

蛔虫体ヒスタミンと諸種駆虫薬のこれにおよぼす影響

宮川 雄一郎

順天堂大学医学部薬理学教室 (指導 板東丈夫教授)

(昭和36年4月11日受領)

特別掲載

緒言

蛔虫体 およびその飼養液中のヒスタミン量については、小泉(1944)、美馬(1941)の研究があり、小泉等は、蛔虫体各組織の中、腸管を除き、体壁層、筋肉層、体腔液、およびその飼養液中のヒスタミン量、並びに、その蛔虫毒との関係について報告しており、更に、森下ら(1953)も蛔虫毒の本体がヒスタミンであると報告している。著者は先づ検体よりの抽出定量の方法を検討し、種々の吟味を加え、その結果、分離、抽出は堀内(1953)の方法に従い、イオン交換樹脂および、ペーパークロマトグラフィーの応用に依つて、ヒスタミンを同定し、モルモット腸管を用いる生物学的検定法により定量を行った。次いで蛔虫各臓器内のヒスタミン量、その経日的変化を観察したが、飼養液中に微生物が存在すれば、飼養液中のヒスタミン量には勿論、蛔虫各臓器内ヒスタミン量にも影響する可能性も考えられたので、飼養に用いる容器および飼養液を滅菌し、更に抗生物質、抗かび剤を添加して、その影響を観察した。また、駆虫剤の蛔虫に対する作用は、その生死、運動力の変化、電気刺激に対する反応性等を目安として観察せられるのが普通であるが、蛔虫の代謝産物の増減の見られることも、既に Bueding(1957)等によつて報告せられている。著者は、ヒスタミンの生理的意義はさておき、二、三の薬剤の有効濃度において、蛔虫体腔液中のヒスタミン量に如何なる変化が見られるかについて検討した。しかし、ヒスタミンは、蛔虫のみならず種々動物の体内にあり、アレルギー、アナフィラキシーに関係のある事は明らかであるが、生理機能上にどんな役割を有するかを知る一つの手懸りとして、蛔虫体各組織および体腔液中のヒスタミン量および飼養期間中の飼養液中に排出せられるヒスタミン量を定量した。

実験材料

豚蛔虫 (*Ascaris lumbricoides* var *suis*) は、東京芝

浦屠場において入手した。豚小腸より採り出された蛔虫を、速かに37°Cロック液に移し実験室に運び、運ばれた虫体は37°Cロック液で十分に洗滌し、損傷あるものおよび、雄蛔虫を除き、体重約7~9g、体長約25~30cmの雌蛔虫を選び分け、37°C孵卵器中に飼養し、材料とする。

1) 腸管 虫体の両端をわずかに切断し、側線に沿ひ切開し、腸管を剥離し、ロック液にて腸管を洗滌した後使用した。

2) 体腔液 尾端を結紮し、セルフィン等を用い、頭端を上方にして懸垂し、側線に沿ひ、角皮層を極めて少範囲に切開し、流出する黄褐色又は紅褐色の液を試験管中に受けて採取する。この際、腸管内容が混入しない様に注意する。

3) 筋肉層 腸管を除去した後、虫体をコルク平板に伸展、一部固定し、側線を筋肉層より分離し、細切する。

4) 体壁層 筋肉層を除いた部分を側線の附着した儘細切する。

5) 飼養液 ロック液を用い、これに、ペニシリン10単位/ml、ストレプトマイシン50 μ g/ml、デハイドロ酢酸100 μ g/mlを加え、且つ、 1×10^{-4} Mになるように、セミカルバジッド20mg/mlを添加した。蛔虫は10匹を1群とし、1,000mlのマイヤーコルベンに入れ、37°Cで24時間飼養した。必要に応じ、容器並びに飼養液を滅菌し、又は、これに薬物を添加した。

実験方法

組織中のヒスタミンを定量するには、先づ完全にこれを分離する必要がある。分離、抽出に関するものは数多くの方法があるが、著者は、その中の堀内の方法に従つた。

腸管、筋肉層および体壁層は、ホモチェネイトとし、飼養液は、濾過後その儘用い、体腔液は、採取後80%ア

ルコールを9倍量, セミカルバジッド溶液を $1 \times 10^{-4}M$ の濃度になるように加え, 一昼夜氷室に放置し, 遠心沈澱(3,000 r.p.m 20分)後上清を取る. 残渣に再び80%アルコールを加え, 同様の操作を行い, その上清を前の上清と合わせ, 水浴上で蒸発乾固し, アルコールを除去する. 残渣に蒸留水を加えて遠心沈澱(3,000 r.p.m 10分)を行い, 水に不溶性の部分除去した後, イオン交換樹脂(アンバーライトIRC-50)のコラムに入れ, 徐々に滴下せしめ排液は廃棄する. 後, イオン交換樹脂に吸着したヒスタミンを抽出するため, 1規定アンモニア水を通し, ヒスタミンをアンモニア水中に移行させ, 水浴上でアンモニア水を蒸発乾固し, ヒスタミンを得る. 腸管, 筋肉層および体壁層は, ホモチェネイトとした後, 体腔液と同様に処理をする. アンモニア水の蒸発乾固により得られたヒスタミンは, 一定の濃度になるように蒸留水で溶解し, 検体とする. その定量は, 生物学的検定法により, モルモット摘出腸管によつて行う.

