

## 〔特別掲載〕

(東女医大誌第30巻第5号)  
(頁191—194昭和35年5月)

## 簡単なニワトリの血清凝固防止法について

東京女子医大第一生理学教室 (主任 籾島 高教授)

土肥 浩子・松野 マサヨ・岩本 由基枝  
ドイ ヒロコ マツノ ノ イワモト ユキエ山県 小伊志・大木 千枝・仁料 登久  
ヤマガタ コイシ オオキ チエ ニシナ トク瓜生 八重・安岡 孝子  
ウリウ ヤエ オカ タカコ

(受付 昭和 35 年 3 月 7 日)

## I 緒 言

血清は、広く種々の実験や検査に用いられ、その採取は、通常血液を室温に放置するか、或は、 $36^{\circ}\text{C}$ ~ $37^{\circ}\text{C}$ に保温し、血清と血餅が分離するのを待つて遠心し、血清を分離する。

しかるに、著者等は、ニワトリの血清採取にさいし、遠心後血清が凝固し、流動性を失う例に、しばしば遭遇したので、この本態を究明すべく実験を行つた結果、23.の知見を得、かつ凝固予防の方法を発見したので報告する。

## II 実験方法および成績

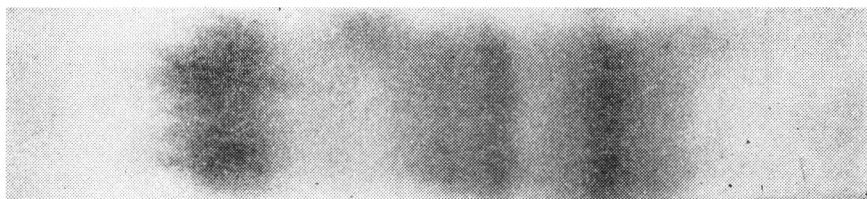
白色レグホンの翼静脈から、乾燥滅菌せる注射器にて、2 ccの血液を採取し、清浄乾燥した遠沈管に静に移し、第1表のごとく処理して、血清を分離したところ、第1表のように、夏期を除いて、気温の低い時期に採血した血液より分離した血清は、早いもので分離操作直後から2~3分以内、或は、これより更に時間を経過して凝固するものが多々現われた。これは採血後血液を室温に放置し一応の血液凝固を待つて遠心を行つても、採血後 $37^{\circ}\text{C}$ に保温して後遠心しても、凝固現象が現われた。著者等は、これに苦慮し、試に、実験①に示したご

とく、採血後の保温温度を $40^{\circ}\text{C}$ に上昇せしめ、同温度下に30分放置後、遠心を行い血清を分離したところ、幸にも血清は凝固しなかつたので、さらに追試したところ、かような方法を採用すれば、ニワトリの血清の凝固を簡単に防ぎ得ることを確認した。

## III 考 按

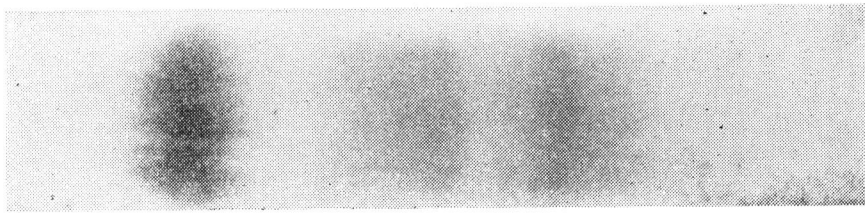
このような血清の凝固現象は、ヒトの血清では稀であり、ウサギ、イヌの血清では、時に見られることがあるが、ニワトリほど、甚だしくない。その原因を考慮してみるのに、一見完全に凝血したと思われる場合でも、実際は、完全に凝血が完了しない場合に血清の凝固が起るのではないかと考えられる。即ち、外部から物質の混入が無いとすれば、血液中の物質で、不完全凝血に際し、血餅から、はみ出した物質が、血清の凝固に関与しているものと考えられるので、試に血清が凝固し初めた時、速にその血清を用い、汚紙電気泳動を行つたところ、第1図の、正常血清泳動図と異り、第2図の如き泳動図を得た。即ち、 $\beta$ -グロブリンと $\gamma$ -グロブリンの間に、著明なフィブリノーゲンの峰が現れている。

血液凝固の機序は第3図<sup>1)</sup>に示す如く、最終段階において、トロンビンの触媒作用により、フィブリノーゲン



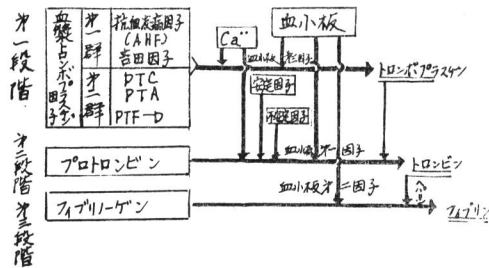
第1図 ニワトリ正常血清電気汚紙泳動図

Hiroko DOI, Masayo MATSUNO, Yukie IWAMOTO, Koishi YAAMGATA, Chie ŌKI, Toku NISHINA, Yae URYU, Takako YASUOKA. (First Department of Physiology, Tokyo Women's Medical College) : On the prevention of serum coagulation in cockerels by simple means.



