ACD 液, CPD 液による全血および 赤血球濃厚液の経時的变化

(代謝性变化および機能性变化)

小 田 貢

鳥取大学医学部麻酔学教室

(昭和55年12月15日受付)

Comparative Study of ACD and CPD Preserved Whole Blood and Red Blood Cells;
Functional and Metabolic Changes

Mitsugu Oda

Department of Anesthesiology, Tottori University School of Medicine

This study was conducted to compare the functional and metabolic changes and their relationship in ACD and CPD preserved whole blood (WB) and red blood cells (RBC), i.e., formally called packed red blood cells.

200 ml of blood was collected into blood collecting plastic bags containing 30 ml of ACD or 28 ml of CPD solutions from 6 young healthy male donors respectively. Each blood sample was equally divided into two parts; One part was used to make a preserved WB and the other part was further processed into RBC. Thus 4 types of samples were obtained, such as ACD•WB, ACD•RBC, CPD•WB, CPD•RBC. They were stored at 4°C during experiment. Measurements of the following parameters were performed within 3 hours and 3,7,10,14 and 21 days after the collection of the blood. Measured parameters and their methods were; Serum glucose by the o-TB method, 2,3-DPG, serum pyruvate and serum lactate by the enzymatic UV methods, serum K and Na by the flame photometric methods, serum Cl by Schales and Schales method, erythrocyte osmotic resistance by the coil planet centrifuge method and oxygen dissociation curves by using Hemox-Analyzer®.

The results obtained from this experiment were summarized as follows;

- 1) The metabolic activities were found in the following order; CPD•WB > CPD•RBC > ACD•WB $\approx$ ACD•RBC.
- 2) The changes in oxygen dissociation curves were in parallel relationship with the changes in 2,3-DPG. Their changes were inversely proportional with the metabolic activities.
- 3) The changes in serum electrolytes depend on whether they were WB or RBC rather than the types of preservative solution used.
- 4) Erythrocyte osmotic resistance was maintained slightly better in the CPD preserved two groups.
- 5) Metabolic activity, function of Na-K pump and membrane fragility were not always in parallel relationship with one another.
- 6) Although the concentration of serum K in RBC was extremely high compared with that in WB,

the amount of serum K in both types of preserved blood were almost the same. Therefore, difference in the concentration of serum K does not likely cause a significant difference in clinical effects.

はじめに

各種保存血液の保存中の代謝性、機能性変化に関し従来多くの報告があるが^{1)~13)}、それらの多くは代謝性変化と機能性変化を分けて報告し、また報告者により異なった時間的経過で実験が行なわれているため、各種保存血液間の比較や、代謝性変化と機能性変化の相互関係の検討が困難であった。また、赤血球濃厚液に関しては特に酸素解離曲線や赤血球浸透圧抵抗の研究が全血保存血に比較して不充分であった。これに加えて、最近われわれが行なった研究により、赤血球内 2,3-DPG (diphosphoglycerate) および酸素解離曲線には性差、年齢差の存在することが明らかになった¹⁴⁾。そこで著者は以上の問題点を考慮に入れた研究が必要と思い、CPD 液により保存した全血および赤血球濃厚液と、ACD 液により保存した全血および赤血球濃厚液における代謝性および機能性の変化を比較する目的で、同一人より同時に採血した血液を二分して全血保存血および赤血球濃厚液を作製し、各種パラメータの測定を同時に行ない比較検討した。なお、代謝性変化のパラメーターとして、血清グルコース、ラクテート、パイルベート、pH および赤血球内 2, 3-DPG を、機能性変化のパラメーターとしては、赤血球酸素解離曲線、血清電解質 (Na, K, Cl)、赤血球浸透圧抵抗を測定した。

材料および方法

ACD 群、CPD 群それぞれ平均 28.5 ± 2.0 歳、 26.2 ± 2.0 歳の6人の健康男性より 200ml ずつ成分製剤利用の採血バッグに採血した後、分離バッグを利用して二等分し、一方を全血保存血とし、他方は 4°C の温度で $1,200 \times \text{G}$ で10分間遠心して血球部分を沈澱させ赤血球濃厚液を作製した。採血にはテルモ社製 ACD “A” および CPD 採血バッグを使用した。ACD “A” 液の組成は 100ml 中、クエン酸ナトリウム 2.2g、クエン酸 0.8g、ブドウ糖 2.2g、注射用蒸留水 100ml で1バッグ中に

30ml 入っており、CPD 液の組成は 100ml 中、クエン酸ナトリウム 2.63g、クエン酸 0.327g、リン酸ナトリウム 0.251g、ブドウ糖 2.32g 注射用蒸留水 100ml で1バッグ中に 28ml 入っている。

