

人蛔虫と豚蛔虫の異同に関する形態学的、 生化学的ならびに免疫学的研究

栗 本 浩

京都府立医科大学医動物学教室 (主任: 吉田幸雄教授)

(昭和49年5月20日 受領)

緒 言

寄生蠕虫の種を分類するためには、成虫のみならず、卵、幼虫などその寄生虫の各 stage における形態、あるいはその感染様式、移行経路などのいわゆる生理・生態的な面における差異を検討して位置づけするのが好ましい。しかし、あらゆる点で類似している寄生虫、すなわち人蛔虫と豚蛔虫に関しては、以上の方法で両蛔虫の差異をほとんど見出し得なかつたために、以下にのべる如くその分類は一定の結論に達していない。森下薫(1953)の著書によれば、Linnaeus がまず人から見出した蛔虫に対して1758年に *Ascaris lumbricoides* と命名したが、Goeze が豚に寄生する蛔虫を、人に寄生する蛔虫と異なるものとして1782年に *Ascaris suum* と命名したとのべている。その後、形態学的、生理学的、生態学的など、あらゆる面から異同に関する多数の研究が、この2寄生虫についてなされた。それにもかかわらず、一定の結論を見出せず、同種説(人由来と、豚由来との蛔虫を総称して *Ascaris lumbricoides* と称する)や、別種説(人由来の蛔虫を *Ascaris lumbricoides* と称し、豚由来の蛔虫を *Ascaris suum* と称する)、あるいは変種、亜種説(豚由来の蛔虫に対しては *Ascaris lumbricoides* var. *suum* と称する)などの諸説が存在し、果して、いずれが正当であるかという問題は未だに結論を得ていない現状である。ちなみに Faust *et al.* (1970)、Yamaguti (1961) らは同種説をとつている。

近年 Sprent (1952) は、光学顕微鏡による両蛔虫の形態学的観察を行なつた結果、両蛔虫の歯牙の形態に差があることを見出し、そして今後とも、各地域の標本について、これらの構造をさらに精査する必要があると報告した。

次いで、Abdulrachman and Joe (1954) は人由来の

蛔虫と、豚由来の蛔虫とについて同様の観察をおこない、それらの歯牙の形・大きさに差があることをみとめ、Sprent の報告を支持した。しかし、彼は両蛔虫ともそれらの形態に variety があることを指摘した。また Little (1968) は歯牙の大きさは虫体の発育と共に大きくなるが、ほぼ同じ大きさの虫体の歯牙を比較すると、豚からの虫体のものが大きいとのべた。しかし個々の虫体の歯牙のみを比較すると重なり合いがあつて区別しにくいとのべた。さらに、最近では走査電子顕微鏡を用いた研究結果が報告される様になつた。Madden *et al.* (1970) は豚蛔虫の歯牙を走査電子顕微鏡で観察した結果、Sprent の称する豚蛔虫の形態的特徴と合致している点を報告した。また、Weise (1973) は、同じく走査電子顕微鏡を用いて豚蛔虫を観察し、Sprent や Madden らの諸知見に加えて、2条の歯牙の配列が部分的に存在することを報告した。

Maung (1973) もまた、両蛔虫の歯牙の走査電子顕微鏡による形態観察の結果から、Sprent の報告を支持するとともに、Abdulrachman and Joe の述べた variety についても同様の結果を得たと報告した。しかし、Lysek (1963) は光学顕微鏡を用いて、王・藤田 (1972) は走査電子顕微鏡を用いて、人および豚蛔虫の頭部ならびに唇縁部歯牙の形態的な差を検討した結果、ほとんど差はみられないと結論した。

一方において近年、生化学および免疫学の進展にともなつて、生物を分類するための一手段として、これらの手法が導入されるようになった。Davis and Lindsay (1967) および Davis (1968) は *Helix pomatia* という1種の貝の haemolymph と foot muscle extract の構成蛋白を DISC 電気泳動法により分画し、その結果、種々の条件によつてその構成蛋白が量的にも質的にも変動しにくい、すなわち安定度の高い試料は foot muscle

extract の方であることを見出し、これを用いて、貝類の分類を試みた。Yoshimura (1968, 69 a, b) および Yoshimura *et al.* (1970) は、*Schistosoma japonicum* と *S. mansoni* の2種の住血吸虫および *Paragonimus kellicotti*, *P. westermani*, *P. ohirai*, *P. iloktsuenensis*, *P. miyazakii*, *P. sadoensis* など数種の肺吸虫について DISC 電気泳動をおこない、体構成蛋白 pattern によって容易にこれらの種を区別することが出来ると報告した。線虫類の分類にはじめて DISC 電気泳動法を用いたのは吉田・栗本 (1969) で *Ancylostoma ceylanicum* と *A. braziliense* の体構成蛋白を泳動し、その泳動像について報告を行なった。

しかしながら人蛔虫と豚蛔虫の異同問題について、DISC 電気泳動法を用いて検討した知見は今までにみあたらない。

免疫学的な研究では、村上 (1936) が人蛔虫および豚蛔虫の虫体煮沸抗原を用いて沈降反応を行ない、それらの間に差を認めた。免疫電気泳動法を用いた研究では、Martinetto *et al.* (1968) が、*Ascaris suum* の全虫体、筋層、腸、体腔液、受精卵、幼虫等の抽出抗原を用いて、また、Williams and Soulsby (1970) が *Ascaris suum* の全虫体、卵、幼虫等の抽出抗原を用いて、実験を行ない、その沈降線の形態、位置、数を観察した。また、Imperato *et al.* (1968)、辻ら (1969) は、人および豚蛔虫の体構成蛋白を用いて免疫電気泳動を行ない、その泳動像から両蛔虫には抗原性に差異があると報告した。さらに、Arambulo (1970) は、両蛔虫の体腔液および卵を用いて、micro-ouchterlony double immunodiffusion を行ない、それらの差を示す沈降線がみられたと報告した。

現在まで、大体以上のような諸研究が人蛔虫と豚蛔虫について行なわれたが、その異同問題について、なお十分な結論に達したとはいいがたい。この問題の解明は、単に生物学的に興味ある問題であるのみならず、豚蛔虫も人に感染する可能性のあることなどから公衆衛生学上においても、極めて重要な問題であろうと考えられる。

著者は、上記した異同に関する各観点からの知見や、多数のこれにともなう研究をもとにして、まず両蛔虫の特に口唇辺縁部歯牙の形態について、走査電子顕微鏡を用いて観察を行ない、つぎに両蛔虫の体腔液 (haemolymph) の構成蛋白を DISC 電気泳動法を用いて分画した。haemolymph を試料にえらんだ理由は、構成蛋白の分離がよく、宿主組織の蛋白および宿主由来の

各種細菌の混入が極めて少ないと考えられたからである。さらに、それらの体腔液を抗原として免疫電気泳動法による免疫学的検索をも併せ行なった。そしてこれらの結果を総合的に解析し、検討を加え、異同問題について考察を加えた。

材料および方法

I. 走査電子顕微鏡による観察実験

形態学的観察は、両蛔虫の頭部、特に口唇辺縁部歯牙の立体的形態について、差異の有無を確認するために走査電子顕微鏡を用いて行なった。

実験に用いた人蛔虫は、人蛔虫寄生者より得たものである。すなわち、この人蛔虫は京都府綾部市志賀郷地区、および相楽郡和東町住民を対象に、糞便検査を行なった際に見出された虫卵陽性者を駆除することによって得たものである。虫卵陽性者には、santonin 100 mg と kainic acid 5 mg の合剤を投与した後、下剤として硫酸マグネシウム約30gを与え、便と共に排出した虫体を採集した。その虫体は、直ちによく水道水で洗滌した後、38°C 生理食塩水中に移し、度々その生理食塩水を新しいものと取り替えながらその虫体が活発に運動してくるのを待つて38°C に保ちつつ実験室に持ち帰った。実験室に持ち帰った虫体は、よく活動するもののみをさらに4~5時間、38°C 生理食塩水中に飼養したのち実験に供した。

また、豚蛔虫は、京都市内の屠場に集められ、屠殺された豚の小腸内より得たものである。屠場で採集した豚蛔虫は直ちに生理食塩水で洗い、38°C に保つて持ち帰った。その虫体は、人蛔虫と同様に、よく水洗し、38°C 生理食塩水中で4~5時間飼養し、活発に運動する虫体のみを実験に用いた。

両蛔虫の頭部は、先端から2~3mmのところを横に切断し、直ちに2.5% glutaraldehyde 液に投入し、1時間30分固定し、ついで蒸留水でよく洗滌して固定液を除いた後、更に1% osmic acid 液に投入し1時間固定した。すなわち2重固定を行なった。固定された材料は30% acetone 液で数回洗滌し、脱 osmic acid を行なった。ついで、材料を30分毎に50, 70, 80, 90, 95および99.5% acetone 液中に順次投入し、最後に100%の acetone 液中に、30分づつ3回浸漬し、十分に脱水した後空気中にとりだし風乾した。この材料は走査電子顕微鏡用銅ブロックに銀ペーストで貼りつけ、ついで型の如く真空蒸着装置の中で炭素と金とによる2重蒸着をほどこ