以上の操作によつて得られた検体が, ヒスタミンであるか否かの検定には, ペーパークロマトグラフィーの応用がある. 即ち, さきのアンモニア水の蒸発乾固によつて得られた残渣を, メチルアルコールで溶解し検体とする. これを, ガラス毛细管を用い, 濾紙(東洋濾紙 No.

53, 巾2 cm, 長さ40 cmに切断, 一端より5 cmに原点を取る)に滴合させる. 溶媒は, プタノール酢酸(プタノール:酢酸:蒸留水=4:1:2)を用い, 展開時間10~15時間, 温度16°Cとする. (温度に依り若干 Rf 値に変化があり, 16°Cが最適であつた). 乾燥は 100°C10分間(プタノール臭が消失する迄), 発色には0.03%ニヒドリン溶液を用い, 対照ヒスタミンと, 検体が同じ Rf 値を持つ事を確認する.

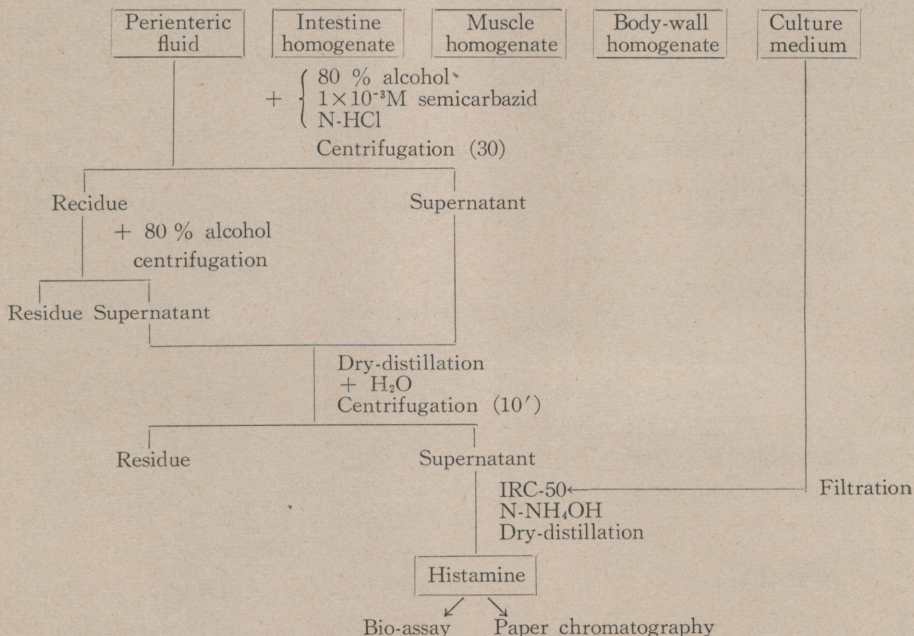
実験成績

1. 検体処理の吟味

1) 分離抽出法

組織中のヒスタミンを定量するには, 先ず完全に分離抽出し, 定量する必要がある. 著者は, 堀内法に従い実験を行った. 腸管, 筋肉層, 体壁層はホモチェネイトとし, 飼養液は濾過後その儘用いた. 10匹1群の虫体より, 体腔液8~10ml, 腸管4~6 g, 筋肉層12~15 g, 体壁層5~8 gが得られた. 体腔液は, 第1表に示した通り採取後80%エタノールを9倍量, セミカルバジッドを $1 \times 10^{-4}M$ となるように加え, 一昼夜氷室に保存した. 遠心沈澱 3,000 r.p.m, 30分の後上清を取り, 残渣に再び80%アルコールを加え抽出し, 再び遠心沈澱3,000 r.p.m,

Table 1 Extraction of histamine



10分の後上清をとり、前の上清と合わせて蒸発乾固し、アルコールを除去する。乾固物に蒸留水を加えて遠心沈澱を行い、水に不溶性の部分除去した後、イオン交換樹脂アンバーライトIRC-50のコラムを通し、徐々に滴下させ排液は廃棄する。その後、樹脂に吸着したヒスタミンを、1規定のアンモニア水中に移行させ、これを水浴上で蒸発乾固して、ヒスタミンを得た。腸管、筋肉層および体壁層はホモチェネイトとした後は、体腔液と同様に処理した。アンモニア水の蒸発乾固によつて得られたヒスタミンは、体腔液1mlから得られた乾固物の全量を、0.2mlの蒸留水に溶解した。その他の組織の場合には、各1gから得たものを同様に0.2mlの蒸留水に溶解した。以上の操作によつて得られたものが、果してヒスタミンであるか否かを確認するため、ペーパークロマトグラフィーを応用してそのRf値を調べた。

2) ヒスタミンの同定

ペーパークロマトグラフィーの応用に依つて試料と対照のRf値が一致する事は、両者が同定せられた事を意味するので、前法に従つて処理した体腔液から得た試料を、0.5mlのメタノールに溶解し、対照としては、標準ヒスタミン塩酸塩の10mg/ml、20mg/mlの二種類の水溶液を用い、夫々、ガラス毛细管で濾紙に滴合させた。

Table 2 Rf at various temperature

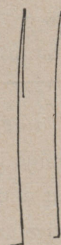
Sample	Drops	Conc.	Rf	Temp. °C
Standard histamine	D	2	0.36	23—28
		2	0.20	17—22
		2	0.23	17—19
		2	0.26	15—16
		3	0.26	"
Standard histamine	C	4	0.24	"
		2	0.23	17—19
		2	0.23	14—16
		2	0.36	23—28
Perienteric fluid		2	0.20	17—22
		2	0.20	"
		2	0.25	15—16
		3	0.26	"
		4	0.26	"
		2	0.22	14—16

