

蛔虫卵変性に関する研究

(1) 化学薬品による変性蛔虫卵の形態に就て

柳 沢 十 四 男

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和30年8月25日受領)

従来虫卵殺滅の立場から化学薬品或は物理的要因に対する虫卵の抵抗性の研究が多数報告されて来た。(森下(1949)¹⁾。しかし之等多くの研究は虫卵を各種殺卵因子に接した後、之が培養を行ひ、虫卵の仔虫形成と云ふ観点よりその効果を検討したものであつた。虫卵変性の機構が如何なる様式で行はれ、其の結果如何なる変性形態が虫卵に起生されたかに関しては殆ど報告されて居ない。Brown(1927²⁾)は寄生虫卵(蛔虫卵鞭虫卵)の野外に於ける發育状況を観察し其の時虫卵の各種發育段階と共に退化虫卵と云う項目を設けて、卵細胞内容の顆粒化、空胞、透明、等を示す虫卵を分類呼称した。又小泉(1923³⁾)は虫卵の生死鑑別を形態学的に見る為変性形態を空胞形成、溶解、収縮、陥没等に分け蛔虫卵の変性形態を區別して居る。而し乍ら之等の形態学的名称のみでは虫卵の変性を満足に表現し得ないのみでなく、変性形態の移行及び変性程度の軽重も又論ぜられて居はる。

今回は、蛔虫卵変性に関する研究の第一報として、尿尿中に於て蛔虫卵殺滅試験を種々の化学薬品で行ひ其の際出現した各種変性虫卵の形態を記載分類しあはせて形態の移行及び変性の程度を観たので此処に報告する次第である。

材料と方法

本研究に用ひた材料は蛔虫重感染者尿中の単細胞成熟卵である。又用ひた薬剤は二硫化炭素、芥子油、ネオデクロン、亜硝酸ソーダである。

先づ尿：尿=1：5、又は尿：水=1：5に混合して尿尿、尿水混合液を調製する。二硫化炭素、芥子油は其の四倍量のエマルゲンと混和し、上記尿尿液で各種濃度に稀釈し三角コルベン(容量100cc)に薬剤—尿尿作用

Toshio Yanagisawa: Studies on denaturated ascaris eggs. Morphological observation on the denaturated Ascaris lumbricoides ova treated with chemicals. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo.)

系総量50ccを採りパラフィン紙で口を覆つた。ネオデクロンは乳化製品で乳化の必要なくその儘使用した。亜硝酸ソーダは尿尿混合液を用ひず尿水混合液を用ひ之を塩酸にて濃度0.1%となる様に酸性化し亜硝酸水溶液を混合して作用系中の亜硝酸量0.4%を250倍液として用ひた。

浸漬条件は10°C、30°Cで3日、7日間である。一定温度一定期間浸漬後その10ccを作用系より尿コップに採り水を加へて攪拌後放置し一時間経過後に上澄液を取り更に之に水を加へて上記の操作を三回繰返し後遠心沈澱にて2回水洗後残渣を瓦培養法にし28°Cで培養した。培養後0、1、2、4、8、12、16週目に100ヶ以上の虫卵の發育変性状況(%)を観察し記載し其の%を検討した。

猶虫卵観察に當つては40~30%次亜塩素酸ソーダ液を用ひ蛋白膜除去虫卵によつて観察した結果である。

観察結果

1. 單細胞虫卵の変性

i) 変性像の種類と名称

上記化学薬品処理虫卵を正常單細胞虫卵(*1—1)と比較して形態異常と認められたものに名称を附し其の形態の特徴を附記すれば下記の如くである。

a) 顆粒化

卵細胞内に経約4μの顆粒が多数出現する。此の様な虫卵細胞質に於ては色調の暗色化が認められた。(1—2, 3)

b) 萎縮

卵細胞は全体として収縮し、其の初期に於ては正常卵細胞で認められる卵殻密着部が遊離する。(1—4)

