



Title	血液の低温保存に関する研究：第1報 保存血液の酸素受容能について
Author(s)	浅沼, 英一
Citation	低温科学. 生物篇, 17, 125-135
Issue Date	1959-10-24
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/17628">http://hdl.handle.net/2115/17628</a>
Type	bulletin (article)
File Information	17_p125-135.pdf



[Instructions for use](#)

## 血液の低温保存に関する研究\*

### 第1報 保存血液の酸素受容能について

浅沼英一

(低温科学研究所 医学部門)

(昭和34年7月受理)

### I. 緒言

1916年 Rous 及び Turner<sup>1)</sup> が血液保存に関する基礎的研究を発表して以来、保存期間中に血液の受ける色々な変化について、また臨床的応用について多くの研究がなされた。しかし保存中の血液の変化を調べるに当つては、赤血球の変化が輸血の目的から云つて最も重要であり、したがつて今迄なされた研究の殆んどが、赤血球について行われている。それらはいずれも形態的或いは機能的な立場から調べられているが、筆者は血液の低温保存中に赤血球の受ける変化、特に過冷却保存による赤血球の変化を、酸素受容能を測ることによつて機能的な面から追及した。

保存血液の瓦斯含有量及び酸素受容能に関する研究は、Belk<sup>2)</sup>、木口<sup>3)</sup> 等いくつかの業績がみられ、そのいずれもあまり変化がないと述べている。之等の研究の大部分は0°C~9°Cの温度に保存された血液を以つて行われている。それは血液保存の温度について、竹岡<sup>4)</sup>、Thistle<sup>5)</sup>、Parpart<sup>6)</sup>、Gibson<sup>7)</sup> 等により検討された結果、5°C附近が血液保存の至適温度として認められたからである。したがつて0°C以下の保存血について酸素受容能を測定した研究は見あたらない。また酸素受容能の保存による変化の少ないことの機構についての検討も充分なされていない。

血液を長期間保存するためには、出来るだけ赤血球の物質代謝を低下させ、赤血球のエネルギー消費を少なくすればよいのであるが、あまり低温では、特殊な方法<sup>8)9)</sup>による以外は凍結のために溶血をおこすので目的は果されない。しかしながら、-5°C位迄は凍結の起るおそれもなく、血液を過冷却の状態で保存することが出来る。そこで血液の過冷却保存をねらいとして、その場合に起る赤血球の変化について色々と検討されたが<sup>10)</sup> 著者はその実験の一部として赤血球変化の機能的な面、特に赤血球及び血漿中に遊離した血色素の酸素受容能及び自然溶血との関係について実験的研究を試みたのである。なお5°Cと-5°Cのウサギ及びヒトの二種の保存血液について、その変化の比較検討を行った。

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第518号

## II. 実験方法

### 1) 保存方法

保存血液の材料として、我々の実験室に於いて採血したウサギ血液と、北海道血液銀行において採血したヒト血液を用いた。

ウサギ血液を採血する場合には、予め、20 cc の注射筒に ACD 液を 5 cc 入れておき、ウサギから心臓穿刺によつて総量 20 cc になるように採血した。

採血した血液を 2.5 cc ずつ約 7.0 cc 容量の小試験管に分注、ゴム栓で密栓し、5°C と -5°C との恒温槽にそれぞれ静置保存した。

ヒト血液も採血当日、一部実験に使用し、残りは試験管に 2.5 cc ずつ分注してウサギ血液と同様に 5°C と -5°C に保存した。なお対照として 37°C の恒温槽及び室温が約 20°C に保たれている室に保存した。

以上の操作はすべて無菌的に行つたことは申すまでもない。保存した血液は大体、1~2 週間毎に取り出して、酸素受容能、自然溶血率及びヘマトクリット値の測定を行つた。

### 2) 血液酸素受容能の測定法

まず保存血を O<sub>2</sub> で飽和させるには、恒温槽より取り出した小試験管を静かに、5, 6 回振つて血液をよく混和し、之れに 15 分間空気の吹付けを行つた。15 分の吹付けで血液が十分に O<sub>2</sub> で飽和することは第 1 図に示す通りである。

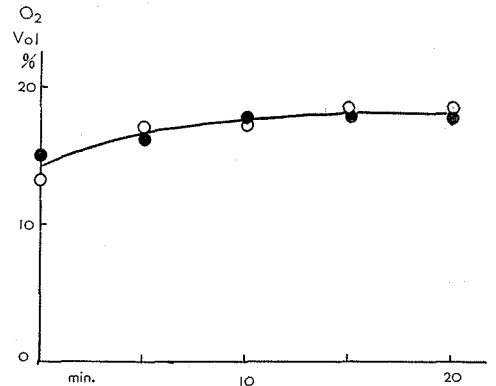
次に、O<sub>2</sub> で飽和した血液を直ちに由布式微量血液ガス分析器に 0.03 cc 正確にとつて測定した<sup>11)</sup>。

