

豚血液の溶血程度と血清生化学的成分測定値の関係

誌名	日本養豚学会誌 = The Japanese journal of swine science
ISSN	0913882X
巻/号	301
掲載ページ	p. 27-33
発行年月	1993年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



豚血液の溶血程度と血清生化学的成分 測定値の関係

押田敏雄・吉川康宏・小林義浩・坂田亮一・猪股智夫・小西信一郎

麻布大学獣医学部, 相模原市 229

(1992年11月11日受付)

要 約 豚血液の溶血程度が血清生化学的成分の測定値にどのような影響をおよぼすのかを, 人為的に作成した種々の溶血血清を用い, 溶血程度と測定値の関係について検討し, 以下の成績を得た。

1. 血清の溶血程度を表示する総ヘム色素量 (Y; mmol/ml) と吸光度 (X) との間には $Y=0.0644 X-0.0050$ ($r=0.9826^{**}$) の関係が成立した。
2. 溶血程度の測定値への影響は, つぎのとおりであった。
 - 1) 溶血によって測定値が変化しない項目は総蛋白量, Alb, α -glob, γ -glob, A/G 比, BUN, ALP, LPH₃, Glu, T-cho, Fe, Ca, Mg および IP であった。
 - 2) 溶血によって測定値が上昇した項目は β -glob, GOT, GPT, LDH 活性値, LDH₄ および LDH₅ であった。
 - 3) 溶血によって測定値が下降した項目は TG, PL, LDH₁ および LDH₂ であった。

結 言

豚の血液は他の動物に比べ溶血しやすい¹⁾。溶血は採血手技や材料の扱い方の拙劣あるいは不注意によって起こることが大半¹⁾とされている。そして, 溶血血清は血清化学成分の測定に著しい変動をもたらすので, 使用することができない¹⁾とされている。しかしながら, 再採血が困難な場合が多い豚の臨床では検討の余地があるものと考えられる。

我々は既に野外例での溶血がどの程度血清生化学的成分の測定値に影響するかについて検討を行なった²⁾。それによると, β -glob, GOT, GPT, LDH 活性値, LDH₄ および LDH₅ の各項目は溶血により測定値が上昇し, TG, PL, LDH₁ および LDH₂ の各項目は溶血により測定値が低下することが確認された。

今回は種々の溶血血清を人為的に作成し, その溶血状態と血清生化学的成分測定値の関係を確認検討した。

材料および方法

1. 供試血清

供試血清は早朝, 空腹時に体重 90~110 kg の LWD 種の肉豚のべ 24 頭 (父親は D で同一, 母親は LW で 3 頭の姉妹でほぼ同一時期に誕生) を, トンキーパーで鼻部保定し, 前大静脈より血液検査用プラスチックニードル (共栄商事: 18 G × 48 mm) を用い, 数本のガラス製小試験管に一頭につき約 90 ml ずつ採血し, そのうち 70 ml を採血後, 自然凝固 (採血後, 約 8~10 分) を待ちながら, 15 分間常温放置後, 遠心分離 (3,000 rpm・15 分間) し, その上清を供試血清とした。なお, ここでの血清は溶血のみられなかったもの (非溶血血清) のみを用いた。

2. 添加用溶血液

非溶血血清分離用血液の残りの約 20 ml を 22 G の採血針を装着したディスポポンプに移し, 内筒に圧力を

The relationship between hemolytic severity in porcine blood and measured value of serum biochemical constituents.

T. OSHIDA, Y. KIKKAWA, Y. KOBAYASHI, R. SAKATA, T. INOMATA and S. KONISHI

School of Veterinary Medicine, Azabu University, Fuchinobe, Sagami-hara-shi, Kanagawa-ken 229

掛けて押し出し、小試験管に移す操作を2回繰返し、物理的に溶血させた後、3,000 rpm で15分間遠心分離し、その上清を添加用溶血液とした。

3. 人為的溶血血清

非溶血血清を約7ml づつ5本の小試験管に分注し、このうち4本の非溶血血清に添加用溶血液を適宜添加し、溶血血清色見本³⁾ (以下 CSH) により肉眼で、非溶血血清を-として、溶血程度+, ±, ++, +++ の5段階の溶血系列をそれぞれ24検体作成した。なお、ここではこれらの人為的溶血血清を単に溶血血清と呼ぶ。

