

放射 性 鉄 に よ る 易 分 離 鉄 の 研 究

第 2 編

幼 若 赤 血 球 内 易 分 離 鉄 の 本 態 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

London, I. M. et al.¹⁾ が N^{15} を含む glycine を人体投与したところ早期の糞便中の stercobilin に高濃度の N^{15} 標識のものを発見し一部の人赤血球は120日の寿命を経ずして、その新生期に骨髓内若しくは流血中で速やかに破壊される可能性を指摘して以来、血球の崩壊が寿命を終えた老朽赤血球だけに限らず幼若赤血球にもその可能性のあることが推論されるようになった。教室でも最近、川口²⁾、田村³⁾らは放射性鉄を用いて幼若赤血球に Barkan, G の所謂易分離鉄 (以来 E S Fe と略す) が著明に多く含まれることから、又中川⁴⁾は犬の網状赤血球内 bile pigment precursors の面から検討し、網状赤血球数に比例してそれが増量することから生理的にも一部短命な赤血球の存在を推定している。著者も第1編において人工的産物と考えられるものを可及的に除いた E S Fe について赤血球の年齢に伴う消長を家兎の生体内で観察し、やはり放射性鉄投与後の新生幼若赤血球に E S Fe の増量を認め

た。しかしながら放射性鉄投与後、投与鉄が新生赤血球内に取り入れられ heme 乃至血色素合成に利用されるまでには種々の問題点があり、この時期の E S Fe は必ずしも真実のそれを示さない危惧がある。そこで著者は今回網状赤血球が直接鉄を摂取し血色素を合成する能力の有ることを利用してその培養実験を試み、あわせて生体内新生赤血球についても heme の合成過程の観察と平行して E S Fe の生成態度を検討した。

II. 実験方法

1. 実験材料

前編の記載と同様放射性鉄は $Fe^{59}Cl_3$ を用い実験

動物には網状赤血球分利をおこした瀉血貧血家兎を使用した。

2. 実施方法

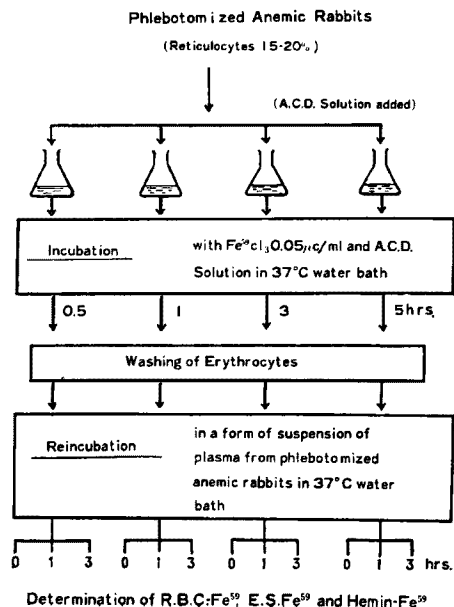
2.1. 網状赤血球培養並びに再培養法

中尾の方法⁵⁾を参考として網状赤血球分利期の赤血球の培養並びに再培養をおこなった。即ち Fig. 1のごとく頻回な瀉血により15~20%の網状赤血球分利をおこした家兎の血液 5 ml づつを三角コルベンに分注し、 $Fe^{59}Cl_3$ 0.05 μ c/ml、鉄量にして1.5 μ g/ml

Fig. 1.

METHODS

In-vitro methods of incubation and reincubation of erythrocytes from phlebotomized anemic rabbits after an addition of Fe^{59}



並びに A. C. D 液, 抗生剤の少量を加えて混じり 37°C の恒温水槽中で所定の時間振盪培養した後, 遠心して血漿を除き生理的食塩水で数回洗滌した. こうして得た ^{59}Fe 標識赤血球の一定量について赤血球全鉄, 赤血球内 ES Fe^{59} 並びに hemin-Fe^{59} の radioactivity を測定した.

再培養は上記のごとくして培養により得た ^{59}Fe 標識赤血球を, Fe^{59} 液を含まぬ他の家兎の血漿に浮遊させ再び所定の時間 37°C 恒温水槽中で振盪培養をおこなったものである. 尚他の家兎血漿に赤血球を浮遊させる際, 副作用はないとされているが⁶⁾一応あらかじめ交叉試験をおこなった後に浮遊再培養した. 又培養実験は全操作無菌的に処理されたことは言うまでもない.

