HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	血液の低温保存に関する研究 : 特に過冷却保存による赤血球の変化について
Author(s)	森, 玄治; MORI, Genji
Citation	低温科學. 生物篇, 14, 47-73
Issue Date	1956-11-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17586
Type	departmental bulletin paper
File Information	14_p47-73.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Genji MORI 1956 Studies on the Cold Preservation of Blood. Especially on the Changes of Erythrocytes Stored in the Supercooled State. *Low Temperature Science, Ser. B, 14.* (With English résumé p. 73)

血液の低温保存に関する研究

特に過冷却保存による赤血球の変化に就て* ** ***

森　玄　治

(低温科学研究所　医学部門)

(昭和31年8月受理)

緒　言

輸血その他の目的に使用するために血液の保存を行う場合が多く，血液をできるだけ長期間保存するためにはいろいろの方法が工夫されている。

温度についての工夫もその1つであつて，殊に低温保存の条件に関し種々の検討がなされている。

血液保存の創始者とも言える Rous and Turner[1] をはじめとして，其の後血液保存の研究を行なつた殆んどすべての研究者は，1°～5°C までの間の温度を用いて実験を行なつているが，いずれも無条件にこの温度を用いているらしく，どのような根拠で此の範囲の温度を用いたのかはよくわからない。

血液保存の温度について最初に検討を行なつたのは，我国の竹岡[2] と考えられる。続いて2, 3の人[3),4)] の発表があるが，それらの0°～37°C に亘る間の検討では，やはり5°C 附近が保存に適すると述べている。そして現在全血液の保存には一般に5°C 附近の温度が採用されている。

又血液の長期保存を目的として，特に0°C 以下の保存を試みたものも少なくない。これらの実験は保存温度を下げることにより赤血球の物質代謝を抑制し，赤血球のエネルギーの消耗をできるだけ少なくして保存期間を延長しようというのが狙いであると思われる。但しこの場合にもあまり温度が低すぎて血液が凍結したのでは，一般に溶血をおこすおそれがあるから，凍結しない範囲でなるべく低温にするためには，第一に過冷却保存が考えられよう。

従来過冷却保存を試みたものは，アルコールを加えるとか[5]，高圧下におくとかして[5]，氷点を降下させることを目的としたらしいが，無理にそのような手段を講じなくても，血液材料をそのまま容器に入れて低温度に放置すれば，−5°C くらいまでは凍結のおこるおそれは殆ん

* 北海道大学低温科学研究所業績　第356号

** 本研究は文部省特殊研究費によるものである。

*** 本研究の要旨は昭和31年3月 日本輸血学会第4回総会に於いて発表した。

どない。そこで我々は過冷却保存の場合の血液中の，特に赤血球を対象としてその変化を検討することとした。

著者はその実験の一部を担当し，予備実験として先ず牛の血液を用いて過冷却保存を行なつたところ，従来報告されていた人血液についての変化とはかなり異なつた傾向を認めた。そこで人血液の外に更に犬，兎の血液を用い，低温に保存した場合のこれら動物の種類による差異を検討した。

なお今回の実験では，保存温度として従来基準温度とみなされているところの5℃と，過冷却保存のための −5℃との2つを採用し，両温度での赤血球の変化を追求したものである。

実　験　方　法

1) 保　存　液

従来行なわれた実験にならい，次のように凝固阻止剤のクエン酸3ソーダだけを加えたものと，解糖作用の基質となり，しかも保存に効果があるといわれる葡萄糖を加えたもの，及びクエン酸3ソーダの代りに同じく凝固阻止作用をもつ EDTA を加えたものの3種を保存液として用いた。

a) クエン酸3ソーダ液（以下C液と略すことにする）

クエン酸3ソーダ4gに蒸溜水を加えて100ccにする（pH 7.8〜7.9）。

b) ACD 液

クエン酸3ソーダ（牛・犬・兎では4g）	1.3g	蒸溜水を加えて100ccにする（pH 5.8）
クエン酸	0.48g	
葡萄糖	3g	

c) EDTA 液

EDTA 1.5gに葡萄糖3gを加えそれに蒸溜水を加えて100ccにする（pH 5.3〜5.4）。

牛，犬，兎血液で，クエン酸3ソーダを4gにしたのは，牛，犬血液で最終濃度0.5%になるようにクエン酸3ソーダを加えたところ，保存2〜3週で殆んど全例に fibrin の析出を認めたからで，最終濃度1%になるようにクエン酸3ソーダの量を増した。

2) 採　血　法

人血は北海道血液銀行において採血されたものを用いた（血液と保存液の割合は5:1）。

牛は頸動脈穿刺を行ない，予め採血予定量の1/4量の保存液を入れたメスコルベンに採血した。

犬は頸動脈を露出し，カニューレを用いて全採血を行ない，牛と同様の方法でメスコルベンに採血した。

兎は採血予定量の1/4量の保存液を入れた100ccの注射器を用いて心臓穿刺を行ない，全採血した。若し予定量より多く採血出来たときは不足分の保存液を追加した。

牛，犬では同一個体より各種保存液に必要なだけの大量の血液が採血できたが，兎では数個体の血液を混合した場合もあり，1保存液1個体の場合もある。

3) 保　存　法

保存には前述のような保存液を用い，採血にあたつてはこれらの保存液とよく混和し，それをなるべく短時間内に硬質試験管（径6分）に10 cc宛分注し，二重ゴム栓を施して5°Cと−5°C（何れも±1°C以内に調節可能）の恒温槽に納めた。これらの操作はすべてできるだけ無菌的に行なつた。

このように−5°Cと5°Cに保存した各種動物の血液を，1週間毎にとり出して赤血球にみられる変化を種々の方法でしらべた。

4) 検　査　法

a) 赤 血 球 数

通常行なわれているとおり，メランヂュールを用いて血液をハイエム氏液で稀釈し，Thoma-Zeiss 計算盤で赤血球数を計算した。

同一種類の血液については，保存の最初から終りまで同一メランヂュールを使用して，メランヂュールが異なることによる実験誤差を避けるようにした。又同一血液については2回算定し，その平均値を以て表わした。

b) 自 然 溶 血

Kalifa and Salah[6] の方法を用いた。まず全ヘモグロビン (Hb) 量を求めるために，10 ml の $\frac{N}{10}$ HCl 中に全血液 0.02 ml を加えてよく混和し，光電分光光度計を用いて 372.5 mμ の波長のところの吸光度 E を測定すると，求める Hb 量 x (g/dl) は次の式から得られる $x = E_{372.5} \times \frac{10.02}{32.3 \times 0.02} \fallingdotseq E_{372.5} \times 15.5$ 但し 32.3 は Hb 量 1% のときの吸光度である。

血漿ヘモグロベン (Hb) 量を求めるためには，3/20 N HCl 2 ml に3回遠心沈澱（第1回 2,000 r.p.m. 15分，第2，第3回 3,000 r.p.m. 20分）を行なつた血漿 1 ml を加え，全 Hb 量の場合と同様に吸光度 E' を測定すると，血漿 Hb 量 x' (g/dl) は次の式から得られる。$x' = E'_{372.5} \times \frac{3}{32.3 \times 1} \fallingdotseq E'_{372.5} \times 0.0928$　ただし溶血が甚だしい場合には，測定する前に $\frac{N}{10}$ HCl を以て稀釈しておき，その稀釈倍数を x' に乗じて血漿 Hb 量を求めた。更に全 Hb 量のどの位が溶血しているかを知るために，溶血率：$\frac{x'}{x}$ を求めた。

c) 赤血球の低張食塩水に対する抵抗試験（以下抵抗試験と略すことにする）

Creed[7] の方法を参考にして測定を行なつた。先ず1% 緩衝食塩水[8] を一系列の試験管に 0.02% ずつの差になるように入れ，それに蒸溜水を順次適宜に加えて総量を 5 cc にする。次に被検血液 0.1 ml ずつを加え，よく混和して 37°C 恒温槽中に 50 分間放置した後，2,000 r.p.m. 20 分間遠心沈澱を行なう。その上澄をとり，20 分以内に光電比色計を用いて 580 mμ の波長に於いて比色し，溶血率を求めた。その溶血率を縦軸にとり，横軸に NaCl 濃度をとると，溶血曲線（抵抗曲線）は通常S字状曲線を以て表わされる。

しかし各例の抵抗曲線をすべて1つの図の上に表わすことは難かしいので，或る程度各抵抗曲線を代表させるものとして50%溶血値 [M. C. F.[7),9),10)] median corpuscular fragility：抵抗曲線に於いて50%溶血度に相当する食塩の濃度(%)] をとり，縦軸を NaCl 濃度，横軸を保存日数として保存日数による50%溶血値の推移を記入すると，1つの曲線が得られる（之を50%溶血値曲線と称することにする)。此の曲線によると，各抵抗曲線の傾斜の程度を表現できない不便はあるが，多くの抵抗曲線の時間的推移の傾斜を知るためと，大体同じ傾斜の抵抗曲線の数例のものを同時に比較するためには非常に便利なので，本実験では此の50%溶血値曲線を用いることにした。

d) ヘマトクリット (Ht) 値

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の所までとり3,000 r.p.m., 55分間遠心沈澱 (750 g) すると液面は100より少し下るので，その全液層と血球層との目盛を読み，そのときの血液全量に対する血球層の比率を以て Ht 値とした。

保存血の血球容積を測定する場合には多少の問題がある。例えば Maizels 他[11)] が指摘しているように，血液を保存して遠心沈澱すると，保存日数の長い血液ほど血球部と血漿部の境の "wooly"[11)] な部分が増加してくる。彼はこれを "partially hemolysed blood" といい此の部分のみを取り出し，再び遠心沈澱して Ht 値を求め，又血球計算を行なつて最初の Ht 値を補正している。しかし実際に此の部分のみを取り出すことは困難なので，本実験では虫眼鏡を以て血球部分のみを正確に測定し，この実測値から血球の容積を求めた。

e) pH

島津製硝子電極 pH メーターを使用し，小型蓋付シャーレ (硬質) に取つた約2 ml の試料について pH の測定を行なつた。恒温槽から取り出したものも10～15分以内に測定を終えるようにし，此の場合は血液温度にたいするメーターの補正を行なつた。

実験 I. 赤血球数の変化

1) 人 血 液

5例の人赤血球数の保存による変化は，図1に示す通りである。更に各例の採血時の血球数を100%とし，それぞれ減少の割合を百分率で示し，その平均をとると図2のようになる。

この両図からわかるように，先ず5°C保存のものでは，保存するにつれて血球数は減少し，6週目には採血時より平均10%減少する。一方 −5°C 保存でも図2の通り，保存するにつれて減少するが，5°C保存と比較して減少率が大きく，保存6週で平均14%減少する。

2) 牛 血 液

人血液の場合と同様に，5例の牛血液の赤血球平均減少率を図3 (C 液加血液)，4 (ACD 加血液)，5 (EDTA 加血液) に示した。これによると，どの保存液でも同じような傾向がみられる。例えば保存5週で，5°C保存のものは平均5%内外の減少率を示し，−5°C 保存のものは9～10

