

蛔虫卵の呼吸代謝

(2) 蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼす阻害剤及び Cobalt-60 照射の影響

齊藤 昭三

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34年12月16日受領)

第1報では蛔虫卵の Thunberg 法によるメチレン青脱色能に及ぼす pH, 温度, 基質濃度の影響を検討し, 更に蛔虫卵の発育とメチレン青脱色能との関係について報告した(齊藤・川副・浅見, 1956). 又その報告とは別系統のものであるが, 著者は先に放射性同位元素 cobalt-60 を使用し, 蛔虫卵の殺滅に関する基礎実験を行つて来て主として仔虫形成阻止及びマウスへの感染阻止線量を追求し, 7 線に対する蛔虫卵の発育時期による感受性の差を比較して報告した(浅見・小林・齊藤, 1955; 齊藤 1957 1958).

そこで今回は引きつゞき Thunberg のメチレン青脱色反応法を用いて, 数種の阻害剤及び cobalt-60 照射が蛔虫卵のメチレン青脱色能に如何なる影響を及ぼすかについて検討した. 本実験に於いても前回と同様蛔虫卵の破碎液を使用し, 基質としてはコハク酸を用いて行い, 純粋にコハク酸脱水素酵素を抽出して行つたものではないが, 前報と同様まだ殆んど行われていない蛔虫卵の呼吸代謝に於ける脱水素酵素系の一端を追求した次第である.

実験 1. メチレン青脱色能に及ぼす阻害剤の影響

材料及び実験方法

1. 虫卵材料

虫卵材料は屠殺場より得た豚蛔虫の新鮮子宮内 (下部 1.5 cm) 卵で, 試料による差を小さくするため, 各実験毎に夫々十数四分の材料を充分攪拌混合して用いた.

2. 阻害剤の種類

本実験に用いた阻害剤は, 一般に呼吸代謝系の阻害剤として使用されているマロン酸, モノヨード酢酸, 弗化ソーダ, 亜硫酸ソーダ, ピロリン酸ソーダ, エチールウレタン, アジ化ソーダ, KCN と農業であるが強い殺卵力を有する Pentachlorophenol (PCP) の9種類である.

3. メチレン青脱色の測定法

各阻害剤の実験に於いて, 上記虫卵材料をトーマ氏血球計算盤により約20万個を算定し, その破碎液 0.5 ml を実験に供し, 又メチレン青は予め $1/5,000$ のものを作製しておき, 実験直前に $1/25,000$ に稀釈して使用した.

Thunberg 管中に収めた組成及び量は下記の通りである.

主室	(蛔虫単細胞期卵(約20万個)破碎液	0.5 ml
	緩衝液 (M/10 KH_2PO_4 M/20 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, pH 9.0)	2.5 ml
側室	($1/25,000$ メチレン青	0.5 ml
	M/10 コハク酸ソーダ	0.5 ml
	阻害剤(或いは対照として蒸留水)	1.0 ml

阻害剤の濃度については実験成績の項に記述する.

排気は真空ポンプで3分間行い, ついで 30°C 恒温槽に10分間放置して温度を平衡させた.

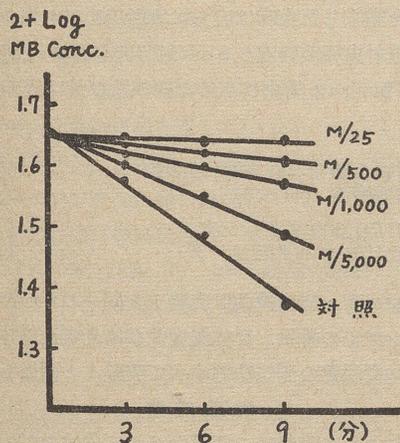
メチレン青脱色の測定に当つては, Tam & Wilson (1941) の記載した光電比色計による測定法に従つて行つた. 即ち夫々の実験に於いて, 各 Thunberg 管について側室内内容を主室に混和した直後より3分毎にメチレン青脱色の割合を光電比色計で測定した(その際の Blank は蒸留水を使用した). その時の光電比色計の読みを I とする. 更に各 Thunberg 管共少量のヒドロ亜硫酸ソーダを加え, メチレン青を完全に脱色させ, 虫卵材料による濁りを比色計で測定した. その時の比色計の読みを I_0 とすると, 各時間に於けるメチレン青の濃度は $\log(I_0/I)$ に比例する. かくしてメチレン青の濃度の対数をもう一度とつて, メチレン青の還元脱色と時間との関係を直線的にせしめ, 蛔虫単細胞期卵のメチレン青脱色能に及ぼす各阻害剤の影響を検討した.

