164.

616-002.6:612.118.22

カーン 反 應 ノ 染 色 實 験 ニ 就 テ

岡山醫科大學皮膚科泌尿器科教室 (主任根岸教授)

醫 學 士 和 田 雅 之

[昭和 11 年 10 月 5 日受稿]

*Aus der Dermato-Urologischen Klinik der Okayama Medizinischen Fakultät
(Vorstand: Prof. Dr. H. Negishi).*

Über Kahn-Hechtsche Reaktion.

Von

Dr. Masayuki Wada.

Eingegangen am 5. Oktober 1936.

Verfasser prüfte die Kahn-Hechtsche Reaktion nach und machte einige technische Beiträge. Das Resultat seiner Untersuchungen ist folgendes:

1) Der Extrakt wurde mit gesättigtem Sudan III gefärbt, weil Sudanrot R3 der I. G. Farbenindustrie nicht zu bekommen war.

2) Die Methode der Extraktverdünnung ist die Originalmethode Kahns.

3) Drei verschiedene Röhren wurden verwendet: Das erste enthielt 0,05 cc Extraktverdünnung, 0,15 cc in-

aktiviertes Serum und 1,0 cc gefärbte physiologische Kochsalzlösung; das zweite 0,025 cc Extraktverdünnung, 0,15 cc inaktiviertes Serum und 0,5 cc gefärbte physiologische Kochsalzlösung; das dritte 0,0125 cc Extraktverdünnung, 0,15 cc inaktiviertes Serum und 0,5 cc gefärbte physiologische Kochsalzlösung.

4) Herstellung der gefärbten physiologischen Kochsalzlösung: 0,2 cc 1/2% iger Naphtholgrünlösung wurden in ca. 30 cc physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

(a) Negative Reaktion.

	Flüssigkeit	Flocken
Erstes Röhren	Dünnrosa, diffus getrübt, Wirbelbewegung beim Schütteln	Keine
Zweites Röhren	Wie beim ersten, aber Rosafarbe noch etwas dünner	Keine
Drittes Röhren	Klar, etwas grünlich	Keine

(b) Zweifelhafte Reaktion :

	Flüssigkeit	Flocken
Erstes Röhrchen	Wie in (a)	Keine
Zweites Röhrchen	Wie in (a)	Gelegentlich kleine flockenartige partikelchen sichtbar
Drittes Röhrchen	Wie in (a)	Wie beim zweiten, oder Flocken etwas deutlicher

(c) Schwachpositive Reaktion :

	Flüssigkeit	Flocken
Erstes Röhrchen	Fast klar leuchtendrot, etwas getrübt. Durch Zentrifugierung kann man die Differenz zwischen (+) und (-) deutlicher machen	Mit Hilfe der Lupe werden kleine Partikelchen sichtbar, ohne Wirbelbewegung beim Schütteln

Zweites und drittes Röhrchen sind wie das erste, aber deutlicher als dieses.

(d) Mittelstark- und starkpositive Reaktion :

	Flüssigkeit	Flocken
Erstes Röhrchen Zweites Röhrchen Drittes Röhrchen	Klar orangerot oder gelblichrosa	Flocken deutlich rosarot

(Autoreferat)

目 次

- (1) 緒 言
- (2) 實驗的觀察
- (3) 結 論
- 文 獻

(1) 緒 言

Kahn 反應ノ染色ニ就テハステニ Hecht ニ
依リ 1934 年 Medizinische Klinik, 1935 年
Acta Dermatovenereologica 等ニ Hecht-
Müllersche Reaktion 及ビ Sachs-Witebsky-
Hecht-Reaktion ト共ニ發表セラレタル所ニ

シテ其ノ主旨トスル所ハ從來行ハレタル Kahn 反應ガ其ノ結果ノ判定ニ當リテ往々困難ナル場合多キ爲メ之ヲ染色シ、生ジタル絮狀片ヲ着色ニヨリテ見易クシ、且絮狀片ヲ大ナラシメ、ヨリ判定ヲ容易ナラシムルニアリ。

氏ニ依ルニ此染色ニ當リテハ 2 色素ヲ使用ス。即チ「アンチゲン」タル「ヒヨレステリン加牛心エキス」ヲ染色スルモノ及ビ生理的食鹽水ヲ染色スルモノ之ナリ。

前者トシテ「I. G. Farbenindustrie 製 Sudanrot R₃」後者トシテ Methylenblau, Victoriablau, Naphtholgrün ヲ使用スルヲヨシトス。