し、資料を作製し観察に供した。観察に用いた走査電子顕微鏡は日本電子 KK 製 JSM-S1 型であつて、加速電圧は10 KV、倍率は30~3000倍の間で観察を行なつた。撮影フィルムは、ASA 100ネオパンフィルムを用いた。

II. DISC 電気泳動法による実験

人蛔虫および豚蛔虫の体腔液の構成蛋白について、DISC 電気泳動を行ない、それらの泳動 pattern の差異を観察した。実験に用いた蛔虫体腔液は、生きて活動している両蛔虫の中から、体長25~30 cmの♀成虫を選別し、その虫体から採取した。体腔液の採取は、虫体を1万倍マーズニンによつて数回洗滌して消毒し、よく拭き、表面をほぼ乾燥させてから、尾端肛門よりやや上部で、背面を上部に向つて数 cm 切開し、したたり落ちてくる体腔液を滅菌した遠心沈澱用試験管に個別別を受けて採取した。個別別に採取した体腔液は3000 r.p.m. 約30分間遠心沈澱し、その上清を次の様に区別して実験に用いた。

1) 10 隻分の上清を混合して、そのまま使用するもの。(人蛔虫は Alh-F、豚蛔虫は Ash-F と略す)。

2) 10 隻分の上清を混合凍結乾燥して保存し、使用に際しては適宜溶解して使用するもの。(人蛔虫は Alh-D、豚蛔虫は Ash-D と略す)。

の2つの異なつた試料について実験を行なつた。

泳動は永井(1966)の方法に従い、polyacrylamide gel を用いて行なつた。泳動の進行を示す指示薬として、上槽の緩衝液100 ml あたり0.5 ml の0.001% BPB 水溶液を加えた。泳動槽の緩衝液は pH 8.3 の tris-glycine buffer を用い、泳動 gel は1本のカラムあたり3 mA の電流を流し泳動した。泳動に際しては毎回正常人血清を control として用いて泳動条件を check した。生鮮体腔液による実験においては、体腔液を蒸留水で20倍に稀釈し、その0.15 ml を試料とした。凍結乾燥末による実験においては、乾燥重量2.0 mg を蒸留水0.02 ml に溶解したものを更に試料 gel 1 ml に溶解し、その0.15 ml を試料とした。泳動の終つた gel は amidoblack 10 B で1時間染色し、その後染色した gel は7% acetic acid 溶液中で色素の自由拡散による自然脱色を行なつた。完成した gel は写真撮影するとともに、自動式 densitometer によつて染色した分離蛋白の吸光度を連続 pattern として記録するとともに、その積分値も併せ記録した。densitometer による測定の方法は、スリット幅を縦4 mm、横0.1 mm とし、感応波長を505 m μ とした。また、陽極側の BPB band から陰極側の残余

蛋白の band を除く部位を全長として、陽極側 BPB band を起点とする各蛋白の band の peak 位置を測定し、その位置を百分率で示した。

III. 免疫電気泳動法による実験

実験は、辻ら(1969)の方法に準じて行なつた。

すなわち、0.9% agarose 85°C solution 9.5 ml をとり、gel 化の始まらないうちに9×9 cm ガラス板の隅々まで agarose solution が被うように拡げた。それから完全に gel 化しかたまつてから、中央に縦1 mm、横60 mm の抗血清を入れる溝をきり、更に、この抗血清の上下に縦5 mm、横1 mm の抗原孔を、抗血清溝との間隔が4 mm になるように作成した。そして前記人および豚蛔虫体腔液の凍結乾燥末1 mg を蒸留水0.016 ml に溶解した抗原溶液をそれぞれ上下の抗原孔に入れ、pH 8.2 barbital sodium buffer を用いて、電位差18ボルト、3時間通電泳動した。泳動後、3倍に濃縮した抗血清0.15 ml を抗血清溝に入れ室温で12時間拡散させてから、更に4°C 48時間反応させた。反応の終つた寒天板は、反応しなかつた残余物質を溶出させるために48時間、buffer 加生理食塩水中に浸した。そしてよく乾燥させてから、amidoblack 10 B で10分間染色し、3% acetic acid 液で脱色、風乾後に観察した。なお、上記抗血清は、豚蛔虫凍結乾燥末(Ash-D)を抗原として、家兔を免疫して得た抗豚蛔虫凍結乾燥末家兔血清(Ash-Rs)である。

この抗血清の作成法は、豚蛔虫体腔液の凍結乾燥末(Ash-D)2 mg を0.15 ml の蒸留水に溶解し、更に0.15 ml の Freund's complete adjuvant を混じ懸濁させ、家兔の大円筋内に毎週1回、計10回注射し、最終注射日から3週目以降に心臓から採血し、血清を分離して作成した。

また、兩種抗原の差を見出すために吸収試験を行なつた。すなわち、抗豚蛔虫体腔液凍結乾燥末家兔血清(Ash-Rs)0.5 ml に人蛔虫体腔液凍結乾燥末(Alh-D)10 mg を入れ室温で3時間反応させた後、更に4°C 中12時間反応させてから、3000 r.p.m. 10分間遠心沈澱し、その上清を3倍に濃縮した。そこで前記と同じ方法で、両蛔虫体腔液凍結乾燥末抗原(Alh-D および Ash-D)を泳動した後、抗血清溝には、上記の濃縮血清を入れて反応させ、吸収後の反応像を観察した。さらに、実験の結果得られた特異沈降線が宿主由来のものでないことを実証するため豚血清凍結乾燥末1 mg を蒸留水0.016 ml に溶解し抗原として泳動した後、抗血清溝には前記濃縮血清

(Ash-Rs) 0.15 ml を入れ反応させた。

実験結果

I. 走査電子顕微鏡像について

人蛔虫と豚蛔虫の頭部形態、特に口唇歯牙の形態について、走査電子顕微鏡像による比較観察を行なった。頭部および口唇辺縁部を観察するにあたって、その名称と位置を明確にするために、1個の口唇の模式図を画き Fig. 1 に示した。また、人蛔虫の走査電子顕微鏡像は、Fig. 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18 に、豚蛔虫像は、Fig. 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 に示した。まず Fig. 1 において、A は口唇辺縁、B は口腔、C は口唇外面、D は口唇内面、E は食道起始部を示している。

両蛔虫共に頭部の形態は、従来知られている如く、口は前方に向つて開き、口腔は3個の口唇によつてかこまれ、食道に連なっている (Fig. 2, E)。3個の口唇のうち、背側中央にある1個の口唇を dorsal lip といい (Fig. 2, DL)、亜腹側にある2個の口唇を subvental lip という (Fig. 2, SVL)。dorsal lip の口唇の外側には、左右に1個づつ計2個の大きな乳頭 (dorsal papilla) が、もりあがつた丘の様にとめられる (Fig. 2, 3, P)。また、subvental lip の外側腹方寄りには、各1個の乳頭 (ventral papilla) がみられる (Fig. 3, P')。これらは円丘状基座とも称される (森下, 1953)。これらの乳頭にはさらに小さい2個の重複乳頭が存在する (Fig. 4, 5, PP)。Bird (1971) によればこれらは cephalic papilla および outer labial papilla と称し、inagination がみられるという。

口唇内面および口腔と口唇外面とが接する線を口唇辺縁とする (Fig. 1, A) と、この辺縁には、連続した一見鋸歯状の構造がみられる (Fig. 1, T; Fig. 6, T)。これがいわゆる歯列である。

また、各口唇外面前端の左右に2個づつ計6個の浅い穴がみられ、その小孔から口唇辺縁に向つて走る浅い溝がみられた (Fig. 1, F; Fig. 7, F)。

さらにこれら2条の溝の他に、もう1本の溝がみられた (Fig. 1, G; Fig. 6, G; Fig. 8, G)。この溝は先の2条の溝と溝の中間に位置する。この溝は前2条の溝と違つて1端に小孔はなく、より長い溝であつた。これらの溝は合計9条あることが観察された。

次に、口唇の辺縁にみられる連続した鋸歯状の歯牙は、口唇内側から見た場合には全体として馬蹄形に配列している (Fig. 1, 6, 8)。

口唇辺縁の鋸歯状構造をさらに精査するため300~600倍に拡大してみると、口腔の口唇辺縁にある個々の歯牙は、口腔面に平行にはえているようである (Fig. 7, 8, 9)。それらの形態は、門歯状のものや、犬歯状、臼歯状など種々の形態のものがみられた。換言すれば、円錐状のもの、あるいは円柱状、半球状、逆植木鉢状のもの等、種々な形態が観察された (Fig. 10~18)。これらが部位によつて規則的、あるいは不規則に配列しているのが観察された。これら歯牙の構造は、口唇辺縁の形態から、周囲の組織、すなわち、cuticle の一部が鋸歯状に変化したもののように観察された。歯列は、口唇辺縁上部では、かなり規則的な1列の歯列としてみられるが、口唇の辺縁下部の一部では第1列の歯牙に比較してづつと小さい歯牙からなる第2の歯列がみられた (Fig. 11, 15, T')。

