

豚膵臓抽出液の抗真菌作用について

—豚蛔虫体腔液のそれとの関連性—

森下 哲夫 小林 瑞穂 坂田 六郎 五 藤 基
 古橋貞二郎 平岡 義雄 榊原 弘 山田 稻好
 関谷 竜吉 大久保守正

岐阜県立医科大学寄生虫学教室

(昭和 39 年 5 月 31 日受領)

特別掲載

豚蛔虫体腔液の抗真菌作用については森下ら(1963)によつて屢々報告された所であるが、著者らの 1 人古橋は 1964 年の寄生虫学会総会で蛔虫体腔液が真菌類 (*Trichophyton*, *Aspergillus*, *Penicillium*), 放線菌類 (*Streptomyces*, *Nocardia*) 及び細菌類 (*Mycobacterium*) に対しても lytic に作用することを報告した。同時に著者らの 1 人五藤は体腔液が大腸菌やブドウ状球菌に対しては lytic に作用しないことを報告した。著者らの 1 人平岡は蛔虫体腔液中の各種既知酵素群をしらべ、更に protease, amylase, esterase, cellulase, pectinase は著者らのいう抗真菌作用を示さないことを報告した。教室の塩谷(1964)は chitinase が抗真菌作用を示さないことを究明し、更に森下ら(1963)は hyaluronidase, lysozyme も著者らのいう抗真菌作用を示さないことを報告した。著者らは蛔虫体腔液中に lipase の存在することから抗真菌作用を有する酵素が lipase と関係あるものではないかと想定して次の様な実験を行なつた。

lipase 標本による *Penicillium* sp. (E 株) に対する lytic action

森下ら(1963)の方法に従つて *Penicillium* sp. (E 株) の平板培養 4 日目の菌苔上に pH 7.2 及び 8.5, M/15 phosphate buffer に飽和に溶解した東京化成工業製 lipase (ロット番号 040938) を滴下し, 37°C 下で lysis 作用を観察した所第 1 表に示す様に陽性の反応を得た。即ち蛔虫体腔液の場合と同程度の力価のある lysis 作用を示した。このロット番号の lipase の残りを 4 日後に平板培養 8 日目の菌苔に滴下したが lysis が見られなくなつた。即ち常温で 4 日たつと抗真菌作用を失ふことは蛔虫体腔液の場合と似ている。別に東京化成工業製の

Table 1. Anti-fungal activities of hog pancreas lipase (Tokyo Kasei Co.)

Sample	Incubated time (37°C)				
	30 min.	1 hr.	2 hrs.	3 hrs.	4 hrs.
lipase {pH 7.2	—	±	++	+++	+++
{pH 8.5	±	+	++	+++	+++
<i>Ascaris</i> body fluid	±	+	++	+++	+++

+ shows positive anti-fungal activity

ロット番号の異なつた 3 種の lipase 標本を求め培養 8 日目の菌苔上に滴下したが、この場合の 3 本中 1 本に士程度の lysis が認められたのみであつた。

大阪細菌研究所製 SRT 400 lipase 及び *Sclerotinia* lipase 標本について同様に抗真菌作用をしらべた。M/15 phosphate buffer で前者を pH 8, 後者を pH 7 で飽和にとかし, *Penicillium* sp. (E 株) の平板培養 8 日目の菌苔に滴下し lytic action を検したが何れも陰性であつた。大阪細菌研究所の文献によれば SRT 400 lipase は pancreas lipase の約 3 倍の力価を有し, *Sclerotinia* lipase は lipase の他に高活性な glucanase, pectinase, phospholipase 作用を有するといわれるが、本結果から上述の諸酵素は著者らのいう抗真菌作用と関係のないものであるらしい (第 2 表)。

豚蛔虫体腔液中の lipase, 人血清中の lipase 及び pancreas lipase 間の関係

豚蛔虫体腔液中の lipase, 人血清中の lipase 及び pancreas lipase の lipase 活性と anti-fungal activity とを比較してその関連性についてしらべた。教室の平岡は p-nitrophenyl acetate を基質として豚蛔虫体腔液中の esterase 活性を測定し、この基質を用いた場合には esterase 活

Table 2. Anti-fungal activities of S. R. T. 400 lipase, *Sclerotinia* lipase and *Ascaris* body fluid

	30 min.	1 hr.	incubated time (37°C)			
			1.5 hrs.	2 hrs.	2.5 hrs.	3 hrs.
S. R. T. 400 lipase	—	—	—	—	—	—
<i>Sclerotinia</i> lipase	—	—	—	—	—	—
<i>Ascaris</i> body fluid	—	±	++	+++	+++	+++

