臓器鉄游出に関する研究 各種鉄剤負荷肝臓よりの鉄游出の難易に就て

日本医科大学栄養学教室 (主任 島田敏夫教授)

立 川 高 汎

Takahiro Tachikawa

緒 論

出血などのため、急速な赤血球の合成が要求されると、臓器殊に肝臓から鉄の游出が起り、これにこたえることは衆知の事実である。然しこの際臓器はどのような規約の下に鉄の放出を行なうものなのかについては従来屢々論ぜられたが明瞭とは云えない。最近協同研究者、名和⁸⁾ は肝臓灌流法を用いて鉄游出を招く因子に就いて詳細な検討を加えた結果、その出動機序は極めて複雑で一元的に説明することは到底出来ない¹⁾と述べている。生体に於いては更に神経の Hormon²⁾ の作用がこれと関連をもつであろうから一層複雑化していることが予想される。

通常臓器貯蔵鉄と血清鉄の間には量的平衡関係が成立していると考えられるが細胞膜の透過性は3価鉄よりも2価鉄の方に有利³⁾であることを考慮すると、その平衡関係は細胞内3価鉄 $\rightleftharpoons$ 2価鉄 $\rightleftharpoons$ 血清3価鉄の間の平衡とおきかえて考えることが出来る⁴⁾。事実この平衡に移動が起きると想われる種々の条件を負荷すると鉄の組織への移動又は游出が起ることは著者等の一連の研究で明らかとなつた¹⁾⁴⁾。

鉄游出は更に細胞膜の透過性⁵⁾、血清内鉄結合蛋白質⁶⁾及び臓器蛋白質含有量の多寡等と密接に関係することも識られている。

臓器鉄は hemosiderin, ferritin 及び所謂 labile iron から成立つていると言われるが、経口投与による鉄吸収量には、一定の制約があるため、その急速な増加を期待する場合には、種々の非経口的鉄剤が工夫され臨床的に使用されている。然しそれ等鉄剤の溶存状態が ion 化するもの或いは colloid 状のもの総べて同一でないため、投与初期には各鉄剤は各個有の型で組織に補足されてゆくものと考えられる。

小泉⁷⁾ は先に ion 化鉄として クエン酸安門を、colloid 性の鉄として imferon, gluferricon を使用

し、臓器の捕捉力を詳細に比較検討し鉄の種類により明らかに臓器捕捉の速度に相違のあることを明らかにした。

この様に相違した状態で組織に捕捉された鉄が再び游出する場合には、その游出速度に相違があるかどうかには就いては全く未詳である。勿論鉄投与長時間後には全て ion 化鉄として細胞内に摂取され、その出動も同一速度になるであろうが、極めて初期では必ずしも同一とは考えられない。この点を予め解明しておくことは鉄の利用される速さを知ることとなり、実用の際し、極めて重視されて来る問題と想われる。ここで著者は小泉の使用したと同様その溶存状態の異なる鉄剤を予め負荷した家兎の肝臓を種々の条件の下に灌流して鉄の游出実験を試み、いささか興味ある成績を得たので報告する次第である。

実 験 編

実験動物

1) 実験動物は体重 2 kg 前後の雄家兎を用い購入後 1 カ月以上同一飼料で飼育したものである。

2) 肝臓灌流法は明石¹⁾、名和⁸⁾等の行つたものと全く同一である。その大略を述べると、肝動脈、右腎静脈を結紮後、門脈より tyrode 液を流入させ肝臓血液を洗出した後 100~120 mm H₂O 圧で下大静脈よりカニューレを介して灌流する。この際灌流速度は点滴装置を介して 10 分間 15 ml 前後とする。灌流液温度は 38°C とした。灌流液は、2 槽に盛り一部は tyrode 液のみ、他は負荷薬剤を混ぜた tyrode 液を入れて自由に切変え出来る様に装置した。

灌流液の pH は 7.2 を使用するのが、最も理想的であるが、鉄剤使用の関係上 pH 6.8~6.5 に調製した tyrode 液を使用した。

3) 鉄測定法は Barkan の変法⁹⁾によつた。即ち灌流

採取液 2 ml を遠沈管にとり、これに 1.2% 塩酸 1.0 ml を加えて、室温 24 時間放置後 20% トリクロール醋酸 1.0 ml 混和、1 分間 3000 rpm で遠沈を行い沈澱を除去する。その上清 1.0 ml に飽和醋酸ソーダ 0.5 ml、醋酸 buffer (pH 4.5) 0.5 ml、0.1% *o*-phenanthroline 1.0 ml、thioglycol 酸 1 滴添加後発色させ filter 515 m μ で photometer により測定した。液槽 1 cm, Fe 1 r の extinction は 0.0936 である。

