

蛔虫の生物学的研究

(I) 脱殻蛔幼虫の無菌的飼育実験

問 川 迪 典

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 31 年 10 月 3 日受領)

種々なる目的から蛔虫の幼虫を宿主体外に於て宿主体内に於けると同様の生理状態に於て生存せしめることが望ましいのであるが、今日それは尚、至難に属する。蛔幼虫の發育が中間宿主を必要とせず、直接的であることは現在何人も疑わない所であつて、糞便と共に排出された卵は外界で發育を進め、終いに仔虫を形成し仔虫包膜となり、之が経口的に摂取せられ腸内で孵化脱殻し幼虫が出る。この幼虫は一度体内移行を営んで、即ち肺臓を通過し再び腸に達すると云う経路を経なければ成虫になり得ない。斯様な蛔虫の生活史中では幼虫の体内移行という問題は最も生理学的に興味のある点の一つであらう。従つて、此の時期の幼虫が成育に如何なる生理条件を必要とするか、先づ第一に手をつけなければならぬ問題である。所で仔虫或は幼虫という言葉の定義であるが、森下 (1949) に依れば卵内のものを仔虫と云い、孵化後のものを幼虫と云うと述べて居り、著者も以下これに従う事にした。

蛔幼虫の生存及び發育に関する報告は古くからある。近藤 (1920) 及び浅田 (1923) は仔虫は 1 ヶ月余生存したと述べ、豊田 (1932) は好適と思われる種々の液に就いて観察したが、仔虫は最少 3 日～最長 43 日生存したと述べ、田村治 (1932) は種々のメヂウムで幼虫の飼育を試みたが、最長 44 時間生存して居たと述べている。又、Pitts and Ball (1953) はさきに Pitts (1948) が行つた遠沈法によつて人工孵化した豚蛔虫仔虫を、Seitz's filter で無菌的にした培養液中で飼育し 39 日間で 2.4 % 生存したと述べている。これにより自然界で孵化脱殻した幼虫は一定期間生存することは多くの人に依つて認められているが、その間、多少の發育を進め得るか、否か

に就いて平沢 (1927)、豊田 (1932) は人蛔虫及び豚蛔虫では変化を認めないが、犬蛔虫では多少の増大を認めると述べている。

以上の事柄から特殊な培地を考按すれば環境次第で人工孵化幼虫が相当長い期間 (少くとも 1 カ月) 生存し、一定度の發育増大を営むてあらうことは考えられる。

著者は犬蛔虫卵に比し困難と云われている豚蛔虫卵の人工孵化を行い、この脱殻幼虫が宿主体外の適當なる培地に於て稍々永く生存して、幼虫が其の間形態上多少の成育を逐げるものか、否かの問題を種々なるメヂウムを用いて実験した。以下、其の成績を報告する。

実験材料及び方法

(1) 虫卵の採集

豚蛔虫の雌で採取後間もないよく發育した虫体を 0.95 % の食塩水でよく洗滌し、体壁に附着した肉眼的不潔物を除去し、更に数回滅菌 0.95 % 食塩水で洗滌し、細菌の除去に努めた。この虫体を 5 % アンチホルミン液の中で開体し、子宮腔部を 1～1.5 cm で切断し、5 % アンチホルミン液を満した滅菌シャーレに移し虫卵を取り出した。受精卵であることを確認した後、遠心沈澱管に移し 30 分～1 時間後に 1.5 00 回転 5 分間遠心沈澱し、上清液を捨て、滅菌蒸溜水を注加しよく攪拌して、再び 1.5 00 回転 5 分間遠心沈澱を行つた。この操作を 4～5 回繰返してよく洗滌し、アンチホルミン液を除去した。アンチホルミンは虫卵をばらばらにほぐし、蛋白膜を除去して虫卵相互の凝集癒合を避け培養及び脱殻の操作を便ならしめる為に用いたものである。この液は後の脱殻に何等かの影響を及ぼすのではないかと考えたが、鏡検した結果は形態的に蛋白膜が除去された以外、卵殻には大した変化を認めなかつた。

(2) 虫卵の培養

試験管内滅菌水中培養滅菌した大試験管に滅菌水 3 cc を分注し、処置した虫卵を入れて攪拌し、28°C の孵卵器内に約 15 度の傾斜にして静置した。虫卵は大概傾斜し

Michisuke Toikawa: Biological studies on *Ascaris lumbricoides*. I. An attempt to keep alive ascaris larvae in a bacteriologically steril medium. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo.)

た管壁に沈澱した。水の深さは最も深い所で1 cmを越さぬ程度であり、1日1回試験管を振盪、攪拌して虫卵発育の均一化をはかった。虫卵の発育は虫体を異にすることで、亦同一虫体からの虫卵でも個々に多少の差はあるが、18日後には大部分の虫卵が仔虫形成を完了した。稀には相当数の虫卵が30日後にも発育しなかつたり、或は発育の途中であつたりする様な試験管もあつた。

