



Title	血液型物質の耐腐敗性について
Author(s)	竹友, 一成
Citation	長崎大学教育学部自然科学研究報告. vol.20, p.33-44; 1969
Issue Date	1969-02-28
URL	http://hdl.handle.net/10069/33089
Right	

This document is downloaded at: 2019-04-19T02:41:24Z

血液型物質の耐腐敗性について*

竹 友 一 成**

(昭和43年11月28日受理)

On the Imputrescibility of the Blood Group Substances

Kazushige TAKETOMO

Abstract

The ABO blood groups of the experimentally putrefied bloods were determined by means of the agglutination inhibition test, and the following results were obtained.

(1) It was possible to determine the blood groups of the blood specimens putrefied for nine months at 37°C in the atmosphere saturated with water vapor.

(2) Non-specific absorption reactions of agglutinins with the putrefied specimens were slightly observed, and they caused difficulty in determining the blood group. Such absorption, however, would be hardly observed, if a proper proportion of the specimen against antiserum was used.

(3) The ultrasonic wave method was useful even for the blood group determination of the putrefied specimen.

1. 緒 言

血液型物質の破壊に関する研究は、主として、型物質破壊酵素との関連において行われているが、著者は、今回これを型物質の耐腐敗性、即ち型物質証明可能期間との関連において行った。

型物質が myxobacterium で破壊されることは、既に古く、血液型の発見者である Landsteiner *et al.*^{1,2)} によっても報告されている。我国でもこの種の研究を多くみることができ、例えば、河西^{3,4)}は A 型特異性分解酵素について、また、Iseki *et al.*⁵⁾は B 型物質破壊

* 本実験は山口県立医科大学法医学教室において行われた。

** 長崎大学教育学部化学教室 (長崎市文教町)

Chemical Laboratory, Faculty of Education, Nagasaki Univ. (Bunkyo, Nagasaki)

酵素についてそれぞれ報じている。同じく、Iseki *et al.*^{5,6)} は O (H) 型物質破壊酵素についても言及し、*Bacillus fulminans* の出す O (H) 型物質破壊酵素の作用が L-フコース等により阻害され⁵⁾、Lewis 型物質が同酵素により分解されることを見出している⁶⁾。菌種と型物質破壊酵素との関連性については、長谷川⁷⁾、山本⁸⁾、小林ら⁹⁾の報告がみられる。長谷川は *Cl. Welchii*, *Cl. tetani*, *Cl. septicum*, 特に *Cl. Welchii* に強い型物質破壊作用のあることを認め、山本はだ液中に分泌される A 型物質が口腔寄生のある種の細菌により破壊されると言い、また、小林らは炭水化物分解作用を有する嫌気性菌の数株より酵素粉末をつくり、これに型物質破壊作用のあることを実証している。

型物質破壊酵素の本態については、生体酵素説と体外微生物説とがある。しかし、上述のように、体外微生物説が概ねその本態を当を得て説明していると考えられる。このような微生物に起因する型物質破壊酵素の存在は、血液型を証明し得る期間の有限性を想定させる。即ち、血液あるいは血液はんの種種雑多な菌類による汚染は、それら菌類の有する型物質破壊酵素の作用により、型物質が型特異性を示さなくなる程度の大きさの分子まで破壊されるであろうと思推される。

一方、古く、瀬戸山¹⁰⁾は、各温度に腐敗させた血液が、比較的長期間、型特異的に凝集素を吸収することを報告している。しかし、腐敗実験の重要事項である腐敗条件、特に、水分蒸発の有無あるいは水分蒸発の程度等が明らかでないようである。この点、更に深く検討してみる余地を残しているものと考えられる。またその他に、腐敗血液の型判定に関する報告として、吉田ら¹¹⁾の血液を入れた試験管の一つをガーゼでせんを施し、他の一つをそのまま室温に放置した場合、せんを施した方が長くまで型判定可能であったとする口演がある。この事実は、菌類汚染の行われ方によっても、血液型を証明し得る期間に差のあることを示している。

そこで、著者は、はじめにも述べたように、流動血液について、その水分蒸発を避けかつ腐敗が可及的に進行するような条件下で、型物質の耐腐敗性の検討を試み、いささか知見を得たので、その成績につき報告する。