実験成績

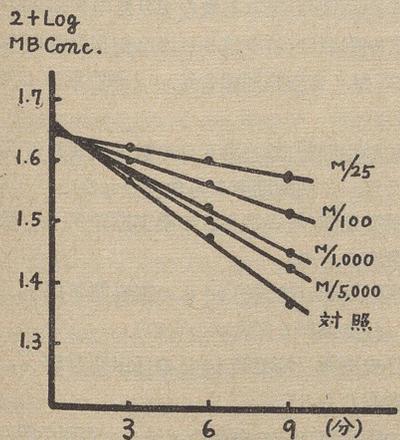
先づコハク酸脱水素酵素の阻害剤としてよく知られているマロン酸及びモノヨード酢酸について実験を試み

た。両阻害剤の濃度としては夫々反応液全体としてM/25~M/5,000の範囲で数段階に分けて実験を行い、その成績を第1図及び第2図に示した。両図共メチレン青濃度と時間との関係を図示したものであり、これによると2+Log MB Conc.と時間とは略々直線関係を示している。このように酵素反応と時間との関係が直線となる場合には、その傾斜より反応速度は容易に求められ、酵素活性値の測定に便利である。これら両図より分るように、両阻害剤共濃度の増加と共にメチレン青脱色能の阻害はより強く認められ、且つモノヨード酢酸よりマロン酸の方により強い阻害が認められた。

同様にして KCN 及び PCP について、M/1,000~

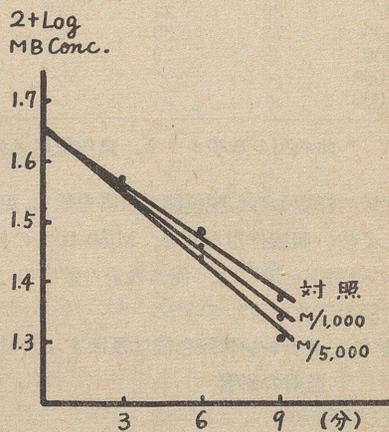


第1図 蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼすマロン酸の影響

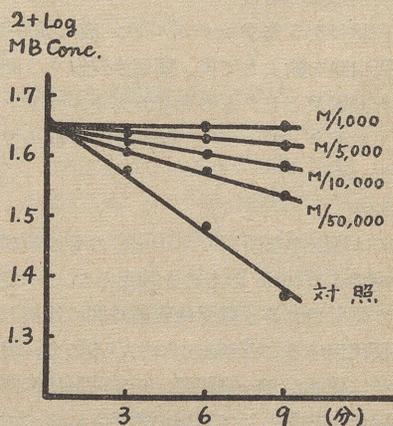


第2図 蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼすモノヨード酢酸の影響

M/50,000の濃度で実験を行い、その成績を第3図及び第4図に示した。これによると KCN では阻害作用は全然なく、M/1,000及びM/5,000で脱色能の促進が認められ、これに反し PCP では著しく強い阻害作用が認められた。



第3図 蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼす KCN の影響



第4図 蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼす PCP の影響

このようにして更に弗化ソーダ、亜硫酸ソーダ、ピロリン酸ソーダ、エチールウレタン、アジ化ソーダについて、M/25~M/5,000の濃度で実験を進め、上述の4阻害剤の成績も合せて、各阻害剤の濃度と夫々の阻害率との関係を一括して第1表に示した。これによるとマロン酸及びモノヨード酢酸では比較的強い阻害作用を認め且つ前者に於いてやゝ強く、又弗化ソーダ、亜硫酸ソーダ、ピロリン酸ソーダ、エチールウレタン、アジ化ソーダの5

