

諸種脊椎動物の血痕および加熱肝組織片のヒト赤血球型活性と種属鑑別

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8919

諸種脊椎動物の血痕および加熱肝組織片の ヒト赤血球型活性と種属鑑別

金沢大学医学部法医学講座 (主任: 永野耐造教授)

東 哲 之

(昭和56年5月30日受付)

Key words 血液型, 焼けた組織片, 種属鑑別

血痕あるいは組織片が, ヒト由来のものか否か, すなわちその種属を鑑別することは, 法医実務上極めて重要である。現今, 一般に用いられている種属鑑別法の原理は, 動物組織中に存在する種属特異的抗原を免疫学的に証明するものであり, 極めて鋭敏で微量の試料にも適用しうるものである。しかしながら, この種属特異的抗原は物理化学的に不安定で, 特に温熱に対しては非常に弱く, 多く70℃前後の加熱で容易にその特異的抗原性を失う。したがって, 火災現場で発見される乳幼児などの炭塊状の死体, 凝血塊あるいは微小組織片などについては, 従来の方法をそのまま適用し, それらの種属を鑑別することは不可能となってくる。Nagano et al.^{1) (1971)} は, これまでにヒト赤血球型抗原の血清学的熱抵抗性について一連の検討を加え, これらがかなりの耐熱性を有することを明らかにしてきた。一方動物界にはヒト赤血球型諸抗原活性を示す類似物質が広く分布し, さらに種属に見出される抗原活性の種類に差異があることは多くの報告により明らかとなってきた。

したがって著者は, 種々の動物が示すヒト赤血球型抗原活性に着目し, 熱変化した動物組織片の種属鑑別の可能性を検討した。すなわち, 本研究においては, 人間生活に身近な脊椎動物のうち魚類, 両棲類, 哺乳類から8種類, さらに霊長類のうちニホンザルを選び, 合計9種類の動物の血痕および肝組織片のヒト赤血球型抗原活性を個体別に検索した。さらにそれら動物の肝組織片を実験的に加熱し, 熱変化した組織片の保持する種属特異的抗原活性を求めて検索を進めた。

材料および方法

I. 実験対象動物

比較的身近な脊椎動物の中から, アジ, カツオ (魚類), トノサマガエル, ウシガエル (両棲類), ラット, イヌ, ブタ, ウシ (哺乳類), およびニホンザル (霊長類) の9種類を選び, これら諸動物のそれぞれ3あるいは5個体について, 個体別に血液型活性を検討した。なお, ニホンザルは, 北陸産5頭, 南紀産5頭, 計10頭を観察対象とした。

II. ヒト赤血球型抗原活性の種類と抗血清

ABO, MN, Ss, Lewis, P, Rh-Hr, Duffy, Kell およびLutheranの諸式血液型の中からA, B, M, N, Le^a, Le^b, P₁, C, c̄, D, E, e, s̄, k̄, Fy^a, Fy^b およびLu^bの計17種類のヒト赤血球型抗原活性を観察対象とした。

使用抗血清: ヒト抗-A, -B, -P₁, -C, -c̄, -D, -E, -e, -s̄, -k̄, -Fy^a 血清およびクームス血清はOrtho社製, ヒト抗-Le^a, -Le^b 血清はDade社製, ヒト抗-Fy^a, -Lu^b 血清はBiotest社製のものを使用した。また, ウサギ抗-M, -N 血清は岐阜大学医学部法医学教室より分与された分離抗体を使用した。以上の抗血清のうちから別報²⁾のように予備試験で血痕および臓器片に対して特異的な成績が得られるものを選択抽出し, 高力価のものについては適当に稀釈して使用した。

III. 実験材料

1. 赤血球付着ガーゼ: 各動物より採血後, 生食水で3回洗滌し, その血球泥をガーゼ10cm平方当り約

Human-Type Blood Group Activities in Blood Stains and Heated Liver Tissue Specimens of Several Species of Vertebrates and Their Species Identification. **Tetsuyuki Azuma**, Department of Legal Medicine (Director: Prof. T. Nagano), School of Medicine, Kanazawa University.

2 ml を均一になるように塗布し、37℃で乾燥させた。必要に応じ、0.5 × 0.5 cm 平方 (乾燥血痕重量として約 1.5 mg に相当)、あるいはその半分を切り出して血液型活性を検査した。

2. 肝組織片と加熱: 各動物より肝を剔出し、凍結保存した。必要に応じ、その肝を凍結したままで 1.5 mm 立方 (重量約 3~5 mg) に切り出し、これらをガスクロ工業社製高温恒温槽内で、60, 120 および 140℃でいずれも 15 分間温熱に暴露したのち型活性の存否について検索した。

IV. 型活性の検査

Lincoln & Dodd の方法^{3,4)}に準じ、以下のように分離法を適用して型活性を検査した。

1. 感作: 前記試料 (ガーゼ片, 組織片) を、減圧下の試験管内の冷生食水中で約 30 分間浸軟させた。ガーゼ片の場合は生食水を除去后感作し、非加熱および 60℃加熱肝組織片はいずれもガーゼに圧着させ、0.5 cm 平方あるいはその 1/2 のガーゼ片を使用した。120℃以上の加熱では肝組織片が硬化し、ガーゼに圧着不能になるため可及的微細に粉碎し、減圧試験管内生食水中で浸軟したのち、以下のように感作した。すなわち、ABO, MN, Lewis および P 式諸抗血清では室温で、Rh-Hr, S \bar{s} , Kell, Duffy および Lutheran 式の抗血清では 37℃で、いずれも 10 μ l の抗血清を用い、一夜感作した。感作後、冷生食水で 5 回洗滌し、余剰抗体を充分除去した。Rh-Hr, S \bar{s} , Kell, Duffy および Lu-

theran 式の諸抗血清感作時には最終の洗滌液として 100 倍稀釈冷ウシアルブミン液 (以下 Alb 液) を用いた。

2. 解離: 10 μ l の生食水あるいは Alb 液を加え、不完全抗体感作時では 60℃、完全抗体感作時では 52℃でそれぞれ 10 分間解離したのち、直ちにガーゼ片あるいは組織片を除去した。

