

蛔仔虫の發育に伴う酸素消費量の動きについて

齊藤 昭三 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)

先に私たちは蛔虫卵の呼吸代謝に関する実験を行つて来て、最初に Thunberg のメチレン青脱色反応法、引きつづいて Warburg 検圧法により pH, 温度, 基質濃度, 虫卵の發育時期, 阻害剤等と呼吸との関係について二・三の実験を行い報告した(斎藤・川副, 1960; 斎藤, 1960; 浅見・斎藤・川副, 1959). 蛔虫卵の發育に伴う酸素消費量の動きについては単細胞, 2細胞, 数細胞, 桑実, 蝌蚪, 仔虫期の各期について検討したのであるが, 今回はその後の發育である体内移行中の蛔仔虫の酸素消費について実験を試みた.

蛔仔虫に関する研究は古くからその發育, 形態, 抵抗力並びに体内移行等数多くなされているが, 酸素消費に関する報告は見当たらないようである. 衆知のように蛔虫の發育は, 形態的には仔虫期卵で外界での發育は終了しその成熟卵が宿主にのみこまれ, 消化管内で孵化し, その孵化仔虫は体内移行を営んで再び消化管に戻り成虫になる. 蛔虫は發育の初期に於て自然界から宿主体内へという大きな環境の変化があるが, このような変化に伴つて蛔仔虫の代謝面にも何か変化を来すか否かは一つの興味ある問題である. 私たちは上述のような初期蛔仔虫の生理学的な一面の追求として, 人工脱殻仔虫, 肝内移行仔虫, 肺内移行仔虫を特殊な方法でとり出し, Warburg 検圧法により各蛔仔虫の酸素消費量を比較測定したのでここに報告する.

材料及び実験方法

1. 虫卵材料

人工脱殻仔虫及び臓器内移行仔虫を得るための虫卵材料は, 屠殺場より得た豚蛔虫の新鮮子宮内(下部2.0cm)卵で, 試料による差を小さくするため各実験毎に夫々数十匹分の材料を充分攪拌して用いた.

2. 虫卵の培養

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 孵卵器に収めて培養を行つた.

3. 人工脱殻法

人工脱殻は問川(1957)の方法に準じて次の如く行つた. 大型の試験管に直径5mm 前後の硝子玉約20個を入れ, 生理食塩水に懸濁させた仔虫期卵(培養第35日)を加えて, 極く軽度の振盪に続いて37°C恒温槽内放置という操作を約10分間づつ数回繰返して行つた. 振盪と保温の程度に注意し乍ら行うとこのような操作で脱殻率は非常によく80%以上であつた.

4. マウスへの虫卵投与法

培養第35日仔虫期卵の数万个を1匹のマウス(12~15g)に経口投与した. その方法は仔虫期卵を白金耳の先端に附着させ, マウスに自発的になめさせた(小林, 1958)各実験に使用したマウスの数は50~60匹である.

5. 臓器内移行仔虫の採集法

浅田(1923)の方法に準じて次の如く行つた. マウスへ虫卵投与後2日, 4.5日, 7日にエーテルでマウスを殺し, 2日後のマウスからは肝臓を, 4.5日, 7日後のものからは肺臓を夫々摘出して乳鉢の中に入れ, 鋏で出来るだけ細切し, 37°Cに加温した生理食塩水を少量づつ加え乍ら乳棒で軽くすりつぶした. その臓器溶液を50ccの遠心管内にガーゼで濾過し, 1,500rpm 5分間遠心沈澱を施し, その沈渣には臓器, 血球等の細胞成分を混じてはいるが, 比較的多数の生虫体が得られた.

