6. 輸血と血液ガス分析：保存血の血液ガス分析ならびに 血液保存における至適 pH の検討

鳥取大学医学部付属病院麻酔科

上 平 敦

BLOOD TRANSFUSION AND BLOOD GAS ANALYSIS —OPTIMAL pH RANGE OF STORED BLOOD—

Atsushi Uehira

Department of Anesthesiology, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago, 683

Changes in ATP content and P_{50} of the blood during storage play an important role in oxygen transport and red blood cell viability. Three types of stored blood, namely CPD whole blood, CPD-CRC and MAP-CRC, with respect to blood gases, pH and *l*-lactate concentration were examined. The number of days of storage correlated with blood acidity and *l*-lactate concentration, and P_{50} correlated with pH. On the basis of these observations, the efficacy of high CO_2 permeability bags for blood preservation was tested. Blood P_{CO_2} remained lower and pH and P_{50} higher on storage in these bags than on storage in conventional bags. I also examined the effects of pH change on ATP and 2,3-DPG levels by addition of *l*-lactate to the stored blood. When pH of the blood was higher than 6.9, ATP level decreased significantly. When pH range was lower than 6.8, 2,3-DPG level decreased. These results suggest that pH between 6.8 and 6.9 is optimal for the simultaneous maintenance of adequate ATP and 2,3-DPG (and thus also P_{50}) levels.

Key words: blood preservation, pH, 2,3-DPG, P_{50} , ATP

はじめに

輸血用血液は、輸血後に赤血球が生体内で破壊されず、酸素を十分に組織に供給できる機能を持つ必要がある。臨床においては急速大量出血に対して急速大量輸血が必要とされるが、この時には生体内代謝によって輸血された赤血球の機能が徐々に回復するのを待つ余裕はなく、直ちに十分な酸素を組織に供給できなければならない。一方、輸血用血液製剤は、一定の基準で製造されていても、供血者の個人差、採血量の誤差、採血後の取り扱いにより各血液バッグ毎の内容が異なるのは当然である。また、血液保存液の種類、血液製剤の種類によっても異なり、さらに生きた細胞であるため保存期間によって内容に相当の違いが出る。赤血球が輸血後、体内で破壊されにくいために赤血球の ATP 濃度が保たれていることが必要である¹⁾。また赤血球が組織に酸素を供給するにはヘモグロビンの P_{50} を規定する 2,3-DPG が適切な値に保たれている必要がある。輸血用血液の重要な性状を決定するこれらの物質の濃度は、保存液の種類、保存期間、および血液の

pH²⁾³⁾に依存していることが知られている。そこで、まず実際に使用されている輸血用血液の血液ガス分析を行い、pH を始めとする血液の基本的性状が実際にはどのようなものであるのかの調査を行った。この結果を元に、保存血の pH を高く保つ方法として、ガス透過性容器を用いた血液保存実験と、どのような pH が赤血球保存に理想的なのかについての実験的検討を行った。

I. 輸血用血液のガス分析

目 的

実際に臨床で使用されている輸血用血液を対象に、輸血用血液の種類、保存期間による違いを検討した。

方法ならびに材料

[材料]1994年9月から11月までの間に、鳥取大学医学部付属病院で使用された血液、および廃棄予定の3本を含め計107本を対象とした。これら血液の種類別本数ならびに保存期間を Table 1 に示す。MAP 血（以下 MAP と略す）の保存期間は CPD 全血（以下 CWB と略す）および CPD 赤血球濃厚液（以下 CRC と略す）

Table 1

	Days Stored mean±S.D	n	min	max
CWB	12±3.6	15	5	15
CRC	12±3.1	18	2	16
MAP	20±11.2	74	3	52
Total	17±10.3	107	2	52

CWB: CPD whole blood, CRC: CPD concentrated red blood cell, MAP: mannitol-adenine-phosphate concentrated red blood cell, n: sample number, min: minimum days of storage, max: maximum days of storage

