

豚蛔虫角皮等の抗菌性物質の研究 (1)

五 藤 基

岐阜大学医学部寄生虫学教室 (森下哲夫教授)

(1966 年 8 月 26 日 受領)

森下ら(1963, 1965)は豚蛔虫体腔液中に溶真菌作用を示す物質があり、このものは lipoprotein lipase であることを証明した。三浦(1955)は豚蛔虫角皮の抽出液中に抗菌作用を示す物質があり、おそらく lysozyme 様のものであろうといい、とりあえずこの物質を cuticulin と命名した。三浦によると角皮を普通ブイオンで処理し容易に抗菌性物質を溶出し、アルコール注加によつて沈澱させ、遠沈により分離し白色の粉末として cuticulin が得られるという。しかも 50 万倍稀釈でブドー球菌の発育を阻止及び殺菌可能であるともいつている。

古橋(1964)は森下らの見出した体腔液中の lipoprotein lipase は細菌には抗酸菌を除いては有効でないという。三浦の cuticulin は球菌 (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Pneumococcus Type 1*) に有効で更に *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycobacterium tuberculosis humanus*, *M. phlei* にも有効であるという。

著者は三浦の報告の様に追試して蛔虫角皮その他から抗菌性物質を抽出し、森下らの lipoprotein lipase との比較検討を試みた。

豚蛔虫角皮および諸臓器の抗菌性

実験材料は屠殺場で採取した運動活潑な豚蛔虫を用いた。まず角皮、筋層、生殖器、及び消化管に分別し、三浦の方法の様に 75%アルコール液に別々に浸した。1 時間後にとり出し滅菌濾紙にはさんで、アルコール分を除去した。この様にして得た各臓器について、ブドー球菌(寺島株)含有のブイオン寒天平板に圧着固定を行い、37°C 下で 24 時間培養し、菌の発育の模様を観察した。この時角皮は内面、筋層は外側面が寒天平板にふれる様に操作した。

菌含有寒天平板の作り方は、寒天 1 部をブイオン 50 部に加温溶解し、120°C で 15 分滅菌した。この培地を 40°C に保ち乍らブドー球菌 24 時間培養液を 1%の割合

に加えて、滅菌シャーレの中に注入して平板とした。

実験成績としては、角皮の場合にはその周囲に幅約 2 mm 位の菌発育のない部分が見られる。しかし生殖器、消化管を密着させたものではこの様な発育阻止の輪が認められなかつた。筋層を密着させた場合には内側面では殆んど認められないが、外側面では僅か乍ら認められた。

以上の様に三浦の記載した様に角皮を密着した場合のみ、著しい抗菌性物質の存在が証明される。

角皮を加熱した場合の抗菌作用への影響

新鮮な角皮細片を 100°C で 30 分、120°C で 30 分及び無処置のもの 3 群にわけた。水蒸気による加熱で 120°C の時は加圧した。この各 5 g に pH 6.0 の普通ブイオン 50 ml を加えて、37°C 下で 30 分放置した後、滅菌ガーゼで濾別した。この様にして得た試料について 100°C で 5 分加熱滅菌を行なつた。滅菌ブイオンで夫々 20 及び 40 倍の濃度になる様に稀釈し 5 ml 宛をとつた。

これらの液中に 24 時間寒天平板で培養したブドー球菌 1 白金耳を接種して、37°C 下で 24 時間培養し、菌発育阻止の状態を観察した。その結果は Table 1 に示される様で無処置の場合は 320 倍稀釈でも菌発育を阻止す

Table 1 Bacteriocidal activity of cuticle slice extracted by bouillon after heating

Dilution degree	Temperature and Time		
	120°C, 30 min.	100°C, 30 min.	No heating
20	—	—	+
40	—	—	+
80	—	—	+
160	—	—	+
320	—	—	+
640	—	—	—

るのに、100°C、30分及び120°C、30分加熱されたものでは何れもその効力を失なつた様である。

諸種溶媒による抗菌性物質の抽出効果

新鮮な角皮の細片0.2g宛に対して、夫々10倍量の生理的食塩水、蒸溜水、アセトン、ブイオン、グリセリン、75%アルコール及びdioxanを加えて、37°C下で1時間抽出を行なつた。その濾液について抗菌力をしらべたのがTable 2である。生理的食塩水及び普通ブイオン

Table 2 Bacteriocidal activities of cuticle extract by various solvents

Solvents	Dilution degree				
	20	40	80	160	320
physiological saline	+	+	+	+	+
distilled water	-	-	-	-	-
acetone	-	-	-	-	-
bouillon	+	+	+	+	+
glycerin	-	-	-	-	-
alcohol (75%)	-	-	-	-	-
dioxan	-	-	-	-	-

ンでは更に稀釈して320倍迄、菌の発育を阻止した。しかし蒸溜水、グリセリン、アセトン、75%アルコール、dioxanで抽出した場合菌発育を阻止する物質は得られなかつた。