(3) 脱殻方法

蛔虫の人工孵化に就いての研究は若干あるが、犬蛔虫で吉田(1923)、豊田(1931)、大陽(1923)、越智(1932)等は培養メヂウム中での自然脱殻を報告している。又、豊田は系統的にこれを研究し、0.05%ペプトン水、0.1~0.05%葡萄糖水で極めて容易に蛔虫仔虫は孵化することを報告した。Pitts(1948)は2%アンチホルミン液と2%苛性ソーダ液の混合溶液に豚蛔虫仔虫包蔵卵を入れ、37.5°Cの孵卵器に24時間静置後、生理的食塩水で遠心沈澱に依り5回洗つた。後に3.00回転10分間の遠沈にて確実に99.1%の高率の孵化が得られ、遊離した仔虫の87%以上は孵化後24時間自動力があつたと述べている。又、Mc Rae(1935)は従来なされている孵化の報告は眞の孵化ではなく、卵殻に対する機械的損傷に基くものであるという報告を行つている。併し乍ら孵化の条件はその様に単一なものでないことは容易に考えられる。一般に人及び豚蛔虫卵は人工孵化が犬蛔虫卵に比し困難であると言われて居るが、著者の方法は次の如くである。

先ず Stoll の試験管に直径5 mm内外の硝子玉を15~20ヶ位入れ、綿栓を施し滅菌した。虫卵は試験管内滅菌水中に培養したもので、培養後30~50日を経過した仔虫包蔵卵を用い、この懸濁液を滅菌ピペットにて取つて、前記の Stoll の試験管に入れた。そして Stoll の試験管を硝子玉の動く程度に5~7分間振盪した。硝子玉の摩擦により卵殻に機械的損傷が与えられるので、仔虫は脱殻し孵化した。この懸濁液を滅菌ピペットにて取り、1滴をスライド上に拡散させ、カバーガラスで覆うことなく観察し、仔虫の生死及び脱殻率をしらべた。脱殻孵化して活潑に動いている仔虫、脱殻に際し硝子玉の摩擦により死亡している仔虫、卵殻より脱出途中で生存している仔虫と死亡している仔虫、仔虫包蔵卵のまま全然脱殻しない仔虫等の5段階のものが混在していた。孵化幼虫の脱殻率は70~80%で非常に高率であつたと考えられる。

(4) 飼育方法

飼育虫体は上記の Stoll の試験管内にて硝子玉に依る

脱殻法で孵化した豚蛔虫幼虫を使用した。即ち孵化幼虫の懸濁液1ccを予め飼育液3cc宛分注せる試験管内に注ぎ、37°Cの孵卵器内に静置した。飼育容器は飼育液に雑菌の混入を可及的防止し、且つ観察に便なるため直径約2 cm、長さ約18 cmの試験管を用い、開口部には綿栓を施した。之等の器具類は総べて厳重な化学的微生物学的静浄を必要とするために、使用に際しては次の処理を行つた。硝子器材はクローム硫酸液に浸し水洗、乾燥、乾熱滅菌を行つた。飼育液はすべて蒸気滅菌を行い、人血清は Seitz's filter で無菌的にしたものを用いた。使用したピペット、試験管、シャーレ其の他の器具はすべて滅菌し、無菌的に操作した。

使用せる飼育液は0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%の濃度の食塩水、リンガー氏液、ロック氏液、タイロード氏液、リンガーデレ氏液、並にリンガー氏液に葡萄糖0.1%を添加したもの、リンガー氏液に葡萄糖0.1%添加した液を基本液として、アスパラギン酸、グルタミン酸ソーダ(味の素)、ビタミンB₁、ビタミンC、肝臓末、塩酸システイン、寒天、ペプトン等を単独に加えたもの及び人血清を用いた。実験操作は厳重な無菌的操作のもとに行つたが、念の為に飼育液中にペニシリン10000u/cc、ストレプトマイシン10mg/ccを添加した。尚、実験中の無菌試験は Thioglycollate 培地により行つた。

(5) 幼虫の生死判別

幼虫の生死判別は専ら運動の有無によつた。可検幼虫を含有せる液より口径約2 mmの細少な「ピペット」にて1滴を取り、載物ガラス上に点滴しそのまま検し、次の鑑別点を基準として生死を判別した。眞直に伸展せるもの、及び新月状乃至滑沢なる弧を画いているもの、頭部より尾端に至るまで局部的屈曲運動のないものを以つて死の象徴とした。此の他、機械的損傷あるものは計算より除外した。滑捲状運動、環状運動、S字状運動、半月以上の彎曲運動を示せるものは勿論、波状運動、其の他僅かにても1局部的彎曲運動を窺い得るものを生とした。生存期間の末期において運動有無判定の困難な場合は5分以上観察して振盪、加温などの刺激を加え、尚不動の際にこれを死と認めた。

(6) 幼虫虫体の計測

発育の有無は幼虫の体長及び体幅を計測して判定した。体長は Zeichenapparat を、体幅は接眼測微計を用いて計測を行つた。同一条件下に於ける虫体の生存期間には個体差によりかなりの長短の差は免がれなかつたが、算術平均によつて各々の平均生存日数を算出した。

第 1 表 各種食塩濃度の飼育液に於ける幼虫の生存期間。飼育温度 37°C。
(表中の幼虫数は虫体 100 個中の生幼虫数を示す。以下各表共同様)