2. 実験材料及び方法

2.1 試料血液

試料は全血で、その凝固を防止するために、試料 1 ml あたりシュウ酸アンモニウム 1.25mg 及びシュウ酸カリウム 0.75mg を添加した。このシュウ酸塩の添加は、ガラス容器に二重シュウ酸塩液 (シュウ酸アンモニウム 1.25 g, シュウ酸カリウム 0.75 g, 蒸留水 100ml) の所要量をとって、室温または 55°C 以下のふ卵器内で蒸発乾固させ、用に臨み所要量の血液を入れ、十分に混和することにより行った。このような流動血液約 5 ml をスピッツグラスにとつて腐敗実験に供した。

なお、試料の血液型は腐敗前にあらかじめ検査しておいた。

2.2 血清及び血球浮遊液

α 及び β 血清は、いずれもヒト血清のうち凝集素価の高いものを選び、常法により非動化した後、防腐剤として窒化ナトリウムの所定量を加えて冷凍庫に保存した。これを型判定にあたり 0.1% 窒化ナトリウムの生理的食塩水溶液で凝集素価が 8 倍になるように希釈して用いた。

作用血球は、A, B の各型血球を生理的食塩水で 3 回洗浄した後、それぞれ 0.3% 浮遊液として用いた。

2. 3 腐敗

血液の水分蒸発を避けかつ腐敗をできるだけ進める目的で、大型の有がいガラス製容器の底部に容器の約 $\frac{1}{4}$ 量の土砂を置き、これを水道水で湿潤させて容器内が水蒸気で飽和されるようにした。このような容器内に、スピッツグラスに入れた流動血液を放置し、 37°C のふ卵器内で腐敗するにまかせた。

なお、腐敗にあたっては、水蒸気飽和下であるため、水滴落下による血液希釈の防止にできるだけつとめた。

2. 4 腐敗血液はん

腐敗血液をかきまぜて略均一化した後、これをコマ込ピペットで口紙上の同一部位に3滴あて滴下した。そして室温下に約1週間乾燥させて腐敗血液はんとした。上記のような腐敗血液はんの作製は逐日的に行った。

腐敗血液はんは類円形となっているが、その約 $\frac{1}{4}$ 量を探って細切した後、つぎの凝集阻止反応に供した。

2. 5 凝集阻止反応

所要量の対照片(口紙)及び腐敗血液はんを2本の試験管に採り、それぞれ α 及び β 血清 0.3ml を加えた後、 37°C ふ卵器内で3時間、ついで水室内で一夜吸収反応を行わせた。その後、これら血清の各1滴をそれぞれホールグラス板上に採り、生理的食塩水を用いて倍数希釈した。各希釈系列にそれぞれ対応する血球浮遊液1滴を加え、室温下にとどき振とうさせながら、20分間経過したところで凝集度をルーペを用いて観察した。血球の凝集度は、浮遊血球が数個の凝集塊をつくる場合を(卍)とし、凝集反応の全く認められない場合を(-)とし、その間を適宜(+)、(++)としてあらわし区分した。特に必要な場合には(卍)、(++)、(++)の表現も用いた。

腐敗血液の凝集阻止力は、対照との血球凝集度の差、換言すれば、凝集素価の減弱で判定した。そして、この成績をもって、型判定を行い、同時に、型物質の耐腐敗性をあらわした。

なお必要に応じては、超音波法^{1,2)}あるいは抗原希釈吸収法による凝集阻止反応を試み、上記の方法による成績と比較した。

3. 実験成績及び説明

3. 1 型物質の耐腐敗性

ABO式型物質の耐腐敗性を、腐敗血液の型的凝集阻止反応により検討した。

今、腐敗開始後、約3か月、4か月、6か月及び8か月の各経過日に採取した腐敗血液について、その凝集阻止反応の成績を示すと、第1～第4表のようであった。

腐敗期間3か月群については、A、B、ABの各型血液とも、型特異的に凝集を阻止しており、型物質による凝集素の特異的吸収が推察された。凝集阻止力、即ち、凝集素価の減弱は、対照に比して、1～3段階で、型物質の腐敗分解が一部の血液例で極めて僅かながら認められるようであったが(新鮮血試料では凝集素価の減弱は約3段階)、未だ十分にその型物質の存在を検証し得た。更にまた、凝集素価の減弱は、型物質種によってその程度を異にするようであった。即ち、A型及びB型血液による凝集素価の減弱はやや強く(1.5～3段階)、これに比較してAB型血液ではやや弱くなる傾向が認められた(1～2.5段階)。

