

原 著

動物免疫抗 Rho 抗体の凝集態度に及ぼす
色素の作用

第 I 報 アクリフラビンについて

昭和38年8月26日 受付

東 京 都 中 央 保 健 所
(所長：二階堂謙司博士)
篠 原 正 司

信州大学医学部法医学教室
(主任：野田金次郎)
金 箱 房 枝

On the Reaction of Some Dye Solution upon the Agglutinating
Attitude of Anti-Rho Monkey Cells Immune
Guinea-pig Serum

I. Acriflavine

Masashi Shinohara
The Chuo Health Center.
(Chief : Dr. K. Nikaidō)

Fusae Kanebako
Department of Legal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director : Prof. Dr. K. Noda)

まえがき

Rh 式血液型の臨床的意義の重要性がさげばれてから既に20余年を経ているが、本邦に於いては、この血液型はあまり一般にはかえりみられずにいた。戦争による空白に加えて、その主たる因は、人由来の抗血清が、本邦人から採取するには特別な研究機関以外には非常に困難であり、輸入品としても高価であり、使用法も従来の ABO 式とは異つてやゝ複雑である為、常に各医系機関に備付けられていない事であろう。又輸入品も自らその量も必ずしも充分には入つて来ていない現状である。この困難については野田等^{①-③}が既に何度か指摘している通りであるので、ここにくどくはふれない事にしよう。

斯る事情下では、本邦に於ける血液型学の新しい発展は、非常に困難である事は多言を要しないが、これらの事態を一挙に解決するには、何としても Rh 式血液型を、もつと容易に判定しうる様になければならないと考え、動物免疫抗 Rho 抗体作製に関する研究に手を染め、或程度の確信を得^{①-④}、その結果本邦に於いて動物免疫抗 Rho (D) 判定用血清が既に市販

されている事は周知の事と思う。

一方、保存血関係の事情から、各地で Rh 式血液型を主眼とした集団検査が行われ始めている。

ここに於いて我々は国家検定済みの抗-A、抗B-抗体が基準によつて前者はトリパン・ブルーで青く、後者はアクリフラビンで黄色に着色されているので、集団検査時には、それらと異つた色で動物免疫抗 Rho 血清を着色しておいた方が、三者併用時に感違ひによる誤りをさける事が出来るとの考えから、この着色色素を中心に検討しつつあるが、その際、凝集様相に多少の変化を与える事が気付かれた。この場合我々は手始めとして、赤系統の色素について検討していたのである。

所が、これと時を同じうして、篠原(正司)は、アクリフラビン添加によつて動物免疫抗 Rho 判定用血清の凝集態度の改善が計られる点を指摘した。そこで以後、相互にその点について検討を加えたので、その結果を茲に報告する。

実験材料並方法

抗 Rho 血清：動物免疫抗 Rho 血清 (以下動免疫抗-

Dと略記)は東京標準血清株式会社製,人由来抗体としては,Ortho.製,Nickerbocker製の不完全抗体,A.S.Wiener Serum Lab.の完全抗体を使用した。

Acriflavine:東京化成工業株式会社製のものを用い,生理食塩水に1%に溶かしたものを原液として抗血清に量的比例で添加して,その濃度を示してある。

凝集反応検査:夫々の抗血清に添付されている使用書記載の方法に従い,これを多少変化させた場合は,その都度本文に記載してある。

その他の事については,血液型学一般の常識^⑥に従った故ここに特記しない。

実験成績並説明

A. 動免抗-Dの凝集態度について

市販動免抗-Dについては,使用経験者が各地に居られるが,その大多数の人々が凝集態度が弱い点を指摘している。この点は我々の行つた基礎実験の段階でも勿論気付かれていたが,この事が或は今迄動免抗-Dの実験室内での作製にも,失敗例が多く聞かれた一つの原因であると考えられる。つまり抗-A,抗-B血清では,血球浮游液を混和後,時々盪振しつつ観察し,且その振盪によつて凝集塊は益々強靱になるのであるが,動免抗-Dでは,血球を均一に混和後は,全く手を触れず15分机上に静置し,判定時にも極めて弱く傾けつつ判定しないと,途中の振り動かして凝集塊が細分してしまつて,極めて弱い陽性反応しか呈しなくなつて了う事である。併し一方では,この性質は,集団検査の際,血清血球混和後は15分間全く手を触れなくてよい事になり,次の列の判定実験に移れる大に時間の節約になるのである。

