

月 經 血 の 血 清 免 疫 学 的 研 究

岡山大学医学部法医学教室 (主任・三上芳雄教授)

松 本 増 夫
落 合 義 幸

[昭和34年7月3日受稿]

緒 言

法医学上月経血の証明にせまられることは間々存在するが、これにたいして現在の確にして、簡易な証明方法はほとんどみあたらない。その方法としては腔上皮細胞中の糖原を組織化学的に証明する方法 (Merkel¹⁾, 坂本³⁾), 月経血中に腔桿菌を検出する方法 (Merkel, Berg,²⁾ 太田⁴⁾), 血清学的に抗月経血, 抗分娩血および抗線維素原沈降素を作製して月経血を証明する方法 (首藤,⁵⁾ 坂本,³⁾ 上条⁶⁾), さらに月経血中の砒素, 月経毒素, 線維素溶解値等を測定して月経血を証明する方法 (辻⁷⁾, 山口⁸⁾, 戸沓⁹⁾) 等種々の方法が発表されている。

このうち著者等は首藤⁵⁾ の発表した抗月経血特異沈降素血清による月経血が血清学的に証明可能であると云う論文に興味をおぼえ、一方当教室胎児血清ならびに胎盤中に含有する特異蛋白に関する研究¹⁰⁾¹¹⁾ にも関連してはたして月経血に特異性があるか否かについて追試実験した。

実験材料ならびに実験方法

実験材料

a) 免疫抗原としての月経血は10名の健康な婦人

について各3例 (各例月別) あて月経時に綿花に採取した新鮮にして可及的溶血のすくない月経血 (月経血は新鮮であつても溶血する) の上清を生理食塩水をもつて日立蛋白計により蛋白含有量を1% (月経血の10倍稀釈量をうわまわる) に稀釈した。

b) 月経血々清分割免疫抗原としてのグロブリンおよびアルブミンは Hektoen & Cole 法を改変した緒方の硫酸安門分割法によつた。

c) 反応用抗原はヒト血清, 月経血上清, 胎児血清, ヘモグロビン (10%), 胎性ヘモグロビン (10%) および精液を使用した。ヒト血清は数人の各型血清を混合, 胎児血清は7, 8, 9 および10ヶ月胎児血清を混合して使用した。各ヒト・ヘモグロビンは10回生理食塩水洗滌血球を蒸留水をもつて溶血後10%溶液として使用した。

実験方法

a) 免疫方法は1%蛋白含有量の月経血上清ならびに同血清グロブリンおよびアルブミン溶液をウサギの耳静脈内に2.0 cc. あて10回注射して最後の注射日から10日目に全採血して血清を分離し, 型のごとく非働化した後0.5%のわりに石炭酸をくわえて

Table 1 Precipitin Production to Human Serum by Rabbit Immunized with the Upper Layer of Menstrual Blood

Monthly Name	1		2		3	
	No. of rabbit	Precipitin	No. of rabbit	Precipitin	No. of rabbit	Precipitin
A	No. 2	40000×80	No. 5	40000×160	No. 8	20000×80
B	No. 11	10000×40	No. 14	10000×80	No. 17	20000×40
C	No. 20	10000×40	No. 23	20000×80	No. 26	10000×40
D	No. 27	40000×160	No. 30	20000×160	No. 33	40000×160
E	No. 36	40000×80	No. 39	20000×160	No. 42	20000×80
F	No. 45	20000×80	No. 47	40000×160	No. 49	40000×80
G	No. 51	40000×160	No. 53	40000×320	No. 58	40000×160
H	No. 61	20000×160	No. 62	20000×80	No. 66	20000×80
I	No. 68	20000×160	No. 71	40000×160	No. 75	20000×160
J	No. 77	10000×40	No. 79	20000×80	No. 81	20000×80

Table 2 Precipitation by Precipitin Serum of Upper Layer of Antimenstrual Blood with Human Serum, Hb and etc.