6. 蛔仔虫の純粹分離法

上記のような操作で得られた人工脱殻仔虫は未脱殻虫卵, 脱殻後の破壊された卵殻, 死虫体等が混在しているものであり, 又臓器内移行仔虫の場合は多数の細胞成分を混在しているので, 蛔仔虫のみの分離を試みた. 即ち鉤虫, 糞線虫等の仔虫の培養検査として一般に行われていた濾紙培養法を応用して次の如く行つた. 普通の濾紙培養法では試験管を使用するが, 本実験では出来るだけ材料の塗抹面を広くする意味で染色用バットを使用し,

それに少量の生理食塩水を入れ、上記の蛔仔虫材料を濾紙(染色用バットの大きさに合わせて裁断)に塗抹したものを、恰も染色の際に多数のスライドグラスを挿入するのと同様に、バットの溝に合わせて挿入し、濾紙の下端を生理食塩水に浸し、塗抹面を生理食塩水の表面に出来るだけ近づけるよう調節した。このようなバットを10~10数個作製し蓋をして37°C 孵卵器内に数時間~12時間入れ、濾紙の塗抹面から生理食塩水に移行した生虫体を遠心沈澱により集めた。この方法によつて得られた仔虫の回収度は大凡次の如くであつた。1匹のマウスに数万個の仔虫期卵を経口投与し、各実験毎に50~60匹のマウスを使用したので、結局200万~300万個位の仔虫期卵から出発して最後にほぼ純粹に得られた蛔仔虫の数は極めて少数であつた。即ち肝臓内から分離採集された仔虫数は数万隻前後であり、肺臓内からは10万隻内外であつた。一方人工脱殻仔虫は上述のように脱殻率80%以上を示したので、10万隻位の分離採集は比較的容易であつた。

7. 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、37.5°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)。

- 主室 0.5 ml 蛔仔虫浮游液
- 1.3 ml Krebs Ringer Phosphate (pH 7.0)
- 副室 - 0.2 ml 20% KOH

蛔仔虫浮游は上記の如くしてほぼ純粹に集めた蛔仔虫を Krebs Ringer Phosphate で数回遠心沈澱洗滌を施しその0.5 ml中に約30,000隻の蛔仔虫を含むよう調節したものを使用した。この実験には基質を加えてないからいわゆる自家呼吸を測定したことになる。

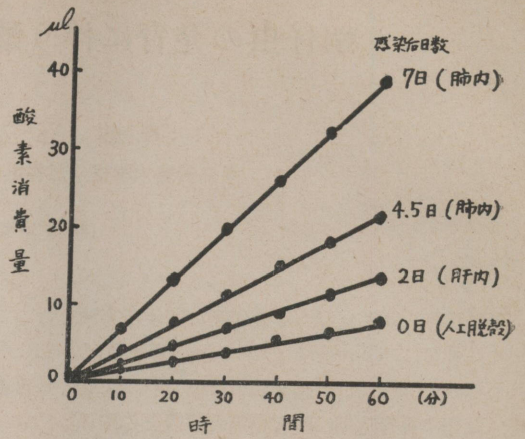
8. 蛔仔虫の計測

酸素消費量の測定終了後、夫々の蛔仔虫30隻について体長及び体幅を計測し、虫体成長の状況を観察した。

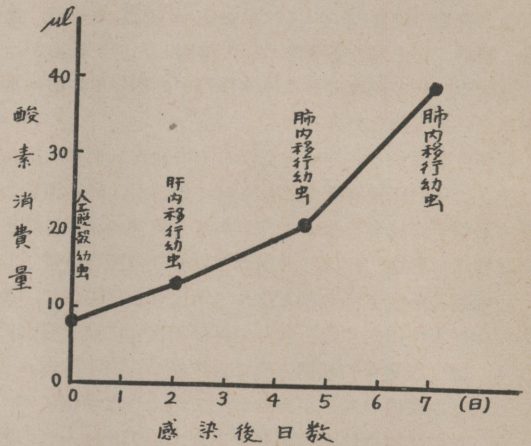
実験成績

1. 蛔仔虫の酸素消費量

上記の如くして得られた人工脱殻仔虫、肝内移行仔虫及び肺内移行仔虫の夫々約30,000隻を使用し、Warburg 検圧法によりいわゆる自家呼吸による酸素消費量を測定した成績を第1及び第2図に示した。第1図は各蛔仔虫の酸素消費量を時間的経過を追つて示したものであり、第2図は60分後の酸素消費量を基にして蛔仔虫の發育に伴う酸素消費量の消長を図示したものである。これか



