

Chitin の 研 究

(2) 蛔虫体腔液中の酵素と白癩菌の Chitin

坂 田 六 郎

岐阜県立医科大学寄生虫学教室

(昭和 38 年 8 月 26 日受領)

はじめに

白癩菌の細胞壁は chitin で構成されていると一般に信じられているが、chitin のみであるという化学的根拠に乏しいので、電子顕微鏡、赤外線吸収スペクトルによつて chitin の存在することを証明した。

1963 年森下らによつて蛔虫体腔液中に抗白癩菌作用のある物質が証明されているので、電子顕微鏡によつてその作用による白癩菌の細胞壁および実質の変化を観察し、如何なる機序によつて体腔液中の酵素が活性を示すか、ひいてはこの酵素の基質の一端を知ろうと試みた。

従来 chitin の存在すると考えられる動物は第 1 報で述べた蛔虫卵殻以外に、土屋(1960)によれば α -chitin は甲かく類の外部骨格とけん、フジツボの柄、タツナミガイの胃歯、ヤリイカのくちと歯舌中に含まれ、 β -chitin はヤリイカのペン、コウイカの甲、頭足類の吸盤、ホウキムシの管、ハネコケムシの角皮、シヤミセンガイの柄、ウロコムシの毛、*Tubularia*、カツオノカンムリ、*Millepora* の cormitium 中に含まれるという。吸虫、条虫の卵殻には赤外分光光度計の吸収曲線によると chitin は認められない。

実験方法と成績

用いた白癩菌 (*Trychophyton mentagrophytes*) は 28°C 下で Saboudraud 液体培地で振盪培養した菌苔である。このものを生鮮体腔液中に 37°C 24 時間処理して試料とした。

蛔虫体腔液としては、生鮮な雌豚蛔虫のものを用い尾部切傷口より滴下させ濾紙で濾過し、24 時間、4°C 低温水中でセロファン膜透析し、これを遠心沈澱してその沈澱に、最初の量の $\frac{1}{2}$ 等容の生理的食塩水を加えて溶解し