2. 2. 生体内 ^{59}Fe 標識赤血球の作製とその培養

前編で述べたと同様の方法によつて家兎の生体において赤血球を ^{59}Fe で標識し, Fig. 2 に示すように ^{59}Fe 液投与後, ごく初期の 12 時間乃至 48 時間にわたつて経時的に採血し, 生理的食塩水で赤血球を数回洗滌して血漿を完全に分離後三角コルペン中で ^{59}Fe 液を含まぬ家兎血漿に浮遊させて, 3 時間 37°C 恒温水槽で振盪培養し, 培養前後の赤血球全鉄, 赤血球内 ES Fe^{59} 並びに hemin-Fe^{59} の radioactivity を測定した.

Fig. 2.

METHODS

(Incubation of ^{59}Fe tagged erythrocytes)

1. Intravenous injection of ^{59}Fe into phlebotomized anemic rabbit.
2. Drawing blood samples after injection.
(0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48 hours)
3. Washing of erythrocytes.
4. Making erythrocytes suspension of plasma from phlebotomized anemic rabbit.
5. Incubation in a 37°C water-bath for 36 hours.
6. Determination of ES Fe^{59} and Hemin-Fe^{59} before and after incubation.

(percent to cpm of erythrocyte)

3. 測定法

3. 1. 放射能測定

神戸工業製 Well 型 scintillation counter PS-IB 型を用いて放射活性を計測した.

3. 2. 赤血球内易分離鉄の放射能測定法

前編と同様の方法で空気下の $\text{ES Fe}_2\text{O}_3^{59}$ 並びに $\text{CO gas, l-ascorbin 酸}$ を用いた $\text{ES Fe}_{\text{CO+asc}}^{59}$ を測定したが Well 型 scintillation counter で測定した為, ES Fe 測定の為に必要な赤血球は 0.3~0.5ml で充分であつた.

3. 3. 赤血球内 hemin-Fe^{59} の放射能測定法

Brückmann, G. & Zondek, S.G. の hot pyrophosphate method⁷⁾ に拠つて非ヘミン鉄を抽出し残りの残渣を hemin-Fe^{59} 分画として放射能を測定, ES Fe^{59} と同じく赤血球全鉄の放射活性に対して占める割合で表わした.

III. 実験成績

1. 家兎網状赤血球の試験管内放射性鉄摂取実験

網状赤血球分利 (15%) を起した家兎血液を各三角コルペンに 5ml づつ分注し ^{59}Fe 液を添加して 30分, 1, 2, 3, 4 時間の培養群に分けて振盪培養すると Table 1, Fig. 3 のごとく, 赤血球容積 1ml についての鉄摂取率, 即ち

$$\text{ratio}(\%) = \frac{\text{洗つた赤血球 cpm}}{\text{加えた } ^{59}\text{Fe 液 cpm}} \times \frac{100}{\text{赤血球容積(ml)}}$$

は時間の経過と共に上昇し, 網状赤血球は極めて良く鉄を摂取することがわかる.

Table 1. Radioactiv iron ^{59}Fe up-take of rabbit reticulocyte in vitro.

		times				
		0.5	1	2	3	4 hrs
RBC ^{59}Fe Added ^{59}Fe	No. 1	1.0	5.3	8.1	11.5	12.6
	No. 2	1.4	6.5	8.7	12.1	14.0
(%)	mean	1.2	5.9	8.4	11.8	13.3

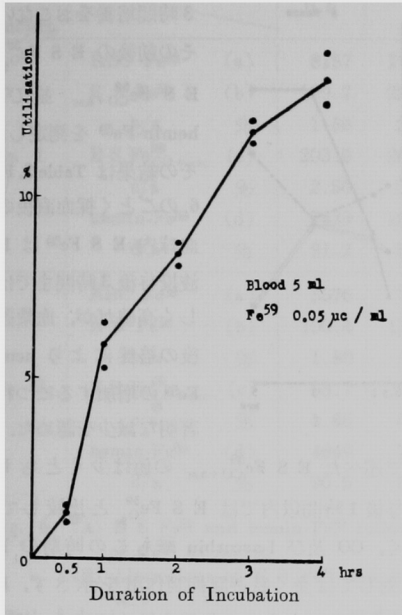
RBC ^{59}Fe : c. p. m. in 1 ml. of red blood cell.

2. 試験管内赤血球培養並びに再培養

^{59}Fe 液を添加して家兎の網状赤血球増多性赤血球の試験管内培養実験をおこない heme の合成と ES Fe 生成の両面から検討を試みた. その結果は Table 2. のごとくである.

