

保存血液の Glycolysis と溶血について

金沢大学医学部第一生理学教室(主任 斎藤教授)

中 山 達 夫

Tatsuo Nakayama

(昭和30年4月19日受附)

(本論文要旨は第10回近畿生理学談話会において発表した.)

ま え お き

血液を生体外に取出して放置すると、血液内では種々な生化学的变化、例えば血糖の減少、血漿中無機燐及びカリウムの増加等が見られ、遂には血球の崩壊に至る。血液を低温に保存すると、これらの変化の進行は著しくおくれ、血球崩壊に至る時間が延長する。この事実を利用した保存血液については、1916年発表された Rous 等の研究¹⁾以来多くの人により研究されている。一方では赤血球崩壊即ち溶血の発現を遅延させる目的を以て有効な保存液の研究¹⁻⁴⁾が行われ、保存液としては単なるクエン酸塩溶液より、これにブドウ糖を添加した方が一層有効であることや、クエン酸塩-ブドウ糖溶液

の滅菌の際に起る糖のカaramel化をさけるためにはクエン酸を添加したり、或いは磷酸緩衝液を添加するのが良いこと等が知られている。又一方、溶血に至る迄の保存血液について種々の生化学的变化の研究も行われ、血糖の減少^{5, 6)}、解糖能力の低下^{6, 7)}、血漿中無機燐の増加^{8, 9)}、血漿中カリウムの増加^{10, 11)}、残余窒素の増加等¹²⁾が立証され、又血液粘稠度の増加¹³⁾、赤血球抵抗減弱¹⁴⁾、溶血の進行²⁾等が観察されている。著者は保存血液における Glycolysis 及び溶血について研究し、先人の業績に補遺すべき若干の知見を得た。

実 験 方 法

1) 保存法：保存液としてはクエン酸、クエン酸ソーダ、ブドウ糖から成る所謂 ACD 液を用い、時には ACD 液に重炭酸ソーダや食塩を加え、その組成を変化させることにより種々の段階の pH をもつ保存血液を調製した。保存血液の組成条件を表わすには便宜上保存液/血液比、保存液構成剤の保存血液調製後における終末濃度を以てし、以下次のような記号で示した。

S：保存液/血液比(容量比)、A：クエン酸終末濃度(%), C：クエン酸ソーダ終末濃度(%), D：ブドウ糖終末濃度(%), B：重炭酸ソーダ終末濃度(%), N：食塩終末濃度(%), P：混合操作等を流動パラフィン下で行い、保存血液調製に至るまで外気と血液

とを接触させないようにしたことを表わす。

例をあげれば次のようになる。

3.2% クエン酸ソーダ水溶液1容を以て血液4容を採取混合し、この稀釈血液5容宛に次のような保存液を1容宛加える。

クエン酸 (%)	0.18	0.54	0.90
クエン酸ソーダ (%)	2.08	1.76	1.44
ブドウ糖 (%)	1.62	1.62	1.62
pH	6.12	5.77	5.45

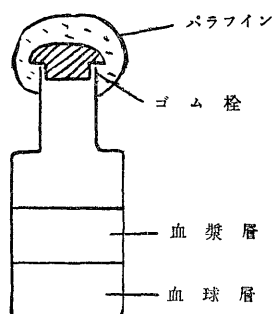
このようにして調製した保存血液の組成条件は次のようになる。⁹⁾

S	1/2	1/2	1/2
A	0.03	0.09	0.15

C	0.87	0.82	0.77
D	0.27	0.27	0.27
pH	7.48	7.04	6.68

(AやD等は保存液中に含まれているクエン酸やブドウ糖の終末濃度を表わすから、血液中に最初から存在するクエン酸やブドウ糖を含まない。本研究に用いた保存血液の組成条件は、個々の実験について述べるのは繁雑であるから論文末尾に附表として一括記録した。)

第1図 保存容器



血液は成年男子の静脈血を用いた。保存血液は第1図に示すような内容 10~30cc のガラス容器に分注し、密封した後氷室(4°C)内に保存した。

上例に示したようにして調製した保存血液(S: 1/2) 10例について 1cmm 中の赤血球数を

計算すると次のようになる。

平均赤血球数	306.6 万
標準偏差	21.8 万

2) 糖定量 : Somogyi の法¹⁵⁾ によつた。

3) 乳酸定量 : Barker 等の法¹⁶⁾ によつた。

4) 焦性ブドウ酸定量 : Friedmann 等の法¹⁷⁾ によつた。

5) 無機磷定量 : Shinowara 等の亜塩化錫法¹⁸⁾ によつた。

6) pH 測定 : 斎藤等のガラス電極¹⁹⁾ を使用した。この電極を用いれば測定誤差は 0.01 pH である。保存中の pH 変動経過を逐日的に観察する実験では特に血液の上に厚さ 2~3cm の流動パラフィンを置いて保存中の血中 CO₂ 脱出を避けた。測定前保存血液を充分に攪拌混合する。保存第20日で、分離した血漿層の pH は沈澱層に比べて 0.2~0.02 pH 高い。

7) 溶血度測定 : 全血中のヘモグロビン(以下Hb)量に対する血漿中の Hb 量の比を百分率で表わしたものをその血液の溶血度とした。Hb 定量には Benzidine 反応法又は塩酸ヘマチン法を利用したが²⁾、塩酸ヘマチン法は溶血度の可成り高い場合(多くは 100mg/dl 以上の Hb を血漿が含む場合)に使つた。

i) Benzidine 反応法 : Hb 濃度が 0.1mg/dl~1.0 mg/dl 程度になるように被検材料を蒸溜水で希釈する。希釈被検液 1cc に Benzidine 試薬 2cc 及び 1.5 %過酸化水素水 2cc を加えて 25°C, 20分間放置後蒸溜水 5cc を加えて比色する。(フィルターは緑色) 検量曲線は血液の希釈液で求める。Benzidine 試薬の調製は Wu²⁰⁾ によつた。

ii) 塩酸ヘマチン法 : Hb 濃度が 50mg/dl~300mg/dl 程度になるように被検材料を蒸溜水で希釈する。希釈被検液 1cc に 0.1N HCl 5cc を加えて 25°C, 20分間放置後比色する。(フィルターは青色) 検量曲線は血液の希釈液で求める。

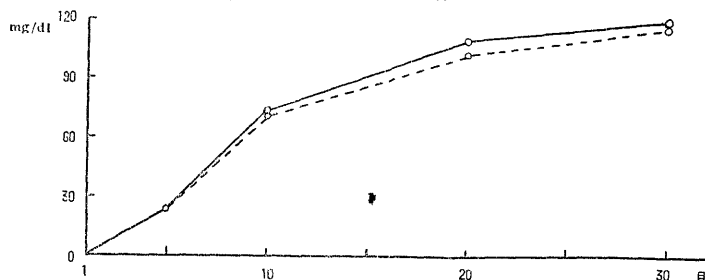
実験成績

1) 保存血液中の糖、乳酸及び焦性ブドウ酸濃度の消長

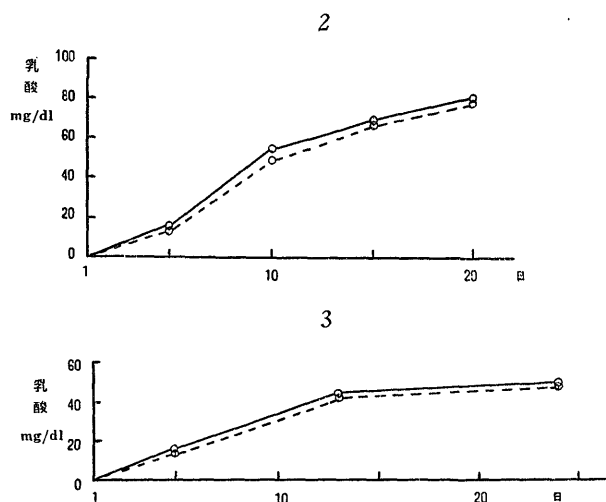
保存中適当な間隔をおいて血液中の糖、乳酸

及び焦性ブドウ酸の濃度を測定した。測定日の濃度と保存当初の濃度との差、即ち減量糖濃度及び増量乳酸濃度を求め、これを図表に示すと

第2図 糖減量と乳酸増量 1



第2図及び第1表のようになる。各例とも減少糖濃度と増加乳酸濃度とは殆んど一致している。このことは保存血液における糖消費が殆んど Glycolysis によつており、生成した乳酸はそれ以上更に酸化されないことを示している。第2図や第