3. 指示血球: 指示血球はすべて同一の donor から採取した新鮮なものをを用いた。A, B 以外では、可能な限り O 型で且つ目的とする抗原について homozygous な donor を選択した。Rh-Hr, P, Lewis および Kell 式諸抗原活性測定時にはパパイン処理血球を用いた。

すべての実験には剖検時採取した型既知のヒト赤血球、肝組織を陽性および陰性の対照とし、検体対照とともに検討した。

成 績

I. 霊長類以下の数種脊椎動物の血液および肝組織片のヒト赤血球型活性

1. 赤血球付着ガーゼの型活性

アジ, カツオ (魚類), トノサマガエル, ウシガエル (両棲類), ラット, イヌ, ブタおよびウシ (哺乳類) の 8 種類脊椎動物それぞれ 5 個体の赤血球付着ガーゼについて、個体別にヒト赤血球型諸抗原活性を検索した。その成績を表 1 (a) 欄に示している。アジでは、

Table 1. Human-type blood group activities in blood stains and liver tissue specimens of the animals used.

	(a) blood stain*	(b) liver tissue specimen**	(c) activities not detected
jackmackerel	A(5), Le ^a (1)	A(2),	B, M, N, Le ^b , P ₁ , C, \bar{c} , D, E, e,
skipjack	A(4)	none	\bar{s} , \bar{k} , Fy ^a , Fy ^b , Lu ^b
leopard frog	B(5)	A(3), B(1), Le ^a (1), Fy ^a (1)	M, N, Le ^b , C, \bar{c} , D, E, e, \bar{s} , \bar{k} ,
bull frog	B(5)	AB(3), Le ^a (3), P ₁ (3), Fy ^a (1)	Fy ^b , Lu ^b
rat	B(5)	B(3)	M, N, C, E, e, \bar{s} , \bar{k} , Fy ^a , Fy ^b ,
dog	AB(4), B(1), Le ^a (1)	AB(3)	Lu ^b
hog	AB(4), P ₁ (1)	AB(3), Le ^a (1), Le ^b (2)	
cattle	AB(5)	AB(3), \bar{c} (3), D(2)	

*Five or **three animals of each species were tested individually. Numerals show the number of positive individuals.

全例 A 活性, うち 1 例には Le^a 活性も認められた. カツオでは 4 例に A 活性のみが認められた. トノサマガエルおよびウシガエルでは, 全例に B 活性のみが認められた. ラットでは, 全例に B 活性のみ, イヌでは 1 例のみが B 活性を認め, 他の 4 例は A, B 両活性を示し, うち 1 例は Le^a 活性を併せ認めた. ブタでは, 4 例に A, B 両活性を認め, うち 1 例には P₁ 活性をも認めた. ウシでは, A, B 両活性のみを全例に認め, 他のいずれの活性も認めなかった.

2. 肝組織片の型活性

上記 8 種類動物各 5 個体のうち 3 個体について肝組織片の諸抗原活性を検討した結果は表 1 (b) 欄に示す通りである. すなわち, アジでは 2 例に A 活性のみが認められ, カツオではいずれの活性をも認めなかった. トノサマガエルでは, 全例に A 活性, うち 1 例には B, Le^a および Fy^a 活性を併せ認めた. ウシガエルでは, 全例に A, B, Le^a および P₁ 活性を認め, うち 1 例のみ Fy^a 活性をも併せ認めた. ラットでは, B 活性, イヌでは AB 活性がそれぞれ全例に認められた. ブタでは, 全例 AB 活性を認め, うち 1 例に Le^a, 2 例に Le^b 活性がそれぞれ認められた. ウシでは, A, B および c 活性が全例に, うち 2 例には D 活性も併せ認められた.

すべての使用動物の赤血球付着ガーゼおよび肝組織片のいずれにも認められなかったヒト赤血球型諸抗原活性を表 1 (c) 欄に示している. すなわち, アジ, カツオ (魚類) では, B, M, N, Le^a, P₁, C, c, D, E, e, s, k, Fy^a, Fy^b および Lu^b などの諸活性は認められていな

い. トノサマガエル, ウシガエル (両棲類) では, M, N, Le^b, C, c, D, E, e, s, k, Fy^b および Lu^b などの諸活性は認められていない. ラット, イヌ, ブタ, ウシ (哺乳類) では, M, N, C, E, e, s, k, Fy^a, Fy^b および Lu^b などの諸活性が全く認められなかった. すなわち, 以上 8 種類脊椎動物の赤血球および非加熱肝組織片で, いずれの種類およびいずれの個体にも認められなかった諸活性は, M, N, C, E, e, s, k, Fy^a および Lu^b であった.

