腸管鉄吸収に及ぼす銅の影響について (その I)

日本医科大学栄養学教室 (主任 島田敏夫教授)

森 川 良 晋

Morikawa Ryoshin

第 1 表

銅欠乏飼料 (白ネズミ)	
粉ミルク	1
VB ₁ 末	少量
還元鉄*	0.5 mg
硫化ソーダ加	
蒸溜水**	3
* 隔日投与	
** 蒸溜水 20 l に	
0.5% 硫化ソーダ 10 ml 添加	

銅が血中の常存成分であり、赤血球形成に關与するであろうことは古くから知られている^{1),2)}。そして銅が動物の体毛の色の生成³⁾、羊毛の形成⁴⁾、中枢神経系に於ける Myelin の維持に重要な作用をなし、また銅欠乏土地帯の牧草で飼育される小羊は 3~6 週間で運動失調を招くことが報告されている。

鉄代謝に対する銅の働きもまた注目されている。Keil (1931) は乳離れした白ネズミを鉄塩添加粉ミルクで飼育した結果、低色素性貧血をみとめ、この恢復には数種の金属塩のうち、特に銅塩が有効な事実を報告している⁵⁾。Wintrobe らは銅鉄代謝の関連性に就いて、広範な研究を行つているが⁶⁾⁻¹⁵⁾、そのうちで豚⁷⁾または白ネズミ⁸⁾を粉ミルクで飼育し、銅不足性貧血を起したところ、動物は低血清鉄及び不飽和結合能力の増大を惹起し、これに鉄剤を与えても、貧血恢復を期待出来ず、まず銅を与えることによつて初めて恢復し始めることを発見した。従来鉄代謝との相関を総括すると、銅が欠乏によつて

1. 消化管よりの鉄吸収の障害
2. 組織よりの鉄遊出の困難
3. 鉄の Hb 合成への利用の障害

など鉄代謝のすべての面に影響が起ることが解る。しかしそれならば銅がどのような途を通じて鉄代謝に作用するかのしくみについては現在なお充分に明らかにされていない。

著者は鉄吸収についての銅の作用を解明しようと試み、特に銅が消化管粘膜の鉄吸収作用にどんな工合に働くかを直接的に研究しようとして以下の実験を試みた。

実 験

実験方法

1) 銅欠乏白ネズミの作製

銅の生理作用を研究する一手段として、銅欠乏動物を作製することにした。離乳直後の体重 50 g 前後の白ネズミを痕跡量の硫化ソーダを添加した粉ミルク⁷⁾ (ミルクと水の混合比は 1 : 3) で 4 週間以上飼育した。飼料の内容は第 I 表に示す。毎日充分量の飼料を

与え、自由摂取とした。

2) 測定方法

以下の測定方法を応用して研究をすすめた。

- a) 臓器内非ヘミン鉄の測定には吉野のピロ磷酸抽出キナルデン酸法¹⁶⁾
- b) 血清鉄測定は当教室に於ける Barkan の変法^{17),18)}
- c) 臓器銅測定には松谷・吉野法¹⁹⁾を使つた。

実 験 成 績

1) 銅欠乏白ネズミについての観察

----- 正常白ネズミ (対照群)
 ———— 銅欠乏白ネズミ

第 1 図 白ネズミの体重曲線

a) 飼育期間に於る体重増加について (第1図)

硫化ソーダ添加粉ミルクで上記のように飼育し、粉ミルク飼育群と対照群とを比べた。体重増加の遅れるのが見られる。なお対照群には市販の配合飼料を主とし、これに少量の野菜水分を与えた。粉ミルク飼育群の体重曲線は飼育初期の3週間は全く体重増加がみられず、第3週以後に増加を始めた。これは粉ミルク飼料に欠点があるのか、或いは白ネズミの嗜好によるものか不明であるが8週以後は減少する。然し対照に較べて体重の増加が劣ることは確かである。

b) 飼育期間における血液所見について

i) 血色素値について (第2図其の1)

出発点では Sahli 値 131% のものが、漸次低下する。第3週 (116%)、第6週 (103%)、第12週 (78%) となる。即ち顕著な低血色素性貧血となる。

— 正常白ネズミ
— 銅欠乏白ネズミ

第2図 銅欠乏白ネズミの血液所見

ii) 赤血球数について (第2図其の2)

出発点では875万のものが、第3週(942万)、第12週(900万)となる。赤血球数の変動は明瞭と云へない。

iii) 色素係数について (第2図其の3)

色素係数は粉ミルク飼育群では、漸次低下するのが

認められる。

iv) 赤血球直径について (第2表)

第2表 銅欠乏白ネズミの赤血球直径

直径	5 μ	6.25 μ	7 μ
日数			
2 週	13 個	148 個	39 個
4 週	15	160	25
7 週	22	171	7
10 週	41	152	7

正常白ネズミの赤血球直径は平均 6.3 μ 、とされる²⁴⁾。この実験に於ても、直径 5 μ 、6.25 μ 、7 μ の3群に大別して鏡検測定した。実験成績は200個の赤血球について分類したものである。飼育期間第10週に於ては、直径 7 μ 群は漸次減少して、39個 (19.5%) より7個 (3.5%) となるに対し、直径 5 μ 群は13個 (6.5%) より41個 (20.5%) と増加するのが認められる。即ち小球性となる。

v) 血清鉄について (第3図)

第3図 銅欠乏白ネズミの血清鉄

実験の出発点では 261 r/dl であったものが、飼育期間が進むにつれて減少し、第12週では 87.4 r/dl となる。明瞭な低血清鉄を起している。

c) 飼育期間に於る臓器銅及び臓器内非ヘミン鉄に就いて

i) 肝臓銅について (第4図)