1表に示した例において、保存日数の経過特に保存第20日過ぎ頃より、減少糖濃度が増加乳酸濃度より幾分大きい、これはブドウ糖から乳酸に至る過程における代謝中間産物の保存中に漸次蓄積されて来るためであろう。このことは例えば保存中の焦性ブドウ酸の蓄積が第3図に示すように可成り大きい事実によつても裏付けられよう。

2) 保存血液の解糖速度

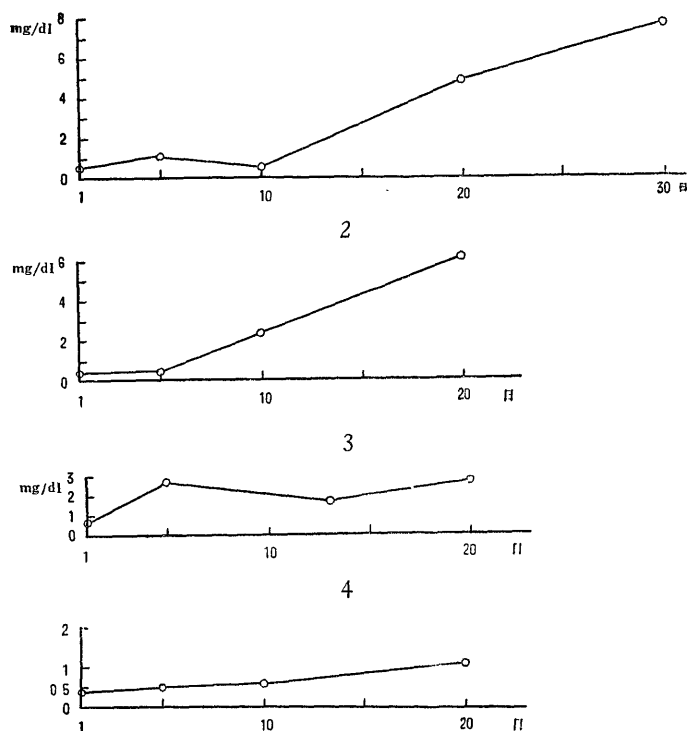
保存後5日毎に保存血液中の乳酸量を定量し、1日当りの増量乳酸濃度を計算してそれを解糖速度とし

第 1 表

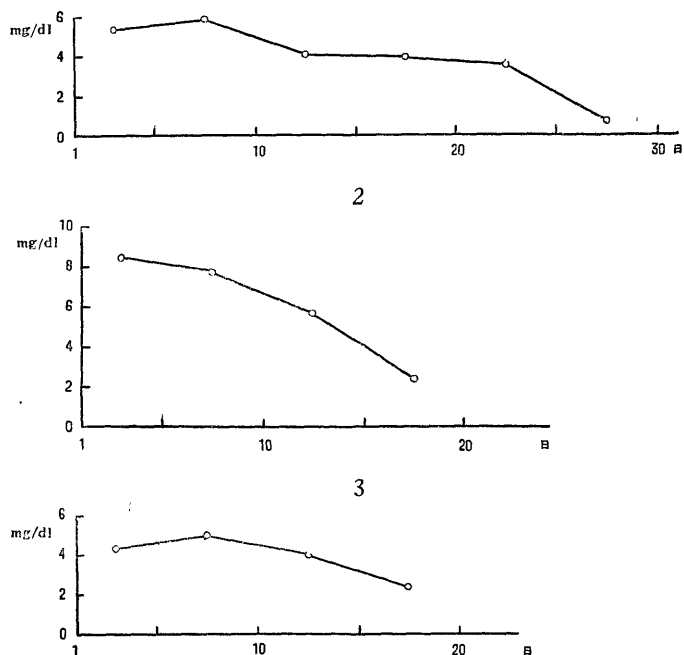
保存日数	5	10	15	20	25
例 4	(7日)		(14日)		
	G	36.0		101.5	
	L	36.0		101.5	
5	G	31.9	(13日) 84.9		(24日) 125.9
	L	32.0	84.0		122.0
6	G		35.0	70.0	
	L		42.0	74.0	
7	G	22.0	48.0	74.0	95.0
	L	20.5	51.0	62.0	90.0
8	G	21.5	77.0	(16日) 98.8	
	L	20.8	78.0	98.0	
9	G	20.0	73.0		(26日) 117.0
	L	18.2	75.0		110.0
10	G	19.1	(13日) 50.1	(24日) 78.9	
	L	19.5	50.2	73.5	
11	G		(13日) 46.0	(18日) 89.0	
	L		45.5	87.5	

G : 減少糖濃度 (mg/dl)
L : 増加乳酸濃度 (mg/dl)

第3図 焦性ブドウ酸の蓄積 1



第4図 解糖速度 1



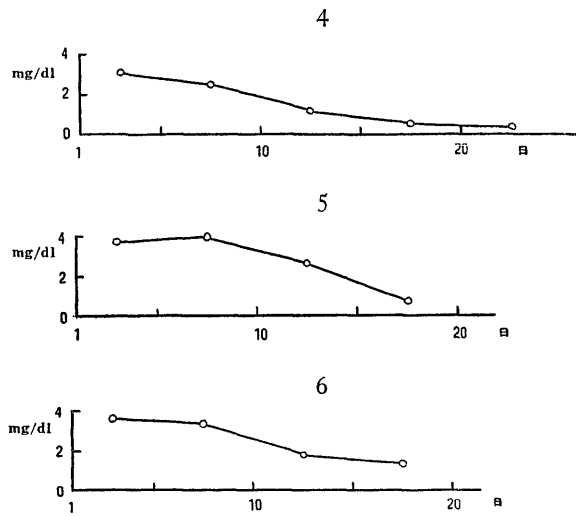
た。解糖速度の変動経過を図示すると第4図のようになる。保存初期10日間の解糖速度が最も大きく、以後日数の経過に伴って漸次小さくなってゆくのが見られる。

保存日数の経過に従って解糖速度が漸次小さくなってゆくが、これは保存血液の解糖能力が保存中漸次弱まってゆくからであろう。Rapoport⁹⁾は保存血液を37°C、90分間保温した際に減少する糖量或いは増加する乳酸量で保存血液の解糖能力を表わし、それが保存中漸次低下してゆくを見ている。又井口⁷⁾はWarburg検圧法により家兎血液のGlycolysisの研究を行い、その解糖係数が保存中漸次小さくなってゆくのを認めている。

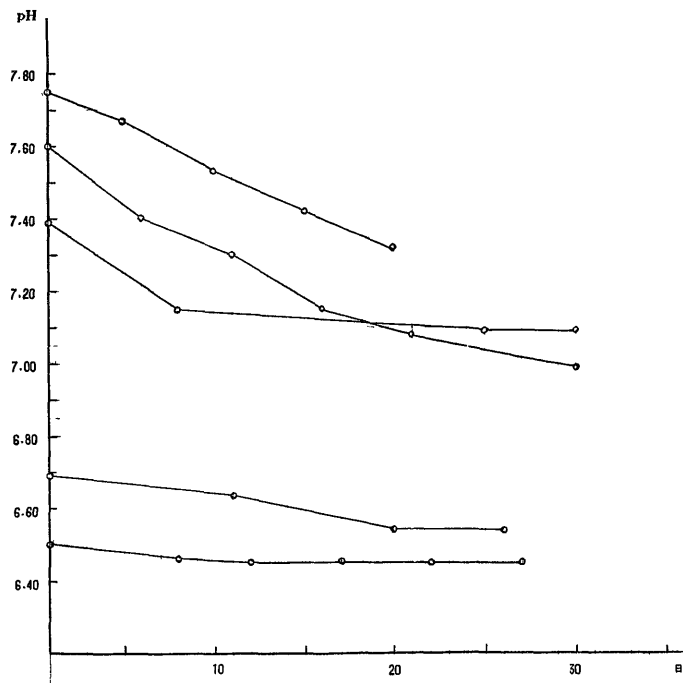
・保存当初 pH 7.6~8.0 の範囲にある保存血液12例について、保存第10日及び第20日における赤血球 100 万当りの増加乳酸濃度を求めると次のようになる。

