

蛔虫の發育初期の生理に関する研究

(1) 単細胞期卵から脱殻仔虫に至る發育期における 酸素消費の動きについて

川 副 泰 時

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35年8月22日受領)

蛔虫の形態学及び生態学については過去に数多くの研究が積重ねられて居り、従来の方法でのこの方面の研究には向後大した新知見の発見を期待し得ぬと云つても良い程である。

併し乍ら生理学的方面の研究は一部の研究者のものを除いては殆んど行われて居らず、わが国では故小泉教授のそれ(1954)が蛔虫症の発症と蛔虫の生化学を結びつける方向の殆んど唯一の深い研究と云えよう。極めて最近の数カ年はようやく蛔虫の生化学に対する一般の関心が昂まり、酵素学的、化学的発表が散見されるが、それ等はいづれも飼育蛔虫成虫の代謝についてのものであつて、蛔虫の發育生理に関したものは先ず見当らないとしてよい。

蛔虫卵は周知の様に適当な自然条件下で發育し、内部に仔虫を形成して感染性を得、人体に経口的に侵入してから後に血行的に体内移行を営んでようやく小腸に定座する。この間にある一見奇妙な現象である体内移行の機序については現在の所全く分つていないが、これも發育初期の生理の研究が解決すべき問題であることは言うまでもない。

蛔虫卵の發育条件については流行学的な興味及び必要から詳しく研究が行われ、その1つとして無酸素状態では發育の行われないことが馬蛔虫卵を用い1885年にすでに Hallez によつて明とされているし、我が国でも小林(1922)、大場(1923)、野村・土橋(1931)が人蛔虫卵或は豚蛔虫卵で定量的ではないが、不十分な酸素の供給が發育を停止させることをみている。

この問題を定量的に観察したものとしては、馬蛔虫卵を用いた1913年の Faure'-Fermiet の研究を除いては Brown (1928)、Huff(1936)、Jaskoski(1952)の研究があるが後述の如くにこれ等の実験は方法の拙劣さから誤つた結果を導いている。ようやく最近に発表された Passey

& Fairbairn(1955)に至つて蛔虫卵の呼吸の本姿がとらえられ始めたとして良いであろう。

著者の報告は發育初期における蛔虫卵及び仔虫の酸素消費を観察し、これと、次報に報ずるグリコーゲン量の消長との生理的関連から蛔虫の宿主体内移行機序を説明しようとするのも一つの目的である。

材料及び方法

1. 使用した蛔虫卵

屠場から運ばれた新鮮な豚蛔虫の子宮内卵をとり出して使用した。子宮の上部からの虫卵は不受精卵や發育能力の未だ備わらぬ虫卵の混入があつて実験成績を狂わせる恐れがあるので陸よりせいぜい5~10cm上方までの子宮内容を培養に用いた。又蛋白膜の付着はその粘着性のために均等な發育を得難いことや種々な操作に不便があること等からこれを除いた。勿論、酸素消費実験その他の実験でも蛋白膜を構成する物質が成績に影響を与える懸念がなくなるという点でも蛋白膜除去は好都合である。蛋白膜を除くことによつて呼吸や發育に影響がある(Huff, 1936)との説もあるが、無いという説も多く(吉田, 1923; 大場, 1923; Jaskoski, 1952)、いずれにせよ影響を同一にする目的で全実験を通じて蛋白膜を除いた。除蛋白膜の方法は、実験前半は浅見・小林・斎藤(1955)に従つて5%アンチフォルミン液にて40~50分間処理し、後半はFairbairn(1957)の云うアンチフォルミンは蛋白膜より下層をもとくすので好ましくないとの言に従つて0.5N苛性ソーダに30~60分間浸しこの間絶えず振盪し、その後蒸溜水で3~5回遠心沈澱洗滌を行い完全にアンチフォルミンや苛性ソーダを除く方法を用いた。この卵は完全に相互の粘着性が無く培養容器内に均等にばらまくことが出来た。

2. 培養

0.5%フォルマリン寒天平板を作り、ここに上記の虫

卵浮游液をピペットで薄く均等に塗布し、27°Cの孵卵器に収めた。この方法で培養すると発育のずれが極めて少ないことがすでに分っている(斎藤・川副, 1960)。

虫卵の発育期は単細胞期, 2細胞期, 数細胞期, 桑実期, 蝌蚪期, 仔虫期に分け, 培養後2週間後に出来上った仔虫期卵については更に仔虫形成後の日数による比較実験も行った。

