

超音波の法医学的利用に関する実験的研究

岡山大学医学部法医学教室 (主任：三上芳雄教授)

神 田 瑞 穂
白 石 真 澄
竹 丸 英 夫

熊本大学医学部法医学教室 (主任：世良完介教授)

近 藤 嘉 男

〔昭和 36 年 9 月 26 日受稿〕

緒 言

人間の可聴音域は大体 15~20,000 c (サイクル) で、音波が 20 kc 以上になるとはやわれわれの耳には感じえない。そして 20 kc 以上の超音波となると、自然、波長が短くなり、音源にたいし一定の方向をもつようになる。この方向性と水中の透過力とを利用し、第一次世界大戦において、仏物理学者 Langevin が超音波をはじめて潜水艦探索に応用し、その後 1929 年、米国の Wood & Loomis¹⁾ が自然科学のほとんど全部門にわたって広汎な研究をおこなつて以来、急速に物理学のみならず、化学・医学・生物学・農学等の諸方面においてひろく研究されるようになった。わが国においても、第一次世界大戦時欧州にあつた八木秀次博士²⁾ が帰国後いち早く超音波の研究をはじめ、ことに、近來の電子工学の急速な発達とともにエネルギー源としての利用が普遍化し、一方、有機化学あるいは薬学領域における超音波利用による研究も最近ようやく緒につき、たとえば、芳香属ハロゲン化合物で核に直結したハロゲンは強固で容易にはなれず、沸騰温度においてさえも銀イオンにより沈澱を生じないとされてきたが、Zechmeister³⁾ はブロムベンゼンを硝酸銀水溶液に懸濁して超音波処理をし、短時間内にブロムがほとんど定量的にベンゼン環よりはずれることをみとめ、同様の結果はヨードベンゼン、 α -ブロムフラン、 α -ブロムチオフェン、 α -ヨードチオフェン、フェノール、トロポン等を超音波で処理してもえられた。

さらにベンゼン自体を超音波で処理すれば、ベンゼンの特異臭および独特のスペクトル吸収が消失することが知られているが、超音波を利用した研究がすすめば、アルカロイドその他の複雑な天然物の構造解決に有用な一手段となるであろう。

医学の分野においては、なかならず、微生物学領域でもつともはやくから多数の研究がなされ、超音波による細菌の破壊⁴⁾⁻¹¹⁾ 細菌浮游液の濁濁変化あるいは乳化⁷⁾⁻¹²⁾¹³⁾、とくにその BCG 注射液への応用¹⁴⁾⁻²²⁾ また細菌の発育環実験からの変異研究への利用、そして、一方、毒素²³⁾⁻²⁶⁾ やビールス²⁸⁾⁻³⁰⁾ にたいしても減毒作用を有することから超音波ワクチン³¹⁾⁻³⁸⁾ のところみを通じて予防医学的にも注目されてき、さらに近年電子顕微鏡の出現とともに、超音波とそれとを併用することにより微生物を破壊しその微細内部構造を究明せんとすること³⁴⁾⁻³⁶⁾、また最近のめざましい生化学の発展と相俟つて超音波により菌体を破壊しその構成々分を分離³⁷⁾⁻³⁸⁾ し、生化学的研究をおこなう方面にも応用されるようになった。

微生物学領域のみならず、殺菌、洗滌、脱臭等の超音波の作用を臨床医学各分野、ことに外科手術等にも応用しつつあるが、ひるがえつてわが法医学領域での超音波に関する業績はいまだ寥々たるもので、昭和 23 年三木⁴⁰⁾ は超音波および過酸化水素がヒト唾液型物質にいかなる影響をおよぼすかについてはじめて報告し、ついで昭和 31 年新および信西⁴¹⁾ が超音波を血液型判定に利用しているにすぎない。

わたくしたちは、従来おこなわれてきた乾血または唾液斑の血液型検査における凝集素の吸収およびヒト血清沈降素試験におけるヒト蛋白の浸出に要する多大の時間を超音波利用によつて短縮出来るのではないかとかんがえ、若干の研究をおこなつたのでその結果をここに報告する。

実 験 材 料

清浄な濾紙に附着したのち室温で乾燥したヒト血痕 (以下 MB と略記する)、イヌ血痕 (以下 HB と略記する)、ウサギ血痕 (以下 KB と略記する) およ

びヒト唾液斑（以下Sと略記する）（いずれも附着後2~3年経過したやや古いもの）を約1cm²大の広さに切取り、これらに、凝集素吸収試験には生理的食塩水を添加したものを各検体（以下Vと略記する）として超音波を曝振し、ただちに血球浮游液あるいはヒト血清免疫ウサギ血清を用いて成績を判定した。対照としては、K1：生理的食塩水について凝集素吸収試験およびヒト血清沈降素試験をおこなったもの、K2：血痕や唾液の附着していない清浄な濾紙について凝集素吸収試験およびヒト血清沈降素試験をおこなったもの、K3：血痕および唾液附着乾燥濾紙について常法通りの時間（凝集素吸収試験では孵卵器内3時間、氷室内1昼夜を要し、ヒト血清沈降素試験では孵卵器内1昼夜を要す）をかけて凝集素吸収試験およびヒト血清沈降素試験をおこなったもの、K4：血痕および唾液附着乾燥濾紙にヒト血清または生理的食塩水を加え、超音波曝振時間と同一時間（5~30分間）室温（17~21°C）に放置したのち、ただちに血球浮游液あるいはヒト血清免疫ウサギ血清を用いて試験をおこなった。