濃度 (%)	試験管 No.	飼育開始日 幼虫数	生 存 日 数																平均最高 生存日数 (日)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
0.4 %	1	68	25	18	8	3	1	0											
	2	65	37	23	11	6	3	3	3	3	3	2	1	0					
0.5 %	1	63	30	21	15	9	7	7	6	6	5	5	4	3	3	2	1	0	
	2	71	23	19	13	8	5	4	4	4	3	3	2	2	1	1	0		
0.6 %	1	47	27	26	20	9	7	3	2	1	1	0							
	2	56	38	16	3	2	2	2	1	1	1	0							
	3	48	24	14	7	3	2	2	2	2	2	1	0						
0.7 %	1	42	23	14	3	2	2	2	1	1	0								
	2	39	28	22	5	3	2	1	1	1	0								
	3	42	32	9	4	4	3	2	2	1	1	0							
0.8 %	1	54	33	12	10	6	4	2	1	1	0								
	2	57	43	40	21	13	9	3	1	1	0								
	3	56	38	36	23	15	8	4	2	1	1	0							
0.9 %	1	71	68	53	33	13	2	2	1	0									
	2	73	56	34	21	11	4	2	1	0									
	3	78	51	21	12	9	2	1	1	0									
1.0 %	1	76	19	17	15	9	6	2	1	0									
	2	73	18	16	16	7	5	1	0										
	3	75	20	13	13	5	3	1	0										

実験成績

1. 各種食塩濃度の飼育液内に於ける幼虫の生存期間
 蛹幼虫を飼育する基本として食塩の最適濃度を知る為
 に食塩の用量を0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%,
 0.9%, 1.0%の7通りに作つて虫体の生存期間を
 しらべた。食塩の濃度が0.5%のものが良好で14.5日
 の平均最高生存日数を示した。成績は第1表の通りである。

2. 各種生理平衡液内に於ける幼虫の生存期間
 人工合成飼育液内の基本としての生理平衡液の既存4
 種について各々に於ける虫体の生存期間を観察した。

リンガー氏液の食塩(NaCl)は正規のものは0.85%
 であるが前記の実験成績により最良の0.5%の濃度を用
 いた。平衡液の種類及び製法は第2表に示した如くであ
 る。飼育成績は第3表に示せる如く平均生存日数から
 見てロック氏液でやゝ良く、リンガー氏液が最も良好
 であった。そこでリンガー氏液のNaClを0.5%に調製
 したものを基本飼育液として用いることが適当と考
 えら

れ、これに種々のものを添加した。

3. 栄養物質を添加したリンガー氏液に於ける幼虫の
 生存期間並に発育

リンガー氏液に葡萄糖を0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.1
 %, 0.2%の各濃度で添加した結果は0.1%のものが
 良好であった。故にリンガー氏液に葡萄糖0.1%を
 加えた液を基本合成液にして次の各種栄養物質を
 添加した。即ち、アスパラギン酸0.007%, グル
 タミン酸ソーダ(味の素)0.007%, ビタミンC
 0.008%, ビタミンB₁0.005%, 肝臓末0.005%,
 塩酸システイン0.008%, 寒天0.008%,
 ペプトン0.008%をそれぞれ基本合成液に単
 独に加えた。成績は第4表に示す如くビタミンC
 0.008%, 塩酸システイン0.008%を別々に
 添加したものが良く各々10日の生存日数が
 得られた。幼虫の生存日数と併行して発育に
 就いての観察も行った。リンガー氏液に葡
 萄糖0.1%を加えた基本合成液に各種栄養
 物質を添加した飼育液内に於ては第4表の
 通り、幼虫の発育は殆んで

第2表 供試生理平衡液一覧 (表中の数字は%を示す)

	NaCl	KCl	CaCl ₂	NaHCO ₃	MgCl ₂	NaH ₂ PO ₄
Ringer 氏液	0.5	0.02	0.02	0.01		
Locke 氏液	0.9	0.042	0.024	0.02		
Tyrode 氏液	0.8	0.02	0.02	0.1	0.01	0.005
Ringer-Dale 氏液	0.95	0.042	0.024	0.05	0.005	

第3表 各種生理平衡液内に於ける幼虫の生存期間。飼育温度37°C。
(表中の幼虫数は虫体100個中の生幼虫数を示す)

飼育液	試験管 No.	飼育開始日 幼虫数	生存日数 (日)											平均最高 生存日数(日)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Ringer 氏液	1	80	67	59	35	23	11	5	3	2	1	0	9.3	
	2	81	60	58	36	29	14	7	5	4	2	1		0
	3	83	61	51	17	12	8	3	3	2	2	0		
Locke 氏液	1	72	53	31	10	8	5	3	1	0			7.7	
	2	81	54	32	28	23	15	7	3	2	0			
	3	68	50	33	19	13	9	6	4	2	0			
Tyrode 氏液	1	70	22	6	2	0							3.7	
	2	73	26	9	5	2	0							
	3	78	25	8	3	1	0							
Ringer-Dale 氏液	1	78	7	3	0								2.0	
	2	62	8	2	0									
	3	85	28	6	0									

認められなかった 人血清単独 3 cc を用いた成績は生存日数は4日であつたが、幼虫の發育は可成り良好で、平均体長は204 μ が246 μ に平均体幅13 μ が14.5 μ になり、統計学的にも有意の差が得られた