第1図 蛔仔虫の酸素消費量

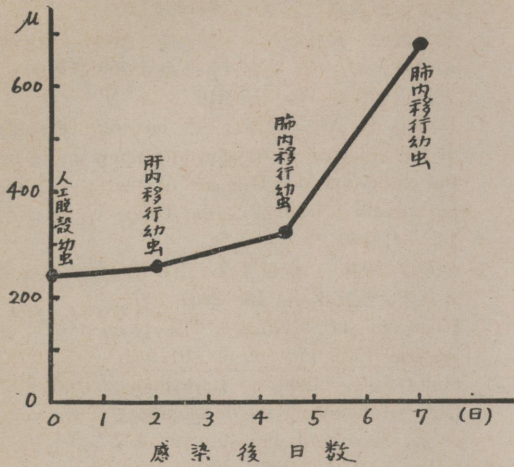


第2図 蛔仔虫の發育に伴う酸素消費量の消長

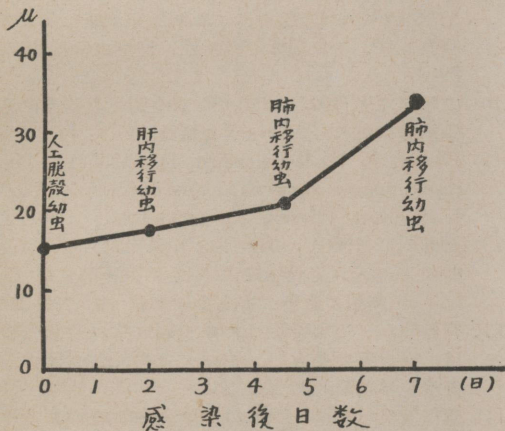
ら分るように人工脱殻仔虫より肝内移行仔虫(感染後2日)、肺内移行仔虫(感染後4.5日)と感染後日数の経過と共に酸素消費量は増加し、感染後7日の肺内移行仔虫では人工脱殻仔虫の約5倍にも酸素消費量が増加した。尚肺に移行してから酸素消費量が急増する傾向があつた。

2. 蛔仔虫の大きさ

各実験共、Warburg 検圧法による酸素消費量測定後、夫々実験に使用した蛔仔虫の大きさを計測し、その成績を第1及び第2表に示した。体長(第1表)、体幅(第2表)共夫々30隻について計測を行い、その最短、最長及び平均値を示した。第3及び第4図は第1及び第2表から得られた体長及び体幅の平均値を基にして、蛔仔虫の發育に伴う体長及び体幅の消長を夫々図示したものであ



第3図 蛔仔虫の発育に伴う体長の消長



第4図 蛔仔虫の発育に伴う体幅の消長

第1表 蛔仔虫の体長

感染後日数	0日 (人工脱殻)	2日 (肝内)	4.5日 (肺内)	7日 (肺内)
最短	212μ	225μ	241μ	335μ
最長	269"	291"	402"	1041"
平均	242"	253"	316"	682"

第2表 蛔仔虫の体幅

感染後日数	0日 (人工脱殻)	2日 (肝内)	4.5日 (肺内)	7日 (肺内)
最短	10.6μ	14.4μ	16.0μ	17.1μ
最長	18.5"	23.2"	24.3"	45.9"
平均	14.9"	17.9"	20.9"	34.2"

る。これより分るように体長、体幅共人工脱殻子虫より肝内移行仔虫(感染後2日)、肺内移行仔虫(感染後4.5日)と感染後日数の経過とともに増大し、感染後7日の肺内移行仔虫では著明な増大を示し、ことに体長の増大は体幅に比べ著明であつた。