第4図 銅欠乏白ネズミの肝臓銅・肝臓非ヘミン鉄

実験の出発点では 5.32 r/g のものが、第 3 週には急速に減少して、2.52 r/g と半減し、その後緩かに減少を続け、第 8 週では 1.31 r/g となる。

ii) 肝臓内非ヘミン鉄について (第 4 図)

実験の出発点では 24.8 r/g のものが、第 3 週では 105.1 r/g となり、その後急速に増加して、第 12 週には 754.5 r/g となる。

肝臓における臓器銅と非ヘミン鉄との関係は量的には圧倒的に鉄が多いが、しかし臓器銅が減少するにつれて、臓器鉄が増加すると云う逆相関が認められる。

iii) 小腸壁の臓器銅について (第 5 図)

粉ミルク食飼育期間を経るにつれて、出発点で 1.84 r/g のものが、漸減し第 3 週では 0.80 r/g となり、以後殆んど増減しない。なおこの場合、腸管壁内外を生理的食塩水で十分に洗滌した後、乾燥したガーゼで水分を除去して試料に供した。非ヘミン鉄測定においても同様の注意のもとに取扱った。

iv) 小腸壁の非ヘミン鉄について (第 5 図)

第 5 図 銅欠乏白ネズミの小腸の臓器銅非ヘミン鉄

出発点では 10.8 r/g であつたものが、滑らかに漸増して、第 12 週には 23.35 r/g となる。小腸壁の臓器銅と非ヘミン鉄の関係も、恰も肝臓に於けると同様、臓器銅が減少するにつれて、臓器鉄が増加するという逆相関が認められる。

2) 銅欠乏白ネズミに銅を経口負荷した際の見解について (第 3 表)

前項に於て、硫化ソーダ加粉ミルク飼料で飼育すると、銅欠乏白ネズミを作製し得ることを立証した。すなわち低色素小血球性貧血を起すと共に、低血清鉄、肝臓及び小腸壁に於ける臓器銅の顕著な低下、更に同時に発生する非ヘミン鉄の明瞭な増加を認めた。この様に顕著な徴候を呈する銅欠乏白ネズミに銅を少量あ

第 3 表 銅欠乏白ネズミに銅を経口負荷した際の見解

条 件	血清鉄 r/dl	肝臓銅 r/g	肝臓非ヘ ミン鉄 r/g	小腸銅 r/g	小腸非ヘ ミン鉄 r/g
銅 欠 乏	87.4	1.51	754	0.57	23.36
銅欠乏後銅 300r 3 日投与	220	5.18	480	1.45	13.64
” 7 日投与	468	8.30	302	1.71	19.24
対 照	260	4.52	109	0.74	7.03

各測定値は白ネズミ 5 例の平均値

たへると、前記の諸徴候はどんな工合に変化するかをしらべて見たのが本実験の目的である。即ち、1 日 1 回 300r⁹⁾ の銅を硫酸銅溶液としてカテーテルで胃内に注入した。期間は 3 日間連続投与群、7 日間連続投与群の 2 群とし、これらと銅欠乏群と対照群とに対して比較検討した。

a) 血清鉄について

平均値で見ると、87.4 r/dl のものが銅投与によつて、急速に上昇し、3 日投与で、220 r/dl、7 日投与では 468 r/dl となる。

b) 肝臓銅について

平均値で見ると、銅欠乏群 1.51 r/g のものが銅投与によつて、顕著に増加し銅 3 日投与で対照群と殆んど相等しく、7 日投与群では対照群の約 1.8 倍となる。

c) 肝臓非ヘミン鉄について

平均値で見ると、銅欠乏群 754 r/g のものが 3 日投与群では 480 r/g、7 日投与群では 302 r/g と明らかに低下するのを認める。

d) 小腸銅について

銅欠乏群では 0.57 r/g のものが銅投与によつて漸増するのが見られる。

e) 小腸非ヘミン鉄について

平均値では、銅欠乏時 23.36 r/g のものが銅投与により減少の傾向をみとめる。但しこの例では 3 日投与群と 7 日投与群とでは 3 日投与群の鉄量がより高い成績を得た。他の実験例とこの点相違がある。

考 按

銅欠乏白ネズミの作製について

白ネズミに銅欠乏を起させる実験技術は Wintrobe ら^{9), 21)}によつて、十分な成功を収めている。その方法は粉ミルクを蒸溜水で 1:1 に稀釈した飼料を乳離れしたばかりの幼若白ネズミにあたえるものである。そして期間は約 1 ヶ月以上とし、その間に毎日又は隔日に約 0.5 mg の鉄を与えるようにしている。しかし著

者の経験によると、粉ミルク対水の 1:1 は飼料として余り濃厚すぎて白ネズミが摂取しないのでその混合比を 1:3 とした。また Lahey⁷⁾の方法に準じて硫化ソーダの痕跡量を使用水に添加して、混在する微量銅の沈澱をはかつた。微量鉄の添加は原法通りに 0.5mg とし、鉄吸収実験を開始する 3~4 日前まで、隔日経口投与した。また銅欠乏動物に見られる Ataxie については、VB₁ 不足による発生促進を懸念して、とくに VB₁ 添加を行つた (第 1 表)。この条件で幼若白ネズミを飼育したが、12 週間において体毛外観運動状態には異常はみとめられない。たゞ体重曲線より明らかな様に (第 1 図)、体重は正常食飼育群 194 g に対して、ミルク食飼育群は 143 g となり、平均 51 g の体重増加の遅延を起している。この原因について栄養方法が不適当なためか、または白ネズミの嗜好に依るものかの 2 つが考えられるが、体重曲線を見ると、飼育初期に於て完全な体重増加の停止が起るが、しかし第 3 週以後には対照群と略々平行して増加している。この形態は白ネズミの飼付きが初期に極端に悪く、その後飼料に慣れるにつれて、栄養摂取が先ず充分に行われるものと考えてよいことを示すものである。即ち栄養の質的欠陥でなく嗜好に関係したものと考えている。