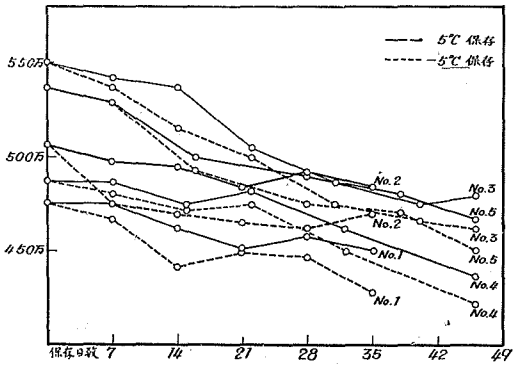

図1. ACD 加人保存血液の赤血球数の推移

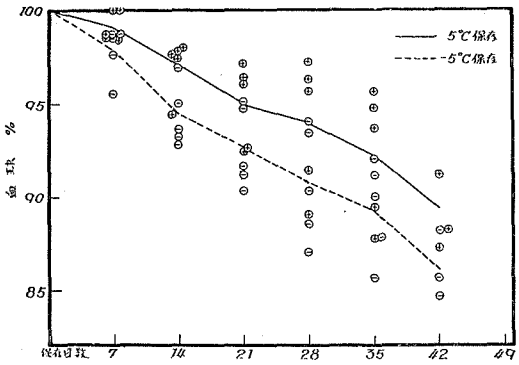

図2. ACD 加人保存血液の赤血球減少率

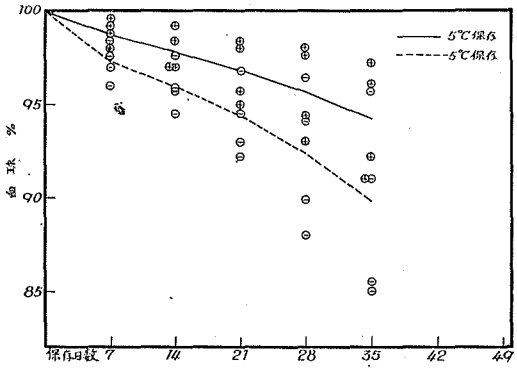

図3. C 液加牛保存血液の赤血球の減少率

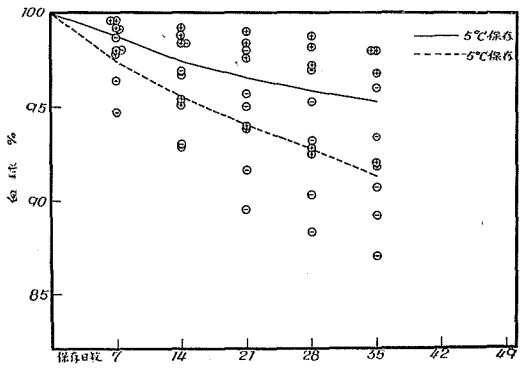

図4. ACD 加牛保存血液の赤血球減少率

%の減少率を示して保存液による差は殆んどみとめ難い。又 −5°C 保存と 5°C 保存のものを比較すると，全経過を通じて −5°C 保存の方が常に減少率は大きい。

3) 犬　血　液

犬の血液については C 液 4 例，ACD 液 4 例，EDTA 液 4 例を実験した。それらの保存中の経過は，図 6, 7, 8 に示してある。

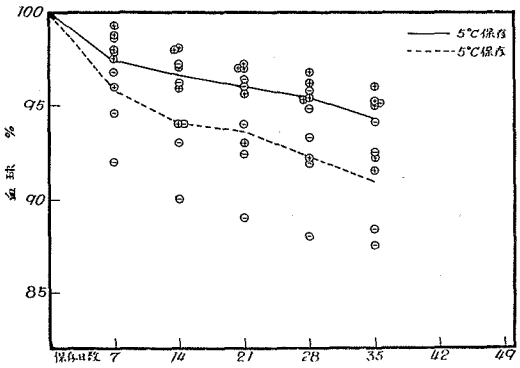

図5. EDTA 加牛保存血液の赤血球減少率

これによると，C 液加血液の保存 6 週目の赤血球減少率は 5°C 保存で平均 11%，−5°C 保存で平均 8% を示した。又全経過を通じて，減少率は 5°C 保存の方が常に大きな値を示している。

ACD 加血液，EDTA 加血液でも C 液加血液と同じような傾向が見られ，−5°C 保存よりも 5°C 保存の方が減少率が大きい。

同じ −5°C 保存でも ACD 加血液と，C 液加血液とを比較してみると，6 週目で夫々 5%，

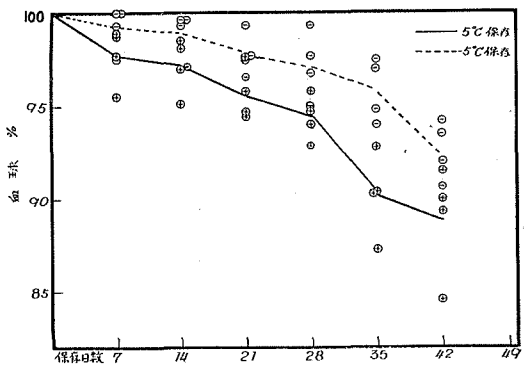

図 6. C 液加犬保存血液の赤血球減少率

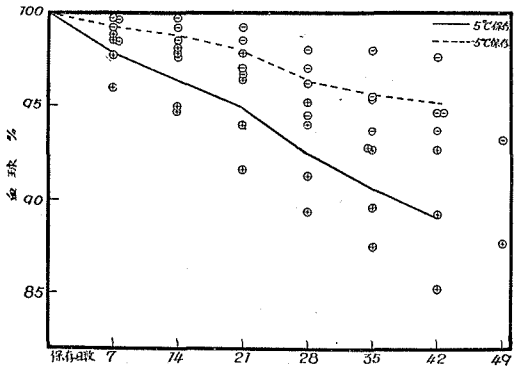

図 7. ACD 加犬保存血液の赤血球減少率

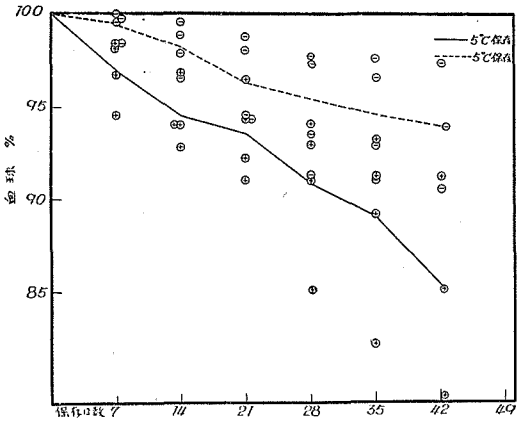

図 8. EDTA 加犬保存血液の赤血球減少率

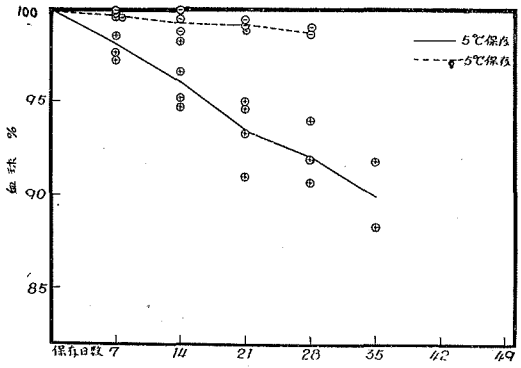

図 9. C 液加兎保存血液の赤血球減少率

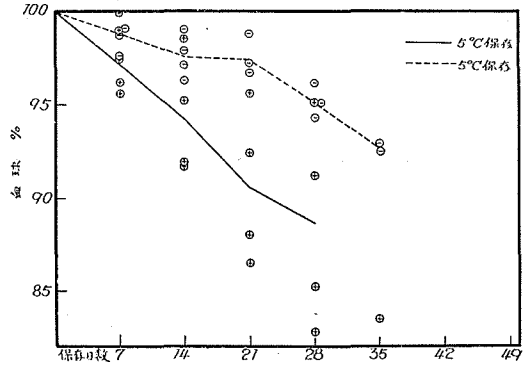

図 10. ACD 加兎保存血液の赤血球減少率

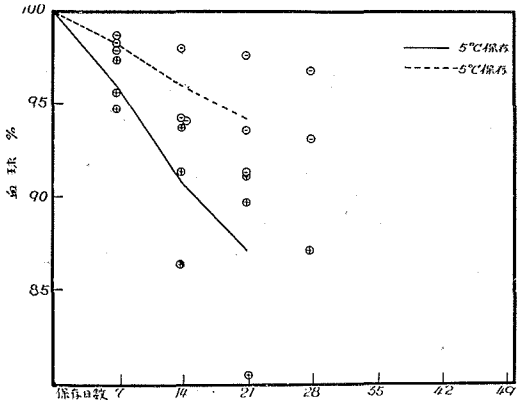

図 11. EDTA 加兎保存血液の赤血球減少率

8% の減少率がみられ，前者の方が僅かに減少率の小さいことがわかる。

4) 兎　血　液

保存中に凍結や凝固などの事故が起つたため，例数は少なくなつたが，3 例以上算定したものについての減少率の平均は夫々図 9 (C 液加血液)，10 (ACD 加血液)，11 (EDTA 加血液) に示してある。

これによると，犬血液の場合と同じような傾向がみられ。5°C 保存のものが −5°C で保存したものより減少率が大きい。

又図 9，10，11 でわかるように，保存液により減少率に差があつて，C 液加血液は 5°C 保存 −5°C 保存のいずれにおいても，減少率が最少であつた。

以上のように保存温度による赤血球の減少は，犬，兎と人，牛とでは全く逆の関係にあることがわかる。

5) 血液保存中の所謂ヘモグロビン (Hb) 減少赤血球[12] の出現について

犬兎の保存血液の血球算定を行なつていると，保存血中に形態は殆んど正常の赤血球と同じではあるが，全体として菲薄な感じで，しかも Hb による着色度が少ないためか，透光度が大きいように思われる細胞がかなり見える。犬の各種保存液による血液で，此の Hb の抜けた感じの細胞を集計してみると，このような細胞は保存期間が長くなるに従つて次第に増加する (図 12 に縦の線で表わしてある)。特に 5°C で保存するとこの細胞が多く現われてくる。このような傾向は，犬，兎血液でみられるが，人，牛血液では殆んどみとめられない。

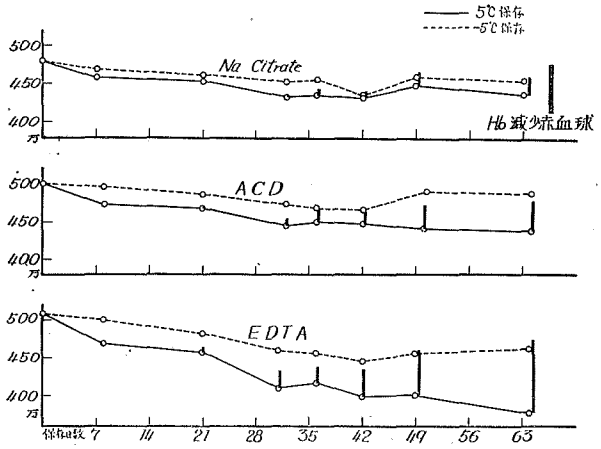

図 12. 犬保存血液に於ける Hb 減少赤血球の増加

一般にこれまで行なわれている Thoma-Zeiss 計算盤を用いる血球計算の方法では，かなりの実験誤差の生ずることは避け難い。これは多くの人々により指摘されているところである。しかしながら細心の注意を払つて行なえば，平均誤差 ±5% 以下にすることはさして困難ではないと思われる。

保存血について血球計算を行なう場合の誤差に大きく影響するものの 1 つに，前述の Hb 減少赤血球の出現がある。此の種の細胞にも種々の段階があつて，溶血がひどくて殆ど Stroma に近いと思われるような菲薄な感じのものから，僅かにヘモグロビンの抜けた程度の赤血球にいたるまでのいろいろな段階のものが，顕微鏡下に見られる。従つて此の Hb 減少赤血球の溶血の程度をはつきり分類することは，非常に困難である。血球数の計算の場合にどの程度のも

