ラットにおける ^{59}Fe -クエン酸第一鉄ナトリウムおよび ^{59}Fe -硫酸第一鉄の胎児移行性

有吉 敏彦・有蘭 幸司・上田 豊成・堀江 透*

Transfer into Fetuses of ^{59}Fe -sodium Ferrous Citrate and ^{59}Fe -ferrous Sulfate in Pregnant Rats

Toshihiko ARIYOSHI, Koji ARIZONO, Toyonari UEDA, Toru HORIE*

Faculty of Pharmaceutical Sciences Nagasaki University, Nagasaki;

**Research Division, Eisai Co., Ltd. Ibaraki*

Summary

The feto-placental transfer of ^{59}Fe -sodium ferrous citrate (^{59}Fe -SCF) and ^{59}Fe -ferrous sulfate ($^{59}\text{FeSO}_4$) were studied in pregnant rats on day 18 of gestation after a single oral administration of ^{59}Fe -SCF (0.75 mg/kg) and $^{59}\text{FeSO}_4$ (1.5 mg/kg). The blood levels of radioactivity at 6 h after administration of ^{59}Fe -SCF was higher than that of $^{59}\text{FeSO}_4$, and even at 24 h, the blood levels of radioactivity after administration of ^{59}Fe -SCF was about 3.4-fold higher than that of $^{59}\text{FeSO}_4$. The plasma levels of radioactivity rapidly decreased in monoexponential manner until 24 h, when $^{59}\text{FeSO}_4$ was orally administered. In the case of ^{59}Fe -SCF, the plasma levels of radioactivity reached maximum at 6 h and rapidly decreased thereafter.

The highest radioactivity of ^{59}Fe -SCF in the maternal tissues was found in the spleen, followed by the bone (including bone marrow) and liver. There was almost no distribution of radioactivity in the brain, brown fat and muscle, after oral administration either ^{59}Fe -SCF or $^{59}\text{FeSO}_4$. The radioactivity in the placenta, fetuses and amniotic fluid were higher than in the maternal blood for the both compounds, however, the radioactivity in the placenta, fetuses and amniotic fluid after ^{59}Fe -SCF administration were higher than those of $^{59}\text{FeSO}_4$. This finding indicates that SCF in comparison to FeSO_4 , has great efficacy for intestinal absorption in pregnant rats and bio-utilization of iron for fetuses.

Key words: Sodium ferrous citrate, Ferrous sulfate, Absorption of iron, Transfer into fetuses, Pregnant rat

緒 言

生体必須微量金属である鉄は、ヘモグロビン、ミオグロビン、チトクロームなどの構成要素として酸素の運搬、細胞呼吸、酵素反応などの生理過

程に不可欠な金属である。人体には通常4,000～4,500 mgが存在し、ヘモグロビンとして約65%、フェリチンなどの貯蔵鉄として約30%、ミオグロビンとして約4%、チトクロームなどのヘム鉄として0.2～3%、トランスフェリンとして約

長崎大学 薬学部 〒852 長崎市文教町1番14号

* エーザイ株式会社 基礎研究本部 薬物代謝室 〒300-26 茨城県つくば市東光台 5-1-3

0.1%という割合で分布している。

鉄摂取不足のために起こる疾病の一つである鉄欠乏性貧血は、最も多い貧血症で、貧血症の70%を占めるが、鉄剤が適切に投与されれば治癒しうる。また、産婦人科領域では、女性は潜在的に鉄欠乏状態になっていることが多く、一見、貧血症状がなくても妊娠や月経過多を契機に貧血が出現する。いわゆる貧血予備軍のケースも多数あると考えられている。月経時にはかなりの鉄が失われ、鉄の貯蔵量が不足することにもつながる。さらに妊婦の場合には、深刻である。妊娠初期のHb値が10.9 g/dl以下(WHO値)という貧血がなくとも、11.0~11.9 g/dlの範囲にある妊婦でさえ、妊娠中期(24週~28週)の検査で貧血になる傾向が高い¹⁾。これは妊娠により、母児にとって生理的に鉄の需要が増加するのに比べて、母体の鉄の貯蔵量が十分ではないことに起因しているものと考えられる。したがって、妊婦に鉄剤を投与することは、母体への鉄の供給の他に胎児への鉄の供給という意味がある。