血液所見については、低血色素、小血球性を示すのは従来報告通りであるが、しかし赤血球数は全く減少をみとめない。この事実についての記載は見られないが、銅の赤血球系に対する作用を純粋に鉄代謝との関連性のみと仮定すれば、血球数についての無影響はむしろ当然のことと納得される。銅欠乏豚の白血球観察成績による²⁰⁾と、正常・銅欠乏・銅鉄欠乏の 3 群の白血球数に顕著な差違を認めない。この事実は赤血球に対する銅の効果を否定する一傍証となりはしないかと考えられる。

銅欠乏白ネズミの銅鉄代謝に関して

低血清鉄を来すのは従来報告と一致する。これは非ヘミン鉄の遊出が障害されると云う考え方と一致するものであろう。

臓器銅値が肝臓及び小腸において、飼育期間がすすむにつれて減少する成績は銅欠乏飼育の成功を示すもので、予期の成績とみる事が出来る。

しかし肝臓および小腸の非ヘミン鉄が飼育期間のすすむにつれて、増加する機序を如何に解釈すべきであらうか。銅が鉄の遊出を抑制する云う Wintrobe らの実験仮説に立脚して、銅が鉄吸収を障害するものと

考えると充分な説明はなし得ない。しかし Elvehjem と Shermann は銅鉄欠乏白ネズミに鉄をあたえたと肝脾の鉄含量が増す²¹⁾と報告している。これは著者の実験成績と甚だ一致するものである。恐らく銅欠乏状態では著者の第 2 報の成績にも示す如くに、適当量の鉄投与に対しては鉄吸収の抑制を起すが、しかしそれは絶対的なものでなく、持続的に鉄投与が行われると緩慢に鉄吸収が起り、それが鉄遊出の障害と相まって、臓器内蓄積を高めるものであろうと想像される。なお吉野²²⁾は保生腸管鉄吸収実験に於て、腸管よりの鉄吸収は生物学的調節機構によるものの他に、一部拡散により腸粘膜を通過するものの存在を証明している。更に銅欠乏白ネズミに 1 日 300 r の銅を硫酸銅溶液として、tube によつて胃内に注入したところ、連続 3 日投与后には臓器鉄の減少が起り始め、連続 7 日投与后にはそれが顕著にみとめられた。この成績は銅が臓器鉄の遊出を促す因子であることを明らかに立証したものと考えられる。すなわち銅欠乏を起すと、鉄の遊出および利用が極端に障害されることを示すものと言えよう。なお Wintrobe らによると、白ネズミに対する銅の投与量は 1 日 0.25 mg が最適としている⁹⁾。著者はその報告に準じて、1 日 300 r 銅を与えた。

結 論

1. 粉ミルクを硫化ソーダ加蒸溜水にいた飼料で白ネズミを飼育し銅欠乏白ネズミを作製した。
2. 銅欠乏白ネズミは飼育期間 8 週間後に、顕著な低色素小血球性貧血を示し、低血清鉄となる。臓器銅の減少と臓器内非ヘミン鉄の激増をとまう。
3. 銅欠乏白ネズミに 1 日 300 r 銅を与えると、3 日または 7 日後には臓器銅は増加し、同時に臓器内非ヘミン鉄は顕著に低下する。

文 献

- 1) O.M. Schultze : J. Biol. Chem., **138**, 219 (1941)
- 2) A.H. Ravesteym : Acta Medica Scandinavica, **118**, 164 (1944)
- 3) H.L. Keil and V.E. Nelson : J. Biol. Chem., **93**, 49 (1931)
- 4) H.D. Marston and H.J. Lee : Austral. J. Sci. Res., **1**, 376 (1948)
- 5) H.W. Benetts and A.B. Beck : Bulletin 147, Council for Scientific and Industrial Research, Commonwealth of Australia, Melbourne, (1942)
- 6) C.J. Gubler, M.E. Lahey and G.E. Cartwright : J. Biol. Chem., **196**, 209 (1952)
- 7) M.E. Lahey, C.J. Gubler, M.S. Chase and G.E. Cartwright : Blood, **7**, 1053 (1952)
- 8) C.J. Gubler, M.E., Lahey, M.S., Chase, G.E.

- Cartwright and M.M. Wintrobe : Blood, **7**, 1075 (1952)
- 9) M.S. Chase, C.J. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe : J. Biol. Chem., **199**, 858 (1952)
- 10) M.S. Chase, C.J. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **80**, 749 (1952)
- 11) M.E. Lahey, C.J. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe : J. Clin. Invest., **32**, 322 (1953)
- 12) M.E. Lahey, C.F. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe : Ibid., **32**, 329 (1953)
- 13) M.E. Lahey, C.J. Gubler, D.M. Brown, E.L. Smith, B.V. Jager, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe : J. Lab. Clin. Med., **41**, 829 (1953)
- 14) C.J. Gubler, M.E. Lahey, G. E. Cartwright and M.M. Wintrobe : J. Clin. Invest., **32**, 405 (1953)
- 15) C.J. Gubler, M.E. Lahey, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe : Am. J. Physiol., **171**, 385(1953)
- 16) 吉野芳夫 : 日医大誌, **19**, 395 (1952)
- 17) G. Barkan : J. Biol. Chem., **36**, 125 (1940)
- 18) 島田敏夫, 吉野芳夫 : 臨床検査, **2**, 601 (1958)
- 19) 松谷 宏, 吉野芳夫 : 日医大誌, **24**, 739 (1957)
- 20) M.M. Wintrobe, G.E. Cartwright and C.J. Gubler : J. Nutrition, **50**, 395 (1953)
- 21) Elvehjem, et al : J. Biol. Chem., **98**, 309 (1932)
- 22) 吉野芳夫 : 生化学, **27**, 53 (1955)
- 23) 安東洪次, 田嶋嘉雄 : 医学研究動物実験法, 151(1956)

