

## 鉄の吸収と代謝に関する実験的研究

説田 武\*\*, 山本葉子\*, 内田 聖\*,  
北出明子\*, 北村明美\*, 松田佳子\*

## Iron Absorption and Its Metabolism in the Rats

Takeshi Setsuda, M. D. Yoko Yamamoto, Hiziri Uchida,  
Akiko Kitade, Akemi Kitamura and Keiko Matsuda

## I はじめに

貧血或いは鉄欠乏状態が成人女性に多く、その発生には出血、女性ホルモン、食餌の異常など、色々のものが関係すると思われるが、特に食物中の鉄、蛋白質、ビタミンなど、造血因子の不足ないし欠乏が重視される。我々は食餌性貧血の際の鉄の吸収と代謝の異常を知る目的で、発育期の Wistar 系雄ラットに鉄、蛋白質或いはビタミン B6 の欠乏餌料を一定期間投与し、次いで標準餌料に切り変えて経過を追ひ血清鉄及び血清総鉄結合能の測定、血液と骨髓の形態学的検査及び肝、脾、十二指腸粘膜の貯蔵鉄である鉄結合蛋白質、すなわち Ferritin (Ferritin 鉄と Apoferritin) の測定を行なった。正常ラット及びフェニールヒドラジン溶血性貧血を起こさせたラットについても同様の検査を行ない、比較検討した。次に、それらの成績について述べる。

## II 実験材料及び実験方法

体重60g前後の Wistar 系雄ラットを予め一週間、一定の温度 (23±2°C) と湿度 (40±10%) の室内で標準合成飼料 (Table 1) を与えて飼育の後、対照群 (25匹)、鉄欠乏群 (25匹)、蛋白欠乏群 (25匹)、ビタミン B6 欠乏群 (25匹) に分けて実験を行った。フェニールヒドラジン貧血群 (8匹) は体重 350g 前後のラットを用いた。なお、合成飼料の無機塩は Mc Collum の Salt mixture を、又 Vitamin mixture はパンビタン (武田) を使用した。対照群には標準飼料を与えて80日間飼育し、また鉄、ビタミン B6 或いは蛋白欠乏群では、標準飼料からクエン酸鉄或いは塩酸ピリドキシンを除去したもの、又はカゼイン含量を半

Casein	12.00g
Corn starch	35.35
Sucrose	35.35
Soybean oil	10.00
Salt mixture	5.00
Vitamin mixture	1.00
Cellulose powder	0.20
Choline chloride	1.00
Cystine	0.10
Total	100.00

Table 1 Composition of the standard diet

減したもので、それぞれ60日間飼育した。鉄欠乏群ではラットをプラスチック製のクリーンケージ内に保ち、ステンレスの呑口の付いた給水瓶を用いて再蒸留水を自由に与えた。対照群及びその他の欠乏群では水道水を自由に与えた。対照群と各欠乏群のラットを10日毎に2~3匹ずつ、予め16時間絶食の後、軽くエーテル麻酔して開腹し、肝静脈から採血、致死させて肝、脾、十二指腸、骨髓を摘出した。標準飼料投与による各欠乏群の回復実験では、鉄欠乏群は3, 6, 24時間後と9, 14日後に、蛋白欠乏群は3, 6, 9日後に、またビタミン B6 欠乏群は3, 6, 9, 14, 20日後に、それぞれラット1匹ずつ解剖した。フェニールヒドラジン貧血群では、体重 350g 前後のラットに塩酸フェニールヒドラジンの1%水溶液 0.15ml を毎日1回、3日間腹腔内に注射し、注射中止時と中止後3, 7日後にラットを解剖した。血清鉄 (SI) と総鉄結合能 (TIBC) の測定には血清 0.5ml を用い、日本 Roche 社のキットを用いて発色の後、日立分光光度計を用いて 546nm で比色定量した。測定用器具はすべて2倍希釈の塩酸で除鉄の後、使用した。血清蛋白分画の測定は、Cellulose acetate 膜 (セパラックス) を用いて

\*\* 栄養生理学, 病理学研究室

\* 昭和51年度本学卒業生

濾紙電気泳動を行ない、これよりA/G比を求めた。血清蛋白濃度の測定には屈折計を用い、又血液についてRBC, Ht, Retic, MCV, MCDを測定した。なお、これらの測定値は、その都度ラット2匹分を合せて測定し、その平均値をもって表した。網状赤血球(Retic)は予め1% Brilliantkresylblue アルコール溶液を塗布したスライドガラスの上に血液を塗抹、直ちにこれを湿潤室内に2分入れ、メチールアルコールで固定、Giemsa染色の後、赤血球に対するReticの%を求めた。腰椎の骨髄を用いて作った塗抹標本について、Rohr<sup>1)</sup>の方法に従い白血球系細胞に対する赤芽球の%を求めてE/M比を算出し、又骨髄塗抹標本を35%ホルマリン水で30分間蒸気固定の後、鉄染色<sup>2)</sup>を施して赤芽球に対するSideroblast (SB)の%を求めた。臓器の組織学的検査にはHE染色を用いた。

各臓器のFerritin鉄とApo ferritinの測定：肝と脾は約1g、また十二指腸粘膜は幽門部から5cm肛門側の小腸粘膜をスライドガラスの端で軽く掻き取ったものを用い、それぞれ1g当り約3mlの生食水を加えて氷冷しながら5分間ホモジナイズした後、75℃の湯煎中で5分間攪拌の後、30分間氷冷し、遠沈して得た上澄液をSephadex G-200カラム(1.5×30cm)に通してゲル濾過し、ミニフラクションコレクターと接続したテフロン・チューブを通して濾液3mlずつ分画採取した。このゲル濾過では分子量20万以上の球状蛋白が除去され、従って分子量約50万のFerritinの分離が可能である。(吉野<sup>3)</sup>、島田<sup>4)</sup>ら、Person & Reich<sup>5)</sup>)最初の17本までのフラクション中にFerritinが存在することを知ったので、鉄を証明するフラクション全部をFerritin分画とし、それについてFerritin鉄(Fr-鉄)とApo ferritin (Af)を測定した。なお、分画用試験管及び測定用器具はすべてNaOH溶液につけて除蛋白し、又希塩酸に1昼夜つけて除鉄して使用した。Fr-鉄の測定では、Ferritin分画の各濾液0.5mlについて血清鉄と同様にして鉄濃度を測定、次に全Ferritin分画中の鉄総量を求めた。又、各Ferritin分画について、Lowry<sup>6)</sup>法に準じて蛋白を発色させ、日立分光光度計を用い750nmで比色定量し、予め市販の馬脾Ferritinを用いて作成した検量線からAf量を求めた。なお、Fr-鉄とAfはその都度、ラット2匹分の各臓器を合せて測定し、その平均値で表した。Fig. 1はSephadex G-200カラムクロマトグラフィーにより得られたラット脾のFerritin鉄とAfのelution patternを示す。Ferritin分画中のFerritinを同定する目的で、ラットの肝と脾のFerritin分画を集め、透折膜に