+ shows positive anti-fungal activity

性と anti-fungal activity との間には相関関係がないと報告した。勿論 lipase は極めて複雑で基質の特異性も考えられるので色々考えなければならぬ問題が多い。森下らは人血清中に lipase が含まれているにもかかわらず抗真菌作用のないことを報告し、更に人血清が蛔虫体腔液の抗真菌作用に対し inhibitor となることも報告した。そこでこれら3種の lipase 活性を測るのに伊藤の Willstätter (1923) アルカリ滴定法の変法を用い、反応最終液 10 ml について消費した N/100 の NaOH の量の対照値との差を lipase 活性値とした。基質としては 5% tributylin で N/15 phosphate buffer, pH 7.2 のものを用いた。抗真菌作用をしらべるには *Penicillium*

sp. (E 株)の平板培養 8 日目の菌苔を用い 37°C 2 時間後に作用を判定した。この結果は第 3 表に示す様で両者間に全く相関関係がなかった。

豚膵臓抽出液の抗真菌作用について

屠場で解体直後の豚から膵臓をとり出し、直ちに凍結して教室に持ち帰り、凍結状態のまま組織に附着している脂肪や組織内の結締織を取り除き第 4 表に示す様な方法で pancreas extract (A) を得、このものの *Penicillium* (E 株)の培養 8 日目の菌苔に対する作用を見た。第 5 表に見る様に豚蛔虫体腔液と同様な lytic action が見られた。次にこの抽出液 (A) を第 6 表に示す様な方法で透析

Table 3. Relation between lipase activities and anti-fungal activities

Fractions	Lipase activities			Anti-fungal activities
	Sample	Control	Activities	
<i>Ascaris</i> body fluid	1.85	1.45	0.40	+++
" supernatant	0.90	0.62	0.28	—
" sediment	0.75	0.65	0.10	+++
human serum	3.85	0.50	3.35	—
lipase	5.65	1.35	4.30	—

+ shows positive anti-fungal activity incubated after 2 hours

Table 4.
Analysis of anti-fungal fractions in the hog pancreas

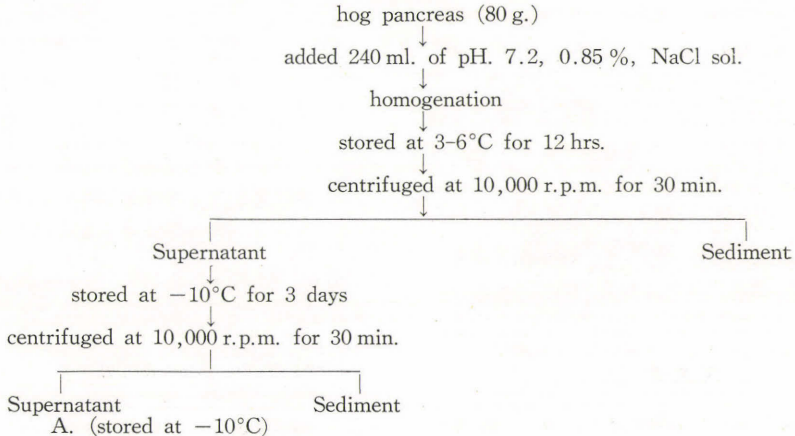


Table 5. Anti-fungal activities of the hog pancreas fraction A and *Ascaris* body fluid

	Species name	Incubated time (37°C)					
		30 min.	1 hr.	1.5 hrs.	2 hrs.	2.5 hrs.	3 hrs.
hog pancreas fraction A	P. sp. (E)	±	+	++	++	+++	+++
	P. sp. (F)	±	+	±	+	++	+++
<i>Ascaris</i> body fluid	P. sp. (E)	±	+	++	+++	+++	+++
	P. sp. (F)	-	±	+	+	++	+++

P.....*Penicillium*
 +.....shows positive anti-fungal activity.

を行ない(B)(C)の2分割を得た。この(B)(C)の抗真菌作用は透析によつて力価の低下はあるが Visking tube の内液の沈澱分割中に有効成分が存在し、蛔虫体腔液の場合と同様な結果を得た(第7表)。一方この作用は60°C 30分加熱することによつて完全に失われる。以上のことから pancreas extract 中の抗真菌作用を有する物質は蛋白様物質であろうと推定される。

結 語

蛔虫体腔液中の抗真菌作用を示す酵素の本態を追求して次のことを知つた。

1) 蛔虫体腔液は真菌類(*Trichophyton*, *Aspergillus*, *Penicillium*), 放線菌類(*Streptomyces*, *Nocardia*)及び

Table 6. Analysis of anti-fungal fractions in the hog pancreas fraction A.