腸管鉄吸収に及ぼす銅の影響について (その II)

日本医科大学栄養学教室 (主任 島田敏夫教授)

森 川 良 晋

Morikawa Ryoshin

銅欠乏動物は貧血を起すと同時に、臓器鉄の利用、消化管よりの鉄吸収作用が低下することは数多く報告されている^{1),2)}。しかし銅欠乏動物についての鉄吸収実験法は従来より鉄負荷時の臓器³⁾、血液または体内鉄の蓄積量測定⁴⁾によつて判定されている。これらの方法は鉄吸収を体内に摂取または蓄積された鉄量によつて求めようとするもので、純粋に消化管の鉄吸収力を示すものと認め難い点がある。何故なら鉄の排泄および消化管粘膜の mucosal block 作用^{5),6)}についての考慮がはられていないため、正常状態では鉄の排泄量は甚微量とされ、また小腸粘膜における mucosal block 作用は確実に鉄吸収の regulator となつてゐるが、しかしこの現象を代謝障害時にそのままあてはめてよいかどうかは検討の余地がある。

著者は銅欠乏白ネズミの小腸内に鉄液を注入し、直接的に Wilbrandt^{7),8)}の方法に準じて、鉄吸収実験を行つた。その結果、数種の興味ある知見を得たので報告する。

実 験

実験方法

1) 銅欠乏白ネズミの作製は第 I 報に記載した⁹⁾。また対照の正常白ネズミは通常の飼育法によつた。

吸収実験前は約 1 日間絶食とし、消化管内をなるべく空虚として、食物によつて起る種々な影響をなるべく避ける様にした。

2) 鉄吸収実験法は Wilbrandt の方法に準じた。略記すると、エーテル麻酔下に開腹し、腸管を露出し十二指腸下部より保温 Ringer 氏液を約 10 ml 注入し、下方にしごいて腸管内を洗滌する。次いで長さ約 30 ㎝の腸係蹄を 2 個作る。この一方は検体、他方を対照とする。先ず検体の方へ 2 ml の 5 % ブドウ糖液内に溶解した試料を注入する。注入箇所は腸係蹄のなるべく上位とし、注入后その直下を結紮して、試料が外部へ流出するのを防ぐ様にした。対照の方へは試料の代りに 5 % ブドウ糖液 2 ml を注入する。腹部を軽く縫合し、一定時間 (通常 2 時間) 飼育箱に保存して置く。吸収実験終了時に、瀉血致死させ、消化管肝臓および血清を採取して実験材料とした。消化管内容の抽出はまず腸係蹄を取り出し、外側を保温 Ringer 氏液で洗滌してから、清浄なビーカーに移し、腸を縦に切開して内容を露出し、一定量の Ringer 氏液を加えて、十分に攪拌し遊出させた。そしてその一部をとつて測定にあてた。そして腸係蹄内投与量より残存量を差引いたものを吸収量と見ることにした。消化管内容の抽出液および肝臓の鉄銅測定には、鉄はキナルゲン酸法¹⁰⁾、銅はカルバミン酸法¹¹⁾に依つた。血清鉄測定には Barkan の変法^{12),13)}を使つた。

3) 実験順序

実験対象は以下の 4 群とした。

第 I 群 銅欠 (銅欠乏白ネズミ)

第Ⅱ群 銅欠+Cu 300r×3日

(銅欠乏白ネズミに硫酸銅溶液を Cu
として1日 300r 連続3日間経口投与
したもの)

第Ⅲ群 銅欠+Cu 300r×7日

(銅欠乏白ネズミに硫酸銅溶液を Cu
として1日 300r 連続7日間経口投与
したもの)

第Ⅳ群 対照(正常白ネズミ)

投与鉄は硫酸第1鉄アンモンとし、これを5%ブ

ドー糖液に溶解させた。投与量は(3,000r Fe)と少量
(800r Fe)の2群とし、更に之に硫酸銅を300r Cu
添加するものとししないものの2群に分けた。即ち以上
4種類の飼育白ネズミに対して、4通りの投与方法で
鉄を投与し、鉄吸収状態を検討した。なおこの吸収実
験法の精度は甚だ信用出来るもので、協同研究者樋口
によるとその誤差は±3%であるという⁸⁾。

実 験 成 績

1) 腸管よりの鉄吸収量及び吸収率について

a) 単独に鉄のみを負荷した場合(第1表) 吸収率

第1表 鉄液のみ(銅液なし) 腸管注入時の鉄吸収

	a				b			
	3,000 r Fe				800 r Fe			
	体重(g)	投与量(r)	吸収量(r)	吸収率	体重(g)	投与量(r)	吸収量(r)	吸収率
I 群 銅 欠	187	2,708	1,045	0.385	139	825	380	0.461
	167	2,708	730	0.269	125	825	343	0.416
	167	2,708	802	0.263	95	830	372	0.449
					124	830	368	0.444
平 均	174	2,708	859	0.309	121	826	366	0.442
II 群 銅 欠 + Cu 300r×3日	142	2,708	814	0.300	180	820	353	0.431
	177	2,708	805	0.296	170	820	506	0.617
	165	2,708	684	0.252	171	820	443	0.541
	137	2,708	754	0.278				
平 均	155	2,708	776	0.286	174	820	434	0.529
III 群 銅 欠 + Cu 300r×7日	159	3,169	1,569	0.495	143	843	479	0.569
	188	3,169	1,585	0.501	150	843	609	0.725
	161	3,169	1,748	0.551	163	843	533	0.633
					165	843	555	0.659
平 均	169	3,169	1,634	0.509	155	843	544	0.647
IV 群 対 照	113	3,070	1,744	0.568	100	843	618	0.733
	120	3,070	1,698	0.553	95	843	704	0.835
					100	843	515	0.611
					91	843	492	0.584
					89	843	492	0.584
平 均	117	3070	1721	0.561	95	843	564	0.669