より有意に長かった。

〔検体の採取〕血液バック内で血液をよく攪拌した後、ヘパリン化した注射器を用い、気泡を作らないように2mlを採取した。

〔測定項目ならびに測定機器〕血液ガス分析値 (pH, Pco₂, Po₂)、ヘマトクリット、Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺はIL BGElectrolytes®を用いて測定した。IL-482®を用い酸素飽和度 (So₂) ならびにヘモグロビン (Hb) を測定した。l-乳酸ならびにブドウ糖濃度は YSI MODEL 2300 STAT GLUCOSE & l-LACTATE ANALYZER®を用い測定した。血液の (pH=7.40, Pco₂=40 mmHg での) P₅₀は, Adair の式をもとに作成したプログラム⁴⁾を用い, 血液ガス分析の結果および Hb, So₂ から算出した。平均の差の検定にはスチューデントの t-検定を用い, 5%以下をもって有意水準とした。

結果 (Table 1, 2)

保存期間は MAP 血 (MAP) が CPD 全血 (CWB) ならびに CPD 赤血球濃厚液 (CRC) より長かった。血液の pH は MAP が CWB 及び CRC より低く, 全体の平均は 6.5 と生理的な血液より低値であった。また血液の pH は保存期間が長いほど低くなる傾向があり, 保存期間の幅が大きい MAP の pH と保存日数の関係をみると, 保存日数の対数に比例して pH の低下がみられ (p<0.001), CWB (p<0.1), CRC (p<0.05)

Fig. 1 Relation between number of storage days and blood pH

○: CWB. $pH = -0.17 \cdot \ln(\text{days}) + 7.16$, $r^2 = 0.45$, ×: CRC. $pH = -0.16 \cdot \ln(\text{days}) + 7.02$, $r^2 = 0.64$, △: MAP. $pH = -0.15 \cdot \ln(\text{days}) + 6.85$, $r^2 = 0.80$

でも同様の傾向がみられた (Fig. 1)。Pco₂はCRCがCWBおよびMAPより高い値を示した。Po₂は, MAPがCWBならびにCRCより高値であったが, CWBとCRCには有意差を認めなかった。P₅₀はMAPでは他の2種類の血液より極めて低く, またCWBおよびCRCにおいても正常人のP₅₀と比較して6mmHg程度低くなっていた。P₅₀のpHによる回帰においては血液製剤の種類による差を認めず, P₅₀はpHとよく相関しており (p<0.001), pHが低いほどP₅₀も低かった (Fig. 2)。ヘマトクリットはCRCが最も高く, 次いでMAPが高かった。

血漿イオン化ナトリウム (Na⁺) はCRCがCWBより低く, さらにMAPではCWB, CRCいずれと比較しても有意に低かった。血漿イオン化カリウム (K⁺) はMAPがCRCより高く, CRCはCWBよりも高かった。最も低いCWBにおいてすらK⁺の平均値は正常静脈血の2倍以上の高値であった。血漿イオン化

Table 2 Blood gas analyses and bio-chemical laboratory data

	pH	Pco ₂ (mmHg)	Po ₂ (mmHg)	Ht(%)	P ₅₀ (mmHg)	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Ca ⁺⁺ (mEq/L)	l-Lactate (mmol/L)	Glucose (g/dl)
CWB	6.76±0.10	113±19.5	57±18	33±6.7	21±3.2	143±7	10.3±1.9	0.27±0.36	6.7±2.1	252±88
CRC	6.64±0.09	144±18.6	48±11	54±7.3	20±1.4	136±4	20.2±4.7	0.41±0.40	8.0±2.3	123±42
MAP	6.41±0.10	107±17.0	75±43	43±9.1	16±1.1	95±10	23.5±8.1	0.15±0.19	7.2±2.6	296±62
Total	6.50±0.17	114±22.3	68±38	43±10.3	17±3.0	108±22	21.0±8.4	0.21±0.28	7.3±2.5	261±90

mean±S.D

Fig. 2 Relation between blood pH and P_{50}
○ : CWB, × : CRC, △ : MAP

Fig. 3 Relation between *l*-lactate content and pH
○ : CWB. $\text{pH} = -0.032 \cdot [\textit{l}\text{-Lactate}] + 6.976$, $r^2 = 0.46$,
× : CRC. $\text{pH} = -0.025 \cdot [\textit{l}\text{-Lactate}] + 6.831$, $r^2 = 0.41$,
△ : MAP. $\text{pH} = -0.031 \cdot [\textit{l}\text{-Lactate}] + 6.636$, $r^2 = 0.62$

There was no significant difference between any of the gradients.