実験方法

超音波曝振装置は島津 S-200 型超音波発生装置で、周波数 710 KC (KH₂)、実験条件は水晶体からの距離 1 cm の油槽内に、底部にビニール布で閉塞平面とし対照および検体をそれぞれ入れた小試験管を支持し、超音波の強度を 500 V 50 mA 25 Watt/cm²、1000 V 100 mA 100 Watt/cm² および 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の 3 種として試験管の底部を曝振し、曝振時間は前記各強度で 5、10、20 および 30 分間とした。

凝集素の吸収試験は試験管法によつておこない、

血清は α、β の均衡のとれた O 型ヒト血清を凝集素価が 4 倍になるように稀釈したものを、血球は新製した 1% 血球浮游液を、またヒト血清沈降素試験には 0.85% 生理的食塩水および沈降素価 25, 600, 沈降素量 64 のヒト血清免疫ウサギ血清をそれぞれ使用し、凝集および沈降反応の程度は、-, ±, 卍, +, 卍, 卍 および 卍 の 8 段階にわけて判定をおこなった。

また、残余窒素量におよぼす超音波の影響をみるために、1% 卵アルブミン溶液 10 ml および生理的食塩水加 8 倍稀釈ヒト血清 5.0 ml に、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を 30 分間曝振させ、超音波を曝振させないもの（対照）は同じく 30 分間室温に放置したのち、両者（検液および対照液）に 10% 三塩化酢酸をくわえ、除蛋白濾液について Kjeldahl 法で窒素量を測り、比較検討した。

実験成績

- 1) 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を A 型ヒト血痕およびヒト唾液斑のヒト血清添加液に曝振させた場合の凝集素吸収試験成績

表 1 に示すとおり、K1 および K2 はもちろん O 型、K3 は MB および S とも A 型であるのたいし、室温放置時間 10、20 および 30 分間の各 K4 は MB ならびに S いずれも O 型であり、また検体 V (MB および S) に 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を曝振させた場合の凝集素吸収試験による成績も同様 O 型であつた。

すなわち、500 V 50 mA 25 Watt/cm² の強度では 30 分間超音波を検体に曝振しても、血痕および唾液型物質のヒト血清凝集素吸収が十分ではなかつ

表 1 500 V, 50 mA, 25 Watt/cm² 超音波曝振時凝集素吸収試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, ヒト唾液=S (数字は分を示す)

実験群	K1	K2	K3	V	K4	V	K4	V	K4	K3	V	K4	V	K4	V	K4
			MB	MB 10	MB 10	MB 20	MB 20	MB 30	MB 30	S	S 10	S 10	S 20	S 20	S 30	S 30
血球	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B	A B
1 X	卍卍	卍卍	+卍	卍卍	卍卍	卍卍	卍卍	卍卍	卍卍	+卍	卍卍	卍卍	卍卍	卍卍	卍卍	卍卍
2 X	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+	卍+
4 X	+卍	+卍	±卍	+卍	+卍	+卍	+卍	+卍	+卍	±卍	+卍	+卍	+卍	+卍	+卍	+卍
8 X	±±	±±	-±	±±	±±	±±	±±	±±	±±	-±	±±	±±	±±	±±	±±	±±
16 X	±-	±-	--	±-	±-	±-	±-	±-	±-	--	±-	±-	±-	±-	±-	±-
判定	O	O	A	O	O	O	O	O	O	A	O	O	O	O	O	O

た。

2) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を AB 型ヒト血痕および A 型ヒト唾液斑のヒト血清添加液に曝振させた場合の凝集素吸収試験成績

表 2 に示すとおりで、K1 および K2 は O 型、K3 は MB は AB 型、S は A 型、室温放置時間 5, 10, 20 および 30 分間の各 K4 は MB ならびに S いずれも O 型、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を 5 分間曝振させた検体 MB もやはり O 型で

あつたが、同上超音波を 5 分曝振させた検体 S では A 型であり、同上超音波を 10 分間以上 (10, 20 および 30 分間) 曝振させると、検体 MB ではいずれも AB 型を、検体 S ではいずれも A 型の判定を示した。

すなわち、1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の強度の超音波を曝振すると、血痕は 10 分間、唾液斑は 5 分間で型物質がヒト血清凝集素を吸収することが判つた。

表 2 1000 V, 100 mA, 100 Watt/cm² 超音波曝振時凝集素吸収試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, ヒト唾液=S (数字は分を示す)

実験群	K1 MB	K2 MB	K3 MB	V MB 5	K4 MB 5	V MB 10	K4 MB 10	V MB 20	K4 MB 20	V MB 30	K4 MB 30	K3 S	V S 5	K4 S 5	V S 10	K4 S 10	V S 20	K4 S 20	V S 30	K4 S 30	
血球	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB
1 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
16 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
判定	O	O	AB	O	O	AB	O	AB	O	AB	O	A	A	O	A	O	A	O	A	O	O

3) 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を A 型ヒト血痕およびヒト唾液斑のヒト血清添加液に曝振させた場合の凝集素吸収試験成績

表 3 に示すとおりで、K1 および K2 は O 型、K3 は MB および S ともに A 型、室温放置時間 5, 10 および 20 分間の各 K4 は MB ならびに S いずれも O

型であつたが、強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を 5, 10 および 20 分間各曝振させた検体 MB ならびに S はいずれも A 型の判定を示した。

すなわち、1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の強度の超音波を曝振すると、血痕および唾液斑はいずれも 5 分間でそれら型物質がヒト血清凝集素を吸収することが判つた。