保存血液は実験期間中 4°C に保ち、各パラメータの測定は採血直後 (3時間以内)、3日後、7日後、10日後、14日後、21日後に行なった。

本文中使用する略語は以下の通り決める。

1. ACD・WB ...ACD 保存全血
2. ACD・RBC...ACD 保存赤血球濃厚液
3. CPD・WB ...CPD 保存全血
4. CPD・RBC...CPD 保存赤血球濃厚液

グルコースの測定はオルトトルイジン・ホウ酸法 (o-TB 法)¹⁵⁾ を用いた。この方法は糖と芳香族アミンを縮合させ着色物質として定量する方法であり、分光光度計 (日立101型) にて測定した。2, 3-DPG の測定は、2, 3-DPG 1モルが反応すれば2モルの NADH が酸化されることを利用し、NADH の変化を UV 法 (日立101型分光光度計) で測定した¹⁶⁾。パイルベート、ラクテートの測定は、LDH の存在下でラクテートと NAD からパイルベートと NADH が生成される可逆的反応を利用して行ない、パイルベートは NADH の減少、ラクテートは NADH の増加として表われるのを UV 法で測定した¹⁷⁾¹⁸⁾。酸素解離曲線は TCS 社製 Hemox-Analyzer[®] を用いて求めた。この装置の特性や測定上の特徴、および本装置を使用して得た日本人における正常値に関して既に当教室から報告してあるので¹⁹⁾²⁰⁾、それに譲る。なお、酸素解離曲線の比較はこの曲線より P_{50} 値 (50% 飽和度での P_{O_2}) を求め、この値を曲線の代表値として用いた。血清 pH は IL-813 を使用し測定したが、血清 H^+ イオンの量の変化を知るために、 $[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$ の式で pH より H^+ イオン濃度を求め²¹⁾、その上で統計的処理を行なった。血清 Na, K は炎光光度計 (コールマン21型) で、血清

図1 CPC法による赤血球浸透圧測定。上段に溶血曲線，下段にCPC法に使用されるコイル，および溶血帯を示す。

Cl は Hg^{++} との反応を利用する Schales-Schales 法を用いた²²⁾。赤血球浸透圧抵抗は coil planet centrifuge (CPC) 法を用いた²³⁾²⁴⁾。これは図1に示したように長さ約3mの細長いポリエチレンチューブを長さ20cmのアクリライト棒にまきつけ、このチューブに150~30mOsmの直線的浸透圧勾配の食塩水を封入したものを用いる。実験の際は、高浸透圧端に微量(約10 μ l)の血液を入れ封入の後、自転公転する特殊遠心器により赤血球を低浸透圧側に移動させる。赤血球は移動の途中低浸透圧に耐え切れなくなった所で溶血し、溶血帯を生ずる。このコイルを走査型光電比色計にかけると図1下に示すような溶血曲線が得られる。これから HSP (hemolysis start point 溶血開始値), HMP (hemolysis maximum point 最大溶血値), HEP (hemolysis end point 溶血終了値), HW (hemolysis width 溶血幅) の4つの値を求めることが出来る。

統計は ACD・WB と ACD・RBC, CPD・WB と CPD・RBC の間の比較は paired Student's t-test, ACD の2群と CPD の2群の間の比較は unpaired Student's t-test で行ない、統計処理の結果を示す表の中で $p<0.05$●, $p<0.01$●●, $p<0.001$●●●で表わした。結果の数値は Mean $\pm$ SEM で表わした。

群間の比較は、採血直後(0日)は ACD・WB と CPD・WB の間においてのみ行ない、その後の3, 7, 14, 21日後には4群間のすべての組み合わせの間で行なった。

図2 グルコース、2,3-DPG、ラクテート、ピルベートの変化

結果

1. Ht : Ht は採血直後 ACD・WB, ACD・RBC, CPD・WB, CPD・RBC それぞれ $42.5 \pm 1.2\%$, $72.7 \pm 2.1\%$, $41.5 \pm 1.5\%$, $62.8 \pm 1.1\%$ であったが24日後にはそれぞれ $41.0 \pm 1.4\%$, $71.2 \pm 2.6\%$, $40.8 \pm 1.5\%$, $64.4 \pm 1.8\%$ となった。

2. グルコース：グルコースは採血直後 CPD・WB, ACD・WB それぞれ 410.9 ± 10.3 mg/dl, 315.1 ± 14.1 mg/dl であったが、3日後に両群ともに急激な低下を示した後、21日後の CPD・WB, CPD・RBC それぞれ 92.2 ± 12.1 mg/dl, 43.9 ± 5.4 mg/dl まで持続的に低下した。ACD の2群は CPD の2群に比して最初から緩やかな減少を示し、21日後には ACD・WB は 171.4 ± 4.9 mg/dl, ACD・RBC は 84.2 ± 15.4 mg/dl となった(図

表1 糖代謝に関係するパラメータの群間比較. $p<0.05$ ●, $p<0.01$ ●●, $p<0.001$ ●●●

Days		0	3	7	10	14	21
Glucose	CPD・WB-CPD・RBC		●	●●●	●●●	●●●	●●
	ACD・WB-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・WB-ACD・WB	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・RBC-ACD・RBC		●●	●	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・RBC		●●	●●●	●●●	●	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB		N.S.	●●●	●●●	●●●	●●●
2,3-DPG	CPD・WB-CPD・RBC		N.S.	●●●	●●●	●●●	●●
	ACD・WB-ACD・RBC		N.S.	●●	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・WB	N.S.	●●●	●●●	●●●	●●●	N.S.
	CPD・RBC-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●	N.S.
	CPD・WB-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB		●●●	●●	N.S.	N.S.	N.S.
Lactate	CPD・WB-CPD・RBC		●●●	●●	●●●	●●●	●●●
	ACD・WB-ACD・RBC		●●	●●	●●	●●	●●
	CPD・WB-ACD・WB	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・RBC-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・WB-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・RBC-ACD・WB		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
Pyruvate	CPD・WB-CPD・RBC		N.S.	●●●	●●●	●	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC		●	N.S.	N.S.	N.S.	●●
	CPD・WB-ACD・WB	●●●	●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・RBC-ACD・RBC		N.S.	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・WB-ACD・RBC		●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・RBC-ACD・WB		N.S.	●●●	●●●	●●●	●●●

2). 統計的有意差は表1に示す.

