

人蛔虫の化学成分の生物学的研究

(その1)

岡山大学医学部寄生虫学教室

稲 臣 成 一

(昭和32年1月8日受稿)

蛔虫の病害作用殊に蛔虫毒については数多く、種々様々に報告されている。併し之を論ずるにあつて、多くの場合2通りに研究が行われている。その第1は体腔液を取扱つたものであり、第2は蛔虫を飼養しその液中に排出された排出物を取扱つたものである。

著者も同様な観点から体腔液及び蛔虫乾燥物質より水抽出により得た所の物質について二、三の動物実験を行つたので報告する。

実験材料

人蛔虫を用い、よく水洗した後「ガーゼ」で充分水分を除去し、頭端を懸垂して、側線及び内臓に損傷をあたえないようにして尾端近くを穿孔しその部分より滴下する紅褐色透明の体腔液を捕集した。この体腔液は乾燥重量で平均雄で0.71%、雌で1.03%の割合で捕集する事が出来た。この体腔液は総て凍結真空乾燥を施して保存した。他方体腔液採集後の体部は真空硫酸乾燥器を用いて乾燥した後、粉末として保存した。

蛔虫毒の抽出精製

体部からの蛔虫毒は水抽出を行つた。即ち蛔虫体部の乾燥粉末を約10倍量の蒸溜水中に入れ氷室中に2日間放置し時々攪拌して抽出を促進した。この液は2日後に濾紙で濾過して、之を抽出原液(W-Ex)とした。

次にこの抽出原液は第1表の如くにして多糖体の抽出を行つた。即ちTrichloroacetic acidをM/2になる如くに加え、48時間氷室中に放置した後4000 r. p. m. で30分間遠心分離し、その上清を48時間常水に対して透析したる後

4000 r. p. m. で30分間遠心分離し、その上清を40°Cで約100 ccになる迄濃縮後これに約3倍量の純アルコールを加え、48時間氷室に放置後4000 r. p. m. で30分間遠心分離を行い、その沈澱を蒸溜水に溶解して再び24時間氷室に放置後その不溶物を除去し、更に3倍量の純アルコールを加えて沈澱を生ぜしめる。以上の如く純アルコールにより生ずる沈澱物の溶解、沈澱の操作を更に2回繰返した後、そこに生じた沈澱をAceton及びEtherで洗浄、脱水を行つた後真空乾燥を行つた。ここに出来上つたものは白色の粉末で(W-Ex-B)抽出原液100 cc当り0.15 gの収量であつた。

次に抽出原液を第2表に示す如く80°Cで30分間温熱処理したものを4000 r. p. m. で30分間遠心分離を行い、その上清を流水で24時間透析しこれをその約半量に至るまで40°Cで減圧濃縮を行い、これに等量の純アルコールを注加して氷室内に24時間放置後4000 r. p. m. で30分間遠心分離を行い、その沈澱を捕集する。この沈澱は更に少量の水に溶解して24時間流水に対して透析をした後濾紙にて濾過したものを凍結真空乾燥して保存する。その収量は白色粉末で(W-Ex-H)その含有量は抽出原液100 cc当り0.148 gであつた。

一方体腔液(BF)についても上記同様に2通りの方法で抽出精製を行つた。即ちTrichloroacetic acidとアルコールによる方法では(BF-B)終産物は白色粉末として体腔液100 cc当り0.256 gであり、又熱処理法(BF-H)では終産物として白色粉末で100 cc当り0.215 gを得る事が出来た。

Fig. 1. Extraction method with trichloroacetic acid.