第1表 各阻害剤の濃度と阻害率との関係

阻害剤の濃度	阻 害							率 *	
	マロン酸	モノヨー ド酢酸	弗化 ソーダ	亜硫酸 ソーダ	ピロ燐酸 ソーダ	エチール ウレタン	アジ化 ソーダ	KCN	PCP
M/25	98	78	61	35	49	34	49	/	/
M/100	94	54	29	29	35	23	37	/	/
M/500	89	34	16	23	6	3	19	/	/
M/1,000	78	30	12	15	-7	-8	13	-22	100
M/5,000	43	19	7	6	-1	-3	8	-8	94
M/10,000	/	/	/	/	/	/	/	0	81
M/50,000	/	/	/	/	/	/	/	0	56

(註) * 此の項の数字のうち、負の値はメチレン青脱色能の促進を示す。

者では比較的軽度乍らも脱色能の阻害を示し、更に PCP では著しく強い阻害作用を認め、M/50,000 の低濃度で尙 56% の阻害率を示した。尙この表の数字のうち負の値は脱色能の促進を示している。

実験 2. メチレン青脱色能に及ぼす cobalt-60 照射の影響

材料及び実験方法

1. 虫卵材料

実験 1 と同様豚蛔虫の新鮮子宮内卵である。

2. 照射前の虫卵培養

上記虫卵材料を 5% アンチホルミン液に 40~50 分間浸漬し、蛋白膜を除去して後、蒸留水洗滌を 3 回行い、均一な虫卵懸濁液としたものを 0.5% ホルマリン加 2% 寒天平板上に置き、27~28°C 孵卵器内に収めて照射前に培養を行った。

3. γ 線源

cobalt-60 は当医学部所有の 40 curie のもの及び東京第二病院所有の 120 curie のものを使用した。一定の強さの線源より照射される γ 線量は照射時間に比例し、距離の 2 乗に反比例することがわかつているので、実験における各線量は線源から一定距離、一定時間内に照射せられる実測線量を基準として算出することによつて簡単に求めることが出来る。

4. 照射の方法

照射時の卵期を 1) 単細胞期, 2) 2 細胞期, 3) 数細胞期, 4) 桑実期, 5) 蝌蚪期, 6) 仔虫期の 6 期に分けた。各回とも照射直前にホルマリン加寒天平板上の虫卵を夫々ポリエチレン製小袋に移して、前後に薄く圧平したものを作り、これを被照射材料とし線源に対して一定距離垂直方向に正しく設置した。照射時間は主として 40 時間に統一したが、一部は 133.5 時間照射も行った。

尙対照卵として被照射材料と同様ポリエチレン製小袋

に移した虫卵を研究室におき室温に放置した。

5. メチレン青脱色の測定法

照射を完了した虫卵は直ちに実験室に持ち来り、約 20 万個の照射虫卵破砕液 0.5 ml (対照卵も同様) を実験に供した。Thunberg 管中に収めた組成及び量は下記の通りである。

主室	(蛔虫卵(約 20 万個)破砕液	0.5 ml
	(緩衝液 (pH 8.6))	2.5 ml
側室	(1/50,000 メチレン青	1.0 ml
	(M/20 コハク酸ソーダ	1.0 ml

メチレン青・緩衝液共に実験 1 と同一のものを使用し真空ポンプでの排気、反応温度並びに光電比色計によるメチレン青脱色の測定法等すべて実験 1 と同様である。

実験成績

上述のように照射時の卵期を 6 つに分けたが、個々の虫卵の發育速度は必ずしも一様でなく、更に詳述すると次の如くである。

(1) 単細胞期卵 (採取直後の 100% 単細胞期のもの)。

(2) 2 細胞期卵 (培養第 3 日の 2 細胞期卵 67%, 単細胞期卵 23%, 3 細胞期卵 8%, 4 細胞期卵 2% 含有のもの)。

(3) 数細胞期卵 (培養第 6 日の数細胞期卵 97%, 4 細胞期卵 2%, 3 細胞期卵 1% 含有のもの)。

(4) 桑実期卵 (培養第 8 日の桑実期卵 97%, 数細胞期卵 3% 含有のもの)。

(5) 蝌蚪期卵 (培養第 10 日の蝌蚪期卵 91%, 桑実期卵 3%, 仔虫期卵 6% 含有のもの)。

(6) 仔虫期卵 (培養第 13 日の仔虫期卵 98%, 蝌蚪期卵 2% 含有のもの)。

上記の各發育時期の虫卵のメチレン青脱色能に及ぼす cobalt-60 照射の影響を検討した。各実験共、対照卵と各線量照射卵の脱色率を追求し、それより実験 1 と同様を

