

骨髄機能と鉄代謝に関する研究

第一編

骨髄機能の変化に対する貯蔵鉄の動態について

(本論文の要旨は第18回日本血液学会総会において発表した)

岡山大学医学部平木内科 (主任: 平木 潔教授)

副手 塩 見 文 俊

〔昭和33年5月8日受稿〕

内 容 目 次

第1章 緒 言	第2節 瀉血貧血家兎
第2章 実験材料並に実験方法	第3節 レ線照射家兎
第1節 実験材料	第4節 瀉血後レ線照射した家兎
第2節 実験方法	第5節 コラルゴール貧血家兎
第3章 実験成績	第4章 総括並に考按
第1節 正常家兎	第5章 結 論

第1章 緒 言

鉄は血色素の重要な構成要素であつて、生体のエネルギーの根源である酸化作用に関与している事は周知の事実である。従来、生体内の鉄はヘミン鉄及び非ヘミン鉄の二者に大別されており、前者は血色素をはじめチトクローム、ミオグロビン、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ等、化学的にはいづれも鉄ポルフィリンの形をもち、酸化還元その他の細胞の生命機序と直接関係ある酵素の役割を果している。一方非ヘミン鉄は物理化学的に血清鉄、フェリチン、ヘモジデリン等に分けられているが、構造、性質、機能いづれもまだ完全に解明されたとはいえない段階にある。鉄代謝の各方面において劃期的な業績を挙げている Granick¹⁾ は非ヘミン鉄を顕微鏡下に認め得る鉄顆粒即ちヘモジデリンと、コロイド状の鉄化合物即ちフェリチンと、単純蛋白鉄結合体の三者に分けている。ヘモジデリンは古く1800年代にその特異な prussian blue 反応により発見され²⁾、ヘモグロビンの急速な破壊に際して骨髄、肝及び脾に現われる事が報告されたが、近年 Coak³⁾ や Ascher⁴⁾ は馬の脾より得たヘモジデリンを分析して、水酸化鉄と少量の磷やカルシウムを含んだ複合蛋白質であ

るとし、Granick¹⁾ は鉄8.2%、窒素12.9%、磷1.6%、鉄の受磁率 3.8 B. M. と報告している。次にフェリチンは Laufberger⁵⁾ によつて最初に結晶として取り出され、以後多数の研究が相ついで起り、漸くその性質が解明されようとしている。これは大体 $[(\text{FeOOH})_8 \cdot (\text{FeOPH}_3\text{H}_2)]$ の形の鉄ミツチェレに特定の蛋白(アポフェリチン)の結合したものであつて、硫酸カドミウムにより結晶を生ずる特性がある¹⁾。最近非結晶性フェリチンの存在が説かれているが、これは蛋白部分の性状が幾分変化したものらしい。他方フェリチンに関しては、Shorr 等により V. D. M. (血管拡張因子)作用⁶⁾ 並びに抗利尿作用⁷⁾ が報告されているが、フェリチン本来の意義が鉄貯蔵にある事は明かである。次に第三の鉄として Granick¹⁾ の挙げている "diffuse tissue iron" あるいは "monomolecularly dispersed iron compounds" は未だその構造、性質共に明かでないが、彼は従来度々報告されている核蛋白と結合した鉄¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ をもつてこれに当てているようである。

一方、造血の場である骨髄については従来主に穿刺液塗抹標本あるいは切片標本による細胞形態学的研究が行われて来たが、近年次に述べる二つの研究方法によつて多数の新知見が得られるようになった。

その一つは骨髓組織培養法であつて、これは 更に被覆培養法と液体培養法に大別され、前者は骨髓細胞の増生、運動形態、ひいては血液疾患における骨髓細胞の病態生理を形態学的に究明し、後者は主として骨髓細胞の物質代謝面を究明する手段を提供している。今一つの研究方法は放射性同位元素の血液学への応用であつて、 N^{15} 、 C^{14} によるポルフィリン環の合成機転に関する研究⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾、更に Fe^{55} 、 Fe^{59} によるヘム合成機転に関する研究⁽⁵⁹⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾ 等、数多くの成果をあげている。

当教室においては、はやくより骨髓の解剖、生理について多数の報告がなされ、近時骨髓培養法の完成⁽¹⁴⁾ によつて骨髓の研究乃至血液疾患の病態生理の解明に少なからぬ貢献をなしている。一方、教室の米谷⁽¹⁵⁾、水田⁽¹⁶⁾、中塚⁽¹⁷⁾ 等は血清鉄及び臓器鉄の面から各種血液疾患における鉄代謝を追究して多数の興味ある知見を得た。この度、著者は放射性鉄を用いる機会を得て、教室の骨髓研究の一環として貯蔵鉄と骨髓機能の関係を追求すべく、一連の実験を試みたのでその結果を報告する。

因みに、鉄は腸管よりの吸収以後、体内での移動、貯蔵、ヘミン鉄への合成、破壊、再利用等すべて緊密な関係にあるため、貯蔵鉄を中心に、可及的多方面より観察を行うよう努力した。

第2章 実験材料並に実験方法

第1節 実験材料

実験動物： 体重2 kg 前後の白色雄性家兎について血液像の正常範囲のものを選び実験に供した。骨髓機能を変化せしめる処置については次章の各項に述べる。

放射性鉄： 半減期2.9年、K電子捕獲で低エネルギーの γ 線のみを発する Fe^{55} を使用した。原液は $Fe^{55} Cl_3$ の塩酸溶液であるが、微量に混在する CO^{60} を除くため Vosburgh⁽¹⁸⁾ に従つて次のように精製した。即ち原液に少量の非放射性塩化コバルトを添加し、濃硝酸を加えて蒸発乾固した後、8N 塩酸に溶解、次いで isopropyl ether で抽出した後、0.1N 塩酸に移行せしめた。

