

Ancylostoma duodenale 仔虫の走向性 Tropism 並びに抵抗性 Resistance について

岡 幹 健 門 脇 俊 太 山 田 節 夫 亀 田 幸 政

大阪市立大学医学部医動物学教室 (主任 田中英雄教授)

(昭和 33 年 9 月 4 日受領)

緒 言

鉤虫症の感染経路として鉤虫感染仔虫の経口的並びに経膚的経路が考えられて来たが近時 *Ancylostoma duodenale* は主として経口的感染を為し、*Necator americanus* は経膚感染を主とするのではないかと考えられている。又仔虫の抵抗性についても例えば胃液に対して弱いというものや反対に大なる抵抗性を有するというものがあり確説がない。私達は鉤虫症の感染経路解明の為め、*Ancylostoma duodenale* 仔虫の走向性並びに抵抗性について実験した結果次の様な成績を得たので報告する。

実 験 方 法

仔虫は予備試験を除いてすべて鉤虫症患者の糞便を濾紙培養 (30°C, 7日) して得たものを用いた。

A) 走向性試験

1) 予備試験

鉤虫症患者の糞便を炭末とよく攪拌して均等な泥状とした後、30°C、恒温器内で7日間培養した炭末培養基 (直径 8 cm のシャーレ) 上に 2% 寒天を注入し、冷却後その表層に直径 0.5cm、深さ 0.2cm の穴をあけこのプール内に諸種の物質を入れ、30°C恒温器内に2時間放置後プール内に集った仔虫の実数を算定した。

2) 北山氏変法

2%寒天平板の中央に3個の小円池 (直径 0.8cm、深さ 0.5cm) を一直線上に各々一定の間隔をおいて設け直線細溝によって連絡し中央池に被囊幼虫、周囲池の一

方に被検液、他方に蒸留水 (対照) を入れ30°Cの恒温器に入れて一定時間後の移行率を検した。

B) 抵抗試験

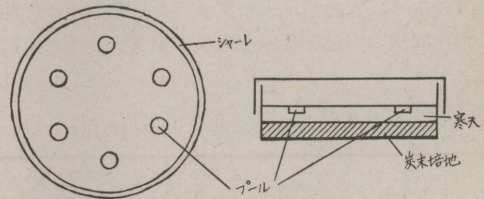
15cc容量のスピットグラスに10ccづつ被検液を入れこれに仔虫懸濁液 0.2ccづつ滴下した。浸漬温度は30°Cとし浸漬後1日、3日、7日、14日の4回観察した。仔虫数は何れも50隻以上を数えた。

実 験 成 績

A) 予備試験による成績

1) 人血清に対する走向性について

培養基上に寒天を注加して冷却した直後図の如く寒天上に等間隔に数個のプールを作り、蒸留水および人血清を各々違ったプールに注入し、それ集った仔虫数を算定した。人血清プール数の差による仔虫数は第1表の通りである。



第1図 予備試験用培地

即ち何れの場合においても人血清プールに集った仔虫数は蒸留水プールよりも多く、前者の最高は1プールに平均 251.5隻であるのに対して、後者の最高は1プール平均 6.7隻に過ぎなかつた。以上より仔虫は人血清に対して陽走向性のある事がわかる。

2) 血液諸成分に対する仔虫の走向性について、

人血球浮游液、人血球の溶血成分、人血清、ヘモグロビン (武田薬品pH 7.6)、およびリンゲル氏液等に対する走向性の有無を検する目的で計7ヶのプールを1)と

MASATAKE OKA, TOSHITA KADOWAKI, YUKIMASA KAMEDA, & SETSUO YAMADA: Studies on the larval tropism and resistance of *Ancylostoma duodenale* (Department of Medical Zoology, Osaka City University, Medical School)

第1表 人血清に対する走向性

No.	プール 総数	蒸溜水 プール数	人血清プ ール数	蒸溜水プールに 集った仔虫総数	人血清プールに 集った仔虫総数	全プールに集 った仔虫総数
1	8	7	1	0 (0)*	2 (2)	2
2	8	6	2	0 (0)	28 (14)	28
3	9	8	1	8 (1)	22 (22)	30
4	8	6	2	40 (6.7)	503 (251.5)	543
5	9	7	2	19 (2.7)	172 (86)	191
6	9	7	2	0 (0)	1 (0.5)	1
7	9	8	1	1 (0.1)	13 (13)	14

