白血球分離法の検討

第2報 Dextran による分離

長崎大学医学部内科学第二教室（主任 篠島四郎教授）

渡辺 紋朗, 蒲地 康郎, 宮崎 砂雄, 朝長 正允

INVESTIGATION ON THE METHOD OF LEUKOCYTE SEPARATION REPORT II. DEXTRAN METHOD

BY

Bunro Watanabe, Yasurō Kamachi, Sunao Miyazaki
and Masanobu Tomonaga

Second Department of Internal Medicine,
Nagasaki University, School of Medicine
(Prof.: S. Osajima)

The establishment of the excellent leukocyte separation method is at first required in biochemical studies of leukocyte enzymes. The leukocyte separation method with high-molecular dextran (average M.W. 228,000) was examined following the studies of phytohemagglutinin and Gam Acasia methods formerly reported. Several kinds of concentrations of dextran solution, mixing ratios of dextran solution and blood, and influence of temperature were investigated in order to establish optimal conditions i.e. comparative leukocyte yields, convenience, and minimal erythrocyte contaminations. It was found that the condition of mixing blood and six per cent dextran solution in the following volume ratio (B:D) 6:1 was most suitable. The mean of leukocyte yields was 68.3 ± 0.55 and erythrocyte contaminations were below 94 per cent of leukocytes. The nature of separated leukocytes showed no significant changes comparing with that of fresh capillar blood, by Giemsa staining, supravital staining, phagocytosis-test of indian ink and differentials. These indicate that leukocyte injuries with dextran method are minimal and separated leukocytes are usable for biochemical studies.

The dextran method is better than the phytohemagglutinin and Gam Acasia methods in regard to leukocyte yields and convenience.

I 緒言

我々は白血球分離法の検討を企図し、先に第1報として“ささげヘモアグルチニン及びアカシヤゴムによる分離法”を発表したが¹⁾、今回高分子

dextran を入手し得たので dextran を用うる白血球分離法を種々検討した結果、ささげヘモアグルチニンに勝るよい成績を得たのでここに発表する。第1報にて詳細に述べた如く白血球分離法は

次の 4 種に大別出来る。

1. 膿汁を用うる方法
2. 浮遊法
3. 溶血法
4. 赤血球沈降反応を利用する方法

しかし今日最も関心を持たれ、活発な研究の対象となつてゐるのは第 4 の方法であり、第 1, 第 2, 第 3 の方法は特殊な目的以外では既に過去のものとなつたと云つて良いであろう。

赤血球の沈降反応には物理学的に厳密な意味ではなく、経験的にその直径、比重等に関して大略次の Stokes の式が適用出来る事が認められており

$$u = \frac{2 (rp)^2 g (dp - dm)}{9\eta y}$$

(u =沈降速度, rp =球状体の直径, dp =球状体の比重,

dm =medium の比重, y =mediumの粘稠度)

rp を大きくする, 即ち赤血球を凝集する過程はその沈降速度を促進する。従つて前報のささげヘモアグルチニン法も, 今回の dextran 法も共に赤血球凝集を起こさせて沈降速度を促進させる点では共に第 4 の分類に属するものであるが, それぞれの作用機転は全く異なっており, 前者は特異的の赤血球凝集素による抗原抗体反応であり, 後者は高分子化合物に赤血球を吸着せしめて赤血球の大きな凝塊を作ろうとするものである。吸着作用により赤血球の凝塊を作り得る高分子化合物中陰性に荷電するものとしては fibrinogen, desoxy-ribonucleic acid, hyaluronic acid, pectin, gelatin, pneumococcal III polysaccharide があり非電解質としては dextran, polyvinyl alcohol²⁾ 等が知られている。之等に較べると α, β, γ globulin は集塊力が劣つており一方血清 albumin は赤血球沈降を抑制する。