↑ Fibrinogen

第2図 凝固を起せる血清泳動図



第3図 血液凝固機序 (神前論文より<sup>1)</sup>)

がフィブリンとなり、凝血が完了するのであるが、上記の例において、フィブリノーゲンが、血清中に残存するのは、一部のフィブリノーゲンが Fibnir となり得なかつたことを意味するので、その原因を考慮してみるにその1つは、トロンビンの生成が不充分なために、一部フィブリノーゲンをフィブリン化し得なかつたことにより、他の一原因は、トロンビンの生成は充分であるが、何等かの原因により、その働が弱められるという事が考えられる。しかし、すべての条件が、同一ならば、ヒトに

第1表 実験成績

実験番号	月 日	試料数	凝固数	処 理 と 凝 固 状 況
①	4. 5 月	21	5	採血後約1時間経過後、3000r.p.m. 15分遠心、血清分離直後又は2-3分後、又は更に時間経過後凝固、乳鉢で磨砕、加温等の操作を行うも旧に復さず。
②	6. 7. 9 月	36	0	
③	10 月	40	1	
④	12月2日	4	3	採血後 37°C 30分保温
⑤	12 3	4	2	同 上
⑥	12 4	4	2	同 上
⑦	12 5	5	0	採血後 40°C 30分保温後遠心血清凝固せず
⑧	12月-2月	72	5	12月6日以降2月末迄に72回採血、凝固せる1例は衰弱甚しく、間もなく死亡。2例は再度採血し正確に40°Cに保温したところ、凝固を起さず。2例は高度の脂血症が永く続き衰弱していた。

第2表 ヒト、ウサギ、イヌ、ニワトリの血漿蛋白正常値

研究者	試 料	例数	総蛋白濃度		分層濃度比% (分層濃度 g/dl)					
			屈折法	ビウレット法	Alb.	α		β	φ	γ
近	ヒ ト	25 pool	7.53±0.3	—	55.3±2.67 (4.2)	7.5±3.1 (0.57)		9.6±1.9 (0.74)	7.7±2.0 (0.58)	19.9±2.4 (1.5)
足立	ウサギ	7	8.0	6.29	61.8 (3.89)	α <sub>1</sub> 5.8 (0.36)	α <sub>2</sub> 6.4 (0.40)	9.8 (0.62)	8.9 (0.56)	7.3 (0.46)
同上	イヌ	8	7.7	6.22	37.2 (2.31)	8.9 (0.55)	9.6 (0.60)	11.3 (0.70)	20.0 (1.24)	13.0 (0.81)
同上	ニワトリ	5	6.5	5.17	f 4.7 29.7 (0.24) (1.54)	3.9 (0.20)	6.9 (0.36)	10.3 (0.53)	25.3 (1.31)	19.2 (0.99)

