

血痕および組織片の解離試験に使用する抗血清の選択

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/2297/8898

血痕および組織片の解離試験に使用する抗血清の選択

金沢大学医学部法医学講座 (主任: 永野耐造教授)

前 田 均
 田 中 宣 幸
 東 哲 之
 永 野 耐 造

(昭和56年1月31日受付)

Key words 血液型, 血痕, 組織片, 解離試験

血痕, 液体斑あるいは組織片等からの血液型判定は法医学実務上重要な課題の1つである。血痕等からの赤血球型検査法としては, 吸収, 解離, あるいは型的二重結合法等があげられ, これらのうち解離法は, 微量の検体から型判定が可能で, 手技も簡便であるため, ABO式型判定には現在広く利用されてきている。最近MN式をはじめ Rh - Hr, Ss, Kell, Duffy, Kidd, P, Lewis 等諸式の型判定にもその適応範囲が拡大されてきた¹⁾⁻¹⁰⁾。しかしながら, 法医血清学実務上すべての赤血球型判定に本法を駆使してゆくには, まだ幾つかの問題点が残されている。それらのうちの1つは, 対象とする赤血球型抗原の経日的活性変化の点であり, また, 解離試験に適した抗血清が, 日常容易に得られるかという点であろう。血痕の陳旧度と型活性保持の問題については Lincoln ら⁴⁾⁵⁾および著者ら⁹⁾¹⁰⁾がすでに報告している。また, その報告の中で, 我国市販の抗血清 (抗-M, -N, -S, -s, -C, -c, -D, -E, -e, -k, -Fy^a, -Fy^b, -Lu^a, -P₁, -Le^aおよび-Le^b血清) を吟味すれば, 充分本法実用上使用可能なものが得られることを確認し, その成績の一部について紹介している。

一般に血液型判定用として市販されている抗血清は, 血球凝集反応上その特異性が検定されたものである。換言すれば解離試験用の検定はされておらず, 従って本法に使用するには, 特異的成績が得られることを予め確認することが最も重要であろう。

このような意味で今回, 製造元あるいは製造番号の異なる20種類の抗血清が解離試験に使用し得るか, 個々の抗血清の本法適用時の特異性について検討した。

材料および方法

I. 抗血清

免疫抗A (ウサギ由来) および免疫抗B (ヤギまたはヒツジ由来) 血清は東京標準血清K.K. 製, ヒト由来抗Aおよび抗B血清はOrtho社製のものを対象とした。

免疫抗Mおよび抗N (ウサギ由来) は市販のものとしてOrtho社製, および岐阜大学医学部法医学教室から分与をうけた解離抗Mおよび抗N抗体を対象とした。

ヒト由来抗-C, -c, -D, -E, -e, -k, および-Fy^a血清はいずれもOrtho社製, ヒト由来抗Fy^bおよび抗Lu^b血清はBiotest社製のものを対象とした。

ヒト由来抗S血清はDadeおよびOrtho社製のクームス法用抗血清とBiotest社製の食塩水法用抗血清, ヒト由来抗s血清はDadeおよびOrtho社製のクームス法用抗血清を用いた。

抗Le^aおよび抗Le^b血清はDade社製ヒト由来のもの, Ortho社製, および科学警察研究所製の分与をうけた免疫ヤギ血清について検討した。

抗P₁血清はBiotest社製ヒト由来血清および

Selection of Antisera for Blood Grouping of Blood Stains and Tissue Specimens By Absorption-elution Technique. **Hitoshi Maeda, Noriyuki Tanaka, Tetsuyuki Azuma & Taizo Nagano**, Department of Legal Medicine (Director: Prof. T. Nagano), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920.

Ortho 社製免疫ヤギ血清を対象とした。

上記抗血清のうち、比較的高力価(64以上)のもの; 抗-A, -B, -C, -c, -D, -E, -e, -k, -Fy^a, -Fy^b, -Le^a, -Le^bおよび-P₁血清, 並びに抗Mおよび抗N血清については倍数稀釈し, また, 低力価の抗血清; 抗-S, -s, -Jk^a, -Jk^bおよび-Lu^b血清は原液について, それぞれ解離試験における特異性を検討した。

抗血清の稀釈には, 抗-A, -B, -M, -N, -Le^a, -Le^b, -P₁血清は生食水, 抗-C, -c, -D, -E, -e, -k, -Fy^aおよび-Fy^b血清では稀釈アルブミン液を使用した。