3. 人工脱殻

これには次の2つの方法を用いた。1つは間川(1957)に従って大型の試験管に直径約5mmの硝子玉約20個を入れ, 0.85%食塩水に懸濁させた仔虫期卵を加えて軽く5~6分間振盪する方法であり, 50~60%の脱殻を見る。併し乍らそれ以上の脱殻率を志すと硝子玉による破損仔虫が増す。他の方法は Fairbairn(1957)に従った。すなわち仔虫卵をアンチフォルミン原液中に入れ37°Cの孵卵器中で30分間放置しその間3~4回攪拌すると卵殻(キチン質)が溶け最内層のうすい vitelline membrane のみとなる。これを手早く水で4~5回遠沈洗滌し, 最後のものは Krebs Ringer Phosphate で洗滌し, 沈渣に同液少量を加え金剛砂を適量まで遠沈管にゴム栓を施してやや強く手で振盪する。この操作によつて95%以上の傷つかない脱殻仔虫を得ることが出来る。

4. 酸素消費量の測定法

ワールブルグ検圧装置を用いた。容量約15mlの容器に下記の如く試料を入れ37°C又は30°Cで1分間100回の振盪を行い酸素消費を10分毎に型通りに読んだ(Umbreit, 1949; 吉川ら, 1954)。

容器内容は, 主室に虫卵浮游液と Krebs Ringer Phosphate 1.8 ml, 副室に炭酸ガス吸収の為20%苛性ソーダ0.2 ml を入れ総量を2.0 ml とした。添加呼吸の測定の際は側室に0.1~0.5 ml の M/10 濃度の基質溶液を加え, その量だけ主室の内容を減らした。

至適 pH 測定の為の種々の pH の緩衝液は, pH 5.0~7.5 を $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 7.0~9.0 を $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 10.0~11.0 を $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\text{-NaOH}$ で作製した。

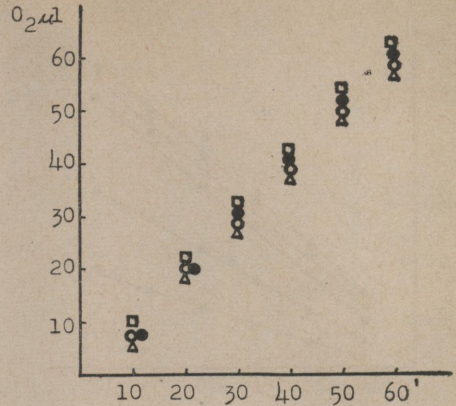
普通の大部分の実験では Krebs Ringer Phosphate (pH 7.4)を用いた。

実験成績

1. 単細胞卵での実験

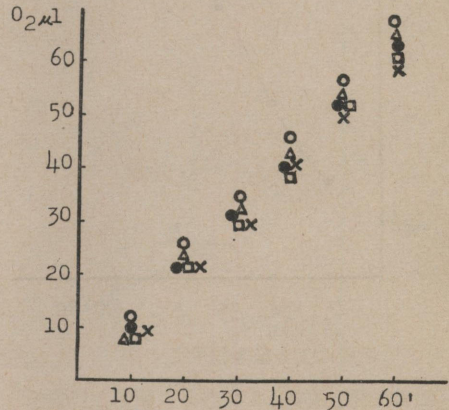
A. 酸素消費と pH の関係

除蛋白膜単細胞期卵700万個を緩衝液に懸濁させた。緩衝液は先に述べた如き組成で pH 5.0, 6.0, 7.0, 7.5,



第1図 酸素消費に及ぼす pH の影響 (1)

○ 5.0, △ 6.0, ● 7.0, □ 7.5



第2図 酸素消費に及ぼす pH の影響 (2)

○ 7.0, △ 8.0, ● 9.0, □ 10.0, × 11.0

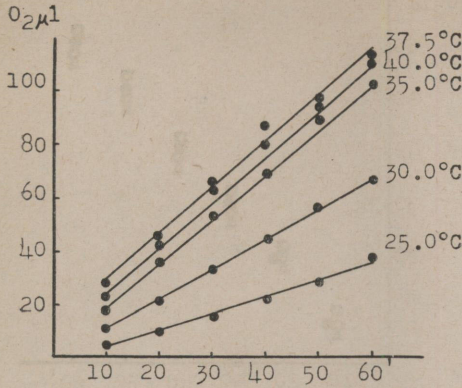
8.0, 9.0, 10.0, 11.0 とした。

夫々の pH 環境での単細胞卵の酸素消費量を30°Cで測定し図示したのが第1, 2図である。

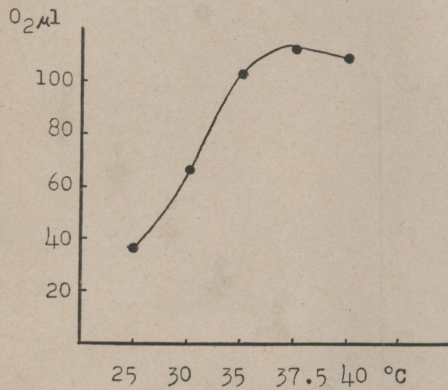
それで明かな様に卵殻を有した単細胞期卵では環境の pH は卵殻内部の細胞の呼吸に無影響である。

