで観察した。

実験成績

1. 仔虫形成阻止線量

蛔虫単細胞期卵に cobalt-60 による γ 線照射を行い、

感染可能段階たる 仔虫期形成を完全に阻止する線量を求めるため、まづ1.8万レントゲン(rと略記す)から104.7万rにわたる各種線量を照射した。

実験は便宜上104.7万r~8.5万r(照射時間60.6hr.)と17.8万r~1.8万r(照射時間14.8hr.)の2群に分けて実施した。第1表は各線量被曝卵の培養経過にともなつて形成される仔虫期卵の比率を示したものである。この結果によれば、仔虫形成完全阻止線量は培養1週末の観察では4.3万r以上となつてゐるが、2週末では15.3万r以上、3~8週末では11.0万r以上、16週末では15.3万r以上となつており、仔虫形成阻止の限界線量はほゞ11.0万rから15.3万rの間にあるものと考えられる。

また各線量照射卵について培養日数にともなう仔虫期卵の比率をみると、1週末と2週末との間には著しい開きがみられているにも拘らず、2週末と3週以後の比率の間にはさしたる著しい差はみとめられない。

以上の諸点を考えると、10万r以下の比較的少線量照射卵にあつては、被曝の程度に応じて遅延を示しつつも約2週末までは発育をしめし、以後はほゞ均霑にその発育を停止したものと考えられる。

このことは亦、各週末における仔虫形成50%阻止線量を求め、これの動揺を比較してみると、2週末6.8万r、18日目5.7万r(たゞしこれは別の材料での観察)、

第1表 照射線量と仔虫期卵形成率

No.	概算線量 (レントゲン)	線源からの 距離 (cm)	照射時間 (hr)	仔虫期卵百分比 (観察卵数各100)					
				1週	2 "	3 "	4 "	8 "	16 "
1	104.7×10 ⁴	5.0	60.6	0	0	0	0	0	0
2	65.9×10 ⁴	6.3	"	0	0	0	0	0	0
3	45.3×10 ⁴	7.6	"	0	0	0	0	0	0
4	33.8×10 ⁴	8.8	"	0	0	0	0	0	0
5	22.0×10 ⁴	10.9	"	0	0	0	0	0	0
6	17.8×10 ⁴	6.0	14.8	0	0	0	0	/	0
7	15.3×10 ⁴	13.1	60.6	0	0	0	0	0	0
8	11.0×10 ⁴	15.4	"	0	5	0	0	0	1
9	10.0×10 ⁴	8.0	14.8	0	20	20	23	/	12
10	8.5×10 ⁴	17.6	60.6	0	21	20	8	18	2
11	6.4×10 ⁴	10.0	14.8	0	57	59	49	/	64
12	4.3×10 ⁴	12.2	"	0	81	79	72	/	82
13	3.2×10 ⁴	14.1	"	3	83	85	81	/	72
14	2.3×10 ⁴	16.6	"	3	83	93	89	/	81
15	1.8×10 ⁴	19.0	"	4	93	87	89	/	83
16	0	/	0	10	99	99	99	100	99
17	0	/	0	6	97	97	96	/	94

4 週末 5.6 万 r, 16 週末 5.5 万 r と第 2 週以後は 16 週末まで僅かに短縮の傾向を示すのみにとどまっていることによつても裏付けられ、これらのことからさらに、 γ 線による蛔虫卵仔虫形成阻止限界線量は培養 2~3 週の結果より求めてよいように考えられる。

そこで理論的に仔虫形成完全阻止限界線量と全く卵發育に障碍を与えないと考えられる限界線量及び 50% 仔虫形成線量とを求めるため、材料を改め 7,500 r から 8.8 万 r までの比較的少線量範囲 (照射時間 19.5~15.0 hr.) における被曝効果を各線量間の幅を小さくつて詳細に観察し、培養 18 日目における結果に基づき、これより所要線量を求めた。