腐敗期間4か月、6か月、及び8か月群についても、大略これと同様の成績を得た。

第1表 腐敗3か月血液の凝集阻止反応

血液 (No.)	腐敗期間 (日)	血液型	吸収 α 血清希釈倍数					吸収 β 血清希釈倍数				
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
			(対照)冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
1	85	A	±	-	-	-	-	冊	冊	+	±	-
2	85	A	±	-	-	-	-	冊	冊	+	±	-
3	85	A	+	±	-	-	-	冊	冊	+	±	-
4	90	A	+	+	-	-	-	冊	冊	+	±	-
5	90	A	±	-	-	-	-	冊	冊	+	±	-
6	90	B	冊	冊	+	±	-	+	±	-	-	-
7	90	B	冊	冊	+	±	-	±	-	-	-	-
8	90	B	冊	冊	+	±	-	+	±	-	-	-
9	90	B	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
10	85	B	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
11	90	AB	+	±	-	-	-	+	±	-	-	-
12	90	AB	+	±	-	-	-	+	±	-	-	-
13	85	AB	冊	冊	-	-	-	冊	冊	-	-	-
14	90	AB	冊	冊	±	-	-	冊	冊	±	-	-
15	90	AB	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
16	85	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
17	90	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
18	90	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
19	90	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
20	85	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-

第2表 腐敗4か月血液の凝集阻止反応

血液 (No.)	腐敗期間 (日)	血液型	吸収 α 血清希釈倍数					吸収 β 血清希釈倍数				
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
			(対照)冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
1	120	A	±	-	-	-	-	冊	冊	+	±	-
2	125	A	+	±	-	-	-	冊	冊	+	±	-
3	120	A	+	±	-	-	-	冊	冊	+	±	-
4	130	A	+	±	-	-	-	冊	冊	+	±	-
5	120	A	±	-	-	-	-	冊	冊	+	±	-
6	120	B	冊	冊	+	±	-	+	±	-	-	-
7	120	B	冊	冊	+	±	-	±	-	-	-	-
8	120	B	冊	冊	+	±	-	+	±	-	-	-
9	120	B	冊	冊	+	±	-	+	±	-	-	-
10	120	B	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
11	120	AB	+	±	-	-	-	+	±	-	-	-
12	120	AB	+	±	-	-	-	+	±	-	-	-
13	120	AB	+	±	-	-	-	+	±	-	-	-
14	120	AB	冊	冊	±	-	-	冊	冊	±	-	-
15	120	AB	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
16	120	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
17	120	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
18	120	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
19	120	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-
20	120	O	冊	冊	+	±	-	冊	冊	+	±	-

第3表 腐敗6か月血液の凝集阻止反応

血液 (No.)	腐敗期間 (日)	血液型	吸収 α 血清希釈倍数					吸収 β 血清希釈倍数				
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
			(対照)卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
1	180	A	±	—	—	—	—	卍	卍	+	—	—
2	180	A	+	±	—	—	—	卍	卍	+	±	—
3	180	A	±	—	—	—	—	卍	卍	+	±	—
4	180	A	+	±	—	—	—	卍	卍	+	±	—
5	175	A	±	—	—	—	—	卍	卍	+	±	—
6	170	B	卍	卍	+	—	—	+	±	—	—	—
7	175	B	卍	卍	+	±	—	+	±	—	—	—
8	175	B	卍	卍	+	±	—	卍	+	±	—	—
9	175	B	卍	卍	+	±	—	+	±	—	—	—
10	180	B	卍	卍	+	±	—	±	—	—	—	—
11	170	AB	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—
12	170	AB	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—
13	180	AB	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—
14	180	AB	卍	+	±	—	—	卍	+	±	—	—
15	175	AB	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—
16	180	O	卍	+	±	—	—	卍	+	±	—	—
17	180	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
18	180	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
19	180	O	卍	+	±	—	—	卍	+	±	—	—
20	170	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—

第4表 腐敗8か月血液の凝集阻止反応

血液 (No.)	腐敗期間 (日)	血液型	吸収 α 血清希釈倍数					吸収 β 血清希釈倍数				
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
			(対照)卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
1	246	A	±	—	—	—	—	卍	卍	+	±	—
2	246	A	+	±	—	—	—	卍	卍	+	±	—
3	246	A	±	—	—	—	—	卍	卍	+	±	—
4	245	A	+	±	—	—	—	卍	卍	+	±	—
5	241	A	+	±	—	—	—	卍	卍	+	±	—
6	241	B	卍	+	±	—	—	±	—	—	—	—
7	246	B	卍	卍	+	±	—	+	±	—	—	—
8	241	B	卍	卍	+	±	—	卍	+	±	—	—
9	241	B	卍	卍	+	±	—	卍	+	±	—	—
10	246	B	卍	卍	+	±	—	±	—	—	—	—
11	250	AB	卍	+	±	—	—	卍	+	±	—	—
12	250	AB	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—
13	245	AB	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—
14	245	AB	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
15	241	AB	卍	+	—	—	—	卍	+	—	—	—
16	250	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
17	245	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
18	245	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
19	245	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—
20	245	O	卍	卍	+	±	—	卍	卍	+	±	—

