原 著

Keratin 分解酵素の駆虫作用に関する研究

Studies on Vermicidal Effect of Keratinolytic Enzyme

佐 藤 光 兆 Kocho SATO*

緒 言

数百年前より中南米に於ては、無花果 *Ficus laurifolia* の乳液 *leche de higueron* は、土俗的に腸内寄生虫（特に鞭虫）駆除の外、*rheumatism*、貧血及び皮膚病等の諸疾患の治療に用いられている。

Bero¹⁾ はこれに着目し、無花果乳汁が駆虫作用を有する事を認め、次いで Gerber²⁾ は無花果乳汁中に蛋白分解酵素の存在を認めた。Weyland³⁾、Robbins⁴⁾ は無花果 *Ficus laurifolia* より駆虫有効成分（乳液の乾燥粉末）を分離し、之が *Trypsin* 分解酵素である事を証明して *Ficin* と命名し、*leche de higueron* の有効成分は *Ficin* に存する事を明かにした。その後 *Ficin* の蛔虫に対する作用は江口⁵⁾ により、毒性検査は Moritor⁶⁾ 等により明かにされてをり、Mexico、中米等に於ては“*Higueronia*”という名で市販されているが、その保存法には難点があると云われている。即ち本剤は放置する時、酵素酸化のため、その作用が失はれるので、冷蔵し、一定の方法で保存されている場合にのみ安定しているという。最近独逸に於て Ammon 等⁷⁾ はこれに着目し、その欠点を改良して、線虫類の表皮に含有されている *Keratin* を迅速に消化し、寄生虫を短時間で死滅せしめる新製剤を作り、之を *Nematolyt* と名付け、その蛔虫、鞭虫及び蟯虫等に対する駆除作用には見るべきものがある事を報じている。

私は之を用い、*in vitro* 及び *in vivo* の実

験を行つた結果を茲に報告する。

実 験 材 料

検体として独逸 Heinrich Mack 会社製“*Nematolyt*”を用いた。その組成は次の如くである。

activated ferment 85.2%
powdered sugar 12.4%
sweetening substance (Saccharine) 0.1%
colloidal silicic acid 2.0%
aroma mixture (cinnamon) 0.3%

本検体は黄色粉末で水に溶け難いので種々の濃度に懸濁して使用した。

実験方法及び成績

1) 豚蛔虫、蚯蚓及び蛭に対する作用

豚蛔虫は実験当日屠場より入手の成熟した新鮮なものを使用し、その虫体を pH7.0 の生理食塩液に飼育し、37°C に保つた。検体は種々な濃度に懸濁して用い、時間的に豚蛔虫表皮に起る変化並に生死の別を観察した。

比較実験として蚯蚓及び蛭を井水で室温飼育して用いた。

豚蛔虫に対しては、10 倍液では 10min 後より表皮の浸襲が始まり、1/2h で表皮破壊が起り、内臓が曝露されて斃死した。（図1）1h 後には原形を留めぬまで消化された。（図2）100 倍液では 1/2h 後より変化が現はれ、1½h 後には表皮の一部が潰瘍状となつて斃死し、1000 倍液では 12h 後に潰瘍状となつて斃死した。5000 倍液では 24h 著変がない。（表1）

蚯蚓に対しては 10 倍液では最初運動亢進が認められるが後緩慢となり 1h で表皮破壊が認められ斃死した。5000 倍液では 24h で著変が

* 大沢実験治療学研究所
1956 年 7 月 31 日受付

図 1 豚蛔虫に対する作用 (10 倍液 1/2h)

図 2 豚蛔虫に対する作用 (10 倍液 1h)

表 1 豚蛔虫に対する作用

時間 稀 釈 倍 数	1/2	1	1 1/2	2 1/2	3 1/2	5 1/2	24
10	+++ d	+++					
50			+	++	+++ d		
100				±	+	+++ d	
500					+	++	+++
1000						±	+
5000							-
対 照							-

ない。(表 2)