4. 溶血程度の測定

血清の総ヘム色素量の測定はアセトン塩酸抽出法⁴⁾ により行い、溶血程度の測定は血液の最大吸収波長が540nm⁴⁾ なので、この波長により蒸留水を対照としてそれぞれの吸光度を測定した。

5. 血清生化学的成分の検査項目と方法

得られた血清はフィールドで日常的に行なわれているもの、あるいは有用性が高いと思われる以下の項目について既報⁵⁾ に示した方法により行なった。

血清総蛋白量 (以下 TP), 血清蛋白分画, 血中尿素態窒素 (以下 BUN), アルカリホスホターゼ (以下 ALP), GOT および GPT, 乳酸脱水素酵素 (以下 LDH), 乳酸脱水素酵素分画, グルコース (以下 Glu), 総コレステロール (以下 T-cho), トリグリセライド (以下 TG), リン脂質 (以下 PL), 鉄 (以下 Fe), カルシウム (以下 Ca), マグネシウム (以下 Mg) および無機リン (以下 IP)。なお、吸光度の測定は日立100-10により、LDH イソザイム分画は塩谷らの方法⁶⁾ でそれぞれ行なった。

6. 統計処理

非溶血血清と、それぞれの溶血血清との各成分の測定値の平均値の差の有意性検定は分散分析により行なった。F 値に有意性のあった項目については回帰分析を行ない、相関係数と回帰式を求めた。

結果および考察

1. 総ヘム色素量と吸光度への影響

表1にCSHにより-から+++まで5つの溶血程度に区分した非溶血血清と溶血血清のそれぞれの溶血程度ごとの総ヘム色素量と吸光度の測定値を平均値と標準偏差により示した。

図1に総ヘム色素量 (Y; mmol/ml) の吸光度 (X) に対する1次回帰を示した。Y=0.0644X-0.0050 の回帰式が成立した。これら両者間の相関係数はr=0.9826で、1%の危険率で有意性が認められた。これ

表1. 人為的溶血が血清の総ヘム色素量と吸光度におよぼす影響

溶血程度 ¹⁾	総ヘム色素量 ²⁾	吸光度
-	0.0068±0.0019	0.241±0.0417
±	0.0259±0.0033	0.481±0.0327
+	0.0451±0.0034	0.735±0.0385
++	0.0767±0.0064	1.161±0.0619
+++	0.1249±0.0119	2.120±0.1367

1) : 溶血血清色見本 (押田ら: 1988) による

2) : mmol/ml

ら測定値の分布は矢宜溶血血清のような分布⁴⁾ とは異なり、各溶血程度ごとに比較的明瞭に5つのグループに偏っていた。

2. 測定値への影響

1) 蛋白および非蛋白態窒素について

表2に結果を示す。表には各項目について溶血段階ごとの測定値を平均値と標準偏差で、測定値の下の() 内には-, つまり非溶血血清の値を100とした場合の指数値を示す。また、非溶血血清の値とそれぞれの溶血程度血清の値との差の検定結果もあわせて示した。TP, Alb, α-glob, A/G比, BUNは溶血によってもほとんどその値は変化していないが、β-globとγ-globについては増加傾向を示した。しかしながら、β-globは溶血程度+++で、非溶血血清と比べ有意に高値を示したが、γ-globはいずれの溶血程度でも非溶血血清との間に有意差は認められなかった。

β-globが溶血につれて高値となった理由は、電気泳動した溶血血清ではα-β分画間のβ分画寄りにヘモグロビン分画帯が認められ、これが強度に染色⁷⁾ され、結果としてβ分画が高値になったものと考えられた。

2) 血清酵素について

表3に結果を示す。GOT, GPT, LDH活性値, LDH₄およびLDH₅については溶血程度にともない、測定値は上昇し、反対にLDH₁およびLDH₂では下降している。ALPとLDH₃は溶血程度に関係なく、その値はほぼ一定であった。また、LDH活性値は±の溶血程度で既に測定値に影響が現れ、それ以上の溶血程度血清は非溶血血清と比べ、すべて有意(P<0.01)に高値となった。GOTでは+まで、GPTとLDH₁については±のみが非溶血血清の測定値との間に有意差を認めなかった。LDH₂は溶血程度が進むにつれて有意に値は低下し、反対にLDH₄およびLDH₅では有意に値が上昇することが示された。

