

保存血輸血に伴う出血傾向に関する研究

第 1 編

少量反復輸血及びクエン酸と出血傾向

岡山大学医学部砂田外科教室 (主任：砂田輝武教授)

副 手 阪 田 光 昭

〔昭和 33 年 8 月 22 日受稿〕

内 容

第 1 章 少量反復輸血と出血傾向

第 1 項 緒 言

第 2 項 臨床的検索及び成績

第 3 項 考 按

第 2 章 クエン酸と出血傾向

第 1 項 緒 言

第 2 項 臨床的検索及び成績

第 3 項 実験方法及び成績

第 4 項 考 按

第 3 章 結 論

第 1 章 少量反復輸血と出血傾向

第 1 項 緒 言

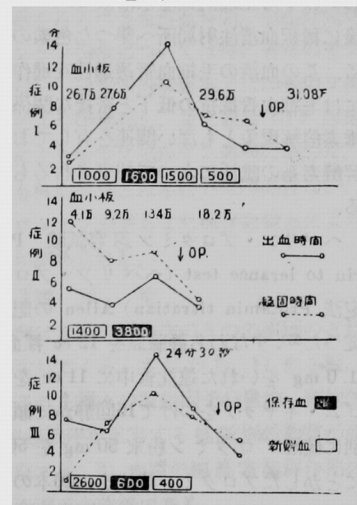
近來の輸血に関する幾多の研究は、輸血の技術的な向上及び輸血に伴う副作用の原因解明やその予防に豊富な知識をあたえつつあるが、輸血が外科学の進歩に伴つて、より頻繁により大量に行なわれる傾向にあることから、最近輸血の殊に保存血輸血の新しい副作用として出血傾向が注目をあびるに至つた。

輸血の副作用として出血傾向があらわれるのは、不適合輸血による溶血反応の時や細菌汚染血液の輸血の時で、これは以前より知られていた。すなわち 1943 年 Wiener¹⁾ はその著書で、溶血反応の時輸血を行つた場所や歯齦、子宮等に滲出性出血がみられるとのべている。Astrowe, Abramsen, Selden²⁾, Friesen¹⁰⁾, Muirhead³⁾ 等もそれぞれ臨床例を報告している。又 Latles, Lindau の不適合輸血についての研究や、Mckay の犬を使用しての実験もこの点を解明せんとしたものである³⁾。しかし最近問題視されるに至つた出血傾向は適合血輸血の時に認められたものである。適合輸血によりおこってくる出血傾向についてはその文献は少い。Bell(1953)⁴⁾, Stefanini et al(1954)⁵⁾, Crosby & Howard(1954)⁶⁾, Krevans & Jackson(1955)⁷⁾ 等により次々と報告がなされる以前には、僅かに Pan & Krishner(1932)⁸⁾,

Friesen & Nelsen(1951)⁹⁾ の例を見るのみである。教室でこの新しい副作用である出血傾向が臨床的に認められたのは、昭和 28 年から昭和 29 年にわたり次のにべる 3 例の患者についてである。3 例の患者はすべて脾腫と貧血を主訴として当科に入院したものであるが、貧血回復のため連日 100~200 cc の保存血を輸血した。保存血の輸血総量がふえるに伴い出血時間、凝固時間は図の如く延長し、新鮮血輸血にきりかえると両者は短縮した (第 1 図)。

第 1 図

連日反復輸血例 (脾疾患)



本来輸血の適応の一つとして出血傾向があり、殊に血液病における出血傾向には輸血がしばしば卓効を奏する事実が知られている。しかるに輸血によりかえつて出血傾向が発現したことは全く逆説的であり、このことが著者の研究のいとぐちとなつた。以下著者の成績をのべる。

第2項 臨床的検索及び成績

保存血輸血により惹起される出血傾向の機転を追求すべく、まず臨床的に術前、術後の病室における連日少量反復輸血の症例を対象として次の諸項目の検査を行つた。なおこれらの諸検査は同型輸血例のみを対象とし、輸血施行後直ちに行い、又手術の直接的影響をさけるため、手術日及び術後第1日は行わなかつた。

検査方法

- 1 全血出血時間 Duke 氏法による。
- 2 全血凝固時間 Schultz-Schilling 氏法によりその開始時間をみた。
- 3 プロトロンビン指数 Quick 氏一段法変法による。
- 4 線維素溶解現象 Fibrinolysis, Macfarlane 法の変法による⁴³⁾。

5 血清の毛細血管透過性亢進作用 Capillary permeability promoting action (血清 CPP 作用) 畔柳氏の記載に従つた⁴³⁾。すなわち生理的食塩水で10倍、25倍、50倍、100倍に稀釈した新鮮な血清を56°Cの水浴中で30分間加熱非働化する。この稀釈血清のそれぞれ0.2 ccを正常な兎のあらかじめ脱毛しておいた部分の皮内に注射し、後直ちにTrypanblauの1%生理的食塩水溶液20 ccを静注する。15分後に稀釈血清注射局所へ集つた色素の広さを計測する。この血清の毛細血管透過性亢進作用は、臨床的には毛細血管抵抗の低下と密接な関係があり、又線維素溶解現象とも深い関連を有しており、線維素溶解酵素系の賦活によつて招来されるものと考えられる。

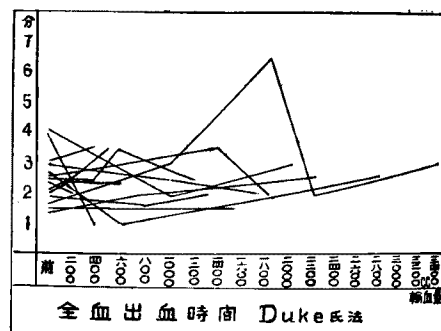
6 ヘパリン・プロタミン忍容試験 Protamin-heparin to larence test (ヘパリン・プロタミン力価測定法 Protamin titration) Allen の記載する方法に従つた⁴⁰⁾。すなわち静脈血を12 cc採血し、ヘパリン1.0 mgをいれた遠沈管中に11 ccをうつし直ちにゴム・キャップをつけて15回静かに顛倒混和する。別に硫酸プロタミン粉末50 mgを50 ccの蒸溜水にとかしたプロタミン溶液を、10本の小試験管に0.02 ccより始めて0.02 cc間隔で0.2 ccまで

