

## 血液成分の酸塩基平衡に関する研究

〔I〕  $P_{CO_2}$  の変化に伴う血液成分の酸塩基平衡の移動

金沢大学大学院医学研究科小児科学講座(主任 佐川一郎教授)

金沢大学大学院医学研究科生理学第一講座(研究主任 斎藤幸一郎教授)

石川 克巳

(昭和43年7月5日受付)

本論文の要旨は1967年9月に第13回生理学中部談話会において発表した。

血液の酸塩基平衡に関しては既に半世紀にわたって詳細な研究が行なわれ、多くのすぐれた総説<sup>1-7)</sup>が発表されている。一見もはや探索の余地は残されていないように思われる。しかし赤血球内の酸塩基平衡、これと血漿の酸塩基平衡の関連性については、われわれの見解は確実ではなく、また諸家の見解は必ずしも一致しない。例えば赤血球内の  $CO_2$  の在り方、赤血球内容における炭酸の第一解離指数 ( $pK'$ )、赤血球膜内外の  $H^+$  の Donnan 比、Hb を高濃度に封入した赤血球の血漿酸塩基平衡に及ぼす緩衝能などいずれも未確定の事項である。

著者はウシの血液について、*in vitro* でその  $P_{CO_2}$  を変化させた場合、血漿と赤血球内の酸塩基平衡の変動とその相互関係について検索し、2, 3の所見を得たのでここに報告する。

## 実験方法

## I. 真性血漿と真性赤血球試料の調製

真性血漿と平衡状態にある赤血球を真性赤血球と呼ぶことにする。

ヘパリンを 3000 unit/l の濃度で加えたウシ血液を2分し、一方は  $P_{CO_2}$  の高い空気、他方は  $CO_2$  を含まない空気、 $37^\circ C$  約30~60分間トノメーター<sup>8)</sup> 内で平衡させた。得られた2つの血液を、気密下にポリエチレン製注射器 (20cc) 内で、いろんな割合に混合し、 $P_{CO_2}$ 、したがって pH の異なった6~8本の試料をつくった。これらの試料を気密な状態の下で血漿

と赤血球に遠心分離するために、試料を入れた注射器の先端をゴム帽で封じた上に向けてあらかじめ  $37^\circ C$  の湯を入れておいた遠心金属管内に立てた。こうして  $37^\circ C$  の恒温室内で半径 14 cm 3000回転30分間遠心分離を行なった。

分離した真性血漿と真性赤血球を別々の注射器に気密下に移し取り、後者にさらに10%の saponin 溶液を赤血球の約10分の1容量だけ、少量の水銀と共に加え、充分混和し、溶血を完了させた。

その溶血した赤血球内容と、さきに気密に分離した真性血漿について総炭酸量、 $37^\circ C$  における pH など下記の諸項目について測定した。

## II. 分離赤血球と分離血漿試料の調製

ウシ血液を遠心して血漿と赤血球に分離し、その赤血球をとって最少必要量の saponin 粉末と泡立たないようにオクチールアルコールを数滴加え、溶血させた。これをトノメーターに取り、 $P_{CO_2}$  の高い空気や、 $CO_2$  のない空気と接触させ、 $P_{CO_2}$ 、したがって pH の異なった一連の試料を作った。

血漿も同様に2分し、一方は  $P_{CO_2}$  の高い空気、 $37^\circ C$  のトノメーター内で約3~5分間平衡させ、他の一方は空気中で振盪し、 $P_{CO_2}$  を低くした。こうして調製した  $P_{CO_2}$  の高い血漿と低い血漿をいろいろの割合に混合し、 $P_{CO_2}$ 、したがって pH の異なった一連の血漿を作った。

この分離赤血球内容と分離血漿を前と同様に総炭酸量、 $37^\circ C$  における pH など下記項目を測定した。

Studies on the Acid-base Equilibrium of the Blood Components. (I) The Change of Acid-base Equilibrium of the Blood Components in Response to Alterations of the  $CO_2$  Tension. Katsumi Ishikawa, Department of Pediatrics (Director: Prof. I. Sagawa), Department of Physiology (I) (Director: Prof. K. Saito), School of Medicine, Kanazawa University.

また分離血漿については血漿蛋白質濃度も測定した  
 Ⅲ. 測 定

### 1. pH 測定

pH測定には Beckman physiological gas analyzer model 160 を用いて 37°C において 2~3 回測定し、その平均値をとった。

### 2. 総炭酸量

Van Slyke and Neil の測圧式血液ガス分析器を用いて 2 回測定し、その平均値をとった。

### 3. Hb 濃度

Hitachi の spectrophotometer を用い、cyanmethemoglobin による方法で filter 530 mμ を用いて、3 回測定し、その平均値をとった。

この比色法の検定はあらかじめ酸素容量を Van Slyke and Neil の測圧式血液ガス分析器を用いて測定した血液試料を用いて行なった。

### 4. 血漿蛋白質濃度

クレット光電光度計を用い、Biuret<sup>9)</sup> 反応による方法で 3 回測定し、その平均値をとった。

### 5. 血漿および赤血球水分含有量

血漿および赤血球約 1 ml を既知重量のビーカーに取り、100°C、1 時間乾熱し、その前後の重量の差をもって水分含有量 (g/cc) とした。

重量測定には島津の直示天秤 L 型を使用した。

## IV. ヘマトクリット値 (Ht) の算出

ウシ血液と分離赤血球の Hb 量を測定し、

$$\frac{\text{全血 Hb 量 (mM/l)}}{\text{赤血球 Hb 量 (mM/l)}} \times 100 = \text{Ht (\%)} \quad (1)$$

とした。

## V. 血漿 [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] の算定

血漿の [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] は Henderson-Hasselbalch の式を変形して

$$[\text{HCO}_3^-] = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{T}}}{1 + 10^{\text{pK}' - \text{pH}}}$$

により、[CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub> と pH の実測値から求めた。

但し、[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]、[CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub> はそれぞれ、血漿の [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]、総 CO<sub>2</sub> の mM 濃度、pK' は 6.10 (37°C) とする。

## VI. 真性赤血球 [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] の算定

赤血球内の [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] を直接測定できないから、次の 1. Roughton による方法、2. Donnan 比による方法と、2 つの方法によって、赤血球内の [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] を求めた。

### 1. Roughton による方法

炭酸は赤血球中では CO<sub>2</sub> (炭酸ガス)、H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (炭酸) HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (重炭酸イオン) および carthemoglobin

(Hb の carbamino 化合物) の 4 つの形で存在する。

したがって赤血球中における [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] は次の式のように総炭酸量から [carbamino CO<sub>2</sub>] と [CO<sub>2</sub>] を差し引いて求められる。

$$[\text{HCO}_3^-] = [\text{CO}_2]_{\text{T}} - [\text{carbamino CO}_2] - [\text{CO}_2] \quad (1)$$

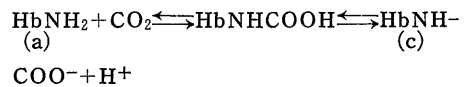
### 1) [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>

Van Slyke and Neil の測圧式血液ガス分析器で測定した実測値を [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub> とした。

### 2) [carbamino CO<sub>2</sub>] の算定

Roughton<sup>3)</sup> 及び Roughton ら<sup>10)12)</sup> によれば、Hb 分子の globin を形成する polypeptide chain の terminal NH<sub>2</sub> 基<sup>13)</sup> と CO<sub>2</sub> の間に可逆結合がみられるという。

すなわち

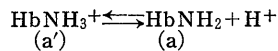


但し ( ) は各分子の濃度を表わすものとする。

HbNHCOOH の解離指数は約 5.8 であるから [HbNHCOOH] は [HbNHCOO<sup>-</sup>] に比して無視し得るとしてこの平衡に質量作用の法則をあてはめると

$$\frac{[\text{HbNHCOO}^-][\text{H}^+]}{[\text{HbNH}_2][\text{CO}_2]} = \text{Kc (平衡定数)} \quad (2)$$

また次の平衡も同時に成立し



これに質量作用の法則をあてはめて

$$\frac{[\text{H}^+][\text{HbNH}_2]}{[\text{HbNH}_3^+]} = \text{Kz (平衡定数)} \quad (3)$$

となる。Hb の carbamino CO<sub>2</sub> 飽和度を Z とすると

$$Z = \frac{c}{a' + a + c} \quad (4)$$

となる。

(2)(3)(4) 式より

$$Z = \frac{\text{KcKz}[\text{CO}_2]}{\text{KcKz}[\text{CO}_2] + \text{Kz}[\text{H}^+] + [\text{H}^+]^2} \quad (5)$$

を得る。

Roughton はウシの O<sub>2</sub>Hb に対して 37°C においては、Stadie ら<sup>14)</sup> の実験成績より pKz=4.60, pKz=7.72<sup>11)13)</sup> を得ている。

したがってこれらの定数と [CO<sub>2</sub>] および [H<sup>+</sup>] の実測値より (5) 式によって Z を算出すると、[carbamino CO<sub>2</sub>] は [Hb] に Z を乗じて求めることができる。