血清酵素のうち、北村ら⁸⁾ はヒト赤血球中のGOTは

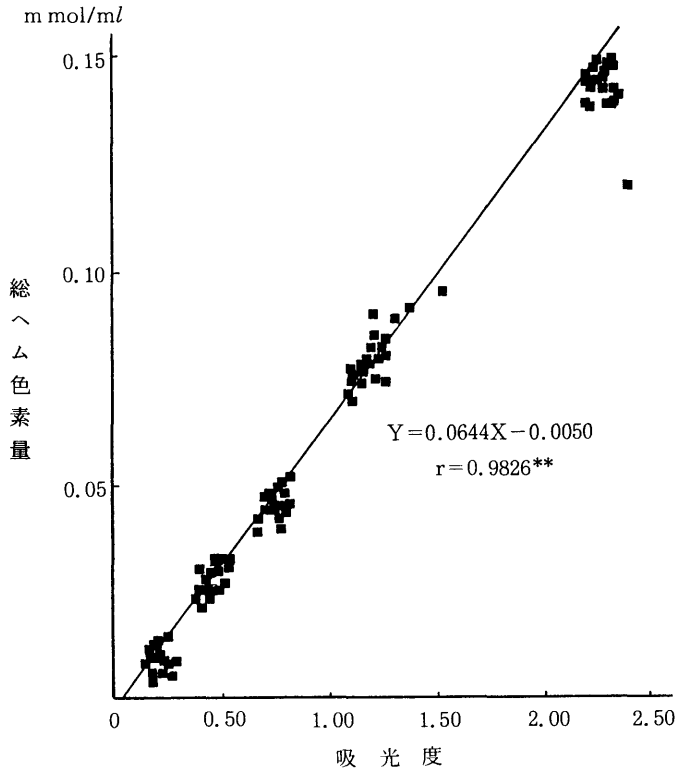


図 1. 人為的溶血血清の吸光度と総ヘム色素量の関係

表 2. 人為的溶血が血清蛋白および非蛋白態窒素の測定値におよぼす影響

項目	溶 血 程 度				
	-	±	+	++	+++
TP (g/dl)	7.3 ± 0.37 (100)	7.2 ± 0.39 (99)	7.2 ± 0.41 (99)	7.2 ± 0.41 (99)	7.3 ± 0.41 (100)
Alb (%)	54.3 ± 4.59 (100)	55.3 ± 4.41 (102)	54.6 ± 4.04 (101)	53.2 ± 4.74 (98)	52.9 ± 5.14 (97)
α-glob (%)	15.3 ± 3.50 (100)	14.2 ± 3.20 (93)	14.6 ± 3.50 (95)	14.5 ± 3.19 (95)	13.7 ± 3.42 (90)
β-glob (%)	15.6 ± 1.81 (100)	15.7 ± 1.63 (101)	15.7 ± 1.23 (101)	16.5 ± 1.96 (106)	17.9 ± 2.06** (111)
γ-glob (%)	14.6 ± 2.01 (100)	15.2 ± 1.72 (104)	15.6 ± 1.90 (107)	15.9 ± 2.48 (109)	15.5 ± 3.15 (106)
A/G	1.21 ± 0.23 (100)	1.24 ± 0.26 (100)	1.19 ± 0.23 (103)	1.16 ± 0.22 (104)	1.15 ± 0.23 (101)
BUN (mg/dl)	15.8 ± 4.89 (100)	15.8 ± 5.09 (106)	16.2 ± 4.48 (91)	16.4 ± 5.01 (91)	16.0 ± 4.61 (88)