照射 γ 線量 (x) と仔虫形成阻止率 (y) との関係を図示すると第 1 図の如く S 字曲線となつた。ところで毒物等による所謂致死曲線はすべて累積正規曲線をなすことが知られているので、 γ 線の作用も恐らく同一であらうとの想定のもとに y 軸の百分比の値を $(y-m)/\sigma = t$ にてあらわされる t にあてはめ、これと x との関係を求めてみると第 2 図の如く直線関係を示すことがわかつた。こゝに m は y の母平均、 σ^2 は母分散をあらわす。このことは γ 線の仔虫形成阻止作用においても累積正規曲線が成立することを証明するものであり、これより F_s をもめてみると $F_s = 60.84^* > 18.51 = F_{1/2}^2 (0.05)$ となり、回帰式が成立することが証明された。そこで導き出された回帰式 $t = -4.13 + 0.716 x$ より仔虫形成完全阻止限界線量の理論値を求めると 11.4 万 r となり、仔虫形成 50% 阻止線量は 5.8 万 r でまた全く發育抑制を示さざる線量限界値は 1200 r と推定される。

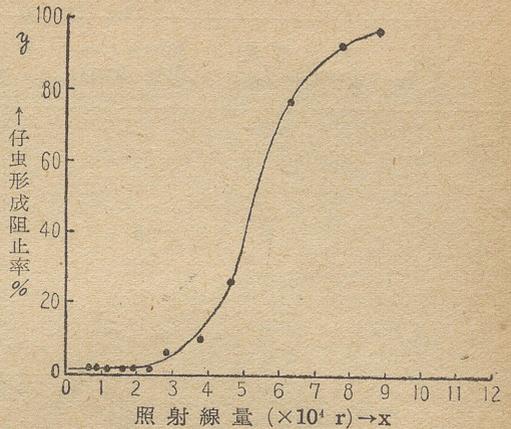
これらの照射実験で仔虫を形成したのものについてはマウスによる試食感染試験の結果、何れも感染能力を有することが確認された。たゞし、これらの仔虫がさらに成熟し、生殖能力を有する成虫にまで達しうるか否かについては不明である。

2. 發育異常卵

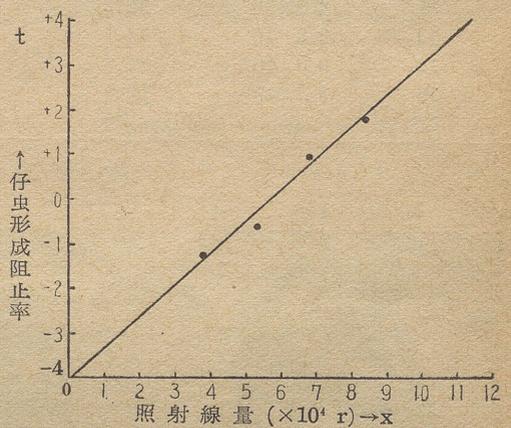
こゝに發育異常卵とは卵細胞の各分割球の大きさの著しく異なるもの、胚や器官形成の程度が部分的に正常と異なるものをいう。(第 3 図 1~3 参照)

元来 X 線やラヂウムによる γ 線照射が細胞分裂機構に障害を与え、分裂異常や畸型の招来をみることにについてはよく知られている事実であるが、寄生虫卵のそれについては河合 (1927) の鞭虫卵における報告、ある種の化学薬品作用時における蛔虫卵のそれについての和泉 (1954)、柳沢 (1955) 等二、三の報告をみるに過ぎな