のまで数えるか，その限界をなるべくはつきりさせておかねば混乱をきたすおそれがある。その意味で犬，兎血液の保存中の血球算定には，このような細胞は計算に入れなかつた。

6) 小　　括

前記の実験成績にみられるように，血液や保存液の種類，保存温度によつて多少の差はあつても，保存血中の赤血球数はいずれの場合も保存が長くなるほど次第に減少して行く。このような傾向は，従来の保存血の血球数に関する研究[12)~15)]で得られた成績とほぼ同様である。

なお各動物とも保存液の種類による差は殆んどみとめられないか，あつても比較的僅かなものである。

ここで特にあげるべき点は保存温度による差であつて，人，牛血液では —5°C 保存の方が赤血球数の減少率が大きく，犬，兎血液では逆に 5°C 保存の方が減少率が大きい。

実験 II.　自然溶血

1) 人　血　液

5 例の人血液の保存中におこる溶血率の変化は，図 13 に示すとおりである。これによれば，5°C 保存のものは 3～4 週で溶血率は 1% に達するに過ぎないが，其の後は急激に増加する。ところが —5°C 保存のものでは，保存初期から急速に溶血が始まり，1 週以内で溶血率は 1% に達し，その後も続いて急激に増加する。5°C 保存血と —5°C 保存血の溶血率の差は，保存 4 日目のものですでに現われており，—5°C 保存血液は 5°C 保存血液よりも 2～3 週だけ早期にしかも急速に溶血の始まることがわかつた。

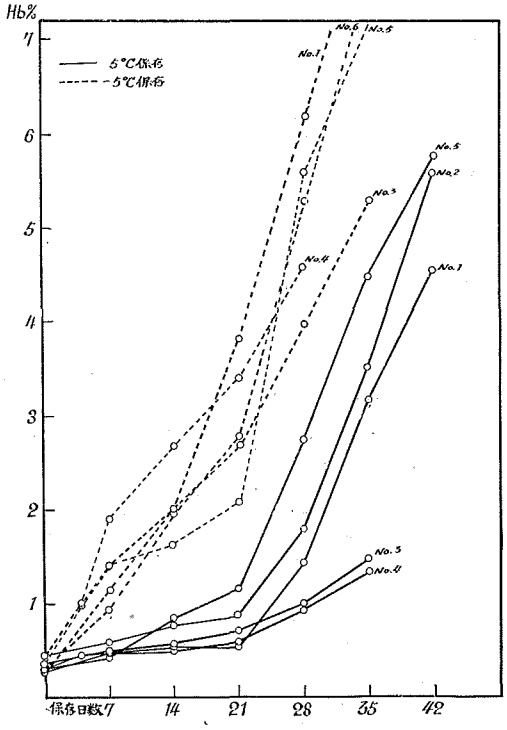

図 13.　ACD 加人保存血液の自然溶血率

2) 牛　血　液

C 液加血液は図 14 に示すとおりで，5°C 保存では 4 週以後で漸く溶血率が 1% に達するにすぎないが，其の後は次第に増加するのがみられる。

—5°C に保存すると，個体による差はあるが，早い例では保存 2～3 週で溶血率 1% に達してから後急速に溶血の増加するもの，或は 4～5 週で漸く溶血が増加するものなどがみられた。

同じ血液の 5°C 保存と —5°C 保存の比較では，—5°C の方が常に溶血率は大きいが，両者

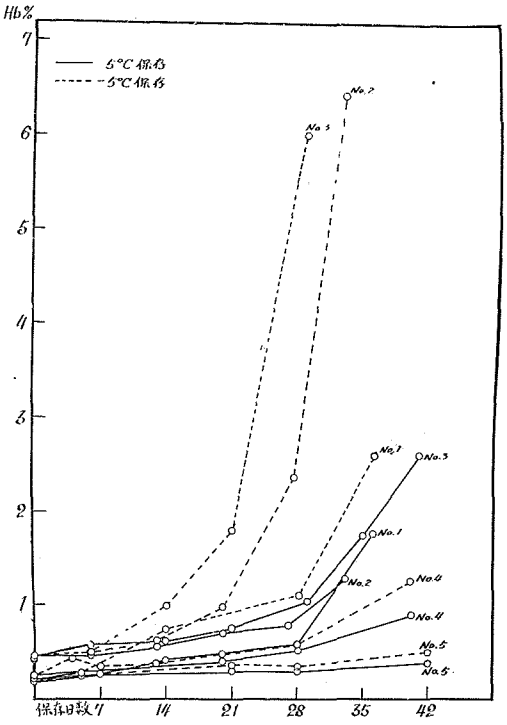

図 14. C 液加牛保存血液の自然溶血率

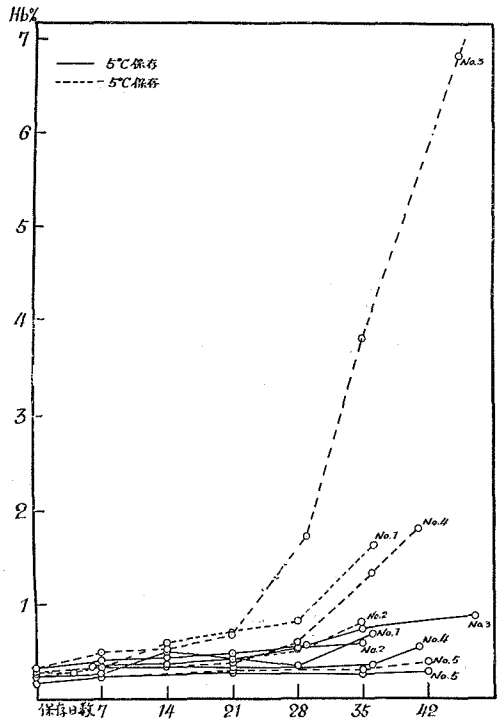

図 15. ACD 加牛保存血液の自然溶血率

の差は 2 週頃から明かになる。

ACD 加血液は図 15 にみられるように，5°C に保存したものでは非常に成績が良く，5 週目でも全例 0.75% 以下の溶血率しか現わさず，保存初期とほとんど差のない例さえもみられた。

−5°C に保存したものは，5 例中 2 例は 5°C 保存のものとあまり差はみられなかつたが，3 例では 4 週目より急激に増加して 5°C 保存のものと明かに差がみとめられた。

EDTA 加血液（図 16）は ACD 加血液と同じような傾向がみられた。

結局牛血液の C, ACD, EDTA 加保存による溶血の状態を比較してみると，C 液と EDTA 液とではあまり差はみられないが，C 液と ACD 液とでは前者の方が早期に溶血がおこるようである。

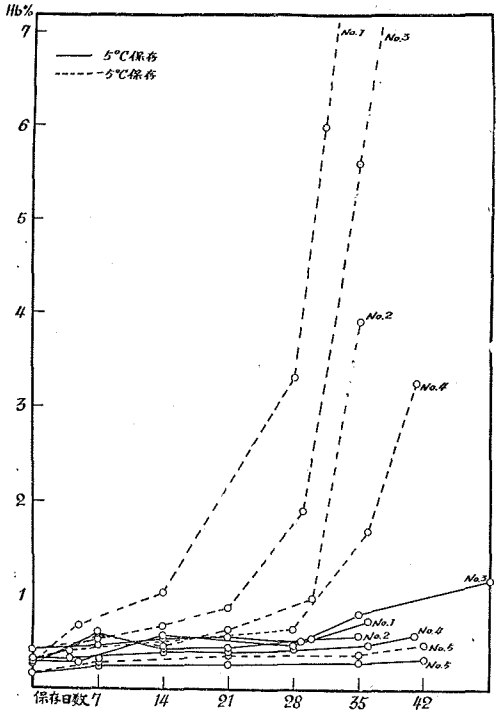

図 16. EDTA 加牛保存血液の自然溶血率

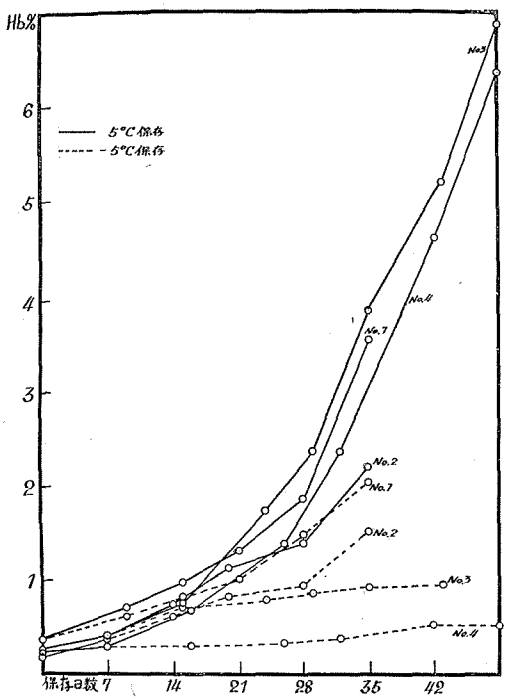

図 17. C 液加犬保存血液の自然溶血率

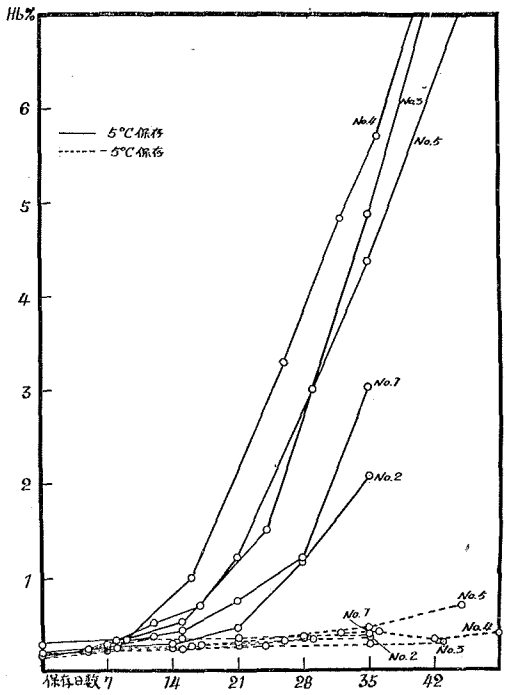

図 18. ACD 加犬保存血液の自然溶血率

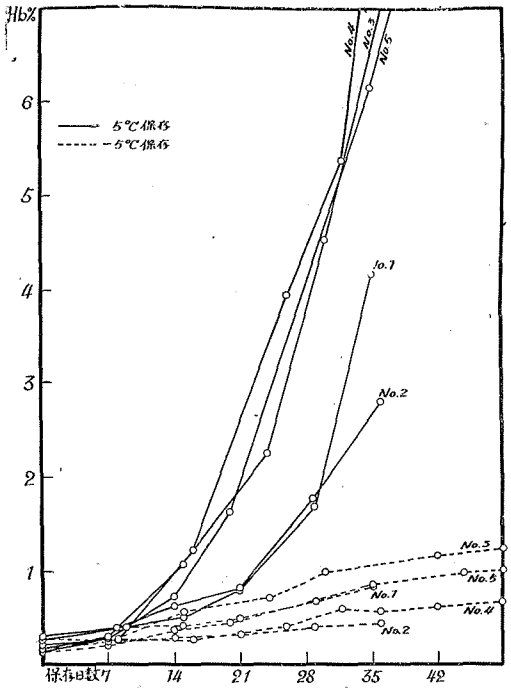

図 19. EDTA 加犬保存血液の自然溶血率

3) 犬 血 液

C 液加血液 (図 17) の 5°C で保存したものは，保存期間が長くなるに従つて自然溶血量が増加し，2～3 週で溶血率は 1% を越え 5 週で 3 %に達し，其の後も続いて増加するのがみられた。