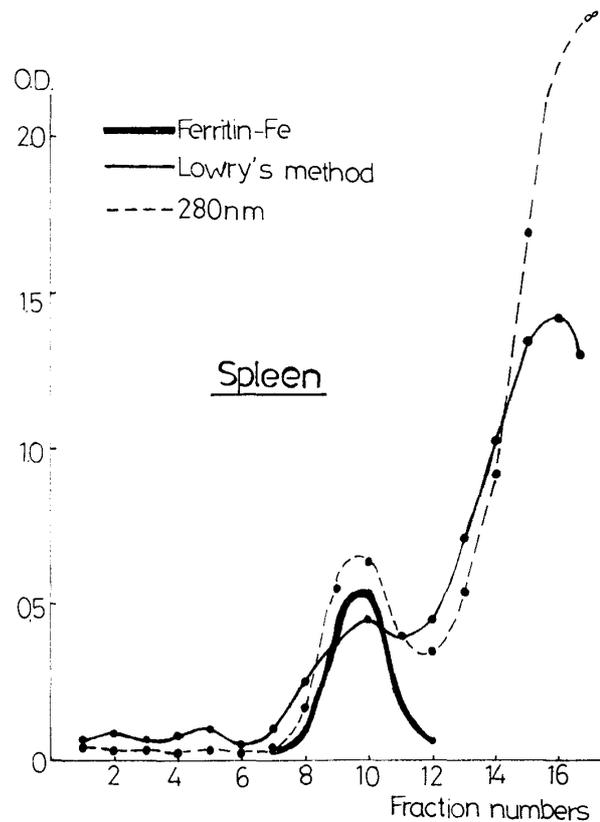


Fig. 1 The elution pattern of the rat spleen by Sephadex G-200 column chromatography

てNaClを除き、湯煎中で吸引乾固の後、20% Sucrose緩衝液を用いて蛋白濃縮液を作成し、ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動を行なった。アミドブラックの7%酢酸水溶液中に約1時間漬けて蛋白質を染色<sup>8)</sup>すると、馬脾Ferritinのblue bandに近い場所にそれぞれ1本のblue bandを認めた。(Photo 1)ラットの肝Ferritinは脾Ferritinより泳動速度が僅かに早く、又ラット脾Ferritinは馬脾Ferritinより泳動速度が可成り遅いことから、Ferritinには臓器差と種族差があることが推定された。又、Granick<sup>9)</sup>の方法に従い、Sephadex G-200カラムでゲル濾過して得たラット肝のFerritin分画を集めて濃縮し、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ で半飽和させた後、遠沈して得た赤褐色の沈殿を5%  $\text{CdSO}_4$ 液にとかして凍結乾燥<sup>4)5)11)</sup>すると、馬脾Ferritinの結晶によく似たFerritinと思われる結晶が得られた。(Photo 2, 3)

### III 実験成績

#### I) 体重及び一般症状

Fig. 2は対照群と各欠乏群の体重を5日毎に経過を追って測定し、平均値で表したものである。鉄欠乏群

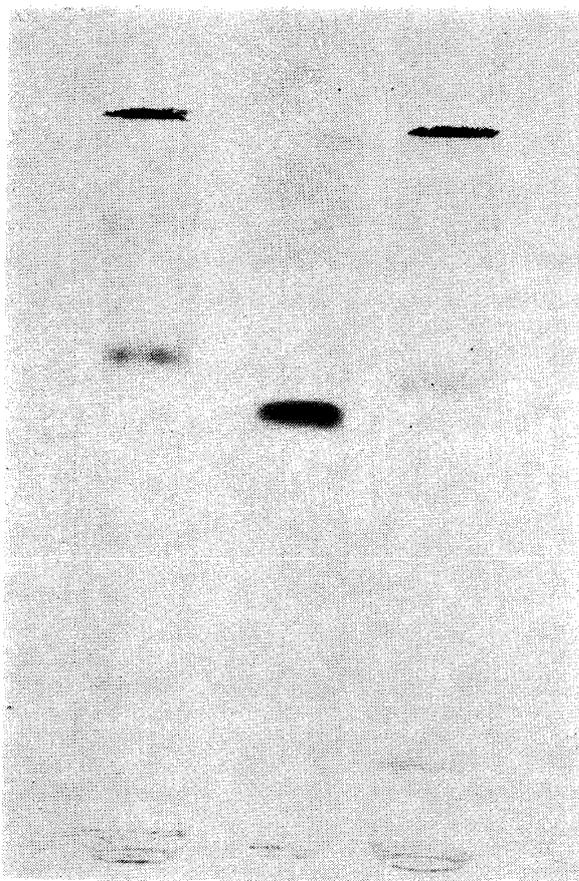


Photo. 1 Polyacrylamide-gel electrophoretic patterns of the rat spleen ferritin (the left), the horse spleen ferritin (the middle) and the rat liver ferritin (the right)

の体重は対照群を僅かに下回る程度であるが、蛋白及びビタミン B6 欠乏群では体重減少が著明で、飼料摂取量も減少し、20日以後は毛並みが悪くなり脱毛を来たした。標準飼料に切り変えた後は、鉄欠乏群では体重が順調に増加したが、蛋白及びビタミン B6 欠乏群では飼料摂取量が少なく、体重の回復も遅く、とくに蛋白欠乏群の体重回復が著しく遅延した。蛋白欠乏とビタミン B6 欠乏の症状は徐々に回復した。

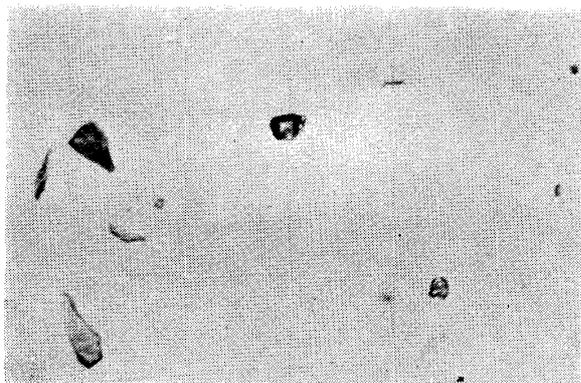


Photo. 2 The crystallized horse spleen ferritin

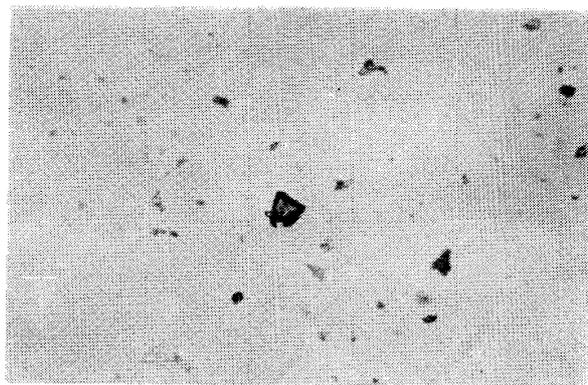


Photo. 3 The crystallized rat liver ferritin

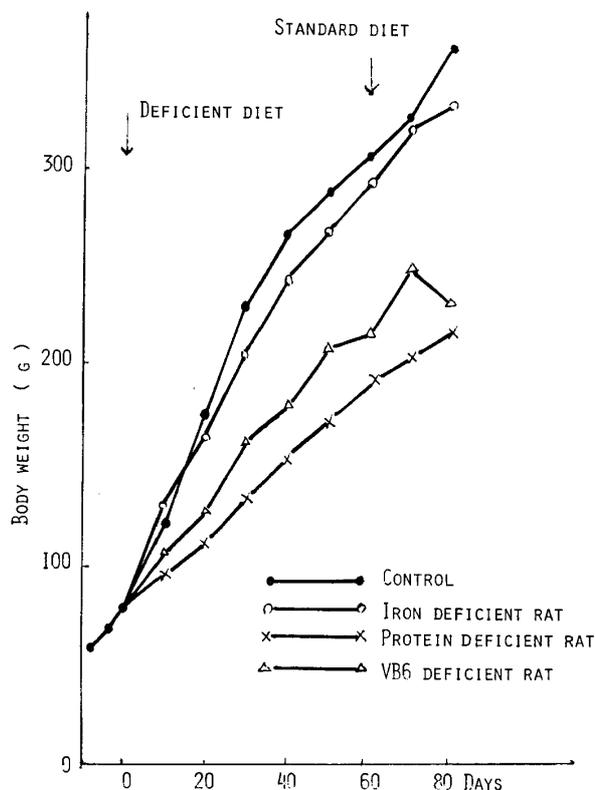


Fig. 2 The increment of body weight in the iron-, protein-, and VB6 deficient rats