表 3 1500 V, 15 mA, 225 Watt/cm² 超音波曝振時凝集素吸収試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, ヒト唾液=S (数字は分を示す)

実験群	K1	K2 IIB	K3 MB	V MB 5	K4 MB 5	V MB 10	K4 MB 10	V MB 20	K4 MB 20	K3 S	V S 5	K4 S 5	V S 10	K4 S 10	V S 20	K4 S 20
血球	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB
1 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
16 X	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
判定	O	O	A	A	O	A	O	A	O	A	A	O	A	O	A	O

- 4) 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波をヒト血痕およびヒト唾液斑の生理的食塩水添加液に曝振させた場合のヒト血清沈降素試験成績

表 4 に示すとおりで、K 1 および K 2 は 60 分観察時でも (-), K 3 は MB では 1~5 分観察時ですでに (+), S では 10 分観察時で (+) であり、K 4 は室温放置時間 10, 20 および 30 分の各 MB では 30 分観察時で (±), 60 分観察時では (±) であつたが、S では室温に 10 および 20 分間各放置したものはともに 60 分観察時でも (-), 30 分間放置した場合によく 60 分観察時で (±) であつた。

強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を 10, 20 および 30 分間各曝振させた検体では、10 分観察時に (±), 30 分観察時に (+), 60 分観察時には (+) であつたが、検体 S では同上強度の超音波を 30 分間曝振させた場合のみ 60 分観察時に (±) であつた。

すなわち、強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を 10~30 分間曝振させると、ヒト血痕の生理的食塩水への浸出は超音波曝振時間と同時間室温に放置した場合に比してやや早くおこなわれるが、唾液の場合には両者にまったく差が見られなかつた。

表 4 500 V, 50 mA, 25 Watt/cm² 超音波曝振時ヒト血清沈降素試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, 唾液=S (数字は分を示す)

観察時	実験群	K1	K2	K3 MB	K4 MB 10	V MB 10	K4 MB 20	V MB 20	K4 MB 30	V MB 30	K3 S	K4 S 10	V S 10	K4 S 20	V S 20	K4 S 30	V S 30
1~5		-	-	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
10		-	-	±	-	±	-	±	-	±	±	-	-	-	-	-	-
30		-	-	±	±	±	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-
60		-	-	±	±	+	±	+	+	+	±	-	-	-	-	±	±

- 5) 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波をイヌおよびウサギ血痕の生理的食塩水添加液に曝振させた場合のヒト血清沈降素試験成績
- 表 5 に示すとおりで、K 3 の MB では 1~5 分観察時で (+), 10 分観察時で (+), 30 および 60 分各

観察時で (±) であつたが、K 1, K 2, 室温放置時間 10, 20 および 30 分間の K 4 の各 MB ならびに KB, 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を 10, 20 および 30 分間各曝振の HB ならびに KB はいずれも 60 分観察時でも (-) であつた。

表 5 500 V, 50 mA, 25 Watt/cm² 超音波曝振時ヒト血清沈降素試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, イヌ血痕=HB, ウサギ血痕=KB (数字は分を示す)

観察時	実験群	K1	K2	K3 MB	K3 HB	K4 HB 10	V HB 10	K4 HB 20	V HB 20	K4 HB 30	V HB 30	K3 KB	K4 KB 10	V KB 10	K4 KB 20	V KB 20	K4 KB 30	V KB 30
1~5		-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 6) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波をヒト血痕およびヒト唾液斑の生理的食塩水添加液に曝振させた場合のヒト血清沈降素試験成績

表 6 に示すとおり K 1 および K 2 は 60 分観察時でも (-), K 3 は MB では 1~3 分観察時で (+), 5 分観察時で (±), 30 および 60 分観察時で (±), S では 1~3 分観察時で (±), 5 分観察時で (+),

30 および 60 分各観察時では (±) であり、K 4 は MB で室温放置時間 5 分間の場合、60 分観察時で (±), 10, 20 および 30 分間各放置した場合は 30 分観察時で (±), 60 分観察時で (±), S では室温に 30 分間放置した場合に 60 分観察時のみ (±) で、その他の場合はすべて (-) であつた。

検体 MB では、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を 5 分間曝振させると 1~3 分観察時で

(+), 5分観察時で(+), 30分観察時で(+), 60分観察時で(±), 同上強度の超音波を10, 20および30分間各曝振させた場合には, 1~3分観察時で(+), 5分観察時で(+), 30分観察時で(+), 60分観察時で(±)であり, 検体Sでは, 同上強度の超音波を5分間曝振させた場合, 30分観察時で(±), 60分観察時で(+), 同上強度の超音波を10および20分間各曝振させた場合には, 1~3分観察時で(±), 5分観察時で(+), 30分および60分各観察時で(+), 同じく30分間曝振させた場合には,

1~3分観察時で(+), 5分および10分各観察時で(+), 60分観察時で(±)であつた。

すなわち, 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を5~30分間曝振させると, ヒト血球の生理的食塩水への浸出は同時間(5~30分間)室温に放置した場合に比しはるかにやくおこなわれ, 唾液では5~30分間室温に放置した場合生理的食塩水への浸出はほとんどおこなわれないが, 同上強度の超音波を10~30分間曝振させると浸出がみられることが判つた。

表6 1000 V, 100 mA, 100 Watt/cm² 超音波曝振時ヒト血清沈降素試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, 唾液=S (数字は分を示す)