カルシウム (Ca^{++}) は CRC が CWB ならびに MAP より高かったが, CWB と MAP には差がなかった. *l*-乳酸濃度はいずれの血液も正常静脈血と比べて著しく高値を示したが, 各血液種別間で差は認めなかった. pH と *l*-乳酸との関係を見ると, pH は *l*-乳酸濃度と逆相関を認め, 血液製剤の種類ごとの傾きに有意差を認めなかった (Fig. 3). ブドウ糖濃度は CRC が CWB ならびに MAP に比べて有意に低かった. また MAP が CWB よりもブドウ糖濃度が高い傾向にあった.

考 案

輸血用血液の pH は血液製剤の種類と保存期間によ

り異なっていたが, 血液製剤の種類別にみると *l*-乳酸の濃度の増加に伴い pH が減少しており, 保存中の赤血球での糖代謝により産生された有機酸が pH 低下の要因であると考えられる. P_{50} は血液製剤の種類によらず pH とよく相関しており, pH が低いほど P_{50} も低かった. したがって, P_{50} が MAP で最も低く, また保存期間が長い程 P_{50} が低かったのは pH の影響によると思われる. 添加されている血液保存液の種類や量の違いにもかかわらず, pH と P_{50} の間に強い相関が認められた. このことは, 保存血の P_{50} を維持するうえで, 血液の pH を高く保つことが重要であることを意味する. ブドウ糖濃度の差は保存液の組成と量によるものとする. 血液製剤の臨床的使い分けを考える時, 大量輸血など特に P_{50} の維持が重要な場合は CWB か CRC で保存期間が短いものを選択すべきであり, MAP の保存期間の長いものは避けるべきである. またこの時, 血液製剤の pH が測定できるならば, pH が低いものは避けるべきであろう. 腎不全患者など高カリウム製剤の投与が危険な患者で, 赤血球の洗浄が出来ない場合には, 容量負荷の適否により CWB か CRC を選択すべきであり, 少なくとも MAP を使用すべきではない. また, 過血糖を避けるべき病態では CRC が適応となる.

II. 炭酸ガス透過性容器を用いた血液保存

目 的

血液保存を行うにあたり, 特に輸血された血液の機能に着目すると, 保存中の血液の pH の管理が重要であることが明らかになった. そこで, 保存中の血液の pH の低下を防ぐ方法の一つとして, pH と Pco_2 の関係に着目した. すなわち, 血液保存容器の壁を通した炭酸ガスの拡散を改善することにより, 増加した二酸化炭素分圧を低下させれば pH の低下をある程度緩衝でき, 2,3-DPG および P_{50} が高い状態で血液を保存できるかを検証するために各種薄膜容器を用いた血液保存実験を行った.

材料ならびに方法

1. ポリ塩化ビニル (以下 PV と略す) 製シート (厚さ約 400μ , 120μ , 60μ , 20μ), ポリエチレン (以下 PE と略す) 製シート (厚さ約 50μ) を用い容量約 100ml のバッグを作成し, 滅菌処理を行った. なお市販の血液保存バッグの素材は PV であり, その厚さはおよそ 400μ である.

2. 市販の CPD 採血バッグ (200ml 用, テルモ, 川澄) を用い健康成人男子より静脈血 200g を採血し, 1.

