

Chitin の 研 究

(1) 蛔虫卵殻の Chitin の赤外吸収曲線について

坂 田 六 郎

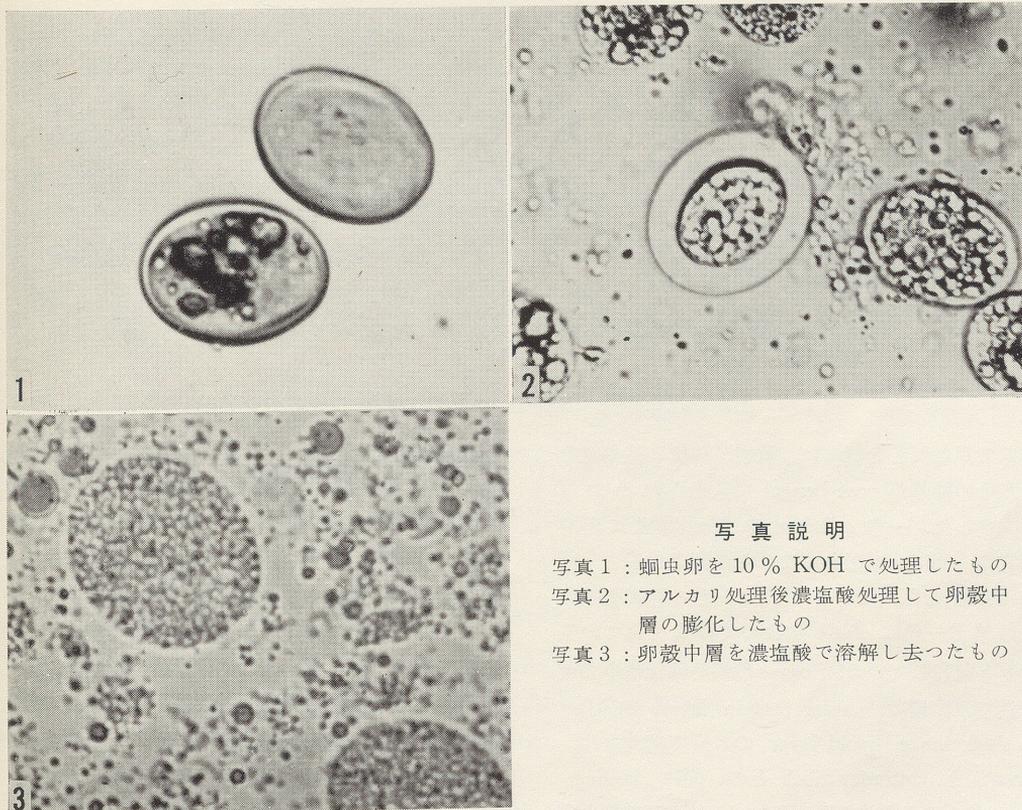
岐阜県立医科大学寄生虫学教室 (森下哲夫教授)

(昭和 38 年 6 月 24 日受領)