3. 肝組織片の加熱と型活性

前項で使用した肝組織片の一部を, 60, 120 および 140 °C で 15 分間加熱した場合の諸活性の残存について同様に検索した成績を表 2 および 3 に示している. アジでは, 140 °C 加熱でも 2 例に A 活性が認められた. カツオでは, いずれも何らの活性をも示さなかった. トノサマガエルでは, 1 例に AB 活性が 140 °C 加熱まで認められ, 他の 2 例は A 活性のみがそれぞれ 60 および 120 °C 加熱まで認められた. また, そのうち 1 例には Le^b 活性が 60 °C 加熱まで併せ認められた. ウシガエルでは, 2 例に A, Le^a および P₁ 活性が併せ認められたが, すべて 120 °C 加熱までに失活した. また, 2 例に認められた B 活性のうち 1 例は 140 °C 加熱後も認められた. 1 例のみではあるが Fy^a が 60 °C 加熱で弱陽性を示す個体もあった. ラットでは, B 活性のみが 140 °C 加熱まで全例に認められた. イヌでは, A 活性が 60 °C 加熱で 2 例, B 活性が 60, 120 および 140 °C 加熱までそれぞれ 1 例ずつ併せて認められた. ブタでは, AB 活性

Table 2. Effect of heat on the blood group activities in liver tissue specimens of the animals used (I)

heated at (°C) (for 15 min)		Control				No. 1			No. 2			No. 3		
		(positive)			(neg.)									
		60	120	140	60	60	120	140	60	120	140	60	120	140
Jackmackerel	A	++	++	++	-	++	+	+	+	+	+	-	-	-
	A	++	++	++	-	++	++	+	++	-	-	++	+	+
leopard frog	B	++	++	++	-	+	++	+	-	-	-	-	-	-
	Le ^b	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
bull frog	A	+	+	+	-	-	-	-	++	-	-	++	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	++	+	-	++	-	-
	Le ^a	+	+	-	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-
	P ₁	+	-	-	-	-	-	-	++	-	-	++	-	-
	Fy ^a	+	+	+	-	w+	-	-	-	-	-	-	-	-

w+: Microscopically visible agglutination.

がいずれも2例ずつ140℃加熱まで陽性を示し、Le^aおよびLe^b両活性は2例および1例ずつ60℃加熱まで陽性であった。ウシでは、A活性が1例のみ60℃加熱まで陽性、残り2例は120℃加熱まで陽性を示した。B活性は全例とも140℃加熱まで陽性を示した。その他c̄およびD活性が3例および2例に60℃加熱まで認められた(表3)。

II. ニホンザルの血液および肝組織片のヒト赤血球型活性

1. 赤血球付着ガーゼの型活性

北陸産ニホンザル(福井県下で捕獲)5頭および南紀産のもの(和歌山県下で捕獲)5頭、計10頭のヒト赤血球型活性について個体別に検索した成績を表4に示す。すなわち、北陸産5頭のうち、全例にE活性を認め、そのうち3例にD、2例にB、M、Le^aおよびLe^b活性を併せ認め、そのうち1例のみFy^b活性をも認めた。南紀産5頭のうち、4例にBおよびM活性を認め、そのうち3例にD活性を認め、それぞれ1例ずつでは

Table 3. Effect of heat on the blood group activities in liver tissue specimens of the animals used (II)

	heated at (°C) (for 15 min)	control			60	No. 1			No. 2			No. 3		
		(positive)				(neg.)	60	120	140	60	120	140	60	120
rat	B	++	++	++	-	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	A	++	++	++	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
dog	B	++	++	++	-	++	++	++	+	-	-	++	++	-
	A	++	++	++	-	++	+	++	+	-	-	++	-	+
hog	B	++	++	++	-	++	++	++	++	++	+	++	-	+
	Le ^a	+	+	-	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-
	Le ^b	+	+	+	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
cattle	A	++	++	++	-	++	++	+	+	-	-	++	+	w+
	B	++	++	++	-	++	++	++	++	+	+	++	++	+
	c̄	+	-	-	-	w+	-	-	+	-	-	++	-	-
	D	+	-	-	-	w+	-	-	-	-	-	w+	-	-

w+: Microscopically visible agglutination.

Table 4. Human-type blood group activities in blood stains of Japanese macaques used.

macaques from	activities detected	activities not detected
<u>Hokuriku district</u>	B(2), M(2), Le ^a (2), Le ^b (2), D(3), E(5), Fy ^b (1)	A, N, P ₁ , C, c̄, e, s̄, K, Fy ^a , Lu ^b
<u>South Kinki district</u>	A(1), B(4), M(4), Le ^a (1), Le ^b (1), P ₁ (1), C(1), c̄(1), D(3), E(1), Fy ^b (1)	N, e, s̄, K, Fy ^a , Lu ^b

Five macaques were tested individually.
Numerals show the number of positive individuals.

あるが、A, Le^a, Le^b, P, C, \bar{c} , E および Fy^b などの諸活性が5個体中に散在して認められた。

すなわち、合計10頭のニホンザルの血液中に認められなかったヒト赤血球型活性は、N, e, \bar{s} , \bar{k} , Fy^a および Lu^b などであった。

2. ニホンザル肝組織片の型活性

前項の南紀産ニホンザル5頭の肝組織片の型活性を検索した成績を表5に示す。すなわち、全例ともB活性が認められたが、そのうちの4例にMおよびLe^b活性が併せて認められ、また5例中3例に \bar{c} およびD活性、2例にP₁およびE活性、1例にA活性がそれぞれ重複して認められた。

5頭中いずれの個体にも認められなかった型活性は、N, Le^a, \bar{c} , e, \bar{s} , \bar{k} , Fy^a, Fy^b, および Lu^b などであった。

3. ニホンザル肝組織片の加熱と型活性

前項で使用したニホンザル5個体の肝組織片の残部を60, 120 および 140 °C 15分加熱したのち、これらの型活性の残存について検索した結果を表6, 7 および 8

に示す。すなわち ABO 式では、B 活性が 140 °C 加熱でも 4 例に認められたが、A 活性はいずれの個体にも認められなかった。MN 式では、M 活性が 60 °C まで 2 例、120 °C まで 1 例それぞれ陽性であったが、N 活性はいずれの個体にも認められなかった。Lewis 式では、Le^b 活性が各 2 例ずつ 60 および 120 °C まで、また 1 例のみが 140 °C 加熱でも陽性であった。P 式では P₁ 活性が 60 °C 加熱で 1 例のみ陽性であった(表6)。Rh-Hr 式では、 \bar{c} および e 活性はいずれの個体にも認められなかった。C 活性は 60 °C で 1 例に、D 活性は 60 および 140 °C 加熱で各 1 例ずつに認められ、E 活性は 60 °C 加熱で 1 例のみ陽性であった(表7)。