で用意した二種類ずつの容器に110g ずつ分注し、比較実験のため血液保存用冷蔵庫（5℃）で保存した。

3. 採血当日、3日、7日、14日、21日、35日に検体を容器より採取し、以下の検査を行った。

4. 血液ガス分析（pH、Pco₂、Po₂）は IL-813®を用いて測定し、P₅₀は HEMOX-ANALYZER®を用いて測定した⁵⁾。

結 果

PV-20μ、PE では、pH は保存3日から保存21日にか

Fig. 4 Blood pH and number of storage days (mean±S.D.)
● : PV-400μ, □ : PV-120μ, ▲ : PV-60μ, ○ : PV-20μ, × : PE

Fig. 5 Relationship between pH and Pco₂ in the different blood containers on storage days of 0, 7, 14, 21 and 35
● : PV-400μ, □ : PV-120μ, ▲ : PV-60μ, ○ : PV-20μ, × : PE
— : pH and Pco₂ relationship in closed system calculated from experimental data ; blood titrated with L-lactate in closed system
 $P_{CO_2} = 2 \times 10^7 \times e^{-1.7614 \cdot pH}$ ($R^2 = 0.97$, $p < 0.001$)

Fig. 6 P₅₀ and number of storage days (mean±S.D.)
● : PV-400μ, □ : PV-120μ, ▲ : PV-60μ, ○ : PV-20μ, × : PE

けては PV-400μ、PV-120μ より高く保たれ、PV-60μ も保存3日を除き同様の傾向を示した (Fig. 4)。各保存容器ごとの pH と Pco₂ の関係をグラフに表し、閉鎖系で実験的に求めた血液における pH-Pco₂ 関係 (Fig. 5 の実線) と比較すると、PV-20μ、PE、PV-60μ では pH が低下しても Pco₂ が増加せず、Pco₂ の減少が pH の低下を防いでいる。PV-20μ は保存7日から21日まで PV-400μ と比較して P₅₀ が有意に高く保たれ、また PE、PV-60μ でも同様の傾向を認めた (Fig. 6)。しかし保存35日では差を認めなかった。また P₅₀ の維持の点からは PV-120μ は PV-400μ と差を認めなかった。

考 案

血液保存液および代謝産物により血液は酸性化するが、これにより血液中の重炭酸イオンは溶存二酸化炭素の形になり、Pco₂ の増加をもたらす。容器のガス透過性は素材およびその厚さに依存し、膜を介してのガスの拡散速度は膜の厚さに反比例し、厚さが薄いほど二酸化炭素透過性が良くなる。実験結果より PV-20μ、PE、PV-60μ は炭酸ガス透過性にすぐれ、血液 pH の低下に対する緩衝作用をもち、保存3週間でも、市販されている血液保存容器よりも P₅₀ を有意に高く保てることが示された。

III. 保存血の至適 pH の検討

目 的

血液保存において赤血球の ATP レベルを維持するには保存血液の pH を低く保つ必要があると言われており、一方、赤血球の 2,3-DPG は保存血の pH が高いほど高く保たれる。そこで ATP と 2,3-DPG の双方を保

つのに適切な pH を求めるため、さまざまな pH の血液を調整して保存を行い、保存中の ATP と 2,3-DPG の変化を調べ、適切な保存血の pH について検討した。

材料ならびに方法

血液の pH を調整するため、生理的に赤血球内でつくられる糖代謝産物の一つである有機酸の *l*-乳酸を 0 から 15mmol/L 相当を加えて行うこととした。

1. [*l*-乳酸の調整] *l*-乳酸 (和光純薬工業特級試薬) を生理食塩水で希釈し、0, 37.5, 75, 112.5, 150, 187.5, 225, 262.5, 300, 337.5, 375mmol/L の *l*-乳酸溶液となるように調整した。

2. [血液の採取ならびに調整] 健康成人男子から静脈血 50ml につきヘパリン 1,000U, 5 %ブドウ糖 3.24 ml を加えて採血し、密閉容器内で混和して冷却した。この血液を、大気にふれないように三方活栓を介して 2.5ml のプラスチック注射器 (テルモシリンジ®2.5 ml) に 2.4ml 注入し、シリコンゴムで覆った注射器の先端孔から 26G の針で調整したそれぞれの希釈乳酸溶液 0.1ml を注入・混和した後、密閉した。各添加乳酸濃度の血液試料を 6 検体ずつ用意した。