c) 転位

卵細胞は楕円形卵殻の一極に偏位する。斯る変性像には萎縮及び下記の胞形成の変性像が伴ふ場合が多い(1—5)。

d) 胞形成

* 附図参照

卵細胞が半月形部に透明な胞状体を形成する。胞状体は更に之を大型単胞(1-6) 小型単胞(1-8), 小型複胞(1-7), に区別し得る。小型単胞形成卵は培養結果より見て其の一部は発生し仔虫を形成するものもあつた。大型単胞は、半月形部の一侧に形成されるのが通常であるが時に両半月形部に夫々一ヶ大型の胞が形成され細胞実質が中央に扁平状に圧縮される場合もあつた。

e) 透明化

卵細胞質の一部に透明部が現はれる。透明化は更に之を二つに分類出来た。即ち、細胞質の不定位に形成出現する不定位透明化(1-9)と、細胞質の周縁部に同心円状に観察される周縁透明化(1-10)の二種である。猶子宮内よりの摘出虫卵で卵殻形成後時間の経つて居ない若い虫卵で前者と紛らはしき場合があるが之等は虫卵培養後分裂直前迄には細胞質の透明部と有色部とが混合されて均一化した細胞質となつて占ぶ。従つて長期培養により生常虫卵細胞質に透明帯が残存する事はない。又周縁透明化の初期に於ては透明部が細く細胞質の周縁に形成される為に卵殻接着部に間隙を形成したかの如く観察され萎縮の初期と区別するのが困難な場合もある。

f) 変形

卵細胞が正常の球形ではいものである(1-14, 16) 又細胞が卵殻内に充満し両極の半月形部が消失した虫卵が観察された(1-16)。斯る虫卵は無半月形部虫卵として分類した。但し子宮内摘出虫卵で卵殻形成後間もない若い虫卵では卵細胞が卵殻の全内側に密着しているので上記無半月形部虫卵との区別は困難である。

g) 卵殻膜剝離

正常虫卵に於ては卵殻膜は卵殻の最内側に密着する内面波状を呈せる膜であるが、変性虫卵に於て該卵殻膜が卵殻より一部剝離したものが観察された。(1-15)。

h) 崩壊

卵細胞崩壊して卵細胞内容の微小顆粒はブラウン運動を示している。斯る変性像は上記透明化、胞形成、無半月形部変形虫卵等に於ても夫々の変性像に相俟つて観察される。

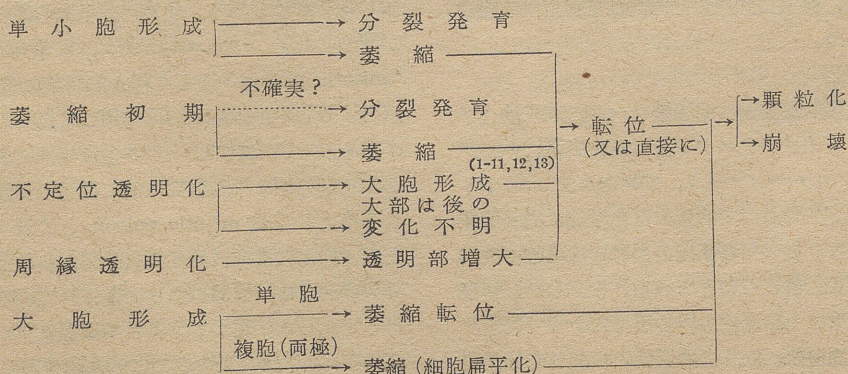
以上は変性形態の主要な像を列举説明したものであるが上記 a-h に到る変性像は必ずしも単独に出現するのみではなく、二者時には三者の並合した像も多く観察された。即ち顆粒化-萎縮(1-3), 萎縮転位(1-5), 変形-透明化(1-14) 等である。

ii) 変性像の相互関係

上記変性像と変性の強弱との関係、引いては変性像相互の移行関係を知る為に次の三つの観点より培養虫卵發育変性%(数値)を検討した。1. 同一薬品・同一浸漬条件・同一培養期間に於ける変性像と薬品濃度との関係。2. 同一薬品・同一浸漬時間・同一濃度・同一培養期間に於ける浸漬温度と変性像の関係。3. 同一薬劑・同一浸漬条件・同一濃度に於ける培養中の各種変性像の出現率の変化。即ち第一は薬品濃度の高い方に、第二は浸漬温度の高い方に強度の変性像が出現する事、第三は培養初期に出現する像は後期のそれよりも軽度の変性像である事を前提としたものである。