第 1 図 各種照射線量と仔虫形成阻止率



第 2 図 線量と仔虫形成阻止との関係

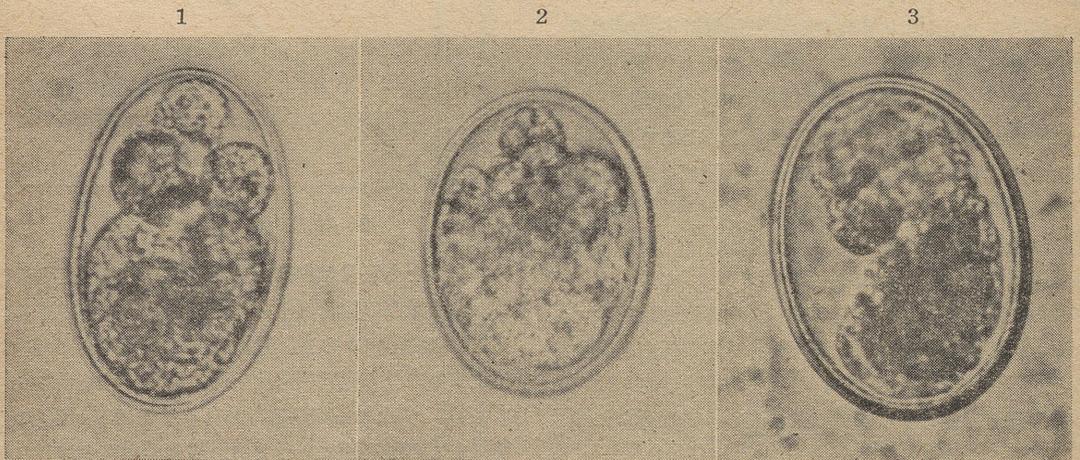


い。もつとも正常蛔虫卵の普通培養時にあつても稀に数%から十数%の發育異常卵の出現を見ることがある。第 2 表は cobalt-60 の各線量被曝卵の培養経過にともなつて生ずるこれら發育異常卵の対生卵百分比を示したものである。すなわち卵割の行われうる 65.9 万 r から 10 万 r 前後までの被曝卵にあつては、異常發育卵は培養日数をかさね發育のすゝむにつれてその比率も増加しており、とくに 11 万 r 以上の被曝卵では 4 週末にはその殆んど全部が發育異常像を示している。これに比し、10 万 r 以下の比較的少線量照射卵にあつては、線量の程度にしたがつてその出現率も急激に低下しており、4 週後の結果をみると 6.4 万 r-87.2%, 4.3 万 r-15.3%, 3.2 万 r-9.1%, 2.3 万 r~1.8 万 r-4.3% となつている。なお、鞭虫卵については河合 (1927) がその種々な時期に X 線を照射してその影響を詳細に観察し報告を行つているが、そのうちの發育異常体の形態についての記載は私

第2表 照射線量と異常發育卵出現率

No.	概算線量 (レントゲン)	線源からの 距離 (cm)	照射時間 (hr)	異常發育卵 百分比			
				1週	2 "	3 "	4 "
1	104.7×10 ⁴	5.0	60.6	0	0	0	0
2	65.9×10 ⁴	6.3	"	22.7	84.9	87.6	98.4
3	45.3×10 ⁴	7.6	"	64.3	97.6	90.7	100.0
4	33.8×10 ⁴	8.8	"	80.4	92.3	93.6	100.0
A 5	22.0×10 ⁴	10.9	"	96.0	95.6	100.0	100.0
6	15.3×10 ⁴	13.1	"	82.8	98.0	100.0	100.0
7	11.0×10 ⁴	15.4	"	92.9	100.0	99.0	100.0
8	8.5×10 ⁴	17.6	"	65.0	82.0	73.0	91.2
9	0	/	0	0.3	0.7	0	0
10	17.8×10 ⁴	6.0	14.8	69.8	98.9	100.0	100.0
11	10.0×10 ⁴	8.0	"	14.0	83.2	74.4	72.3
12	6.4×10 ⁴	10.0	"	9.2	38.6	32.5	37.2
13	4.3×10 ⁴	12.2	"	1.0	15.3	14.3	15.3
B 14	3.2×10 ⁴	14.1	"	3.0	11.8	5.6	9.1
15	2.3×10 ⁴	16.6	"	1.0	11.5	2.1	4.3
16	1.8×10 ⁴	19.0	"	0	7.1	4.3	4.3
17	0	/	0	1.0	1.0	2.0	0