平均値をみると、対照群(第Ⅳ群)が最も良く、銅欠乏群(第Ⅰ群)が最も悪い。その間の順序は対照>銅7日投与群>銅3日投与群>銅欠乏群となる。たゞ鉄大量投与群ではⅠ群 30.9% に対してⅡ群 28.6% とやや吸収率が悪い傾向がある。

なお鉄大量投与群と鉄少量投与群とを比較すると、一般的に鉄大量投与群の吸収率が悪いのが見られる。即ち対照群(Ⅳ群)に於ても、鉄大量投与群の吸収率が 56.1% であるに対して、鉄少量投与群では66.9% となる。また対照群の鉄吸収率を 1.00 とした際の他

の実験群の吸収率の割合をしらべると、鉄大量投与群では銅欠乏群および銅3日投与群では対照の略々¹⁾となる。鉄少量投与群では銅欠乏群は対照群の66%, 銅3日投与群 77% となり、銅7日投与群および対照群との間に明らかな差違を認めることが出来る。

b) 鉄銅を同時に負荷した場合(第2表)

吸収率平均値を見て特記すべき個所をあげると銅欠乏群と其他三群との間に歴然とした差違の認められる事で第2表の如く、銅欠乏群 5.5% であるのに其他三群では共通して 20% を超えている。鉄少量投与群

第2表 鉄・銅同時腸管注入時の鉄吸収

	a				b			
	3,000 r Fe				800 r Fe			
	体重 (g)	投与量 (r)	吸収量 (r)	吸収率	体重 (g)	投与量 (r)	吸収量 (r)	吸収率
銅 欠	121	3,540	130	0.036	123	1348	216	0.160
	100	3,540	200	0.056	100	1348	261	0.193
	118	3,540	240	0.067	107	1348	136	0.109
	120	3,540	215	0.060	128	1348	216	0.160
平 均	115	3,540	196	0.055	115	1348	207	0.153
銅 欠 + Cu 300 r×3日	132	3,170	965	0.304	172	753	245	0.326
	140	3,170	645	0.203	142	753	308	0.409
	130	3,170	725	0.228	160	753	320	0.425
平 均	134	3,170	778	0.245	158	753	291	0.387
銅 欠 + Cu 300 r×7日	132	3,170	735	0.231	138	781	171	0.219
	130	3,170	1,075	0.339	130	910	355	0.391
	99	3,160	735	0.232	135	910	320	0.352
	93	3,160	840	0.265	139	910	320	0.426
平 均	114	3,165	846	0.267	135	877	308	0.347
対 照	95	2,660	580	0.218	105	652	189	0.303
	95	2,660	544	0.204	100	652	199	0.319
	96	3,160	735	0.232	100	652	203	0.325
	87	3,160	890	0.281	100	652	158	0.256
平 均	93	2,803	687	0.234	101	652	182	0.293

註 同時注入銅量は 300 r とした

(第2表 b) に於ても銅欠乏群がたとへ銅が鉄と共に投与されても 15.4% あるのに対して他の三群は 29.3%~38.6% となり、やはり明らかに差が認められる。単独に鉄を投与した群(第1表)に較べて銅鉄混液を投与した場合の吸収率ははるかに低いことがみとめられる。例へば鉄大量投与群のうち、対照群では第1表のように鉄のみ投与の時 56.1% であるものが銅鉄混液では第2表 a の様に 23.4% となる。銅欠乏群では鉄単独投与時(第1表 a)に 30.9% のものが銅鉄混液(第2表 a)では 5.5% となる。鉄少量投与群のうち対照群は鉄単独(第1表 b)が 66.9% のものが、銅鉄混液(第2表 b)では 29.3% となり、銅欠乏群では鉄単独投与時(第1表 b) 44.2% のものが銅鉄混液(第2表 b)では 15.3% となる。

2) 鉄吸収実験前後の肝臓非ヘミン鉄について

腸係蹄吸収実験前後に、肝臓非ヘミン鉄を測定した。その平均値を表示すると第3表となる。

単独に鉄のみを投与した成績をみると、鉄大量投与群では肝臓非ヘミン鉄量の増加した順は銅7日投与群>対照群>銅3日投与群>銅欠乏群となる。

鉄少量投与群では肝臓非ヘミン鉄の増加した順位は銅7日投与群>銅3日投与群>対照群>銅欠乏群となる。以上の成績から、単独に鉄のみを負荷した際には腸管残存量より吸収量を求めた成績(第1表)と比べて個々の実験群の鉄吸収順位に相違はあるが、しかし銅欠乏群の鉄の摂取が障害されているのが明らかに認められる。

次に鉄銅を同時に投与した際の成績をみると、鉄大量投与群では、銅欠乏群および銅3日投与群に於て、肝臓非ヘミン鉄はそれぞれ -368 r/g, -41 r/g とむしろ顕著な減少をみとめる。銅7日投与群および対照群ではそれぞれ +157 r/g, +113 r/g の増加を来している。鉄少量投与群では、肝臓非ヘミン鉄は銅欠乏群では -322 r/g の減少で、その他の実験群、即ち銅3日投与群(+80 r/g)、銅7日投与群(+78 r/g)、対照群(+14 r/g)はそれぞれ増加を見る。