次に静注用の鉄剤として、以下述べるような条件をみたすものを調製した。即ち1 cc 中に Fe 0.1 mg を含み、放射能は Fe 1 μ 当り1分間の計数値1200 (1200 cpm/ γ)、pH ほぼ7.0のクエン酸鉄アンモニウム液である。まづ上述の放射性鉄の原液 ($Fe^{55} Cl_3$) の一定量を取り、o-phenanthroline にて呈色

せしめて鉄量を測定し、後述の方法で灰化、鍍金して計数値を求める。計算量によつて非活性の塩化第二鉄を加えて1200 cpm/ γ とする。その後 Peacock⁽¹⁹⁾ の法に従つてクエン酸鉄アンモニウムとした。即ち上述の放射性塩化第二鉄液にアンモニアを加え、 $Fe^{55} (OH)_3$ の褐色沈澱を得る。これを蒸溜水で遠沈洗滌した後、当量のクエン酸を加え、 Fe 0.1 mg 当り1 cc となるよう、蒸溜水で稀釈する。このようにして得た静注用の放射性鉄液は家兎に特異な反応を起す事なく静注し得る。

第2節 実験方法

放射性鉄液静注後、経時的に血液一定量を採取して血漿及び赤血球中の放射性鉄量の変動を観察し、一定時間後生体灌流を行つて屠殺した家兎の骨髓、肝、脾及び腎について米山・紺野氏法⁽²⁰⁾ で非ヘミン鉄分割を行い、その総鉄量及び放射性鉄活性度を測定して、その分割相互の関係、時間的推移を種々の骨髓状態について観察した。次に主な実験操作について述べる。

1) 血漿及び赤血球中の放射性鉄量

実験家兎の耳静脈より血液約5 cc を二重蔴酸塩少量を入れた試験管に採取し、ヘマトクリット値を測定、他方血漿及び生理的食塩水で3回遠沈洗滌した赤血球を各1 cc とり、その放射能を測定した(灰化、鍍金及び放射能測定については別に一括して述べる)。血漿及び赤血球の総量は Balfour⁽²¹⁾ に従つて

$$\text{赤血球総量} = \text{体重(kg)} \times 80 \times Ht(\text{静脈血}) \times 0.75$$

$$\text{血漿総量} = \text{体重(kg)} \times 80 \times (1 - Ht) \times 0.75$$

として算出し、静注した放射性鉄に対する血漿及び赤血球中の放射性鉄の百分率を求めた。

2) 生体灌流

Copp & Greenberg⁽²²⁾ の法に準拠して行つた。まづ実験家兎に10%ウレタン、pro kg 5 cc 皮下注射して全身麻酔を施した後、腹腔を開いて下空静脈を露出し、腎静脈注入部以下で結紮した後、その頭側を切開して速かに口径約1 mm の硝子カニューレを挿入結紮して40°C に温めた温血動物用リングル氏液を注入する。ついでカニューレ挿入部より尾側で下空静脈に切を入れ、注入するリングル氏液とほぼ同じ速度で流血せしめる。このようにしてリングル氏液750~1000 cc、約20分間灌流すれば心臓、門脈は透明な液で満たされ、流出する液は水様透明となり、最終ヘモグロビン量は1/100以下となる。

3) 臓器非ヘミン鉄分劃法

生体灌流完了後、肝、骨髄、脾及び腎の一定量を取り、米山・紺野氏法²⁰⁾に拠つてその非ヘミン鉄を4分割に分けた。即ち臓器片に生理的食塩水を加えて細挫し、80°C 10分間加熱した後遠心沈澱して得た沈澱を2度生理的食塩水で遠沈洗滌する。かくして得た沈澱をPIとし、上清及び洗滌した生理的食塩水を合せてSIと呼ぶ。SIを100°C 30分間加熱、遠沈して生ずる沈澱をP II、上清をS IIとする。更にS IIにpH 4.0の酢酸緩衝液を加えて100°C 30分間加熱後遠沈して生ずる沈澱をP III、上清をS IIIとする。各沈澱よりその非ヘミン鉄を抽出する方法はBrückmann, Zondekのhot pyrophosphate method²³⁾に拠り、10%三塩化酢酸と4%ピロリン酸ソーダの等量混合液を加えて100°C 30分間加熱抽出した後遠沈して上清を分離し、更に沈澱を上記混合液で2回遠沈洗滌して上清を集めた。因みにPIはその操作から考えても恐らくヘモジデリン鉄であり、P IIについては米山、紺野はフェリチン鉄そのものである事を確認している。

4) 非ヘミン鉄定量法

上記非ヘミン鉄抽出液を、フェノールフタレインを指示薬としてアンモニアで中和した後、酢酸緩衝液を用いてpH 4.7とし、チオグリコール酸1滴、0.1% o-phenanthroline 1ccを加えて発色せしめ、全量25ccに稀釈して日立製光電比色計によつて比色定量した。

5) 灰化法及び鍍金法

i) 血漿及び赤血球

Peacock¹⁹⁾の法に準拠した。即ち試料をキエルダールコルペンにとり、carrierとして2~3mgの非活性鉄を加え(赤血球粥1ccは約1mgの鉄を含む)、濃硫酸3ccと濃硝酸適量と共に3~5時間加熱した後、60%過クロール酸数滴を滴下し、更に1時間加熱して灰化を完了する。この際灰化液は無色乃至淡黄色透明となつた。次に灰化液を50cc容の遠心沈澱管に0.1N硫酸で洗い移し、総鉄量が5mgとなるよう、更にcarrierを加える。これに強アンモニア水を少量づつ加えて攪拌し、中和して水酸化第二鉄の沈澱を生じてから30分間放置して沈澱の析出を完全にした後、遠沈して上清を静かに除去する。沈澱した水酸化第二鉄に3M硫酸0.5ccを加えて溶解し、更に飽和蓚酸アンモニウム液20ccを加えて蓚酸鉄アンモニウムとして、これを表面平滑、清浄な銅板の底(陰極)をもつ神戸工業製鍍金