4.人工合成飼育液P液, S液, F液, T液, R液内に於ける幼虫の生存期間並た發育

以上の実験の成績から飼育液の基本的な構成は分つたので、それに更に複雑な栄養物質を添加して第5表の如きP液, S液, F液, T液, R液を作り、夫々での生存, 發育を検討した。添加する物質について Pitts and Ball (1953) は yeast extract 3.0 gr, ペプトン 3.75gr, 葡萄糖 3.75 gr, 人血清 250 ml を11の Fenwick's solution に加えた飼育液を無菌的にして飼育し、幼虫は16日間で93.6%, 32日間で21.2%, 39日間で2.4%生存したと述べている。著者の上記5液には彼等の用いた物質も加えてある。

成績は第6表に示す通りS液は16日, P液は22日の生存日数が得られ、前記の実験成績より遙かに良好なる結

果が示された。又、幼虫の發育もS液の平均体長250 μ が278 μ に平均体幅14.1 μ が17.8 μ になり、P液も平均体長248 μ が294 μ に平均体幅13.2 μ が19.3 μ に夫々成長した。一方、ビタミン B₁ 及びビタミンCの代りに yeast extract を用い、その他のもの濃度を多少違えたF液, T液, R液の成績も第6表に示す通りF液30日, T液31日, R液32日の生存日数が得られ、發育も最長の生存を見たR液で平均体長236 μ が267 μ に平均体幅13.3 μ が16.4 μ に成長し、明らかに發育したと考えられる計測値が得られ、之等3液では何れが勝つていても云えないが、R液の生存日数32日は最長であり、飼育液としては最優秀であるとする。

総括並に考按

蛔虫の成虫を宿主体外で飼育する事は古くから行われて居て、故小泉丹教授をはじめ教室員数氏に依る幾つかの業績が発表されている。最も成績の良かったものは、鈴木等の葡萄糖を除いた Ringer-Dale 氏液にビタミンCを0.5%に添加したもので、最長23日、平均12.6日の

第 4 表 Ringer 氏液 + 各種添加飼育液内に於ける幼虫の生存期間並びに發育。飼育温度 37°C。
(表中の幼虫数は虫体 100 個中の生幼虫数を示す)

Ringer 氏液 + 各種添加物	飼育開始日 幼虫数 平均体長(μ) 平均体幅(μ)	生 存 日 数 (日)											生存日数 (日)			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Ringer 氏液 + 葡萄糖 0.1 %	69	48	47	27	6	3	1	0								6
R + G. 0.1 % + アスパラギン酸 0.007 %	68	42	8	0												2
	273	273	280													
	12	13	14													
R + G. 0.1 % + グルタミン酸ソーダ 0.07 %	38	25	13	6	0											3
	242	237	226	218												
	12	12	12	12												
R + G. 0.1 + ビタミン C. 0.008 %	61	53	47	41	38	31	28	16	7	4	2	0				10
	261		269		270		275		272							
	14.8		15.2		15.7		16		16							
R + G. 0.1 % + ビタミン B ₁ 0.005 %	63	41	21	11	8	0										4
	253		243		254											
	13.6		14.7		16											
R + G. 0.1 % + 肝末 0.005 %	52	23	18	13	6	0										4
	262	258	272		270											
	14.5	14.8	15.3		15.1											
R + G. 0.1 % + 塩酸システイン 0.008 %	76	63	48	41	37	31	28	20	12	4	2	0				10
	263		255		273			261		272						
	15.2		14.6		15.4			15.9		15.4						
R + G. 0.1 % + 寒天 0.008 %	61	44	30	26	21	18	13	8	5	2	0					9
	258		231			249		237								
	14.4		15			15.7		15.6								
R + G. 0.1 % + ペプトン 0.008 %	68	23	11	8	5	2	0									5
	251		240			238										
	14.7		15.3			14.7										
人 血 清 3 cc	42	24	11	5	2	0										4
	204			246												
	13			14.5												

生存を示した。又、浅見 (1954) は葡萄糖を除いた Ringer-Dale 氏液に 2, 3 の抗生物質を加えて、最長 32 日、平均 16.0 日の生存を見、飼育液中に混在する細菌の増殖を阻止することが蛔虫の生活に好適な影響を与えたという証左に外ならないと述べている。

蛔虫の飼育実験には主として犬蛔虫を用いた研究発表が多いが、蛔虫の生存期間に就いての報告を二、三

挙げて見る。近藤 (1920) は獣炭末培養で自然に孵化脱殻せる幼虫は尚よく、1 カ月以上も湿地に於て生存し、動物に対して感染能力を保持していると述べている。次いで浅田 (1923) は外界に於て自然に孵化脱殻したる蛔虫は、室温 (12°C ~ 15°C) に於ては 1 カ月間に亘りて生存し、同じく感染し得るものであらうと報告し、併せて感染動物肝臓内より採集せる蛔虫は室温 (12°C ~