鉄吸収実験群の肝臓非ヘミン鉄が何故減少するか、或いは Wilbrandt の方式による鉄吸収実験の直接成績と比べて、その鉄吸収順位が相違するのはどんな理由によるものであるかは不明であるが然し甚だ注目す

第3表 肝臓内非ヘミン鉄

	鉄吸収前 (γ)	銅* 添加	3,000 γ Fe 投与		800 γ Fe 投与	
			測定値 (γ)	増減量 (γ)	測定値 (γ)	増減量 (γ)
銅 欠	754	(-)	847	+ 93	805	+ 51
		(+)	386	- 368	432	- 322
銅欠+銅 300 γ × 3 日	480	(-)	686	+ 206	608	+ 128
		(+)	439	- 41	560	+ 80
銅欠+銅 300 γ × 7 日	302	(-)	669	+ 367	541	+ 240
		(+)	459	+ 157	380	+ 78
対 照	109	(-)	336	+ 227	195	+ 86
		(+)	222	+ 113	253	+ 144

吸収後の数は2時間値 γ/g

* (-): 鉄単独投与

(+): 鉄銅混合投与

べき現象と思われる。この間の代謝過程について著者の見解は考按において述べる。

3) 鉄吸収前後の血清鉄について

鉄吸収前および吸収2時間後の血清鉄を測定し表示すると、第4表となる。

各測定値は3匹以上の平均値を示す。全般的傾向として、鉄投与後の血清鉄は投与前と比べて高値を占めるのを認めるが、一定の規則性を示していない。その理由として鉄吸収2時間後の血清鉄を測定することに起因するものであろう。吉野は家兎に Wilbrandt 方法で鉄吸収実験をおこなわせ、股静脈より採血して血清鉄を連続測定しているが、その成績では正常家兎の鉄吸収曲線の頂点は常に30分であり、2時間値はほぼ実験開始時に近づくのを示している。この成績より推察して、鉄吸収後2時間の血清鉄値は鉄吸収曲線の下行部を測定しているために、真の変動を見難いものと

みられる。また銅塩の臓器鉄遊出作用も又見逃がすわけにゆかない。恐らくその両者が複雑にかみ合つて、鉄吸収2時間値に種々相を来すものとみられる。

4) 腸管よりの銅吸収量および吸収率について

実験—2)において、鉄銅混合液を白ネズミの腸管内に注入して、吸収実験をおこなつたが、その際の銅の吸収量および吸収率についてしらべた成績を第5表に示す。この実験の目的は鉄吸収が起る際に、吸収される鉄量に相応した量の銅を腸粘膜が要求するかどうかを検討したものである。

投与鉄量は前記のように、鉄大量投与群 (3000 γ Fe) 鉄小量投与群 (800 γ Fe) の2群とし、それぞれに約 300 γ の銅を同時に負荷して、銅吸収をしらべた。銅欠乏群では両負荷群ともに銅吸収率は 14%, 22% で低値を示す。

銅3日投与群では鉄大量負荷群の銅吸収率は53%,

第4表 血 清 鉄

	鉄吸収前 (γ)	銅* 添加	3,000 γ Fe 投与		800 γ Fe 投与	
			測定値 (γ)	増減量 (γ)	測定値 (γ)	増減量 (γ)
銅 欠	87	(-)	165	+ 78	316	+ 229
		(+)	341	+ 254	269	+ 182
銅欠+銅 800 γ × 3 日	220	(-)	355	+ 135	227	+ 7
		(+)	568	+ 348	202	- 8
銅欠+銅 300 γ × 7 日	468	(-)	536	+ 68	608	+ 140
		(+)	492	+ 24	565	+ 97
対 照	260	(-)	386	+ 126	392	+ 132
		(+)	699	+ 439	483	+ 223

吸収後の数は2時間値 γ/dl

* (-): 鉄単独投与

(+): 鉄銅混合投与

第5表 鉄，銅同時腸管注入時銅吸収

	3,000 γ Fe				800 γ Fe			
	体重 (g)	投与量 (γ)	吸収量 (γ)	吸収率	体重 (g)	投与量 (γ)	吸収量 (γ)	吸収率
銅 欠	121	153	21	0.137	123	153	28	0.183
	100	153	24	0.157	100	153	38	0.248
	118	153	24	0.175	107	153	35	0.229
	120	153	20	0.131	128	153	35	0.229
平 均	115	153	22.3	0.145	115	153	34.0	0.222
銅 欠 + Cu 300 $\gamma \times 3$ 日	132	283	142	0.502	172	650	97	0.149
	140	283	159	0.562	142	650	128	0.197
	130	283	153	0.541	160	650	158	0.243
平 均	134	283	114.7	0.535	158	650	127.7	0.197
銅 欠 + Cu 300 $\gamma \times 7$ 日	132	283	165	0.583	130	255	134	0.526
	130	283	159	0.562	135	255	121	0.475
	93	264	81	0.307	139	255	151	0.593
平 均	118	276	135.0	0.483	135	255	135.3	0.531
対 照	95	226	83	0.368	100	226	102	0.451
	105	226	102	0.451	100	226	95	0.420
	96	264	98	0.434	100	226	95	0.420
	87	264	93	0.412	100	226	95	0.420
平 均	96	245	94.0	0.416	100	226	96.7	0.428

鉄小量負荷群では 20% となる。

銅 7 日投与群では両負荷群とも約 50% の銅吸収率を示す。

対照群では大量小量両負荷群ともに約 40% の銅吸収率を示す。本来、銅欠乏群の銅吸収は当然の要求として、寧ろ他の 3 群より増加するものと想像されたが、実験成績では全く逆の結果となつた。その理由は明らかでない。