クームス血清はOrtho社製, 抗ウサギグロブリン免疫ヤギ血清は抗MN血清の一部と同様岐阜大学医学部法医学教室から分与をうけた。

II. ヒト赤血球および肝組織片付着ガーゼ

1. ヒト赤血球付着ガーゼ

赤血球型既知の供血者から採血し, 4回洗滌後, ガーゼ10cm平方当り血球泥約2mlをできる限り均一に塗布し, 37℃で乾燥させた。本試料0.5cm平方当りの付着乾燥血球重量は約1.3~1.7mg(平均約1.5mg)であった。

2. ヒト肝組織片膠着ガーゼ

剖検時採取し凍結保存した赤血球型既知のヒト肝を約1.5mm立方大(湿潤重量約3~5mg)に細切しガーゼに圧捺膠着後37℃で充分に乾燥させた。

III. 指示血球

指示血球は, 本実験を通じてそれぞれ同一の供血者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型でかつ目的とする抗原についてhomozygousである供血者を選んだ。Rh-Hr式CcDEe, Kell式k, Lewis式Le^a, Le^bおよびP式P₁判定にはパパイン処理血球を用いた。

IV. その他

ウシアルブミン液はOrthoあるいはDade社製のもの100倍稀釈して使用した。パパインはMerkあるいは和光純薬工業社製を用いた。

V. 解離試験

解離試験はLincolnら⁴⁾⁵⁾の方法に準じた。

i) 感作: 0.5cm平方(A, B, M, Nでは1/2)の検体を試験管内に入れ, 稀釈アルブミン液(A, B, M, N, Le^a, Le^b, P₁および食塩水法用抗S血清については生食水, 以下同様)に室温で約30分間充分に浸漬したのち余分の液を除去後, 抗血清20μlを加え至適温度で一晩感作した。

ii) 洗滌: 冷生食水で5回, 最後に冷稀釈アルブミン

液(あるいは生食水)で1回洗滌した。

iii) 解離: 洗滌液を完全に除去後, 20μlの稀釈アルブミン液(あるいは生食水)を加え, 60℃(または52℃)で10分間解離し, 直ちに検体を除去した。

iv) 解離抗体の検出: 対応指示血球の0.5%浮遊液20μlを解離液に加え, 至適温度で, C, c, D, E, e, S, s, k, Le^aおよびLe^bは30分間, P₁, Lu^bは1時間, Fy^a, Fy^b, Jk^aおよびJk^bについては2時間incubateした。S, s, k, Fy^a, Fy^b, Lu^b, Jk^aおよびJk^bについてはクームス法を適用, 1000回転1分間遠心し, 肉眼あるいは顕微鏡的に血球凝集の有無を観察した。またMN式では凝集のみられなかった場合には抗グロブリン試験⁶⁾を併用した。

本実験を通じ, すべて陽性, 陰性および検体対照をおき, 特異性を検討した。

成 績

I. パパイン処理血球に対する抗血清の特異性

Rh-Hr式CcDEe, Kell式k, Lewis式Le^a, Le^bおよびP式P₁の各型判定にはパパイン処理血球を用いたが, 今回使用したこれらの諸抗原に対する抗血清のうち, 抗-C, -c, -D, -E, -e, -k, -P₁血清並びにヒト由来抗Le^aおよびLe^b血清はいずれもパパイン処理血球に対しても原液で充分に特異的であった。しかしながら, 免疫ヤギ由来抗Le^aあるいは抗Le^b血清では, それぞれパパイン処理O-Le(a-b+)およびO-Le(a+b-)型血球の両者を凝集させるものがあつた。

II. ヒト赤血球付着ガーゼ解離試験による抗血清の特異性の検討

1. 抗Aおよび抗B血清

ヒト由来市販抗Aおよび抗B血清の原液を使用すると, 陰性対照でもやや強陽性となり(false positive), 4倍および16倍に稀釈すると陽性検体のみの特異的で強い反応がみられた。免疫抗Aおよび抗B血清についてもほぼ同様の成績であったが, ヒト由来のものに較べると同じ力価, 稀釈倍数で反応程度はやや弱い傾向を示した。