保存第10日
平均増加乳酸濃度
20.6 mg/dl
標準偏差 2.42mg/dl
保存第20日
平均増加乳酸濃度
34.8 mg/dl
標準偏差 2.41mg/dl

3) 保存血液の保存当初 pH と pH 変動経過及び Glycolysis



第5図 保存血液 pH の変動



保存中の血液 pH の変動経過を第5図に示す。血液の保存当初 pH は保存液の組成を変えて差をつけた。保存中 pH は漸次低下するが、低下度は各例によつて異なる。第5図に示した各例の当初 pH, 保存第20日の pH 及び pH 低

下度を示すと次のようになる。

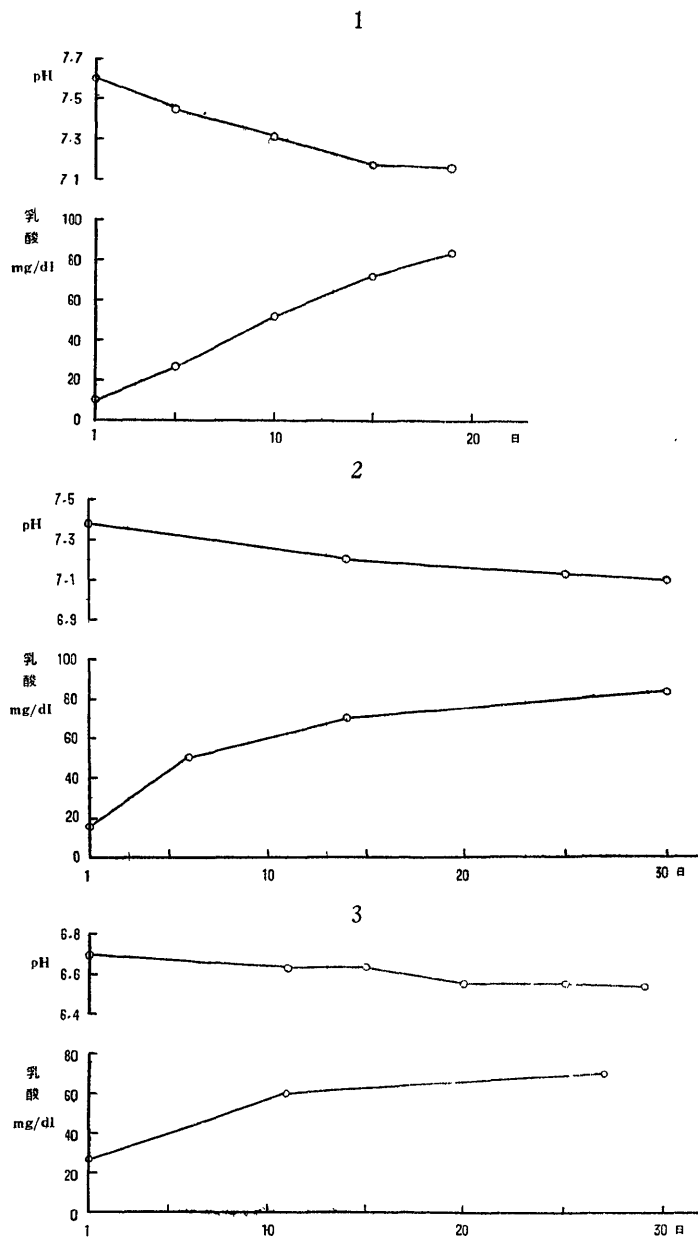
	保存当初 pH	20日目 pH	pH 低下度
例 1	7.75	7.32	0.43
2	7.60	7.09	0.51
3	7.39	7.11	0.28

4	6.69	6.54	0.15
5	6.50	6.45	0.05

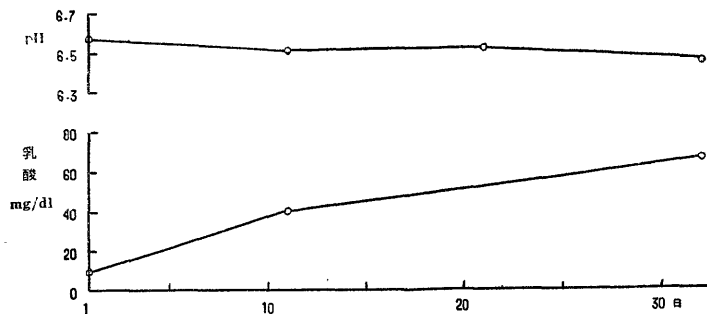
当初 pH の低いもの程20日間における pH 低下度が小さいのが判る。このような pH 低下が Glycolysis によつて生成した乳酸の増量に基因することが当然考えられるので、次に保存中の

血液 pH 下降経過と乳酸増量経過とを比較した。成績を第6図に図示する。乳酸が増量するに従つて血液 pH が下降するのが見られるが、pH 下降度に対する乳酸増量の比は各例によつて異なっており、保存当初 pH の低い物の方が乳酸の増量に比して pH の下降が小さい。これ

第6図 pH 下降と乳酸増量



4



は pH 低下に伴う保存血液の緩衝能の増大によるものであろう。保存日数の経過と共に pH 下降度が漸次小さくなってゆくのは、乳酸増量速度が漸次小さくなること、及び pH 低下に伴って血液の緩衝価が漸次増大してゆくためであろう。

4) 糖濃度の保存血液 Glycolysis と溶血に及ぼす影響

保存血液の糖濃度を 70~1000mg/dl の範囲で変えて、糖濃度が保存中の Glycolysis 及び溶血に及ぼす影響を観察した。成績は第2表に示

664.0	L	19.4	39.0	122.4	131.4
	H	0.0	0.1	0.2	5.2
964.0	L	24.4	44.4	124.8	137.8
	H	0.0	0.1	0.1	2.5

* 保存第15日において 37°C, 10時間の加温を行った。

例	保存当初糖濃度 (mg/dl)		37°C 保溫時間	
			0	5
3	172.0	L	8.0	79.0
	632.0	L	8.0	80.0

L : 増量乳酸濃度 (mg/dl)
H : 溶血度 (%)

第 2 表

例	保存当初 糖濃度 (mg/dl)	保存 日数	6	10	15
1	61.9	L	42.0	49.0	50.0
		H	0.2	0.3	1.1
	220.7	L	40.0	50.0	63.5
		H	0.2	0.4	1.0
	383.5	L	42.0	52.0	62.5
		H	0.2	0.3	0.7
	584.7	L	42.0	55.0	63.5
		H	0.2	0.3	0.7

例	2	保存当初 糖濃度 (mg/dl)	保存 日数	5	12	* 21	27
	164.0	L		17.2	43.1	120.6	129.6
		H		0.0	0.1	0.2	7.6
	364.0	L		18.6	45.6	120.6	129.6
		H		0.0	0.1	0.2	7.1

す。氷室内に保存した場合、37°C に保溫した場合ともに同一血液では解糖量は当初糖濃度に無関係である。この成績より著者の測定範囲内では血液 Glycolysis の速度は血中糖濃度に左右されないことがうかがわれる。

溶血度においても、保存初期ならば同一血液では糖濃度の高低にかかわらず殆んど差違を認めない。しかし保存第15~20日に至ると可成り大きな差が認められ、糖濃度の高い程溶血度は小さい。

5) 稀釈度の保存血液 Glycolysis と溶血に及ぼす影響

血液と保存液の混合比を色々に変えて稀釈度の異なつた数種の保存血液 (S : 1/3~2/1) を作り、その影響を観察した。成績は第3表に示す。稀釈度の小さい程、即ち血球数の多い程解糖量の多いことが判る。次に各血液の Hb 量の