—5°C に保存したものでは，犬の個体差が強く，保存 5 週でほとんど溶血のみられないものから 2% の溶血を示すものまでの種々の程度のものがある。同一個体からの血液の保存温度による溶血量の差は保存 2 週目からあらわれ，—5°C 保存より 5°C 保存の方が溶血が多い。

ACD 加血液 (図 18) は保存温度によつて明かに異なる。即ち 5°C 保存のものの溶血率は，2～4 週で漸く 1% に達するに過ぎないが，其の後は急に増加する。

一方 —5°C に保存したものは，5 週でも全

例 0.45% 以下の溶血率しかみられず，今回の実験例中最低の溶血率を示した。

EDTA 加血液 (図 19) でも ACD 加血液と同じような傾向がみられた。

同一個体から得た血液について比較すると，5°C 保存の場合は，C 液，ACD 液，EDTA 液の間であまり差はみられないが，—5°C 保存では C 液のものがやや溶血が多いようである。

4) 兎 血 液

C 液加血液 (図 20) では 2 週までほとんど溶血はおこらない。5°C 保存のものは 3 週前後ではじめて溶血率 1% に達し，其の後続いて溶血が増加する。—5°C 保存のものは，2 週以後僅かに溶血は増加するが，4 週でも溶血率は 1% 以下であつた。

ACD 加血液 (図 21) で 5°C に保存したものは，急速に溶血した 1 例を除いて漸次溶血量が増加し，3～4 週で溶血率は 1% を示した。

—5°C に保存したものではあまり変化はみられず，4 週で 0.75% 以下の溶血率しか示さなかつた。

EDTA 加血液 (図 22) では，ACD 加血液と同様の傾向がみられるが，5°C に保存したものの溶血は ACD 加血液より少し早期にあらわれ，しかも急激に増加した。

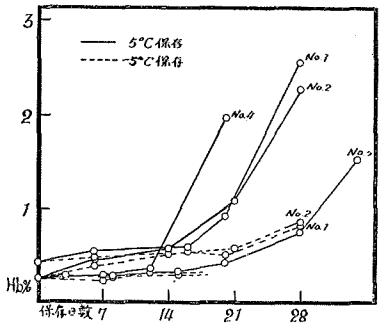

図 20. C 液加兎保存血液の自然溶血率

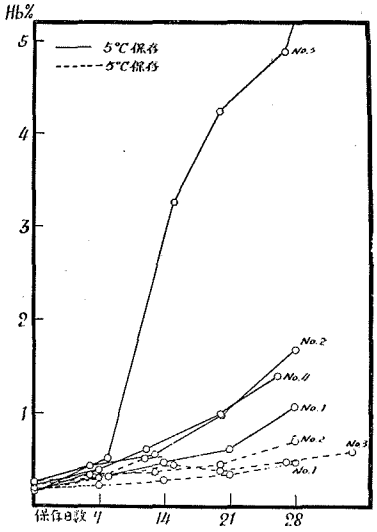

図 21. ACD 加兎保存血液の自然溶血率

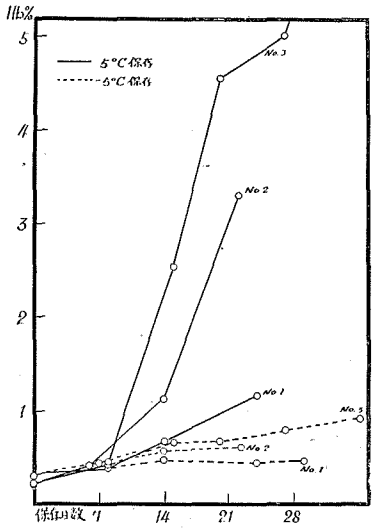

図 22. EDTA 加兎保存血液の自然溶血率

5) 小 括

保存血の保存期間が長くなるに従つて，赤血球は溶血をおこして血漿へモグロビンが増加することは，すでに多くの人々[1)~5),11),12),19)~35)] によりみとめられている。従つて多くの場合溶血度が保存血の良否の判定基準としてあげられている。

従来人血液の保存には 5°C 附近の温度が適当であるといわれているが[2)~4)]，本実験でも人血液保存 (ACD 液のみ) では，5°C のものは −5°C のものより溶血が少ないことをみとめた。

牛血液も人血液と同じような傾向がみられ，どの保存液でも 5°C で保存したものは −5°C 保存のものより溶血が少なく，結局保存温度としては −5°C より 5°C の方が適当であると思われる。

ところが犬，兎の血液の保存では，各保存液とも 5°C 保存のものより −5°C 保存の方が明かに溶血が少ない。従つて溶血の点からみれば，犬，兎血液の保存温度としては 5°C より −5°C 即ち過冷却保存の方が適当であるように思われる。

又各動物についての保存液の種類による溶血の差は，牛血液の ACD 液が C 液より僅かに溶血が少なく，犬の −5°C の ACD 液 (EDTA 液) が C 液よりやや溶血が少ないほかは，各保存血の間にあまり明かな差はみとめられなかつた。

実験 III.　赤血球の低張食塩水に対する抵抗試験 (以下抵抗試験と略す)

1) 人　血　液

前記の方法で人 ACD 加血液の保存による抵抗曲線の推移をみると，図 23 のように抵抗曲線が保存とともに漸次食塩濃度の高張の側に移動するので，明かに抵抗の減少することがわかる。

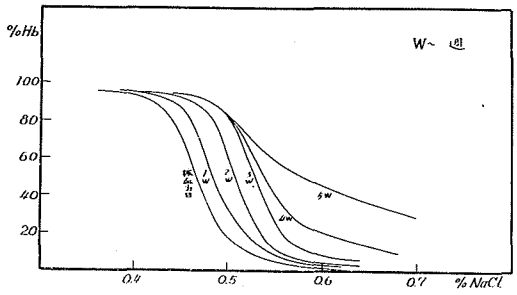

図 23.　ACD 加人保存血液の抵抗曲線の推移

人 6 例の保存による 50% 溶血値の推移は，5°C に保存したものでは図 24 に示すとおりで，保存が長くなるに従い 50% 溶血値は食塩濃度の高い側に移動した。即ち赤血球の抵抗性の減弱していくことがわかる。一方 −5°C に保存したもの (図 25) もやはり抵抗は減るが，その減弱の程度は 5°C のものより早期にしかも強く現われた。

2) 牛　血　液

牛 ACD 加血液を 5°C に保存して抵抗の推移を観察したところ，図 26 のように甚だ興味のある現象が見られた。即ち此の場合は，日数とともに抵抗曲線が食塩濃度の低いほうに移動し，赤血球の抵抗性の増していくことを示した。図 26 は 12 週まで保存した 1 例であるが，12 週でもまだ抵抗が減弱する様子はみられない。4 例の ACD

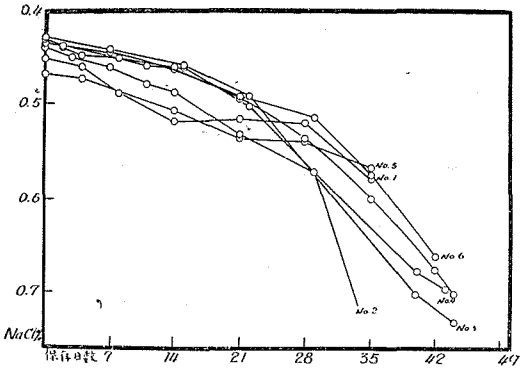

図 24.　人 5°C 保存血液の 50% 溶血値曲線

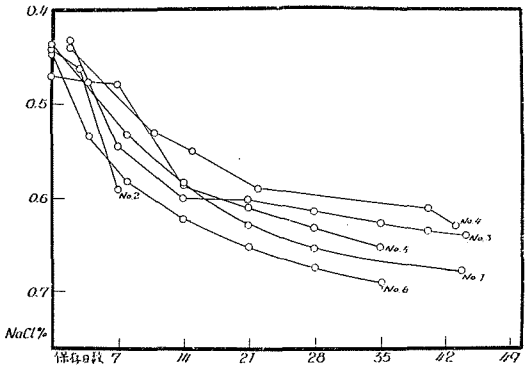

図 25. 人 −5°C 保存血液の 50% 溶血値曲線

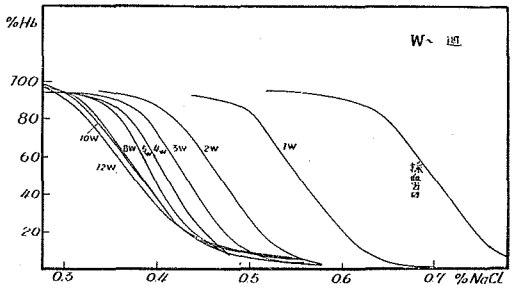

図 26. ACD 加牛保存血液の抵抗曲線の推移

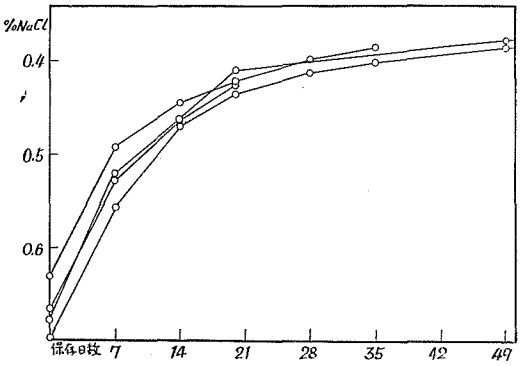

図 27. ACD 加牛保存血液の 50% 溶血値曲線

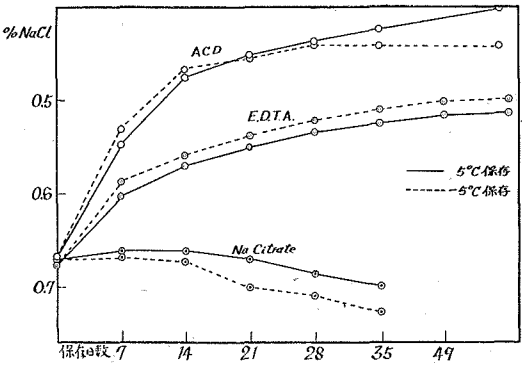

図 28. 牛保存血液の 50% 溶血値曲線

加血液の実験を 50% 溶血値曲線で表わすと，図 27 のとおりに明かに全例が次第に食塩濃度の低い方に傾いていき，いずれも抵抗の強くなることを示している。

牛血液の各種保存液による保存はそれぞれ 4 例ずつ行なつたが，同一保存液の間では何れも同じような傾向がみられた。そのうちの各 1 例ずつを示すと図 28 の通りである。即ち EDTA 液保存のものは前述の ACD 液ほど抵抗性は増さないし，C 液では最初からほとんど変動がなくて，3 週以後になつてむしろ少し低下するくらいである。

なお各保存液とも 5°C と −5°C との間ではほとんど大差がなかつた。

又採血時の各保存液による 50% 溶血値の間にもあまり差はみられなかつた。

3) 犬 血 液

犬血液の各種保存液による保存は，それぞれ 5 例ずつ行なつた。多少のずれはあるが，いずれも同じような傾向がみられたので，そのうちの 1 例を示すと図 29 の通りである。

まず C 液加血液については，−5°C に保存したものは 5 週位までよく抵抗性が保たれているが，5°C に保存したのでは 4 週位まで殆んど変化がなくて，それ以後徐々に抵抗性が減弱していく。

次に ACD，EDTA 加血液では，−5°C に保存したものは抵抗性が増す一方であるのに (6

週まで観察), 5°C 保存のものは保存初期(1～2 週) には −5°C のものより抵抗性は強いが, それ以後は急に低下するという特異な経過を示した。

採血時の各種保存液による抵抗性については, C 液と EDTA 加血液とでは 50% 溶血値に殆んど差はないが, ACD 加血液は抵抗性が強く, 0.06～0.08% だけ食塩濃度の低い方にずれていた。