観察時	実験群	K1	K2	K3 MB	K4 MB 5	V MB 5	K4 MB 10	V MB 10	K4 MB 20	V MB 20	K4 MB 30	V MB 30	K3 S	K4 S 5	V S 5	K4 S 10	V S 10	K4 S 20	V S 20	K4 S 30	V S 30
1~3		-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	±	-	-	-	±	-	±	-	±
5		-	-	±	-	+	-	±	-	±	-	±	+	-	-	-	±	-	±	-	+
30		-	-	±	-	±	±	±	±	±	±	±	±	-	±	-	+	-	+	-	+
60		-	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	-	±	-	+	-	+	±	±

7) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波をイヌおよびウサギ血痕の生理的食塩水添加液に曝振させた場合のヒト血清沈降素試験成績

察時に(±)であつたが, K1, K2, 室温放置時間5, 10, 20および30分間のK4の各HBならびにKB, 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波5, 10, 20および30分間各曝振のHBならびにKBはいずれも60分観察時でも(-)であつた。

表7に示すとおりで, K3のMBでは1分観察時に(+), 5分観察時に(±), 30および60分各観

表7 1000 V, 100 mA, 100 Watt/cm² 超音波曝振時ヒト血清沈降素試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, イヌ血痕=HB, ウサギ血痕=KB (数字は分を示す)

観察時	実験群	K1	K2	K3 MB	K3 HB	K4 HB 5	V HB 5	K4 HB 10	V HB 10	K4 HB 20	V HB 20	K4 HB 30	V HB 30	K3 KB	K4 KB 5	V KB 5	K4 KB 10	V KB 10	K4 KB 20	V KB 20	K4 KB 30	V KB 30
1		-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

8) 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波をヒト血痕およびヒト唾液斑の生理的食塩水添加液に曝振させた場合のヒト血清沈降素試験

時間5, 10および20分間の各場合, 1および5分各観察時では(-), 30分観察時では(±), 60分観察時では(+), Sでは5, 10および20分間室温に各放置した場合, いずれも(-)であつた。

表8に示すとおり K1 および K2 は60分観察時でも(-), K3 はMBでは1分観察時ですでに(±), 5分観察時で(±), 30および60分観察時で(±), Sでは1分観察時で(+), 5分観察時で(+), 30および60分各観察時で(±), K4 はMBで室温放置

検体 MB では, 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を5および10分間各曝振させると, 1分観察時で(+), 5分観察時で(±), 超音波を20分間曝振させた場合は1分観察時で(±), 5分観察時で(±), 30及び60分各観察時で(±), 検体Sでは

同上強度の超音波を5分間曝振させた場合、1分観察時で(±), 5分観察時で(±), 30分観察時で(+), 60分観察時で(++)、超音波を10分間曝振させた場合、1分観察時で(±), 5分観察時で(+), 30および60分各観察時で(++), 20分間超音波を曝振させた場合、1および5分各観察時で(+), 30分観察時で(++), 60分観察時で(+++)であつた。

表8 1500 V, 150 mA, 225 Watt/cm² 超音波曝振時ヒト血清沈降素試験
対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, 唾液=S (数字は分を示す)

観察時	実験群	K1	K2	K3 MB	K4 MB 5	V MB 5	K4 MB 10	V MB 10	K4 MB 20	V MB 20	K3 S	K4 S 5	V S 5	K4 S 10	V S 10	K4 S 20	V S 20
1		-	-	++	-	+	-	+	-	++	±	-	±	-	±	-	+
5		-	-	++	-	+	-	+	-	++	+	-	±	-	+	-	+
30		-	-	+++	±	++	±	++	±	+++	++	-	+	-	++	-	++
60		-	-	+++	±	+++	±	+++	±	+++	++	-	++	-	++	-	+++

9) 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波をイヌおよびウサギ血痕の生理的食塩水添加液に曝振させた場合のヒト血清沈降素試験成績

表9に示すとおり K3のMBでは1分観察時に(+), 5分観察時に(++), 30および60分各観察時

すなわち、強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を5~20分間曝振させると、ヒト血痕の生理的食塩水への浸出は、同時間(5~20分間)室温に放置した各対照に比しはやくおこなわれ、唾液では5~20分間室温に放置した場合には生理的食塩水への浸出はみられないが、同上強度の超音波を5~10分間曝振させると浸出がみられることが判つた。

に(+++)であつたが、K1, K2, 室温放置時間5, 10および20分間のK4のHBならびにKB, 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を5, 10および20分間各曝振させたHBならびにKBはいずれも60分観察時においても(-)であつた。

表9 1500 V, 150 mA, 225 Watt/cm² 超音波曝振時ヒト血清沈降素試験

対照=K1~K4, 検体=V, ヒト血痕=MB, イヌ血痕=HB, ウサギ血痕=KB (数字は分を示す)

観察時	実験群	K1	K2	K3 MB	K3 HB	K4 HB 5	V HB 5	K4 HB 10	V HB 10	K4 HB 20	V HB 20	K3 KB	K4 KB 5	V KB 5	K4 KB 10	V KB 10	K4 KB 20	V KB 20
1		-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5		-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30		-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60		-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

10) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波をアルブミン溶液およびヒト血清に曝振させた場合の残余窒素量測定成績

表10に示すとおり、1%アルブミン溶液 10.0 ml および生理的食塩水加8倍稀釈ヒト血清 5.0 ml に、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波をそれぞれ30分間曝振させ、それらの3塩化酢酸による除蛋白濾液について窒素量(すなわち、残余窒素量)を Kjeldahl 法で測り、超音波を曝振させない場合(対照)の残余窒素量と比較すると、超音波を曝振させた場合もさせない場合も、残余窒素量は、アルブミンでは 4.48 mg%, 血清では 2.632 mg%であ