この凝集塊再分裂の点を改善すべく,次に記する如き実験を行つた。

B. アクリフラビン濃度について

先づA項記載の如き凝集態度が何の様に改善されるかの大略を検する目的で,動免抗-Dに夫々1:1000~1:32000 gr/ccの割でアクリフラビンを加えて使用書記載通りの方法で,OD型並Od型人血球について凝集反応を検した所,第1表に示す如き結果を得た。色素溶液のみでは血球に対して凝集又は凝集に紛らわしい反応を起こさない事勿論である。この結果から見ると,使用書記載の方法に従つた場合には,1:8000乃至1:16000程度で最も改善度が良好である事が判

つた。この結果を,実験法の簡易さから言えば1:10000~1:15000という程度と解しておいてよからう。

C. 浮游液の血球濃度について

B項でアクリフラビン濃度の大体を知つたが,凝集態度に密接に関係する因子として血球濃度の問題があるので,次に血球濃度との関係を見た。

前項で知られた所から,アクリフラビン濃度としては1:10000~1:15000前後について,又作用血球濃度として2%,3%,4%,5%の浮游液を用いて検した。その結果を表示すれば第2表の如くである。

これよりみると,アクリフラビン濃度に比して,血球濃度はあまり凝集態度に影響を与えないようである。併し,15分静置後ABO式血液型判定時の如くよくゆり動かしてから判定では,2%及3%では一樣に或程度の凝集塊の再分解が見られるが,その度合は弱く,4%以上では,更に細分されてしまう。この差の少い程凝集態度の改善度がよいと言えるから,本実験からは,血球濃度2%~3%がよい事になる。凝集反応は肉眼で判定するのを原則としているから,この場合同じ結果であれば,濃度の高い方が見易い事は確かであり,実際,盲試験的に2~3の技術者に観察させた結果でも,3%の方が見易い事を示していた(表略。)

D. 凝集態度改善状況について

以上でやゝ管見的是であるが,アクリフラビン1:10000~1:15000添加動免抗-Dは,血球濃度2~3%では一応凝集態度の改善を見る事が出来たのであるが,その状況をも知る為,2の実験を試みたので,

(第1表)

色素添加量	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16000	1:32000
動免抗-D	卅	卅	卅	卅	卅	卅

Od型人血球に対しては何れも陰性であつた。

(第2表)

血球浮游液濃度	色素添加量		
	1:8000	1:16000	1:32000
2%	卅(+)	卅(+)	卅(+)
3%	卅(+)	卅(+)	卅(+)
4%	卅(+)	卅(+)	卅(+)
5%	卅(+)	卅(+)	卅(+)

備考:括弧内は15分静置後よくゆり動かしてから判定

一括して説明を加えよう。

今前記の組合せをアクリフラビン 1:10000 とし血球濃度 3% として実験を行った。

先づ型の如く 15分静置法では、色素添加動免疫抗-D の凝集に比して著明な凝集様相を示し、ホールグラスを白紙上に置いた尽でも凝集している事が確認され、而も d-型人血球では全く陰性であつた。これをよく振つて見ると、前者では多少の凝集塊の細分が起るが、依然著明な凝集が認められたが、未添加抗-D ではザラつく程度に迄細分され、判定に困難を感ずる程に迄なつてしまう事がある。

次で血球混和後直ちに振盪器上で 3分間振盪後 5分間静置した場合を比較すると、兩者共凝集塊は未だ微細でザラザラした感であつたが、添加抗-D の方が粒状がやゝ大であつた。この静置時間を 10分にした場合には、も早やゆり動かしても、前段の結果と同様な状態を示した。

これらからみて、アクリフラビン加動免疫抗-D では、凝集塊が大きく而も強靱になつている事が判り、明らかに改善の所見を得た。

むすび

動物免疫抗-D 血清に 1:10000~1:15000 の割にアクリフラビンを加えると、その凝集塊も大きく、而も強靱となり一寸の振盪では、未添加抗-D の場合の如く、細分される事がなく、明らかな凝集態度の改善が

見られた。

(本研究に当り、武田薬品工業株式会社の絶大なる御好意を得たので茲に記して深謝します。)

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・外：信州医誌., 10 (2): 164-174., 1961
 ③野田金次郎・外：日本医事新報., No.1995: 18-25, 1962
 ④野田金次郎・外：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

Summary

Anti-Rho positive rhesus monkey red cells immune guinea pig serum has the some following different points in agglutination from anti-Rho human saline agglutinin.

One is that the agglutinating attitude is weaker, but others is that the time required in the reaction is shorter. It was known by authors that the weaker attitude is made better by adding some dye solutions to anti-Rho animal serum.

In this paper, it was shown that 1:10000-1:15000 gr/c.c. acriflavine acts better effects to anti-Rho animal serum.