

放射 性 鉄 に よ る 易 分 離 鉄 の 研 究

第 1 編

赤血球内易分離鉄に対する CO 並びに還元剤の
鉄遊離抑制作用について

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 小坂淳夫教授)

田 淵 博 司

〔昭和 38 年 9 月 28 日受稿〕

I. 緒 言

Barkan, G. の所謂 “easily split off blood iron”¹⁾ 訳して易分離鉄(以下略して E S Fe)については、教室においてすでに幾多の研究があり、Lemberg の choleglobin 或いは Barkan の言う pseudohemoglobin に由来することが明確にされた。更に近年放射性鉄が血色素鉄の追跡子として利用されるようになって、その生物学的意義の解明が試みられ教室川口²⁾、田村³⁾、は老朽期の赤血球のみならず一部末梢血中出现してまもない幼若赤血球中にも E S Fe の増加するのを確認した。

しかしながら Miller と Hahn⁴⁾、Grinstein と Moore⁵⁾ らはいずれも放射性鉄による研究の結果、赤血球内の E S Fe は酸添加による血色素の酸化の結果生ずるもので、化学的操作による人工的産物と見做し、その生理的意義は不明であるとした。

さかのぼつて Barkan, G. ⁶⁾ らは E S Fe 中には一酸化炭素の作用を受け鉄の遊離を阻止する部分 E と一酸化炭素の作用を全く受けない部分 E' とがあることを提唱し、E は多くの場合 O₂E の形で存在し、これに不活性の gas を通気して解離酸素を逐えば、再び E となり鉄を遊離しなくなると述べた。更に Lemberg⁷⁾ は, carboxyhemoglobin 或いは reduced hemoglobin から得た E S Fe は空気下放置の oxyhemoglobin から得た E S Fe の 1/3 に減じ、この両者の差、つまり Barkan の言う E' の部分は酸化による人工的産物であるとした。教室中島⁸⁾ も O-phenanthroline の法による鉄の比色定量で E, E' の存在を明かにしている。

そこで著者は放射性鉄を用いて標識した家兎赤血球について、E S Fe 中の E' の存在を確認し、更

にこれら人工的産物を取り除いた赤血球内 E S Fe の消長を生体内で経時的に追求することは、その本態の糾明に意義あるものと考え実験を試みた。

II. 実験方法

1. 実験材料

1.1. 放射性鉄

放射性鉄は米国 Oak Ridge National Laboratory 製 Fe⁵⁹ を使用した。原液は放射性塩化第二鉄の塩酸溶液で Fe⁵⁹ の半減期は 47 日である。

1.2. 実験動物

体重 2.5 kg 前後の雄性家兎を選び耳静脈より体重毎 10 ml の血液を 1 日間隔で 4 乃至 5 回採血し、充分貧血させ 20% 前後の網状赤血球分利を起した貧血家兎を使用した。

2. 実施方法

2.1. Fe⁵⁹ 標識赤血球の作製

Fe⁵⁹ Cl₃ 原液の一定量をあらかじめ家兎血清 5 ml と充分混和し室温で約 30 分放置して Fe⁵⁹-globulin と化したもの 2 μ c/kg、鉄量にして約 0.05 mg/kg を貧血家兎に静注し、以後一定時間に末梢血を採取し二重碳酸塩を加えて凝固を防ぎ速やかに 0~4°C の生理的食塩水で数回遠沈洗滌して血漿を完全に除き、残りの Fe⁵⁹ 標識赤血球を正確に 1 ml 採り、Ht で補正して実験に供した。

2.2. 通気

有検試験管内の試料に直径 3 mm のガラス管より毎分 300 乃至 400 気泡の割合で N₂ 並びに CO を通気し諸種必要操作の時以外は栓を施した。更に大気との遮断を完全にする為に通気後 toluene を重層した実験も試みた。gas は N₂ については N₂-bomb より、CO は硫酸と蟻酸より発生させたものをそれ

ぞれ精製使用した。

2.3. 還元剤の投与

還元剤としては *L*-ascorbin 酸並びに $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ を使用した。*L*-ascorbin 酸については1規定の NaOH に溶解中和し pH 7.2 としたものを再蒸溜水にて種々必要濃度に希釈使用した。又 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ は再蒸溜水で実験の都度溶解使用した。

