精液斑証明法，特に避妊薬との関連性について

昭和33年11月14日 受付

信州大学医学部法医学教室（主任：野田金次郎教授）
荻原　昭　神田啓道　平岩邦弥

Identification of the siminal stains, especially the influences of anticoncipiens on them

Akira Ogihara, Hiromichi Kanda and Kuniya Hiraiwa
Department of Legal Medicine, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. Kinjiro Noda)

まえがき

精液斑の検査は，法医学的諸検査のうちで最も簡単，且平易である可き筈であるにも不拘，実際の鑑定に当つては，精液に対する種々な附加条件に依て検出率が大きく変動するため，屢々判定に苦しむ事がある。

而も犯罪捜査に於て精液の証明は，血痕検査等と同様重要な手がかりとなる場合が多い。従つて，法医学的精液証明法には，幾多の方法が発表され，それ等の方法の特異性，検出限度等についても又数多くの実験が行われている。

著者らは，最近或る刑事々件の鑑定に当つて，膣内に残存する精液の証明を行う必要に迫られ，特に避妊薬が使用せられていた可能性もあつたので，生体膣内に於て精液と避妊薬の混じた場合に，諸種精液証明法が如何なる影響を受けるかを知るため実験を行つた。

併せて諸種精液検査法について文献的考察を行つたのでこれを報告する。

精液証明法に関する文献的考察

1）螢光法について

衣類や寝具等に飛散した精液斑の状態を検するのに非常に簡単で便利な方法である。被検斑を濾過紫外線で照射すると青白い螢光を放つのが見られる。併し乍ら，精液以外の分泌液（例へば唾液，膣分泌液等）でも同様な発光現象が起るので精液予備検査として行われている。又精液であつても螢光を発しない場合もあり，これは国房[1]により，精液斑の附着している布地の染料の吸収スペクトルの波長が，精液斑の螢光の波長と略等しい場合に起ることが解明されている。

精液を遠心沈澱して精子と液体部分に分けて調べると，螢光を発するのは液体部分であることが知られている（城）[2]。

最近は螢光洗剤の普及がみられるので，布地に残存している場合は，螢光が検しにくい場合もあること考えられる。

2）精子の証明法について

精子自身を検微鏡で検査する方法は，最も古くから行われており，種々の染色法が考案されている。これによつて精子が証明され，他の方法でそれが人間のものであると確認できれば，疑問の被検物は人精液であると断定しうるものである。

染色法には種々のものがあるが，我国ではBaecchi氏法が専ら用いられている。本法は染色液に酸性フクシンと稀メチレンブラウ水溶液を用いるが，之により精子は頭部は赤く，尾部は青く染色される。生のまゝでみるより布の繊維などの間に存するものが分り易くなる。

併し乍ら，生体にあつては，精子は射精後速に膣内より消失し，性交後12時間24乃至時間の間は検出可能であるが，それ以上を経過すれば証明が困難である（松本）[3]。これは性交後精液が女性々器内に存在している喰食細胞や細菌などと混ずると速に融解し，喰食され或は子宮口を通つて子宮内へ游走していくことや，体位変動等に依て膣外へ流出してしまうこと等によるものと考えられる。

屍体膣内にあつては，生体内にある場合より一層その生存乃至存在期間が短いとされ，これは死後膣内の細菌の繁殖が死体現象の一部として速に起り，これらの細菌によつて分解されてしまうためであるとされている（Gonzales）[4]。

又矢田等[5]の生体膣内に於ける血液型的に見た精液の消長に関する実験に於ても，精液の血液型の証明される期間は，4～6時間位で非常に短いと報告されている。

無精子症や，最近の様に男性不妊手術が普及されてきていることを考えれば，精子のみの確認に頼ることは，精液検査として充分でない。

3）化学的証明法について

化学的方法には，古くから行われているフローランス (1896)，バルベリオ (1905) 等の結晶法，比較的最近になつて行われる様になつた酸性フオスフアターゼ法（以下 A. P. 法と略記する），上田等[6]の発表した精液中の Zn を検出する方法，尾関等[7]の発表した精液中の核酸分劃のヂフエニールアミン反応を利用したもの等がある。