第 5 表

<p>① P液</p> <ul style="list-style-type: none"> Vitamin B₁ 10 mg Vitamin C 10 mg humanserum 25 cc pepton 0.375 g glucose 0.1 g Ringer-solution 75 cc NaCl 0.5 g KCl 0.02 g CaCl₂ 0.02 g NaHCO₃ 0.01 g 	<p>② S液</p> <ul style="list-style-type: none"> Vitamin B₁ 10 mg Vitamin C 10 mg humanserum 25 cc pepton 0.375 g glucose 0.375 g Fenwick's-solution 75 cc NaCl 0.8 g KCl 0.02 g CaCl₂ 0.02 g MgCl₂ 0.01 g 	<p>③ F液</p> <ul style="list-style-type: none"> yeast extract 0.3 g pepton 0.375 g glucose 0.375 g humanserum 25 cc Fenwick's-solution 75 cc NaCl 0.8 g KCl 0.02 g CaCl₂ 0.02 g MgCl₂ 0.01 g
<p>④ T液</p> <ul style="list-style-type: none"> yeast extract 0.3 g pepton 0.375 g glucose 0.1 g humanserum 25 cc Ringer-solution 75 cc NaCl 0.5 g KCl 0.02 g CaCl₂ 0.02 g NaHCO₃ 0.01 g 	<p>⑤ R液</p> <ul style="list-style-type: none"> yeast extract 0.3 g pepton 0.375 g glucose 0.375 g humanserum 25 cc Ringer-solution 75 cc NaCl 0.5 g KCl 0.02 g CaCl₂ 0.02 g NaHCO₃ 0.01 g 	

第6表 人工合成飼育液P液, S液, F液, T液
(表中の幼虫数は虫体100個)

飼育液	飼育開始日幼虫数 平均体長 (μ) 平均体幅 (μ)	生									存					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
P 液	53	36	29	26	18	16	15	13	12	10	8	9	7	6	5	3
	248		264		252		267		279		270		281		283	
	13.2		14.7		15.3		16.4		17.2		18.5		18.2		19.1	
S 液	55	38	22	21	18	15	11	7	7	6	5	3	2	1	1	1
	250		261		254		260		273		279		278			
	14.1		15.6		16.2		16.3		17.4		17.8		17.8			
F 液	85	49	41	34	28	21	24	21	19	16	11	7	4	3	4	5
	238		256		262			254			240			244		238
	13.5		15		15.7			15.4			15.3			15.4		15.5
T 液	80	52	51	38	31	28	26	23	21	24	26	24	23	26	21	15
	240			252		250		248		248				241		243
	13.8			15.2		16		15.6		15.3				15.8		15.7
R 液	72	43	35	32	25	22	17	20	21	19	17	12	9	8	7	7
	236			252		246		249			252			254		250
	13.3			15.3		15.7		15.5			15.3			15.8		15.7

15°C)にては10日間生存することを述べている。以上、2氏の実験によれば、感染動物肝臓内幼虫の生存力は自然孵化幼虫の生存力に比して遙かに短い。之は感染動物体内より蛔幼虫を純粹に分離することは極めて容易なる業でなく、如何に注意して行つても蛔幼虫を少しも損ぜざる様に処置する事は不可能に近い為に、又、既に感染動物体内にて、ある程度發育したものを体外に取り出すことは、幼虫の環境を極めて不利にする為であると考えられる。田村治 (1932) は幼虫の飼育を試みて蒸留水、生理的食塩水、リンガー氏液、タイロード氏液を用い、これに酸及びアルカリを種々なる濃度に加え、感染動物の肝及び肺から集めた幼虫を飼育したが、タイロード氏液最も良好で、酸及びアルカリは0.01%以下であれば結果に優劣はない。又、アミノ酸は 0.1%の如き濃度に加えても結果は不良であるが、その内比較的良好的はチロシン、ロイチン、チスチン及びヒスチンである。又、各種の臓器浸出液の添加では 100 倍液最も良好で、卵試食後 2 ~ 3 日の肝及び肺臓内の幼虫を用いる時は、肝及び腎の浸出液最も良く、7日を経た肺臓内幼虫では肺臓浸出液が最も良好で、これらのメチウムで少くも最長44時間生存して居ると述べている。さきに自然孵化脱殻幼虫の生存時間についての成績は、1ヶ月以上に亘つて

生存する事を示しているが、人工孵化幼虫(犬蛔虫卵)の生存期間については豊田(1932)の詳細なる報告がある。即ち、豊田は人工的に孵化した犬蛔幼虫を用いて好適と思われる種々なる液に投じて、その生存力を検した。此の観察は冬季室温でなされたのであるが、その中の 2, 3 を挙げる。(以下、P=ペプトン水内孵化仔虫、T. Z=葡萄糖内孵化仔虫である。) 0.85%食塩水では Pは21日、T. Zは 22日、アガールでは 1%でPは 28日、T. Zは22日、3%でPは28日、T. Zは26日生存し、ペプトンでは 1/20 溶液でPは 5日、T. Zは 4日、1/10 溶液では何れも28日生存し、葡萄糖では 1%でPは 11日、T. Zは12日、0.05%では何れも10日生存していた。血清(兔)では 1/50 溶液ではPは34日、T. Zは27日生存すると述べている。

Pitts and Ball (1953) は豚蛔虫の幼虫を特別に設計した飼育室を用いて前述の飼育液を無菌的にして37°C ~ 38°Cで飼育し、16日間で93.6%、32日間で21.2%、39日間で2.4%生存し、34日以上生存した幼虫の發育は平均増加20%に相当すると述べている。成虫の場合と同様に幼虫の宿主体外飼育に於ても、Pitts 等々今回の著者の実験成績に示された通り飼育液を無菌にした方がより優れた結果が得られると考える。