2.4. 非放射性鉄剤の投与

赤血球崩壊後の鉄の再利用を阻止する為に Finch ら⁹⁾ の方法に倣つて放射性鉄静注後10日目からは連日体重毎 kg 3mg の大量の非放射性鉄剤(*glufericon*)を投与した。なお田村³⁾の分類に従つて以上の瀉血貧血家兎より24時間以内と、10~20日目及び30~40日目に採血して得られた標識赤血球は年令的に幼若、成熟及び老朽と見做した。

3. 測定法

3.1. 放射能の測定

試料の一定量をそのまま試料皿に入れ神戸工業製 scintillation counter PS-I 型を用いて放射活性を計測し、測定値はそれぞれの測定時期に応じ Fe^{59} の自然減衰係数で補正した。

3.2. 赤血球内易分離鉄の放射能測定

Fe^{59} 標識赤血球 1ml を正確に試料皿にとり、その放射活性を測定後再蒸溜水で完全溶血させ、以後 Barkan と Walker の方法¹⁰⁾に従つて0.4%の割に1.2% HCl 溶液を加えて38°C恒温槽中に16時間放置後、20%三塩化醋酸溶液を加え、振盪混和して滲液を調製した。この際滲過後の残渣を 1ml の再蒸溜水で2回洗滌して赤血球 1ml より得た滲液全量についての ESFe^{59} の放射能を計測し赤血球鉄放射能に対する割合(%)で示した。なお ESFe 抽出にあつては諸種 gas の通気並びに還元剤投与等の操作を試みたが、通気に際しては溶血後と、0.4%の割で1.2% HCl 溶液を加えた後と2回おこなつて密閉し、又還元剤は溶血に用いる再蒸溜水中に前もつて一定濃度で含まれるよう調製し、還元剤投与後は直ちに塩酸処理をおこなつた。

III. 実験成績

1. 成熟赤血球内易分離鉄に及ぼす N_2 , CO gas 並びに還元剤の影響

1.1. N_2 通気の影響

ESFe の最も少なく且つ安定しているとされている成熟期の赤血球^{2,3)} に対して塩酸処理の前後二回 N_2 を通気した成績は Table 1 の通りである。実験は同一家兎については日を改ため繰り返しおこなつ

たものであるが、その易分離鉄 ($\text{ESFe}_{\text{N}_2}^{59}$) は大気下のそれ ($\text{ESFe}_{\text{O}_2}^{59}$) と比較して平均19%程度の鉄遊離阻止がみられたに止まつた。

Table 1. Influence of Saturation with N_2 gas on easily split off blood iron (ESFe).

Rabbit	RBC Fe^{59} (a)	$\text{ESFe}_{\text{O}_2}^{59}$ (b)	b/a %	$\text{ESFe}_{\text{N}_2}^{59}$ (c)	c/a %	c/b %
A ₁	9812	123.6	1.26	92.2	0.94	74.6
A ₂	8664	113.5	1.31	109.2	1.26	96.5
A ₃	8510	110.6	1.30	69.8	0.82	63.1
A ₄	8026	102.7	1.28	92.3	1.15	89.8
mean						81.0

RBC Fe^{59} : c. p. m. in 1 ml. of red blood cell.

ESFe^{59} : c. p. m. in easily split off fraction of RBC Fe^{59} .

$\text{ESFe}_{\text{O}_2}^{59}$: ESFe^{59} in the air.

$\text{ESFe}_{\text{N}_2}^{59}$: ESFe^{59} in the presence of N_2 gas.

1.2. CO 通気の影響

上記 N_2 gas の場合と同様にして CO を通気した場合の易分離鉄 ($\text{ESFe}_{\text{CO}}^{59}$) の成績を Table 2 に示す。即ち CO 通気により ESFe に対する鉄遊離阻止率は N_2 通気の場合より平均数%増加するが、その値にすこぶる動揺があり一定した結果は得難く一部の例では全く鉄遊離阻止力を示さぬ成績を得た。しかしある例では $\text{ESFe}_{\text{O}_2}^{59}$ の $1/3$ に減少したことから N_2 通気に優ると言えよう。

Table 2. Influence of Saturation with CO gas on ESFe .

Rabbit	RBC Fe^{59} (a)	$\text{ESFe}_{\text{O}_2}^{59}$ (b)	b/a %	$\text{ESFe}_{\text{CO}}^{59}$ (c)	c/a %	c/b %
A ₁	12142	127.5	1.05	91.1	0.75	71.4
A ₂	10435	126.3	1.10	41.7	0.40	36.3
B ₁	4423	40.6	0.94	43.3	0.98	104.2
B ₂	3273	50.1	1.53	42.2	1.29	84.3
C ₁	3988	55.4	1.39	57.4	1.44	103.6
C ₂	3906	44.5	1.14	23.1	0.59	51.7
mean						75.3

$\text{ESFe}_{\text{CO}}^{59}$: ESFe^{59} in the presence of CO gas.