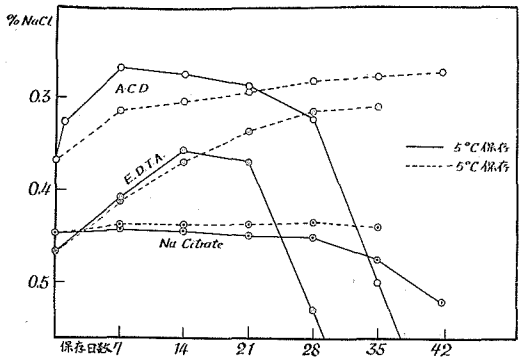

図 29.　犬保存血液の 50% 溶血値曲線

4) 兎　血　液

各種保存液を用いて 4 例ずつ保存し, そのうちの各 1 例を示すと図 30 のとおりである。C 液加血液では概して抵抗性が減弱する傾向にあり, 特に 5°C 保存の方がそうであつた。

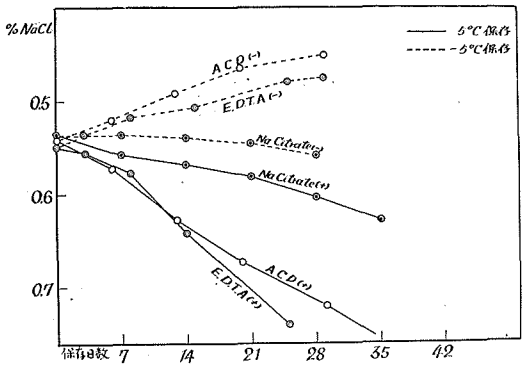

図 30.　兎保存血液の 50% 溶血値曲線

ACD 液と EDTA 加血液では, 保存温度による差がはつきりとみられ, どちらも −5°C 保存のものは抵抗性が増強するのに, 5°C 保存のものではその反対に減弱するという結果であつた。採血時の赤血球の 50% 溶血値は保存液によつて差は殆んどなかつた。

5) 小　　括

以上の成績のように, 保存血液の抵抗曲線は動物や保存液の種類及び保存温度によつて非常に複雑な推移を示す。

保存血の赤血球の抵抗については, Rous and Turner 以来多くの人の報告[1)~4),15),17)~19),25)~28),31)~34),36)~45)] があつて, いずれにおいても保存期間が長くなるに従つて, 抵抗性の次第に低下することがみとめられた。

著者の実験においても, 人血では 5°C, −5°C ともに抵抗性の低下を認めた。しかしその他の牛, 犬, 兎では, 保存液の種類, 保存温度によつてそれぞれ複雑な経過をとることがわかつた。即ち C 液では抵抗性は殆んど変らないか僅かに低下するのに, ACD, EDTA 液では増加するものもあれば低下するものもあつた。

又保存温度についてみれば, 人, 牛では 5°C 保存の方が, 犬, 兎では −5°C 保存の方が抵抗性が強かつた。

実験 IV.　ヘマトクリット (Ht) 値の変化

1) 人　血　液

人血液の 5°C, −5°C 保存のものの Ht 実測値は図 31 のとおりで大体 40〜50% の範囲で推移する。此の各例の採血時の Ht 値を 100% とし，保存中の Ht 値の変化を百分率で表わすと

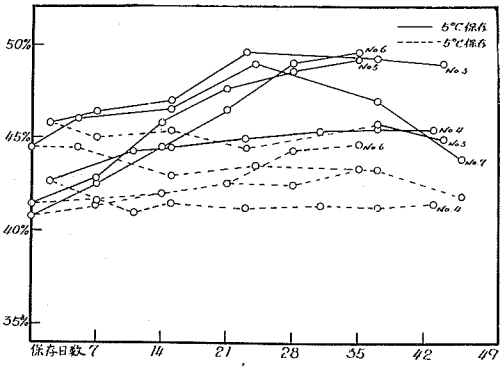

図 31.　ACD 加人保存血液の Ht 実測値の推移

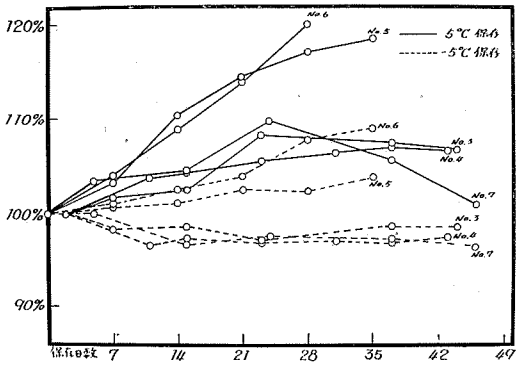

図 32.　ACD 加人保存血液の Ht %の推移

図 32 のようになり変化が観察しやすくなる。此のグラフからもわかるように，5°C に保存したものは，保存するに従い血球容積が増加している。其の増加の傾向も血液によつて差があり，急速に 20% 増加する例，或は 8% 前後増加して其の後は次第に減少する例等があるが，全例とも 3 週までは容積増加の傾向がみられた。

−5°C に保存したものでは，2 例は容積が増加し，3 例はむしろ減少の傾向がみられた。同じ血液では，−5°C に保存したものより 5°C に保存した方が，容積の変化が大きいことがわかつた。

2) 牛　血　液

C 液加血液 (図 33) の 5°C に保存したものでは，特に容積の増加がみられる。即ち容積の増加は 1 週の終り頃から始まつて 2〜4 週まで続くが，其の後は次第に減少する傾向にある。

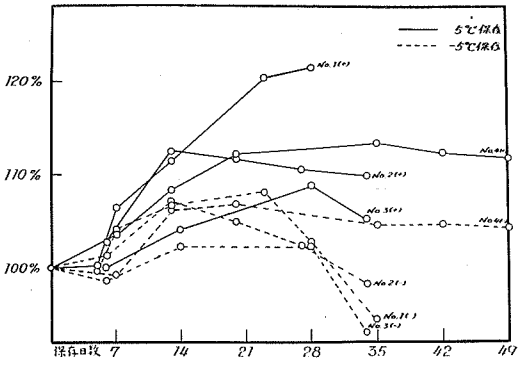

図 33.　C 液加牛保存血液の Ht %の推移

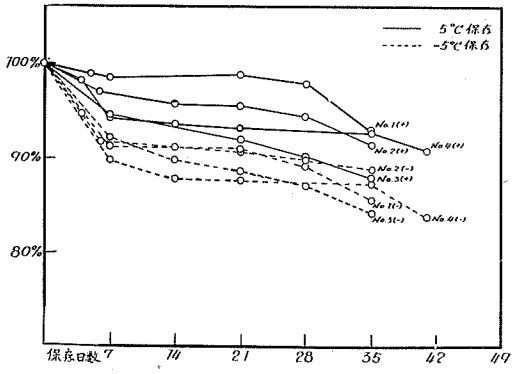

図 34.　ACD 加牛保存血液の Ht %の推移

−5°C に保存すると，最初の1週間はやや減少の傾向があるが，その後は採血時の容積より大きくなり，2〜3週で6% 前後増加し，4週では再び減少して採血時の容積より小さくなるというような変化がみられた。

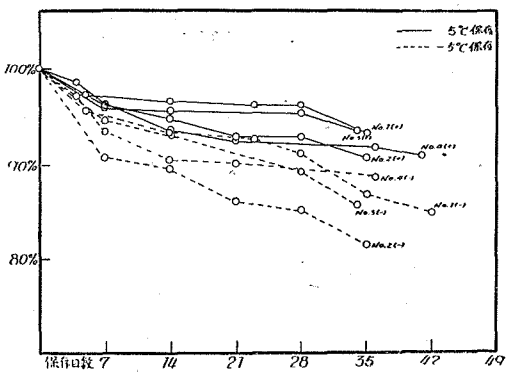

図 35.　EDTA 加牛保存血液の Ht %の推移

ACD 加血液 (図 34) ではすべて容積は減少する傾向にあるが，特に −5°C 保存のものが 5°C 保存のものより減少する程度がひどい。例えば，1週間保存で 5°C は 2〜3% であるのに −5°C では 8〜9% の減少率を示し，又5週間保存では，5°C は 10%，−5°C は 11〜15% 減少となつた。

EDTA 加血液 (図 35) でも ACD 加血液と同じような傾向がみられた。

牛血液の Ht 値の推移は，保存液の種類によつてかなり特異的である。即ち C 液では一旦急激に増加してから減少する傾向があるのにたいし，ACD，EDTA 液では決して増加することはなく減少するのみである。

3)　犬　血　液

C 液加血液 (図 36) を 5°C に保存すると急激に容積が増加して 1〜3 週で 20% 以上になるが，その後は次第に減少する傾向にある。5°C 保存に比較して，−5°C 保存のものでは変化は少なく，5週で僅かに 1〜4% の容積が増加するにすぎない。

ACD 加血液 (図 37) では保存温度による傾向の違いがはつきり現われている。即ち 5°C に保存したものは，保存日数とともに次第に容積が増加し，4週で 6〜12% だけ増すが，その後は殆んど変らないか，或はやや減少の傾向にある。

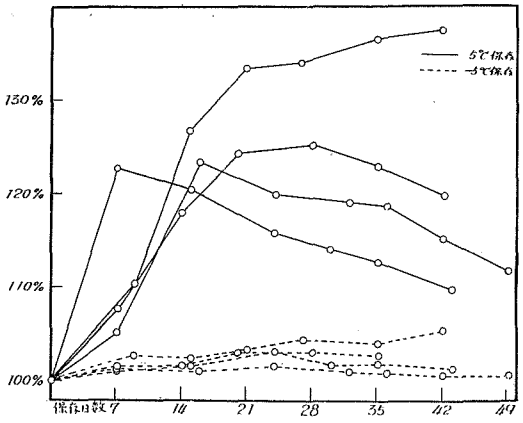

図 36.　C 液加犬保存血液の Ht %の推移

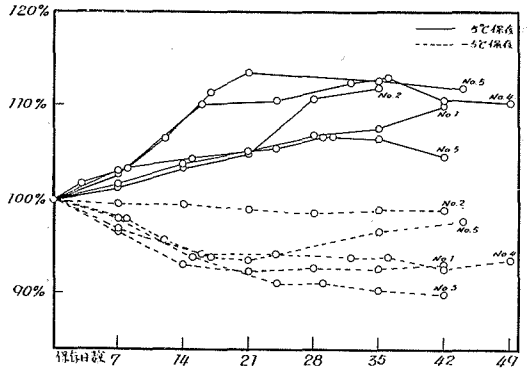

図 37.　ACD 加犬保存血液の Ht %の推移

—5°C に保存したものでは最初から漸次容積が減少し，特に 2～3 週までに 8～9 %の減少率を示すが，その後は容積が増加した 1 例を除いては殆んど変化はみられなかつた。

EDTA 加血液 (図 38) で 5°C に保存したものは 1 週目だけは容積が減少するが，其の後は ACD 加血液と同じように増加する傾向がみられた。

—5°C に保存したものも ACD 加血液と殆んど同じような傾向を示した

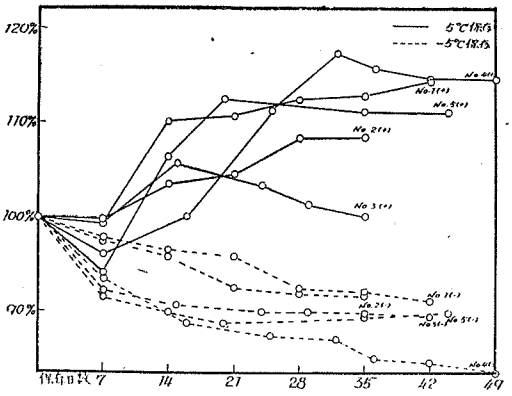

図 38. EDTA 加犬保存血液の Ht %の推移

以上のようにどの保存液であつても 5°C では必ず容積が増加するのにたいし，—5°C では C 液のように殆んど変化のないものもあれば，ACD, EDTA 液のように減少するものもある。