* () 内はプール1個についての平均仔虫数

第2表 血液諸成分に対する走行性

No.	被検液 リンゲ ル氏液	50% 血液浮游液	100% 血液浮游液	同左 No. 2	溶血成分	人血清	ヘモグロビン
1	17	93	49	57	52	110	25
2	10	25	10	3	2	26	18
計	27	118	59	60	54	136	43

同様に寒天上に作り夫々の物質を注入した。実験成績は第2表の如くである。

即ち人血清プールが最も侵入率高く、次いで50%血球浮游液が多く、更に100%血球浮游液、溶血成分、ヘモグロビン、リンゲル氏液の順であった。

リンゲル氏液を除いた他の諸種血液成分の内ヘモグロビンに対する仔虫の侵入率が低い点を再び確認する為4プールに夫々、人血清、ヘモグロビン、蒸溜水、を注入して前項同様の実験を行った結果、第3表の如き成績を得た。

第3表 人血清とヘモグロビンの比較

No.	人血清	ヘモグロビン	蒸溜水 No. 1.	蒸溜水 No. 2.
1	12	3	2	2
2	5	1	1	0
3	19	0	5	0
4	367	16	32	14

即ちヘモグロビンのプールに侵入した仔虫数は蒸溜水プールに侵入した仔虫数と差がなく、一方人血清プールに侵入した仔虫数が格段に多い事から、人血清に対しては前項同様陽走向性が認められるのに反してヘモグロビンに対しては陽走向性は認められなかつた。

以上の如き諸成績より *Ancylostoma duodenale* 仔虫

の人血清に対する陽走向性の存在を認めたが、寒天下層炭末部の仔虫の分布状況並びに仔虫数が不明である為に走向率並びに血清間の比較等の詳細が十分に把握出来ない。この点を明らかにするため我々は北山氏変法により走向性の状態を検討した。

B) 北山氏変法による成績

1) 各種溝長の人血清走向陽性率

30°C, 3時間における人血清に対する走向陽性率は第4表の如くである。

第4表 各種溝長による走向陽性率

被検液	溝長(cm)	1	2	3
人血清		35.0(%)	12.7	8.1
蒸溜水		4.9	2.2	0

即ち溝長1cmでは35.0%, 2cmでは12.7%であり3cmでは8.1%であつて、1cmが最高であつた。

2) 各種作用時間における人血清走向陽性率

溝長1cm, 30°Cにおける人血清走向陽性率は第5表の如くである。

即ち作用時間2時間では26.5%, 3時間では37.1%, 5時間では38.7% (以上培養7日の仔虫) であつた。培養10日の仔虫では2時間22.2%, 3時間35.3%, 5時間37.7%を示し、7日目と大差はなかつた。以上の成績か

第 5 表 各種作用時間における走向陽性率(%)

被検液	作用時間(時)	作用時間(時)		
		2	3	5
人血清	培養 7 日間仔虫	26.5	37.1	38.7
	// 10 日間仔虫	22.2	35.3	37.7
蒸溜水	// 7 日間仔虫	5.2	6.3	7.2
	// 10 日間仔虫	2.0	6.0	8.3

ら 3 時間と 5 時間とは大差は認められなかつた。

3) 各種温度における人血清走向陽性率

1) および 2) より走向性試験においては溝長は短かい程走向陽性率は大きであり 1, 2 および 3 cm においては 1 cm が高率である。然し溝長が 1 cm よりも短い場合は被検液の滲透拡散等のため適当ではなく 1 cm が最適と考える。又作用時間も 2 時間より走向陽性率は上昇するが 3 時間および 5 時間ではあまり大差がない故 3 時間が適当と考えられる。溝長 1 cm, 作用時間 3 時間の場合各種の作用温度における走向陽性率は第 6 表の如くである。

第 6 表 各種温度に於ける走向陽性率(%)

被検液	作用温度(°C)	作用温度(°C)						
		15	20	25	30	37	40	45
人血清		0	14.0	19.0	37.1	38.3	43.6	23.0
蒸溜水		0	0.5	1.7	6.3	7.6	7.3	6.6

即ち最高の走向陽性率を示したのは 40°C で 43.6% であり、次で 37°C (38.3%), 30°C (37.1%), 45°C (23.0%), 25°C (19.0%) および 20°C (14.0%) の順であつて、15°C およびそれ以下では陽走向性は認められなかつた。