実験方針

緒論に述べた通り溶存状態の異なる鉄剤を選んで予め静注し、負荷鉄が大部分臓器に捕捉されたとと思われる 1 時間 30 分後¹⁾ 灌流実験を行った。この他に捕捉状態に影響を及ぼすと考えられる後述の条件を与えた際その游出量を求めたものもある。使用鉄剤は ion 化鉄剤としては、クエン酸鉄安門を、colloid 鉄剤としては imferon 及び gluferricon (塩野義製品) を使用した。imferon は血漿 pH に於いても極めて安定であり、長時間にわたり沈澱の恐れがないことが識られているものである¹⁰⁾ gluferricon は溶存時 colloid 粒子が比較的大きく組織に沈澱する傾向が大きいものと考えられるものである。塩化鉄或いは硫酸鉄の様に鉄 ion として解離するものは極めて容易に水酸化鉄として沈澱すること及びその毒性¹¹⁾ を考慮に入れて不適当と考えたために使用しなかった。

各条件を与えた場合の成績を以下順次述べる。通常鉄負荷量は鉄として prokilo 4.5 mg を 5% ブドウ糖 10 ml に溶かして極めて緩徐に静脈注射により与え注射後 1 時間 30 分経つてから肝臓灌流を行った。

実験成績

1) Acetylcholine の灌流実験

Acetylcholine は細胞膜の透過性に影響する薬剤と考えられ、その増加は細胞膜の透過性を増すと云はれている。生体実験では肝臓から鉄の游出を促進し、又灌流実験によつても増加することが、名和⁸⁾¹²⁾ によつて既に認められている。殊に名和の灌流実験によるとその増加は連続的でなく、40 分後に一時的な余り多量でない鉄の游出を起すことが報告され、この游出鉄は細胞内にある極めて labile な鉄が出勤するためと推定している。

溶存状態の異なる前記 3 種類の鉄剤を負荷した後、acetylcholine を 50 mg % の割合に流した成績は、第 2 図に示した通りである。第 1 図は tyrode 液単独灌流成績である。

i) FeAC 4.5 mg/kg 負荷では第 2 図中 a) の曲線

第1図 正常肝臓の tyrode 液単独灌流実験

(a) FeAC (游出総量 68.7 r)

(b) gluferricon (41.4 r)

(c) imferon (47.2 r)

条件: acetylcholine 50 mg %
各種負荷鉄 4.5 mg(Fe)/kg
pH 6.5

第2図 acetylcholine 灌流実験

の様に游出鉄は初期に急激な増加を認め次第に低下してゆく、一時的に 40 分前後で游出が起ると報告する名和らの成績とは異なるがこれは鉄負荷に因るものと思われる。

游出鉄量には相当の動揺を認めているが、総游出鉄量は 68.7 r で、tyrode 液だけを流した場合に較べると多い。名和⁸⁾、山下¹³⁾ の言う様に labile 鉄に由来するとすれば、鉄負荷により肝臓総鉄量の増加に伴い labile 鉄も増すであろうから、その游出増加とも考えられる。

ii) imferon, gluferricon 各 4.5 mg/kg 負荷例は図中 b) c) に示した様に imferon は 50 分前後で一過性の上昇があり gluferricon は極めて緩やかな山型曲線を示した。各実験例により流出総鉄量に相違はあるが、imferon は平均 47.2 r gluferricon は平均 41.4 r であった。FeAC が最も多く imferon は、これに次ぎ、gluferricon の場合は少々劣ることが識れた。

2) Histamine の灌流実験 (第 3 図 i) ii)

histamine も acetylcholine 同様正常動物の肝貯蔵

histamine 0.5 mg % pH 6.5
流出総量 (48.9 r)

第3図 (i) Histamine 灌流実験

a) FeAC 流出総量 (81.1 r)
b) imferon (61.9 r)
c) glufericon (52.3 r)
histamine 0.5 mg %
各種負荷鉄 4.5 mg(Fe)/kg
pH 6.5