結晶法といわれる一群の検査法は，精液の構成々分である Chorin, Spermin, Spermidin 等と反応して，それぞれ特有な形態の結晶を生成する試薬を用いるもので，染色法による精子自身の証明法の検出率の低さを補うために考案されたものである。

1896年ヨード試薬を用いるフローランスの方法が発表されて以来，相次いで，バルベリオ (1905)，ボカリウス (1901)，ブラーネン (1936) 等の方法が発表され，操作も簡易で試薬も安定であるため現在も尚広く精液検査に用いられている。

Palmieri[8]は，これ等の結晶法 (Mikrokrystallographie) と呼ばれる方法は，次の如き精液中の塩基性窒素化合物がそれぞれの試薬と反応して結晶形成に与ると述べている。

1) Cholin $(CH_3)_3{\cdot}N{<}^{CH_2{\cdot}CH_2OH}_{OH}$ 第四級アンモニウム塩フローランス結晶はこのヨード化合物である。

2) Spermin $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$ (鎖状の Tetramin) バルベリオ結晶はこのものゝ difravinate だといわれる。

3) Spermidin $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2$ (鎖状の Triamin)

ニーデルランド試薬による結晶の他はすべて上記の塩基が反応に与るとされている。

Niederland 法の試薬は，その中の稀塩酸が精液中の無機 Ca と結合することによつて結晶を形成し例外である。

Florence の結晶は精液浸出液に試薬を加へると1～2分で出来はじめ生成後1～2時間で消失する。大きいものは長さ 150μ 巾 30μ に及び，特有な褐色板状或は角のある柱状，ランセット形或はそれらの癒合したものがみられる。精液が古くなる程或は稀釈されてうすくなる程結晶は小型になり最も小さいものは長さ 4μ 位で針状を呈してくる（写真参照）。

Barberio の結晶は黄色或は白色の柱状，十字型，星状を呈している。

Puranen の結晶は黄色で斜に交叉した十字形大きさ 100μ 位までゝ，古い精液ではやはり小型となり蝶ネクタイ型を呈してくる。

特異性を検した実験では人の腎肝抽出液各5例中1例に陽性，病的人尿3例に陽性，人膣液，兎豚犬等の動物の精液では陰性（井上）[9]。森島[10]によれば，フローランス法は人の糞尿胎便唾液喀痰汗経血血液膣液子宮分泌液膿汁胃液腹水肋滲液卵黄等各10例づつについて検した結果すべて陰性で，鼻汁10例のうち2例が陽性を呈したといわれる。桜井[11]は人乳血清腹水膣液尿唾液睾丸汁前立腺汁膿汁等各5例づつについて調べ，フローランス法では鼻汁膿汁の各例が陽性で，バルベリオ法ではすべて陰性であつたと報告している。城[2]は精子と液性部分に分けたものでは，精子のみの方には結晶形成はみられず，液性部分が結晶形成に与ると報じている。

次に精液と他の体液或は分泌液とを混じた場合を検討すれば，生理的食塩水で新鮮精液を稀釈していく時，フローランス結晶は 256 倍稀釈，バルベリオ結晶は 8～16倍稀釈まで結晶形成をみるが，同様に尿唾液胃液腹水肋滲液では 256 倍稀釈まで陽性であるが，胎便膣液子宮分泌液喀痰では16倍まで陽性，膿汁経血で稀釈した場合は2倍に稀釈されると辛うじて結晶を認めうる程度であるという。即ち膣分泌液と混じた場合は可成り反応が抑制されることが知られる（森島）[10]。

経時的に精液を検した実験では，14～17°C 室温放置のものでは1～4日迄は結晶形成に変化をみず，以後除々に結晶形成能が低下し，2週間後には全く結晶は形成されなくなる。

0°～4°C 氷室内に置いたものでは2ケ月までは射精直後と変りなく以後除々に弱まり，4ケ月を経たものは全く結晶は形成されない。30～37°C 室温中においたものでは3日にして已に結晶形成がみられなくなる（森島）[10]。