B. 酸素消費と温度の関係

恒温槽温度を25°C, 30°C, 35°C, 37.5°C, 40°Cとし, 夫々で Krebs Ringer Phosphate 中に懸濁させた700万個の単細胞期卵の酸素消費を検したのが第3図であり, 夫々の60分後の消費量をとつて曲線としたのが第4図である。これから分る様に25°Cから高くなるにつれて酸素消費は増すが至適温度は37.5°C付近であり, 40°Cでは酸素消費が減る。



第3図 酸素消費に及ぼす温度の影響



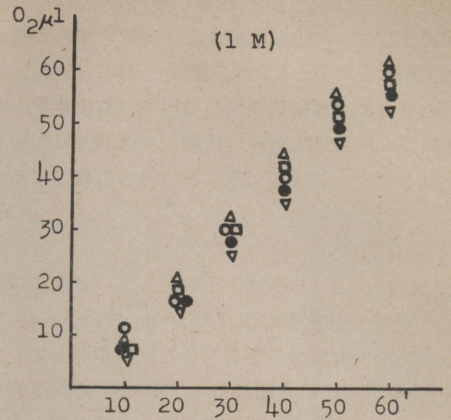
第4図 温度による酸素消費量の差

C. 酸素消費と基質として与えた糖類との関係

虫卵700万個を Krebs Ringer Phosphate 中に懸濁させ 30°C の条件下で種々の基質を与えて酸素消費を測定した。与えた基質は glucose, galactose, mannose, levulose であり、夫々の 1M 及び 1/10M 溶液 0.5ml を側室に入れ、一定時間後に主室に混じたものである。即ち夫々の基質の最終濃度は 1/4 M 及び 1/40 M である。対照として基質液の代りに蒸留水を同量加えたものをつた。夫々の成績を図示したのが第5, 6 図である。何れの場合においても基質添加によつて対照と有意の差を生ずる程の影響はなく、全く無影響と考えて良いと思われる。

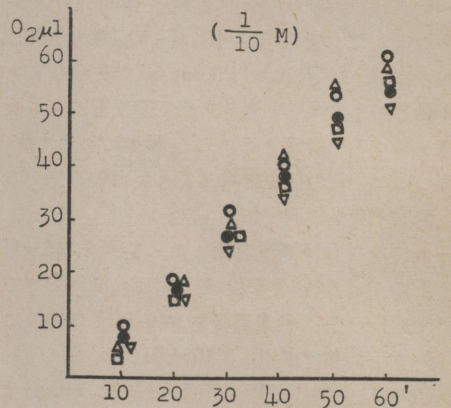
2. 発育時期による酸素消費量の差異

用いた虫卵材料の発育期は、単細胞期卵材料では 100% 単細胞期、2細胞期卵材料では 60% が 2細胞期 40% が単細胞期、数細胞期卵材料では 98% が数細胞期、桑実期卵材料では 87% が桑実期、蛭蚪期卵材料では 95%



第5図 酸素消費に及ぼす基質の影響 (1)

○ 対照, △ グルコース, ● ガラクトース
□ マンノース, ▽ レブロース

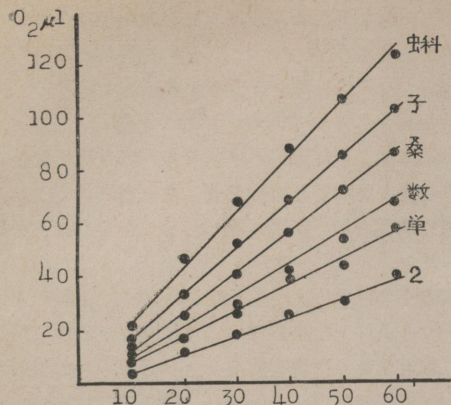


第6図 酸素消費に及ぼす基質の影響 (2)

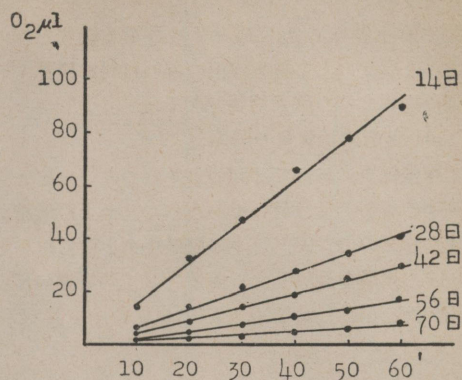
○ 対照, △ グルコース, ● ガラクトース,
□ マンノース, ▽ レブロース