4) 動物血清に対する走向陽性率

各種動物の血清に対する走向陽性率(溝長 1 cm, 30°C, 3 時間) は第 7 表の如くである。

第 7 表 各種動物の血清に対する走向陽性率

動物	血清(%)	対照(蒸溜水)(%)
牛	29.4	0
モルモット	17.0	1.7
馬	14.8	1.5
マウス	13.0	0
家兎	10.6	0.9
ラット	8.3	1.0
人	37.1	6.3

即ち牛血清が最高値を示し 29.4% であり次いでモルモ

ット血清の 17.0%, 馬血清の 14.8%, マウス血清の 13.0%, 家兎血清の 10.6% であつた。何れも人血清の 37.1% に比し低率であり、牛血清以外は 1/2 以下の走向陽性率を示した。

5) 各種 pH 液に対する走向性

1/10 N 塩酸および 1/10 N 荷性ソーダ溶液の混合液に対する走向陽性率を各 pH に分けて検した。即ち pH 1 では 1.2%, pH 3 では 0, pH 5 では 1.9%, pH 7 では 6.9%, pH 8 では 3.4%, pH 9 では 9.4% であり、何れも 10% 以下で対照の蒸溜水に比較して陽走向性はなかつた。

6) 各種消化液に対する走向性

人体の各種消化液に対する走向性を調べた結果、第 8 表の如き成績を得た。

第 8 表 各種消化液に対する走向性

消化液	反 応	走向陽性率(%)	対照(蒸溜水)(%)
唾 液	pH 7.2	0.03	0
胃 液	pH 2.0 総酸度 23.0 遊離塩酸 12.6	2.7	0.9
胃 液	pH 1.5 総酸度 54.0 遊離塩酸 40.0	0	1.0
人工胃液	pH 1.4 塩酸 0.2 蒸溜水 100 含糖ペプシン 0.25	0	0
A 胆汁	pH 7.4 モイレングラハト 10	5.3	2.6
B 胆汁	pH 7.4 モイレングラハト 410	5.5	1.8
C 胆汁	pH 7.4 モイレングラハト 24	6.5	3.2
腹 水	pH 8.4 比重 1.010	8.1	2.2

即ち唾液に対しては走向陽性率は 0.03% であり、人胃液(総酸度 23.0, 遊離塩酸度 12.6, pH 2.0) に対する走向陽性率は 2.7% を示し、総酸度 54.0, 遊離塩酸度 40.0, pH 1.5 の人胃液では走向陽性率 0 であつた。人工胃液(塩酸 0.2, 含糖ペプシン 0.25, 蒸溜水 100, pH 1.4) に対しても同様走向陽性率は 0 であつた。

メルツァー・リヨン氏法による十二指腸ゾンデにより採取した胆汁に対する走向性は A 胆汁(pH 7.4, モイレングラハト 10) に対しては 5.3% (対照 2.6%), B 胆汁(pH 7.4, モイレングラハト 410) では 5.5% (対照 1.8%), C 胆汁(pH 7.4, モイレングラハト 24) では

第9表 各種消化液に於ける死滅率

消化液	反応	日数	1日	3日	7日	14日	走向性	備考
唾液	pH 7.2		0 (1.5)	67.5 (0)	100 (3.5)	100 (0)	—	3日以後腐敗
胃液	{ pH 2.0 総酸度 23.0 遊離塩酸 12.6		0 (0)	25.8 (0)	39.3 (0)	63.6 (0)	—	
胃液	{ pH 1.5 総酸度 54.0 遊離塩酸 40.0		5 (0)	44.4 (3.2)	48.6 (0)	75.0 (0)	—	
人工胃液	{ pH 1.4 塩酸 0.2 蒸溜水 100 含糖ペプシン 0.25		43.5 (3.4)	64.0 (1.5)	86.9 (0)	94.0 (0)	—	
A胆汁	{ pH 7.4 モイレングラハト 10		0 (0)	0 (3.1)	100 (0)	100 (0)	—	3日以後腐敗
B胆汁	{ pH 7.4 モイレングラハト 410		0 (0)	0 (0)	100 (0)	100 (0)	—	同上
C胆汁	{ pH 7.4 モイレングラハト 24		0 (0)	0 (3.1)	100 (0)	100 (0)	—	〃
腹水	{ pH 8.4 比重 1.010		0 (0)	1.8 (3.3)	100 (1.6)	100 (7.4)	—	〃