これらの成績は、型物質が長期間（8か月）の腐敗に対してもなおその特異性を失うことなく、耐腐敗性の極めて大なることを示している。

腐敗の進行に伴う型物質の消長はほとんど認められないようであったが、後述する非特異的凝集阻止反応が観察されるところから、一見して、型物質の量あるいは力価の増大を疑わせしめる例もみられた（No. 13他）。しかし、また一方、型物質の破壊によるものではないかと思推される特異的凝集阻止力の低下も観察された（No. 5, 8及び14等）。

このような腐敗に伴う特異的凝集阻止力の低下及び非特異的凝集阻止力の増大は、腐敗期間中、試料を頻回に採取し検査することにより起り易くなる傾向があるようで、その成績を示すと、第5表のようであった。試料採取日は腐敗開始後の1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40各経過日であり、40日経過するまでに計11回の頻回採取が行われた。

第5表 頻回採取腐敗血液の凝集阻止反応

血液 (No.)	腐敗期間** (日)	血液型	吸収 α 血清希釈倍数					吸収 β 血清希釈倍数				
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
			(対照)卅	卅	+	±	—	卅	卅	+	±	—
101*	1	A	±	—	—	—	—	卅	卅	+	±	—
106	1	B	卅	卅	+	±	—	±	—	—	—	—
107	1	AB	±	—	—	—	—	±	—	—	—	—
108	1	O	卅	卅	+	±	—	卅	卅	+	±	—
101*	10	A	±	—	—	—	—	卅	卅	+	±	—
106	10	B	卅	卅	+	±	—	±	—	—	—	—
107	10	AB	±	—	—	—	—	±	—	—	—	—
108	10	O	卅	卅	+	±	—	卅	卅	+	±	—
101*	20	A	±	—	—	—	—	卅	卅	+	±	—
106	20	B	卅	卅	+	±	—	±	—	—	—	—
107	20	AB	±	±	—	—	—	+	—	—	—	—
108	20	O	卅	卅	+	±	—	卅	卅	+	±	—
101*	30	A	+	±	—	—	—	卅	卅	+	±	—
106	30	B	卅	卅	+	±	—	±	±	—	—	—
107	30	AB	卅	±	±	—	—	卅	+	±	—	—
108	30	O	卅	卅	+	±	—	卅	卅	+	±	—
101*	40	A	+	±	—	—	—	卅	卅	+	±	—
106	40	B	卅	卅	+	±	—	+	±	—	—	—
107	40	AB	卅	+	±	—	—	卅	+	±	—	—
108	40	O	卅	卅	+	±	—	卅	卅	+	±	—

* 実験に供したA型血液5例から代表例を選び記載した。

**腐敗期間3, 5及び7日の各成績は同期間1日の成績と、また、同期間15, 25及び35日の各成績は、同期間10, 20及び30日の各成績と、それぞれ略同一であることから、本表への記載を省略した。

なお、第5表記載の血液例では、その腐敗進行が第1～第4表の血液例に比し大であった。これは、例えば、ヘモグロビンの赤色色調の退色変化等で知ることができた。

これは、要するに、頻回採取により血液の型物質も含めて血液の腐敗分解が起り易くなるものと思料されるところである。

3.2 非特異的凝集阻止反応

O型血液の型判定は、いうまでもなく、抗O(H)血清を用いて型判定の結果に確実性を期すべきである。そこで、本実験においても抗O(H)血清を作製してO型物質の証明を凝集阻

止反応により試みたが、作製した該血清に問題があるのか、またその他に原因があるのか、再現性のある成績を得なかった。そこで、O型血液についても、第1～第4表にみられるようにα及びβ血清による凝集阻止反応の成績を示した。これによれば、腐敗3か月群では、O型血液例のいずれもO型の成績所見を得たが、腐敗4か月以降群では、対照に比し、約半段階の非特異的凝集阻止の認められる血液例があった。然るに、また、この非特異的凝集阻止現象はO型血液のみならず、A及びB型血液においても観察された（例えばNo. 1）。