第 3 表

保存当初 糖濃度 (mg/dl)		S	保存 日数	6	13	19	26
301.5	L	$\frac{1}{3}$		45.0	149.0	240.0	250.0
	H			0.3	0.3	0.5	2.2
293.0	L	$\frac{1}{2}$		35.8	130.6	208.6	218.6
	H			0.2	0.3	0.5	2.0
277.0	L	$\frac{1}{1}$		27.0	101.4	171.4	193.4
	H			0.2	0.3	0.6	2.0
269.0	L	$\frac{2}{2}$		22.2	84.8	152.8	164.8
	H			0.2	0.2	0.6	1.8
262.5	L	$\frac{2}{1}$		19.2	78.2	128.2	137.0
	H			0.2	0.2	0.5	1.4

L : 増量乳酸濃度 (mg/dl)

H : 溶血度 (%)

Hb量比	同一 Hb 量に対応する解糖量 (mg/dl)				
100.0	45.0	149.0	240.0	250.0	
88.0	40.5	148.5	237.0	257.0	
66.0	40.9	153.8	259.0	293.0	
55.2	42.8	154.2	272.6	299.5	
44.5	43.6	177.5	291.0	307.8	

比をとり、稀釈度の最も小さい血液の Hb 量の値を 100 とし、各血液の Hb 量で解糖量を除すると第 3 表の下表のようになる。これは単位 Hb 量に対する解糖量、即ち同一血球数に対する解糖量を表すものであるが、これは稀釈度と並行して大きくなることが判る。これは保存液に接する血球数の全血球数に対する比率が稀釈度により異なることによるものであろう。血液静置後血漿-保存液層と分離した沈降血球層において、保存液即ち糖液と比較的よく接している上層部の血球程 Glycolysis によくあづかることは想像に難くない。

溶血度については、保存第 20 日頃までは稀釈度の如何に拘わらず差を認めないが、第 26 日に至つて可成りの差が現われる。即ち稀釈度の大きい程溶血度は小さい。

6) 乳酸添加の保存血液 Glycolysis と溶血に及ぼす影響

保存中に血中乳酸が増量することは既に述べたが、この増量乳酸が血液 Glycolysis 及び溶血に及ぼす影響を知るために次のような実験を行った。即ち保存当初に血液に乳酸を添加して血中乳酸濃度を高め、その高濃度乳酸が保存中の血液 Glycolysis 及び溶血に及ぼす影響を観察した。附加する乳酸は乳酸ソーダの形とし、各乳酸添加血液の pH の差をなくするようにした。成績は第 4 表に示す。乳酸添加により解糖量は

第 4 表

保存当初 乳酸濃度 (mg/dl)		保存 日数	5	9	33
7.5	L		26.5		143.5
	H		0.3		3.7
63.5	L		24.5		148.5
	H		0.4		4.7
119.5	L			57.5	150.5
	H			0.3	4.5
175.5	L			65.5	151.5
	H			0.3	5.6

L : 増加乳酸濃度 (mg/dl)

H : 溶血度 (%)

変らないが、保存第 33 日で乳酸添加血液の溶血度は対照に比し幾分大きいようである。

7) 保存血液 Glycolysis に及ぼす pH の影響
同一血液を 6 分し、これらに pH の異なつた保存液を加えて保存当初の pH を変え、pH の Glycolysis に及ぼす影響を観察した。成績は第 5 表に示すが、保存当初 pH の大きい順に保存中の解糖量が大きいのが見られる。

次に保存血液 25 例について保存第 10 日及び第 20 日における増加乳酸濃度を保存当初 pH の順に表示すると第 6 表のようになる。保存当初の pH が 8.0~7.6 の範囲にある血液で乳酸増量が大きく、pH 7.3~6.4 の範囲の血液で最も小さいのが見られる。

8) 保存血液の溶血に及ぼす pH の影響
ブドウ糖量の等しい保存血液の溶血に及ぼす保存当初 pH の影響を観察した。溶血度を保

第5表 の 1

	保存 当初 pH	保存 日数	1	5	13	24
例1	6.68	G	358.7	343.0	315.0	309.5
		L	11.0	26.0	54.0	59.0
2	6.85	G	359.7	343.0	310.0	306.7
		L	11.0	26.0	57.7	64.0
3	7.04	G	359.1	340.0	309.0	282.2
		L	11.0	30.5	61.2	84.5
4	7.23	G	358.4	332.0	300.0	249.0
		L	11.0	35.5	68.7	116.5
5	7.48	G	359.9	328.0	275.0	234.0
		L	11.0	43.0	95.0	133.0
6	7.74	G	359.4	328.0	260.0	234.0
		L	11.0	45.0	107.2	133.0

G : 糖 濃 度 (mg/dl)

L : 乳酸濃度 (mg/dl)

第5表 の 2

保 存 日 数		5	13	24
減少糖 濃度 (mg/dl)	例 1	15.7	43.7	49.2
	2	16.7	49.7	53.0
	3	19.1	50.1	78.9
	4	26.4	58.4	109.4
	5	31.9	84.9	125.9
	6	31.4	99.4	125.4
増加乳 酸濃 度 (mg/dl)	例 1	15	43	48
	2	15	46.7	53
	3	19.5	50.2	73.5
	4	24.5	57.7	105.5
	5	32	84	122
	6	34	96.2	122

第 6 表

保 存 日 数		10	20
	保存当初 pH	増加乳酸濃度 (mg/dl)	
例 1	8.31	69.0	108.0
2	7.94	50.7	91.0
3	7.74	74.4	100.8
4	7.74	72.5	112.8
5	7.72	57.0	103.8

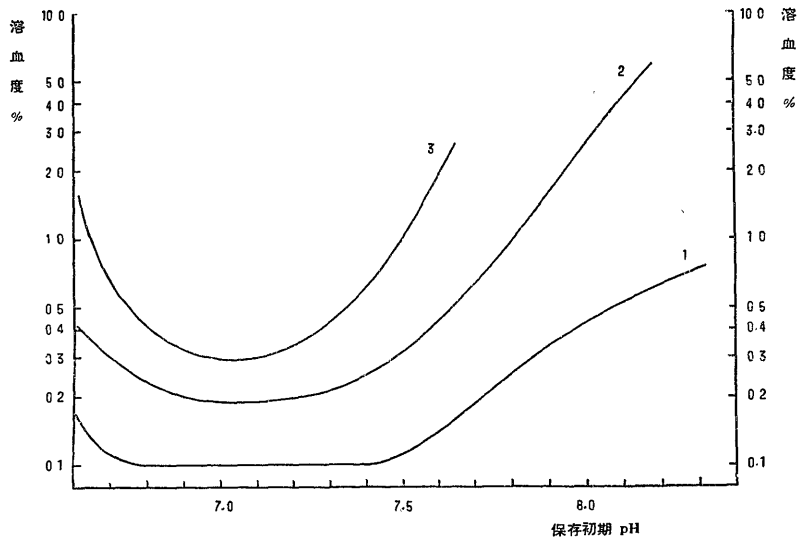
6	7.72	60.0	105.0
7	7.71	58.4	108.6
8	7.71	61.0	108.0
9	7.66	56.6	82.6
10	7.60	54.0	104.5
11	7.59	42.0	74.0
12	7.55	31.0	—
13	7.48	64.5	108.0
14	7.36	49.6	66.6
15	7.23	45.0	87.3
16	7.20	46.0	78.5
17	7.20	37.7	—
18	7.06	20.6	59.6
19	7.04	38.5	65.1
20	6.85	34.5	51.0
21	6.77	21.7	35.5
22	6.68	32.5	46.4
23	6.62	27.2	48.8
24	6.61	32.1	48.1
25	6.50	12.0	24.0

第 7 表

保 存 日 数		10	15	20	25	30
	保存当初 pH	溶 血 度 (%)				
例 1	8.31	0.7	7.5			
2	7.94	1.0	1.4	1.8	1.9	3.9
3	7.74	0.3	0.8	1.3		
4	7.74	0.2	0.4	0.8		
5	7.71	0.6	0.8	1.1		
6	7.66	0.8	1.2	1.3	1.5	
7	7.55	0.1	0.4	1.3		
8	7.48	0.1	0.5	0.6		
9	7.36	0.2	0.3	1.0		
10	7.23	0.1	0.2	0.3		
11	7.20	0.1	0.1	0.2		
12	7.06	0.1	0.2	0.3		
13	7.04	0.1	0.2	0.3		
14	6.85	0.1	0.2	0.4		
15	6.77	0.1	0.2	0.3	0.4	1.0
16	6.68	0.1	0.3	0.6		
17	6.61	0.2	0.5	4.0		