### 3) [CO<sub>2</sub>]

ウシ赤血球の炭酸ガスの Bunsen 吸収率 (α) を 37°C で 0.443<sup>15)</sup> とすると赤血球内の [CO<sub>2</sub>] は

$$0.0591\alpha P_{CO_2} = 0.0262 P_{CO_2} \text{ (Mol/l)}$$

で得られる。

$P_{CO_2}$  (mmHg) は真性血漿の pH<sub>p</sub> と総炭酸量  $[CO_2]_T$  の実測値より次の式で求めた。

$$P_{CO_2} = \frac{[CO_2]_T}{0.0308 (10^{pH-pK'} + 1)}$$

以上の測定と計算により得られた  $[CO_2]_T$ , [carbamino  $CO_2$ ] と  $[CO_2]$  を (1) にあてはめて, 赤血球の  $[HCO_3^-]$  を算出した。

2. Donnan 比による方法

赤血球膜の Donnan 膜平衡を  $HCO_3^-$  について考えると, その Donnan 比  $r(HCO_3^-)$  は

$$r(HCO_3^-) = \frac{[HCO_3^-]_c}{[HCO_3^-]_p}$$

[ ]' は molal 濃度 (mol/kgH<sub>2</sub>O) をあらわす。

ここで表 1 より血漿水分含有量は 0.9252 g/cc, 赤血球水分含有量は 0.6505 g/cc であるから, これらを用いて  $HCO_3^-$  の molal 濃度を molar 濃度に改めると,  $[HCO_3^-]_c$  (mol/l) は

$$[HCO_3^-]_c = 0.703 [HCO_3^-]_p \times r(HCO_3^-) \quad (6)$$

また Fitzsimons ら<sup>16)</sup> によればヒトの血漿 pH<sub>s</sub> = 7.4 で

$$r = \frac{\alpha H^+}{\alpha H^+_s} = 0.93 \frac{[HCO_3^-]_c}{[HCO_3^-]_s} \quad (7)$$

(7) 式では  $\alpha H^+$  はガラス電極により決定した水素イオン活量,  $[HCO_3^-]_s$  は重炭酸イオンの molal 濃度をあらわす。この 0.93 なる係数は Fitzsimons ら<sup>16)</sup> の掲げた実験式 (彼らの論文の第 1 表) より pH 6.9~7.7 の領域において一定とみなし得る。

(7) より  $r(H^+)$  を使って

$$r(HCO_3^-) = \frac{r(H^+)}{0.93} \quad (8)$$

一方後述の如く, ウシ全血における赤血球内外の pH の間には

$$pH_c = 0.898 pH_p + 0.637$$

なる式が成り立つ。これより

$$\log \frac{[H]_p}{[H]_c} = \log r(H^+) = 0.637 - 0.102 pH_p \quad (9)$$

となり, 水素イオンの Donnan 比  $r(H^+)$  が pH の関数として示される。したがって (9) に pH<sub>p</sub> を代入して  $r(H^+)$  を求め, (6) と (8) から次の式により  $[HCO_3^-]_c$  を求めることができる。

$$[HCO_3^-]_c = 0.756 \times [HCO_3^-]_p \times r(H^+) \quad (10)$$

以下測定値を統計学的に処理して得られた平均値を  $\bar{x}$ , これに附随する標準誤差を SE, 測定値に附随する標準偏差を SD, 相関係数を r であらわす。n は試

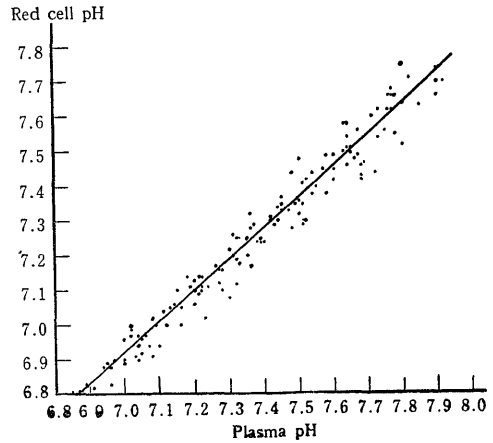
料数とする。

実験成績

1. 全血における赤血球内外の pH について

真性血漿 およびこれと平衡した真性赤血球内容の pH 測定値より血液  $P_{CO_2}$  の変動に伴う赤血球内外 pH の関係を図 1 に示した。成績は直線的に分布する

図 1 全血における赤血球内容と血漿の pH の関係



$$n=145, r=0.982, pH_c = 0.898 pH_p + 0.637$$

と認められるから, 最小自乗法により回帰直線を求めると生理的 pH 領域においては赤血球内容 pH<sub>c</sub> と血漿 pH<sub>p</sub> の間に

$$pH_c = 0.898 pH_p + 0.637 \quad (11)$$

で表わされる関係が成立する。

ここで,  $n=145, r=0.982, SEr=0.003, r$  は推計学的に明らかに有意である。また回帰係数は  $bx=0.898, by=0.835, SEbx=0.003, SEby=0.003, SDx=0.277, SDy=0.253$ , それ故に明らかに有意である。(11) より,  $P_{CO_2}$  に伴う pH<sub>c</sub> の変化は同時に生ずる pH<sub>p</sub> の変化の約 90% に止まることがわかる。

II. 血漿および赤血球水分含有量

表 1 のように, 6 例の平均で, 血漿水分含有量は, 0.9252g/cc (SE=0.0020, SD=0.0049), 赤血球水分含有量 0.6505g/cc (SE=0.0055, SD=0.0135) となった。

III. ヘマトクリット値

表 6 第 3 行のように, 10 例の平均値で 44.8% (SE=1.79, SD=5.66) であった。

IV. 赤血球内における炭酸の  $pK_1'$

赤血球内においても血漿におけると同様,  $[CO_2]$ ,

表1 血漿及び赤血球内容の水分含有量

水分含有量 (g/cc)		
	血 漿	赤 血 球
1	0.9327	0.6626
2	0.9160	0.6292
3	0.9268	0.6639
4	0.9247	0.6580
5	0.9258	0.6543
6	0.9250	0.6347
$\bar{x}$	0.9252	0.6505
SE	0.0020	0.0055
SD	0.0049	0.0135

pH,  $[\text{HCO}_3^-]$  の間に Henderson-Hasselbalch の式が成立するものと考えられる。これら3項目を測定し、この式を用いて赤血球内における炭酸の  $\text{pK}'_1$  を算出した。赤血球内の  $[\text{HCO}_3^-]$  は前述の通り2つの方法で求めたからその各々について  $\text{pK}'_1$  を算出した。

1. Roughton による方法

実験方法VIに述べたようにして  $[\text{CO}_2]_T$ ,  $\text{Pco}_2$ , pH の測定値より  $[\text{carbamino CO}_2]$  を求め次の Henderson-Hasselbalch の式より,  $\text{pK}'_1$  を算出した。

$$\text{pK}'_1 = \text{pHc} - \log \frac{[\text{CO}_2]_T \cdot [\text{carbamino CO}_2] - 0.0262 \text{Pco}_2}{0.0262 \text{Pco}_2}$$

その1例は表2に示す通りである。この同一試料より得た一連の data より求めた  $\text{pK}'_1$  は表2第7行のように表わされ、平均すると6.12となる。このような

平均値を15例の実験成績について求めると表5第17行となり、その平均値は  $6.19(n=15, SE=0.030, SD=0.115)$  となる。

2. Donnan 比による方法

表2第6行のように、 $[\text{HCO}_3^-]_c$  を(6)と(8)の式を用いて  $[\text{HCO}_3^-]_p$ ,  $r(\text{H}^+)$ , 赤血球および血漿水分含有量から算出した。このときの赤血球内容について、Henderson-Hasselbalch の式より,  $\text{pK}'_1$  は

$$\text{pK}'_1 = \text{pHc} - \log \frac{[\text{HCO}_3^-]_c}{0.0262 \text{Pco}_2}$$

となる。

$\text{pK}'_1$  を表5第18行実験15例の平均値から求めると,  $\text{pK}'_1 = 6.15(SE=0.003, SD=0.011)$  となった。

V. buffer line

分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球について、その  $\text{Pco}_2$  の変化に伴う pH の変動とこれに伴う総炭酸量と  $[\text{HCO}_3^-]$  の増減の関係を表わす緩衝曲線 ( $[\text{CO}_2]_T \sim \text{pH}, [\text{HCO}_3^-] \sim \text{pH}$  即ち buffer line) を描いた。その2例が図2,3,4,5および表3である。生理的 pH 領域ではこれらの曲線はいずれも直線とみなし得る。またいずれも試料を  $\text{CO}_2$  で滴定して得られる滴定曲線であるから、この直線の pH 軸に対する勾配 (buffer line の slope) は  $\text{CO}_2$  に対する緩衝能の大きさをあらわす。

これら4種の試料の緩衝曲線各15本の slope の値と、それらの  $\bar{x}$ , SE, SD を表5に示した。

1. 分離血漿の buffer line

分離血漿の buffer line は表5第7行のように、23例(ここでは10例のみ掲載)の平均値は  $[\text{CO}_2]_T / \text{pH}$  曲線の slope で  $12.77 \text{mM/l. pH}$  ( $SE=0.234, SD=2.325$ )