槽に移し、セレン整流器を用いた直流電源で10V、200~400mA、4~5時間通電して電気鍍金する。この方法による鍍金能率は98%以上である。

ii) 非ヘミン鉄抽出液

Vosburgh¹⁸⁾も指摘しているように、磷酸塩を多量に含む組織では、硫酸を用いる湿性灰化法は非常に困難で、又十分成果をあげる事が出来ない。特に非ヘミン液の抽出に際しては多量のピロリン酸ソーダを用いるため、灰化、鍍金共に前記の方法では全く不可能であつた。しかし一方抽出液中には有機物が僅少であるという灰化に対する利点があるので、Copp, Greenberg²²⁾及びVosburgh¹⁸⁾の法を多少変更して次のような方法を用いた。即ちバイレックスピーカーに抽出液を入れ、carrier(硝酸第二鉄0.1N硝酸溶液)を加えて鉄の総量を5mgとした後、濃硝酸を加えて加熱し、蒸発乾固する。冷却後再び濃硝酸を加えて加熱を繰り返えし、6~24時間、濃硝酸10~50ccでスピーカーの底に無色透明乃至白亜色の結晶状の残渣を得る。

次に残渣に濃塩酸3ccを加え、弱く加熱して酸化第二鉄を塩化第二鉄に変えつゝ余剰の塩酸を蒸発させる(この際、ピロリン酸塩は加水分解されて水溶性の磷酸塩となる¹⁸⁾)。ついで残渣を再び8N塩酸3ccに溶解して分液漏斗に移し、エチルエーテルで2回塩化第二鉄を抽出し、更にエチルエーテルより飽和蓚酸アンモニウム液20ccに鉄を移行させて鍍金槽に移し、前述の方法で鍍金する。

等量の放射性鉄で上述の二方法を比較した所、そのrecoveryに殆んど差が認められなかつた。

6) 放射能の測定

神戸工業製 Geiger-Müller 計数器 No. 132を用いた。計測時間はすべて3分間としてcpmで表わした。

第3章 実験成績

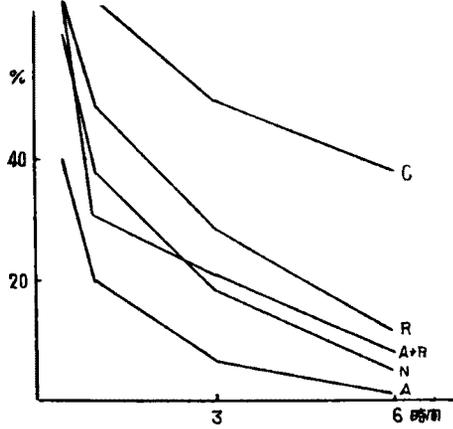
第1節 正常家兎

1) 静注した放射性鉄の血漿からの消失、赤血球への出現(第1, 2図)

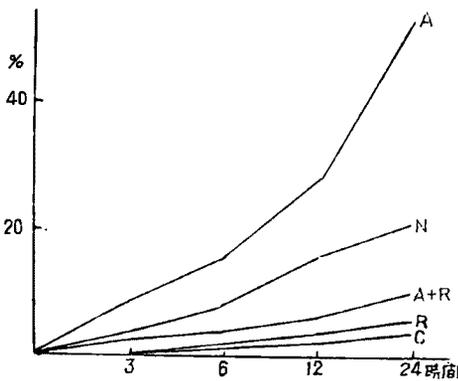
前述の静注用放射性鉄液をpro kg 4cc静注して血漿及び赤血球中の濃度の変化を観察した。静注後30分、すでに約40%は血漿中より消失し、3時間では20%以下となり、12時間後には殆んど完全に消失した。

赤血球中には静注後3時間でわづかに出現し、

第1図 静注放射性鉄の血漿内濃度
正常(N), 瀉血(A), レ線照射(R), 瀉血後レ線照射(A+R), コラルゴール貧血(C)の比較(各3例平均)



第2図 静注放射性鉄の赤血球内濃度
正常(N), 瀉血(A), レ線照射(R), 瀉血後レ線照射(A+R), コラルゴール貧血(C)の比較(各3例平均)



24時間後、約20%が赤血球中に出現した。ほぼ飽和に達するのは60時間後であつて、約40%が出現した。

2) 静注3時間後の貯蔵鉄中の分布(第1表)
骨髄, 肝, 脾及び腎の非ヘミン鉄を米山・紺野氏法で4分割に分ち, それぞれの計数值(cpm)及び総鉄量(γ/g)を求め, 更に比放射能(cpm/ γ)を算出した。

各臓器の単位重量当り放射性鉄摂取量(この場合計数值)を比較すると, 骨髄に圧倒的に多く, ついで脾, 肝, 腎の順になつた。各分割相互の関係を見れば, P I 及び P II に特に多く, この両分割内にはほぼ同量の放射性鉄が分布している。次に比放射能では, 骨髄の P I, P II が特に大であつた。

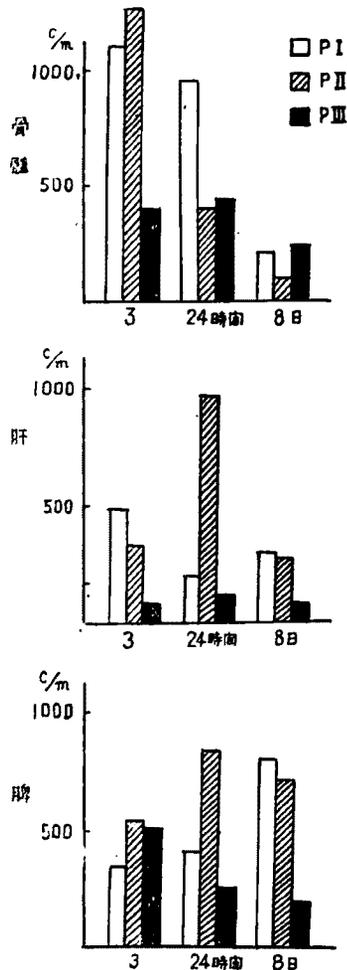
3) 貯蔵鉄の移動(第3図)