3. [測定項目ならびに測定法] 血液の一部をとりわけて採血初日の測定を行い、残りを 5℃で保存した後、7 日目にも測定を行った。血液ガス分析 (pH, Pco₂, Po₂) およびヘマトクリットは IL BGElectrolytes®を用い測定した。血液の酸素飽和度 (So₂) ならびにヘモ

グロビン (Hb) は IL-482®を用い測定した。*l*-乳酸ならびにブドウ糖は YSI MODEL 2300 STAT GLUCOSE & *l*-LACTATE ANALYZER®を用い測定した。*l*-乳酸の測定において、機器の測定レンジ (<15 mmol/L) を越えたものについては *l*-乳酸の結果の集計からは除外した。ATP ならびに 2,3-DPG は 0.6N 過塩素酸で除蛋白の後 -70℃以下で冷凍保存し、後日、2-3-DPG テスト (Boehringer Mannheim) および成書⁶⁾により酵素法で測定した。血液ガス分析の結果および Hb, So₂から自作のプログラム⁴⁾を用いて血液の pH=7.40, Pco₂=40mmHg での P₅₀を算出した。

結 果 (Table 3, 4)

[採血当日]

l-乳酸の添加により pH は低下し、pH の値は 6.7 から 7.35 にかけてほぼ一様に分布していた。pH は血液乳酸濃度と強い負の相関を示した (pH=7.389-0.052×[*l*-Lactate], r²=0.96, p<0.001)。Pco₂は pH が低いほど高く、その関係は採血当日、保存 7 日目ともほぼ同様で、Pco₂=2×10⁷×e^{-1.7614×pH} (r²=0.97, p<0.001) で近似できた。Po₂も pH が低いほど高くなったが、その値は採血当初の血液の酸素分圧、すなわち酸素含量に依存し、同じ血液を分割して作成した検体でグループ化して一次の線形近似を計算すると、いずれも r²=0.99 (p<0.001) と高い相関を示した。しかし So₂は pH と有意の相関を認めず、採血時の酸

Table 3 Added *l*-lactate and blood gas analyses

Added Lactate (mmol/L)	pH		Pco ₂ (mmHg)		Po ₂ (mmHg)		So ₂ (%)		P ₅₀ (mmHg)	
	0 day	7th day	0 day	7th day	0 day	7th day	0 day	7th day	0 day	7th day
0	7.35 ±0.02	7.09 ±0.02	46 ±4	76 ±7	42 ±7	65 ±13	75 ±11	82 ±11	25.7 ±1.1	25.6 ±0.9
1.5	7.29 ±0.02	7.04 ±0.02	52 ±5	84 ±9	44 ±8	68 ±14	73 ±13	81 ±12	26.4 ±0.9	25.7 ±1.0
3	7.22 ±0.02	6.99 ±0.02	58 ±4	90 ±9	51 ±8	74 ±15	70 ±19	82 ±12	27.2 ±0.9	26.2 ±0.9
4.5	7.17 ±0.04	6.96 ±0.02	65 ±7	95 ±8	50 ±9	74 ±16	74 ±13	81 ±12	26.2 ±0.5	26.4 ±0.6
6	7.09 ±0.03	6.91 ±0.02	75 ±7	104 ±10	54 ±9	77 ±15	74 ±12	81 ±11	26.0 ±0.8	26.6 ±0.5
7.5	7.04 ±0.02	6.87 ±0.02	82 ±7	110 ±8	56 ±11	78 ±17	73 ±13	80 ±13	26.2 ±1.0	26.2 ±0.7
9	6.97 ±0.03	6.84 ±0.03	92 ±7	116 ±10	60 ±10	80 ±17	73 ±13	81 ±11	26.6 ±0.7	25.7 ±0.4
10.5	6.90 ±0.04	6.80 ±0.03	105 ±11	124 ±12	64 ±11	80 ±18	73 ±12	80 ±12	26.1 ±0.5	25.1 ±1.2
12	6.85 ±0.05	6.74 ±0.03	116 ±13	136 ±13	66 ±12	79 ±18	73 ±13	80 ±12	25.7 ±0.8	23.5 ±1.2
13.5	6.80 ±0.04	6.68 ±0.04	125 ±15	150 ±12	70 ±11	77 ±18	73 ±12	79 ±12	26.1 ±0.6	21.7 ±1.0
15	6.81 ±0.14	6.69 ±0.11	123 ±32	147 ±26	69 ±11	77 ±19	73 ±13	79 ±12	25.8 ±0.7	22.0 ±2.7
Total	7.04 ±0.19	6.87 ±0.14	86 ±30	112 ±27	57 ±13	74 ±18	73 ±12	81 ±11	26.2 ±0.8	24.6 ±3.8