() : -を100とした場合の値

** : 1%の危険率で非溶血血清と比べ有意

表3. 人為的溶血が血清酵素の測定値におよぼす影響

項 目	溶 血 程 度				
	-	±	+	++	+++
ALP (K-A unit)	9.6±2.72 (100)	9.1±2.67 (95)	9.5±2.72 (99)	9.6±2.47 (100)	10.3±2.64 (107)
GOT (Karmen unit)	22.2±7.70 (100)	23.6±7.96 (106)	23.0±5.90 (104)	26.5±5.73* (119)	31.9±6.96** (144)
GPT (Karmen unit)	16.8±6.94 (100)	15.7±6.75 (94)	20.6±4.31* (123)	21.6±4.05** (129)	25.4±3.51** (151)
LDH (W-unit)	486±138 (100)	590±128** (124)	688±127** (146)	788±127** (170)	942±184** (203)
LDH ₁ (%)	43.7±3.55 (100)	42.1±3.73 (96)	41.2±4.08* (94)	38.1±5.12** (87)	37.0±5.93** (85)
LDH ₂ (%)	24.0±1.90 (100)	22.9±1.23* (95)	21.8±1.51** (91)	20.7±1.66** (86)	18.7±1.47** (78)
LDH ₃ (%)	20.3±1.42 (100)	20.3±1.06 (100)	20.5±1.55 (101)	21.1±1.27 (104)	20.6±2.13 (102)
LDH ₄ (%)	8.7±1.54 (100)	10.7±1.47** (123)	11.6±1.36** (133)	14.8±1.95** (170)	16.5±2.46** (190)
LDH ₅ (%)	2.7±1.11 (100)	4.3±2.20** (159)	4.3±1.79** (159)	6.2±2.34** (230)	7.6±2.48** (282)

(): -を100とした場合の値

* : 5%の危険率で非溶血血清と比べ有意 ** : 1%の危険率で非溶血血清と比べ有意

血漿中の約40倍、佐々木ら⁹⁾はALPでは6倍、Caraway¹⁰⁾はGPTでは7倍含まれるとそれぞれ報告している。つまり、肉眼的にわずかに認められる程度の溶血では、その影響はごく少ないが、強度溶血血清では測定値は過大になるとされている。今回の結果では溶血が進んでもALPは変化が見られなかったが、GOTとGPTでは測定値が有意に上昇した。また、LDHは赤血球中には犬で血清中の38倍¹¹⁾、ヒトで200倍¹²⁾含まれ、いずれも溶血血清では測定値は過大になるという。しかし、豚のLDHは犬やヒトと違って血清と赤血球の値に大差はなかったとする報告¹³⁾があるが、溶血程度が進むにつれてLDH活性値、LDH₄およびLDH₅が上昇、LDH₁およびLDH₂が下降した。溶血血清ではLDHを多量に含む血小板や白血球などの赤血球以外の細胞¹⁴⁾の破壊も考えられることから、豚の場合でもヒトと同じように溶血により上昇する分画、それを反映して相対的に下降する分画、変化しなかった分画があるものと推察された。しかしながら、その詳細については不明である。

3) 糖および脂質について

表4に結果を示す。GluとT-choの値は溶血程度が進んでも、ほとんど変化しなかった。しかし、TGとPLは溶血程度が進むにつれて、その値は低下傾向を示し、TGでは溶血程度+以上で、PLでは溶血程度++

以上で非溶血血清に比べその値は有意に低下した。

ヒトのTGについては溶血による影響が認められず¹⁵⁾、PLは赤血球中に存在する多量の有機リン化合物のため、溶血により測定値は高値になる¹⁶⁾とされている。しかし、今回は溶血程度が進むにつれてTGもPLもその測定値はこれらの報告とは異なり有意に低下した。この理由として豚ではTG濃度が血清中に比べ赤血球中ではきわめて低く、PL濃度はヒトの場合とは逆に、赤血球の方が血清中に比べ低いことなどが推察されるが、その詳細については不明である。

4) 無機成分について

表5に結果を示す。無機成分のうちCaはほとんど変化しなかった。また、Fe、MgおよびIPは溶血とともにその測定値は上昇傾向を示したが、非溶血血清と各溶血程度血清の測定値間に有意差は見られなかった。

