動物免疫抗 Rho 血清についての検討

(II) 抗血清の経年変化

東京標準血清株式会社

早 川 善 郎

STUDIES ON THE ANIMAL IMMUNIZED ANTI-Rho SERUM

II. CHANGES OF THE ANTISERUM BY STORAGE.

by

Zenro HAYAKAWA

(Tokyo Standard Serum Co., Ltd)

まえがき

抗 Rho 血清の有効期間は、完全抗体たると不完全抗体たるとを問わず、又其の由来が人であると動物であるとを問わず、すべて製造完了の日から1カ年と限定されている。而も開封せずに2°~6℃の低温に保存することを条件としている。であるから、開封後とか、保存状態が条件に合致しないときとかの抗血清の性能変化による判定結果の誤りはすべて使用者に其の責任が帰せられる。これは抗血清が製造機関を離れたあと、製品がたどる色々な条件を考慮に入れて保存法について一つの枠を作り、其の枠内にある限り、其の血清は1カ年間は凝集素価の低下等によつて判定に支障をきたすことのないことを保証しているものと思う。然し実際には判定用血清が市販に移されたあと、長期間ではないにしても定められた条件から逸れる場合も考えられる。こうした条件外の環境におかれたとき、抗血清がどの程度の抵抗を示すのかということは、実際の使用者が一様に高い関心を示す点である。抗 Rho 血清の場合、抗体の性質のちがひ、所謂完全抗体と不完全抗体については、人由来のものは不完全抗体の方が完全抗体に比べて一般に安定度が高いと言われている。私達も耐熱性等とは別に、抗原性の弱い(被凝集性の弱い)とみられる血球が経時的に其の抗原性を失つてゆく状況が、完全抗体の方に、より顯著に顯れて

くる状態を観察している。然し動物免疫血清は、型特異性という点を別にしてみれば、人由来の抗血清とは本質的に異なるものであるから、この意味でもこの抗血清の型特異性が、経年的にどのように変つてゆくかは検討しておく必要があらう。私は種々な条件に動物免疫抗 Rho 血清を保存しながら、その凝集素価及び凝集力の推移を検べ、先人の報告とやゝ異なる結果を得たので報告する。

実験材料と実験法

1) 抗 Rho 血清

製造番号1, 2及び4の製品。

2) 血球浮游液

毎常同じ個体の OMN-CDE 型血球を試験当日採血し、生理食塩液で2回洗滌し、ほぼ3%の濃度に生理食塩液に再浮游させて使用した。

3) 凝集素価の測定

抗血清0.1ccに上記血球浮游液0.1ccを混合し、室温に30分放置したあと1000 r.p.m./1分、遠心して凝集素価を測定した。

4) 凝集力

OMN-CDE, OM-CDe, BM-cDe 型の血球を充分洗滌して各等量混合し、この混合血球を用い、ABO式血液型判定用血清基準Ⅳ-4項に準じて測定した。

5) 抗血清の保存

各抗血清を1℃~3℃の氷室、室温の薬品戸棚、

及37℃の恒温器に保存し、一群は随時保存品の全部のキャップを開いて外気に曝して細菌汚染の機会を与え、別の一群は原封のまゝ保存して試験の都度原封品を開封して試験に供した。

実験成績並びに説明

まず各血清の製造時に於ける状態を表1に示した。

表1 抗血清の製造時の凝集素価と凝集力

製造番号	凝集素価	凝集力	製造年月日
4	16	1分26秒	38. 1. 9
2	16	1分59秒	37. 2. 7
1	16	2分05秒	36. 7. 10

即ち各抗血清とも凝集素価は16、凝集力は1分26秒を最高とし、最低は No. 1 の2分5秒である。

I) 熱に対する抵抗性

抗血清に熱を加えた場合、凝集素価が温度及び加温時間によつてどのように変動するかを調べた。

1—1) 70℃に加温したときの変化

抗血清を70℃に温めた結果を表2に示した。

表2 抗血清を70℃に60分間加温したときの凝集素価

	稀釈倍数		N	: 2	: 4	: 8	: 16	: 32	: 64
	血清番号								
加熟後	No. 1	0	0	0	0	0	0	0	0
	No. 2	0	0	0	0	0	0	0	0
	No. 4	0	0	0	0	0	0	0	0
対照	No. 1	3	3	2	2	1	1''	0	
	No. 2	3	3	2	2	1	1	0	
	No. 4	3	3	2	2	1	1''	0	