次に歯牙の個々の大きさについてみると、この標本からは、大きいもので縦が約3 μ 、横が約2.5 μ 、小さいものでは、縦横共に約1.5 μ のものがみられた (Fig. 13~18)。これらの歯牙の大きさは、一般的に人蛔虫のものは豚蛔虫のそれと比較してやや小型であるように観察されたが、両蛔虫共にそれらの歯牙は大小種々のものが混在しているために明らかな差をみとめることは出来なかつた。

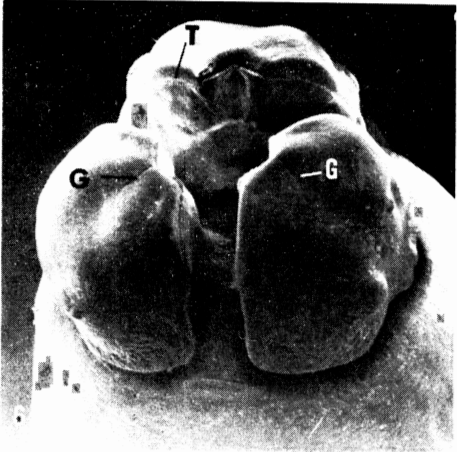
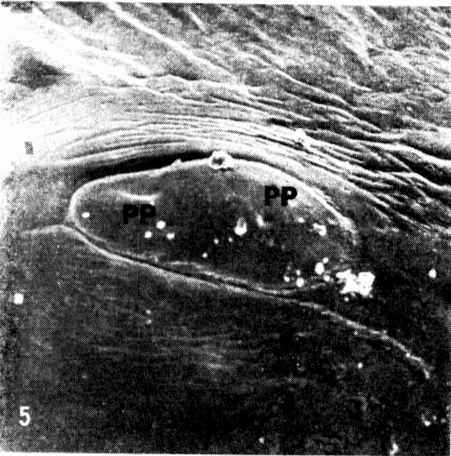
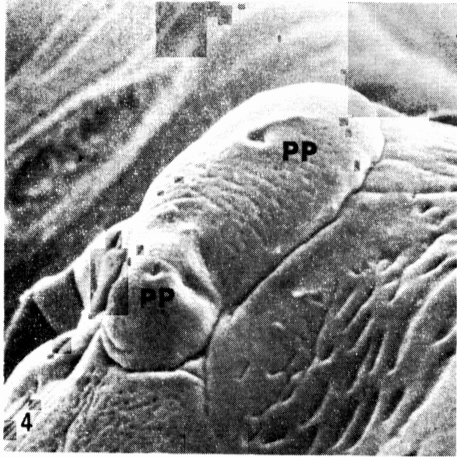
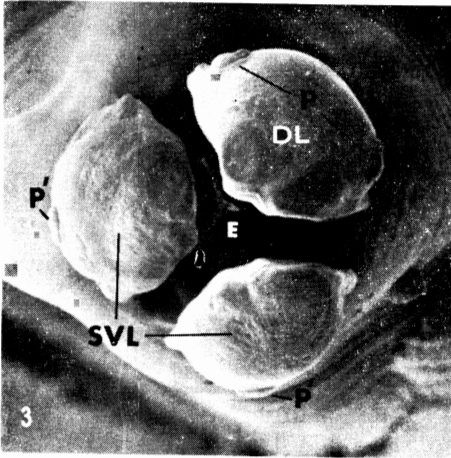
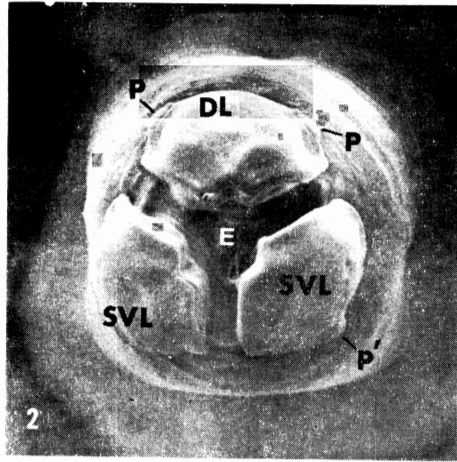
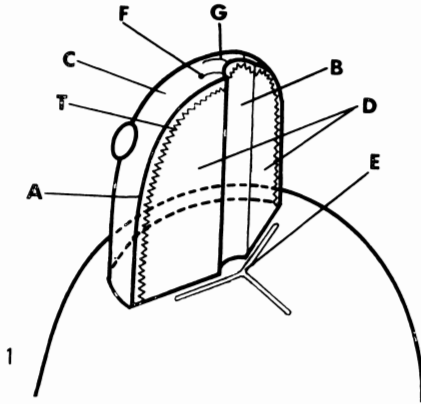
以上の如く、人蛔虫と豚蛔虫の区別点として従来論議のあつた口唇および歯牙の形態について走査電子顕微鏡を用いてくわしく観察を行なった結果、両種を確実に区別しようとする所見は得られなかつた。

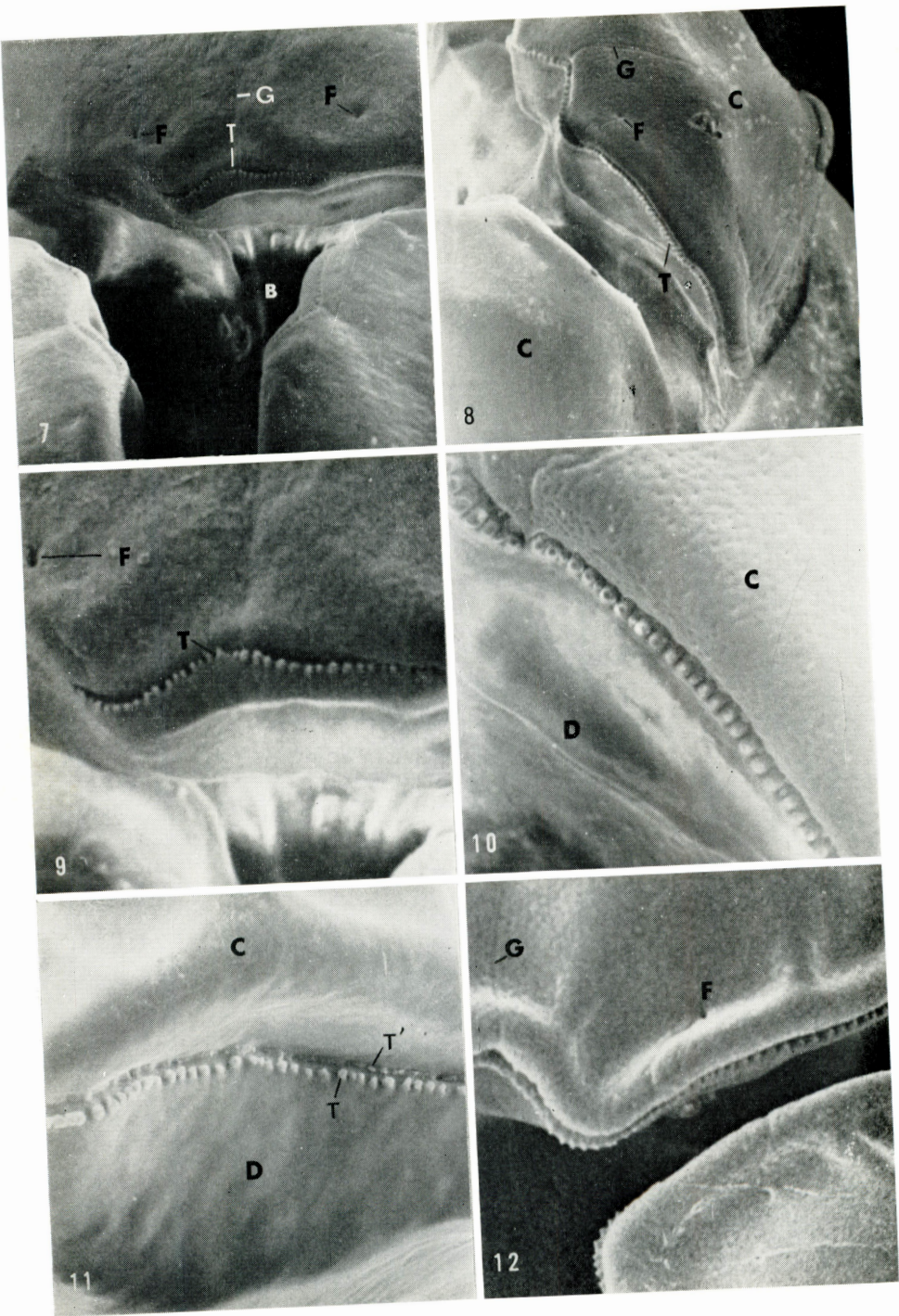
II. DISC 電気泳動像について

人蛔虫および豚蛔虫について、既にのべた材料の sample 1 (混合生鮮体腔液) および sample 2 (体腔液の混合凍結乾燥末) を用い DISC 電気泳動法によつて実験を行なった。各泳動像は、相対易動度により各蛋白に分画された band について、陽極側から A, B, C, D の4群に大きく分け、さらにこれらの群に属する各蛋白分画 band に算用数字を付して解析した。なお、Fig. 19, 20, 21, 22 の上段には、densitometer による吸光度の連続泳動像を、中段には、染色 gel の模式図を、下段には染色 gel の写真撮影像を示した。