表2 真性赤血球の一実験例 (Hb 含有量 18.25 mM/l)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$\alpha \text{PCO}_2$ mM/l	carb. Hb mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l		$\text{pK}'_1$		X-bound $\text{CO}_2$	Y-bound $\text{CO}_2$
				Roughton による方法	Donnan 比による方法	Roughton による方法	Donnan 比による方法	Hb mM/l	Hb mM/l
7.04	26.8	2.56	1.99	22.3	20.0	6.10	6.05	0.24	0.13
7.22	20.5	1.42	2.26	16.8	15.6	6.15	6.18	0.19	0.07
7.30	18.0	0.98	2.17	14.8	13.7	6.12	6.15	0.18	0.06
7.45	14.1	0.52	2.08	11.5	10.4	6.11	6.15	0.17	0.06
7.58	10.5	0.28	1.79	8.4	7.9	6.10	6.13	0.13	0.03

第9行は carbamino  $\text{CO}_2$  と Y-bound  $\text{CO}_2$  との和を赤血球 Hb 含有量で割った値である。

第10行は第5行の  $[\text{HCO}_3^-]$  と第6行の  $[\text{HCO}_3^-]$  との差を Y-bound  $\text{CO}_2$  として、赤血球 Hb 含有量で割った値である。

図2 分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球の buffer line ( $[\text{CO}_2]_T \sim \text{pH}$ )

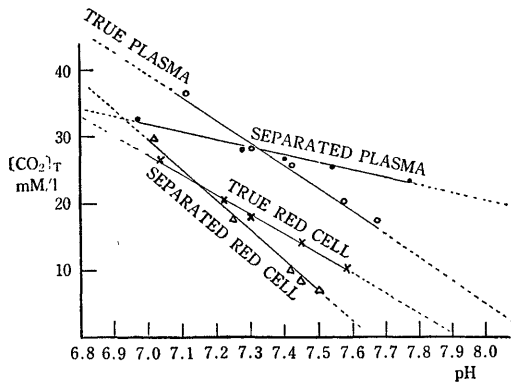


図3 分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球の buffer line ( $[\text{HCO}_3^-] \sim \text{pH}$ )

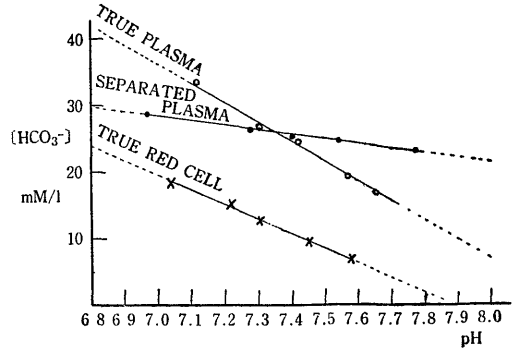


表3(1) 図2, 3, の, 分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球の buffer line

true plasma		
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l
7.11	36.7	33.4
7.30	28.2	26.5
7.42	25.6	24.4
7.57	20.1	19.4
7.65	17.7	17.2
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_p} = 34.48 \text{ mM/l. pH}$		
$-\frac{d [\text{HCO}_3^-]}{dpH_p} = 29.44 \text{ mM/l. pH}$		

true red cell				
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$\alpha \text{ PCO}_2$	carb. Hb mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l
7.04	26.8	2.56	1.99	22.3
7.22	20.5	1.42	2.26	16.8
7.30	18.0	0.98	2.17	14.8
7.45	14.1	0.52	2.08	11.5
7.58	10.5	0.28	1.79	8.4
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_c} = 29.84 \text{ mM/l. pH}$				
$-\frac{d [\text{HCO}_3^-]}{dpH_c} = 25.35 \text{ mM/l. pH}$				

separated plasma		
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l
6.97	32.7	28.8
7.28	28.3	26.5
7.40	26.7	25.4
7.54	25.6	24.7
7.77	23.6	23.1
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_p} = 11.38 \text{ mM/l. pH}$		
$-\frac{d [\text{HCO}_3^-]}{dpH_p} = 7.12 \text{ mM/l. pH}$		

separated red cell	
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l
7.02	30.0
7.25	17.8
7.44	8.7
7.50	7.7
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_c} = 47.92 \text{ mM/l. pH}$	

図4 分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球の buffer line ( $[\text{CO}_2]_T \sim \text{pH}$ )

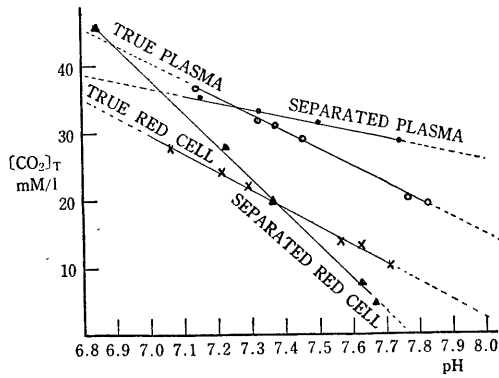


図5 分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球の buffer line ( $[\text{HCO}_3^-] \sim \text{pH}$ )

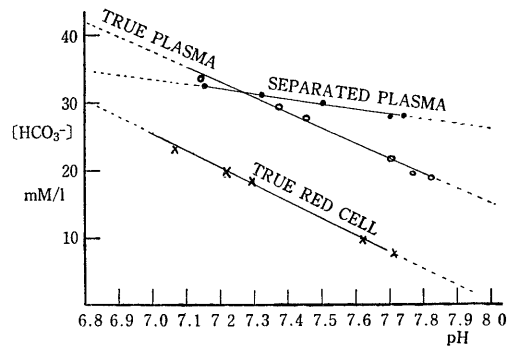


表3(2) 図4, 5. の, 分離血漿, 分離赤血球, 真性血漿と真性赤血球の buffer line

true plasma		
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l
7.14	36.9	33.8
7.32	32.0	30.2
7.37	31.5	29.9
7.45	29.2	28.0
7.76	20.3	19.9
7.82	19.8	10.4
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_p} = 25.92 \text{ mM/l. pH}$		
$-\frac{d [\text{HCO}_3^-]}{dpH_p} = 22.25 \text{ mM/l. pH}$		

true red cell				
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$\alpha \text{ PCO}_2$	carb. Hb mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l
7.06	27.7	2.56	2.52	22.6
7.21	24.3	1.57	2.82	19.9
7.29	22.3	1.19	2.93	18.2
7.56	13.6	0.45	3.14	10.0
7.71	10.4	0.25	2.97	7.3
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_c} = 27.39 \text{ mM/l. pH}$				
$-\frac{d [\text{HCO}_3^-]}{dpH_c} = 23.54 \text{ mM/l. pH}$				

separated plasma		
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l	$[\text{HCO}_3^-]$ mM/l
7.15	35.4	32.5
7.32	33.0	31.1
7.50	31.5	30.3
7.74	28.7	28.1
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_p} = 11.06 \text{ mM/l. pH}$		
$-\frac{d [\text{HCO}_3^-]}{dpH_p} = 7.23 \text{ mM/l. pH}$		

separated red cell	
pH	$[\text{CO}_2]_T$ mM/l
6.84	45.9
7.22	28.4
7.36	20.2
7.62	8.1
7.66	5.0
$-\frac{d [\text{CO}_2]_T}{dpH_c} = 49.56 \text{ mM/l. pH}$	

[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]/pH 曲線の slope の平均値は表 5 第 8 行のように、8.21 mM/l. pH (SE=0.295, SD=1.122) であった。

また分離血漿蛋白質濃度は表 4 のように、13例の平均値は 10.20 g/dl (SE=0.279, SD=1.005) であった。分離血漿の CO<sub>2</sub> に対する緩衝作用は血漿蛋白質によるものであるから、血漿蛋白質の単位濃度 (g/l) 当り緩衝曲線の slope を求めると表 4 のように、13例の平均値として

$$-\frac{d[\text{CO}_2]_{\text{T}}}{dp\text{Hp}} = 0.129 \text{ mM/l. pH} \quad \left( \begin{array}{l} \text{SE}=0.007 \\ \text{SD}=0.025 \end{array} \right)$$

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}} = 0.080 \text{ mM/l. pH} \quad \left( \begin{array}{l} \text{SE}=0.004 \\ \text{SD}=0.015 \end{array} \right)$$

が得られた。

### 2. 分離赤血球の buffer line

表 5 第 6 行のように、[CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>/pH 曲線の slope は 15例について平均すると

$$48.15 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=2.115, \text{SD}=8.193)$$

となった。赤血球内容の CO<sub>2</sub> に対する緩衝作用は主として Hb によるものである。したがって、また

赤血球 Hb 量単位濃度 (mM/l) 当りの [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>/pH 曲線は表 5 第 16 行のように

$$2.58 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=0.139, \text{SD}=0.540)$$

となった。

### 3. 真性血漿の buffer line

真性血漿の [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>/pH 曲線の slope は表 5 第 1 行のように 15例の平均値は

$$34.26 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=1.324, \text{SD}=5.129)$$

となった。

[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]/pH 曲線の slope は表 5 第 2 行のように

$$28.55 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=1.029, \text{SD}=3.987)$$