骨髄では静注3時間後より24時間にかけて P II

第1表 放射性鉄静注後3時間の臓器内分布 正常家兔

		P I	P II	P III	S III
一瓦計数値	骨 髄	1090	1275	408	510
	肝	495	331	72	9
	脾	340	552	515	47
	腎	197	71	59	17
一総瓦鉄当量(γ)	骨 髄	28	35	31	11
	肝	52	59	13	2
	脾	54	71	18	4
	腎	24	7	9	1
比放射能	骨 髄	38.9	36.4	13.1	46.4
	肝	9.5	5.6	5.5	4.5
	脾	6.3	7.8	28.6	11.8
	腎	8.2	10.1	6.6	17.0

第3図 貯蔵鉄中の Fe⁵⁵ の消長 正常家兔(各3例平均)



の著明な減少が見られる。24時間以後はP Iの減少が著明である。肝、脾のP IIは24時間まで増加し、その後減少するが、肝P Iは8日目まで減少は著明でなく、脾P Iはむしろ増加の傾向を示している。この他、正常家兎ではP IIIの変動が著明でない事が一つの特長である。

以下各種の処置をほどこした家兎について正常家兎と対比しつつその特長を述べる。

第2節 瀉血家兎

pro kg 20 cc 1回、心臓穿刺によつて瀉血した後3日間放置した家兎を使用した。

1) 静注した放射性鉄の血漿からの消失、赤血球への出現(第1, 2図)

静注30分後、血漿中の濃度は40%に減少、以後急激に減少し、赤血球中には3時間後すでに約10%が出現しており、いづれもその速度は正常家兎に比較して2~3倍となつている。

2) 静注3時間後の貯蔵鉄中の分布(第2表)

瀉血後3日、各臓器の貯蔵鉄の減少はまだ著明でなく、わづかに骨髓P IIIの減少が目立っている。

第2表 放射性鉄静注後3時間の臓器内分布 瀉血家兎

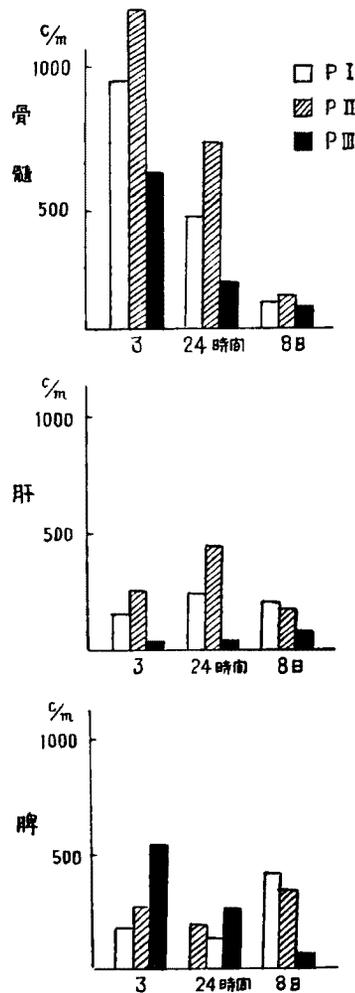
		P I	P II	P III	S III
一瓦当二分値	骨 髓	1470	2440	300	446
	肝	102	284	21	13
	脾	76	155	100	36
	腎	17	93	0	27
一総瓦鉄当量(γ)	骨 髓	30	67	10	8
	肝	56	63	3	13
	脾	38	43	40	8
	腎	20	9	7	5
比放射能	骨 髓	49.0	36.4	30.0	55.8
	肝	1.8	4.5	7.0	1.0
	脾	2.0	3.6	2.5	4.5
	腎	0.9	10.3	0	5.4

各臓器の放射性鉄摂取量は正常家兎に比較して骨髓にやや多く、そのため比放射能は骨髓、とくにP IIIが著しく大となつている。一方、肝、脾は鉄摂取量が低いため、比放射能が著しく低値を示している。

3) 貯蔵鉄の移動

3時間以後、骨髓は正常家兎に比してP IIIの減少がやや大きい、その他には、大差は認められない。肝、脾は前述のように摂取鉄量が少く、3時間以後

第4図 貯蔵鉄中のFe⁵⁵の消長 瀉血家兎(各3例平均)



の増減も一定の傾向を見出し難い。

第3節 X線照射家兎

正常家兎にX線照射を行い、骨髓造血機能を抑制した。X線装置は東芝KXC17型を使用し、照射条件は管電圧180K. V. P., 管電流3 mA, 濾過板0.5mmCu + 1.0mmAl, 照射距離40cm, 毎分15γとして500γ全身照射した後、24時間放置した家兎を使用した。

1) 静注した放射性鉄の血漿からの消失、赤血球への出現(第1, 2図)

血漿からの消失速度は正常家兎に比してやや劣る程度であるが、赤血球への出現は著明に遅延し、24時間後の出現率は正常家兎の1/4にすぎない。

2) 静注3時間後の貯蔵鉄中の分布 (第3表)

臓器総鉄量は正常家兎と大差ない。放射性鉄摂取量は肝、腎では正常家兎と大差はないが、骨髓、脾においては著しく少い、特に骨髓 P I, P II が少ないため、この二分劃の比放射能が低値をとつている。

第3表 放射性鉄静注後3時間の臓器内分布 レ線照射家兎

		P I	P II	P III	S III
一瓦計 数値 一分値	骨 髓	328	130	131	216
	肝	413	251	50	98
	脾	213	51	71	81
	腎	202	96	69	70
一総 瓦鉄 当量 (γ)	骨 髓	40	33	39	46
	肝	36	44	6	25
	脾	41	14	79	14
	腎	20	11	14	6
比 放射 能	骨 髓	8.2	3.9	3.4	4.7
	肝	11.5	5.7	8.3	3.9
	脾	5.2	3.6	0.9	5.8
	腎	10.1	8.7	4.9	11.7