その他、S \bar{s} , Kell, Duffy および Lutheran 式のうち、 \bar{s} , \bar{k} , Fy^a, Fy^b および Lu^b 活性について検索したが、全例ともいずれの加熱条件下では何らの活性をも示さなかった(表8)。

考 察

法医学的種属鑑別には主として血清学的方法が用い

Table. 5. Human-type blood group activities in liver tissue specimens of Japanese macaques used

activities detected: A(1), B(5), M(4), Le^b(4), P₁(2), C(3), D(3), E(2)

activities not detected: N, Le^a, \bar{c} , e, \bar{s} , \bar{k} , Fy^a, Fy^b, Lu^b

Five macaques from South Kinki were tested individually. Numerals show the number of positive individuals.

Table. 6. Blood group activities in heated liver tissue specimens of Japanese macaques used. (I)
- ABO, MN, Lewis, and P systems -

heated at (°C) (for 15 min)	control (human liver)				No. 1			No. 2			No. 3			No. 4			No. 5		
	(positive)		(neg.)		60	120	140	60	120	140	60	120	140	60	120	140	60	120	140
	60	120	140	60															
A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	+	+	+	+	+	w+	+	+	-	w+	w+	w+	+	+	w+
M	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
N	+	w+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Le ^a	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Le ^b	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-
P ₁	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

w+: Microscopically visible agglutination.

Table 7. Blood group activities in heated liver tissue specimens of Japanese macaques used. (II)
- Rh-Hr system -

heated at (°C) (for 15 min)	control (human liver)		No. 1			No. 2			No. 3			No. 4			No. 5				
	(positive)		(neg.)																
	60	120	140	60	60	120	140	60	120	140	60	120	140	60	120	140	60	120	140
C	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
\bar{c}	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	+	-	-	-	-	-	-	w+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	w+
E	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
e	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

w+: Microscopically visible agglutination.

Table 8. Blood group activities in heated liver tissue specimens of Japanese macaques used. (III)
- Kell, Duffy, S \bar{s} , and Lutheran systems -

heated at (°C) (for 15 min)	control (human liver)		No. 1			No. 2			No. 3			No. 4			No. 5				
	(positive)		(neg.)																
	60	120	140	60	60	120	140	60	120	140	60	120	140	60	120	140	60	120	140
\bar{s}	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
\bar{K}	w+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fy ^a	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fy ^b	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lu ^b	+	w+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

w+: Microscopically visible agglutination.

られ、原理的には動物個体に由来するタンパク性抗原の種属特異性に基づいて行なわれ、nativeな材料では極めて鋭敏に且つ正確に種属鑑別しうようになってきた。しかしながら、この種属特異性抗原は温熱に対して極めて不安定で、その特異性や抗原活性を容易に失なう。したがって、高度焼損死体や熱変化した組織片については、これら免疫血清学的諸法を適用することは極めて困難か、もしくは不可能なことが多い。永野らは高度焼損死体の個人識別の観点から、血液型物質の血清学的熱抵抗性について一連の研究を行い、ヒト赤血球諸抗原は血清学的にかなりの耐熱性を有することを明らかにしている。また実際に、ホテル火災に

よる複数の高度焼損死体から血液型を判定し、個人識別に応用している⁵⁾。これらの事実は焼けた組織片の種属鑑別上、重要な事柄を示唆している。すなわち、ヒトにのみ存在する特異的な赤血球型抗原を見い出せば、焼けた組織片の種属鑑別上の問題点は一挙に解決されるはずである。しかしながら、このような熱に安定なヒト特異的な赤血球型抗原は今なお発見されておらず、またこのような観点からの系統的研究は、これまで全く行われていない。

著者はこのような意味をも含めて、現今の一般的免疫学的方法を適用しえないほどに焼けた組織片の種属鑑別の観点から、以下のように検索を進めた。すなわ

ち、ニホンザルを含む数種脊椎動物の赤血球および肝組織片を対象として、17種のヒト赤血球型活性の存否についてまず検索し、次いでこれら諸動物の肝組織片を加熱し、型活性の残存の有無について検討した。

1. 霊長類以下の数種脊椎動物の赤血球および肝組織片のヒト赤血球型活性.

1. 赤血球附着ガーゼの型活性

表1(a)に示すように、アジ、カツオ(魚類)、トノサマガエル、ウシガエル(両棲類)、ラット、イヌ、ブタ、ウシ(哺乳類)などの血球には、AあるいはBのいずれか、または両活性を有する個体が多く認められている。また、これら動物のうち、たとえ1個体あるいは一部の試料にでも認められた型活性には、A、Bのほかにも Le^a および P_i 活性があった。逆に、M、N、 Le^b 、C、 \bar{c} 、D、E、e、 \bar{s} 、 \bar{k} 、 Fy^a 、 Fy^b および Lu^b 活性はいずれの種類およびいずれの個体においても認められなかった。 Le^a 活性は一部霊長類動物あるいはウシの血液や唾液中に認められている⁹⁻¹¹⁾が、イヌや魚類のLewis式血液型活性に関する報告はみあたらない。上記のように本実験ではイヌはもちろん、魚類にも Le^a あるいは少くとも Le^a 様活性が少数例ながら認められたことは、Lewis式血液型類似抗原もまた、自然界にかなり広く分布している可能性があることを示しており、今後の問題として興味深い。