## II) 剖検所見

鉄欠乏群では著しい脾肥大を認めたが、標準飼料投与後速やかに回復した。又、肝重量は対照群の値を下回った。蛋白及びビタミン B6 欠乏群では、肝と脾の重量が減少し、標準食投与後は脾重量は両群とも9日後にはほぼ回復、又、肝重量はビタミン B6 欠乏群では9日後に回復したが、蛋白欠乏群では9日後も著しく低値であった。フェニールヒドラジン貧血群では、注射中止後3日目に著しい脾肥大を認めた。

## III) 血液の生化学的及び形態学的検査所見

### 1 対照群 (Fig. 3 及び Fig. 4, 5, 6)

血清鉄 (SI) と血清総鉄結合能 (TIBC) は、体重100

g 前後の幼若ラットでは平均  $100\mu\text{g}/\text{dl}$  と  $550\mu\text{g}/\text{dl}$ , 体重  $300\text{g}$  前後の成熟ラットでは平均  $50\mu\text{g}/\text{dl}$  と  $450\mu\text{g}/\text{dl}$  で, ラットの発育に伴って SI と TIBC の減少傾向がみられた。TIBC から SI を差引いた値, すなわち不飽和鉄結合能 (UIBC) には著変がなかった。末梢血の RBC, Retic, MCV, A/G 比及び血清蛋白濃度はそれぞれ, 幼若ラットでは平均  $500\text{万}/\text{cmm}$ ,  $73\%$ ,  $61\mu^3$ ,  $1.10$  及び  $4.9\text{g}/\text{dl}$ , 成熟ラットでは平均  $700\text{万}/\text{cmm}$ ,  $40\%$ ,  $56\mu^3$ ,  $0.95$  及び  $5.9\text{g}/\text{dl}$  で, 又骨髄の Retic., Sideroblast (SB) と E/M 比はそれぞれ, 幼若ラットでは平均  $119\%$ ,  $15\%$  と  $15\%$ , 成熟ラットでは平均  $69\%$ ,  $21\%$  と  $20\%$  であった。しかし, 末梢血の Ht 値と MCD は発育に伴う変動を示さなかった。一方, 脾, 十二指腸粘膜の Fr-鉄は, 幼若ラットでは平均  $12, 27, 12.6\mu\text{g}/\text{g}$ , 成熟ラットでは平均  $21, 120, 24\mu\text{g}/\text{g}$  で, 又 Af は幼若ラットでは平均  $1,590, 1,200, 1,200\mu\text{g}/\text{g}$ , 成熟ラットでは平均  $1,500, 2,400, 2,700\mu\text{g}/\text{g}$  であった。すなわち, ラットの発育に伴い Fr-鉄が脾で増加傾向を, 又肝と十二指腸粘膜で漸次著明な増加を示し, 一方 Af は脾で著変がなく, 肝と十二指腸粘膜で漸次著しい増加を示した。

2 鉄欠乏群 (Fig. 3 及び Fig. 4, 5, 6)

SI と TIBC は鉄欠乏の初期 (幼若ラット) では平均  $180\mu\text{g}/\text{dl}$  と  $620\mu\text{g}/\text{dl}$ , また後期 (成熟ラット) で

は平均  $35\mu\text{g}/\text{dl}$  と  $750\mu\text{g}/\text{dl}$  で, 鉄欠乏の進行に伴い SI が著減し, TIBC が著増する傾向を認めた。UIBC の一時的増加が20日後にみられた。A/G 比は鉄欠乏の初期が平均  $1.08$ , 後期が平均  $1.24$ , 又  $\beta$ -グロブリンの軽度の増加を認めたが, 血清蛋白濃度に著変がなかった。RBC と Ht 値は鉄欠乏の20日後から著減し, 60日後にはそれぞれ平均  $457\text{万}/\text{cmm}$  と  $23\%$  という低値を示した。MCV, MCD も次第に減少し, 赤血球の大小不同が著明であった。末梢血及び骨髄の Retic は鉄欠乏の20日後及び30日後から増加し, 又骨髄の E/M 比も増加したが, SBは逆に漸次減少して60日後には  $6\%$  に著減した。

一方, 脾, 肝, 十二指腸粘膜の Fr-鉄及び Af はそれぞれ, 鉄欠乏の初期では平均  $4.05, 51.0, 7.5\mu\text{g}/\text{g}$  及び  $900, 1,650, 1,200\mu\text{g}/\text{g}$ , また鉄欠乏の後期では平均  $2.85, 9.9, 12.75\mu\text{g}/\text{dl}$  及び  $990, 1,050, 2,400\mu\text{g}/\text{g}$  であった。すなわち, Fr-鉄は脾では鉄欠乏の進行に伴い著減し, 又肝では鉄欠乏の10日後に一時増加した後著減し, 十二指腸粘膜でも鉄欠乏に伴い著減し, 40日後に一時増加した後再び減少した。Af は脾では鉄欠乏の早期から減少し, 肝と十二指腸粘膜では鉄欠乏の20日後に一時増加した後著減した。