Inokuchi²⁾ は赤血球凝集の機転を研究して赤血球表面の荷電は強い陰性であるが, 陰性荷電の polymer は隣接する赤血球の外側に広く分布する陽性の中心に結合することにより, 赤血球を凝集するものと結論している。この解釈は凝集惹起物質が長い柔軟かつ伸展性に富む分子でなければならぬことをよく説明しているものと云える。

dextran の如き非電離性膠質も, 親水基が解離してない OH 基であることを除いては, 長い線状の構造を持つ分子でなければならぬことは電解質の場合と同様である。Inokuchi はこれ等膠質の赤血球への吸着を起す力は恐らく膠質の OH 基と, 赤血球表面の amino 基との間に働く水素結合であろうと述べている。

fibrinogen, dextran の如き高分子量の物質は全血に加えられる時, 赤血球を凝集して沈降を早める作用を発揮する一方, 血清の粘稠度を増し Stokes の式から明らかなように沈降速度を抑制する反対の働きも持つている。従つて最大の沈降速度を得る為にはかゝる物質の至適濃度を定める必要がある。Thorsen & Hint³⁾ は dextran を用いて実験的研究を行い, 赤血球沈降速度と dextran 濃度及び分子量との間に密接な関係のある事を明らかにし, 大まかに云つて分子量が増すと共に必要最小限の濃度は減少し, 又その為に増加する粘稠度が抑制的に働くまでは赤血球沈降速度は大きくなると云つてゐる。又分子量 59,000 以下の dextran には, 赤血球凝集作用が殆どないことも見出している。更に Thorsen & Hint は赤血球沈降が二つの相で起こることを証明している。即ち第一相は赤血球が, スポンジ様構造に集る段階であり, この間には沈降は起らない。次いで第二相としてスポンジ様構造物は自然に種々の大きさの粒子に分割され沈降が始まる。この分割される粒子の大きさが個々の赤血球沈降速度を決定し, 又沈降はスポンジ様構造の粒子への分割を促進する要素によつても加速される。かゝる要素としては低ヘマトクリット値, 機械的混和等が考えられている。Lundgren⁴⁾ は赤血球沈降現象において赤血球塊が沈下する時, 血清自身は上昇する流れを作り, 赤血球塊を試験管の底に置き換えることを顕微鏡により直接観察している。その際試験管の中心軸附近は細胞塊はなく, 血漿の上昇流が見られる。従つて薄い血液程この上昇流に対する抵抗が少なく赤血球塊はより早く沈降する。

赤血球塊の大きさ以外の赤血球沈降速度に及ぼす諸要素についても諸種の研究がある。抗凝固剤の影響として heparin はやや軽度であるが促進効果があるとされ、クエン酸ソーダは相当に沈降を緩慢ならしめると報告されている⁵⁾。沈降管の内径は2 mm以上ならば影響なしとされている⁵⁾。温度上昇は赤血球沈降に促進的に働き³⁾⁶⁾、又沈降管を傾斜するときも沈降は促進されるという⁷⁾。

II 実験成績

上述の如く血液に添加された高分子 dextran には、赤血球を凝集してその沈降を促進する作用と、その高い粘稠度の為に逆に沈降を抑制する作用とがあり、赤血球のみを総べて速かに沈降させて上澄の血漿中に出来るだけ多量の白血球を残存浮遊させる為には、この相反する二作用を適当に組合せねばならぬ。かゝるいわゆる至適濃度を見出す為に次に述べる諸実験を行なつた。

1) dextran 溶液

dextran は平均分子量 228,000 の米国 R.K. Laros 会社製のもので、之を約45°Cに加温した生理的食塩水にて溶解し所要の濃度の溶液を作成して使用に供した。以後 dextran 液をD液と略記する。

2) 濃度及び混合比の検討

先ず適当なD液濃度及び血液との混合比の大体的目安をつける為、内径は ϕ 1 cmの試験管内に heparin 血液と1%, 3%, 6%及び12%の各濃度のD液を血液対D液混合比が1:2, 1:1, 2:1, 4:1, 6:1及び8:1となり、かつその全量が5 ccとなる様にし、充分(約100回)転倒混和した後泡沫及び管壁に附着した血液を除去し、静置して赤血球がほぼ完全に分離沈澱した後その上層の白血球の浮遊する血漿の層を毛細管ピペットにて採取し、その量を測定した後、液中の白血球数、赤血球数を測定した。原血液は条件を一定とする為に、各%D液について同一人よりの血液を用いた。又原血液及び浮遊液中の白血球数及び赤血球数測定については誤差を可及的少なくする為、各浮遊液を充分転倒混和後、メランジュ

ール4本を用い Bürker 計算盤にて型通り4回測定し、その平均を求めてその値とした。

上述の白血球数、赤血球数及び白血球浮遊液量より次の数式により、白血球収量率と浮遊液中の赤血球残存の程度を示す赤血球混和率とを算出して分離成績判定の基準とした。

$$\text{白血球収量率} = \frac{\text{浮遊液のWBC} \times \text{浮遊液量}}{\text{原血液のWBC} \times \text{原血液量}} \times 100$$

$$\text{赤血球混和率} = \frac{\text{浮遊液中のRBC}}{\text{浮遊液中のWBC}} \times 100$$

本実験の成績を概観するに、1%D液使用の場合には第1図に示す如く、白血球の収量は比較的良好

Fig. 1. Dextran-blood sedimentation curve obtained using dextran (M.W. 228, 000)

