

# 血液の Acid Change と Glycolysis

金沢大学医学部第一生理学教室(主任 斎藤幸一郎教授)

中山 達夫

Tatsuo Nakayama

(昭和30年6月21日受附)

## まえがき

血液を血管外に取出し、気密にして 37°C に保存すると、その反応は徐々に酸性側に偏位する。これを血液の Acid Change といっている。その速度は毎時 0.05 pH 程度の小さいものではあるが、生体内における血液 pH の安定性から見ても、また今日のガラス電極の測定誤差の大きさから見ても、血液 pH の測定において無視することは出来ない。特に血液に生体外で種々の操作を加える実験においては Acid Change を考慮に入れなければならぬ場合が少なくない。血液の Acid Change に関しては Evans<sup>1)</sup> が 1922 年 CO<sub>2</sub> 容量と血糖の減少の測定より、Glycolysis で産生される乳酸によると結論した。更に Havard and Kerridge<sup>2)</sup> はガラス電極を用いて精細に Acid Change の過程を追跡し、最初数分間の潜伏期において Acid Change は初まり、初期には急速に、次で緩徐に進行することを認めた。初期の急速な変化を特に First Acid Change といい、これは NaF の添加で阻止されぬ事実より Glycolysis とは無関係におこる現象であることを暗示した。

ここにおいて First Acid Change の本態について多くの人々が関心を持つようになった。Harris, Rubin and Shutt<sup>3)</sup> は採血より測定に

至る全操作を 38°C の恒温室内で行った際、Havard 等の所謂 First Acid Change は全く認められなかつたことから、斯る First Acid Change はガラス電極の温度調節の不備に基づくものではないかと推論した。Dickinson, Havard and Platt<sup>4)</sup> もこれと同様の推測を述べている。吉村<sup>5)</sup> は彼の考案したガラス電極を用い Havard and Kerridge の実験を追試したが First Acid Change の存在を認めることが出来なかつた。Acid Change はすべて Glycolysis に基因するものであると考えられるが、NaF を加えた場合にも時として見られる Acid Change は NaF の血球膜に対する作用に原因するものと推測している。これに反して藤本<sup>6)</sup> は First Acid Change の存在を主張している。

これらの研究は主として血液 pH の変動のみを観察したもので、その根底となる Glycolysis については検証を欠くものが多い。著者は Acid Change の本態を明らかにする目的をもつて正確な温度調節を期待し得る斎藤及び本田<sup>7)</sup> のガラス電極を用いて採血直後の血液 pH の変動を追跡すると共に、その Glycolysis で産生される乳酸量を測定し、次に述べる成績を得た。

## 実験方法

1) 実験材料： 成年男子の静脈血を用いた。肘静脈より採血し、一部を pH 測定用に、他の一部を乳酸定量用に供した。

2) 採血法： 採血に用いる注射器及び抗凝血剤等は採血前 37°C に保温しておき、採血に際しては注射器や抗凝血剤等が冷えないように、操作を可及的速か

にした。

3) 抗凝血剤：ヘパリン，クエン酸ソーダ，蓚酸カリを用い，Glycolysis を阻止するには弗化ソーダを使った。ヘパリンは0.9%食塩水中に溶かした20mg/dl 溶液を，クエン酸ソーダ，蓚酸カリは夫々5%，2%の水溶液を使用し，血液9容に対し抗凝血剤溶液1容を混ざるようにした。弗化ソーダを使用する際は，予め200mg/dl ヘパリン溶液（溶媒は0.9%食塩水）で注射器内を洗い，その後血液9容を採血し1%弗化ソーダ水溶液1容と混和した。サポニン溶血を起させる場合は，5%サポニン水溶液1容と2%蓚酸カリ水溶液1容を血液8容に混和した。

4) pH 測定法：血液 pH は齋藤及び本田が考案

した容量 0.2cc のU型ガラス電極を用いた。電極には pH 測定に必要以上の血液を收容し，CO<sub>2</sub> 脱出の pH に及ぼす影響を防いだ。この電極を予め 37°C に保温しておき，採血血液を迅速に電極内に採取し，直ちに 37°C の恒温槽内に装着した。爾後電極内の血液の pH 変動を逐時追跡した。

5) 乳酸測定法：Barker and Summerson<sup>8)</sup> の法によつた。採血後直ちに pH 測定用及び採血時の乳酸定量用に血液の一部を用い，残余の血液は，注射器内に密封したまま，電極と等温度の恒温槽内に放置し，30分毎に，或いは数時間後にとり出して乳酸の定量を行つた。