標準飼料に切り変えた後, SIはすでに6時間後に増加し, 14日後にはほぼ回復したが, TIBC は24時間後か

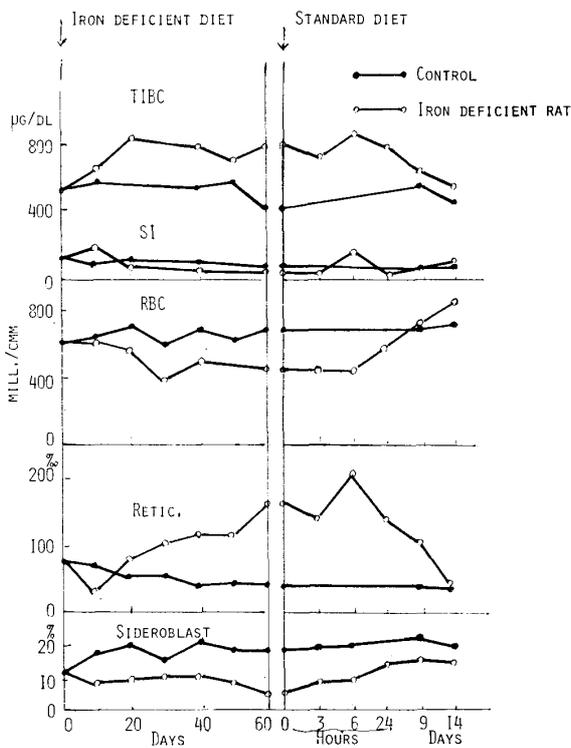


Fig. 3 Hematological changes in the iron deficient rats

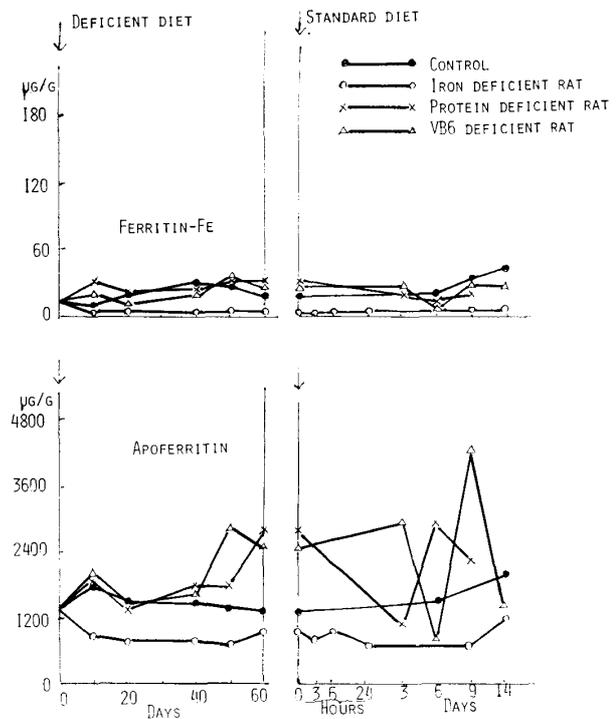


Fig. 4 The ferritin-Fe and apoferritin of the spleen in the iron-, protein-, and VB6 deficient rats

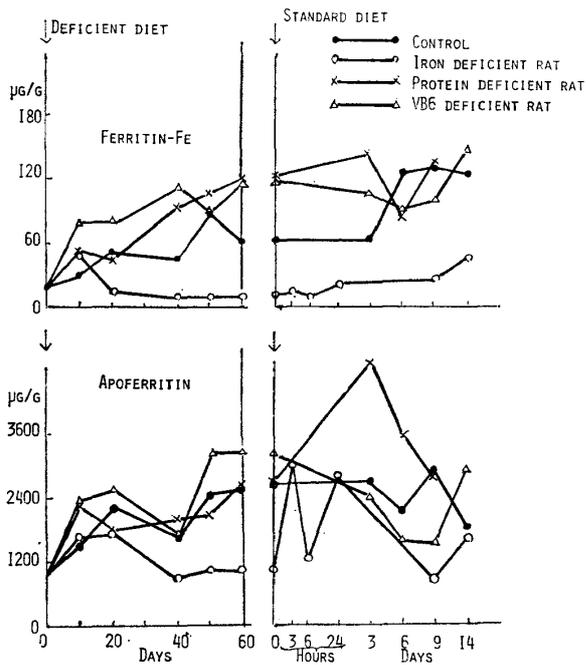


Fig. 5 The ferritin-Fe and apoferritin of the liver in the iron-, protein-, and VB6 deficient rats

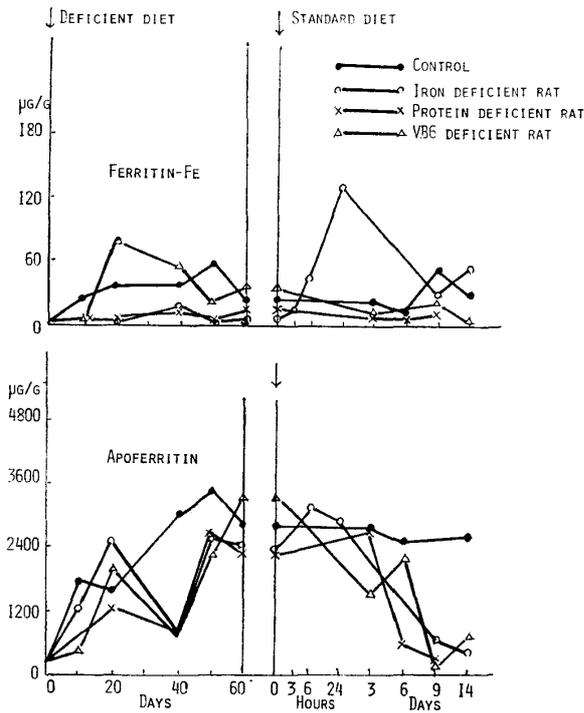


Fig. 6 The ferritin-Fe and apoferritin of the duodenal mucosa in the iron-, protein-, and VB6 deficient rats

ら減少し、14日後も回復しなかった。A/G比は14日後に、またβ-グロブリンは24時間後にほぼ回復した。末梢血と骨髄のReticはすでに6時間後に急増したが、その後急速に減少した。RBCとHt値及びSBは24時間後から増加し、RBCは9日後に回復したが、

SBは14日後も低値であった。MCVとMCDは9日後に、又E/Mはすでに24時間後にほぼ回復した。一方、標準飼料投与後、脾のFr-鉄とAfは9日後までは殆んど変化なく、肝ではAfが3~24時間後に一時増加した後減少し、又Fr-鉄は低値で回復が遅延した。十二指腸粘膜ではAfが3~24時間後に一時増加した後著減し、又Fr-鉄はすでに6時間後に一時増加し、24時間後にそのピークに達したが、以後速やかに減少して14日後にはほぼ回復した。

### 3 蛋白欠乏群 (Fig. 7 及び Fig. 4, 5, 6)

SIとTIBCは蛋白欠乏の初期では平均185µg/dlと440µg/dl、また後期では平均135µg/dlと435µg/dlで、蛋白欠乏の初期にSIの増加とTIBCの減少傾向を認めた。ULBCは蛋白欠乏の60日後に減少傾向を示した。A/G比は蛋白欠乏の10日後から急減して30日後には0.68という低値となり、又β-グロブリンが10日後に一時増加し、γ-グロブリンが30日後に増加した。末梢血ではRBCとHt値が蛋白欠乏の20日後から減少し、60日後にはRBCが平均592万/cmm、Ht値が平均32%となり、又MCVとMCDも僅かに減少した。血清蛋白濃度も急減して蛋白欠乏の60日後には4.0%という低値を示した。末梢血のReticは蛋白欠乏の20日後に、又骨髄のReticは30日後に軽度の増加を示した。骨髄ではSBの減少傾向とE/M比の増加傾向を認めた。一方、脾、肝、十二指腸粘膜のFr-鉄