一方、当然のことながら、AB型血液でも同様の非特異的凝集阻止反応が起っているものと推定されるが、AB型の特性上、これを明らかにすることは困難である。しかし、No. 13血液例のように、経時的に阻止力の増大する傾向のあるものも認められ（第1～第4表）、その一端を察知することは必ずしも不可能でなからう。

第6表 超音波法による腐敗血液の凝集阻止反応

血液 (No.)	腐敗期間 (日)	血液型	吸収α血清希釈倍数					吸収β血清希釈倍数						
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16		
		対照	{	卅	卅	+	±	-	{	卅	卅	+	±	-
			{	(卅)	(卅)	(+)	(±)	(-)	{	(卅)	(卅)	(+)	(±)	(-)
3	246	A	{	±	-	-	-	-	{	卅	卅	+	±	-
			{	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	{	(卅)	(卅)	(+)	(±)	(-)
4	245	A	{	+	±	-	-	-	{	卅	卅	+	±	-
			{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)	{	(卅)	(卅)	(+)	(±)	(-)
21	245	A	{	+	±	-	-	-	{	卅	+	+	(±)	-
			{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)	{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)
22	245	A	{	±	-	-	-	-	{	卅	卅	+	±	-
			{	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	{	(卅)	(卅)	(+)	(±)	(-)
6	241	B	{	卅	+	±	-	-	{	±	(-)	(-)	(-)	(-)
			{	(卅)	(+)	(±)	(-)	(-)	{	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	246	B	{	卅	+	±	±	-	{	+	(±)	(-)	(-)	(-)
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)
10	246	B	{	卅	+	±	±	-	{	±	(-)	(-)	(-)	(-)
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)
23	245	B	{	卅	+	±	±	-	{	+	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(+)	(+)	(±)	(-)	(-)
11	250	AB	{	卅	+	±	-	-	{	卅	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(±)	(-)	(-)	{	(+)	(+)	(±)	(-)	(-)
12	250	AB	{	+	±	-	-	-	{	+	±	-	-	-
			{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)	{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)
13	245	AB	{	+	±	-	-	-	{	+	±	-	-	-
			{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)	{	(+)	(±)	(-)	(-)	(-)
14	245	AB	{	卅	+	±	-	-	{	卅	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(卅)	(+)	(±)	(±)	(-)
16	250	O	{	卅	+	±	-	-	{	卅	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)
18	245	O	{	卅	+	±	-	-	{	卅	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)
19	245	O	{	卅	+	±	-	-	{	卅	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(+)	(-)	(-)	{	(卅)	(+)	(+)	(-)	(-)
20	245	O	{	卅	+	±	-	-	{	卅	+	±	-	-
			{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)	{	(卅)	(+)	(+)	(±)	(-)

* () 内は超音波非照射例，即ち常法による凝集阻止反応の成績。

非特異的凝集阻止力の増大は、血清に防腐剤の添加はあるが、試料が腐敗血液であることから、吸収時の菌類汚染による凝集素価の減弱も、その一つの原因となり得る。そこで、吸収時間を短縮し、菌類の汚染を防止する目的で、吸収時に超音波（周波数700 KC，発振管陽極電圧900V，電流130mA）を試料に30分間照射した。このいわゆる超音波法による腐敗血液の凝集阻止反応の成績と、常法による成績とを比較すれば第6表のようであった。

第6表より明かなように、超音波法でも、A，B，及びO型の各血液で、対照に比し約半段階の非特異的凝集阻止の認められるものが多数あった。従って、このような非特異的凝集阻止反応は、吸収時の菌類汚染によるものではなく、その原因となるべき物質が腐敗により新しく生成するものと史料される。

3.3 抗原・抗体量比と非特異的凝集阻止反応

腐敗血液で僅かながらも非特異的凝集阻止反応の観察されることは、そのような試料ではAB型以外のものをAB型と型判定する恐れのあることを示唆している。これを防止するには、3.2で述べたような非特異的凝集阻止反応の原因となるべき物質が試料中に含まれる割合を、希釈あるいは洗浄その他の方法で適当に減少させることが必要であろう。

この思推の可否を検討するために、37°C水蒸気飽和下に270日間腐敗させた血液（この腐敗期間中無処理）を2.4により腐敗血液はんとすることなく、そのまま試料として、抗原希釈吸収法による凝集阻止反応を試み、第7，第8，第9，及び第10表に示される成績を得た。

