

## 蛔虫發育初期の生理に関する研究

### (2) 単細胞期卵から体内移行子虫に至る各期の glycogen 量について

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)

著者は前報(蛔虫發育初期の生理に関する研究I)によつて蛔虫の發育各期における酸素消費の動きに就て述べた。蛔虫卵は厚い卵殻で外界と交通を絶たれているのであるから呼吸により体内貯蔵エネルギー源の消費が行われているのは当然であり、その物質としてはグリコーゲンが最も考えられ易い。この論文では、蛔虫卵の各期、脱殻子虫及び肺内移行中の子虫でのグリコーゲン量の消長を検べ、前報の酸素消費のそれと関連させて子虫の体内移行機序に対する考察を行った。

蛔虫体にも Glycogen が含まれていることは古くから多くの人に知られており(小泉, 1954)、我が国でも田代や鳥生の組織化学的発表や、我々の教室では鈴木(1938, 1939, 1940)の定量的な実験があり、又最近では山尾(1951)の報告がある。しかしこれ等は全て蛔虫成虫のそれに関するものであつて虫卵については雌成虫子宮内の卵について組織化学的に Glycogen の存在が云われているにすぎない。著者の知る所では蛔虫卵の發育に伴う Glycogen の量的変化を追つた実験としては Fairbairn(1957)のそれがあるだけと思われるが、この所見も著者のそれとは著しく異なる点もある。

#### 材料及び実験方法

虫卵材料、培養法、人工脱殻法等は全て前報と同じであるから記載を省略する。發育の時期は、単細胞卵から子虫卵までの各期の外にマウスに経口的に子虫卵を与え8日後の肺から集められた移行中の子虫である。肝内の移行子虫を材料に用いる為に努力したが、実験に供し得る程多数の子虫を得ることは不可能であつた。

#### 1. 肺内移行子虫の採集法

フォルマリン寒天平板上において27°Cで30日間保存し充分に感染能力があると思われる子虫卵の約10万個を水に懸濁し注射筒に吸いこみ、エーテルで軽く麻酔した約

15gのマウスの胃内にピニール管を通して送り込んだ。この様にして経口的に虫卵を投与した後8日目にマウスを殺し、肺を摘出してシャーレ内で鉈を用いて細切して粥状とする。これを大遠沈管に入れ生理食塩水を加えて攪拌の後遠沈し、斯様な遠沈洗滌を3回反覆した後の沈渣を濾紙片上半部に塗布した。容器底に少量の生理食塩水を入れ、上の濾紙片の下端が生理食塩水に浸る様に濾紙片を立て37°Cの孵卵器中に12~24時間放置すると塗布された沈渣中の子虫が下降して生理食塩水中に出現するから、これを遠沈洗滌すると子虫のみを多数集めることが出来る。

#### 2. Glycogen の定量法

略々藤井(1941)の方法に従つた。すなわち目盛は15ml 硬質遠沈管中に30% KOH 3ml を入れ沸騰水浴中に加温しておき、これに材料を投入し40~60分間熱する。充分に液化した所で水浴から出し、96%アルコール3~4ml を加え、混和、加温し、僅かに沸騰した所で水浴から取出し3,000回転で30分間の遠心沈澱を行い上清を捨てる。この操作を3回反覆して Glycogen を分離し、次いで2nH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液にとかし2.5時間加熱して Glycogen を水解し、次いで $\frac{1}{2}$  NaOH で中和す。水を加えて総量を10ml とし、その1ml を採つて Somogyi 法により Glucose 量を測定し、Glucose として測られた Glycogen 量を表わした。

