

低張性溶血における赤血球滲透抵抗力 に及ぼす媒体の影響について

中性塩類, 糖類水溶液並びに所謂生理的
塩溶液に關する吟味

金沢大学医学部生理学教室 (指導 齋藤教授)

辻 成 人

Shigeto Tsuji

(昭和28年9月30日受附)

(本論文の要旨は昭和27年11月第6回北陸医学会並びに昭和28年4月
第30回日本生理学会総会に発表した)

緒 言

低張性溶血における赤血球滲透抵抗力を測定するためには, 物理的, 化学的に既知の低張性水溶液中で血球を溶血させる方法が行われる。その際使用する媒体が赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響に關しては古來多數の業績があり, 特に種々塩類水溶液の溶質イオン」の溶血力について多くの報告を見る。^{1)~20)}

しかし定性的な実験が多く, 量的に測定したものは極めて少ない。而もそれらの成績相互の間に不一致なことが著しい。即ち溶血度に及ぼす塩類の影響に關しては未だ定説が無い状態である。この原因は従來の測定方法の不備や, 測定条件が相違するためと思われる。

次に赤血球滲透抵抗力測定に最も普遍的に用いられる媒体は食塩水であるが, なおその外に

専用媒体として Hamburger²¹⁾ が提唱した Na_2SO_4 水溶液や, Simmel^{22), 23)} が調製した Simmel 氏液等が使用されて來ている。^{24), 25), 26)}

然るに赤血球滲透抵抗力に關して, これらの媒体相互の關係につき, 対照的に比較検討を行つた報告は極めて少ない。Simmel²⁷⁾ が NaCl , Na_2SO_4 及び Tyrode 氏液につき簡単な比較成績を報告し, 中村・高築^{28), 29)} が彼等の所謂「最小溶血濃度」の見地から, 各種生理的人工溶液の比較を報告している以外に, 未だ具体的な吟味を行つたものは見られない。

故に, 筆者は赤血球滲透抵抗力測定条件の一つである媒体に關して, 溶質の影響につき二三の吟味を行つた。

第1章 中性塩類及び二三糖類水溶液が赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響

各種の媒体中における溶血作用を検べるために, 従來行われて來た多種多様の測定方法を要約すると, 次の五者に大約出来る。

(1) 各種の等張塩類水溶液に或る溶血性物質 (Saponin, 「コブラ毒, 溶血素等) の種々量を加え, 完全溶血を起させる溶血性物質の最小

必要濃度を求め、その濃度を以て「イオン」の溶血力を不等式で示す方法。^{3,4)} 或いは一定量の血球素が血球より溶出するに要する時間を測定する方法。⁵⁾ 或いは前述の方法において時間を一定にして、その一定時間内に血球より溶出する血球素量を測定する方法。^{9,10)}

(2) Ponder³¹⁾の所謂 time-diletion curve によつて、血球より一定血球素量が溶出するに要する時間を測定する方法。^{11,12)}

(3) 始め種々の等張塩類水溶液で血球を洗滌し、次に血球を低張性食塩水で溶血させ、その最小・最大溶血を起す食塩水濃度により「イオン」の溶血力を示す方法。¹⁴⁻¹⁶⁾

(4) 低張性各種塩類水溶液に血球を加え、完全溶血を起すに要する時間を測定する方法。²⁾

(5) 低張性各種塩類水溶液の各種濃度の媒体系列を調製し、その中に血球を加え、媒体濃度と溶血度との関係曲線を求めて定量的に比較する方法。¹⁷⁾等である。

これらの測定方法の中で、最後者以外の方法は他の溶血因子が導入されていることや、定性的測定が多く、偶々血球素を定量した場合も、その定量法の不備なことが目立つ。

更に、赤血球滲透抵抗力測定のための諸種の条件、就中血液濃度や媒体温度等が成績に重大な影響を及ぼす²⁰⁾ことについて考慮が払われていない。

これに較べると最後者の測定方法は、血球全体の赤血球滲透抵抗力の推移を表わしており合理的且つ正確である。故に筆者は当該方法により、諸種の赤血球滲透抵抗力測定条件を一定にして、中性塩類並びに二三糖類水溶液につき比較検討を行つた。

A. 実験方法

実験材料

本実験に使用した血液はすべて健康成人男子から採血した。被検血液は清鮮な脱纖維素血液を毎分約2500回転10分間遠心沈澱し、血清と共に少量の赤血球素を取り去り、血球は充分に均等になる如く混和して用いた。

中性塩類として比較的ありふれた「アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩を選んだ。

塩化物： KCl, NaCl, LiCl, CaCl₂, MgCl₂, BaCl₂, SrCl₂,

硫酸塩： K₂SO₄, Na₂SO₄, MgSO₄

硝酸塩： KNO₃, NaNO₃, Ca(NO₃)₂, Mg(NO₃)₂, Ba(NO₃)₂

糖類として単糖類では葡萄糖、果糖を、複糖類では乳糖、麦芽糖、蔗糖を用いた。

以上の各溶質について、夫々等張溶液を調製し、これを原液として所要の種々濃度を希釈調製した。各原液の濃度と氷点降下度(-Δt)の実測値を第1表に示す。なお、食塩水だけは10%食塩水溶液を原液として、これより希釈調製した。原液より作つた1%食塩水の氷点降下度は第1表に示す如くである。

第1表： 被検媒体濃度と氷点降下度 (実測値)

溶 質	濃 度 mol/l.	-Δt (°C)	溶 質	濃 度 mol/l.	-Δt (°C)	溶 質	濃 度 mol/l.	-Δt (°C)
KCl	0.165	0.560	Na ₂ SO ₄	0.134	0.580	Ba(NO ₃) ₂	0.110	0.575
NaCl	1%	0.630	K ₂ SO ₄	0.130	0.550	葡 萄 糖	0.296	0.570
CaCl ₂	0.117	0.550	MgSO ₄	0.249	0.585	果 糖	0.296	0.555
MgCl ₂	0.114	0.560	KNO ₃	0.160	0.550	麦 芽 糖	0.300	0.590
LiCl	0.161	0.545	NaNO ₃	0.160	0.560	乳 糖	0.300	0.600
SrCl ₂	0.120	0.570	Ca(NO ₃) ₂	0.110	0.570	蔗 糖	0.295	0.580
BaCl ₂	0.110	0.560	Mg(NO ₃) ₂	0.110	0.580			

測定方法

赤血球抵抗力測定には日立製の光電光度計を使用

し、光電比色法によつた。

被検血球を各原液より希釈調製した各種濃度水溶液

の一聯の階段系列中で 100 倍に稀釈し、0°C で 60 分間保存した後、毎分 2500~3000 回転 15 分間遠心沈澱し、上澄液の血球素による着色度を比色定量し、溶血度を算出した。この際、当該溶質水溶液の稀薄な濃度のもので完全溶血を起させたものを 100% とし、他の濃度の媒体中の溶血度を % で求めた。なお被検液を 0°C に保存する際は、桶の中に碎水を入れ水を加えた水浴中に静置した。被検液はこの方法で充分 0.1~0.2°C の間に維持出来る。