第7表 腐敗9か月血液（A型）の抗原希釈吸収試験

血清希釈倍数	抗原（腐敗血液）希釈倍数									
	α 血清					β 血清				
	4	8	16	32	対照	4	8	16	32	対照
1	—	±	+	++	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	—	—	—	±	++	++	++	++	++	++
4	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
8	—	—	—	—	±	—	±	±	±	±
16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第8表 腐敗9か月血液（B型）の抗原希釈吸収試験

血清希釈倍数	抗原（腐敗血液）希釈倍数									
	α 血清					β 血清				
	4	8	16	32	対照	4	8	16	32	対照
1	++	++	++	++	卅	—	—	±	±	卅
2	+	++	++	++	++	—	—	—	—	++
3	±	±	+	+	+	—	—	—	—	+
8	—	±	±	±	±	—	—	—	—	±
16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

これらの表より明らかなように、A，B，及びO型血液例においては、共に半段階～1段階の非特異的凝集阻止反応が認められた。しかし、希釈倍数を適当に行う場合には、即ち、抗原と抗体の量が適性比にあれば、この種の非特異的凝集阻止反応は観察されなかった。

今、上記の事実が腐敗血液（A型）を2.4により血液はんとして検した場合にも適合し得るかどうか、これを2.5の凝集阻止反応により検討した結果を示すと第11表のようであった。

第9表 腐敗9か月血液（AB型）の抗原希釈吸収試験

血清希釈倍数	抗原 (腐敗血液) 希釈倍数									
	α 血清					β 血清				
	4	8	16	32	対照	4	8	16	32	対照
1	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
2	-	-	±	+	++	-	-	±	+	++
4	-	-	-	±	+	-	-	-	±	+
8	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第10表 腐敗9か月血液（O型）の抗原希釈吸収試験

血清希釈倍数	抗原 (腐敗血液) 希釈倍数									
	α 血清					β 血清				
	4	8	16	32	対照	4	8	16	32	対照
1	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第11表 血液はん（A型）量の凝集阻止反応に及ぼす影響

血液 (No.)	腐敗期間 (日)	血液はん量	吸収α血清希釈倍数					吸収β血清希釈倍数				
			1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
			(対照)+++	++	+	±	-	+++	++	+	±	-
1	246	{ 1/4 1/8	±	-	-	-	-	+++	++	+	±	-
			+	±	-	-	-	+++	++	+	±	-
2	246	{ 1/4 1/8	+	±	-	-	-	+++	++	+	±	-
			++	+	±	-	-	+++	++	+	±	-
24	210	{ 1/4 1/8	±	-	-	-	-	+++	++	+	±	-
			+	±	-	-	-	+++	++	+	±	-

第11表の成績も血液はん量を適当に少なくして用いれば、型判定可能であることを示している。しかし、血液No. 2のように血液はん量を半減すれば、対照に比し1~1.5段階の凝集阻止となり、いわゆる型判定の確実性（2段階以上）を期し難くなる例があった。

4. 総括及び考察

型物質に抗原性のあることは古くから知られており、抗原性を示す物質の一つの条件としてその物質が高分子化合物であることがあげられている。

Sela *et al.*¹³⁾によれば、分子量約4000程度のペプチドに抗原性が認められると言い、小島¹⁴⁾は、一応、この位の分子量が抗原性を示すために最低必要であろうと評している。

さて、型物質の分子量は非常に大であるらしく、Aminoff *et al.*¹⁵⁾はA型物質の分子量を26万と述べているが、最近の浜井ら¹⁶⁾の報告によれば、型物質の分子量は更に大きく、ヒトの卵巣のう腫液から得られたA型物質及びB型物質の分子量は、B型の1画分(130万)を除

いて、いずれも200~300万に達している。一般にタンパク質等にみられるように、生化学的高分子化合物は腐敗に対し不安定なものが多い。従って、上記のような大きな分子量を示す型物質も、一応、腐敗下において容易に分解し、型特異性を示さなくなるものと推定される。特に型物質破壊酵素の存在が報告されるに及んで、その感を強くするところである。