#### 3. 血糖の定量法

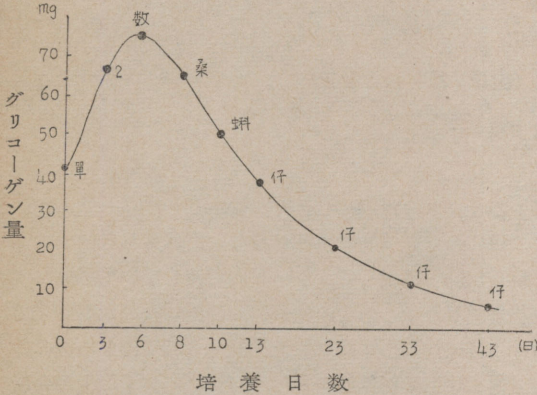
Somogyi 法により、感染マウスの血糖量の逐日の動きを観察した。

#### 実験成績

#### 1. 發育各期におけるグリコーゲン量

各發育期卵を400万個宛用い前記の方法によつて夫々の Glycogen 量を測定した。その結果を示したのが第1

図であり、単細胞期から発育が進むにつれて Glycogen 量は漸増し、数細胞期においては単細胞期の約 2 倍に達するが、その後の発育につれて減少を示し子虫形成の時期にはほぼ単細胞期と同じ量となる。その後は培養日数の経過につれて更に減少を続け33日後には単細胞期の $\frac{1}{4}$ 、43日では更にその $\frac{1}{2}$ にも減少した。



第1図 蛔虫卵内グリコーゲンの発育時期による消長(蛔虫卵 400 万)

2. 肺内移行子虫の Glycogen 量

培養1カ月後の子虫期卵を多数のマウスにピニール胃ゾンデを用いて経口接種し、8日後に殺してその肺から子虫を集め、その Glycogen 量を測定した。この対照として培養1カ月後の子虫卵から人工的に脱殻させて得た子虫を採った。実験例、対照例とも用いた子虫数は 50,000 匹である。その結果肺内子虫では 3.25mg の Glycogen が測定されたが、人工脱殻子虫では余りに微量で測定が出来なかつた。それで先の実験で得られた培養43日目の子虫 400万での測定値から、50,000 の子虫の Glycogen の計算値を求めると 0.0625mg となり、これから肺内子虫は約50倍の Glycogen を有していることが分つた。

この Glycogen 量の増加を、当然生じている子虫体の成長の度合と比較するために人工脱殻子虫と肺内子虫の両者の体長体幅を計測して表示したのが第1表である。これで分る様に平均値において体長が 2.8倍、体幅が 2.3倍であり、Glycogen 量の増加は虫体の成長度に比べ明らかに高い。

3. 27℃と37℃に置いた子虫期卵のグリコーゲン量

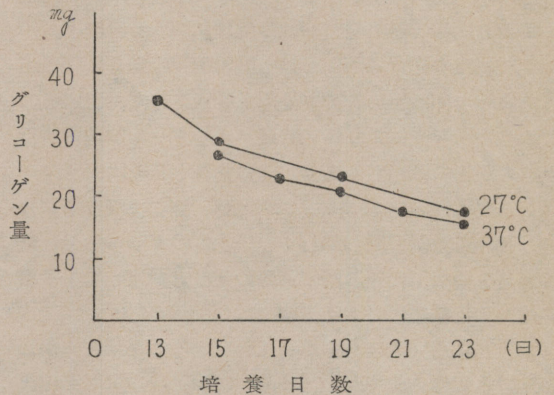
子虫形成直後(培養13日)の子虫期卵を37℃と27℃の孵卵器に夫々収め2日、4日、6日、8日、10日目に 400万宛の虫卵の Glycogen 量を測定し減少の状態を観察した。その成績は第2図に示す通りで、37℃に置いたもの

第1表 蛔子虫の体長

| 感染後日数 | 0 日<br>(人工脱殻) | 7 日<br>(肺 内) |
|-------|---------------|--------------|
| 最 短   | 212 $\mu$     | 335 $\mu$    |
| 最 長   | 269 "         | 1041 "       |
| 平 均   | 242 "         | 682 "        |

蛔子虫の体幅

| 感染後日数 | 0 日<br>(人工脱殻) | 7 日<br>(肺 内) |
|-------|---------------|--------------|
| 最 短   | 10.6 $\mu$    | 17.1 $\mu$   |
| 最 長   | 18.5 "        | 45.9 "       |
| 平 均   | 14.9 "        | 34.2 "       |



第2図 子虫卵内のグリコーゲン量の減少に及ぼす温度の影響

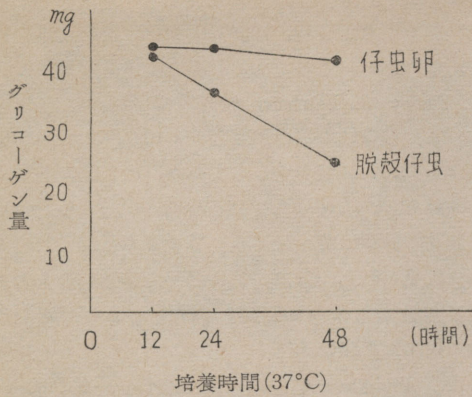
の方がグリコーゲン量は少ないが日を逐つてのグリコーゲン減少の度合は両者間に著しい差は見られない。