一方鉄剤は物性によって消化管吸収が大きく影響されることが知られている²⁻⁴⁾。クエン酸第一鉄ナトリウム(sodium ferrous citrate, 以下SCFと略す)は、広いpH領域で安定に溶存し、中性溶液中ではその80%が酸化されても消化管内で吸収不可能な高分子ポリマーや沈殿を形成せず、低分子キレートとして溶在しており⁴⁾、良好な消化管吸収を示すことが報告されている²⁾。

しかし、硫酸第一鉄(以下 FeSO_4 と略す)は低濃度溶液中でも、その10%が酸化されるとpH6.0で約90%が沈殿し、したがって消化管からの吸収可能な低分子濃度は著しく低下することが知られている^{5,6)}。先に、有吉ら⁷⁾は、 ^{59}Fe SCFの吸収、分布、排泄について雄性ラットを用いて硫酸第一鉄(以下 $^{59}\text{FeSO}_4$ と略す)と比較検討し、 $^{59}\text{FeSCF}$ が $^{59}\text{FeSO}_4$ に比べて吸収が良く、生体で有効に利用されることを示した。

そこで、妊娠ラットにおいても $^{59}\text{FeSCF}$ の吸収が良好であるか否か、また胎児へ鉄が有効に供給されるか否か、 $^{59}\text{FeSO}_4$ と $^{59}\text{FeSCF}$ の胎児移

行について比較検討した。

1. 標識化合物

^{59}Fe -SCF ($\text{Na}_4[^{59}\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2]$) (鉄含有量10.6%) および $^{59}\text{FeSO}_4$ (鉄含有量18%) は、(株)第一化学薬品で合成され、それぞれ比放射能が16 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ (0.59 MBq/mg) および 12 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ (0.44 MBq/mg) のものを用いた。なお、 ^{59}Fe -SCFの構造式はFig. 1に示すとおりであり、構造決定はIRの解析より行った⁸⁾。

2. 実験動物

Sprague Dawley系雌雄ラット(体重180 g前後)を九動(株)より購入し、飼育室(温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ・湿度 $55 \pm 5\%$)にて、日本クレア(株)の固形飼料(クレアCE-2)および水道水を自由に摂取させて飼育馴化し、体重200 g前後となったものを使用した。妊娠ラットは、体重200 g以上の未経産雌ラットを、同系の体重250 g以上の健康な雄と2対1で一夜同居させて交配させ、翌朝雌ラットの腔栓の有無および腔脂膏検査により精子を確認したものを、分離飼育し作成した。なお、この日を妊娠0日として計算し妊娠18日目のラットを妊娠ラットとして実験に供した。

Fig. 1 Structure of tetrasodium biscitrate iron (II) (^{59}Fe -SCF) M.W. 526.01, *The position of ^{59}Fe label

3. 投与液の調製

非放射性の SCF および FeSO_4 を用いて、それぞれ両者を $1 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ ($37 \text{ KBq}/\text{mg}$) の比放射能になるように調整した。最終投与溶液濃度は、 $1.5 \text{ mg}/\text{ml}$ 、投与用量はいずれの化合物もそれぞれ $5 \text{ mg}/\text{kg}$, ($7.5 \mu\text{Ci}/0.28 \text{ MBq}$) で投与した。したがって、鉄としての投与量は、 ^{59}Fe -SCF: $0.75 \text{ mg}/\text{kg}$, $^{59}\text{FeSO}_4$: $1.5 \text{ mg}/\text{kg}$, で、投与溶液は、用時調製した。

4. 投与方法

体重約 250 g 前後の妊娠ラットを各群 3 匹用いた。投与前 15 時間絶食し、 ^{59}Fe -SCF および $^{59}\text{FeSO}_4$ をそれぞれ経口投与し、飼料は投与後 3 時間まで与えず、水のみを自由に与えた。