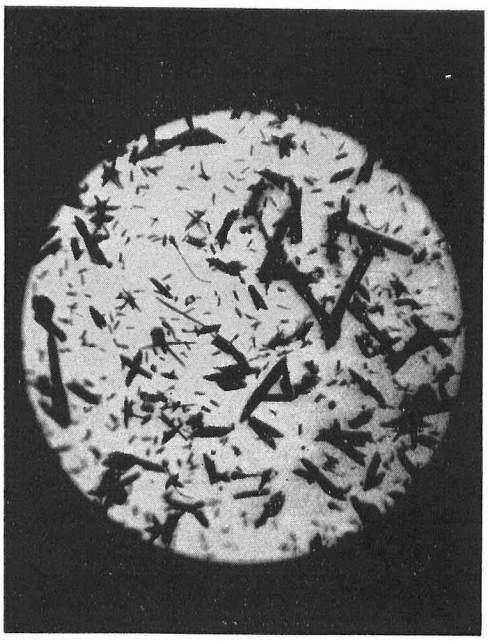
井上[9]も大体同様の成績を発表しており，腐敗が進行する条件の下では結晶形成能を早期に失うものゝ様である。

性交後の膣内よりの検出についてみれば，須山等[12]によれば，性交後10時間を経たものでは5例中3例 Florence 法陽性，1例 Puranen 法陽性であつたが，15時間を経たものではすべて結晶形成をみなかつたという。この他児島[13]もほゞ同様の成績を発表し，生体膣内よりの精液の証明では結晶法は後述の A. P. 法に比して鋭敏度が非常に低いことが強調されている。

酸性フオスフアターゼ法は1935年 Wolberger, Kutscher 等[14]が正常成人前立腺に多量の酸性フオスフアターゼの含有されていることを発表し，更に1941年 Gomori[15]は，これは前立腺上皮に由来し人猿以外の動物には極めて少量含まれているのみであると報告