この O<sub>2</sub> 測定の原理は、血液にサポニンとフェロシアンカリを加えて、O<sub>2</sub> と CO<sub>2</sub> を遊離させ、CO<sub>2</sub> を苛性ソーダで吸収してガス圧 P<sub>1</sub> をはかり、次に O<sub>2</sub> をヒドロサルファイト溶液で吸収して、残りのガス圧 P<sub>2</sub> をはかるもので、 $(P_1 - P_2) \times \text{温度係数} = \text{O}_2 \text{ Vol } \%$  が求められる。

### 3) 自然溶血の測定法

血漿に遊離したヘモグロビン量 (以下 Hb と略記す) を求めるには、保存血をよく混和し、遠沈 3 回行い上清から血漿 1.0 cc をとり、島津の光電分光光度計によつて測定した。

その方法は Khalifa and Salah<sup>12)</sup> の方法に準拠し、Hb を塩酸ヘマチンにして、波長 372.5 m $\mu$  にて測定し、全血中の Hb 量を以て血漿中に遊離した Hb 量を割つた商を以て溶血率とした。



第1図 血液に空気吹付けを行う際の吹付け時間と結合 O<sub>2</sub> 量との関係  
● ウサギ ○ ヒト

## 4) 沈降血球層及び血漿の酸素受容能及びヘマトクリット(Ht)値の測定

取り出した保存血液をよく混和し、規定の通り15分間空気吹付を行い、直後流動パラフィンを重ねしガス放出を防ぎ、2000回転15分間行い、血球と血漿を分離させ、その各々のサンプル0.03ccをガス分析器に吸入して $O_2$ のVol%を測定した。

同時に、被検血液を毛細管ピペットでWintrobeのヘマトクリット管に目盛100のところまで取り、遠沈し、Ht値を測定した。

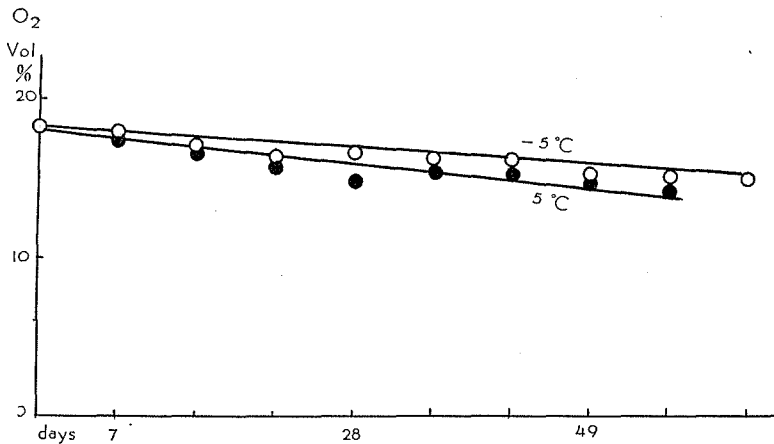
## 5) ヘモグロビン溶液の保存法

実験方法1)によつて採血したウサギ及びヒト血液を $-23^{\circ}C$ の低温で凍結させ、次に $40^{\circ}C$ の温浴槽で融解せしめ、完全に融解した血液を3000回転10分間遠沈してGhostを落とし、その上清を $5^{\circ}C$ 恒温槽に静置保存した。これを前記の場合と同様に保存期間をおきながら $O_2$ 受容能を測定した。

## III. 実験成績

1) 保存血の $O_2$ 受容能について

a) ウサギ血液 8例のウサギ血液の $O_2$ 受容能の5週乃至10週に至る間の保存による変化は、保存するにつれて減少を示すもの、あまり変化のないものと、区々であり個体による違いはあるが、各保存日数における数例の血液の $O_2$ 受容能の平均値をとつて見るに第2図に示す通り、全般的には $5^{\circ}C$ 保存のものも $-5^{\circ}C$ 保存のものも共に幾分の減少を示す傾向にありその程度は $5^{\circ}C$ 保存のものが、 $-5^{\circ}C$ 保存のものよりもやや著しい。