が蛭蚪期、仔虫期卵材料では培養日数により 98~100% が仔虫期卵から成るという工合で、多くの場合単一な発育期の材料を用意することは出来なかつた。

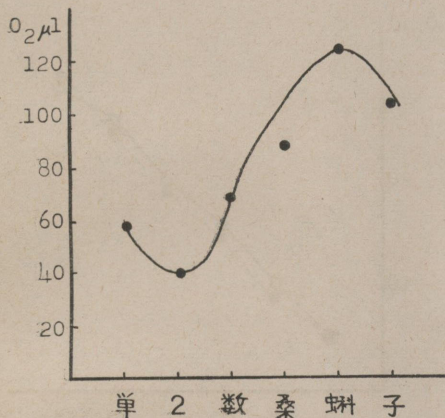
これ等の各期卵 700 万個の酸素消費の状態を pH 7.0, 温度 30°C の条件下で調べた。その時間的経過を追つたものが第7図であり、60分後の酸素消費量を各期について画いたものが第8図である。すなわち単細胞期卵が発育を開始して2細胞に分裂した時期に於て一時的に消費量が減り、単細胞期卵の約 2/3 となり、次で分割が進むにつれて増加し蛭蚪期に於て最大の酸素消費を示し単細胞期卵の約 2 倍となり、それ以後は仔虫形成の時期に至



第 7 図 種々な発育時期の蠶虫卵の酸素消費



第 9 図 種々な古さの仔虫期卵の酸素消費



第 8 図 発育時期による酸素消費量の差

り再び減少する。

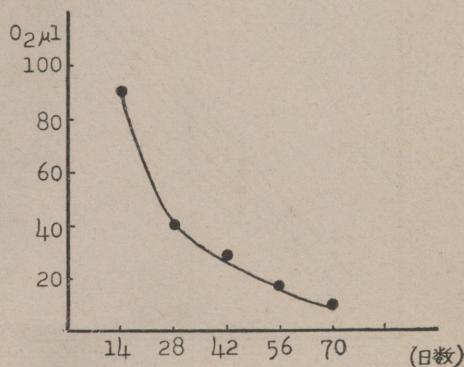
培養 13 日に於て形成された 仔虫期卵のその後の 日数による酸素消費の割合を図示したのが第 9, 10 図である。仔虫形成後 2 週間毎に測定した結果では最初の 2 週に急激な消費の減少が起り、それ以後はややゆるい速度で減少を続け、培養 42 日後 (6 週後) には単細胞期卵の約 $\frac{1}{2}$ となり、70 日後 (10 週後) では $8.6 \mu\text{l}/700 \times 10^4 \text{eggs}$ という少量となってしまう。

以上のことから卵は仔虫形成の直前期において 1 時的に酸素消費が高まるが仔虫形成後は日数の経過とともに著しい酸素消費の減少が起り、培養 100 日後においてはこの実験条件下では測定不可能な程度にまで呼吸能力が低下するものと考えられる。

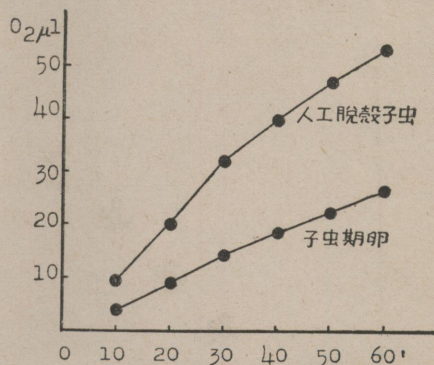
3. 人工脱殻仔虫の酸素消費

A. 人工脱殻仔虫と仔虫期卵の自家呼吸の比較

前述の方法によつて 300 万個の仔虫期卵 (培養 2 週後)



第 10 図 仔虫期卵の古さによる酸素消費量の差



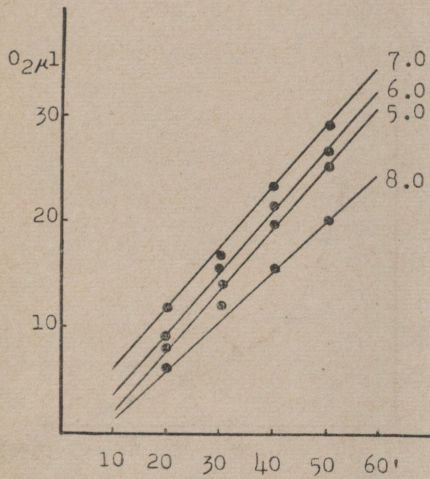
第 11 図 人工脱殻仔虫と仔虫期卵の自家呼吸の比較
人工脱殻仔虫 (脱殻仔虫 45%, 仔虫期卵 55%)

の 45% を脱殻させた材料 (45% の人工脱殻仔虫と 55% の仔虫期卵を含む) と 300 万個の同一時期の仔虫期卵との酸素消費の比較を 30°C , pH 7.4 の条件で行つた。