成績の表現法

溶血度と媒体濃度との関係曲線（以後該曲線を Fragility curve と記す）を描き、その 50% 溶血度に対応する媒体の濃度（これを Median Corpuscular Fragility と呼び、以後略して M. C. F. と記す）を以つて曲線の位置を示す方法²⁰⁾を採つた。縦軸の坐標は完全溶液の場合を 100% とした各溶血度の % を示

し、横軸には色々の媒体の溶質濃度の普遍的尺度としてその滲透圧をとるのが最も合理的であるが、便宜上本研究では滲透圧と正比例する氷点降下度をとることにした。

B. 予備実験

被検媒体の稀釈水溶液の濃度と氷点降下度との関係、低張性溶血現象を前記各媒体を用いて研究する際、所要の種々濃度の水溶液を各原液から稀釈調製するには、先ず当該範囲内における媒体の稀釈濃度と氷点降下度との関係を明らかにして置かねばならない。第 2 表にその関係の実測値を示す。各原液の濃度を 100% とした場合の稀釈水溶液の濃度の % と氷点降下度との関係を示す。1 例として KCl の場合を図示すると第 1 図の如くなる。即ち本実験において必要な媒体濃度の範囲内では、氷点降下度と稀釈濃度との関係は直線関係が成立し、両者は平行関係を有することが分る。

この関係は後述する各種の所謂生理的塩溶液においても同様である。

C. 実験成績と考察

(1) 塩化物が Fragility curve に及ぼす影響

各種の塩化物による各種濃度の水溶液を用いて Fragility curve を求め、Cation が溶血度に及ぼす影響を比較検討した。夫々の M. C. F. を比較すれば第 3 表の如くなる。その 1 例を Fragility curve で図示すると第 2 図となる。

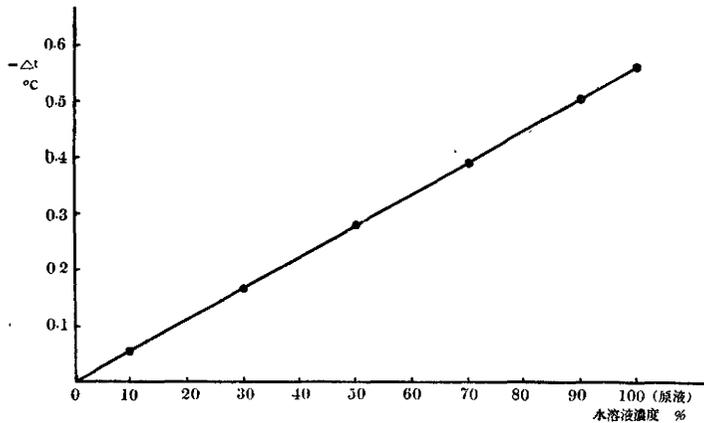
媒体濃度を氷点降下度で示すと、Cation の溶血を促進する作用の大小は次の不等式で表わされる。Li > K > Na > Ca > Ba > Mg = Sr

Mg⁺⁺ と Sr⁺⁺ では差異を認めることが出来ない。この成績から次の所

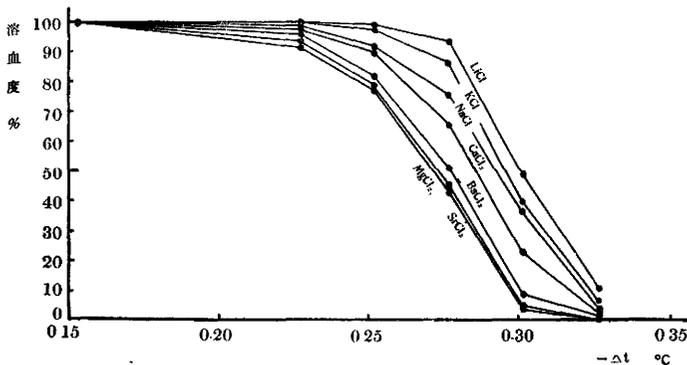
第 2 表： 各種媒体水溶液の稀釈度と氷点降下度（実測値）

水溶液濃度 (%)		原液 100	90	70	50	30	10
-Δt (°C)	KCl	0.550	0.505	0.390	0.280	0.165	0.055
	NaCl	0.630	0.565	0.440	0.310	0.185	0.060
	CaCl ₂	0.550	0.495	0.385	0.275	0.165	0.055
	MgCl ₂	0.560	0.505	0.390	0.280	0.165	0.055
	LiCl	0.545	0.490	0.380	0.270	0.165	0.055
	SrCl ₂	0.570	0.515	0.400	0.285	0.170	0.055
	BaCl ₂	0.560	0.505	0.395	0.280	0.165	0.055
	K ₂ SO ₄	0.550	0.495	0.385	0.275	0.165	0.055
	Na ₂ SO ₄	0.580	0.525	0.405	0.290	0.170	0.055
	MgSO ₄	0.585	0.525	0.410	0.290	0.175	0.055
	KNO ₃	0.550	0.495	0.385	0.275	0.160	0.050
	NaNO ₃	0.560	0.505	0.390	0.280	0.165	0.055
	Ca(NO ₃) ₂	0.570	0.515	0.400	0.285	0.170	0.055
	Mg(NO ₃) ₂	0.580	0.520	0.405	0.290	0.170	0.055
	Ba(NO ₃) ₂	0.575	0.520	0.405	0.285	0.170	0.055
	葡萄糖	0.570	0.515	0.400	0.285	0.170	0.055
	果糖	0.555	0.500	0.390	0.275	0.165	0.055
	麦芽糖	0.590	0.530	0.415	0.295	0.175	0.060
	乳糖	0.600	0.540	0.420	0.300	0.180	0.060
	蔗糖	0.580	0.525	0.405	0.290	0.170	0.055
Ringer 氏液	0.580	0.525	0.405	0.290	0.170	0.055	
Locke 氏液	0.585	0.525	0.410	0.295	0.170	0.055	
Tyrode 氏液	0.590	0.530	0.415	0.295	0.175	0.055	
Simmel 氏液	0.565	0.510	0.395	0.280	0.170	0.055	
Alsever 氏液	0.600	0.540	0.420	0.295	0.180	0.060	

第1図： KCl 水溶液の滲度と氷点降下度の関係



第2図： 塩化物の低張性水溶液中に於ける Fragility curve. (100倍希釈, 0°C, 60分)



第3表： 塩化物が Fragility curve に及ぼす影響 (100倍希釈, 0°C, 60分)

	実験例	M. C. F.				-Δt (°C)	
		1	2	3	4	5	平均値
塩化物	KCl	0.297	0.281	0.289	0.269	0.275	0.282
	NaCl	0.294	0.276	0.284	0.260	0.264	0.276
	LiCl	0.302	0.286	0.295	0.275	0.284	0.288
	CaCl ₂	0.287	0.270	0.278	0.250	0.260	0.269
	MgCl ₂	0.274	0.257	0.261	0.245	0.248	0.257
	BaCl ₂	0.278	0.262	0.269	0.248	0.255	0.262
	SrCl ₂	0.273	0.255	0.262	0.246	0.246	0.256