4. 子虫卵の脱殻子虫のグリコーゲン量の減少状態

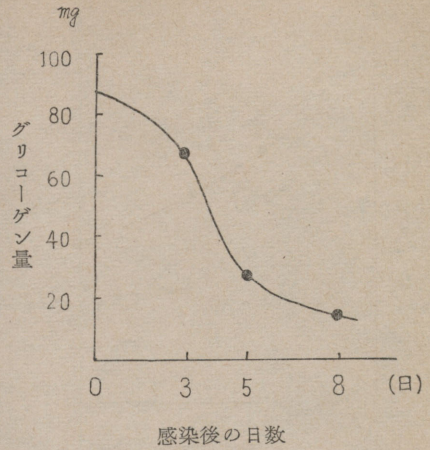
子虫形成直後の子虫卵(培養13日)から人工的に脱殻させて子虫を得、これと同一培養日の子虫卵(卵殻を覆つたもの)との両者を37℃の孵卵器に収め12, 24, 48時間後のグリコーゲン量を定量して減少の度合をしらべた。その成績は第3図の様に、子虫卵では最初の44mgが24時間で43mg 48時間後に41mg に減少するにすぎないのにひきかえて、脱殻子虫では24時間で36mg, 48時間で24.5mg とほぼ最初の $\frac{1}{2}$ 近くまで急速に減少することが分つた。

5. 子虫卵経口投与後のマウス肝グリコーゲン量の変化

感染能力のある蛔虫子虫卵を経口的にマウスに与えれば、人間感染の場合と同じく腸で脱殻し、血行性に体内移行を行うことは知られている。この体内移行期、殊に肝通過時期における肝グリコーゲンの量的変化を観察し

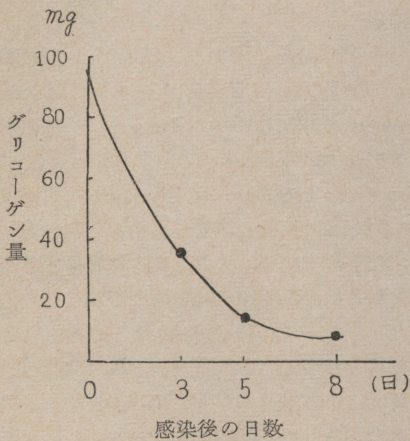


第3図 子虫卵と人工脱殻子虫のグリコーゲン減少状態の比較

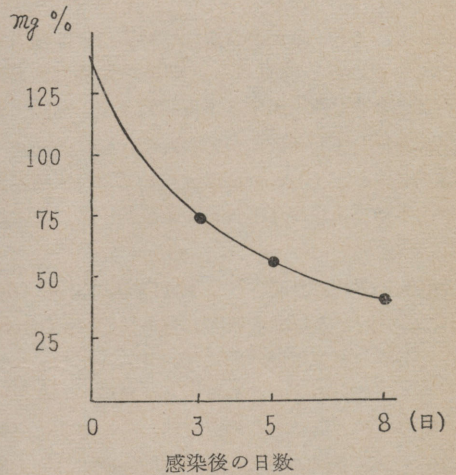


第5図 蛔虫実験感染マウスの肝グリコーゲン量の変化(2) (蛔虫卵1,000)

た。子虫期卵を10万及び1,000投与の2群にマウスを分け、ピNeal管で経口投与の後3, 5, 8日に肝をとり出し手早く処理して定量した。第4, 5図に示した様に10万投与, 1,000投与の両群とも感染と同時にグリコーゲンの減少が著明に表われ、感染子虫数の多い方がより急激な減少が見られた。



第4図 蛔虫実験感染マウスの肝グリコーゲン量の変化(1) (蛔虫卵100,000)