はじめに

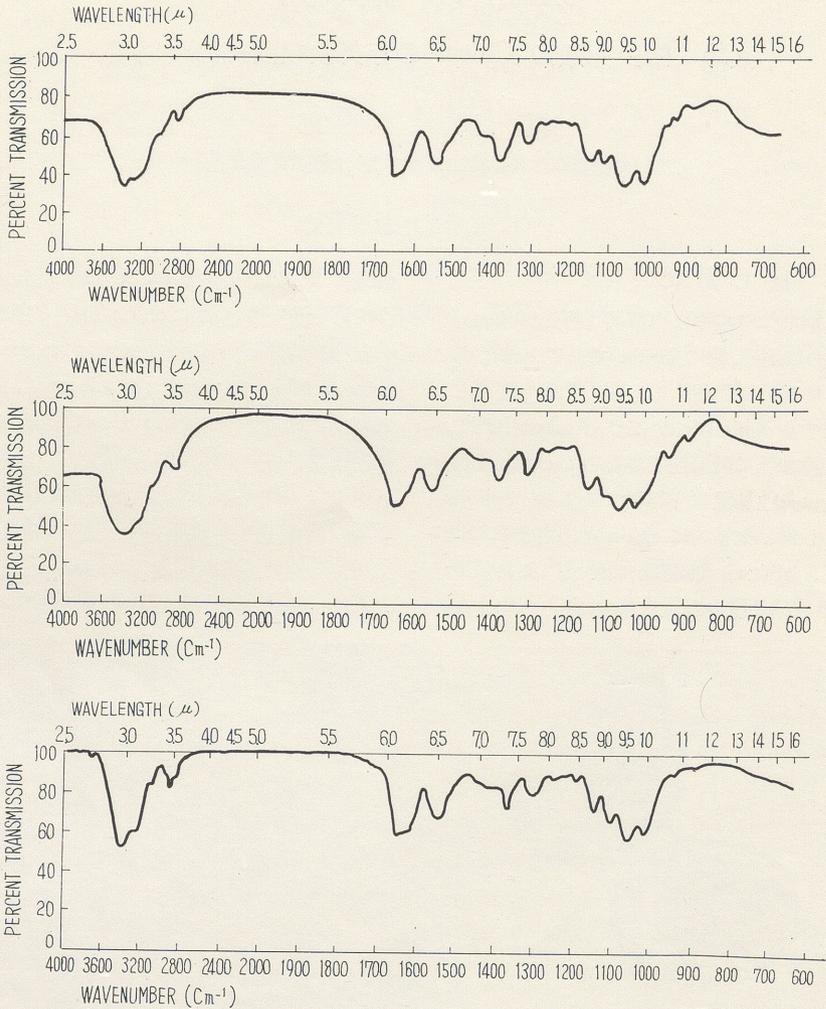
森下ら(1963)は蛔虫体腔液中に白癬菌 (*Trichophyton mentagrophytes*) の細胞壁,特に chitin であると考えられる中層に対して特異的に作用するらしい物質を証明した。線虫体に存在する chitin については Krakow(1892)が線虫の角皮は苛性加里に可溶性であるので chitin ではない。しかし卵殻は苛性加里に不溶性であるので chitin であると考えた。しかし化学的に chitin と同定するにはなお不充分である。Chitwood(1936)の研究によれば蛔虫角皮の化学的組成は外層から順次 keratin, collagen

group, fibroid, glycoprotein (mucoid), albumin から成っているという。故に chitin は全く含まれていない。一方卵殻は外層から順に protein external coat, chitinous membrane, vitelline membrane, から成っているという。Faure-Fremiet (1913)は馬蛔虫の卵殻は chitin 様の構成であると化学的に証明した。Chitwood (1950)によると Kunik (1925), Kühnelt (1928), Campbell (1929)は chitin を証明する Van Wisselingh test の成績から卵殻は chitin であると推察した。すなわち chitin を高圧, 超高温下で苛性加里で chitosan に分解し, 沃



写 真 説 明

- 写真 1 : 蛔虫卵を 10% KOH で処理したもの
写真 2 : アルカリ処理後濃塩酸処理して卵殻中層の膨化したもの
写真 3 : 卵殻中層を濃塩酸で溶解し去ったもの



第1図 上から蛔虫卵殻、白癩菌、エビの chitin の赤外分光曲線

化カリウムで呈色反応を行ない、硫酸に溶解し結晶塩を作り、またその結晶が rose bengal で染色されるから chitin と同定した。一方 cellulose や、苛性加里に不溶な支持器官は、chitin のごとくこれらの反応を示さないことから chitin と区別できるとした。その結果全線虫類の卵殻は多分一般に chitin によつて構成されているのであろうと記載している。Rogers (1956) は豚蛔虫卵を電子顕微鏡で、卵殻は、outer protein layer, middle chitinous shell, inner lipid layer の3層で構成され、protein coat と chitinous shell との、間に limiting membranes があると報告した。Schmidt (1936) は蛔虫卵殻が複屈折性を呈することを認め、それが chitin 様物質

に由来することを述べた。只野 (1961) は蛔虫卵殻を普通、位相差、偏光、暗視野装置で鏡検した。組織化学反応によつて卵殻は5層からなり、chitin という卵殻部分は2, 3, 4層に該当し、その他の卵殻成分はリポイド性のもつと蛋白性のもつとに区別しようと述べている。このように線虫類の卵殻の chitin については多くの研究があるにもかかわらず、未だに化学的に不明確な点も存在する。著者は赤外分光光度計を使用し、エビの殻からえた chitin, および白癩菌からえた chitin と蛔虫卵殻からのそれを比較検討したのでここに報告する。

実験方法および成績

材料として豚蛔虫 (*Ascaris lumbricoides* var. *suum*)