液、R液内に於ける幼虫の生存期間並びに發育。

中の生幼虫数を示す) 飼育温度 37°C

日																数		(日)	生存日数(日)
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33		
7	5	3	3	2	1	1	0												
286		290		292		294													
19.3		19.5		19.5		19.3													
1	0																		
3	3	5	4	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0				
		242		259				256		260				259					
		15.4		15.9				15.7		16.1				16					
15	15	14	12	10	7	5	4	3	2	1	1	1	1	1	1	0			
	249			265				269		266				265					
	15.6			16.7				16.5		16.9				16.8					
5	3	3	2	2	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	0		
	256			263				261		264		267							
	15.7			16.2				16.1		16.3		16.4							

人工的脱殻により孵化した豚蛔虫の幼虫を無菌的に宿主体外に於て、種々なる組成の人工合成飼育液を考案して飼育実験を行つた著者の実験成績は上述の通りで、F液、T液、R液は夫々30日、31日、32日の生存日数及びこれに伴う發育を示した。蛔虫の發育は衆知の如く経口的に浸入し來れる蛔虫成熟卵（仔虫包蔵卵）が腸管に於て、孵化脱殻し仔虫が腸壁を突破し毛細管から門脈に入り、肝、心を経由して肺臓を通過する体内移行を営み、再び食道より腸管に歸來しなければ成長し得ない。即ち、幼虫は血液中に入り血行に依り肺臓を通るのであるから、飼育液も血液に近似したものが適當であろう事は容易に想像され、人血清単独3cc中に於ける幼虫の良好なる發育がこれを示している。そこで先づ塩化ナトリウムの濃度を決め、各種生理平衡液中よりリンガー氏液を撰択して基本液として、これに単独に各栄養物質を添加したが、成績の良好なもの構成は正常人血液に比較的近いものとなつたと思われた。然し血液と同様の飼育液を作る事は不可能であるので、今後R液を漸次改良すれば一層長期間に亘つて幼虫を飼育する事が可能であらうと考える。

蛔幼虫の宿主体外の培養液内に於ける發育増大に関しては古くから報告がある。即ち、孵化直後の幼虫に就き吉田(1917)は体長0.267mm、体幅0.015mmであり、小泉(1922)は体長0.183~0.272mm、体幅0.011~0.014mmと云つてゐる。自然界で孵化脱殻した幼虫は一定期間生存することは多くの人に依つて認められてゐるが、その間多少の發育を進め得るか、否かに就いて平沢(1927)は人蛔虫では永く体外培地に置いても大き及び体制に変化を認め得ないが、犬蛔虫では多少、体の増大を認めると云い、豊田(1932)も犬蛔虫卵を人工孵化して得る幼虫について測定を行い、1カ月培養のものは幼虫に比較的無菌操作を施して培養皿内に移し、水道水を以つて培養せるものについて測定した。孵化直後の幼虫は体長平均0.3695mm、体幅0.016mmであつたが、1カ月水道水培養のものは体長平均0.3935mm、体幅平均0.018mmとなつた。人蛔虫、豚蛔虫について前記犬蛔虫卵と同様に処理し、人工孵化法を施して得た蛔幼虫につき測定したが、1ヶ月余を経たる幼虫と孵化直後の幼虫とは体長、体幅に於て何等認むべき發育増大を認めなかつた。然し乍ら之等の実験は皆、水道水培養をしたものであるので、大なる成長發育を認めなかつたが、或る特殊なる蛔幼虫培養液を考按すれば人及び豚蛔虫の幼虫でも必ず一定度の發育増大を當むであらうと述べてい

る。次に感染後の幼虫の發育に就いて小泉(1922)の感染後各時間に於ける幼虫の計測を掲げると、卵試食後16時間の二十日単肝臓内の幼虫は体長0.234mm、体幅0.014mm、3昼夜を経た肝臓内幼虫は体長0.324mm、同肺臓内のものは体長0.285mm、体幅0.018、9昼夜を経たものの肝臓内幼虫は体長0.587mm、体幅0.028mm、同肺臓内のものは体長1.881mm、体幅0.067mmである。要するに肺臓に達したものは著るしく發育の進んでいることが判る。發育に就いての著者の実験では体長、体幅のみの計測を行い、R液内のものは最長で32日間生存し、28日目の体長は236 μ のものが267 μ に、体幅13.3 μ が16.4 μ になり明瞭に發育の跡が認められ、統計学的にも明らかに發育した計測値が得られた。形態学的に詳しく觀察すれば興味のある問題と考へるが、今回は人工脱殻孵化、生存期間、發育に関する実験にとどめる。

結 論

豚蛔虫卵を無菌的に培養、機械的損傷を卵殻に与えて70~80%に脱殻せしめた幼虫を用いて、種々な飼育液中で無菌的に飼育した。

1. 0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%の各種食塩濃度の飼育液中では、0.5%のものが生存日数14.5日で最長であつた。

2. リンガー氏液、ロック氏、液タイロード氏液、リンガーデレ氏液の各種生理平衡液中の幼虫の生存期間はリンガー氏液の9.3日が良好であつた。

3. リンガー氏液に葡萄糖0.1%の添加では6日であつた。リンガー氏液+葡萄糖0.1%を基本合成液とし、これに各種栄養分を添加した結果は、アスパラギン酸0.007%で2日、グルタミン酸ソーダ0.007%では3日、ビタミンC0.008%では10日、ビタミンB₁0.005%で4日、肝末0.005%で4日、塩酸システイン0.008%で10日、寒天0.008%で9日、ペプトン0.008%で5日の生存期間であつたが、幼虫の發育は殆んど認められなかつた。

