

芥子油の殺卵作用に関する研究

(3) 蛔虫卵の酸素消費量におよぼす芥子油の影響

国 井 喜 章

関東東山農業試験場線虫研究室 国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 33 年 2 月 24 日受領)

緒 言

蛔虫卵の酸素消費量の測定については、いまだあまり研究が行われていない。そして、測定方法にも多くの考慮すべき問題点がある。蛔虫卵の生理的研究を進めるためにも、呼吸代謝に関する研究は大いに期待され、その測定方法の確立が 1 日も早く解明されることが望まれるわけである。

著者は第 1 報および第 2 報において、蛔虫卵に対する芥子油の殺卵作用について検討したのであるが、第 3 報では、芥子油の殺卵機作を解明するための一手段として、蛔虫卵の酸素消費量が芥子油処理を行うことによつて、どのように変化するかを検討したので報告する。

実験材料および方法

蛔虫卵は豚蛔虫子宮内受精卵を使用した。芥子油は、Allyl, Phenyl, Butyl, Toly 1 の各芥子油を Tween 80 番で乳剤として用いた。

実験方法は、上記 5 種芥子油の 10⁴ 倍濃度の乳剤をつくり、これをおのおの腰高シャーレーに 100ml づつとり、十分に水洗した蛔虫卵の約 2 g (湿つたもの) をこれに加えて、28°C 恒温器中で 7 日間処理した。対照としては蒸留水を用いた。

処理後、たぐちに上澄の芥子油乳剤をすて、蛔虫卵を数回蒸留水で洗滌、濾過して湿つた素焼板上にのせて酸素消費量の測定に供した。

また、Phenyl 芥子油では 3 日処理、1 日処理の場合

YOSHIKI KUNII: Studies on the ovicidal effect of mustard oil. (3) Influence of mustard oil on the oxygen uptake of ascaris eggs (Laboratory of Nematology, Kanto-Tosan Agricultural Experiment Station and the Department of Parasitology, National Institute of Health)

についても測定を行つた。

測定は、Warburg 氏検圧計によつた。

素焼板上の蛔虫卵を測定用フラスコ (容量 15~20ml) 2 箇と秤量管 1 箇にそれぞれ 0.5 g づつ秤取した。フラスコには、更に Ringer 氏液 1.0ml, 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 1.0 ml, 20%KOH 0.2ml を加えて、たぐちに測定を開始した。測定は 10 分間隔で 60 分間継続し、温度は 30°C 振盪は毎分 80 回である。

秤量管は 105°C の恒温器内で約 2 時間乾燥し、乾燥重量を求めた。

更に、残りの蛔虫卵の一部を検鏡して、測定時の發育状態を観察し、その他は 2% formalin 水を加えて、28°C で培養した。培養 1 ヶ月後に再び發育状態を観察し、仔虫形成の有無によつて生死の判定を行つた。