以上の観点より強度の変性像と認められるものは萎縮転位、大胞形成、顆粒化、崩壊で、之に続いて週縁部透明化である。軽度のものとして初期萎縮、小単胞形成等である、之等二群の中間に不定位透明化、複小胞形成がある。変形(無半月形を含む)は其の出現が散発的であり、其の出現率も低く移行及び濃度、浸漬温度と明確な関係は認められなかつた。

更に判明した変性像の移行形式を示せば下記の如くである。



2. 多細胞(分裂)虫卵の変性

薬剤の作用が種々の原因に依つて発生中の虫卵に種々の形態変化を齎す場合がある。即ち蛔虫卵の二細胞期より仔虫期に至る期間の変性像を以下に述べよう。

a) 分裂異常

分裂異常とは分割球の不等なる場合で其の発生初期に於ては割球が充分大きい為其の不等を明瞭に認識する事が出来る(2-1, 2, 3, 4)。しかし発生後期に於ては分割球は微小となり各割球間の大小を区別する事は困難である。しかし分裂速度の胚に於ける部分的相異は、胚全体の形態の異常と云ふ点に於て正常の胚と区別する事が出来た(2-5, 6, 7, 8)。即ち異常分裂は発生初期に於いては分割球の不等、発生後期に於ては胚全体の形態の異常として之を認め得た。猶、胚形態の異常は所謂桑実期後期の前後に比較的多く出現した。其の後の蝌蚪及び仔虫期の胚の異常形態(2-6, 7, 8)は、比較的少い。胚に於ける分裂速度の部分的相異は当然發育段階の二段階にまたがる胚の出現を齎した。(2-4, 8)。初期分裂期—桑実期、桑実期—蝌蚪期等が認められた。

b) 分割球及び胚の変性

分裂虫卵の変性に分割球自身の変性が屢々認められた(3-1, 2, 3)。分割球の透明化、顆粒化、胞形成等が之である。透明化は、一般に分割面に近い部分に現はれる事が多い。単細胞変性の胞形成後細胞内容が胞内に移行し二細胞期の一分割球の透明化と区別し難い場合もあつた(3-1)。桑実期以後の胚に於て胚内容に空胞状構造が現はれた(3-4)。又桑実期胚に見られる一極の光輝部が異状に増大し遂に胚全体が透明化する場合もあつた。之等を胚の変性と呼称した。前者の空胞構造は時間の経過と共に胚内に増大分割球は互に遊離遂に胚は透明無構造に迄変性する(3-5)。猶之等割球及び胚の変性は、前項異常分裂と併行して起生する場合が非常に多かつた。

検 討

今回の試験に用いた薬剤は亜硝酸ソーダ、芥子油(アリールスルフォ・イソチアニド)、二硫化炭素、ネオデクロン(パラデクロ・ベンゾール、ブロムエチレン、トリクロルエチレン等)であつて直接には化学的に夫々関係の無いものである。従つて各薬剤の虫卵変性誘起の機構は夫々特有な形式に依るものと考へられる。しかし観察に依つて得た結果は上記変性形態の項目によつて判明する如く数種の変性形態に依り虫卵変性の状況を充分表現