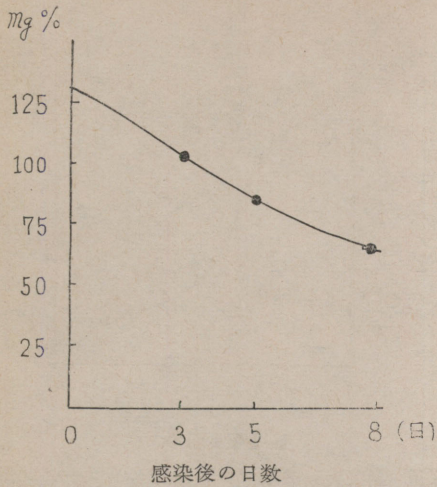
第6図 蛔虫卵実験感染マウスの血糖量の変化(1) (蛔虫卵100,000)

6. 子虫卵経口投与後のマウス血糖量の変化  
 実験5と同様に、マウスに蛔虫子虫卵を投与して3, 5, 8日後の血糖量を測定した。その結果は第6, 7図の様に感染直後から血糖が減少し肝グリコーゲンと同様な曲線を示した。

考 按

蛔虫体の Glycogen については小泉 (1954) によると

1912年にすでに Kemnitz, Müller 等によつて組織化学的に検索されているが、我国でこれを詳しく検討した鈴木 (1938, 1939, 1940) によると、彼は組織化学的に各組織内のグリコーゲン分布を検べると共に定量的にも測定し、筋に最も多く、次いで消化管及び雌生殖器に多いことを観察し、又リングルーデール液による飼養蛔虫について逐日定量を行い、飼養日数の経過につれて Glycogen 量が減少し、生活のエネルギー源として Glycogen が利用されているものであることを述べている。又近年同様のことを追試した山尾 (1951) の組織化学的検索の成績と鈴木 (1938) のそれと同一であつて兎に角雌生殖



第7図 蛔虫実験感染マウスの血糖量の変化(2) (蛔虫卵 1,000)

器には多量の Glycogen が含まれていることは確実である。これを更に詳しく見ると、卵巣では卵細胞部に多く、子宮では子宮腔に面する上皮細胞及び子宮腔に充満する卵に多量の Glycogen がある。これにひきかえて雄生殖器では殆んど Glycogen は分布しておらず精細胞も雌子宮内の精虫も全く Glycogen を証明することは出来ない。

この組織化学的に証明された子宮内卵の濃厚な Glycogen がこの実験での単細胞期卵に含まれている Glycogen であり、爾後の發育諸期の卵に含まれている Glycogen の基本となっているものであることは当然である。

本実験の最初に行つた各發育時期によるグリコーゲン量の消長では第1図に示した様に数細胞期において最大値を示し、単細胞期の約2倍となるが、その後は減少を続け数10日後には遂に測定不可能な程度にまで減少してしまうことが分つた。Glycogen が数細胞期に至る間に、細胞分裂の為の力源として利用されて減少するのは逆に却つて増加することは、消費される量を差引いてさらにこれを上回る Glycogen の新成が生じていることを示している。前報で述べた様に蛔虫卵の卵殻は外部から酸素の侵入を僅かに許すのみでそれ以外の物質の侵入を相当に強く遮断しているものであるから、この Glycogen の新成は卵内に元々ある物質に由来したものでなければならぬ。この物質としては脂肪と Trehalose をあげることが出来よう。脂肪がグリコーゲンに変る途については必ずしも一般的に明らかにされてはいないが、広く信頼

されている説であり、この立場から見ると蛔虫卵内に多くの脂肪があること (関, 1938) は充分にこの変化の起り得る可能性を示すものである。又この点を定量的に観察した Passey & Fairbairn (1957) の発表もこれを裏付けている。彼等によると培養の初め10日間に総脂肪量は36%から32.5%に減少するのであり、この間の前半は丁度グリコーゲンの増量している時期に相当する。そしてこの脂肪の減少は完全に子虫が感染能力を持った培養20日頃には見られなくなる。彼等はこの脂肪と含水炭素との消長関係から卵内の脂肪を構成している高級脂肪から含水炭素が多量に作られてくるのであらうと想像している。Trehalose については Fairbairn & Passey (1957) がはじめて蛔虫卵内に分布することを見た。彼等によると、蛔虫卵内には熱アルカリに安定な非還元性糖として Glycogen と Trehalose の二者があり、Glycogen は胚細胞中に、Trehalose は卵殻と胚細胞との間にある液体中に含まれていることを定量的方法及びクロマトグラフィーによつて証明している。Trehalose は元来カビや酵母、コンニャク等の植物に分布している糖であつて動物界には現在の所或種の昆虫に分布しているだけと云われているが、Fairbairn 等の研究によるとこれが蛔虫体には広く分布しており、卵のみならず、筋、卵巣子宮等からも証明されるという。又彼等は Trehalose を分解する Trehalase の存在をも証明しており、これから Glycogen を中において Glycogen と Trehalose の相互新成が充分に考えられる。