以上ノ色素中 Sudanrot R₃ ハ全クコレニ代用ス可キ色素ナシトサレ、後者ニ屬スルモノトシテハ脂肪ニ不溶性ナルモノニシテ次ノ條件ニ適合スルモノナレバヨシトサレ、就中 Kahn 反應ニ於テハ Naphtholgrün ヲヨシトセラル。

(a)「アンチゲン」ノミヲ染色シ、即チ結果ニ於テハ絮狀片ノミヲ染色シ上清ニ着色セザルモノ。(Sudanrot R₃)

(b) 生理的食鹽水ノ染色ニ使用セル色素ガ絮狀片ヲモ染色セザルコト。

(c) 前 2 者ノ混合ニヨリテ別ノ着色ヲ示スモノナルコト。

以上ノ條件ヲ満足スル色素トシテ結局ニ於テ Sudanrot R₃ 及ビ Naphtholgrün ヲ使用シタル實驗方法ハ大體次ノ如シ。

(i)「ヒヨレステリン加牛心エキス」ハ從來ノ Kahn 反應ト全ク同一ニシテ之ニ Sudanrot R₃ ヲ加ヘ強振シテ飽和シコレヲ遠心沈澱シ其ノ上清ヲ使用ス。

(ii) コレニ生理的食鹽水ヲ豫メ決定セル單位ノ割合ニ加フ。但シコノ食鹽水ハ「弱アルカリ性」トス。即チ

$$\begin{cases} \text{NaCl} & 0.9 \\ \text{NaOH} & 0.1 \\ \text{Aq. dest. ad.} & 100 \end{cases}$$

(iii) (i) 及ビ (ii) ノ混合ニ血清ヲ加ヘル點 Kahn 反應ニ同ジ。但シ 3 列トラズトモ第 1 列ノミニテモヨシ。

(iv) 血清ヲ加ヘタル試験管ニ Naphtholgrün ニ依リテ着色セラレタル生理的食鹽水ヲ型ノ如ク加フ。即チ生理的食鹽水 30 cc ニ 0.5% ニシタル Naphtholgrün 水溶液 0.2 cc ノ割合ニ加ヘタルモノヲ使用ス。

(v) コレヲノ操作ノ後之ヲ 1 分間 1000 乃至 2000 廻轉ノ速度ヲ以テ 10 分間遠心沈澱シ其ノ結果ヲ判定ス。

陽 性 度	上 清	沈 澱
++	透明、光澤アル綠。	赤。(多シ)
+	濁、綠。	赤。(色淡シ)
±	濁、綠赤。	微赤。
—	濁、黃赤。	無シ。

以上ノ如キ反應ナリ。斯クノ如ク其ノ操作モ可ナリ簡單ニシテ、結果ノ判定モ容易ナルコト云フニ及バズ。

余此反應ヲ實驗スルニ當リ色素ヲ求メタルニ Naphtholgrün ハ直チニ得ラレタルモ「アンチゲン」ノ染色ニ使用スル I. G. Farbenindustrie 製 Sudanrot R₃ ナル色素ナク遂ニ入手スルヲ得ズ。或ハ Hecht 氏ノ記載セル Sudanrot R₃ ハ Sudan III ヲ意味スルモノ

ナランカト考へ此色素ヲ用キテ實驗シ可成リノ成績ヲ擧ゲ得タリ。抑モ氏ノ發表セル原著記載ハ不幸精細ヲ缺キ、殊ニ其ノ色素液ノ濃度及ビ用量ニ就テハ不明ノ點多ク、從テ余ハ同氏法ヲ充分ニ批判ス可ク種々ナル條件ヲ設ケテ系統的ニ實驗シ、以テ同氏法ニ幾多ノ補遺ヲ加ヘ得タリト確信ス。

(2) 實驗的觀察

上述ノ如ク Sudanrot R₃ ナキ爲メ Sudan III ト Naphtholgrün ヲ使用セリ。其ノ他 2, 3 異レル色素ヲ用キテ實驗セルモ其ノ結果ハ上記ノ 2 色素ニ及バザリシタメコレヲ省略ス。

(a) Sudan III ノ濃度.

コレニ就テハ後ニ述ブ可シ。

(b) Naphtholgrün ノ濃度.

コレハ色々ノ濃度ニ就テ實驗シタルモ反應ヲ終了セル試験管内ノ液體ニ綠色ノアラハレザルカ又ハ極ク微弱ニ現レル程度ノ範圍内ニテ最も多量ヲ使用スルヲヨシトス。即チ 0.5% Naphtholgrün 水溶液ハ長ク使用可能ナルタメ豫メコレヲ作成シ置キ、コレノ 0.1 cc 乃至 0.2 cc ヲ生理的食鹽水 30cc 乃至 50 cc ニ加フ可シ。コノ濃度ノ多少ノ變化ハ Sudan III ノ濃ノ如何ニヨリテ加減スルヲ良シトス。例ヘバ Sudan III ノ $\frac{1}{2}$ 飽和液ヲ使用スルトキハ 30 cc ノ生理的食鹽水ニ對シコノ液 0.15 cc 位ヲ可トスベシ。

(c) 弱 Alkali 性生理的食鹽水使用ノ可否.