出来得たのである。従つて斯様な虫卵変性形態の各種薬品に依る類似性は用ひた薬品の作用機転の類似性を物語るものでなく、変性の末期に於ける形態的変性の類似性を現はして居るものと考へられる。本実験に用ひた薬剤以外の二、三の薬剤に就て行つた変性卵の観察に於ても上記変性形態の類似性が充分証明された。ちなみに用ひた薬品は次のものであつた。マデロン—100(エチールクサンタート)マデロン—200(デチオグリコール酸曹達)オボトラン(パラクロロ・フェニール・パラクロロベンゼニール・サルフォネイト)DN(デニトロ・ヘキソール・フェノール)である。更にCo⁶⁰によるγ線の殺卵作用を検した小林等(1955⁹⁾の研究結果に於ても蛔虫卵変性形態の類似性を認める事が出来た。猶、此処で云う変性形態の類似性は、観察の項で掲げた数種の変性形態によつて各種化学薬品による変性形態を充分表現し得ると云う事であつて、その出現率迄が薬品によつて同じであると云う意味ではない。事実週縁部透明化は二硫化炭素に異常分裂は芥子油等に於て比較的高率に出現観察された。

異常分裂は、芥子油に於て非常に高率に出現する事は、既に国井等(昭29⁹⁾が報告しているが今回の場合に於てもその臨界濃度附近に高率に見られた。之と同じ現象がナトリウム・アザイド(NaN₃)に於ても見られている。しかし同じくチクローム系の抗代謝物質であるシアンカリに於てはそれ程に高率には、異常分裂が見られなかつた(未発表)。両れにしても斯る異常分裂の高率出現が芥子油、アザイドに見られる事は之等の薬剤が他の薬剤とその変性機構が異なるものであらうと思はれる。唯単に異常分裂が変性の二次的現象として軽度の変性即ち単細胞期に受けた軽度の変性が多細胞期に出現したとのみには受けとれないものであつて若し二次的変性とすれば他の薬剤の有効濃度の限界附近に於て同様に多く出現し得る訳である。此処に芥子油の変性機構の特異性が認められる。一方コルヒチン、尿素等が所謂分裂毒‘mitotic poison’として休止期細胞に認む可き変化を示さず分裂中の細胞にのみ作用して之を阻止せしめる事が知られて居る(1952⁹⁾。芥子油処理に依る虫卵の変性が休止期の即ち単細胞期に於て前述の変性形態が認められる事より所謂 mitotic poison とは云へはいが5000倍と云う様な低濃度に於て異状分裂が多数出現する事は、分裂毒的な作用機構が多分に含まれている事を推察出来得るであらう。従つて筆者の多細胞虫卵の変性は、和泉氏⁹⁾の云う単細胞変性の二次的現象としては勿論の事

所謂 mitotic poison としての現象も共に含まれるものである。

異常分裂は、分裂初期より桑実期後期迄に多数出現し、蠕蚪、仔虫期の胚の異常形態は比較的少い。蛔虫卵発生段階の桑実期後期は、発生学上の囊胚期に既にあり此の期は細胞の増殖のみでなく細胞の位置の移動や機能の分化が初まる時であつて之が為めに異常分裂の過程も此の期以上に進み難いものであらうと考へられる。

著明は変性形態の一つである胞形成の胞の物質は従来脂肪球と考へて居た向きも多かつたが筆者が Sudan III 染色を施した結果胞状物質は全く Sudan III に染色されず細胞実質(有色部)内に Sudan III 可染物質が多く認められた。蛔虫卵の熱処理に依り卵細胞より分りした滴状物質は、明らかに Sudan III により濃染され、強く虫卵を圧すると此の可染物質が卵殻内で移動し且つ互に癒合してより大きな滴をなす事が観察される。従つて薬剤に依り形成された胞状物質と温熱処に依り形成された滴状物質とは全く異なる物質と考へられる。此の胞状物質は、現在透明質と考へている。附図(1—11)は、透明化であるが此の透明部が漸次増大し細胞の実質と分りして来て、(1—12)、(1—13)の如く胞形成と同様な変性形態を取るに到るのである。

胞形成虫卵中、小単胞形成(1—8)のみ見られる虫卵は、見らかに一部発生が可能であつて充分正常な仔虫を形成する。此の形態は従つて一部正常虫卵にも出現する場合もあり又変性形態の軽度のもので可逆的変性の場合とも考へられる。前者の場合は、第二次極体又はその残体と推察される。