1. 混合生鮮体腔液の泳動像

まず、人蛔虫 (Alh-F) の泳動像は Fig. 19 の中および下段に示すように、11本の主要な band に分画された。この band の濃度および位置をさらに明確にするため、この gel を densitometer にかへ、吸光度曲線として





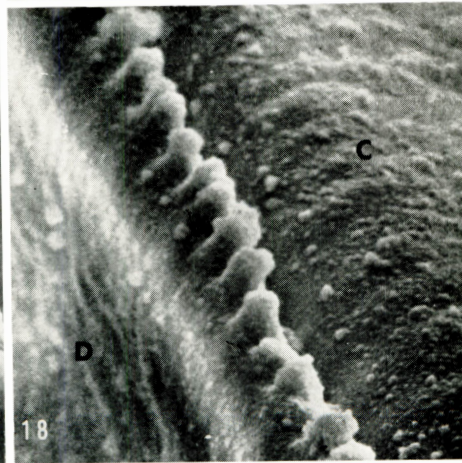
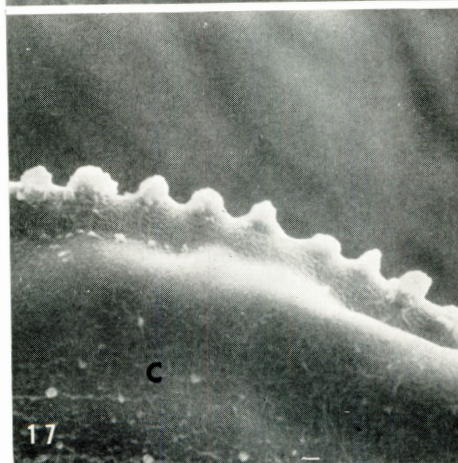
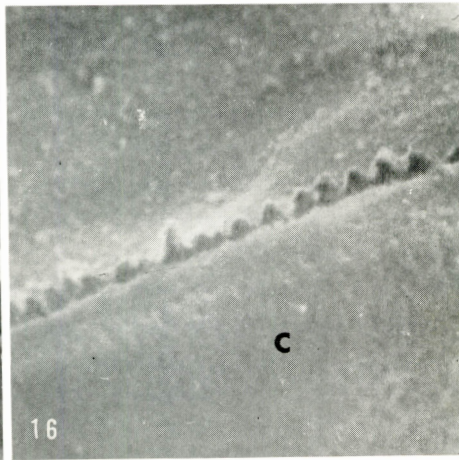
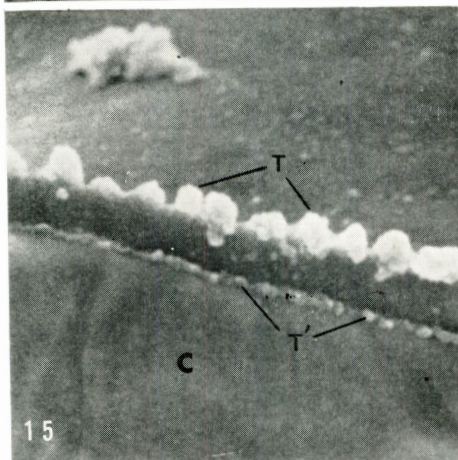
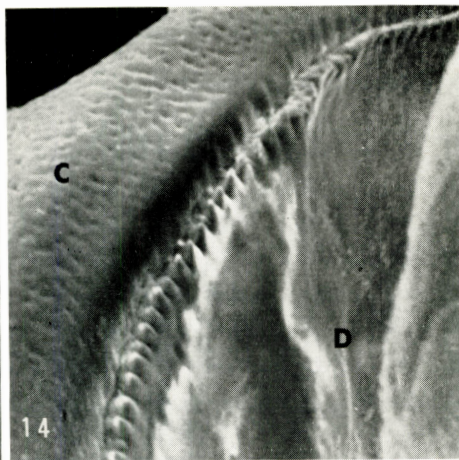
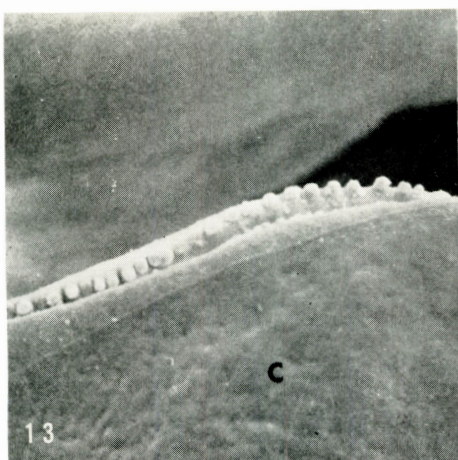


Fig. 1-18 Scanning electron micrographs of the cephalic end of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum*.

Fig. 1 Diagramatic drawing of the dorsal lip of *Ascaris*.

Fig. 2 *En face* view of *A. suum* (100×).

Fig. 3 *En face* view of *A. lumbricoides* (100×).

Fig. 4 Dorsal papilla of *A. suum* providing with cephalic papilla and outer labial papilla (450×).

Fig. 5 Dorsal papilla of *A. lumbricoides* (450×).

Fig. 6 Slanting view of lips of *A. suum* (150×).

Fig. 7 Small orifice, groove, denticles and buccal cavity of *A. lumbricoides* (300×).

Fig. 8 Small orifice, groove, denticles of *A. suum* (450×).

Fig. 9 Small orifice and denticles of *A. lumbricoides* (600×).

Fig. 10 Denticles of *A. suum* (1900×).

Fig. 11 Denticles and accessory denticles of *A. lumbricoides* (1600×).

Fig. 12 Small orifice, groove and denticles of *A. suum* (700×).

Fig. 13 Denticles of *A. lumbricoides* (1800×).

Fig. 14 Denticles of *A. suum* (1800×).

Fig. 15 Denticles and accessory denticles of *A. lumbricoides* (3000×).

Fig. 16 Denticles of *A. suum* (2500×).

Fig. 17 Denticles of *A. lumbricoides* (3000×).

Fig. 18 Denticles of *A. lumbricoides* (3000×).

Abbreviation: A Margin of lip, B Buccal cavity, C Outer surface of lip, D Inner surface of lip, DL Dorsal lip, E Entrance of esophagus, F Small orifice, G Fine groove, P Papilla on dorsal lip, P' Papilla on subventral lip, PP Cephalic papilla and outer labial papilla, SVL subventral lip, T Labial denticles, T' Accessory denticles.

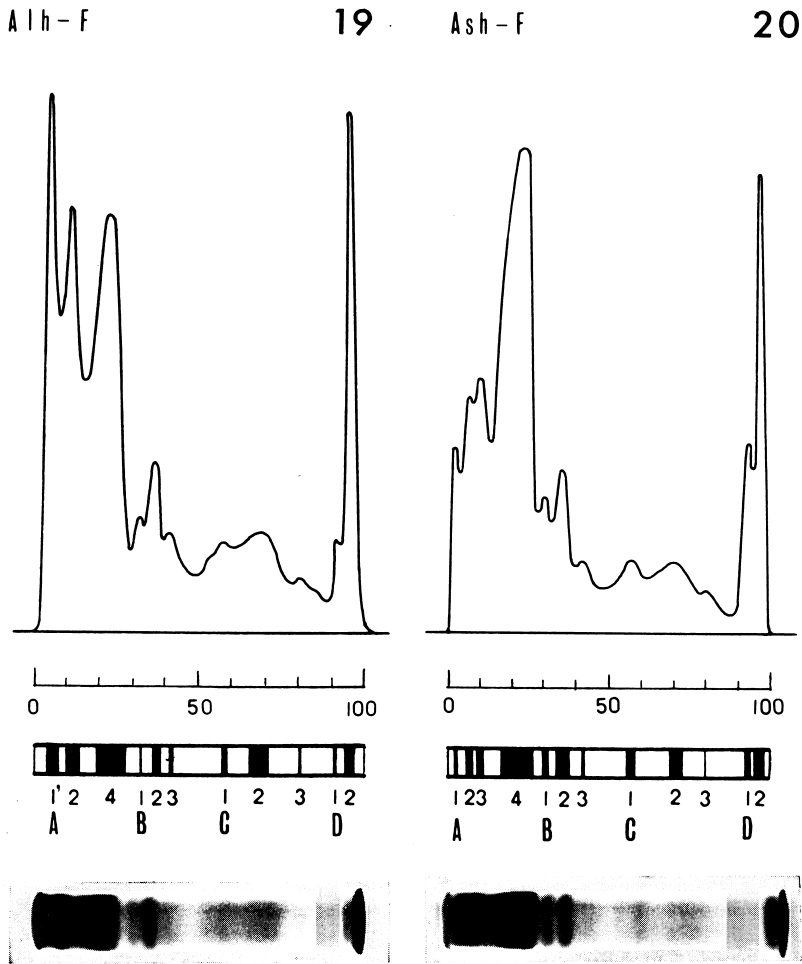


Fig. 19-20 DISC electrophoretic patterns of fresh haemolymph of *Ascaris lumbricoides* (Fig. 19) and *Ascaris suum* (Fig. 20). The densitometric tracing in the upper part, diagrammatic drawing in the middle part and photograph of DISC-gel in the bottom, are shown respectively.