Fairbairn 等の Trehalose と Glycogen の發育時期による消長を観察した実験の結果で著者のそれと著しく異なる点は、彼等の成績では子虫形成時に最少となつたグリコーゲンがその後の約10日間で再び増加して、その後は減少しない点であり、Trehalose 量の動きもほぼこれと同様の結果となつている。著者のそれは前記の様に数細胞期以後は時日の経過とともに Glycogen は著明に減少を続けるのであつて、Fairbairn 等のそれと大きな違いがあるが、この原因は分らない。併し乍ら生活している子虫卵においては前報で示した酸素消費と同時に体内エネルギー源の消費が必ず生じているわけであり、これによつて Glycogen が減少すればそれは必ず Trehalose 又は脂肪からの変化によつて Glycogen を新成して補充しないと Fairbairn 等のいう如くに子虫期卵となつても Glycogen の減少が無いという結果にはならない。従つて Glycogen が減少しなければ Trehalose か脂肪の明瞭な減少がある筈であるが、それが見られない点是不合

理である様に思われる。

肺内移行中の子虫体内には極めて多量のグリコーゲンが感染後僅かの日数で貯えられている。すなわち対照としてとつた同一培養日数の同数の脱殻子虫では測定不能な程度に微量の Glycogen であるに比べて肺内子虫では 3.25mg の Glycogen が測定され、脱殻子虫での計算値に50倍する値である。感染後のこの一週間においては体長体幅の増加とともに口唇の形成、消化管の全開通等の形態学的な変化があり、おそらく第二回脱皮の前後の頃であると思われる。従つてこの時期において消化管からの栄養物の摂取利用が初めて完全となり、急速な Glycogen の貯蓄も表われて良いと思われる。大雑把な計算で体長体幅の成長の度合を立体的に感染前のそれと比較してみると14.8倍の成長であり、一方 Glycogen の増量は54倍となっている。この体内 Glycogen の起源としてはそれまでの生活場所から考えて血液内の血糖を想像するのが最も適当であろう。肺に移行する直前に血行的に肝にも移行して或時間をこえて過しはするが、肝の Glycogen がそのまま利用されるとは考え難い。これは前報の実験で Glycogen は子虫によつて直接利用されることはない点及び肝移行の時期では子虫の消化管が未だ完全ではない点からも見当づけられよう。

卵殻を覆つた子虫卵を27°Cと37°Cにおいて Glycogen の消長を比較した実験では両者の間に著しい差は見られなかつたこと及び、37°Cにおいて同一培養日の子虫卵と人工脱殻子虫との Glycogen 量の減少を比較して脱殻子虫においてはるかに著しいという実験結果が得られたが、これは脱殻によりはじめて酸素消費が著しく高まるという前報での成績を裏付けるものである。これから考えられることは、現実の感染において経口的にとられた子虫卵は脱殻せぬ間は貯蔵力源の減少もないが、一度脱殻が起ると著しい酸素消費と Glycogen 消費が生じて貯蔵力源が乏したなつてくることであり、他からの栄養摂取が必要となつて来るものであろう。

子虫卵を経口的に与えられ濃厚な感染を起したマウスの血糖及び肝グリコーゲンの定量実験では両者ともに明白な減少が生ずることを表わしている。感染症において血糖値が低下することは往々見られる事実であり、かつてはこれを発症機転と考えた者もあつたが、現在では感染によつて肝の Glycogenesis にも Glycogenolysis にも阻止的に働か何かが生ずると解釈することが普通の様である。著者の実験においても血糖及び Glycogen の減少を直ちに血行中の子虫の利用によるものとは勿論考えら