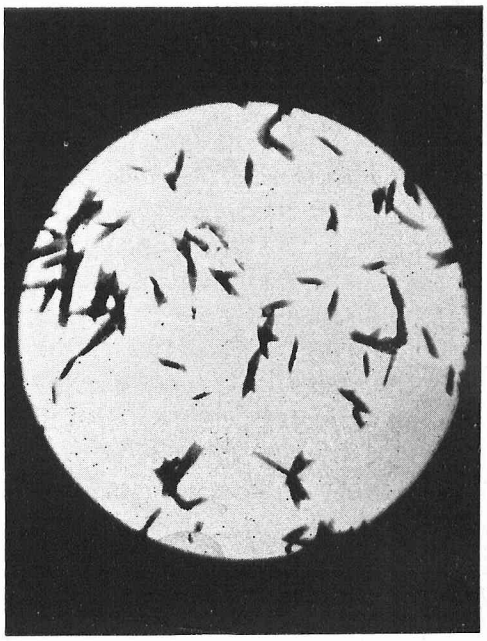
Florencn 結 晶

対照　×1 稀 釈



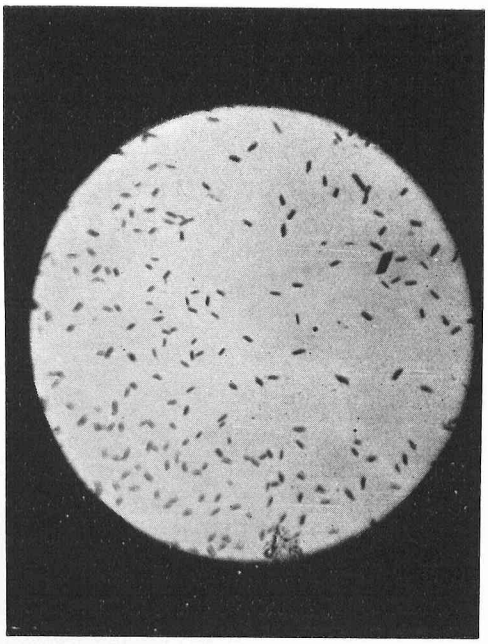
写 真　1

対照　×2 稀 釈



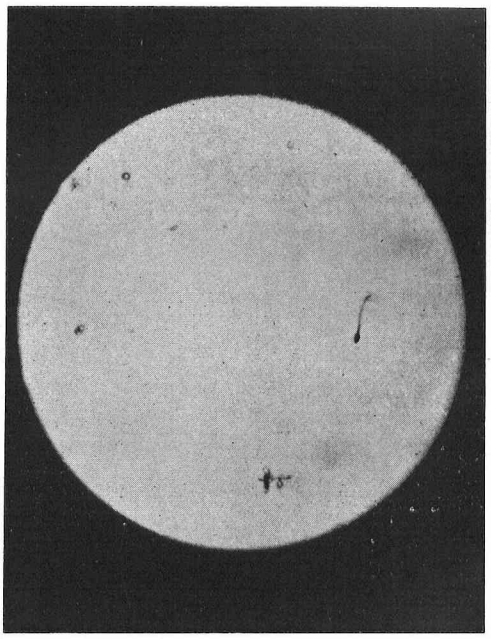
写 真　2

対照　×4 稀 釈



写 真　3

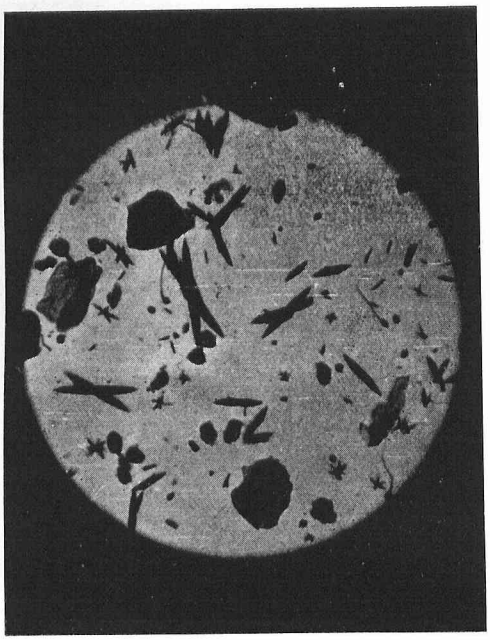
対照　×8 稀 釈



写 真　4

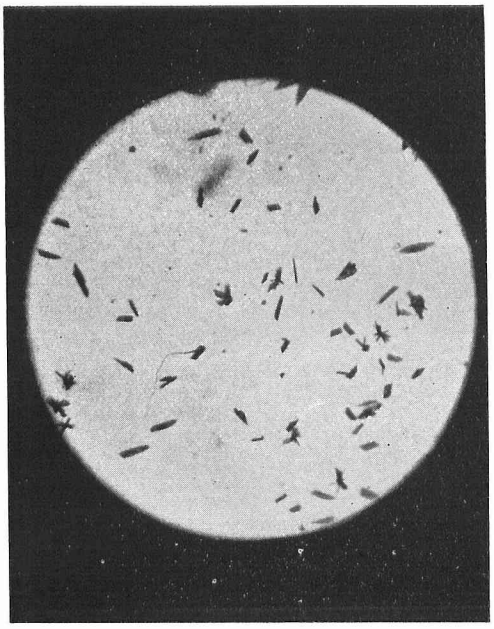
Florence 結 晶

避妊薬使用せず　×1 稀 釈



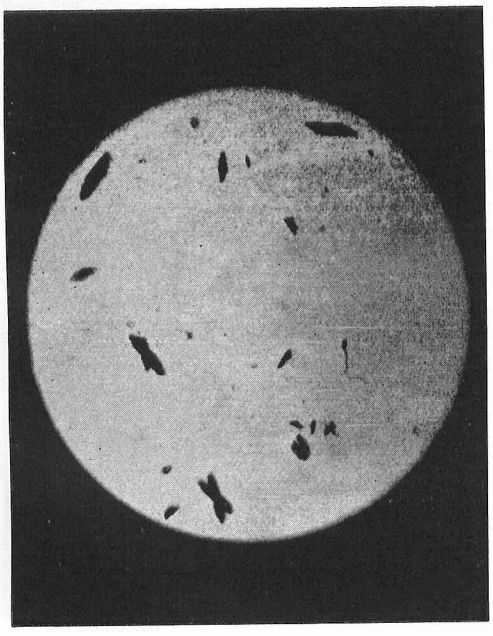
写 真 5

避妊薬使用せず　×2 稀 釈



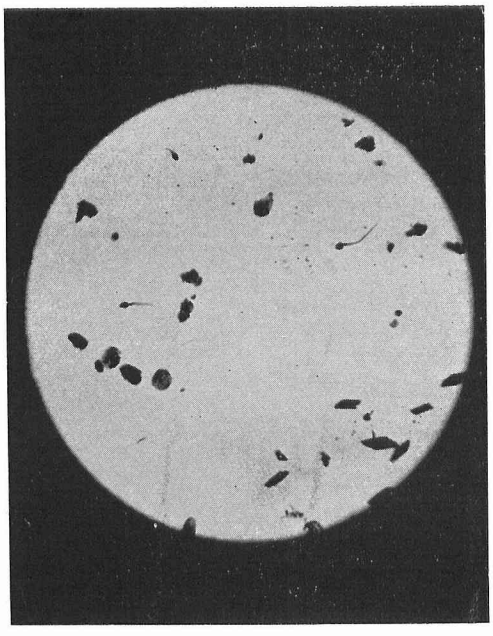
写 真 6

避妊薬使用せず　×4 稀 釈



写 真 7

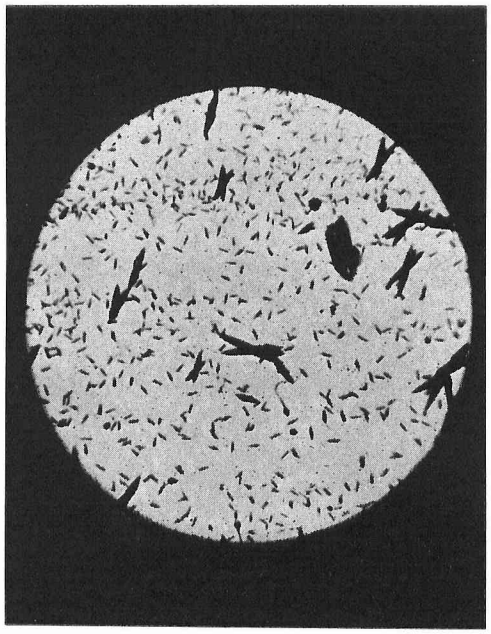
避妊薬使用せず　×8 稀 釈



写 真 8