つた、

すなわち、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を30分間1%アルブミン溶液および8倍稀釈ヒト血清にそれぞれ曝振させた場合、それらの残余

表10 1%卵アルブミン溶液 10 cc }
8倍稀釈ヒト血清 5 cc }
1000 V, 100 mA, 100 Watt/cm² 超音波
30分間, 曝振時残余窒素量 (mg%)

検体	実験群	対照(非曝振)	超音波曝振
卵アルブミン		4.48	4.48
ヒト血清		2.632	2.632

室素量には、超音波を曝振しなかつた対照と比較して差がみられなかつた。

総括並びに考察

以上の実験成績を総括するとつぎのとおりである。

1) 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を 10~30分間 A型ヒト血痕および A型ヒト唾液斑のヒト血清添加液に各曝振させた後、血球浮游液をくわえて凝集素吸収試験をおこなつたがいづれも O型であつた。

2) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を AB型ヒト血痕および A型ヒト唾液斑のヒト血清添加液に 5~30分間各曝振させたのち、血球浮游液をくわえて凝集素吸収試験をおこなつたところ、超音波を 5分間曝振させた AB型ヒト血痕では O型であつたが、10分間以上 (10, 20および30分間) 各曝振させた場合には AB型であり、また A型ヒト唾液斑では超音波を 5分間以上 (5, 10, 20および30分間) 曝振させると A型を示した。

3) 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を A型ヒト血痕および A型ヒト唾液斑のヒト血清添加液に 5~20分間各曝振させたのち、血球浮游液をくわえて凝集素の吸収試験をおこなつたところ、いづれも A型の判定を示した。

4) 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波をヒト血痕およびヒト唾液斑の生理的食塩水添加液に 10~30分間曝振させたのち、ヒト血清免疫ウサギ血清をくわえてヒト血清沈降素試験をおこなつたところ、超音波を曝振させたヒト血痕では、同時間室温に放置させたのちヒト血清免疫ウサギ血清をくわえてヒト血清沈降素試験をおこなつた対照群に比してわずかにはやく陽性を示したが、ヒト唾液斑の場合には両者に差がみられなかつた。

5) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を、ヒト血痕およびヒト唾液斑の生理的食塩水添加液に 5~30分間各曝振させたのち、ヒト血清免疫ウサギ血清をくわえてヒト血清沈降素試験をおこなつたところ、超音波を曝振させたヒト血痕およびヒト唾液斑では、同時間室温に放置させたのちヒト血清免疫ウサギ血清をくわえてヒト血清沈降素試験をおこなつた対照群に比しきわめてはやく陽性を示し、ことに唾液斑では 5~20分間室温に放置した場合には陰性であつたが、同時間同強度の超音波を曝振させた場合は陽性を示した。

6) 強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波

を、ヒト血痕およびヒト唾液斑の生理的食塩水添加液に 5~20分間各曝振させたのち、ヒト血清免疫ウサギ血清をくわえてヒト血清沈降素試験をおこなつたところ、超音波を曝振させたヒト血痕で同時間室温に放置したのち試験をおこなつた対照群に比しきわめてはやく陽性を示し、唾液斑では陰性であつた対照群に比し、超音波を曝振させた実験群では陽性を示した。

7) 強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm², 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² および 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を、イヌおよびウサギ血痕の生理的食塩水添加液に 5~30分間各曝振させたのち、ヒト血清免疫ウサギ血清をくわえてヒト血清沈降素試験をおこなつたところ、いづれも陰性であつた。

8) 強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を 30分間、1%アルブミン溶液および 8倍稀釈ヒト血清にそれぞれ曝振させた場合、それらの残余室素量には、超音波を曝振しなかつた対照と比較して差がまったく見られなかつた。

まず、乾血あるいは血痕以外の体液斑 (本実験では唾液斑についておこなつたが) について、ABO式血液型を判定するためには普通凝集素吸収試験法をおこなうが (ちなみに、乾血について凝集素吸収試験により ABO式血液型の判定をおこない得ることを最初に報告したのは世良教授⁴²⁾ である)、その際みられる血痕および唾液型物質による凝集素の吸収は、強度 500 V 500 mA 25 Watt/cm² の超音波では 10~30分間各曝振させてもおこなわれなかつたが、1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の強度では、ヒト血痕の場合は 10分間ないしそれ以上、ヒト唾液斑の場合は 5分間ないしそれ以上それぞれ曝振させると凝集素の吸収がおこなわれ、さらに強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² では、ヒト血痕およびヒト唾液斑とも、5分間ないしそれ以上超音波を曝振させると凝集素の吸収がおこなわれることがわかつた。

すなわち、ヒト血痕では型物質による凝集素の吸収は強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波で 10分間、1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波で 5分間曝振させると可能でありヒト唾液斑では、強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² では成功しなかつたが、1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の強度では 5分間曝振させると凝集素の吸収が可能であり、1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の場合も同様であつた。したがって同一程度の超音波を同一時間曝振さ

せるとヒト血痕の場合よりもヒト唾液斑の場合の方が、型物質による凝集素の吸収がはやくおこなわれるように推せられたが、これはヒト血痕よりもヒト唾液の方に型物質が量的に多く存在しているためであろうか。