れない。丁度この時期に確に子虫は体内に多量の Glycogen を蓄積しはするのであるが、これは血糖を利用したものとは云えその為の血糖の減少が定量によつて生じたものではないと考える。まして肝グリコーゲンの減少は先にも述べた様に子虫の直接の利用ではない。

蛔虫の感染は子虫卵が経口的に宿主にとり込まれ、その消化管上部で脱殻した子虫が体内移行を行つて肺から気管、食道を経て小腸に至つて成虫となるということは1916~1917年の Stewart 及び我国の吉田(1917)の有名な実験で明らかとなつている。

移行経路についても現在では血行移行説が有力であり、腸腔から腸壁の門脈枝に入り、肝、心、肺に至るものと考えられている。この様な体内移行という奇妙な現象については多くの追試等により疑う余地は無いが、これ等の現象の機序、移行理由等については現在まで殆んど何の説明も行われていない。著者は著者の前報及び本報の結果からこの問題について次の様な考案を行つた。すなわち、蛔虫子虫が体内移行を行うのは脱殻子虫の飢餓状態が根本の原因であらうと思われる。

蛔虫卵は厚いキチン質の卵殻によつて物質の出入を阻止しており、酸素でさえも或程度の制限をされていることは脱殻子虫と子虫卵の酸素消費量の相異からも明らかである。この様に酸素消費を制限してはいても子虫が形成されて以後時日が経過するにつれて次第に体内に貯蔵した Glycogen の減少を来たすことは止むを得ない。このことは培養子虫卵を観察して行くと子虫形成直後の時期には運動が活潑であるが、時日の経過と共に不活潑となつて行くことから見当づけられる。この様に glycogen 欠乏の状態にある子虫卵が経口的に宿主にとり込まれ腸内で脱殻が起ると、それまでの外界温度と異なる 37°C という高温にも影響されて酸素消費は増し Glycogen の消耗も卵殻を有した時期に比べてはるかに促進させられるために Glycogen の欠乏はより一層激しくなり、爾後の生活を続けるためには早急に力源となる栄養を摂取しなければならぬ状態に追い込まれるのであろう。併し乍ら小腸という環境においては能率よく利用し得る糖は質的にも量的にも乏しい。ここにおいて腸壁に分布している血管に侵入して血液中の Glycogen という最も利用し易い糖を純粹の形において利用することが最も手近なしかも効率の良いエネルギー源補給の途であることは云うまでも無い。この子虫の Glycogen 欠乏を血液内移行の原因とする見方から 2, 3 の現象を解釈すると次の様になると思われる。蛔虫卵は子虫が形成されてもその後の

数日は感染能力が無いと云われるが、これは子虫形成直後の時期では未だ貯蔵グリコーゲンの量が多い為に早急な力源補給が必要でなく、その間に宿主腸管から排出されてしまつて感染が成立しないのではないであろうかと思われる。形成直後の子虫卵をマウスに与えてマウスの臓器に移行が起らない為に感染能力が無いとする成績は上の様な解釈でも説明し得よう。又子虫卵の時日が余りに経ちすぎたものでは感染率が低下するが、これも卵殻内で余りに Glycogen を消耗し過ぎた為に宿主腸管内にて脱殻が起きて、それに引続いて起る Glycogen の消費の為に腸壁に侵入する力さえも失つてしまう為かも知れない。

### 要 約

蛔虫發育各期の Glycogen 量を定量してその消長を観察し、又感染時の宿主の肝グリコーゲン及び血糖量の変化を検討した。

1. 蛔虫卵は数細胞期において Glycogen 量が最も増すが、それ以後は減少し、子虫形成後は時日の経過につれて減少を続け遂に測定不能な程度となる。
2. 肺内移行中の子虫においては子虫体成長の度合をはるかに超えた大量の Glycogen の蓄積がみられる。
3. 感染マウスの肝グリコーゲン量及び血糖量は感染と同時に著しく減少する。
4. 前報と本報の実験結果から、蛔虫子虫の宿主体内移行は、卵殻内及び腸管内で脱殻後に著しい Glycogen 消費がありエネルギー源欠乏の状態となる為早急な力源補給を必要として血糖を利用する目的で血管内に侵入することによつて起る現象であると解釈する。

