

金澤醫科大學法醫學教室

(古畑教授指導)

金澤醫科大學大里内科教授

(大里教授指導)

豚血清ノ同種溶血作用ニ關スル實驗補遺

研究科學生 醫學士 水谷 榮夫

(昭和7年9月22日受附 特別掲載)

目 次

第一章 緒 言	III. 豚血球免疫ニヨル型特异性溶血素ノ産生ニ就テ
第二章 實驗方法	第四章 結 論
第三章 實驗成績	文 獻
I. 豚血液ニハ同種溶血反應ガ存在スルカ	
II. 豚同種血球溶血素ノ熱ニ對スル抵抗	

第一章 緒 言

曩ニ余⁽¹⁾ハ47頭ノ豚血液ニ就テ同種溶血作用ガ存在スルカ否カニ就テ檢索シ、豚血清ニハ同種溶血作用ガ存在シ、且又同種溶血反應ニヨツテ豚血液ハ少クトモ三群ニ分類出來ル事ヲ報告シタ。

本篇ニ於テハ更ニ豚血液ノ例數ヲ追加シテ豚血液ニハ同種溶血反應ガ存在スル事ヲ確證シ、併テ1, 2實驗ヲ試ミタノデ爰ニ報告シ様ト思フ。

第二章 實 驗 方 法

豚血液 豚血液ハ屠場ヨリ得タ。血液採取ニ當リ各頭別ニ採取シテ之ヲ2分シテ一方ハ脱纖維血液トシ、他方ハ凝固スルヲ待ツテ血清ヲ得タ。

血清ハ分離セシメタ血清ヲ更ニ1回遠心機ニ裝置シテ遠心シ、透明ナ血清ヲ得之ヲ其儘使用シタ。

血球ハ脱纖維血液ヲ0.85%生理的食鹽水ニテ數回遠心洗滌シ、沈澱血球ヨリ2.5%血球生理的食鹽水浮游液ヲ作ツタ。

補體 補體トシテ使用スル海溟血清中ニ抗豚血球溶血素ガ含有セラレテキルカ否カノ問題ニ就テハ既報「豚血清ノ同種溶血作用」ニ關スル研究ニ於テ詳細ニ吟味シタ處デアツテ、其際數匹ノ新鮮海溟血清ヲ蒐メテ之ヲ生理的食鹽水ニテ10倍ニ稀釋シテ使用スル時ハ補體トシテ使用シテ何等實驗ニ支障ヲ來サナイ事ヲ認メタノデ本實驗ニ於テハ數頭ノ海溟新鮮血清ヲ蒐メ、生理的食鹽水ニテ10倍ニ稀釋シテ之ヲ補體トシテ使用シタ。

溶血反應術式 血清原液0.5c.c. 血球浮游液0.5c.c. 及補體0.5c.c.ヲ加ヘテ2時間孵卵器ニ收メタ後其ノ溶血反應ヲ檢査シタ。尙又溶血反應ニヨリ出來ルダケ多數ノ血清ト血球トノ組合セニ就テ檢索シタ事ハ前回ト全く同様ナル。

第三章 實 驗 成 績

I. 豚血液ニハ同種溶血反應が存在スルカ

既報ト同様、今回ノ實驗ニ於テモ、或ル一群ノ豚血清ハ選擇的ニ或ル一群ノ豚血球ヲ溶血スルモノガアル事ヲ認メタ。此ノ事實ヲ基準トシテ豚血液ヲ同種溶血反應ニヨツテ三群ニ分類シタ事ハ既ニ述ベタ所デアアルガ、更ニ記憶ヲ新シクスル意味ニ於テ再記スルナラバ