第2表 蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼす Cobalt-60 照射の影響

	概算線量 (レトゲン)	線源からの 距離 (cm)	照射時間 (hr)	阻 害 率 *					
				単細胞期	2細胞期	数細胞期	桑実期	蛸蚪期	仔虫期
A	820×14 ⁴	5.0	133.5	62	/	/	79	/	/
	320×10 ⁴	4.4	40.0	-30	-52	-64	-66	-29	-6
	160×10 ⁴	6.2	//	-8	-16	-30	-50	-5	-3
	80×10 ⁴	8.8	//	-5	-7	-21	-46	-2	-2
B	40×10 ⁴	5.4	//	-3	-5	-17	-22	0	-3
	20×10 ⁴	7.6	//	0	1	-11	-18	-2	0
	10×10 ⁴	10.8	//	2	0	-3	-5	0	2

(註) * 此の項の数字のうち、負の値はすべてメチレン青脱色能の促進を示す。

それぞれ阻害率を求め、第2表に一括して示した。照射線量は10万r~820万rの範囲で数段階に分けたが、この中Aグループ(80万r~820万r)は120 curie, Bグループ(10万r~40万r)は40 curie の cobalt-60 を使用したものである。この表中の負の値は第1表と同様すべてメチレン青脱色能の促進を示している。これによると各発育時期の実験共、320万r(40時間)照射迄は線量の増加と共にメチレン青脱色能の促進がみとめられ、桑実期に於いてその促進は最高を示し、その前後に於いては減少した。これに対し820万r(133.5時間)照射では明かに阻害が認められ、単細胞期の阻害率は62、桑実期のそれは79であった。これらの成績より cobalt-60 γ線に対する発育時期による感受性の差をみると、桑実期(培養第8日)の感受性が最高でその前後に低下していると考えられる。

著者は先に cobalt-60 照射による殺卵実験を行つて来たが、80万r以上の大線量の照射を行つたことがないので、照射卵の一部をホルマリン加寒天平板を用い、27°C 孵卵器で照射後継続培養を行い、このような大線量照射によつても尙虫卵は発育能力を有するかどうかを検した。照射時単細胞期のものを照射後1週間継続培養後鏡検してみた所、対照卵は98%数細胞期まで発育しているのに、80万r照射では2細胞期まで発育したものはわずかに8%に過ぎず、残り92%は単細胞期のままであり、又160万r、320万r及び820万r照射では虫卵の発育は全然みとめられず全部単細胞期のままであり、殆んどすべて細胞外空胞形成を来し、又顆粒変性がみとめられた。又照射時数細胞期及び桑実期のものを照射後1週間継続培養して鏡検してみた所、80万r~820万r照射すべてに於いて照射後の発育は全然みとめられず、殆んどすべてに小顆粒変性像がみとめられた。しかし本実験に使用せる虫卵はすべて照射直後のものであり、各

実験すべてに於いて明かな変性像をみとめなかつたものである。

総括並びに考按

蛔虫卵の呼吸代謝に関する研究はFairbairn(1957)によると、すでに1913年 Fauré-Fremiet により馬蛔虫卵で試みられて居り、その後 Brown(1928), Jaskoski(1952) Huff & Boell(1936), Passey & Fairbairn(1955) 及び柳沢(1957-8)等により豚蛔虫卵で検討されているが、これらは何れも蛔虫卵の酸素消費の面の追求であり、所謂 Thunberg 法による蛔虫卵のメチレン青脱色能に関する報告はまだ前報の著者等のもの以外には見当たらないようである。

コハク酸脱水素酵素は現在 TCA cycle を回転させる酵素の一つとして、生体内終末呼吸系に必須の役割を演じていると考えられているが(Krebs 1943, Green et al. 1948), 前報に於ける蛔虫卵の破碎液の実験に於いてはよくその酵素の一般的性質を示した。