mean ±S.D.

Table 4 Added *l*-lactate and metabolites

Added Lactate (mmol/L)	<i>l</i> -Lactate (mmol/L)		ATP (mmol/L)		2,3-DPG (μmol/mlRBC)	
	0 day	7th day	0 day	7th day	0 day	7th day
0	0.9 ±0.4	5.8 ±0.4	1.6 ±0.1	0.6 ±0.1	4.7 ±0.5	4.6 ±0.9
1.5	2.1 ±0.3	7.1 ±0.4	1.6 ±0.2	0.7 ±0.1	4.5 ±0.5	4.7 ±0.7
3	3.5 ±0.3	8.1 ±0.5	1.6 ±0.1	0.8 ±0.1	4.8 ±1.5	5.0 ±0.4
4.5	4.2 ±0.5	8.4 ±0.5	1.5 ±0.2	1.0 ±0.1	4.1 ±0.6	5.2 ±0.7
6	5.6 ±0.4	10.1 ±0.4	1.5 ±0.1	1.1 ±0.1	4.3 ±0.2	5.1 ±0.7
7.5	6.8 ±1.0	10.9 ±1.3	1.5 ±0.2	1.3 ±0.3	3.9 ±0.6	4.5 ±0.7
9	7.8 ±0.7	11.5 ±0.8	1.5 ±0.1	1.2 ±0.2	4.2 ±0.5	4.0 ±0.5
10.5	9.5 ±0.6	10.8 ±3.1	1.3 ±0.5	1.4 ±0.2	3.9 ±0.2	3.4 ±1.2
12	10.5 ±1.3	13.6 ±0.9	1.4 ±0.1	1.4 ±0.1	3.8 ±0.4	2.2 ±0.5
13.5	11.5 ±0.8	14.0 ±1.5	1.3 ±0.2	1.4 ±0.1	3.8 ±0.4	1.2 ±0.7
15	11.1 ±2.0	13.3 ±2.1	1.4 ±0.1	1.3 ±0.1	3.8 ±0.4	1.8 ±0.6
Total	6.7 ±3.7	10.2 ±2.9	1.5 ±0.2	1.1 ±0.3	4.2 ±0.7	3.8 ±1.6

mean ±S.D.

素含量のみに依存し、ほぼ一定であった。P₅₀も pH にかかわらずほぼ一定であった。

2,3-DPG 濃度の採血当日の平均は4.177±0.76 μmol/m/RBCであった。また pH が低いほど2,3-DPG 濃度は低下する傾向にあった (r²=0.26, p<0.1)。ATP 濃度の平均は1.48±0.22μmol/m/RBCであり、pH によらずほぼ一定であった。