第一群 血球ニ同種溶血素原 A' ヲ有シ、其ノ血清ニハ同種溶血素 α' ヲ含マナイモノ (A' 型)。

第二群 血球ニ同種溶血素原 A' ヲ有セズ、血清ニハ第一群血球ニ對スル同種溶血素 α' ヲ含有スルモノ (O'α' 型)。

第三群 血球ニ同種溶血素原 A' ヲ有セズ、血清ニ同種溶血素 α' ヲ有シナイモノ (O' 型)。

以上三群ニ分類シタ。

余ハ90頭ノ豚血液ニ就テ同種溶血反應ヲ行ヒ之ヲ前述ノ分類ニ從ツテ分類ヲ試ミタ結果

第一群ニ屬スルモノ 34頭デ總數ノ約37%トナツタ。

第二群ニ屬スルモノ 45頭デ總數ノ約50%トナツタ。

第三群ニ屬スルモノ 11頭デ總數ノ約13%トナツタ。

即チ豚血液ニ同種溶血作用ノ存在スル事ハ事實デアアル。余ノ調査シ得タ總數136頭(前報47頭ヲ合算ス)ノ豚血液ヲ敍上ノ方法ニヨツテ分類スル時ハ第一群ニ屬スルモノハ53頭デ約39%、第二群ニ屬スルモノハ約45%、第三群ニ屬スルモノハ16%デアツタ。尙血球ニ同種溶血素原ヲ持ツテキルモノト同種溶血素原ヲ持ツテ居ナイモノトノ比ハ總數137頭ノ中54對83ノ割合デアツテ、又血清ニ同種溶血素ヲ持ツテキルモノト同種溶血素ヲ持ツテ居ナイモノトノ比ハ136頭中61對75ノ割合デアツタ。

II. 豚同種血球溶血素ノ熱ニ對スル抵抗

豚同種血球溶血素ハ63°Cノ溫浴中ニテ30'間加溫スル事ニヨツテ殆ンド破壊サレル事ハ既ニ報告シタ所デアアル(豚血清ノ同種溶血作用ニ就テ、社會醫學雜誌第537號昭和6年10月發行)ガ、更ニ加溫ノ溫度及時間的關係ニヨツテ豚同種血球溶血素ハ如何ニ破壊サレルモノデアアルカ其ノ間ノ關係ヲ詳細ニ究メントシテ本實驗ヲ試ミタノデアアル。

血清ノ加溫方法ハ須藤式溫度調節器ヲ用ヒタ。

溶血反應術式ハ遞降の稀釋血清、2.5%ノ第一群豚血球浮游液(沈澱血球ヨリ製シタモノ)、補體(10倍稀釋海眞新鮮血清)ヲ各0.5c.c.宛採リ、之ヲ攝氏37度ノ孵卵器ニ2時間放置シ、此ノ間時々輕ク振盪シ、次イデ氷室内ニ移シ數時間後ニ其ノ溶血反應ヲ檢査シタ。成績ノ記載ハ卅ハ完全溶血、卅ハ強度ノ溶血、卅ハ中等度溶血、十ハ弱度ノ溶血、±ハ痕跡溶血、—ハ陰性ヲ示スコト、シ、溶血價ハ血清ノ稀釋倍數ヲ以テ表ハシタ。

其ノ成績ハ第1表ニ示シタ様ニ、50°Cデハ2時間加溫スルモノ同種溶血素價ニハ少シモ影響

アルヲ認メナカッタガ56°C30分間ノ加温ニヨツテハ對照ニ比シテ可成リ溶血價ノ低下スル事ヲ認メタ。(此ノ事實ハ曩ニ報告シタトコロデアル)。更ニ2時間ノ加温ニ於テハ大部分破壊セラレ僅ニ2倍稀釋血清ニ於テ溶血ヲ認メル程度デアル。同様ニシテ62°C, 30分間ノ加温ニ於テハ豚同種溶血素ハ大部分破壊セラレ, 63°C, 30分ノ加温ニヨツテハ全ク破壊サレル事ヲ認メタ。即チ豚同種溶血素ハ63°Cノ温浴中ニテ30分間加温スル事ニヨツテ全ク其ノ作用ヲ失フモノデアル。

第 1 表 豚同種溶血素ノ耐熱試驗

温度	加温時間	血清稀釋倍数							温度	加温時間	血清稀釋倍数						
		2	4	8	16	32	64	128			2	4	8	16	32	64	128
50°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	59°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
55°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	60°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
56°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	61°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
57°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	62°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
58°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	63°C	對照	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		30'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		60'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		90'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		120'	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

III. 豚血球免疫ニヨル型特異性溶血素ノ產生ニ就テ

或ル種ノ型ノ血球ヲ以テ他動物ヲ免疫スル時ハ該動物免疫血清中ニ免疫ニ使用シタ血球ノ型ニ應ジテ型特異性免疫抗體ヲ產生スルカ否カト云フ問題ニ就テハ今日人血球ニ就テ試ミラレタ實驗ハ多數ノ業績ヲ見タノデアルガ、動物血球ノ型特異性免疫抗體ノ產生ニ關スル研究ハ至ツテ少ク僅ニ Amsel, Halber u. Hirschfeld⁽²⁾, Halber u. Hirschfeld⁽³⁾ 氏等ニ依ツテ試ミラレタニ過ギナイ。1931年ニ於テ水美登利博士⁽⁴⁾ハ同種血球凝集反應ニヨツテ豚血液ヲ O 型及 A 型ノ 2 型ニ分類シ、O 型豚血清ハ A 型豚血球ヲ凝集シ、A 型豚血球ハ A 型人血球ト共通ナル「レプトール」ノ部分ヲ有スル事ヲ報告シ、且又 O 型及 A 型豚血球ヲ以テ夫々家兎及白鼠ヲ免疫シ、該血球ニ對スル型特異性抗體ヲ產生スルカ否カニ就テ檢索ヲ試ミラレタ處氏ノ實驗範圍ニ於テハ型特異性抗體(溶血素)ノ產生ニハ成功セラレナカツタ。