見が得られる。

2価の Cation より1価のそれの方が溶血を

起し易い。

しかし1価のものとは2価のものとは、はつきり二つの群に分れるという程のものではない。

(2) 硫酸塩が Fragility curve に及ぼす影響

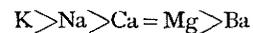
前と同様の方法で硫酸塩について調べた。第4表が M. C. F. で示した成績である。1例を Fragility curve で図示すると第3図となる、

その Cation の溶血力は $K > Na > Mg$ の順である。この序列は塩化物の際に見られたものと同様である。1価の K^+ , Na^+ が2価の Mg^{++} より溶血度が大きい。又、硫酸塩において前記塩化物と較べて特異な点は、M. C. F. が何れも小さいことである。即ち硫酸塩の水溶液中においては赤血球滲透抵抗力が非常に強くなる。この原因は SO_4^{--} の存在によるものと考えられる。

(3) 硝酸塩が Fragility curve に及ぼす影響

次に硝酸塩について Cation の影響を検討した所、第5表及び第4図の成績を得た。

Cation の溶血力は次の不等式で示される。



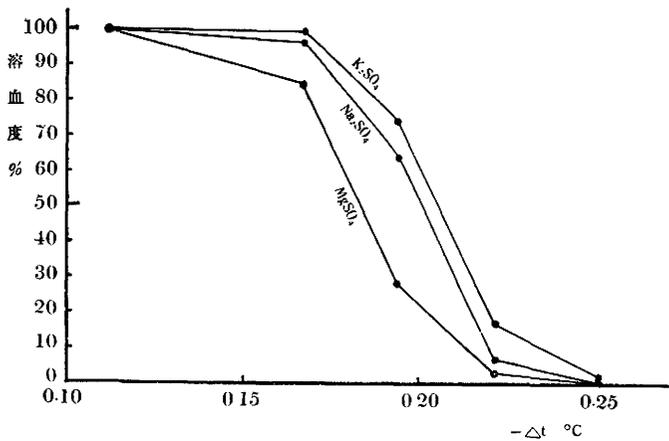
塩化物や硫酸塩の場合と同様に、1価の Cation が

2価のそれよりも溶血力が大きい。しかし硝酸塩においては前記の二塩類と比較して次の点が

第4表： 硫酸塩が Fragility curve に及ぼす影響
(100 倍稀釈, 0°C, 60分)

		M. C. F.					-Δt (°C)
実験例		1	2	3	4	5	平均値
硫酸塩	K ₂ SO ₄	0.206	0.201	0.175	0.185	0.199	0.193
	Na ₂ SO ₄	0.200	0.188	0.168	0.180	0.189	0.185
	MgSO ₄	0.184	0.179	0.160	0.175	0.178	0.175

第3図： 硫酸塩の低張性水溶液中に於ける
Fragility curve. (100 倍稀釈, 0°C, 60分)



第5表： 硝酸塩が Fragility curve に及ぼす影響
(100 倍稀釈, 0°C, 60分)

		M. C. F.				-Δt (°C)
実験例		1	2	3	4	平均値
硝酸塩	KNO ₃	0.336	0.354	0.373	0.319	0.346
	NaNO ₃	0.300	0.291	0.282	0.278	0.288
	Ca(NO ₃) ₂	0.285	0.264	0.249	0.252	0.263
	Mg(NO ₃) ₂	0.285	0.264	0.249	0.252	0.263
	Ba(NO ₃) ₂	0.261	0.223	0.227	0.218	0.232

相違している。即ち K⁺ の溶血度が著しく大きく、Ba^{II} では甚だしく小さいこと、及び Ca^{II} と Mg^{II} の差が認められぬことである。更に実験操作中に気がつくことは、KNO₃ による溶血では、溶血後の上澄液が褐色を呈することである。これは混入する亜硝酸による「メトヘモグロビン」形成の結果と考えられ、硝酸塩において

NO₃⁻ > Cl⁻ であるが、Mg(NO₃)₂ と MgCl₂ では逆に NO₃⁻ < Cl⁻ となる。この成績から次の所見が得られる。硫酸塩水溶液中において、他の塩化物や硝酸塩と異なり、赤血球滲透抵抗力が增强する原因は SO₄²⁻ の存在することによる。NO₃⁻ と Cl⁻ の溶血度に及ぼす影響は、Cation 側の種類により変化するため一定関係を認めら

は前二者と較べて溶血機転に相違があることを推察せしめる。

(4) Cation を一定にした場合に Anion が Fragility curve に及ぼす影響

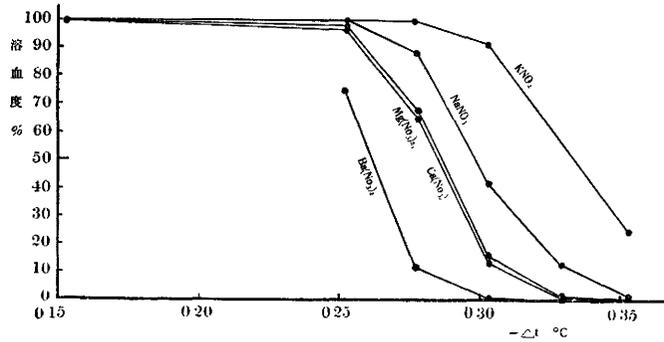
以上は塩化物、硫酸塩、硝酸塩につき夫々 Anion 側を統一して、Cation の溶血度に及ぼす影響を比較検討してきたが、今度は Cation 側を一定にして Anion を種々変化させた場合の Fragility curve の変化を追求した。

- (a) NaCl, NaNO₃, Na₂SO₄,
- (b) KCl, KNO₃, K₂SO₄,
- (c) MgCl₂, Mg(NO₃)₂, MgSO₄,

の三群につき夫々 M. C. F. を求めた成績が第6表である。

各 Anion が溶血度に及ぼす影響は SO₄²⁻ < NO₃⁻, Cl⁻ の如くなる。SO₄²⁻ のみが Cation 側の如何に拘わらず常に M. C. F. が小さい。NO₃⁻, Cl⁻ においては、Cation 側の種類によつて種々変化し一定の序列を認めることが出来ない。例えば KNO₃ と KCl では

第4図： 硝酸塩の低張性水溶液中に於ける
Fragility curve. (100倍稀釈, 0°C, 60分)



第6表： Anion が Fragility curve に及ぼす影響
(100倍稀釈, 0°C, 60分)

		M. C. F.				-Δt (°C)
実験例		1	2	3	4	平均値
(a)	KCl	0.295	0.271	0.280	0.290	0.284
	KNO ₃	0.358	0.345	0.350	0.338	0.348
	K ₂ SO ₄	0.199	0.188	0.204	0.187	0.195
(b)	NaCl	0.291	0.272	0.265	0.284	0.278
	NaNO ₃	0.289	0.281	0.274	0.280	0.281
	Na ₂ SO ₄	0.181	0.179	0.190	0.201	0.188
(c)	MgCl ₂	0.246	0.269	0.231	0.260	0.252
	Mg(NO ₃) ₂	0.238	0.256	0.224	0.248	0.242
	MgSO ₄	0.175	0.174	0.179	0.188	0.179

