

## 人血鑑別における“ストレプトキナーゼ混和フィブリン平板” の応用

堀 江 登

(武庫川女子大学生活環境学部食物栄養学科)

### Application of “streptokinase-containing fibrin plate” for the identification of human blood.

Noboru Horie

*Department of Food Science and Nutrition,  
School of Human Environmental Sciences,  
Mukogawa Women's University, Nishinomiya 663-8558, Japan*

This paper deals with the identification of human blood by means of streptokinase (SK) containing fibrin plate. Fibrin plate contained 100u/ml SK detected human plasma diluted by  $10^6$  times and that contained 1,000u/ml SK detected the plasma diluted by  $10^9$  times as a remarkable lysis area. On the plate contained 100u/ml SK, blood stain of man was differentiated from those of other animals, such as bovine, swine, dog, cat, rabbit, mouse, chicken and fish. On the test using the plate contained 100u/ml SK, almost the equal lysis were observed in the blood stains of 8 healthy men, made from both of natural and hemolysed blood. The lysis were detected by the blood stains incubated for 50 days at 2°C, 18°C and 37°C. These results indicate that the SK containing fibrin plate method is a very sensitive and practical one to identify human blood.

#### 緒 言

人血鑑別は、法医学上重要な物体検査の一つであり、線溶現象を応用したフィブリン平板法および血清沈降反応が応用されている。前者は、Szollsy と Rengi<sup>1)</sup>により発表され、その後熊野<sup>2)</sup>、Mikami et al.<sup>3)</sup>により詳細に検討された。それらの報告によると、フィブリン平板では、種特異性が強いこと、64,000 倍まで希釈したヒト血液にも反応すること、更に布片、石、砂、ガラス片、木葉などに付着していても、また選択した付着布片でも、更に 20~30 年の陳旧なヒト血痕でも検出が可能なことなどの多くの利点があげられている。

一方、著者らは、プラスミノゲンの測定法とし

て、“ウロキナーゼ混和フィブリン平板”について研究し、その簡易性、鋭敏性を報告した<sup>4)</sup>。本論文は、この方法の原理を応用し、ストレプトキナーゼがヒトのプラスミノゲンに特異的に反応する性質を利用して、“ストレプトキナーゼ混和フィブリン平板”を作製し、微量の人血を証明に利用しようとしたものである。

#### 材料と方法

血液および血痕付着標本: 血液は健康人から採血した 3.8% クエン酸ナトリウムを 1/10 容含むクエン酸血を使用した。この血液を東洋ろ紙 No.5 に染み込ませ、37°C の孵卵器中で 1 時間放置して乾燥させた後、直径 6 mm のディスクに切り取り、これを

血痕付着標本とした。1個のディスクには乾燥重量約1mgの血液が付着していた。動物の血痕付着標本も、上記と同様の方法で作製した。

ストレプトキナーゼ(SK):バリダーゼ(Lederle Lab.)を使用した。

SK混和フィブリン平板(SK-cont. F-plate): AstrupとMüllertzに準拠したF-plateで、SK混和フィブリン膜を作製した。すなわち0.6%ウシフィブリノゲン(Miles Lab.)4ml, 61,000または6,100u/mlのSK液0.1ml, 2%塩化カルシウム0.1mlおよび10u/mlウシ・トロンビン(持田製薬)2mlを内径9cmのシャーレ内で混和し、室温で30分間以上静置して強固なフィブリン膜を作製した。フィブリノゲンおよびトロンビンはホウ酸緩衝液(11中に $H_3PO_4$  11.25g,  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$  4.0gおよびNaCl 2.25gを含む)に溶解した。

線溶活性の測定:液体試料の場合、検体の30 $\mu$ lが、37 $^{\circ}C$ 18時間後に示す溶解窓(長径 $\times$ 短径の積)より求めた。また、血痕付着標本の場合、前記のろ紙ディスクをフィブリン平板上に直接のせ、液体試料と同様に測定した。

## 成績および考察

### 血漿濃度とフィブリン平板の溶解面積

フィブリン平板に混和するSK量を増加するにつれて、一定量の血漿に対して溶解面積が増加した。しかし、平板内に混和するSK量を極端に増やすと、フィブリン膜が弱くなる。したがって、実用上の使いやすさから、平板内のSKの終濃度は100u/mlが適当と考えられた。

種々の濃度の希釈ヒト血漿によるSK-cont. F-plateの溶解面積を図1に示す。終濃度100u/mlのSKを含むフィブリン平板では、血漿の10,000倍希釈まで溶解面積との間には直接の関係が成立した。また、1,000,000倍希釈まで著明な溶解が認められた。なお、平板内のSK量を増せば(図中1,000u/ml SK), さらに微量の血漿に対しても溶解を認めることができた。従来のフィブリン平板法<sup>2)3)</sup>に比べて、このSK-cont. F-plateにおいて、より微量の血液成分が検出可能な理由は、SKを直接フィブリン平板内に添加することにより、検体のSK溶液による希釈およびSKの平板内への拡散が防がれるためと考えられる。