3) 貯蔵鉄の移動 (第5図)

一見して正常家兎の場合と非常に異つた傾向が認められる。即ち骨髓、脾の P III の変動が著しく、骨髓 P II が終始低値を示している。肝では24時間後三分劃いづれも同程度に増加し、8日後には P III, P I に減少の傾向がみられるが、P II は殆んど変化がない。

第4節 瀉血後レ線照射した家兎

pro kg 20 cc 1回大量瀉血して3日後、前述の条件で 500 r 照射し、24時間放置した後放射性鉄液を静注した。

1) 静注した放射性鉄の血漿からの消失、赤血球への出現 (第1, 2図)

レ線照射のみの場合と異り、血漿からの消失速度は比較的大きい。一方、赤血球中への出現は遅延し、レ線照射家兎とはほぼ同様の経過を辿る。

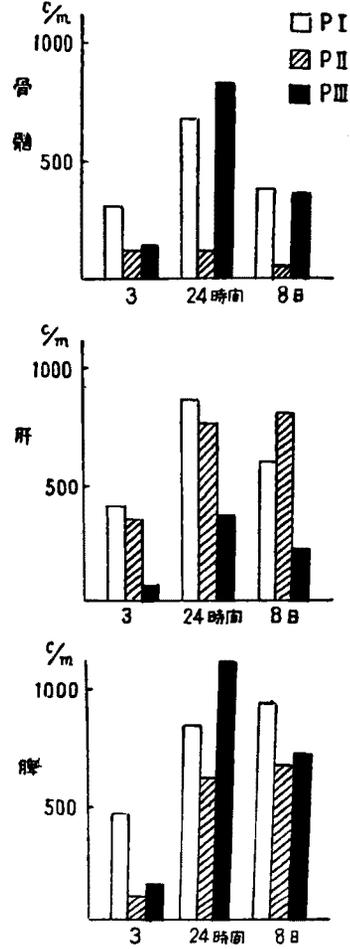
2) 静注3時間後の貯蔵鉄中の分布 (第4表)

骨髓の放射性鉄摂取量は比較的大きく、一般に瀉血家兎に類似の分布を示している。即ち骨髓 P III の比放射能が大である。

3) 貯蔵鉄の移動 (第6図)

骨髓、脾では24時間後 P III が著増、8日後には減少している。骨髓 P I, P II はレ線照射のみの場

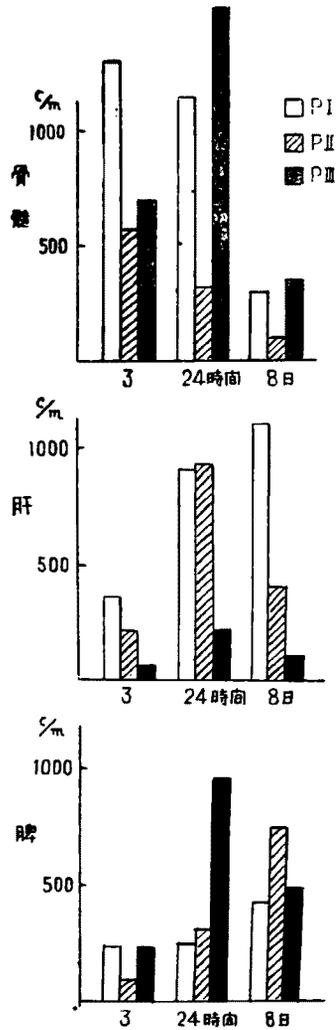
第5図 貯蔵鉄中の ^{59}Fe の消長 レ線照射家兎 (各3例平均)



第4表 放射性鉄静注後3時間の臓器内分布 瀉血後レ線照射家兎

		P I	P II	P III	S III
一瓦計 数値 一分値	骨 髓	1495	949	282	145
	肝	124	98	19	31
	脾	64	27	54	26
	腎	211	33	87	62
一総 瓦鉄 当量 (γ)	骨 髓	27	34	10	6
	肝	51	38	5	19
	脾	72	79	79	9
	腎	36	14	15	6
比 放射 能	骨 髓	55.4	27.9	28.2	24.2
	肝	2.4	2.6	3.8	1.6
	脾	0.9	0.3	0.7	2.9
	腎	5.9	2.4	5.8	10.3

第6図 貯蔵鉄中のFe⁵⁵の消長 瀉血後レ線照射家兎(各3例平均)



合と比較するとやや多いが、全体の傾向がレ線照射家兎に類似しているという事が出来る。

第5節 コラルゴール貧血家兎

コラルゴール1%生理的食塩水溶液を pro kg 2 cc, 14日間毎日静注して貧血を起した家兎を使用した。

1) 静注した放射性鉄の血漿からの消失, 赤血球への出現 (第1, 2図)

いずれも著しい遅延が認められる。レ線照射家兎に比して、特に血漿からの消失が非常に遅くなっている。

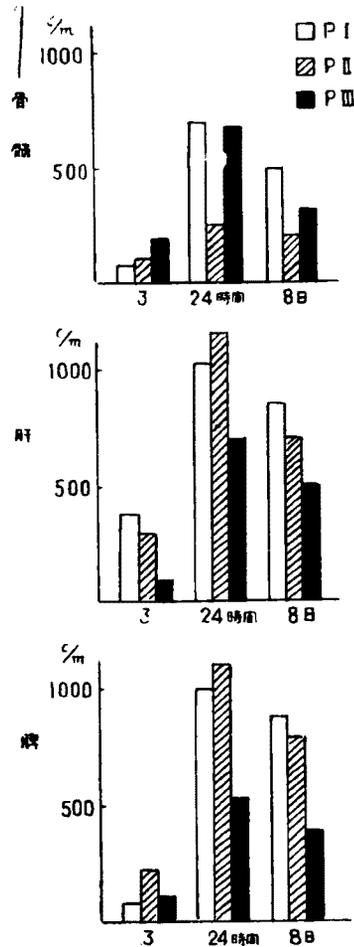
2) 静注3時間後の貯蔵鉄中の分布 (第5表)