余ハ曩ニ豚血液ノ同種溶血作用ハ同種凝集反應ト殆ンド全ク一致シテ表ハレル事ヲ報告シタノデアルガ、更ニ該分類ノ第一群(A'型)及第二群(O'型)豚血球ヲ以テ夫々 4 頭ノ家兎ヲ免疫シ型特異性抗體(溶血素)ヲ產生スルカ否カニ就テ檢索シタ。

血球ニヨル免疫操作。

同種溶血反應ニヨツテ豚血液ヲ分類シ、其ノ第一群及第二群血球ヨリ夫々 10%ノ血球生理的食鹽水浮游液ヲ製シ、其ノ 5c.c.ヲ 1 回ノ注射量トシテ、體重 2500 瓦内外ノ成熟家兎ノ耳靜脈内ニ 3 日ノ間隔ヲ以テ 4 乃至 5 回反覆注射シ、最後ノ注射ヨリ 7 日ヲ經テ採血シテ血清ヲ分離シ、之ヲ攝氏 56 度ノ溫浴中ニ 30 分間加温シテ非働性トナシテ實驗ニ供シタ。家兎ハ其ノ血清學的體質ニヨツテ抗原ニ對スル反應能力ヲ異ニシ、血球ノ型特異性抗體ノ產生ニ至大ノ關係ヲ有スル事ハ夙ニ知ラレキルトコロテアル。從ツテ余ハ免疫操作ヲ始メル前ニ、其ノ正常血清中ノ抗體量ヲ測定シ、其ノ結果ニヨツテ家兎ヲ撰擇シ使用シタ。又家兎正常血清ノ第一群及第二群豚血球ニ對スル溶血價ハ家兎ノ個性ニヨツテ相違アル事ハ容易ニ思惟セラレル處デアルガ此ノ點ニ就テハ余ハ免疫ニ使用スル各家兎ノ正常血清ニ就テ第一群及第二群豚血球ニ對スル溶血價ヲ測定シテ之ヲ對照トシタ。

溶血反應術式ハ前實驗ト全ク同様ノ方法ニヨツタカラ茲ニハ省略ス。

吸着試驗 抗血清ノ稀釋液一定量(5 倍稀釋液 2.0c.c.)ニ、之ト等量ノ洗滌血球沈澱ヲ加ヘテヨク混和シ、1 乃至 2 時間室温ニ放置シ、其ノ間時々輕ク振盪シテ混和シ、遠心機ニ裝ツテ其ノ上清ヲ採取シ、之ニ就テ反應ヲ試驗シタ。1 回ニテ當該血球ニ對スル抗體ノ吸着不完全ナ場合ニハ此ノ操作ヲ反覆行ツタ。

即チ第 2 表及第 3 表ニ示シタ如ク、第一群及第二群ノ豚血球ヲ以テ夫々 4 頭ノ家兎ヲ免疫シタ結果、何レノ型ノ豚血球ヲ以テ免疫スルモ免疫後ハ免疫前ニ比シテ著明ニ溶血價ノ上昇シタ事ヲ認メタ。即チ豚血球ニ對シテ種族特異性ノ溶血素ヲ產生スル事ヲ認メタ。

其ノ溶血價ハ最高 10240 倍、最低 1280 倍血清稀釋迄溶血反應陽性ヲ呈スル程度デアツテ尙豚血球ノ型ニ依ツテ溶血價ニハ殆ンド差異ヲ認メナカツタ。

次ニ第二群豚血球ヲ以テ免疫シタ家兎血清 No.33, No.66, No.H-6, No.1 ニ就テ第一群及第二群豚血球ヲ以テ夫々吸着試驗ヲ行ツタ結果ハ第 2 表ニ於テ明カデアル様ニ何レノ型ノ豚血球ヲ以テ吸着試驗ヲ行ツテモ吸着後ノ抗血清ハ毫モ溶血反應ヲ呈シナクナツタ。