連続的に示した (Fig. 19 上段).

A群には、A-1'、A-2、A-4の3つのbandが属し、4群中最大の積分値を示した。

A-1'は中でもするどい峰と最高の吸光度を示した。B、C群のbandはA群に比して低い吸光度を示し、特にC-3のbandは11本のband中最も低い吸光度であった。D群では、D-1のbandの吸光度は低く、D-2のbandはするどい峰を形成し、かつ高い吸光度を示した。

次に豚蛔虫 (Ash-F) の泳動像は、Fig. 20の中および下段に示すように12本のbandに分画された。

これらのbandは人蛔虫の場合と同様A、B、C、Dの4群に分けられるが、A群に属するbandが4本あ

り、しかもA-4のbandが12本のband中最高の吸光度を示すことがわかった。A群のbandの吸光度は、A-4、A-3、A-2、A-1の順序で低くなっている。このA群のpatternが人蛔虫のそれと大きく異なる点である。その他のbandは人蛔虫とほぼおなじく、B、C群のものではA群に比較して低い吸光度を示し、C-3 bandは12本のband中最も低い吸光度であった。さらに、D群では、D-2のbandが人蛔虫と同じくするどい峰を形成し、かつ高い吸光度を示したが、D-1のbandは人蛔虫と同じ易動度をもつ蛋白分画bandよりも分離がよく、やや高い吸光度を示した。

2. 体腔液凍結乾燥末の泳動像

人蛔虫体腔液凍結乾燥末 (Alh-D) の泳動像は、Fig. 21

Alh-D

21

Ash-D

22

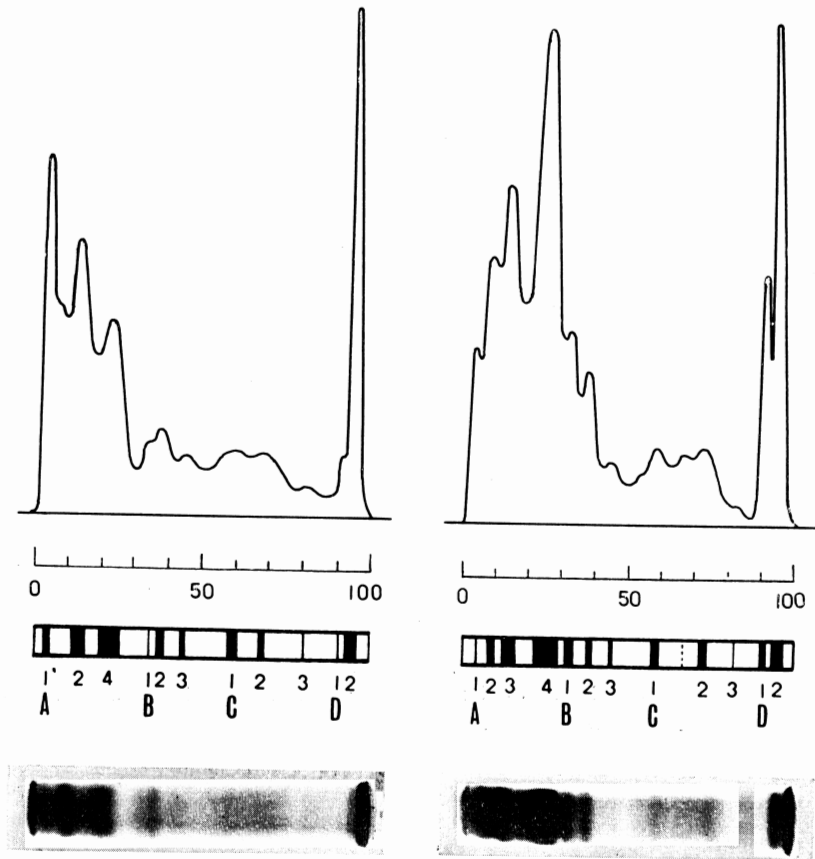


Fig. 21-22 DISC electrophoretic patterns of dried haemolymph of *Ascaris lumbricoides* (Fig. 21) and *Ascaris suum* (Fig. 22). The densitometric tracing in the upper part, diagrammatic drawing in the middle part and photograph of DISC-gel in the bottom, are shown respectively.

の中、下段に示した。その泳動像は、やはり A, B, C, D の4群にわけられ、計11本の主要な band が観察された。そしてその pattern は前述の人蛔虫生鮮体腔液の泳動像 (Fig. 19) に極めて類似していた。この gel の densitometer による吸光度曲線 (Fig. 21 上段) における4群を細かく観察してみると A-1' の band が最も高く、A-2, A-4 がこれにつぐ高い吸光度を示した。B群はA群より低い吸光度であつたが、明瞭な band としてみられた。C群はB群の band と同様、低い吸光度であつた。一方、D-2 は D-1 band よりはるかに高い吸光度を示した。

要するに人蛔虫体腔液の構成蛋白 pattern は生鮮体

腔液を用いた場合と凍結乾燥末を用いた場合と吸光度においてやや濃度の差はあるが本質的に同じであるといふことができる。

一方、豚蛔虫の体腔液凍結乾燥末 (Ash-D) の泳動像は、Fig. 22 の中、下段に示した。これを前述の豚蛔虫生鮮体腔液を用いた場合の泳動像 Fig. 20 の中、下段と比較してみると本質的に同一で、まず全体として12本の band がみられ、gel の吸光度曲線によつて、それぞれの band は4群に分けられた。この場合も Fig. 22 の上段にみられるように、A群では4本の蛋白分画 band がみられ、A-4 の band の吸光度は高く、A-3, A-2, A-1 の順に陽極側に向つて吸光度が低くなる傾向がみら

Table 1 Relative position and integrated value of DISC electrophoretic bands of haemolymph protein separated from female adults of *Ascaris lumbricoides* and *A. suum*.

Band No.	<i>Ascaris lumbricoides</i>				<i>Ascaris suum</i>			
	FH		DH		FH		DH	
	RP	IV	RP	IV	RP	IV	RP	IV
1	—	—	—	—	2.0	33.5	3.8	21.7
1'	5.9	150.0	9.7	200.0	—	—	—	—
A 2	12.5	128.7	12.3	185.7	14.2	82.8	11.0	62.1
3	—	—	—	—	15.8	158.2	16.7	104.4
4	20.7	271.3	23.0	158.0	23.8	269.0	27.8	209.5
B 1	34.0	37.3	33.3	28.0	31.4	41.3	35.3	40.7
2	38.1	46.7	37.8	41.7	37.9	58.0	40.3	33.1
3	44.3	56.3	46.6	56.3	45.3	56.0	48.0	43.7
C 1	58.8	76.7	60.0	66.3	57.4	49.5	60.1	63.1
2	73.0	140.3	70.0	88.7	70.9	53.0	72.2	61.7
3	82.7	29.0	84.0	30.7	82.4	35.5	82.3	23.2
D 1	93.5	20.3	94.0	17.5	95.4	86.8	93.5	41.3
2	97.5	68.0	98.2	69.3	98.8	70.3	96.2	36.5

FH: Fresh haemolymph RP: Relative position
DH: Dried haemolymph IV: Integrated value

れた。B群, C群の band は, 生鮮体腔液を用いた場合と同様にA群より低い吸光度を示すことがみとめられた。D群の band は, D-2 がするどい峰をもつ band で, その吸光度は常に D-1 band より高かった。

これら4種のデータの易動度および積分値は Table 1 に示した。なおこの実験は材料をかえて何回も行なつたが再現性を示した。

III. 免疫電気泳動像について

豚蛔虫体腔液凍結乾燥末(Ash-D)を抗原として作製した抗豚蛔虫凍結乾燥末家兎血清(Ash-Rs)と人蛔虫ならびに豚蛔虫の体腔液凍結乾燥末との間における免疫電気泳動像の比較を行なつた。Fig. 23 および Fig. 24 は抗血清溝の上側の抗原孔に人蛔虫体腔液凍結乾燥末抗原(Alh-D)を、下側の抗原孔に豚蛔虫体腔液凍結乾燥末抗原(Ash-D)をおき、既述の方法でまず泳動し、ついで抗血清溝に抗豚蛔虫凍結乾燥末家兎血清(Ash-Rs)を入れ反応させたとき出現した沈降線像である。