余ノ行ヘル所ニテハ判定ヲ容易ナラシムルモ其ノ鋭敏度ヲ著シク減ズルヲ以テ賛同シ難シ。故ニ以下ノ實驗ニハコレヲ使用セザルモ

ノノミニ就テ述ベントス。

(d) 遠心沈澱ヲ行ヒテ判定スル事ノ可否.

Sudan III ノ濃度ノ如何ニヨリテ成績不定ナルモ一般ニ不良ノ結果ヲ得タリ。少ナク共第 2—3 管ニ於テハ絶對ニ不可ナリ。只以下述ブル特殊ノ場合ノミニ使用ス。

以上ノ如キ諸條件ノ下ニ微毒、非微毒患者及ビ健康者血清 256 例ニ就テ Sudan III ノミ又ハ Sudan III 及ビ Naphtholgrün ヲ種々ナル濃度ニ於テ混和シ之ヲ其ノ儘觀察シ或ハ生成セル絮狀物ヲ遠心沈澱シテ其ノ沈渣ノ着色度ヲ精細ニ検査セル結果ハ大體次ニ示スガ如シ。

(1) Sudan III ヲ「アンチゲン」ニ飽和セル場合.

實驗セル例症全 97 ナリ。Naphtholgrün ハ 0.5% ノ水溶液トシコレヲ生理的食鹽水 30cc ニ對シ 0.3, 0.2, 0.15, 0.1 等ノ割合ニ混ジタリ。

第 1 表

「スダン」III ノ飽和度	生理的食鹽水ト 0.5%「ナフ トールグリユン」水溶液ノ比	例數
飽 和	30 : 0.3	6
〃	30 : 0.2	73
〃	30 : 0.15	10
〃	30 : 0.1	8
計		97

Sudan III ヲ飽和スルニハ Hecht 氏ノ云フガ如ク「アンチゲン」ニコレヲ加ヘ強ク振盪シタル後遠心沈澱シ、其ノ上清ヲ使用ス。Naphtholgrün ハ上表ノ如キ濃度ニ就テ實驗シタルモ反應終了後ノ液體ニ全色素ノ綠色現ルル時ハ液ノ明ルサヲ減ジ、タメニ絮狀片ヲ

見難クス。又餘リニウスキニ過グレバ Sudan III ニヨル液ノ着色ヲ變化セシムルコト少ナク從ツテ絮狀片ハ見難クナル。結局 Naphtholgrün ハ 30 cc ノ生理的食鹽水ニ對シ同水溶液 0.2 cc 位ヲ加ヘタルモノヲヨシトス。但シコノ操作ニ依リテ作成セラレタル生理的食鹽水ノ着色度ヲ豫メ銘記セラルルナレバ ½% Naphtholgrün 水溶液ハ作ラズ共直接生理的食鹽水ニ適當ニ同色素ヲ加フレバ便ナリ。

カクシテ以下ハ Kahn 反應ト全ク同一ノ操作ニヨリテ反應ヲ施行ス。診斷モ亦 Kahn 反應同様 3 本ノ試験管ノ結果ヲ平均ス。

(i) 陰性反應

Kahn 反應特有ノ絮狀片ヲ認メズ。即チ第 1 管ハ 少々桃色ヲ帶ビタル赤色ノ液體ニシテ牛乳ヲ同色ニ染色セルカノ如ク潤濁シ、中ニ絮狀片ヲシキモノヲ認メズ。第 2 管ニ於テモ同様ノ潤濁ヲ見ルモ第 1 管ヨリモ程度少ナシ。第 3 管ハ概ネ透明ニシテ少々綠色ヲ帶ブ。尙ホ第 1 及ビ第 2 管ニ於テハコレヲ振盪スレバ中ノ潤濁ハユルク過狀運動ノ如キモノヲ示シ何トナク液全體粘々シキ感アリ。