次に、吸収鉄量と吸収銅量との間に何等かの相関がありはしないかの点について検討した(第6表)。銅欠

乏群では吸収された鉄と銅の割合は鉄大量負荷群では、196 : 22 (9 : 1)，鉄小量負荷群では 207 : 34 (6 : 1) となる。更に他の 3 実験群について見ると、鉄大量負荷群では鉄 : 銅が 7~6 : 1，鉄小量負荷群では同じく 3~2 : 1 となる。これは負荷した鉄・銅の割合と略々同一であつて、従つて有機的関連性は認められないと考えられる。

5) 銅吸収時の肝臓銅量について

腸管内に鉄のみ単独に負荷した場合および鉄銅を同時に負荷した場合の吸収実験において、実験前および後の肝臓銅量をしらべると第7表となる。特に気付く点は銅 3 日負荷群および 7 日負荷群の鉄吸収実験後の肝臓銅が顯著に増加することである。これは銅負荷の有無に拘らず、増加がみられるので単に銅負荷のみの影響とは考へられない。秀島⁽¹⁴⁾は肝臓銅には可溶性蛋白質に含まれる割合が多く、しかもその量は銅添加量に応じて増加すると云う。そして肝臓銅を Wintrobe らが血漿についてしらべたと同様の方法⁽¹⁵⁾に準じて、臓器内透析銅量およびエチルカルバメートに直接反応する銅 (direct reacting copper) の存在をしらべている。その成績によると、血漿銅の場合と異つて相当量の透析銅および直接反応銅が存在するのを認めている。この銅成分は恐らく機能銅としてではなく、貯蔵銅

第6表 腸管よりの鉄，銅吸収量の比較

	3,000 γ Fe		800 γ F	
	吸収量 (γ)	比 (鉄/銅)	吸収量 (γ)	比 (鉄/銅)
銅 欠	鉄量 196	8.80	207	6.10
	銅量 22.3	1	34.0	1
銅 欠 + Cu 300 $\gamma \times 3$ 日	鉄量 778	6.78	291	2.28
	銅量 114.7	1	127.2	1
銅 欠 + Cu 300 $\gamma \times 7$ 日	鉄量 846	6.26	308	2.28
	銅量 135	1	135.3	1
対 照	鉄量 687	7.31	182	1.88
	銅量 94	1	96.7	1

第7表 肝 臓 銅

	鉄吸収前 (r)	銅* 添加	3,000 r 投与		800 r Fe 投与	
			測定値 (r)	増減量 (r)	測定値 (r)	増減量 (r)
銅 欠	1.505	(-)	3.43	+1.925	0.921	-0.584
		(+)	1.98	+0.475	2.300	+0.795
銅欠+銅 300 r × 3 日	5.18	(-)	10.03	+4.85	23.52	+18.34
		(+)	6.01	+0.83	29.88	+24.70
銅欠+銅 300 r × 7 日	8.30	(-)	15.91	+7.61	27.35	+19.05
		(+)	58.90	+50.60	42.46	+34.16
対 照	4.52	(-)	13.18	+8.66	8.99	+4.47
		(+)	5.24	+0.72	6.49	+1.97

測定値とは吸収後2時間値をしめす

* (-): 鉄単独投与

(+): 鉄銅混合投与

として蛋白質と緩かに結合して存在するものとみられる。従つて、臓器銅には甚だ labile な成分が存在するものと考え、吸収された鉄が肝臓で処理される際に処理機能の一環として体内の易動性銅が、一種のの関係で肝に集積するものと考えることが出来る。そして銅3日投与群および銅7日投与群では体内の易動性銅が多いために、鉄吸収後に、特に顕著な増加を起したものと想像される。なおこの現象は腸管における鉄銅の関係と矛盾する様に受取れるが、しかしこの現象は銅鉄代謝と関与する臓器の機能の良否と関係すると想像される。

考 按

臓器の鉄摂取と蓄積のためには銅は不必要であるという報告は数種みとめられる。たとへば Elvehjem¹⁷⁾らは銅鉄欠乏白ネズミに鉄を与えると、肝臓および脾臓の含鉄量が増すと言っている。また Cunningham¹⁸⁾と Gosephs¹⁹⁾らは乳離れした白ネズミに鉄を添加したミルク食を与えた場合と、鉄および銅を添加したミルク食を与えた場合とで、全体内鉄の含量に著明な差をみとめないとしている。著者の第1報においても、乳離れした白ネズミを鉄添加ミルク飼育をすると、肝臓非ヘミン鉄が顕著に増加するのが認められる。即ち上記の条件下では肝臓非ヘミン鉄は 754 r/g となるが、正常白ネズミのそれは 109 r/g にすぎない。

しかしそれでは銅は鉄代謝に影響を及ぼさないものかと言うとそうとは言えない事実がある。Wintrobe らの広範な研究¹⁾に於ても、銅欠乏の結果、低血清鉄症を来している動物に、単独に鉄を与えても血清鉄に動きは見られないが、単独に銅を与えると血清鉄は上昇する。また著者の第1報に於ても、銅欠乏ネズミは明