5. 吸収および胎児移行

1) 吸収：妊娠ラットは、3, 6, 24 時間目にエーテル麻酔下、頸静脈より血液を $0.8 \sim 1.0 \text{ ml}$ ヘパリン前処理試験管に採取した。採取した血液は、まず全血液の放射能濃度を測定した後、 $3,000 \text{ rpm}$, 15 分間遠心分離し、得られた血漿および赤血球について放射能濃度を測定した。

2) 胎児移行：妊娠ラットに投与後、3, 6, 24 時間目にエーテル麻酔下、頸静脈より母体血液を採取した後屠殺、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、骨などの母体臓器の他、子宮、胎盤、胎児、羊水を摘出し、脱塩生理食塩液で洗浄し、濾紙で水分を取った後、湿重量を正確に量った後、放射能濃度を測定した。

6. 放射能の濃度

各試料は、一定量を栄研チューブに採取し、well-type r-spectrometer (Aloka TNC-IC) で測定した。

結 果

1. 吸収

妊娠ラットに ^{59}Fe -SCF ($0.75 \text{ mg } ^{59}\text{Fe}/\text{kg}$) および $^{59}\text{FeSO}_4$ ($1.5 \text{ mg } ^{59}\text{Fe}/\text{kg}$) を経口投与した

際の血液中放射能濃度の推移を Fig. 2 に示す。

^{59}Fe -SCF の血液中放射能濃度は投与後 6 時間まで上昇し、以後 24 時間まで一定であった。血漿中放射能濃度は、投与 3 および 6 時間後が最も高く、24 時間後には速やかに低下した。赤血球中放射能濃度は投与 3 時間後が最低で、経時的に上昇し、24 時間まで上昇を続けた。

一方、 $^{59}\text{FeSO}_4$ の血液中放射能濃度は、投与 3 時間後が最も高く、6 時間後に低下し、24 時間後にはやや上昇する傾向を示した。血漿中放射能濃度は投与 3 時間後が最も高く、ほぼ monophasic に低下した。赤血球中放射能濃度は投与 3 時間が最高値を示し、6 時間後には低下したが、24 時間後にはわずかではあるが上昇した。

両鉄化合物とも投与 24 時間の赤血球中放射能の上昇は、 ^{59}Fe の赤血球ヘモグロビンへの取り込みを示唆している。また ^{59}Fe -SCF の血漿中放射能濃度が $^{59}\text{FeSO}_4$ に比べて、3~6 時間まで持続的な上昇を示していることは、継続的な吸収を示唆するものであり、良好な吸収性が推測される。 $^{59}\text{FeSO}_4$ 投与に比べて、 ^{59}Fe -SCF 投与時の赤血球中放射能濃度が著明に高く、かつ速やかに上昇することは、 ^{59}Fe -SCF の消化管吸収が妊娠時においても良好であり、 ^{59}Fe の赤血球中への効率的な利用性を示唆している。

2. 胎児移行

妊娠 18 日目のラットに ^{59}Fe -SCF ($0.75 \text{ mg } ^{59}\text{Fe}/\text{kg}$) および $^{59}\text{FeSO}_4$ ($1.5 \text{ mg } ^{59}\text{Fe}/\text{kg}$) を経口投与した際の母獣組織中および胎児の放射能濃度を Table I に示す。 ^{59}Fe -SCF 投与 3 時間後における組織中放射能濃度は胎児が最も高く、ついで脾>骨 (骨髄を含む)>羊水>胎盤>肝の順であり、筋肉、脳、胎盤は低かった。投与後 6 時間では、脾臓が最も高く、ついで骨>胎児>羊水>胎盤の順であった。胎児への放射能の移行性 (胎児/血漿) は Table II に示す如く投与 3 および 6 時間後では $10.6 \sim 15.2$ で、投与 24 時間後が 226.0 であった。

一方、 $^{59}\text{FeSO}_4$ 投与 3 時間後における組織中放射能濃度は、脾臓が最も高く、ついで胎児>肝臓

Fig. 2 Iron concentration in blood, plasma and red blood cells after oral administration of ^{59}Fe -SCF (○) or ^{59}Fe -FeSO₄ (●) to pregnant rats
Each Value represents the mean $\pm$ SE.