であった。

また Peters<sup>17)</sup> らや Siggaard-Andersen<sup>18)</sup> は真性血漿について Pco<sub>2</sub> の変動に伴う pHp の変化に対する [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub> または [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] の変化の関係を次のような形であらわしている。

$$-\frac{d[\text{CO}_2]_{\text{T}}(\text{又は}[\text{HCO}_3^-])}{dp\text{Hp}} = a + b (\text{Hb}) \quad (12)$$

(Hb) は全血の Hb 濃度である。

表 4 分離血漿の buffer line の slope 及びその血漿蛋白質濃度当りの slope

	separated plasma		血漿蛋白質濃度 g/dl	血漿蛋白質単位濃度 (g/l) 当りの slope (mM/l. pH)	
	$-\frac{d[\text{CO}_2]_{\text{T}}}{dp\text{Hp}}$ mM/l. pH	$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$ mM/l. pH		$-\frac{d[\text{CO}_2]_{\text{T}}}{dp\text{Hp}}$	$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$
1	13.36	8.41	9.09	0.150	0.093
2	11.40	7.24	11.60	0.098	0.063
3	9.92	5.96	10.20	0.097	0.058
4	12.47	8.50	10.20	0.122	0.083
5	20.15	8.67	12.60	0.160	0.069
6	12.36	7.92	10.40	0.118	0.069
7	16.55	10.25	9.20	0.180	0.111
8	15.32	10.37	10.53	0.145	0.098
9	12.35	7.01	9.21	0.134	0.076
10	13.68	8.81	9.50	0.144	0.093
11	11.21	8.32	10.49	0.107	0.079
12	10.34	7.12	9.52	0.109	0.075
13	11.29	7.66	10.11	0.112	0.076
$\bar{x}$	13.11	8.17	10.20	0.129	0.080
SE	0.784	0.373	0.279	0.007	0.004
SD	2.827	1.241	1.005	0.025	0.015

a は分離血漿の  $-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$  の値を示す。a を血漿蛋白質単位濃度 (g/l) 当りの slope にあらわすと、表 4 よりウシ血漿蛋白質濃度の平均値は

10.2g/dl (SE=0.279, SD=1.005) であるから  
 $a=0.08(\text{Pr})$  (Pr は血漿蛋白質濃度)

真性血漿の CO<sub>2</sub> に対する緩衝能に Hb が関与する量は、先人にならって血液の Hb 濃度に比例するものとして一応 b (Hb) であらわすこととし、b の値を次のようにして求めた。

b は表 6 第 6 行より真性血漿と分離血漿の buffer line の slope の差を全血 Hb 量 (mM/l) で割った値で、その 15 例について平均値を求めた。その [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>/pH に対する値は

$b=2.38\text{mM/l.pH}$  (SE=0.155, SD=0.489)

また [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]/pH に対する b の値は、表 6 第 9 行より同様の方法で求めて

$b=2.18\text{mM/l.pH}$  (SE=0.103, SD=0.326)

となった。

したがって Pco<sub>2</sub> の変動に伴う真性血漿の [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub> または [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] の変化は生理的 pH 領域において次の式のように表わされる。

$$-\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}}=0.08(\text{Pr})+2.4(\text{Hb})$$

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}=0.08(\text{Pr})+2.2(\text{Hb}) \quad (13)$$

但し (Pr) は血漿蛋白質濃度 (g/l), (Hb) は全血 Hb 濃度 mM/l, slope は mM/l. pH とする。

(13) 式の [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] と (Hb) をそれぞれ CO<sub>2</sub> および O<sub>2</sub> capacity として vol% であらわすと、1mM (mEq) の CO<sub>2</sub> が標準状態で占める容積は、22.26ml で、1mM/l(mEq/l) は 2.226vol% にあたるから、a を 8.0mM/l. pH と仮定すれば

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}=17.8+2.2(\text{Hb})$$

として表わされる。

4. 真性赤血球の buffer line

表 5 真性血漿, 真性赤血球, 分離赤血球, 分離血漿の buffer line

	1	2	3	4	5	6	7	8
	true plasma の slope (mM/l. pH)		true red cell の slope (mM/l. pH)			separated red cell の slope (mM/l. pH)	separated plasma の slope (mM/l. pH)	
	$\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}}$	$\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$	$\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hc}}$	Roughton による方法 $\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hc}}$	Donnan 比による方法 $\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hc}}$		$\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}}$	$\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$
例数	15	15	15	15	15	15	23	23
1	31.79	28.30	31.16	21.25	19.72	42.84		
2	34.09	27.98	30.03	25.40	21.92	64.10		
3	34.62	31.11	29.05	22.93	22.06	63.95		
4	31.31	24.90	26.47	21.71	21.03	51.40		
5	41.56	34.57	37.73	30.64	27.17	51.07		
6	34.05	28.12	26.64	22.12	21.75	51.72	12.29	8.09
7	35.11	27.91	33.33	27.38	22.64	49.18	11.27	7.96
8	39.62	32.86	37.60	31.08	25.55	64.56	13.92	9.75
9	44.74	36.14	42.11	37.32	26.35	55.81	15.15	10.06
10	30.40	25.04	30.04	24.86	20.52	50.32	12.81	8.33
11	28.22	23.33	27.44	24.63	18.74	49.37	13.37	8.36
12	25.92	22.25	27.39	23.54	17.80	49.56	11.06	7.23
13	28.22	24.65	25.36	22.60	19.01	31.67	10.45	7.51
14	34.48	29.44	29.84	25.35	22.47	47.92	11.38	7.12
15	39.71	31.72	32.74	26.88	24.71	48.75	11.46	8.28
$\bar{x}$	34.26	28.55	31.07	25.85	20.76	48.15	12.77	8.21
SE	1.324	1.029	1.359	1.085	0.704	2.115	0.234	0.295
SD	5.129	3.987	5.262	4.201	2.728	8.193	2.325	1.122



1) [CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>/pH 曲線の slope

[CO<sub>2</sub>]<sub>T</sub>/pH 曲線の slope は表5第3行のようになり、15例の平均値は

$$31.07 \text{ mM/l.pH} (\text{SE}=1.359, \text{SD}=5.262)$$

Hb 量単位濃度 (mM/l) に相当する slope は表5第13行のように

$$1.55 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=0.065, \text{SD}=0.253)$$

となった。

2) [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]/pH 曲線の slope

Roughton の方法で求めた [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] を用いると、[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]/pH 曲線の slope は表5第4行のように、15例の平均値で

$$25.85 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=1.085, \text{SD}=4,201)$$

となった。

赤血球 Hb 量単位濃度当りの、この slope は表5第14行のように

$$1.29 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=0.061, \text{SD}=0.237)$$

となった。

Donnan 比より求めた [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] を用いると、表5第5行のように、真性赤血球 [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]/pH 曲線の slope、15例の平均値は

$$20.76 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=0.704, \text{SD}=2.728)$$

となり、赤血球 Hb 量単位濃度当りの slope は表5第15行のように

$$1.10 \text{ mM/l. pH} (\text{SE}=0.045, \text{SD}=0.173)$$

となった。

考 察

I. 全血における赤血球内外の pH

Lloyd<sup>19)</sup> らは in vitro における真性血漿の炭酸ガス解離曲線について理論的考察をしている。その結論として血漿 pH<sub>P</sub> と赤血球溶液 pH<sub>C</sub> の間に、pH<sub>P</sub> 7.1~7.6 の範囲で、次の式が成り立つという。

$$\text{pHc} = \text{pHp} (0.786 + 0.02D) - 0.1282D + 1.4454$$

の slope と赤血球内の pK'<sub>1</sub>, 第7, 8行は例数23例のうちここでは10例のみ掲載

9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
血液の Hb 量 mM/l	赤血球 の Hb 量 mM/l	true plasma の血液 Hb 単位濃度当りの slope (mM/l.pH)		true red cell の赤血球 Hb 単位 濃度当りの slope (mM/l.pH)			separated red cell の 赤血球 Hb 単位濃度当 りの slope (mM/l.pH) - d[CO <sub>2</sub> ] <sub>T</sub> dpH	true red cell の pK' <sub>1</sub>	
		- d[CO <sub>2</sub> ] <sub>T</sub> dpHp	- d[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] dpHp	- d[CO <sub>2</sub> ] <sub>T</sub> dpHc	Roughton による方法 d[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] dpHc	Donnan 比 による方法 d[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] dpHc		Rought- on によ る方法	Donnan 比による 方法
13	15	13	13	15	15	15	15	15	15
	22.10			1.41	0.96	0.89	1.94	6.56	6.17
	16.07			1.87	1.58	1.36	3.99	6.32	6.14
8.96	21.43	3.55	3.47	1.36	1.07	1.03	2.98	6.10	6.15
8.90	18.95	3.52	2.80	1.40	1.15	1.11	2.71	6.26	6.16
11.34	20.02	3.66	3.05	1.88	1.53	1.36	2.55	6.20	6.16
8.12	17.90	4.19	3.46	1.49	1.24	1.22	2.89	6.15	6.15
7.84	21.03	4.48	3.56	1.58	1.30	1.08	2.34	6.20	6.15
10.78	21.83	3.68	3.37	1.72	1.42	1.17	2.96	6.16	6.17
9.89	19.55	4.52	3.65	2.15	1.91	1.35	2.85	6.12	6.15
9.44	20.49	3.22	2.65	1.47	1.21	1.00	2.46	6.17	6.16
7.32	21.49	3.86	3.19	1.28	1.15	0.87	2.30	6.12	6.15
9.02	21.52	2.87	2.47	1.27	1.09	0.83	2.30	6.15	6.17
9.57	20.54	2.95	2.58	1.23	1.10	0.93	1.54	6.17	6.15
9.79	18.25	3.52	3.01	1.64	1.39	1.23	2.72	6.12	6.13
9.62	22.41	4.13	3.30	1.46	1.20	1.10	2.18	6.08	6.15
9.28	20.24	3.70	3.12	1.55	1.29	1.10	2.58	6.19	6.15
0.295	0.468	0.140	0.105	0.065	0.061	0.045	0.139	0.030	0.003
1.063	1.811	0.504	0.379	0.253	0.237	0.173	0.540	0.115	0.011