蛭に対しては 5 倍液では最初運動亢進が認められるが, 1/2h で緩慢となり, 1h で表皮破壊が起り斃死した。100 倍液では 24h で著変がない。(表 3)

表 2 蛔虫に対する作用

時間 稀 釈 倍 数	1/2	1	1 1/2	2 1/2	3 1/2	5 1/2	10	24
10	++	+++ d	+++	+++				
50			+	+	++	++	+++ d	
100						+	+++ d	
500							+	++
1000							+	++
5000								-
対 照								-

表 3 蛭に対する作用

時間 稀 釈 倍 数	1/2	1	1 1/2	2 1/2	3 1/2	5 1/2	10	24
5	+	+++ d	+++					
10				+++				
50							+	+
100								-
対 照								-

この際、外観的に生死の判定不明な場合は 60°C 温湯中に虫体を浸漬して検討した。

上記の所見を組織学的に検索するに明かに表皮の破壊像を認めた。(図 3 a, b, 図 4, 図 5)

対比実験として Papain の蛔虫に対する作用を検すると Papain に於ては 10 倍液では 1h より表皮浸襲が始まり, 1 1/2h で表皮破壊を被り斃死して, 3 1/2h で虫体離断して原形を止

図 3 蛔 虫

a

図3 蛔虫

b

対
照

Nematolyt

図4 蚯 蚓

図5 蛭

表4 豚蛔虫に対する Papain の作用

時間 稀 釈 倍 数	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3 1/2	5 1/2	24
10	—	+	d+++	++++				
50			—	+	d+++	++++		
100				±	+	d+++	++++	
500							—	+++
1000							—	d+++
5000								—
対 照 生 理 食 塩 液								

めなかつた。100 倍液では 2h で変化現はれ
3 1/2h で潰瘍状となり内臓曝露して斃死し、
1000倍液では 22h で内臓曝露して斃死した。
5000倍では 24h で変化がなかつた。(表4)

2) 豚蛔虫に対する作用と pH との関係

三輪等⁸⁾の実験で検体の至適 pH は 5.3 前後
であり pH4.0 以下の酸性液中で作用が失はれ
る事が明かとされているので私は検体の 50 倍
液を塩酸により pH2.0 となして、1h 37°C に
保つたものを更に苛性曹達により pH5.0 に補
正して、之を虫体に作用せしめて検するに、
24h で虫体に何等変化を与えなかつた。

3) 厚朴煎液との関係

検体の 50 倍並に 100 倍液中に厚朴煎液 (厚
朴 30g に水 100cc を加え、水浴上で 100°C
4h 煎出後濾過した煎液) を夫々 2%, 1% に
添加して (pH5.2), その中に豚蛔虫を投入し、
37°C に於て観察した。

対照としては、厚朴煎液を添加しない 50 倍液に蛔虫を投入して観察した。

厚朴添加液中の虫体は 48h に到るも何等異常がなかった。

対照は 1½h で表皮に変化が現れ、3½h で虫体破壊され斃死した。(表 5)

4) 家猫条虫に対する作用

条虫は家鼠の肝臓に *Cysticercus* の形で存在する *Taenia taeniaformis* を経口的に猫に与えて、約 50 日後、猫の消化管内で成熟するのを待つて、猫をガス致死せしめた直後、消化管より採取し、体長約 20cm の新鮮活潑な成熟したものに就て検討した。

10 倍液に浸漬し、時間的に変化を観察した処、4½h に及び稍虫体に変化が現れ、5h で表皮の浸襲は進行するも生存し、6½h に至つて

表 5 厚朴液との関係
豚 蛔 虫

時間 稀 積 倍 数	½	1	1½	2½	3½	5½	24	48
50 厚朴検体								—
100 厚朴検体								—
対 照 50 検 体			+	++	+++	d		

虫体離断し斃死した。その後も溶解機転が進み 12h で原形を留めなかつた。

対照生理食塩液では 24h で著変がなかった。(表 6)