1.3. CO +toluene の影響

大気の酸素の完全遮断の為に toluene 重層下に CO 通気を20分間おこなった場合の成績は Table. 3 のごとくで E S Fe の平均値は CO 通気の場合にくらべ更に数%の減少をみたが、なお変動が激しく E S FeO₂ と殆んど変らぬ値を示す例もあつた。

Table 3. Influence of superposition with toluene on E S Fe in the presence of CO gas.

Rabbit	RBC Fe ⁵⁹ (a)	E S Fe ⁵⁹ O ₂ (b)	b/a %	E S Fe ⁵⁹ CO+tol (c)	c/a %	c/b %
A ₁	3906	44.5	1.14	20.3	0.52	45.6
A ₂	3182	42.6	1.34	38.8	1.22	91.0
A ₃	3629	43.9	1.29	32.5	0.89	68.9
mean						68.5

1.4. Na₂S₂O₄ 添加による影響

Antioxygen として、0.3mg/dl の Na₂S₂O₄ 水溶液を塩酸処理直前に加えて得た成績が Table. 4 であるが E S FeO₂ の2倍にも達する鉄の分離を生じた。

Table 4. Influence of addition of Na₂S₂O₄ on E S Fe.

Rabbit	RBC Fe ⁵⁹ (a)	E S Fe ⁵⁹ O ₂ (b)	b/a %	E S Fe ⁵⁹ Na ₂ S ₂ O ₄ (c)	c/a %	c/b %
A ₁	12021	145.4	1.21	331.8	2.76	228.1
A ₂	9953	142.3	1.43	323.4	3.25	227.2
A ₃	7457	108.9	1.46	166.3	2.23	152.8
mean						202.7

1.5. l-ascorbin 酸添加による影響

l-Ascorbin酸の濃度が溶血液全量に対して0.1mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml, 4mg/ml となる様添加し、その影響をみると Table. 5 のごとくである。即ち l-ascorbin 酸 0.5mg/ml 以上の l-ascorbin 酸は、塩酸による鉄の分離を CO 或いは N₂ gas 以上に抑制し且つ 2mg/dl で充分であることがわかる。

次に 2mg/dl の l-ascorbin 酸を添加して成熟赤血球内易分離鉄 (E S Fe⁵⁹_{asc}) を測定したが Table. 6 のようにほぼ大気下の E S FeO₂ の 1/3 強の E S Fe⁵⁹_{asc} を恒に得ることができた。

Table 5. Correlation between the dosis of l-ascorbic acid and the concentration of radioactive iron in E S Fe.

			added l-ascorbic acid (mg/ml)				
			0.1	0.5	1.0	2.0	4.0
RBC Fe ⁵⁹ (a)	4928	E S Fe ⁵⁹ _{asc} (c)	74.5	45.3	34.7	31.0	33.3
E S Fe ⁵⁹ O ₂ (b)	86.2	c/a	1.51	0.92	0.74	0.63	0.67
b/a	1.75	c/b	86.4	52.5	40.2	36.0	38.6

Table 6. Influence of addition of l-ascorbic acid on E S Fe.

Rabbit	RBC Fe ⁵⁹ (a)	E S Fe ⁵⁹ O ₂ (b)	b/a %	E S Fe ⁵⁹ _{asc} (c)	c/a %	c/b %
A ₁	4928	86.2	1.75	31.0	0.63	36.0
A ₂	4878	87.8	1.80	28.3	0.58	32.2
A ₃	4119	68.8	1.67	27.2	0.66	39.5
mean						35.8

1.6. CO と l-ascorbin 酸併用による影響

N₂ gas にくらべ CO gas が E S Fe に対する鉄分離抑制作用に優れ、又 l-ascorbin 酸添加時安定した鉄遊離阻止作用が認められたので、この両者を併用して得た E S Fe⁵⁹_{CO+asc} の成績は Table. 7 のごとくである。即ち CO gas を 1.2% 塩酸処理の前後で通気し 2mg/ml の割で l-ascorbin 酸を添加した場合、成熟赤血球では平均して E S FeO₂ よりも約 1/4 に減少し、CO gas のみの場合にみられた E S Fe の不安定な変動もなくなり、又 l-ascorbin 酸のみの添加時よりも更に鉄遊離阻止率は増加した。

Table 7. Influence of addition of l-ascorbic acid on E S Fe in the presence of CO gas.