D=10 mg/ml

C=20 mg/ml

その結果は、第2表に示す通りであるが、先づ、予備実験として、10mg/mlの溶液1~10滴合させ、そのスポットの状態をみると、2~4滴位が適当のようであり、スポットもほぼ円形で、広範囲に拡大することもなかつた。それで、本実験では2~4滴を用いることとした。その結果、温度16°C附近で、2~4滴の範囲では、10

mg/ml、20mg/mlの何れの溶液においてもそのRf値は一致した。体腔液より得た試料の場合にも、またこれらの検体のRf値はどの温度においても、互に一致する事がわかつた。そこで著者は、本抽出法が、蛔虫体ヒスタミンの抽出に適當である事を確認し、以後の実験ではすべて本抽出法によつた。



S 0.025 ml MR 0.25 ml

S=10 μg/ml Histamine (non-treated)

MR=10 μg/ml Histamine (treated)

Fig. 1 Contraction of guinea pig ileum

本試料は、第1図に示すようにモルモット摘出回腸の収縮を惹起し、その収縮は、抗ヒスタミン剤塩酸ジフェンヒドラミンによつて完全に阻止せられた。それで本試料はヒスタミンであることが確認された。

3) 回収率の検討

定量方法が如何に正確であつても、蛔虫体成分よりの分離、抽出の過程において、失われるヒスタミン量が明らかでない、得られた値が無意味となる。そこで著者は、標準ヒスタミンを一定量用いて生体組織からの分離、抽出と同様の処理を行い、これを一定量の水に溶解し、無処理の標準ヒスタミンの同量を前者と同量の水に溶解した液と比較して、モルモット回腸片の収縮高における相違をしらべた。その結果モルモット回腸片の収縮高と同一とするには、処理ヒスタミンの溶液では、無処理ヒスタミンの溶液の10倍容量を要することが明らかとなり、抽出処理の操作の間に最初の量の1/10となることわかつた。それで以後の各実験では、回収率を1/10とし、定量して得た値を10倍して生体中の本来のヒスタミン量とした。

2. 蛔虫体および飼養液中のヒスタミン量の経日的変化

i) 飼養液に薬物を添加しない場合

飼養液中に抗生物質、抗かび剤を添加しない場合には、第2図に示すように、体腔液中ヒスタミンは一匹当

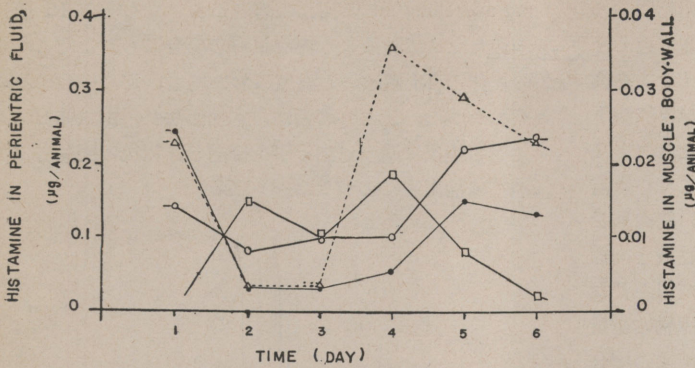


Fig. 2 Histamine in tissues and in culture medium (without antibiotics and antimycotic),

---△--- Perienteric fluid, —●—●— Muscle, —○—○— Body-wall, —□—□— Culture-medium

りに換算して、採取当日の値 0.234 μg から第2日には 0.028 μg に減少し、第3日は増減がなく、第4日は 0.36 μg に増加、第5日は 0.294 μg 、第6日は 0.234 μg と再び減少し、採取当日の値に回復した。これは、宿主の小腸内からロック液に移されたために、環境条件の変動が起り、そのストレスが一時蛔虫体内のヒスタミン合成機転を抑制し、やがて新環境への順応によつて異常な生合成が行われ、再び安定な平衡に達することを示すように思われる。また、筋肉、体壁層中のヒスタミンも、体腔液中ヒスタミンと略々同一の傾向を示し、筋肉では、採取当日の値 0.024 μg 、第2日には 0.03 μg 、第3日には 0.003 μg に減少し、第4日には、0.005 μg 、第5日には 0.015 μg に増加し、第6日には 0.013 μg となった。体壁層では、第1日に 0.014 μg 、第2日には 0.008 μg 、第3日、第4日は、0.001 μg 、第5日は 0.02 μg に増加し、第6日には 0.002 μg となった。この三者を比較すると、初めヒスタミンの減少を見た後、再び増加するのは体腔液に最も早く、筋肉がこれに次ぎ、体壁層では最も遅れている。このことが何を意味するかは明らかではないが、腸管でヒスタミン合成が再開し、体腔液→筋肉→体壁層の順序にヒスタミン含有量が増加してゆくのではないかとと思われる。他方飼養液中のヒスタミンは、第1～2日 100ml 当り 0.150 μg で、第2～3日に 0.100 μg 、第3～4日に 0.190 μg 、第4～5日