2. 肝組織片の型活性

本研究で使用した動物の非加熱肝組織片には、表1(b)に示すように種々の活性が認められた。すなわち、カツオを除くすべての種類およびすべての個体にAまたはBあるいはAB活性が認められた。また、ウシガエルの全例に Le^a および P_i 活性、ウシの全例に \bar{c} 活性が認められ、その他の種類の一部の個体には、 Le^a 、 Le^b 、Dあるいは Fy^a 活性を併せ有するものがあつた。

すなわち、肝組織片では血痕で証明されなかった Le^a 、 Le^b 、 Fy^a 、Dおよび \bar{c} の諸活性が、カエル、ブタおよびウシの一部個体の肝に認められている。本研究では非特異的反応を極力チェックしながら実験を進めている。したがって、これらの諸活性は組織内血液由来の活性以外、肝細胞自身あるいは血管内皮細胞などに由来するものも含まれている可能性が充分存在するものと考えられる。しかしながら、一般に組織片は免疫血清学的には極めて複雑な構成物であるため、予想しえない他の抗原活性などがあることも充分考慮しなければならない。いずれにしても、これらの成績よりそのまま自然界の動物に分布するヒト赤血球型物質、あるいはその類似物質の存在を示しているという結論を即断的に下すことはもちろん不可能なことである。し

かしながら、ここで重要なことは、本研究はこれら動物組織にみられるヒト赤血球型類似抗原そのものの究明を目的とするものではなく、あくまでも、種属鑑別上の観点から、型活性の存否について探究しているものである。したがって、法医実務上日常的に用いられている解離法を適用して、被験動物組織片が、ある血液型抗体に陽性に反応すれば、その反応の本態がいずれであろうと、もはやその抗原を種属鑑別に用いることはできないということになる。このような意味において、本研究に用いた霊長類以下の脊椎動物の血液および肝組織片に認められたヒト赤血球型抗原活性には、A、B、 Le^a 、 Le^b 、 P_i 、 Fy^a 、Dおよび \bar{c} などがあげられ、それらをそのまま種属鑑別に利用することはできない。逆にこれら被験動物のいずれの種類およびいずれの個体にも認められなかった抗原活性には、M、N、C、E、e、 \bar{s} 、 \bar{k} 、 Fy^b および Lu^b などがあげられる。

3. 肝組織片の加熱と型活性

前項の実験に用いた肝組織片の一部を加熱したのち、認められた型活性は表2および3に示されている。AおよびB活性は、ウシガエルとイヌのA活性を除き、すべて対照ヒト肝組織片と同様140℃加熱でも充分残存していた。本成績を西谷⁹⁾の加熱ヒト肝、永野らの塗沫血球標品および前田¹²⁾のヒト赤血球附着ガーゼを用いた実験成績などと比較すると、これら動物肝組織片のABO式血液型活性も、ヒトのそれと同様、熱に対して安定であることが判明した。しかしながら、被験動物一部の種類や、一部の個体の非加熱赤血球または肝組織片に認められた Le^a 、 Le^b 、 P_i 、 \bar{c} 、Dおよび Fy^a などの諸活性は、いずれも60℃加熱の場合にのみ認められ、120℃加熱ではすべて完全に失活していた。一方、陽性対照としてのヒト肝組織における Le^b および Fy^a は140℃加熱でもなお充分に活性を示していた。

これらの事実は、被験動物の一部の肝組織片に認められたABO式以外の型活性は、ヒト肝組織片とは異なり、熱凝固した肝組織片ではもはや認められなくなることを示している。すなわち、霊長類以下の脊椎動物では、肝組織片に解離法を適用すると、ABO式をはじめ上記のような種々の型活性が認められるものの、ABO式以外の諸活性は加熱によって容易に失活することが確認された。

MおよびN活性は、一般に霊長類以下の動物には認められないといわれている¹³⁾が、本研究においても、いずれの種類およびいずれの個体にも、これらの活性を認めなかった。その他、 \bar{s} 、 \bar{k} 、 Fy^b 、 Fy^b および Lu^b 活性も認めていない。したがって、焼けて熱変化した動物肝組

織に、A, B, O (H) 活性と M, N あるいは MN などの活性が認められれば、少くとも霊長類以下の動物種属は否定され、“ヒトかサルか”ということができよう。

一般に法医学的種属鑑別上、ヒトと近縁関係にある霊長類との鑑別には多くの問題点がある。本研究では動物の入手の都合もあり、霊長類の中でも本邦に多く生息し、進化程度も中等度と見なされているマカカ属のニホンザルを対象を選び、以下のように検索した。

II. ニホンザルの赤血球および肝組織片のヒト赤血球型活性

1. 赤血球付着ガーゼの型活性

北陸産および南紀産それぞれ5頭、計10頭では、表4に示すように、B, M および D 活性が、ほとんどすべての個体に認められている。さらに、A, Le^a, Le^b, P₁, C, \bar{c} , E および Fy^a などの諸活性も少数例ながら認められている。すなわち、いずれの個体にも認められなかった型活性は、N, e, \bar{s} , \bar{k} , Fy^a および Lu^b 活性であった。