Rabbit	RBC Fe ⁵⁹ (a)	E S Fe ⁵⁹ O ₂ (b)	b/a %	E S Fe ⁵⁹ _{CO+asc} (c)	c/a %	c/b %
A ₁	3988	55.4	1.39	14.0	0.35	25.1
A ₂	3906	44.5	1.14	17.2	0.44	38.6
B ₁	4928	86.2	1.75	22.2	0.45	25.7
B ₂	4878	87.8	1.80	19.5	0.41	22.8
C ₁	9953	162.2	1.73	27.9	0.28	16.2
C ₂	9065	139.6	1.54	19.9	0.22	14.3
C ₃	7457	108.9	1.46	20.9	0.28	19.2
mean						23.1

2. 赤血球年令に伴う易分離鉄に及ぼす N_2 , CO 並びに還元剤の影響

2.1. N_2 通気の場合

家兎に Fe^{59} 液静注後、経時的に $ES Fe_{N_2}^{59}$ を追求し、 N_2 gas の影響をみると Table. 8, Fig. 1 のごとくで恒に空気下放置による場合の赤血球内 $ES Fe_{O_2}^{59}$ よりも低値を示したが、なお変動が激しく、時には $ES Fe_{O_2}^{59}$ と近似のことさえる。

2.2. CO 通気の場合

CO gas による赤血球内 $ES Fe$ の各時期にみられる影響は Table. 9, Fig. 2 のごとくでやはり N_2 の場合と同様安定した鉄遊離抑制作用はみられず時には $ES Fe_{O_2}^{59}$ よりも高い値をみるという不可解な態度を示した。しかしながら $ES Fe_{O_2}^{59}$, $ES Fe_{N_2}^{59}$, $ES Fe_{CO}^{59}$ ともに Fe^{59} 投与後まもなくの幼若赤血球と40日目近くの老朽赤血球で増加の傾向を示している点で

は共通した。

2.3. CO 通気と *l*-ascorbin 酸との併用の場合
すでに実験成績で述べた通り、CO gas と還元剤の併用の場合が最も安定した鉄遊離抑制作用のあることを認めているので、この方法を用いて赤血球内 $ES Fe$ を追求した成績が Table. 10, Fig. 3 であ

Fig. 1. Transitional curves of $ES Fe_{N_2}^{59}$ after intravenous administration of Fe^{59} in phlebotomized anemic rabbit.

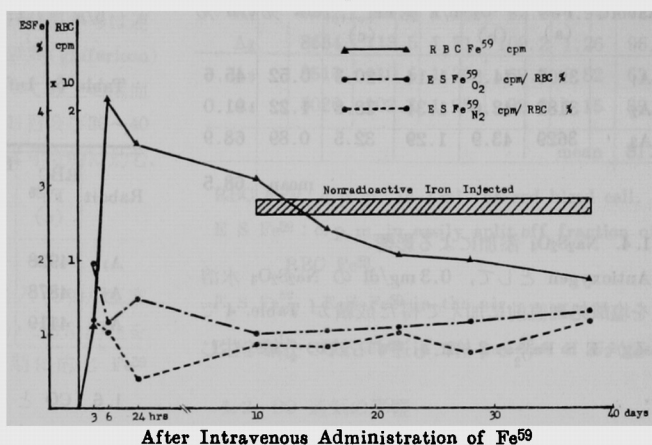


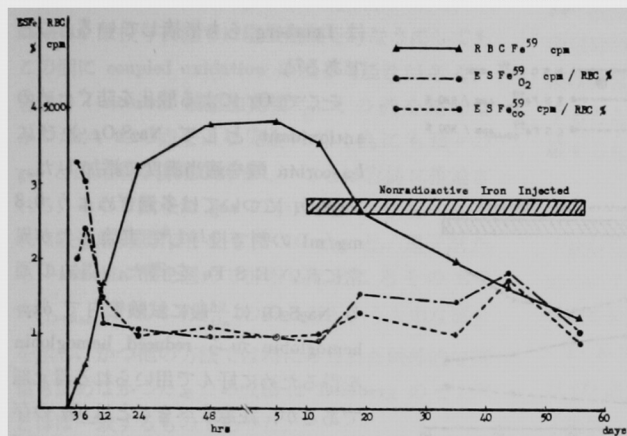
Table 8. $ES Fe^{59}$ in the presence N_2 gas after intravenous administration of Fe^{59} in phlebotomized anemic rabbit.