表 6 猫条虫に対する作用

室温 34°C

時間 稀 積 倍 数	½	1	1½	2½	3½	4½	5	6½	24
10 対 照 生理食塩液	—				—	+	++	+++	d
									—

5) 条虫症家猫に対する作用

上記の如くにして罹患せしめた条虫症家猫に對し、24h 絶食後、検体を 4g/kg 胃管カテテルを以て経口投与を行つて、処置前及処置後毎日一回 7 日間、Stoll 法⁹⁾により虫卵数算定及び糞便中虫体検索並に流血中の好酸球算定を行つた。この場合、条虫 *Taenia taeniaformis* を寄生せしめた家猫は同時に、爪実条虫 *Dipylidium caninum*、蛔虫 *Toxascaris lum-bata* 及び糞線虫を寄生しているものが多くあつたので、之等の寄生虫に対する検体の作用を同時に検討し得た。検体投与をうけた家猫は数日以内に一部溶解した条虫体（何れも爪実条虫）の排出をみるものがあり、条虫卵数は一過

表 7 条虫症家猫に対する作用 (4g/kg)

			投与前	投 与 後 (日)							剖 検
				1	2	3	4	5	6	7	
虫 卵 数	条 虫	T.T. D.C.	12200 400	16300 2200	9800 1700	7600 1500	99.0 700	9800 780	9900 400	6500 300	T.T. 3 匹 D.C. 1 匹 小腸上部 に生存. 線虫なし
	線 虫	蛔 虫 糞線虫	5300 200	6900 400	1400 0	0 0	0 0	0 0	0 0		
	虫 体 排 出 数	条 虫	T.T. D.C.	0 1	0 稍溶解の 断片排出	断片排出 0	0 0	0 0	0 0	断片排出 0	
	線 虫	線 虫 糞線虫	1 2	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	
好 酸 球 (%)			3	2	6	7	4	4	7	4	

性に増加後減少したが消失しない為、7日目にガス致死せしめて腸管を検した処、活潑な条虫 *Taenia taeniaformis* 数匹を認め、又爪実条虫に就ても亦同様に完全駆虫に到らなかつた事を確認した。

この場合、同時に家猫腸管に寄生する蛔虫 *Toxascaris lumbata*、糞線虫は 4g/kg の一回投与で、翌日より虫卵消失し、完全駆虫する事を得た。剖検するに、之等の寄生線虫類は家猫腸管内で完全に溶解しており踪跡を止めなかつた。

血液像に於ては好酸球数が投与後増加を示した。(表7)

6) 家兎消化管に及ぼす影響

検体投与が消化管粘膜を浸襲する事はないかを生体家兎に就て検討した。

予め 24h 絶食せしめた家兎に経口的に 1.5 g/kg の検体を投与して、一般状態を検したが何等の異常も認められなかつた。24h 後に殺して胃及び腸を剔出して検討した処、肉眼的には小腸壁の軟化及び弾力性減少の傾向が認められたが組織学的に検索するに著変を認めなかつ

た。

7) 豚蛔虫毒素の作用

三輪等⁸⁾は人体実験(蛔虫症、鉤虫症)で本検体投与後一過性に虫卵数並に好酸球数の増加を認め、家猫に於ける私の成績も同様の傾向をみたが、これは腸内で崩潰した虫体の毒素が腸粘膜より吸収される事に起因すると考えられるので *in vitro* に於て蛔虫毒素^{10) 11) 12)}の捕捉を試みた。

即ち 50 倍液 100cc の中に豚蛔虫 70g 前後を浸漬し、37°C に 6h 保ち、虫体が細かに離断された時、数回濾紙濾過を行つて得た淡褐色透明液を家兎の耳靜脈内に 0.5cc/kg 注射して滲透圧に対する赤血球の抵抗力を Ribiere¹³⁾ 法によつて検し、並に血液像に及ぼす影響を検討した処、赤血球抵抗の顯著な減少、赤血球数の一過性の増多、血色素量の軽度の減少がみられ、白血球に於ては偽好酸球の一過性増加及び好酸球の増加が認められた。(表8)