実験成績

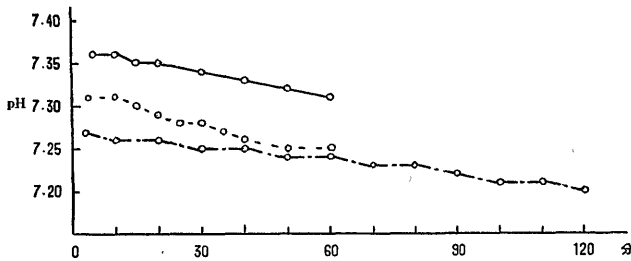
I) 予備実験：本実験に用いたガラス電極において被検液を收容してから温度その他一切の平衡が成立するに要する時間を知る目的で次の実験を行つた。電極を予め30分間 37°C に保温平衡せしめた後，15°C の醋酸緩衝液 (pH : 4.587) 或いは磷酸緩衝液 (pH : 7.720) をこれに收容すると電位が一定になるに3分間で充分であつた。又醋酸緩衝液を採取して 37°C に保温し乍ら45分間逐時的に電位を測定したが，その間 ±0.5mV 程度の変動を示すに過ぎなかつた。(該電極では 0.5mV の電位の変化は 0.01

pH の変化に相当する)

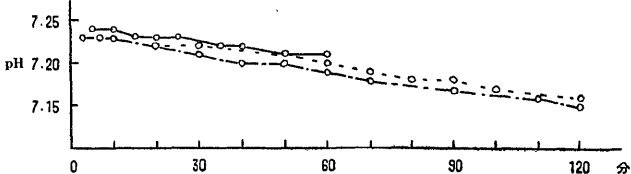
II) Acid Change

人血液を採血後 37°C に保温し乍ら逐時的に pH を測定し，その変動経過を観察した。成績は第1図より第5図までに示す。夫々ヘパリン，クエン酸ソーダ，蓚酸カリ，弗化ソーダを用いた場合及びサポニン溶血の場合を示す。ヘパリン，クエン酸ソーダ，蓚酸カリを用いた場合では10分目頃より漸次 pH は下降するが，その下降のし方は略々直線的であり Havard 等のような2期性の下降を示さない。保温1時間における pH 下降度は第1表に示す。

第1図 ヘパリン加血液の pH 変動



第2図 クエン酸ソーダ加血液の pH 変動

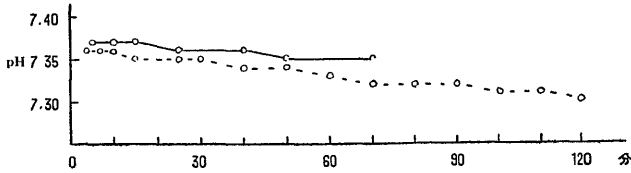


第1表 37°C, 1時間における血液 pH 下降度

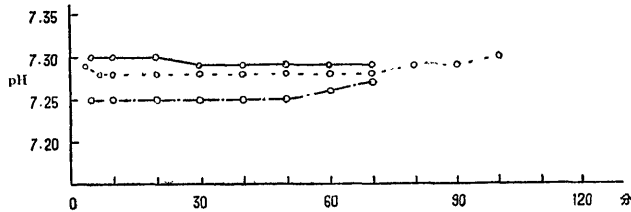
抗凝血剤	ヘパリン	クエン酸ソーダ	蓚酸カリ
pH 下降度	0.06	0.04	0.03
	0.05	0.04	0.02
	0.05	0.03	0.02
	0.04	0.03	
	0.03		
平均	0.046	0.035	0.023