0.080 μg 、第5～6日 0.022 μg となり、体腔液中ヒスタミンの最初の減少と一致して増加し、体腔液中ヒスタミンの増加と一致して再び増加し、以後減少している。この飼養液中の最初の増加は、何等かの原因で体腔液中のヒスタミンが、体外に移動したためであるかも知れなし、また飼養液中の微生物に由来するものであるかも知れない。しかし、蛔虫腸管内容物は略々飼養後3日以内に排泄を終ると言われるので、第2日目の増加は、体内のヒスタミン生合成の増加に関係があるのではないと思われる。以上の体腔液ヒスタミンを $\mu\text{g}/\text{ml}$ 当り、筋肉、体壁層ヒスタミンを g 当り、飼養液中ヒスタミンを 100 ml 当りの数値で表わしたものは第3表の通りである。

Table 3 Change in histamine in Ascaris tissue and in culture medium during cultivation

Day	1	2	3	4	5	6
Body wall ($\mu\text{g}/\text{G}$)	0.30	0.20	0.20	0.20	0.41	0.55
Muscle ($\mu\text{g}/\text{G}$)	0.18	0.02	0.02	0.04	0.10	0.06
Perienteric fluid ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0.30	0.04	0.04	0.55	0.45	0.30

Day	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6
Culture medium ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0.15	0.10	0.19	0.08	0.02

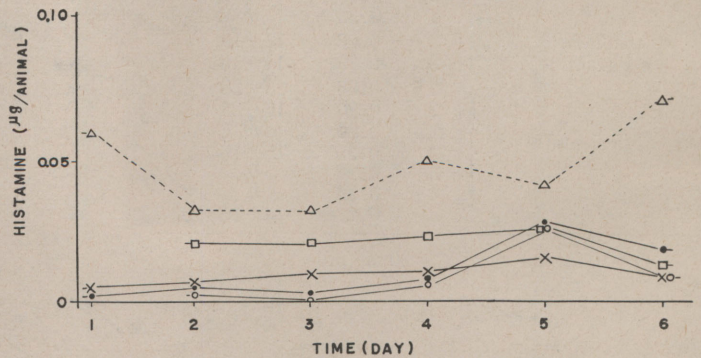


Fig. 3 Histamine in tissues and in culture medium (with antibiotics and antimycotic),

---△--- Perienteric fluid, —×—×— Intestin, —●—●— Muscle, —○—○— Body-wall, —□—□— Culture-medium

ii) 飼養液中に薬物を添加した場合

以上の実験では、飼養液中に混在する微生物の産生するヒスタミン等が問題となり、飼養液中ヒスタミンの全部が蛔虫体内のヒスタミンに由来することが困難であるので、飼養液中に抗生物質、抗かび剤を添加することとした。その添加量は、石崎・坂東ら(1958)に従った。抗生物質としては、ペニシリンを10単位/ml、ストレプトマイシンを50 μ g/ml、抗かび剤としては、デハイドロ酢酸の100 μ g/mlを用い、これにヒスタミン分解酵素抑制のために、セミカルバチッドを加えた。この条件の下に前項と同様の実験を行ったところ、第3図に示す通り、体腔液ヒスタミンは、一匹当たり、第1日0.060 μ g、より第2日0.031 μ gに減少し、第3日には増減なく、第4日には0.050 μ gと増加し、第5日0.040 μ gと稍減少、第6日には再び0.070 μ gと増加した。これを前項の体腔液の場合と比較すると、第6日の増加は別として、他は略々同様の傾向を示している。筋肉、体壁層では第1日から第2日への減少が見られないが、その後第5日まで増加を続ける傾向は前項の実験の場合と同様であった。但し、体壁層では第6日には却つて減少した。これらの成績では前項の実験との間に大きな相違を認めなかつたが、飼養液中ヒスタミンについては大いに前回と異り、第1~2日の値0.02 μ g/100mlが第4~5日まで、ほとんど認むべき差異を示さなかつた。この事実は前項の実験では飼養液中の微生物又は、蛔虫腸管からの排出物および微生物に依るヒスタミンおよびヒスタミナーゼが、飼養液中ヒスタミン量に相当影響をおよぼして居たことを示しているものと思われる。また本実験においては、蛔虫腸管ヒスタミンをも定量したが、その量は少量であつた。しかし、ヒスタミン合成は温血動物では主として消化管で行われると言われるので、蛔虫でも同様の推論が成立つとすれば、この少量のヒスタミンでも絶えず腸管粘膜で行われ体腔液に出る、筋肉、体壁層に移行するものとも考えることも可能で、24時間以内のその量は相当量に達するものと思われる。且つ、腸管ヒスタミン量が第5日に最も多く認められることは、筋肉、体壁層ヒスタミンが第5日に最も多い事と一致して居り、上記の推論を裏書きするようにも思われる。体腔液ヒスタミンが第6日に増加して居ることは、ヒスタミン代謝が一応安定し、実験前の状態に回復したもののようにも考えられる。腸管ヒスタミンも筋肉、体壁ヒスタミンも第6日に何れも減少を示して居ることは、同様に代謝の安定化と考えられぬでもない。

3. 飼養条件の検討

以上の様に、飼養液中に微生物の混入しているか否かによつて蛔虫体各組織中のヒスタミン量に相違があり、殊に飼養液中ヒスタミン量は著しく異なることが明らかとなつたので、蛔虫の飼養条件を可及的に無菌的にし、または抗生物質、抗かび剤を加え、ヒスタミナーゼ阻害剤を添加するなどして、体腔液ヒスタミン量および飼養液中ヒスタミン量を定量した。蛔虫は、採取後24時間、37°Cロック氏液中に飼養し、48時間目から新たな実験条件の下に移し、その後24時間目にヒスタミンの定量を行った。

i) 飼養容器並びに飼養液の滅菌およびセミカルバチッド添加の有無に依るヒスタミン量の変化

Table 4 Effect of sterilization and semicarbazid on histamine in perienteric fluid