各抗血清とも凝集素価は0となり、抗体が完全に破壊されたことを示す。

1—2) 60℃に加温したときの変化

抗血清を60℃に温めたときの凝集素価及び凝集力の変化を表3に示した。

60℃に加温して60分経つと、凝集素価は著しく低下する。然し其の後そのまゝの状態2日間程

表3 抗血清を60℃に加温したときの凝集素価の経時変化

加温時間	稀釈倍数	N : 2 : 4 : 8 : 16 : 32 : 64						
抗血清								
1時間	Lot. No. 1	2	1	1''	0	0	0	0
	Lot. No. 2	2	1	1''	0	0	0	0
	Lot. No. 4	2	1	1	0	0	0	0
6時間	Lot. No. 1	2	1	1	0	0	0	0
	Lot. No. 2	2	1	1'	0	0	0	0
	Lot. No. 4	2	1	1'	0	0	0	0
24時間	Lot. No. 1	2	1	1	0	0	0	0
	Lot. No. 2	2	1	1	0	0	0	0
	Lot. No. 4	2	1	1	0	0	0	0
2日間	Lot. No. 1	2	1	1'	0	0	0	0
	Lot. No. 2	2	1	1''	0	0	0	0
	Lot. No. 4	2	1	1'	0	0	0	0
3日間	Lot. No. 1	2	0	0	0	0	0	0
	Lot. No. 2	2	1''	0	0	0	0	0
	Lot. No. 4	2	1''	0	0	0	0	0
5日間	Lot. No. 1	2''	0	0	0	0	0	0
	Lot. No. 2	2''	0	0	0	0	0	0
	Lot. No. 4	2''	0	0	0	0	0	0
7日間	Lot. No. 1	0	0	0	0	0	0	0
	Lot. No. 2	0	0	0	0	0	0	0
	Lot. No. 4	0	0	0	0	0	0	0

保たれ、3日後から更に低下が始り、5日目には猶抗体の残存が認められるが7日目には完全に破壊されるのを認めた。

1—3) 50℃に加温したときの変化

抗血清を50℃に加温しながら、時間経過に伴う凝集素価と凝集力の変化を検べた結果を表4に示した。

本表にみられるように50℃に加温した場合5日間ほどは何等の変化もない。10日目位に凝集素価の低下が一管程認められるが、更に加温を続けても其の後の変化はなく、30日後にいたつても大体そのまゝ状態で保たれている。

I) の小括

動物免疫抗 Rh₀ 血清の熱に対する抵抗を検べて次のような結果を得た。

- 1) 60℃以上の熱に対しては抵抗性は極めてすくなく。
- 2) 50℃位までの熱に対してはかなりの抵抗性

表4 抗血清を50℃に加温したときの凝集素価の経時変化

加温時間	稀釈倍数	N : 2 : 4 : 8 : 16 : 32 : 64						
	抗血清							
24時間	Lot No. 1	3	3	2	2	1	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	2	1'	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	2	1	0	0
2日間	Lot No. 1	3	3	2	2	1	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	2	1	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	2	1	0	0
5日間	Lot No. 1	3	3	2	1	1''	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	1	1''	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	1	0	0	0
10日間	Lot No. 1	3	3	2	1	0	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	1	0	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	1	0	0	0
15日間	Lot No. 1	3	3	2	1	0	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	1	0	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	1	0	0	0
20日間	Lot No. 1	3	3	2	1'	0	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	1	0	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	1	0	0	0
30日間	Lot No. 1	3	3	2	1'	0	0	0
	Lot No. 2	3	3	2	1'	0	0	0
	Lot No. 4	3	3	2	1'	0	0	0

がある。

Ⅱ) 保存に対する抵抗

1) 37℃の保存に対する抵抗

1-1) No. 1 及び No. 2 の抗血清を製造時原封のまま37℃に保存したときの凝集素価及び凝集

力の変動を表5に示した。

本表にみられるように、原封のまま保存したものは37℃の温度に1カ年以上放置しても、凝集素価及び凝集力にはその影響は認められない。

1-2) No. 1, No. 2 の抗血清を随時開封して内容を外気に曝して汚染の機会を与えながら37℃に保存したときの凝集素価と凝集力の変動を検べその結果を表6に示した。