2. 抗Mおよび抗N血清

市販抗M血清(ウサギ由来)2種は, 原液においては陽性および陰性検体ともに陽性となり, 2倍稀釈すると特異的であった。市販抗N血清(ウサギ由来)3種のうち1つは2倍稀釈で陽性検体のみが特異的に陽性であったが, 他の2つは稀釈によっても特異性が得られなかった。解離抗Mおよび抗N抗体は2倍稀釈により特異的な成績が得られた。

3. 抗-C, -c, -D, -E, および -e 血清 (表1~5)

抗C血清は製造番号の異なる4種いずれも2倍および4倍稀釈で特異的明瞭な反応が得られ, 16倍に稀釈すると反応が減弱した(表1). 抗c血清は4種とも8倍稀釈まで特異的の反応が強く No.2, 3および4の抗血清では16倍に稀釈して使用しても反応の減弱はみとめられなかった(表2). 抗D血清3種のうちの1つ (No.1) では16倍稀釈まで陰性および検体対照においても弱陽性となり, 32倍および64倍稀釈で特異的に強陽性であった. 他の2種 (No.2および3) は16倍稀釈で特異的であったが, No.2は32倍に稀釈すると反応が減弱した(表3). 抗E血清5種はいずれも2

倍および4倍稀釈で特異的の反応が強くみられたが, 8倍稀釈では反応が減弱あるいは消失した(表4). 抗e血清5種のうちの1つ (No.1) は4倍稀釈までは陰性および検体対照においても弱陽性反応を認め, 8倍に稀釈することにより特異的の反応が得られた. 抗e血清 No.2およびNo.3は4倍稀釈で特異的の強い反応が得られた. 他の3種 (No.2, 4および5) では2倍稀釈で特異性があつたが, 陽性検体での反応が弱く, 4倍以上の稀釈では反応が消失した(表5).

4. 抗Sおよびs血清

抗S血清は, 食塩水法用のもの1種およびクームス法用4種のうちの3種は原液で特異的な成績が得られた.

Table 1. Dilution of anti-C serum and results of absorption-elution tests

serum No.	blood stain used	dilution of antiserum		
		×2	×4	×8
(1)	CcDEē	##	##	n.d
	ccDEE	-	-	n.d
(2)	CcDEē	##	##	n.d
	ccDEE	-	-	n.d
(3)	CcDEē	##	##	##
	ccDEE	-	-	-
(4)	CcDEē	##	##	+
	ccDEE	-	-	-

n.d: not determined.

Table 2. Dilution of anti-c serum and results of absorption-elution tests

serum No.	blood stain used	dilution of antiserum			
		×2	×4	×8	×16
(1)	CcDEē	##	##	##	+
	CCDcc	-	-	-	-
(2)	CcDEē	##	##	##	##
	CCDēē	-	-	-	-
(3)	CcDEē	##	##	##	##
	CCDēē	-	-	-	-
(4)	CcDEē	##	##	##	##
	CCDēē	-	-	-	-

Table 3. Dilution of anti-D serum and results of absorption-elution tests

serum No.	blood stain used	dilution of antiserum				
		×4	×8	×16	×32	×64
(1)	CcDEē	##	n.d	##	##	##
	ccdEE	+	n.d	±	-	-
(2)	CcDEē	n.d	n.d	##	+	±
	ccdEE	n.d	n.d	-	-	-
(3)	CcDEē	n.d	##	##	##	##
	ccdEE	n.d	-	-	-	-

n.d: not determined.

Table 4. Dilution of anti-E serum and results of absorption-elution tests

serum No.	blood stain used	dilution of antiserum		
		×2	×4	×8
(1)	CcDEē	##	##	n.d
	CCDēē	-	-	n.d
(2)	CcDEē	##	##	+
	CCDēē	-	-	-
(3)	CcDEē	##	##	+
	CCDēē	-	-	-
(4)	CcDEē	##	##	##
	CCDēē	-	-	-
(5)	CcDEē	##	##	-
	CCDēē	-	-	-

n.d: not determined.