れない。

(5) 糖類が Fragility curve に及ぼす影響
次に非電解質の代表として、最も一般的な二

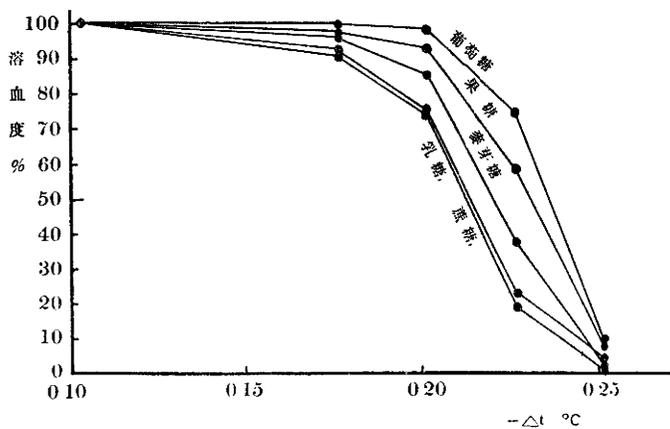
三糖類溶液中における赤血球滲透抵抗力の態度
を検討してみた。

前と同様方法により求めた成績が第7表及び

第7表： 糖類が Fragility curve に及ぼす影響
(100倍稀釈, 0°C, 60分)

		M. C. F.				-Δt (°C)	
実験例		1	2	3	4	5	平均値
糖類	葡萄糖	0.236	0.224	0.258	0.260	0.221	0.239
	果糖	0.231	0.218	0.255	0.255	0.214	0.235
	麦芽糖	0.220	0.204	0.242	0.247	0.210	0.225
	乳糖	0.214	0.202	0.238	0.238	0.204	0.219
	蔗糖	0.212	0.201	0.239	0.242	0.203	0.219

第5図： 糖類の低張性水溶液中に於ける
Fragility curve. (100倍稀釈, 0°C, 60分)



第5図である。

各糖類水溶液中における溶血度を不等式で示すと葡萄糖>果糖>麦芽糖>乳糖=蔗糖の順である。単糖類の方が複糖類よりも溶血を起し易い。乳糖と蔗糖では相違を認めることが出来ない。

第2章 所謂生理的塩溶液が Fragility curve に及ぼす影響

従来より赤血球の滲透抵抗力測定に使用されている媒体には食塩水^{30, 32)}, Simmel氏液²²⁻²⁶⁾及びNa₂SO₄水溶液^{21, 24)}等がある。これらの媒体の何れを選ぶかによつて赤血球の滲透抵抗の値が異なるであろうことは、前章の実験所見に照らして想像に難くない。然るに今日までこれら媒体の影響を量的に比較検討した実験は見当たらないから、異なつた媒体を用いた実験成績は比較することが出来ない現状である。本章の研究はその欠を補う目的を以て行われた。

又所謂生理的塩溶液として一般に広く用いられているRinger氏液³³⁻³⁷⁾, Locke氏液³⁸⁻⁴²⁾及びTyrode氏液⁴³⁾も、既に各個については検討済みの諸種溶質の混合溶液であるから、これらを媒体とした際の赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響も合せ検討することにした。

更に近年血液保存液としてAlsever氏液⁴⁴⁾が考案され賞用されている。⁴⁵⁻⁴⁷⁾ 元來血液保存液は血液を長時間冷却保存する際、これに加えて保存中に起る溶血を可及的防止する目的を以

第8表： 各種生理的塩溶液の組成と氷点降下度 (実測値)

溶 液	Ringer氏液	Locke氏液	Tyrode氏液	Simmel氏液	Alsever氏液	NaCl	Na ₂ SO ₄
組	NaCl	0.9	0.9	0.8	0.82	0.42	0.134
	KCl	0.02	0.02	0.02	0.02	—	mól/l.
	CaCl ₂	0.02	0.02	0.02	0.02	—	—
	MgCl ₂	—	—	0.01	0.02	—	—
織	葡 萄 糖	—	0.2	0.1	—	2.05	—
	クエン酸ソーダ	—	—	—	—	0.8	—
(g)	NaHCO ₃	0.01	0.015	0.1	0.005	—	—
	NaH ₂ PO ₄	—	—	0.005	0.01	—	—
	Aq. dist.	100	100	100	100	100	1000
	-Δt (°C)	0.580	0.585	0.590	0.565	0.600	0.630
						0.630	0.580

て考案されたものである。従つて保存液が赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響を一応たしかめておくことは意義なしとしない。これ Alsever 氏液を被検試料に加えた所以である。

A. 実験方法

実験材料として使用した各生理的塩溶液の組成及び氷点降下度は第8表に示す如くである。なお Simmel 氏液は24時間後、48時間後の2回 0.1N の NaOH で pH. 7.1 に調製してから用いた。²³⁾ (この際の pH 測定は東洋濾紙 pH 試験紙による)

第8表の処方による液を原液として、これより所要

の濃度のものを希釈調製した。希釈度と夫々の氷点降下度との関係は既に第2表に示した如くである。その他の実験方法は前章におけると同様である。

B. 実験成績と考察

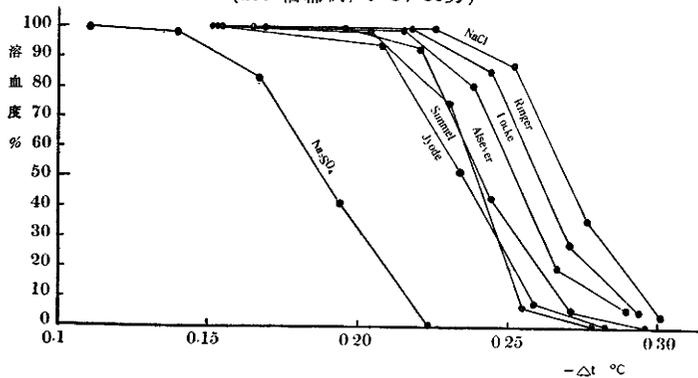
(1) 各種生理的塩溶液による Fragility curve

各生理的塩溶液を媒体として夫々の溶液中における Fragility curve を求め、M. C. F. を比較すると第9表の如くなる。1例を Fragility curve で図示すると第6図の如くなる。

第9表： 各種生理的塩溶液による Fragility curve
(100 倍希釈, 0°C, 60分)

実験例	M. C. F.				-Δt (°C)		平均値
	1	2	3	4	5		
Ringer 氏液	0.260	0.264	0.254	0.260	0.261	0.259	
Locke 氏液	0.251	0.259	0.242	0.253	0.254	0.252	
Tyrode 氏液	0.235	0.244	0.230	0.243	0.231	0.237	
Simmel 氏液	0.239	0.249	0.230	0.246	0.237	0.240	
Alsever 氏液	0.241	0.253	0.234	0.251	0.245	0.245	
NaCl	0.270	0.275	0.261	0.268	0.260	0.267	
Na ₂ SO ₄	0.185	0.204	0.171	0.192	0.185	0.188	

第6図： 各種生理的塩溶液による Fragility curve.
(100 倍希釈, 0°C, 60分)



食塩水中において最も溶血度が大きく、Na₂SO₄ 水溶液中において最も小さい。食塩水、Simmel 氏液及び Na₂SO₄ 水溶液中において、夫々溶血度が異なっているのみならず、他の各溶液においても夫々 M.C.F. が相違している。而もこの溶血度の相違は常に一定関係を示す。