像の右方が陽極側で左方が陰極側である。

両蛔虫の沈降線を対比して解析すると、相同する沈降線、相同しない沈降線を総合すると合計23本がみとめられた。人蛔虫側では、総沈降線23本のうち19本の沈降線のあることがわかった。一方豚蛔虫側では、23本のうち21本の沈降線があることが確認できた。

Fig. 23 は、泳動像を投影写真撮影したもので、Fig. 24 は、それぞれの沈降線を追跡トレースしたものであ

る。沈降線の算用数字は、陰極側よりそれぞれの沈降線に順次付したもので、人蛔虫では、豚蛔虫に存在する No. 8, No. 11, No. 21, No. 22 の4本の沈降線を欠いていた。豚蛔虫では、人蛔虫にみられる沈降線のうち No. 20, No. 23 の沈降線を確認することが出来なかつた。

次にさらに両蛔虫の差を明確にするため抗豚蛔虫家兎血清(Ash-Rs)を人蛔虫抗原(Alh-D)で吸収してから、前回同様の操作で両蛔虫体腔液凍結乾燥末抗原を泳動して後に、その吸収血清と反応させた。その結果は Fig. 25 に示すように豚蛔虫側に1本の沈降線がのこることがみとめられ、人蛔虫側にはみとめられなかつた。

すなわち、抗豚蛔虫家兎血清(Ash-Rs)は、人蛔虫抗原(Alh-D)によって完全に共通抗原が吸収され、豚蛔虫抗原(Ash-D)との間に出来る No. 8 の特異沈降線のみが残されることが認められた。Fig. 25 の点線は吸収された沈降線を示している。

次に、豚血清を抗原とし、Ash-Rs との間で行なつた免疫電気泳動では沈降線を認めることは出来なかつた。

考 察

寄生虫の種を決定するためには、従来、主として形態的な差をもつて鑑別してきた。ところが、人蛔虫と豚蛔虫に関しては、形態的に非常に類似しているために一定の結論をみず、生理、生態、生化、免疫学的な面からも

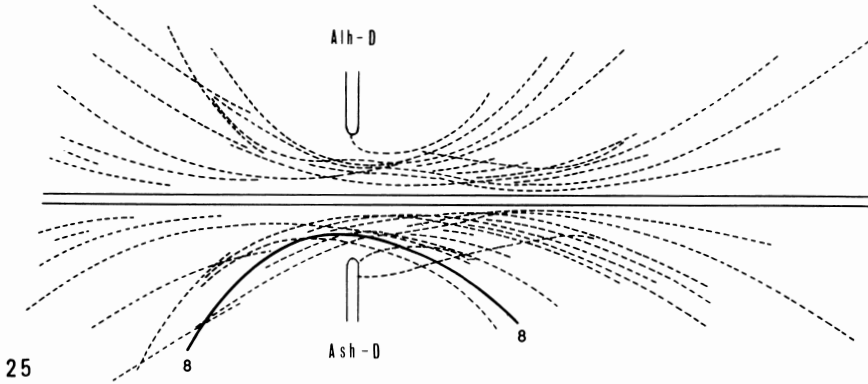
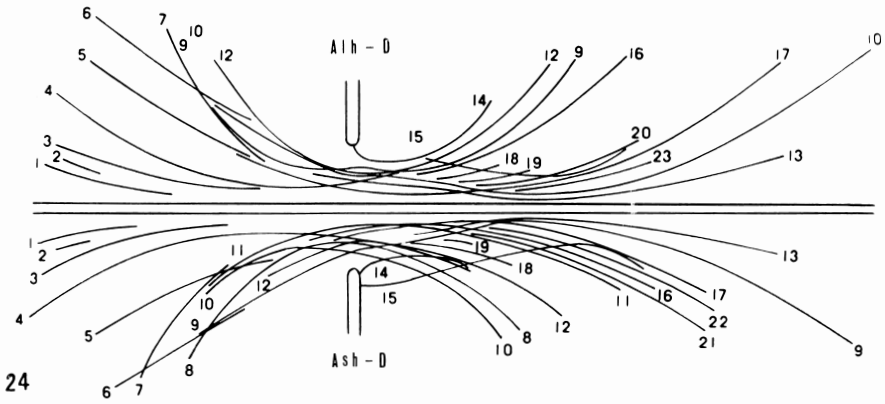
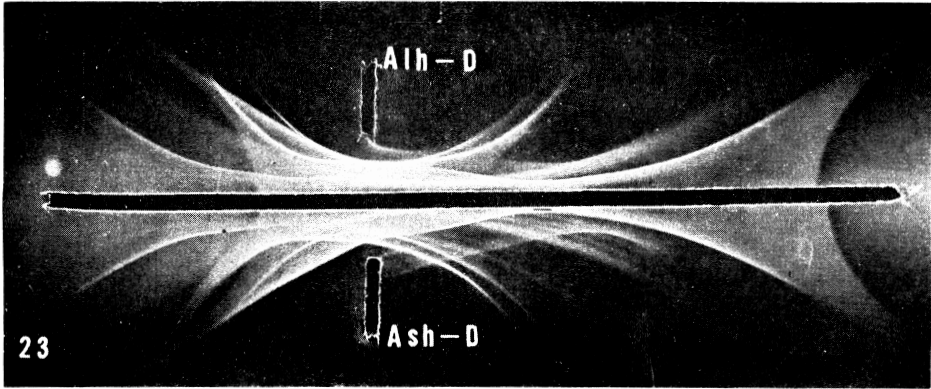


Fig. 23 Immunoelectrophoretic precipitin patterns of *Ascaris lumbricoides* haemolymph (Alh-D) and *A. suum* haemolymph (Ash-D) revealed by anti-Ash-D rabbit serum.
 Fig. 24 Diagrammatic drawing of Fig. 23.
 Fig. 25 Disappeared precipitin bands (No. 1-7, 9-23) and remained band (No. 8) of Alh-D and Ash-D revealed by anti-Ash-D rabbit serum which was previously absorbed with Alh-D.

異同に関する研究が行われてきた。その結果、豚蛔虫が *Ascaris suum* と命名された時点から今日まで、別種、同種、変種、亜種などの諸説が続出した。そこで著者は、この異同問題に関して、形態学的には最近開発された走査電子顕微鏡を用いて観察すると共に生化学的ならびに免疫学的な面からも実験を行なった。

両蛔虫の間には、形態的に顕著な差異はないというのが定説であった。しかし近年、Sprent(1952)は、人蛔虫の歯牙は、小さく、三角形をなし、歯牙の辺縁はくぼんでおり、時には磨耗した状態で、歯牙が存在していたらしいと思われる痕跡程度のももある。一方豚蛔虫の歯牙は明確な二等辺三角形をなし、その辺縁は直線をなしている。時には、頂点が磨耗し鈍になっているものもあるが、人蛔虫と比較すると大きく、その差異は著明であると報告した。つづいて、Abdulrachman and Joe(1954)、Little(1968)、Madden *et al.* (1970)、Weise(1973)、Maung(1973)なども、若干の異論を除いてSprent(1952)の説を支持した。これに対してLysek(1963)、王・藤田(1972)などは、両蛔虫間に差異を認め難いと報告した。

著者の行なった走査電子顕微鏡像による観察では、両蛔虫の歯牙は、共に、円錐型、半球型、円柱型、逆植木鉢型のもが種々混在していた。また、大きさにおいても大小不同であつて、分類学上の特徴にしては、あまりにも変異がありすぎることが認められた。

Little(1968)は、蛔虫の発育に比例して歯牙も大きさを増大すると報告している。しかし著者が実験に供した蛔虫は、ほぼ同じ大きさの成虫に限定しているので、著者の実験でみられた歯牙の大小不同は、Littleの述べた発育過程における歯牙の大小とは本質的に異なるものであると考える。それから、両蛔虫における歯牙の配列は連続的であつて、Sprentのいう欠歯部位、あるいは歯板状の部位は見出せなかつた。

Maung(1973)は、蛔虫の歯牙が外側に向つてはえていることを指摘し、それが歯牙としてどのように使われているかは走査電子顕微鏡の観察では不明であると述べた。著者も同様に、外側に向つて生えている歯牙の像を観察した。それらの歯牙は、蛔虫の体表を構成するcuticleの変化したものには違いないが、その歯牙の方向などから考えて咀嚼作用を有するとは考え難く、その他の機能についても十分明らかでなく真の歯牙と言つてよいかどうか疑問である。Weise(1973)が豚蛔虫で観察した第2列目の歯牙の配列は、著者の実験においても人

