

蛔虫体腔液内無機成分に就て

久津見晴彦 石崎 達

国立予防衛生研究所寄生虫部

窪田 久子

東京女子医科大学医化学教室

(昭和 31 年 8 月 2 日受領)

はしがき

著者の一人石崎は蛔虫の体外飼育の研究に於て飼養液内無機成分の影響が無視出来ないことを認めたので、蛔虫の運動を中心にみた飼養液内無機成分の影響を発表した(石崎他1957)。この場合に飼養液内無機イオンが蛔虫体腔液内無機イオンと如何なる関係にあるか知る必要がある。そこで本論文においては体腔液内無機成分の内 Na, K, Mg, Ca の 4 種 (イオン化していのか否かはこの場合問題にしなかつた) の正常値を中心に 0.95% NaCl 液及び Locke 改変液 (NaCl 0.95%, KCl 0.042% CaCl₂ 0.024%, NaHCO₃ 0.015%) 内に飼養した場合のそれらの変動を追加して報告する。

体腔液採取法の吟味

体腔液の採取法は小泉 (1954) によれば頭端を上に向

けて固定し、蛔虫を垂直に下げて尾端を小さく切断し、自然に体腔液を滴下させる方法が用いられている。

私達の方法はこれを基準とし、果してこの方法でよいか、又採取能率をよくするにはどうすればよいかという点を吟味した。即ち基準方法として、木綿糸で頭端をむすび垂直に下げ、出来るだけ組織を損傷しないように尾端の肛門下部で切断し、体腔液を自然に出させた (b)。これに対し流出能率を増すために頭端に 1/16 皮下注射針を刺入した場合 (a) も行つた。又この基準法では組織液が混入するかもしれないので、尾端切断でなくて尾端に 1/16 皮下注射針を刺入しそれを通じて体腔液を流出させる方法も試み (d)、これに対し能率をよくするように頭端にも注射針を刺入したものもある (c)。この場合は理論的には体腔液が純粋に採取出来ると思われる。

第 1 表 豚蛔虫体腔液採取法の吟味

採 取 方 法	使用 虫数	一 隻 当 り 採 取 能 率		体 腔 液 内 無 機 成 分			
		0.5cc 流出時間	1 時間採取量	Ca mg/dl	Mg mg/dl		
尾 端 切 断 (肛門下部)	(a) 頭端に皮下注射針を刺す	5	10.8 ± 5.6 分	0.65 ± 0.12 cc	原液	16.0	8.5
					上清	15.0	8.5
	(b) 否	5	32.2 ± 10.1 分	0.61 ± 0.13 cc	原液	15.5	9.0
					上清	15.2	8.5
尾 端 に 皮 下 注 射 針 を 刺 す	(c) 頭端に皮下注射針を刺す	5	非常に能率が悪い				
	(d) 否	5	採取不能				

註：体腔液成分分析には各 5 隻ずつの体腔液を集めて使用した。

*Haruhiko Kutsumi, *Tatsushi Ishizaki & **Hisako Kubota: On inorganic substance in body fluid of *Ascaris suilla*. (*Department of Parasitology, National Institute of Health Tokyo, **Department of Biochemistry, Tokyo Women's Medical College, Tokyo)

上記 4 組の採取方法に使用した蛔虫は屠場で豚の腸から直接採集し 0.95% NaCl 液に入れ 37°C に保温した魔法瓶に入れて持ちかえつた元気な♀の豚蛔虫 (体重 4 ~ 5 g) である。各組の使用隻数は各 5 隻ずつである。

実験成績を一覧表で示すと第 1 表のようになった。

理想的に純粋に体腔液を採取しようとした(c)及び(d)組は非常に採取能率がわるく実際問題として採取不可能であった。

そこで基準方法(b)と私達の考えた改良法(a)の比較だけを行った結果になった。(a),(b)2群の採取能率を比較するために蛔虫1隻から体腔液0.5ccが流出するに要した時間をみると,(a)では平均10.8分,(b)では平均32分であった。この差は一元配置法で検定してみると(増山, 1949)5%以下の危険率で有意である。即ち頭端皮下注射針刺入群では基準法の $\frac{1}{3}$ の時間内に0.5ccの体腔液が流出し能率がよい。

次に1時間放置した場合の体腔液採取量をみると、これは(a)(b)両群とも同一量であった。1時間以内には流出し易い体腔液は出尽すものと思われる。

採取した体腔液は紅褐色の透明な液であるがよくみると軽度に混濁があり有形成分を含んでいる。

体腔液中の無機成分の正常含有量

(1)採取方法による無機成分含有量の差

採取方法によつては体腔液に混じて、内臓組織、虫卵、精液、腸内容等が出て来る危険がある。そこで上記のように肛門をさげて尾端を切断するのであるがそれでも組織損傷の危険がある。そこで第1表に示したように含有無機成分量を比較してみた。