好であつたが、赤血球混和率が非常に大となり、12%D液使用の場合は白血球収量は少なく、かつ赤血球混和率も非常に大で実験の目的に適合しない事が判明した。3%及び6%D液使用の場合は第2図に示す如く、血液D液混合比1:2, 1:1の場合は白血球の収量は比較的良好であるが、赤血球混和率が非常に大であり、混合比が2:1, 4:1, 6:1, 8:1の場合は白血球収量も比較的良くかつ赤血球混和率も少ない傾向にある事を知つた。よつて一応D液濃度は3%及び6%が適

Fig. 2. Dextran-blood sedimentation curve obtained using dextran (M.W. 228, 000)

Table I. Effect of Ratio of Dextran-Blood Mixture

3% DEXTRAN			
No.	B : D	WBC Yield (per cent)	RBC Contamination (per cent)
I	2 : 1	55	260
	4 : 1	59	190
	6 : 1	67	76
	8 : 1	34	124
II	2 : 1	63	105
	4 : 1	58	82
	6 : 1	51	62
	8 : 1	40	102
III	2 : 1	65	201
	4 : 1	53	168
	6 : 1	41	98
	8 : 1	38	216
IV	2 : 1	30	300
	4 : 1	85	93
	6 : 1	75	35
	8 : 1	66	67
V	2 : 1	29	201
	4 : 1	45	100
	6 : 1	73	86
	8 : 1	79	51

当なものと決定し、更に検討を続けることにした。

3) 混合比の検討

3%及び6%D液を使用して原血液量を一定とし、血液対D液混合比2:1, 4:1, 6:1及び8:1の場合を詳細に検討した。この際上澄の白血球浮遊層の採取を容易かつ完全ならしめる為、試験管の代りに注射筒を利用した。即ちヘパリン血液10cc宛20cc注射筒外筒にとり、之に3及び6%D液をそれぞれ血液D液混合比が2:1, 4:

Table II. Effect of Ratio of Dextran-Blood Mixture

6% DEXTRAN			
No.	B : D	WBC Yield (per cent)	RBC Contamination (per cent)
I	2 : 1	63	290
	4 : 1	67	121
	6 : 1	86	83
	8 : 1	65	50
II	2 : 1	79	290
	4 : 1	69	129
	6 : 1	72	94
	8 : 1	61	109
III	2 : 1	75	116
	4 : 1	59	132
	6 : 1	60	94
	8 : 1	44	160
IV	2 : 1	48	186
	4 : 1	57	86
	6 : 1	78	28
	8 : 1	72	29
V	2 : 1	58	102
	4 : 1	62	60
	6 : 1	64	43
	8 : 1	59	29

Table III. Comparison between 3% Dextran and 6% Dextran Using Same Blood

No.	Dextran	B : D	WBC Yield (per cent)	RBC Contamination (per cent)
I	3%	4 : 1	73	116
		6 : 1	57	95
	6%	4 : 1	74	94
		6 : 1	70	73
II	3%	4 : 1	71	68
		6 : 1	47	88
	6%	4 : 1	70	80
		6 : 1	72	55
III	3%	4 : 1	65	105
		6 : 1	62	95
	6%	4 : 1	69	101
		6 : 1	67	74
IV	3%	4 : 1	52	76
		6 : 1	50	68
	6%	4 : 1	57	84
		6 : 1	60	62

1, 6:1及び8:1になる様に混じ、注射筒にピストンを挿入し、可及的泡沫を生ぜしめぬ様にして約100回転倒し充分に混和する。次に泡沫を全く外に排除した後、注射口を上にして台上に固定し約30分間放置する。赤血球層が充分に分離沈降した後、ピストンを静かに押上げ上部の白血球の浮遊する dextran 血漿混合液をプラスチック管を通じて目盛付試験管に移し、その量を測定すると共に、前述の方法により白血球収量率及び赤血球混和率を算出した。

3%D液の場合は第1表に示す如く、白血球収量率は血液D液混合比が2:1, 4:1, 6:1及び8:1の各例共余り大差を認めないが、赤血球混和率は6:1及び8:1の場合が低値を示している。