表6 真性血漿の緩衝曲線式,  $\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}}$  又は  $\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}} = a'(\text{Pr}) + b(\text{Hb})$  の b 定数の決定

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Hb (blood) mM/l	Hb (red cell) mM/l	Ht %	true plasma $\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}}$ mM/l. pH	separated plasma $\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}}$ mM/l. pH	true plasma sl.- separated plas- ma sl. Hb (blood) (b) mM/l. pH	true plasma $\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$ mM/l. pH	separated plasma $\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}}$ mM/l. pH	true plasma sl.- separated plas- ma sl. Hb (blood) (b) mM/l. pH	hypercapnia によりの血漿 pH の低下に伴い, 赤血球より放出 する Hb/mM 当りの $\text{HCO}_3^-$ の量
1	8.12	17.90	45.4	34.06	12.30	2.68	27.77	7.89	2.45	1.34
2	7.84	21.03	37.3	34.29	11.40	2.94	27.77	7.96	2.53	1.59
3	10.78	21.83	49.4	43.31	14.20	2.70	32.81	9.95	2.12	1.07
4	9.89	19.55	50.6	44.66	15.13	2.99	36.17	9.98	2.65	1.31
5	9.44	20.49	46.1	30.22	12.82	1.84	25.04	8.33	1.79	0.96
6	7.32	21.49	34.1	28.23	13.22	2.05	23.46	8.27	2.08	1.37
7	9.02	21.52	41.9	25.92	11.01	1.65	22.25	7.19	1.67	0.97
8	9.57	20.54	46.6	28.22	10.45	1.86	24.65	7.51	1.79	0.96
9	9.79	18.25	53.6	34.88	11.38	2.36	29.44	7.12	2.28	1.06
10	9.62	22.41	42.9	39.71	11.46	2.94	31.72	8.28	2.44	1.39
$\bar{X}$	9.14	20.50	44.8	34.31	12.32	2.38	28.11	8.25	2.18	1.20
SE	0.320	0.452	1.79	1.946	0.449	0.155	1.340	0.286	0.103	0.067
SD	1.012	1.430	5.66	6.155	1.420	0.489	4.236	0.905	0.326	0.213

(Dは fractinal desaturation をあらわす)

ここで動脈血の状態として  $D=0$  とすれば上式は

$$pH_c = 0.786pH_p + 1.454$$

となり、回帰係数は 0.786 である。

Baumann ら<sup>20)</sup> はヤギとウマについて、全血  $pH_b$  と赤血球  $pH_c$  との関係を示す

$$pH_c = b(pH_b + a) \text{ の形であらわしている。}$$

また、Hilpert ら<sup>21)</sup> もヒト、乳児、ヤギ、仔ヤギ、ヒツジ、仔ヒツジ、ヤク、ラクダ、ゾウ、シカ、ウマ等について同様の関係式を記載している。

著者の実験成績では前述のように、 $pH_c = 0.898pH_p + 0.637$  となり、回帰係数は 0.898 で、他に比べてやや高い値を示した。

西田<sup>22)</sup> はヒトの静脈血で  $37.5^\circ\text{C}$  において、赤血球内容の  $pH$  は平均 7.18 で、血漿  $pH$  より平均 0.15  $pH$  だけ低いと述べている。

また、Purcell ら<sup>23)</sup> はヒトの動脈血で赤血球内容  $pH_c$  と血漿  $pH_p$  との差は 0.21 (0.15~0.23) ( $SD = 0.023$ ) と報告している。

著者の実験では (11) 式で得られたように、 $37^\circ\text{C}$  で血漿  $pH$  が 7.40 のとき、赤血球内容の  $pH$  は 7.28 となり、したがってその差は 0.12  $pH$  となった。

## II. 赤血球膜における $H^+$ の Donnan 比

赤血球膜内外の  $H^+$  に関する Donnan 比については、既にいくつかの報告がある。例えば、Gleichmann ら<sup>24)</sup> によると  $[H^+]_i/[H^+]_e$  の値は  $pH_c = 7.249 \pm 0.009$  のとき 0.66 といひ、Bubnoff ら<sup>25)</sup> は  $pH_c = 7.126 \pm 0.035$  のとき  $[H^+]_i/[H^+]_e = 0.75$  という。Thomason<sup>26)</sup> は溶血赤血球で  $pH_c = 7.126 \pm 0.035$  のとき、 $[H^+]_i/[H^+]_e = 0.64$  と述べている。なお Thomason は DMO 法によると混合静脈血では  $pH_c = 7.285 \pm 0.066$  のとき、 $[H^+]_i/[H^+]_e$  は 0.95 であったという。

また、西田<sup>22)</sup> は、血漿水素イオン濃度と赤血球内容のそれとの比 ( $[H^+]_i/[H^+]_e$ ) は  $37.5^\circ\text{C}$  において平均 0.711 ( $SD = 0.057$ ) と報告している。

Fitzsimons ら<sup>16)</sup> はヒトの血液の  $\alpha H_s^+/\alpha H_c^+$  では、 $r$  と  $pH_s$  との間に、oxygenated の場合は  $r = 3.883 - 0.440pH_s$ , reduced の場合には  $r = 3.338 - 0.364pH_s$  なる関係式を記載している。また  $pH = 7.4$  のとき、oxygenated の場合には  $r = 0.627$ , reduced の場合には  $r = 0.644$  とあらわしている。

Dill ら<sup>27)</sup> は  $pH_s = 7.4$  のとき、ヒトの酸素化血液で  $r\alpha H^+ = 0.62$  を得ている。

著者の実験成績では、図 1 のように、赤血球内外の  $pH_p$  と  $pH_c$  とを同時に測定し、145点の Donnan 比

$r(H^+)$  を求めた結果その平均値は  $37^\circ\text{C}$ ,  $pH_c = 7.27$  のとき 0.75 ( $SE = 0.008$ ,  $SD = 0.094$ ) であった。

また赤血球内外の  $pH$  の関係式 (11) を書きかえて、水素イオン ( $H^+$ ) の Donnan 比  $r(H^+)$  を  $pH$  の関数としてあらわすと次の式となり

$$\log \frac{H_p}{H_c} = \log r(H^+) = 0.637 - 0.102pH_p$$

$pH = 7.4$  のとき  $r(H^+)$  は 0.76 となった。この値は Bubnoff ら<sup>25)</sup> とほぼ一致した値である。

## III. 赤血球内の $pK_1'$ について

一般に血漿について  $38^\circ\text{C}$  のとき、炭酸の解離指数は  $pK_1 = 6.10$  とされている。

赤血球内においても Henderson-Hasselbalch の式が成立するとして、これまで溶血赤血球について、 $pK_1'$  を求めた報告がいくつかある。

Dill ら<sup>27)</sup> は酸素化した赤血球について、 $pK_1' = 6.04$  と報告している。

Stadie ら<sup>14)</sup> によれば、ウシでは、 $37^\circ\text{C}$  の  $O_2Hb$  溶液で、 $pK_1'$  の値は 6.17,  $Hb$  の  $pK_1'$  は 6.13 であるという。

また河野<sup>28)</sup> は溶血赤血球では  $pK_1'$  は 5.92 と述べている。

Dean ら<sup>29)</sup> はヒトの赤血球内容における  $pK_1'$  を Henderson-Hasselbalch の式より

$$pK_1' = pH_c - \log \frac{\text{total } CO_2 - \text{carbamino } CO_2 - 0.0362 P_{CO_2}}{0.0362 P_{CO_2}}$$

とし、 $pK_1' = 6.18 (6.07 \sim 6.25)$  と述べている。

Roughton<sup>12)</sup> の実験によれば、ヒトの  $Hb$  について  $37^\circ\text{C}$  のとき、 $O_2Hb$  溶液の  $pK_1'$  は 6.145,  $Hb$  溶液での  $pK_1'$  は 6.15 である。