Table I Tissue distribution of Fe estimated by radioactivity in pregnant rats after oral administration of ^{59}Fe -SCF and ^{59}Fe - FeSO_4

Tissue	Time after administration (h)		
	3	6	24
SCF			
	Fe ng/g tissue or ml		
Plasma	229.9± 27.7	241.1± 25.1	5.9± 5.9
RBC*	175.3± 40.7	400.7± 101.5	620.9±181.9
Liver	815.4±339.2	694.9± 137.3	246.1± 58.8
Spleen	1899.1±403.2	4771.0±2829.7	1197.8±389.7
Kidney	232.4± 52.2	276.3± 52.6	106.1± 32.1
Heart	152.4± 31.0	139.4± 39.2	70.9± 5.5
Lung	232.6± 45.8	336.5± 36.8	112.3± 40.1
Brain	20.0± 5.5	33.1± 10.2	16.7± 2.7
Brown Fat	59.7± 19.4	75.8± 22.8	28.1± 4.0
Muscle	11.9± 11.2	31.4± 10.9	0.7± 0.7
Bone	1511.3±397.8	3786.3± 634.8	663.9±108.0
Uterus	156.3± 47.1	223.8± 57.3	75.5± 22.2
Placenta	948.8±137.3	1866.9± 268.5	544.5±131.2
Amnion	1090.3±210.6	3117.7± 227.3	421.6± 93.7
Fetus	2446.7±282.8	3663.8± 466.9	1333.2±328.1
FeSO_4			
Plasma	116.3± 78.8	67.7± 25.1	3.8± 3.8
RBC*	142.7± 44.6	55.6± 17.0	165.3± 69.4
Liver	752.9±641.5	78.1± 26.0	106.1± 25.8
Spleen	1094.6±532.3	316.3± 150.8	615.4±137.7
Kidney	103.2± 52.2	36.9± 9.4	46.7± 5.1
Heart	47.7± 34.6	35.4± 13.4	37.3± 7.1
Lung	90.2± 50.9	41.1± 7.9	45.3± 2.1
Brain	7.8± 7.2	10.6± 7.1	7.0± 5.0
Brown Fat	26.9± 16.6	29.2± 26.6	58.2± 11.2
Muscle	7.8± 5.9	16.8± 16.8	18.1± 13.0
Bone	485.9±140.7	436.5± 94.5	324.0± 23.4
Uterus	63.2± 18.5	27.1± 7.0	31.7± 3.2
Placenta	392.9±101.6	157.5± 13.9	254.8± 62.0
Amnion	402.6±106.2	243.5± 52.2	235.0± 57.1
Fetus	879.4±204.1	409.4± 62.0	719.8±243.7

Each value represents the mean±SE of 3-5 rats.

* RBC: red blood cells

>骨>羊水>胎盤の順であり、脳、筋肉および脂肪は低かった。投与後6時間では、骨>胎児>脾臓の順で、24時間後では、胎児>脾臓>骨の順であった。(Table 1)。胎児への放射能の移行性(胎児/血漿)は投与3および6時間後では6.1~7.6, 24時間後では189.5であった。(Table 2)。

両鉄化合物とも ^{59}Fe の胎児への移行性は良好であったが、特に ^{59}Fe -SCF投与は $^{59}\text{FeSO}_4$ 投与に比べて胎児移行性が著しかった。また、両鉄化合物とも胎児/胎盤は約2~3の値を示し、 ^{59}Fe は胎盤を容易に通過し、能動的に輸送されていることが示唆された。

Table II The ratio of fetus vs plasma, fetus vs placenta and placenta vs plasma in pregnant rats after oral administration of ^{59}Fe -SCF and ^{59}Fe - FeSO_4

	Time after administration (h)					
	3		6		24	
	SCF	FeSO_4	SCF	FeSO_4	SCF	FeSO_4
Fetus/Plasma	10.64	7.56	15.20	6.05	226.0	189.5
Fetus/Placenta	2.58	2.23	2.28	2.60	2.81	2.82
Placenta/Plasma	4.13	3.37	7.74	2.33	92.28	67.05

Each value is calculated from Table I.