まず赤血球をそれぞれの時間 ^{59}Fe 液と共に培養後, 洗滌し, 放射性鉄を含まぬ血漿中で更に 3 時間まで再培養した場合の ES Fe^{59} 並びに hemin-Fe^{59} の変動は Fig. 4 に見るごとく, 30分培養後の場合, その再培養によつて赤血球内摂取 ^{59}Fe の変動は少いにもかかわらず hemin-Fe^{59} は急激に増加し, 反対に ES Fe^{59} は急速に減少している. このことは

Fig. 3. Transitional curve of Fe^{59} up-take of rabbit reticulocyte in vitro.



短時間の培養で赤血球内に摂取されたばかりの Fe^{59} はどしどし hemin の合成に利用されていることを立証するもので、この間の $E S Fe^{59}$ はこの hemin 合成前段階の摂取 Fe^{59} を多く含んでいることがわかる。これに反して培養時間が長びくにつれて再培養による hemin- Fe^{59} 合成は緩徐となる一方 $E S Fe^{59}$ も安定してそれ程の減少がみられなくなるが、赤血球に Fe^{59} が導入される限り hemin- Fe^{59} の増加と $E S Fe^{59}$ の減少傾向を再培養で認めた。

次に培養をそれぞれの時間続けた赤血球を更に一定時間再培養した場合の赤血球 Fe^{59} , $E S Fe^{59}$, hemin- Fe^{59} を測定すると Fig. 5 のごとく、まず再培養をおこなわない培養実験直後の成績では赤血球への鉄の取り入れは非常によいが、 $E S Fe^{59}$ は 30分、1時間培養で極めて高い値を示し、反対に hemin- Fe^{59} は少ない。しかしこの間の $E S Fe^{59}$ は前述のごとく見せかけのものが多く1時間の再培

Table 2. Alterations of $E S Fe^{59}$ and hemin- Fe^{59} following incubation and reincubation.

		incubation			
		0.5	1	3	5 hrs
0	RBC Fe^{59} (a)	14992	26017	49630	52054
	$E S Fe^{59}$ (b)	1159.4	1535	2333	3227
	b/a %	7.6	5.9	4.7	6.2
	hemin Fe^{59} (c)	13118	23232	44617	45964
	c/a %	87.5	89.3	89.9	88.3
1h	RBC Fe^{59} (a)	14886	25181	49398	51145
	$E S Fe^{59}$ (b)	803.8	1309	2272	3069
	b/a %	5.4	5.2	4.6	6.0
	hemin- Fe^{59} (c)	13115	23015	44508	46184
	c/a %	88.1	91.4	90.1	90.3
3h	RBC Fe^{59} (a)	14906	25346	48929	49681
	$E S Fe^{59}$ (b)	700.6	1191	2104	2633
	b/a %	4.7	4.7	4.3	5.3
	hemin- Fe^{59} (c)	13684	22963	44868	44961
	c/a %	91.8	90.6	91.7	90.5
6h	RBC Fe^{59} (a)	14878	25104	48665	48990
	$E S Fe^{59}$ (b)	654.6	1054.4	1244.9	2498.5
	b/a %	4.4	4.2	3.7	5.1
	hemin- Fe^{59} (c)	13449	22794	44431	43405
	c/a %	90.4	90.8	91.3	88.6

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

養ですでに著しく減少し、 $E S Fe^{59}$ の培養時間による推移は3時間再培養で最も安定し、hemin- Fe^{59} の増加も他の再培養時間の場合と比較して最高となり

Fig. 4. Changes of the concentrations of radioactive iron in red blood cell, $E S Fe$ and hemin following incubation and reincubation.

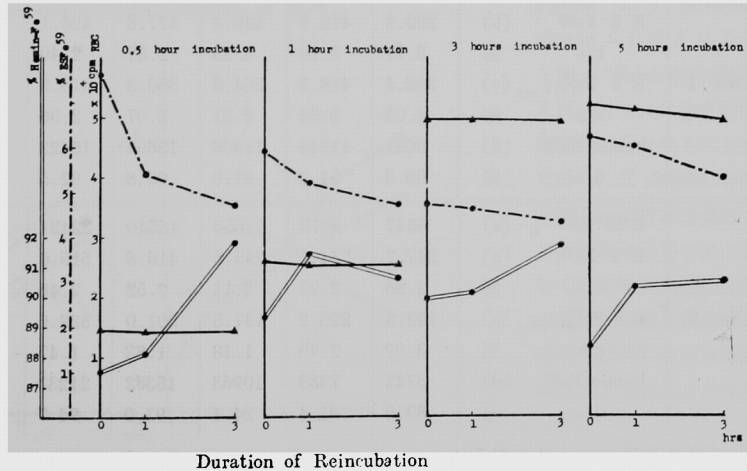
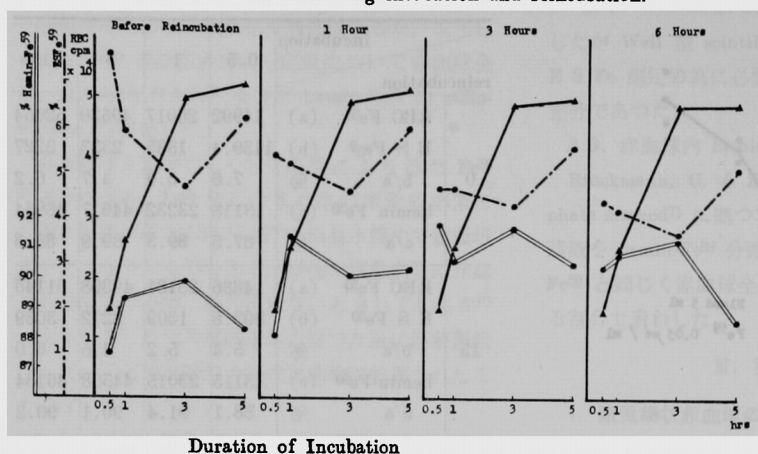