times	3	6	24 hrs	10	16	22	28	38 days
RBC Fe^{59} (a)	5865	20949	17925	15446	12142	10435	10260	8766
$ES Fe_{O_2}^{59}$ (b)	116.1	247.2	267.1	157.5	127.5	126.3	117.0	114.0
b/a %	1.98	1.18	1.49	1.02	1.05	1.10	1.14	1.30
$ES Fe_{N_2}^{59}$ (c)	70.4	220.0	71.7	135.9	93.2	109.6	77.0	103.4
c/a %	1.20	1.05	0.40	0.88	0.85	1.05	0.75	1.18

Table 9. $ES Fe^{59}$ in the presence of CO gas after intravenous administration of Fe^{59} in phlebotomized anemic rabbit.

times	3	6	12	24	48 hrs	5	12	19	35	44	56 days
RBC Fe^{59} (a)	493	707	2108	4175	4735	4747	4423	3273	2471	2036	1596
$ES Fe_{O_2}^{59}$ (b)	16.3	21.6	24.2	43.8	45.9	44.6	40.6	50.1	35.8	37.1	16.9
b/a %	3.30	3.05	1.15	1.05	0.97	0.94	0.94	1.53	1.45	1.82	1.06
$ES Fe_{CO}^{59}$ (c)	9.9	17.2	31.2	41.8	51.1	44.6	43.3	42.2	25.0	35.8	14.7
c/a %	2.01	2.44	1.48	1.00	1.08	0.94	0.98	1.29	1.01	1.71	0.92

Fig. 2. Transitional curves of $E S Fe_{CO}^{59}$ after intravenous administration of Fe^{59} in phlebotomized anemic rabbit.



After Intravenous Administration of Fe^{59}

る。この場合 $E S Fe_{CO+asc}^{59}$ は $E S Fe_{O_2}^{59}$ にくらべ、はるかに低値を示し変動は少なく $E S Fe_{N_2}^{59}$, $E S Fe_{CO}^{59}$ に比較して非常に円滑なものとなった。即ち Fe^{59} 液投与後非常に早期、つまり幼若赤血球に $E S Fe$ の一過性上昇を認め次第に減少して成熟期か

ら老朽期への移行期とみなされる30日目頃迄はほぼ一定の値をとり、ついで40日目頃を境として有意の上昇を認めた。なおこの際興味あることは幼若期における CO gas 並びに l -ascorbin 酸による鉄遊離抑制作用が成熟期、老朽期のそれより少ないことで、この点については次編で更に検討した。

IV. 総括並びに考按

1. N_2 , CO 並びに還元剤の影響

1928年 Barkan, Berger¹¹⁾ らはすでに H_2 が $E S Fe$ 抽出時、鉄の分離を抑制する力のあることを発見し、ついで Barkan 並びに Schales⁶⁾ が CO gas 中に同様の作用のあることを指摘した。

その後 Lemberg ら⁷⁾もこれを支持し CO 通気により $E S Fe$ は通気前の約 $1/3$ に減じ、この鉄遊離を阻止される $E S Fe$ の部分、即ち $(E S Fe_{O_2} - E S Fe_{CO})$ は酸の為に O_2Hb から放出した O_2 による血色素の酸化で生じた人工産物であると断じ

Table 10. $E S Fe^{59}$ in the presence of CO gas and l -ascorbic acid after intravenous administration of Fe^{59} in phlebotomized anemic rabbit.