引きついで今回は前述のように阻害剤の実験を試みたのであるが、一般に呼吸酵素に対する阻害実験は古くから行われて居り、酵素の性質および作用様式に関して数多くの知見が得られているものである。コハク酸脱水素酵素の拮抗的阻害剤としてよく知られているものにはマロン酸等の二塩基酸があり、又モノヨード酢酸も-SH基と反応して非可逆的に-SH基を抑え、やはりこの酵素活性を阻害することが知られている(Baldwin, 1952)。

本実験1に於いてマロン酸、モノヨード酢酸は蛔虫卵のメチレン青脱色能を比較的強く阻害し、且つ前者に於いてより強い阻害を示したが、これは蛔虫卵の破碎液という複合酵素系による実験ではあるが、コハク酸脱水素酵素の一般的性質を示したものと考えられる。

又弗化ソーダ、亜硫酸ソーダ、ピロリン酸ソーダ、エチルウレタン等は一般に脱水素酵素の阻害剤として知られ

ているものであり、蛔虫卵の実験でもマロン酸、モノヨード酢酸よりも夫々その阻害率は低下したが、いづれもメチレン青脱色能の阻害が認められた。

アジ化ソーダ、KCN は共にチトクロームオキシダーゼの阻害剤であり、シアン化物は M/1,000 位の濃度でチトクロームオキシダーゼを完全に阻害するという (Baldwin, 1952)。この両阻害剤のメチレン青脱色能に及ぼす影響を検討した所、アジ化ソーダに於いては比較的弱い阻害を認め、KCN では阻害を認めず、M/1,000 及び M/5,000 に於いてわづかに促進を認めた。

尙 PCP について藤田 (1959) は蛔虫卵に対し強い殺卵力を有することを認めているが、本実験に於いて PCP は蛔虫卵のメチレン青脱色能に対し著しく強い阻害作用を示したことより考えると、少なくとも PCP の作用機転の一つとして蛔虫卵のコハク酸脱水素酵素乃至呼吸代謝の強い阻害作用があり、その結果上述のような強い殺卵効果を招来したのであろうと推察される。

次に放射線の酵素に及ぼす影響に関する研究については、1930年 Risse, 1934年 Fricke 等により始められ、現在では多くの研究者に純粋に抽出された酵素について実験され、放射線照射によるいくつかの酵素活性の阻害がみとめられている (Sumner & Myrbäck, 1950)。

しかし放射線の生物に対する作用機構については target 説、間接説等があるも、現在尙不明な点が多く、殊に生細胞の酵素に及ぼす放射線の影響については、今後追求されるべき多くの問題が残つていると考えられる。

蛔虫卵に対し cobalt-60 を照射し、その発育及び感染能力に及ぼす影響を検討したものは、前述の著者等のもの以外にこゝ数年間に二・三の報告がみられて居り (門多, 1957-8; 小林ら, 1958; Villella et al., 1958)、いづれも cobalt-60 照射により蛔虫卵の変性、発育の遅延及び阻止或いは感染阻止等を認めている。そこで本実験 2 に於いては、このような cobalt-60 γ 線照射が蛔虫卵のメチレン青脱色能に如何なる影響を及ぼすかについて検討してみた次第である。

著者等の殺卵実験に於ける単細胞期卵の仔虫形成完全阻止限界線量は 11 万~15.3 万 r 間であつたことから考えると、今回の照射線量は 10 万~820 万 r という非常に大線量である。このような大線量照射にもかかわらず 320 万 r (40 時間) 照射迄は蛔虫卵のメチレン青脱色能の阻害はみとめられず、むしろ線量の増加と共に各発育時期の虫卵の脱色能は促進を示した。これは γ 線照射により照射直後の蛔虫卵の呼吸代謝が一時的に刺戟されて脱