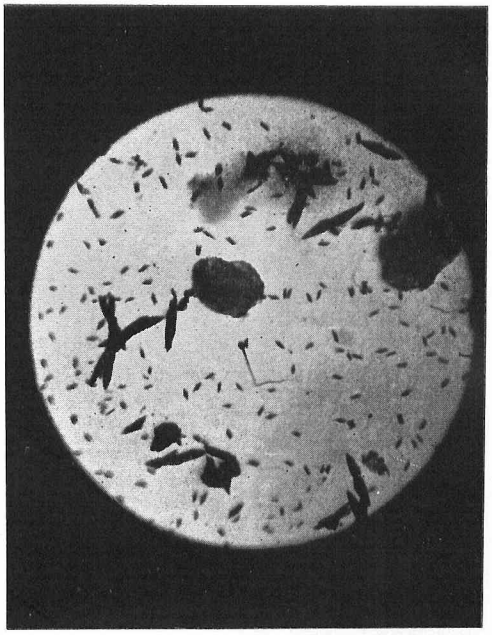
Florence 結 晶

サンシーゼリー使用　×1 稀 釈



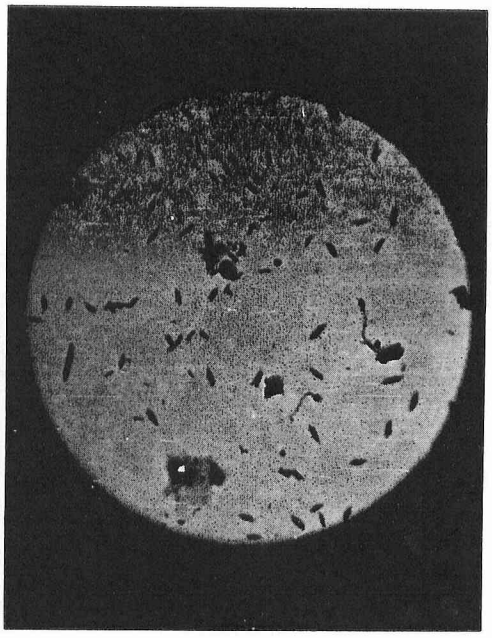
写 真 9

サンシーゼリー使用　×2 稀 釈



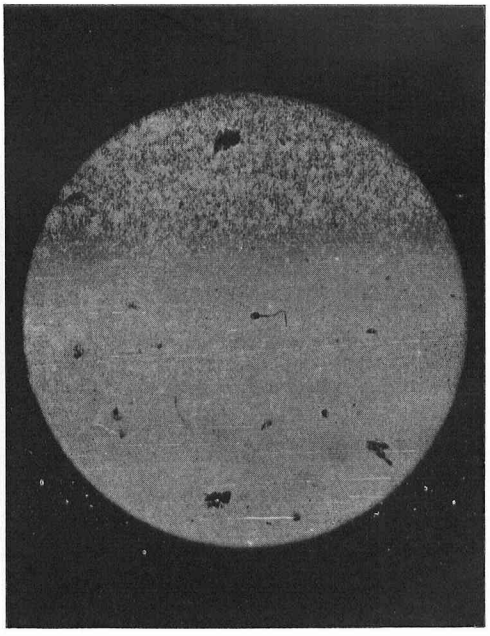
写 真 10

サンシーゼリー使用　×4 稀 釈



写 真 11

サンシーゼリー使用　×8 稀 釈



写 真 12

して以来，法医学の精液検査に利用しうることが注目される様になつた。その後 Kaye⑯(1951) の追試により一般に実用化されるところとなつた。我国に於ても昭和28年，須山⑫が King, Armstrong 法を利用して精液証明法として発表したのをはじめとし，その後相次いで，種々の基質を用いた酸性フオスフアターゼ法が多くの研究者たちによつて発表され実用化されている。

King, Armstrong 法により人精液の酸性フオスフアターゼ値を検した成績では 1390～3040 K. A. U. の多量含まれているのに反し，人血清，尿唾液汗洋水悪露果汁等はいづれも 5 K. A. U. 以下である(須山)⑫。