(ii) 疑ハシキ反應

(i) トノ區別甚ダ困難ナリ。第 1 及ビ第 2 管ニ於テハ全ク區別ナシ。第 3 管ニ於テ弱陽性程度ノ微細ナル絮狀物ヲ認メラル。3 管ヲ平均シテ(±)トス。

(iii) 弱陽性反應

第 1 管ハ依然區別不明ナルモ第 2—3 管ニ於テ少々絮狀片ヲシキモノヲ認メ特ニ第 2 管ノ液體少々透明トナリ、之ヲ「ルーベ」ニヨリテ見レバ微細ナル絮狀片ノ浮游スルヲ見ル。第 3 管ニ於テ其ノ様著明ナルコト多シ。尙ホ

振盪ニヨリテ絮狀物ノ過動スル様陰性反應ニ比シ少々速カニシテ液全體トシテ前者ノ粘々シキ感アルニ比シ此場合ハ何トナクサラサラシタル感アリ。

(iv) 中等度陽性反應

第 1 管ノ液體少々透明トナリ中ニ可成リ著明ナル絮狀物ヲ認ム。尙ホ往々液體ノ色調異ルコト有リ。即チ從來桃色ヲ帶ビタル赤色ナリシ液體ガ少々橙黃赤色ヲ帶ブルニ至ル。此様ハ特ニ第 1 管ニ於テ著明ナリ。第 3 管ハ輕度ノ綠色ヲ帶ブル爲著明ナラズ。尙ホ絮狀片ハ第 2—3 管ニ於テハ第 1 管ヨリ明カニ認メラレシカモ振盪ニヨル過狀運動ノ如キモノハ見ラレズシテ米ノトギ汁ヲ振盪セルガ如キ感アリ。

(v) 強陽性反應

(iv) トノ區別ハ唯程度ノ差ノミ。絮狀片モ大トナリ又橙色调モ著シクナル。總テニ於テ(iv)ノ著明ニナリタルモノト言フ可シ。

(2) Sudan III ヲ ½ 飽和トナセル場合。

實驗セル症例全 104 ニシテ第 2 表ニ見ルガ如ク Naphtholgrün ハ同色素ノ 0.5% 水溶液 0.2, 0.15, 0.10 等ニ混ジテ試験セリ。

第 2 表

「スダン」 III ノ飽和度	生理的食鹽水ト 0.5%「ナフ トールグリュン」水溶液ノ比	例數
½	30 : 0.2	17
⅔	30 : 0.15	55
⅞	30 : 0.1	20
Ⅰ	30 : 0	12
計		104

Sudan III ノ ½ 飽和液ハ飽和液ヲ作リコレニ同量ノ「アンチゲン」ヲ加ヘタリ。Naph-

tholgrün ハ上記ノ表中 0.15 cc : 30 cc ガ最モ良シ。色ノ加減ハ飽和ノ時述ベタルト同様ノ理由ニヨリ濃淡ニ依リテ良否アリ。

(i) 陰性反應

飽和セル時ト大體同様ナルモ赤色淡クナリ桃色調稍々著シ。

(ii) 疑ハシキ反應

飽和セル時ト大體同様ニシテ唯色調淡クナリ中ノ絮狀片ノ染色程度ガ液ノ染色程度ヨリ強キコト (1) ノ場合ニ比シ判リ易シ。

(iii) 弱陽性反應

「ルーベ」ニヨリテ第1管ニモ絮狀片ラシキモノヲ認メ、尙ホ液ノ濁濁程度陰性反應ニ比シテ弱シ。第2及ビ第3管ニ於テハカナリ著明ノ絮狀片ヲ見ラル。尙ホ第1管ノ診斷ヲ確カメンニハ1分間 2000 乃至 3000 廻轉ニテ遠心沈澱セバ陰性反應ニ比シ液ノ著シク透明トナルヲ認ム。此遠心沈澱法ハ飽和セル場合ニ於テハ唯強又ハ中等度陽性ノ場合ニノミ明カナリシモノナルモカカル程度ノモノハ此方法ニ依ラズ共診斷ハ容易ナルタメ價值ナシ。尙ホ又イヅレノ場合ニ於テモ遠心沈澱ニヨル沈澱物ニヨリテ鑑別セント試ミタルモ結果ハ不定ニシテ失敗ニ歸セリ。唯上清ニ於テ陰性又ハ疑ハシキ反應ノ時ハ濁濁ノ程度ハ餘リ減少セザルカ又ハ減少ヲ認メ難キニ反シ陽性ノ時ハ濁濁ハ著シク減少セラルルカ又ハ全ク透明トナル。其ノ程度ハ陽性度ニ略ボ比例ス。