また、血痕および唾液斑等についてヒト血清（ヒト蛋白）沈降素試験をおこなう際の、生理的食塩水によるヒト蛋白の浸出は、強度 500 V 50 mA 25 Watt/cm² の超音波を10~30分間各曝振させると、ヒト血痕の場合は同時間室温に放置したのち試験をおこなった対照よりもはやくおこなわれたが、唾液斑の場合は対照と同様蛋白の浸出はほとんどみられなかつたが、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波をヒト血痕の場合は5分間ないしそれ以上、唾液斑の場合は10分間ないしそれ以上曝振すると蛋白の浸出がみられ、強度 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² では血痕の場合はもちろん、唾液斑の場合も5分間以上曝振すると蛋白の浸出がみられた。

すなわち、生理的食塩水への蛋白の浸出は、ヒト血痕の場合、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² および 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を5分間以上、ヒト唾液斑の場合、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² では10分間以上、1500 V 150 mA 225 Watt/cm² では5分間以上曝振させると可能であり、したがって同一程度の超音波を同一時間曝振させると、ヒト血痕の場合の方がヒト唾液斑の場合よりも生理的食塩水への蛋白の浸出が早くおこなわれるように推せられたが、これはヒト唾液よりもヒト血痕の方にヒト蛋白が量的に多く存在するためであろう。

さらに、1%卵アルブミン溶液および生理的食塩水加8倍稀釈ヒト血清に、強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を30分間曝振させて、超音波を曝振させず30分間室温に放置した対照と残余窒素量を比較したが、まったく差がみられなかつた。したがって蛋白にたいする超音波の作用はすくなくとも化学的変性を与えるものではないと推せられる。

そもそも、超音波の生物学的作用については諸説があり、Griffing⁴³⁾ および協同研究者⁴⁴⁾ は超音波の場に生じた気泡 (cavities) の断熱圧縮の間に発せられた熱によると熱効果理論をのべ、Harvey⁴⁵⁾ は泡内の電気放電によるといつているが Graber は超音波の反応機作に関する諸説を総合し、a) heat

action=calorific action b) mechanical action c) chemical action の3つにわけ、かつこれら3つの作用について詳述し、

a) heat action の度はことなつた媒質における超音波吸収の度合にかかり、そしてこの吸収は波長および媒質の化学的性質に関連している (Griffing⁴³⁾ (1952))

b) mechanical action は radiation pressure と amplitude pressure によつて影響をうけ、radiation pressure は強力な超音波が液体中を貫通する際におこる単純な動揺および液体と懸濁あるいは溶解している物質との間の摩擦の2つによつて、また amplitude pressure は positive および negative の圧のまわりにもたらされる音波の伝播により液体の粘度を増すことによつて生ずる。(Dognon & Biancani (1937) Okuyama (1943)).

c) chemical action は2つの異なつた型の反応を示し、すなわち、熱放出による置換 (転位) および超音波によつて促進されるガスの遊離にともなつた反応 (Richards & Loomis⁴⁶⁾ (1927) Lliboutry (1944) と、主として酸化作用でハロゲンイオンの酸化、硫化水素の酸化、有機ハロゲン化合物の酸化およびガス性水素の還元作用 (Schmitt, Johnson & Olson (1929) であり、さらに depolymerization と disintegration とが単独にあるいは重合してあらわれるのであろうと説明をくわえているが、以上超音波の3つの反応機作はかならずしもつねに同時に示されるものでなく、被曝振物件および曝振条件等によつてことなり、それらのうちの1つあるいは2つの機作しかあらわれない場合もあることと考えられる。

さて、超音波の曝振によつて血痕および唾液斑についての凝集素吸収試験が短時間におこない得るのは、添加血清凝集素にたいして超音波が影響を与え吸収されやすくなつたためか、あるいは血液または唾液の型物質にたいして影響を与え抗原性が増したためかのいづれかが考えられるが、唾液型物質におよぼす超音波の影響について研究した三木の報告⁴⁰⁾ によると、ABO各型分泌型唾液中に470 KC, 1050 V および 1500 V の超音波を曝振させると、その抗原性が減弱するが、これは超音波の破壊作用にもとづくものであろうとのべ、新および信西⁴¹⁾ は血清に60分間、500 KC の超音波を曝振させてもその凝集素価は減弱せず、また超音波を利用して乾血を食塩水に浸出し、その浸出分を吸着する方法と

乾血に血清を加え吸着時に超音波を作用させる方法と比較し後者が効果的であると報告しているが、乾血および唾液についての凝集素吸収試験が超音波曝振によつて短時間でおこなわれるのは、それらの型物質の抗原性が超音波曝振によつて増加するためでなく（むしろ減弱する）、添加血清の凝集素が吸収されやすくなるためと考えられる。また血痕および唾液斑でのヒト血清沈降反応が超音波曝振によつて短時間内に陽性を呈するようになるのは、血痕および唾液中のヒト蛋白が超音波曝振によつて生理的食塩水中に浸出されやすくなるためであろう。