いれ、それぞれの小試験管に先の血液1.0 ccあてをとり混和、1時間室温に放置してしつかりした血餅のできた試験管中、もつともプロタミンの少ないものをもつてプロタミン力価とする。本法は抗ヘパリン物質であるプロタミンが、ヘパリンと直接比例的に反応して塩を形成することを利用し、特殊な条件下にある血漿の凝固時間を正常に回復するに必要なプロタミンの量を知り、間接的に血漿中のヘパリン量を知らんとするものである。正常値は0.10~0.14 mgで平均0.12 mgである。

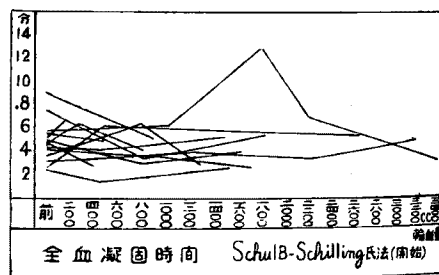
検査成績

第2, 3図, 第1, 2, 3, 4表の如くである。

第 2 図



第 3 図



第1表 プロトロンビン指数

患 者	輸 血 前	輸 血 量	輸 血 後
A. T.	0.9	2200 cc	1.0
S. G.	1.13	4500	1.09
S. K.	1.36	9100	1.2
G. U.	1.2	2300	1.6
I. H.	1.08	1700	0.99
K. I.	1.12	1000	1.18
K. S.	0.96	1200	0.97
K. H.	1.01	500	0.91
S. K.	0.94	1200	0.91
M. G.	0.94	900	0.89

第2表 線維素溶解現象 (F)

患 者	輸血量	F	患 者	輸血量	F	患 者	輸血量	F
健康人 A		(-)	I. N.	700	(±)	A. M.	0	(-)
健康人 B		(-)		1800	(+)		900	(卅)
A. I.	3500	(+)	K. O.	0	(-)	Y. M.	0	(-)
	4000	(±)		1100	(+)		500	(-)
	5500	(+)	Y. S.	0	(±)	I. O.	300	(-)
T. O.	0	(-)		1500	(+)		800	(+)
	300	(+)	T. U.	0	(-)	G. U.	1200	(+)
				500	(+)		5100	(+)

第3表 ヘパリン・プロタミン力価

健康人 A	0.10mg	結核 A	0.12mg	胃癌 A	0.10mg		
健康人 B	0.12	結核 B	0.12	胃癌 B	0.12		
患者	輸血前	輸血量	輸血後	患者	輸血前	輸血量	輸血後
U. S.	0.16mg	1100cc	0.18mg	A. I.	0.10mg	1400cc	0.16mg
S. M.	0.14	700	0.16	I. S.	0.10	700	0.16
		1100	0.20	Y. T.	0.12	1200	0.14
U. K.	0.12	600	0.18	E. S.	0.12	1500	0.18
T. S.	0.14	700	0.20	N. S.	0.12	900	0.14
K. W.	0.16	800	0.18	T. T.	0.10	1200	0.14

第4表 血清 CPP 作用

患 者	輸血量	10×	25×	50×	100×
健康人 A		7×7	7×5	4×3	0×0 ^{mm}
健康人 B		0×0	4×3	3×3	0×0
生理的食塩水		0×0	0×0	0×0	0×0
R. O.	0 1400	4×4 7×7	0×0 3×3	0×0 3×3	0×0 3×3
M. N.	0 1400	4×4 12×12	4×4 10×5	2×2 9×9	1×1 15×15
T. A.	0 2600	8×6 14×14	6×6 12×14	4×4 12×12	3×3 14×14
B. N.	0 3400	0×0 2×2	2×2 5×5	0×0 6×7	1×1 5×5
I. H.	0 1300	2×2 7×4	2×2 8×8	1×1 4×4	3×3 2×2
R. K.	0 3800	6×4 11×7	2×3 10×5	0×0 9×9	3×3 8×5
T. U.	0 500	0×0 9×10	9×12 6×4	0×0 13×4	0×0 10×12

Y. S.	0 1500	10×5 10×7	— 18×14	13×10 14×14	7×7 13×9
K. O.	0 1100	7×5 16×15	— 15×14	3×2 11×12	2×2 11×16
I. N.	700 1800	20×18 10×7	10×10 18×14	6×5 14×14	4×4 13×9

検査成績をみるに全血出血時間、全血凝固時間、プロトロンビン指数については特に有意の差ありとは思われない。線維素溶解現象では10例中9例は保存血輸血により陽性化し、また血清 CPP 作用も保存血輸血により強度に発現する傾向にあつた。しかし両者とも輸血総量とは平行的な関係はない。ヘパリン・プロタミン力価もまた保存血輸血により増加することが認められた。

第3項 考 按

出血傾向は大抵の場合次の3つの原因のどれかによつて発生してくる。すなわち、1) 血小板、血漿より供給される種々の凝血因子の量的、質的欠陥。2) 正常凝血機序を障害する抗凝固性物質が血中に過剰に存在する。3) 血漿の線維素溶解作用による血餅や凝血因子の破壊である。

保存血少量反復輸血例についての検索では、全血出血時間、全血凝固時間、プロトロンビン指数には著変を認めなかつたのであるから、輸血直後において凝血因子に変動をきたす程の影響はないと考えられる。一方原因の 2) と 3) に相当する、ヘパリン様物質の増加や線維素溶解現象及び血清 CPP 作用の発現が認められた。

線維素溶解現象・人及び種々の動物の血漿は各種蛋白を溶解する線維素溶解酵素系を含んでおり、常には非活性のままで流血中に存在する。しかし次にのべる特殊の状態では組織から線維素溶解酵素系賦活物質の放出により、血漿中に存在している前段階物質 Profibrinolysin は活性状態の線維素溶解酵素 Fibrinolysin に変化し、生体内において顕著な線維素溶解作用を呈するに至る。すなわち各種ショック時、手術時、麻酔、突然の外傷死、精神的不安、レ線照射時、過労、炎症、クロロホルム中毒、バルビタール中毒、アドレナリン、ヒスタミン、ノボカイン注射時などの場合に活性化されるといわれている。線維素溶解現象が発現すると、無菌的に採血された血液は一旦凝固した後、一部あるいは全部融解するかまた全然凝固しなくなる。かくして出血傾向があらわれてくるのであるが、その著明な疾病としては、fibrinolytic purpura、白血病、前立腺癌、胎盤早期剝離等がある。一旦凝固した血餅が再び融解したり、また始めから全然凝固しないため出血はとめどなく続き、強度の場合は死に至るものである。また線維素溶解酵素はフィブリンのみならず、フィブリノーゲン、プロトロンビン、安定因子、不安定因子、抗血友病グロブリンの如き蛋白体である他の凝血因子も溶解する。従つて高度の線維素溶解作用があらわれた場合には、これらの凝血因子の血漿中濃度は非常に低下し止血機構は根本的に障害されることになる。保存血少量反復輸血例においては、輸血直後線維素溶解現象があらわれたがその出血時間、凝固時間、プロトロンビン指数に著変を認めていない所からして、その程度は凝血因子に影響を及ぼさない程の軽度のものであろうと想像される。豊田⁴⁴⁾はその線維素溶解についての所論の中で、この現象は Selye の警告反応の初期の相の一部をなすと考えている。この点からすれば保存血輸血は一種のストレスであり、保存血輸血により生体反応として線維素溶解酵素系が賦活されて、出血傾向の素因が附与されるものと考えられる。