ブイオン抽出液中の菌発育阻止物質の熱に対する抵抗力

新鮮角皮細片1.5gをとり、10倍量のpH 6.0普通ブイオンで37°C下30分抽出した。その後滅菌ガーゼで濾過して得た濾液を2ml宛試験管にとり、5分、30分、60分及び120分間100°C(蒸気中)で加熱した。これらのものと無処置のものについて、ブドウ球菌に対する発育阻止力をしらべたのが、Table 3である。その結果は無処置のものと5分加熱のものは160倍稀釈で

Table 3 Heat tolerance of bacteriocidal activity of cuticle extract by bouillon

Dilution degree	Temperature and Time			
	5 min.	30 min.	60 min.	120 min. (100°C)
20	+	+	+	-
40	+	+	+	-
80	+	+	-	-
160	+	-	-	-
320	-	-	-	-

も発育阻止力があつた。30分加熱のものは80倍、60分加熱のものは40倍稀釈まで有効であつたが、120分加熱したものは菌発育阻止能力を失なつた。

pHの抗菌物質抽出に及ぼす影響

角皮細片0.5g宛をとり各種pHの普通ブイオン液5mlを加え、37°C下で1時間抽出を行なつた。その上清について、ブドウ球菌に対する発育阻止力をしらべたのがTable 4である。pH 5.0では80倍稀釈迄発育阻止

Table 4 Bacteriocidal activity of cuticle extract by various pH bouillons

Dilution degree	pH				
	5	6	7	8	9
20	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	-
80	+	+	+	-	-
160	-	+	-	-	-
320	-	+	-	-	-
640	-	-	-	-	-

力があり、pH 6.0では320倍まで阻止力がある。pH 7.0では80倍まで、pH 8.0では40倍まで、pH 9.0では20倍まで菌発育阻止力を示す。

角皮抽出の時間的影響について

角皮細片0.5g宛をとりさきの実験で最もよく抗菌物質抽出を示した、pH 6.0の普通ブイオン5.0mlを加え37°C下で30分、60分、120分、240分及び24時間夫々抽出を行つた。その結果はTable 5の様で抽出時間30

Table 5 Relation between bacteriocidal activity of cuticle extract and its extracted time

Dilution degree	Time				
	30 min.	60 min.	120 min.	240 min.	24 hr.
20	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+
160	+	+	+	+	-
320	-	-	-	-	-

分から240分迄は一樣に、160倍稀釈まで、ブドウ球菌発育阻止力を示した。しかし24時間抽出を行うとかえつて80倍稀釈までしか発育阻止力がない状態になつた。

考 按

三浦が蝸牛角皮中に証明したブドウ球菌発育阻止作用

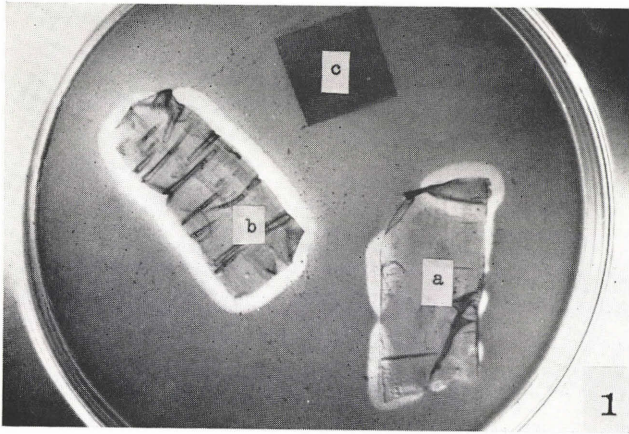


Fig. 1 Bacteriocidal activity of *Ascaris* cuticle placed on a heavy culture of staphylococci, a: cuticle placed upside down, around which the inhibition zone (about 2 mm wide) is observed, but beneath which no inhibition occurs, b: cuticle placed inside down, both around and beneath which inhibition occurs, c: filter paper strip with 75 % ethanol.

Fig. 2 *Ascaris* muscle placed on the culture of staphylococci. No inhibition zone is observed around muscle strip placed inside out (b), but slight inhibition zone is recognized around muscle strip placed upside down (a).