No. 1

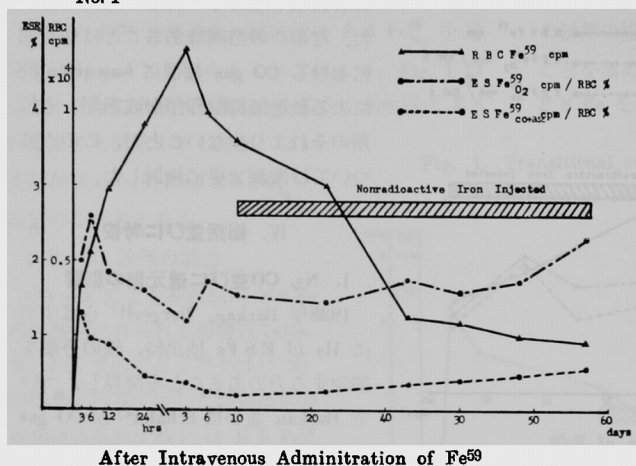
times		3	6	12	24 hrs	3	6	10	22	33	40	48	57 days
RBC Fe^{59}	(a)	4268	5253	7396	9587	12021	9953	9065	7457	3219	3068	2506	2304
$E S Fe_{O_2}^{59}$	(b)	85.4	138.7	134.6	160.1	145.4	162.2	139.6	108.9	56.4	48.5	43.6	53.0
b/a	%	2.00	2.64	1.86	1.67	1.21	1.73	1.54	1.46	1.75	1.58	1.74	2.29
$E S Fe_{CO+asc}^{59}$	(c)	56.8	51.5	66.6	46.0	43.3	27.9	19.9	20.9	10.6	12.0	12.0	12.7
c/a	%	1.33	0.98	0.90	0.48	0.36	0.28	0.22	0.28	0.33	0.39	0.48	0.55

No. 2

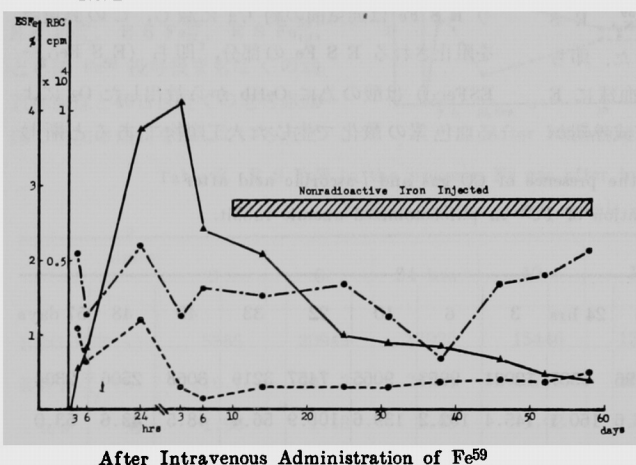
times		3	6	24 hrs	3	6	14	25	31	38	46	52	58 days
RBC Fe^{59}	(a)	1406	2108	9411	10218	6160	5217	2420	2267	2154	1674	1157	1074
$E S Fe_{O_2}^{59}$	(b)	29.6	26.8	208.9	133.0	99.8	79.3	40.4	27.7	14.4	28.4	21.0	23.3
d/a	%	2.11	1.27	2.22	1.29	1.62	1.52	1.67	1.22	0.67	1.69	1.82	2.17
$E S Fe_{CO+asc}^{59}$	(c)	15.3	14.1	112.9	33.7	8.6	15.7	7.5	7.0	8.0	6.8	4.4	5.1
c/a	%	1.09	0.67	1.20	0.33	0.14	0.30	0.31	0.31	0.37	0.39	0.38	0.48

Fig. 3. Transitional curves of $ESFe_{CO+asc}^{59}$ after intravenous administration of Fe^{59} in phlebotomized anemic rabbit.

No. 1



No. 2



た。

しかしながら放射性鉄を用いて赤血球内 $ESFe$ を CO 通気, N_2 通気及び非通気の条件下で比較検討した著者の成績からは満足すべき鉄遊離抑制作用は認められず, $ESFe_{N_2}^{59}$ は $ESFe_{O_2}^{59}$ の 81.0% (鉄遊離阻止率19%), CO 通気時では75.3% (鉄遊離阻止率24.7%) に過ぎなかつた。又 CO 通気後 toluene を重層した場合の $ESFe_{CO+tol}^{59}$ は $ESFe_{O_2}^{59}$ にくらべ68.5%とかなりの減少をみたが, Barkan, Lemberg の成績には及ばなかつた。しかし Barkan らが発表した成績⁶⁾ の中にも時には $ESFe_{CO}$ が $ESFe_{O_2}$ の 58~75% という非常に高い場合のこと

もあり, 全ての溶液を種々の gas. で充滿飽和することがどうしても不完全な為にかかる例外的な場合が生ずるとは Lemberg らも指摘しているところである⁷⁾。