蛔虫および豚蛔虫の双方に観察されたが、それらの大きさは第1列のものに比較して非常に小さく、これら第2列の歯牙も先に述べた歯牙同様に、その機能は明らかでない。それから、今回著者の観察した両蛔虫の口唇前端の口唇辺縁近くに存在する各口唇に2個づつ計6個の浅い穴はMadden *et al.* (1970)の報告に一致するが、その小孔を起点とする6条の浅い溝とその中間に位置する3条の浅い溝については未だ報告もなく、また、機能についても不明である。今回の走査電子顕微鏡像においては3個の口唇が生鮮虫体に比較してかなり相離れている様に見えるがこれは固定のために生じたものと思われる。以上総合して、著者は、Sprent(1952)の称する歯牙による両蛔虫の鑑別は不可能であると結論したい。

次に著者は、DISC電気泳動法を用いて、両蛔虫の体腔液構成蛋白を分画し、その差異によつて分類を試みた。未だ、人蛔虫と豚蛔虫の体腔液構成蛋白をDISC電気泳動法によつて分画した報告はなく、それ故に、両蛔虫体腔液を用いた構成蛋白patternによる分類学的考察は本論文が最初である。

Michael *et al.* (1971)は、*Schistosoma japonicum*の体構成蛋白のDISC電気泳動を行ない、その結果、試料の抽出法の違いによつて泳動像に差が生じることを報告した。著者が実験に用いた試料は生鮮体腔液と、その凍結乾燥末であり、虫体自身の抽出物については行なっていない。したがつて、抽出法の検討は必要ないが、体腔液の凍結乾燥末の経時的な蛋白の変性、および免疫電気泳動における抗原の変性に随伴する沈降反応の変化が問題になる。しかし今回の実験では、これらの点に十分注意し、常に材料を一定の条件下においたためこれらに起因するDISC電気泳動像における分画bandの消失、あるいは免疫電気泳動像における沈降線の欠除などは実験期間中にはみられなかつた。DISC電気泳動法を行なった2試料は、共に、常に一定の易動度を示し高い再現性が認められ、かつ免疫電気泳動法においても高い安定性が実証された。

この実験を行なう前に、虫体によつて顕著な構成蛋白の差異があるとすれば、集団としての異同を論じても無意味になると考えて、著者は予備実験において、両蛔虫の個体別生鮮体腔液を試料としDISC電気泳動を行なった。

その結果、基本となる構成蛋白像である人蛔虫の4群11 band、豚蛔虫の4群12 bandは常に一定であるという結論をえた。しかしながら、全個体が全く同一の

pattern を示したのではなく、人蛔虫においては、A-2、A-4 および C-2、C-3 の band の分離が顕著でないものが、それぞれ5例中1例に認められた。また、A-1、C-1、C-2、D-1 に densitometer では検出しがたい、しかし肉眼的には観察される小さな付属 band が、それぞれ1例づつにみられた。

豚蛔虫では、A-1、A-2、B-1、C-2 の各 band において17例中2例が、C-3 の band では17例中6例が、分離不明瞭のこともあった。また3例において A-2 に、1例において B-1 に、4例において C-2 に、1例において C-2 に、それぞれ付属する小 band が認められた。このことについて、若干の考察を加えるならば、一般に多くの蛋白成分を含む試料を DISC 電気泳動した場合、得られる各蛋白分画 band は総て単一物質のみによるのではなく、たとえ1本の band として認められたとしても、実際には、電気易動度をほぼ同じにする数種の蛋白が混在している場合が多い。

本実験における付属 band および分離不明瞭な band の出現は、数種の蛋白を含む band のうちで、ある1種の蛋白の含量がたまたま個体によつてやや量的に異なつた場合に現われたものであらうと考えられる。それがため、全く別の種類の蛋白がある個体にのみ存在していたとは考え難い。Yoshimura (1969 a) も、DISC 電気泳動法による *Paragonimus westermani* の個別泳動 pattern において、蛋白泳動帯の数および濃度に variation が観察されたが、基本となる構成蛋白帯は一定であつたと報告している。

免疫電気泳動法を用いた著者の実験においては、抗豚蛔虫家兔血清(Ash-Rs)と豚蛔虫抗原(Ash-D)との間に21本の沈降線が出現し、この Ash-Rs と人蛔虫抗原(Alh-D)との間には、少なくとも19本の共通抗原性を有すると考えられる沈降線が出現した。この実験結果の一部には問題が含まれている。すなわち、Ash-Rs と Alh-D の間に出現した沈降線の中の No. 20 と No. 23 の沈降線が、Ash-Rs と Ash-D との間に出現しなかつたという一見矛盾した事象を生じたことである。この実験では、Ash-D で家兔を免疫したのであるから、No. 20 と No. 23 沈降線を形成する抗原となるべき物質が Ash-D 中に含まれていて当然である。著者はこの事実を次のように理解している。すなわち、Ash-D 中には、No. 20 および No. 23 の沈降線にあたる抗原が極めて微量であり、これに対して Alh-D 中の No. 20 および No. 23 の沈降線にあたる抗原は、沈降線を生ずるために必要か

つ適度な条件の抗原量を含有していたためであらうと考え、一方、この少量と考えられる Ash-D 中の No. 20 および No. 23 の抗原に対する免疫家兔における抗体の産生は、その免疫原が複雑抗原であつたために、他抗原による adjuvant 効果がみられたのか、あるいは、Freund's complete adjuvant の添加によつて十分行なわれたものと考えられる。また、たとえ少量の抗原でも10回に及ぶ抗原投与のために高い抗体価が付与されたと想定すれば、人蛔虫側では、最適条件下で No. 20 および No. 23 沈降線が出現し、豚蛔虫側では抗原がごく微量であつたために可視的な沈降線が生じなかつたとしても不自然ではないと考える。それ故に、この事象は両蛔虫間に存在する抗原性物質の量的な差異とも解することが出来る。

Arambulo (1970) は人蛔虫および豚蛔虫の体腔液を凍結し、使用に際して溶解したものを抗原として家兔を免疫し、ゲル内拡散法を行なつた結果、種差のあることを報告した。Imperato *et al.* (1968) は、両蛔虫の全虫体の抽出凍結乾燥末を抗原として免疫電気泳動を行ない共通抗原11と豚蛔虫特異抗原3を示す沈降線を観察したと報告し、その差を認めた。免疫化学の諸実験では、使用する試料の抽出法、免疫法、実験動物等、諸々の因子が複雑に関与しているものである。したがつて、抗原性を有する蛋白の数、および抗体価、さらにそれら種々な反応により生ずる沈降線には差異が生ずるのは当然である。そのために前研究者と著者の実験結果には、沈降線の差異が形態的にも数的にも生じているが、両蛔虫の体腔液あるいは組織内に存在する抗原性物質の間に差異があるという結果においては一致をみた。しかし前研究者らが称している特異沈降線が真に両蛔虫の抗原性の差異を示すものかどうか疑問が残される。

近縁関係にあるものの間では、一方に対する抗血清は他方とも反応する場合が多い。この様な類属反応を除くためには吸収試験を行なつてその特異性を判断することが望ましい。

そこで著者は、Ash-Rs を Alh-D で吸収し、その吸収血清と Ash-D および Alh-D との間に免疫電気泳動を行なつた。その結果、Fig. 25 にみられるように Ash-D 側に残余特異沈降線 No. 8 を得た。

さらに、沈降線 No. 8 が宿主由来のものでないことを実証するために豚血清を抗原として、Ash-Rs との免疫電気泳動を行なつた結果、沈降線は出現しなかつた。この反応試験に関しては、Tormes (1969) も著者と同様

の結果を報告している。これらの結果から、特異沈降線 No. 8 は、人蛔虫と豚蛔虫の差を示すものであると考えるが、人蛔虫卵を豚に実験的に感染させて得た豚寄生の人蛔虫が、人寄生の人蛔虫の体構成蛋白および抗原性と同じであるか、あるいは異なるかを試みることも課題としてのこされる。

結 語

人由来の人蛔虫と豚由来の豚蛔虫との異同問題に関して、著者は、形態学的には、走査電子顕微鏡を用い、生化学的には、DISC 電気泳動法を、免疫学的には、免疫電気泳動法を用いて実験を行ない次の結論を得た。

1. 走査電子顕微鏡を用いて、両蛔虫の外部形態、特に従来から鑑別点とされていた口唇辺縁部の像について観察したところ、両蛔虫の頭部および口唇部歯牙の形態は、共に円錐、円柱、半球、逆植木鉢型であつて変異が多く、形態的差異は認められず、歯牙の形態から両蛔虫を区別することは不可能であると考えられた。

2. 両蛔虫体腔液について DISC 電気泳動法を用い構成蛋白を比較したところ、明らかな差異を認めた。すなわち、人蛔虫の泳動像では、11本の band を認め、豚蛔虫の泳動像では12本の band を認めた。さらにこれらの band を A, B, C, D の4群に分けた場合、陽極側のA群にある band の pattern に大きな差がみられた。人蛔虫では3本の band、豚蛔虫では4本の band が認められ、人蛔虫では band の相対位置が陽極に近くなるにしたがつて吸光度が高くなるが、豚蛔虫ではその逆であつた。