3. 2, 3-diphosphoglycerate (2, 3-DPG) : 採血直後 CPD・WB で $3.76\pm0.17\mu\text{mol/ml RBC}$, ACD・WB で $3.60\pm0.19\mu\text{mol/ml RBC}$ であったが, CPD の2群は3日後に軽度ではあるが統計的に有意な上昇を示した後, 緩やかに低下して行った. 一方 ACD の2群は採血直後から7日後まで直線的に低下し, ACD・WB で $0.44\pm0.19\mu\text{mol/ml RBC}$, ACD・RBC で $0.66\pm0.19\mu\text{mol/ml RBC}$ となった. それ以降21日後までの変化は極めてわずかであった (図2). 統計的有意差は表1に示す.

す.

4. ラクテート : ラクテートは採血直後 CPD・WB で $34.3\pm2.0\text{mg/dl}$, ACD・WB で $14.5\pm2.8\text{mg/dl}$ であったが, その後4群ともに全経過を通じて直線的に増加して行き, 21日後には CPD・WB で $425.0\pm5.9\text{mg/dl}$, CPD・RBC で $521.0\pm8.8\text{mg/dl}$, ACD・WB で $115.8\pm7.4\text{mg/dl}$, ACD・RBC で $181.0\pm13.1\text{mg/dl}$ となった (図2). 統計的有意差は表1に示す.

5. パイルベート : パイルベートは採血直後, CPD・WB で $4.57\pm0.16\text{mg/dl}$ で ACD・WB の

0.89±0.20mg/dl より有意に高いが、CPD の2群は3日後に一度軽度低下した後21日後まで持続的に増加した。一方 ACD の2群は3日後に少し上昇した後、21日までほぼ同じレベルを保った(図2)。統計的有意差は表1に示す。

6. P_{50} : P_{50} は CPD・WB, ACD・WB でそれぞれ 25.4 ± 0.7 mmHg, 24.6 ± 0.4 mmHg であったが3日後には CPD・WB で 26.3 ± 0.7 mmHg となり採血直後より有意の上昇を示した後21日後まで緩やかに低下した。CPD・RBC では3日後は採血直後とほぼ同じレベルを保ち、その後14日後の 17.6 ± 0.8 mmHg までほぼ直線的に低下し、14日後から21日後までは緩やかな低下となった。ACD・WB, ACD・RBC の2群は CPD の2群と異なり、採血直後より10日後まで直線的に低下しそれぞれ 16.2 ± 0.4 mmHg, 16.0 ± 0.2 mmHg となり、その後は急速に変化が少なくなり21日後には ACD・WB で 14.9 ± 0.2 mmHg, ACD・RBC で 14.7 ± 0.4 mmHg となった(図3)。統計的有意差は表2に示した。

7. P_{50} と2, 3-DPG の関係: 図4に示す如く、 P_{50} と2, 3-DPG が強い相関関係にあることは明らかであるが、2, 3-DPG が低濃度である ACD 群の10, 14, 21日後では、2, 3-DPG の低下よりも P_{50} の低下の程度の方が強い。

8. 血清 H^+ 濃度: CPD・WB と ACD・WB の H^+ 濃度は採血直後それぞれ 92.3 ± 2.9 nmol/l, 216.2 ± 20.2 nmol/l と著明な差があり、その後4群ともに直線的に増加し、21日後には CPD・WB で 225.4 ± 7.9 nmol/l, CPD・RBC で 313.5 ± 7.8 nmol/l, ACD・WB で 319.8 ± 6.7 nmol/l,

図3 P_{50} の変化

図4 P_{50} と 2,3-DPG の相関

ACD・RBC で 392.4 ± 17.3 nmol/l となった(図5)。統計的有意差は表3に示す。

9. 血清電解質 (Na, K, Cl): 血清 Na は CPD・WB では採血直後 160.7 ± 5.6 mEq/l であ

表2 P_{50} に関する群間比較. $p < 0.05$ ●, $p < 0.01$ ●●, $p < 0.001$ ●●●

Days	0	3	7	10	14	21
CPD・WB-CPD・RBC		●●	●●●	●●●	●●●	●
ACD・WB-ACD・RBC		N.S.	N.S.	●	N.S.	N.S.
CPD・WB-ACD・WB	N.S.	●●●	●●●	●●●	●●●	●●
CPD・RBC-ACD・RBC		●●	●●●	●●●	●	N.S.
CPD・WB-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●
CPD・RBC-ACD・WB		●●	●●●	●●●	●	N.S.