実験成績

酸素消費量は、すべて蛔虫卵の乾燥重量 100mg あたりに換算してあらわした。

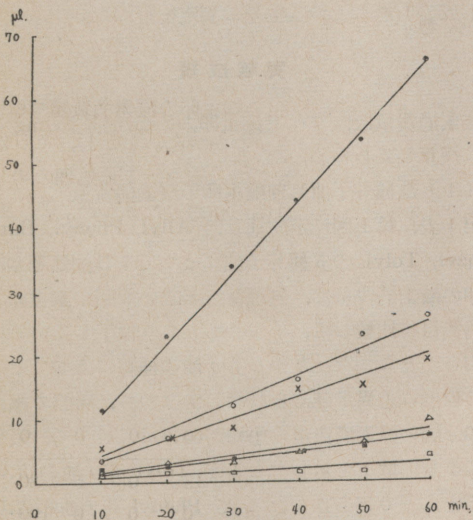
(1) 数種芥子油処理蛔虫卵の酸素消費量

第 1 表、第 1 図に示す通り、Allyl, Phenyl, Butyl, Benzyl, Toly 1 の 5 種芥子油によつて 7 日間処理した蛔虫卵の酸素消費量は、処理を行わない対照の蛔虫卵の酸素消費量に比較して、いづれもかなり低下していることが明らかとなつた。しかし芥子油の種類によつてその低下の程度に差異が認められた。すなわち、対照の蛔虫卵の 60 分間の酸素消費量の平均が 65.8 μ l に対して、最もいちじるしい低下を示したものが Toly 1 芥子油の 3.9 μ l でほとんど 0 にちかく、ついで Phenyl 芥子油の 7.0 μ l, Allyl 芥子油の 9.5 μ l, Benzyl 芥子油の 19.0 μ l となり最もその程度の少なかつたものが Butyl 芥子油の 25.8 μ l であつた。

なお、これら蛔虫卵の測定時および 1 ヶ月培養後の発

第1表 数種芥子油処理蛔虫卵の酸素消費量(μl)

種類	回数	測定時間(分)					
		10	20	30	40	50	60
Allyl 芥子油	1	1.5	3.0	3.0	3.5	5.2	6.5
	2	0.3	3.0	3.0	5.1	7.2	12.5
	平均	0.9	3.0	3.0	4.3	6.2	9.5
Phenyl 芥子油	1	2.3	3.3	4.3	5.3	6.0	7.1
	2	1.9	1.9	2.7	4.1	4.9	6.8
	平均	2.1	2.6	3.5	4.7	5.5	7.0
Butyl 芥子油	1	3.5	7.3	13.0	16.3	23.2	26.0
	2	3.6	6.7	11.1	16.0	23.0	25.6
	平均	3.6	7.0	12.1	16.2	23.1	25.8
Benzyl 芥子油	1	2.9	4.8	8.1	12.0	12.9	15.8
	2	7.9	8.9	8.9	16.8	16.8	22.1
	平均	5.4	6.9	8.5	14.4	14.9	19.0
Tolyl 芥子油	1	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	4.5
	2	0	0	0	0	0	3.3
	平均	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	3.9
対照	1	11.9	23.9	34.1	45.8	56.4	68.0
	2	11.2	22.5	33.9	42.2	50.5	63.5
	平均	11.6	23.2	34.0	44.0	53.5	65.8



第1図 数種芥子油処理蛔虫卵の酸素消費量

●-● 対照; ○-○ Butyl 芥子油; ×-× Benzyl 芥子油; △-△ Allyl 芥子油; ■-■ Phenyl 芥子油; □-□ Tolyl 芥子油。

第2表 測定蛔虫卵の發育状態

觀察時期	種類	發育状態(%)					殺卵率(%)
		単細胞期	多細胞期	桑椹期	蛭蚪期	仔虫期	
測定時	Allyl 芥子油	95	5	0	0	0	
	Phenyl 芥子油	99	1	0	0	0	
	Butyl 芥子油	10	80	10	0	0	
	Benzyl 芥子油	70	30	0	0	0	
	Tolyl 芥子油	99	1	0	0	0	
対照	照	15	20	50	15	0	
培養後	Allyl 芥子油	99	1	0	0	0	100
	Phenyl 芥子油	100	0	0	0	0	100
	Butyl 芥子油	5	50	5	25	15	85
	Benzyl 芥子油	45	55	0	0	0	100
	Tolyl 芥子油	100	0	0	0	0	100
対照	照	0	0	0	0	100	

育状態は第2表にあげた。これによると、測定時には、Allyl, Phenyl, Tolyl 芥子油はわづかに多細胞期卵をみたが、ほとんどは単細胞期卵であつた。Benzyl 芥子油は30%が多細胞期期となり、他の70%は単細胞期卵である。また、Butyl 芥子油では80%が多細胞期、10%が桑椹期にまで發育していた。