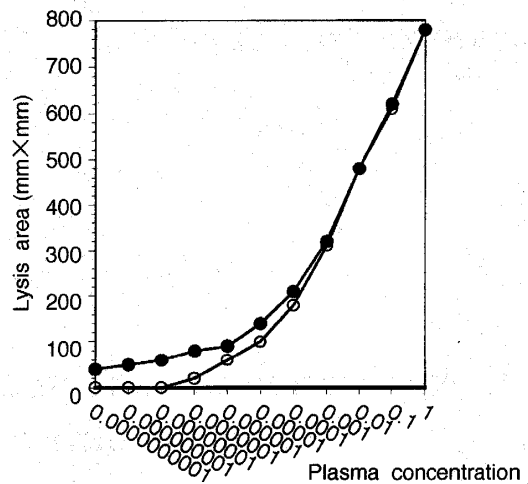


Fig. 1. Relationship between lysis area(mm<sup>2</sup>) and plasma concentration. Final concentrations of SK in fibrin plate: 100u/ml(○—○), 1000u/ml(●—●).

### ヒトと他の動物の血痕の鑑別

上記の方法に従って作製したヒトおよび種々の動物の血痕付着標本を、終濃度100u/mlのSKを含むフィブリン平板上にのせ、18時間インキュベートした後のフィブリン溶解を図2に示す。ヒト以外の動物(イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ブリ、家兎、ニワトリ、マウス)の血痕付着標本では溶解窓がみとめられなかった。従って、このSK-cont. F-plate法は人血と獣血との鑑別法として使用できると結論された。

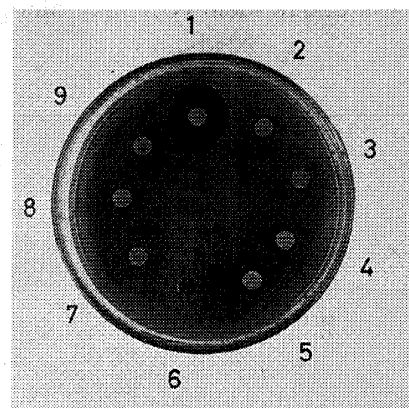


Fig. 2. Fibrinolysis on a "SK(100u/ml) containing fibrin plate" with blood samples of human and other animals; 1.human, 2.dog, 3.cat, 4.swine, 5.bovine, 6.fish, 7.rabbit, 8.chicken and 9.mouse.

さらに、18~22才の8人の健康な男女の血痕付着標本を作製して同様に測定したが、個体差はほとんど認められなかった。また、クエン酸血の凍結融解を3回繰り返して溶血させた後に作製した血痕付着標本でも、溶血前のものと差が認められなかった。

#### 血痕の放置温度とフィブリン溶解

血痕鑑別では、新鮮な血痕のみでなく、種々の条件下に放置された古い血液についての鑑別も必要となる。そこで、同時に作製した血痕付着標本を比較的低温(2℃)、室温(平均18℃)、比較的高温(37℃)の条件下に最長50日間放置し、その間のSK-cont. F-plateの溶解の径日変化を調べた(図3)。図のように、高温下の血痕は、SK-cont. F-plateの溶解の低下が他に比べて早かった。しかし、50日経過後も十分な溶解が認められた。

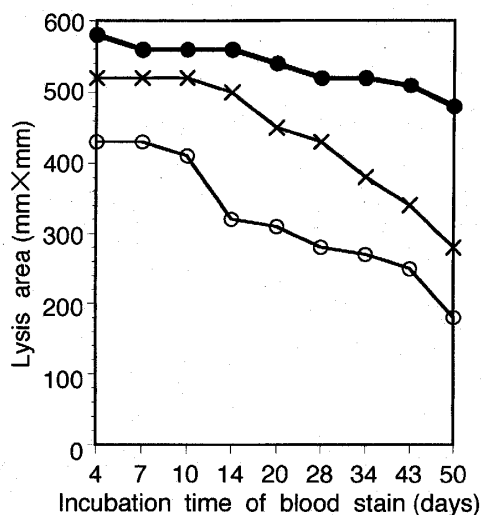


Fig. 3. Fibrinolysis on “SK(100u/ml)containing fibrin plate” with human blood samples incubated at several temperatures; 2°C (●—●), room temperature(×—×), 37°C(○—○).

以上の成績から、本法では種々の条件下の古い血痕に対しても、敏感にしかも簡易に人血を鑑別できることが示された。

#### 文 献

- 1) Szollosy, E. and Rengi, B., *J. Forensic Sci.* 5: 331-337 (1960)
- 2) 熊野 修, 科警研報 14: 373-375 (1961)
- 3) Mikami, Y., Haba, K., Kumano, O. and Mohrs, M., *Jap. J. Legal Med.* 17: 29-37 (1963)

4) 堀江 登, 岡本歌子, 臨床病理 24: 824-846, (1976)

5) Astrup, T. and Müllertz, S., *Arch. Biochem. Biophys.* 40: 346-351 (1952)