表3 血清 H^+ 濃度に関する群間比較. $p<0.05$ ●, $p<0.01$ ●●, $p<0.001$ ●●●

Days	0	3	7	10	14	21
CPD・WB-CPD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
ACD・WB-ACD・RBC		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	●●●
CPD・WB-ACD・WB	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
CPD・RBC-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
CPD・WB-ACD・RBC		●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
CPD・RBC-ACD・WB		●●●	●●●	●●●	●●●	N.S.

図5 血清 H^+ 濃度の変化。右下の図は pH の変化を示す。

図6 血清電解質 (Na, K, Cl) の変化

ったが、21日後には CPD・RBC $149.8 \pm 2.8 \text{ mEq/l}$, CPD・WB は $160.5 \pm 2.3 \text{ mEq/l}$ となった。一方 ACD・WB は最初 $174.5 \pm 2.3 \text{ mEq/l}$ と CPD・WB より有意に高かったが、ACD・RBC では21日後まで持続的に著明な低下を示し、ACD・WB ではわずかな低下のみが観察された。

血清Kは採血直後 CPD・WB で $4.00 \pm 0.03 \text{ mEq/l}$, ACD・WB で $5.17 \pm 0.01 \text{ mEq/l}$ であったが、その後21日後まで4群ともに直線的な増加を示し、CPD・WB, CPD・RBC, ACD・WB, ACD・RBC それぞれ $25.50 \pm 2.10 \text{ mEq/l}$, $50.50 \pm 4.51 \text{ mEq/l}$, $25.17 \pm 1.95 \text{ mEq/l}$, $67.17 \pm 7.42 \text{ mEq/l}$ となった。

血清Clの変化は4群ともに全経過を通じて少なく、CPDの2群で3日後の一時的増加に引き続く持続的ではあるがわずかな低下、ACD・RBCで持続的増加が見られた。ACD・WBでは観察期間中殆んど変化を示さなかった。血清電解質の変化は図6に、統計的有意差は表4に示す。

10. 保存期間中の血清電解質、グルコース、ラクテート、パイルベート、 H^+ の量的変化：血清中の物質の測定は濃度で表わされているために血清量が異なる全血保存血と赤血球濃厚液では比較が困難であるため、Htをもとに血清量を算出し、測定物質の濃度との積で各物質の量を求めた。変化した量とは採血直後と21日後における量の差である。

血清NaはCPD・WBで $0.13 \pm 0.39 \text{ mEq}$ 増加したが、他の3群では $0.48 \sim 0.84 \text{ mEq}$ の減少を示した。血清Kは今回測定した電解質の中で最も著明な変化を示し、4群ともに増加した。血清

表4 血清電解質に関する群間比較. $p<0.05$ ●, $p<0.01$ ●●, $p<0.001$ ●●●

Days		0	3	7	10	14	21
Na ⁺	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	●	●●	●●	●●●
	CPD・WB-ACD・WB	●	N.S.	●	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	●●	●
	CPD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	●●	●●●	●●●
	CPD・RBC-ACD・WB	/	N.S.	●●	●●	●●	●●
K ⁺	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	●●	●●●	●●●	●●●	●●
	CPD・WB-ACD・WB	●●	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	●
	CPD・WB-ACD・RBC	/	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
	CPD・RBC-ACD・WB	/	●●●	●●●	●●●	●●●	●●●
Cl ⁻	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・WB	N.S.	●●●	●●●	●●●	●●●	●
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	●	●	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・RBC	/	●	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB	/	●●●	●●●	●●●	●●	●

Cl は Na, K に比較して変化が少なく CPD・RBC でわずかに低下を示し, 残りの3群で増加した。

グルコースの減少, およびラクテート, パイルベートの増加に関しては4群間で一定の規則性が見られた。すなわち, これら3つのパラメーターの変化の強さは比例し, その変化の程度は, 大きいものから CPD・WB, CPD・RBC, ACD・WB, ACD・RBC であった。

H⁺ の増加は CPD の2群では ACD の2群よりも大きく, 各群の WB と RBC の間では殆んど差が見られなかった。

保存中の血清中の物質の変化は図7に, 統計的有意差は表5に示す。

11. 赤血球浸透圧抵抗: HSP は採血直後 ACD・WB で $105.7 \pm 1.5 \text{ mOsm/l}$, CPD・WB で $107.8 \pm 4.2 \text{ mOsm/l}$ であったが, ACD の2群では14日

後まで持続的に増加し, それ以後の変動は少なく, 21日後には ACD・WB は $121.2 \pm 5.2 \text{ mOsm/l}$, ACD・RBC は $119.8 \pm 5.6 \text{ mOsm/l}$ となった。CPD の2群は3日後にわずかな低下を示した後, 7, 10日後にかけて漸減し, 21日後には CPD・WB で $117.3 \pm 1.0 \text{ mOsm/l}$, CPD・RBC で $117.3 \pm 0.8 \text{ mOsm/l}$ となった。

HMP は採血直後 ACD・WB で $91.3 \pm 3.8 \text{ mOsm/l}$, CPD・WB で $84.7 \pm 1.5 \text{ mOsm/l}$ であり, その後 ACD の2群はわずかながら減少する傾向があり, 21日後には ACD・WB で $86.7 \pm 6.6 \text{ mOsm/l}$, ACD・RBC で $87.0 \pm 9.5 \text{ mOsm/l}$ となった。一方 CPD の2群は増加の傾向を示し, 21日後には CPD・WB で $92.3 \pm 2.7 \text{ mOsm/l}$, CPD・RBC で $95.0 \pm 7.3 \text{ mOsm/l}$ となり, ACD の2群と CPD の2群の値が逆転している。