血清 CPP 作用 Menkin⁴⁶⁾ は炎症性滲出物か

ら毛細血管の透過性を亢進させる物質を抽出して Leukotaxin と名付け、このものは決して血清中に存在しないとのべている。一方畔柳⁴⁸⁾によるとある種の疾患においては、非動化した血清が毛細血管の透過性をたかめる Leukolaxin 様作用を有することを記載し、この作用を血清 CPP 作用と名づけ、この現象と線維素溶解現象との関係を追求しアレギーに関して興味ある研究を行つている。その研究よりすれば、血清 CPP 作用は線維素溶解酵素の活性化ないし線維素溶解酵素の血漿蛋白消化の結果あらわれると考えられる。すなわち線維素溶解現象ならびに血清 CPP 作用の認められない正常の血漿を、クロロホルムで処理し Antifibrinolysin を除くことにより Fibrinolysin の活性化を行い、その活性化された Fibrinolysin で血漿蛋白を消化せしめると CPP 作用が発現してくるのである。そして臨床的に毛細血管抵抗の低下ないし Rumpell-Leede 現象の陽性ということは、血清 CPP 作用によつて説明されるのである。保存血輸血により血清 CPP 作用が強度に発生するということは、線維素溶解現象と同じく一種の出血性素因が附与されるものと考えられる。

ヘパリン・プロタミン力価：重症な出血傾向をしめす患者ではしばしば血中に抗凝固性物質が証明される。この抗凝固性物質には 2 種類あつて、1 つは耐熱性、非透析性でプロタミンの影響をうけないガンマ・グロブリンである。この例としては血友病患者に長期間にわたり、頻回、輸血、プラスマ輸注、抗血友病グロブリンを投与した時にみられるもので、同種免疫によつて発生するのであろうと説明されている。もう 1 つの抗凝固性物質はヘパリン様物質である。ヘパリン・プロタミン忍容試験はこの種の抗凝固性物質を測定するものである。このヘパリン様物質の増加は、重篤な凝血障害や血小板異常の時にあらわれる。Allen⁴⁹⁾は臨床的にプロタミン力価が増加する一群の出血傾向をあげ、これらの例ではしばしば全血凝固時間の延長をみたとのべている。しかし、一方このプロタミン力価は、ヒスタミンやペプトンなどによるショックの如きアナフィラキシーの場合、インシュリン・ショック、放射能、X 線の曝射、白血病、ナイトロゼン・マスタード投与、月経の如き場合にも増量する。Napolitano はストレス下では肥満細胞からヘパリンが遊離されて、そのためプロタミン力価が増加すると考えている。更に彼は考えをすすめて、ストレス下で遊離したエピネフィリンは触媒として

作用し、血中の Profrinolysin を活性形の fibrinolysin に変えるとしている。

保存血の少量反復輸血時にプロタミン力価の増加をみたことは、同時に測定した凝固時間、プロトロンビン指数に著変を認めなかつたことからして、線維素溶解現象や血清 CPP 作用が発現したと同じ意味において、保存血輸血に対する一種の警告反応の如き生体の状態と解せられる。しかし後編においてのべる如くまた渋沢¹¹⁾も指摘しているように、大量輸血によつて血小板減少、凝血障害がプロタミン力価の増加と共に発現した時には、過ヘパリン血症ともいえる特異な出血傾向を惹起することから、警告反応とはいえやはりある種の潜在的な出血傾向が付与されているとみなすべきであろうと思う。

第2章 クエン酸と出血傾向

第1項 緒言

輸血にあたり普通用いられる抗凝固剤はクエン酸、クエン酸ソーダであるが、輸血がさほど頻繁にかつ大量に行なわれなかつた10年前までは、この抗凝固剤に原因すると思われる輸血副作用の報告はみられない。また Adams²⁴⁾, Allen²⁷⁾ 等の実験や臨床的考察をみても、クエン酸による輸血副作用は実験的にはありうるが臨床上はまず問題にならないとしている。しかるに最近の輸血の適応の拡大、大血管外科、人工心肺、人工腎臓、交換輸血、戦傷等において、保存血の大量を比較的短時間に輸注する機会が多くなり、クエン酸によるテタニー様の中毒症状及び心機能に及ぼす悪影響が相次いで報告されるに至り (Ames²⁸⁾, Syllm and Rapoport, Mellone and yahn²⁹⁾, Cookson²⁶⁾ etc.) クエン酸による輸血副作用があらためて問題視されるに至つた。クエン酸は注入されてもよく体内で代謝されるものであるが、代謝量以上に急速かつ大量に注入されると血中に蓄積がおこる。ことに肝障害、ショック、無酸素症、低体温麻酔などのような場合の外、一般に大量輸血を必要とするような例ではクエン酸の代謝がおくれ、血中の蓄積がより長くかつ強くおこりそれによる障害が発生しやすい。著者はこの血中に蓄積したクエン酸が保存血輸血でみられる出血傾向の原因の1つではないかと考え、以下の臨床的検索及び実験を行った。

第2項 臨床的検索及び成績

血中クエン酸濃度の著しく上昇する例を対象とする関係上、短時間内に比較的大量輸血を行う場合す

なわち手術時の輸血例をとりあげ、時間的に出血時間、凝固時間、プロトロンビン濃度、血清クエン酸量、血清カルシウム量及び肝機能を検査した。検査した症例は手術のみで輸血を行なわなかつた対照例群5例、及び最高3600 cc 最低300 cc の保存血輸血群10例である。