色能の促進を来したものと思われる。即ち照射後の継続培養による観察では虫卵の発育の促進は全然みられず、著しい発育の遅延乃至阻止が観察されている。又 820 万 r (133.5 時間) 照射では単細胞期、桑実期共に比較的強い脱色能の阻害を認めた。これは照射直後の成績ではあるが、照射時間が非常に長いので、その照射中にすでに虫卵は鏡検では明かにみとめられない変性をおこして、その結果虫卵の呼吸代謝は低下して脱色能の減少を示したのであろうと考えられる。即ち今回の成績からは、cobalt-60 γ 線は蛔虫卵のコハク酸脱水素酵素活性に一次的に阻害作用を及ぼして虫卵の殺滅を招来するとは考えられない。むしろメチレン青脱色能は γ 線照射による虫卵の障害程度を示して、照射直後は脱色能のわづかな促進をみとめても、照射後日数の経過により虫卵の障害が進むにつれてその脱色能は著しく低下を来すであろう。

尙第 2 表における成績より cobalt-60 γ 線に対する蛔虫卵の発育時期による感受性の差をみると、先に報告した仔虫形成阻止及びマウスへの感染阻止線量よりみた成績と同様、細胞分裂と呼吸代謝の最も旺盛と思われる桑実期 (培養第 8 日) の感受性が最高でその前後に低下していると考えられる。

結 論

Thunberg のメチレン青脱色反応法により、基質としてはコハク酸を使用し、蛔虫卵のメチレン青脱色能に及ぼす阻害剤及び cobalt-60 照射の影響を検討し、下記の結果を得た。

1. マロン酸、モノヨード酢酸では比較的強い阻害を認め、前者に於いてより強く脱色能は阻害され、蛔虫卵の破碎液による実験ではあるがコハク酸脱水素酵素の一般的性質がみとめられた。
2. 弗化ソーダ、亜硫酸ソーダ、ピロリン酸ソーダ、エチールウレタン、アジ化ソーダでは前二者より弱いがいづれも脱色能の阻害をみとめたが、KCN による阻害は認められなかつた。
3. 強い殺卵力を有する PCP では著しく強い脱色能の阻害がみとめられ、M/50,000 の低濃度でも阻害率は 56 であつた。
4. cobalt-60 照射では 320 万 r (40 時間) 照射迄は線量の増加と共にメチレン青脱色能の促進を認め、桑実期に於いてその促進は最高を示し、その前後には低下した。
5. 820 万 r (133.5 時間) 照射では明かに脱色能の阻

害が認められ、単細胞期の阻害率は62、桑実期のそれは79であった。

終りにのごみ、御指導、御校閲を賜った松林久吉教授 浅見敬三助教授並びにγ線照射に際し種々御指導と御便宜を賜った放射線科山下久雄助教授、東京第二病院大越健一氏に深甚なる謝意を表す。