[保存7日目]

pH は保存によって約0.2低下した。またその低下の程度は初期の pH に依存し、pH の低い血液では pH の低下が少なかった (pH_{0day} - pH_{7day} = 0.30 × pH_{0day} - 1.947, r²=0.79, p<0.001)。また pH は *l*-乳酸濃度とよく相関した (pH = 7.318 - 0.043 × [*l*-Lactate], r²=0.86, p<0.001)。Pco₂は保存により約26mmHg 増加したが、計算により求めた総 CO₂量はほとんど変化がなかった。Po₂ならびに So₂は保存によりそれぞれ17mmHg, 7%の増加が認められた。P₅₀は保存初日の pH が低い血液では保存により P₅₀の低下が認められたが、添加乳酸濃度が低く保存初日 pH の高い血液では保存による P₅₀の低下は認められなかった。

l-乳酸は保存により増加したが、その程度は保存初日の pH が高いほど大きい傾向にあった ([*l*-

Lactate_{7day}] - [*l*-Lactate_{0day}] = 4.64 × pH_{0day} - 28.9, r²=0.37, p<0.01)。2,3-DPG は保存当初の pH が高い血液では7日の保存によっても減少は見られず、保存初日の pH が7.0から7.3の間の血液では増加していた (Fig. 7)。しかし保存初日の pH が7.0以下の血液では2,3-DPG が減少しており、その減少量は保存初日の pH が低いものほど大きく、全体として保存初日の pH が7.16を頂点とする二次関数で保存に伴う2,

Fig. 7 Change of ATP and 2,3-DPG vs. initial pH
○ : ΔATP = [ATP_{0day}] - [ATP_{7day}] = -2.447 · pH_{0day}² + 32.579 · pH_{0day} - 108.35, r²=0.74
× : ΔDPG = [2,3-DPG_{0day}] - [2,3-DPG_{7day}] = -19.469 · pH_{0day}² + 278.86 · pH_{0day} - 997.93, r²=0.61

3-DPG の変化量を近似でき、この曲線上で pH の低下により 2,3-DPG の変化が 0 となる pH は 6.98 であった。また保存初日の pH が 6.8 以上の血液について保存初日と保存 7 日の 2,3-DPG 濃度を比較すると有意差を認めなかったが、保存初日の pH が 6.8 以下の血液では 2,3-DPG は有意に減少していた。一方 ATP 濃度は保存初日の pH が低い血液では保たれ、pH が高い血液では ATP が保存により減少していた (Fig. 7)。近似曲線上 ATP の変化が 0 である pH は 6.85 であった。保存初日の pH が 6.9 以上の血液について pH と ATP 濃度の変化の関係をみると、 $ATP_{7day} - ATP_{0day} = -2.23 \times pH_{0day} + 15.39$ ($r^2 = 0.77$) となり、ATP の変化が 0 となる pH は計算上 6.9 であった。ブドウ糖濃度は採血当日が 354 ± 40 mg/dl、7 日目 266 ± 93 mg/dl で保存により減少していたが枯渇は認めなかった。また変化量は pH と有意の相関を示さなかった。

考 案

l-乳酸は赤血球内でのブドウ糖の嫌氣的代謝により生理的に産生される物質であり、血液保存により pH の低下をもたらす主な物質である。このことから血液保存に伴う pH の低下をモデル化する目的で血液に l-乳酸を添加し pH の低下した血液を作成し血液保存実験を行った。l-乳酸の濃度と pH はよく相関したが、l-乳酸濃度の変化に伴う pH の変化率には保存初日と保存 7 日で有意差があった。これは代謝産物などにより血液の緩衝能が増加したためと思われる。血液には二酸化炭素が含まれるが、開放系では酸の添加による pH の低下は、二酸化炭素が系から失われることにより緩衝される。したがって当初同一の pH の血液であっても、容器の状態や実験の条件により二酸化炭素の拡散に差が生じれば、pH には大きな差異を生むことになる。Henderson-Hasselbalch の式を用い計算した総炭酸量に 7 日間の保存で変化がなかったことから、この実験での保存は二酸化炭素については閉鎖系環境とみなしてよく、保存初日の血液の pH で保存中の血液の pH が規定されると考えてよいであろう。l-乳酸濃度の変化は保存初日の pH に依存し、pH が低いほど l-乳酸の変化が少なかったことから、赤血球での糖代謝は pH が低いと抑制されると思われる。ATP 濃度は pH が 6.9 以上では pH の増加に伴い減少した。しかし pH が 6.9 以下では保存初日と保存 7 日とでは ATP 濃度に有意な変化を認めなかった。2,3-DPG は保存初日の pH が低い血液では pH の低下に伴い減少したが、保存初日の pH が 6.8 以上の血液についてみる