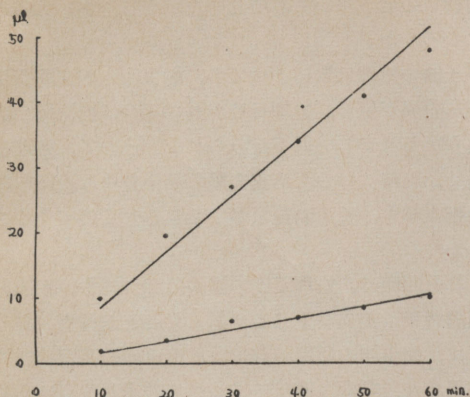
1ヶ月培養後のそれぞれの殺卵効果をみると、Butyl 芥子油が85%、その他の芥子油では100%の殺卵率を示した。

第3表 Phenyl 芥子油処理(3日)虫卵の酸素消費量(μl)

種類	回数	測定時間(分)					
		10	20	30	40	50	60
Phenyl 芥子油	1	1.7	3.3	6.3	6.3	7.0	8.5
	2	2.0	3.7	6.6	7.8	9.7	11.1
	平均	1.9	3.5	6.5	7.1	8.4	9.8
対照	1	5.1	15.4	22.4	27.6	33.6	40.9
	2	14.9	23.3	31.7	40.7	47.8	55.5
	平均	10.0	19.4	27.1	34.2	40.8	48.2

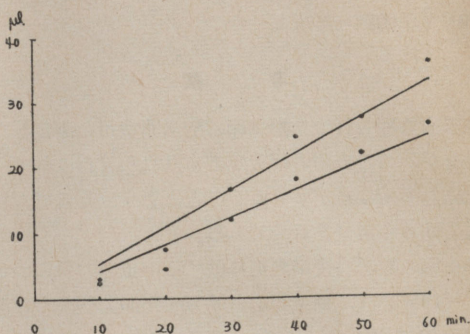
(2) Phenyl 芥子油3日および1日処理蛔虫卵の酸素消費量

10⁴ 培濃度の Phenyl 芥子油で3日処理した場合の蛔虫卵の酸素消費量は、7日処理の場合とほとんど同様、対照にくらべていちじるしい低下をみた。すなわち、対



第 2 図 Phenyl 芥子油処理蛔虫卵の酸素消費量 (3 日)
上段: 対照; 下段: Phenyl 芥子油

芥子油処理を行つた蛔虫卵は 100%単細胞期のまま、まったく發育しなかつた。

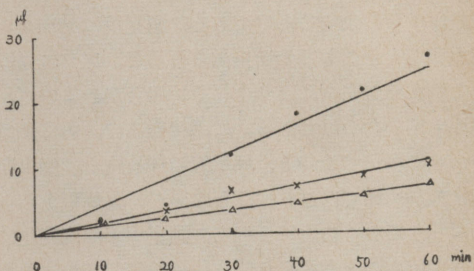


第 3 図 Phenyl 芥子油処理蛔虫卵の酸素消費量 (1 日)
上段, 対照; 下段 Phenyl 芥子油

照の蛔虫卵の 60 分間の酸素消費量平均が 48.2 μl であるのに対して, Phenyl 芥子油 3 日処理の蛔虫卵は 9.8 μl であつた。

第 4 表 測定蛔虫卵の發育状態

觀察時期	種類	發育状態 (%)					殺卵率 (%)
		單細胞期	多細胞期	桑椹期	蝌蚪期	仔虫期	
測定時	Phenyl 芥子油	100	0	0	0	0	
	対照	10	90	0	0	0	
培養後	Phenyl 芥子油	100	0	0	0	0	100
	対照	0	0	0	2	98	



第 4 図 phenyl 芥子油処理蛔虫卵の酸素消費量
●-● 1 日処理; x-x 3 日処理; △-△ 7 日処理

この時の蛔虫卵の發育状態は, Phenyl 芥子油処理のものが 100%単細胞期, 対照が 10%単細胞期, 90%が多細胞期であつた。

1 ヶ月培養後には, 対照は 98%が仔虫を形成したが,

第 5 表 Phenyl 芥子油処理 (1 日) 蛔虫卵の酸素消費量 (μl)

種類	回数	測定時間 (分)					
		10	20	30	40	50	60
Phenyl 芥子油	1	2.9	5.7	13.3	13.3	20.3	26.2
	2	1.7	3.1	10.4	23.0	23.0	26.7
	平均	2.3	4.4	11.9	18.2	31.7	26.5
対照	1	4.4	10.8	20.4	22.3	28.7	36.0
	2	1.9	4.1	13.0	26.4	26.4	36.0
	平均	3.2	7.5	16.7	24.4	27.6	36.0