(2) 各種生理的塩溶液により赤血球滲透抵抗力に

差異を生ずる原因

各生理的塩溶液中における赤血球滲透抵抗力が、かように甚だしく相違する原因は何に由来するものであるかについて考えて見る。

各溶液中における溶血度の大小を不等式で示すと次の如くなる。

$$\text{NaCl} > \text{Ringer} > \text{Locke} > \text{Alsever} > \text{Simmel} > \text{Tyrode} > \text{Na}_2\text{SO}_4$$

赤血球滲透抵抗力を測定する際の種々な測定条件の内、溶液の種類が異なる外はすべて同一条件で測定した。従つて溶血度に相違を生ずる原因は、各溶液の化学組成の相違及び各溶液に固有の pH の違いによるものと考えられる。本報においては前者につき吟味を行つた。pH の変化が Fragility curve に及ぼす影響は稿を改めて詳細に検討したい。

今、各生理的塩溶液の組成を比較して見ると、NaCl と Na₂SO₄ 以外の各溶液の溶質相互の関係は第8表に示した如く、Locke 氏液は Ringer 氏液に葡萄糖を加え、Tyrode 氏液は Locke 氏液に更に MgCl₂ と NaH₂PO₄ の加わ

つたものである。

Simmel 氏液は Tyrode 氏液から葡萄糖を除去した如き関係にある。独り Alsever 氏液が特異的な組成を持つ以外、何れも溶質の主要成分は中性塩類といつて良い。

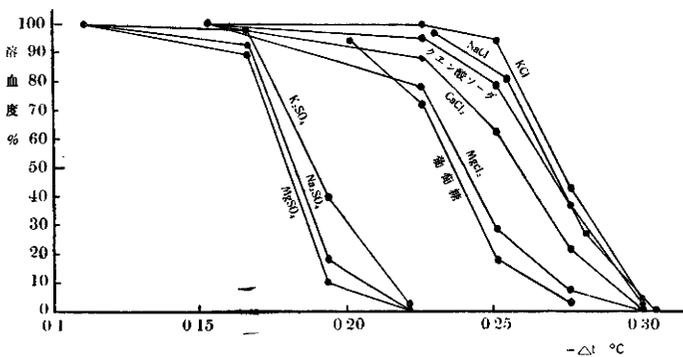
そこで各溶液中に含まれる各種組成成分の共存することが、赤血球の滲透抵抗力に如何なる影響を及ぼすかについて検討を試みた。その目的のため次の実験を行つた。

各溶液の組成成分である溶質各個について同時に Fragility curve を求め比較検討した。その M. C. F. を比較すると第10表となる。その1例を図示すると第7図の如くなる。

第10表： 各種生理的塩溶液の溶質個々による Fragility curve (100 倍稀釈, 0°C, 60分)

	実験例	M. C. F.				-Δt (°C)	
		1	2	3	4	5	平均値
溶質	KCl	0.274	0.286	0.268	0.298	0.284	0.282
	NaCl	0.270	0.278	0.266	0.294	0.272	0.276
	CaCl ₂	0.260	0.264	0.256	0.287	0.266	0.267
	MgCl ₂	0.241	0.249	0.248	0.270	0.248	0.249
	Na ₂ SO ₄	0.182	0.190	0.191	0.201	0.184	0.190
	葡萄糖	0.237	0.244	0.226	0.245	0.239	0.238
	クエン酸ソーダ	0.271	0.268	0.254	0.292	0.267	0.270
	K ₂ SO ₄	0.189	0.198	0.197	0.209	0.186	0.196
	MgSO ₄	0.180	0.181	0.185	0.187	0.170	0.181

第7図： 各種生理的塩溶液の溶質個々による Fragility curve. (100 倍稀釈, 0°C, 60分)



各溶液中における溶血度の関係を不等式で示すと KCl > NaCl > Na. citrate > CaCl₂ > MgCl₂ > 葡萄糖 > Na₂SO₄ となる。KCl 水溶液中において最も溶血度が大きく、Na₂SO₄ 水溶液中において最も溶血度は小さい。又各塩化物の媒体中における溶血度の大小の関係は、前章における成績と同様な関係を示すことは当然である。葡萄糖水溶液中で

は $MgCl_2$ 水溶液中よりも更に M. C. F. が小さい。「クエン酸ソーダ水溶液による M. C. F. は $NaCl$ 水溶液と $CaCl_2$ 水溶液のその中間に位する。特に Na_2SO_4 水溶液中においては M. C. F. が甚だ小さく、赤血球滲透抵抗力が最も強まる。この原因は前章で触れた如く、 SO_4^{--} の影響によるものと推察される。以上の成績と第 9 表の成績から按ずるに、Ringer 氏液は組成中に $CaCl_2$ を有し、Locke 氏液はそれ

に葡萄糖を加え、Tyrode 氏液は更に $MgCl_2$ を加えるが故に、次第に赤血球滲透抵抗力が増強して夫々特有の差異を生ずるものと考えられる。その他の各溶液も夫々組成の相違することが溶血度に相違を生ずる原因と考えられる。即ち、各生理的塩溶液中における赤血球滲透抵抗力に種々特有の差異を生ずる原因は、各溶液に含まれる溶質の種類と量の相違することが大きな理由と考えられる。

第 3 章 各種の媒体水溶液に浮遊せしめた赤血球の滲透抵抗について

筆者は前章迄の実験において、各種の媒体を稀釈液としてこれが赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響を検討して来たが、本実験では血球を被検媒体水溶液で洗滌して血漿を除去し、血漿の代りに同媒体で置換して調製した血球浮游液につき、低張性食塩水で稀釈溶血させて Fragility curve を求めた。その際血球浮游液の稀釈倍率を変化させて赤血球滲透抵抗力を検べた。ここに血球浮游液を稀釈倍率の見地から吟味した理由は、若し血球浮游液の稀釈度の大小に拘わらず、浮游媒体の種類によつて赤血球滲透抵抗力に一定の変化が認められるならば、それは血球浮游液を調製した際に、既に溶質が赤血球の表面膜物質に何らかの媒体特有の不可逆的变化を起させているものと考えられるからである。反対に稀釈度が小なる場合には赤血球滲透抵抗力に変化が認められるにも拘わらず稀釈度が大きくなるとその変化が消失するならば、それは媒体溶質が赤血球の表面膜物質に変化を起さぬものと考えることが出来よう。

A. 実験方法

血球浮游液を調製するのに用いた媒体は、第 1 表に示した塩化物、硫酸塩、糖類の等張溶液及び各種生理的塩溶液である。

被検血球浮游液の調製法：各媒体水溶液を用いて 3 回赤血球の洗滌を繰り返し、最後に上澄液を充分に除去して調製した血球粥の一定量に、それと等量の同一媒体を混和して血球浮游液を調製した。例えば等張食塩水で洗滌して得た血球粥 1cc と等張食塩水 1cc と