存当初 pH の順に並べると第7表となり、溶血度と保存当初 pH との関係を図示すると第7図となる。図中の3本の曲線は各々保存第10日、

第 7 図



1. 保存第10日の「溶血度—保存初期 pH 曲線」
 2. 保存第15日の「溶血度—保存初期 pH 曲線」
 3. 保存第20日の「溶血度—保存初期 pH 曲線」

第15日及び第20日における溶血度と保存当初 pH との関係曲線である。保存当初 pH が 7.3～6.8 の範囲にあるものが溶血度が最も小さく、この範囲を離れる程溶血度が大きい。このことは保存血液において血球生存期間を永くするために最適の pH 条件が保存当初 pH 6.8～7.3 の範囲であることを示している。

9) Glycolysis 阻害物質の保存血液 Glycolysis 及び溶血に及ぼす影響

モノヨード醋酸及び弗化ソーダを種々の濃度

に保存血液に添加し、Glycolysis を種々の程度に抑制した場合を観察した。成績は第8表に示す。モノヨード醋酸では、0.01%以上に添加されると Glycolysis は殆んど完全に阻止されるが、0.0001%以下では Glycolysis に対する影響は見られず、0.01%～0.0001%の間ではモノヨード醋酸の濃度と Glycolysis の阻害程度は並行している。溶血度はモノヨード醋酸 0.0005%以下では対照と差を認めないが、0.001%以上では濃度大なるに従つて溶血度は大きい。弗化

第 8 表 の 1

モノヨード 醋酸濃度 (%)	保存 日数	1	5	10	15	20	34
	乳 酸 濃 度 (mg/dl)						
0.01		11.5	11.5	11.0	12.5	15.0	
0.005		10.5	14.3	22.5	24.0	24.0	25.0
0.001		11.5	26.5	50.0	68.0	81.2	
〃		10.5	26.0	52.6	72.2	89.5	91.2
0.0005		11.5	35.0	66.5	90.0	113.0	113.0
0.0001		11.5	40.0	80.5	114.0	144.0	
対 照		12.0	40.0	82.4	113.0	142.7	
〃		10.5	42.0	83.7	108.0	134.0	138.0

	溶 血 度 (%)			
0.01	0.5	1.4	3.8	16.5
0.005	0.4	0.7	5.9	19.0
0.001	0.1	0.4	0.9	3.5
〃	0.2	0.2	1.0	1.4
0.0005	0.1	0.1	0.3	1.0
0.0001	0.0	0.1	0.2	1.2
対 照	0.0	0.1	0.2	1.3
〃	0.1	0.1	0.4	0.8

第 8 表 の 2

弗化ソーダ 濃度 (%)	保存 日数	1	5	10	15	20
		乳 酸 濃 度 (mg/dl)				
0.02		9.5	16.5	15.5	17.5	17.0
0.01		10.0	19.5	19.5	21.5	21.0
0.005		10.0	27.5	33.0	46.0	52.5
対 照		9.0	40.0	66.0	90.0	112.0
		溶 血 度 (%)				
0.02			3.0	4.5	7.5	18.0
0.01			3.0	4.0	7.5	15.5
0.005			3.0	4.2	6.5	12.5
対 照			0.2	0.3	1.0	1.2

第 8 表 の 3

弗化ソーダ 濃度 (%)	保存 日数	1	5	10	15	20
		乳 酸 濃 度 (mg/dl)				
0.002		9.9	47.2	78.5	109.0	130.0
0.0002		9.9	47.2	78.5	117.5	
0.00002		10.0	47.6	78.5	126.0	154.3
対 照		10.0	47.2	82.5	109.0	154.3
		溶 血 度 (%)				
0.002			0.1	0.3	0.4	1.7
0.0002			0.0	0.1	0.2	
0.00002			0.0	0.1	0.2	1.3
対 照			0.0	0.1	0.3	1.3

ソーダでは、0.002%以下では Glycolysis に影響を及ぼさないが、0.005%以上では濃度の高い順に Glycolysis 阻害度が大きい。又溶血度は0.0002%以下では対照と差を認めないが、0.0

02%以上では濃度の高い順に溶血度は大きい。いずれの例においても Glycolysis 阻害の程度と溶血度は略々 並行している。

10) エタノールの保存血液 Glycolysis 及び溶

血に及ぼす影響

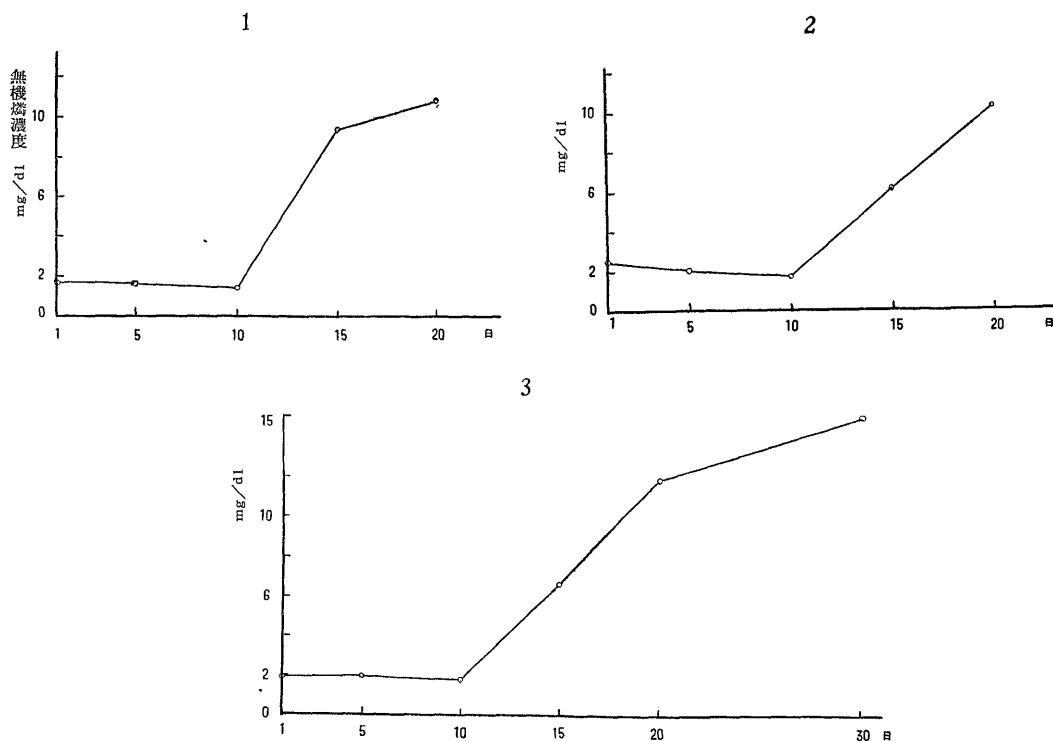
保存血液にエタノールを 1, 3, 5% の割に添加して Glycolysis 及び溶血に及ぼす影響を見た。第 9 表に示すようにエタノール添加が Glycolysis を促進し、而も両者は略々平行する。溶血度は保存第 15 日位までは対照と全然差を認

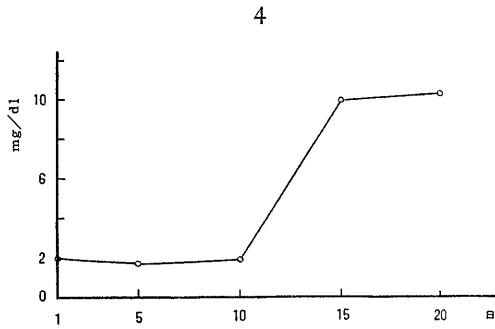
めないが、第 20 日を過ぎてからはエタノール添加血液の方が対照に比し溶血度が可成り小さい。而もエタノールによつて Glycolysis 促進の程度の大きい血液程溶血度は小さい。モノヨード醋酸や弗化ソーダで Glycolysis を阻害すると溶血が促進され、エタノールで解糖能力を充