においても同様に凝固が起り得る筈であるが、ニワトリにのみ顕著に現れるのは何故であろうか。

ヒト、ウサギ、イヌ、ニワトリの血液中のフィブリノーゲンと比較すると、電気泳動によつたものであるが、第2表の如く、近<sup>2)</sup>によると、ヒトでは、血漿蛋白分画中、フィブリノーゲンは、 $7.7 \pm 2.0\%$ で、総蛋白濃度は、屈折法で  $7.53 \pm 0.3 \text{ g/dl}$  であるから、フィブリノーゲン濃度は、 $0.58 \text{ g/dl}$  であるという。足立<sup>3)</sup>によれば、ウサギは、フィブリノーゲン  $8.9\%$ 、総蛋白濃度はピウレット反応により  $6.29 \text{ g/dl}$  (屈折法で  $8.0 \text{ g/dl}$ ) 従つて、フィブリノーゲン濃度は  $0.56 \text{ g/dl}$  ( $0.71 \text{ g/dl}$ ) であり、イヌのフィブリノーゲンは、 $20.0\%$ 、総蛋白濃度  $6.22 \text{ g/dl}$  ( $7.7 \text{ g/dl}$ )、従つてフィブリノーゲン濃度は、 $1.24 \text{ g/dl}$  ( $1.54 \text{ g/dl}$ ) であり、ニワトリはフィブリノーゲン  $25.3\%$ 、総蛋白濃度  $5.17 \text{ g/dl}$  ( $6.59 \text{ g/dl}$ )、従つてフィブリノーゲン濃度は  $1.31 \text{ g/dl}$  ( $1.64 \text{ g/dl}$ ) であるという。このように、ニワトリの血液中のフィブリノーゲンは多く、従つてこれをフィブリンとするためには、トロピオンも量的に多く生成されるであろうし、そのためには、完全な凝血が必要となつてくると考えられる。何故ニワトリでは、フィブリノーゲンが多いのか興味ある問題であるが、これは本題とは別問題ではあるが、ただニワトリの採血に際し感ぜられた点は、ニワトリの血管が出血し易く、止血し難い点で、これとフィブリノーゲン量の多いことが何等かの関連があるようにも考えられた。

血清が、凝固を起した例を時期的に観察すると、4月5月、12月と比較的気温の低い時期に起り、6月、7月9月等の気温の高い時期には起らず、10月に僅か例、起つている。気温の低い時には一見凝血が完了したかの如く見えて、猶ほ不完全なことがありそのために血清の凝固が起るものと考えられる。低温で血液凝固が遅延することは、神前<sup>1)</sup>によると、低温による直接の影響と、凝血第2段階の障害、即ち、不安定因子の活性低下の両者に起因するものであろう。また低温では血小板機能の低下が見られると述べている。ヒトの血液は、室温でも凝血するが、 $36 \sim 37^\circ \text{C}$ と、体温にはほぼ等しい温度に保てば、より凝血が完全に行われる点に着目し、ウサギ、ラットニワトリの体温を調べてみると、曾我<sup>4)</sup>によると、肛門

体温で、ウサギは、夏  $39.3^\circ \text{C}$ 、秋  $38.3^\circ \text{C}$ 、冬  $37.7^\circ \text{C}$ と季節により影響され相違するという。ラット<sup>5)</sup>は、外気温の影響を受けず、 $37.8 \sim 38.7^\circ \text{C}$  (平均  $38.2^\circ \text{C}$ ) であるという。著者等が、ニワトリの体温を測定したが、気温  $16^\circ \text{C}$ で、3例行い、夫々、 $40.4^\circ \text{C}$ 、 $40.4^\circ \text{C}$ 、 $40.6^\circ \text{C}$ と非常に高かつた。ニワトリでは、体温約  $40^\circ \text{C}$  においても、体内で血液凝固が起らないように、フィブリノーゲン上述の如く多量に含まれるとも考えられる。採血後、 $40^\circ \text{C}$ に30分保温し、その後遠沈したところ、数例を除き、血清凝固を起さず、従つて以後の実験遂行可能となつたのである。この数例の中、1例は、非常に衰弱し、死の直前にあつたもので、 $40^\circ \text{C}$ に保温したが凝固を起したので、翌日更に試みたが、矢張り凝固し、数日後に死亡したが、衰弱甚きため、凝固機序に関与する因子の作用も、恐らく弱まつていたためと考えられる。2例は、保温温度やや不正確であつたので、翌日再度採血し、 $40^\circ \text{C}$ に保温したところ凝固しなかつた。他の例は高度の脂血症が長く継続していたもので、矢張り著しく衰弱していたと考えられるのである。

#### IV 結 論

ニワトリの血清採取にさいし、気温の低い時期には、血液遠心後、血清が凝固し、使用不能となることがある。これは血清の中に、フィブリノーゲンが残つているために起るので、これを防ぐには、血液の凝固を完全に行ふ必要がある。しかし気温の低い時期には、ニワトリの血液は完全に凝固が行われ難いことがあり、血液採取後、ニワトリの体温に近い  $40^\circ \text{C}$ 、30分程度保温を行えば、よく凝固し、従つてこのような簡単な操作で血清の凝固を、ほぼ完全に防止し得る。

稿を終るに当たり、終始御懇切なる御指導、御校閲を頂いた箕島高教授並びに小峰仙一助手に深く感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 神前五郎：日血会誌 19 470 (1956)
- 2) 近新五郎：生物物理化学 2 199 (1955)
- 3) 足立光夫：生物物理化学 3 268 (1957)
- 4) 曾我幸夫：国民衛生 1 1215 (1935)
- 5) Martin, S.T. & Maresh, F.: Amer. J. physi., 105 273 (1933)