霊長類のヒト赤血球型活性についてはかなり以前から ABO 式および MN 式をはじめ、多くの血液型活性についての報告がある。ABO 式では、類人猿以下の下級サル (New world および Old world monkey など) では、A または B 抗原のみが証明されており、類人猿 (anthropoid apes) になると、A, B, O (H) あるいは AB 抗原が認められている¹⁴⁾⁻¹⁹⁾。MN 式血液型では、M 活性が証明されたという報告²⁰⁾⁻²²⁾はみられるが、著者の知る限りでは、N 活性を認めた報告は現在なお見当たらない。類人猿においても N 活性が現在でもなお認められていないことは、種属鑑別上甚だ有利な意味をもつものと考えられる。Rh-Hr 式血液型では、特に霊長類動物において多くの報告²³⁾⁻²⁵⁾がかなり以前からみられる。このことは、本血液型発見の由来を顧慮すれば充分理解されることである。その他、Kell 式の K 抗原や Duffy 式の Fy^a 抗原などの活性もチンパンジーに証明されている²⁶⁾。このような従来の諸報告にみられる成績と本実験で得られたニホンザル血球でみられた成績とはよく一致している。しかしながら、これら霊長類動物にみられた M あるいは Rh-Hr 式血液型抗原活性などが、本質的にヒトのそれらと同一のものであるかはむしろ疑問であり、これらの識別は将来の課題であろう。

2. ニホンザル肝組織片の型活性

表5に示すように、ニホンザルの肝組織片には、上記血痕の場合と同じく、全例に B 活性、一部の個体に A, M, Le^a, P₁, C, D および E などの活性が認められた。

以上、北陸産および南紀産ニホンザルの血痕あるいは肝組織片に認められた型活性には著明な相違は認められないことが判明した。すなわち10頭のニホンザル血球、うち5頭の肝組織片の一部にでも認められたヒト赤血球型抗原活性は、A, B, M, Le^a, Le^b, P₁, C, \bar{c} , D, E および Fy^a があげられる。したがって、これら被験ニホンザルのいずれの個体いずれの肝組織片にも、N, e, \bar{s} , \bar{k} , Fy^a および Lu^b の諸活性は認められていない。したがってこれらの諸活性は、“ヒトかサルか”についての種属鑑別上注目すべきものである。

3. 肝組織片の加熱と型活性

南紀産ニホンザル5頭およびヒト肝組織片を加熱したのちのヒト赤血球型活性を表6,7および8に示している。被験ニホンザル全個体の肝組織に認められた B, M および Le^b 活性は、140℃15分間加熱したあとでも完全に保持されており、また、D 活性も同様に認められる場合があることも判明した。しかしながら加熱前に認められていた P₁, C および E などの諸活性は120℃加熱によってすでに完全に消失していた。これらの事実は、ニホンザル肝組織片の有する B, M および Le^b 活性は、ヒトのそれらと同様かなり強い熱抵抗性を有していることを示している。また、肝組織中の P₁, C および E 活性は、本質的に熱に不安定なためか、あるいは肝組織中に含まれる抗原そのものが少ないためか、その理由は不明であるが、結果的には熱に対して不安定で、比較的低温度で完全に失活していた。しかしながら同時に、ヒト肝組織のこれらの活性も熱に対し同様の消長を示すため、種属鑑別にこれらの活性を応用することは不可能であることが判明した。

以上、本実験で得られた成績は次のように要約される。霊長類以下の脊椎動物の赤血球ならびに肝組織片が示すヒト赤血球型抗原活性は、A, B が多く、次いで Le^a, Le^b で、まれに P₁, \bar{c} , D なども認められた。しかしながら、この肝組織片を120℃15分加熱すると、A, B 以外の活性は全て消失した。ニホンザルでは、上記活性に加えて、M, C, E, Fy^a および Lu^b などが認められ、肝組織片を140℃15分加熱すると、A, B, M, Le^b および D 活性が保持されていたが、他の活性はいずれも120℃以下で消失した。

すなわち、焼けた肝組織片から、A, B, O (H) 活性のいずれかと同時に、MN, Rh-Hr 式などの抗原活性が認められると、少なくとも霊長類以下の動物種属は否定され、“ヒトかサルか”ということになる。ヒトと霊長類との鑑別には、N, Fy^a, Fy^b, Lu^b, \bar{s} , \bar{k} などの活性の有無が重要な指標を与えるものと考えられる。我が国では、チンパンジー、ゴリラ、オランウータンなど

のいわゆる類人猿 anthropoid apes の生棲は、極めて特殊な状況下でみられるのみである。したがって、焼けた動物組織片から上述のように、もしニホンザル以下の動物が否定されるならば、実務上にはヒト由来のものと考えて差支えないものと考えられる。しかしながら、近年、これら類人猿の血液型、いわゆる Simian-type blood group の研究が活発に行なわれ、例えば、チンパンジーの V-A-B²⁷⁾、C-E-F^{28),29)}、Ii³⁰⁾ System および K³¹⁾ などをはじめ、多くの類人猿特有の血液型が報告されている。したがって、将来これら Simian-type blood group の血清学的熱抵抗性も追求されれば、本研究とも併せて、さらに厳密且つ信頼度の高い種属鑑別も可能になるものと期待される。

結 論

ヒト赤血球型抗原の血清学的熱抵抗性に着目し、焼けた組織片の種属鑑別方法の開発を目的として本研究を行なった。対象動物としては、アジ、カツオ(魚類)、トノサマガエル、ウシガエル(両棲類)、ラット、イヌ、ブタ、ウシ(哺乳類)およびニホンザル(霊長類)を選び、ヒト赤血球型諸抗原のうち、A, B, M, N, Le^a, Le^b, P₁, C, c̄, D, E, e, s̄, k̄, Fy^a, Fy^b および Lu^b の諸活性を観察対象とした。被験動物の赤血球ならびに肝組織片の上記型活性について解離法を適用して個体別に検索し、さらに肝組織片を加熱したのち、同様に型活性を検査した。

I. ニホンザル以下の動物のヒト赤血球型活性

1. 赤血球附着ガーゼおよび非加熱肝組織片で、たとえ1個体にも認められたものをも列挙すると、A, B, Le^a, Le^b, P₁, c̄, D および Fy^a があげられ、いずれの種類にもいずれの個体にも M, N, C, E, e, s̄, k̄, Fy^b および Lu^b の諸活性は認められなかった。