第 9 表

エタノール 濃度 (%)	保存 日数	1	5	10	15	20	34
	乳 酸 濃 度 (mg/dl)						
5		11.0	52.1	143.0	164.0	201.0	212.0
3		11.0	48.0	126.0	143.0	164.0	173.0
1		12.0	41.7	107.0	122.0	141.0	145.0
対 照		11.0	37.2	96.0	104.0	122.0	120.0
		溶 血 度 (%)					
5			0.0	0.1	0.3	0.5	2.4
3			0.0	0.1	0.3	0.5	2.8
1			0.0	0.1	0.3	0.8	3.5
対 照			0.0	0.1	0.3	1.0	6.5

第 8 図 血中無機リンの増量



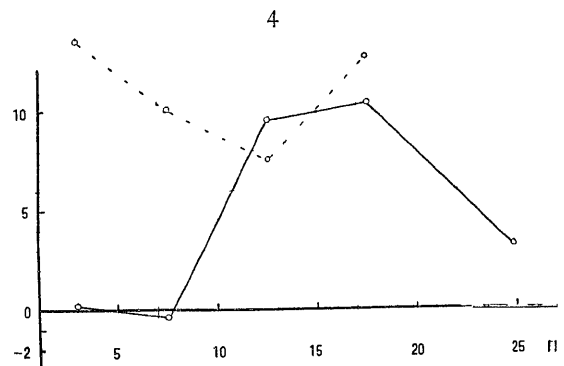
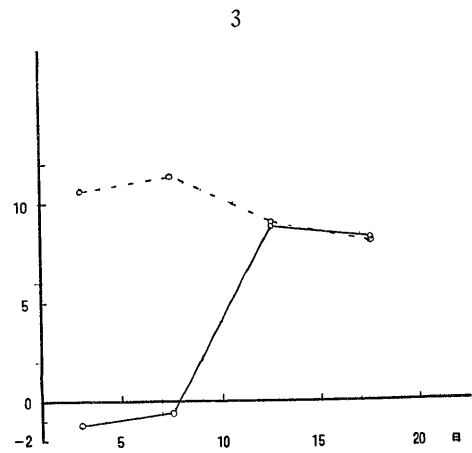
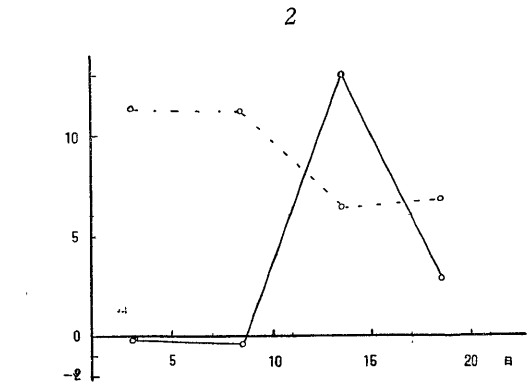
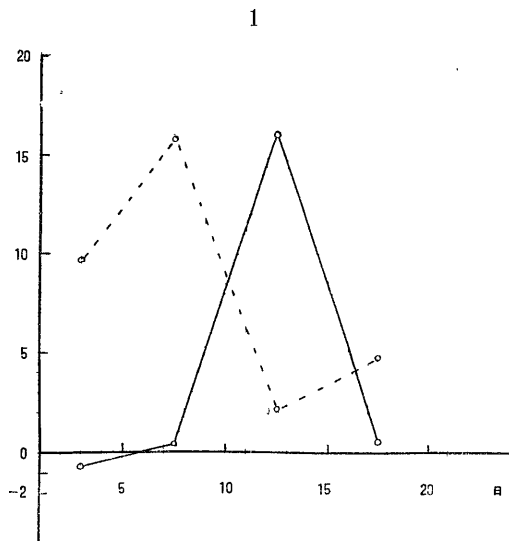


進させると溶血の進行がおくれることは、Glycolysis と溶血の間に深い関係が存在していることを示しているといえよう。

11) 保存血液における Phosphorolysis と Glycolysis との関係

血液保存中における血中無機磷含有量の消長を図示すると第8図のようになる。初期に一過性の減少を示すが、保存第10～15日の間に急激に増量し、爾後漸次増量してゆくのが見られる。各測定日間の血中無機磷濃度及び乳酸濃度より1日当りの増量無機磷及び乳酸の濃度を計算し、両者を比較すると第9図のようになる。Phosphorolysis と解糖能の消長が互いに相反しているのが見られる。

第 9 図



—○— Phosphorolysis 速度 (mg/dl/day) × 10

- - -○- - Glycolysis 速度 mg/dl/day

次に保存血液 Glycolysis に影響を及ぼすモノヨード醋酸、弗化ソーダ及びエタノールの添加が Phosphorolysis に対してどのような影響を及

第 1 0 表

モノヨード 醋酸濃度 (%)		保存 日数	1	5	10	15	20
対 照	L		10.5	42.0	83.7	108.0	134.0
	P		1.7	1.6	1.4	9.4	10.8
0.005	L		10.5	14.3	22.5	24.0	24.0
	P		1.7	7.1	4.9	11.4	14.0
0.001	L		10.5	26.0	52.6	72.2	89.5
	P		1.7	3.2	2.5	9.6	11.0
0.0005	L		11.5	35.0	66.5	90.0	113.0
	P		1.8	1.7	1.3	9.2	10.4
モノヨード醋 酸濃度 (%)							
対 照	L		12.0	40.0	82.4	113.0	142.7
	P		2.5	2.0	1.7	6.1	10.2
0.01	L		11.5	11.5	11.0	12.5	15.0
	P		2.4	3.2	4.5	10.8	11.8
0.001	L		11.5	26.5	50.0	68.0	81.2
	P		2.4	2.0	2.3	4.9	5.7
0.0001	L		11.5	40.0	80.5	114.0	144.0
	P		2.6	2.0	1.7	5.6	9.0
弗化ソーダ 濃度 (%)							
対 照	L		10.0	47.2	82.5	109.0	154.3
	P		1.9	2.0	1.8	6.6	11.8
0.002	L		9.9	47.2	78.5	109.0	130.0
	P		2.2	3.3	1.8	2.1	3.5
0.0002	L		9.9	47.2	78.5	117.5	
	P		2.0	3.4	2.0	4.7	8.4
0.00002	L		10.0	47.6	78.5	126.0	154.3
	P		2.1	3.4	2.0	6.4	11.4
エタノール 濃度 (%)							
対 照	L		11.0	37.2	96.0	104.0	122.0
	P		2.0	1.7	1.9	10.0	10.3
5	L		11.0	52.1	143.0	164.0	201.0
	P		2.0	1.6	2.2	12.2	12.4
3	L		11.0	48.0	126.0	143.0	164.0
	P		2.0	1.6	2.2	10.4	11.8
1	L		12.0	41.7	107.0	122.0	141.0
	P		2.0	1.7	2.0	9.3	10.4

L : 乳酸濃度 (mg/dl)

P : 無機磷濃度 (mg/dl)

ぼすかを観察した。成績を第10表に示す。

Glycolysis に対しては、添加濃度の高さに従って、モノヨード醋酸及び弗化ソーダでは抑制し、エタノールでは促進するに反し、Phospho-

rolysis に対しては、添加濃度の高さに従ってモノヨード醋酸及びエタノールでは促進し、弗化ソーダでは抑制する。

考

以上は血液を低温保存した際における Glycolysis を中心とした研究成績である。これらを通覧すると次の3項にまとめることが出来る。

1) 保存血液の糖消費機序

保存血液のブドウ糖、乳酸、焦性ブドウ酸を経時的に測定した結果、糖は保存の経過と共に殆んど定量的に乳酸に変化し、一少部分は焦性ブドウ酸になり、そのまま保存血液中に蓄積することが判つた。この成績は Rapoport²⁰⁾ や Blanchaer 等²¹⁾ の成績と一致している。即ち保存血液の血球は糖からのエネルギー獲得の手段としては専ら Glycolysis に依存し、呼吸は殆んど行っていないことを確め得た。当教室の西田は血液ガスの測定よりこれを支持する結論に達している。(未発表)