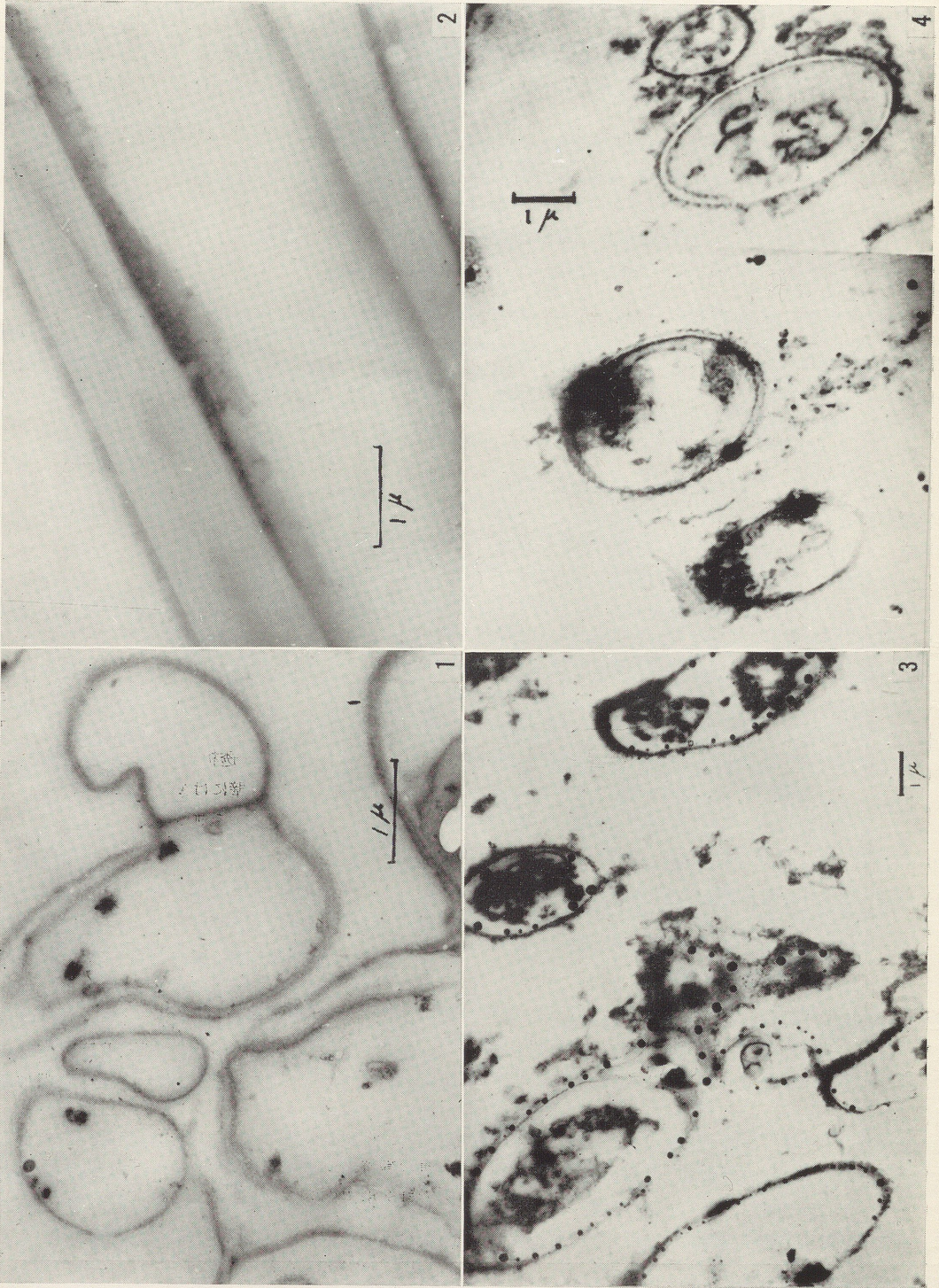
たものを用いた。

電子顕微鏡的観察法としては試料を pH 7.4 磷酸緩衝液で洗い、2% オスミウム酸で 2 時間氷室で固定、3 回よく水洗、次に 70%、80%、90%、95%、100%、100% 各アルコールで 30 分間脱水、次に順次、100% アルコール、n-butylmethacrylate 等量混合液に氷室 1 時間、monomer (n-butyl: methyl=8.5:1.5) で氷室 1 時間、さらに同 monomer を交換した中で氷室 1 時間、さらに交換した monomer 中で、55°C、0 号ゼラチンカプセルにこの試料を入れ、重合包埋し、日本マイクローム 3 型で超薄切片を作製し明石 (TRS-50) 電子顕微鏡を用い倍率 3,000~6,000 倍で観察した。

第 1 に白癩菌糸細胞壁中に chitin の存在することを顕微鏡的に確証した。すなわち充分に発育した菌苔を 20 倍容の 10% KOH 中で 100°C 1 時間処理し、セロファン膜で 24 時間流水中に透析し、電子顕微鏡で観察すると写真 1 のごとく細胞壁には変化は見られない、その膜内物質に 2 倍容の濃塩酸を加えると、写真 2 のごとく細胞壁の中層は肥厚し溶解する、このことは第 1 報で述べた、この充分溶解した物質をガラスフィルターで濾し、その濾液を 20 倍容の 50% アルコールに混入し攪拌すると、溶解した中層の物質は瞬時に絮状の沈澱物となる、この沈澱物をセロファン膜で 24 時間 3°C の低温水中で透析し、これを真空凍結乾燥して得た試料の内 3 mg を日本分光会社製、赤外分光光度計、KBr 500 mg 使用錠剤法で測定し、第 1 報で述べた chitin の吸収曲線を得たことと一致する。

次に菌苔に 37°C 24 時間体腔液を作用させ、電子顕微鏡で観察すると、細胞壁の中層に電子密度の高い顆粒状の疑溶解物の像を写真 3 のごとく得た。この中層の顆粒状物質はやがて消失していくらしく中層の空白化したも

本研究は文部省科学研究費に負う所大である。



のも写真4のごとく認められる。このことから体腔液中の酵素が白癬菌糸の細胞壁の中層に何らかの作用することが考えられる。

まとめ

1. 白癬菌糸の細胞壁の中層に chitin が存在する。
2. 電子顕微鏡によれば蛔虫体腔液は白癬菌の細胞壁の中層に特異的に作用すると考えられる。

参考文献

- 1) 森下哲夫・小林瑞穂(1963)：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) 坂田六郎(1963)：chitin の研究, (1) 蛔虫卵殻の赤外吸収曲線について。寄生虫誌, 12(5), 387-389.
- 3) 土屋靖彦(1960)：水産動物の支持組織。蛋白質核酸酵素, 5(12), 3-12.

STUDIES ON CHITIN

II. ON THE RELATION BETWEEN ASCARIS BODY FLUID ENZYME AND CHITIN

ROKURO SAKATA

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

There exists chitin in the middle layer of *Trychophyton mentagrophytes* mycelia.

By electron microscope, it is suggested that the middle layer of cell wall of *Trychophyton* mycelia is attacked by ascaris body fluid enzyme.

会 記

日本寄生虫学会総会御案内

第33回日本寄生虫学会総会を下記の如き日程で開催致します。

学会の本質上熱心に、活潑に学問の討議をいたすことは勿論であります。学問の上で共同の広場をもつ研究者の懇親の場も作りたいと思います。丁度桜花満開の時期にあたります。春の肥後路を充分おたのしみ頂き度く、何卒会員全員が御家族御同伴で御来熊下さることをお願いして御案内申し上げます。

昭和38年11月

岡 村 一 郎

記

期 日 昭和39年4月4日(土), 5日(日), 6日(月).

会 場 熊本市本荘町 熊本大学医学部内

会 長 熊本大学教授 岡 村 一 郎

尚 総会に就ての詳細は近々会員各位宛御連絡致します。