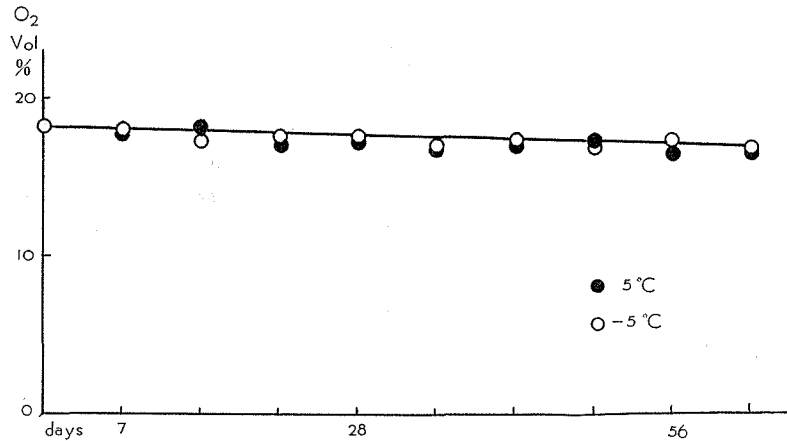


第2図 ウサギ血液保存中における $O_2$ 受容能の変化(8例の平均値)

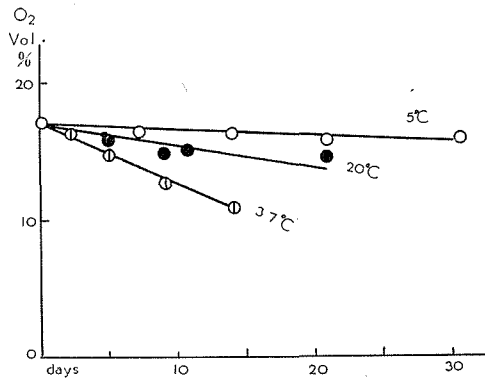
b) ヒト血液 7例のヒト血液の $O_2$ 受容能の変化をウサギ血液の場合と同様に平均値をとつて第3図に示した。これによるとウサギ血液の場合と略々同じ傾向を示している。即ち、保存日数に従つて幾分減少するが、その程度は僅かで、7週間保存で10%内外の減少である。

5°C と -5°C 保存では、初期には殆んど差が認められないが、8 週以後になると -5°C 保存のものの方が 5°C 保存のものよりも稍 O<sub>2</sub> 受容能がよい結果を示した。

c) 20°C 保存のヒト血液は 3 週後に約 10% O<sub>2</sub> 受容能が低下した。37°C 保存血では O<sub>2</sub> 受容能は急速に低下し、2 週間で略々 35% の減少を示した (第 4 図)。



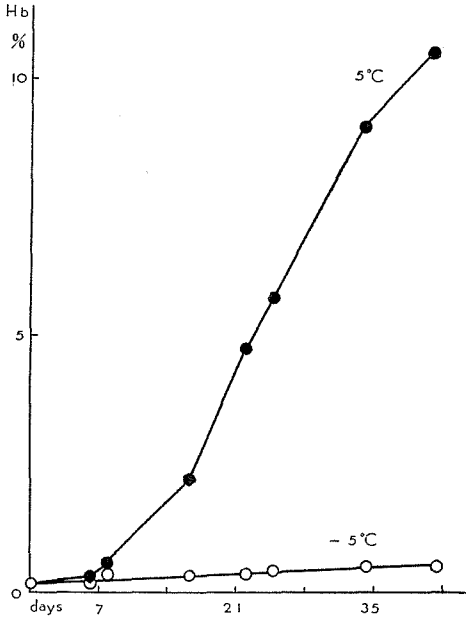
第 3 図 ヒト血液保存中における O<sub>2</sub> 受容能の変化 (7 例の平均値)



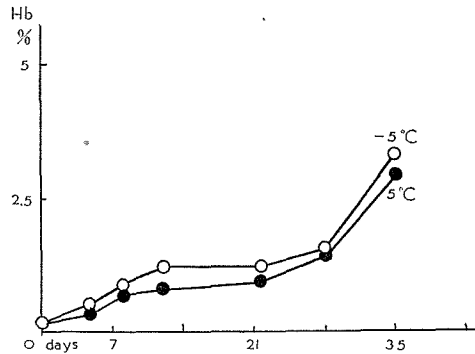
第 4 図 5°C, 20°C, 37°C 保存ヒト血液の O<sub>2</sub> 受容能の変化

## 2) 自然溶血

a) ウサギ血液 ウサギ血液の保存中における溶血率は、第 5 図に示す通り、5°C 保存のものは、保存 1 週間までは 1% 以下であるが、1 週目より漸次増加し、2 週目に略々 3% に達し、その後保存するに従つて急速に溶血し、5~6 週目で約 10% の溶血率を示した。-5°C 保存のものは、之れに反して溶血率にはあまり変化は見られず、1 週目より極く僅かに溶血率が増すが、その程度は極めて小さく、6 週目に至るも、溶血率は 1% 以下に止どまつた。