即ち上述の蛔仔虫の発育に伴う酸素消費量の増加と、ここで観察した体長、体幅の増加の状態は相似していた。

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-Fermiet により馬蛔虫卵で試みられて居り、その後 Brown (1928), Huff (1936), Jaskoski (1952), Passey & Fairbairn (1955) 及び柳沢 (1957-8) 等により豚蛔虫卵で検討されて居り、何れも蛔虫卵の酸素消費の面を追求している。前述の如く著者等も亦 Thunberg のメチレン青脱色反応法及び Warburg 検圧法により、蛔虫卵の呼吸代謝に関係ある二、三の実験を行つて来たが、今回は濾紙培養法を応用し人工脱殻仔虫、肝内移行仔虫及び肺内移行仔虫をほぼ純粋にとり出し、Warburg 検圧法により蛔仔虫の発育に伴う酸素消費量の動きを追求した。

先ず最初は人工的に脱殻孵化させた仔虫或いは臓器内に移行した仔虫のみを純粋にとり出すことに努めた。一般に蛔虫感染の場合、卵殻内に仔虫が形成されても更に一定日数を経ないと蛔虫卵は感染力を有しないことは多数の人々の実験で明かであり(浅田, 1922; 大場, 1923; 豊田, 1931)更に千葉(1936)によると培養後35~45日即ち仔虫形成後20~30日を経過したものが最も感染能力旺盛であるという。このような意味で私たちが感染力の旺盛と思われる培養第35日仔虫期卵をマウスに経口投与し、上述のような方法で体内移行仔虫の純粋分離を試みたが、採集された虫体数は非常に少数(数万~10万隻)であり、消費した虫卵数、マウス数、時間、労力等からみてもよい方法ではなかつた。しかし乍ら活潑に運動する元気な虫体のみほぼ純粋に分離採集し得たことは酸素消費量測定実験を可能にした。いわゆる経皮感染をする鉤虫や糞線虫の仔虫に比べ、蛔仔虫の運動は不活潑であり、今回行つたような方法で多数の虫体を得ることを期待するのは無理であろう。

このようにして得られた蛔仔虫の酸素消費量は、人工脱殻仔虫、肝内移行仔虫(感染後2日)、肺内移行仔虫(感染後4.5日、7日)と発育が進むと共に増加した。先に行つた仔虫期卵の場合は仔虫形成後の日数の経過と共に

に酸素消費量は低下を示したが、これは虫卵内での発育も一応終り、卵殻内のエネルギー源も消費されて呼吸代謝も低下の一路を辿つたものと思われ、一方蛔仔虫の場合は、宿主体内というエネルギー源の豊富な好環境で、短時日の間に急速な発育をすると共に呼吸代謝も活潑になり、酸素消費量も増加を示したものと思われる。このような酸素消費量の増加率は実験後に測定した蛔仔虫の大きさ(体長、体幅)の増加率とほぼ同一であつた。従つて酸素消費率としては特別な増加はないと考えられる。

最後に先に行つた虫卵の発育に伴う酸素消費量の動きも含めて一貫してみると、単細胞期卵から肺内移行仔虫までの蛔虫の発育初期に於いては自然界の発育から宿主体内での発育という大きな環境の変化があるが、蛔虫卵細胞、仔虫のもつ呼吸系には、酸素消費の上では急激な変化はないと考えられる。

結 論

豚蛔虫卵の人工脱殻仔虫、マウス投与後各臓器から得られた肝内移行仔虫、肺内移行仔虫を使用し、Warburg 検圧法によりいわゆる自家呼吸による酸素消費量を測定した。

1. 人工脱殻仔虫、肝内移行仔虫(感染後2日)、肺内移行仔虫(感染後4.5日、7日)と発育が進むと共に酸素消費量は増加を示し、感染7日目の仔虫は人工脱殻仔虫の5倍以上の酸素を消費した。

2. 酸素消費量測定後これらの蛔仔虫の体長、体幅を計測してみると、蛔仔虫の発育に伴う酸素消費量の増加と、体長、体幅の増加の程度とはほぼ同一であつた。

3. 先に行つた蛔虫卵の発育に伴う酸素消費量の動きと上記の成績とを合せて一貫してみると、単細胞期から肺内移行期までの蛔虫卵細胞、仔虫並びに蛔仔虫のもつ呼吸系には、酸素消費の上では急激な変化はないと考えられる。