以上述べた結果を要約すると、測定した24項目のうち生化学的成分測定値が溶血の影響を受けない項目としてTP、Alb、 α -glob、 γ -glob、A/G比、BUN、ALP、LDH₃、Glu、T-cho、Fe、Ca、MgおよびIPの14項目があげられた。溶血程度が進むにつれて測定値が上昇する項目として、 β -glob、GOT、GPT、LDH活性値、LDH₄およびLDH₅の6項目があげられた。また、溶血程度が進むにつれて測定値が下降する項目として、TG、PL、LDH₁およびLDH₂の4項目があげられた。

表4. 人為的溶血が血清糖および脂質の測定値におよぼす影響

項目	溶 血 程 度				
	-	±	+	++	+++
Glu (mg/dl)	88±10.4 (100)	86± 8.6 (98)	86± 8.4 (98)	86± 8.7 (98)	86± 9.4 (98)
T-cho (mg/dl)	106±14.1 (100)	102±14.8 (96)	107±13.7 (101)	110±11.7 (104)	106±13.4 (100)
TG (mg/dl)	39±13.1 (100)	36±13.4 (92)	32± 9.8* (82)	32±10.9* (82)	33±11.4* (85)
PL (mg/dl)	127±35.0 (100)	113±42.5 (89)	114±25.1 (90)	106±21.8** (84)	107±26.4* (84)

() : -を100とした場合の値

* : 5%の危険率で非溶血血清と比べ有意 ** : 1%の危険率で非溶血血清と比べ有意

表5. 人為的溶血が血清無機成分の測定値におよぼす影響

項目	溶 血 程 度				
	-	±	+	++	+++
Fe (μg/dl)	189±63.6 (100)	198±47.0 (105)	203±49.5 (107)	203±51.8 (107)	216±46.8 (114)
Ca (mg/dl)	11.3± 1.11 (100)	10.7± 1.17 (95)	11.0± 1.15 (97)	10.8± 1.16 (96)	11.1± 1.16 (98)
Mg (mg/dl)	2.1± 0.36 (100)	2.0± 0.27 (95)	1.9± 0.20 (91)	2.1± 0.23 (100)	2.2± 0.24 (105)
IP (mg/dl)	7.7± 1.16 (100)	7.6± 1.22 (99)	7.5± 1.03 (97)	7.9± 1.14 (103)	8.0± 1.14 (104)

() : -を100とした場合の値

表6. 人為的溶血程度と血清生化学的成分測定値との関係

項目	相関係数	回 帰 式
β-glob	r= 0.701**	Y= 1.598X+ 14.6
GOT	r= 0.807**	Y= 7.466X+ 16.5
GPT	r= 0.667**	Y= 6.095X+ 13.0
LDH 活性値	r= 0.912**	Y= 284.069X+ 430.0
LDH ₁	r= -0.635**	Y= - 5.203X+ 43.8
LDH ₂	r= -0.752**	Y= - 2.804X+ 24.2
LDH ₄	r= 0.775**	Y= 4.066X+ 8.9
LDH ₅	r= 0.672**	Y= 2.604X+ 3.0
TG	r= -0.514**	Y= - 7.470X+ 37.4
PL	r= -0.503**	Y= -13.244X+ 124.5

X : 溶血程度 (血清の吸光度) Y : 生化学的成分測定値

表6に溶血程度が進むにつれて測定値が有意に変化する10項目について溶血程度, つまり血清の吸光度と生化学的成分測定値の関係を示した。これらの相関係数は

-0.503~0.912の範囲にあり, すべて1%の危険率で有意性が認められた。

最後に溶血により, 生化学的成分測定値が上昇あるいは下降する項目の取扱い方法について付記する。例えばLDH₅についての溶血程度と測定値の関係式はY=92.13X+98.70, r=0.962**をもって成立する。この場合Yは対非溶血血清の修正値を, Xは溶血血清の吸光度を意味している。

著者らは以前に野外例での溶血がどの程度, 血清生化学的成分測定値に影響するかについて検討を行なった²⁾が, 溶血により測定値が上昇するのはβ-glob, GOT, GPT, LDH活性値, LDH₄およびLDH₅の各項目, また低下するのはTG, PL, LDH₁およびLDH₂の各項目であることを報告した。今回の人為的溶血血清を用いて行なった実験結果でも野外例の場合の溶血程度と生化学的成分測定値との関係とほとんど同様な傾向があることが見出された。さらに, 今回は人為的な溶血についての検討であるものの, 既に失宜溶血の場合の総ヘム色