	Sterilization μ g/100ml	non sterilization μ g/100ml
Semicarbazid (20mg/ml)	0.011	0.004
Non semicarbazid	0.002	0.003

体腔液ヒスタミンでは、第4表に見られるようにセミカルバチッドの添加の有無並びに容器並びに飼養液の滅菌の有無の影響には、一定の傾向が認められず、これらの条件は蛔虫体腔液ヒスタミンに影響しないもののように、従つてこれらの条件の相違は24時間内では、蛔虫の生理機能には無関係であると思われる。これに反して、飼養液中ヒスタミンの場合には、第5表に示すように、

Table 5 Effect of sterilization and semicarbazid on histamine in culture medium

	Sterilization μ g/100ml	Non sterilization μ g/100ml
Semicarbazid (20mg/ml)	0.023	0.125
Non semicarbazid	0.008	0.020

容器並びに飼養液を滅菌しない場合には、それらを滅菌した場合に比し、ヒスタミン量が多量で、2乃至6倍であつた。殊にセミカルバチッドを添加しない場合に著しかつた。滅菌しない場合に、飼養液中の微生物の産生するヒスタミンの影響があるものと考えられ、セミカルバチッドを添加しない場合に、一般にヒスタミン量の少い事は、セミカルバチッドが、ヒスタミン分解酵素であるヒスタミナーゼを抑制するためであろうと考えられる。

以上は、体腔液1ml当り、飼養液100ml当りのヒ

Table 6 Histamine in perienteric fluid and in culture medium

	Sterilization μg/animal	Non Sterilization μg/animal
Semicarbazid (20 mg/ml)		
Perienteric fluid	0.009	0.003
Culture medium	0.023	0.125
Non semicarbazid (20 mg/ml)		
Perienteric fluid	0.002	0.010
Culture medium	0.008	0.120

スタミン量であるが、それらを、蛔虫1匹当りの量に換算すると第6表のようになった。この表でみると実験条件の如何に拘らず1匹当りの飼養液ヒスタミン量は、体腔液中のそれに2乃至数10倍で、飼養液にセミカルバチッドを添加した場合には、添加しない場合に比して著しい。

ii) 飼養容器並びに飼養液の滅菌と、抗生物質、抗かび剤の添加の有無による飼養液中ヒスタミン量の変化
前項の実験においては飼養液中に抗生物質および抗かび剤を添加してあつたが、この飼養液中からこれらを除いた場合の影響を知るために、添加群と非添加群とについて飼養後24時間後の飼養液中ヒスタミン量をしらべた。また、夫々の場合に飼養に用いた容器や、飼養液の作製に用いるロック液の滅菌の有無の影響も併わせ観察した。その結果は第7表に示すように、抗生物質、抗か

Table 7 Effect of sterilization, antibiotics and antimycotic on histamine in culture medium

	Sterilization μg/100ml	Non sterilization μg/100ml
Antibiotics Antimycotic (+)	0.008	0.020
Antibiotics Antimycotic (-)	0.016	0.032

び剤を添加しない場合には、添加した場合よりもヒスタミン量が多いが、その差は、滅菌を行わない場合には抗生物質等の添加によつても微生物の抑制が充分でなく、既に、微生物に由来するヒスタミンの増加があることによるのであろう。従つて飼養液の場合には、飼養中に増加するヒスタミンが蛔虫の代謝によるものであるか否かを決定するには、飼養液の条件を十分に考慮しなければならぬものと考えられる。

iii) 時間の経過に伴う体腔液ヒスタミン量の変化

以上のように、体腔液ヒスタミン量は24時間の飼養では、一応飼養容器やロック液の滅菌およびセミカルバチ

ッドの添加の有無によつて影響を受けないことがわかつたが、採取後24時間以後は蛔虫腸管内容物も大分減少しているため、採取直後から24時間後までの間に上記と同様の実験を試みて、同様の結果が得られるかどうかをしらべた。即ち飼養容器およびロック液を滅菌し、セミカルバチッド添加群と非添加群とに分ち、また1群は、採取直後から24時間これらの実験条件の下に飼養し、他の群は採取後24時間普通のロック液中に飼養した後、上記の実験条件の下に移し、その後24時間飼養後両群の蛔虫の体腔液を採取、ヒスタミン量の定量を行った。その結果は第8表に示す通りであるが、この成績では採取後24時

Table 8 Change in histamine in perienteric fluid in elaps of time

	After	
	24 hours (μg/ml)	48 hours (μg/ml)
Semicarbazid (20mg/ml)	0.006	0.013
Non semicarbazid	0.004	0.010
	(sterilized)	