また教室で使用している保存血は日本ブラッド・バンクのもので、血液100 cc につき25 cc のACD液が抗凝固剤として添加してある。ACD液の処方

クエン酸ナトリウム (日局)	0.33 g
ブドウ糖 (日局)	0.33
クエン酸 (日局)	0.12
注射用蒸溜水	25.0 cc

である。この中のクエン酸0.12 g は仮に計算上クエン酸ナトリウムに換算すると0.17 g で、結局保存血100 cc につき0.5 g のクエン酸ナトリウムが入っている計算で、毎分毎kg体重の注入率を算出した。

測定方法

臨床例については次の諸検査を行った。

- 1 全血出血時間 Duke 氏法。
- 2 全血凝固時間 Schultz-Schilling 氏法 (開始) 及び Lee-White 法。
- 3 プロトロンビン濃度 Quick 氏一段法変法。
- 4 血清カルシウム 光電比色計による Phosphate 法
- 5 血清カルシウム・イオン 血清総カルシウムを求め、別に被検血液の血清蛋白を日立血清蛋白計ではかり、この両者を Mc Lean & Hastings³⁶⁾ のノモグラムにあてはめて計算した。正常血清ではイオン型カルシウムは 4.25~5.35 mg/dl で、1.06~1.34 mM/l にあたる。
- 6 血清クエン酸 R. H. Ettinger et al³¹⁾ の方法により測定した。この測定法はクエン酸を酸化及びブロム化してペンタブロムアセトンをつくり、これとアルカリ性ピリジンとを反応せしめて発色、比色するものである。

試薬

- 1) 9 N 硫酸
- 2) 40%メタ磷酸
- 3) 2 M ブロムカリ
- 4) 過マンガン酸カリ飽和液
- 5) 6%過酸化水素水
- 6) ヘプタン

7) 30%水酸化カリウム

8) ピリジン

実施

被検血清はタングステン酸法で除蛋白する。その 4.0 cc を共栓付試験管にとり、これに 1.0 cc の硫酸、0.25 cc のメタ磷酸を加えて 15°C 以下で冷却する。更に 0.5 cc のブロムカリと 1.5 cc 過マンガン酸カリを加え攪拌後 10 分放置、次いで過酸化水素水をたえず攪拌しつつ 1 滴あて加えて脱色する。更に 6.0 cc のヘプタンを加え栓をして 1 分間激しく振盪する。別の共栓付試験管に 2.0 cc の水酸化カリと 4.0 cc のピリジンを入れ、これに先の試験管のヘプタン層より 5.0 cc のヘプタンを移す。栓をして 30 秒激しく振盪した後 80°C の温浴中に 4 分間保ち、更に数秒振盪してすばやく氷水中で冷却する。次いで 2000 r. m. p. 10 分間遠沈、水酸化カリ、ピリジン、ヘプタンの 3 層を完全に分離し、赤色に着色したピリジン層をキューベットのにとり光電比色計にかける。ブランクを 100% の透過率目盛に合わせ被検液の透過率を求める。波長は 520 mμ、得られた透過率を既知濃度のクエン酸溶液より作つた標準グラフに代入してクエン酸濃度を求める。この方法で得られる健康人空腹時の血清クエン酸濃度は、平均 15.2 γ で 8.1~19.7 γ の間にある。

7 肝機能検査

- 1) チモール濁濁反応
- 2) 高田氏反応
- 3) ヘパトサルファレイン試験 (30分)
- 4) 血清ヒヨリン・エステルラーゼ 高橋⁵⁰⁾

の記載する方法によつた。

試薬

- 1) 第 1 製薬のオビスートによるアセチルヒヨリン液
- 2) フェノールロート液
- 3) pH=8.0, 7.8, 7.6, ……6.0 の磷酸緩衝液 5.0 cc にフェノールロート液 0.2 cc を加えた pH

比色管列

実施

pH 比色管列と同じ大きさの試験管 A 及び B にそれぞれ下の順序に試薬を加えて混合し、36~37°C の湯槽中に 100 分間つける。

A (対照) 緩衝液 1.5 cc + 蒸溜水 3.0 cc + アセチルヒヨリン液 0.5 cc + フェノールロート液 0.2 cc

B (血清) 緩衝液 1.5 cc + 蒸溜水 3.0 cc + アセチルヒヨリン液 0.5 cc + 被検血清 0.1 cc + フェノールロート液 0.2 cc

加温 100 分後 A, B 両管をとり出して各々の pH すなわち pH (A) 及び pH (B) を比色管とくらべてよみとる。そうすると $\Delta pH = pH (B) - pH (A)$ によつて被検血清のヒヨリン・エステルラーゼ濃度をあらわすことができる。この方法によると健康者及び非肝疾患患者の ΔpH は -0.5~-1.2 であつて、肝疾患患者のそれは大抵 -0.5 よりも絶対値が小さい。

測定成績

第 5, 6, 7 表の如くである。

臨床例を検討してみるとまず対照群では、術前に比し術後の肝機能がやや侵されており、それに相応して術後血清クエン酸量が増加しているのを見るはか著変を認めない。クエン酸は正常血清に平均 10 γ/ml 内外含まれている。血清クエン酸と肝機能とはほぼ平行的な関係にあり、手術的侵襲のため肝機能の低下する手術後には、一般に血清クエン酸は増量すると考えられる。

輸血群では輸血量及びその注入速度に平行して、血清クエン酸の増加を認める (第 4 図)、その 1 例をあげると (第 5 図)、症例 T. G. は胸成術の手術において輸血を行わず終了したが術後血圧下降しこれに対して急速に 500 cc の輸血を試みた例で、そのクエン酸注入率は 1.9 mg/kg/分となり、従つて血清クエン酸量も 66.7 γ/ml と異常の上昇を認めしめた。血中に注入されたクエン酸は主として肝

第 5 表 対 照 群

姓 名 年 令	手術名	出血時間	凝固時間 Schilling 法	Ca mg/dl	[Ca ⁺⁺] 計算量 mM/l	クエン酸 γ/ml	肝 機 能 検 査			
							高 田	チモール	B. S. P. 30分	ヒヨリン エステルラーゼ
S. N. 21才 ♂	胃 切	① 2'	2' 30"	10.3	1.13	15	(-)	5	5	-1.25
		② /	/	9.25	1.0	14				
		③ /	/	9.0	0.98	17				
		④ 2'	2' 30"	9.0	0.97	17	(-)	5	10	-0.64