弗化ソーダを用いて Glycolysis を阻止した場合は pH の下降は殆んど見られず，1時間目頃よりむしろ

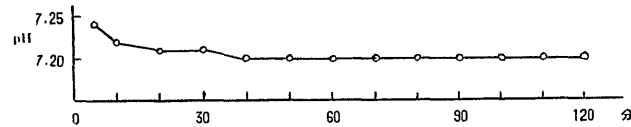
第3図 蔘酸カリ加血液の pH 変動



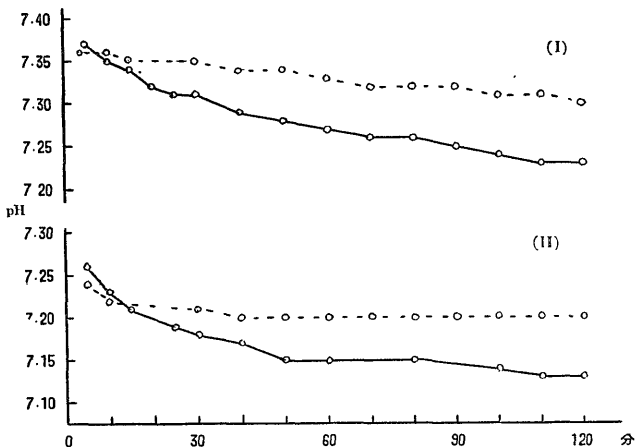
第4図 弗化ソーダ加血液の pH 変動



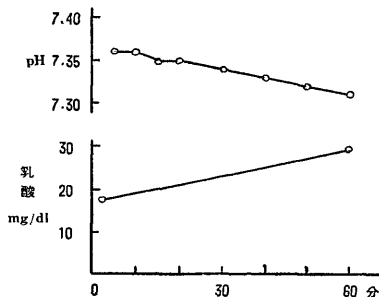
第5図 サポニン溶血血液の pH 変動



第6図 血液凝固を起した場合の pH 変動



第7図 37°C におけるヘパリン加血液



Alkaline Change を認める場合が多い。サポニン溶血の場合は保温40分間で 0.04 pH の下降を見せ、その後は不変である。この初期の下降は血漿と血球内容との混和による pH の下降と考えられ、その後 pH が一定となるのは Glycolysis 停止によるためであろう。第6図に示す実験例は抗凝血剤を用いたにも拘わらず実験中に凝血を見た例で、例1は蔘酸カリを使用した例、例2はサポニン溶血の例である。何れも対照(凝血を見なかつた例)に比し pH の下降は著しいものがある。

III) Acid Change と Glycolysis

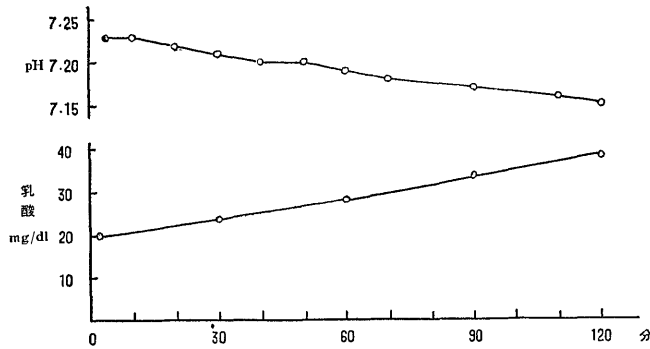
採血血液を 37°C に保温し乍ら、血液 pH の変動経過及び血中乳酸濃度の変動経過を観察した。成績は第7図より第11図までに示す。夫々ヘパリン、クエン酸ソーダ、蔘酸カリ、弗化ソーダを用いた例である。第10図は弗化ソーダを 1/10 容、第11図では 1/6 容に用いたものである。

弗化ソーダを用いた例では血中乳酸は殆んど増加せず、又血液 pH の下降も殆んど見られない。しかし他の例では何れも時間の経過と共に血中乳酸は増加し、又血液 pH も保温10分目頃より下降し始める。

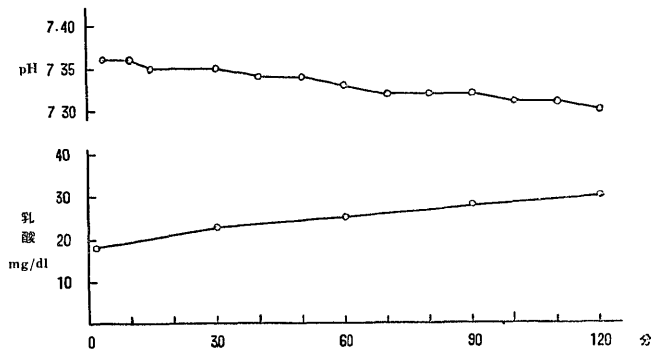
以上の成績より、血液 pH の下降は Glycolysis による血中乳酸の増量に基因していることが推測できる。又用いる抗凝血剤の如何を問わず初めの10分間においては血液 pH は不変である。

乳酸増量及び pH 下降の見られる例における保温1時間における乳酸増量と pH 下降度の比を見ると、1%・0.05, 5%・0.04, 7%・0.03 (ΔL/ΔpH : L は乳酸濃度 mg/dl) であり、これら

