

動物免疫抗 Rho 抗体の凝集態度に及ぼす色素の作用

第II報 ローダミン6G

昭和41年1月20日受付

信州大学医学部法医学教室

(主任:野田金次郎教授)

金箱房枝 小野節郎

On the Reachion of Some Dye Solution upon the Agglutinating Attitude of Anti-Rh. Monkey Cells Lmmune Guinea-pig Serum

II Rhodamine 6G

Fusae Kanebako and Setsuro Ono

Department of Lagal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University

(Director: Prof. K. Noda)

まえがき

Rh 式血液型の臨床的意義については既に周知の事柄であるが、本邦においては、この分野は欧米に比較して必ずしも満足な状態とは云えない現状である。その主たる因は、血液を多量に供出する事を嫌うと云う習慣があり、又 Rho(-) 型の低頻度地域であると云う事である。我々の調査及び他の地域での研究者の報告から見ても明かな如く、その頻度は本邦人においては約0.5~0.8%程度で、欧米人のその約1/20前後である事から見ても、我国の如く Rho(-) 型の低頻度地域では、それだけで人由来の抗体の入手量が欧米に比して極めて少い上に、供血を喜ばない習慣によつてそれが倍加され、本邦人から入手する事は極めて困難であり、一部の研究者及び、高価な輸入品を自由に使える様な所でなければなかなか使用し得ない現状である。我国のこの様な現状を打破するために大量の抗血清が確保されなければならない。そこで我々は既に発見者の方法にならつて、動物免疫抗 Rh 抗体の大量生産について検討し、一応その目的を達成したが、その凝集反応は、血球を混和後静置しておかなければ判定しにくいと云う点がある。この点を改善する事に着手し、第一報によりアクリフラビンがその作用のある事を知り既に報告したが、その他の色素についても検討を加えたので、その結果をここに報告する。

実験材料並方法

抗 Rho 血清: 動物免疫抗 Rho 血清 (以下動免疫

D血清と略記) は東京標準血清株式会社製のものを使用した。使用した色素は6種類である。(1) アクリフラビン、(2) ローダミンB、(3) ローダミンS、(4) ローダミン6G、(5) アクリジンレッド、(6) アクリジンオレンジである。凝集反応検査は抗血清に添付されている使用書記載の方法に従う。その他の事については血液型一般の常識に従ひ、ここには特記しない。血球の濃度は第一報に報じた如く3%のものをを使用した。

実験成績並に説明

(A) 色素の濃度について

使用した6種類の色素については、勿論凝集反応の増強に対して至適濃度があり、その至適濃度は第1表に示した如く、それは原液を抗血清に1/10量加えた程度である。即、アクリフラビン、ローダミンBでは抗D血清に対して1:15000gr/cc、ローダミンS、ロー

第1表

色素名	色素溶液の濃度 (gr/cc)
アクリフラビン	1:1500
ローダミン-B	1:1500
ローダミン-S	1:200
ローダミン-6G	1:200
アクリジン-レッド	1:800
アクリジン-オレンジ	1:100

各溶液は抗D血清に対して1/10量加へて使用

ダミン6Gでは1:2000gr/cc。アクリジンオレンジは1:1000gr/ccである。各色素を加えた動免抗D血清の凝集反応は第2表に示す如く、色素を加えた事により凝集素価が上昇するのでなく、凝集塊が大きく、且、強靱となり強く振り動かしても凝集が細くくずれずにある程度の塊のまま凝集反応が明かに見えるのである。

第2表

色素添加抗D抗体	・1・2・4・8
アクリフラビン	+++ + (1:15000)
ローダミン-B	+++ + (1:15000)
ローダミン-S	+++ + (1:2000)
ローダミン-6G	+++ + (1:2000)
アクリジン-レッド	+++ + (1:3000)
アクリジン-オレンジ	— — — (1:1000)