そこで O_2 による酸化を防ぐための antioxidant として $Na_2S_2O_4$ 並びに l -ascorbin 酸を適當濃度で添加した。 $Na_2S_2O_4$ については多過ぎぬよう 0.3 mg/ml の割合で投与して実験したが異常に高い $ESFe$ を得た。周知の通り $Na_2S_2O_4$ は一般に試験管内で oxyhemoglobin から reduced hemoglobin を得るために好んで用いられる還元剤であるが、注意すべきことは O_2 の存在下で heme の酸化的分解をしばしば起すことであり、又 $ESFe$ 抽出時のごとく塩酸処理による酸性溶液中では $Na_2S_2O_4$ 及びその酸化物から SO_2 が生成し、これが血色素の変性を起す危険の存在することに留意すべきである。著者の実験で微量の $Na_2S_2O_4$ 投与にもかかわらず高い $ESFe$ をみたのは上記の理由によるものと考えられ $ESFe$ 抽出時の antioxidant としては $Na_2S_2O_4$ は不適当と言えよう。

これにくらべ l -ascorbin 酸は $ESFe$ の鉄遊離抑制に有効且つ恒に安定した作用を及ぼし $ESFe_{O_2}^{59}$ のほとんど $1/3$ 量に減じ、その投与量は 2mg/ml で足りた。このことから oxyhemo-

globin の globin の部分が変性される間に oxyhemoglobin から自由になった O_2 は強い酸化力をもつことが推察されるが、Lemberg⁷⁾ らによれば、単に O_2 の存在が Barkan の所謂 E の部分から鉄を自由にする為に必要であり、この部分は酸が hemoglobin に作用する間の過程において oxyhemoglobin から形成されるとしている。そしてこの酸によつて oxyhemoglobin から自由になった O_2 は l -ascorbin 酸を酸化させることも見出している。確かに著者の l -ascorbin 酸添加実験成績からも l -ascorbin 酸の投与により大気中の O_2 或いは oxyhemoglobin の酸変性により遊離した活性酸素による $ESFe$ の過分の産出はある程度防ぎ得たと考えてよい。しか

しながらここで問題となるのは、oxyhemoglobin を試料として用いる場合の *l*-ascorbin 酸との coupled oxidation による choleglobin の生成である。*l*-ascorbin 酸投与後直ちに塩酸処理を行なうにしてもこの間に coupled oxidation の起る可能性がある。著者の *l*-ascorbin 酸添加実験ではその例を認めなかつたが、この点をより完全に除く為にも種々の gas と還元剤の併用が好ましいことは容易に推論される。そこで試みた gas の中で N_2 よりもやや秀れた鉄遊離抑制作用をもつ CO gas と、還元剤から *l*-ascorbin 酸を選んで併用したところその $ESFe_{CO+asc}^{59}$ は $ESFe_{O_2}^{59}$ の 23.1% という大巾な減少を示し、かつ他の方法では時にみられた例外的な高値も認めなかつた。この成績は Lemberg のそれ⁷⁾ とほぼ一致するものであつた。

以上の実験から $ESFe$ 抽出時、通気 gas としての CO と antioxidant としての *l*-ascorbin 酸の併用が鉄遊離阻止に最も効果的に作用し hemoglobin 酸化による人工的産物を除くのに適していると言える。

2. 赤血球年令に伴う易分離鉄の変動

Finch⁹⁾ らが生体内における赤血球崩壊後の鉄の再利用を阻止する為に大量の非放射性鉄を投与する方法を報告して以来、鉄標識家兎赤血球の年令を出來得る限り正確に幼若と成熟及び老朽に区別することが可能となつた³⁾。

著者も N_2 , CO 並びに還元剤を用いて可及的に人工的産物をとり除いた $ESFe$ 抽出法によつて生体での赤血球年令に伴う $ESFe^{59}$ の消長を経時的に追求したところ、 $ESFe_{N_2}^{59}$ 並びに $ESFe_{CO}^{59}$ では $ESFe_{O_2}^{59}$ と大差なかつたが $ESFe_{CO+asc}^{59}$ は明らかに全経過を通じて $ESFe_{O_2}^{59}$ よりも低値をたど

り人工的な鉄の遊離が阻止された消長を得ることができ、かつ $ESFe_{O_2}^{59}$ にくらべ変動は少ないが、 Fe^{59} 液投与後24時間までの幼若赤血球並びに40日目頃以降の老朽赤血球に有意の上昇を認めた。この事実は緒言で述べた教室川口²⁾、田村³⁾ の成績を肯定するとともに、Miller⁴⁾ 及び Moore⁵⁾ らの報告に反駁するものである。