第5図 A C D 加ウサギ血液の保存中における自然溶血率の変動



第6図 A C D 加ヒト血液の保存中における自然溶血率の変動

1週目で既に約1%の溶血率を示した。それ以後も常に-5°C保存のものが、5°C保存のものよりも僅かに高い溶血率を示した。

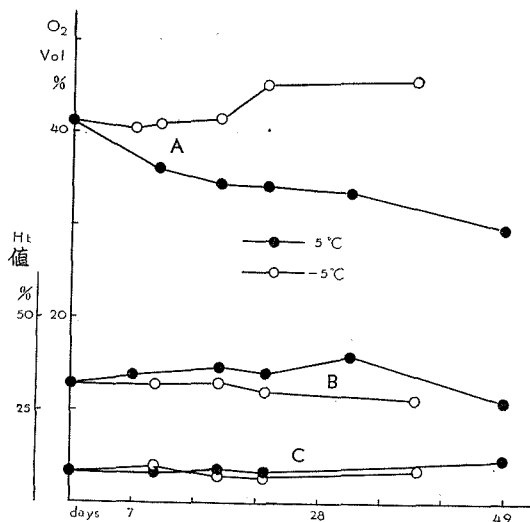
b) ヒト血液 ヒト血液の保存中におこる溶血率の変化は第6図に示す通り、5°C保存のものは3~4週で溶血率1%に達するに過ぎないが、4週目より溶血率は急激に増加し、5週目で約3%に達した。-5°C保存のものでは5°C保存のものより比較的早期に溶血が始まり、

3) 沈降血球層及び血漿のO<sub>2</sub>受容能並びにHt値

第7図に示した如く、ウサギ血液5°C保存では、沈降血球層のO<sub>2</sub>受容能は、保存の経過に従つて著明に減少の傾向を示した。即ち採血当日41.16 Vol %のものが、1週目40.06 Vol %、3週目35.63 Vol %、7週目30.26 Vol %と減少した。Ht値は5週位迄は増加し、それ以後は減少を示した。

赤血球を除いた血漿中のO<sub>2</sub>容量は溶血があまり著しくない4週位迄は変化なく、実験誤差の範囲内であるが、その後溶血の進むに従つて増加する傾向が認められた。

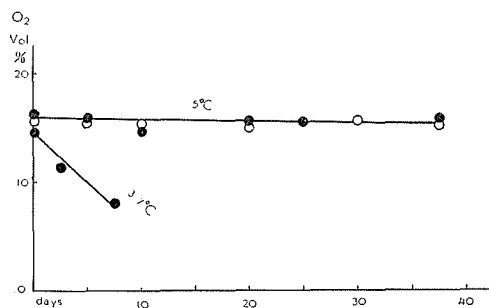
-5°C保存では沈降血球層のO<sub>2</sub>受



第7図 ウサギ血液保存中における沈降血球層及び血漿のO<sub>2</sub>受容能並びにヘマトクリット値の変動。  
A. 沈降赤血球層 B. Ht値 C. 血漿

容能は、保存の経過につれて増加する傾向を示した。即ち採血当日 41.16 Vol % が、39 日目には 44.29 Vol % と増加した。Ht 値は減少の一途を辿り、39 日目には約 10% 減少した。血漿中の O<sub>2</sub> 容量は約 6 週までの観察では変化が認められなかつた。

4) 保存 Hb 溶液の O<sub>2</sub> 受容能について 前述のようにして作つて保存したウサギ及びヒトの Hb の O<sub>2</sub> 受容能は第 8 図に示した通り、ウサギ及びヒトのヘモグロビン溶液は、共に保存 5 週間に至るも、殆んど変化がなく、極めて僅か低下する傾向が見られるに過ぎない。即ち、Hb は ACD 加血液では、血漿中に遊離しても強い O<sub>2</sub> 結合力を有しており、低温ではかなり安定した状態にあり、長期保存に耐えるものと想像される。しかるに 37°C 保存 Hb では、O<sub>2</sub> 受容能は急速に低下し、8 日目で約 50% の減少を示した。



第 8 図 5°C 並びに 37°C 保存の Hb 溶液の O<sub>2</sub> 受容能の変動。  
● ウサギ ○ ヒト

#### IV. 総括及び考察

血液の O<sub>2</sub> 受容能を測るためには、血液を充分 O<sub>2</sub> で飽和させたときの値を測らなければならない。Morawitz<sup>13)</sup> は、Barcroft-Haldane の装置を用い、ウサギ血液を 15 分間空気で振盪することにより最高度に酸素で飽和せしめた。また大村<sup>14)</sup> は van Slyke の装置を用い、ヒト血液に 15 分間 O<sub>2</sub> 吹付けを行つて O<sub>2</sub> を飽和せしめたと述べている。筆者もその点について検討した結果、血液に空気を吹付けて時間的に血液中の O<sub>2</sub> 容量を測定した結果は第 1 図に示す通り、15 分間で最高に達し、それ以上吹付けても O<sub>2</sub> 容量に変化なかつたので、15 分の空気吹付けによつて血液が完全に O<sub>2</sub> で飽和されることがわかつた。従つて本実験にはすべてこの方法を用いたのである。