対照としての蛔虫飼育液では赤血球抵抗の変化はみられなかつたが、偽好酸球の一過性増加及び好酸球の増加が認められた。

表 8 家兎血液像に及ぼす蛔虫毒素の影響

			処置前	処 置 後 (h)					
				1	3	6	12	24	48
赤血球抵抗	0.56%	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.54	—	—	±	—	—	—	—	—
	0.52	—	—	+	+	—	—	—	—
	0.50	—	+	+	+	—	—	—	—
	0.48	+	+++	++	++	+	+	+	++
	0.46	++	+++	++	+++	++	++	++	++
	0.44	++	+++	+++	+++	++	++	++	++
	0.42	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
血液像	赤血球数(万)	578	584	545	630	630	540	632	
	血色素量(%)	90	95	90	83	80	85	85	
	白血球数	10000	7600	10500	8800	12200	11000	9600	
	白血球百分率								
	P.E.	54	32	34	70	60	35	62	
	L.	44	66	62	27	38	62	35	
	M.	2	1	2					
	E.		1	2	3	2	3	3	

又対照として生理食塩液による検体の50倍懸濁液を同様に37°Cに6h保存し数回濾過して得た濾液を以て0.5cc/kg静脈内注射を行つた場合にはこれらの変化は認められなかつた。

綜括並に考按

先に Flury¹⁴⁾ は蛔虫表皮は Keratin より成る事を明かにしている。Keratin の表皮は胃液及び膵液の作用を被らないので人体の消化酵素から蛔虫を保護している訳である。而して化学的に Keratin を溶解する物質は濃酸と濃アルカリであるが之等のものは、もとより、生理学的理由で人体に使用出来ない。

然るに1950年江口⁹⁾ は Ficin により in vitro で蛔虫は38hで死亡し、48~72hで融解消化されるが in vivo では、蛔虫症に例中排虫者率48.3%、卵陰転者零であつたと報告している。Ammon 教授等は本検体により40°C ½hで蛔虫の表皮が海绵状にたるみ、諸処に於てはげ落ち1hでは全く原形を留めない事を、Oelkers¹⁵⁾ は in vitro で蟯虫に対して同様の実験を行い、蟯虫が短時間のうちに斃死し、消化される事を述べている。私の実験に於て検体の濃度、時間の推移による作用強度の差を観察した結果は検体が、有力に線虫類表皮を攻撃する事を明かに示した。

この場合、至適 pH が5.3前後である事、並に直接生体に投与して有効である事は三輪等⁹⁾ が明かとしているが、pH2.0の酸性液中に於て不可逆的に失効する事より、本検体を投与する場合、腸に達してから検体の作用を開始する様な形式に於て投与される事が一層望ましいと考えられる。尙 in vitro に於ては蛔虫、蚯蚓、蛭、条虫の順に検体に対する抵抗は大である。鉤虫、蟯虫に対して in vitro 及び in vivo に於て有効である事は三輪等⁹⁾ が報告した。

三輪等によれば人体蟯虫は一回投与で完全駆除されるが、私の実験では家猫に寄生する線虫類も亦検体一回投与で悉く消失している。試みに in vitro に於て家猫寄生の *Toxascaris lumbata* 及び糞線虫に対する作用をみるに、

その抵抗は豚蛔虫のそれより更に一層脆弱であると思はれた。

本草綱目¹⁶⁾に厚朴の主治作用としては三虫を去るとあり、又加藤等¹⁷⁾は厚朴煎液中に豚蛔虫を投入すると48hに於て、全例斃死したと報じているので私は蛔虫の生命脅威に於て、厚朴煎液が検体と協力作用を示す事はないかと考え、之を添加した処、却つて検体の酵素作用が失はれる結果となつた。従来厚朴成分としては Magnolol, Machilol 及び Ho-curare, Magno-curarine 等が挙げられているが、厚朴煎液添加により検体の作用が抑制せられる機序に就ては未だ明かではないので、この事は後日論究し、或は研究する課題として興味ある問題であると思う。