V. 結 論

放射性鉄を用いて標識した家兎赤血球内 $ESFe$ について、 N_2 , CO 並びに還元剤による鉄遊離阻止作用を検討し、以下の所見を得た。

1) $ESFe^{59}$ に対する鉄遊離阻止作用は、 N_2 及び CO 通気の場合 ($ESFe_{N_2}^{59}$, $ESFe_{CO}^{59}$) と大気下放置の場合 ($ESFe_{O_2}^{59}$) との間に有意の差を認めなかつた。

2) 還元剤として *l*-ascorbin 酸を添加した場合の $ESFe_{asc}^{59}$ は $ESFe_{O_2}^{59}$ の 35.8% に減じたが、 $Na_2S_2O_4$ の添加では却つて $ESFe^{59}$ の増量を認めた。

3) CO gas 通気と *l*-ascorbin 酸添加を併用した場合、最も鉄遊離阻止作用が強く、その $ESFe_{CO+asc}^{59}$ は $ESFe_{O_2}^{59}$ の 23.1% に減少し、この両者の差は色素の酸化にもとづく人工的産物と推定する。

4) $ESFe_{CO+asc}^{59}$ を家兎生体内赤血球について、経時的に追求すると $ESFe_{O_2}^{59}$ と同様、幼若期に最も多く、成熟期に最も少なく、老朽期には増加の傾向を示した。

(本論文の要旨は第22回日本血液学会総会及び第9回日本生化学会中国四国地方部総会に於いて発表した。)

引 用 文 献

- 1) Barkan, G.; Z. physiol. Chem., 148, 124 (1925).
- 2) 川口：医学研究, 27, 1002 (昭32).
- 3) 田村：岡山医誌, 71, 8343 (昭34).
- 4) Miller, L. L. and Hahn, P. F.: J. biol. Chem., 134, 586 (1940).
- 5) Grinstein, M. and Moore, C. V.: J. Clin. Invest., 28, 505 (1949).
- 6) Barkan, G. and Schales, O.: Z. physiol. Chem., 248, 96 (1937), 253, 83 (1938).
- 7) Legge, J. W. and Lemberg, R.: Biochem. J., 35, 353 (1941).
- 8) 中島：岡山医誌, 71, 6367 (昭34).
- 9) Finch, C. A., Wolff, J. A. and Rath, C. E.: J. Lab. and Clin. Med., 34, 1480 (1949).
- 10) Barkan, G. and Walker, B. S.: J. biol. Chem., 135, 37 (1940).
- 11) Barkan, G. and Berger, E.: Arch. exp. Path. Pharmacol., 136, 278 (1928).

Studies on Easily Split Off Blood Iron by Radioactive Iron

Part 1. The Influences of CO and Reducing Agents on the
Yield of Easily Split off Blood Iron in vitro

By

Hiroshi TABUCHI

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director : Prof. Kiyowo Kosaka)

Fe^{59} -radioactivities in easily split off iron fraction (E S Fe^{59}) of the rabbit erythrocytes labeled with Fe^{59} were determined respectively under the each condition saturated with N_2 or CO gas and added with reducing agents such as $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ or *l*-ascorbic acid. The following results were obtained.

1. There was no significant difference in the yields of E S Fe^{59} between the saturation with N_2 or CO gas and the exposure to the air.

2. E S Fe^{59} under the addition with *l*-ascorbic acid as reducing agents (E S $\text{Fe}_{\text{asc}}^{59}$) was decreased to 35.8 % of the E S Fe^{59} in the case exposed to the air (E S $\text{Fe}_{\text{O}_2}^{59}$), while E S Fe^{59} under the addition with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ was rather increased.

3. The yield of E S Fe^{59} under the addition of *l*-ascorbic acid in the presence of CO gas (E S $\text{Fe}_{\text{CO}+\text{asc}}^{59}$) was decreased to 23.1% of E S $\text{Fe}_{\text{O}_2}^{59}$. It was thought that the difference between these two yields indicate the artificial products as a result of hemoglobin oxidation. The inhibitory capacity in isolation of iron from hemoglobin was the largest in the presence of *l*-ascorbic acid and N_2 gas.

4. In the hourly determinations of E S Fe^{59} in rabbit erythrocytes in vivo after intravenous administration of Fe^{59} , E S $\text{Fe}_{\text{CO}+\text{asc}}^{59}$ was found to be the maximum in the immature cells, the minimum in the mature ones and tended to increase in older ones. These results were found to be same as that of E S $\text{Fe}_{\text{O}_2}^{59}$.