著者の実験成績では赤血球内の  $[HCO_3^-]$  を Roughton の方法で求めて  $pK_1'$  を算出すると  $pK_1' = 6.19$  ( $n = 15$ ,  $SE = 0.030$ ,  $SD = 0.115$ ), また Donnan 比の方法で求めた  $pK_1'$  は 6.15 ( $n = 15$ ,  $SE = 0.003$ ,  $SD = 0.011$ ) となった。赤血球内の  $pK_1'$  を算出する上に最も困難を感ずるのは  $[HCO_3^-]$  を正確に求める点にある。著者は 2つの方法でこれを求めたが、いずれの方法も仮定を含んでいる。しかし Donnan 比より算出する方法の方が赤血球内  $[HCO_3^-]$  をより直接的に得られる点で信頼がおけるものと考えた。したがって続報<sup>30)</sup>においては、赤血球内の  $pK_1'$  として 6.15 を用いることにした。

## IV. buffer line

血液や血漿の  $P_{CO_2}$  の変動に伴う酸塩基平衡の変化は一般に  $CO_2$  解離曲線 ( $P_{CO_2}$  に対し  $[CO_2]_T$  または  $[HCO_3^-]$  を plot したものを) を用いて表わされ

る。この曲線で表わされる関係はまた座標軸にとる単位を工夫することにより、様々の形の曲線または直線として表わされる。従来この目的で試みられた座標軸には色々あるが、著者の実験成績では、pH と血漿の  $[\text{HCO}_3^-]$  または  $[\text{CO}_2]_T$  を直角座標にとって画かれた、所謂 *buffer line* を用いて吟味することにした。

この血液諸成分の *buffer line* はいずれも生理的 pH 領域ではほぼ直線とみなされ、pH 軸に対する傾斜は試料の炭酸に対する緩衝能をあらわす。そしてこの緩衝能は試料中の蛋白質緩衝系によって発現されるものと考えることができる。

Weisberg<sup>31)</sup> は全血の  $\text{Pco}_2$  を変えたときの真性血漿の  $[\text{CO}_2]_T$  と pH の関係をあらわす緩衝曲線を描いている。Van Slyke<sup>ら</sup>、Davenport<sup>1)</sup> や Siggaard-Andersen<sup>2)</sup> は血漿と酸素化血液で、横軸に pH、縦軸に  $[\text{HCO}_3^-]$  をとり、緩衝曲線を描いている。また、Astrup や Siggaard-Andersen<sup>2)18)</sup> は横軸に pH、縦軸に  $\log \text{Pco}_2$  をとり、同様の緩衝曲線を描いている。

### 1. 分離血漿の *buffer line*

分離血漿の *buffer line* の slope に関しては Davenport<sup>1)</sup> が Henderson の data より  $[\text{CO}_2]_T$  と pH の関係から求めた値は

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}} = 5.4 \text{ mM/l. pH}$$

である。

Van Slyke<sup>32)</sup> らはヒトの分離血漿の *buffer line* の slope を血漿蛋白質単位濃度 (g/l) 当り

$$\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}} = -\frac{d(\text{Pr}^-)}{dp\text{Hp}} = -0.104 (\text{Pr})$$

( $(\text{Pr}^-)$  は  $\text{mEq/l}$  の蛋白質陰イオン濃度、 $(\text{Pr})$  は血漿蛋白質濃度 g/l とする) とあらわしている。

Siggaard-Andersen<sup>18)</sup> ではヒトの分離血漿の *buffer line* の slope を  $9.5 \text{ mM/l. pH}$  とし、血漿蛋白質濃度を  $72 \text{ g/l}$  とすれば

$$-\frac{d(\text{Pr}^-)}{dp\text{H}} = -0.132 (\text{Pr})$$

と表わされる。

Visser<sup>ら</sup><sup>33)</sup> はヒトの血漿で

$$-\frac{d(\text{Pr}^-)}{dp\text{H}} = -0.105 (\text{Pr})$$

と報告している。

著者の実験成績では表 5 第 8 行のように、分離血漿の  $[\text{HCO}_3^-]/\text{pH}$  曲線の slope は  $8.21 \text{ mM/l. pH}$  と、Davenport<sup>1)</sup> の値よりもかなり高い値を示した。著者の実験成績では分離血漿の血漿蛋白質単位濃度 (g/l) 当りの slope は表 4 のように、

$$-\frac{d[\text{CO}_2]_T}{dp\text{Hp}} = 0.129 (\text{Pr})$$

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{Hp}} = 0.080 (\text{Pr})$$

とやや低い値を示した。

河野<sup>34)</sup> は流動パラフィン下で、蓂酸塩血漿 (0.2% 蓂酸加里をを加えたもの) で、それに、N/400 HCl、または N/400 NaOH と生理的食塩水を加えて、pH を測定し、血漿緩衝価を求め、ウマの血漿緩衝価は  $10.3 \sim 12.6 \text{ mEq/l. pH}$  (pH7.4~7.5) と報告している。

また、西田<sup>35)</sup> はヒトとウサギの血漿について同様に流動パラフィン下で、0.01、0.02 N の HCl および 0.01 N、0.02 N の NaOH を以って滴定し、滴定量と pH の関係より、血漿緩衝価を求めている。得られた値は

ヒト 11.7 mEq/l. pH

ウサギ 12.2 mEq/l. pH

と記載している。

以上の河野、西田の実験成績は血漿を強酸または強アルカリを用いて滴定して得たものであって、著者の  $\text{CO}_2$  による滴定実験とは条件が異なる。すなわち前者の得た slope の値は血漿の全緩衝系の緩衝能をあらわし、後者は重炭酸系以外の緩衝系の緩衝能をあらわしている。したがって、気密に保たれた血漿の重炭酸系の緩衝価は pH7.40 では約  $2.4 \text{ mEq/l. pH}$  であるから、これを著者が  $\text{CO}_2$  滴定法で得た分離血漿の *buffer line* の slope  $8.21 \text{ mM/l. pH}$  に加えると  $10.6 \text{ mM/l. pH}$  となり、河野、西田の得た成績とほぼ一致する。

### 2. 分離赤血球の *buffer line*

Stadie<sup>ら</sup><sup>14)</sup> は赤血球内容の Hb 単位濃度当りの分子緩衝価について、 $\text{CO}_2$  による滴定法と強酸または強アルカリによる滴定法とではほぼ一致すると記載している。

$\text{O}_2\text{Hb}$  の分子緩衝価は近年生理的 pH 領域においては、 $3.0 \text{ mM/l. pH}$  とみなされている。

(Siggaard-Andersen<sup>2)</sup>, Pitts<sup>36)</sup>, Woodbury<sup>37)</sup>)

著者の実験では、分離赤血球の *buffer line* ( $[\text{CO}_2]_T \sim \text{pH}$ ) の slope は赤血球 Hb 単位濃度当り、表 5 第 16 行のように、 $2.58 \text{ mM/l. pH}$  となった。また続報<sup>30)</sup>のように、 $\text{CO}_2$  の存在しない状態で強アルカリを用いて滴定して得た赤血球内容の緩衝価は Hb 1 分子当り、 $\text{O}_2\text{Hb}$  と Hb で、それぞれ、 $2.39$  と  $2.42 \text{ mM/l. pH}$  となった。したがって  $\text{CO}_2$  滴定法と強アルカリ滴定法は有意の差が認められなかった。

表7 真性血漿の buffer line の slope  $-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dpH} = a'(\text{Pr}) + b(\text{Hb})$ 

	true plasma の $\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dpH}$ (mM/l. pH)	a (Pr)	a	b	
				mM/L	g/100ml
Peters and Van Slyke (1931) <sup>17)</sup>	-28.0	8.2	0.104	2.3	1.39
Davenport (1963) <sup>1)</sup> Weisberg (1962) <sup>31)</sup> Henderson (1928) の data より	-21.6	5.4	(0.075)	(1.74)	(1.04)
Siggaard-Andersen (1964) <sup>2)</sup>	-29.0	9.5	(0.132)	(2.10)	(1.26)
Siggaard-Andersen (1966) <sup>18)</sup>	(-34.6)	9.5	(0.132)	(2.72)	1.63
著者	-28.55	8.0	0.080	2.18	1.32

Davenport, Weisberg, Siggaard-Andersen の値には, Hb 量 9.3 mM/l, Hb 分子量 16, 700 g, 血漿蛋白質濃度 72 g/l を用いた. ( ) は著者の算出した数値.

$a'(\text{Pr})$  は分離血漿の buffer line の slope,  $a'$  は血漿蛋白質単位濃度当りの slope, (Pr) は血漿蛋白質濃度.

$b$  は真性血漿と分離血漿の buffer line の slope の差を全血 Hb 量 (mM/l) で割った値.

### 3. 真性血漿の buffer line

真性血漿の buffer line は近年生体の塩酸基平衡を解析する上に役立つものとして臨床医学の方面で重要視されている. 正常血液について従来観測された真性血漿の buffer line の slope 値は, 表7のように, 報告者によってかなりの相違が認められる. 著者がこれを追試したところ, 表5第2行に示されるような値

28.55mM/l.pH ( $n=15$ ,  $SE=1.029$ ,  $SD=3.987$ ) を得た. この実験成績は Peters ら<sup>17)</sup> や Siggaard-Andersen<sup>2)</sup> の値とはほぼ一致した.