血液保存中の O<sub>2</sub> 受容能の変化に関しては、Belk<sup>2)</sup>、Scarborough<sup>15)</sup>、Gullbring<sup>16)</sup>、生垣等<sup>17)</sup> は、ヒト血液に就いて実験した結果を報告している。之等は枸橼酸曹達液または ACD 溶液で、0~6°C の温度に 10 日乃至 30 日間保存した結果、いずれもあまり変化が見られないが、保存日数を経るとともに、幾分減少すると述べている。木口<sup>3)</sup> はウサギ血液を 6% 枸橼酸曹達液 1/10 量加えて 3~4°C に保存した結果、酸素容量は時間的経過と共に、多少増加を認むるもその値はいずれも実験動揺値の範囲で、採血直後 15.85 容量 % のものは 96 時間経過に於いて 16.59 容量 % となつたと述べている。また、大和田<sup>18)</sup> はウサギ血液を 0~5°C に 10 日間保存した結果 2.7% 減少したと述べている。西田<sup>19)</sup> は ACD 加ヒト血液をパラフィンで密栓し 4~6°C に 45~60 日保存した結果、保存血の酸素容量は全く変化しなかつたと報告している。

以上の実験はいずれも van Slyke の方法または Barcroft の方法を用いて測定したものであるが、筆者は由布式血中微量ガス測定法を用いて、先人と同様な条件のもとに、ヒト及びウ

サギの保存血の  $O_2$  受容能を測定した結果略々同様の成績を得たので、この測定法が実験に使用し得ることを認めた。

血液は保存中に色々な変化を起すが、ウサギ血液を  $5^{\circ}C$  及び  $-5^{\circ}C$  に保存した場合の  $O_2$  受容能の変化を他の変化殊に溶血度の変化と比べて見るに、 $-5^{\circ}C$  保存の場合の  $O_2$  受容能が  $5^{\circ}C$  保存より優れており、溶血度も  $-5^{\circ}C$  保存の方が極めて低いことを知った。ウサギ血液保存中におこる赤血球数、Ht 値、低張食塩水に対する抵抗等の変化も、森<sup>10)</sup> の実験により、いずれも  $-5^{\circ}C$  保存のものが  $5^{\circ}C$  保存より優れており、 $-5^{\circ}C$  の方が保存に適していることが認められている。 $O_2$  受容能を測定することによつて保存による赤血球の機能的変化を見た筆者の実験においても、ウサギ血液の場合はその他の変化と一致して  $-5^{\circ}C$  の方が  $5^{\circ}C$  よりもよく機能が保たれることを知った。

なお、ウサギ血液の溶血度は前述のように  $5^{\circ}C$  保存と  $-5^{\circ}C$  保存では著しい差があり、 $5^{\circ}C$  保存では、保存の初期に溶血が起り、日を経るにつれて溶血度が著明に増加するに反し、 $-5^{\circ}C$  保存では 6~7 週に到るも極く僅かの溶血しか認められなかつた。しかして、 $O_2$  受容能は溶血と大体平行しているが、その変化は  $5^{\circ}C$  と  $-5^{\circ}C$  では溶血に見られる程著しい差が見られなかつた。この点については、保存血液を血球と血漿に分けて測定してみると、保存経過とともに血球の  $O_2$  受容能が減少するのに反比例して血漿中の  $O_2$  受容能が増すために、溶血が強くなつても、血液全体としての  $O_2$  受容能はそれ程著しい低下が認められないのである。この点に先人が保存血液の  $O_2$  受容能はあまり変化がないと述べてゐる理由の一端があるように思われる。

また溶血度の非常に小さい  $-5^{\circ}C$  保存のウサギ血液に於ても、 $5^{\circ}C$  保存程ではないが、やはり日を経るにつれて  $O_2$  受容能の低下が見られる。これには、前述の因子の他に、赤血球膜の構造の変化<sup>20)</sup>、並びに透過性の変化、つまり血球内と血漿内の無機イオンの移動<sup>21), 22)</sup> なども影響しているかも知れないが、その理由は解明されていない。