を混和して食塩水血球浮游液を調製する如くである。なお調製した各媒体血球浮游液は直ちに測定に供した。

測定方法：被検血球浮游液を各種濃度の低張性食塩水の階段系列中で 100 倍及び 1000 倍に稀釈し、 $0^\circ C$ 、60 分間保存した後遠心上澄液を定量し溶血度を算出した。この際完全溶血を 100% として Fragility curve を描き、M. C. F. を求めることは既述の通りである。

100 倍稀釈の場合は光電比色法⁵⁰⁾を用い、1000 倍稀釈の場合は「カタラーゼ法⁴⁹⁾により測定した。同一稀釈度においては何れの方法を用いても成績に差異のないことは既に実証した所である。⁴⁸⁾又「カタラーゼ能は共存する諸種の塩類等によつて影響されることは広く知られている所であるが、^{53, 54)}血球浮游液として用いる各種の等張媒体は、1000 倍に稀釈されると(媒体のみについては 2000 倍稀釈になる) Fragility curve の位置、形状及び M. C. F. には全く影響を及ぼさず無視してよいことを予備実験において確認した。

B. 実験成績と考察

(1) 血漿の代りに塩類及び糖類水溶液を用いた時の Fragility curve.

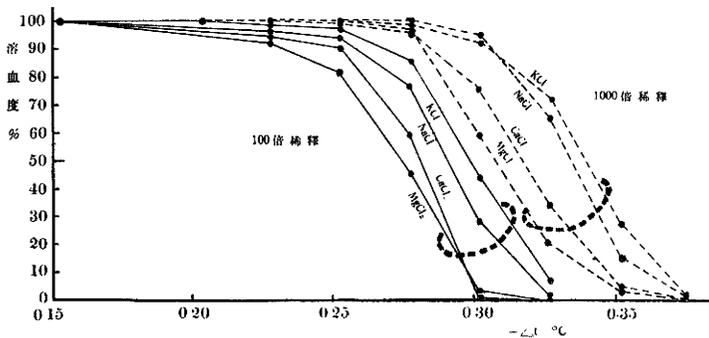
血漿の代りに塩化物、硫酸塩及び糖類水溶液で置換して調製した各種の血球浮游液につき、夫々 100 倍稀釈、1000 倍稀釈の場合の Fragility curve を求め、M. C. F. で示した成績が第 11 表である。今塩化物について 1 例を Fragility curve で示すと第 8 図の如くなる。

同種類の媒体につき 100 倍稀釈と 1000 倍稀釈を比較すると、塩化物、硫酸塩、糖類水溶液の

第11表： 血漿の代りに塩類及び糖類水溶液を用いた時の Fragility curve
(0°C, 60分)

実験例		M. C. F.				-Δt (°C)			
		100倍稀釈				1000倍稀釈			
		1	2	3	平均値	1	2	3	平均値
塩化物	KCl	0.311	0.303	0.299	0.304	0.332	0.328	0.340	0.333
	NaCl	0.305	0.296	0.291	0.297	0.326	0.319	0.335	0.327
	CaCl ₂	0.292	0.284	0.280	0.285	0.318	0.311	0.317	0.315
	MgCl ₂	0.280	0.269	0.274	0.274	0.305	0.301	0.308	0.305
硫酸塩	K ₂ SO ₄	0.209	0.199	0.248	0.219	0.251	0.236	0.249	0.245
	Na ₂ SO ₄	0.201	0.184	0.226	0.204	0.237	0.222	0.229	0.229
	MgSO ₄	0.184	0.171	0.203	0.186	0.229	0.208	0.204	0.214
糖類	葡萄糖	0.262	0.288	0.304	0.285	0.297	0.325	0.312	0.311
	果糖	0.250	0.281	0.287	0.273	0.286	0.322	0.305	0.304
	麦芽糖	0.234	0.264	0.276	0.258	0.264	0.318	0.294	0.292
	乳糖	0.227	0.251	0.259	0.246	0.255	0.300	0.282	0.279
	蔗糖	0.230	0.249	0.260	0.246	0.252	0.301	0.283	0.279

第8図： 血漿の代りに塩類及び糖類水溶液を用いた時の Fragility curve.
(塩化物の場合, 100倍及び1000倍稀釈, 0°C, 60分)



如何を問わず、何れも前者の M. C. F. は後者のそれよりも小さい。即ち 100 倍稀釈の場合には 1000 倍稀釈の場合よりも赤血球滲透抵抗力が強いことが分る。かように媒体の種類如何に拘わらず、常に被検赤血球浮游液の稀釈度の大小が赤血球の滲透抵抗に影響を及ぼすことは、既報³⁰⁾の成績を裏書きするものである。

次に各種媒体溶質が溶血度に及ぼす影響を見るに、塩化物では $K > Na > Ca > Mg$ 、硫酸塩で

は $K > Na > Mg$ 、糖類では 葡萄糖 > 果糖 > 麦芽糖 > 乳糖 = 蔗糖となる。この不等式に示される関係は、被検血球浮游液が 100 倍稀釈でも 1000 倍稀釈でも一定不変である。又硫酸塩水溶液による血球浮游液では、他の媒体による場合よりも常に赤血球の滲透抵抗が強くなる。ここに注意すべきことは、血球浮游液は調製後直ちに測定に供することが必要である。

なぜならば血球浮游液をそのまま一晝夜放置すると、食塩水血球浮游液以外はすべて多少とも自然溶血を起すからである。特に硫酸塩血球浮游液においてこの現象が甚だしい。

以上の成績より次のことが推察される。媒体が滲透圧的に等張でも、それに血球が曝される時は、溶質が赤血球の表面膜物質に溶質特有の変化を生ぜしめる。等張食塩水ではその変化は少ないが、他の塩化物、硫酸塩、糖類の等張水

溶液では変化が甚だしい。赤血球の表面膜物質におけるこの変化は、血球浮游液の調製後時間と共に進行し、遂には自然溶血を惹起するに到る。恐らく媒体溶質が赤血球の表面膜物質に吸着されて、膜物質の性質を変化させ透過性を昂めるためである。

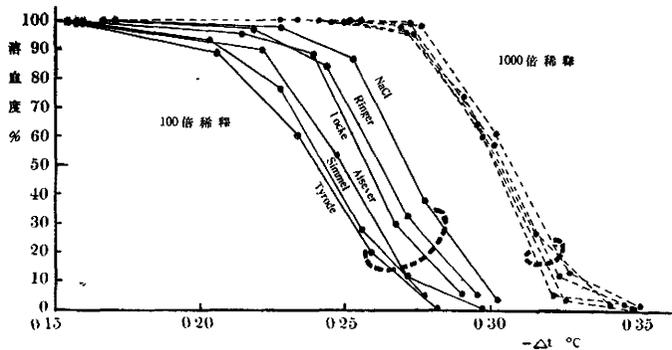
(2) 血漿の代りに所謂生理的塩溶液を用いた時の Fragility curve.