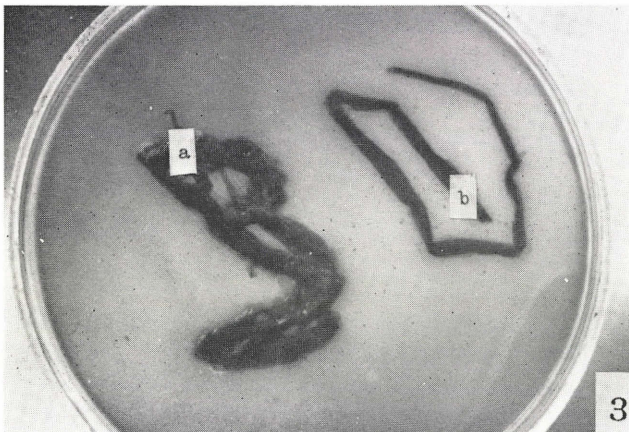
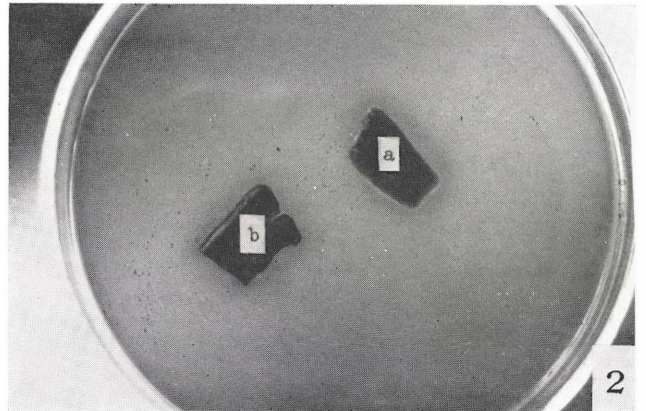


Fig. 3 Female reproductive organ (a) and digestive tract (b) placed on the culture of staphylococci. No inhibition zone is observed.

を有する物質について、著者は三浦の行なつた方法に従つて追試を行い、ほぼ同様にブドー球菌発育阻止作用を有することを確認した。三浦は一応この物質を cuticulin と名付けたが、Fleming が動物体組織及び分泌液中に見出した殺菌性酵素 lysozyme と近似の性状を有するやに思われると述べた。溶連菌やブドー球菌に作用する点では lysozyme に似ている。三浦は抗菌スペクトラムの差として、本 cuticulin がデフテリー菌や結核菌に対し抗菌作用を及ぼす点をのべている。しかし三浦の所謂 cuticulin は三浦も述べている様に単一の物質として純化されたものではない。森下らは蛔虫体腔液中に抗酸菌をとかず lipoprotein lipase を報告している。ブドー球菌の発育阻止力を有する蛔虫角皮中の物質が lysozyme でこの他に別の酵素の混在することも充分考えられる。

著者は次の報告で蛔虫角皮中に lysozyme の存在するかどうかを報告する予定である。

結 語

三浦(1955)が蛔虫角皮中にブドー球菌に対し発育阻止力を有する物質を報告しているので、三浦の方法に従つて追試して大体同様の結果を得た。

Abstract

STUDIES ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN ASCARIS TISSUES

I. ON THE ACTIVITY IN CUTICLE

MOTOI GOTO

(Department of Parasitology, School of Medicine, Gifu University, Gifu)

Antibacterial activity in *Ascaris* cuticle against staphylococci was reported by Miura (1955), giving a name of 'cuticlin' to the substance responsible for the activity because it was different from lysozyme in having a bacteriostatic action against *Mycobacterium tuberculosis* and *Corynebacterium diphtheriae* but not against *Escherichia coli*. On the other hand a lytic action against actinomyces and acid-fast bacteria was found in *Ascaris* perienteric fluid by Morisita *et al.* (1963). Their work revealed that the substance responsible for the action was lipoprotein lipase. In order to investigate systematically these substances relating to antimycotic and antibacterial actions in *Ascaris* tissues re-confirmation of Miura's work (1955) is dealt in the present paper.

- 1) Antibacterial activity was observed in bouillon and saline extracts of *Ascaris* cuticle.
- 2) The activity in the bouillon extract is stable after heating at 100°C for 5 minutes but destroyed by 2-hour heating at the same temperature.
- 3) The highest activity is demonstrated when extraction is performed in bouillon with a pH of 6.0.
- 4) No difference in the activity was observed between two bouillon extracts prepared by 30-minute and 2-hour extractions at 37°C.

1) 豚蛔虫角皮細片から普通ブイオン及び生理的食塩水で抽出される抗菌性物質がある。

2) 普通ブイオンで抽出された本抗菌性物質は 100°C 5分程度では効力に変わりがないが、2時間加熱すると効力を失なう。

3) 抽出ブイオンの pH は 6.0 の時最もよく抗菌物質が抽出可能である。

4) ブイオンで抽出する際抽出時間は 37°C 下で 30分と 2時間で抗菌力に差がない。

引用文献

- 1) Fleming, A. (1922) : On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Roy. Soc. Proc. B., 93, 306.
- 2) 古橋貞二郎 (1964) : 蛔虫体腔液の各種真菌、放線菌及び細菌に対する lytic action について. 寄生虫誌, 13(3), 256.
- 3) 三浦孝次 (1955) : 豚蛔虫角皮の抗菌性物質について. 十全医学会誌, 57(6), 1068.
- 4) 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.
- 5) 森下哲夫, 他 (1965) : 蛔虫体腔液の lipoprotein lipase について. 寄生虫誌, 14(1), 98.