抗 s 血清 3 種は原液で陽性検体にのみ反応がみられ、検体対照においては陰性であった。

5. 抗 k (Cellano) 血清 (表 6)

Table 5. Dilution of anti- \bar{e} serum and results of absorption-elution tests

serum No.	blood stain used	dilution of antiserum			
		neat	$\times 2$	$\times 4$	$\times 8$
(1)	C \bar{c} DE \bar{e}	≡	n.d	≡	≡
	$\bar{c}\bar{c}$ DEE	+	n.d	±	—
(2)	C \bar{c} DE \bar{e}	n.d	+	—	—
	$\bar{c}\bar{c}$ DEE	n.d	—	—	—
(3)	C \bar{c} DE \bar{e}	n.d	≡	≡	—
	$\bar{c}\bar{c}$ DEE	n.d	—	—	—
(4)	C \bar{c} DE \bar{e}	n.d	+	—	—
	$\bar{c}\bar{c}$ DEE	n.d	—	—	—
(5)	C \bar{c} DE \bar{e}	n.d	+	—	—
	$\bar{c}\bar{c}$ DEE	n.d	—	—	—

n.d : not determined.

Table 6. Dilution of anti-k, anti-Fy^a, and anti-Fy^b sera and results of absorption-elution tests

serum	No.	blood stain used	dilution of antiserum		
			neat	$\times 2$	$\times 4$
anti-k	(1)	k \bar{k}	≡	≡	≡
		unstained gauze	—	—	—
	(2)	k \bar{k}	≡	≡	≡
		unstained gauze	—	—	—
anti-Fy ^a	(1)	Fy(a+b+)	≡	≡	+
		Fy(a-b+)	—	—	—
	(2)	Fy(a+b+)	+	+	+
		Fy(a-b+)	—	—	—
	(3)	Fy(a+b+)	≡	≡	+
		Fy(a-b+)	—	—	—
anti-Fy ^b	(1)	Fy(a+b+)	+	+	+
		Fy(a+b-)	—	—	—
	(2)	Fy(a+b+)	+	+	n.d
		Fy(a+b-)	—	—	n.d

n.d : not determined.

抗 k 血清は検討した 2 種いずれも原液, 2 倍, 4 倍および 8 倍稀釈で陽性検体に明らかな反応がみられ、検体対照においては陰性であった。

6. 抗 Fy^a および Fy^b 血清 (表 6)

抗 Fy^a 血清 3 種はすべて原液, 2 倍および 4 倍稀釈のいずれでも特異的かつ明瞭な反応が得られた。抗 Fy^b 血清の 2 種は原液および 2 倍稀釈において特異的陽性反応がみられた。

7. 抗 Jk^a および抗 Jk^b 血清

抗 Jk^a および抗 Jk^b 血清おのおの 2 種について検討したが、原液を使用しても陽性検体に反応が認められなかった。

8. 抗 Lu^b 血清

抗 Lu^b 血清 3 種につき、原液のままで使用したところ、いずれの血清でも特異的明瞭な反応が得られた。

9. 抗 Le^a および抗 Le^b 血清 (表 7 および 8)

抗 Le^a 血清はヒト由来のもの 2 種と免疫ヤギ血清 4 種につき検討した。ヒト由来抗 Le^a 血清 2 種はいずれも原液および 2 倍稀釈で特異的成績が得られ、4 倍稀釈では反応が消失した。免疫ヤギ血清 4 種のうちの 1 つ (No. 6) は原液および 2 倍稀釈において特異的反応がみられ、4 倍稀釈で反応は消失した。抗 Le^a 血清 No. 3 は、原液では陽性および陰性検体ともに強い反応が

Table 7. Dilution of anti Le^a serum and results of absorption-elution tests

serum No.	source	blood stain used	dilution of antiserum		
			neat	$\times 2$	$\times 4$
(1)	human	Le(a+b-)	≡	+	—
		Le(a-b+)	—	—	—
(2)	human	Le(a+b-)	≡	≡	—
		Le(a-b+)	—	—	—
(3)	goat	Le(a+b-)	≡	+	—
		Le(a-b+)	≡	—	—
(4)	goat	Le(a+b-)	—	—	—
		Le(a-b+)	—	—	—
(5)	goat	Le(a+b-)	+	+	—
		Le(a-b+)	+	+	—
(6)	goat	Le(a+b-)	≡	+	—
		Le(a-b+)	—	—	—

みられ、2倍稀釈すると弱いながら陽性検体のみの特異的となった。No. 5の抗血清では原液および2倍稀釈いずれにおいても陽性検体およびLe(a-b+)型陰性検体の両者に反応陽性であったが、Le(a-b-)型陰性検体においては陰性であった。No. 4の抗血清は、原液を使用しても陽性および陰性検体における反応がともに陰性であった(表7)。