考 察

妊娠ラットを用いて、 ^{59}Fe -SCF および ^{59}Fe - SO_4 の胎盤通過および胎児移行について比較検討した。

$^{59}\text{FeSO}_4$ 投与に比べて、 ^{59}Fe -SCF 投与時の血液中放射能濃度が、 ^{59}Fe の投与量を補正しても有意に高値を示すことは、妊娠時においても ^{59}Fe -SCF の消化管吸収は良好であることが示唆された。

両鉄化合物とも、血液中放射能濃度より胎盤中放射能濃度、また胎盤中放射能濃度より胎児中放射能濃度がより高いことは、 ^{59}Fe が能動的に胎盤を通過し、胎児へ効率良く輸送されることが推察される。

^{59}Fe -SCF および $^{59}\text{FeSO}_4$ 投与時の放射能の組織分布パターンが胎盤、胎児を含めて異なることは興味ある結果であるが、胎児/血漿の値が ^{59}Fe -SCF で高値を示す理由については明らかではない。投与3および6時間後の ^{59}Fe 吸収過程でも観察されることから、血液中放射能の存在形態が ^{59}Fe -SCF と $^{59}\text{FeSO}_4$ では異なっている可能性も考えられる。今後両鉄化合物の吸収過程での血液中 ^{59}Fe の存在形態の検討が重要である。

羊水中放射能濃度が胎盤中放射能濃度と同等かそれ以上高値を示す。特に ^{59}Fe -SCF 投与後6時間では、羊水中/胎盤の値が約1.7と高値を示すことから、胎児への ^{59}Fe の移行について、羊水を介する経路も無視できないかもしれない。

胎盤/血漿の値が ^{59}Fe -SCF 投与3および6時

間後で4.1~7.7と $^{59}\text{FeSO}_4$ 投与時の2.3~3.3を大きく上まわっていることは、 ^{59}Fe -SCF 投与時の ^{59}Fe の方が胎盤通過性は良好であることが示唆され、このことが ^{59}Fe -SCF 投与時の胎児移行性が $^{59}\text{FeSO}_4$ 投与時のそれに比べて優れていることに起因しているものと推察される。

ウサギの妊娠6日から18日までSCF100, 300および1000 mg/kg 反復経口投与した際の母体および胎児に及ぼす影響について検討されており、胎児への影響は全く認められず、SCFは胎児に対して、胚致死、催奇形性ならびに発育抑制作用はなかったと報告されている⁹⁾。したがって、SCFの経口吸収性が良好なことを考慮すれば、SCFは FeSO_4 に代表される従来の鉄剤に比べて胎児への安全性は高いことが推察される。

妊婦の母体血および分娩時の臍帯血のフェリチンを測定した成績から、母体の値に比べて、臍帯血のそれが高値を示すことから、胎児は胎盤を通して、母体の貧血の有無にかかわらず、一定量の鉄を母体より供給されている¹⁰⁾。このことは本実験により、 ^{59}Fe が母体血液中放射能濃度より、胎盤中放射能濃度が高く、さらに胎児中放射能濃度が高値を示すことから支持される。

妊婦の貧血傾向は希釈による貧血もあるが、胎児・胎盤の鉄需要に基づく鉄欠乏性貧血を生じる場合も多い。非妊娠時における鉄欠乏状態では、吸収された鉄の100%がヘモグロビン鉄として利用されるが、妊娠時には70%がヘモグロビン鉄として利用され、のこり30%は母体の臓器中の貯蔵鉄になるか、あるいは胎盤を通過して、胎児