HEP は採血直後 ACD・WB で 48.0 ± 3.4

図7 血清電解質，グルコース，ラクテート，パイ
ルベート，H⁺が保存期間中に変化した量を示す。

mOsm/l, CPD・WB で $47.0 \pm 2.2 \text{ mOsm/l}$ であ
ったが、その後4群ともに一時的に軽度の増加を
示した後低下し、21日後には ACD・WB, ACD・
RBC, CPD・WB, CPD・RBC それぞれ $41.5 \pm$
 1.5 mOsm/l , $43.5 \pm 2.2 \text{ mOsm/l}$, $44.8 \pm 3.5 \text{ mOsm/}$
 l , $46.7 \pm 2.0 \text{ mOsm/l}$ となった。

HW は採血直後 ACD・WB で 57.7 ± 4.0
 mOsm/l , CPD・WB で $60.8 \pm 5.0 \text{ mOsm/l}$ であ
ったが、その後 ACD の2群では持続的な増加、
CPD の2群では一時的な低下の後、持続的に増加
し、21日後には ACD・WB, ACD・RBC, CPD・

図8 赤血球浸透圧抵抗。上からHSP-溶血開始値、
HMP-最大溶血値、HEP-溶血終了値、HW-溶血
幅を示す。

WB, CPD・RBC それぞれ $78.2 \pm 5.3 \text{ mOsm/l}$,
 $76.3 \pm 5.4 \text{ mOsm/l}$, $72.5 \pm 3.5 \text{ mOsm/l}$, 70.7 ± 2.7
 mOsm/l となった。赤血球浸透圧抵抗の変化は図
8に、統計的有意差は表6に示す。

表5 血清電解質，グルコース，ラクテート，パイルベート，H⁺ の変化の量に関
する群間比較。p<0.05●，p<0.01●●，p<0.001●●●

	Na (mEq)	K (mEq)	Cl (mEq)	Glu. (mg)	Lact (mg)	Pyru. (mg)	H ⁺ (n mol)
CPD・WB-CPD・RBC	●	●●●	●	●●	●	●●	N.S.
ACD・WB-ACD・RBC	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
CPD・WB-ACD・WB	N.S.	N.S.	N.S.	●●●	●●●	●●●	N.S.
CPD・RBC-ACD・RBC	N.S.	N.S.	N.S.	●●●	●●	●●●	●
CPD・WB-ACD・RBC	N.S.	N.S.	N.S.	●●●	●●●	●●●	●
CPD・RBC-ACD・WB	N.S.	●	N.S.	●●●	●	●●●	N.S.

表 6 赤血球浸透圧抵抗に関する群間比較. $p<0.05$ ●, $p<0.01$ ●●, $p<0.001$ ●●●

Days		0	3	7	10	14	21
H S P	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・WB	N.S.	●	●●	N.S.	●	●
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	●	●●	●	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・RBC	/	●●	●●●	N.S.	●	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	●
H M P	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	●	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・WB	●●	●	●●	●	N.S.	●
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	●	●	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・RBC	/	●	●●	●●	N.S.	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB	/	N.S.	●	N.S.	●	●
H E P	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	●	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・WB	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	N.S.	●●●	●	●●	●
	CPD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	●●	●	●	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB	/	N.S.	●	N.S.	●	●●●
H W	CPD・WB-CPD・RBC	/	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	ACD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	N.S.	●●	N.S.	N.S.
	CPD・WB-ACD・WB	N.S.	N.S.	●	N.S.	●	●
	CPD・RBC-ACD・RBC	/	N.S.	●●●	●	●	●
	CPD・WB-ACD・RBC	/	N.S.	●●●	●	●●	N.S.
	CPD・RBC-ACD・WB	/	N.S.	●	N.S.	●	●●

考察

血液の保存中の変化に関する研究の歴史は古く^{1)~3)}、その発展の過程で容器もガラス瓶からプラスチックに代わり、また、現在日本でまだ主流を占めている ACD 液による保存も CPD 液による保存に代わろうとしている。またこれら既存の保存液にアデニン等を加えることにより、より長期間安定した血液保存を行なおうとする試みも盛んに行なわれている^{2) 9) 10) 25) 26)}。

一方、血液のより有効な利用法として成分輸血が盛んになって来ており、この分野での報告も多

い^{6) 9) 26)}。しかしながらそれらの報告の多くは各パラメータの測定別に実験を組んでおり、また観察時間の設定も報告者によって異なるので、異なった種類の保存血液間の比較はもとより、同一保存状態のものでも各パラメータ間の相互関係の把握が困難であった。また最近高性能な酸素解離曲線自動描記装置の開発により P_{50} 値のみならず酸素解離曲線全体を得ることが出来るようになった^{15) 16)}。われわれがそのうちの一つである Hemox-Analyzer[®] を使用した研究の結果、性別、年齢別に 2, 3-DPG, P_{50} 値にかなりの相違がある