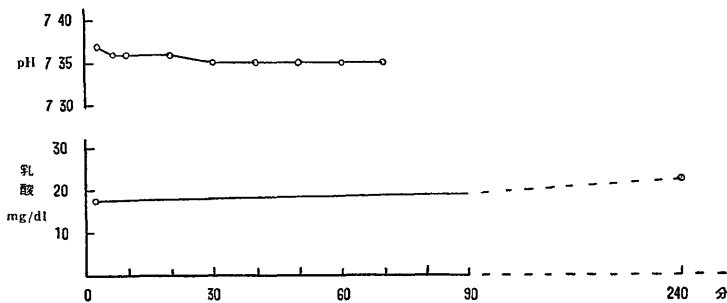
第8図 37°C におけるクエン酸ソーダ加血液



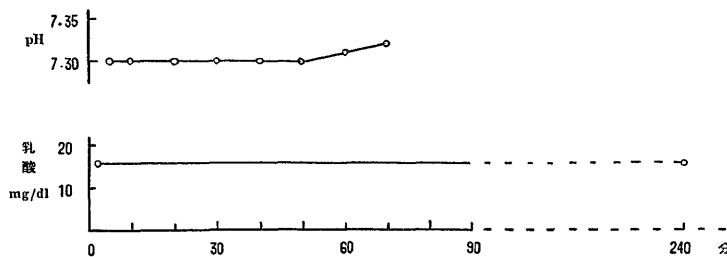
第9図 37°C における蔞酸カリ加血液



第10図 37°C における弗化ソーダ (1/40容) 加血液



第11図 37°C における弗化ソーダ (1/5容) 加血液



より血液 pH 0.05 下降に相当する乳酸増量を計算すると三者の平均は 11.2mg/dl となる。

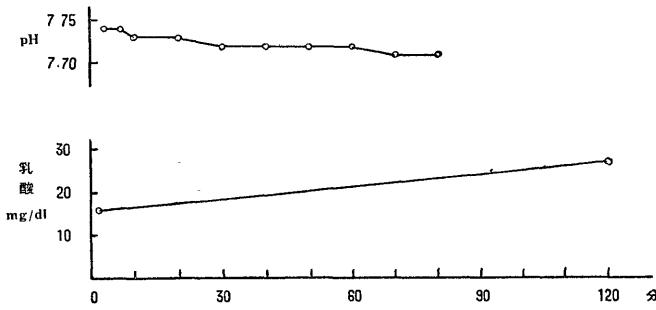
IV) 室温における Acid Change と Glycolysis

採血血液を室温 (12°C) に放置したまま, その pH 変動及び乳酸濃度変動の経過を観察した. 成績は第12図より第15図までに示す. 夫々抗凝血剤としてヘパリン, クエン酸ソーダ, 蔞酸カリ, 弗化ソーダを用いた例である. 弗化ソーダを用いた例 (第15図) では血液 pH の変動も乳酸濃度の変動も見られない. 他の三者においては乳酸増量及び pH 下降 (毎時凡そ 0.02 pH 程度) が見られるが, これらの変化は 37°C の場合に比し著しく小さい. これは低温のため Glycolysis が抑制され, その結果 pH 下降が小さくなったものであろう.

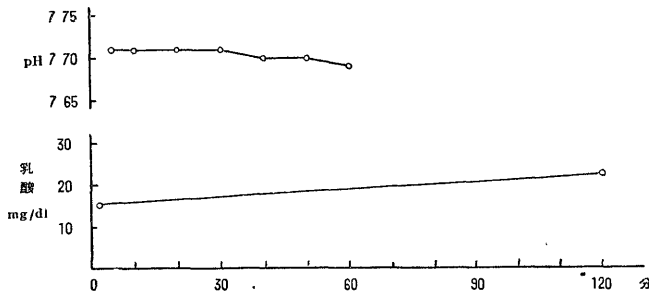
考 按

人静脈血に抗凝血剤としてヘパリン, クエン酸ソーダ, 蔞酸カリの何れか一つを加え, 37°C に保存すると, 血液乳酸の蓄積に並行して血液 pH は低下する. pH 低下度は用うる抗凝血剤の種類によつて異なり, ヘパリンが最も大きく蔞酸カリは最も小さい (第1表).