Fig. 5. Changes of the concentrations of radioactive iron in red blood cell, E S Fe and hemin following incubation and reincubation.



調製した Fe⁵⁹ 液を含まぬ家兎血漿中に浮游させ3時間培養をおこない、その前後の E S Fe⁵⁹O₂, E S Fe⁵⁹_{CO+asc} 並びに hemin-Fe⁵⁹ を測定した。その結果は Table 3, Fig. 6 のごとく採血直後の赤血球内 E S Fe⁵⁹ は Fe⁵⁹ 液投与後3時間までは著しく高値だが、血漿置換後の培養により hemin-Fe⁵⁹ の増加するにつれて著明な減少を認めた。又

Fe⁵⁹ 液添加後の hemin 合成前段階と考えられる Fe⁵⁹ は一応3時間の再培養で除外できることを示している。更に興味あることは、いずれの場合も hemin-Fe⁵⁹ の生成におくれて培養5時間目の E S Fe⁵⁹ が増加し、それは hemin-Fe⁵⁹ の減少に一致していることである。

3. 生体内 Fe⁵⁹ 標識幼若赤血球の培養実験

以上の知見を応用し生体内で更に確かめる為に造血貧血家兎の生体内 Fe⁵⁹ 標識幼若赤血球を経時的に採血し、その血漿を洗滌除去して、それぞれ別に

前編で述べた E S Fe⁵⁹_{CO+asc} の値は少くとも Fe⁵⁹ 液投与後1時間以内では E S Fe⁵⁹O₂ と比較して差はなく、CO 及び L-ascorbin 酸もこの時期の E S Fe に対しては全く鉄遊離抑制作用を示さず、Fe⁵⁹ 投与後3時間目からその作用を見せはじめ、48時間にいたつて E S Fe⁵⁹O₂ の 1/3 以下に減少し本来の鉄遊離抑制作用を發揮したことは興味深い。

次に生体から採血後、3時間培養という時間的な開きを補正して培養の前後の測定値を比較検討して

Table 3. (A) E S Fe⁵⁹ and hemin-Fe⁵⁹ in the young red blood cell following intravenous administration of Fe⁵⁹ to rabbit.

Subject		times	0.5	1	3	6	9	12	24	48hrs
No. 1	RBC Fe ⁵⁹ (a)		8916	12988	13196	16945	17752	21627	27771	30612
	E S Fe ⁵⁹ (b)		230.9	412.9	439.4	477.8	426.1	406.6	669.3	658.2
	b/a	%	3.71	3.18	3.33	2.82	2.40	1.88	2.41	2.15
	E S Fe ⁵⁹ _{CO+asc} (c)		358.4	418.2	304.8	350.8	418.9	315.8	299.9	189.8
	c/a	%	4.02	3.22	2.31	2.07	2.36	1.46	1.08	0.62
	hemin-Fe ⁵⁹ (d)		8051	11845	11908	15894	16422	20178	26115	28745
d/a	%	90.3	91.2	91.0	93.8	92.5	93.3	94.0	93.9	
No. 2	RBC Fe ⁵⁹ (a)		6317	8073	11650	16540	22421	26840		
	E S Fe ⁵⁹ (b)		247.7	234.1	245.8	416.8	515.6	445.5		
	b/a	%	3.86	2.90	2.11	2.52	2.46	1.66		
	E S Fe ⁵⁹ _{CO+asc} (c)		193.8	225.2	137.5	301.0	329.6	241.6		
	c/a	%	3.02	2.79	1.18	1.82	1.47	0.90		
	hemin-Fe ⁵⁹ (d)		5743	7383	10963	15382	21233	25498		
d/a	%	89.5	91.4	94.1	93.0	94.7	95.0			