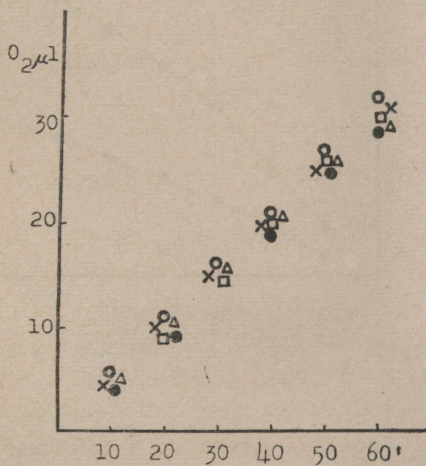
その結果は第 11 図に示す様に 45% に脱殻仔虫を含む材料に於て 仔虫期卵に 比 べ 略々 2 倍の 酸素消費が みられ た。これを 同数の 人工脱殻仔虫の みの材料に 換算する と 仔虫期卵の 3.2 倍の 酸素消費となる。

B. pH と酸素消費量の関係

人工脱殻仔虫においては卵殻をかむつた仔虫卵と異り 外界因子の影響を受け易いであろうことが上の成績からも 想像されたので、95%以上の脱殻仔虫を含む材料を用いて pH の影響を 観察した。対照として 同時期の 仔虫期卵を用いた。pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 に於て第 12 図に



第 12 図 人工脱殻仔虫における pH と酸素消費量の関係



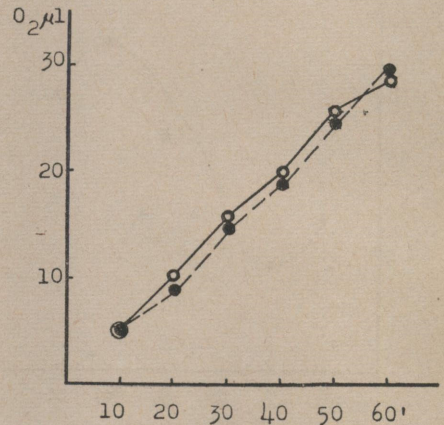
第 13 図 仔虫期卵における pH と酸素消費量の関係
● 5.0, △ 6.0, ○ 7.0, □ 8.0, × 9.0

示す如く明瞭な差があり、試みた範囲内では 7.0 に於て 最も酸素消費が 促進された。同時に行つた 対照(第 13 図)においては pH による影響は 表われない。

C. 基質としての glucose 添加の影響

上の結果によつて厚いキチン質の卵殻を除くことにより 外界の種々な因子と 直接影響しあう様になることが 分つたので 基質添加の影響も 現われるであろうことが 見当づけられた。

95%脱殻仔虫卵材料(仔虫約 100 万)で、pH 7.4、温度 37°C の条件下に 最終濃度が M/20 となる様に 糖類を加えて 酸素消費の影響を 観察した。対照として 脱殻させてない 仔虫期卵を用い glucose を 基質として 実験した。対照においては 第 14 図の様に 予想通り 基質添加の影響

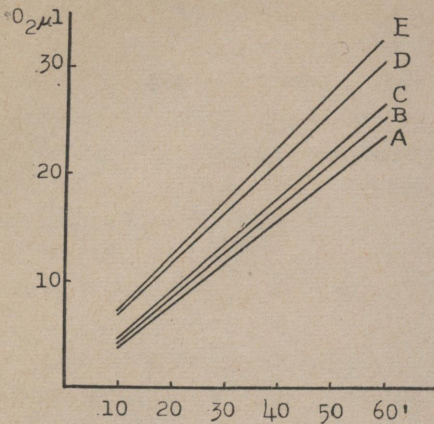


第 14 図 仔虫期卵における 基質としての グルコース 添加の 酸素消費量に 及ぼす 影響
○—○ 自家呼吸, ●---● M/20 グルコース

が 現われなかつたが、一方 脱殻仔虫群に於ても 極めて 僅かの 促進が みられたのみであつたので 飢餓処理を試みた。すなわち 基質としての glucose 溶液を 側室から 主室に 混ぜる前に 1.0~5.0 時間に 亘り 37°C の 温度では いわゆる 空振りを行い、仔虫体内の 力源を 消費させておいて から 基質を加え、酸素消費を 測定した。対照は 同じく 空振りの 後 側室の 蒸溜水を 混ぜたもの をとつた。その 成績は 第 15 図に見る様に 試みた 範囲の 時間では 飢餓処理 時間の 長い程 glucose 添加による 酸素消費の 増加が 認められた。

D. 基質としての 糖類の 酸素消費に 及ぼす 影響の 比較

上の 実験¹⁾によつて 飢餓処理を行うとはじめて 仔虫が glucose を 利用することが 出来る様になることが 判明し

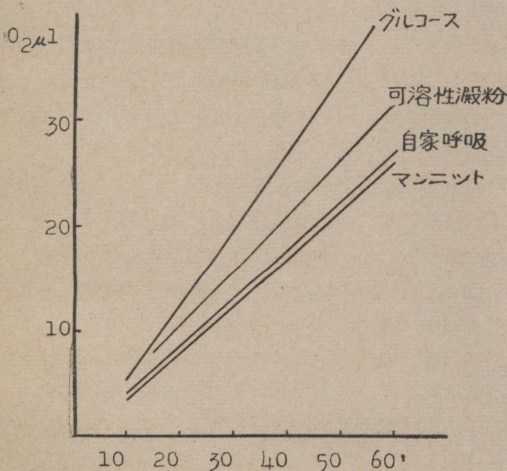


第 15 図 人工脱殻仔虫における飢餓処理時間の酸素消費に及ぼす影響 (時間 B 0, C 1.0, D 3.5, E 5.0, A 自呼吸, B~E グルコース添加)