図9 赤血球における代謝経路を示す。□内は今回の実験で測定した項目

ことが明らかになったために¹⁴⁾、保存血の実験に関しても年齢および性の統一の必要性を感じた。そこで今回著者は23歳から36歳(平均27.4歳)の健康男性の血液のみを研究に使用した。WBとRBCは同一人の血液より作製し、またすべてのパラメータは同一試料を使用して行なうことにより各パラメータ間の正確な相互関係の把握を試みた。

赤血球の代謝の概要が図9に示してある。成熟した赤血球はミトコンドリアを持たないのでブドウ糖のほとんどは Embden-Meyerhof の経路で嫌気性代謝を受け、ごく少量がペントース回路を通りグリコーゲンに変えられる。また解糖系の一部として Rapoport-Luebering 回路が存在し、この側路により 2,3-DPG が産生される²⁷⁾。この2,3-DPGはHb分子に対して O_2 と競合関係にあり、効率の良い酸素の運搬に重要な役割を持っている²⁸⁾²⁹⁾。赤血球はまた、蛋白質合成や核酸合成などを行なわないので、産生されたATPはNa-K pumpや赤血球形態の維持に使われる²⁷⁾³⁰⁾。

今回著者は血液の保存中の糖代謝の指標として、赤血球内2,3-DPG、血清グルコース、ラクテート、パイルベートを測定した。しかし2,3-DPG以外は血清中の濃度であり、WBとRBCとでは血清量の違いがあることや、ACD“A”液と

CPD液では液の組成や量も多少異なるので、異なった種類の保存血液間での比較は困難である。そこでそれらのパラメータの濃度の測定のみならず量の変化を血清量、血清中の濃度を基に算出し、保存期間中の正味の変化を求めた(図8)。そのために濃度の変化のみでは実態の把握が難しかった部分も明確になり、4群間に一定の規則性を見い出すことが出来た。それによると糖代謝の面ではグルコースの低下とラクテート、パイルベートの増加が4群とも呼応しており、これらの結果を総合的に解釈すると、糖代謝は保存血の種類、すなわちWBであるかRBCであるかということよりも保存液の違いの方が影響が大きく現われ、CPDの2群ではACDの2群より活発な状態で解糖系が保たれていることが解った。この糖代謝のACD群とCPD群の間の違いは主に両者間pHの相違によるものであり、このpHの違いが細胞内でもpHの違いを引き起こし、主にphosphofructokinaseにおける活性の変化を来たすと言われている²⁷⁾。一方同じ保存液間でのWBとRBCの相違について述べると、最初pHが同じでありながら糖代謝が異なるのはWBとRBCでは細胞内外における糖代謝関係物質の濃度差が重要な役割を果たしていると推測される。例えばCPD・WBとCPD・RBCとを比較した場合、ある短い単位時間内に同程度の代謝が起こったとしてもWBではRBCに比して血清量が多いのでグルコースの低下は少なく、その分だけRBCよりも高い濃度差が細胞内外で保たれ、また産生されるパイルベート、ラクテートに関してはWBではRBCに比較して、より多量の血清で希釈されるためにこれらの代謝産物に関しても細胞内外の濃度差が保たれ、これらの物質の細胞内→細胞外の移動が円滑に進む。以上のことがWBにおいてRBCよりも円滑に糖代謝を続けることを可能にしていると思われる。

ACD群でもCPD群と同様にWBの方がRBCよりも糖代謝が活発に保たれている傾向はあるが、統計的有意差を示すまでに至っていない。この理由はACD群では代謝の速度があまり

に低いために、先に述べた糖代謝関連物質の細胞内外の差が WB と RBC との間であまり変わらないためと推測される。これらの理論的根拠としては、パイルベート→ラクテートの反応は GAP (glyceraldehyde-3-phosphate)→1, 3-DPG の反応と NAD, NADH を介して結びついている²⁷⁾ので、ラクテートの増加は解糖系の途中の反応を抑制することが考えられ、実際に保存血にラクテートやパイルベートを加えることにより、細胞内外におけるこれらの物質の濃度差を減少させ糖代謝を抑制することに成功しているということが挙げられる^{31) 32)}。

2, 3-DPG も糖代謝の状態と直結しており、糖代謝が活発に保たれているグループほど 2, 3-DPG の減少は少なく、その程度の少ない順から、CPD・WB>CPD・RBC>ACD・WB≒ACD・RBC と、他の糖代謝関連物質が示した変化の順序とはほぼ一致していた。

また H^+ の量的変化もラクテート、パイルベートの血清中への増加を反映し、その変化の程度も CPD・WB>CPD・RBC>ACD・WB≒ACD・RBC であった。

RBC の保存中の P_{50} の変化については組織的な研究が見当らないし、また WB に関しては採血直後の P_{50} が従来報告されていたものよりも高い値を示したことが注目される。まず、採血直後の P_{50} 値が従来報告よりも高かった理由であるが、① すべての試料を採血直後3時間以内に測定したこと、② pH は7.4で、しかも長時間赤血球機能に影響を与えない特殊な緩衝液¹⁹⁾を使用したことなどが挙げられる。

RBC の P_{50} 値の保存中の変化に関しては、個々の 2, 3-DPG の変化とはほぼ同じ動きであり、WB と同様に P_{50} 値と 2, 3-DPG が強い相関関係にあることが解った。しかしながら図4からも明らかなように、2, 3-DPG が $0.7\mu\text{mol/ml}$ RBC 以下の所では急速に P_{50} 値が低下し両者の関係が崩れている。この原因として細胞内 pH の変化が考えられるが、糖代謝のパラメータおよび pH の変化からは、この時期(この部分を構成している