次に変形虫卵の内、無半月部虫卵に就いて述べる。正常の蛔虫卵形成に於て、卵殻形成完了直後迄は、卵細胞は卵殻と密着し半月形部を有しない。卵殻形成後両極に於て卵細胞は、卵殻より分りして球形となるのである。従つて無半月形部虫卵の成因を二つ考へる事が出来る。一つは、上記未成熟卵が子宮下部に混入して居り之が正常虫卵の薬剤処理変性卵と混入して来た場合、一つは単細胞が変性によりその形態が破壊されて卵殻内に充満した場合である。しかも此の変性卵の出現頻度は非常に低く且つ散発的なる為はその成因は現在の処決定し兼ねる状態である。

上記変性形態の外に卵細胞の色調の変化が起る。細胞質変性に依り其の分散相粒子の変化は、屈折率の変化を齎するものであつて蛔虫卵に於ては変性の形態的变化の未だ生ぜざる内に細胞質は其の色調が暗色化するのが認

められる。形態変化に先行する卵細胞の屈折率の変化は、虫卵の変性程度を知る為に重要な特徴をなすものであるが虫卵々殻除去による裸の卵細胞が得られぬ為に細胞質の屈折率測定は未だ不能である。

次に変性形態と変性の程度即ち虫卵生死の鑑別の問題であるが、如何なる変性形態が不可逆的形態であるかを決定する事が今後残された所である。而して現在上記変性形態の中で顆粒変性、強度の萎縮及び之に伴う転位等は明に死卵と認められる。現在細胞質変性と細胞質凝個の関係、即ち細胞質の不可逆的凝固と変性形態との関係を検討中である。

摘 要

二硫化炭素、芥子油、亜硝酸ソーダ、ネオデクロンの実験室尿尿内蛔虫卵殺滅効果を検し、其の際出現した虫卵の細胞の各種変性像の分類、形態移行を観察整理した。

1) 単細胞蛔虫卵の変性は、顆粒化、萎縮、転位、胞形成、透明化、変形、崩壊に分類され、之等変性形態は単独或は二種以上の変性像が相伴う場合も多い。上記変性形態と変性程度との関係を検し、萎縮、大胞形成、顆粒化、崩壊等は変性の強度の場合に見られ、之に続き週縁部透明化更に不定位透明化複小胞形成が中程度変性像として認められた。最も軽度の変性としては、萎縮初期、小単胞形成等がある。之等変性像の移行形式は、一般に変性軽度のものから変性の強い像へと移行した。

2) 多細胞分裂虫卵の変性は、之を二群に分類し異常分裂卵と分割球・胚の変性卵とに分けた。異常分裂卵は分割球の不等、胚全形の異常によりて正常卵と区別し、分割球に於ける変性は概ね単細胞変性形態に準じて分類し、胚の変性は主に桑実期以後の胚に於ける透明化、胞状構造の出現等が見られた。

3) 上記変性形態は薬剤の種類に殆ど関係なく出現し、化学薬品に依る虫卵変性形態は筆者の提出した変性像で充分表現出来得た。しかし薬剤により多少の変性像出現率に変化は認められた。