しかるに、他方、卵アルブミン滴液およびヒト血清稀釈液に超音波を曝振させても、それらの残余窒素量には対照とまったく差がなかった。

いま一度、蛋白にたいする超音波の影響に関する文献をひもといてみると、Graber & Prodhomme⁴⁸⁾ はウマ血清アルブミン、プソイドアルブミン、オイグロブリンに 960 KC の超音波をかけると、プソイドアルブミンとオイグロブリンのいくらかは投射中に沈澱し、アルブミンは本来半飽和の硫酸に可溶性であるのに投射後は沈澱するようになり表面張力が増加すると、Hartmann & Theismann⁴⁹⁾ も 800 KC, 30 Watt/cm² の超音波を 15 分間血清に作用させて、アルブミン変化はなかったがグロブリンの溶解度の変化から重合のおこつたことを推し、Pérez & Sargent⁵⁰⁾ はウマ血清プソイドグロブリン溶液は超音波により凝固も変性もうけないが、ウサギの抗血清による沈降反応に変化があるのをみている。Chambers & Flosdorf⁵¹⁾ は卵アルブミンについて変性をみとめ、Baumgartl & Gleises⁵²⁾ はヒト血清についてアルブミンは減ることもあれば増えることもあり、ことに α -、 β -グロブリンに著しいとのべ、Lepeschkin⁵³⁾ は 285 KC と 2871 KC の超音波 (300 Watt/cm²) をヒト血清に作用させ、pH の変化にしたがつて重合をおこしたり、あるいは分解することがあるともいつている。そうして蛋白分子内の (-COONH₃-) が超音波の純粋な機械的作用で (-COOH + NH₃-) となることおよび 1 時間以上超音波を作用させても色調の変化はあるが蛋白の酸化はみられないとのべている。Pohlman & Wolpers⁵⁴⁾ は蛋白質の超音波照射により解重合あるいは重合のおこることをみとめ、有賀ら⁵⁵⁾ はカゼイン溶液に超音波を作用させ、アミノ酸曲線、フォルモール滴定法およびアルコール滴定法によりその変化を追求し、脱アミノ基作用を軽度のみとめたのみであつた。

また最近清水⁵⁶⁾、中島⁵⁷⁾ らは蛋白の沃度との結合量が 560 KC の超音波を 1200 V, 1800 V の強さで投射後増加することを卵アルブミンについてみとめ、かつ弱アルカリ性 Biuret 反応において超音波により蛋白は変性することを確め、笠原および広瀬⁵⁸⁾ も同様 1% 血清アルブミンについて弱アルカリ性 Biuret 反応を用いて実験し、450 KC の超音波を 1200 V, 1800 V の強さで投射し、それにより蛋白の分解および変性を、緒方、横縄⁵⁹⁾ はウサギ血清に 450 KC 1650~1800 V の超音波を作用させ表面張力の著しい下降と粘度度の増加を、蛋白分割に関してはアルブミンの著明な増加とグロブリンの著しい減少を、井嶋⁶⁰⁾ は 1600 V の強さの超音波を 3~12 分間曝振した血清を笠原同様弱アルカリ性 Biuret 反応をもつて検し、その変性を各みとめている。

以上の蛋白にたいする超音波の影響に関する諸実験に徴しても、超音波の曝振により蛋白に酸化はみられないが、解重合あるいは重合等の変性および分解がおこることがみとめられ血清蛋白分層ではアルブミンの減少、抗体蛋白といわれているグロブリンの増加傾向を示している。そうしてその反応機作についてはかならずしも化学的作用のみとは考えられず、Lepeschkin⁵³⁾ はむしろその機械的作用のみと断じており、また Sutra は蛋白質以外のたとえば cellulose, starch, glycogen, hyaluronic acid 等の高分子炭水化物の溶解が超音波の作用の中で化学的作用（主として酸化作用）によらずしておこるとのべ、さらにまた前述の Chambers, Flosdorf⁵¹⁾ も卵アルブミンに対する超音波の影響を熱作用でなく振動作用によるといつており、血痕および唾液斑についての血液型判定における凝集素吸収試験に際しての添加血清凝集素の被吸収性の増加ならびに種属判定におけるヒト血清沈降素試験に際しての蛋白の被浸出性の増加は、既述の超音波による 3 作用（熱作用、機械的作用および化学的作用）のうち、そのいずれによるかはここに定め難いが、本小実験に関する限りでは前 2 者によるものと推せられる。

結 論

血痕および唾液斑の血液型判定における凝集素吸収試験に際しての添加血清凝集素の被吸収性ならびに同種属判定におけるヒト血清沈降素試験に際しての蛋白の被浸出性が超音波の曝振によつて増加されるかどうかを検討し、710 KC の超音波を用いると、

前者では強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² の超音波を 10 分間以上, 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を 5 分間以上, 後者では強度 1000 V 100 mA 100 Watt/cm² および 1500 V 150 mA 225 Watt/cm² の超音波を 5 分間以上各曝振させると, 凝集素の被吸収性ならびに蛋白の被浸出性が著明に増加し, したがって凝集素吸収試験およびヒト血清沈降素試験