を使用した。生鮮な雄、雌蛔虫体そのままのものおよび室温乾燥全虫体、新鮮摘出子宮についてそれぞれ約 50 g に 20 倍容の 10% KOH を加え 100°C 1 時間処理すると虫卵のみを残して虫体は溶解する。この様に処理された虫卵の卵殻の蛋白膜は溶解し、写真 1 のごとく中層、内層は不溶であつた。この虫卵をセロファン膜で 24 時間流水中に透析し、膜内に止つた物質に 2 倍容の濃塩酸を加えると、写真 2 のごとく卵殻の中層は肥厚し、しだいに溶解する。写真 3 のごとく chitin の中層は消滅する。一方中層を充分に溶解せしめた液を、3 号のグラスフィルターで濾過し、その濾液を 20 倍容の 50% アルコール中に投入して攪拌すると、溶解した中層の物質は瞬時に架状の沈澱物となる。この沈澱物をセロファン膜で 24 時間 3°C の低温水で透析し、これを真空凍結乾燥してえた試料の内 3 mg を日本分光株式会社製、赤外分光光度計を用い、KBr 500 mg を使用した。錠剤法で測定した。

別に大正エビ (*Penaeus orientalis*) の外被を湯でよく洗い 1% HCl 溶液で毎日新しいのにとり代え 4 日処理し、十分に水洗した後 2% KOH 溶液に 10 日浸漬する。その間 4 回同液で煮沸した。さらに ethanol でくり返し煮沸した後室温で乾燥して、エビ chitin を精製した。白癬菌 (*Trichophyton mentagrophytes*) の cell wall の chitin の精製は Sabouraud 培地に充分発育した菌苔を 20 倍容の 10% KOH 中で 100°C 1 時間処理し、セロファン膜で 24 時間流水中で透析し膜内物質に 2 倍容の濃塩酸を加え充分溶解した物質をグラスフィルターで濾し、その濾液を 20 倍容の 50% アルコール中に混入、架状の沈澱を蛔虫卵殻の時と同様に処理して、

chitin をえた。以上の 3 種の物質の赤外分光光度計による吸収曲線は第 1 図に示される様にほぼ一致するものと考えられる。したがつて各検体からえたものは何れも chitin であると思われる。

結 論

- 1) 蛔虫体に存在する chitin は卵殻の中層に存在するのみである。
- 2) 蛔虫の chitin, エビの chitin, 白癬菌の chitin は赤外分光吸収曲線によれば同一物質である。

参 考 文 献

- 1) 森下哲夫・小林瑞穂 (1993) : 蛔虫体腔液の抗白癬菌作用について、臨床皮泌, 17(5), 479-484.
- 2) Krakow, N. P. (1892) : Ueber verschidenartige Chitine, Ztschr. Biol., 29, 177-198.
- 3) Chitwood, B. G. (1936) : Observations on the chemical nature of the cuticle of *Ascaris lumbricoides* var. *suum*. Proc. Helm. Soc. Washington, 3(2), 39-49.
- 4) Faure-Fremiet, E. (1912) : La formation de la membrane interne de l'oeuf d'*Ascaris megalcephala*. Compt. Rend. Soc. Biol., 74(20), 1183-1184.
- 5) Chitwood B. G., et all. (1950) : An introduction to nematology, section 1, Printing Co., Baltimore.
- 6) Rogers, R. A. (1956) : A study of eggs of *Ascaris lumbricoides* var. *suum* with the electron microscope. J. Parasit, 42(2), 97-102.
- 7) Schmidt, W. J. (1936) : Doppelbrechung und Feinbau der Eischale von *Ascaris megalcephala*. Ztscher. Zellforsch., 25(2), 181-203.
- 8) 只野 柳 (1961) : 蛔虫卵の卵膜及び原形質膜の新成とその機構に関する研究, 寄生虫学雑誌, 10(5), 563-573.

STUDIES ON CHITIN

I. INVESTIGATIONS ON THE INFRARED SPECTRA OF CHITIN OF HOG ASCARIS EGG

ROKURO SAKATA

(Department of Parasitology, Gifu Prefectural Medical School, Gifu, Japan)

It was proved by infrared spectra that the middle layer of egg shell of *Ascaris lumbricoides* var. *suum* contains chitin and that the chitin is the same as those of the shrimp (*Penaeus orientalis*) and *Trichophyton mentagrophytes*.