のは主に ACD 群の10, 14, 21日後)に細胞内 pH が急速に変化したとは考え難く、今後の研究を必要とする。

電解質に関しては K の変化が最も大きく、Na, Cl の3~5倍の変化を示し、多少の例外的な動きはあるが、保存期間中の K の細胞外への漏出と Na の細胞内への流入が観察された。これらの電解質の変化はいわゆる Na-K pump の働きの低下によるものであるが^{1) 2) 8) 9) 13)}、先に述べた糖代謝とは異なり、ACD 液であるか CPD 液であるかの違いよりも WB であるか RBC であるかの方が重要な因子であるように思われる。また臨床的な面からの興味として、RBC の非常に高い K 濃度が問題になるが、量的には WB に比較して臨床レベルでの差は無視出来る範囲内のものである。

細胞膜の integrity のもう一つの指標としての赤血球浸透圧抵抗の研究は、RBC に関しては充分になされていなかった。今回4種類の保存血の赤血球浸透圧抵抗を CPC 法を使って比較したところ、電解質の場合と同様に、著者の実験前の予想に反して、糖代謝に見られたほどの差が各保存血間に見られなかったのみならず、同一群の経時的变化も、他のパラメータの経時的变化ほどではなかった。しいて言えば、CPD の2群では ACD の2群に比して多少なりとも赤血球浸透圧抵抗が長期間保たれる。また同様に細胞膜の integrity を示す電解質の変化と比較した場合でも両者の変化は一致しておらず、Na-K pump の機能低下が必ずしも物理的な細胞膜の脆弱性を意味しないことを示している。これらの細胞膜の変化は 2, 3-DPG を含む糖代謝の変化よりは、ATP レベル³⁰⁾や脂質代謝³³⁾などにより強く影響されている可能性を推測させる。

結論

今回著者は平均年齢27.4歳の健康男子(12人)の血液を用い、CPD 保存全血、CPD 保存赤血球濃厚液、ACD 保存全血、ACD 保存赤血球濃厚液の4群の代謝性および機能性変化を調べ比較検討し以下の結果を得た。

1. 糖代謝の活動性は、CPD 保存全血>CPD 保存赤血球濃厚液>>ACD 保存全血 $\approx$ ACD 保存赤血球濃厚液であった。

2. 赤血球本来の機能を示す酸素解離曲線は糖代謝の活動と平行しており、その順序も CPD 保存全血>CPD 保存赤血球濃厚液>>ACD 保存全血 $\approx$ ACD 保存赤血球濃厚液であった。

3. 血清電解質の変化は保存液の種類よりは全血であるか赤血球濃厚液であるかに影響される。

4. 赤血球浸透圧抵抗は CPD の2群で ACD の2群よりも良く保たれていた。

5. 血液保存中の糖代謝、Na-K pump の機能および細胞膜の物理的脆弱性の三者の変化は必ずしも並行しているわけではなかった。

6. 赤血球濃厚液における高い濃度の血清 K も、量的には全血と大差なく、臨床上問題はないと思われる。

従って、現在まだ主流を占めている ACD 液による血液保存は早急に CPD 液による血液保存に変えられるべきであり、また保存血液のより有効な利用法としての赤血球濃厚液の利用が現在行なわれている以上に促進されるべきであろう。

稿を終えるにあたり、懇切なご指導を賜りました佐藤暢教授およびご校閲を賜りました本学中村克己教授、日本赤十字社中央血液センター徳永栄一所長に深甚なる謝意を表し、また本実験に終始ご協力いただいた岡崎直人助手、飯島憲司助手に厚く感謝いたします。