たので種々の糖類を基質として与えてみてそれが酸素消費に影響する程度を比較した。基質として与えた糖は arabinose, rhamnose, xylose, levulose, galactose, glucose, lactose, maltose, saccharose, dextrin, soluble starch, glycogen の 12 種でありそれぞれの 1 M 溶液を側室に入れたが、完全には溶解せぬものでは 1/10 M 溶液を用いた。

従つて基質の最終濃度は夫々 1/20 M 及び 1/100 M である。飢餓処理は 37°C で 3 時間半行つた。

その成績の代表的なものを図示したのが第 16 図であ



第 16 図 蛔仔虫における基質としての糖類の酸素消費に及ぼす影響の比較

第 1 表 糖類の添加による蛔仔虫の酸素消費促進値の比較 (自家呼吸値を 100 として)

アラビノース	114	ラクトース	102
ラムノース	107	マルトース	119
キシロース	107	サッカロース	115
レブロース	99	デキストリン	107
ガラクトース	116	可溶性澱粉	119
グルコース	131	グリコーゲン	95

る。この 60 分後における消費酸素量を自家呼吸値を 100 として数値で比較したものが第 1 表である。glucose が著しく酸素消費を促進し、arabinose, galactose, maltose, saccharose, soluble starch 等は中等度に、rhamnose, xylose, lactose, dextrin は僅に促進したが、levulose, glycogen はむしろ軽度乍ら抑制的に働いた。

考 按

蛔虫卵が、必要とする酸素の量の問題は別にして、とにかく好氣的に発育することは古くから諸研究者の実験によつて知られて居り、又自然界での虫卵の発育状況からも充分に見当づけられている所である。水深のやや深い水中や腐敗しているメジウム内では発育しない事実はいづれも酸素の少い環境では発育し難いことを示すものである。この問題を実験的に取扱つたものとして小林 (1922) は培養水を煮沸したり、表層に流動パラフィン置いて培養し全く発育がみられなかつたことを報告して居り、大場 (1923) は嫌気性菌培養法を応用して蛔虫卵の発育が停止することを見て居る。又野村・土橋 (1931) はパラフィン被覆、培地内の空気を炭酸ガス、アンモニア、塩素等に置換えること等を行ひいずれも蛔虫卵の発育停止又は遅延をみている。以上の様なことから質的な問題として酸素が絶対必要であることは確かとなつている。

酸素需要の量的な実験としては、先ず Brown (1928) のそれがあげられよう。Brown はフラスコに、腐敗防止の為 1/1000 にホルマリンを加えた水道水を入れ、そこに 28 万~57 万の蛔虫卵を加え、水道水に酸素を通して飽和にさせた上ワゼリンで封じ 20°C 又は 30°C において卵を発育させ、定期的に培養液中の酸素量を測つて酸素消費量を測定した。その結果は酸素の消費率は発育時期によつて不変で、大体一定していること、仔虫形成までに 1 個の蛔虫卵が約 0.0000025 ml の酸素を消費することを観察している。Huff (1936) は Krogh の respirometer を用いて測定しているが、これも 500~1100 という少数の虫卵を用いて実験したものである。それによると蛋白膜を除いた虫卵では除かぬものの約 5 倍もの

旺盛な酸素消費を示し、前者では発育時期による消費度の差はないが後者では培養4日目から徐々に上昇している。そして30°Cで発育させて1000個の虫卵(蛋白膜をもつもの)が10日間に4.07 cmmの酸素を消費すると云っている。

Warburgのrespirometerを用いたJaskoski(1952)の実験では、前二者と同様4000という比較的少数の虫卵を用いて24時間毎に読みをとり、Huffの結果と異り蛋白膜の有無は酸素消費に無関係であり、ほぼ消費率は一定であるが培養4日目から少しの増加がみられたとしている。

HuffとJaskoskiの両者の実験結果において蛋白膜の有無が酸素消費に大きな相異を示しているが、蛋白膜の有無が発育には殆んど影響が無いのに酸素消費において著しい差のあることは不合理であり、諸氏の他の実験をみても蛋白膜の意義は外界の化学物質への抵抗に重点が置かれている様であつて、Huffの実験の何所かに何かの誤りがあつたものと解釈するのがよいと思われる。この様な立場から著者は全ての実験に除蛋白膜卵を用い、その結果を蛋白膜を除かぬ正常卵にもあてはめ得ると考へる。