次に第8表に示した各種の生理的塩溶液(但し Na_2SO_4 水溶液を除く)につき前述と同様の実験を行つた。第12表は M. C. F. の成績を示す。その1例を Fragility curve で図示した

第12表： 血漿の代りに所謂生理的塩溶液を用いた時の Fragility curve (0°C, 60分)

積 実 験		M. C. F.				-Δt (°C)			
		100 倍 稀 釈				1000 倍 稀 釈			
		1	2	3	平均値	1	2	3	平均値
生 理 的 塩 溶 液	NaCl	0.294	0.309	0.271	0.291	0.321	0.313	0.308	0.314
	Ringer 氏液	0.282	0.298	0.262	0.281	0.330	0.320	0.301	0.317
	Locke 氏液	0.276	0.290	0.257	0.274	0.324	0.317	0.302	0.314
	Tyrode 氏液	0.255	0.272	0.240	0.256	0.325	0.319	0.300	0.315
	Simmel 氏液	0.261	0.280	0.241	0.261	0.322	0.315	0.304	0.314
	Alsever 氏液	0.268	0.284	0.249	0.267	0.329	0.316	0.302	0.316

第9図： 血漿の代りに所謂生理的塩溶液を用いたときの Fragility curve. (100倍及び1000倍稀釈, 0°C, 60分)



のが第9図である。

血球浮游液の稀釈度が低い場合(100倍稀釈)は、各媒体の種類により M. C. F. に相違を生じ、 $\text{NaCl} > \text{Ringer} > \text{Locke} > \text{Alsever} > \text{Simmel} > \text{Tyrode}$ なる関係を認める。この不等式は前章において認められた成績と全く同様である。これに較べて高度に稀釈した場合(1000倍稀釈)は M. C. F. に一定の相違を認めることが出来ず、Fragility curve に有意の差を認めること

が出来ない。又調製した血球浮游液を一晝夜放置しても、前述の各種塩類や糖類の際に見られたような自然溶血現象が認められない。

以上の成績を前記第11表、第8図のそれと比較するに次のことが推察出来る。

被検血球浮游液の稀釈濃度が濃い場合は、低張性食塩水に混和される各溶液の諸種組成成分の濃度が濃いため、それが赤血球滲透抵抗力に影響を及ぼし溶血度に夫々特有の相違を生ず

る。これに対し稀釈濃度が稀薄な場合は、もはやそれらの影響が及ばなくなるために、赤血球滲透抵抗力に相違を生じない。高度に稀釈された場合は、主に NaCl による影響が発現しその他の組成成分による影響は見られなくなるので

あろう。換言すれば、所謂生理的塩溶液中の組成成分の濃度が生理的範囲内にあるため、溶液に曝された赤血球は血球の滲透抵抗に特異な変化を現わすに足る程度に、その表面膜物質に変化を生じないものと考えられる。

第4章 総

括

低張性溶血における赤血球滲透抵抗力を測定する際、測定条件の一つである媒体が赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響について種々の検討を行った。即ち中性塩類や糖類水溶液中における赤血球滲透抵抗力を定量的に比較検討すると共に、併せて所謂生理的塩溶液についても吟味を進め、各生理的塩溶液中における赤血球滲透抵抗力に相違を生ずる原因の一端を明らかにした。更に血漿の代りに上述の各種媒体を用いて調製した血球浮游液について、その稀釈濃度の点より滲透抵抗力を吟味し、各種媒体溶質が赤血球の表面膜物質に及ぼす影響の一端を明らかにした。その成績を総括すると次の如くなる。

(1) 中性塩類として塩化物では KCl, NaCl, LiCl, CaCl₂, MgCl₂, BaCl₂, SrCl₂ を用い、各媒体水溶液中における赤血球滲透抵抗力を比較した。その Cation の溶血力は Li>K>Na>Ca>Ba>Mg= Sr の順序であつた。硫酸塩では K₂SO₄, Na₂SO₄, MgSO₄ につき調べ、K>Na>Mg の順であつた。硝酸塩では KNO₃, NaNO₃, Ca(NO₃)₂, Mg(NO₃)₂, Ba(NO₃)₂ を使用し、K>Na>Ca=Mg>Ba の成績を得た。これ等三種の塩類媒体に共通した点は、すべて1価の Cation が2価の夫よりも溶血力が大きいことである。

(2) 更に上記の塩類につき Anion の影響を検べた所、硫酸根は他のものに比して常に赤血球滲透抵抗力を増強させる。これに較べ硝酸根と塩素 Ion では Cation 側の種類により溶血度が変化し一定の関係を認めることが出来ない。

(3) 糖類水溶液では葡萄糖、果糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖の各媒体につき比較した。その赤血球滲透抵抗力に及ぼす影響は、葡萄糖>果糖>麦芽糖>乳糖=蔗糖の順である。単糖類水溶液中では複糖類水溶液中よりも溶血度が大きい。

(4) 従来より赤血球滲透抵抗力測定に使用されて来た食塩水、Simmel 氏液及び Na₂SO₄ 水溶液に加えて、所謂生理的塩溶液として Ringer 氏液、Locke 氏液、Tyrode 氏液及び血液保存液の Alsever 氏液の七種類の溶液につき赤血球滲透抵抗力を比較検討し、夫々の溶液中における赤血球滲透抵抗力に相違のあることを見出した。その溶血度は NaCl>Ringer>Locke>Alsever>Simmel>Tyrode の順である。この原因の一端は各種生理的塩溶液中に含まれる溶質の種類と量の相違することによる。

(5) 血漿の代りに各種媒体を以て置換して調製した血球浮游液を用いて、媒体溶質が赤血球の表面膜物質に及ぼす影響を検討した。

即ち各生理的塩溶液中における赤血球は、溶液の組成成分の濃度が所謂生理的範囲内にあるため、赤血球の表面膜物質の性質に変化を生ぜしめない。これに対し中性塩類 (NaCl を除く) や糖類水溶液では、等張濃度といえど各媒体溶質の濃度が非生理的に濃いため、赤血球の表面膜物質に夫々溶質特有の変化を起し膜の透過性を異常に昂める。