A. K. 53才 ♂	胃 切	① 2'	4' 30"	9.4	0.9	16.5	(-)	5	5	-1.17
		② 2' 30"	3'	10.0	1.07	31.7				
		③ 1' 30"	2' 30"	8.8	0.96	29.7				
		④ 1' 30"	6'	9.8	1.09	36	(-)	5	30	-1.16
S. K. 37才 ♀	乳腺切除	① 3'	3' 30"	9.2	1.1	12	(-)	5	5	-1.37
		② 3' 30"	4' 20"	7.0	0.75	11.7				
		③ 3'	4'	10.0	1.07	12				
		④ 1' 30"	3'	10.0	1.1	32	(-)	6	5	-1.11
H. H. 44才 ♂	胃 切	① 3' 30"	5' 30"	10.0	1.01	29.7	(-)	5	10	-1.32
		② 1' 30"	2' 30"	10.0	1.0	30.3				
		③ 1' 30"	2' 30"	9.6	0.98	29.7				
		④ 2'	4'	9.6	1.08	34	(-)	6	10	-1.44
T. G. 29才 ♂	胸 成	① 2'	3' 30"	11.0	1.17	23.7	(-)	6	30	/
		② 2' 30"	3'	11.0	1.17	23.7				
		③ 1' 30"	2' 30"	12.2	1.24	28.7				
		④ 2'	6'	9.6	1.0	32.7	/	6	15	/

① 術前 ② 術中 ③ 術直後 ④ 24時間後

第 6 表 輸 血 群

No.	姓名 年令	手術名	総輸 血量 cc	注入 クエン 酸塩量 g	平均 クエン 酸塩注 入速度 mg/kg /分	出血時間	凝固 時間 Schilling 法	Ca mg/dl	[Ca ⁺⁺] 計算量 mM/l	クエン 酸 γ/ml	肝機能検査			
											高田	チモ ール	B.S.P. 30分	ヒヨリン・ エステ ラーゼ
No. 1 38才 ♂	K. S. (肝硬変 合併)	胃 切	300	2.0	0.54	① 4'	5' 30"	11.2	1.28	5.0	(+)	5	5	-0.9
						② 2' 30"	3' 30"	10	1.1	18.5				
						③ 2' 30"	2' 30"	11.2	1.3	31				
						④ 2'	4'	11.5	1.31	33	(+)	10	15	-0.85
No. 2 57才 ♂	Y. K.	肺 切	1300	6.6	0.4	① 1' 30"	3'	11.5	1.27	20.4	(-)	3	5	-1
						② 2'	4'	9.6	1.0	45.7				
						③ 2'	3'	9.4	1.04	26.5				
						④ 2' 30"	6'	10	1.15	35.7	(-)	5	20	-0.7
No. 3 64才 ♂	H. N.	直 腸 切 断	2100	10.5	0.98	① 2' 30"	4' 30"	11.5	1.3	5.15	(-)	3	15	-1.4
						② 2' 30"	3' 30"	12.75	1.38	24.9				
						③ /	/	7.5	0.91	19.0				
						④ 2' 30"	4' 30"	/	/	13.5	(-)	4	15	-1.06
No. 4 27才 ♂	T. O.	肺 切	1400	7.0	0.46	① 2'	4' 30"	9.6	0.94	17.7	(-)	2	5	-1.13
						② 3'	3' 30"	9.6	1.0	23.7				
						③ 1' 30"	2'	9.2	1.0	16.7				
						④ 1' 30"	6'	10	1.16	17.7	(-)	5	30	-1.06
No. 5 29才 ♂	S. A.	肺 切	600	3.0	0.38	① 2'	7'	8	0.84	18.7	(-)	5	15	/
						② 3'	3' 30"	9	0.98	21.3				
						③ 2'	2' 30"	9	0.98	32.0				
						④ 2'	3'	9.15	1.08	20.7	(-)	6	60	/

① 輸血前 ② 輸血中 ③ 輸血終了直後 ④ 24時間後

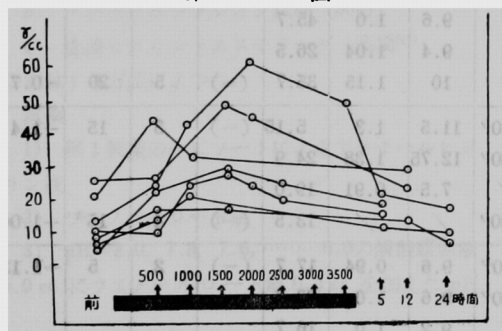
第 7 表 輸 血 群

	姓 名 年 令	手 術 名	総輸 血量 cc	注 入 クエン酸 塩量 g	平均ク エン酸注 入速度 mg/kg/ 分	出 血 時 間	凝 固 時 間	プロトロン ビン濃度 %	Ca mg/dl	[Ca ⁺⁺] 計算量 mM/l	クエン酸 γ/ml
No. 6	S. U. 56才♀	直腸切断	3600	18.0	1.75	① 2'	2'	100	11	1.1	14.5
						② 3'30"	2'	80	12.9	1.6	65.0
						③ 4'30"	2'	90	15.3	1.79	50.0
						④ 3'	1'30"	126	10.6	1.29	20.0
No. 7	M. K. 38才♀	肺 切	2500	12.5	1.3	① 4'30"	3'30"	100	11.8	1.27	10.0
						② 4'30"	2'	86	11.8	1.35	25.0
						③ 3'	2'30"	100	14	1.6	14.0
						④ 2'	2'45"	114	10.6	1.27	6.0
No. 8	M. S. 26才♀	肺 切	1600	8.0	0.75	① 6'	11'	100	11.0	1.13	12.5
						② 3'30"	6'	83	10.1	1.04	24.5
						③ 2'30"	8'	100	6.4	0.62	29.2
						④ 2'30"	11'	100	10.5	1.08	14.0
No. 9	S. T. 52才♂	胃 全 摘	1000	5.0	0.37	① 2'	5'	100	8.3	0.8	8.8
						② 2'30"	5'	100	7.5	0.78	32.0
						③ 2'30"	8'30"	78	7.5	0.8	38.5
						④ 2'	5'	47	7.2	0.8	2.0
No. 10	E. S. 28才♀	肺 切	1000	5.0	0.6	① 4'	6'	100	9.25	1.0	9.0
						② 3'30"	2'6"	93	8.5	0.9	16.5
						③ 8'30"	3'30"	75	9.1	0.96	19.0
						* ④ 3'30"	1'	80	8.0	0.92	16.5