本論文の要旨は次の学会において発表した。

第28回日本輸血学会総会（東京，1980）

第7回世界麻酔学会（ハンブルグ，1980）

文 献

- 1) Rapoport, S.: Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. I. Blood preserved in sodium citrate, neutral, and acid citrate-glucose (ACD) mixtures. *J. Clin. Inv.*, **26**: 591—615, 1947.
- 2) 吉川春寿, 米山良昌, 中尾 真ほか: 保存血液の生化学的变化について. *医学のあゆみ*, **29**: 204—213, 1959.
- 3) Sasakawa, S. and Tokunaga, E.: Physical and chemical changes of ACD-preserved blood; A comparison of blood in glass bottles and plastic bags. *Vox Sang.*, **31**: 199—210, 1976.
- 4) Sasakawa, S., Tokunaga, E., Hasegawa, G., et al.: Osmotic fragility changes in preserved blood; Measurements by coil planet centrifuge and Papart methods. *Vox Sang.*, **33**: 187—192, 1977.
- 5) Sasakawa, S., Honda, K. and Miyamoto, M.: Change of oxygen affinity of hemoglobin in different conditions of blood preservation. *Vox Sang.*, **34**: 164—170, 1978.
- 6) 笹川 滋, 野中登美子, 三富齊忠ほか: ヒト赤血球濃厚液の保存中の変化について. *日本輸血学会雑誌*, **23**: 164—167, 1978.
- 7) Honda, K., Miyamoto, M. and Sasakawa, S.: Changes in 2,3-DPG content and oxygen affinity in erythrocytes stored at 4°C. *Vox Sang.*, **37**: 229, 1979.
- 8) 笹川 滋, 徳永栄一: 保存血の物理的および化学的性質の変化について, II. 温度による影響. *日本輸血学会雑誌*, **22**: 5—9, 1977.
- 9) Shields, C.E.: Studies on stored whole blood. Use of packed red blood cells. *Transfusion*, **9**: 1, 1969.
- 10) Huisman, T.H.J., Boyd, E.M., Kitchens, J., et al.: Oxygen equilibria and biochemical changes of whole blood stored in different preservation media. *Transfusion*, **9**: 180—190, 1969.
- 11) Dawson, R.B. Jr., Kocholaty, W.F. and Gray, J.L.: Hemoglobin function and 2,3-DPG levels of blood stored at 4°C in ACD and CPD. pH effect. *Transfusion*, **10**: 299—304, 1970.
- 12) More, G.L., Harrison, J.H. and Rau, D.C.: The relationship between hemoglobin function and membrane integrity in erythrocytes during cold storage. *Transfusion*, **12**: 175, 1972.
- 13) Walls, C.H.: Sodium and potassium changes in blood bank stored human erythrocytes. *Transfusion*, **19**: 210—215, 1979.
- 14) 鈴木正典, 岡崎直人, 小田 貢ほか: 年齢, 性別による酸素解離曲線の差異および P_{50} 値と 2,3-DPG, ヘモグロビンとの相関, 呼吸と循環, **28**: 1397—1400, 1980.
- 15) 佐々木 慎一: 血糖の迅速微量定量法. o-Toluidine-硼酸法による. *臨床検査*, **11**: 409—413, 1967.
- 16) Ericson, A. and De Verdier, C.H.: A modified method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, **29**: 85—90, 1972.
- 17) Landon, J., Fawcett, J.K. and Wynn, V.: Blood pyruvate concentration measured by a specific method in control subjects. *J. Clin.*

- Path., **15**: 579—584, 1962.
- 18) Gutmann, I. and Wahlefeld, A.W.: L-(+)-Lactate determination with lactate dehydrogenase. in ed., Berhmyer, H.U. Methods of enzymatic analysis. Vol 3, 1464—1468 Verlag Chemie Weinheim and Academic Press, New York, 1974.
- 19) 佐藤 暢, 岡崎直人, 浅倉稔生: 血液酸素解離曲線自動測定装置とその臨床的意義. 日本医事新報, **2876**: 475—480, 1980.
- 20) 佐藤 暢, 岡崎直人, 浅倉稔生: 血液酸素解離曲線自動描記装置の特徴 Hemox-Analyzer と Hem-O-Scan の比較. 医学のあゆみ, **112**: 475—480, 1980.
- 21) Campbell, E.J.M.: Hydrogen ion (acid-base) regulation, in Clinical physiology. 2nd edition. ed., Campbell, E.J.M., Dickinson, C.J., Slater, J., Blackwell, 202—224, 1963.
- 22) Schales, O. and Schales, S.S.: A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluids. J. Biochem. Chem., **140**: 879—884, 1941.
- 23) Ito, Y., Weinstein, M., Aoki, I., et al.: The coil planet centrifuge. Nature, **228**: 985—987, 1966.
- 24) 紫田 進, 山田 治: コイルプラネット遠心器による検査. 臨床検査, **20**: 373—381, 1976.
- 25) Beutler, E., Meul, A. and Wood, A.: Depletion and regeneration of 2,3-diphosphoglyceric acid in stored red blood cells. Transfusion, **9**: 109—114, 1969.
- 26) Moore, G.L., Ledford, M.E., Brummell, M.R., et al.: The potential use of dihydroxyacetone for improved 2,3-DPG maintenance in red blood cell storage; Solution stability and use in packed cell storage. Transfusion, **20**: 24—31, 1980.
- 27) Jacobasch, G., Minakami, S. and Papoport, M.: Glycolysis of the erythrocyte. in Cellular and molecular biology of erythrocytes ed. Yoshikawa, H., Papoport, S.M., 55—92 University of Tokyo Press 1974.
- 28) Benesch, R. and Benesch, R.E.: The effect of organic phosphate from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. Biochem. Biophys. Res. Comm., **26**: 162—167, 1967.
- 29) Chanutin, A. and Curnish, R.R.: Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium on human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys., **121**: 96—102, 1967.
- 30) Nakao, K., Wada, T. and Kamiyama, T.: A direct relationship between adenine triphosphate level and in vivo viability of erythrocyte. Nature, **194**: 877—878, 1961.
- 31) 遠山 博, 関口 弥: 血液の保存と管理, 輸血学. 遠山 博編著, 67—94, 中外医学社, 1978.
- 32) Paniker, N.V. and Beutler, E.: Pyruvate effect in maintenance of ATP and 2,3-DPG of stored blood. J. Lab. Clin. Med., **78**: 472—482, 1971.
- 33) 神奈木玲児, 山田修平, 恒松徳五郎: 赤血球の浸透圧抵抗と膜の流動性. 日本臨床, **37**: 3875—3884, 1979.