4) 芥子油に依る異常分裂像の高率出現、異状分裂虫卵、小単胞形成、大胞形成卵の胞物質、無半月形変形虫卵等に関して検討された。

稿を終るに臨み本研究に対し重要な御教示を賜つた予研寄生虫部々長小宮博士に衷心より感謝の意を表します。猶お本研究の為種々援助を戴いた熊田三由君にお礼申し上げます。

文 献

1) 浅見敬三, 小林昭夫, 齊藤昭三(1955): 放射性物質 (obalt-60) による蛔虫卵殺滅に関する研究 I. 寄生虫学雑誌. 4(4), 331-336.—2) Brown, H. W. (1927): Studies on the rate of development and viability of the eggs of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* under field conditions. J. Parasit., XIV. p. 1-00.—3) Hughes, A. (1952): Structural aspects of cell physiology. Inhibitors and mitotic physiology., Symposia of the society for experimental biology, No. 6. p. 256-264. Cambridge Univ. Press.—4) 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), 29-33.—5) 小宮義孝(1954): 新しい駆虫剤と殺卵剤. 公衆衛生, 15(6), 41-46.—6) 国井喜章, 池内まき子(1953): 蛔虫卵の芥子油処理. 農技研報告, H(6), 55.—7) 森下薫(1949): 蛔虫及び蛔虫症. 永井書店. 大阪.—8) 小泉誠治(1923): 蛔虫の發育に関する研究(第二回報告). 東京医事新誌, 2322.

Summary

Morphology and its relations of degenerated ascaris eggs with chemicals (carbon disulphite, mustard oil, sodium nitrite and Neo-Gikuron) were studied.

1) Denaturated eggs at mono-cell stage, were morphologically classified as follows: 'Granulation', 'shrinking', 'deflexion', 'bubbling', 'hyalination', 'cytolysis' and deformation of egg cell and 'stripped shell-membrane'. Two or more of these degenerating figures were found on a egg frequently. And they were grouped roughly according to the degree of denaturation as follows: shrinking, large bubbling, granulation and cytolysis were the most denaturated figures. Hyalination and small poly-bubbling were moderate ones and slightly shrinking and small mono-bubbling were the slightest. Transformation among these figures was, in general, from more slightly denaturated ones to more serious.

2) Denaturation of multicellular embryo was classified as follows: a) abnormal cleavage and

b) denaturation of blastmeres and embryo. the former was characterized as inequality of each blastmere and abnormal form of embryo. The latter, as denaturation of each blastmere, which had resemblance to that of mono-cellular eggs, and of embryo, in the case of which hyalination, granulation and bubbling were observed.

3) Above-mentioned denaturated figures were able to employed enough to express the denaturated eggs with various chemicals.