2) 解糖速度とこれに影響する諸要因

保存血液において Glycolysis の行われる部位はいうまでもなく血球であるが、解糖量は保存10日目頃までに最大を示しその後漸減する。可成り強い解糖能力を有する白血球²²⁻²⁵⁾が保存の初期において崩壊消失すること^{23, 27)}がその一因をなしていると考えられる。

次に基質であるブドウ糖の濃度が Glycolysis の進行と共に低下するが、これが解糖量に及ぼす影響を吟味した。その結果、一保存血標本についてブドウ糖濃度と解糖量の関係を観察すると、恰も Glycolysis は一次反応に従うかのような観を呈するが、ブドウ糖の濃度を広い範囲に変えた多くの標本について調べると、ブドウ糖濃度が 70~1000mg/dl の範囲において単位血球量の解糖量は略々一定している。即ちこの濃度範囲では血球は自己の最大の解糖能力を発揮しており、これによつて血球はその生存に必要な

按

にして十分なエネルギーを獲得しているものであろう。従つて解糖量は血球量に比例することになる。一般の保存血液と同様本実験においてもブドウ糖の保存当初濃度は約 350mg/dl に保たれているから、保存血球には終始十分な基質が供給されている訳で、保存中の解糖量の低下が基質の欠乏に原因するとは考え難い。

又 Glycolysis の産物である乳酸の Glycolysis に及ぼす影響を調べた。乳酸は酸として保存血液に加わりそのpHを下げる場合には Glycolysis に大きな影響を与えるが、中性のナトリウム塩として加えた乳酸イオン自体には Glycolysis を左右する働きは認められない。

保存血液は Glycolysis の進行と共に乳酸の蓄積によつてその pH は漸次低下する。pH の異なつた保存血液について保存中の pH の低下を観察すると、当初の pH の高いもの程 pH の低下の度合いが大きい。これは一つは解糖速度、乳酸生成量は、他は保存血液の緩衝能の差による。Glycolysis は著しく pH の影響を受ける。保存血液 pH が 6.4~7.3 の範囲で Glycolysis は最小となり、これより pH が増すに従つて Glycolysis は促進される。保存血液の pH 低下と乳酸生成量との比を調べると、pH が低くなる程この比も小さくなる。即ち保存血液の緩衝能の増大することが判る。

以上の所見によつて保存血液は日を追つて解糖量も pH 低下度も漸減することが理解出来る。

保存血液の無機磷濃度は Glycolysis の強盛な保存初期には低く、時には減少の傾向さえ示すが、解糖能の稍々衰える保存第10~15日の間に突如として急激な増加を示し、以後漸増する。

この Phosphorolysis と解糖能の消長は互いに相反し、一方の強盛なときは他方が抑制されるものようである。Lawaczek²⁸⁾ や Halpern²⁹⁾ は血液の反応を変化させる際、Glycolysis と Phosphorolysis とが相互に逆方向に増減することを報告しているが、同様の所見が保存血液においても得られた訳である。

保存血液の Glycolysis はモノヨード醋酸、弗化ソーダによつて抑制され、エタノールによつて促進される。しかしこれらの薬物は Phosphorolysis に対しては、弗化ソーダは抑制的に、他の 2 者は促進的に働く。

3) 保存血液の Glycolysis と溶血の関係

保存血液を実際に取扱う場合、その寿命を決定する重要な要因の一つに溶血がある。ある程度以上に溶血した保存血液は廃棄処分される。保存血液の溶血を防止する上にブドウ糖添加が有効であることは Rous 等³¹⁾ の業績以来周知のことである。然るに上述の実験所見より保存血球のエネルギー獲得の手段として Glycolysis が重要な役割を演ずることは想像に難くない。そこで Glycolysis と溶血の関係を実験成績について吟味する。

保存血液にブドウ糖を 70~1000mg/dl の割合で含有させた場合、保存初期には溶血度に大差はないが、第15~20日以後において糖濃度の高い方が溶血を起しにくい結果を得ている。Mollison 等は³⁰⁾ 保存液を多く用いて保存血液の稀釈度を高めると、輸血後の赤血球の寿命を延長することができると報告している。著者も稀釈度を異にした保存血液につき20日目の溶血を測定し、稀釈度を高くした方が溶血の少ないことを認めた。これは稀釈度の高い場合、血球の媒質中の糖濃度が末期まで高く維持されることも一因であろう。又解糖産物である乳酸が蓄積してもその濃度が比較的強く保たれることが溶血を防止する上に幾分役立つであろう。事実乳酸ソーダを加えた保存血液では保存末期に溶血が対照より幾分強くなっている。

保存血液の pH は溶血に顕著な影響を及ぼ

す。保存液のクエン酸とクエン酸ソーダの比率を変えて pH の異なつた保存血液を調製して調べて見ると、保存当初の pH を 6.8~7.3 に調節したものが20日後の溶血度最も低く、これより pH が離れるに従つて溶血度が高くなる。このように Glycolysis と溶血の最小値を示す pH 領域が略一致することは興味深く、恐らく血球にはその媒質の pH によつて規定される所の生存に必要な必須解糖量があり、この必須解糖量を低い水準に維持することが血球成分の消耗を防ぎ、血球の寿命を延長させる上に有効に働くものと考えられる。その他、解糖量が少なれば血球媒質の糖濃度を高く乳酸濃度を低く維持することも血球の崩壊を防ぐ上に幾分か役立つ筈である。Parpart 等³¹⁾ は磷酸緩衝液内の血球の崩壊が pH 6.7~7.0 において最小であることを報告している。著者の保存血液で得た成績とよく一致している。

保存血液の Glycolysis を弗化ソーダやモノヨード醋酸によつて部分的に抑止すると、抑止の程度に応じて溶血が促進され、又エタノールを加えて Glycolysis を促進すれば溶血をある程度防止することが出来る。又これらの薬剤が Glycolysis に影響しないような低濃度では、溶血に対しても亦何らの影響を与えない。

以上 Glycolysis と溶血の関係を通覧するに両者の間には可成り密接な関係があるものの如く、保存赤血球がその形態を保持し、血球膜の透過性を正常に保持する上に、媒質の pH によつて規定される一定量のエネルギーを必要とし、これを専ら Glycolysis によつて得ているのではないかと推測する。この必須解糖量をなるべく低く維持することが保存赤血球の寿命を延長する上に役立つが、解糖量を所要の水準以下に下げると溶血を促進する結果になるものと考えられる。

ここに保存血液の溶血を問題としたが、著者の観察したその溶血度は最大約 3% であつた。即ち保存赤血球の中で最も溶血を起し易いものの溶血現象を問題としたのであつて、赤血球一

般の溶血現象とは自ら別であろうと考える。

む す び

保存血液の Glycolysis と溶血について行つた研究の成績を次のように総括する。

- 1) 保存血液における糖消費は専ら Glycolysis によつてゐる。
- 2) 保存血液中の糖は殆んど定量的に乳酸に変化し、一少部分は焦性ブドウ酸になる。
- 3) Glycolysis によつて糖より生成した乳酸はそれ以上更に酸化されない。
- 4) 焦性ブドウ酸は保存日数の経過に従つて蓄積する。
- 5) 保存血液の解糖速度は保存初期10日間が最大で、爾後漸減する。
- 6) 血糖濃度が 70~1000mg/dl の範囲では血液の解糖量は糖濃度に左右されない。
- 7) 血液の解糖量は血球量に比例する。保存当初 pH が 7.6~8.0 の範囲にある保存血液の赤血球 100 万当りの解糖量を増加乳酸濃度で示すと、
保存第10日 $20.6 \pm 2.42 \text{ mg/dl}$
保存第20日 $34.8 \pm 2.41 \text{ mg/dl}$
- 8) 乳酸イオンは保存血液の解糖量を左右しない。
- 9) 保存血液 pH は保存中 Glycolysis の進行と共に漸次低下する。
- 10) 保存当初 pH の高い血液程、保存中の pH 低下度は大きい。
- 11) 保存血液 Glycolysis は pH 6.4~7.3 の範囲で最も小さく、これより pH が増すに従い大きい。