と保存初日と保存 7 日で有意な変化を認めなかった。以上から血液の ATP 濃度と 2,3-DPG 濃度を共に保つには血液の pH を 6.8 から 6.9 の間に保つのが望ましいと思われる。

総 括

大量輸血では、輸血される血液の赤血球が十分な酸素供給能を保持している必要がある。すなわち適切な量の 2,3-DPG が維持され P_{50} が適切な血液を供給する必要がある。このためには血液保存液の組成に留意するとともに保存血液の pH を管理せねばならない。生体は生理的 pH を保つためにいくつかの緩衝系を有しているが、Henderson-Hasselbalch の式

$$pH = pK' + \log \frac{CHCO_3^-}{\alpha \times PCO_2}$$

で理解されるように呼吸により調節される PCO_2 と、腎および代謝により調節される HCO_3^- の二つの因子で pH が調節される点で、炭酸一重炭酸系が生体にとって最も重要な緩衝系である。またこのことは、血液の pH は必ず二酸化炭素の拡散のない閉鎖的環境で測定する必要があることを示している。血液保存における pH は生理的 pH からは大きく逸脱したものである。まず血液保存液の添加により血液の水素イオン濃度は急激に上昇し pH は低下する。CPD ではおよそ 7.0、MAP では 6.85 となる。次に血液に含まれる細胞内で代謝が継続し、赤血球内では嫌氣的糖代謝が行われ l-乳酸などの有機酸が生成され pH はさらに低下する。市販の血液保存容器内からの二酸化炭素の拡散・除去はきわめて限られたものである。したがって生体でのように呼吸により PCO_2 を低下させ pH を正常に保つことはできない。MAP では特に pH が低く、このため P_{50} は平均で 16 mmHg と非常に低下していた。膜を介して二酸化炭素の拡散速度は膜の厚さに反比例することから、薄膜容器を用い血液保存を行えば血液の pH の低下が少なく、2,3-DPG が保たれる。一方で pH が高いと ATP が枯渇し、輸血後の体内で赤血球が破壊されやすい。このため理想的な血液保存を行うためには 2,3-DPG と ATP 双方が減少しない pH を知る必要があるが、これは実験結果より 6.8~6.9 である。したがって今後血液保存中の pH をこの範囲に保つ方法の開発が待たれる。また保存された血液の pH は、特に大量輸血の際には、輸血する血液を選択するにあたり重要な指標となる。

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜った鳥取大学医

学部麻酔学教室・佐藤 暢教授, ならびに岡崎直人講師に深く感謝致します。

文 献

- 1) Dern, R.J., Brewer, G.J. and Wiorkoski, J.J.: Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte ATP levels and other in vitro measures to red cell storageability. *J. Lab. Clin. Med.*, 69: 968—978, 1967.
- 2) Dawson, R.B., Kocholaty, W.F. and Grey, J.L.: Hemoglobin function and 2,3-DPG levels in blood stored in ACD and CPD: pH effect. *Transfusion*, 10: 299—304, 1970.
- 3) Beutler, E. and Duron, O.: Effect of pH on preservation of red cell ATP. *Transfusion*, 5: 17—24, 1965.
- 4) 上平 敦, 佐藤 暢: P_{50} —その意義と測定法—. *臨床麻酔*, 19(9): 投稿中, 1995.
- 5) 佐藤 暢, 岡崎直人, 朝倉稔生: 血液酸素解離曲線自動描記装置の比較. *医学のあゆみ*, 112(8): 475—480, 1980.
- 6) 仁科甫啓: 赤血球解糖中間体およびアデニンヌクレオチド, 編者, 三輪史朗, *臨床検査技術全書(3) 血液検査*, 医学書院, 東京, 1972, p. 319—338.