CaとMgについてしらべたが採取原液と2000回5分遠心沈澱上清との間に含有量の著しい差はみとめられなかった。又頭端に注射針を刺入した影響もみとめられなかった。

そこで私達は以下各種の実験に使用した蛔虫体腔液は私達の改良法、即ち頭端に $\frac{1}{4}$ 皮下注射針を刺入し、尾端を肛門下部で切断して自然に滴下する体腔液を試験管に採取する方法によつて集めたものである。

(2)正常体腔液中の無機成分含有量

蛔虫は比較的大形の♀の豚蛔虫を使用した。3~5隻(体重合計12~18g)を1群とし体腔液約5ccを採取した。この5ccをそれぞれ分析用に使用してNa, K, Mg, Caの定量を行った。

A. Natrium 及び Karium 含有量

日立焰分光光度計F型を使用し、田坂(定孝)処方(斎藤1952)により人血漿を基準液として、Naは波長589m μ , Slit幅0.361mm, Kは波長766m μ , Slit幅0.561mmで測定した。被検体液1ccに対して水を加えて50倍液を作つて、その稀釈液10ccを定量した。

その成績を整理すると第2表に示した如くである。検

第2表 豚蛔虫体腔液の無機成分正常値 (m. Mol)

	♀ (m. Mol)			♂ (m. Mol)		文献 (m. Mol)	
	検査数	平均値	S. D	検査数	測定値	Rogers	Hobson
Na	10	139±6.2		1	140	119	129
K	10	10.2±2.2		1	8.8	23.5	24.6
Na/K		14.4					
Ca	18	3.3±0.5		1	2.6		5.9
Mg	16	3.8±0.5		1	3.0	4.9	4.9
Ca/Mg		0.9					

註: Na, K は焰光光度計; Ca は phosphate 法で光電比色計; Mg は Titan yellow 法で光電比色計で定量, 1回検査に使用した体腔液は♀3-5隻, ♂は12隻分を集めた。

体10群の平均値は Na=139m. Mol, K=10.2m. Molで標準偏差も比較的小さく安定した値を示した。これは♀の成績であるので♂の蛔虫20隻より体腔液約7ccを採取し分析した結果をみると, Na=140m. Mol, K=8.8m. Mol でいづれも♀蛔虫体腔液中の含有量の標準偏差内にあり、性別による含有量の差は認められなかつた。

そこでこの平均値をNa及びKの正常値と考え、文献と比較してみた。第2表の右欄をみるとわかるように、Rogers (1945)の実験では Na=119m. Mol, K=23.5m. Mol, Hobson等(1949)の実験では Na=129m. Mol, K=24.6m. Mol である。Naについては私達の成績と近似しているが、Kは約2倍の含有量である。組織内にはKが多く、体液中にはNaが多いのが動物の体内無機成分の通有性から考えると、私達とRogers, Hobson等の成績のいずれが真であるか判定できないが、兎に角私達の成績は上記の如くであった。

B. Calcium 及び Magnesium 含有量

Calcium は phosphate 法(斎藤, 1952)で発色させCollmanの光電比色計により波長660m μ で定量した。使用体腔液量は2ccである。Magnesium は発色させ同じくCollmanの光電比色計で波長540m μ で定量した。使用体腔液は3ccである。

前項と全く同様の群別で定量した成績は第2表に示した。Caは平均値3.3m. Mol, Mgは平均値3.8m. Molで比較的安定した値であることは標準偏差の小さいことで分る。この値は♀の蛔虫の値なので前項同様に♂の成績を見ると略♀の値の標準偏差範囲に当るので♂♀の差はないものと考えられる。

これを文献の値と比較すると Ca は Hobson 等 (1949) の報告では 5.9 m. Mol で約倍の値であつたが, Mg は Rogers (1945) 及び Hobson 等 (1949) の報告では 4.9 m. Mol で略等しい成績であつた。

C. Na/K 比及び Ca/Mg 比について

無機成分の内 Na と K, Ca と Mg は拮抗的な作用が考えられている。一般に生物の体液内ではその比率は生理的には一定している。そこで蛔虫体液における比率を求めてみると Na/K は 14.4, Ca/Mg は 0.9 であつた。

体外飼養経過と体液無機成分の消長

石崎, 板東 (1953) が既に発表しているように Glucose を含まない Locke 改変液に Dihydrostreptomycin 100 γ /cc, Penicillin 10u/cc, Dehydroacetic acid 50 γ /cc の割に添加したものを飼養液とし, 1 隻当りの液量 100 cc とし, 48 時間ごとに液を更新していくと, 豚蛔虫は平均 22.4 日生存することを発表した。この場合に採集日より 3 日間は正規前進運動の周期が殆ど変化しないで, 自然の生活力を比較的保存していると考えられる。