へ移行する¹¹⁾。母体に吸収された血清鉄は胎盤を通じて、飽和度の高い胎児へ能動的に移行し、胎児から母体への移行はない¹²⁾。また胎盤には平均 70 mg の非ヘミン鉄が貯蔵され、なんらかの原因で母体に急激な鉄欠乏が生じたとしても胎盤が胎児の鉄欠乏を補う役割を果たしているといわれている¹³⁾。このことは両鉄剤とも母獣血液中放射能濃度より胎盤中放射能濃度が高いことから裏づけられる。

妊娠時では総鉄結合能すなわちトランスフェリンが著増していることが知られている¹⁴⁾。おそらく、妊娠に伴うエストロゲンによる蛋白合成の促進によるものと考えられる。胎児の発育成長のためにトランスフェリンがなんらかの役割を果たしていることが報告されており¹⁵⁾、トランスフェリンの著増と胎児への鉄補給が合理的に関連しているわけで、吸収された鉄は有効に利用されることから、消化管吸収の良好な鉄剤は産婦人科領域では、有用性の高い薬剤と考えられる。

文 献

- 1) 松浦テウ子：看護技術，**27**(3): 384, 1981
- 2) Terato, K., Fujita, T & Yoshino, Y.: Studies on iron absorption I. The role of low molecular polymer in iron absorption. *Amer. J. Digest Disease.*, **18**: 121-128 (1973)
- 3) Terato, K., Hiramatsu, Y. & Yoshino, Y.: Studies on iron absorption II. Transport mechanism of low molecular iron chelate in rat intestine. *Amer. J. Digest. Disease.*, **18**: 129-134 (1973)
- 4) 寺戸国昭, 藤田 孟, 吉野芳夫：鉄の腸管吸収に関する研究（第一報）鉄塩の加水分解重合に対する糖，多価アルコールおよび有機酸の影響，*薬学雑誌*，**92**: 1247-1251 (1972)
- 5) 藤田 孟：水和酸化鉄(III)コロイドの生成とその性質(I)表面，**5**: 541-549 (1967)
- 6) Misawa, T., Suetake, W, and Shimodaira, S.: Infrared absorption spectra and oxidation of iron (II) hydroxide and green rust. I. *Bull Chem. Soc. Japan* **42**: 3339-3340 (1969)
- 7) 有吉敏彦, 有蘭幸司, 入潮浩司, 岡成栄治, 堀江透：ラットにおける⁵⁹Fe-クエン酸第一鉄ナトリウムおよび⁵⁹Fe-硫酸第一鉄の吸収，分布および排泄．*薬物動態*，**2**: 3-10 (1987)
- 8) Fujita; structural investigation of the divalent iron and managanes complexes with citric acid by infrared spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.*, **30**: 3461-3465 (1982)
- 9) 岡田文弘, 松原孝雄, 後藤公孝, 大角 勇, 川口隆, 奥田恭之, 西村 修：Tetrasodium Biscitrate Ferrate (SCF)をウサギに経口投与した際の胎児の器官形成期投与試験．*基礎と臨床*，**22**: 4681-4690 (1988)
- 10) 林好 寛, 村上 勇, 平出 薫, 山口賢二, 八神喜昭：妊婦の鉄代謝と臍帯血所見：産婦人科の実際，**38**: 1319-1323 (1989)
- 11) 古谷 博：妊婦の貧血に関する研究，第17回日本産科婦人科学会宿題報告要旨，**69** (1975)
- 12) Committee on Iron Deficiency: Iron Deficiency in the United State. *JAMA* **203**(6): 407 (1968)
- 13) 古谷 博：産婦治療増刊号，**39**: 20 (1979)
- 14) 古谷 博：第17回日本産婦人科学会総会宿題報告要旨，**87-89** (1975)
- 15) Bozzola, M. Schimpff, RM. Mingrat, G. Ghini, M.: Serum growth-promoting activity measured as [3H] thymidine incorporation into human activated lymphocytes and serum transferrin levels in newborns and mothers. *Pediatr. Res.* **19**: 220-223 (1985)