Table IV. Mean value of Leucocyte Yield and Erythrocyte Contamination

Dextran	D : B	Case	WBC Yield			RBC Contamination		
			Max.	Min.	Mean	Max.	Min.	Mean
3%	4 : 1	9	85	45	58.8±0.80	190	76	108.3±1.41
	6 : 1	9	75	41	56.6±0.79	98	35	71.1±0.67
6%	4 : 1	9	74	57	62.2±0.54	132	60	92.7±0.78
	6 : 1	9	86	64	68.3±0.55	94	28	64.9±0.74

Table V. Effect of Mixing (100 Times Inversion)

No.		WBC Yield (per cent)	RBC Contamination (per cent)
I	without air bubble	57	107
	with air bubble	63	85
II	without air bubble	58	113
	with air bubble	62	87
III	without air bubble	39	86
	with air bubble	69	40

Table VI. Effect of Temperature

Temperature	WBC Yield (per cent)	RBC Contamination (per cent)
near 5°C	60	69
near 26°C	68	40

Table VII. Effect of Syringe Diameter

No.	Diameter of syringe (cm.)	WBC Yield (per cent)	RBC Contamination (per cent)
I	2	61	100
	3	59	104
	4	75	81
II	2	64	93
	3	61	105
	4	63	102
III	2	64	100
	3	66	83
	4	66	75

6% D液の場合第2表に示す如く、4 : 1及び6 : 1の時に赤血球混和率は低値を示している。即ち、D液を少量用いた場合の方が赤血球混和率は低くなる傾向がある。以上一連の実験において、白血球収量率と赤血球混和率の両者を合わせて考慮する時、3%及び6% D液を使用して混合比が4 : 1と6 : 1の場合の成績が良結果であつた。又各個体の血液間には白血球収量率及び赤血

球混和率はある程度の差異のある事が知られたので、次に同一人血液を用いて3%及び6% D液を使用する場合、4 : 1、6 : 1の混合比の何れが優れているかを詳細に検討した。その成績は第3表に示す如くで、白血球収量率は殆ど全例60%内外で全般的に4 : 1の方がやゝ良好な成績を示しているが、赤血球混和率は6% D液を使用し6 : 1の場合が全例共73%、55%、74%、62%と低値を示し優れた成績を示している。

以上の各実験に於ける白血球収量率と赤血球混和率の平均値を求めた処、第4表に示す如くで6% 6 : 1の場合が最も良い成績となつた。よつて爾後の諸種の条件を検討する場合の白血球分離は、総べて6% D液、混合比6 : 1の実験条件のもとに行なつた。

4) 血液とD液の混和程度の検討

最初より注射器内に空気層をなくして完全に無泡の状態で転倒混和したものと、空気層を作つて有泡の状態にて但し多数の泡沫は作らない様極力注意しつゝ転倒混和した場合においては、第5表に示す如く有泡の場合は混和後その空気泡沫層を注射器外に完全に除去する際、或る程度の血液の損失を生ずるに拘らず、明らかに有泡の場合、即ち混和を充分に行なつた方が白血球収量が大きくなりかつ赤血球混和率は少ない傾向にある。

5) 温度の影響 (第6表)

以上の実験は総べて約25°Cの室内において行なつたものであり、次に室温と氷室(約5°C)内に於ける比較実験を行なつたが、低温の場合において白血球収量率はやゝ低下、赤血球混和率はやゝ

上昇の傾向を示している。

6) 注射器直径の問題 (第 7 表)

注射筒直径の影響を検討する目的で内径それぞれ 2 cm, 3 cm, 4 cm の 20cc, 30cc, 及び 50cc 注射器を用いて同一条件で分離実験を行なつたが, 50cc 注射筒 (内径 4 cm) の場合が赤血球混和率がやゝ低い値を示す傾向にあるが, 特に 50cc 注射器を必要とする程の著しい差異は認められない。

7) 注射筒傾斜の検討

注射筒を垂直に立てる場合と 45°C に傾斜させた場合とにおいて差はなかつた。

8) 分離白血球の性状

本分離術式が白血球に及ぼす影響を検討する為に, ギムザ染色及び超生体染色態度, 墨粒貪食能を観察した。

a) ギムザ染色及び超生体染色

D液により分離した, 即ち採血後 30 乃至 40 分経過した分離白血球にギムザ染色, 及び中性紅, ヤーマス緑による超生体染色を行なつて見るに, 両者共に耳採採血新鮮血液中の白血球との間に差異は認められなかつた。超生体染色の遅延, 核の濃縮断裂, 細胞質の膨化, 細胞膜の破綻, 空胞形成等は全く見られなかつた。

b) 墨粒貪食能 (第 8 表)