間飼養した蛔虫では、その後更に24時間飼養したものに対して体腔液ヒスタミンが少いように見えるが、別に行つた実験の成績、例えば第4表に示した同一実験の場合の48時間後の体腔液ヒスタミン量は必ずしも第8表の24時間後のものに比して多量ではなく、体腔液ヒスタミン量には元来相当の幅を持つてることが知られる。またセミカルバチッド添加による影響も認められず、採取後24時間後と48時間後との体腔液ヒスタミン量には著しい差異のないことが明らかとなつた。

iv) 体腔液処理の際のセミカルバチッド添加の有無による影響

以上の各実験において検体中ヒスタミンを処理する際には、操作中にヒスタミナーゼに依るヒスタミンの分解が考えられるので、堀内の法に従い、常に抗ヒスタミナーゼ剤であるセミカルバチッドを添加して来たのであるが、体腔液について著者が実際に使用したセミカルバチッド量で有効であつたかどうかを確かめるために次の実験を行った。即ち体腔液を採取直後二分し、その一部にはセミカルバチッドを $1 \times 10^{-4}M$ となるように添加し、他の部にはセミカルバチッドを添加することなく抽出定量の操作を行い、両者のヒスタミン値を比較した。その結果は第9表に示すように、セミカルバチッド添加の場合には、非添加の場合の数倍に達することがわかつた。

Table 9 Influence of addition with semicarbazid on histamine during reservation of 24 hours

Semicarbazid	After 24 hours (μg/ml)
(+)	0.053
(-)	0.013

(at 4°C)

この事実はヒスタミナーゼに依るヒスタミンの分解が行われなかつた事は明らかである。

4. 体腔液ヒスタミン量の季節的变化

体腔液ヒスタミン量には、個体差による相当の幅のあることは多数の蛔虫について認められたが、蛔虫採取の季節によつて個体差を越える差異のあることに気付き、昭和35年2月より昭和36年1月迄の1年間、同一実験条件において体腔液ヒスタミン量を比較検討した。その結果は、第4図に示すように、2～6月に高値を、7～12

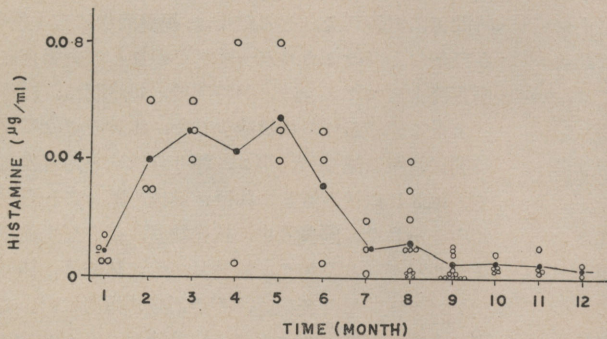


Fig. 4 Seasonal change in histamine content in perienteric fluid

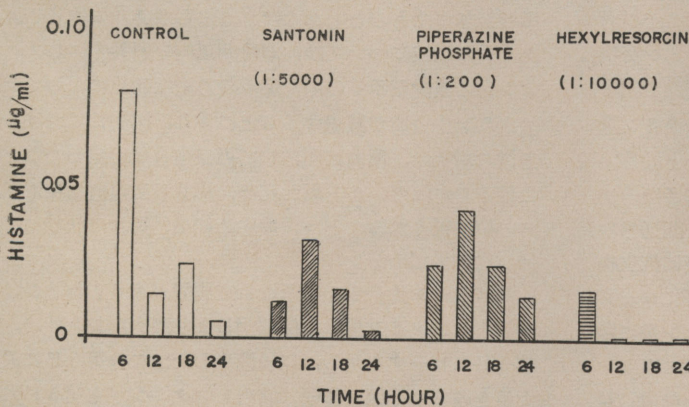


Fig. 5 Effect of some drugs on histamine in perienteric fluid

月および1月に低値を示した。その原因については豚飼料の季節的变化によるものではないかと考えたが、最近の豚の飼料は人工飼料が多く使用せられる模様で、季節的变化は認め難いように思われる。従つて季節の影響によるものか、或は他の要因によるものであるかについては、現在明らかでない、本実験での飼養条件としては、飼養容器およびロック液の滅菌は行つて居ないが、抗生物質、抗かび剤を添加して居る。

5. 体腔液ヒスタミン量におよぼす駆虫薬の影響

駆虫薬の作用機序は駆虫薬の種類に依つて種々に異なる筈であるが、蛔虫の代謝に対する影響は必ずしも明らかになされていない。ヒスタミンは蛔虫の生理機能に如何なる役割を持つているか未だ不明であるが、むしろ代謝産物として考えられるべきものであろう。従つて駆虫薬の蛔虫代謝機能への影響を体腔液ヒスタミン量の変化を目安として見るのも一法であろうと思われる。蛔虫は採取後24時間は通常のロック液中に飼養し、24時間後対照例では、抗生物質、抗かび剤を添加したロック液に移し、実験例では、これに更に、駆虫薬の一定量を添加したロック液に移して実験を開始した。駆虫薬としては、サントニン(1:5000)、ピペラジン燐酸塩(1:200)およびヘキシルレゾルシン(1:10000)をえらんだ。対照例、実験例とも夫々4群に分け、6時間、12時間、18時間、24時間後に体腔液を採取し、そのヒスタミン量を定量した。その結果は、第5図に示すように、対照の場合は、6時間後に最大値を示し、以後急激に減少し、24時間後迄略々漸減の傾向が認められた。ところがサントニン添加の場合には、6時間後のヒスタミン量は、対照に比して遙かに少量で、12時間後に僅かの増加を示した。ピペラジン燐酸塩添加の場合には、サントニン添加の場合と同様の傾向を示したが、各時刻におけるヒスタミン量は、サントニンの場合に比較してやゝ多量であつた。これに反して、ヘキシルレゾルシン添加の場合には、6時間後のヒスタミン量を測定し得たのみで、その後ヒスタミン量の測定は不可能であつた。尚蛔虫は12時間後には既に死亡して