次ニ第一群豚血球免疫家兎血清 No.F35, No.C3, No.77, No.C1 ニ就テ前述シタ様ニ第一群豚血球及第二群豚血球ヲ以テ夫々吸着試驗ヲ行ヒ、吸着後ノ抗血清ニ就テ再ビ溶血反應

家兎ノ血清學的體質ガ型特異性抗體ノ產生ニ重要ナル役割ヲ演ズル事ハ本研究ニ於テモ既ニ述ベタトコロデアル。然ルニ該 No. F35 家兎ハ免疫前ノ正常血清ノ各型人血球ニ對スル凝集價ガ A 型人血球ニ對シテハ他ノ O 型及 B 型人血球ニ對スルヨリモ高價ナ凝集價ヲ示シテ居タ事、及第一群豚血球ハ A 型人血球ト共通ナル「レツエプトール」部分ヲ有スル事(水美登利博士⁽⁴⁾及水谷榮夫⁽¹⁾)カラ該型特異性抗體(溶血素)ノ產生スル事ハ證明出來タモノト思フ。尙 No. C3 家兎モ同様ナ性質ヲ有シタモノデアアルガ No.77 及 No. C1 家兎正常血清ハ各型人血球ニ對シテ略同程度ノ凝集價ヲ有スルモノヲ使用シタ。

第四章 結 論

1. 豚血液ニハ同種血球溶血作用ガ存在スル事ハ事實デアアル。而シテ豚血液ハ同種血球溶血反應ニヨツテ少クトモ三群ニ分類スル事ガ出來ル。其ノ分類ノ第一群ニ屬スルモノハ(血球ニ同種溶血素原 A' ヲ有シ、其ノ血清ニ同種溶血素 α' ヲ含マナイモノ)53頭デ總數136頭(前報47頭ヲ合算ス)ノ約39%ニ相當ス。第二群ニ屬スルモノハ(血球ニハ同種溶血素原 A' ヲ有セズ、其ノ血清ニハ第一群血球ニ對スル同種溶血素 α' ヲ含有スルモノ)。61頭デ總數ノ約45%ニ相當ス。第三群ニ屬スルモノハ(血球ニ同種溶血素原 A' ヲ有セズ、血清ニハ同種溶血素 α' ヲ含有シナイモノ)22頭デ總數ノ約16%ニ相當ス。尙血球ニ同種溶血素原ヲ有スルモノト、有セナイモノトノ比ハ總數137頭ノ中54對83ノ割合デアツテ、又血清ニ同種溶血素ヲ持ツテ居ルモノト同種溶血素ヲ持ツテ居ナイモノトノ比ハ136頭中61對75ノ割合デアツタ。

2. 豚同種溶血素ハ攝氏63度ノ溫浴中ニテ30分間加溫スル事ニヨツテ全ク破壊セラレルモノデアアル。

3. 豚血球ヲ以テ家兎ヲ免疫スル時ハ、免疫ニ使用スル血球ノ型ノ如何ヲ問ハズ、該免疫血清中ニハ豚血球ニ對スル種族特異性免疫抗體ヲ產生スル事ハ勿論デアアルガ、同時ニ第一群豚血球(A'型)ヲ以テ免疫セル家兎免疫血清中ニハ吸着試験ニヨツテ第一群豚血球ニ對スル型特異性溶血素ノ產生サレル事ヲ認メタ。其際免疫ニ使用セル家兎ノ正常血清ハ A 型人血球ニ對シテ、O 型及 B 型人血球ニ對スルヨリモ、強ク凝集反應ヲ呈スルトコロノ家兎ヲ使用シタ事及 A 型人血球ト第一群豚血球(A'型)トハ「レツエプトール」ノ共通部分ヲ有スル事ニヨツテ該型特異性抗體ノ產生ハ首肯サレ得ベキモノデアルト信ズルノデアアル。

文 獻

- 1) 水谷榮夫, 豚血清ノ同種溶血作用ニ就テ, 社會醫學雜誌, 第537號, 昭和6年。 2) Amsel, Halber u. Hirschfeld : Zeitsch. f. Immunitätsf., 1925, Bd. 42, S. 369. 3) Halber u. Hirschfeld : Zeitsch. f. Immunitätsf., 1926, Bd. 48, S. 34; 1928, Bd. 59, S. 17. 4) 水美登利, 血球ノ型特異性ニ就テ, 十全會雜誌, 第36卷, 第4號, 昭和6年。