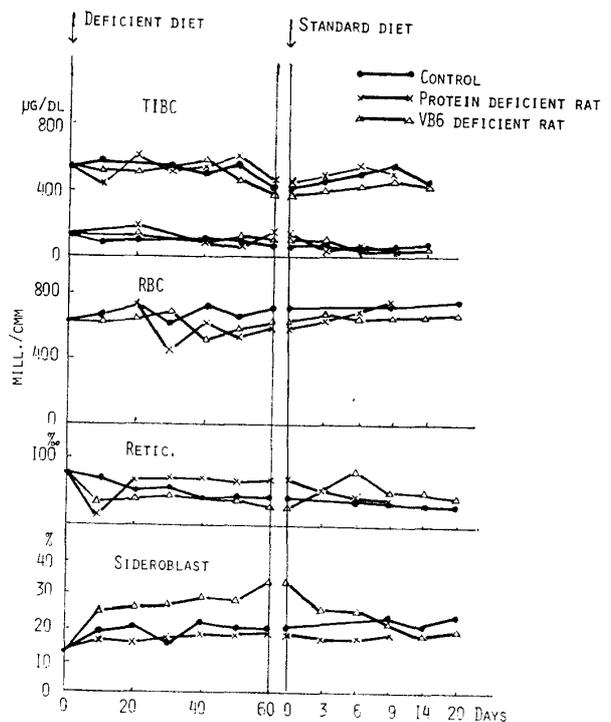


Fig. 7 Hematological changes in the protein- and VB6 deficient rats

及び Af はそれぞれ、蛋白欠乏の初期では平均27, 51, 7.8 $\mu$ g/g 及び平均1,800, 2,100, 1,260 $\mu$ g/g, また後期では平均35.4, 126, 18 $\mu$ g/g 及び平均2,790, 2,670, 2,340 $\mu$ g/g であった。すなわち、蛋白欠乏飼料を投与した後、Fr-鉄は脾では著変なく、肝では漸増の傾向を示したが、十二指腸粘膜では著減し、又 Af は脾では40日後から増加し、肝では殆んど増減がないが、十二指腸粘膜では著明に減少した。標準飼料に切り変えた後は、末梢血ではSIが減少して6日後にほぼ回復、またTIBCは9日後に回復した。A/G比は3日後に急増した後減少の傾向を示し、又 $\gamma$ -グロブリンは6日後にほぼ回復した。末梢血と骨髓の Retic が急減するに伴って血中の RBC が漸増し、9日後にはほぼ回復したが、血清蛋白濃度は回復が遅く、9日後も5.0%という低値で、又骨髓の SB も回復が遅く、9日後も低値であった。一方、標準飼料投与後、Fr-鉄は脾では殆んど変化なく、肝では3日後から増加して9日後にほぼ回復したが、十二指腸粘膜では殆んど変化なく低値であった。又、Af は脾では対照群の値を大きく上回り、肝では3日後に著増した後減少して9日後にほぼ回復したが、十二指腸粘膜では3日後から漸減して9日後には著しい低値を示した。

**4 ビタミン B6 欠乏群 (B6 欠乏群) (Fig. 7 及び Fig. 4, 5, 6)**

SI と TIBC は B6欠乏の初期では平均 150 $\mu$ g/dl と 500 $\mu$ g/dl, また後期では平均 110 $\mu$ g/dl と 380 $\mu$ g/dl であった。すなわち、B6 欠乏群では SI の増加と TIBC 及び UIBC の減少傾向がみられた。A/G 比は20日後から増加し、又 $\beta$ -グロブリンは蛋白欠乏群に似た変化を示したが、 $\gamma$ -グロブリンは減少した。末梢血の RBC と Ht 値の減少傾向は特に40日以後に著明で、MCV と MCD も徐々に減少した。末梢血と骨髓の Retic も減少し、60日後にはそれぞれ平均24%と30%の低値を示した。血清蛋白濃度も減少し、60日後には4.9%という低値を示した。逆に、骨髓では SB が著増し、20日後にはリング状 SB が出現し、60日後には平均33%という高値を示したが、E/M 比には殆んど変化がなかった。

一方、脾、肝、十二指腸粘膜の Fr-鉄及び Af は、B6 欠乏の初期ではそれぞれ平均 19.5, 81, 81 $\mu$ g/g, 及び平均1,800, 2,400, 1,200 $\mu$ g/g で、又後期ではそれぞれ平均30, 126, 39 $\mu$ g/g 及び平均2,520, 3,240, 3,300 $\mu$ g/g であった。すなわち、B6 欠乏飼料投与後、Fr-鉄は脾では著変がなく、肝では10日後から漸増し、又十二指腸粘膜では20~40日後に著増したが、

以後減少の傾向を示した。また、Af は脾では蛋白欠乏群と同様、40日後から増加し、肝でも10日後から増加の傾向を示したが、十二指腸粘膜では20日後に一時増加したが、その後は著しく減少した。標準飼料に切り変えた後は、SI が減少して14日後にほぼ回復したが、TIBC の回復が遅く14日後も低値であったが、UIBC は14日後にはほぼ回復した。A/G比は漸減して14日後には殆んど回復し、また $\gamma$ -グロブリンは増加の傾向を示し、14日後にほぼ回復した。末梢血と骨髓の Retic は6日後に急増し、以後漸減して20日後にはほぼ回復したが、RBC, Ht 値及び血清蛋白濃度はいずれも回復が遅く、徐々に増加したが、SB は比較的速度やかに減少して9日後はむしろ対照群の値を下回った。一方、標準飼料投与後、Fr-鉄は脾では殆んど変化なく、肝では漸減して14日後にほぼ回復したが、十二指腸粘膜では回復が遅く、14日後も低値であった。また、Af は脾では回復が遅く、14日後にほぼ回復し、また肝では漸減して14日後に回復したが、十二指腸粘膜では漸次著明に減少して14日後には著しい低値を示した。

**5 フェニールヒドラジン貧血群 (Ph 貧血群) (Fig. 8, 9)**

SI と TIBC は、Ph 注射中止時には100 $\mu$ g/dl と 535 $\mu$ g/dl で僅かに増加したが、その後はいずれも減少し、SI は7日後に回復したが、TIBC は回復が遅れた。

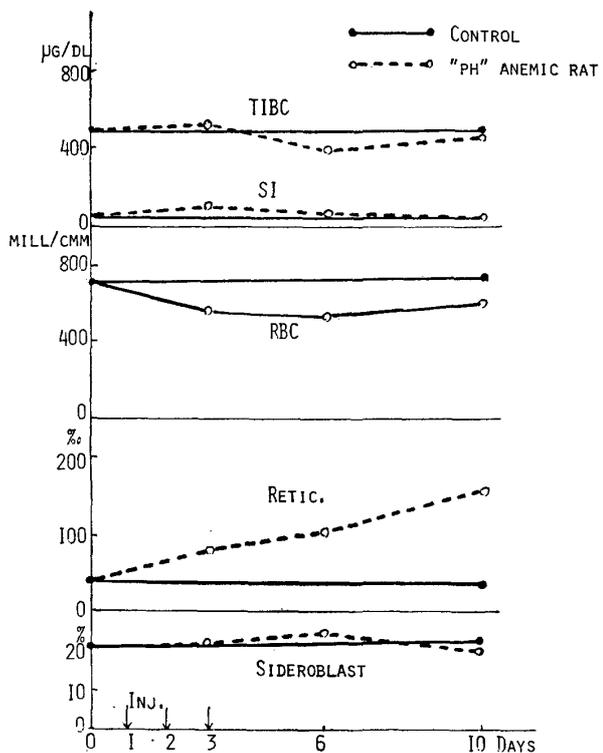


Fig. 8 Hematological changes in the "Ph" anemic rats

UIBC, A/G 比及び  $\beta$ ,  $\gamma$ -グロブリンには著変がなかった。RBC と Ht 値は注射中止後著減し, 7 日後も低値を示した。MCD, MCV 及び血清蛋白濃度は増加の傾向を示した。末梢血の Retic は注射中止直後から, また骨髓の Retic は 3 日後から著増し, 7 日後にそのピークに達した。骨髓では SB が注射中止後 6 日目に, 又 E/M 比が注射中止直後に軽度の一時的増加を示した。一方, Fr-鉄は Ph 注射中止時には脾と肝では著増し, 十二指腸粘膜では逆に著減し, また脾では 7 日後にほぼ回復したが, 肝では 7 日後も高値を示した。At は十二指腸粘膜では注射中止後 7 日目までは低値で, また脾でも低値であったが, 肝では高値を示した。

