

ナイトロミンの蛔虫卵発育に及ぼす影響について

門 多 魁

大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部 (部長 森下薫教授)

(昭和 32 年 7 月 8 日受領)

緒 言

Nitrogen mustard の作用機序は旺盛な腫瘍細胞の核分裂阻止にあるとされ、X線に類似する作用が認められている。既に Nitrogen mustard と放射線の細胞核分裂に及ぼす作用の比較研究報告は少ないが、蛔虫卵発育に及ぼす影響についての知見は未だみられない。私は先に放射線の蛔虫卵発育に及ぼす影響を報告したが、上述の性状に鑑み両者の比較を試みんと企図し1949年石館らにより創製されたナイトロミン (Nitrogen mustard-N-Oxide) を用いて以下の実験を行った。

実験材料及び方法

虫卵材料：生鮮豚蛔虫の子宮末端 (約 1 cm) より採取した受精卵を毎回 4~5 隻分宛充分混和し、予め 4% アンチフォルミン液中に約 30 分浸し蛋白膜除去後中型シャーレにとり常水約 20cc を加えて虫卵液を調製する。試験区分は摘出直後、培養 3, 5, 10, 15 日目の 5 区とした。

試供薬剤の添加及び添加後の虫卵培養：前記各区の虫卵液 2 cc 宛を小型シャーレにとり、その各個にナイトロミン (吉富製薬製) 50 mg アンプル入試料を常水にて夫々 1, 20, 50 mg を含ませる様に稀釈した液 4 cc 添加後 28~30°C の孵卵器中で培養した。尚 20 mg 含有液のみは別に細胞の透過性を高めるいみでヒアルロナーゼ (持田製薬製) 2,500 V.U.M. を生理的食塩水 1 cc に稀釈したものを添加して培養した。又経過の観察は培養開始後 3, 6, 10, 15, 30, 日目の 5 回に行った。

発育能の障害及び抑制の判定：既に放射線の場合に報告したと同様、障害の判定は培養 30 日目に於ける仔虫形成阻止率を対照と比較してその差の有意性 (危険率 5%) を検定することによつた。但し培養 15 日目 (仔虫包蔵卵) の場合は、細胞の変性像の百分率によるものとし

その他培養 40 日目に於ける仔虫の運動性の有無を参考にした。

蛔虫卵の発育段階は単細胞期 (M), 早期柔実期 (E), 後期柔実期 (L), 蛭蚪期 (T), 運動仔虫期 (ME) 及び変性卵 (D) に分ち百分率並に発育指数 (I. V. D.) を求めて観察したが、発育過程に於ける抑制は、I. V. D. の他に、各観察日に於ては放射線の場合に定めた発育指標虫卵形成率を夫々の対照と比較して両者の結果を総合的に検討した上で判定する方法によつた。

実験成績

各発育時期別に成績を纏めると第 1~3 表の様になる。虫卵は夫々 100 箇について発育状態を観察した。発育能の障害は実験方法に記した規準に従つて検定した結果、虫卵の各発育時期に於て何れの場合にも認めえなかつた。又発育過程に於ける抑制も I. V. D. 及び発育指標虫卵形成率の両者を検討したが何れの場合にも明瞭に認め難かつた。

考 按

先に私が報告した放射線照射時の虫卵培養は 2.5% フォルマリン水を用いたが、今回はナイトロミン及びフォルマリン水の相互間に化学反応を生ずる場合を考慮し、凡て常水を用いた。又ナイトロミン添加は最初行うのみとし、培養経過中に於ける添加液の更新は試みなかつた。これは放射線の場合に於ても一時照射に限定したので、両者を比較する目的には添加液不換を適當と考えたからである。

実験成績に記した様に、虫卵の障害は培養 30 日目に於ける仔虫形成阻止率により判定したが、何れのナイトロミン添加時も子宮より摘出直後の単細胞期、単細胞期及 2 細胞期 (培養 3 日目)、蛭蚪期及仔虫期 (培養 10 日目)、仔虫期 (培養 15 日目) の他、放射線照射の場合常に障害の最高を示した早期柔実期 (培養 5 日目) に於ても障害を認めえなかつた。猶仔虫期虫卵では培養 40 日目に於ける仔虫の運動性有無も検したが対照と比較して殆ど差を認め難かつた。従つて虫卵は各発育時期別に凡て障害は

KAI KADOTA: Influence of Nitromin upon the development of ascaris eggs. (Department of Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka)