Kind of antigen	No. of antiserum		Dilution of antigen					Dilution of antibody						
	2	30	58	71	50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000
Human serum	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	160	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	320	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Menstrual blood Hemoglobin Fetal serum Fetal hemoglobin Sperm	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

氷室に保存した。

b) 沈降素測定術式は当教室の慣用にしたい抗原重層法により沈降素価および量の測定をおこなった。判定は抗原重層後15分後に沈降反応陽性のものを(卍), 30分を(卅), 60分を(+)をもつてあらわし, 2時間を経過するも陰性のものは(-)をもつてあらわした。

c) 吸収方法は抗血清にヒト血清, ヒト血球泥(月経血と同一人のヒト血球を生理食塩水をもつて10回洗滌したもの)の適当量をくわえて37°Cの水槽内に1時間たもち, その間ときどき振盪して吸収をうながし, さらに氷室に24時間放置してその上清について反応用抗原にたいする沈降素価を測定した。

d) なおウサギは1例2~3頭としたが, 簡略のため類似成績を示すものはその代表的のものをもつて表示説明した。

実験成績

1. 抗月経血沈降素血清

1) 健康婦人10名の各月別に3例あてについて1%蛋白含有量月経血上清をもつて10回免疫したウサギ合計74頭中斃死したものはわずか5頭であつて, 免疫を遂行しえたウサギにおいても首藤⁹⁾の実験によるがごとき毒性によると思われる衰弱をきたし抗体産生に困難を感ずるがごときことはほとんどみとめられなかつた。

2) 抗月経血上清沈降素血清とヒト血清およびHb液等の沈降反応
前項抗血清中No. 2, 30, 58および71抗血清について, ヒト血清, 胎児血清, ヘモグロビン, 月経血上清, 精液にたいする抗体価を表示すると表1および2のごとくである。すなわち, ヒト血清にたいしては10,000~40,000倍, 胎児血清にたいして10,000~20,000倍, 胎性ヘモグロビンにたいして500~1,000倍, 精液にたいして2,000~4,000

倍稀釈に各沈降素価ならびに沈降素量をもつて反応した。

3) 抗月経血上清沈降素血清のヒト血清による吸収試験

前項 No. 2, 30, 58および71抗血清についてヒト

血清の適当量 (1/3~1/2量) をもつて吸収後ヒト血清、月経血上清、胎児血清、ヘモグロビン、胎性ヘモグロビンおよび精液にたいする反応を表示すると表3のごとくである。すなわち、ヒト血清、胎児血清および精液にたいする反応はすべて消失するか、月

Table 3 Absorption Experiment of Precipitated Serum of the Upper Layer of Antimenstrual Blood by Human Serum

No. of antiserum		2						30						58						71									
Dilution of antigen		5	10	20	40	80	160	320	5	10	20	40	80	160	320	5	10	20	40	80	160	320	5	10	20	40	80	160	320
Kind of antigen																													
Human serum	1	-----																											
	2	-----																											
	3	-----																											
Menstrual blood	1	###+++-						###++-						###+++-						###++-									
	2	###++-						###++-						###++-						###++-									
Fetal serum		-----																											
Sperm		-----																											
Hemoglobin		+++----						+++----						++-----						+++----									
Fetal hemoglobin		+++----						+++----						++-----						+++----									

経血上清にたいしては80~160倍、ヒト、ヘモグロビンおよび胎性ヘモグロビンにたいしては10~20倍に反応する抗体が残存した。しかしある群では抗体の残存しないものも存在した。

而してこの月経血上清、ヘモグロビンならびに胎性ヘモグロビンにたいする反応も同ヒト血球泥の適当量で吸収すると、いずれも反応は消失し、首藤⁵⁾の実験による月経血にたいする特異抗体の証明はで

きなかつた。

2. 抗月経血々清分劃沈降素血清

1) 抗月経血々清グロブリン沈降素血清月経血々清蛋白グロブリン1%溶液をもつて10回免疫したウサギ中 No. 102, 105および107についてヒト血清、月経血上清およびヘモグロビンにたいする反応を表示すると表4のごとくである。

すなわち、ヒト血清にたいしては20,000~40,000

Table 4 Precipitation by Precipitated Serum of Serum-globulin in Antimenstrual Blood with Human Serum Hb and etc.

No. of antiserum		102										105										107									
Kind of antigen	Dilution of antibody	Dilution of antigen										Dilution of antigen										Dilution of antigen									
		50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000	50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000	50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000
Human serum	1	###++++																													
	5	###++++																													
	10	###++++																													
	20	###++++																													
	40	###++++																													
	80	###++-																													
	160	###++-																													
	320	###++-																													
Menstrual blood	1	###++++																													
Hemoglobin	1	###++-																													

×80~160倍, 月経血にたいして20,000倍, ヘモグロビンにたいして500~1,000倍稀釈に各沈降素価ならびに沈降素量をもつて反応した。

2) 抗月経血々清アルブミン沈降素血清
月経血々清蛋白アルブミン1%溶液をもつて10回

免疫したウサギ中 No. 110, 112および115についてヒト血清, 月経血およびヘモグロビンにたいする抗体価を表示すると表5のごとくである。

すなわち, ヒト血清にたいしては20,000~40,000倍, 月経血にたいして10,000~20,000倍, ヘモグロ

Table 5 Precipitation by Precipitated Serum of Serum-albumin in Antimenstrual Blood with Human Serum Hb and etc.