本法は甚だ鋭敏で，結晶法などで証明出来ない水洗された精液斑からも精液の確認可能で特異性も高く，(吉田⑯，津金沢⑰) 最近は，フローランス等の方法に代つて精液検査法としてクローズアップされて来ている。

実験材料竝に実験方法

1) 実験材料

避妊薬は普通どこでも手にはいる醋酸フエニール水銀を主剤としたサンシーゼリー（山之内製薬）と，サンプーンゼリー球（エーザイ）を用いた。前者は醋酸フエニール水銀0.09%含有，後者は1球中1.1mg含有している。使用法は説明書の記載通りに行つた。

被検物の採取には清浄ガーゼを用いて膣内を拭い内容の充分附着したものを空気中でよく乾燥させて用いた。採取は性交直後，12時間後，24時間後，48時間後に行い，別に対照に供するため，精液のみをガーゼに附着させたもの及び充分膣洗滌後3日間経た膣内容をガーゼに附着したものを採取した。

2) 実験方法

上記の如く採取した被検斑より大きさ 1.5×1.5cm 四角に切り取つたガーゼ片を細かくきざみ，溜水1.0を加えて一夜氷室内に置き充分に浸出したものを原液とし，溜水で倍数稀釈列をつくりその各々について下記の方法で検した。