Table VIII. Indian Ink Phagocytosis of Leukocyte

No.	Fresh Leukocyte	Separated Leukocyte	Time (hr.)
1	3.01	2.82	3
2	2.78	2.44	3
3	2.96	2.74	3
4	2.90	2.68	3

分離白血球中, 好中球の墨粒貪食能を杉山氏の方法によつて測定したが, 同一人耳採新鮮好中球の貪食能と大差ない値を示した。

9) 分離白血球の百分率

ギムザ染色を行なつた同一人の耳採採血血液標本及び分離白血球塗抹標本について, それぞれ白血球 1,000 個を算して百分率の比較を行い第 9 表

Table IX. Comparison of Leucocyte Differential between Capillar Blood and Surpernant

Case		B	E	St	Seg	L	Mono
A	C	0.2	2.5	11.9	54.4	30.2	0.8
	S	0.3	5.3	14.2	59.3	20.4	0.5
B	C	0.1	5.6	19.4	45.7	26.4	0.8
	S	0.2	4.9	19.5	51.4	23.6	0.4
C	C	0.1	4.4	11.2	57.1	26.7	0.5
	S	0.1	1.9	14.9	52.5	30.5	0.1
D	C	1.0	13.1	11.1	38.4	35.3	1.1
	S	0.7	14.9	11.8	44.2	27.6	0.8
E	C	0.4	4.8	2.8	36.1	54.3	1.6
	S	0.2	3.8	1.1	24.5	69.8	0.6
F	C	0	3.2	3.4	58.4	34.7	0.3
	S	0	3.8	4.3	45.7	44.9	1.3
G	C	0.3	5.9	9.2	51.5	28.9	4.2
	S	0.4	3.6	9.0	53.5	32.5	1.0
H	C	0.8	4.3	10.1	52.6	26.4	5.8
	S	0.4	5.1	11.5	55.5	25.9	1.6
I	C	0.8	2.4	6.3	46.8	33.9	9.8
	S	1.5	2.7	10.0	55.9	27.0	2.9
J	C	0	15.9	6.3	40.9	36.4	0.5
	S	0	14.8	5.9	39.9	37.7	1.7
K	C	0.7	1.7	4.4	57.2	32.8	3.2
	S	0.3	1.6	4.9	63.1	28.0	2.1
L	C	0.2	1.5	6.5	62.3	28.0	1.5
	S	0.3	0.8	4.9	45.3	48.4	0.3
M	C	0.5	3.1	5.1	35.5	49.8	6.0
	S	1.1	3.4	3.6	30.5	57.2	4.0

C capillar blood leukocyte

S separated leukocyte

に示す成績を得た。第 1 報のささげヘモアグルチニンによる分離の場合には殆ど全例に淋巴球の増加を見たが, D液使用の今回の成績では淋巴球の増加は全例 13 例中 6 例に見られるのみで, かつその増加程度も, ささげヘモアグルチニンの場合に比し軽度であり, 又減少を来したものは 7 例で殆どが 10% 以下に止まっている。

分葉好中球及び桿状好中球も 10% 以上の増減を示すものは僅かに 4 例である。従つて D 法による分離では, ささげヘモアグルチニン法に見られる如き一定方向の百分率の変動は起こらず, しかもその変動は軽度であり, 百分率に関しては特別の顧慮を払う必要はないものと云える。

III 考案並びに総括

我々は白血球の生化学的研究を企図するに当り, その第一段階として優秀なる白血球分離法を確立する必要を痛感し, 先にささげヘモアグルチニンによる分離法 (A 法と略記) を検討して発表したが, 今回は高分子 dextran (分子量 228,000) による分離法 (D 法と略記) の検討を試み, 前者に優る効率を持った分離術式を作り得た。dextran