第3図 各種發育異常卵



たちの蛔虫卵での実験のそれとよく一致し興味深い。

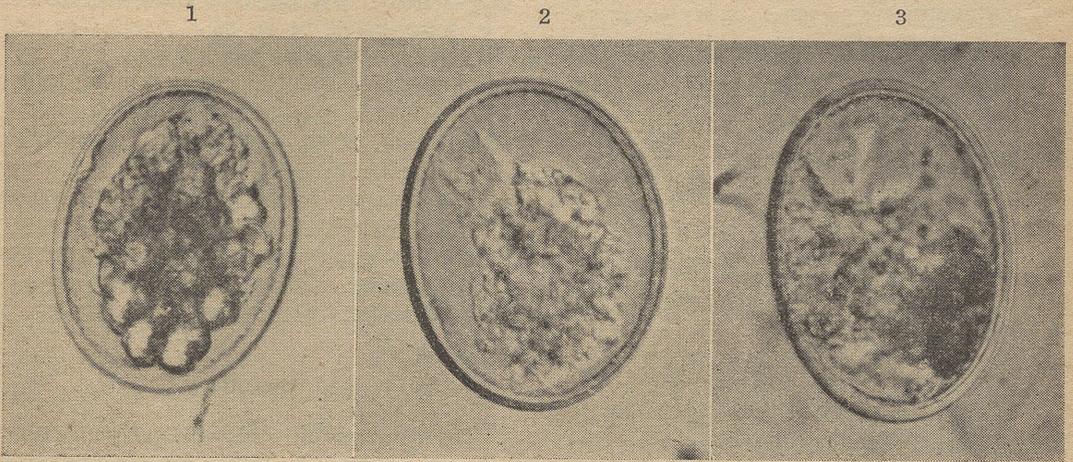
3. γ線照射による卵の変性

こゝに変性蛔虫卵として分類したのは柳沢 (1955) の分類にしたがつて比較的変性度高く不可逆的なものと考えられている6種、すなわち (1) 顆粒形成 (第4図一1), (2) 細胞透明化—a) 細胞質周辺に透明帯の出現するもの, b) 細胞質全体にわたり透明化するもの (第4図一2), (3) 細胞内空洞形成 (第4図一3), (4) 細胞質外胞形成 (大型単胞を形成し転位のみられるもの, 小型胞3コ以上形成のもの) (5) 高度萎縮, (6)

細胞質崩壊等を意味し, 他の可逆的と考えられる諸変性像は凡て正常卵と見做した。

以上の各変性像は変性に陥る直前の卵細胞の發育程度によつて自づから規定されているが如き傾向がみられた。たとえば (2-a), (4), (5) 等は主として単細胞期卵にみられた像であり, (2-b), (3) 等は主として桑椹後期卵にみられた変性像であり, (1), (6) 等是不定であつた。たゞしこれら変性卵の示す末期的 (培養16週未) な像は (1) を主とし, ついで (2-b), (3) の形像を現わしたものであつた。第3表は 104.7万 r から