抗Le^b血清はヒト由来のもの2種と免疫ヤギ血清5種について検討した。ヒト由来抗Le^b血清の1つ(No. 1)は原液、2倍および4倍稀釈で陽性検体のみの特異的な強い反応がみられ、8倍稀釈でも特異的に弱陽性であった。No. 2の抗血清は、原液で陽性および陰性検体ともに反応陰性であった。免疫ヤギ由来抗Le^b血清No. 4は原液および2倍稀釈において特異的の反応がみられ、4倍稀釈で反応は消失した。No. 7では原液においてのみ陽性検体に弱い特異的の反応を認めた。No. 3, 5および6の抗血清は、原液、2倍および4倍稀釈いずれにおいても特異的な成績は得られなかった。No. 6では原液を使用した場合Le(a-b-)型陰性対照においても陽性であった(表8)。

10. 抗P₁血清(表9)

Table 8. Dilution of anti-Le^b serum and results of absorption-elution tests

serum No.	source	blood stain used	dilution of antiserum		
			neat	×2	×4
(1)	human	Le(a-b+)	卅	卅	卅
		Le(a+b-)	-	-	-
(2)	human	Le(a-b+)	-	-	-
		Le(a+b-)	-	-	-
(3)	goat	Le(a-b+)	卅	+	+
		Le(a+b-)	卅	+	+
(4)	goat	Le(a-b+)	卅	+	-
		Le(a+b-)	-	-	-
(5)	goat	Le(a-b+)	卅	卅	+
		Le(a+b-)	卅	卅	+
(6)	goat	Le(a-b+)	卅	+	+
		Le(a+b-)	+	+	+
(7)	goat	Le(a-b+)	+	-	-
		Le(a+b-)	-	-	-

抗P₁血清はヒト由来のもの1種と免疫ヤギ血清2種について検討した。ヒト由来抗血清は原液、2倍、4倍、8倍および16倍稀釈においていずれも特異的な成績が得られた。免疫ヤギ血清は2種とも2倍および4倍稀釈で特異性があつた。

III. 実際に解離試験に使用し得た抗血清の力価と稀釈倍数

ヒト赤血球付着ガーゼ解離試験時に特異性の確認された抗血清の力価および解離試験用至適稀釈倍数を表10に示している。表で明らかのように、力価の低い抗血清;抗S(力価8),抗s(力価16)および抗Lu^b(力価16)の諸抗血清も、解離試験に充分使用可能であつた。

IV. ヒト肝組織片膠着ガーゼの解離試験

前述の如く血球付着ガーゼで特異性の確認された抗血清を選び実験に供した。未固定の肝組織膠着ガーゼを検体とし、抗-A, -B, -M, -N, -C, -c, -D, -E, -e, -s, -k, -Fy^a, -Fy^b, -Lu^b, -Le^bおよび-P₁血清を用いて、血球付着ガーゼ片の場合と同様に解離試験を行なつた。その結果いずれの抗血清においても肝組織donorの赤血球型特異的な成績が得られた。但し、一般的に肝組織片膠着ガーゼでは、血球付着ガーゼの場合に較べて、高力価の抗血清を使用した場合、非特異的の反応がやや出現しやすい傾向を経験した。とくに抗-C, -c, -D, -Eおよび-e血清は、血痕の解離試験よりもさらに2倍位稀釈して使用する方が良好な成績が得られる場合も経験された。

考 察

法医血液型学の急速な進歩によって、現在では血痕等から赤血球型をはじめ、血清型、赤血球酵素型までも

Table 9. Dilution of anti-P₁ serum and results of absorption-elution tests

serum No.	source	blood stain used	dilution of antiserum	
			×2	×4
(1)	human	P ₁	卅	卅
		P ₂	-	-
(2)	goat	P ₁	卅	卅
		P ₂	+	-
(3)	goat	P ₁	卅	卅
		P ₂	-	-