Phenyl 芥子油で 1 日処理した場合の蛔虫卵の酸素消費量は 26.5 μl で, 対照の蛔虫卵の酸素消費量 36.0 μl よりも低下していることがわかつた。しかし, 7 日処理, 3 日処理の場合に比較してみると, 1 日処理の場合には対照との差異があまり明らかではなかつた。

第 6 表 測定蛔虫卵の發育状態

觀察時期	種類	發育状態 (%)					殺卵率 (%)
		單細胞期	多細胞期	桑椹期	蝌蚪期	仔虫期	
測定時	Phenyl 芥子油	100	0	0	0	0	
	対照	100	0	0	0	0	
培養後	Phenyl 芥子油	50	15	0	5	30	70
	対照	0	0	0	0	100	

また, 測定時の蛔虫卵の發育状態は, 処理蛔虫卵も対照のものもいづれも 100%が単細胞期であつた。

1ヶ月培養後の観察の結果は第6表に示す通りで、芥子油処理を行つたものは50%単細胞期、15%多細胞期5%蝌蚪期、30%が仔虫期卵となつていた。対照の蛔虫卵は100%が仔虫を形成していた。

考 察

芥子油処理を行つた蛔虫卵の酸素消費量を測定したのであるが、この方面の研究はあまりひろく行はれていないため、不備な点が多々あることと思う。そこで、まづ測定方法から考察を行つてみる。

蛔虫卵の酸素消費量測定に供する蛔虫卵の量について柳沢(1957)は、蛔虫卵の100万~1000万個を含む浮遊液2.0mlを用いたとある。著者が今回行つた実験では測定と同時に蛔虫卵の乾燥重量をも測定する方法をとつた。これは洗滌した蛔虫卵を湿らせた素焼板上にのせて出来るだけやく測定用フラスコと秤量管に0.5gを秤り、乾燥重量を求めるわけである。測定後にフラスコ中の蛔虫卵をとりだして乾燥重量を秤ると、フラスコに附着した蛔虫卵が完全にとりきれない場合があるので、この方法を用いたわけである。この場合には、あくまでもフラスコに秤量する時と、秤量管に秤る時との蛔虫卵の湿度状態が一樣でなければならぬが、素焼板をあらかじめ湿らせておくことによつて、測定中の湿度変化はほとんどないものと考えられる。いづれにしても、そうとう量(乾燥重量にして80~100mg)の蛔虫卵を用いないと酸素消費量の測定は困難である。

また、柳沢(1957)によれば、蛔虫卵を培養後30%のantiforminで除蛋白膜して測定しているが、著者の場合にはこれを行わず、そのままの状態測定した。

芥子油処理(10⁴倍濃度)を行つた蛔虫卵の酸素消費量は、処理を行わない対照の蛔虫卵に比較して、いづれもその酸素消費量が低下するようである。しかし、芥子油の種類によつて、酸素消費量の低下の程度に差異が認められた。今回用いた5種の芥子油の間では、その低下の最もいちじるしかったものがTolyl芥子油で、下記のごとき順になつた。

Tolyl>Phenyl>Allyl>Benzyl>Butyl

これは、これら芥子油の蛔虫卵に対する殺卵作用の高低と関係があるように思われる。すなわち、第1報に述べたように、これら芥子油の殺卵作用もまた

Tolyl>Phenyl>Allyl>Benzyl>Butyl

の順に低下する傾向がみられたからである。そして、高い殺卵作用をもつ薬剤ほど、これで処理した蛔虫卵の酸

素消費量の低下がいちじるしいということがいえるのではなからうか。

芥子油の処理日数によつても、蛔虫卵の酸素消費量の低下に差異が生じ、処理日数が長い場合には、短かい場合よりいちじるしい低下がみられた。そして、処理日数が長く、同時に行つた培養実験の結果完全に殺卵を確認した蛔虫卵も、酸素消費量がいちじるしく低下することがわかつた。