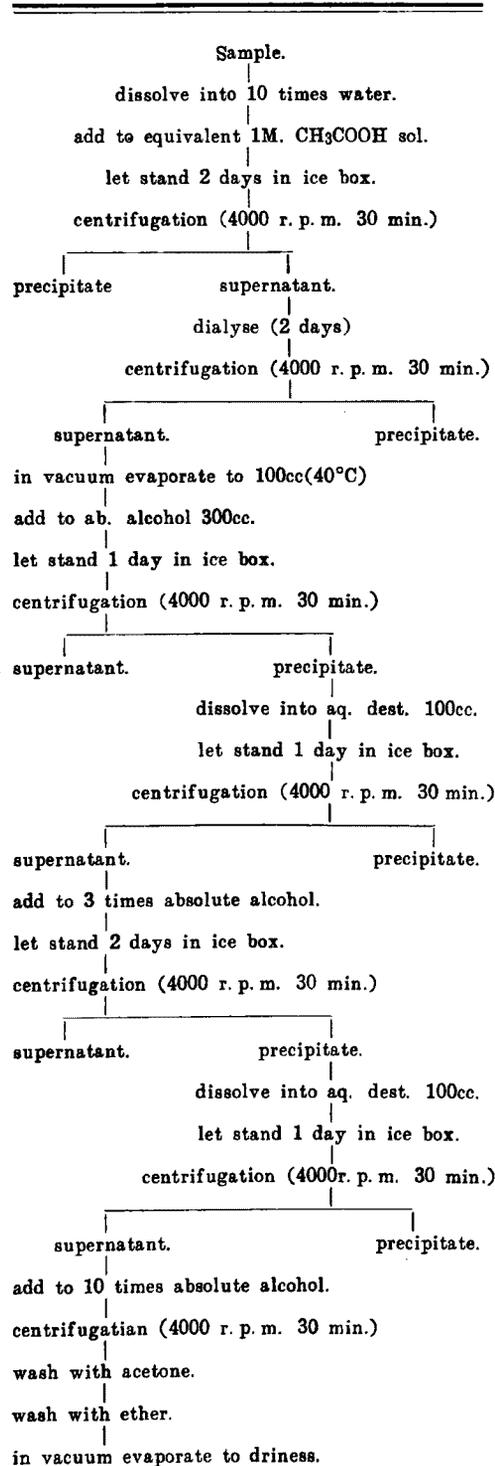
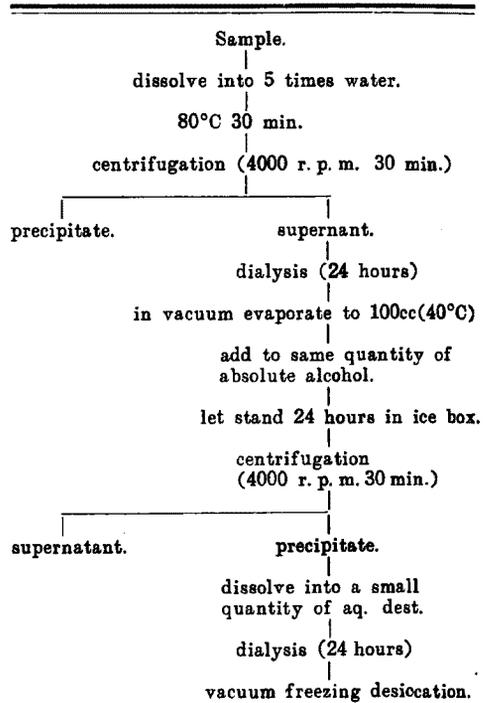


Fig. 2. Extraction method with hot water.



蛔虫毒の呈色反応

以上4種の抽出物質について呈色反応を試みた。その結果は第3表の如くでBF-H及びW-Ex-HではBiuret, Bial Orcin, Molish, Xantho-protein, Ninhydrin, Sulfosalicylic acidが陽性でFehlingのみ陰性であつたが、BF-Bでは総て陰性でありW-Ex-BではMolish及びXantho-protein反応の2つが陽性で他の総ては陰性であつた。

蛔虫毒のSchwartzmann皮膚反応

次に以上の4種の抽出物質と体腔液及び体部の水抽出原液の6種のものについて家兎を用いSchwartzmann反応を試みた。

使用した家兎は何れも体重3kgのものをを選び、上記6種のものを夫々生理的食塩水に0.1mg/ccの割合に溶かし家兎の腹部の皮膚へ5cm間隔で5r, 5r, 0.5rの割合で同一場所に24時間々隔で2回前処置として注射を行い、それより24時間後に1kg当り

1 mg の割合で家兎の耳静脈に反応誘起のための注射を行い30分, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24時間目毎に観察記録を行った。

その結果は BF-B 及び W-Ex-B では全く反応は見られなかったが, BF に於ては甚だ著明な反応を呈し, 何れも反応誘起後30分以内に発赤腫脹が見られ, 2時間目はその極期であつた。次で殆ど4時間目頃から発赤腫脹は消退しはじめ5時間目頃から以後には反応は全く見られなくなつた。なお前処置注射量の少いもの程その反応は軽度であつた。

BF-H では BF と殆ど差は認められず同程度の反応が出現したが一般にやや軽度であつた。しかもその極期は1時間目で5時間目以降では全く反応が消退していた。なお前処

Fig. 3 Colour reaction of refined Ascaris-toxin.