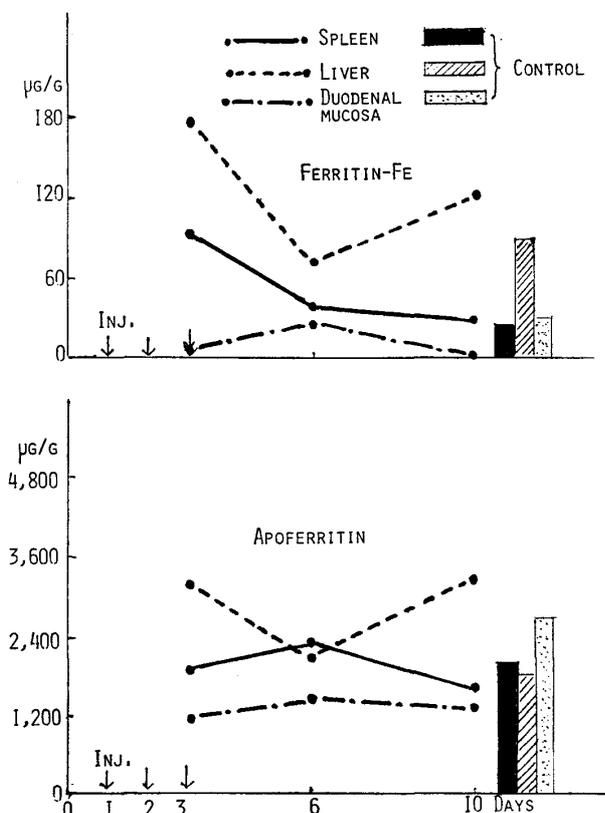


Fig. 9 The ferritin-Fe and apoferritin of the spleen, liver and duodenal mucosa in the "Ph" anemic rats

IV) 臓器の組織学的検査所見

鉄欠乏群では著明な脾肥大と, 脾洞の赤血球充満及びリンパ濾胞の肥大を認めたが, 肝には著変がなかった。蛋白欠乏群の肝では, 肝細胞の空胞変性(脂肪変性)が著明で, 染色が不良であった。Ph 貧血群では脾肥大と脾洞の赤血球充満を認め, また肝では特に中心静脈周辺の肝細胞の変性と脱落が著しく, 染色が不良であった。

IV 総括及び考察

我々は鉄の吸収と代謝を知る目的で, 鉄, 蛋白質, B6 の欠乏飼料で飼育した各欠乏群ラット, 及び各欠乏飼料を標準飼料に切り変えて飼育したラットについて, 経過を追って血液の生化学的測定及び形態学的検査, ならびに肝, 脾, 十二指腸粘膜の Fr-鉄と Af の測定を行なった。以下, それらの成績を総括すると共に, 興味ある知見を中心に少しく考察を加えてみたいと思う。

食物中の鉄は  $Fe^{++}$  の形となって十二指腸及び空腸上部の粘膜から吸収されるが, 鉄吸収は体内の鉄需要の如何によって左右されるという Granick<sup>9)10)12)</sup> の "mucosal block" 説が今日では一般に認められている。腸から吸収された鉄の一部は直接血中に入って Apotransferrin と結合して Transferrin ( $Fe^{++}$ ) となり, 骨髓, その他の臓器に運ばれるが, 残りの一部は腸粘膜内で Fr-鉄 ( $Fe^{+++}$ ) となって貯えられる。鉄は骨髓で主としてヘム合成 ( $Fe^{++}$ ) に利用されるが, 肝, 脾などでは可溶性の Ferritin 或いは不溶性の Hemosiderin となって貯蔵される。臓器中の Ferritin は体内の鉄需要に応じて鉄を  $Fe^{++}$  の形で血中に遊離し, これが骨髓でヘム合成に利用される。十二指腸粘膜の Fr-鉄は絨毛上皮細胞の剝離と共に腸管内に排泄されるが<sup>12)</sup>, この点では肝や脾の Fr-鉄と異った代謝の面を持っている。Van Campen<sup>12)18)</sup>によれば, 鉄欠乏時には食物中の鉄は大量に十二指腸粘膜から吸収され, その大部分が直接血中に入るが, 鉄過剰の場合には食物中の鉄は大部分が小腸を素通りし, 吸収された少部分の鉄は直接血中に入らずに絨毛上皮細胞の剝離と共に腸管内に排泄されるという。従来, 臓器中の Ferritin を測定した研究は少なく, 我が国では吉野<sup>3)</sup>, 島田<sup>4)</sup>, 横田<sup>14)</sup>, 漆崎<sup>15)</sup>らの少数の報告がある。

さて, 鉄欠乏飼料で飼育したラットでは, 先ず最初に10日後から骨髓の貯蔵鉄の一つである SB が減少し初め, 20日後からは血中の Retic の増加, RBC と Ht 値の減少, SI の減少と TIBC 及び UIBC の増加が漸次著明となり, 更に30日後からは骨髓の Retic の著増と E/M 比の増加が認められた。

MCV は10日後から著しく減少し, 血中には小赤血球が多数出現した。Fr-鉄は脾と十二指腸粘膜では10日後から, また肝では20日後から著減し, 又 Af は脾では10日後から漸減し, 肝と十二指腸粘膜では20日後に一時増加した後減少した。Munro & Drysdale<sup>12)16)17)</sup> (1970)によれば, 鉄は Af の合成と分解を調節し, もし

Ferritin に利用される鉄を欠く時は Af がアミノ酸に分解されるといふ。従って、鉄欠乏の進行に伴い、肝と十二指腸粘膜では Fr-鉄が減少すると共に、Af が減少したと思われる。Fr-鉄/蛋白比、すなわち Af の鉄飽和度は、鉄欠乏ラットでは各臓器とも減少したが、特に十二指腸粘膜では減少が著しかった。(Fig. 10) 臓器中の Fr-鉄の減少は、食飼中に鉄を欠

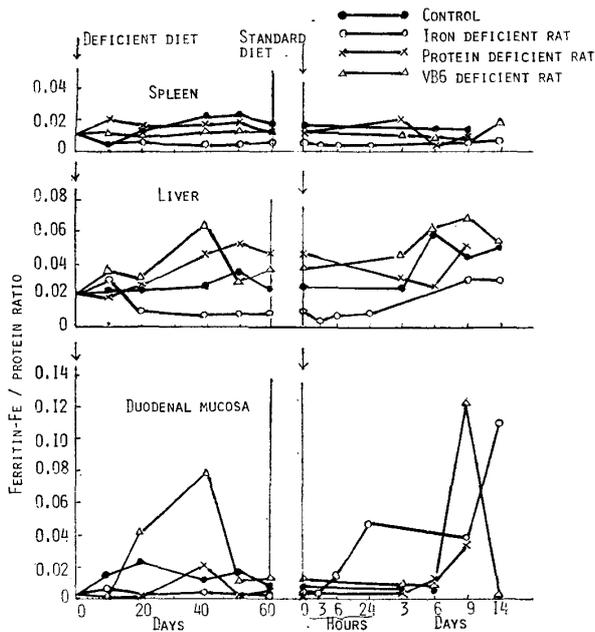


Fig. 10 The ferritin-Fe/protein ratio of the spleen, liver and duodenal mucosa in the iron-, protein-, and VB6 deficient rats