がきわめて短時間におこなわれ得ることがわかつた。

稿を終るにあたり, 前主任遠藤教授(現神戸医科大学長)の指導ならびに三上教授の校閲を深謝します。

文 献

- 1) Wood, R. W. & Loomis, A. L. : *Phys. Rev.* **29**, 373 (1927).
- 2) 八木: 日本諸学術講演集, 第10輯自然科学編「超音波とその応用」(1944).
- 3) Zechmeister, L. & Wallcave, L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2853 (1955).
- 4) 船戸: 日本微生物学病理学雑誌, **32**, 546, 565, 641, 665, 758, 778 (1938).
- 5) 山中: 大阪高等医学会雑誌, **4**, 106, 390(1937).
- 6) 門野: 大阪医学会雑誌, **37**, 2283(1938), **39**, 905, 911, 921 (1940).
- 7) 尾崎: 日本微生物学病理学雑誌, **32**, 1018(1938).
- 8) 秋葉, 桑原: 電気殺菌(南江堂), 12頁(1948).
- 9) 雄山: 電気雑誌「オーム」, **28**, 1 (1941).
- 10) 笠原: 医学と生物学, **2**, 430 (1943).
- 11) 松田: *Ibid.*, **5**, 461 (1944).
- 12) 鈴木: 大阪医学会雑誌, **42**, 1471 (1943).
- 13) 笠原: 医学と生物学, **3**, 376 (1943).
- 14) 笠原: *Ibid.*, **5**, 578 (1944).
- 15) 笠原: *Ibid.*, **11**, 209 (1947).
- 16) 笠原, 雄山: 大阪医学会雑誌, **42**, 1538(1946).
- 17) 笠原: 医学と生物学, **13**, 78 (1948).
- 18) 笠原: 大阪医学会雑誌, **43**, 723 (1944).
- 19) 藤田: *Ibid.*, **43**, 1244 (1944).
- 20) 笠原: 大阪医学会雑誌, **43**, 989 (1944).
- 21) 藤田: 医学と生物学, **11**, 180 (1947).
- 22) 笠原: *Ibid.*, **11**, 200 (1947).
- 23) 高木: 大阪医学会雑誌, **36**, 321, 533 (1937).
- 24) 巽他 2 名: 小児科学雑誌, **44**, 719 (1938).
- 25) 西: 日本微生物学病理学雑誌, **33**, 190 (1939).
- 26) 巽, 緒方: 大阪医学会雑誌, **36**, 1607 (1937).
- 27) 謝, 緒方: *Ibid.*, **39**, 315 (1940).
- 28) 謝: *Ibid.*, **39**, 807 (1940).
- 29) 門野: *Ibid.*, **39**, 1019 (1940).
- 30) 笠原他 3 名: 医学と生物学, **10**, 305 (1947).
- 31) 渡辺, 尾崎: 日本微生物学病理学雑誌, **32**, 1078 (1938).
- 32) 渡辺他 2 名: *Ibid.*, **33**, 1155, 1165, 1170, 1181 (1939).
- 33) 謝: 大阪医学会雑誌, **39**, 793, 801, 807 (1940).
- 34) 笠原: 医学と生物学, **12**, 402 (1948).
- 35) 吉田: 日本細菌学雑誌, **10**, 561 (1955).
- 36) Hamra, D. : *J. Bact.* **57**, 279 (1949).
- 37) Sevag, M. G. et al. : *J. Biol. Chem.* **124**, 425 (1938), **134**, 523 (1940).
- 38) 江上, 西宮, 細谷: 日本化学会雑誌, **63**, 309 (1943).
- 39) Stumpf, P. K., Green, D. E. & Smith, F. W. : *J. Bact.* **51**, 487 (1946).
- 40) 三木: 日本法医学雑誌, **2**, 155 (1948).
- 41) 新, 信西: 科学と捜査, **9**, 162 (1956).
- 42) 世良: 社会医学雑誌, **474**, 357 (1926).
- 43) Griffing, V. : *J. Chem. Phys.*, **20**, 939 (1952).
- 44) Griffing, V., Fitzgerald, M. E. & Sullivan, J. : *Ibid.*, **25**, 926 (1956).
- 45) Harvey, E. N. : *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 2392 (1939).
- 46) Richandas, W. J. & Loomis, A. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **49**, 3086 (1927).
- 47) Schmitt, F. O., Gohns, C. H. & Olson, A. R. : *Ibid.*, **51**, 370 (1929).
- 48) Graber, P. & Prudhomme, R. : *J. Chem. Phys.*, **44**, 145 (1948).
- 49) Hastmann, F. & Theissmann, H. : *Naturwissenschaften*, **35**, 346 (1948).
- 50) Perer, J. J. & Sergent, C. : *Compt. Rend. Roc. Biol.*, **140**, 415 (1946).
- 51) Chambers, L. A. & Flosdorf, E. W. : *J. Am. Chem. Soc.*, **55**, 3051 (1933).
- 52) Baumgartl, F. & Gleiss, J. : *Ärztl. Wochenschr.*, **7**, 574 (1952).

- 53) Lepeschkin, W. W. : J. Phys. & Colloid. Chem., 53, 335 (1949).
 54) Pohlman, R. & Wolpers, C. : Kolloid Z., 109, 106 (1944).
 55) 志賀, 有賀 : 台湾医学会雑誌, 42, 1222 (1943).
 56) 清水 : 日本医学会雑誌, 11, 839 (1952).
 57) 中島 : Ibid., 16, 1635 (1957).
 58) 笠原, 広瀬 : 医学と生物学, 14 (1949).
 59) 緒方, 横縄 : 大阪医学会雑誌, 39, 931 (1940).
 60) 井嶋 : 日本血液学会雑誌, 17, 166 (1944).

**Experimental study on the practice of ultrasonic wave
in the field of forensic medicine**

By

**Mizuho KANDA
Masumi SHIRAISHI
Hideo TAKEMARU**

**Department of Legal Medicine, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Dr. Yoshio MIKAMI)**

Yoshio KONDOH

**Department of Legal Medicine, Kumamoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. Kansuke SERA)**

For examining the blood group and precipitin reaction of the dried blood or saliva stain, the author used the heat and mechanical actions under ultrasonic radiation.

The results are briefly as follows:

It was apparent that the determinations of blood type and precipitin reaction were rapidly completed by ultrasonic radiation (710 kc) of intensity of 1000 V (radiation time-over 10 minutes) or 1500 V (radiation time-over 5 minutes) against the dried blood stain and 1000 V or 1500 V (radiation time-both over 5 minutes) against the dried saliva stain.