然るに、本実験で示されるように、被検流動血は、37° C水蒸気飽和下という極めて腐敗に適した条件下での長期間（8~9か月）腐敗においても、なお凝集反応を型特異的に阻止した。そして、多数の血液例で、凝集阻止力、即ち凝集素価の減弱が対照に比し、Mueller¹⁷⁾のいう2段階、Ponsold¹⁸⁾の提唱する3段階の差としてあらわれ、型判定はほとんど確実に行なわれ得た（第1~第4表、及び第7~第9表）。換言すれば、型物質の耐腐敗性は極めて大なることが認められた。しかし、一方、腐敗血液を頻回に採取して乾血はんを作製する場合には、採取に際して、腐敗を進行せしめるような要因が加わるらしく、経時的に緩慢ではあるが型物質の検証が難しくなるような傾向があった（第5表）。

以上の成績からすれば、型物質破壊酵素（菌）が比較的高密度に型物質に作用しない限り、型物質は型特異的に凝集素を吸収する程度の分子量で存在するものと思推される。しかし、本実験でみられるように、普通の腐敗条件下では型物質破壊酵素（菌）の比較的高密度の作用はほとんど起らないものと考えられ、その点から型物質は、その手技さえ当を得ておればほとんど半永久的に検証可能であろう。このことは、例えば、鳥谷¹⁹⁾が、約10年の年月を経過し、非常にうすくなっている血判痕からも特別の方法によりその型判定が可能であったという事実、あるいはまた、木村ら²⁰⁾が伊藤博文公が遭難時（明治42年10月26日）に着用していたといわれる肌着の血痕から、約50年を経た昭和34年にトリプシン処理法²¹⁾によりその型判定を行ない得たという事実等、と一致するところである。

しかし、非常に古くなった乾血はんからの型判定が極めて困難であることもよく経験されるところである。このような陳旧性乾血はんからの型判定が困難となる原因の一つは、型物質が上記の如く極めて耐腐敗性のものであることからすれば、多くの場合、型物質の経時的破壊によるものとは考えられず、むしろ、型物質と着衣等ベースとの間に、水素結合や他の化学結合が生じ、この結合により、型物質の抽出に、あるいは型物質と凝集素との間の反応にある種の障害が生ずるものと推察することが妥当かと思料される。

他方、型判定に障害を与えるものの一つとして、非特異的凝集阻止反応がある。これは、乾血はんを試料とする場合、ほとんど観察されないが、肝、肺、あるいは腎等の実質臓器については腐敗の進行とともに、よく経験されるところである。同反応の非常に強い場合には浮遊血球の溶血現象をみることができる。このような臓器による非特異的凝集阻止反応及び溶血現象は、既に古く実験的に瀬戸山²²⁾により指摘されており、また、実務的には松永²³⁾により口演されているところで、前者はエチルアルコール洗浄で、また、後者はエーテル洗浄で、この障害を除去し得るとしている。また、同反応及び溶血現象は、ホルマリン固定臓器からの型判定に際しても起ることが報告されている^{24,25,26)}。

さて、腐敗血液によるこのような非特異的凝集阻止反応及び浮遊血球の溶血現象等の有無をみると、本実験の成績から明らかなように、浮遊血球の溶血現象までには至らなかったが、凝集反応を非特異的に阻止する例が多数認められた。しかし、その阻止力は、上記、瀬戸山²⁴⁾、佐藤²⁵⁾、及び木村ら²⁶⁾の肝、肺あるいは腎等の実質臓器に関する成績に比し、試みられた腐敗期間内では極めて弱く、抗原非対応抗血清の凝集素価の減弱は、対照との差で約半段階程度

であり、強くても約1段階であった(第1～第5表)。このような血液による非特異的凝集阻止反応は、新鮮血ではもち論観察されなかったが、腐敗の進行に従い観察されるようになることから、同反応の原因となるべき物質が腐敗により新しく生成するものと考えられた。これから、同反応の阻止力が被検体量により影響されることは論をまたない。そこで、抗血清に対する腐敗血液(抗原)量を倍数希釈により変化させて、腐敗血液による非特異的凝集阻止反応を検討したところ、血清に対する血液の割合を増大させるほど阻止力は大となり、時には明らかに、凝集素価の減弱が対照に比し1段階以上に及ぶこともあった(第8及び第10表)。この実験成績は、抗血清に対する腐敗血液量が適性比にあることが望ましいことを示している。更に、この適性比の知見を、腐敗血液の乾血はんで検討したところ、上述の成績と略一致する結果を得た。即ち、抗血清に対する乾血はん量が適性比にあれば、凝集反応を非特異的に阻止することによる型判定上の障害はほとんど認められなかった(第11表)。