次にヒト血液を  $5^{\circ}C$  及び  $-5^{\circ}C$  に保存した場合には、その  $O_2$  受容能の変化は、保存日数を経るに従つて、両方とも若干の低下が見られるが、両者の間では保存 7 週位迄は殆んど差が認められなかつた。自然溶血度の変化は、保存 3 週目位迄は、両者とも 1% 内外であるが、それを過ぎると稍急速に溶血度は増加する。この傾向は  $5^{\circ}C$ 、 $-5^{\circ}C$  両者に見られるが、 $-5^{\circ}C$  の方がやや溶血率が高い。ヒト血液の  $O_2$  受容能の変化も略溶血の変化と平行して低下するが、それは溶血率に比べて少い。これはウサギ血液の場合と同じ理由によるものと思われる。なお、ヒト血液保存中におこるその他の変化については、森<sup>10)</sup> は  $5^{\circ}C$ 、 $-5^{\circ}C$ 、Thistel<sup>5)</sup> は  $0\sim 9^{\circ}C$  で実験を行つた結果、血球数、自然溶血度、低張食塩水に対する抵抗性等いづれも、 $5^{\circ}C$  保存のものが優れていると述べている。つまりヒト血液の保存に関しては、保存温度として  $5^{\circ}C$  附近が最もよいということは、従来の定説であるが、 $O_2$  受容能の点から見た場合は、 $5^{\circ}C$  と  $-5^{\circ}C$  のヒト保存血の間では優劣の差を認めることが出来なかつた。それはヒト血液の  $5^{\circ}C$  と  $-5^{\circ}C$  保存では、自然溶血及びその他の変化の差がウサギ程著しくないので、 $O_2$  受容能の差として



は現われ難いためと考えられる。しかし8週以後の長期保存では、 $-5^{\circ}\text{C}$ の方が $5^{\circ}\text{C}$ 保存のものよりも $\text{O}_2$ 受容能が稍上廻つた。この点は特に興味を惹くところである。

先人及び本実験が示したように、低温では $\text{O}_2$ 受容能の低下が少いのは、ウサギでは竹原<sup>23)</sup>、大和田<sup>18)</sup>、ヒトでは中山<sup>24)</sup>、Balashowsky<sup>25)</sup>、Pappius<sup>26)</sup>の実験が示している如く、血液のMetabolismが低温では極めて低いことと関係があるように思われる。つまり、低温ではHb蛋白質の変性が起り難く、従つてactive Hbがinactiveになる率が低いためであると考えられる。対照の $37^{\circ}\text{C}$ 保存血では、 $\text{O}_2$ 受容能が急速に低下するのは、in vitroでは温度が高くなるとHbの変性が急速に起るためと考えられる。

なお、筆者の測定したヒト血液の自然溶血度はDe Gowin<sup>22)</sup>、森<sup>10)</sup>の溶血度よりも幾分低い値を示している。之れは保存血液の量が、筆者の場合は少量(2.5 cc)であつた結果と思われる。即ち少量の血液を保存する場合には、大量の場合に比して、血液全体が一様に冷却される速度が早いために、溶血に対してよい影響を与える為と考えられる。このことは既にDe Gowin<sup>22)</sup>の指適した通りであつた。

次にウサギ血液の沈降血球層の $\text{O}_2$ 受容能の変化に関する実験であるが、血液全体として測定したときの $\text{O}_2$ 受容能は長期保存してもあまり変化がなく、 $5^{\circ}\text{C}$ 保存9週間で約10%低下するに過ぎなかつたが、血球層だけわけて別に測定すると3週目に既に約15%の減少が見られた。しかし同時にHt値を測定してみると保存3~5週位迄は増加する傾向があり、また赤血球数は溶血により漸次減少する。また形態的に見ても坂牛<sup>27)</sup>は赤血球は $5^{\circ}\text{C}$ 保存では円盤状型から球型の状態を経て然る後溶血するに至ると述べている。従つて沈降血球層の $\text{O}_2$ 受容能が $5^{\circ}\text{C}$ 保存で急激に減少するのは、以上述べたように主として赤血球の容積が増すために測定の際吸入する一定量のサンプルの中の赤血球数が減少するためであつて、本質的に個々の赤血球の $\text{O}_2$ 受容能が減つてゐるわけではない。しかし保存が長期になると、赤血球数がかかなり減少するためにHt値も減少し、 $\text{O}_2$ 受容能も減少する。しかし溶血して血漿中に遊離したHbも $\text{O}_2$ 結合力を有するため、血液全体としての $\text{O}_2$ 受容能はそれ程低下しないのである。

之れに反し、 $-5^{\circ}\text{C}$ 保存のウサギの沈降赤血球層では、保存中Ht値が減少することと、血球数、自然溶血度等にもあまり変化がない為、その $\text{O}_2$ 受容能は約6週後においても増加したままであつた。

大村<sup>14)</sup>はヒト血液を溶血せずに赤血球内にHbを固定保存することに着眼し、血漿を取り除き、エチール・アルコール、ブドウ糖製カラメル等を保存液中に加えた血液について、沈降血球層の $\text{O}_2$ 受容能を測定した結果、新鮮血球の $\text{O}_2$ は保存日数が経過する毎に抱容能が著明に低下する。しかも赤血球の形態的变化はやや縮小ぎみであると述べているが、赤血球直径及びHt値を測定していないので正確なことは不明であり、恐らくこの成績は筆者が先に述べたことが考慮されていないのではないかとと思われる。