第2, 第3管ニ於テハ其ノ必要ナク區別容易ナル可シ。

(iv) 中等度及ビ強陽性反應

程度ノ差ノミニシテ區別モ亦明カナリ。即チ程度ニ應ジテ大小アル絮狀物ノ浮游スルヲ

認ム。其ノ色ハ稍々黄褐色ヲ帶ビタル赤色ニシテ液ト殆ト同色ナルモ其ノ着色ノ程度強クシテ絮狀片其ノモノハ染色法ニヨリテ認メ易クナリタルヲ知ル。コノ事實ハ2色素ヲ使用セル總テノ場合ニ云ヒ得。尙ホ液ガ陽性度ヲ増加スルニ從ヒ橙色調ヲ帶ブルコトモ多クナル。但シ時トシシ橙色ヲ帶ビザル事モアルタメ絶對ノ價值ナシ。

(3) Sudan III ヲ 1/2 飽和以下トセル場合。

實驗例全 55 例ニシテ Naphtholgrün ノ濃度ハ第3表ニ示スガ如シ。

第 3 表

「スダン」III ノ飽和度	生理的食鹽水ト 0.5%「ナフ トールグリュン」水溶液ノ比	例數
1/4	30 : 0.4	14
1/8	30 : 0.3	11
1/16	30 : 0.15	15
1/32	30 : 0.05	13
1/64	30 : 0.3	2
計		55

Sudan III ヲ 1/2 飽和以下ノ濃度トセル場合ハ絮狀片ノ着色淡クシテ「Kahn 原法」ト其ノ判定ノ困難ナルコト大體同ジナルヲ以テ不可ナリ。

(4) Sudan III ノミニテ染色セル場合。

此場合ニ於テハ液及ビ絮狀片ノ着色程度大體同ジナルタメ結果ニ於テ染色セザル時ト同ジ。カヘツテ液ノ明ルサヲ減ジ染色セザル時ヨリモ絮狀物ヲ見難クス。

以上ヨリ Naphtholgrün ヲ加ヘル事ニ依リテ Sudan III ノ着色ハ光澤ヲ帶ブルト同時ニ其ノ赤味ヲ減ゼラル。之ニ反シテ絮狀物

ハ殆ド Naphtholgrün ニヨリテ其ノ着色ニ影響ヲ受クルコトナキタメ其ノ結果判定ハ容易トナルモノナリ。然レ共前述セルガ如ク Naphtholgrün ノ濃度ニハ程度アリ濃淡イヅレニ偏スル時モ良ロシカラズ。

(3) 結 論

以上ヨリ結論スルニ當リ所謂 Kahn-Hecht 氏反應ニ於テハ Hecht 氏ノ使用セリト云フ I. G. Farbenindustrie 製 Sudanrot R₃ ハ此反應ニ用キル唯一無二ノ色素ナリト云フモ不幸同會社ニ同色素ナシトノ事、從ツテ不肖本邦ニ於テ同色素ヲ入手スルコトヲ得ズ。爲メニ Hecht 氏ノ記載セルガ如キ明瞭ナル反應ヲ現出セシメ得ズ。然レ共余ノ實驗ノ結果ヲ Kahn 反應ノ結果ト比較スルニ其ノ判定ノ容易トナリタルコトハ明カナリ。

即チ Sudan III ヲ ½ 飽和トナシ Naphtholgrün ハ其ノ ½% 水溶液 0.15cc ヲ生理的食鹽水約 30 cc ニ加ヘタルモノニ就テ反應スルヲ良シトス。其ノ結果ノ判定ニ當リテハ液

ノ色、絮狀物ノ有無及ビ其ノ色、疑ハシキ場合ハ遠心沈澱法ニヨル事、液ノ振盪ニヨル濁ノ動キ及ビ液ノ感ジ等上述ノ諸要素ヲ參考トセバ其ノ診斷ハサシテ難事ニ非ズト確信ス。尙ホ又 Kahn 反應ガ第 3 管ニ於テ見易キニ反シ此場合ハ第 2 管ニ於テモ見易キ爲メ反應施行ニ當リ技術的ニ生ズル誤差ヲ小ナラシムル利アリ。

拙筆スルニ當リ御懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ賜リ、尙ホ又反應ノ結果ノ判定ニ當リテハ終始御批評ヲ賜リタル恩師根岸教授ニ對シ深甚ナル謝意ヲ表ス。

文 獻

- 1) Med. Klinik, Nr. 3, 1934. 2) Acta Dermato-venereologica, 1935.
- 3) Med. Klinik, Nr. 14, 1922. 4) Prag. Med. Wschr., 39, Nr. 25, 1914.
- 5) Arch. f. Derm., 136 1921. 6) Deutsch. Med. Wschr., Nr. 49, 1921.
- 7) Kl. Wschr., Nr. 46, 1932.