4. 人血清3cc中では4日で、平均体長204 μ が246 μ に、平均体幅13 μ が14.5 μ に發育した。

5. 以上の成績より人血清、リンガー氏液、Fenwick's solution、ペプトン、葡萄糖、yeast-extract、ビタミンB₁、ビタミンC等を種々なる濃度に加えたP液、S液、F液、T液、R液の人工合成飼育液を考按して觀察した。生存日数はP液22日、S液16日、F液30日、T液31日、R液32日であり、明瞭に發育の跡が認められる生存を示して、幼虫の發育は最長のR液で始めの

平均体長 236μ のものが 267μ に、平均体幅 13.3μ が 16.4μ になり、明らかに発育したと考えられる計測値が得られた。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた松林久吉教授、浅見敬三助教授に深く感謝致します。尚、本論文の要旨は昭和31年4月の第25回日本寄生虫学会総会に於て発表した。

文 献

- 1) 浅田順一 (1923) : 蛔虫の異常感染経路に関する研究 (第1回報告) (幼虫の経口的感染に就て) 東京医事新誌, 2335, 1252~1258. —2) 浅田順一 (1923) : 蛔虫の異常感染経路に関する研究 (第1回報告) (幼虫の経口的感染に就て) (承前) : 東京医事新誌, 2336 1301~1308. —3) 浅見敬三 (1954) : 抗生物質を添加した飼養液中での豚蛔虫飼養実験; 慶応医学, 31 (6), 195~198. —4) 平沢一三 (1927) : 蛔虫の外界脱殻仔虫の経口的感染に関する実験的研究, 特に固有宿主及び非固有宿主体内に於ける発育経路に就て; 東京医事新誌; 2532, 1350~1356. —5) 近藤喜一 (1920) : 蛔虫の経皮的感染に関する研究; 東京医事新誌, 2181, 1123~1125. —6) 近藤喜一 (1920) : 蛔虫の経皮的感染に関する研究; 台湾医学会雑誌, 211, 630~633. —7) 近藤喜一 (1920) : 蛔虫の経口的感染に関する研究, 東京医事新誌, 2187, 1407~1411. —8) 小泉丹 (1944) : 蛔虫の研究, 大日本出版株式会社, 東京. —9) McRae, A. (1935) : The extra-corporeal hatching of *Ascaris* eggs; Journal of Parasitology, 21 (3), 222~223. —10) 森下薫 (1949) : 蛔虫及び蛔虫症, 永井書店, 大阪. —11) 野村舜治, 土橋静佳 (1931) : 諸種瓦斯体の蛔虫卵発育に及ぼす影響, 慶応医学, 11 (8), 1737~1776. —12) 大場辰之允 (1923) : 蛔虫卵子の発育に就て, 台湾医学会雑誌, 228, 161~175. —13) 大場辰之允 (1923) : 蛔虫卵子の孵化要約並びに感染能力に就て, 台湾医学会雑誌, 228, 176~190. —14) 越智シゲル (1932) : 自然界に於ける蛔虫卵子の発育及び其の感染経路に関する実験的研究, 日新医学, 21, 733~784. —15) 小泉誠治 (1922) : 蛔虫の発育に関する研究 (第1回報告) 東京医事新誌, 2293, 1689~1696. —16) Pitts, T. D and G. H. Ball (1953) : *In vitro* culture of the larvae of *ascaris lumbricoides* suum.; Journal of Parasitology, 39 (4), 42. —17) Pitts, T. D. (1948) : Experimental hatching of the eggs of *Ascaris suum*. Proceeding of the society for experimental biology and medicine, 69, 348~351. —18) 鈴木嘉六, 関豊吉, 関根正雄 (1940) : 蛔虫動物体外飼養試験, 続報 慶応医学, 20 (9), 865~876. —19) 豊田一長 (1931) : 寄生虫卵 (特に蛔虫卵) の人工孵化に関する研究, 東京医事新誌, 2748, 2337~2364. —20) 豊田一長 (1932) : 寄生虫卵 (特に蛔虫卵) の人工孵化に関する研究 (第