数字は死滅率(%) 30°C, 但し()内は対照(蒸溜水)群の死滅率を示す。

6.5% (対照3.2%)であつた。胃癌患者より採取した腹水(pH 8.4, 比重 1.010, Rivalta (-))に対しては8.1% (対照 2.2%)であつた。上記の走向性試験において小円池を正三角形の位置に3個作り, 中央に1個を設け, この中心池よりの溝長1cmにして, 中央池に仔虫懸濁液を, 周囲池に人血清, 腹水, および蒸溜水を入れた時の走向陽性率を見るに, 腹水 7.5%, 人血清 32.4%, 蒸溜水 2.1%となり, やはり人血清に対して著明な陽走向性を認め, 腹水に対しては陽走向性は認められなかつた。

以上より人体消化液に対しては走向陽性率はどれも低率であり対照より考えて陽走向性はないものとする。

7) 各種消化液における死滅率

30°Cにおける仔虫の抵抗性を前記の各種人消化液等を用いて検した結果は第9表の如くである。

即ち唾液では1日後は死滅せず3日後67.5%の死滅率を示し, 7日以後は全部死滅した。3日後より唾液の腐敗臭を認めた。

胃液では総酸度23.0, 遊離塩酸 12.6, pH 2.0のものは1日後は死滅せず, 3日後25.8%の死滅率となり7日後39.3%, 14日後63.6%となり, 尚約35%が生存した。総酸度54.0, 遊離塩酸 40.0, pH 1.5のものでは1日後5%の死滅率を示し, 3日後は44.4%と増加し, 7日後48.6%, 14日後75.0%となつたが尚25%は生存した。比較の為人工胃液(塩酸 0.2, 含糖ペプシン0.25, 蒸溜水

100, pH 1.4)における死滅率を検したが, 1日後43.5%の死滅率を示し, 3日64.0%, 7日86.9%, 14日94.0%となり, 前記人胃液に比し死滅率は大であつた。

胆汁はA, B, C (前記のものと同じ) 何れの胆汁も1日後, 3日後共に死滅するものなく, 7日以後は全部死滅したが, 3日後より胆汁の腐敗臭を認めた。

胃癌患者の腹水に対する抵抗性は1日後, 3日後何れも殆んど死滅せず7日以後は全部死滅した。この場合も3日後より腹水の腐敗臭を認めた。

考察

Ancylostoma duodenale (以下 A. D. と略す) 仔虫が各種の血清に対して陽走向性を有する事は周知の事実であつて, 我々の実験成績からも, あらためて確認されたが特に, 固有宿主である人血清に対して高い陽走向性を示した点より, A. D. 仔虫はかなり種属特異性の走向性を有するものの様に考えられる。

更にその人血清に対しても, 至適の作用温度があつて, 37°C~40°C, 前後において最も走向性が顕著であつた事は, 丁度, 37°C~40°Cの体内温度を有する人体への感染に非常に好都合な性質である。かくの如く血清に対して高い走向性を有したに反し各種消化液に対しては何等の陽走向性を示さなかつた所から, 経口的に摂取された仔虫は, そのまま腸管腔に生存すると考えるよりはむしろ, 血清を求めて組織又は血液中に侵入すると考える

方がより妥当の様に思える。

鉤虫症感染経路について横川 (1952), 吉田 (1958) 等は *A. D.* 仔虫は主として経口、一部経膚感染を行ううに対し、アメリカ鉤虫仔虫は経膚を主とし一部経口感染を行うと考え、之に反して宮川等は、両者共に経膚が主であると報じている。前者の経口感染を考える場合、*A. D.* 仔虫が消化液特に胃液に対して抵抗性を有する事が必要である。今回の実験成績から各種人消化液 (唾液、胃液、胆汁) 中において、*A. D.* 仔虫は24時間後では殆んど死滅せず、かなり酸度の高い胃液の中でも尚生存するものを多数に認めた点より、胃液に対して強い抵抗性を有するものとする。