2. 肝組織片を 140℃ 15 分間加熱すると、これらの活性のうち A および B 活性のみ残存し、Le^a, Le^b, P₁, c̄, D および Fy^a の諸活性は 60℃ 15 分間加熱のものみに認められた。

II. ニホンザルのヒト赤血球型活性

1. 赤血球附着ガーゼおよび非加熱肝組織片で、たとえ1個体にも認められた型活性をもすべて列挙すると、A, B, M, Le^a, Le^b, P₁, C, c̄, D, E, Fy^b および Lu^b があげられる。いずれの個体にも N, e, s̄, k̄, Fy^a および Lu^a の諸活性は認められなかった。

2. 肝組織片を 140℃ 15 分加熱すると、B, M, Le^b および D 活性のみ残存し、A, Le^a, P₁, C および E の諸活性は 60℃ 15 分加熱のものみに認められた。

III. 対照ヒト肝組織片の加熱と型活性

1. A, B, M, Le^b, Fy^a および Fy^b の諸活性は 140℃ 15 分加熱後も明らかに、N, Le^a および Lu^a は 120℃ 15 分加熱でも残存した。

2. P₁, C, c̄, D, E, e, s̄ および k̄ の諸活性は 60℃ 15 分加熱のみ認められた。

以上の成績から、次のように考察された。

1. A, B, O (H) あるいは AB 活性のいずれかと、M, N あるいは MN 活性のいずれかが同時に認められると、霊長類以下の動物は否定される可能性が極めて高い。

2. さらに、N, e, s̄, k̄, Fy^a, Fy^b および Lu^b 活性のすべてが併せて認められると、霊長類動物も否定される可能性が極めて高い。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました永野耐造教授に深甚なる謝意を表します。また、終始、種々有益な助言、協力を戴いた田中宣幸、前田均両講師に心から感謝します。抗 M, 抗 N および抗ウサギグロブリン血清を分与して下さった岐阜大学医学部法医学教室勾坂馨教授ならびに本研究を通じて新鮮指示血球の提供者各位に深謝します。

本研究の一部は文部省科学研究費補助(課題番号総合(A) 337024)によった。記して謝意を表する。

なお本論文の要旨は、日本法医学会第1回東海北陸地方会(名古屋)、同第2回中部地方会(名古屋)および第65次日本法医学会総会(神戸)で発表した。

文 献

- 1) Nagano, T., Tsuji, T. & Ieda, K. : Blood group determination of severely charred bodies - The effects of heating on the blood group activity of A, B, AB and O(H) active glycolipids and A and B active glycoproteins. J. Forens. Sci. Soc., 16, 163-168 (1976).
- 2) 前田 均・田中宣幸・東 哲之・永野耐造: 血痕および組織片の解離試験に使用する抗血清の選択. 十全医会誌, 90, 241-249 (1981).
- 3) Lincoln, P. J. & Dodd, B. E. : The application of a micro-elution technique using anti-human globulin for the detection of the S, s, K, Fy^a, Fy^b and Jk^a antigens in stains. Med. Sci. Law, 15, 94-101 (1975).
- 4) Lincoln, P. J. & Dodd, B. E. : The detection of the Rh antigens C, C^o, c, D, E, e and the antigen S of the MNSs system, in blood stains. Med. Sci. Law, 8, 288-295 (1968).
- 5) 永野耐造・辻 力・西谷周一・宮武信夫・峰 敏一・木許隆道: 家屋火災による高度焼損 15 遺体の個