Sample	Reaction			
	BF-H	BF-B	W-Ex-H	W-Ex-B
Biuret	+	-	+	-
Bial Arcin	+	-	+	-
Molisch	+	-	+	+
Xantho-protein	+	-	+	+
Ninhydrin	+	-	+	-
Fehling	-	-	-	-
Sulfosalicylic acid	+	-	+	-

置注射量が 0.5 r では反応は全く出現しなかつた。

W-Ex では BF と殆ど差は認められなかつたが, やや BF より軽度であつた。その極期は1時間目であつた。

Fig. 4 Schwartzmann reaction of Ascaris toxin.

Sample	BF			BF-H			BF-B			W-Ex			W-Ex-H			W-Ex-B		
	50	5	0.5	50	5	0.5	50	5	0.5	50	5	0.5	50	5	0.5	50	5	0.5
dose of preparatory injection (γ)	1/2	1	2	3	4	5	6	12	24	1/2	1	2	3	4	5	6	12	24
after injection (hour)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-

次で W-Ex-H も又同様でその極期は2時間目で, それより徐々に消退し始め5時間目には殆ど消失していた。なお前処理注射量に 0.5 r のものでは BF-H と同じく陰性であつた。

なお之等の経過中 Schwartzmann 反応が陽性であつたものは何れも反応誘起注射後5分乃至は10分頃より非常に急性な, しかも激烈な下痢が出現した。これは恐らく腸管の過性の急激なる蠕動によるものと思われ注目に値すべきである。

蛔虫毒家兎免疫血清と蛔虫毒との沈降反応

体重 3 kg の家兎を用い BF-H 及び BF-B を夫々 0.5 mg/kg より始め, 2日目毎に倍量に増加しつゝ耳静脈内に注射し20日目に1日量 256 mg/kg, 総量 993 mg/kg に至るに及んで全採血を行い家兎免疫血清を調製した後これら血清と各抽出物質との間で重層法により沈降反応を行った。その結果は(第5表) W-Ex-B 以外では陽性に反応している。即ち BF-H 血清では千倍迄は明確な反応を呈するが, 万倍では甚だしく不明確とな

Fig. 5 Precipitin Reaction between Rabbit immune serum of Ascaris-toxin and Ascaris-toxin.

Sample.	BF-H					BF-B				
	100	1000	10000	100000	cont.	100	1000	10000	100000	cont.
BF-H	+	+	±	-	-	+	±	-	-	-
BF-B	+	±	-	-	-	+	±	-	-	-
W-Ex-H	+	+	±	-	-	+	±	-	-	-
W-Ex-B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

つて来る。之に反し BF-B 血清では千倍ですでに不明確に反応しており、BF-H 血清より反応が甚だしく弱かつた。

結 論

以上の実験より蛔虫の体腔液及び蛔虫の乾燥物質から水で抽出し熱処理を加えたものには一種の蛋白体と考えられる所のもので、その家兎免疫血清との間に沈降反応を呈し、更に家兎に於て Schwartzmann 反応陽性に出

現する所の一種毒素が考えられる。

之に反し三塩化醋酸処理により抽出した所の物質は呈色反応により蛋白体と認められないもので Schwartzmann 反応及び沈降反応の何れもが陰性であつた。

本研究は文部省科学研究助成補助金の補助によるもので之を厚く感謝する。

尚終始御指導御校閲を賜つた山口教授に深甚なる謝意を表する

文 献

- 1) 黒屋政彦：日新医学，第32年，チフス菌の菌体内有毒物質に関する研究 (1942)
- 2) 森下哲夫，小林瑞穂：衛生動物，第4巻，蛔虫
- 3) 中島三夫：寄生虫学雑誌，第3巻，蛔虫毒に関する研究 (1954)

Biological studies on chemical components of *Ascaris lumbricoides*. I.

By

Seiiti Inatomi

(Department of Parasitology, Okayama University Medical School)

A kind of albuminous substance and polysaccharide were extracted by treating with trichloroacetic acid and absolute alcohol, and heat and dialysis, respectively, from the body fluid and the water soluble part of the dried body tissue of human *Ascaris*.

The former substance was positive for albuminous colour reaction, rabbit skin test, as well as for precipitin test tried on the rabbit immune serum, while the latter substance was negative for all of the three tests.

From the results of the above tests it may be concluded that this substance has a toxic effect upon rabbits.