従来輸血を目的とした保存血の条件を判定する基準として、自然溶血度、赤血球数、低張食塩水に於ける抵抗性及びin vivoのViability等が主として調べられたが、赤血球の性質の

重要な一面である呼吸状態を *in vitro* に検査する方法として、その  $O_2$  受容能を測定することもまた必要であることは言を俟たない。しかして  $O_2$  受容能を血液保存の判定基準として考えるには、今迄述べた理由により、上述のその他の因子を参考として判断する方が妥当と思われる。

## V. 結 言

血液の保存中に起る機能的変化を追求する目的で、ウサギ及びヒトの血液を用いて溶血の程度と比較しながら  $O_2$  受容能を測定した。特に保存温度  $5^\circ\text{C}$  と  $-5^\circ\text{C}$  による比較吟味を行うとともに、更に  $O_2$  受容能を示す因子について検討を行つた。

その結果を要約すれば次の通りである。

1) ウサギ血液の  $O_2$  受容能は保存につれて若干低下するが、その低下率は  $-5^\circ\text{C}$  よりも  $5^\circ\text{C}$  保存の方が大きい。ヒト血液も保存につれて若干低下するが、その低下率は  $5^\circ\text{C}$  保存と  $-5^\circ\text{C}$  保存では殆んど差が認められなかつた。

2) 保存による自然溶血は、ウサギでは  $5^\circ\text{C}$  保存の方が、ヒトでは  $-5^\circ\text{C}$  保存の方がそれぞれ溶血度が高い。ただしヒトでは  $5^\circ\text{C}$  と  $-5^\circ\text{C}$  保存でウサギほどの大きな差は見られない。

3) 保存血液の血球層と血漿とを分けて、それぞれの  $O_2$  受容能を測定した結果、 $5^\circ\text{C}$  保存のウサギ血液では、血球層の方は保存日数の経過するにつれて、血球容積が増加するとともに、 $O_2$  受容能はみかけ上漸次低下した。血漿では殆んど変化がないが、溶血が進むに従つて僅かに増加の傾向を示した。

$-5^\circ\text{C}$  保存のウサギ血球層では、Ht 値の減少とともに  $O_2$  受容能はみかけ上増加の傾向を示した。

4) 凍結融解によつて得た Hb 溶液の  $5^\circ\text{C}$  保存による  $O_2$  受容能は、40 日迄には殆んど変化がなかつた。

以上の結果から、血球のもつ Hb の  $O_2$  受容能はかなり安定なものであるから、低温保存血液の  $O_2$  受容能は相当長期間殆んど変化のないことを知つた。

最後に終始御懇篤な御指導を賜りました根井教授並びに林助教授に心から御礼の言葉を申し上げます。又種々の御援助をいただいた教室の諸先生方に篤く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Rous, P. and J. R. Turner 1916 The preservation of living red blood cells *in vitro*, I. Methods of preservation, II. The transfusion of kept cells. *J. Exper. Med.*, **23**, 219.
- 2) Belk, W. P., H. W. Henry, and F. Rosenstein 1939 Observation on human blood stored at 4 to 6 degrees Centigrade. *Amer. J. Med. Sci.*, **198**, 631.
- 3) 木口直二 1935 保存血輸血の研究. 京都府立医大誌, **13**, 1097.