家猫の in vivo の駆虫実験より *Taenia taeniaformis* の方が *Dipylidium caninum* より抵抗が大である様に思はれたが、いつれの条虫の抵抗も他の駆虫剤に対すると同様に、本検体に対して非常に強大である事が示された。これは各虫体表皮を構成する Keratin 質の相違か、或はその構成する物質の相違に起因するのであらう。

次に Molitor⁶⁾等は Ficin が生体消化管の粘膜を損傷しないかを検索し、経口的に極く多量の Ficin を与えられた時には腸に炎症的变化と浸蝕を与えたと云ひ、Ammon 教授等は高度に濃縮した酵素溶液を動物の胃や十二指腸に注入したにも抱らず、潰瘍症状を全く認めず、組織学的にも傷害をみなかつたと報じている。私の組織学的検索の結果は略之と一致した。

Bohn 等¹⁸⁾は人体実験に於て本検体が蛔虫駆除に対し有効である事を確かめ、消化管内に於ける蛔虫の残骸に就ては何等の有毒性乃至は Allergie 性作用がなかつたと報じているが、本実験の結果、溶解した蛔虫毒素が吸収せられてその影響を生体に及ぼす事と、そして三輪等が観察した本剤投与後に於ける臨床症状の変化(虫卵数及び好酸球数の増加等)とを併せ考えると之等は検体によつて蛔虫体が溶解して出来

た毒素の作用に基く事を実験的に立証し得たものと思ふ。

尙蛔虫毒素により惹起せられる赤血球抵抗減少、血色素量の軽度減少、好酸球増多症等は先に安藤¹⁰⁾により蛔虫体成分及び体腔液の血液性状に及ぼす影響として指適せられている処と軌を一にしている。

又 Ammon 教授等は人体腸内に於ける蛔虫の融解は急速に起る故、下剤を検体投与後 3h ほど経て与える時は虫体を排便中に発見するが、下剤投与を遅くする時は虫体は発見出来ない。即ち蛔虫は完全に消化し尽されて恐らく Kalorie 源として消費されてしまったのであらう述べているが、この事は私の家猫に於ける結果と一致し、又本検体による駆虫実験に於て駆虫効果の判定には、従来駆虫効果判定規準の一つとして挙げられている、虫体排出という事実に基礎を置く事が不適當である事を示唆している。

尙 Ammon 教授は条虫には触れていないが、鞭虫に対しては予報的に検体が作用するであらうと述べ、更に“本剤は優良な駆虫剤として Kreis が要求している4つの条件、即ち①一切の腸内寄生虫並に卵を除去しうる事、②1日の服用量で十分である様な有効度を有する事、③副作用のない事、④使用が簡単である事に合致する”と述べているが、本実験の結果より、条虫に対する作用を除いてはこれを肯定する事が出来る。