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。

本論文の要旨は昭和 34 年 10 月第 19 回 日本寄生虫学会東日本支部大会に於いて発表した。

### 文 献

- 1) Fairbairn(1957) : The biochemistry of ascaris. Exp. Parasitol., 6, 491-536.
- 2) Fairhairn & Passey(1957) : Occurrence and distribution of trehalose and glycogen in the eggs and tissues of *Ascaris lumbricoides*. Exp. Parasit., 6, 566-574.
- 3) 藤井暢三(1954) : 生化学実験法, 南山堂.
- 4) 小泉丹(1954) : 蛔虫毒の研究, 岩波書店.
- 5) Passey & Fairbairn(1957) : The conversion of fat carbohydrate during embryonation of *Ascaris lumbricoides* egg. Can. J. Biochem. physiol., 35, 511-525.
- 6) 齊藤正行(1953) : 光電比色計による臨床化学検査, 南山堂.
- 7) 鈴木嘉六(1938) : 豚蛔虫体内糖原質に就いて, 慶応医学, 18, 11.
- 8) 鈴木嘉六(1939) : 動物体外飼養蛔虫体に於ける糖原質に就いて, 慶応医学, 19, 4.
- 9) 鈴木嘉六(1940) : 蛔虫体内糖原質の定量的観察, 慶応医学, 20, 6.
- 10) 関豊吉(1938) : 豚蛔虫体の脂肪質に就て, 慶応医学, 18, 1199-1206.
- 11) 山尾泰正(1951) : 内部寄生虫類の組織化学的研究, 糖原質の分布について, 動物学雑誌, 60, 5.
- 12) 吉田定男(1917) : 蛔虫の發育に就て, 動物学雑誌, 29, 301-317.

STUDIES ON PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF *ASCARIS LUMBRICOIDES*  
AT EARLY DEVELOPMENTAL STAGES II. GLYCOGEN  
CONTENTS OF EGGS AND LARVAE IN  
VARIOUS DEVELOPMENTAL STAGES

YASUTOKI KAWAZOE

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

In the former paper the author investigated the oxygen consumption of ascaris eggs and larvae in various developmental stages. In the present report, glycogen contents of *Ascaris lumbricoides* eggs in various developmental stages as well as larvae migrating through mouse lung were quantitatively estimated. Furthermore, on the basis of the results of these experiments, considerations about the mechanism of the migration of the ascaris larva through the body of the host were made.

The development of the ascaris eggs used in this experiments were classified as follows: Unicellular, bicellular, multi-cellular, morular, tadpole, and embryonated (infective) stages. The migrating larvae in the host were collected from the lungs of mice which were infected with embryonated eggs 8 days before sacrifice. Glycogen in liver and dextrose in blood of mice infected with ascaris were estimated periodically during the initial several days of the infection.

The quantitative estimation of glycogen of  $4 \times 10^8$  eggs in various developmental stages revealed that the glycogen increased during first 6 days of the development and thereafter decreased gradually as it was shown in fig. 1. The glycogen contents of larvae just embryonated was approximately the same as that of unicellular eggs, and after the formation of larvae glycogen continued to diminish in amount while the eggs survived.

The glycogen contents of the larvae migrating through the lung are 54 times as much as that of the larva which was used for the infection, while the body of the migrating larvae are 14.8 times as large as that of the larvae hatched *in vitro*. The decrease in amount of glycogen of larva covered by egg shell is not so remarkable even at 37°C. When the larvae hatch, however, glycogen consumption becomes quite prominent compared with that of the larva in egg shell. Apparent decrease in amount of glycogen in liver and of glucose in blood was recognized at the beginning of the course of the experimental ascaris infection in mice. The decrease of glycogen and glucose in the mice is not likely to be caused by the direct consumption of the carbohydrates by the larvae migrating through liver and blood vessels.

By the data from the present as well as the former experiments the author supposed that the mechanism of migration of ascaris larva through tissues of host would be as follows. Glycogen deficiency in the infective larva in egg surviving in natural circumstances such as on soil or in the artificial incubating medium is a fundamental factor of the mechanism. Glycogen deficiency becomes so extensive after the eggs hatch in alimentary canal of host that the active and prompt acquirement and accumulation of energy source is requested for the larva in order to survive and grow in the host. Under the conditions where the larva lives, blood dextrose must be available as the most efficient energy source, and consequently it occurs that the larva invades into blood vessel for the purpose of utilization of blood sugar, followed by the migration through the body.