著者の実験と同じで大量の蛔虫卵を用いWarburg respirometerで各発育期の卵の酸素消費を検べたFairbairn(1955)の報告は発育期による酸素消費度の動きに関しては全く著者の成績と同一である。彼も云う様に蛔虫卵の場合は酸素需要量が少いので 10^6 程度の卵数を用いなくとも比較実験に用い得る程の差は現われぬことは確かである。又、柳沢(1957)の実験結果も我々のそれとほぼ同じである。この点からも上の諸氏の実験に用いた卵数が圧倒的に少く、その為に誤つた結果が導かれたものと思われる。

最初に試みた単細胞期卵において環境のpH、基質の添加等が全く酸素消費に影響を与えず僅に温度のみが影響しているという成績は卵殻が化学物質の卵内への侵入を閉出していることを思わせる。このことは後の仔虫期卵においても脱殻仔虫としてはじめて種々な外的影響がみられる様になる点からも分る。蛔虫の卵殻層は外側から蛋白膜、厚いキチン質卵殻、薄い一層の卵黄膜vittelline membranの三層から成ることが分つているが、ここで問題となるいわゆるキチン質の卵殻についてはキチンだけからなるものではなく化学物質に抵抗力の強い蛋白質も含まれていると解釈されている(Fairbairn, 1957)。兎に角、この様に厚く、硬い卵殻の為に虫卵は物理的にも

化学的にも外部の影響を受けることなく独立した発育を続け易くなつてゐるものである。

発育時期による酸素消費量の動きは前述の様にFairbairn(1955)の成績と同一である。

それ以前のBrownに始まりJaskoskiに至る諸氏の成績の如く若しも発育に伴つてconstantな消費度を示したとすると、これは他の生物の発育とは著しく異つたことになる。つまり、蛔虫卵に於ても他の生物と同じく細胞分裂の旺盛な時期には酸素消費が増加するのである。

従つて仔虫が形成された後は貯蔵力源の減少とともに酸素消費が減少の一路をたどることは当然であらう。この様に酸素消費が減るからこそ自然界において仔虫期卵が数カ月もの長期間生存し感染能力を保有したままに過し得るのである。又この成績は著者等が行つた(斎藤・川副, 1960)蛔虫卵のメチレン青脱色能の発育時期による動きとも一致する。

発育の極めて初期すなわち2細胞期付近において一時的に著明に酸素消費の減ることの理由は分らない。

仔虫形成以後に於て人工脱殻仔虫と仔虫卵との呼吸の比較実験の成績は示唆する所に豊むものと思われる。先ず前記の如くに、脱殻仔虫に於てはじめて環境のpHや添加基質の影響が現われるのであるから卵殻の持つ化学物質の侵透に対する強い抵抗力が充分に考えられる。又両者における酸素消費量の著しい差異(3.2倍)は卵殻が酸素消費をも抑制する作用を有していることを示すもので、このことも蛔虫卵のゆつくりした発育と仔虫卵の長期生存に好都合に働いているものであらう。又このことは脱殻すると、すなわち人体に感染して消化管で脱殻が起ると、37°Cという酸素消費の至適温度とともに酸素の消費が著しく増加することを示している。従つて貯蔵エネルギーの消耗も急速となり仔虫は何所かにエネルギー源を求めざるを得なくならう。

脱殻仔虫に対して飢餓処理を行つた成績も上の想定と関連を持つている。つまり、37°Cで数時間の空振りを行つて仔虫の貯蔵エネルギーを消耗させるとはじめてメジウム内のglucoseを利用し始めるということである。

培養温度と培養日数とによつて当然仔虫の貯蔵エネルギー量は異なるであらうから、著者のこの実験の様に仔虫形成後比較的短時日内に実験に供した仔虫では長い飢餓処理時間を要しようが、仔虫形成後長時日を経過したものでは恐らく宿主の消化管で脱殻後極めて短時間内に他からのエネルギー源の利用を必要とする様になるであらう。

う。

酸素消費を促進し得る糖類の促進度の比較では Glucose が明に高い価を示すことも、当然ではあるが、感染した仔虫が体内移行する第一歩として血液内に侵入する事実を血液内の glucose を利用する為と解釈すれば興味深い。