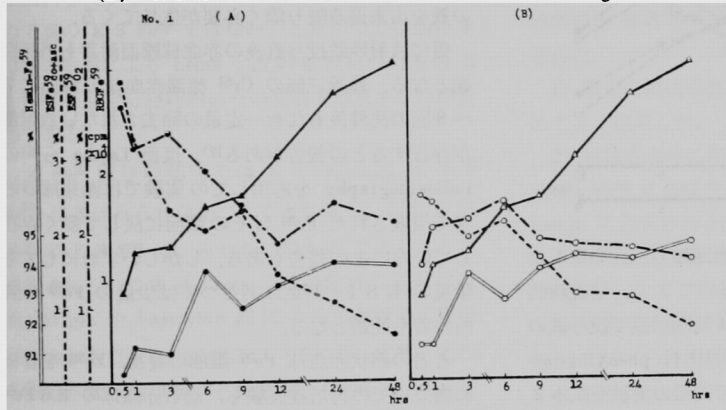
E S Fe⁵⁹_{CO+asc} : E S Fe⁵⁹ in the presence of CO gas adding L-ascorbic acid.

Table 3. (B) Alterations of E S Fe⁵⁹ and hemin-Fe⁵⁹ following incubation.

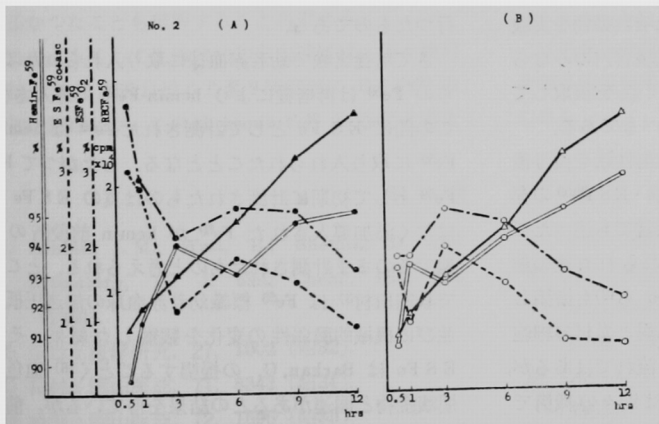
Subject.		times							
		0.5	1	3	6	9	12	24	48hrs
No. 1	RBC Fe ⁵⁹ (a)	8157	11155	12488	16825	17446	21457	27561	30399
	E S Fe ⁵⁹ (b)	129.7	229.8	267.4	387.0	326.2	386.2	485.1	486.4
	b/a %	1.59	2.06	2.14	2.30	1.87	1.80	1.76	1.60
	E S Fe ⁵⁹ _{CO+asc} (c)	203.9	267.7	237.3	363.4	282.6	242.5	305.9	218.9
	c/a %	2.50	2.40	1.90	2.16	1.62	1.13	1.11	0.72
	hemin-Fe ⁵⁹ (d)	7439	10173	11689	14597	16347	20213	25897	28757
d/a %	91.2	91.2	93.6	92.7	93.7	94.2	94.0	94.6	
No. 2	RBC Fe ⁵⁹ (a)	5576	7547	10882	15739	22441	26664		
	E S Fe ⁵⁹ (b)	100.4	136.6	264.4	354.1	350.1	320.0		
	b/a %	1.80	1.81	2.43	2.25	1.56	1.20		
	E S Fe ⁵⁹ _{CO+asc} (c)	93.7	69.4	210.0	232.9	152.6	157.3		
	c/a %	1.66	0.92	1.93	1.48	0.68	0.59		
	hemin-Fe ⁵⁹ (d)	4649	7034	10077	14810	21319	19624		
d/a %	90.5	93.2	92.6	94.1	95.0	96.1			

Fig. 6. (A) E S Fe⁵⁹ and hemin-Fe⁵⁹ following intravenous administration of Fe⁵⁹ to rabbit.