第4図 各種変性卵



第3表 照射線量と変性卵出現率

No.	概算線量 (レントゲン)	線源からの 距離 (cm)	照射時間 (hr)	変性卵百分比 (観察卵数各 100=)					
				1 週	2 〃	3 〃	4 〃	8 〃	16 〃
1	104.7×10 ⁴	5.0	60.6	56	57	49	63	63(45)	100(100)
2	65.9×10 ⁴	6.3	〃	5	8	9	24	46(44)	100(100)
3	45.3×10 ⁴	7.6	〃	0	4	5	9	69(69)	100(100)
4	33.8×10 ⁴	8.8	〃	3(1)	3	1	11	63(63)	100(100)
A 5	22.0×10 ⁴	10.9	〃	0	3	1	8	89(89)	100(100)
6	15.3×10 ⁴	13.1	〃	0	0	1	1	98(97)	100(100)
7	11.0×10 ⁴	15.4	〃	0	0	2(1)	1	93(80)	99(91)
8	8.5×10 ⁴	17.6	〃	0	0	26	31	72(38)	98(85)
9	0	/	0	0	0	0	1(1)	0	1
10	17.8×10 ⁴	6.0	14.8	1(1)	6(6)	1(1)	2(2)	/	100(98)
11	10.0×10 ⁴	8.0	〃	0	3(1)	21(4)	16(4)	/	88(51)
12	6.4×10 ⁴	10.0	〃	0	5(2)	17(2)	22(3)	/	36(19)
B 13	4.3×10 ⁴	12.2	〃	1(1)	2(1)	7(4)	15(2)	/	18(8)
14	3.2×10 ⁴	14.1	〃	0	3(3)	8(4)	11(1)	/	28(11)
15	2.3×10 ⁴	16.6	〃	1(1)	3(2)	5(3)	8(2)	/	19(7)
16	1.8×10 ⁴	19.0	〃	0	1(1)	7(1)	7(2)	/	17(6)
17	0	/	0	1	0	1(1)	1	/	6(5)

(註) () 内の数値は顆粒形成卵の比率をしめす。

1.8万 r に到る各γ線量照射にもとづく変性卵出現の比率を培養経過にしたがつてあらわしたものであるが、11万 r 以上の高線量被曝群Aと10万 r 以下の比較的少線量被曝群Bとでは、変性卵出現の様相が著しく異なることがわかる。即ち、11万 r 以上の線量照射群においては培養後16週において殆んど 100%の変性卵比を示しているのに、10万 r 以下のそれではこの比は漸次低減

し、2.3万 r 以下では大約20%以下に止まるにいたる。なお変性の形態像からみれば顆粒形成像は11万 r 以上の比較的少線量照射群の殆んど全部を占めている。これに対して透明化、空洞形成等の変性像は専ら10万 r 以下の比較的少線量照射群に限られている。

むすび

cobalt-60 照射による蛔虫卵殺滅実験を行い、下記の

結果を得た。

(1) cobalt-60 照射による 蛔虫単細胞期卵の仔虫形成完全阻止限界線量は 11.0×10^4 レントゲンから 15.3×10^4 レントゲンの間で、これを理論的に推定すると 11.4×10^4 レントゲンとなつた。また 50% 仔虫形成阻止線量は 5.8×10^4 レントゲンで発育抑制の全くみられざる限界線量は 1200 レントゲンと推定された。

(2) cobalt-60 照射によつて 発育異常卵の出現が甚だ高率にみられた。とくに 11.0×10^4 レントゲン以上の被曝卵では 1 ヶ月後には殆んど全部が発育異常像を示した。 10.0×10^4 レントゲン以下の線量では線量の程度に応じてその率は著減をしめした。

(3) cobalt-60 照射時における卵の長期培養 (16 週未) による未期的な変性像は顆粒形成、細胞全体にわたる透明化、細胞内空洞形成の三者が主要なものであつた。このうち、顆粒形成は 11.0×10^4 レントゲン以上の比較的高線量照射群卵の殆んど全部を占め、この他低線量照射群 (10.0×10^4 レントゲン以下) 卵の変性の一部を担う最も主要な変性像であつた。これに対して透明化、空洞形成又は両者合併等の変性像の出現は 10.0×10^4 レントゲン以下の比較的低線量照射群の卵に限られていた。培養 16 週未における変性卵出現率は 11.0×10^4 レントゲン以上の高線量照射群では 99~100% を示し、 10.0×10^4 レントゲン以下の低線量照射群では線量に応じてその率も十数% から数十% までの種々の値をしめした。