これと同様に、処理濃度の濃淡によつても、蛔虫卵の酸素消費量に差異が生じるであろうことが推察される。

更に、蛔虫卵の酸素消費量は、蛔虫卵の発育状態によつて異なり、発育が進むにつれて酸素消費量は増減するものと考えられる。この点については、柳沢(1957)の報告がある。

以上のことから考へて、蛔虫卵の酸素消費量の低下は殺卵作用となんらかの関係があるように思われるので、更にこの点を追求したなら、現在用いられている培養法にこの酸素消費量を測定する方法を併用することによつて、比較的短期間のうちに、より確実な殺卵効果の判定ができるのではないかと思われる。

要 約

1) 蛔虫卵の殺卵機作解明の手段として、Warburg氏検圧計を用いて蛔虫卵の酸素消費量を測定した。

2) Allyl, Phenyl, Butyl, Benzyl, Tolylの5種類の芥子油を3倍のTween 80番で乳化し、10⁴倍濃度に稀釈して用いた。

3) 処理温度は28°Cで、処理日数は7日、Phenyl芥子油については3日処理、1日処理もあわせて行つた。

4) 測定は30°Cで60分間継続し、10分間隔に行い、蛔虫卵は湿つたもの0.5g(乾燥重量80~100mg)を用いた。

5) 芥子油処理を行つた蛔虫卵は、対照の蛔虫卵に比較して、いづれもその酸素消費量が低下した。

6) 5種類の芥子油の間には、酸素消費量の低下の程度に差異が認められ、なかでもTolyl芥子油が最も著しく低下した。

7) 処理日数の長短もまた、酸素消費量の低下に差異をあたえ、長く処理した蛔虫卵ほど、酸素消費量が低下するようである。

8) 蛔虫卵の酸素消費量の低下は、薬剤の殺卵作用と関係があり、殺卵作用の高いものほど、酸素消費量の低下も著しいように思われる。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜わつた農業技術研究所川上行蔵博士、予防衛生研究所小宮義孝博士に深く感謝の意を表す。また、実験にあつて御援助を願つた農業技術研究所池内まき子技官に感謝する。

文 献

- 1) Huff, G. S. & Boell, E. J. (1936) : Influence of some inhibitors on the oxygen consumption of some parasitic helminths, *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.*, 34, 626. —2) Needham, J. (1950) : *Biochemistry and Morphogenesis*, Reprinted, Cambridge. —3) Panijel, J. (1951) : *Metabolisme des Nucléoprotéines*, Paris. —4) 齊藤省三・川副泰時・浅見敬三 (1956) : 蛔虫卵の呼吸代謝 (1) 蛔虫卵の発育とメチレン青脱色能の関係, 第16回寄生虫学会支部会発表. —5) 柳沢十四男 (1957) : 蛔虫卵の発生に伴う酸素消費量について, *寄生虫学雑誌*, 6 (3), 323.

Summary

1) The author measured the oxygen consumption of ascaris eggs by the means of Warburg's respirometer for the analysis of the mode of ovicidal action.

2) Five species of mustard oil, which are allyl, phenyl, butyl, benzyl, and tolyl, emulsified at the ratio of 1:3 by Tween 80 were used at $1:10^{-4}$ concentration.

3) The experiments were run at 28°C and for seven days. Treatments with phenyl mustard oil were carried out for both one day and three days besides.

4) Reading were taken at 10 minute intervals for 60 minutes at 30°C .

5) Oxygen consumption of eggs treated with any mustard oil were all decreased as compared with those of the control eggs.

6) There were differences in oxygen consumption among the five species of mustard oil, above all, the consumption of eggs treated with tolyl mustard oil decreased sharply.

7) The period of treatment also yielded the difference in the decrease of oxygen consumption; the longer period of treatment, the more decreased.

8) The decrease of oxygen consumption of ascaris eggs is connected with the ovicidal action of dosage. It seems that the oxygen consumption, if any, is on the decrease as the ovicidal effect rises.