Table 10. Titer and dilution of antisera used for absorption-elution tests of blood stains

serum	source	cells used for titration	papain treatment of cells	titer of antiserum	dilution and titer used	
					dilution	titer
anti-A	human	A	not treated	256	× 8~16	16~32
anti-B	human	B	not treated	256	× 8~16	16~32
anti-M	rabbit	M	not treated	64	× 2	32
anti-N	rabbit	N	not treated	16	× 2	8
anti-C	human	CCDēē	treated	1600	× 4	400
anti-c̄	human	c̄c̄DEE	treated	3200	× 8	400
anti-D	human	Cc̄DEē	treated	12800	× 32	400
anti-E	human	c̄c̄DEE	treated	12800	× 4	3200
anti-ē	human	CCDēē	treated	3200	× 8	400
anti-S	human	Ss̄	not treated*	8	neat	8
anti-s̄	human	s̄s̄	not treated*	16	neat	16
anti-k̄	human	k̄k̄	treated*	128	× 2	64
anti-Fy ^a	human	Fy(a+b-)	not treated*	128	× 2	64
anti-Fy ^b	human	Fy(a+b+)	not treated*	128	× 2	64
anti-Lu ^b	human	Lu(a-b+)	not treated*	16	neat	16
anti-Le ^a	human	Le(a+b-)	treated	128	neat~× 2	64~128
anti-Le ^b	human	Le(a-b+)	treated	64	× 2	32
anti-P ₁	human	P ₁	treated	512	× 2	256

* : anti-human globulin (Coombs) test.

判定可能となってきた¹¹⁾。なかでも赤血球型諸抗原は、血清学的にかなり安定であることが明らかにされてきた^{11)・10)・12)・14)}。このことは、微量血痕にも解離法を適用すれば、多くの赤血球型が判定され得ることを示唆している。しかしながらこの際、重要な問題点の1つは、解離法に使用し得る抗血清を容易に入手できるかという点である。三沢¹⁵⁾は血球、血痕、唾液斑等を抗原として解離試験を行い、IgG、IgA、IgM抗体のうちIgG抗体が一般に解離され易く、その際凝集素価の高いもの程好成績を得ている。またプロメリン法凝集素価32以上のIgG抗体を使えば、ヒト臓器(大脳、肝臓および胃)のABO式血液型判定が可能であると述べている。向上²⁾らは解離試験による血痕からのMN式血液型判定用抗血清としては、ウサギ免疫抗M、抗N抗体を解離法により特異的に精製したものが最もよい成績を示すことを報告している。岡田ら¹⁶⁾は血痕のMN式血液型検査に使う抗血清について検討し、抗血清の種類(Lot No.)によって吸着、解離されかたの難易に著差があったと報告している。勾坂ら³⁾は、解離法による血

痕からのMN式血液型検査に、抗Mおよび抗N解離抗体を使用し好成績を得ている。林田⁹⁾によると、血痕について解離法によりE抗原の検査を行い、9種類の抗E血清のうちプロメリン法凝集素価の高い2例だけが再現性のある好成績を示したという。一方、金羽ら¹⁹⁾は、高力価の血清を使用せずとも比較的良好な成績を得ることができたと述べている。Lincolnら¹⁷⁾は抗D血清について、過度に高力価の抗血清を使用すると、陰性対照からの解離液中にも抗体が含まれてくるおそれが増大すると記載している。同氏ら⁴⁾⁵⁾は、解離試験用抗Rh血清について吟味し、また抗s、抗K、抗Fy^a、抗Fy^bおよび抗Jk^a血清を用いて解離試験により血痕の型判定ができることを報告している。解離試験によるLewis式血液型判定について、滝沢ら⁶⁾は、Le(a-b+)型血痕の解離液中に抗Le^aと抗Le^bの両方の凝集素が認められる場合もあったと述べている。

著者ら⁹⁾は、市販の抗血清(抗-M、-N、-S、-s、-C、-c、-D、-E、-e、-k、-Fy^a、-Fy^b、-Lu^b、-P₁、-Le^aおよび-Le^b)

血清)について吟味し、適当な力価に調製すれば、解離試験に充分使用し得ることを確認し、その一部については既に報告したとおりである。

本実験においては、抗血清の製造元あるいは製造番号をさらに増やし、それらについて解離試験により適した抗血清の種類、使用条件等について検索した。その結果以下の成績を得た。