稿を終るにあたり御指導、校閲を賜つた小宮義孝部長、松林久吉教授に対し深甚なる謝意を表する。また γ 線照射に際して種々御助言と御便宜を与えられた石崎達博士、東大及び慶大医学部放射線科の諸先生に謹謝する。

文 献

1) Joseph E. Alicata and George O. Burr (1949): Preliminary Observations on the Biological Effects of Radiation on the Life Cycle of *Trichinella spiralis*. Science, 109 (2841), 595-596. — 2) H. J. Gomberg and S. E. Gould (1953): Effect of Irradiation with Cobalt-60 on Trichina Larvae. Science, 118 (3055), 75-77. — 3) S. E. Gould, M. D., H. J. Gomberg, P. H. D. and F. H. Bethell, M. D. (1953): Prevention of Trichinosis by gamma Irradiation of Pork as a Public Health Measure. Am. Jour. of Public Health and the Nation's Health, 43 (12), 1551. — 4) S. E. Gould (1954): Recommendations adopted by second National Conference on trichinosis. Am. Jour. of Clinical Pathology, 24 (5). — 5) 石崎達 (1953):

蛔虫の臨床的研究 (1) 直接塗抹標本による蛔虫卵数定量法とその応用. 寄生虫学雑誌, 2 (5), 15.— 6) 和泉精一 (1954): 数種市販消毒薬の蛔虫卵殺滅効果に就て. 東京医事新誌, 71 (1), 30.— 7) 河合一郎 (1927): 鞭虫卵に及ぼす X 線の作用. 慶応医学, 7 (1), 35.— 8) 小宮義孝, 小林昭夫: 未発表. — 9) 尾崎嘉篤, 山田幸孝 (1954): 放射能による食品の殺菌保存. 公衆衛生, 15 (6), 83-86. — 10) 沢田卓, 大木常松 (1924): 蛔虫 (*Ascaris lumbricoides*) ノ卵子ニ対スルラヂウム放射線ノ影響. 愛知医学会雑誌, 31 (5), 969-994. 11) 鳥居敏雄, 高橋晁正, 土肥一郎 (1954): 医学、生物学のための推計学. 表 5.— 12) 柳沢十四男 (1955): 蛔虫卵変性に関する研究 (1) 化学薬品に依る変性蛔虫卵の形態に就て. 寄生虫学雑誌, 4 (4), 348-355.

Summary

The treatment of foods with radioactive isotope to preserve foods by killing micro-organisms has been studied in foreign countries for these several years. In Japan, it is one of the most important problem to control ascaris infection by killing the embryonated eggs attached on vegetables. The authors tried to determine the doses of gamma ray which prevents ascaris eggs to develop to larval stage.

The unsegmented *Ascaris lumbricoides* eggs were exposed to gamma radiation from 40 curie cobalt-60. After the irradiation, the eggs were removed to formalin-agar medium and incubated at 27°C for several weeks. During the period, the development of eggs were recorded. The results of the irradiation were as follows:

No eggs exposed to gamma ray doses of 153,000 r or more were able to develop to the larval stage. The complete inhibitory doses of embryonation statistically estimated was 114,000 r and the absolutely ineffective doses was 1200 r. In general, when the unsegmented eggs were irradiated with relatively small doses, the development delayed roughly in proportion to the doses.

By the irradiation, abnormal development of eggs were seen in high percentages. Especially, when the eggs were exposed to the doses more than 110,000 r, almost all of them showed abnormal feature one month after the exposure.

It has been observed that the relatively strong application of gamma ray caused the granular degeneration of the cells. By the irradiation of rather small doses of gamma ray (less than 100,000 r), cytolysis and vacuole formation of eggs were the degenerative features most frequently met with.