(B) 色素添加後の経年変化の態度について

色素添加により凝集反応が明かになる事を知り、ローダミン6Gが一番強靱となり凝集塊が明かなる結果を見たので、次にローダミン6G添加後の年次経過

による凝集反応の態度を観察して見たので、その結果を第3表に示した。動免抗D血清にローダミン6Gを1:2000gr/ccの割合に添加し、添加当日より日数を計算し、血液は採血当日より毎日検査し、凝集態度について比較を行つた。採血当日に3%血球浮游液を作り、氷室に保存し毎日取り出し、2~3回洗滌して後3%血球浮游液として凝集反応を比較して見ると、採血後8日頃迄凝集反応が確認された。又採血後8日目の血餅をよく洗滌し3%血球浮游液により比較して見てもわかる様に凝集塊のはつきりと確認された。次に色素添加後4ヶ月、5ヶ月、7ヶ月、13ヶ月、14ヶ月後と年次経過の動免抗D血清について凝集態度を調べた結果を第4表に示した。色素添加14ヶ月後経過でも採血後10日位経過した血球においても、凝集態度は明らかで凝集塊のはつきり確認される。添加後17ヶ月経過した抗D血清について検査した所も、やはり同じ様な凝集態度が確認され、血球がある程度日数が経過しても色素添加抗D血清であれば、凝集塊のはつきり確認される。それは第5表に示してある如く、第4表と同様採血後8日~10日位日数が経過しても凝集態度は明らかである。

第3表

血球の古さ 添加後の日数	抗D(ローダミン6G添加)抗体					抗D(未添加)抗体				
	採血当日	1日目	4日目	7日目	8日目	当日	1日目	4日目	7日目	8日目
添加当日	+++					+++				
" 1日	+++	+++				+++	+++			
" 4日	+++	+++	+++			+++	+++	+++		
" 7日	+	+++	+++	+++		±	+++	+++	+++	
" 8日	+	+++	+++	+++	+++	—	+++	+++	+++	+++

(3%血球浮游液として氷室に保存)

第4表

血球の古さ 抗D抗体	採血当日	2日目	3日目	5日目	1~10日目
4ヶ月後		+++ (++)	+++ (++)	+++ (+) ++ (+)	+++ (++) ++ (+) ± (-)
5ヶ月後	+++ (++)	+++ (+) ++ (+) ++ (+)	+++ (+) ++ (+)		+++ (++) ++ (+)
7ヶ月後		+++ (++)			
13ヶ月後		+++ (++)	+++ (++)	+++ (+) ++ (+)	+++ (++) ++ (+) ± (-)
14ヶ月後	+++ (++)	+++ (+) ++ (+) ++ (+)	+++ (+) ++ (+)		+++ (++) ++ (+)

()内はすべて抗D(未色素添加)抗体によるもの

第5表

日数経過	血球の古さ	抗D (ローダミン6G 添加) 抗体							抗D (未添加) 抗体								
		採血当日	2日	3日	4日	5日	8日	11日	12日	当日	2日	3日	4日	5日	8日	11日	12日
17ヶ月後	1日	卅								卅							
"	2日	卅	卅							卅	卅						
"	3日	卅	卅	卅						+	+	卅					
"	4日	卅	卅	卅	卅					+	+	+	卅				
"	5日		卅	卅	卅	卅					+	卅	卅	卅			
"	8日		+	+	+	卅	卅				-	-	-	±	卅		
"	11日		-	-	-	±	+	卅			-	-	-	-	±	+	
"	12日		-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
(すべての血球が溶ける)									(すべての血球が溶ける)								

備考：作用血球は3% 浮游液として氷室に保存

むすび

第1表と同様、今回のローダミン6G 添加抗D血清においても、未添加抗D血清よりも凝集塊が明かに確認され、又、年次経過後も凝集態度に変化なく、血球がある程度古くなつてもはつきりした凝集反応が表はれ、明かに動物免疫抗D血清の改善が見られる。

(本要旨は第一回アジア輸血会議 (昭和38年8月箱根小涌園) で口演したものである。)

主要参考文献

- ①青山幸次郎：信州医誌，9 (5)：747-761, 1960
- ②野田金次郎・他：信州医誌，10 (2)：164-174, 1961
- ③野田金次郎・他：日本医事新報，No.1995, 18-25, 1962
- ④野田金次郎・他：信州医誌，10 (3), 234-238, 1962
- ⑤野田金次郎：血液型学実験法，金原出版，1957
- ⑥篠原正司・他：信州医誌，12 (4)：411-413, 1963