各臓器の静注鉄摂取はまだ十分でなく、特に骨髓

第5表 放射性鉄静注後3時間の臓器内分布 コラルゴール貧血家兎

		P I	P II	P III	S III
一 間 計 数 値	骨 髓	65	93	82	46
	肝	400	280	70	4
	脾	38	115	8	29
	腎	20	0	28	78
一 総 瓦 当 量 (γ)	骨 髓	50	16	37	12
	肝	43	35	14	3
	脾	76	82	42	16
	腎	33	16	14	12
比 放 射 能	骨 髓	1.3	5.8	2.2	3.8
	肝	9.3	8.0	5.0	1.3
	脾	0.5	1.4	0.2	1.8
	腎	0.6	0	2.0	6.5

第7図 貯蔵鉄中のFe⁵⁵の消長 コラルゴール貧血家兎



において著しく少い。比放射能では肝は比較的正常家兎に近いが、他の臓器では全般的に著しい低値を示している。

3) 貯蔵鉄の移動 (第7図)

各臓器共24時間でPⅢが増加する点、かなり特長的であつて、全体としてレ線照射家兎によく似た変動を見せている。

第4章 総括並に考按

経口的に摂取された鉄は主に胃及び十二指腸上部から吸収される²⁴⁾。この際、鉄はまづ二価に還元されて消化管の粘膜細胞内にとり入れられ、Granick²⁵⁾の所謂 Mucosal block を形成し、これによつて鉄の吸収が生物学的に調節され、体内の需要に応じた摂取が行われるものと一般に解されている。次に腸管の粘膜より血流に入った鉄は血清中の β_1 -globulin と結合し (Siderophilin)、造血臓器あるいは肝臓臓器に運搬される。従つて鉄代謝の研究に当つては経口投与を撰ぶのが最も自然である。しかし吸収以後の鉄の代謝を観察するためには必ずしも経口投与にのみ頼る必要はない。その理由としては、1) 鉄結合能以内で静注された鉄と腸管より吸収された鉄とはその分布、利用に殆んど差がない²⁶⁾、2) 経口吸収では消化管内容により吸収に差が生じ易く、体内での量的な比較が困難となる、3) 経口吸収では腸管での吸収量が投与量に比して僅少であるため、実験の目的より見て非能率的である等が挙げられよう。更に Hahn²⁷⁾ は静注したクエン酸鉄アンモン (5 不対電子) が容易にフェリチン (3 不対電子が特長) に変わり得る事を証明している。そこで私は鉄剤として実験材料の項で述べたような条件を充たすクエン酸鉄アンモンを撰び、投与方法として静注を採つた。

次に臓器非ヘミン鉄の定量法であるが、これは Granick のフェリチンの半定量法²⁸⁾ にはじまつて、その後フェリチン、ヘモジデリン等の物理化学的性質を利用して各種の定量法が試みられており²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾、又最近 Wöhler³²⁾ 等は濾紙電気泳動法によつて非ヘミン鉄の分割を試み、優秀な成績を挙げている。さきに教室の水田¹⁶⁾、中塚¹⁷⁾ 等は種々の骨髄状態に於ける鉄代謝を究明するため米山・紺野氏法で各種臓器の非ヘミン鉄分割を試み、PⅢが造血機能低下に伴つて貯溜する事を報告した。そこで私はこの点について更に追究の歩を進めるため、分割法は米山、紺野氏法²⁰⁾を採つた。

以下先人の業績を参照しつつ、実験成績の各項に検討を加え、最後に全実験を通じての考按を行う。

1) 正常家兎 鉄結合能以内で静注された放射性鉄は急峻なカーブを描いて血漿中より消失してゆく。静注3時間後、血漿中の放射性鉄量は20%以下になるが、この時間では未だ赤血球中には出現していない。即ちこの時期には静注された鉄は血漿中を廻ばれて一応組織に沈着し、来るべき利用に備えている状態と考えられる。この時期の臓器非ヘミン鉄を分割して放射性鉄量を測定すると、骨髄に圧倒的に多く、更に分割相互の量的関係を見ると P I, P II に多い。従つて骨髄の P I, P II が他の臓器分割に比して著しく多量の鉄を摂取している。

さきに藤岡³³⁾ は pro kg 1 mg の放射性鉄 (塩化第二鉄) を正常家兎に静注して血清及び赤血球中の濃度の変化を追究し、放射性鉄は静注後6~12時間で血清中より消失し、赤血球中へは12時間目に明かに出現すると報告している。投与量に差はあるが、私の場合もこれとはほぼ同様の結果を得た。次に静注した放射性鉄の臓器内分布について藤岡³³⁾ は静注48時間後肝に最も多く分布すると述べ、中尾³⁴⁾、永井³⁵⁾ 等は鉄結合能以下では静注鉄の約50%が骨髄に入り、肝には約20%が入ると述べている。私の成績では、骨髄を体重の2%として³⁶⁾ 計算すると、静注後3時間で約60%が骨髄に入っている事になる。静注後の経過時間からみてこれらの成績を互に比較する事は困難であるが、いづれにせよ静注後短時間内には相当多量の放射性鉄が骨髄に集つているものと思われる。前章で正常家兎静注3時間後、骨髄 P I, P II の比放射能が他に比して著しく大でかつ殆んど等しい事及び24時間後肝 P II が著増する事を述べたが、静注鉄の分布については次に述べるような色々の報告がある。即ち Shoden 等³⁷⁾ は、人及び家兎の肝で、生理的にはフェリチン鉄の方がヘモジデリン鉄より多く、追跡量で投与された無機鉄は貯蔵鉄中のフェリチン、ヘモジデリンの比率から想像されるよりも多量にフェリチンに入ると述べ、Hahn 等²⁷⁾ 及び須川³⁸⁾ も静注した放射性鉄はフェリチン分割に優先的にとり入れられると報告している。一方、Hampton³⁰⁾ は静注した鉄はまづヘモジデリンとなり、フェリチンに転化した後動員されるという。私の場合、24時間で肝 P II は著しく増加して Hahn²⁷⁾、須川³⁸⁾ と同様の傾向を示したが、3時間で各臓器 P I, P II の比放射能に大差はなかつた。これよりみれば両分割への incorporation は