(i) 螢光法：紫外線発生装置で各検体を照射。

(ii) 精子数：フローランス結晶を検すると同時に標本中の精子数をガフキー表に従い記載した。

(iii) Florence 法：各稀釈列より浸出液一滴づゝをとり之に試薬一滴を加へて検鏡。

(iv) 酸性フオスフアターゼ法：King, Armstrong 法を定性反応に都合のよい様に変じて用いた。即ち被検液 0.1cc に酸性基質 0.1cc を加え，37°C 30′ 温浴中に保ち之に Phenol 試薬(Folin-Ciocalteau) 0.1cc を加え更に 20% Na_2CO_3 溶液 0.1cc を重層する。陽浴性の場合は界面に濃青色の輪を生ずる。

3) 実験成績

(i) 螢光法

避妊薬の種類，使用の如何を問わず，ガーゼに附着した検体はいづれも附着部が著明に発光した。発光の程度は勿論性交直後のものが最も強く附着量も多いことが知られた。48時間後のものゝ発光は膣液のみでも起る発光の状態と明瞭に区別することは困難であつたが12時間後のものでは膣液のみの発光より光輝が強く両者を同時に検すればその相違は明かに認めうる程度であつた。

浸出液としたものを黒紙の上に滴下してその発光状態を検したが，性交直後のもの及び精液のみのものが2倍稀釈まで弱い乍ら螢光を発し，12時間以後及び膣液のみのものは全く螢光を発しなかつた。

(ii) 精子数

表1に示された如く避妊薬を使用した場合特に検出率が悪くなるという傾向はなかつた。性交後12時間迄はガフキー1号程度に精子を認めることが出来たが，24時間以後は全く検出されなかつた。

稀釈率		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512
対照	精液のみ	4	4	4	2	1	1	0	0	0	0
	膣液のみ	0	0	0	0						
未使用	性交直後	5	4	4	3	2	2	2	1	1	0
	性交後12時間	1	1	1	0	0	0	0			
	〃 24 〃	0	0	0	0						
	〃 48 〃	0	0	0	0						
サンシーゼリー使用	性交直後	6	5	5	4	4	4	2	0	0	0
	性交後12時間	1	0	0	0	0	0	0			
	〃 24 〃	0	0	0	0						
	〃 48 〃	0	0	0	0						
サンプーン球使用	性交直後	5	4	4	3	2	2	1	0	0	0
	性交後12時間	1	1	1	1	0	0	0			
	〃 24 〃	0	0	0	0						
	〃 48 〃	0	0	0	0						

表1　　精子数

(iii) Florence 法

フローランス法の検出成績は思つたより悪く（表2），性交後12時間を経たものはすでに結晶形成が全く見られず，避妊薬使用との関連性は，サンシーゼリー使用例では対照例の成績と変りなかつたが，サンプーンゼリー球使用例では，性交直後の精液斑で精子が

多数認められたにも不拘結晶形成が認められなかつた。この被検物はゼリー使用のものより更に p. H が酸性側に偏していたが，附形剤の相違によるものと考えられる。表1及び写真1～12と比較すれば分る通り，Florence 結晶は浸出液の稀められるに従つて結晶が小型となり，已に結晶形成がみられなくなつた稀釈度に於ても尚精子を明かに認めることが出来た。

		p. H	稀釈率 ×1	×2	×4	×8
対照	精液のみ	7.0	＋＋＋	＋＋＋	＋	－
	膣液のみ	5.8	－	－	－	－
未使用	性交直後	6.4	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋
	性交後12時間	5.6	－	－	－	－
	〃 24 〃	5.4	－	－	－	－
	〃 48 〃	5.0	－	－	－	－
ゼリー使用サンシー	性交直後	6.0	＋＋＋	＋＋	＋	－
	性交後12時間	5.4	－	－	－	－
	〃 24 〃	5.2	－	－	－	－
	〃 48 〃	4.8	－	－	－	－
使用サンプーン球	性交直後	5.4	－	－	－	－
	性交後12時間	5.5	－	－	－	－
	〃 24 〃	4.8	－	－	－	－
	〃 48 〃	4.4	－	－	－	－