結 論

以上の成績より Keratin 分解酵素製剤である Nematolyt は

1) 豚蛔虫、蚯蚓及び蛭の表皮を速に破壊斃死更に溶解せしめる事により、その駆虫効果を現はすものである。

2) 経口投与を行つた場合、家兎消化管粘膜に著変を及ぼさない。

3) Nematolyt により破壊して捕捉した豚蛔虫毒素は家兎に対して、顯著に赤血球抵抗を

減少し、又好酸球を増加せしめる。

4) 条虫類に対しても *in vitro* 及び *in vivo* に於て有効ではあるが、その作用は弱く、線虫類に対するより遙かに劣る。

5) pH2.0 の酸性液中に於て一旦失はれた効力は不可逆性である。

6) 厚朴煎液により、その作用は失はれる。この機序に関しては後日更に研究したい。

御指導並に御校閲を賜つた所長大沢勝博士、第1部長加藤泰基博士に深甚の謝意を表する。

尙本論文の要旨は昭和27年6月日本薬理学会第6回関東部会に於て発表した。

引 用 文 献

- 1) P. Bero: Rev. Med. Hyg. 8, 191 (1910)
- 2) C. Gerber: Chem. Abst. 6, 3107 (1912)
- 3) H. Weyland: Chem. Abst. 21, 988 (1927)
- 4) B.H. Robbins: J. biol. Chem. (Am.) 87 251 (1934)
- 5) 江口: 山口医誌, 2, 4 (1951)
- 6) Molitol et al: J. pharmacol (Am) 21, 71 (1940)
- 7) Ammon et al: Sonder druck aus "Die Pharmazie" Heft 21 (1950), Meeting of North west German intern at Gottingen (1949, 7, 29)
- 8) 三輪等: 臨床消化器病学, 2, 11 (1954)
- 9) 森下: 蛔虫及蛔虫症, 59 (1953)
- 10) 安藤: 日薬理誌, 48, 57 (1952)
- 11) 三上: 朝鮮医誌, 20, 467 (1930)
- 12) 三上: 〃, 22, 1 (1932)
- 13) 金井等: 臨床検査法提要, 27 (1950)
- 14) Flury: Naunin-Schmiedebergs Arch. 67, 275 (1912)
- 15) Oelkers, H.A.: Ammon 教授論文から引用, (1949)
- 16) 国积本草綱目: 9, 269 昭和8年 (1933)
- 17) 加藤等: 日東医誌, 3, 57 (1953)
- 18) H. Bohn: Meeting of Northwest German intern (1949, 7, 29), Neue Medizinische Welt 17, Juni (1950)

Summary

Nematolyt which is kerationlytic enzyme drug has the following effects.

1. It brings forth the vermicial effect by destroying and perishing and further dissolving quickly the cuticles of hog-ascarid, earthworm and leech.
2. When carrying out "Oral Administration", it does not conspicuously change the mucous membrane of rabbit's alimentary canal.
3. The toxin of hog-ascarid, destroyed and seized by Nematolyt, makes the rabbit's red corpuscle resistance conspicuously decreased, and eosinophils increased.
4. It is also effective upon Cestoda in vitro or in vivo, but its efficacy, being weak, is much less than upon Nematoda.
5. Its efficacy, when lost in acid-liquid (pH 2.0), is irreversible.
6. Its action is bereaved by the liquid decocted from Maglolia hypoleuca. This process of function will be studied someday.

Osawa Insitute for Experimental Therapeutics

書 評

臨 床 細 菌 検 査 の 実 際

Isabella G. Schaub 著

坂 崎 利 一 波 岡 茂 郎 訳

(A 5 判 104 頁 250 円 納谷書店)

Johns Hopkins 大学病院臨床検査室に於ける、日常検査法について、きちんと記載してあり、どの菌についてもこの程度まで、即ち一冊の本をみながらやれる程度の記載を行つた本はないといつてよい。

我々は、検査法と書いた本をしばしば読むが、理論的に高級すぎたり、繁雑にすぎたりする記載が所々にあり、一冊の本では間に合わなくなつたり、技術者に説明を与えなければならない場合がしばしばであり、何よりも親しめない事が多いものである。検査に要求される簡単さ、記載の簡潔さと云う点ではこの程度のもは少い。

言うまでもなく、ここに記載されて居るのは、J.H. 大学病院で行われて居る方法であり、検査法の選択は、必ずしもすぐに行ふことの出来ないものもある

が、例へば尿素の減菌法、尿素培地の選択、腸内細菌の検査、判定等、又肺炎菌、連鎖球菌の培養、判定に於けるこまごました注意は経験者のみの言い得る事であり、検査室に於ては勿論であるが、細菌学を学ぶ人にも興味深く読める本であろう。訳者の注意にもあるが内容は必ずしも新しいものばかりではないが、それでも、この本は新しい感じを与える。

更にこの本の訳者は、訳者と云うよりも、日本語の本書の著者といつてよかろう。この中に書いてある文章の一句一句が日本でも行えるように消化し、又組み立てられて居る。最後に、訳者のこの本を読むに当たつての注意は、この本丈で満足してはならぬと教えている。この本は、読むに良く、更に検査室の机の上に積んでおいても良い本である。(上条清明)