4) 兎　血　液

C 液加血液 (図 39) の 5°C に保存したものでは，1～2 週まではいずれも容積の増加がみられるが，その後はそのまま増加を続けるもの，変化のないもの，減少するもの等個体により異なつた傾向を示した。

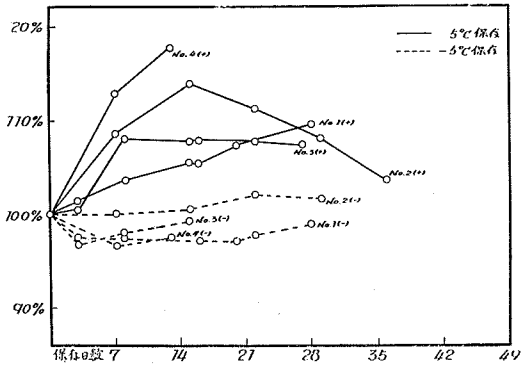

図 39. C 液加兎保存血液の Ht %の推移

これに反して —5°C 保存のものは殆んど同じ経過を辿つてあまりはつきりした変化を示さないが，しいてあげればやや減少するような傾向であつた。

ACD 加血液 (図 40) の 5°C 保存のものは，一旦容積が 8～14% 増加してそれから

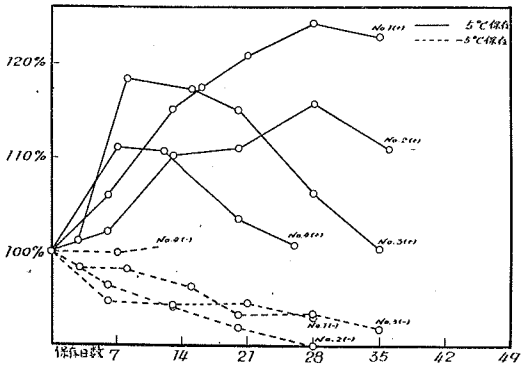

図 40. ACD 液加兎保存血液の Ht %の推移

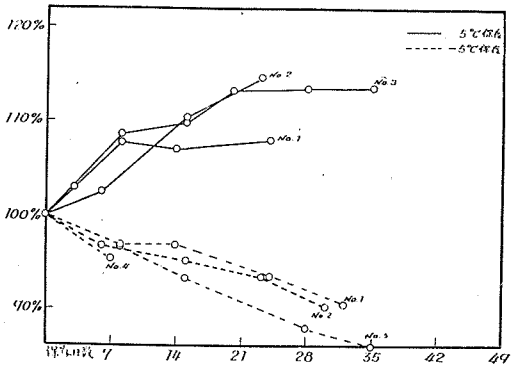

図 41. EDTA 加兎保存血液の Ht %の推移

減少するという経過をとるが，その容積減少が保存1週で始まるもの，或は4週で始まるもの等個体により減少に移る時期が異なつていた。

−5°Cに保存したものでは，保存中に凍結した1例を除き，3例とも減少の一途を辿り，4週で7〜10%減少した。

EDTA加血液（図41）の5°C保存のものでは，3週頃まで漸次容積が増加して8〜14%に達する。

−5°C保存のものでは，ACD加血液の−5°C保存のものと同じような傾向を示した。

兎血液の保存液によるHt値の差異は，犬血液の場合と殆んど同様である。

5) 小　　括

保存血液に於けるHt値，血球容積を測定した報告は多数[4),11),18),23),25),28),34),41)]あるが，中でもRapoport[4)]，Maizels et al[11)]は保存液としてクエン酸3ソーダのみと，これに葡萄糖を加えたものとを用いた場合の容積の変化を観察し，いずれにおいても容積の増加がみられるが，特にクエン酸3ソーダのみを用いた時の方が増加の程度が大きいと言つている。

筆者の実験でも，ACD加人血液を5°Cに保存すると明かに容積が増加するのがみられ，前述の人々と一致した成績が得られた。

ところが一方−5°Cで保存すると，容積には殆んど変化がないか，或はむしろ減少の傾向さえみられた。

第1表　保存血液のHt値の増減

保存液	C液		ACD液		EDTA液	
血液の種類	保存温度					
	5°C	−5°C	5°C	−5°C	5°C	−5°C
人	増[11)]		増	±		
牛	増	僅増，後減	減 >	減	減 >	減
犬	著増	僅増	増	減	増	減
兎	増	僅減	増	減	増	減

そのほか牛，犬，兎の血液をC液，ACD液，EDTA液の各種保存液に加えた場合の保存成績は，かなり複雑な結果を示している。いまそれらの傾向をごく大づかみに表示してみると第1表のようになる。それによれば5°Cでは牛のACD，EDTA液だけが減少しその他の全ての場合に増加する。−5°Cでは牛のC液だけが一時やや増加の傾向を示し，その他の全ての場合に殆んど変化しないか或は減少する。5°Cでは各動物各保存液とも増加するのに反し（牛のACD，EDTA液だけが減少する），−5°Cでは殆んど変化しないか或は減少することがわかる（牛のC液だけは一時増加の傾向を示す）。

実験 V.　pH の 変 化

1) 人　血　液 (図 42)

人血液の pH を 7 例についてみると，採血時は 7.4～7.6 の範囲にあるが，5°C に保存したものでは，初期にやや急に下降して 2 週目で 6.8～7.0 に達するが，それ以後は変化が少なくて 5 週目で 6.6～6.8 まで下降するにすぎない。

ところが，−5°C 保存では 5°C 保存のものより変化が少なく；2 週目で 7.2～7.4；5 週目で 7.1 くらいに下降する程度である。

2) 牛　血　液

牛の C 液加血液 4 例 (図 43) の pH は，採血時 7.7～7.9 の間にある。それを 5°C に保存すると多くは 1～2 週で凡そ 7.5，5 週で 7.3 前後まで下降するくらいの比較的僅かな変化である。

−5°C 保存では更に変化が少なく，保存 5 週で 7.4～7.6 まで下降するにすぎない。

ACD 加血液 (図 44) の pH は，採血時 7.4 前後で，5°C に保存したものは 1 週目で 7.0～7.1 まで下降し，その後は殆んど変化しない。

−5°C に保存したものは，2 週目で 7.2～7.3 に達するが，それ以後 5 週まではやはり殆ん

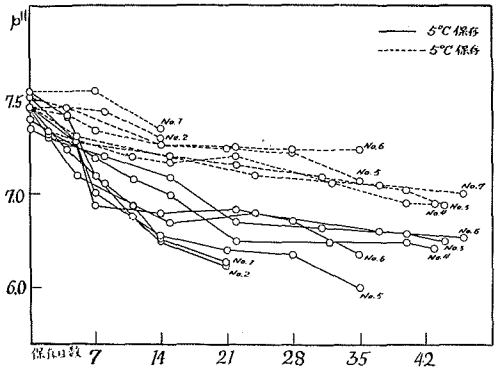

図 42.　ACD 加人保存血液の pH の推移

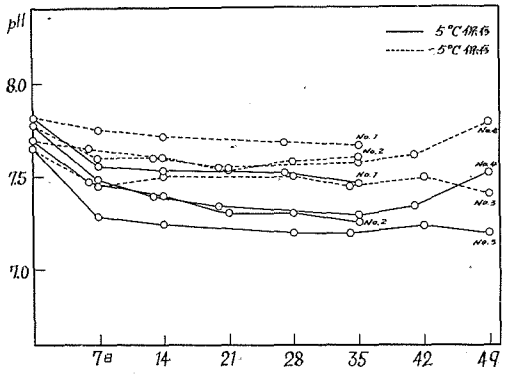

図 43.　C 液加牛保存血液の pH の推移

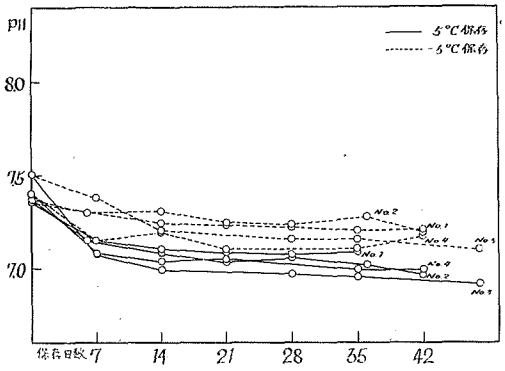

図 44.　ACD 加牛保存血液の pH の推移

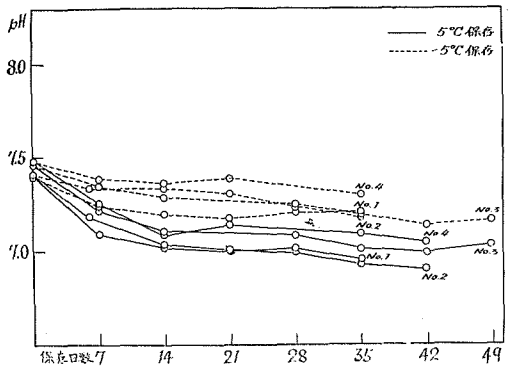

図 45.　EDTA 加牛保存血液の pH の推移

ど変化がない。

EDTA 加血液(図 45)では採血時の pH も，その後の経過も ACD 加血液と殆んど同じ傾向である。

3) 犬　血　液

C 液加血液(図 46)では採血時 pH 7.6～7.9 であるが，5°C に保存すると急激に変化するもの，或は徐々に変化するもの等，各例によつて，変化の程度が異なるが，保存 4 週で pH 7.0～7.3 まで下降する。その後あまり変化のみられないもの(2 例)，4 週で一旦 7.0 まで下降して 7 週で再び 7.3 まで上昇するもの(2 例)とがみられた。

—5°C 保存血液でも個体差はみられたが，5°C 保存と比較して下降の程度は少なかつた。

ACD 加血液(図 47)の pH は，採血時 7.1～7.5 の間にある。これを 5°C で保存すると全例とも急激に変化し，2～3 週で pH 6.5 以下まで下降するが，その後は著しい変化はみられず，保存 5 週で pH 6.2 前後となる。