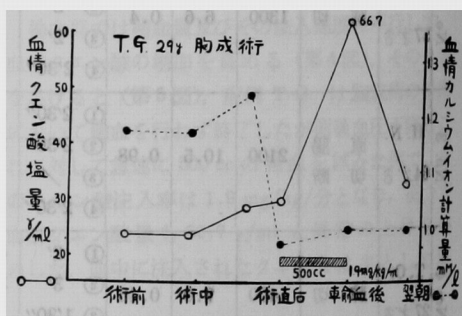
① 輸血前 ② 輸血中 ③ 輸血終了直後 ④ 24時間後 * 終了6時間後

凝固時間: No. 6, No. 7, No. 10 Schilling 氏法, No. 8, No. 9, Lee-White 法

第 4 図



第 5 図



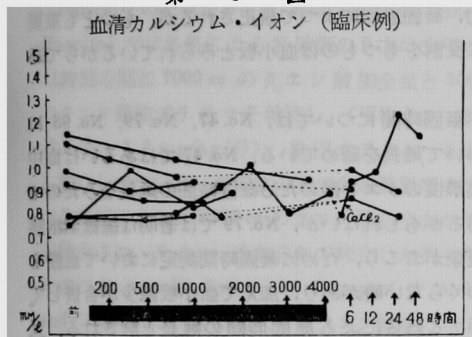
臓で急速に代謝されて、グリコーゲンあるいは脂肪に転化するとされている(Mac Kay³⁴), Mallinson¹⁴)は動物の肝臓を正常血清クエン酸濃度の100倍の溶液で灌流した場合、1回の灌流で殆んど完全に代謝されることを実験でしめし、又 Allyl formate で肝障害をおこしておくで肝代謝能力は低下し、血清クエン酸濃度は上昇するという。著者の検査例にも

肝硬変を伴う症例 No. 1 では、僅か 300 cc の輸血で 31 γ/ml という血清クエン酸の増量がみられた。

次に出血傾向は全例に認められなかった。出血時間、凝固時間とも延長の著しい例はなく、むしろやや短縮したものが多い。プロトロンビン濃度は全例とも軽度の低下をしめしているが出血傾向を来す程度高度のものはない。ただ No. 9 において輸血終了後

24時間で47%に低下しているが、この例は術後第3病日よりモイレングラハト120の高度の黄疸を合併している。この低下は肝障害による所が大きいものと考えられる。血清カルシウム・イオンの変動は著明でない。ただ血清クエン酸の増量する時には、カルシウム・イオンはやや減少する傾向にある（第6図）。

第 6 図



第3項 実験方法及び成績

クエン酸の影響を実験的に検討するため次の実験を行った。(1) 体重7~10 kgの成犬を使いすべて Ravonal 又は Nembutal を静注麻酔し、挿管して充分酸素を呼吸せしめ、かつ Ravonal, Nembutal を少量あて追加して麻酔深度を可及的一定ならしむよう努めた。(2) 6頭の成犬に2~3週間保存の保存血液を1000~1500 cc、脱血をくりかえし行いつつ100分内外の時間で輸血した。ここに用いた保存血は、あらかじめ実験犬と交叉試験適合せる成犬2~3頭より無菌的に脱血し、4~6°Cの氷室に静置保存したもので、抗凝固剤として全血100 ccにつき ACD 液 25 cc が添加してある。(3) 検査項目は全血出血時間、全血凝固時間、プロトロン濃度、血清カルシウム、血清クエン酸で、その測定方法は臨床例の場合に準じて行つた。

測定成績は第8表の如くである。

第 8 表 保 存 血 輸 血 群

犬番号 体 重	総輸 血量 cc	注入ク エン酸 塩量 g	平均ク エン酸 塩注入 速度 mg/kg /分	出 血 時 間	凝 固 時 間	プロト ロン 濃 度 %	Ca mg/dl	[Oa ⁺⁺] 計算量 mM/l	クエン酸 γ/ml	予 後	④
No. 5 11 kg	950	4.75	8.35	① 7'30"	3'30"	100	12.6	1.3	12	死 亡	輸血終了 後2時間
				② 7'	1'	75	12.6	1.35	59		
				③ /	/	80	14.3	1.76	179		
				④ /	/	75	13.6	1.4	74		
No. 12 10 kg	800	4.0	2.45	① 3'30"	1'30"	100	9.9	1.2	5.5	生 存	輸血終了 後12時間
				② 5'	1'30"	109	9.9	1.29	23.0		
				③ 9'30"	1'30"	86	10.2	1.29	46.0		
				④ 4'	1'30"	92	11.4	1.42	6.5		
No. 47 10 kg	1000	5.0	2.8	① 3'	6'30"	100	8.4	0.95	12.5	生 存	輸血終了 後5時間
				② 4'	/	106	7.5	0.84	62.5		
				③ 5'30"	9'	89	7.8	0.87	77.5		
				④ 7'	12'	94	10.2	1.18	79.0		
No. 79 7 kg	1700	8.5	4.35	① 3'	10'30"	100	9	1.1	7.0	生 存	輸血終了 後16時間
				② 4'30"	18'	108	13.6	1.68	76.0		
				③ 10'	凝固せず	100	8.8	1.08	61.0		
				④ 2'30"	11'	117	11	1.38	9.4		
No. 91 7 kg	1500	7.5	5.25	① 2'30"	12'	100	9.5	1.13	10	死 亡	
				② 20' <	12'	100	11.8	1.45	52		
				③ 20' <	13'	100	10.7	1.38	75		
No. 95 9 kg	1500	7.5	8.75	① 1'30"	7'30"	100	9.4	1.19	9.0	死 亡	
				② 12'	15'	80	10.8	1.32	82.0		
				③ 14'30"	15'	126	14.7	1.75	89.0		

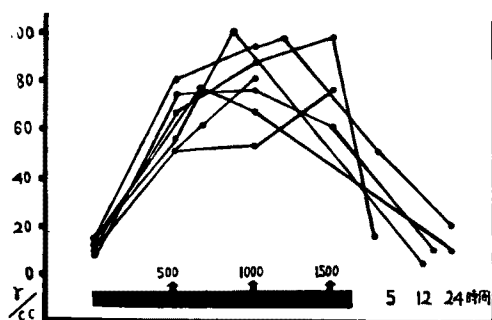
① 輸血前 ② 輸血中 ③ 輸血終了時

凝固時間 : No. 5, No. 12 Schilling 氏法

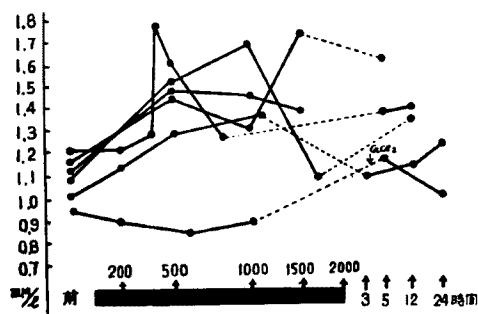
No. 47, No. 79, No. 91, No. 95 Lee-White 法