表 2　　Florence 法

(iv) 酸性フオスフアターゼ法

本法は表3に示した如く，Florence 法，精子検査法等と比較してはるかに鋭敏であつた。

避妊薬使用による影響も全く認められず，Florence 法が性交直後のものに4倍稀釈まで陽性反応を呈したのみであつたのに反して，直後のものでは256～512倍まで反応陽性であり，性交後48時間を経過しても尚2～4倍まで陽性反応を示した。生体外で精液と各種避妊薬を混じて経時的に A. P. 値を検した児島の報告では，活性値の低下は6時間後に比し24時間後では20～25%の減少をしているが，著者等の行つた実験方法では，対照例と比較して変化を認めなかつた。

又人血清唾液，犬精液，牛血清，兎血清などについて全く同様条件で検したところ，すべて陽性反応は見られなかつた。

むすび

1) 生体膣内に於ける精液の証明，特に避妊薬との関連性について，螢光法，Florence 法，A. P. 法を中心として検討を加えた。

2) 螢光法については精液予備検査として用いられる場合には有効な方法であり，精液斑の附着の状態を予備的に検するのに便利である。

3) 避妊薬を使用した場合は膣内容の p. H が酸性の側へ傾く。

4) Florence 法は生体膣内容よりの精液証明法としては陽性率が低く，著者の行つた実験法では，性交後12時間経つたものはすべて陰性であつた。

5) 酸性フオスフアターゼ法は他の検査法に比しはるかに検出精度が高く，特異性も充分で，避妊薬による影響を蒙らないことが知られた。

6) 生体膣内よりの精液の証明は，性交後少くとも24時間以内に行うことが望ましい。

		稀釈率 ×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512
対照	精液のみ	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋	±	－
	膣液のみ	－	－	－	－						
未使用	性交直後	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋	＋
	性交後12時間	＋＋＋	＋＋	＋	＋	－	－				
	〃 24 〃	＋＋	＋	－	－	－	－				
	〃 48 〃	＋	±	－	－	－	－				
ゼリー使用サンシー	性交直後	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋	±
	性交後12時間	＋＋＋	＋＋	＋	＋	±	－				
	〃 24 〃	＋＋	±	－	－	－	－				
	〃 48 〃	＋	±	－	－	－	－				
使用サンプーン球	性交直後	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋	±
	性交後12時間	＋＋＋	＋＋	＋	＋	－	－				
	〃 24 〃	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋	＋	±				
	〃 48 〃	＋＋	＋	＋	±	－	－				

表 3　　A. P. 法

参考文献

①国房二三：犯罪学雑誌. 16. 501 (1942).　②城哲男・他：日法医誌. 7. 5. 288 (1953).　③松本俊二：日法医誌. 11. 4. 531 (1957).　④Gonzales, T. A.: Legel Medicine Pathol. and Toxocology. New. York (1940).　⑤矢田昭一・他：犯罪学雑誌. 23. 3. 140 (1957).　⑥上田政雄・他：日法医誌. 10. 3. 262 (1956).　⑦尾関武郎：日法医誌. 10. 3. 262. (1956).　⑧Palmieri, V. M.: Deut. Ztschr. f. Gesammt. Gerichtl. Med. 44. 383 (1955).　⑨井上徳治：日法医誌. 6. 3～4. 144 (1952).　⑩森島軍：日法医誌. 5. 4. 別輯. 165 (1951).　⑪桜井仁：日法医誌. 5. 1. 10 (1951).　⑫須山弘文：日法医誌. 7. 4. 174 (1953).　⑬児島哲郎：熊本医学会誌. 30. 8. 811 (1956).　⑭Wolberger, H., Kutscher, W.: Ztschr. f. Psysiol. Chom. 236. 237 (1935).　⑮Gomori. G.: Arch. Pathol. 32. 189 (1941).　⑯吉田一美：日法医誌. 8. 3. 229 (1954).　⑰津金沢正男・他：北海道医誌. 31. 3. 163 (1956).