(B) Alterations of E S Fe⁵⁹ and hemin-Fe⁵⁹ following incubation



After Intravenous Administration of Fe⁵⁹



After Intravenous Administration of Fe⁵⁹

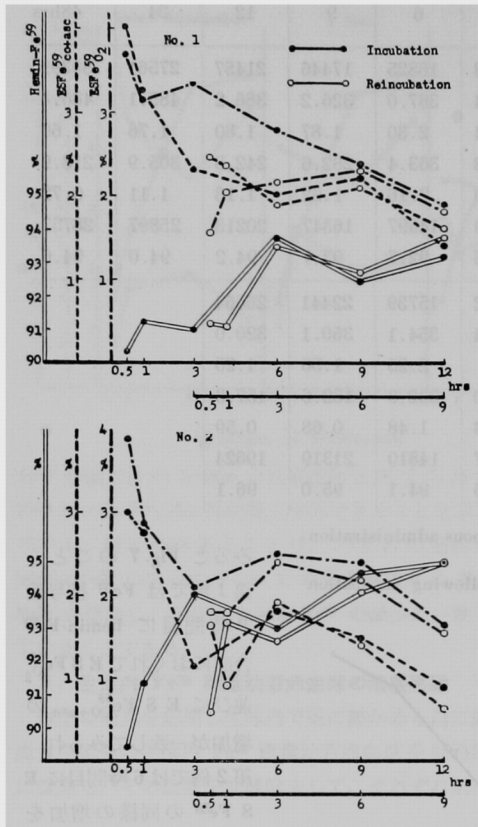
みると Fig. 7 のごとく第 1 例では Fe⁵⁹ 投与後 9 時間目に hemin-Fe⁵⁹ 合成におくれて E S Fe⁵⁹_{O₂} 並びに E S Fe⁵⁹_{CO+asc} の増加が一致してみられ、第 2 例では 6 時間目に E S Fe⁵⁹ の同様の増加を認めた。

IV. 総括並びに考按

London, I. M.⁸⁾ は網状赤血球培養により, N15-glycine より protoporphyrin が合成されるのを認め, Walsh⁹⁾ は鉄挿入面より heme 合成が網状赤血球で行われることを立証し, 又 Jensen¹⁰⁾ が網状赤血球数と培養による鉄摂取が平行すると報じて以来哺乳動物の幼若赤血球における鉄の動態の研究に網状赤血球は恰好の試料とされるようになった。

まず網状赤血球の Fe⁵⁹

Fig. 7. Transitional curves of E S Fe^{59} and hemin- Fe^{59} in the young red blood cell.



摂取で著者は貧血家兎の網赤血球増多性赤血球を用いたが、その Fe^{59} 摂取率は極めてよく、培養時間が長くと幾分低下はするが4時間培養で投与鉄の約13%の鉄摂取を認めた。永井¹¹⁾は phenylhydrazine 貧血犬より得た網赤血球で同様の実験を試み2時間で20%近い鉄摂取率を報告している。これらのことから網赤血球分利を来した哺乳動物を実験に供する場合、その網赤血球は試験管内のみならず生体内でも骨髓或いは末梢血中で鉄を摂取して heme の合成を行っていると考えるべきである。

処で著者は前編で家兎生体内に放射性鉄を投与後まもなくの幼若赤血球中に異常に高い E S Fe^{59} の存在を認めたが、この点については緒言でも述べたごとく幼若赤血球内に Fe^{59} が取り入れられた後の態度が問題となってくる。即ち London ら¹²⁾も指摘しているように色素の細胞内合成過程と素材の細胞膜透過とは表裏一体をなした現象の流れではあるが、生化学的に或いは生物物理学的には別々の機構であることに留意する必要がある。更に Jensen ら¹⁰⁾

は鴨赤血球を Fe^{59} と共に培養すると赤血球内 non-hemoglobin red cell iron¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾にも Fe^{59} が入り、これは全く non enzymatic な拡散によると述べ、中尾⁵⁾は試験管内の鳩赤血球培養実験で赤血球の非液相部に所謂 non heme 鉄が多く存在し培養赤血球を放射性鉄を含まない媒質に再培養した結果より、この非液相部の non heme 鉄は heme 合成に利用され得、又媒質中の鉄濃度と平衡を保ち再び赤血球を離れて培質中に出ることができ、生体内で摂取された Fe^{59} も再培養中に同一傾向の変動を示すことを報告している。又 Lajtha ら¹⁶⁾も人の骨髓穿刺液を Fe^{59} と共に培養した結果、赤芽球、網赤血球のみに Fe^{59} は摂取されて細胞内に蓄積された後に heme 合成に利用されると報告している。つまり投与された鉄は骨髓では比較的幼若な赤芽球に又流血中では網状赤血球に取り入れられて細胞内に蓄積された後に heme 合成に利用されるからには、我々が放射性鉄を利用して新生期の幼若赤血球内 E S Fe を測定するに当つては、これらの heme に合成される前段階の鉄を出来得る限り除く必要が生じてくる。