らかに同様の低血清鉄症、且つ低色素小球性貧血を招いている。これらの事実は銅が臓器鉄の出動及び Hb 合成へは充分はたらくことを示すものである。

Cartwright および Wintrobe⁴⁾らは銅欠乏白ネズミに様々な条件で放射性鉄を含む鉄飼料を経口的に与え、その摂取率を全体内放射性鉄量を測ることによつてしらべている。その成績によると

a) 単独に鉄を与えた実験群では鉄摂取率の最低のものは銅欠乏白ネズミ群で摂取率8.8%となる。最高のものは銅欠乏白ネズミに前もつて銅を 0.25~0.50 mg/day 連続して与えた群で、その摂取率は 16.7~19.7% となる。なおそれより銅投与量が多すぎても、少なすぎても鉄摂取率が悪いという。

b) 次いで鉄と銅を同時に経口投与して、摂取率をしらべる実験を行つた。銅欠乏白ネズミを前もつて粉ミルクに1日量 0.5 mg の鉄と 0.05 mg の銅を含んだ飼料で22日間飼育し、その後に鉄 0.5 mg と様々な濃度に変へた銅を一回経口負荷して鉄の摂取率をしらべた。その成績によると、すべてが 22~28% の摂取率を占めていて特長ある変化は得られなかつた。同時に鉄銅を与えても鉄の摂取に影響を及ぼさないと見ている。

以上の成績と見解について著者の実験成績を対比して考按すると以下の点に気付く。

その1は単独鉄投与実験において、著者の吸収率は最低の場合でも約 30% となり、Wintrobe らの摂取率が最高の場合でも約 19% であるのに比べて遙かに高値を示している。これは実験条件に相違のあることを考慮しなくてはならないが、しかし腸管よりの直接的吸収率をみたものと体内に摂取された摂取率をみた

ものとのための相違—後者では或る程度の排泄を黙認しなければならない—によるものであろうことを特記する必要がある。

その2として、鉄銅を同時に与へた際の鉄吸収についてみると、著者の成績では銅欠乏群の吸収率が最低で約5~15%となるが、その他の三群では約23~38%の吸収率となる。これらは鉄単独投与群の吸収率に比べて明らかに低値となり、しかも吸収率の順位に規則性が明らかでなくなる。Wintrobeらの報告によると、摂取率は22~28%となり、各実験群の間に明らかな差異を認めない。著者の成績と比較して、鉄吸収時に銅を混合させることが鉄吸収に好影響を来さない点では一致するが、しかし著者の吸収率はWintrobeの鉄を単独にあたえた際の成績よりもむしろ高値を示している。これはWintrobeらが実験に使用する銅欠乏白ネミに前もって1日0.05mgの銅を連続して与えたために、完全な銅欠乏ではなくなつたためかと想像される。従つて、むしろ著者の成績が眞の銅欠乏の目的にかなうのではないかと考えられる。

著者は最後に銅欠乏白ネズミに鉄銅を同時に負荷して吸収実験を行つた際の銅吸収量を見た。吸収された鉄量と銅量の関係に一定の規則性はない。両者間の関係は負荷試料中の鉄銅混在比によつて規制される様にみられる。しかし鉄吸収時に、生体内の銅成分が一時肝臓に集積するのをみとめたが、これは恐らく臓器鉄の処理には銅の共存が必要なためかも知れない。腸管においても同様に鉄処理に銅を必要とするものとしても、実質細胞の量的関係が腸管と肝臓とでは圧倒的に相違するためと想像した。

結 論

1. 銅欠乏白ネズミを使用して、銅3日投与群、銅7日投与群を作り、銅欠乏状態を3段階に分け、これらと正常飼育群についてWilbrandtの方法により、それぞれ鉄吸収実験を施行した。
2. 腸管内へ鉄を単独負荷した際の腸管鉄吸収率は

銅欠乏群が最も悪いのが認められる。しかし前以て銅を負荷すると順次に恢復するのが認められる。

3. 腸管内へ鉄銅混合液を負荷した際の腸管鉄吸収率は、単独鉄投与に比してむしろ低率となる。
4. 鉄吸収時肝臓内非ヘミン鉄を測定した。
5. 鉄吸収時血清鉄量を測定した。
6. 鉄銅を同時に与えた際の銅吸収を鉄吸収と対比して検討した。
7. 鉄吸収時の肝臓銅量は増加する傾向がある。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師島田教授に対し衷心より深く感謝致します。併せて吉野芳夫博士、中島信治博士及び教室員の皆様に感謝致します。

文 献

- 1) M.M. Wintrobe, G.E. Cartwright and C.J. Gubler: The Journal of Nutrition, **50**, 395 (1953)
- 2) M.S. Chase, C.J. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **80**, 749 (1952)
- 3) C.J. Gubler, M.E. Lahey, M.S. Chase, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe: Blood, **7**, 1053 (1952)
- 4) M.S. Chase, C.J. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe: J. Biol. Chem., **199**, 755 (1952)
- 5) S. Granick: Physiol. Rev., **31**, 489 (1951)
- 6) 島田敏夫: 生物化学最近の進歩 (第2集), 358 (1955)
- 7) W. Wilbrandt and L. Laszt: Biochem. Z., **259**, 398 (1933)
- 8) 樋口 端: 日医大誌, **25**, 372 (1958)
- 9) 森川良晋: 日医大誌, **27**, (12), (1960)
- 10) 吉野芳夫: 日医大誌, **19**, 395 (1957)
- 11) 松谷 宏, 吉野芳夫: 日医大誌, **24**, 739 (1957)
- 12) G. Barkan: J. Biol. Chem., **36**, 125 (1940)
- 13) 島田敏夫, 吉野芳夫: 臨床検査, **2**, 601 (1958)
- 14) 秀島 宏: 日医大誌 **27**, 1879 (1960)
- 15) C.J. Gubler, M.E. Lahey, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe: J. Clin. Invest., **32**, 405 (1953)
- 16) M.O. Schultze: Physiol. Rev., **20**, 37 (1940)
- 17) C.A. Elvehjem and W.C. Sherman: J. Biol. Chem., **98**, 309 (1932)
- 18) I.J. Cunningham: Biochem. J., **25**, 1267 (1931)
- 19) H.W. Josephs: J. Biol. Chem., **96**, 559 (1932)