余り差がないように思われる。しかし以上の実験成績を比較する場合には非ヘミン鉄分割法の違いを考慮に入れる必要がある。手技を比較すると、Hamptonの法³⁰⁾、Finchの法³¹⁾によるフェリチン分割は米山・紺野氏法²⁰⁾のPⅡに他の分割の一部が加わつたものと考えられる。

次に血色素への利用に際しては骨髄にとり入れられた鉄がまづ用いられるであろうが、各臓器、各分割の鉄の利用度の差については諸説あり、未だ確定的とはいえない。従来、フェリチンがヘモジリンよりも速かに利用されると信じられていたが、Granick¹⁾はヘモジリンをフェリチンの集合体であろうとして、本質的に両者の間に差は認められぬと述べ、又Shoden等³⁷⁾は貯蔵鉄利用に際して、この両分割は臓器内に存在する時と同じ比率で動員されると報告している。一方、山下⁴⁰⁾はフェリチンがより利用度が高いという立場をとり、更に瀉血時の海狗臓器鉄の変動を観察した結果、フェリチンよりも利用され易い鉄蛋白体の存在を示唆している。私の実験成績からみても、フェリチンはヘモジリンに先んじて利用されるようである。

2) 瀉血家兎。造血機能の亢進に伴つて投与した鉄の利用が速くなる事については疑を挿む余地はないが、Huff⁴¹⁾は Fe^{59} を人体に静注して血漿及び赤血球のturnover rateを求め、造血機能の亢進する場合にこの値が大となる事を報告した。又Copp & Greenberg²²⁾は貧血を起した鼠の腹腔内に注射された放射性鉄は正常の鼠と比較して著しく多量に血液内に現われる事を報告し、藤岡³³⁾も家兎を用いてほぼ同様の結果を得ている。私の実験でもこれらと同様の傾向が見られた。次に1回大量瀉血後3日目は骨髄PⅢの減少の他、貯蔵鉄の変化は軽度である。一方静注した放射性鉄はHahn⁴²⁾、藤岡³³⁾の成績と同じく骨髄に著しく多量に集つているため、骨髄の比放射能が大となり、就中PⅢが著増を示している。この結果より、骨髄の造血機能亢進に伴つて他の分割に先んじてPⅢが活潑な動きを見せている事がわかる。

3) レ線照射家兎。静注した放射性鉄の血漿内停滞時間、赤血球への出現時間共に著しい遅延が認められる。後藤⁴³⁾によれば、レ線照射の際網内系機能は造血機能よりも抵抗が強く、私の実験の照射量では著明な変化は見られないはずである。従つてこの遅延は造血機能の減退そのものの反映に他ならない。

レ線照射の造血機能に及ぼす影響に関しては今世紀当初より多数の研究が行われ、近年に至り鉄代謝の面からも種々の報告がなされている。Huff、Henessy、Chanutin、Lndewig等はレ線照射した白鼠で血清鉄量は増加し⁴⁵⁾、組織に過剰鉄の沈着が起り⁴⁶⁾、又静注した Fe^{59} の赤血球中への出現は極く少量の照射で障害を受ける⁴⁴⁾と述べている。教室の水田¹⁶⁾は頻回レ線照射により貧血を来した家兎の臓器鉄の分割を試み、骨髄PⅠ、PⅡの減少及びPⅢの増加を指摘し、鉄利用不全の結果としてPⅢが増加するのは他の分割に比して代謝の速度が大きいためであろうと推論し、木村⁴⁷⁾は同一家兎でSideroblastの増加を認め、ヘム合成の素材として最も近きにある赤芽球鉄と骨髄PⅢとの間に相関々係のある事を指摘している。私の実験は水田¹⁶⁾、木村⁴⁷⁾の場合と異り大量1回照射48時間後であつて、未だ貯蔵鉄に著しい変動は見られない。静注放射性鉄は3時間後骨髄に極めて少く、永井³⁶⁾の成績と一致した傾向が認められた。次に24時間後骨髄PⅢが著増を示し、その後増血機能の回復に伴つて減少している事は前述の水田¹⁶⁾、木村⁴⁷⁾のいうPⅢの意義を更に支持するものである。一方、骨髄においてPⅡが終始低値である事も非常に特異的である。因みにBarron一派⁴⁸⁾は放射線の生細胞に及ぼす影響の本態を細胞内SH基の酸化にありとし、Mazur & Shorr⁴⁹⁾はSH反応剤がフェリチンのV.D.M.活性の消失を来す事を指摘している。私の実験で、放射線に特に敏感とされる骨髄においてPⅡが少い事は、Barron⁴⁸⁾等の結果から類推されるとは別個に、レ線照射のフェリチンに及ぼす影響—抑制作用—を表現しているものと思われる。