の濃度及び血液との混合比を白血球収量率と赤血球混和率の2方面より吟味した結果、濃度は6%、血液D液混合比は6:1の場合が白血球収量率が最大で赤血球混和率は最小である事を見出した。原血液10ccを用いた場合この分離条件に於ける白血球収量率は、64~86% (平均 68.34 ± 0.55) で、A法の30~63% (平均 42.22 ± 0.43) と比較するに平均値も勿論勝っているが、A法においてはその一つの欠点であるとして前報告において既に指摘した如く、個々の血液により効率の差が広範囲に亘り、30%、40%という低効率のものが相当数あるに反し、D法においては最も効率の低いものでも58%とA法の上位の値を示し、安心して如何なる対象にも使用し得るという大きな利点がある。赤血球混和率はD法28~94% (64.99 ± 0.74)、A法0.7%~75% (24.44 ± 0.88) で明らかにA法が勝っているが、D法も100%を超えるものはなく、溶血法⁸⁾の併用により容易に赤血球混和率を0にすることが出来る程度であり、白血球収量率に見られるD法のA法に対する優位性をくつがえす程の意義はない。更にその操作もA法においては赤血球の凝集力が極めて強い結果、スポンジ様構造物の自然分解を起こし難く、軽い遠心操作を必要とし、しかもこの遠心操作の効果を充分発揮する為にはその時間、速度の決定に微妙なるコツを必要とし、時に思わぬ失敗を招くことがあるに反しD法の操作は終始はなほだ簡単で特別の手技を必要としない利点がある。

D液血液混合液を静置する時に試験管の代りに注射筒を使用し、赤血球沈降終了後はピストンを押して上層の血漿を分離したが、之は上澄を残りなく採取し得、かつ赤血球による汚染の危険が試験管内より毛細管ピペットにて採取するより遥かに少なく、採取血液量に制限をうける臨床的研究では、白血球収量を少しでも高めることが望ましい点より有効な方法と云える。

D法の不利な点として考えられるのは比較的大量の異質の有機物が血液に加えられる事であるが、ギムザ染色、超生体染色に対する分離白血球

の態度、墨粒食能が新鮮白血球と殆ど差を認めない点から特に悪い影響はなく、分離白血球は生理的状態に近く、生化学的分析の資料となし得るものと云つて良いであろう。

D液血液の混和は充分行う方が結果が良い事が実験的に証明されたが、混和時泡沫の生成は充分に警戒せねばならぬ。泡沫は赤血球溶血を惹起し、又白血球の損失を招くからである。

赤血球沈降後の上澄即ちD液血漿混合液中には、白血球と共に多数の栓球が含まれていることは勿論であるが、之は800~1,000 r.p.m. 5~10分間の軽い遠心操作により、白血球を沈降させて分離する事が出来る。

本分離法によれば白血球数7,000前後の血液10ccより10,000~20,000/cummの生理的食塩水浮遊液2~3ccは容易に作ることが出来、これは白血球含有物質の生化学的定量に充分使用し得る量であり、臨床的研究特に連続的採血による検査を可能ならしめる有用な分離法である。

IV 結 語

高分子 dextran (平均 M.W. 228,000) 溶液を用うる白血球分離法の諸条件を検討し、原血液10cc dextran 液濃度6%、血液 dextran 液混合比6:1の条件が白血球収量率、赤血球混和率の両者を併せ考慮する時最良である事を見出した。

(本論文の要旨は昭和31年5月第18回血液学会総会において発表した。)

文 献

- 1) 朝長正允他：白血球分離法の検討(第1報) さげへモアグルチニン及びアカシアゴムによる分離。長崎医学会雑誌。32(1): 12, 昭32。— 2) Inokuchi, K.: Mechanism of agglomeration of red cell by high polymer compounds. Bull. Chem. Soc. Japan 24: 78, 1951。— 3) Thorsen, G., and Hint, H.: Aggregation, sedimentation, and intravascular sludging of erythrocytes. Acta Chir. Scand. Suppl. 154, 1950。— 4) Lundgren, R.: A study of the physical nature of the sedimentation of blood corpuscles. Acta Med. Scand. 67: 63, 1927。— 5) Ham, T.H., and Curtis, F.C.: Influence of technical, erythrocyte and plasma

factors and quantitative comparison of five commonly used sedimentation methods. *Medicine* 17 : 447, 1938. — 6) Gordon. M.B., and Cohn, D.J.: The effect of external temperature on the sedimentation rate of the red blood corpuscles. *Am. J. Med. Sc.* 176 : 211, 1928. — 7)

Wintrobe, M.M., and Landsberg, J.W.: A standardized technique for the blood sedimentation test. *Am. J. Med. Sc.* 189 : 102, 1935. — 8) 朝長正允他 : 白血球カタラーゼの生化学的定量の一新法. *日血九地誌*, 8 (3), 昭33.