実験例全例にクエン酸中毒の徴候が認められた。すなわち顔面筋、舌の線維性痙攣が始まり、次第に四肢及び軀幹筋のテタニー様痙攣をおこし、更に高度のものは全身テタニーを来す。呼吸は努力性となり喘鳴を伴う。脈搏は緩徐となり、血圧は下降し、注入を持続すればついに死亡する。この時の血清クエン酸は輸血量の増加と共に著明に上昇し(7図)、血清カルシウム・イオンも軽度上昇した(第8図)。

第 7 図
血清クエン酸量(実験例)



第 8 図
血清カルシウム・イオン(実験例)



出血傾向については、あらかじめ腹壁に切創をつくつておいて観察した。それでは No. 5, No. 79 に滲出性出血を認め、又 No. 95 には著明な後出血があつた。

血中クエン酸濃度の著明な上昇により出血傾向がおこるとすれば、その機転については2通り考えられている。すなわち1つはクエン酸は血中のカルシウムとイオン化しないクエン酸カルシウムをつくるため、脱カルシウム作用がある。このため血中のカルシウム・イオンは低下し凝血障害を来すとするもので、もう1つはクエン酸は単なる脱カルシウム剤

というよりもむしろ抗プロトロンビン作用があり、この点で凝固系に抑制的にはたらくとするものである。

以下出血傾向をみとめた例をふくめて、個々の実験例について検討してみるに、出血時間では No. 12, No. 79, No. 91, No. 95 で延長を認めているが、これは同時に合併した著明な血小板減少のためであると考えられる。全血出血時間は血小板、血管の収縮力、凝固過程によつて規正されるが、もつとも重要な役割をもつものは血小板とみられているからである。

凝固時間については、No. 47, No. 79, No. 95 において延長を認めている。No. 47 ではあるいは血中高濃度のクエン酸のため凝固時間の延長をみたのであるかもしれないが、No. 79 では著明な線維素溶解現象がおこり、ために凝固時間測定において血餅をつくらぬ時があり、加えて血小板減少が合併してこれらによる凝固時間の延長と解される。又 No. 95 も血小板減少が著明であり、輸血終了後の検査では凝血障害が著しくこれが主因であると考えられる。この例ではカルシウム・イオンはむしろ増加し、プロトロンビン活性度もさして抑制されておらず、他の検査で凝血の第1及び第2段階において凝血因子に障害があつたと思われる結果を得ているから、凝血障害というもクエン酸は副次的な役割をもつたにすぎないのであろう。

プロトロンビン濃度は全例において軽度の低下があつた。

教室伊達の実験によると、10%クエン酸ソーダ注入犬群では強度のクエン酸中毒の発生をみ、中には全身テタニーがつよく血圧下降し、塩化カルシウムの注射により救命しえたものもある。しかし出血時間、凝固時間、プロトロンビン濃度の変動は軽度で、肉眼的にも出血傾向は認められなかつた。対照の生理的食塩水注入群においては実験犬は平静であり、その出血時間、凝固時間、プロトロンビン濃度に著変を認めず、血清カルシウム、血清クエン酸も稀釈されたかの如くその量は減少している。

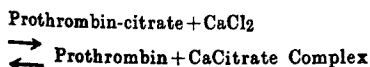
第4項 考 按

クエン酸ソーダの毒性については、Lewisohn(1915)が犬を用いて実験を行い、その結果よりして人間では体重125ポンドの場合15gのクエン酸ソーダが致死量にあたるとしている。これについてKrautwald and Dorow(1940)、はクエン酸ソーダの毒性はその注入速度に大いに関係があり、5gのクエン酸ソーダを数分で人に注入する時はテタニー

が発生することをみている³³⁾。しかしかかる純薬理学的な研究をこえて、近年の著しい外科手術の進歩及び輸血技術の改善、血液銀行の普及は、循環血液量をうまわる大量輸血の必要にせまられ、またその施行を容易ならしめた。それに伴いクエン酸中毒が大量輸血に伴う新しい副作用として、別の観点より大きく問題視されるに至った。

Bunker²⁶⁾の記載をみると、Massachusetts General Hospital では外傷による肝破裂の9才の少年に、11時間の間に7000 ccのクエン酸加全血と500 ccのクエン酸プラスマを輸注し、(平均クエン酸塩注入率、1.1 mg/kg/分)、数回のテタニーをおこし死亡している。又63才の女で食道静脈瘤の出血で7時間のうちに8500 ccのクエン酸加全血が輸血が輸血され、テタニーをおこして死亡した例もある。そのほか Ames²⁸⁾, Syllm and Rapoport や Mellon and Yahn²⁵⁾の報告例も大量のクエン酸塩の急速肝入によるテタニーについてふれている。Wexler等³⁴⁾は乳児の交換輸血で血清クエン酸量が120 mg/dl以上になった例を報告している。

クエン酸ソーダの化学的作用としては次のことがあげられる。1) カルシウムとイオン化しない化合物をつくるため脱カルシウム作用がある。2) 強塩基と弱酸の塩であるからその溶液はアルカリ性である。3) 体内での燃焼の結果重炭酸塩がたまります。このクエン酸塩が体内へ注入されると、その脱カルシウム作用のため血液、組織からカルシウム・イオンをとりさり、血清カルシウム・イオンは低下しテタニーをおこす。心電図には低カルシウム血症の時の変化があらわれてくる。また心臓はカルシウム・イオンの欠乏では搏動できず、次第に搏動は弱くなり拡張期で停止する。さらにカルシウム・イオンの低下が強度であれば、当然凝血障害による出血傾向が予想される。クエン酸中毒時の血液は非常に赤黒く重篤なアシドーシスで、pH7.15以下になる。これは輸注される保存血は時間がたつにつれ次第に酸性になることも関係している。クエン酸塩はそれ自体に心抑制的作用があり、また前にのべた如く抗プロトロンビン性である。すなわちクエン酸血漿から磷酸三カルシウムでプロトロンビンを吸収できないことは、クエン酸塩がプロトロンビンと1つの結合物をつくることをしめしており、それによりプロトロンビンは非活性化されると考えられる。