次にレ線照射時の脾の比放射能は骨髄同様減少しており、更に静注3時間以後の変動が殆んど骨髄と同型を示している事も一つの特異点である。脾とレ線照射との関係はかなり以前より研究者の興味をひいたものらしく、1950年Huff等⁵⁰⁾は白鼠で脾の曝射をさせてレ線照射を行うと造血機能障害が防がれる事を指摘し、又Cole⁵¹⁾は幼弱白鼠の脾のhomogenateを腹腔内に注入するとレ線照射をうけた白鼠の死亡率を下げ、体重減少を防ぐ事が出来ると報告した。一方Richmond⁵²⁾は家兎の脾のhomogenateが骨髄同様 $\alpha-C^{14}$ -グリシンの形で投与された C^{14} をとり入れつつヘミンとグロビンを合成する事を認め、レ線照射により著しく合成が阻害される事を報告している。これらの業績とは別個

に、私の実験成績からも脾は従来考えられた以上にレ線照射に一もしくはレ線照射による造血機能障碍に一深い関係がある事が推測される。

4) 瀉血後レ線照射家兔・動物にこのような二重の処置をほどこして鉄代謝を追究した実験は比較的少ないが Ludewig, Chanutin⁵³⁾ 等の、火傷による hypoferremia 及び肝、脾鉄量の一過性の増加がレ線照射により起らなくなるという報告がある。私の実験では静注3時間後、放射性鉄は正常家兔、或いはむしろ瀉血家兔に近い分布を示し、3時間以後、即ち利用の時期においてはレ線照射家兔に類似の変動、即ち骨髓、脾のPⅢの著増を示した。これは瀉血による造血機能の亢進に伴う骨髓鉄摂取の増加はレ線照射の影響を蒙る事が少く、ヘムへの鉄の利用の場が主としてレ線障碍を受ける事を裏付けるものであつて、PⅢがPⅠ、PⅡより利用され易いという意義づけに更に非ヘミン鉄各分劃の中で最もヘム合成の場に近いものである事を附加するものと思われる。

5) コラルゴール貧血家兔 放射性鉄静注後の血漿内停滞時間が著しく延長して、3時間後なお各組織における鉄の捕捉は十分でなく、わづかに肝が正常値に近い値を示しているに過ぎない。コラルゴールの静注が骨髓機能を低下せしめ、或は再生不良状態をも惹起する事は小宮⁵⁴⁾、前田⁵⁵⁾、光藤⁵⁶⁾等によつて認められた所であつて、小宮は骨髓の萎縮、出血及び網内系細胞の封鎖をその主因としている。又教室の中山⁵⁷⁾はコラルゴール静注による貧血極期の網内系機能低下を証明した。私の実験で放射性鉄静注後3時間の鉄摂取量は実質細胞に富む肝が多く、PⅡの比放射能が正常家兔よりも大となつている。次に静注24時間後骨髓及び脾のPⅢの増加が見られるのはレ線照射の場合と似た傾向であつて、これはPⅢがレ線照射によつて特異的に生ずる産物なるが故に増加したものでなく、他の造血不全でも増加する事を示している。

6) 全節の総括並に考按：従来フェリチンとヘ

モジデリンの利用に関しては種々の説があるが、私は正常家兔の成績から、フェリチンがより利用度が高いという結論に達した。次に同一分劃を各臓器について比較し、組織によつて利用度の差があるものと推論した。次に瀉血家兔で骨髓PⅢの比放射能が大である事及びレ線照射家兔、コラルゴール貧血家兔のPⅢが増加する事から骨髓PⅢはPⅡ、PⅠに比して一層代謝速度が大である事を知り、更に瀉血後レ線照射した家兔について、骨髓の鉄摂取以後、ヘム合成に至る過程の最も利用され易い鉄はPⅢに含まれるであろう事を推論した。これは山下⁴⁰⁾のいう易動鉄、ひいては Greenberg & Wintrobe⁵⁸⁾の想定した labile iron pool の概念と符合するものようである。次に造血機能不全を起すような刺激に対して脾の非ヘミン鉄が骨髓と類似の反応を見せる事は従来広く行われているある種の骨髓疾患の原因を脾に求めんとする試み—Splenism なる概念で代表される一とは別の面より骨髓と脾の間に機能の連携を想定させ、甚だ興味深く感じられる。

第5章 結 論

正常家兔及び種々骨髓機能を変化せしめた家兔に放射性鉄を静注し、その臓器内分布を追究して生体内非ヘミン鉄の動態について考察を加えた。正常家兔でPⅡはPⅠに先んじて代謝される。造血機能亢進時には骨髓PⅢの代謝が促進し、造血機能不全ではPⅢが増加する。即ち骨髓PⅢはヘム合成に際して最も利用度が高い。造血機能不全で脾の非ヘミン鉄は骨髓のそれと類似の変動を示す。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師平木教授に深甚の謝意を表すると共に大藤助教授の御校閲並に木村博士の御援助を深謝する。

(文献は巻尾に一括記載する)

Studies on the Bone Marrow Function and the Iron Metabolism

Part 1. On the Movement of Stored Iron in Accordance
with the Bone Marrow Function

By

Fumitoshi Shiomi

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

The relationship between stored iron and hematopoietic function of the bone marrow was studied in rabbits under various conditions by means of radioactive iron (Fe^{55}). The quantitative fractionation of tissue iron was performed according to the method described by *Yoneyama and Konno*.

In normal rabbits, radioactive iron, intravenously injected in tracer amounts, distributed in P I (probably contains hemosiderin) as well as P II (proved to have come really from ferritin) in an almost equal amount. By mobilization and utilization, however, a preponderance of P II over P I was recognized.

In rabbits with anemia due to blood loss, the movement of administered radioactive iron was accelerated and specific activity of P III in bone marrow markedly increased. In rabbits suffered from disturbances on hematopoietic function, such as X-ray irradiation and collargol injection, on the contrary, the movement of iron was slow and P III in bone marrow came to the retention.

In rabbits suffered from X-ray irradiation after bleeding, it was revealed that P III in bone marrow was most available for heme synthesis in three fractions.

In accordance with the procedures which caused the hematopoietic disturbances, the distribution of non-hemin iron in the spleen showed the same pattern as in bone marrow, i. e., at 24 hours after injection of radioactive iron P III was markedly increased and P II was decreased.