3. 免疫電気泳動像では、抗豚蛔虫体腔液家兔血清と人蛔虫体腔液抗原および豚蛔虫体腔液抗原との間に、それぞれ19本および21本の沈降線がえられ、両蛔虫の体腔液の抗原性物質の間には数的および量的な差異が認められた。さらに吸収試験によつて、種差を示す特異沈降線 No. 8 を豚蛔虫側に認めた。

以上の結果から、両蛔虫の間には、歯牙の形態には差異を見出し得なかつたが、生化学的ならびに免疫学的実験から両蛔虫 haemolymph の構成蛋白ならびに抗原性物質に明らかな差のあることが判明した。これらの結果は人蛔虫と豚蛔虫が異なる種であるという説にさらに新しい支持を加えたものと考えられる。

稿を終るに当り、終始御指導、御校閲を賜つた吉田幸雄教授に深甚なる謝意を表わすと共に、御教示、御助言を戴いた近藤力王至博士ならびに教室員各位に厚く謝

意を表す。

本論文の要旨は第27回日本寄生虫学会西日本支部大会(昭和46年11月)、第42回日本寄生虫学会総会(昭和48年4月)において発表した。

文 献

- 1) Abdurachman, S. S. and Joe, L. K. (1954) : Morphological differences between *Ascaris* from man and pigs. *Documenta de Medicina Geographica et Tropica*, 6, 342-344.
- 2) Arambulo, P. V. III. (1970) : Micro-Ouchterlony double immunodiffusion studies with *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* female body fluid and egg extract. *Philipp. J. Vet. Med.*, 8, 71-80.
- 3) Bird, A. F. (1971) : The structure of Nematodes. Academic Press, New York and London, 318 pp.
- 4) Davis, G. M. (1968) : A systematic study of *Oncomelania hupensis chui* (Gastropoda : Hydrobiidae). *Malacologia*, 7, 17-70.
- 5) Davis, G. M. and Lindsay, G. K. (1967) : Disc electrophoretic analysis of molluscan individuals and populations. *Malacologia*, 5, 311-334.
- 6) Faust, E. C., Russell, P. F. and Jung, R. C. (1970) : Craig and Faust's Clinical Parasitology. 8th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 335-343.
- 7) Imperato, S., Foresi, C. and Martinetto, P. (1968) : Comparative analysis of antigenic constitution of *Ascaris lumbricoides* var. *hominis* and var. *suum*. *Riv. Ist. Sieroter. Italiano*, 43, 235-240.
- 8) Little, M. D. (1968) : Comparison of human pig ascaris. 8th Internat. Congr. Trop. Med. Malaria, Abstr. 181-182.
- 9) Lysek, H. (1963) : Contribution to the morphological problem of differences between *Ascaris lumbricoides* Linné 1758 and *Ascaris suum* Goeze 1782. *Věst Čěsosl. Spolec. Zool.*, 27, 97-101.
- 10) Madden, P. A., Tromba, F. G. and Vetterling, J. M. (1970) : En face views of *Ascaris suum* with scanning electron microscope. *J. Parasit.*, 56, 202-203.
- 11) Martinetto, P., Cappuccinelli, P. and Negro, P. A. (1968) : Analisi immunoelettroforetica degli antigeni di *Ascaris lumbricoides* var. *suum*. I. composizione antigenica di differenti strutture e del parassita in toto. *Ig. Mod.*, 61, 870-879.
- 12) Maung, M. (1973) : *Ascaris lumbricoides*

- Linné, 1758 and *Ascaris suum* Goeze, 1782 : Morphological differences between specimens obtained from man and pig. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 4, 41-45.
- 13) Michael, D. R., Werner, J. K. and Davis, G. M. (1971) : Effect of extraction procedures on Disc electrophoretic patterns. Jap. J. Parasit., 20, 341-358.
 - 14) 森下 薫 (1953) : 蛔虫及蛔虫症. 増補第2版, 33-40, 永井書店, 大阪.
 - 15) 村上 真 (1936) : 寄生虫体抗元に関する免疫学的研究 (人蛔虫及び豚蛔虫体抗元の特異性に就て), 慶応医学, 16, 1105-1121.
 - 16) 永井 裕 : ディスク電気泳動法. 蛋白質, 核酸, 酵素, 11, 744-749.
 - 17) 王 俊秀・藤田潤吉 (1972) : わが国の犢に寄生した回虫の形態学的研究, II, 走査型電子顕微鏡による各種回虫の微細構造について. 日獣誌, 34, 307-308.
 - 18) Sprent, J. F. A. (1952) : Anatomical distinction between human and pig strains of *Ascaris*. Nature, 4328, 627-628.
 - 19) Tormes, J. (1969) : Componentes antigénicos de *Ascaris suum* (Goeze 1782) por inmunodifusión e inmunoelectroforesis. An. Inst. Invest. Vet., 18/19, 67-82.
 - 20) 辻 守康・横川宗雄・キャプロン, アンドレー (1969) : 免疫電気泳動法による Host parasite relationship 検討の試み (1). 寄生虫誌, 18, 387(会).
 - 21) Weise, R. W. (1973) : *Ascaris suum* : A scanning electron microscope study. J. Parasit., 59, 141-146.
 - 22) Williams, J. F. and Soulsby, E. J. L. (1970) : Antigenic analysis of developmental stage of *Ascaris suum*. 1. Comparison of eggs, larvae and adults. Exp. Parasit., 27, 150-162.
 - 23) Yamaguti, S. (1961) : Systema Helminthum. Vol. III, 575-576, Interscience Publishers Inc., New York.
 - 24) 吉田幸雄・栗本 浩 (1969) : ブラジル鉤虫とセイロン鉤虫の成虫の DISC 電気泳動像について. 寄生虫誌, 18 (Suppl.), 673.
 - 25) Yoshimura, K. (1968) : Disc electrophoretic comparison between *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni* adult worms. Jap. J. Parasit., 17, 382-394.
 - 26) Yoshimura, K. (1969 a) : *Paragonimus westermani*, *P. ohirai* and *P. miyazakii* : Electrophoretic comparison of whole body proteins. Exp. Parasit., 25, 118-130.
 - 27) Yoshimura, K. (1969 b) : *Paragonimus* : Electrophoretic fractionation of whole body proteins as an aid specific identification of a species from Sado Island, Japan. Exp. Parasit., 25, 107-117.
 - 28) Yoshimura, K., Hishinuma, Y. and Sato, M. (1970) : A preliminary study on the DISC electrophoretic patterns of *Paragonimus kellicotti* Ward, 1908 adult worms. Res. Bull. Meguro Parasit. Mus., 3, 12-17.

Abstract

MORPHOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL STUDIES ON
THE DIFFERENCES BETWEEN *ASCARIS LUMBRICOIDES* LINNAEUS,
1758 AND *ASCARIS SUUM* GOEZE, 1782

Hiroshi KURIMOTO

(Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural
University of Medicine, Kyoto Japan)

The question whether *Ascaris lumbricoides* Linnaeus, 1758 and *A. suum* Goeze, 1782 are identical or represent two species, has been the subject of controversy for long time because of their morphological similarities. Sprent, in 1952, found the difference in shape of labial denticles between the both species. Abdurachman and Joe (1954), Little (1968), Madden *et al.* (1970), Weise (1973) and Maung (1973), supported the Sprent's opinion. On the contrary, Lysek (1963) and Oo and Fujita (1972) reported no morphological difference in the mouth part of them.

The present investigation was carried out to find out difference between two *Ascaris* not only by using the morphological, but also biochemical and immunological technics. The results are summarized as follows.

1) The mouth part of full grown *A. lumbricoides* which was obtained from human intestine was compared in detail with that of full grown *A. suum* from pig intestine with the aid of scanning electron microscope. As the result, no difference was found in the size and the shape of labial denticles between two *Ascaris* (Fig. 1-18).

2) The protein composition of the haemolymph of both ascaris was compared by using DISC electrophoresis technic. Repeated examinations always showed that the number of electrophoresis bands of *A. lumbricoides* haemolymph was 11, whereas that of *A. suum* was 12. And the densities of some bands were also different between them (Fig. 19-22, Table 1).

3) In the immunoelectrophoretic study, 19 precipitin bands were found between anti-pig *Ascaris* haemolymph rabbit serum (Ash-Rs) and human *Ascaris* haemolymph antigen (Alh-D), whereas 21 precipitin bands were found between anti-pig *Ascaris* haemolymph rabbit serum (Ash-Rs) and pig *Ascaris* haemolymph antigen (Ash-D) (Fig. 23, 24). The immunoelectrophoretic patterns after absorption of Ash-Rs with Alh-D showed specific precipitin band No. 8 in Ash-D (Fig. 25).

These results mentioned above are the additional evidences which support the hypothesis that *A. lumbricoides* and *A. suum* are distinct species.