要 約

蛔虫 *Ascaris lumbricoides* の子宮内卵を除蛋白膜しその発育各期の酸素消費を Warburg respirometer を用いて検討した。

1. 単細胞期卵は環境や pH 基質の添加によつて酸素消費に影響をうけることはない。
 2. 酸素消費の至適温度は 37°C である。
 3. 酸素消費率は 2 細胞期において少しく低下するがその後増加を続け蛻蝟期において最大を示し単細胞期卵のその約 2 倍となるが仔虫形成後は時日の経過とともに急速に減少をする。
 4. 人工的に脱殻させた仔虫は仔虫期卵の 3.2 倍の酸素消費をする。
 5. 脱殻仔虫に適当な時間の飢餓処理を行うことによつて基質添加による酸素消費の増加が現われる。
 6. 基質として試みた糖類 12 種のうちでは glucose が著しく酸素消費を促進した。
- 終りにのぞみ、御指導、御校閲を賜つた松林久吉教授、浅見敬三助教授に深甚なる謝意を表します。尙本論文の要旨は第 28 回日本寄生虫学会総会及び第 29 回日本寄生虫学会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) : Cobalt 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) 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*). J. Parasit. 14, 141-160.
- 3) Fairbairn, D. (1957) : The biochemistry of *Ascaris*. Exp. Parasit., 6, 491-554.
- 4) Huff, G. C. (1936) : Experimental studies of factors influencing the development of the eggs of pig *Ascaris*. J. Parasit. 22, 455-463.
- 5) Jaskoski, B. J. (1952) : The protein coat in development of *Ascaris lumbricoides* eggs. Exp. Parasit., 1, 291-301.
- 6) 小泉丹(1954) : 蛔虫の研究, 岩波書店.
- 7) 小林晴治郎(1922) : 蛔虫の発育に関する近業, 満洲の医界, 14-15.
- 8) 野村舜治・土橋静佳(1931) : 諸種ガス体の蛔虫卵発育に及ぼす影響, 慶応医学, 11, 1737-1777.
- 9) 大場辰之充(1923) : 蛔虫卵の発育について, 台湾医会誌, 228, 161-175.
- 10) Passey, R. F. & Fairbairn, D. (1955) : The respiration of *Ascaris lumbricoides* eggs. Can. J. Biochem. Physiol., 33, 1033-1046.
- 11) 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, 227-237.
- 12) 問川迪典(1957) : 蛔虫卵の生物学的研究(I), 脱殻蛔幼虫の無菌的飼育実験, 寄生虫学雑誌, 6(2), 145-154.
- 13) Umbreit, W. W. (1949) : Manometric technics and tissue metabolism, Burgess Publ. Co.
- 14) 吉田貞雄(1923) : 蛔虫の研究 2, 3, 大阪医学雑誌, 22, 1-27.
- 15) 吉川春寿ら(1954) : ワールブルグ検圧計, 南江堂.
- 16) 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.

STUDIES ON PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF *ASCARIS LUMBRICOIDES*
AT EARLY DEVELOPMENTAL STAGES. 1. OXYGEN
CONSUMPTION OF EGGS AT VARIOUS
DEVELOPMENTAL STAGES AND
OF LARVAE HATCHED
IN VITRO

YASUTOKI KAWAZOE

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

The author investigated the oxygen consumption of ascaris eggs at various developmental stages and of larvae hatched *in vitro*. The eggs used were obtained from the upper part of uterus of swine ascaris. Protein coat of the eggs were removed after the treatment by antiformine or potassium hydroxide solution for 30 to 60 minutes, in order to facilitate the synchronous development of the eggs. The eggs are allowed to develop at 27°C on formalin agar plate. The stages of development of the eggs were classified as follows: unicellular, bicellular, multi-cellular, morular, tadpole and embryonated (larviform) stages. Hatching *in vitro* of the larvae were made by the technic in which the embryonated eggs without chitinous shell were shaken in flask containing sterile sand and normal saline. Oxygen uptake of the eggs and larvae were measured by Warburg's respirometer using routine technic.

In the experiments in which unicellular eggs were used, neither hydrogen ion concentrations of medium nor addition of sugars as a substrate affected in oxygen consumption of the eggs. The optimum temperature for oxygen uptake is 37.5°C, so far as the present experiments are concerned.

At the bicellular stage, the oxygen uptake decreased to approximately two-thirds the amount of that of unicellular stage, followed by rapid increase at the further developmental stages. Oxygen uptake at tadpole stage was maximum in all of the developmental stages examined, showing twice as much as that at initial stage. Just after the larva was formed in the egg shell, oxygen consumption decreased rapidly, and thereafter it continued to decline a little more slowly. The value of the 70-day-old embryonated eggs showed, however, only one-tenth of the 14-day-old ones.

In contrast to the relatively low oxygen consumption of eggs, hatched larva consumed oxygen actively showing more than 3 times as much as that of embryonated eggs incubated for the same period. Optimum hydrogen ion concentrations of the hatched larvae for oxygen uptake was revealed to be 7.0, so far as it was tested. Accelerative effect of glucose added as a substrate upon the oxygen uptake of the larva was substantiated after the treatment of starvation for suitable period at 37°C. Among the 12 kinds of carbohydrates tested as a substrate, glucose stimulated the oxygen consumption most actively.

In considering the situations reported here, the present author supposed that the much oxygen uptake and following consumption of energy source in larva must occur also in the body of host when the larva hatched in the alimentary canal of the host.