入手した抗-S, -sおよび-Lu^b血清は、低力価ながら原液使用で特異性があり、充分に本法利用可能であった。抗-A, -B, -M, -C, -c, -D, -E, -e, -k, -Fy^a, -Fy^bおよび-P₁血清は高力価で、原液を使用するとしばしば非特異的陽性反応(false positive)がみられた。しかしながら、これらの血清を適度に希釈すればfalse positiveは消失した。すなわち、市販抗-A, -B, -C, -c, -Eおよび-e血清は4~8倍、抗D血清は16~64倍、また、抗-M, -Fy^a, -Fy^bおよび-P₁血清は2倍程度に希釈して用いるとそれぞれ特異的な成績が得られた。市販の抗-N, -Le^aおよび-Le^b血清の多くは本法使用上false positiveあるいはfalse negativeがみられたが、幾つかの異なった製品のなかから選択することにより本法特異性のある血清を得ることができた。抗-Jk^aおよび-Jk^b血清は、今回入手し得たものすべてfalse negativeの成績を示し本法に利用できなかった。

ついで、前述の如く赤血球付着ガーゼ解離試験上特異性の確認された抗血清を用い、以下のように、ヒト肝組織片について解離試験を試みた。細切した未固定のヒト肝組織片をガーゼに圧搾膠着後充分に乾燥させたものを検体として、A, B, M, N, C, c, D, E, e, s, k, Fy^a, Fy^b, Lu^b, Le^bおよびP₁について解離試験を行った。その結果、血球付着ガーゼ片の場合と同様に良好な成績が得られた。このことは、市販抗血清の力価を適切に調整(希釈)し使用すれば、本法により血痕のみならずヒト肝組織片からの赤血球検査が数多くの型活性について可能であることが明らかとなったものといえる。

前述のように解離試験による赤血球型検査においては、使用抗血清の力価が過度に高いと非特異的反応が出現するおそれがあることが指摘されている¹¹⁾。しかしながら低力価に過ぎると微量抗原活性を検出し得ない。また一方、検体の抗原活性部位数の多寡が本法における検出限界に影響¹¹⁾することも考慮しなければならない。さらには組織片を検体とした場合には非特異的反応が出現しやすいことも経験され、実際に本法に用いる抗血清の特異性については使用に先だち充

分に検討する必要があるものと思われた。

結 論

製造元あるいは製造番号の異なる20種類の血液型判定用抗血清について、解離試験使用時の特異性を検討した。さらに、特異性の確認された抗血清を使用し、ヒト血痕および肝組織片からの赤血球型検査への本法応用の可能性を検討した。

1. 市販抗-S, -sおよび-Lu^b血清は原液のままに本法に利用できた。
2. 抗-A, -B, -C, -c, -Eおよび-e血清は4~8倍、抗D血清は16~64倍、また抗-M, -Fy^a, -Fy^bおよび-P₁血清は2倍程度に希釈して使用すれば、それぞれ特異的な成績が得られた。
3. 市販抗-N, -Le^aおよび-Le^b血清の多くにおいてはfalse positiveあるいはfalse negativeがみられたが、幾つかの異なった製品のなかから選択することにより特異性のある血清を得ることができた。
4. 今回入手し得た抗-Jk^aおよび-Jk^b血清ではすべてfalse negativeがみられ本法に適していなかった。
5. 種々の抗血清を適切に選択あるいは調製(希釈)し使用すれば、血痕のみならず、ヒト肝組織片からも解離試験により数多くのヒト赤血球型抗原(A, B, M, N, C, c, D, E, e, s, k, Fy^a, Fy^b, Lu^b, Le^bおよびP₁)が充分検査可能であった。

稿を終るに臨み、供血者各位並びに抗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警教授に厚く感謝致します。

なお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。

文 献

- 1) **Pereira, M.** : The identification of MN groups in dried blood stains. *Med. Sci. Law*, **3**, 268 - 271 (1963).
- 2) 向山明孝・池本卯典・北浜睦夫: 血痕からのMN式血液型判定法について. *科警研報告*, **21**, 195 - 211 (1968).
- 3) 勾坂警・常盤和雄・杉沢文雄・鈴木堅司・松尾亘: 抗グロブリン試験を併用する解離法による血痕からのMN式血液型検査. *日法医誌*, **25**, 103 - 113 (1971).
- 4) **Lincoln, P. J. & Dodd, B. E.** : The detection of the Rh antigens C, C^w, c, D, E, e and the antigen S of the MNSs systems, in Bloodstains. *Med. Sci.*