第1表 摘出直後虫卵添加時

NMO の添加量	1 mg						20mg						20mg+HYD 2,500 V.U.M.						50mg								
	3日	6日	10日	15日	30日	30日	3日	6日	10日	15日	30日	30日	3日	6日	10日	15日	30日	30日	3日	6日	10日	15日	30日	30日			
M	N	37				34						4						25									
	C	42				42						7						35									
E	N	63	95			66	92					96	43				75	94									
	C	58	96	1		58	96	1				93	40				65	93									
L	N	5				8						56					6	1	2								
	C	4				4						60					7	1									
T	N	14				37						1					8										
	C	26				26						1					10										
ME	N	86	99	99		63	99	99				99	100	100			91	96	98								
	C	74	99	99		74	99	99				99	100	100			90	98	98								
D	N	1	1	1		1	1	1				1					2	2									
	C																1	2									
I.V.D.	N	63	105	386	396	396	66	108	363	396	396	96	155	399	400	400	75	106	390	388	392						
	C	58	104	374	397	396	58	104	374	397	396	93	160	399	400	400	65	107	390	394	392						

註: MMO 及び N はナイトロミソ、HYD はヒアルロニダゲーゼを示す。
Cは対照を示す。

第 2 表 培養 3 日目虫卵及び 5 日目虫卵添加時

虫卵区分	培養 3 日目虫卵			培養 5 日目虫卵		
	1 mg	20mg	20mg+HYD 2,500V.U.M	1 mg	20mg	20mg+HYD 2,500V.U.M.
NMO の添加量						50mg
培養日数	6 日	10 日	15 日	30 日	6 日	10 日
發育状態	1 日	15 日	30 日	6 日	10 日	15 日
	30 日	6 日	10 日	15 日	30 日	6 日
	15 日	30 日	6 日	10 日	15 日	30 日
	30 日	6 日	10 日	15 日	30 日	6 日
	15 日	30 日	6 日	10 日	15 日	30 日
M						
E	N 98	98	76	98	99	83
	C 96	1	96	1	96	79
	N 2	1	24	2	1	17
L	C 4	4	30	4	4	21
	N 17	33		21	18	20
T	C 26	26	1	26	26	11
	N 82	100	100	98	81	80
ME	C 74	99	99	99	99	99
	N 74	99	99	100	74	89
	C 74	99	99	100	99	100
D	N 1	2	2	1	2	1
	C 1	1	1	2	2	1
	N 102	381	400	392	101	117
I.V.D.	C 104	374	397	396	390	380
	N 102	363	392	392	392	396
	C 104	374	397	397	397	396
	N 130	399	400	400	400	400
	C 104	374	397	396	397	396
	N 124	400	400	396	390	396
	C 104	374	397	396	397	396
	N 122	383	400	400	400	400
	C 121	389	400	400	400	400

第3表 培養10日目虫卵及び15日目虫卵添加時

虫卵区分	培養10日目虫卵						培養15日目虫卵										
	1mg		20mg		20mg+HYD 2,500 V.U.M.		20mg		20mg+HYD 2,500V.U.M		50mg						
NMOの添加量	15日		30日		15日		30日		40日		30日		40日				
	日	日	日	日	日	日	日	日	B(+)	B(-)	日	B(+)	B(-)	日	B(+)	B(-)	
M	N																
	C																
E	N																
	1		1														
L	N																
	1																
T	N																
	C																
ME	99	99	99	99	98	98	100	56	42	100	59	40	100	62	37		
	99	99	99	99	98	98	99	62	36	100	53	46	100	53	46		
D	1	1	1	1	2	2	2				1			1			
	1		1		1	2	1	2			1			1			
I.V.D.	396	396	396	396	392	392											
	397	396	397	396	394	392											

註：B(+)は運動性あるもの、B(-)はないものを示す。

来さなかつたものと見做される。

次に發育過程を観察するにI. V. D. は各發育時期別に対照と比較して差は殆ど認めず、各観察日に於ける發育指標虫卵形成率も一、二を除く他一般に対照と有意の差を示さなかつた。上述の差を示したのは摘出直後虫卵のナイトロミン1mg及び20mg添加の場合並に培養5日目虫卵のナイトロミン20mg及びヒアルロ=ダーゼ2,500 V.U.M. 添加の場合の何れも培養10日目の發育指標虫卵形成率(培養10日目では仔虫形成率と定めてある)についてである。併し乍ら上記の三例は何れも培養10日目に限定してその前後の培養6,15日目に於ては対照との差はなく又I. V. D. の差も僅小にどどまつているので、明瞭な發育抑制を受けたものとは見做し難い。即ち今回の実験に於て凡ての場合、ナイトロミンの虫卵發育能に及ぼす影響はなかつたものと考えられる。猶ヒアルロ=ダーゼは既往の知見として、組織中のヒアルロ