—5°C に保存したものは，2～3 週で pH 0.2～0.3 程度下降するが，その後はあまり変化がみられない。

EDTA 加血液(図 48)でも，ACD 加血液と殆んど同様の変化がみられた。

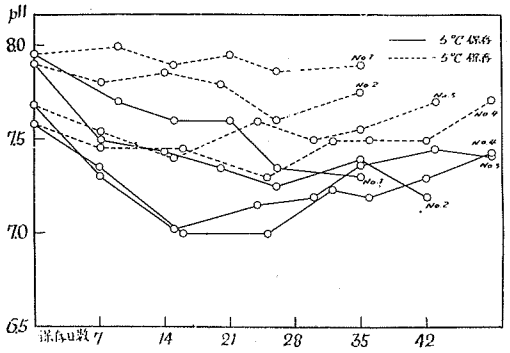

図 46.　C 液加犬保存血液の pH の推移

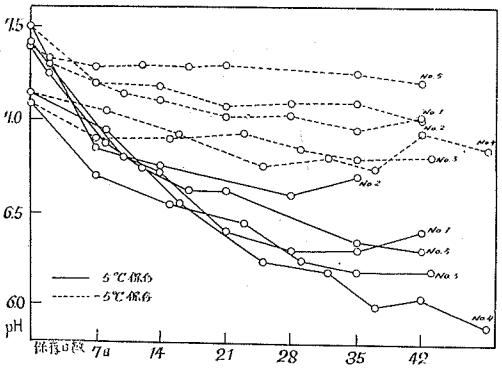

図 47.　ACD 加犬保存血液の pH の推移

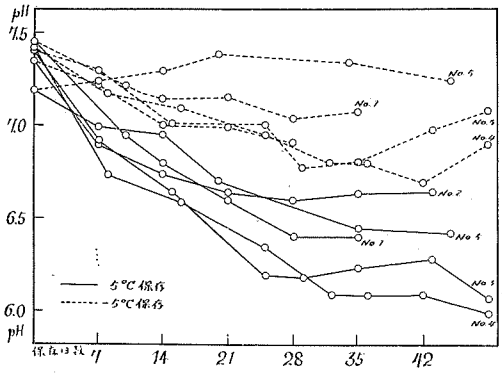

図 48.　EDTA 加犬保存血液の pH の推移

4) 兎　血　液

C 液加血液(図 49)では，採血時の pH は 7.7～7.9 の間にある。これを 5°C に保存すると 2 週で pH 7.2 前後まで下降するが，その後はあまり変化がみられない。

—5°C に保存したのでは，5°C 保存のように急に変化せずに，4 週位まで僅かに下降するのがみられた。

ACD 加血液(図 50)では採血時の pH は 7.1～7.3 である。これを 5°C に保存すると，2 週で 6.7～6.9 に下降するが，その後はあまり変化がみられない。

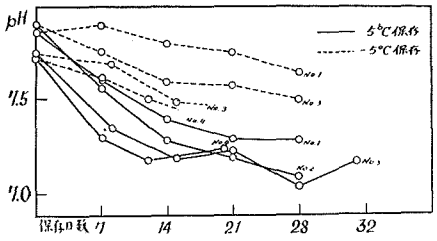

図 49. C 液加兎保存血液の pH の推移

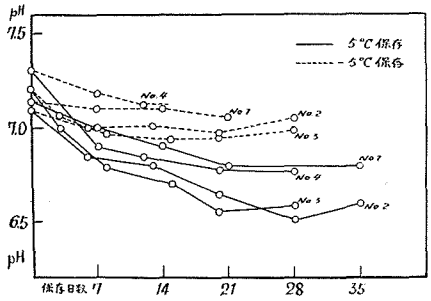

図 50. ACD 加兎保存血液の pH の推移

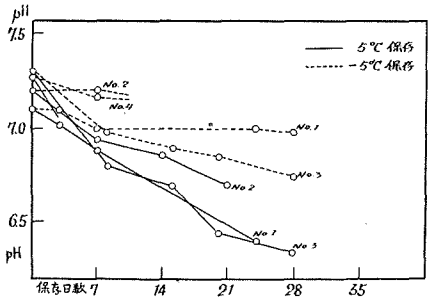

図 51. EDTA 加兎保存血液の pH の推移

—5°C に保存したものも，保存 1 週目に 7.0 附近まで下降するが，その後はあまり変化がみられない。

EDTA 加血液 (図 51) でも ACD 加血液と同じような変化がみられた。

5) 小　　括

実験成績にみられるように，いずれの保存液においても，保存とともに次第に pH が低下して酸性側に傾くことがみとめられた。このような事実は従来発表された成績[3),17),24),25),32)] (主として人の血液について) と一致している。保存液の種類による pH の変化の相違は，犬血液の C 液と ACD 液 (EDTA 液) との間に僅かの差がみとめられる程度で，牛や兎では殆んどみとめられない。

特に注目すべき点は，保存温度と pH との関係であつて，赤血球数や自然溶血については人，牛群と犬，兎群とでは逆の性質をもつているのに反し，pH の変化はどの動物においても同じ傾向を示し，5°C の方が —5°C よりも常に酸性側にある。

考　　察

Rous and Turner 以後行なわれた多数の保存実験において，5°C 附近に保存された人血液の保存による変化は，大体次のとおりであるといわれている。即ち赤血球数の減少，溶血度の増加，赤血球容積の増加，低張食塩水に対する抵抗性の減弱，解糖作用による葡萄糖の減少と乳酸の増加，血漿 pH の低下，細胞内 ATP の減少と無機燐の増加，細胞内 K の減少と Na の増加等が一般にみとめられる変化としてあげられている。しかも保存液として，クエン酸 3 ソーダを用いたときよりも ACD 液を用いたときの方が，これらの変化のおこりかたからみて保存効果がよいといわれている。

さて緒言においても述べたように，我々は —5°C における過冷却保存を試み，5°C 保存のものと比較してどのような差異があるかを検討してみた。そのうち著者は主として溶血に関係

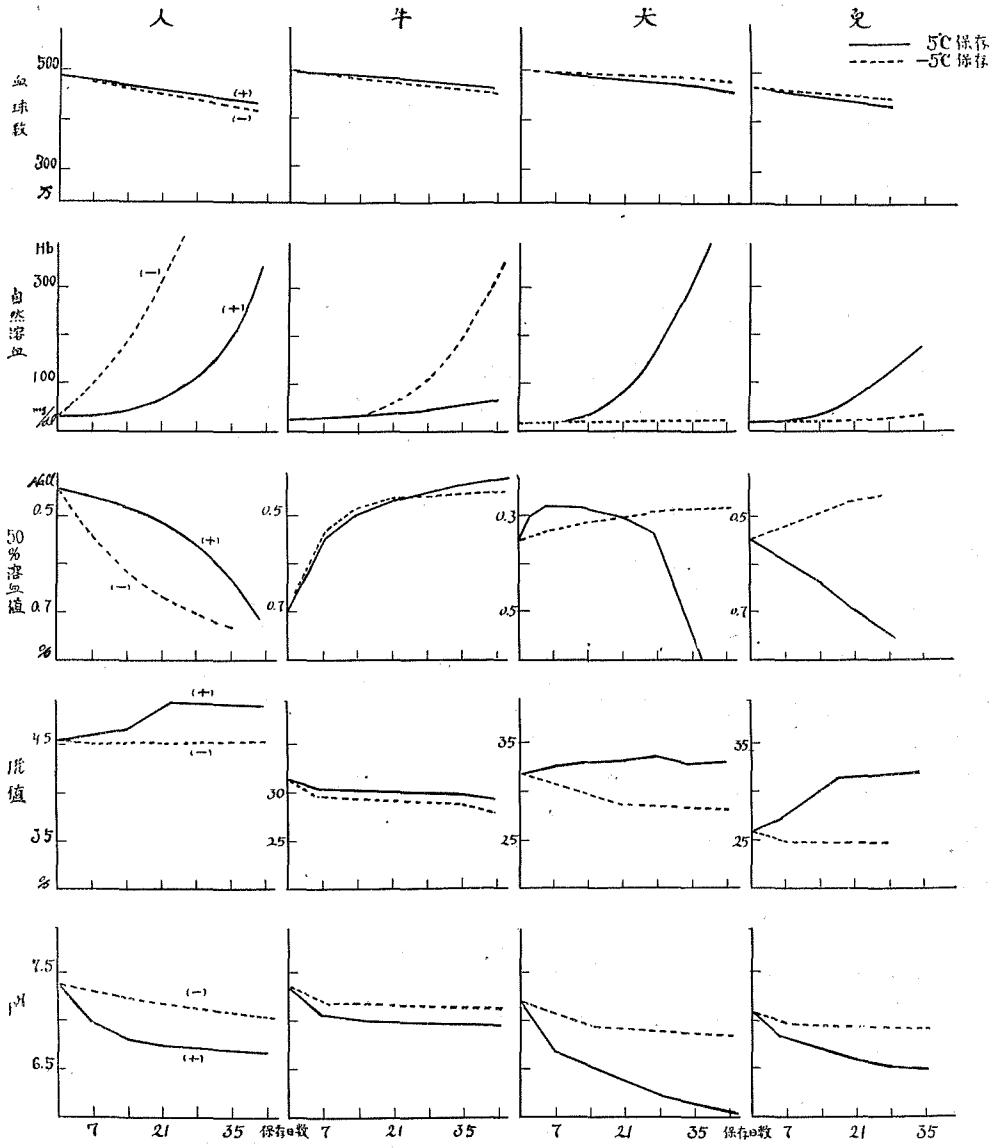

図 52. 本実験成績の綜括図 (ACD 加血液について全般としての傾向を示したもの)

する面を担当したので，解糖作用その他の検索を行なつた共同研究者の成績と照合しながら考察を進めたい。

著者の実験においては，人血液は ACD だけで保存したが，その 5°C 保存のものでは従来みとめられていた変化とほぼ同様の結果を得た。即ち血球数の減少，溶血度の増加，抵抗性の減弱，ヘマトクリット値の増加，pH の低下等である。また −5°C においても同様の傾向であるが，5°C に比較してこれらのうちの前 3 者の変化が特に甚だしく，ヘマトクリット値と pH は反つて −5°C の方が変化が少なかつた。これらのことから人血液では溶血に関係する因子は

−5°C の方で多くの影響を受け，ion の透過性や解糖作用に関係する因子は温度の高い方で変化を受けやすいように考えられる。Parpart[4] も 5°C より 0°C の方が溶血度が大きく抗抵性も低いことをみとめている。又一般にヘマトクリット値は赤血球の ion 透過性や溶血度に左右されるものと考えられるが，図 13 と図 32 の 2 つを比較すればわかるように，3 週以後で急激に溶血度が増しているのにもかかわらず，ヘマトクリット値は殆んど変化しないことから，この場合は溶血度はあまりヘマトクリット値に影響しないものと思われる。

次に牛血については，大体人血と同じような変化があるが，一部には保存液によつて差を生ずるものもあつた。例えば抵抗性については，クエン酸 3 ソーダでは殆んど変化がないのに ACD, EDTA では反つて増強するというような事実をみとめた。前にも述べたように人と牛，犬と兎の間でそれぞれ共通な点が多いのに，抵抗性に差異があるというところは人と牛との大きな相違点である。このように血液を長く保存するほど赤血球の抵抗性が増すということは，従来殆んど気付かれていなかつた事実であつて，僅かに Strumia[41] がグロビンと種々の糖を加えて保存した人血液において，採血時のものより 42 日及び 83 日保存のものが，抵抗性を増したというような図を掲げているにすぎない。著者の実験においては，人血では低下するのに牛血は勿論犬，兎血でも抵抗性の増加する場合のあることがみとめられたことを強調したい。

次に犬血と兎血とについてみると，保存日数とともに溶血度が増し血球数が減ることは一般に想像されるとおりであるが，人血や牛血と異なつて温度の高い方が変化が激しい。しかしヘマトクリット値や pH は，多少の差はあるけれども大体の傾向として人，牛と似ており，温度の高い方が変化が甚だしい。このことは前にも述べたように，溶血に関係する因子の温度による影響の受けかたが，赤血球の種類によつて異なることを示すのではないかと考えられる。例えば Hillier 等[46] は，電子顕微鏡像から動物の種類によつて赤血球膜の微細構造に差があるといつているが，それだけで説明できるわけではない。また赤血球の種々の性質のうちで動物の種類によつて差のあるもの，例えば K-, Na- ion の含有量などから考えてみても，人，牛群と犬，兎群とを分けるだけの根拠は見当らない。このように動物の種類によつて保存血球の変化に全く逆の現象がみられるということは，本実験で初めて見出された新しい事実であるとおもわれる。この点については，多少の実験も試みたが今のところその機序を解釈するだけの論拠を得ていないので更に今後の研究に俟ちたいと考える。