本表にみるように、この場合は原封のまま保存したものとは異り、8カ月～1カ年目の間にやゝ目立つ凝集素価の低下が認められる。然しながら凝集力にはほとんど変化はない。又そのあとは目立って変化はなく、No. 1 血清は1年9カ月に及んでいる。

2) 室温保存に対する抵抗

室温に原封のまま、若くは随時開封しながら保存したものについての検査成績を表7及び表8に示した。

即ち保存法が原封のままであつても時折開封しながらのものでも、いずれも其の凝集素価及び凝集力は製造時と変つていない。

3) 氷室保存する抵抗

氷室に原封のまま、若くは随時開封しながら保存したものについての検査結果を、表9及び表10に示した。

即ち抗血清に変化は認められない。

Ⅱ) の小括

表5 抗血清を原封のまま37℃に保存したときの凝集素価と凝集力の変化

製造番号	試験期日	稀釈倍数	N : 2 : 4 : 8 : 16 : 32 : 64							凝集力
		保存期間								
1	36. 8. 10	1 カ月	3	3	3	3	2	1''	0	2分10秒
	36. 9. 10	2 カ月	3	3	3	2	2	0	0	2分5秒
	36. 11. 10	4 カ月	3	3	3	2	2	0	0	1分58秒
	37. 3. 10	8 カ月	3	3	3	2	2	1''	0	2分10秒
	37. 7. 10	1 カ年	3	3	3	2	2	0	0	1分59秒
	38. 1. 10	1年6ヵ月	3	3	3	2	2	0	0	2分25秒
	38. 4. 10	1年9ヵ月	3	3	3	3	1''	0	0	2分15秒
2	37. 3. 10	1 カ月	3	3	3	2	2	0	0	1分40秒
	37. 8. 10	6 カ月	3	3	3	2	2	0	0	2分22秒
	38. 2. 10	1 カ年	3	3	3	2	2	0	0	2分8秒
	38. 4. 10	1年2ヵ月	3	3	3	2	2'	0	0	2分15秒

表 6 抗血清を時折開封して内容を外気に曝しながら37℃に保存したときの凝集素価と凝集力の変化

製造 番号	試験期日	稀釈倍数	N	: 2	: 4	: 8	: 16	: 32	: 64	凝集力
		保存期間								
1	36. 8. 10	1 カ 月	3	3	3	3	2	1''	0	2分11秒
	36. 9. 10	2 カ 月	3	3	3	3	2	0	0	2分05秒
	36. 11. 10	4 カ 月	3	3	3	1	1'	0	0	2分40秒
	37. 3. 10	8 カ 月	3	3	3	1	0	0	0	2分38秒
	37. 7. 10	1 カ 年	3	3	2	1	1''	0	0	2分10秒
	38. 1. 10	1年6ヵ月	3	3	2	1''	0	0	0	2分50秒
	38. 4. 10	1年9ヵ月	3	3	2	1	0	0	0	2分35秒
2	37. 3. 10	1 カ 月	3	3	2	2	1	1''	0	1分55秒
	37. 8. 10	6 カ 月	3	3	2	2	2	1''	0	1分50秒
	38. 2. 10	1 カ 年	3	3	2	1	1	0	0	2分18秒
	38. 4. 10	1年2ヵ月	3	3	2	1	0	0	0	2分45秒

表 7 抗血清を原封のまま室温に保存したときの凝集素価と凝集力の変化

製造 番号	試験期日	稀釈倍数	N	: 2	: 4	: 8	: 16	: 32	: 64	凝集力
		保存期間								
1	36. 8. 10	1 カ 月	3	3	3	2	1	1''	0	2分30秒
	36. 9. 10	2 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	2分20秒
	36. 11. 10	4 カ 月	3	3	3	3	1	0	0	2分55秒
	37. 3. 10	8 カ 月	3	3	3	2	2	0	0	2分9秒
	37. 7. 10	1 カ 年	3	3	3	2	2	?	0	2分25秒
	38. 1. 10	1年6ヵ月	3	3	3	2	2	0	0	2分15秒
	38. 4. 10	1年9ヵ月	3	3	3	2''	2'	1''	0	2分00秒
2	37. 3. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	1分55秒
	37. 8. 10	6 カ 月	3	3	3	2	1	0	0	2分00秒
	38. 2. 10	1 カ 年	3	3	3	2'	2'	1'	0	1分55秒
	38. 4. 10	1年2ヵ月	3	3	3	3	2'	1'	0	1分55秒