ン酸塩を分解し粘稠度を減少させる組織拡散作用が認められているので、その添加によりナイトロミン効果の増強を期待したが今回は影響を高めたとは見做し得ない成績を示した。

以上の如く虫卵に何ら障害乃至抑制を認めなかつた現象の基因としてはナイトロミンの濃度不足も考えられるが相当高濃度迄観察したので、先ず本剤の水溶液は放置すると速かに活性が低下する点を考慮すべきであらう。条件により異なるが、活性を一定に保ち保存可能とされているのは氷室中1.0~0.5%生理的食塩水溶液に於て少くとも24時間であり、従つて今回の様に室温実験の場合はそれより更に短いと推定される。併し乍ら例え活性が急速に低下しても数時間以内は相当有効と見做されるので、早期桑実期(培養5日目)虫卵の如く細胞分裂の最も旺盛な時期に於て何ら影響を与えなかつた結果よりみれば、その他の機序の関与が考えられる。諸家の論に

従えば卵殻の Lipide 様性質は高いと見做しうるので、卵殻の透過性は水溶性の大きい分配係数の小さいものに対して低下する即ち卵殻の性状に基本本剤が卵殻内に透入し難いたためと推測される。

結 語

1. 豚蛔虫卵を各發育時期別にとりナイトロミンを 1 mg, 20mg, 50mg 添加した常水 (夫々 6 cc) に培養を試みその發育に及ぼす影響を観察した。

2. 虫卵の發育能の障害を仔虫形成阻止率より見たが凡ての場合に於て障害は認められず、又發育能の抑制も認め難かつた。

3. 上記現象の基因として先ず本剤の水溶液は放置すると速かに活性が低下する点を考慮すべきであるが、その他卵殻の Lipide 様性質は高いと見做しうるので本剤が卵殻内に透入し難いたためと推測される。

終りに臨み、終始御指導と御校閱を賜つた森下薫教授に深謝すると共に、種々御助言を戴いた伏見純一博士に厚く感謝する。

本論文の要旨は昭和 31 年 11 月、日本寄生虫学会西日本支部第 12 回大会に於て発表した。

文 献

- 1) 石館守三・吉田富三・桜井欽夫・佐藤春郎他 (1951, 1952) : 吉田肉腫による悪性腫瘍化学療法の実験的研究 (I) (1950), Gann, 43, 93~96, (II) Proc. Jap. Aad., 27, 493, (III) Gann, 43, 171~174. —2) 桜井欽夫 (1953) : 悪性腫瘍の化学療法に関する諸問題, 医学のあゆみ, 15 (5), 273~286. —3) 高島すみ子 (1955) : 放射線とナイトロジェン・マスタードの細胞核分裂に及ぼす作用の比較研究 (第 1, 2, 3 篇), 日放学雑誌, 15 (4), 277~292. —4) 和田文吾 (1950) : Nitrogen mustard の分裂細胞に及ぼす影響, 遺伝学雑誌, 25 (1~2), 39. —5) 榊原任 (1950) : ヒアルロニダーゼと臨床, 医学書院, 東京, —6) 門多

魁 (1956~1957) : 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究, (1) X線の蛔虫生存力及び産卵能並びに子宮内卵發育に及ぼす影響について, 寄生虫学雑誌, 5 (3), 376~383, (2) X線の蛔虫卵發育に及ぼす影響について, 寄生虫学雑誌, 6 (4), 417~423, (3) Co-60 の蛔虫卵發育に及ぼす影響について (その 1) 寄生虫学雑誌, 6 (4), 424~431, (4) Co-60 の蛔虫卵發育に及ぼす影響について (その 2), 寄生虫学雑誌, 6 (5), 518~525.

Summary

It is generally well known that Nitrogen mustard is a substance which, similarly to X-ray, exhibits activity of inhibiting nuclear division of the tumor cells. In this connection, it might be interesting to attempt an experimental observation on its influence upon the developmental ability of ascaris eggs and to compare the results with those obtained by X-ray irradiation as previously reported.

Nitromin, a commercial product of Nitrogen mustard-N-oxide, was applied for this purpose, preparing solutions containing its 1 mg, 20 mg, and 50 mg in each 6 cc water respectively, in which the eggs of different stages were immersed and kept at 28°~30°C for the duration from 3 to 30 days. The eggs were then examined for their development or morphological change. The results, however, were all negative, namely, neither inhibitory action upon nor depressive phenomenon in the development of the eggs were observed in any case.

These results may have been caused by the fact that the activity of Nitromin may be lowered after 24 hours, and on the other hand, owing to its insolubility in egg shell substance, it can not penetrate through the latter. Therefore, there is no evidence whether or not Nitromin can act on the egg cells when it comes contact with the latter, although it seems to be very probable.