- Law, 8, 288-295 (1968).
- 5) **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^b antigens in bloodstains. *Med. Sci. Law*, 15, 94-101 (1975).
- 6) **林田良子**: 解離法による血痕の E (rh⁺) 抗原の検査. *科警研報告*, 20, 240-243 (1967).
- 7) **金羽レイ・北浜陸夫**: 血痕からの Rh 式血液型検査法について. *科警研報告*, 21, 212-217 (1968).
- 8) **滝沢久夫・坂井活子・山本茂**: 解離試験による血痕のルイス式血液型検査. *科警研報告*, 30, 201-203 (1977).
- 9) **前田均・西克治・岡崎修治・辻力・田中宣幸・永野耐造**: 乾燥血痕の赤血球型諸抗原活性の経日的変化, *和歌山医学*, 30, 211-218 (1979).
- 10) **前田均・田中宣幸・東哲之・永野耐造**: 乾燥血痕の赤血球型諸抗原活性の経日的変化(続報). *十全医会誌*, 89, 564-570 (1980).
- 11) **Dodd, B. E.** : Some recent advances in forensic serology. *Med. Sci. Law*, 12, 195-199 (1972).
- 12) **Nagano, T., Tsuji, T. & Ieda, K.** : Blood group determination of severely charred bodies ; The effects of heating on the blood group activities of A, B, AB and O (H) Active glycolipids and A and B active glycoproteins. *J. Forens. Sci. Soc.*, 16, 163-168 (1976).
- 13) **岡崎修治**: ヒト血球由来の MN 活性シアロ糖タンパク標品の血清学的熱抵抗性. *和歌山医学*, 30, 187-195 (1979).
- 14) **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).
- 15) **三沢章吾**: 血痕, 体液斑の血液型判定用抗血清の選択. 吸着試験・解離試験及び混合凝集反応における IgM 抗体, IgA 抗体, IgG 抗体の反応態度. *日法医誌*, 22, 431-453 (1968).
- 16) **岡田健夫・中嶋八良**: 血痕の MN 式血液型検査につかう抗血清の検討. *科警研報告*, 23, 111-116 (1970).
- 17) **Lincoln, P. J. & Dodd, B. E.** : An evaluation of factors affecting the elution of antibodies from bloodstains. *J. Forens. Sci. Soc.*, 13, 37-45 (1973).

Selection of Antisera for Blood Grouping of Blood Stains and Tissue Specimens by Absorption-elution Technique. Hitoshi Maeda, Noriyuki Tanaka, Tetsuyuki Azuma, Taizo Nagano, Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920. — *J. Juzen Med. Soc.*, **90**, 241–249 (1981).

Key words: blood groups, blood stains, tissue specimens, absorption-elution technique

Abstract

Twenty kinds of antisera for blood grouping obtained from various sources were tested for their suitability for the absorption-elution technique. Availability of the method for the detection of human red cell antigens in blood stains and tissue specimens was also examined.

Anti-S, $-\bar{s}$ and $-\text{Lu}^b$ sera obtained were able to be used for the purpose without dilution. Anti-A, -B, -M, -C, $-\bar{c}$, -D, -E, $-\bar{e}$, $-\bar{k}$, $-\text{Fy}^a$, $-\text{Fy}^b$ and $-\text{P}_1$ sera were of high titer and often showed non-specific positive reactions (false positives) when used in neat solutions. By adequate dilution of the sera those false positive reactions disappeared; anti-A, -B, -C, $-\bar{c}$, -E and $-\bar{e}$ sera diluted 4~8-folds, anti-D serum diluted 16~64-folds, and anti-M, $-\text{Fy}^a$, $-\text{Fy}^b$ and $-\text{P}_1$ sera diluted 2-folds were specific. In most anti-N, $-\text{Le}^a$ and $-\text{Le}^b$ sera, false positive or false negative reactions were seen, but several specific antisera could be obtained by choice from among those of various lot numbers. No anti-Jk^a and $-\text{Jk}^b$ sera used in this experiment were suitable for the method; all those showed false negative reactions.

By adequate choice or dilution of various antisera, many human red cell antigens; A, B, M, N, C, \bar{c} , D, E, \bar{e} , \bar{s} , \bar{k} , Fy^a , Fy^b , Lu^b , Le^b and P_1 , were detectable not only in blood stains but also in human liver tissue specimens by means of the absorption-elution technique.