居た。以上の結果から考えると、サントニン、ピペラジンのような、蛔虫を死亡せしめない狭義の駆虫剤では、体腔液中ヒスタミン量の早期の減少が特徴であるが、ヘキシルレゾルシンのような蛔虫を死亡させる殺虫剤では、蛔虫の死亡と共に体腔液中ヒスタミンは速かに消失することが明らかになった。

総括ならびに考按

蛔虫体に限らず生体内ヒスタミンの定量を行うには、定量が如何に確実にあつても、定量に至る迄の分離並びに抽出の過程において、誤差が大きくては何の意味もないので、著者は、松葉・久保木ら(1958)の変法等を検討した結果、イオン交換樹脂、ペーパークロマトグラフィの併用による堀内法に基いて抽出を行い、且つ必要と思われる吟味を行った。本法に依つて蛔虫体より得られた試料は、Rf 値が標準ヒスタミンのそれと一致し、モルモット摘出腸管の収縮を起した。且つこの収縮は、抗ヒスタミン剤塩酸ジフェンヒドラミンによつて阻止せられた。従つて本試料はヒスタミンであることが確認せられた。モルモット回腸を収縮せしめる物質としては、ヒスタミンの他にセロトニン、P物質、ブラジカイオン等があるが、これらは本抽出法では除外せられて居り考慮の必要はない。

小泉、美馬等は、蛔虫体腔液、飼養液中のヒスタミン量を測定し、その結果は、著者の定量値と相当の距りがある。これは、蛔虫の飼養条件、抽出方法の相違によるのであらうと思われる。小泉等は、海砂を加えて粥状とし、除蛋白をアミルアルコールにて行つて後蒸発乾固し、ヒスタミンを得、定量を行った。これは、ヒスタミンに限らず、いわゆるヒスタミン様物質の混在することが考えられる。著者はこの欠点を避けるために、イオン交換樹脂を用い、ヒスタミン以外の、定量に妨げとなる因子を除去した。次に、飼養条件は、飼養液中ヒスタミン量はもとより、体内ヒスタミン量にも影響しないとは言ひ難いので、その点について吟味を行ったが、著者は、蛔虫腸内内容物の影響を避けるために採取後24時間通常の飼養法によつて飼養後実験を開始した。飼養液に抗生物質、抗かび剤を添加するか否か、飼養容器並びにロック液を滅菌するか否かによつて飼養液中ヒスタミン量に影響があるかどうかの実験の結果は、飼養液中ヒスタミン量に差異が見られ、飼養液中の微生物の影響を無視し難いことがわかつた。又、飼養液にセミカルバチッドを添加すると、ヒスタミン量は、非添加群に比して多かつ

たので微生物又は蛔虫体由来するヒスタミナーゼの影響も考慮しなければならぬことが明らかとなつた。

体腔液については、採取から定量までの操作中にヒスタミナーゼによるヒスタミンの分解も考えられるので、体腔液採取と同時にセミカルバチッドを加える必要のあることは、堀内等も主張しているが、著者も実際にセミカルバチッドの添加の有無によつてヒスタミンの定量値に相違が見られることを確めた。しかし、飼養液中にセミカルバチッドを添加しても体腔液中のヒスタミン量には無関係であり、又、飼養容器およびロック液の滅菌も、24時間以内の飼養実験では体腔液ヒスタミン量に無関係であることが明らかとなつた。

蛔虫体各組織中のヒスタミン量が、飼養中に如何に変化するかについては、小泉等が採取直後と24時間、48時間後の値を体腔液、飼養液、筋肉層、体壁層について報告しているが、著者は、更に腸管をも含めて採取後5日間に亘つてヒスタミン量の変化をしらべた。飼養液は24時間毎に更新した。その結果は、飼養液中に抗生物質、抗かび剤およびセミカルバチッドを添加しない場合には、飼養液中ヒスタミンは、24時間後、48時間後、72時間後に多量に認められ、以後減少した。体腔液では採取後24時間に急激に減少し、第2、第3日はほとんど変化はなく、第3日以後漸減し、体壁、筋肉も略々これと同様の傾向を示した。飼養液中に抗生物質、抗かび剤並びにセミカルバチッドを加えて飼養しても、体腔液、体壁、筋肉ヒスタミン量の変化は、その増減の傾向において前の実験と略々同様であつたが、飼養液ヒスタミン量においてはほとんど変動が見られなかつた。従つて、前の実験での飼養液中ヒスタミン量の変化は、混入した微生物の影響が加つたものといわなければならない。体腔液ヒスタミンの増減については、24時間以内の飼養中にヒスタミン量の減少をみるのは、環境の急激な変化によつてヒスタミン生合成が減退することにより、第4日における急激な増加は、環境に順応して再び生合成が始つたことに依るのではないと思われる。第6日には概ね採取当日の値に近くなることは、順応の結果、最初の状態に復帰した結果であらう。

ヒスタミン生合成の場所として腸管が考えられるが、腸管内ヒスタミン量は、採取当日より漸次増加を始め、第5日にピークを示し、以後減少した。この第5日に最大値をみることは、体壁、筋肉ヒスタミンでも第5日に最大値を示すこととあわせ考えると、腸管のヒスタミン合成能亢進の結果とすることが出来るであらう。