真性血漿の buffer line の slope が分離血漿のその何倍に当るかを求めると, Peters<sup>17)</sup> らでは 3.2 倍, Henderson の data より, Weisberg<sup>31)</sup> や, Davenport<sup>1)</sup> で 4 倍, Siggaard-Andersen<sup>18)</sup> で 3.6 倍, 著者の実験成績 ( $-d[\text{HCO}_3^-]/dpH_p$ ) で 3.5 倍となり, ほぼ Siggaard-Andersen<sup>18)</sup> の値と一致した.

この buffer line の pH 軸に対する slope は in vitro の血液では血液中の蛋白質緩衝系の濃度の関数として次のようにあらわされる.

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dpH_p} = a'(\text{Pr}) + b(\text{Hb})$$

(Pr), (Hb) はそれぞれ血漿中の蛋白質濃度 (g/l), 全血中の Hb 濃度 (mM/l または g/dl) であり,  $a'$ ,  $b$  はそれぞれ定数である.

この  $a'$ ,  $b$  の値は表7のように既に諸家によって報告されているが, 報告者によってかなりの相違が認められた. 著者の成績より  $a'$ ,  $b$  を算出すると  $a'$  は表4のように, 0.080 ( $n=13$ ,  $SE=0.004$ ,  $SD=0.015$ ),  $b$  は表6第9行のように, 2.18 ( $n=10$ ,  $SE=0.103$ ,  $SD=0.326$ ) となった. Peters ら<sup>17)</sup> や Siggaard-Andersen<sup>2)</sup> の値に近似していることがわかった. これに比較すると Henderson の data より算出した Davenport<sup>1)</sup> の  $b$  値は低く, Siggaard-Andersen<sup>18)</sup> の  $b$  値はやや高いといえる.

### V. carbamino- $\text{CO}_2$ および Y-bound $\text{CO}_2$

Ferguson ら<sup>38)39)</sup> は血液中の  $\text{HCO}_3^-$  以外の形の結合炭酸を X-bound  $\text{CO}_2$ , この X-bound  $\text{CO}_2$  とこの一分画である carbamino  $\text{CO}_2$  との差, すなわち, カルバメイト以外の形で Hb と結合している  $\text{CO}_2$  を Y-bound  $\text{CO}_2$  と命名し

$$\text{X-bound } \text{CO}_2 \begin{cases} \text{carbamino } \text{CO}_2 \\ \text{Y-bound } \text{CO}_2 \end{cases}$$

としている.

Handbook of Physiology<sup>3)</sup> によれば carbamino  $\text{CO}_2$  の含有量は動脈血では 2.1 Vol%, 混合静脈血では 2.9 Vol% という. しかし今日 carbamino  $\text{CO}_2$  の確実な定量がないから, 研究者によってこれらの数値に大きな相違が認められる.

藁口<sup>40)</sup>によれば, 赤血球内に従来 carbamino  $\text{CO}_2$  として報告されたものよりはるかに多量の  $\text{CO}_2$  が膠

質状態で、おそらく化合物として存在するという。

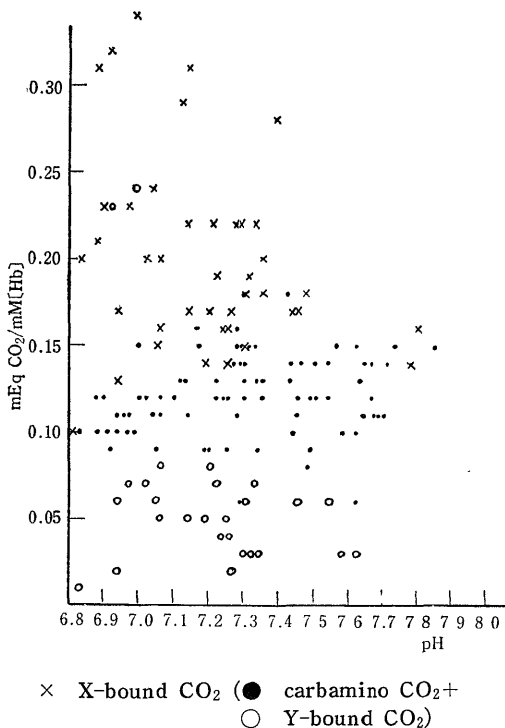
表2は真性赤血球の1実験例を示す。この表の第5行の $[\text{HCO}_3^-]$ はRoughtonによる方法で求めた値である。一方第6行の $[\text{HCO}_3^-]$ はDonnan比より求めた $[\text{HCO}_3^-]$ を示す。 $[\text{CO}_2]_T$ より、 $[\text{CO}_2]$ とDonnan比より求めた $[\text{HCO}_3^-]$ を差し引いたものが、X-bound  $\text{CO}_2$  (carbamino  $\text{CO}_2$ +Y-bound  $\text{CO}_2$ )と考えられる。またRoughtonによる方法で求めた $[\text{HCO}_3^-]$ とDonnan比で求めた $[\text{HCO}_3^-]$ との差がY-bound  $\text{CO}_2$ と考えられる。

図6は15実験例より上述の方法で求めた、X-bound  $\text{CO}_2$ 、Y-bound  $\text{CO}_2$ とRoughtonによる方法から算出したcarbamino  $\text{CO}_2$ との赤血球Hb単位濃度当りの値を示したものである。この実験によってY-bound  $\text{CO}_2$ の存在を認めることができる。この実験15例から、carbamino  $\text{CO}_2$ は赤血球内容 $[\text{CO}_2]_T$ の13.6%、Y-bound  $\text{CO}_2$ は1%以内にとどまった。

#### VI. 血液 $\text{Pco}_2$ の変動に伴う赤血球内外の $\text{HCO}_3^-$ の移動

血液の $\text{Pco}_2$ が高まると、血液に入った $\text{CO}_2$ の大部分が赤血球内で中和され、赤血球に生じた $\text{HCO}_3^-$ は血漿へ拡散してくる。これと同時に血漿中の $\text{Cl}^-$ が

図6 ウシ真性赤血球のpHとX-bound  $\text{CO}_2$ 、carbamino  $\text{CO}_2$ とY-bound  $\text{CO}_2$ との関係



当量だけ赤血球中へ移って赤血球膜内外の電気的中性を維持する。 $\text{Pco}_2$ が低下するとこれと逆方向の過程がみられる。これをchloride shiftという。そこで、血液の $\text{Pco}_2$ を高めた場合赤血球から血漿中へ移動する $\text{HCO}_3^-$ 量とHb量の関係を求めた。

これを算出するには、まず真性血漿と分離血漿のbuffer lineのslopeの差を求める。これがhypercapniaによりpHが単位だけ下った際のchloride shiftによる血漿 $[\text{HCO}_3^-]$ の増加 $(\Delta[\text{HCO}_3^-])$ である。全血において真性血漿の占める容積は全血容積の $(100-\text{Ht})/100$ 倍であるから、 $\Delta[\text{HCO}_3^-]$  $(100-\text{Ht})/100$ が全血中の真性血漿中に赤血球より移行した $\text{HCO}_3^-$ の量であり、これを全血の $[\text{Hb}]$ で割ったものが、hypercapniaによるpHの単位低下に伴い、赤血球より単位Hb当り脱出した $\text{HCO}_3^-$ の量であって、真性血漿の緩衝曲線式(12)のbに $(100-\text{Ht})/100$ を乗じた数値に当る。第6表の10例の実験値は第10行に掲げた。その平均値はHb 1 mM 当り $-1.20$  mM/pH (SE=0.067, SD=0.213)となる。

## 総 括

ウシの血液について、in vitroでその $\text{Pco}_2$ を変化させた場合に生ずる血漿と赤血球内の酸塩基平衡の変動とその相互関係について若干の検索を試み次の成績を得た。

1. 全血における赤血球内外のpHに関しては、赤血球内容pHcと血漿pHpとの間に、pH 6.8~8.0の範囲では

$$\text{pHc} = 0.898 \text{pHp} + 0.637 \quad (1)$$

なる関係を認めた。これより赤血球に関する $\text{H}^+$ のDonnan比 $r(\text{H}^+)$ を導くと

$$\log \frac{[\text{H}]_P}{[\text{H}]_C} = \log r(\text{H}^+) = 0.637 - 0.102 \text{pHp}$$

となり、血漿pHの関数として表わされる。

2. 分離血漿、分離赤血球、真性血漿と真性赤血球について、その $\text{Pco}_2$ の変化に伴うpHの変動とこれに伴う総炭酸量と $[\text{HCO}_3^-]$ の増減の関係をあらわす緩衝曲線( $[\text{CO}_2]_T \sim \text{pH}$ ,  $[\text{HCO}_3^-] \sim \text{pH}$ すなわちbuffer line)とそのslopeを求めた。

3. 真性赤血球内の $[\text{HCO}_3^-]$ を次の2つの方法によって求めた。A) Roughtonの方法: Roughtonの方法によって、 $[\text{carbamino CO}_2]$ を算出し、これと $[\text{CO}_2]$ を $[\text{CO}_2]_T$ より差し引いて求めた。B) Donnan比による方法: 全血における赤血球内外のpHの関係式(1)より、 $\text{H}^+$ のDonnan比 $r(\text{H}^+)$ を求め、Fitzsimonsらのdataより $r(\text{HCO}_3^-)$ を