二回報告) 蛔虫卵の経口的並びに経皮的感染に就て, 大阪医学会雑誌, 31 (8), 2823~2880. —21) 豊田一長 (1932) : 寄生虫卵 (特に蛔虫卵) の人工孵化に関する研究 (第三回報告) 蛔虫卵の動物体内孵化機転の本態に就て, 大阪医学会雑誌, 31 (8), 3077~3122. —22) 豊田一長 (1932) : 蛔虫, 鞭虫, 「ヘバチコラ, ヘバチカ」虫卵の人工孵化に就て, 附, 蛔虫の生存期間並びに経口的経皮的感染, 日本寄生虫学会記事, IV, 38~45. —23) 豊田一長 (1933) : 食餌と蛔虫感染に就て, 日本寄生虫学会記事, V, 55. —24) 田村治 (1932) : 蛔虫の体外培養 (第一報), 酸及び「アルカリ」に対する抵抗試験, 日本医事新報, 524, 2313~2315. —25) 田村治 (1933) : 蛔虫の体外培養 (第二報, 各種「アミノ」酸の比較試験, 日本医事新報, 525, 2381~2382. —26) 田村治 (1932) : 蛔虫の体外培養 (第三報) 各種臓器浸出液の比較試験; 日本医事新報, 526, 2453~2454. —27) 田村治 (1932) : 蛔虫の体外培養 (第四報) 各種内分泌臓器浸出液の比較試験「附」「ヒスタミン」培養試験, 日本医事新報530, 2677. —28) 田村治 (1932) : 蛔虫の体外培養 (第五報) 酸素及び炭酸瓦斯の比較試験, 日本医事新報, 531 2736. —29) 田村治 (1932) : 蛔虫の体外培養 (第六報) 各種色調の比較試験, 日本医事新報, 531, 2736~2739. —30) 吉田貞雄 (1917) : 蛔虫の発育試験, 東京医事新誌, 2043, 2019~2024. —31) 吉田貞雄 (1917) : 蛔虫の発育試験 (承前) 東京医事新誌, 2044, 2074~2082. —32) 吉田貞雄 (1917) : 蛔虫の発育に就て, 動物学雑誌, 29 (348), 301~317. —33) 吉田貞雄 (1917) : 蛔虫の研究 2.3, 大阪医学会雑誌, 22, 244~270. —34) 吉田貞雄 (1918) : 蛔虫の宿主体内移行経路に就て, 東京医事新誌, 2081, 1311~1320. —35) 吉川春寿 (1951) : 臨床医化学 (II) 臨床編, 協同医書出版社, 東京. —36) 横川定 (1923) : 蛔虫の発育及び蛔虫病の研究, 台湾に於ける内臓寄生虫病の研究 (第4回報告台) 台湾医学会雑誌, 229, 241~301.

Summary

An attempt was made to keep alive and, if possible, to grow ascaris larvae in an artificial media. As the bacterial contamination was likely to be harmful for the survival of larvae, eggs were obtained from uterus of ascaris under conditions as steril as possible and kept in steril water until larvae developed completely. These eggs were put into a large glass tube containing glass beads and were shaken vigorously to make larvae hatch out. Larvae, thus hatched out, were kept in media of several different composition and investigated how long they would survive or how much they would grow. Media were always made steril by heating or by Seitz-filtra-

tion and were added with streptomycin and penicillin to inhibit the bacterial growth due to incidental contamination.

Among the NaCl solution of various concentration, 0.5% solution was the most favourable, larvae being capable to live for 14.5 days. Ringer solution was then prepared to contain NaCl in 0.5% and to this solution, many kinds of nutrient was added separately or mixed. Among various media thus tested, the following composition was most favourable for the survival and

growth of larvae.

Yeast extract	0.3 gr
Pepton	0.375 gr
Glucose	0.375 gr
Human serum	25 ml
Ringer solution	75 ml

The longest survival was 32 days and the body length which was 236μ in an average at the beginning attained 267μ after 30 days of survival.

寄贈文献目録(8) つづき

348. 山崎俊幸, 猿田栄助(1954): 鉤虫症の臨床的研究 (第1報), 医療, 8(9), 511~515.
349. 猿田栄助, 山崎俊幸(1955): 鉤虫症の臨床的研究 (第2報), 医療, 9(12), 946~953.
350. 山崎俊幸, 猿田栄助(1954): 鉤虫症の臨床的研究 (第3報), 医療, 8(11), 682~688.
351. 山崎俊幸(1954): 鉤虫症の臨床的研究 (第4報) — 鉤虫駆虫剤及び下剤の研究 —, 共済医報, 3(5), 1~6.
352. 山崎俊幸(1954): 鉤虫症の臨床的研究 (第5報), 共済医報, 3(3), 1~6.
353. 山崎俊幸(1956): 鉤虫症の研究, 鉤虫症の臨床的研究並びに駆虫剤について, 横浜医学, 7(3), 131~157.
354. 富村保(1957): 犬及び猫における *Coccidium* 症に関する実験的研究 (1) *Issopora felis* の Oocyst の形態, Sporogony 及び円虫の描への感染試験, 寄生虫誌, 6(1), 12~24.
355. J. Yamashita, M. Ohbayashi and S. Konno (1956): Studies on echinococcosis I. On two natural cases in sheep. Jap. Jour. Vet. Res. 4(1), 1~6.
356. J. Yamashita(1956): Studies on echinococcosis II. Echinococcosis in Japan Jap. Jour. Vet. Res. 4(2), 64~76.
357. J. Yamashita, M. Ohbayashi and S. Konno (1956): Studies on echinococcosis III. On experimental infection in dogs, especially on the development of *Echinococcus granulosus* (Batsch 1786), Jap. Jour. Vet. Res. 4(3), 113~124.
358. J. Yamashita, M. Ohbayashi and S. Konno (1956): Studies on Echinococcosis IV. Experimental infection of the white mouse. Jap. Jour. Vet. Res. 4(4), 123~129.
359. 大林正士, 近野誠二(1957): 豚肝蛭症の一例, 北海道獣医師会雑誌, 1(1), 8~9.
360. 山下次郎(1957): 肝蛭及び肝蛭症, 北海道獣医師会雑誌, 1(1), 3~8.
361. J. Yamashita, M. Ohbayashi and S. Konno (1957): On daughter cysts of *Coenurus serialis* Gervais, 1847, Jap Jour. Vet. Res., 5(1), 14~20.
362. 北大獣医学部家畜寄生病学教室編(1957): : 北大獣医学部家畜寄生病学教室業績目録 I 10.