表 8 抗血清を時折開封して内容を外気に曝しながら室温に保存したときの凝集素価と凝集力の変化

製造 番号	試験期日	稀釈倍数	N	: 2	: 4	: 8	: 16	: 32	: 64	凝集力
		保存期間								
1	36. 8. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	2分40秒
	36. 9. 10	2 カ 月	3	3	3	2	2	0	0	2分19秒
	36. 11. 10	4 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	2分26秒
	37. 3. 10	8 カ 月	3	3	3	2	1	0	0	2分18秒
	37. 7. 10	1 カ 年	3	3	3	2	2	0	0	2分45秒
	38. 1. 10	1年6ヵ月	3	3	3	2	1	0	0	2分36秒
	38. 4. 10	1年9ヵ月	3	3	3	2	2'	0	0	2分15秒
2	37. 3. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	1分50秒
	37. 8. 10	6 カ 月	3	3	3	2	2	0	0	1分46秒
	38. 2. 10	1 カ 年	3	3	3	2	2	0	0	1分22秒
	38. 4. 10	1年2ヵ月	3	3	3	2	2''	0	0	1分46秒

表9 抗血清を原封のまま氷室（2℃～4℃）に保存したときの凝集素価と凝集力の変化

製造 番号	試験期日	稀釈倍数	N	: 2	: 4	: 8	: 16	: 32	: 64	凝集力
		保存期間								
1	36. 8. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	2分16秒
	36. 11. 10	4 カ 月	3	3	3	2	2	0	0	2分8秒
	37. 7. 10	1 カ 年	3	3	3	2	2	1''	0	2分16秒
	38. 4. 10	1年9ヵ月	3	3	3	2	2	0	0	2分5秒
2	37. 3. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1'	0	1分40秒
	37. 8. 10	6 カ 月	3	3	3	3	2	1''	0	1分55秒
	38. 2. 10	1 カ 年	3	3	3	3	1	1'	0	1分30秒
	38. 4. 10	1年2ヵ月	3	3	3	3	1''	1''	0	1分40秒

表10 抗血清を時折開封して内容を外気に曝しながら氷室（2℃～4℃）に保存したときの凝集素価と凝集力の変化

製造 番号	試験期日	稀釈倍数	N	: 2	: 4	: 8	: 16	: 32	: 64	凝集力
		保存期間								
1	36. 8. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	2分55秒
	36. 11. 10	4 カ 月	3	3	3	2	2	0	0	2分35秒
	37. 7. 10	1 カ 年	3	3	3	2	2	1''	0	2分22秒
	38. 4. 10	1年9ヵ月	3	3	3	2	2	1''	0	2分19秒
2	37. 3. 10	1 カ 月	3	3	3	2	2	1''	0	1分58秒
	37. 8. 10	6 カ 月	3	3	3	3	2	0	0	1分55秒
	38. 2. 10	1 カ 年	3	3	3	2	2	0	0	1分45秒
	38. 4. 10	1年2ヵ月	3	3	3	2	1	1''	0	1分55秒

動物免疫抗 Rh₀ 血清を色々な条件下に保存して、其の保存に対す抵抗を検べてつぎのような結果を得た。

1) 動物免疫抗 Rh₀ 血清の保存に対する抵抗は強い。常温或はこれ以下の温度で保存される場合は細菌汚染の機会を与えられても1カ年以上の保存に耐えられることを知った。

2) 抗体の凝集素価を著しく低下させる性質を持つ細菌の存在はすでに報告されている。従つてこの様な細菌が今回の実験中に抗血清に混入しなかつたのか、或は混入しても防ふ劑（0.1w/v%の窒化ソーダ）によつて発育が阻止され、結果的に凝集素価の低下がみられないのかは今後の検討にまたなければならない。

結論

以上の実験成績から次のように結論する。

1) 動物免疫抗 Rh₀ 血清の保存に対する抵抗は強い。従つて保存条件が若干規定されている事項から逸脱しても直ちに其の性能が影響を受けることはないと考えられる。

2) 60℃或はこれ以上の温度に曝すと急速に其の活性を失う。

3) 50℃以下の温度に対しては相当な抵抗を示し。

文 献

1) 松隈義人：動物免疫による抗血清作成に関する研究，福岡医誌，47/12：2083～2111，1956，
2) J. Murray：Rh antigens of human and monkey Blood, J. Immunol. 68（5）：5/3～521 1952.