No. of antiserum		110								112								115													
Kind of antigen	Dilution of antibody	Dilution of antigen								Dilution of antigen								Dilution of antigen													
		50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000	50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000	50	100	500	1000	2000	4000	8000	10000	20000	40000
Human serum	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	20	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	40	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	80	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	160	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	320	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
Menstrual blood	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
Hemoglobin	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		

ビンにたいして100~500倍稀釈に各沈降素価ならびに沈降素量をもつて反応した。

なおヘモグロビンにたいする反応は月経血は新鮮であつても溶血を示すから, 血清蛋白グロブリンならびにアルブミン分割においても同ヘモグロビンの混在する結果とみとめられる。

3) 抗月経血々清分割沈降素血清のヒト血清による吸収試験

前項抗月経血々清グロブリン沈降素血清 No. 102, 105および107ならびに抗月経血々清アルブミン沈降素血清 No. 110, 112および115についてヒト血清の適当量をもつて吸収後ヒト血清, 月経血上清, 胎児

Table 6 Absorption Experiment of Antiprecipitated Serum of the Fraction of Menstrual Blood by Human Serum

Immunized antigen		Menstrual blood globulin					Menstrual blood albumin																			
No. of antiserum		102					107					110					112									
Kind of antigen	Dilution of antigen	5	10	20	40	80	5	10	20	40	80	5	10	20	40	80	5	10	20	40	80	5	10	20	40	80
		Human serum	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	---		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
3	---		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Menstrual blood	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	++	++	---	---	---
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	+	+	---	---	---
Fetal serum		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Sperm		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hemoglobin		+	---	---	---	---	+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	+	---	---	---	---
Fetal hemoglobin		+	---	---	---	---	+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	+	---	---	---	---

血清，ヘモグロビン，胎性ヘモグロビンおよび精液にたいする反応を表示すると表6のごとくである。

すなわち，ヒト血清，胎児血清および精液にたいする反応はすべて消失するが，月経血上清にたいしては5～40倍，ヒト，ヘモグロビンおよび胎性ヘモグロビンにたいしては5倍に反応する抗体が残存した。しかし抗月経血々清アルブミン沈降素血清ではその反応よわく，またはまったく反応陰性のものも存在する。

而してこの月経血上清，ヘモグロビンならびに胎性ヘモグロビンにたいする反応も同ヒト血球泥の適当量で吸収すると，いずれもその反応は消失し，首藤の実験⁵⁾による月経血にたいする特異抗体の証明はできなかつた。

結 論

以上月経血の特異性に関する血清免疫学的実験から，つぎの結論を得た。

1) 新鮮な溶血性月経血々清をもつて頻回ウサギを免疫しても，その毒性により斃死または衰弱をきたし，抗体産生に困難を感じるがごときことはほとんどなかつた。

2) 上記免疫血清において月経血にたいする特異抗体の証明はみとめられなかつた。

終にのぞみ，三上教授の指導，校閲を深謝する。

(本論文の要旨は昭和34年第43次日本法医学会総会において発表した。)

主 要 文 献

- 1) Merkel : Dtsch. Z. gerichtl. Med, 4, 1, 1924.
- 2) Berg : Dtsch. Z. gerichtl. Med, 43, 1, 1954.
- 3) 坂本 : 久留米医誌, 20, 1767, 昭32, 21, 434, 昭33.
- 4) 太田 : 科学と捜査, 10, 67, 昭31.
- 5) 首藤 : 久留米医誌, 20, 810, 昭32.
- 6) 上条 : 日法医誌, 11, 70, 昭32.
- 7) 辻 : 日法医誌, 11, 457, 昭32.
- 8) 山口 : 久留米医誌, 21, 123, 751, 昭33.
- 9) 戸渡 : 久留米医誌, 21, 1852, 昭33.
- 10) 平瀬・鹿大医誌, 9, 143, 昭32.
- 11) 楠元 : 岡山医誌, 69, 2931, 昭32.

Sero-Immunological Study of the Menstrual Blood

By

Masuo MATSUMOTO

Yoshiyuki OCHIAI

Department of Legal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Y. MIKAMI)

We obtained the following result from the serum immunological experiment on the specificity of menstrual blood.

1) Immunized with the serum of fresh hemolytic menstrual blood, the rabbits did not grow weak and die from its virulence, as we did not meet with a difficulty to product the antibody.

2) We could not prove the specific antibody to menstrual blood in immunized blood as mentioned above.