更に放射性鉄投与直後の赤血球膜面附着も当然問題となる。最近三価の Cs^{51} 標識赤血球の膜面に7~8回の洗滌後もなお一定量の除去されない放射能が存在するとの報告がある¹⁷⁾。反面 Lajtha ら¹⁶⁾の radioautography を応用しての実験では赤芽球の培養で摂取された Fe^{59} はその膜面に決して多く存在していないとの報告もある。しかしいずれにしても微量の E S Fe 測定にあつては少量の Fe^{59} の膜面附着も問題となる。

著者の網状赤血球 Fe^{59} 添加培養後、 Fe^{59} を含まぬ血漿中での再培養実験も、幼若赤血球の E S Fe^{59} 測定に当つて以上の問題点を可及的に解消する為に行つたものである。

さて培養実験で幼若赤血球に取り入れられたばかりの Fe^{59} は再培養により hemin- Fe^{59} に導入され、この間に E S Fe として計測された Fe^{59} は hemin- Fe^{59} に取り入れられたこととなる。したがつて E S Fe^{59} として初期に計測されたものは真の E S Fe ではなく添加導入された Fe^{59} が hemin 前段階の状態でそのまま計測されたものと考えられる。ところで教室田村³⁾は Fe^{59} 標識幼若赤血球の滲透圧抵抗並びに機械的脆弱性の変化を観察した結果、その E S Fe は Barkan, G. の提唱するごとく¹⁸⁾色素崩壊産物と関連があるとの結果を得ているが、前述の所謂みせかけの E S Fe^{59} と、これら色素崩壊

産物に関連ある $ESFe$ とは、おのずから区分さるべきであろう。

次に網状赤血球の培養を5時間続けると、それまで減少を続けていた $ESFe^{59}$ は $hemin-Fe^{59}$ 生成におくれて増加し、それは $hemin-Fe^{59}$ の減少と一致した。このことは試験管内実験でも $hemin-Fe^{59}$ 生成後その一部は崩壊して $ESFe^{59}$ に移行することを示すものであり、最近永井ら²²⁾も網状赤血球分利期には網状赤血球を含めて短命な赤血球が生産されることを報告している。これらの事実から試験管内の培養成績がそのまま生理的とはいえないまでも少くともそれに近い動きを示していることを生体内 Fe^{59} 標識赤血球の培養実験で確かめた。即ち試験管内培養実験の場合程著明ではないが Fe^{59} 液投与後の30分、1時間後の $ESFe^{59}$ は血漿置換培養後では著明な減少を示した。これは赤血球全鉄の変動から考えて一部は赤血球膜の付着等 $heme$ に利用されない Fe^{59} の存在の為、又大部分は赤血球内に取り込み直後の Fe^{59} でやがて $hemin$ 生成に取り入れられるものが $ESFe^{59}$ として抽出されたもので真の $ESFe^{59}$ ではない。したがって採血後3時間の培養により $heme$ 合成のほぼ終った後の $ESFe^{59}$ を測定し経時的にその変動を追求するのが妥当である。

又 Fe^{59} 投与の初期では $ESFe^{59}_{CO+nsc}$ と $ESFe^{59}_{O_2}$ に差はみられなかつたことから、これらの時期の $ESFe^{59}$ は、みせかけのものであることが推測される。つまり $heme$ 合成前段階の鉄には当然 CO gas や L -ascorbin 酸による鉄遊離阻止作用はないからであり、前編において幼若、成熟、老朽、各期の赤血球内 $ESFe^{59}$ を検討した結果、幼若期赤血球の $ESFe^{59}$ に CO gas, L -ascorbin 酸の影響が少かつたことも理解することができる。

このようにして生体内幼若赤血球には、種々検討の結果 Fe^{59} 液投与後6乃至9時間頃に $ESFe^{59}$ の増加を認めたが、これは $hemin-Fe^{59}$ の態度と考え

あわせした場合赤血球内で $heme$ の生成が起り、ついでその一部は速やかに崩壊して $ESFe$ に移行し、その増加となつて現われたものと解釈される。

近年 London ら¹⁾をはじめ諸家の実験¹⁹⁾²⁰⁾より成熟赤血球を経過しない胆汁色素生成経路の存在が明らかになり、教室中川⁴⁾も網状赤血球増多を惹起した家兎赤血球内では $protoporphyrin$ の一部が速やかに $bile$ pigment precursors に移行することを認めているが渡辺ら²¹⁾はその生成経路の一部に次の場合を挙げている。

- 1) 新生赤血球が直ちに骨髄で、或いは骨髄から循環血に入つて間もなく破壊される場合
- 2) $myoglobin$ 及び呼吸 $heme$ から生成する場合
著者も幼若赤血球内 $ESFe$ の観点から検討を加え、 $heme$ 形成後の破壊の存在を肯定する。