比較対照として人工胃液中での抵抗性を検したが、人胃液よりは抵抗性は弱かつたが、しかしこの場合でも24時間後になお半数以上の仔虫の生存が認められた。

経口的に摂取された食物が消化管を通過する時間は固体よりも液体の方が早い、固体の場合でも4時間で小腸に到着し、12~15時間で大腸に至り、24~72時間で排便されるのが普通である。即ち特別の場合を除いて胃液の作用時間は約4時間が最高であり、胆汁は24~72時間が限度と考える。かかる作用時間より考えて、*A. D.* 仔虫が経口的に摂取されても消化液による殺滅は殆んど行われぬものと考えられる。なお人工胃液と人胃液との抵抗性の差については人胃液中に含まれる粘液 (ムチン等を含む) や消化酵素即ち Pepsin, ラブ酵素, 胃リパーゼ等の存在の他に上皮細胞, 白血球等の存在による所の複雑な因子に大いに影響されたものと考えられる。

以上の諸点より *A. D.* 仔虫が経口的又は経膚的感染の何れを主とするかはなお今後の研究に俟たなければならぬが、経口的に仔虫が摂取されても消化液による殺滅は殆んど行われず且つ経口経膚何れの場合も作用温度37~40°C (人体温) の最適温度下において血液を求めて組織内又は流血中に侵入するものではないかと考えられる。

総括

Ancylostoma duodenale 仔虫について種々の血清に対する走向性並びに人体消化液中における抵抗性について実験した結果次の成績を得た。

1) 各種温度における人血清走向陽性率は40°Cが最高で、次いで37°C, 30°C, 45°C, 25°C, 20°C, の順序であり、15°C以下では0であった。

2) 種々の動物の血清に対しては人血清に次いで牛血清が高率であり、次いでモルモット、馬、マウス、家

兎、ラットの順であつた。

3) 種々の人消化液 (唾液、胃液、胆汁) に対する走向性は何れも陰性であつた。

4) 仔虫の抵抗性については人消化液 (唾液、胃液、胆汁) 中では何れも24時間では殆んど死滅せず3日後より漸時死滅率は増加した。

以上より経口的に感染仔虫を摂取しても消化液による殺滅は時間的に考えて殆んど行われぬものとする。

拙筆するに当り、終始御指導を賜わり且つ本文御校閲の労を賜つた恩師田中英雄教授に心から深謝の意を表す。又種々御教示を賜つた高田孝久講師並びに御協力を戴いた教室員諸賢に深謝する。

尙本論文の要旨は、昭和33年5月第27回日本寄生虫学会総会に於て発表した。

参考文献

- 1) 宮川米次 (1956): 最新臨床寄生虫病学蠕虫性疾患 1, 153-167, 中外医学社。
- 2) 安田一郎 (1957): 各種化学薬品の鉤虫仔虫に対する殺滅試験, 寄生虫学雑誌, 1 (6), 75-86。
- 3) 北山 博 (1935): 十二指腸虫 (鉤虫) の向性に関する実験的研究, 第一編, 鉤虫の向性一般就中向化性並びに其れと固有宿主血清との関係, 大阪高等医学専門学校雑誌, 3 (2), 5-32。
- 4) 金井 泉 (1954): 臨床検査法提要, 金原出版 K. K. —5) 平井成就 (1929): 十二指腸虫被包仔虫の向性に就いての研究並びに其他の生物学的知見補遺, 慶応医学, 9 (2), 281-328。
- 6) 分島 整 (1933): 鉤虫科 *Ancylostomidae* 成熟仔虫の趨向性 Tropism に関する実験的研究, 第1報鉤虫科 *Ancylosiome* 成熟仔虫向触性 Thigmotropism に就いて, 台湾医学会雑誌, 32 (8), 37-60。
- 7) 分島 整 (1933): 鉤虫科 *Ancylostomidae* 成熟仔虫の趨向性 Tropism に関する実験的研究, 第3報鉤虫科 *Ancylostomidae* 成熟仔虫の向化性 Chemotropism に就いて, 台湾医学会雑誌, 32 (10), 43-69。
- 8) 横川 定 (1952): 鉤虫の種類とその感染経路について, 東京医事新誌, 69, 27。

Summary

It was examined about the larval tropism and resistance of *Ancylostoma duodenale* for various sera and human digestive juices.

The results were summarized as follows:

1) The highest positive tropism rate for human serum was revealed at 40°C, and then deteriorated by degrees at 37°C, 30°C, 45°C, 25°C, and 20°C. At 15°C it was observed no positive tropism for human serum.

2) Among the various sera, it revealed the highest positive tropism rate for human serum, and deteriorated by degrees for cattle, guinea pigs, horses, mice, rabbits and rats sera.

3) No positive tropism for the various human digestive juices was observed.

4) The larvae survived more than 24 hours at 30°C in various human digestive juices.