赤血球の抵抗性について重ねて考えてみるのに，動物の種類によつてそれぞれかなり異なつており，この場合は人，牛群と犬，兎群の区別はあまりはつきりしていない。水谷[47] は採血直後の人赤血球を等張 2 糖類溶液に浸すことによつて抵抗性の増加することをみとめており，本実験でも牛，犬，兎血では葡萄糖加血液の抵抗性の増加がみられるが，人血では決して増加することのないことから，この増強の理由も明かではない。

最後に pH については，4 種の動物のいずれにおいても殆んど同じ傾向を示し，5°C 保存のものは常に −5°C 保存のものより pH が低くなつている。竹原[48] の兎についての成績から，

解糖作用の結果生ずる乳酸の量は，温度の低い方が少ないことが説明されているが，解糖作用は原則的に温度の低い方が小さいと考えられるので，各種動物血液においていずれも同一傾向をとり，温度の低いほうがpHの変化が少なくなることは当然であろう。

要するに本実験においては，血液の種類によつて保存血の変化に差異のあることを示したもので，あるものは高温で変化が強く，あるものは低温で変化が強いことを知つた。しかも形態的変化（主として溶血）と機能的変化（主として解糖作用）との間の複雑な関係が明かでない以上，劃一的な結論は下せず，まして過冷却保存の可否などを論ずることはできない。いまは5°Cと—5°C保存の場合の事実だけを挙げ，特にその変化の複雑な点を強調するにとどめて，それらの機序の解明は今後の研究に俟ちたい。

結　言

各種血液を5°Cと—5°Cに保存し，4～6週に亘つて赤血球の変化を追求した。試料には人，牛，犬及び兎の血液を用い，保存液としてC液，ACD液，EDTA液を使用した。その結果得られた成績を要約すれば次のとおりである。

1) 赤血球数は全て減少するが，特に人，牛では—5°C保存，犬，兎では5°C保存の減少率が大きい。

2) 自然溶血も同様の傾向で，人，牛では—5°C保存，犬，兎では5°C保存の溶血度が大きい。

3) 低張食塩水に対する赤血球の抵抗性は，各種条件によつて複雑な推移を示す。即ち抵抗性の減少するもの或は増加するものがあるが，人，牛では5°Cに保存した方が，犬，兎では—5°Cに保存した方が抵抗性が強い。

4) ヘマトクリット値もやはり複雑な推移を示し，増加するもの，不変のもの，或は減少するものがある。--5°C保存のものは5°C保存のものより常に値は小さい。

5) pHは5°C保存のものの方が酸性変化が著しい。

要するに血液の種類，保存液の種類及び保存温度によつてそれぞれ複雑な推移を示すことを知つた。特に溶血に関しては人，牛では5°Cの方が，犬，兎では—5°Cの方が保存に適することをみとめた。

最後に御懇篤な御指導を賜わりました根井教授に心から御礼の言葉を申しあげます。又種々の便宜を計つていただきました共同研究の諸先生方に篤く御礼申しあげます。

文　　献

1) Rous, P., and Turner, J. R., 1916 The preservation of living red blood cells in vivo. I. Methods of preservation. J. Exp. Med., ***23***, 219.

2) 竹岡友夫 1940 血液保存に関する実験的研究. 京都府立医大誌, ***29***, 933.

3) Thistle, M. W., Gibbons, N. E., Cook, W. H., and Stewart, C. B.. 1941 Storage studies on liquid blood. Canad. J. Res., Sect, D, ***19***, 185.

4) Parpart, A. K., Gregg, J. R., Lorenz, P. B., Parpart, E. R. and Chase, A. M., 1947 A problem in general physiology. An in vitro analysis of the problem of blood storage. J. Cli. Invest. ***26***, 641.

5) Lorant, A., Lorant, G. J., Angrist, A., and Korpman, R., 1953 Storage of below 0°C in liquid state. J. Cli. Invest., ***32***, 1005.

6) Khalifa, A. A., and Salah, M. K., 1951 Spectrophotometric determination of haemoglobin in blood. Nature, ***168***, 915.

7) Creed, E., 1938 The estimation of the fragility of red blood corpuscles. J. Path. Bact., ***46***, 331.

8) Parpart, A. K., Lorenz, P. B., Parpart, E. R., Gregg, J. R., and Chase, A. U., 1947 The osmotic resistance of human red cells. J. Cli. Invest., ***26***, 636.

9) Jacobs, M. H., and Parpart, A. K., 1931 Osmotic properties of the erythrocyte. II. The influence of pH, temperature, and oxygen tension on hemolysis by hypotonic solutions. Biol. Bulletin., ***60***, 5.

10) 橋本　巌 1949 赤血球の滲透性抵抗に関する研究. 北海道医誌, ***24***, 233.

11) Maizels, M., and Whittaker, N., 1940 Effects of storage on human erythrocytes. Lancet, ***1***, 113.

12) Florio, L., Stewart, M., Mugrage, E. R., 1943 The effect of freezing on erythrocytes. J. Lab. Cli. Med., ***28***, 1486.

13) Macdonald, A. and Stephen, G. M., 1939 Changes in stored blood. Lancet, ***337***, II, 1169.

14) Kolmer, J. A., 1940 Studies on the preservation of human blood. Am. J. Med. Sci., ***200***, 311.

15) Dubash, J., and Vaughan, J., 1940 Changes occuring in blood stored in different preservatives. Brit. Med. J., ***2***, 482.

16) 平野和夫 1933 保存血液輸血に関する実験的比較研究. 軍医団誌, ***316***, 913.

17) 木口直二 1935 保存血輸血の研究. 京都府立医大誌, ***13***, 1097.

18) 佐藤　功 1955 保存血液の変化について. 日本外科学会誌, ***56***, 8, 1070.

19) Belk, W. P., Henry, N. W., and Rosenstein, F., 1939 Observations on human blood stored at 4 to 6 degrees centigrade. Am. J. Med. Sci., ***198***, 631.

20) Gwynn, C., and Alsever, J. B., 1939 The collection and preservation of placental blood for transfusion purposes. Ibid, 634.

21) Scudder, J., Drew, C. T., Corcoran, D. R., Bull, D. C., 1939 Studies in blood preservation. J. Amer. Med. Ass., ***112***, 2263.

22) DeGowin, E. L., Harris, J. E., and Plass, E. D., 1940 Studies on preserved human blood. J. Amer. Med. Ass., ***114***, 850.

23) DeGowin, E. L., Harris, J. E., and Bell, J., 1942 Rates of hemolysis in human blood stored in dextrose solutions and in other mixtures. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., ***49***, 481.

24) Loutit, J. F., 1945 Factors influencing the preservation of stored red. cells. J. Path. Bact., ***57***, 325.

25) Rapoport, R., 1947 Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. I. Blood preservation in sodium citrate, neutral, and acid citrate-glucose mixture. J. Cli. Invest., ***26***, 591.

26) Rapoport, S., 1947 Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. III. Comparison of 3 dilutions of ACD citrate-glucose solution. Ibid, ***26***, 622.

27) Rapoport, S., 1947 Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. IV. Cells separated from plasma. Ibid, ***26***, 629.

28) Schales, O., 1953 Effects of additions to ACD blood on erythrocyte preservation. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., ***83***, 593.

29) 佐藤篤・大塚武 1939 保存血液と失血救急. 外科, ***3***, 752.

30) 木口直二 1939 保存血液の問題. 外科, ***3***, 1083.

31) 東 陽一 1939 保存血輸血. 外科, ***3***, 859.

32) 松尾正信 1953 血液保存液の比較検討. 京都府立医大誌, ***54***, 437.

33) 大村泰男 1954 保存血液の製造. 東京医事新誌, ***71***, 277.

34) 福武勝博・広瀬淳・高橋進・上野友弥 1955 血液の保存. 日本臨牀, ***13***, 338.

35) 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.

36) Balachowsky, S., Ginsburg, F., Farberowa, R., Palitzina, T., und Rzihina, S, 1932 Chemische Veränderung des Blutes während der Konservierung. I. Biochem. Zschrft. ***252***, 370.

37) Doepp, M., 1934 Die osmotische Resistenz der Erythrozyten in konservierten Blut. Dtsch. Zschr. f. Chir., ***243***, 736.

38) Dacie, J. V., Vaughan, J. M., Oxon, D. M., 1938 The fragility of the red blood cells: Its measurement and significance. J. Path. Bact., ***46***, 341.

39) Wilbrandt, W., 1940 Ueber Konservierung menschlichen Blutes. Schw. Med. Wschrft., ***70***, 731.

40) DeGowin, E. L., Harris, J. E., Bell, J., and Hardin, R. C., 1942 Osmotic changes in erythrocytes of human blood during storage. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., ***49***, 484.

41) Strumia, M. M., McGraw, J. J., Dolan, M., and Colwell, L. S., 1950 Effect of sugars on erythrocytes preserved at 0°C to −3°C. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., ***75***, 675.

42) Chaplin, H., Cutbush, M., Crawford, H., Mollison, P. L., 1954 Post-transfusion survival of red cells stored at −20°C. Lancet, April, ***24***, 852.

43) Gabrio, B. W., Stevens, A. R., and Finch, C. A., 1954 Erythrocyte preservation. III. The reversibility of the storage lesion. J. Cli. Invest., ***33***, 252.

44) 李秀教・中村達四郎・伊集院三郎・外4名 1939 保存血液の赤血球抵抗に関する研究. 熊本医誌, ***15***, 1331.

45) 梶浦 浩 1954 血液保存の検討. 四国医学会誌, ***5***, 46.

46) Hillier, J., and Hoffman, J. F., 1953 On the ultrastracture of the plasmamembrane as determined by the electron microscope. J. Cell. and Comp. Physiol., ***42***, 2, 203.

47) 水谷俊雄 1955 糖類媒質の赤血球半溶血値に及ぼす影響について. 横浜医大生理学教室論文集, 第1巻.

48) 竹原一郎 1956 氷点下におけるウサギの血液の解糖作用. 低温科学, ***14***, B,. 37.

Résumé

In order to investigate the physical and chemical properties of erythrocytes stored at 5°C or —5°C, human, bovine, dog and rabbit bloods were employed as experimental materials and preserved in three preservatives: citrate-, ACD- and EDTA-solution.

Several tests for the blood thus stored were applied at intervals of one week during the storage period of 5～6 weeks.

The results obtained were as follows:

1) Red cells gradually diminished in number week by week. The cells in human and bovine blood stored at —5°C showed more remarkable diminution than those stored at 5°C, while the reverse was the case with the cells in dog and rabbit blood.

2) Spontaneous hemolysis occurred during the storage in all instances. The relationship between hemolysis and storage temperature in each kind of blood was similar to that between cell number and storage temperature.

3) Osmotic fragility of erythrocytes showed complicated alterations in such a way that it increased or decreased according to temperature and kind of preservative. The comparison between the fragilities of erythrocytes stored at 5°C and —5°C indicated that human blood was more fragile at —5°C than at 5°C, while dog and rabbit bloods were less fragile at —5°C than at 5°C.

4) Cell volume estimated by means of hematocrit also showed complicated alterations. Increase, decrease or constancy in hematocrit value proved to depend on the storage conditions. In any case, however, the blood stored at —5°C indicated lower values than that stored at 5°C.

5) pH of all blood samples came out always lower at 5°C than at —5°C during the storage.

In brief, it was noticed that the stored blood showed various changes in physical and chemical properties, depending on the storage temperature and the kind of blood or preservative; nevertheless, as viewed from the standpoint of hemolysis alone, it seems evident that the storage temperature of 5°C is more advantageous for human and bovine blood, while it leads to worse result for dog and rabbit blood.