稿を終るに当り終始御懇篤な御指導御鞭撻を賜わり、且つ御校閲を賜わりたる恩師齋藤教授に深く感謝を捧げると共に、御協力を戴いた生理学教室各位に謝意を表します。

文 献

- 1) **Gryns, G.** : (1896) Ueber den Einfluss gelöster Stoffe auf die rothen Blutzellen, in Verbindung mit den Erscheinungen der Osmose und Diffusion. Pflügers Archiv. physiol. B. **63**, 85.
- 2) **Höber, R.** : (1908) Ueber den Einfluss von Neutralsalzen auf die Hämolyse. Biochem. Z. **14**, 209.
- 3) **Port, F.** : (1910) Die Saponinhämolyse und ihre Hemmung durch das Serum. Deutsch Arch. f. klin. Med. **99**, 259.
- 4) **R. Höber und Nast, O.** : (1914) Beiträge zum arteigenen Verhalten der roten Blutkörperchen. I. Hämolyse bei gleichzeitiger Einwirkung von Neutralsalzen; und anderen cytolysierenden Stoffen. Biochem. Z. **60**, 131.
- 5) **Miculicich, M.** : (1910) Über den Einfluss von Elektrolyten und Anelektrolyten auf die Permeabilität der roten Blutkörperchen. Zentralbl. f. physiol. **24**, 523.
- 6) **荒井実** : (1919) 溶血に対する中性塩類の影響について. 東京医誌, **33**, 719.
- 7) **木村廉** : (1924) 比色計による溶血現象の研究 (第2回報告) 塩類特に中性塩類の赤血球に及ぼす影響. 日本微生物学説, **18**, 371.
- 8) **Beckmann, K.** : (1922) Hämolyseversuche in Alkali- und Erdalkalisalzen unter normalen und pathologischen Bedingungen. Biochem. Z. **135**,
- 9) **Mond, R.** : (1925) Hämolysestudien II. Mitteilung. Salzwirkung u. Saponinhämolyse. Pflüger's Archiv. **209**, 499.
- 10) **守山英雄** : (1933) 溶血と無機塩類との関係. 実験医学誌, **17**, 1541.
- 11) **Kennedy, W. P.** : (1926) The influence of neutralsalts on haemolysis. Biochem. J. **20**, 243.
- 12) **Gorden, A. S.** : (1933) Studies on the acceleration and inhibition of haemolysis. III. The effect of monovalent cations on spaonin haemolysis. Quart. J. Exp. physiol. **22**, 383.
- 13) **von Eisler, M.** : (1909) Über den Einfluss von Salzen und Nichtelektrolyten auf die Wirkung von hämolytischen Giften. Z. f. Imm. **2**, 159.
- 14) **Ashby, W.** : (1923) A study of the mechanism of change in resistance of erythrocytes to hypotonic salt solution II. Quantitative study of the effect of cations on human red blood corpuscles. Amer. J. physiol. **68**, 250.
- 15) **Broocks, S. C.** : (1925) The mechamism of the change in resistance of erythrocytes to hypotonic salt solutions. J. of General physiol. **7**, 587.
- 16) **Simon, A.** : (1926) Über die Wirkung der verschiedenen konzentrierten Kationenlösungen auf die osmotischen Resistenz der roten Blutkörperchen. Biochem. Z. **170**, 244.
- 17) **高築秀男** : (1938) 中性塩類水溶液溶血に於ける陰陽両イオンの意義. 朝鮮医学誌, **28**, 221.
- 18) **Alpern, D.** : (1925) Über Ionenantagonismus bei der Haemolyse. Pflüger,s Archiv. **210**, 442.
- 19) **Neuschloss, S. M.** : (1920) Über die Bedeutung des Ionenantagonismus für die Hämolyse. Archiv. f. Physiol. **181**, 40.
- 20) **木川浩逸** : (1928) 溶血現象に及ぼす二三無機塩類の影響. 千葉医学会誌, **6**, 29.
- 21) **Hamburger, H. J.** : (1922) Bestimmung der relativen Anzahl roter Blutkörperchen verschiedener Resistenz (osmotische Resistenzkurve) mittels Na_2SO_4 . Biochem. Z. B. **129**, 163.
- 22) **Simm, I, H.** : (1923) Die osmotische Resistenz der Erythrozyten. Deutsch. Arch. f. klin. Med. **142**, 252.
- 23) **Simmel, H.** : (1925) Die Prüfung der osmotischen Erythrozytenresistenz. Ergeb. d. inn. Med. u. Kind. h. **27**, 508.
- 24) **Siebeck, R.** : (1920) Über den Chloraustausch zwischen den roten Blutkörperchen und der umgebenden Lösung. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. **85**, 214.
- 25) **Waugh, T. R. and Chase, W.** : (1928) A combined macroscopic and microscopic erythrocyte fragility technic (modified method of Simmel). J. Lab. Clin. Med. **13**, 873.
- 26) **Waugh, T. R. and Asherman, E. G.** : (1938) The use of an index of hemolysis in expressing the fragility of erythrocytes. J. Lab. Clin. Med. **23**, 746.
- 27) **Simmel, H.** : (1923) Die osmotische Resistenz menschlicher Erythrozyten in ver-

- schiedenartigen salzlösungen. *Klin. Wochenschr.* II. Halbjahr S. 1646. 28) 高築秀男 : (昭13) 溶血現象より見た二三古典的栄養液の意義. 朝鮮化学会報, 9, 171. 29) 中村拓 : (昭13) 赤血球の二三物理化学的研究. 日新医学, 27, 731. 30) 辻成人 : (昭28) 低張性溶血に於ける赤血球滲透抵抗力測定条件の吟味について. 溶血度に及ぼす血液濃度並びに温度の影響と溶血平衡時間. 十全医学誌, 55, 3号, 1.
- 31) Ponder, E. : (1924) *The Erythrocyte and the Action of Simple Haemolysis*. London., (1934) *The mammalian red cell and the properties of haemolytic systems*. Berlin. 32) 堀内叔彦 : (1952) 赤血球抵抗に関する研究. 東京医誌, 60, 2, 1. 33) Ringer, S. : (1880) Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. *J. of Physiol.* 3, 380. 34) Ringer, S. : (1882) *J. of Physiol.* 4, 29.
- 35) Ringer, S. : (1883) *J. of Physiol.* 5, 222. 36) Ringer, S. : (1885) *J. of Physiol.* 6, 361. 37) Ringer, S. : (1890) *J. of Physiol.* 14, 125. 38) Locke, F. S. : (1895) Towards the ideal artificial circulating fluid for the isolated frog's heart. *J. of physiol.* 18, 332. 39) Locke, F. S. : (1900) *Centralbl. f. physiol.* 14, 670. 40) Locke, F. S. : (1901) *Centralbl. f. physiol.* 15, 490. 41) Locke, F. S. : (1904) *J. of physiol.* 31, 13. 42) Locke, F. S. (1907) *J. of physiol.* 36, 205. 43) Tyrode, M. V. : (1910) The mode of action of some purgative salts. *Arch. Internat. Pharmacodyn.* 20, 205. 44) Alsever, J. B. and Ainslie, R. B. : (1941) A new method for the preparation of dilute blood plasma and the operation of a complete transfusion service, *New York State J. Med.* 41, 126. 45) Bukantz, S. C., Rein, C. R., Kent, J. F. and Goodman, R. : (1946) *J. Lab. and Clin. Med.* 31, 394. 46) Thomas, M. : (1948) Viral and Rickettial infection of man P, 82. 47) Stephen, V. and Boyden, M. R. C. V. S. : (1951) The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. of Exp. Med.* 93, No. 2. P. 108. 48) 山田英明・辻成人 : (1951) 「カタラーゼ能測定法による赤血球滲透抵抗微量測定法. 生体の科学, 3, 80. 49) Creed, E. ff. : (1938) The estimation of the fragility of red blood corpuscles. *J. Path. Bact.* 46, 331. 50) Dacie, J. V. and J. M. Vaughan : (1938) The fragility of the red blood cells : Its measurement and significance. *J. Path. Bact.* 46, 341. 51) 寺本明 : (1941) 低張食塩水に対する赤血球抵抗力測定法の吟味. 日本血液誌, 5, 357. 52) 橋本巖 : (1949) 赤血球滲透抵抗に関する研究. 北海道医誌, 24, 223. 53) Michaelis, L. und H. Pechstein : (1913) Untersuchungen über die Katalase der Leber. *Biochem. Z. B.* 53, 320. 54) 菊池源造 : (昭5) 血液カタラーゼに関する知見補遺. 福岡医大誌, 23, 185.