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する。尙本論文の要旨は昭和34年4月第28回日本寄生虫学会総会に於いて発表した。

文 献

- 1) 浅田順一(1922): 蛔虫の発育史に関する知識増補, 東京医事新誌, 2278, 955-964.
- 2) 浅田順一(1923): 蛔虫の異常感染経路に関する研究(第一報告)(幼虫の経口的感染について), 東京医事新誌, 2335-6.
- 3) 浅見敬三・齊藤昭三・川副泰時(1959): 蛔虫卵の呼吸代謝, (3) 発育に伴う酸素消費量の動き, 寄生虫学雑誌, 8, 415-416.
- 4) 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 (*Ascarid suum* Goeze) J. parasit. 14, 141-160.
- 5) 千葉隆(1936): 蛔虫卵内子虫の感染能力に関する研究, 慶応医学, 16, 2057-2067.
- 6) Fairbairn, D. (1957): The biochemistry of *Ascaris*. Exp. Parasit. 6, 491-554.
- 7) Huff, G. C. (1936): Experimental studies of factors influencing the development of the eggs of pig *Ascaris*. J. parasit., 22, 455-463.
- 8) Jaskoski, B. J. (1952): The protein coat in development of *Ascaris lumbricoides* eggs. Exp. Parasit. 1, 291-302.
- 9) 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, 子虫期卵の抵抗性, 寄生虫学雑誌, 7, 39-47.
- 10) 大場辰之允(1923): 蛔虫卵子の孵化要約並に感染能力に就て, 台湾医学会雑誌, 176-190.
- 11) Passey, R. F. & Fairbairn, D. (1955): The respiration of *Ascaris lumbricoides* eggs. Can. J. Biochem. Physiol. 33, 1033-1046.
- 12) 齊藤昭三(1960): 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, 寄生虫学雑誌, 9, 232-238.
- 13) 齊藤昭三・川副泰時(1960): 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關係, 寄生虫学雑誌, 9, 227-231.
- 14) 問川迪典(1957): 蛔虫の生物学的研究, (1) 脱殻蛔幼虫の無菌的飼育実験, 寄生虫学雑誌, 6, 145-154.
- 15) 豊田一長(1931): 寄生虫卵(特に蛔虫卵)の人工孵化に関する研究, 東京医事新誌, 2748, 2337-2364.
- 16) Umbreit, W. W. (1949): Manometric technic and tissue metabolism, Burgess Publ. Co.
- 17) 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.
- 18) 柳沢十四男(1953): 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.
- 19) 吉川春寿(1954): ワールブルグ検圧計, 南江堂.

ON OXYGEN CONSUMPTION OF ASCARIS LUMBRICOIDES LARVAE MIGRATING THROUGH THE BODY OF THE HOST

SHOZO SAITO & YASUTOKI KAWAZOE

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

In the previous works the authors carried out the experiments respiratory metabolism of *Ascaris lumbricoides* eggs in embryonation. In the present paper, comparison of rate of endogenous oxygen consumption of larva hatched *in vitro* and of larva migrating through liver and lung was made using Warburg's respirometer. The eggs removed from the uterus of swine ascaris were incubated on formalin agar plate at 37°C to attain the larviform stage. The embryonated eggs were used for hatching *in vitro* or inoculation into mice. After the inoculation larvae were collected from the liver on the 2nd day and from the lung on the 4th and 7th day of the infection in the mice.

The rate of oxygen uptake of the larvae hatched *in vitro*, and of those larvae collected from host tissues 2, 4 and 7 days after the inoculation were illustrated in the fig. 1 and 2. Oxygen consumption of the larvae gradually increased as the days elapse after the infection of mice with the embryonated eggs. On the other hand, growth of the larvae collected from host tissues were measured on their body length and breadth. It was demonstrated that the increase of oxygen uptake in developing larvae agreed roughly with the growth of the larvae. Consequently, it is conjectured that no radical change occurs in the respiratory system of the larvae when their living circumstances change from natural conditions such as on soil to the inside of the body mammalian host.