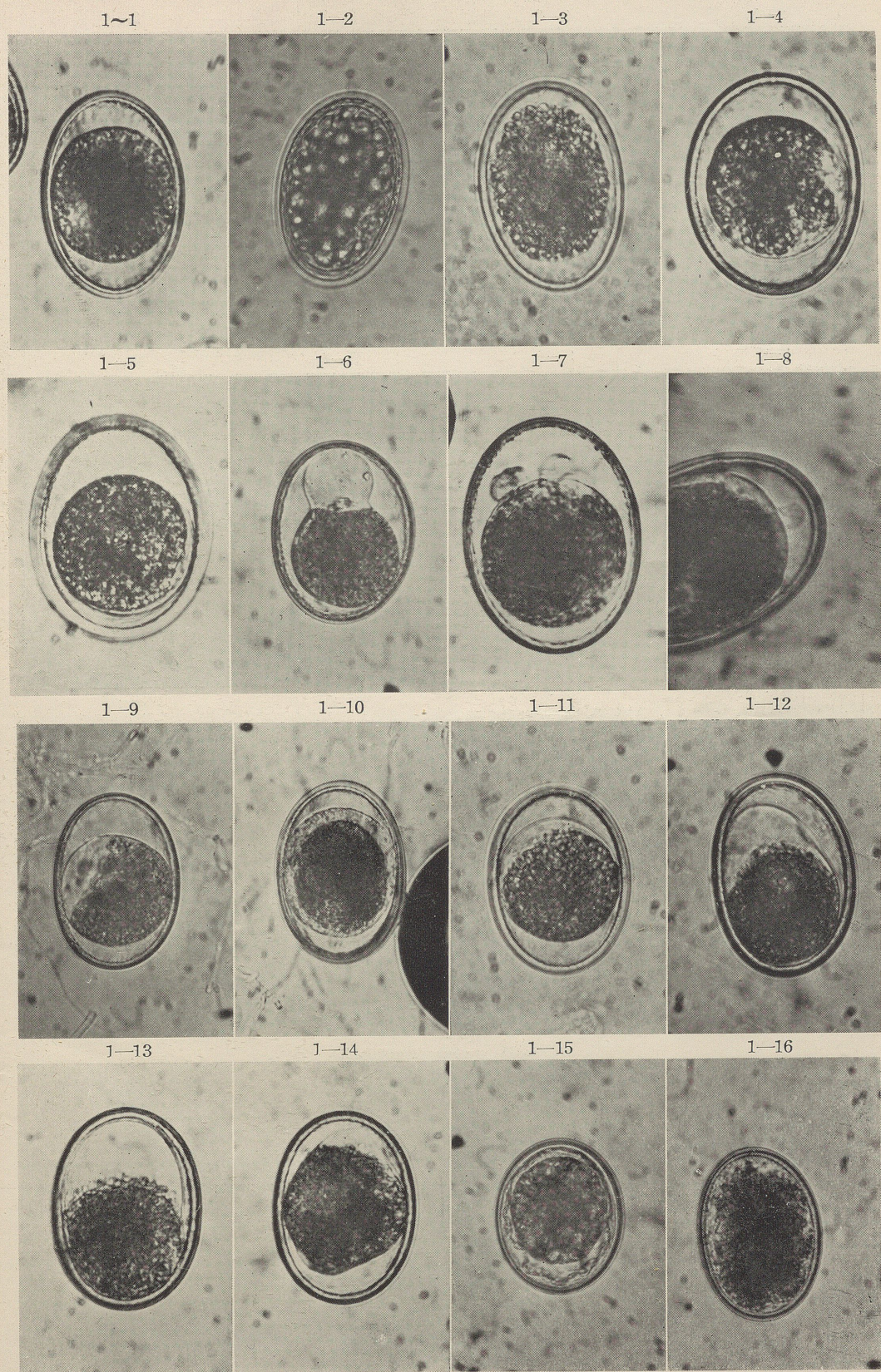
4) Abnormal cleavage caused by mustard oil, small mono-bubbling, bubble substance and no semicircular space in deformation were discussed.

写真説明

(虫卵はアンチフォルミンにて蛋白膜除去)

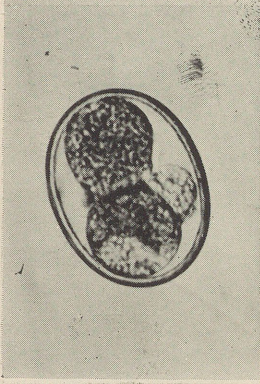
1. 単細胞変性虫卵
 - 1. 正常単細胞蛔虫卵
 - 2. 顆粒化
 - 3. 初期顆粒化及び萎縮
 - 4. 萎縮及び一部不定位透明化
 - 5. 転位及び萎縮
 - 6. 大型単胞形成
 - 7. 小型複胞形成
 - 8. 小型単胞形成
 - 9. 不定位透明化
 - 10. 周縁部透明化
 - 11. 12. 13. 透明化より大胞形成への移行
 - 14. 変形及び不定位透明化
 - 15. 卵殻膜の剝離
 - 16. 無半月形変形虫卵
2. 多細胞分裂異常虫卵
 - 1. 2. 3. 分割球不等(分割初期)
 - 4. 上部分割球は二細胞期分割球, 下部胚は桑実期
 - 5. 胚の異常形態桑実期
 - 6. 蛻蚪期の異常胚, 一部透明光輝部多し
 - 7. 蛻蚪期の異常胚
 - 8. 一部仔虫期, 一部蛻蚪期の異常胚
3. 分割球及び胚の変性
 - 1. 2. 分割球透明化
 - 3. 胞形成
 - 4. 桑実期後期の胚中に於ける胞状構造の出現
 - 5. 胚細胞の分離透明化