- 人識別の経験. 日法医誌, 25, 253 (1971).
- 6) 大串忠光: カニクイザルの Le^a 型質. 日法医誌, 22, 499 - 514 (1968).
- 7) 長江 大・細田達雄: ウシの Le^a 型質について. 日法医誌, 17, 211 (1963).
- 8) Nakajima, H., Tanaka, T., Nigi, H. & Prychodko, W.: Human-type ABO, MN and Lewis blood groups, and Gm and Inv factors in several species of macaques. *Primates*, 11, 243 - 253 (1970).
- 9) 西谷周一: 加熱組織の血液型と血液型物質の熱抵抗性. 和歌山医学, 22, 161 - 170 (1971).
- 10) Nagano, T., Tsuji, T., Nishitani, S. & Tanaka, N.: Thermo-stability of blood group A- and B- active glycolipids obtained from human red cells. I. Qualitative activity assay of the heated glycolipids. *Jap. J. Legal Med.*, 29, 10 - 17 (1975).
- 11) Nagano, T., Tsuji, T., Okada, T., Tanaka, N., Kimoto, T. & Fujioka, T.: Thermo-stability of blood group A- and B- active glycolipids obtained from human red cells. II. Activity changes after heating the preparations in solid and solution states. *Jap. J. Legal Med.*, 31, 180 - 184 (1977).
- 12) 前田 均: ヒト赤血球型諸抗原の血清学的熱抵抗性 - Rh-Hr, Ss, P, Kell, Lewis, Duffy および Lutheran 式血液型について. 和歌山医学, 30, 197 - 209 (1979).
- 13) Springer, G. F., Desai, P. R., Yang, H. J., Schachter, H. & Narasimhan, S.: Interrelations of blood group M and precursor specificities and their significance in human carcinoma, p179 - 187. In J. F. Mohn, R. W. Plunkett, R. K. Cunningham & R. M. Lambert (ed.), *Human Blood Groups*; Proceedings of the 5th International Convocation on Immunology, Buffalo, N. Y., 1976, S. Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sidney, 1977.
- 14) Landsteiner K. & Miller, C. P.: Serological studies on the blood of the primates. *J. Exp. Med.*, 42, 841 - 873 (1925).
- 15) Socha, W. W., Moor-Jankowski, J., Wiener, A. S., Risser, D. R. & Plonski, H.: Blood groups of bonnet macaques (*Macaca radiata*), with a brief of introduction to seroprimatology. *Am. J. Anthropol.*, 45, 485 - 491 (1976).
- 16) 中嶋八良: ニホンザルの ABO 式および Lewis 式血液型. 日法医誌, 17, 210 (1963).
- 17) Wiener, A. S.: Blood group factors in anthropoid apes and monkeys. I. Studies of a chimpanzee "PAN". *Am. J. Phys. Anthropol.*, 10, 372 - 375 (1952).
- 18) Wiener, A. S., Socha, W. W. & Moor-Jankowski, J.: Homologues of the human A - B - O blood groups in apes and monkeys. *Haematologia*, 8, 195 - 295 (1974).
- 19) Moor-Jankowski, J., Wiener, A. S. & Gordon, E. B.: Blood groups of apes and monkey. I. The A-B-O Blood groups in baboons. *Transfusion*, 4, 92 - 100 (1964).
- 20) Landsteiner, K. & Wiener, A. S.: On the presence of M agglutinin in the blood of monkeys. *J. Immunol.*, 33, 19 - 25 (1937).
- 21) Wiener, A. S.: The agglutinogens M and N in anthropoid apes. *J. Immunol.*, 34, 11 - 18 (1938).
- 22) Wiener, A. S., Gordon, E. B., Moor-Jankowski, J. & Socha, W. W.: Homologues of the human M-N blood types in gorillas and other non-human primates. *Haematologia*, 6, 419 - 432 (1972).
- 23) Wiener, A. S., Gavan, J. A. & Gordon, E. B.: Blood group factors in anthropoid apes and monkeys. II. Further studies on the Rh-Hr factors. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 11, 39 - 45 (1953).
- 24) 上竹正躬: Rh 因子に関する研究. 特にその抗原構造といわゆる不完全抗体について. *犯罪学雑誌*, 22, 91 - 130 (1956).
- 25) Wiener, A. S., Socha, W. W. & Gordon, E. B.: Fractionation of human anti-Rh₀ sera by absorption with red cells of apes. *Haematologia*, 5, 227 - 240 (1971).
- 26) Eyquem, A., Podliachouk, L. & Millot, P.: Blood groups in chimpanzees, horses, sheep, pigs, and other animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 97, 320 - 328 (1962).
- 27) Wiener, A. S. & Moor-Jankowski, J.: The V-A-B blood group system of chimpanzees: A paradox in the application of the 2 × 2 con-

tingecy test. *Transfusion*, **5**, 64-70 (1965).

28) Wiener, A. S., Moor-Jankowski, J., Riopelle, A. J. & Shell, W. F. : Simian blood groups. Another blood group system, C-E-F in chimpanzees. *Transfusion*, **5**, 508-515 (1965).

29) Wiener, A. S., Wisecup, W. & Moor-Jankowski, J. : A "new" simian-type blood factor, L^s, associated with the C-E-F blood group system of chimpanzees. *Transfusion*, **7**, 351-354 (1967).

30) Wiener, A. S., Moor-Jankowski, J., Gordon, E. B. & Davis, J. : The blood factors I and i in primates including man, and in lower species. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **23**, 389-396 (1965).

31) Wiener, A. S., Henly, C., Moor-Jankowski, J. & Gordon, E. B. : Chimpanzee red cell isoantibody of a "new" specificity, Anti-K^s, produced by cross-immunization of chimpanzees with human blood. *J. Immunol.*, **98**, 1011-1014 (1966).

Human-Type Blood Group Activities in Blood Stains and Heated Liver Tissue Specimens of Several Species of Vertebrates and Their Species Identification Tetsuyuki Azuma, Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — *J. Juzen Med. Soc.*, **90**, 517—528 (1981)

Key words: blood groups, burned tissue specimens, species identification

Abstract

From a standpoint of the species identification of severely burned tissue specimens by use of their human-type blood group activities, the blood stains and liver tissue specimens of 9 species of animals; jackmackerel, skipjack (fish), rats, dogs, hogs, cattle (mammals) and Japanese macaques (non-human primates), were examined individually before and after heating at 60, 120 and 140°C for 15 min. The activities of human blood group antigens A, B, M, N, Le^a, Le^b, P₁, C, \bar{c} , D, E, \bar{e} , \bar{s} , \bar{k} , Fy^a, Fy^b and Lu^b were assayed by means of the micro-elution technique.

In the blood stains and liver tissue specimens of the animals used other than Japanese macaques, A, B, Le^a, Le^b, P₁, \bar{c} , D and Fy^a activities were detected and the others were not noted. Among the activities detected in the unheated liver tissue specimens, only A and B activities remained after heating at 140°C, and the other activities completely disappeared after heating even at 120°C.

A, B, M, Le^a, Le^b, P₁, C, \bar{c} , D, E, Fy^a and Lu^b activities were seen in the unheated blood stains and liver tissue specimens of Japanese macaques. In the specimens heated at 140°C, B, M, Le^b and D activities were distinctly demonstrable, and the other activities completely disappeared after heating at 120°C.

Human liver tissue specimens heated up to 120°C retained A, B, M, N, Le^a, Le^b, Fy^a, Fy^b and Lu^b activities, and among these A, B, M, Le^b, Fy^a and Fy^b activities remained distinctly after heating at 140°C.

From the results described above, the following would be considered: 1) When some activities in the ABO-system are detected simultaneously with an activity in the MN-system in a certain thermo-changed tissue specimen, species lower than primates can be excluded as the origin of the specimen examined. 2) When some activities among N, \bar{e} , \bar{s} , \bar{k} , Fy^a, Fy^b and Lu^b antigens are additionally detected in the same specimen, non-human primates are practically eliminated as the origin.