V 結 論

家兎網状赤血球分利期の赤血球に放射性鉄を添加培養し、更に再培養を試みて $hemin-Fe^{59}$, $ESFe^{59}$ の態度を検討し、あわせて放射性鉄投与初期の幼若赤血球内 $ESFe^{59}$ の消長について観察し次の結論を得た。

- 1) 家兎の網状赤血球は試験管内培養で Fe^{59} を極めてよく摂取した。
- 2) 網状赤血球に取り入れられた Fe^{59} は急速に $hemin-Fe^{59}$ に合成されるのを認めたが、この際 $hemin$ に合成される前段階の Fe^{59} は、みせかけの $ESFe^{59}$ として抽出され、したがって真の $ESFe$ ではない。
- 3) 試験管内実験でも網状赤血球の5時間培養で $hemin-Fe^{59}$ の合成後 $ESFe^{59}$ の増加をみた。
- 4) 生体内において新生赤血球生成後6乃至9時間に色素崩壊に由来する $ESFe^{59}$ の増量を認めた。

(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) London, I. M., West, R., Shemin, D. and Rittenberg, D.: J. biol. Chem., 184, 351 (1950).
- 2) 川口: 医学研究, 27, 1002 (昭32).
- 3) 田村: 岡山医誌, 71, 8343 (昭34).
- 4) 中川: 岡山医誌, 72, 1695 (昭35).
- 5) 中尾: 最新医学, 11, 129 (昭31).
- 6) 上野: 日医新報, No. 1686, 105 (昭31).
- 7) Brückmann, G. and Zondek, S. G.: J. biol. Chem., 135, 23 (1940).
- 8) London, I. M.: J. biol. Chem., 183, 749 (1950).

- 9) Walsh, R. J., Thomas, E. D., Chow, S. K., Fluharty, R. G. and Finch, C. A.: *Science*, **110**, 396 (1949).
- 10) Jensen, W. N., Ashenbrucker, H., Cartwright, G. E. and Wintrobe, M. M.: *J. Lab. Clin. Med.*, **42**, 833 (1953).
- 11) 永井輝夫：“血色素の生理と臨床”，医学書院，(昭33年)，P 374.
- 12) London, I. M. and Yamazaki, M.: *Fed. Proc.*, **11**, 250 (1952).
- 13) Burmester, B. R.: *Folia hemat.*, **56**, 372 (1937).
- 14) Rostorfer, H. H.: *J. biol. Chem.*, **180**, 901 (1949).
- 15) Schultz, M. O. and Elvehjem, C. A.: *J. biol. Chem.*, **105**, 253 (1934).
- 16) Lajtha, L. G. and Suit, H. D.: *Brit. J. Haematol.*, **1**, 55 (1955).
- 17) 湖山：日内会誌，**48**, 146 (昭34).
- 18) Barkan, G. and Schales. O.: *Z. physiol. Chem.*, **248**, 96 (1937).
- 19) Gray, C. H., Neuberger, A. and Sneath, P. H. A.: *Biochem. J.*, **45**, XVI (1949).
- 20) Gray, C. H. and Neuberger, A.: *Biochem. J.*, **47**, 87 (1950).
- 21) 渡辺，布施：日医新報，*No.* 1664, 17 (1959).
- 22) 永井清保：第16回日本医学総会，講演要旨，P 275 (昭38).

Studies on Easily Split Off Blood Iron by Radioactive Iron

Part 2. The Significances of Easily Split Off Blood Iron in the Immature Erythrocyte

By

Hiroshi TABUCHI

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director · Prof. Kiyowo Kosaka)

Fe^{59} -radioactivities in the both hemin iron fraction (Hemin- Fe^{59}) and easily split off iron fraction (E S Fe^{59}) of the rabbit erythrocytes obtained in reticulocytosis were determined respectively after incubating them with Fe^{59} in vitro. On the other hand, immature rabbit erythrocytes labeled with Fe^{59} in vivo were incubated in nonradioactive medium, and the same determinations as the above were carried out. The following results were obtained.

- I. Reticulocytes of rabbit uptook considerably Fe^{59} during incubation in vitro.
2. Fe^{59} uptaken in reticulocyte were quickly utilized to the synthesis of hemin. However, Fe^{59} at preceding stage of the synthesis were found to be extracted as false easily split off iron.
3. With the incubation of reticulocytes for 5 hours in vitro, the E S Fe^{59} increased after the synthesis of hemin- Fe^{59} .
4. In vivo, the E S Fe^{59} increased in new formed labeled erythrocytes at 6 to 9 hours after intravenous administration of Fe^{59} , originating from hemoglobin break-down at that stage.