そこでこの方法によつて豚蛔虫を飼養し, その場合の飼養液中の Na, K, Ca, Mg との関連に於て, 体液中の Na, K, Ca, Mg の消長をしらべた。

飼養液としては前記 Glucose を含まない Locke 改変液 (成分既出) と 0.95% NaCl 液の 2 通りを使用した。上記生活環境純化の目的で矢張り両者共 Dihydrostreptomycin, Penicillin, 及び Dehydroacetic acid を上記の量に添加した。

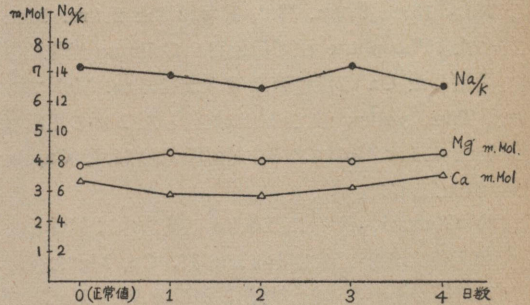
観察時間は 24 時間, 48 時間, 72 時間, 96 時間である。そして得た分析値と正常値とを比較した。

その成績を図に表すと Locke 改変液中の変化は第 1 図, 0.95% NaCl 液中の変化は第 2 図のようになる。

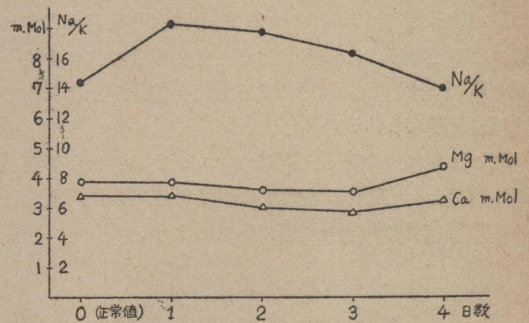
両図を比較してみると Locke 改変液中に於ては Na/K 比, Ca mg/dl, Mg mg/dl いづれも正常値に近い値で動揺しており, この点から考えて体液中の無機成分 Na, K, Ca, Mg は生理的な段階に保たれていると判断出来る。

しかし 0.95% NaCl 液においては Ca mg/dl, Mg mg/dl は正常値に近い動揺であつたが, Na/K 比は比較的大きい動揺を示した。即ち 24 時間乃至 48 時間値は高い値を示し以後正常値に戻つた。飼養液中の Na/K 比が大きく影響しているものと思われる。石崎, 久津見 (1954) の報告のように滲透圧形成に重要な役割を果す Na は比較的自由に体液と飼養液中の濃度差を反映して増減す

第 1 図 Locke 改変液中飼育による体液無機成分の変化 (2 回平均値, 但し正常値は 10 回平均値)



第 2 図 0.95% NaCl 液中飼育による体液無機成分の変化 (2 回平均値, 但し正常値は 10 回平均値)



ると考えられるから, K の殆ど含まれていない 0.95% NaCl 液中では Na/K 平衡が破れるものと思われる。しかし蛔虫の自らの拮抗作用で元に戻つたと判断出来ると考える。

以上の成績を通覧すると生存期間では差を認め難い 0.95% NaCl と Locke 改変液の間に実は蛔虫自身の適応力が働いていることがわかる。従つて適応力を活動しないでよい Locke 改変液がより理想的な飼養液であることを証明したことになった。

結 論

蛔虫の体外飼養実験を遂行するに当り, 飼養液中の主要無機成分は体液中の主要無機成分含有量と関連して考慮しなければならない。

そこで体液無機成分 Na, K, Ca, Mg について正常値をしらべ, 飼養液中での変化を追求した。

(1) 体液の採取方法は頭端を上にして虫体を下垂し, 頭端に 1/4 皮下注射針を刺し入れ, 尾端の肛門の下部を切断すると体液は比較的純粋な状態で迅速に採取

出来る。10分内外で大部分の体腔液が採取出来る。

(2) 焰光分析法で焰光光度計を用いて測定した正常値は、 $\text{Na} = 139 \pm 6.2 \text{ m. Mol}$, $\text{K} = 10.2 \pm 2.2 \text{ m. Mol}$, であつた。Phosphate 法で発色させ Collman 光電比色計で測定した Ca の正常値は $3.3 \pm 0.5 \text{ m. Mol}$ であつた。Titan yellow 法で同様に比色した Mg の正常値は $3.8 \pm 0.5 \text{ m. Mol}$ である。Na/K 比は 14.4, Ca/Mg 比は 0.9 であつた。