柳沢十四男論文附圖

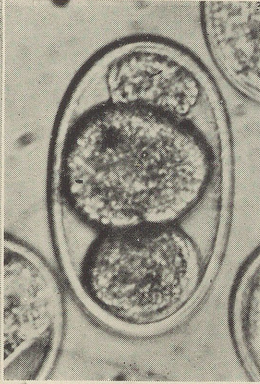


柳沢十四男論文附図

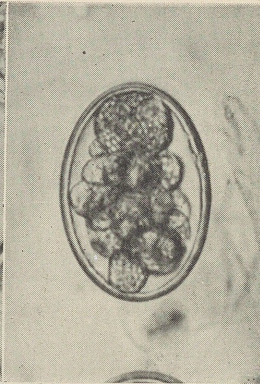
2-1



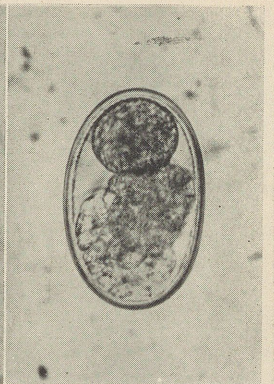
2-2



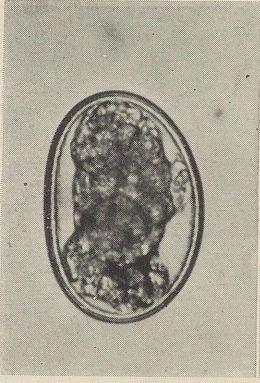
2-3



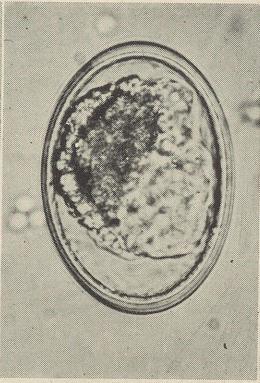
2-4



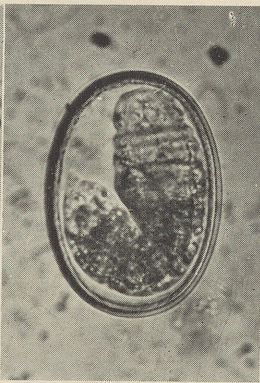
2-5



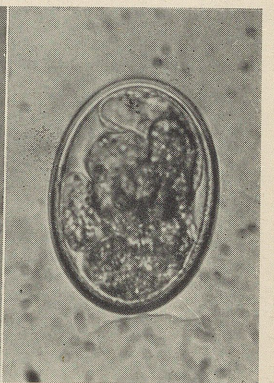
2-6



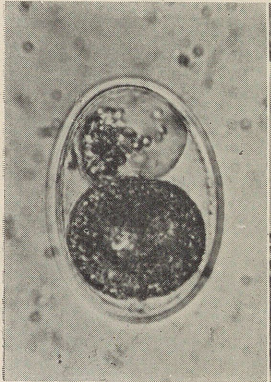
2-7



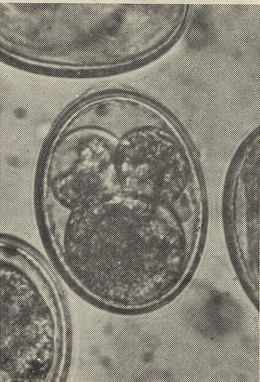
2-8



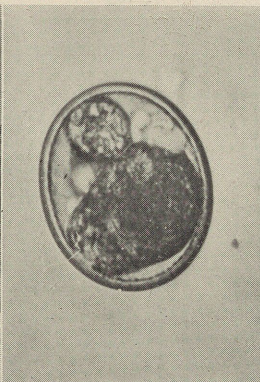
3-1



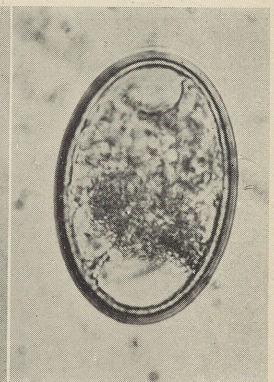
3-2



3-3



3-4



3-5