素量と吸光度の関係は人為的溶血のそれとほぼ同様な関係にある⁴⁾ことを明らかにしている。以上のことから、例え溶血血清であってもある程度はその測定値を臨床上、有効に利用できるものと考えられる。

本論文をまとめる上で、麻布大学助教授・福安嗣昭博士の助力を得たので、ここに深謝する。

文 献

- 1) 友田 勇：日獣会誌, **31**, 83-89, 1978.
- 2) 押田敏雄・吉川康宏・小林義浩・猪股智夫・田中享一・小西信一郎：日豚会誌, **28**, 219-224, 1991.
- 3) 押田敏雄・吉川康宏・小林義浩・坂田亮一・田中享一：日豚会誌, **25**, 119-124, 1988.
- 4) 押田敏雄・吉川康宏・小林義浩・坂田亮一・田中享一：日豚会誌, **25**, 113-118, 1988.
- 5) 押田敏雄・山本 修・猪股智夫・小西信一郎：日豚会誌, **28**, 243-247, 1991.
- 6) 塩谷実枝子・柳川正子・川村皓子・菅野剛史：臨床病理, **19**, 469-472, 1971.
- 7) HENRY, R.J., CANNON, D.C. and WINKELMAN, J.W.: *Clinical Chemistry*, Herper & Row, N.Y. 173-199, 1964.
- 8) 北村元仕・中山年正：臨床検査, **12**, 398-404, 1968.
- 9) 佐々木匡秀・上田尚紀・北村元仕・中山年正：人体成分のサンプリング血液, 講談社, 167-173, 東京, 1981.
- 10) CARAWAY, W.T.: *Am. J. Clin. Pathol.*, **37**, 445-464, 1962.
- 11) ZINKL, J.G., BUSH, R.M., CORNELIUS, C.E. and FREEDLAND, R.A.: *Res, Vet. Sci.*, **12**, 211-214, 1971.
- 12) 玄番昭夫：臨床病理・臨時増刊特集, **29**, 104-116, 1977.
- 13) 本庄利男・倉石里子・押田敏雄・田中享一：家衛研会報, **22**, 15-19, 1985.
- 14) 佐々木匡秀・上田尚紀・北村元仕・中山年正：人体成分のサンプリング血液, 講談社, 214-220, 東京, 1981.
- 15) 佐々木匡秀・上田尚紀・北村元仕・中山年正：人体成分のサンプリング血液, 講談社, 246-266, 東京, 1981.
- 16) 久城英人・小野悦子・福井 巖：臨床病理, **19**, 785-788, 1971.

The Relationship between Hemolytic Severity in Porcine Blood and Measured Value of Serum Biochemical Constituents

Toshio OSHIDA, Yasuhiro KIKKAWA, Yoshihiro KOBAYASHI, Ryoichi SAKATA
Tomoo INOMATA and Shin-ichiro KONISHI

School of Veterinary Medicine, Azabu University,
Fuchinobe, Sagami-hara-shi, Kanagawa-ken 229

The effects of hemolytic severity in porcine blood on the measured value of biochemical constituents of serum were evaluated using the sera taken from blood sample with various degree of hemolysis.

The following results were obtained.

1. The linear regression of total heme pigment content (Y ; mmol/ml), which indicates hemolytic severity, on spectrophotometric absorbance (X) was given as

$$Y = 0.0644 X - 0.0050$$

The correlation between these two variables was 0.98**.

2. Effects of hemolysis on measurement values

1) The items of which measured values did not change with severity of hemolysis were TP, Alb, α -glob, γ -glob, A/G, BUN, ALP, LDH₃, Glu, T-cho, Fe, Ca, Mg and IP.

2) The items of which measured values increased with increasing severity of hemolysis were β -glob, GOT, GPT, LDH activity, LDH₄ and LDH₅.

3) The items of which measured values decreased with increasing severity of hemolysis were TG, PL, LDH₁ and LDH₂.

Jpn. J. Swine Science, **30**, 1 : 27-33

Key words : hemolysis severity, serum biochemical constituents, porcine serum