如したために専ら貯蔵鉄である Fr-鉄がヘム合成に利用された結果であり、鉄欠乏が長く続くと臓器中の Fr-鉄が枯渇して貧血を来たすものと考えられる。肝と十二指腸粘膜の Af が鉄欠乏飼料投与後10~20日目に一時増加したのは、吸収される鉄が急に欠如したために反応性に Af 合成が亢進した結果ではなかろうかと思われる。然し、鉄吸収が長く欠如すると、肝と十二指腸粘膜の Af 合成が著しく低下し、同時に Af のアミノ酸への分解が進行して Af の減少を来たすことが考えられる。脾の肥大は、鉄欠乏による赤芽球の成熟障害の結果生じた多数の未熟赤血球を処理するための脾機能の亢進<sup>13)</sup>によるものと思われる。

鉄欠乏ラットに鉄投与すると、十二指腸粘膜では Af がすでに3時間後に増加し、6時間後にはそのピークに達した後減少し、9日後には著明な低値を示したが、Fr-鉄は6時間後から増加して24時間後にピークに達した後減少し、9日後にはほぼ回復した。一方、9日後

には末梢血の SI, RBC, Retic はいずれもほぼ回復した。肝では Af が3~24時間後に増加した後減少し、9日後には著しい低値を示し、又 Fr-鉄は回復が非常に遅く、14日後も著しく低値であった。肝と十二指腸粘膜の Af が鉄投与後速やかに増加したことは、血中の鉄増加が刺激となり Af の合成が亢進したことを示唆する。脾では Fr-鉄, Af とともに9日後までは殆んど増加しなかった。一方、鉄欠乏ラットに鉄を投与すると、血中と骨髓の Retic はすでに6時間後に著増し、SI も比較的速やかに回復したが、骨髓の SB は回復が遅く、14日後も低値であった。以上の事実は、鉄欠乏ラットでは食餌中の鉄が速やかに十二指腸粘膜から吸収され、血中に移行して骨髓で活発にヘム合成、或いは Hb 合成に利用されるが、体内の鉄不足の修復には可成りの期間が必要であることを示唆する。又、鉄欠乏ラットに鉄を投与すると、十二指腸粘膜では Fr-鉄の増加及び Af の鉄飽和度の増加が急速、かつ著明であることから、Af の鉄の取り込みが活発であることを思わせる。然し、肝では鉄投与後、Fr-鉄の増加と Af の鉄飽和度の増加が軽度で、かつ遅延したことから、代謝の面では肝の Fr-鉄と十二指腸粘膜の Fr-鉄とは趣を異にしているように思われる。蛋白欠乏飼料で飼育したラットでは、白ネズミの単一アミノ酸欠乏症に似た脱毛、肝障害などの症状が現われ、末梢血では SI の上昇、TIBC の低下、A/G 比の減少、RBC の減少と Retic の増加が認められた。蛋白欠乏では glycine の減少によるポルフィリン産生の低下<sup>14)</sup>、更にはヘム合成の障害、或いはグロビンの減少による Hb 合成の障害を来たすことが考えられる。従って、蛋白欠乏ラットでは、ヘム合成或いは Hb 合成が障害される結果、未熟赤血球の増加による Retic の増加、体内の鉄利用障害による SI の上昇、また蛋白欠乏及び肝障害に基づく蛋白、特にアルブミンの合成障害による A/G 比及び TIBC の減少を来たすものと考えられる。一方、肝では Fr-鉄と Af の鉄飽和度が増加したが、Af に著変がなかった。恐らくこのことにはヘム合成の障害に基づく鉄利用の低下及び肝細胞の著しい変性が関係しているように思われる。脾では Fr-鉄, Af とともに著変がなく、また十二指腸粘膜では Fr-鉄, Af とともに減少し、Af の鉄飽和度も著しく低値であった。(Fig. 10) 上述の如く、これらには蛋白欠乏による Af 合成の低下や、骨髓におけるヘム合成の障害に基づく鉄利用の低下が関係しているように考えられるが、蛋白欠乏による十二指腸粘膜細胞の機能低下の影響も否定することは出来ない。

蛋白欠乏ラットに蛋白質を投与すると、末梢血では TIBC と A/G 比の増加, SI の減少, Retic の急減と RBC の急増がみられた。この Retic の急減は、蛋白投与によりヘム合成の障害が改善され、臓器の貯蔵鉄である Fr-鉄から血中に遊離した  $Fe^{++}$  が速やかに骨髄で赤血球造血に利用されたことを示唆する。一方、蛋白投与後、脾では Fr-鉄に著変がないが、Af が増加し、また肝では Fr-鉄に著変がないが、Af が3日後に著増し、9日後には Fr-鉄、Af ともにほぼ回復した。しかし、十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af、特に Af の回復が遅く、14日後も著しく低値であった。このことは蛋白欠乏による十二指腸粘膜の Af 合成の障害、或いは十二指腸粘膜細胞の機能低下の影響が、蛋白投与後も長く残存したことを示唆する。

B6 欠乏飼料で飼育したラットの末梢血では TIBC, RBC, Ht 値, Retic の減少及び SI の上昇が、また骨髄では Retic の減少及び SB の著増とリング状 SB の出現が認められた。一般に、SB と SI は多くの場合に相関した消長を示す<sup>2)</sup>といわれているが、B6 欠乏のラットでもこれを支持する成績が得られた。肝と十二指腸粘膜では Fr-鉄の増加と Af の鉄飽和度の増加がみられた。(Fig. 10) ビタミン B6 はポルフィリンの前駆物質である  $\delta$ -aminolevulinic acid ( $\delta$ -ALA) が、glycine と succinyl CoA を基質として ALA-synthetase の作用下に生成される際に必要である<sup>12)20)</sup>と云われている。従って、B6 欠乏の際には  $\delta$ -ALA 合成の障害、引いてはヘム合成の障害を来す結果、体内では鉄利用が低下するものと考えられる。B6 欠乏ラットにみられた上記の変化が、骨髄におけるヘム合成の障害に基づく鉄利用の低下に起因することは確実と思われる。また、B6 欠乏ラットでは血清蛋白濃度と TIBC が減少したが、これは B6 欠乏によりアミノ酸の吸収及び腸粘膜内でのアミノ酸の能動輸送<sup>20)</sup>が障害された結果であろうと推察される。ビタミン B6 がアミノ酸代謝の過程で脱炭酸、脱アミノ、アミノ基転移、イオウ転移などに関係する酵素の補酵素 (Co-enzyme) の成分であり、従って B6 欠乏ラットの肝や脾における Af の増加は、B6 欠乏のために Af の代謝ないし分解が障害された結果であるかも知れない。B6 欠乏ラットにビタミン B6 を投与すると、血中と骨髄の Retic が速やかに著増し、次いで RBC, Ht 値及び TIBC が増加の傾向を示したが、RBC と TIBC の回復が著しく遅延した。反対に、SI と SB の増加及び MCV の減少は比較的速やかに回復した。

一方、B6 投与後、肝、脾、十二指腸粘膜の Fr-鉄

が減少、或いは減少傾向を示したが、これは骨髄のヘム合成の障害が B6 投与によって軽減され、体内の鉄利用が活発化したためと考えられる。また、肝、脾、十二指腸粘膜の Af が減少したことは、B6 投与によってアミノ酸代謝の障害が改善されたことと関連があるかも知れない。なお、B6 欠乏ラットと蛋白欠乏ラットを比較すると、脱毛、SI の上昇、TIBC の減少などは両者に認められたが、各臓器の Fr-鉄及び骨髄の SB は B6 欠乏の方が蛋白欠乏よりも多く、又各臓器の Af は B6 欠乏では多いが、蛋白欠乏では少ないという相違がみられた。