従って、血液(はん)のみを検体とする型判定試験では、エチルアルコール洗浄あるいはエーテル洗浄等の処理を行なうとともに、抗血清に対する検体量を種種変化させて検査し、その総合的判断のもとに型判定を行なうことが望ましい。しかし、血痕が新しい場合に、アルコール洗浄処理を試みることは、無処理のものに比して、むしろ型判定がやや困難になるのではないかと疑われる口演²⁷⁾のあることにも留意しておきたい。

なお、生体内では型変転がまれに起ることがあるが²⁸⁾、本実験で試みられた腐敗血液ではこのような型変転は認められないようであった。

5. 結 論

実験的に腐敗させた流動血を試料として、その型物質の耐腐敗性を検討し、次の結論を得た。

- 1) 型物質の耐腐敗性は極めて大であり、8～9か月の長期間腐敗(37°C 水蒸気飽和下)においても凝集反応を型特異的に阻止する。
- 2) この阻止力は、多くの場合、凝集素価の減弱で対照に比し1～3段階に及び大略確実な型判定が可能である。
- 3) やや多量の腐敗血液を用いる場合には非特異的凝集阻止反応が多数血液例で認められる。
- 4) 抗血清に対する腐敗血液の割合が適性比にあれば、非特異的凝集阻止反応はほとんど認められない。
- 5) 超音波法は腐敗血液の型判定にも有用である。

なお、最近、藤井孝子博士(山口大学医学部)より腐敗血の型判定を試みておるとの私信に接したことを付記する。

本実験は上野博教授(山口県立医科大学)の御懇厚な御指導によったものである。かく筆に当り深謝の意を表します。

文 献

- 1) Landsteiner, K. and Chase, M. W., *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **32**, 713 (1934/35) .
- 2) Landsteiner, K. and Chase, M. W., *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **32**, 1208 (1934/35) .
- 3) 河西正, 総合医学, **9**, 45 (昭和27年) .
- 4) 河西正, 北海道医学雑誌, **28**, 289 (昭和28年) .
- 5) Iseki, S. and Ikeda, T., *The Gunma Journal of medical Sciences*, **6**, 204 (1957) .
- 6) 井関尚栄, 正木新樹, 柴崎国威, 医中誌, **143**, 64 (昭和34年) .
- 7) 長谷川宗郎, 日法医誌, **13**, 81 (昭和34年) .
- 8) 山本泉, 京都府立医科大学雑誌, **62**, 698 (昭和32年) .
- 9) 小林宏志, 羽熊数夫, 医学と生物, **51**, 73 (昭和34年) .
- 10) 瀬戸山一夫, 北海道医学雑誌, **14**, 838 (昭和11年) .
- 11) 吉田一美, 小野官, 日法医誌, **12**, 850 (昭和33年) .
- 12) 木村孝子, 山口医学, **9**, 1345 (昭和35年) .
- 13) Sela, M., Fuchs, S. and Arnon, R., *Biochem. J.*, **85**, 223 (1962) .
- 14) 小島良平, 科学, **34**, 653 (昭和39年) .
- 15) Aminoff, D., Morgan, W. T. J. and Watkins, W. M., *Biochem. J.*, **46**, 426 (1950) .
- 16) 浜井保名, 木村要, 生化学, **40**, 404 (昭和43年) .
- 17) Mueller, B., *Dtsch. Z. ges. Gerichtl. Med.*, **23**, 40 (1934) .
- 18) Ponsold, A., *Lehrbuch der Gerichtlichen Med.*, 680 (1957) .
- 19) 鳥谷金久, 私信から.
- 20) 木村孝子, 増本寛, 犯罪学雑誌, **26**, 81 (昭和35年) .
- 21) 岸野整, 四国医誌, **7**, 148 (昭和30年) .
- 22) 瀬戸山一夫, 北海道医学雑誌, **14**, 1317 (昭和11年) .
- 23) 松永昭, 日法医誌, **12**, 851 (昭和33年) .
- 24) 瀬戸山一夫, 北海道医学雑誌, **14**, 1350 (昭和11年) .
- 25) 佐藤武正, 長崎医学会雑誌, **27**, 690 (昭和27年) .
- 26) 木村咲子, 鳥谷金久, 藤井孝子, 山口医学, **14**, 27 (昭和40年) .
- 27) 嘉戸昌邦, 中四国法医鑑識懇話会 (第5回) 研究発表会記録, p.11 (昭和33年) .
- 28) 佐々木匡秀, 金田浩, 永尾悦子, 松本和江, 臨床病理, **11**, 619 (昭和38年) .