(3) Glucose を除いた Locke 改変液中に飼養した場合 96 時間の観察で体腔液内 Na, K, Ca, Mg の含有量は正常値の範囲内にあつた、しかし 0.95% NaCl 液中での同様の観察では Ca, Mg の含有量は正常値の範囲内にあつたが、Na/K 比は 24 時間乃至 48 時間値では増加し、以後正常値に戻つた。Na が増加し K が減少したわけである。之は 0.95% NaCl 液中に K は殆ど含有されないためである。この点から考えて飼養液中には少くも Na, K に関して体腔液に準じた無機成分が含まれるのがよいと考えられる。

稿を終るにのぞみ 御指導を賜つた 予研寄生虫部長小宮義孝博士、東京女子医大生化学松村義寛教授、東大治療内科佐々木智也博士に感謝いたします。

文 献

1) 板東丈夫, 石崎達 (1952): 蛔虫の前進運動及び生存時間に及ぼす飼養液 pH の影響, 日本薬理学雑誌, 48, 107 §. —2) Hobson, Stephenson, and Eden (no date) (1949): Unpublished experiment, quoted in Hobson, A. D. Parasitology, 38, 183-277. —3) 石崎達, 板東丈夫 (1953): 蛔虫飼養液の組成に関する実験的研究 (第1報) 抗生物質及び抗微剤とくに Dehydroacetic acid 添加による生存日数及び正規前進運動期間延長, 日本薬理学雑誌, 49, 65 §. —4) 石崎達, 板東丈夫 (1953): 蛔虫飼養液の組成に関する実験的研究 (第2報). 抗生物質及び抗微剤 Dehydroacetic acid 添加に関する吟味, 日本薬理学雑誌, 49, 174 §. —5) 石崎達, 久津見晴彦 (1954): 飼養液滲透圧の蛔虫に及ぼす影響, 寄生虫学雑誌, 3(3), 209-211. —6) 石崎達, 久津見晴彦, 窪田久子 (1957): 飼養液無機成分の蛔虫に及ぼす影響, 寄生虫学雑誌, 6(2), 1-6. —7) 小泉丹 (1954): 蛔虫毒の研究, 217, 岩波書店. —8) 増山元三郎 (1949): 少数例の纏め方と実験計画の立て方, 42, 河出書房. —9) Rogers, W. P. (1945): Parasitology 36, 211-218. —10) 齋藤正行 (1952): 光電比色計

による臨床化学検査. ナトリウム (Uranium Zinc Acetate 法), 178-180, 南山堂. —11) 齋藤正行 (1952): 光電比色計による臨床化学検査. カリウム (Cobaltinitrite 法), 181-183, 南山堂. —12) 齋藤正行 (1952): 光電比色計による臨床化学検査, カルシウム (Phosphate 法) 171-175, 南山堂. —13) 齋藤正行 (1952): 光電比色計による臨床化学検査, マグネシウム (Titan yellow 法), 183-185, 南山堂.

Summary

During fulfilling the survival test of *Ascaris suilla*, inorganic components in medium should be considered in relation with those contained in body fluid. We have made an investigation on the normal values of Na, K, Ca and Mg contained in the body fluid of *Ascaris suilla* kept in artificial media, and measured the changes of their values during cultivation.

(1) The method of collection of fluid is as follows: The worm is hanged with the head up, an injection-needle (1/1) is injected into the head, and end point of the tail is cut off, thus body fluid can be collected in the comparatively pure condition. And almost all the body fluid can be collected in ten minutes or so.

(2) The normal value of Na and K measured with the flame photometers are $139.0 \pm 6.2 \text{ m. Mol}$ and $10.2 \pm 2.2 \text{ m. Mol}$ respectively. While that of Ca measured by the Collman electrophotometer in the Phosphate method is $3.3 \pm 0.5 \text{ m. Mol}$ and that of Mg in the Titan yellow method is $3.8 \pm 0.5 \text{ m. Mol}$. The ratio of Na/K and Ca/Mg are 14.4 and 0.9 respectively.

(3) In case of the cultivation of the worms in the modified Locke solution excluding glucose, the values of Na, K, Ca, and Mg are within the normal range after 96 hour observation. The same results is observed at the cultivation in 0.95% NaCl solution for Ca and Mg. However, in the latter case the ratio of Na/K increases in 24 hours to 48 hours, and returns to normal figure thereafter. Such increase of Natrium and decrease of Kalium are due to that Kalium is scarcely contained in 0.95% NaCl solution. According to the above point of view, it is considered necessary that inorganic components are contained in the same ratio as body fluid as to Na and K at least.