12) 保存血液 pH が低くなる程乳酸生成量は小さくなる。

13) 保存血液の Phosphorolysis と解糖能の消長は互いに相反する。

14) 保存血液の Glycolysis は弗化ソーダ、モノヨード醋酸によつて抑制され、エタノールによつて促進される。

15) 保存血液の Phosphorolysis は弗化ソーダによつて抑制され、モノヨード醋酸、エタノールによつて促進される。

16) 血糖濃度 70~1000mg/dl の範囲にある保存血液では、糖濃度が高い程溶血を起しにくい。

17) 稀釈度の大きい保存血液程溶血は少ない。

18) 保存当初 pH が 6.8~7.3 の範囲にある保存血液が溶血度が最も小さい。

19) 保存血液の Glycolysis を弗化ソーダやモノヨード醋酸で抑制すると、抑制の程度に応じて溶血促進し、エタノールによつて Glycolysis を促進すると溶血を防止し得る。

20) 解糖能喪失による血球膜の脆弱化は保存血液における一溶血因子であろう。従つて解糖能温存により血球崩壊を遅らせることが可能である。

終りに臨み御指導と御校閲を賜つた恩師斎藤教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) Rous, P. et al : J. Exper. Med. 23 219 (1916).
- 2) De Gowin, E. L. et al : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 40 126 (1939), J. A. M. A. 114 850 (1940).
- 3) Muether, R. O. et al : Am. J. Clin. Path. 11 307 (1941).
- 4) Loutit, J. F. et al : J. Exper. Physiol. 32 183 (1943).
- 5) Beck, M. : Australian J. Exper. Biol. & M.

- Sc. 17 321 (1939).
- 6) Rapoport, S. : J. Clin. Invest. 26 591 (1947).
- 7) 井口政雄 : 十全医学会雑誌, 45 1782 (昭15).
- 8) Aylward, F. I. et al : Lancet I 685 (1940).
- 9) Maizels, M. et al : Lancet I 113 (1940).
- 10) Dulière, W. L. : Compt. rend. Soc. de biol. 107 261 (1931).
- 11) Scudder, J. : J. A. M. A. 112 2263

(1939). 12) Kremmermen, R. B. : Med. Exper. (Ukraine) 3 29 (1938). 13) 井口政雄 : 十全医学会雑誌, 45 1745 (昭15). 14) 井口政雄 : 十全医学会雑誌, 45 1762 (昭15). 15) Somogyi, M. : J. Biol. Chem. 160 69 (1945). 16) Barker, J. B. et al : J. Biol. Chem. 138 535 (1941). 17) Friedmann, T. E. et al : J. Biol. Chem. 147 415 (1943). 18) Shinowara, G. Y. et al : J. Biol. Chem. 142 921 (1942). 19) 斎藤幸一郎他 : 日新医学, 42 167 (昭30). 20) Wu, H. : J. Biochem. 2 189 (1923). 21) Blanchaer, M. C. et al : J. Appl. Physiol. 6 8 (1953). 22) Maclean, H. et

al : Biochem. J. 9 412 (1915). 23) Hsu, F. Y. : J. Physiol. 84 173 (1935). 24) Guest, G. M. et al : Am. J. Physiol. 172 295 (1953). 25) Bartlett, G. R. et al : J. Appl. Physiol. 6 335 (1953). 26) Belk, W. P. et al : Am. J. M. Sc. 198 631 (1939). 27) Kolmer, J. A. et al : Am. J. M. Sc. 200 311 (1940). 28) Lawaczek, H. : Biochem. Ztschr. 145 351 (1924). 29) Halpern, L. : J. Biol. Chem. 114 747 (1939). 30) Mollison, P. L. et al : Brit. M. J. 2 797 (1941). 31) Parpart, A. K. et al : J. Clin. Invest. 26 641 (1947).

附 表

图 表	例	S	組 成					P	pH
			A	C	D	B	N		
第 2 图	1	½		0.90	0.27				
	2	½	0.03	0.87	0.27				
	3	½	0.15	0.87	0.27				
第 1 表	4	½	0.09	0.93	0.10				
	5	½	0.03	0.87	0.27				
	6	½	0.09	0.82	0.27				
	7	½	0.008	0.22	0.25	0.23		P	
	8	½		1.01	0.10				
	9	½	0.03	0.98	0.10				
	10	½	0.09	0.82	0.27				
	11	½		0.50	0.25		0.15		
第 3 图	1	½		0.90	0.27				
	2	½	0.03	0.93	0.10				
	3	½	0.15	0.77	0.27				
	4	½		0.90	0.27				
第 4 图	1	½		0.90	0.27				
	2	½		0.90	0.27				
	3	½	0.008	0.22	0.25		0.15	P	
	4	½	0.03	0.87	0.27				
	5	½	0.12	0.79	0.27				
	6	½	0.16	0.22	0.25		0.15		
第 5 图	1	½	0.008	0.22	0.25	0.23		P	7.75
	2	½	0.008	0.22	0.25		0.15	P	7.60
	3	¼		2.00				P	7.39
	4	¼	0.096	0.26	0.26			P	6.69
	5	½	0.20	0.26	0.30			P	6.50

第 6 図	1	$\frac{1}{2}$	0.008	0.22	0.25		0.15	P	7.60
	2	$\frac{1}{4}$		0.64	0.10			P	7.38
	3	$\frac{1}{4}$	0.15	0.77	0.27			P	6.70
	4	$\frac{1}{2}$	0.096	0.26	0.26			P	6.58
第 2 表	1	$\frac{1}{2}$		1.06—0.75	0—0.46				
	2	$\frac{1}{2}$	0.06	0.95—0.53	0.10—0.90				
	3	$\frac{2}{3}$		1.21—0.89	0.09—0.55				
第 3 表	1	$\frac{1}{3}$		0.69	0.18				
	2	$\frac{1}{2}$		0.95	0.18				
	3	$\frac{1}{4}$		1.49	0.18				
	4	$\frac{3}{2}$		1.81	0.18				
	5	$\frac{2}{1}$		2.01	0.18				
第 4 表	1	$\frac{1}{4}$		1.59—0.29	0.61				
第 5 表	1	$\frac{1}{2}$	0.15	0.77	0.27				6.68
	2	$\frac{1}{2}$	0.12	0.79	0.27				6.85
	3	$\frac{1}{2}$	0.09	0.82	0.27				7.04
	4	$\frac{1}{2}$	0.06	0.85	0.27				7.23
	5		0.03	0.87	0.27				7.48
	6			0.90	0.27				7.74
第 6 表	2—5	$\frac{1}{2}$		0.90	0.27				7.94—7.72
	6, 7	$\frac{1}{2}$	0.008	0.22	0.25	0.23		P	7.72, 7.71
	8	$\frac{1}{2}$		0.90	0.27				7.71
	9, 10	$\frac{1}{2}$		0.50	0.25		0.15		7.66, 7.60
	11, 12	$\frac{1}{2}$	0.008	0.22	0.25		0.15	P	7.59, 7.55
	13, 14	$\frac{1}{2}$	0.03	0.87	0.25				7.48, 7.36
	15—17	$\frac{1}{2}$	0.06	0.85	0.27				7.23, 7.20
	18, 19		0.09	0.82	0.27				7.06, 7.04
	20		0.12	0.79	0.27				6.85
	21		0.096	0.26	0.26			P	6.77
	22		0.15	0.77	0.27				6.68
	23		0.18	0.27	1.16				6.62
	24		0.16	0.22	0.25		0.15		6.61
	25		0.20	0.26	0.30			P	6.50
第 7 表	2—4			0.90	0.27				7.94—7.74
	5		0.008	0.22	0.25	0.23		P	7.71
	6			0.50	0.25		0.15		7.66
	7		0.008	0.22	0.25		0.15	P	7.55
	8, 9		0.03	0.87	0.25				7.48, 7.36
	10, 11		0.06	0.85	0.27				7.23, 7.20
	12, 13		0.09	0.82	0.27				7.06, 7.04
	14		0.12	0.79	0.27				6.85
	15		0.096	0.26	0.26			P	6.77
	16		0.15	0.77	0.27				6.68
	17		0.16	0.22	0.25		0.15		6.61
第 8 表				0.90	0.27				
第 9 表									