さて臨床例で血清クエン酸濃度の上昇が可成り高度に達した例もあつたが、テタニー及び出血傾向の発生はみなかつた。しかし No. 3, No. 6, No. 7, No. 8 の如き比較的高注入率の例において、出血量が補なわれているに不拘術中著明な血圧下降をみた。これは循環系に対するクエン酸中毒であろうと考えられる。Bunkerの報告する2500~12000 ccの輸血例28例でも、やはりテタニー及び出血傾向はなかつたが、血圧下降、ショックはしばしば合併している。Bruneau and Graham³³⁾の犬による出血と自家血再輸血をくりかえす実験では、再輸血時にクエン酸ソーダ血及びヘパリン血を使うと、ヘパリン血では約252%の出血で死亡したが、クエン酸血では約92.5%の出血で致死性であつた。同じような実験は Sennig³⁰⁾も行つており、又著者の実験例でもいづれにも血圧下降が合併し、No. 47は塩化カルシウムの静注により血圧下降を克服しえた。実験例ではすべてテタニーが発現したのは、臨床例に比しそのクエン酸塩注入率が非常に高いためであると思われる。しかしクエン酸中毒は必ずしもクエン酸注入率や総注入量にのみよるものではない。クエン酸は Krebs の回路で代謝されるものであるから、高度の肝不全、腎不全、無酸素症、バルビタール剤長時間麻酔、出血、低栄養など受容者の条件が緊密に関係しているのである。

クエン酸中毒で出血傾向を来すとする主張の根拠となるカルシウムについて考察してみると、クエン酸の脱カルシウム作用のためカルシウム・イオンの低下を来し凝血障害がおこると説明されるのであるが、Ravdin³⁷⁾の観察によるとテタニー患者で4.6 mg%の低カルシウム濃度を示す場合でその凝固時間は殆んど変化がなかつたし、又副甲状腺切除で血清カルシウムが4~8 mg%に低下した犬でもなお凝固時間は正常であつた。Ransmeier及びMcLean³⁷⁾によれば、クエン酸人血漿の凝固に必要なカルシウム・イオン濃度は 0.35 ± 0.004 mMである。Stefanini²⁵⁾は生体で0.5 mM以下になると凝固時間の延長を来すとのべている。臨床例、実験例を通じてカルシウム・イオン濃度が0.6 mM以下に低下した場合はなかつた。Bunkerの計測でも14人中3人に10分以上の凝固時間の延長をみたが、しかし凝固時間の延長とカルシウム・イオン濃度の低下との間には相関関係はなかつたとのべている。Mayer¹³⁾は肺外科においてクエン酸加全血を3000~5000 cc輸血された患者で、出血時間、凝固時間

の延長をみながつた。全血凝固時間というものは凝固の終末点をみているもので、現在の凝固説における多くの因子の相互反応の結果規正される。その中の1つの因子が減少してもそれがよほど高度にならぬ限りは、多数の因子の相互反応や自己触媒的作用のため補いあつて、凝固時間は延長しないといわれている。以上の点からすれば、クエン酸の血中蓄積によりカルシウム・イオンの減少がおこつたとしても、そのことが直ちに出血傾向をおこすとは考えられない。それよりも先に循環系に悪影響を及ぼして不整脈、血圧低下、ショック様状態、心停止を来し、又テタニーを惹起するものである。Howland¹⁴⁾の報告している臨床例をみると、10ポイント以上の輸血をうけた130人中死亡例22人で、その中の9例に心電図で心室細動があり、2例に心収縮不全がおこっている。

血清カルシウム・イオンは臨床例ではやや低下する傾向にあるが、実験例ではかえつて増加の傾向にある。この機転については、Cunningham³⁴⁾の羊を使つての実験から、クエン酸注入時にはカルシウム・イオン濃度の低下に拮抗して、体内のカルシウム貯蔵部位(骨)から動員される内因性のカルシウムの増加によるとみられる。又一部には血中クエン酸蓄積によるアチドージスの傾向が、血清カルシウムの増加を助長することも考えられる。さらにCanary⁵³⁾の実験は血清クエン酸と血清カルシウムとは併行して変動することを証明している。

以上のべたクエン酸中毒に対処する処置としては、塩化カルシウム、グルコン酸カルシウムの静注が卓効がある。すなわち静注後2～3分で血圧、呼吸は

好転し、暗赤色であつた血液の色も正常となり救命的効果があるといわれ、教室でもその経験を有している。

第3章 結 論

少量反復輸血及びクエン酸と出血傾向との関係を研究し、次の結論を得た。

1. 少量反復輸血においては線維素溶解現象や血清 CPP 作用が認められ、又血中ヘパリン様物質の増加があつた。これは保存血輸血に対する一種の生体反応であるが、又潜在性の出血傾向が付与されたと考えられる。

2. クエン酸加保存血の大量輸血により、血清クエン濃度の上昇とそれによる循環系障害及びテタニーが観察されたが、出血傾向は認められなかつた。大量輸血によるクエン酸中毒は、出血傾向よりもむしろ循環系障害、テタニーをきたすものである。

本論文の要旨は、日本輸血学会第6回例会、同第4回総会及び第470回岡山医学会例会において発表した。

主要文献は第2編に一括掲載する。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲をたまわつた恩師津田誠次教授に深甚の謝意を捧げると共に、終始直接御指導、御校閲をいただいた恩師砂田輝武教授に、衷心より感謝の意を表します。又研究にあたり種々御協力をいただいた佐藤、伊達、須藤諸学士に謝意を表します。

Studies on the hemorrhagic tendency following preserved blood transfusions

Report 1. Hemorrhagic tendency following repeated blood transfusion of small quantity of citrated blood

By

Mitsuaki SAKATA

The IInd Department of Surgery, Medical School Okayama University
(Director: Prof. T. Sunada)

The following conclusion were obtained from the studies on the mechanism of the development of hemorrhagic tendency which occurred in the case of compatible preserved blood transfusions. Following the repeated blood transfusions of small quantity, fibrinolysis, capillary permeability promoting action and increased heparinlike substance in blood were observed. These findings are manifestation of alarm reaction, and, in this way, potential hemorrhagic tendency is considered to occur.

Influence of citric acid, an anticoagulant of preserved blood on hemorrhagic tendency were studied. Elevated citrate levels were found following massive transfusions of preserved citrated blood. However, it seems to be no correlation between the occurrence of hemorrhagic tendency and elevated citrate levels. Elevated citrate levels cause circulatory derangement and tetany rather than hemorrhagic tendency.