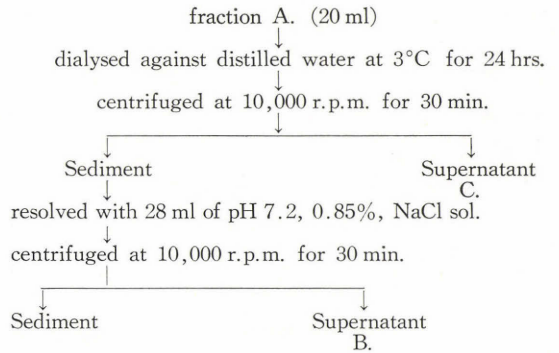


Table 7. Anti-fungal activities of the hog pancreas fractions

Fraction	Incubated time (37°C)					
	30 min.	1 hr.	1.5 hrs.	2 hrs.	2.5 hrs.	3 hrs.
A	+	+++	+++	+++	+++	+++
B	-	±	±	+	+	++
C	-	-	-	-	-	-

+ shows positive anti-fungal activity
 A. B. C. fractions were adjusted to same concentration

細菌類(*Mycobacterium*) に対して lytic action を有する。大腸菌、ブドウ状球菌にはこの作用を示さない。

2) 既知の酵素 protease, amylase, esterase, cellulase, chitinase, pectinase, lipase, phospholipase, glucanase, hyaluronidase, lysozyme は抗真菌作用を示さない。

3) 豚膵臓の生理的食塩水抽出液は豚蛔虫体腔液と同程度の抗真菌作用を示し、この物質は純水に対し透析することによつて活性分割は内液の沈澱に移行し、60°C 30分熱処理によつて活性を失なう。

4) 人血清中には抗真菌作用はなく、豚蛔虫体腔液に人血清を加えると抗真菌作用を失なう。即ち人血清中に inhibitor があるらしい。

引用文献

1) 伊藤・赤堀四郎(1962) : 酵素研究法 II. p. 5, 朝

倉書店, 東京.

2) 塩谷利淳 (1964) : 蛔虫体腔液の抗真菌物質と Chitinase の関係について. 寄生虫誌, 13(1), 76-85.
 3) 古橋貞二郎・五藤基(1964) : 蛔虫体腔液の各種細菌, 真菌に対する作用. 寄生虫誌, 13(4), 総会号, 印刷中.
 4) 平岡義雄(1964) : 蛔虫体腔液の酵素作用について(1), 寄生虫誌, 13(2), 143-148.
 5) 森下哲夫・小林瑞穂(1963) : 新しい抗白癬菌剤としての蛔虫体腔液. 日本医事新報, 2021, 24-26.
 6) 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. 臨床皮膚泌尿器科, 17(5), 479-484.
 7) Morisita, T. & Kobayashi, M. (1963) : *Ascaris* body cavity fluid as a new anti-*Trichophyton* agent. Jap., J. Exp. Med., 33(2), 107-112.

- 8) Morisita, T., Kobayashi, M., Eguti, T. & Sakata, R. (1963) : Anti-*Trichophyton* activity of the *Ascaris* body fluid. Jap. J. Med. Mycol., 4(3), 168-173.
- 9) 森下哲夫・小林瑞穂・平岡義雄・坂田六郎・塩谷利淳(1963) : 蛔虫体腔液の抗白癬菌作用の機転, 寄生虫誌, 12(5), 412-414.
- 10) Von Brand, T. (1962) : Chemical Physiology of Endoparasitic Animals. Academic Press New York.

ANTI-FUNGCAL ACTIVITY OF HOG PANCREAS EXTRACT WITH REFERENCE TO THAT OF ASCARIS BODY FLUID

TETUO MORISITA, MIZUHO KOBAYASHI, ROKURO SAKATA, MOTOSHI GOTO,
TEIJIRO FURUHASHI, YOSHIO HIRAOKA, HIROSHI SAKAKIBARA,
INAYOSHI YAMADA, RYUKICHI SEKIYA & MORIMASA OOKUBO
(Department of Parasitology, Gifu Prefectural Medical School, Gifu)

Enzyme in ascaris body fluid which shows anti-fungal activity was studied and the results obtained are summarized as follows :

(1) Lytic action against Eumycetes (*Trichophyton*, *Aspergillus*, *Penicillium*), Actinomycetes (*Streptomyces*, *Nocardia*) and *Mycobacterium* was proved to occur in *ascaris* body fluid, whereas no such an action was proved in colon bacteria and *Staphylococcus*.

(2) No anti-fungal activity was found in already known enzymes such as protease, amylase, esterase, cellulase, chitinase, lipase, phospholipase, glucanase, hyaluronidase and lysozyme.

(3) A saline extract of swine pancreas as well as *ascaris* body fluid has antifungal activity. When the pancreas extract was dialyzed against distilled water, the active fraction was transferred into the sediment of dialyzed solution, and which was inactivated by heating to 60°C for 30 minutes.

(4) No anti-fungal activity was demonstrated in human serum. It would seem that human serum has an inhibitor of the anti-fungal activity of *Ascaris* body fluid as the activity was inhibited by adding the serum into the body fluid.