体壁、筋肉、腸管では、ヒスタミン量が毎回略々一定であるが、体腔液ではその定量値に相当の幅が見られる。しかも、年間を通じてみると、季節的变化が認められ、その原因は不明である。以上の各組織におけるヒスタミン量は、小泉等の値よりも稍低値を示して居る。小泉等によれば、24時間飼養後、体壁層 $0.23 \mu\text{g}/\text{G}$ 、筋肉層 $0.06 \mu\text{g}/\text{G}$ および体腔液 $0.11 \mu\text{g}/\text{ml}$ と報告しているが、著者の実験では、体壁層 $0.20 \mu\text{g}/\text{G}$ 、筋肉層 $0.02 \mu\text{g}/\text{G}$ および体腔液 $0.04 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、この相違は、抽出法並びに飼養条件の相違によるものであろう。

体腔液ヒスタミン量は、サントニン、ピペラジン燐酸塩の作用に依つて減少し、その作用は、実験開始の最初の6時間に著しく認められた。12時間目には対照に比して却つて増加の傾向を示したが、その差は著しくなかつた。ヘキシールレゾルシンでは、10,000倍溶液でも6時間以内に著しく減少し、12時間以後には検出不能であつた。これらの結果は、用いた駆虫薬の蛔虫代謝に対する影響の一部を示すものと思われ、Bueding等が、ピペラジンの投与に依つて体腔液内の Succinate 量が減少することを報告していることと共に、駆虫薬が蛔虫の代謝に与える影響について知るために一つの糸口となるものであろう。また、サントニン、ピペラジンによる成績と、ヘキシールレゾルシンに依るものとの間の相違は、その作用機序(板東, 1956)の異なることを示すものと思われ、興味ある事実である。

結 論

- 1) 蛔虫体各組織および飼養液中ヒスタミンの抽出並びに定量についての吟味を行った。
- 2) 飼養容器、ロック液の滅菌と抗生物質、抗かび剤およびセミカルバヂッドの添加の各組織ヒスタミン量、飼養液中ヒスタミン量におよぼす影響を検討した。
- 3) 飼養液中ヒスタミン量は、混入する微生物に依つ

て著しく影響することを確めた。しかし、体内ヒスタミン量は、微生物が少量の場合には変化が認められなかつた。

4) 体腔液、体壁、筋肉、腸管および飼養液中のヒスタミン量の経日的変化をしらべ、体内におけるヒスタミン代謝の変動について考察を加えた。

5) サントニン、ピペラジン燐酸塩、ヘキシールレゾルシンは、体腔液ヒスタミン量を減少し、その作用は、6時間以内に著明に現われた。ヘキシールレゾルシンの場合には12時間後既にヒスタミンの消失を見た。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた恩師板東丈夫教授に衷心より感謝の誠を捧げると共に、種々御協力を下さつた教室の先輩諸兄に、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 美馬孝夫(1941): 蛔虫毒とヒスタミンとの関係, 慶応医学, 21(上), 549-556.
- 2) 小泉 丹(1944): 蛔虫の研究, 439-454. 岩波書店, 東京.
- 3) 森下 薫(1953): 蛔虫及び蛔虫症, 第2版, 177-185. 永井書店, 大阪.
- 4) 堀内和之(1953): ヒスタミンの新定量法, 生体の科学, 5(2), 39-45.
- 5) 板東丈夫(1956): 駆虫薬の薬理, 基礎医学最近の進歩, 318-340.
- 6) Bueding(1957): Anthelmintics, Pharmacological reviews 5(9), 329-359.
- 7) 木村義民(1958): ヒスタミンの定量法, アレルギー, III, 623-637.
- 8) 石崎達・板東丈夫・小林芳人(1958): The studies on the fluid environment of ascaris. Influence of pH and effect of antibiotics and antimycotics (Dehydroacetic acid) in fluid media upon the survival length and the duration of normal locomotion. Jap.J. M. Sc. Biol., 11, 223-233.

HISTAMINE IN ASCARIS LUMBRICOIDES AND THE EFFECT OF SOME ANTHELMINTICS ON IT

YUICHIRO MIYAGAWA

(*Department of Pharmacology, School of Medicine, Juntendo University*)

1. Extraction method of histamine in *Ascaris* tissues and culture medium and its biological assay were studied.
2. Effects of sterilization of glass vessels used and Looke's solution and addition of antimycotic and semicarbazid to the culture medium on histamine content in tissues and culture medium were tested.
3. Culture medium histamine remarkably increased in the presence of microorganisms in the culture medium; tissue histamine content was indifferent if the contamination of microorganisms was not so marked.
4. Daily changes in histamine content in tissues and culture medium were observed and histamine metabolism under cultivation was discussed.
5. After addition with santonin, piperazine phosphate and hexylresorcinol remarkable decrease of histamine in perienteric fluid occurred within 6 hours; histamine disappeared in 12 hours after hexylresorcinol.

寄生虫学雑誌 (Japanese Journal of Parasitology) Vol. 10 No. 3, 1961

昭和 36 年 5 月 25 日印刷・昭和 36 年 6 月 1 日発行

編集兼発行 日本寄生虫学会

印刷所 一ツ橋印刷株式会社

学会事務所 東京都品川区上大崎長者丸 国立予防衛生研究所内

電話 白金 (441) 2181 内線 404 (編集), 405 (会計)

振替口座 東京 1451