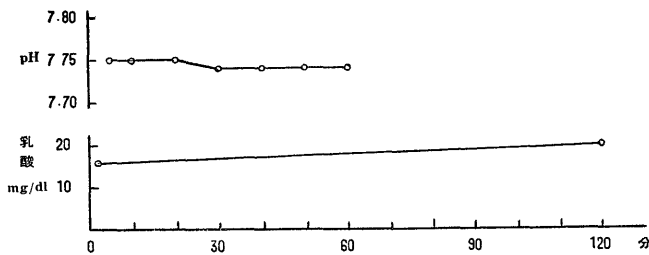
第12図 室温におけるヘパリン加血液



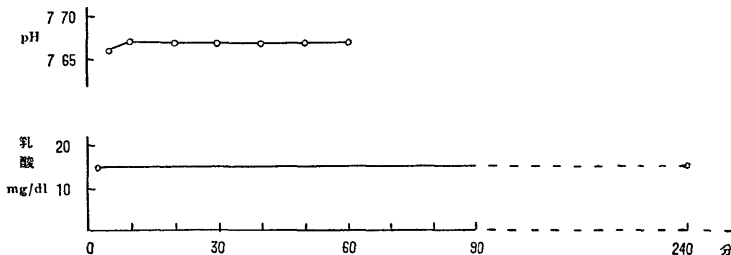
第13図 室温におけるクエン酸ソーダ加血液



第14図 室温における蓚酸カリ加血液



第15図 室温における弗化ソーダ加血液



この所見は吉村の所見と一致する。pH 低下の時間経過を検討するに、Harvard and Kerridge のいうが如き First Acid Change に相当するものは一例も見受けられず、何れも略々直線的経過をとっている。血液 pH の下降 0.05 に対応する乳酸蓄積量は平均 11.2mg/dl となり、これは斎藤<sup>9)</sup>が血液の緩衝価を 28mE/L とし計算した値 13mg/dl と略々一致する。

また 12°C において保存した場合も、乳酸蓄積量及び pH 低下は、37°C の保存の場合より遙かに軽度ではあるが、認められる。

しかし乍ら弗化ソーダを加えて Glycolysis を阻止すると、血液 pH の下降は全く起らないのみか、1時間位後に pH の上昇を認める場合が多い。これらの実験所見より採血直後から始まる血液 pH の下降は Glycolysis により産成される乳酸に原因するものであり、Glycolysis と無関係におこる所謂 First Acid Change の如き pH の下降の存在は考えられない。

血液の Acid Change には潜伏期の認められることは多くの先人により実証された所である。本実験においても、血液を 37°C に保存する場合はじめ約10分間は加えた抗凝血剤の種類に

拘わらず pH は不変に保たれることを知った。従つて体温における血液 pH を実測する際には予め電極の温度調節を完全に実施しておけば、十分の余裕を以てこの間に測定を終ることができる。

採血後血液を10分以上 37°C に保存する際には適当量の弗化ソーダを加えて Acid Change を阻止することはできるが、1時間以上を経過する場合には Alkaline Change を来す可能性が考えられる。

### む す び

in vitro における血液の Acid Change と Glycolysis について研究し、次の所見を得た。

1) ヘパリン、クエン酸ソーダ 或いは蔞酸カリを抗凝血剤として用いた採血血液を 37°C に保存すると、約10分間の潜伏期をおいた後、血液 pH は漸次下降する。この pH 下降は時間の経過と共に直線的であつて Havard 等の所謂 First Acid Change は認められない。

2) 室温 (12°C) に放置しても採血血液の pH 下降及び乳酸増量は<sup>も</sup>おこる。しかし 37°C に保存した場合に比し可成り小さい。

3) 弗化ソーダを 0.1% 以上に含む血液では、pH 下降及び乳酸増量は認められない。

4) 血液の pH 下降は血液 Glycolysis による乳酸の増量に原因する。血液 pH 0.05 下降に相当する乳酸増量は 11.2mg/dl である。

5) 血液凝固した際の pH 下降は、凝血しない例に比し著しく大きい。又溶血血液では保温初期に pH は低下するが、30分目頃より後は pH 不変である。

終りに臨み終始御指導と御校閲を賜つた齋藤教授に深甚な謝意を表する。

### 文

- 1) Evans : J. Physiol. 56, 146, (1922).  
 2) Havard and Kerridge : Biochem. J. 23, 600 (1929).      3) Harris, Rubin and Shutt : J. Physiol. 81, 147, (1934).      4) Dickinson, Havard and Platt : J. Physiol. 78, 28, (1933).      5) Yoshimura : J.

### 献

- Biochem. 21, 335, (1935).      6) 藤本 : 京都医学会雑誌, 35, 1, (昭13).      7) 齋藤・本田 : 日新医学, 42, 167, (昭30).      8) Barker and Summerson : J. Biol. Chem. 138, 535, (1941).      9) 齋藤 : 血液の pH. 65, (昭28).