尙本論文の要旨は昭和33年5月16日第27回日本寄生虫学会総会及び昭和33年11月25日第38回慶応医学部総会に於いて発表した。

文 献

- 1) 浅見敬三・小林昭夫・齊藤昭三(1955)：放射性物質 Cobalt-60 照射による蛔虫卵殺滅に関する研究 I, 寄生虫学雑誌, 4, 331-336.
- 2) Baldwin, E. (1952) : Dynamic aspects of biochemistry. Cambridge University Press, Cambridge.
- 3) Brown, H. W. (1928) : A quantitative study of the influence of oxygen and temperature on the embryonic development of the eggs of the pig ascarid (*Ascaris suum* Goeze). J. Parasit. 14, 141-160.
- 4) Fairbairn, D. (1957) : The biochemistry of *Ascaris*. Exptl. Parasit. 6, 491-554.
- 5) 藤田憲三(1959) : 農薬の蛔虫卵発育に及ぼす影響, (1) 試験管内効果について, 寄生虫学雑誌, 8, 580-585.
- 6) Green, D.E., Loomis, W. F. and Auerbach, V. H. (1948) : Studies on the cyclophorase system. I. The complete oxidation of pyruvic acid to carbon dioxide and water. J. Biol. Chem. 172, 389-403.
- 7) Huff, G. C. and Boel, E. J. (1936) : Effect of ultracentrifuging on oxygen consumption of the eggs of *Ascaris suum* Goege. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 34, 626-628.
- 8) Jaskoski, B. J. (1952) : The protein coat in development of *Ascaris lumbricoides* eggs. Exptl. Parasit. 1, 291-302.
- 9) 門多魁(1957) : 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究, (3) Cobalt-60 の蛔虫卵発育に及ぼす影響について(その1), 寄生虫学雑誌, 6, 424-431.
- 10) 門多魁(1957) : 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究, (4) Cobalt-60の蛔虫卵発育に及ぼす影響について(その2), 寄生虫学雑誌, 6, 518-525.
- 11) 門多魁(1958) : 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究, (5) Cobalt-60の蛔虫卵感染能に及ぼす影響について, 寄生虫学雑誌, 7, 69-73
- 12) 小林昭夫・熊田三由・小宮義孝(1958) : 放射性物質 Cobalt-60照射による蛔虫卵殺滅に関する研究, III. 仔虫期卵の抵抗性, 寄生虫学雑誌, 7, 39-47.
- 13) Krebs, H. A. (1943) : The intermediary stages in the biological oxidation of carbohydrate. Advances in Enzymology 3, 191-252.
- 14) Passey, R. F. and Fairbairn, D. (1955) : The respiration of *Ascaris lumbricoides* eggs. Can. J. Biochem. Physiol. 33, 1033-1046.
- 15) 齊藤昭三・川副泰時(1960) : 蛔虫卵の呼吸代謝, I. 蛔虫卵の発育とメチレン青脱色能の関係, 寄生虫学雑誌, 9, 227-231.
- 16) 齊藤昭三(1957) : 放射性物質 Cobalt-60照射による蛔虫卵殺滅に関する研究, II. 発育時期による感受性の差, 寄生虫学雑誌, 6, 175-181.
- 17) 齊藤昭三(1958) : 放射性物質 Cobalt-60照射による蛔虫卵殺滅に関する研究, III. 照射卵のマウス感染実験, 寄生虫学雑誌, 7, 613-622.
- 18) Summer, J. B. and Myrbäck, K. (1950) : The enzymes. Volume 1, Part 1, Academic Press Inc., New York.
- 19) Tam, R. K. and Wilson, P. W. (1941) : Respiratory enzyme systems in symbiotic nitrogen fixation. J. Bact. 41, 529-546.
- 20) Vilella, J. B., Gould, S. E. and Gomberg, H. J. (1958) : Effect of cobalt-60 and X ray on infectivity of ascaris eggs. J. Parasit. 44, 85-92
- 21) 柳沢十四男(1957) : 蛔虫卵の発生に伴う酸素消費について, 寄生虫学雑誌, 6, 323-324.
- 22) 柳沢十四男(1958) : 蛔虫卵の発生に伴うガス代謝について(2), 寄生虫学雑誌, 7, 214.

STUDIES ON THE RESPIRATORY METABOLISM OF ASCARIS EGGS

(2) Effect of inhibitors and cobalt-60 irradiation on methylene blue decolorization activity of ascaris eggs

SHOZO SAITO

(Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

Following the author's former paper which dealt with the methylene blue decolorization activity of *Ascaris lumbricoides* ova, inhibitory effects of some of respiratory inhibitors as well as irradiation of radioactive cobalt-60 on the respiration of ascaris eggs were studied in the present paper.

The reaction system comprised the homogenized ascaris eggs, succinate, methylene blue and inhibitors in various concentrations. Inhibitors tested were malonate, monoiodoacetic acid, potassium cyanide, sodium fluoride, sodium arsenite, sodium pyrophosphate, urethane, and azide. Pentachlorophenol (PCP) was also tested because it was detected by Fujita that this chemical has a strong activity to kill the ascaris eggs.

Among the inhibitors above described the effect of PCP was the strongest showing complete inhibition in concentration of M/5,000 and 50% inhibition even in M/50,000. Malonate had also rather strong effect showing 43% inhibition in concentration of M/5,000. The other inhibitors except KCN showed the effects only in the higher concentration of M/25 or M/100. KCN showed no inhibitory effect on the activity. In the experiment of cobalt-60 irradiation, irradiation of small doses (under $320 \times 10r$) stimulated the activity, however, large doses ($820 \times 10r$) affected in inhibitory. In the developmental stages of the eggs, the activity of moulting stage eggs was most sensitive to the effect of irradiation.

It appears that these results indicate the general characteristics of the activity of succinic dehydrogenase. It seems to be possible to understand the mechanism of killing effect of PCP on ascaris egg from the stand point of respiratory inhibition.