算出し、血漿の〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕、血漿および赤血球水分含有量より、赤血球の〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕を算出した。またA), B)の方法で、〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕/pH 曲線の slope を求めた。

4. 上述の A), B)の方法で得られた赤血球内〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕を用い、赤血球内容における炭酸第一解離指数 (pK<sub>1</sub>') を算出した結果それぞれ、6.19, 6.15なる値を得た。

5. 赤血球内容〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕について、A) Roughton による方法で求めた〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕と B) Donnan 比による方法で求めた〔HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>〕との差が Y-bound CO<sub>2</sub> と考えられた。Y-bound CO<sub>2</sub> は赤血球内容〔CO<sub>2</sub>〕<sub>T</sub> の1%以内であった。

6. 真性血漿の buffer line の slope は

$$-\frac{d[\text{HCO}_3^-]}{dp\text{H}_p} = 0.08 (\text{Pr}) + 2.2 (\text{Hb})$$

とあらわすことができた。

(slope は mM/l. pH を, (Pr) は g/l を, (Hb) は mM/l をそれぞれあらわす。)

7. 真性血漿と分離血漿の HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> に関する buffer line の slope の差 (mM/l. pH) から, hypercapnia による血漿 pH の低下に伴い、赤血球より脱出する HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> の量は Hb 1 mM 当り、-1.20 mM/pH と推算された。

稿を終るに当り、御指導と御校閲を賜わつた金大医学部第一生理学教室齋藤幸一郎教授に深く感謝します。また、御支援を戴いた金大小児科学教室佐川一郎教授に感謝します。なお、御協力下さつた本田良行助教授、高野講師及び第一生理学教室員諸兄にお礼を申し上げます。

## 文 献

- 1) Davenport, H. W. : The A. B. C of Acid-base Chemistry, 4th ed., p. 43, Chicago, The University of Chicago Press, 1963.
- 2) Siggaard-Andersen, O. : The Acid-Base Status of the Blood, 2nd ed., p. 47, Copenhagen, Munksgard, 1964.
- 3) Roughton, F. J. W. : Handbook of Physiology, p. 767, Washington D. C., American Physiological Society, 1964.
- 4) 齋藤幸一郎 : 呼吸と循, 12, 365 (1964).
- 5) 齋藤幸一郎 : 呼吸と循, 12, 423 (1964).
- 6) 齋藤幸一郎 : 血液化学, 65頁, 676頁, 朝倉書店, 1963.
- 7) 高木 康・伊達俊夫 : 呼吸と循, 13, 529(1965).
- 8) 西田玲子 : 日本生理誌, 30, No. 9 (1968).
- 9) 齋藤正行 : 光電比色計による臨床化学検査, 第5版, 60頁, 南江堂, 1954.
- 10) Rossi, L. & Roughton, F. J. W. : Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 38, 1679 (1962).
- 11) Roughton, F. J. W. : Oxygen in the Animal Organism, Dickens, F. & Neil, E. (Ed.), p. 18, London, 1963.
- 12) Rossi-Bernardi, L. & Roughton, F. J. W. : J. Physiol., 189, 1 (1967).
- 13) 齋藤幸一郎 : 医学のあゆみ, 58, 143 (1966).
- 14) Stadie, W. C. & O'Brien, H. : J. Biol. Chem., 117, 439 (1937).
- 15) Keys, A., Hall, F. G. & Barron, E. S. G. : Am. J. Physiol., 115, 292 (1936).
- 16) Fitzsimons, E. J. & Sendroy, J. : J. Biol. Chem., 236, 1595 (1961).
- 17) Peters, J. P. & Van Slyke, D. D. : Quantitative Clinical Chemistry, 1, Baltimore, Williams and Wilkins, 1931.
- 18) Siggaard-Andersen, O. : Current Concepts of Acid-base Measurement, Ann. N. Y. Acad. Sc., Vol. Art I, p49, New York, 1966.
- 19) Lloyd, B. B. & Michel, C. C. : Resp. Physiol., 1, 107 (1966).
- 20) Baumann, P., Hipert, P. & Bartels, H. : Pflügers Arch., 277, 120 (1960).
- 21) Hilpert, P., Fleischmann, R. G., Kempe, D. & Bartels, H. : Am. J. Physiol., 205, 337 (1963).
- 22) 西田悦郎 : 日本生理誌, 19, 41 (1957).
- 23) Purcell, M. K., Still, G. M., Rodman, T. & Close, H. P. : Clin. Chem., 17, 536 (1961).
- 24) Gleichmann, U., Stuckrad, H. V. & Zindler, M. : Pflügers Archiv., 283, 43 (1965).
- 25) Bubnoff, M. V. & Riecker, G. : Klin. Wschr., 39, 724 (1961).
- 26) Thomason, R. : Scand. J. Clin. & Lab. Invest., 15, 45 (1963).
- 27) Dill, D. B., Edwards, H. J. & Consolazio, W. V. : J. Biol. Chem., 118, 635 (1937).
- 28) 河野純三 : 京医誌, 31, 481 (1934).
- 29) Deane, N. & Smith, H. W. : J. Biol. Chem., 277, 101 (1957).
- 30) 石川克己 : 十全医会誌 77, (1968).
- 31) Weisberg, H. F. : Water, Electrolyte and Acid-base Balance, 2nd ed., p. 105, Baltimore, The Williams & Wilkins Co., (1962).
- 32) Van Slyke, D. D., Hasting, A. B., Hiller, A. & Sendroy, J. Jr. : J. Biol. Chem., 79, 769 (1928).
- 33) Visser, B. F. & Maas, A. H. J. : Clin.

- Chim. Acta., 5, 150 (1960). 34) 河野 (Ed.), 9th ed., p. 901, Philadelphia and London, W. B. Saunders Co., 1965. 38)
- 純三 : 京医誌, 31, 567 (1934). 35) 西田 Ferguson, J. K. W. & Roughton, F. J. W. : J. Physiol., 83, 68 (1934). 39)
- 悦郎 : 日本生理誌, 19, 32 (1957). Ferguson, J. K. W. & Roughton, F. J. W. : J. Physiol. 83, 87 (1934). 40) 藁口
- 36) Pitts, R. F. : Physiology of the Kidney and Body Fluids, p. 152, Chicago, Year Book Medical Publishers Incorporated 1963. 真 : 十全医会誌, 65, 49 (1960).
- 37) Woodbury, F. W. : Physiology and Biophysics, Ruch, T. C. & Patton, H. D.

## Abstract

Some studies were made of the acid-base changes and their interrelations of plasma and red cells of bovine blood equilibrated with gas mixtures containing various percentages of carbon dioxide.

The results obtained were as follows.

1. The relation between pH of plasma and red cells in whole blood with a pH range of 6.8 to 8.0 was summed up by the following formula,

$$pH_c = 0.898 pH_p + 0.637 \quad (r=0.982) \quad (1)$$

Using (1) formula, the Donnan ratio ( $\gamma_{(H^+)}$ ) of hydrogen ion can be expressed as a function of pH by the following formula.

$$\log \frac{[H]_p}{[H]_c} = \log \gamma_{(H^+)} = 0.637 - 0.102 pH_p \quad (2)$$

2. The buffer slopes of separated plasma, separated red cell, true plasma and true red cell were expressed in millimols of  $[HCO_3^-]$  change and total  $CO_2$  content change per unit change of pH.

3. The bicarbonate concentration of true red cell was obtained by the following two methods.

A) The bicarbonate concentration can be calculated as follows.

$$[HCO_3^-] = [CO_2]_T - [\text{carbamino } CO_2] - [CO_2]$$

The amount of carbamino  $CO_2$  can be calculated as described by Roughton.

B) The Donnan ratio  $\gamma(HCO_3^-)$  can be calculated by means of the formula of Fitzsimons et al. as follows.

$$\gamma(HCO_3^-) = \frac{\gamma_{(H^+)}}{0.93}$$

Using the water content of plasma and red cells, the bicarbonate concentration of the plasma and applying the formulae (2) and (3), the bicarbonate concentration of the red cells was obtained by the following formula.

$$[HCO_3^-] = 0.756 \times [HCO_3^-]_p \times \gamma_{(H^+)}$$

4. Using the bicarbonate concentration of the red cell obtained by means of A) and B), the average values of the first dissociation constant,  $pK'_1$ , of carbonic acid in the bovine red cell were respectively 6.19 and 6.15.

5. The amount of the difference between the two bicarbonate concentrations obtained by the methods of A) and B) may be expressed as Y-bound  $CO_2$ . The Y-bound  $CO_2$  was less than 1% of the total carbon dioxide of the red cells.

6. The buffer slope of true plasma can be expressed as follows.

$$-\frac{d[HCO_3^-]}{dpH} = 0.08 (Pr) + 2.2 (Hb)$$

when (Pr) is expressed in terms of grams per liter of plasma and (Hb) in terms



of millimols per liter of blood.

7. The amount of bicarbonate which diffuses from red cells into plasma with increasing hypercapnia was estimated at  $-1.20 \text{ mM/pH}$  per mM Hb, calculated from the difference between the buffer slope of true plasma and that of separated plasma.