Ph 注射を毎日1回、連続3日間行なったラットでは、血中の Retic は注射中止後から、また骨髄の Retic は少し遅れて著増し、血中の RBC と Ht 値は注射中止後減少し、反対に MCV は増加傾向を示した。血中の SI と TIBC は注射後増加し、また骨髄の SB は注射中止後一時増加したが、いずれも7日後に回復した。然し、RBC, MCV, Retic は7日後も回復せず、殊に Retic は血中、骨髄ともに7日後に最大の増加を示した。一方、肝と脾では Fr-鉄の増加及び Af の増加或いは増加傾向を認めたが、これらの変化には溶血或いは血清鉄の増加が関係しているように思われる。然し、十二指腸粘膜では注射後、Fr-鉄、Af ともに減少した。注射中止後7日目には Af の鉄飽和度が脾では対照群の値を上回ったが、肝と十二指腸粘膜では逆に下回った。(Fig. 11) これらの所見は、鉄欠乏ラットに鉄を投与して Fr-鉄が著増した十二指腸粘膜の所見とは逆で、このことは恐らく Ph 注射ラットの体内では鉄過剰の状態にあり、従って鉄の吸収が低下したためと考えられる。

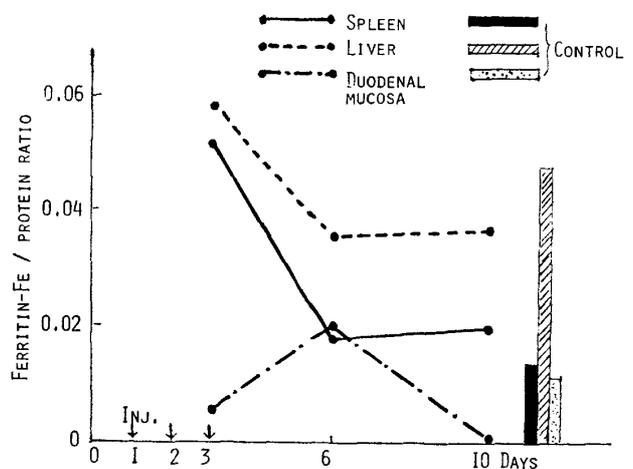


Fig. 11 The ferritin-Fe/protein ratio of the spleen, liver and duodenal mucosa in the "Ph" anemic rats

## V 結 論

我々は鉄の吸収と代謝を知る目的で、体重 60g 前後の Wistar 系雄ラットを鉄、蛋白質或いはビタミン B6 欠乏飼料で 60 日間飼育し、次いで標準飼料に切り変えて経過を追い、血液の生化学的測定及び形態学的検査ならびに肝、脾、十二指腸粘膜の Fr-鉄と Af の測定を行なった。なお、Ph 貧血ラットについても同様の検査を行ない、比較検討した。次に、それらの成績を要約する。

1. 鉄欠乏ラットの末梢血では、SI と RBC の減少、TIBC と Retic の増加、また骨髄では Retic の増加と SB の著減を認め、肝、脾、十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af の減少及び Af の鉄飽和度の低下を認めた。標準飼料投与後、末梢血では SI と Retic が急増し、十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af の鉄飽和度が急増した。以上より、鉄欠乏ラットでは食餌中の鉄が十二指腸粘膜から速やかに吸収され、血中に移行して骨髄でヘム合成に利用されると同時に、十二指腸粘膜内で鉄が急速かつ活発に Af に取り込まれることが推定された。

2. 蛋白欠乏ラットの末梢血では、SI と Retic の増加、RBC、TIBC と A/G 比の減少を認め、肝では Fr-鉄と Af の鉄飽和度の増加、及び十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af の減少を認めた。標準飼料投与後、末梢血では SI の減少、TIBC と A/G 比の増加、Retic の急減と RBC の急増を認め、肝では Af の急増と Af の鉄飽和度の急速な回復を認めたが、十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af の回復が著しく遅延した。

3. B6 欠乏ラットの末梢血では、SI の増加、RBC と Retic の減少を、また骨髄では SB の著増を認め、肝では Fr-鉄と Af の増加及び Af の鉄飽和度の増加を認めたが、十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af の減少傾向を認めた。標準飼料投与後、SI の減少、RBC と Retic の増加、骨髄の SB の減少及び肝の Fr-鉄の減少を認めた。これらの変化は、B6 欠乏による骨髄のヘム合成障害が B6 投与によって改善され、体内の鉄利用が活発化した結果と考えられた。

4. Ph 溶血性貧血ラットの末梢血では、RBC と Ht 値の減少、SI と Retic の増加、骨髄の SB の増加を認め、また肝と脾では Fr-鉄と Af の鉄飽和度の増加、及び Af の増加或いは増加傾向を認めたが、十二指腸粘膜では Fr-鉄と Af がいずれも減少した。

本論文の要旨は第39回日本血液学会総会（金沢市、昭和52年5月）及び第1回鉄代謝研究会（京都市、昭和52年9月）で発表した。

本研究に協力して頂いた鳥居美保助手に感謝する。

## 主要参考文献

1. Rohr, K. : Das menschliche Knochenmark 109—120, 3te Aufl. (1960), Georg Thieme (Stuttgart)
2. 寺田秀夫 : 血液検査の基礎知識 27—30 (1969) 医歯薬出版 (東京)
3. 吉野芳夫 : 臨床栄養 48, 354—357 (1976)
4. 島田敏夫, 神成節子 : 医学のあゆみ 87, 676—680 (1973)
5. Person, W. N. & M. B. Reichl : J. Nutrit. 99, 137—140 (1969)
6. Lowry, O. H., N. N. Rosebrough, A. L. Farrand & R. J. Randall : J. Biol. Chem. 193, 265 (1951)
7. 細谷憲政 : 栄養学実験 85—87 (1974) 朝倉書店 (東京)
8. 荻田善一, 中村正二郎 : 電気泳動実験法 262—269 (1973) 文光堂 (東京)
9. Granick, S. : Chem. Rev. 38, 379—403 (1946)
10. Granick, S. : Bull. N. Y. Acad. Med. 30, 81—105 (1954)
11. Yoshino, Y. & Y. Hiramatsu : J. Biochem. 75, 221—228 (1974)
12. Pike, R. L. & M. L. Brown : Nutrition : An integrated approach, 2nd ed., 284—297 ; 606—608 ; 608—611 (1975) John Wiley & Sons, Inc. (New York)
13. Van Campen, D. : Fed. Proc. 33, 100—105 (1974)
14. 横田稔 : 臨床血液 15, 688—689 (1974)
15. 漆崎一朗 : 日血会誌 39, 11—23 (1976)
16. Drysdale, J. W. & H. N. Munro : J. B. C. 241, 3630—3637 (1967)
17. Munro, H. M. & J. W. Drysdale : Fed. Proc. 29, 1469—1473 (1970)
18. 飯島宗一 : 病理学各論, 上巻 (1971) 文光堂 (東京)
19. 柴田進 : 病態生化学 — その基礎 — 221 (1968) 金芳堂 (京都)
20. 三浦義彰監修 : ハーパー生化学 111—114 ; 207—210 ; 359—362 (1975) 丸善 (東京)