- 4) 竹岡友文 1940 血液保存に関する実験的研究. 京都府立医大誌, **29**, 932.
- 5) Thistle, M. W., N. E. Gibson, W. H. Cook and C. B. Stewart 1941 Storage studies on liquid blood. *Canad. J. Res., Sect. D.*, **19**, 185.
- 6) Parpart, A. K., J. R. Gregg, P. B. Lorenz, E. R. Parpart, and A. E. Chase 1947 Whole blood preservation; A problem in general physiology. An *in vitro* analysis of the problem of blood storage. *J. Clin. Invest.*, **26** (II), 641.
- 7) Gibson, J. G., T. Sack, R. P. Evans, and W. C. Peacock 1947 The effect of varying temperatures on the post-transfusion survival of whole blood during depot storage and after transportation by land and air. *J. Clin. Invest.*, **26** (II), 747.
- 8) Lorant, A., G. J. Lorant, A. Angrist and R. Kompman 1953 Storage of below 0°C in liquid state. *J. Clin. Invest.*, **32**, 1005.
- 9) Brown, I. W. and H. F. Hardin 1953 Recovery and *in vivo* survival of human red cells. *Arch. Surg., Chicago*, **66**, 267.
- 10) 森 玄治 1956 血液の低温保存に関する研究. 低温科学, 生物篇, **14**, 47.
- 11) Neston, S. 1951 Routine use of ultra-micromethod in the clinical laboratory. *Amer. J. Clin. chem.*, **21** (12), 1153.
- 12) Khalifa, A. A. and M. K. Salah 1951 Spectro-photometric determination of haemoglobin in blood. *Nature*, **168**, 915.
- 13) Morawitz, P. 1909 Über Oxydationsprozesse im Blut. *Arch. Exper. Path. Phar.*, **60**, 298.
- 14) 大村泰男 1954 保存血球の吟味. 東京医事新誌, **71** (3), 397.
- 15) Scarbrough, H. and J. C. Thompson 1940 Studies on stored blood, The oxygen capacity of stored blood. *Edinburgh, Med. J.*, **47**, 567.
- 16) Gullbring, B. and Strom, G. 1956 Changes in oxygen-carrying function of human hemoglobin during storage in cold Acid-Citrate-Dextrose solution. *Acta Medica Scandinavica*, **155**, 413.
- 17) 生垣賢, 伊藤徹 1956 保存血液の酸素受容能に就て. 血液と輸血, **2** (5), 51.
- 18) Owada, K. 1940 Experimentelle Studien über die Veränderungen des Eiweiss, Kohlenhydrates und Blutgas in konservierten Blut. *Tohoku J. Exp. Med.*, **38**, 242.
- 19) 西田悦郎 1956 保存血液の血液ガス. 十全学会雑誌, **58** (9), 890.
- 20) Lovelock, J. E. 1954 Physical instability and thermal shock in red cells. *Nature*, **173**, 659.
- 21) Aylward, F. X., M. A. Mainwaring and J. F. Wilkinson 1940 Effects of some preservatives on stored blood. *Lancet*, **13** (4), 685.
- 22) De Gowin, E. L., Harris, J. E. and Plass, E. D. 1940 Studies on preserved human blood. *J. Amer. Med. Ass.*, **114** (10), 850.
- 23) 竹原一郎 1955 氷点下におけるウサギの血液の解糖作用. 低温科学, 生物篇, **14**, 37.
- 24) 中山達夫 1955 保存血液の Glycolysis と溶血について. 十全医学会誌, **57** (7), 1191.
- 25) Balachowsky, S., F. Ginsburg, R., Farberowa T. Palitzina, and S. Rzhina 1932 Chemische Veränderung des Blutes während der Konservierung. *I. Biochem. Z.*, **252** 370.
- 26) Pappius, H. M., S. R. Andreae, V. R. Woodford and O. F. Denstedt 1954 Studies on the preservation of blood. I, Glycolytic behavior of blood during storage at 5°C in a medium containing an excess of glucose. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **32** (3), 271.
- 27) Pappius, H. M. and O. F. Denstedt 1954 Studies on the preservation of blood, II. The glycolytic behavior of blood during storage. *Ibid.*, **32** (3), 293.
- 28) 坂牛栄治 1957 血球の保存に関する研究. 低温科学, 生物篇, **15**, 57.

### Résumé

In order to investigate the functional change of preserved blood, the studies on the O<sub>2</sub>-carrying capacity of human and rabbit blood in ACD-preservative were carried out at various storage temperatures. The volume of oxygen absorbed in the blood was measured by the use of Yuhu's microgasmanometer and the grade of spontaneous hemolysis in the sample was estimated with Shimazu' spectrophotometer.

The storage temperature was chosen at -5°C, 5°C, 20°C, and 37°C. (The blood stored at -5°C was usually not frozen but in supercooled state.)

The O<sub>2</sub>-carrying-capacity of Hb isolated from red cells by freeze-thawing method and stored in the state of ACD-solution was also investigated.

The results obtained were as follows: The O<sub>2</sub>-carrying capacity of rabbit whole blood stored at -5°C was less affected than that stored at 5°C. The grade of spontaneous hemolysis of rabbit blood stored at 5°C increased more remarkably than that stored at -5°C as the period of storage was extended. In the case of human blood, however, the grade of spontaneous hemolysis of specimens stored at 5°C was less than that of the specimens stored at -5°C and there was no significant difference in the O<sub>2</sub>-carrying capacity between the blood specimens stored at these two temperatures during the whole periode of storage (7 weeks). The O<sub>2</sub>-carrying capacity of human whole blood stored at 20°C or 37°C was affected more remarkably than that of whole blood stored at 5°C. The O<sub>2</sub>-carrying capacity of Hb solution stored at 5°C was not impaired during 40 days of storage.

The result that the O<sub>2</sub>-carrying capacity of the cold preserved blood is scarcely affected for long period of storage is to be considered as a natural consequence of the fact that the O<sub>2</sub>-combining power of hemoglobin is considerably stable in the cold state.