第3図 ii) 各種鉄剤負荷後 Histamine で灌流した場合

鉄の出勤を促すことが識られている¹¹⁾¹²⁾。正常肝臓を histamine 0.5 mg % 加 tyrode 液で灌流すると acetylcholine 50 mg % の場合に較べて少々流出鉄量は大きいと云うが¹⁾、第3図 i) の様に histamine 単独灌流では、平均 43.9 r/100 min の鉄流出を認めた。3種の被鉄負荷肝臓に histamine を灌流した場合の成績では FeAC が最も高値を示し(81.1 r), imferon, glufericon とつづく、やはり acetylcholine 単独に較べると少々流出が多い様である。3者の鉄剤のうち FeAC の 81.1 r に対し後2者は共に 61.9 r, 32.3 r の鉄流出量である。histamine 灌流では 50 分前後に一時的な増加が起ることが示されている。

この2種類の実験成績から細胞膜の透過性を変える

と、臓器鉄の溶存状態が異なると想われる場合、即、ion 化鉄負荷の場合には流出量が増加するか、colloid 鉄製剤は、その流出鉄の増加が劣ることが認められる。然し imferon, glufericon の相違については、この成績のみから確実なことは云い難いかも知れない。

3) 鉄と Chelate を造る薬剤を灌流した場合

chelate 試薬、例えば EDTA^{14),15)} o-phenanthroline, α - α' -dipyridyle 等を静注投与すると臓器の鉄は溶性となり、腎を通じて排泄されることはよく知られている。特に臨床に重金属の体外排泄に効果があると云う¹⁵⁾ EDTA は名和の灌流成績によると 100~300 mg % と濃度の差があつても、流出鉄には余り相違がないと云うので EDTA 100 mg % を各鉄剤負荷後灌流しその際の鉄の流出を観察した。FeAC の場合は第4図 a) の様に実験時間中に 82.8 r の鉄流出が起つている。glufericon 負荷動物の灌流は第4図 b)

a) FeAC 流出総量 (82.8 r)
b) glufericon (65.8 r)
EDTA 100 mg %
負荷鉄 4.5 mg(Fe)/kg
pH 6.5

第4図 鉄負荷後の EDTA 灌流実験

曲線で流出鉄は 65.8 r となつた。FeAC 負荷例に較べて少々劣り、約 77% となつている。これらの差は余り著明とは云い難いが FeAC 例が glufericon 例より各実験例ともつねに上廻つて流出することは確実であつた。

これは EDTA の結合が ion 反応であるため FeAC とは容易であるが、colloid 鉄とはその結合反応が遅いために流出が劣るとも想われる。之等 chelating agent を灌流した場合は、その経過曲線型が細胞膜透過性を変えた場合の実験と異なることは興味がある。

o-phenanthroline 灌流実験

成績は EDTA と全く同一と云える。(図略) これ等 chelate 試薬に関する2つの実験から imferon,

gluerricon の様に colloid 状態のものでは、その結合力が微弱であるため游出量が少々劣るものと想われ肝臓に捕捉されている負荷鉄が、それぞれ異なつた状態で存在することを示唆しているものと考えられる。

還元剤使用実験

i) 正常動物肝臓を ascorbin 酸混和 tyrode 液で灌流した場合の成績

還元剤として ascorbin 酸を選んだ。還元剤は作用させる medium の pH の差により、その還元能力に大きな差を示すことは、第5図 i) ii) から明らかで

第5図 i) Ascorbin 酸 灌 流

あるが生体により近い範囲で実験すべく以後の実験の灌流液は、総べて pH 6.8~6.5 に補正した後実験した。第5図に b) 示す様に 50 mg% ascorbin 酸灌流では游出量は初期にすでに多量に、後期は漸増する曲線を描き、100 分間の総量は 48.3 r であつた。

100 mg% の灌流では総量 64.0 r 游出し 250 mg% になると少々増加を招き、総量 80 r となつた。

ii) 鉄負荷肝臓に ascorbin 酸を灌流した実験 鉄剤は上記3種類のものを予め静注し、1時間 30 分後の肝臓について実験した。その成績は第6図である。

第6図 FeAC 負荷後 ascorbin 酸灌流
a) Ascorbin 酸 250 mg% 游出総量 (129.3 r)
b) Ascorbin 酸 50 mg% (48.3 r)
c) Ascorbin 酸 100 mg% (74.6 r)

第6図 FeAC 負荷後 ascorbin 酸灌流
FeAC 投与肝臓からは 50, 100 mg 及び 250 mg% と ascorbin 酸量が増すとに従い 游出鉄量が増加して来るが 50 mg% ascorbin 酸投与例では、総量 48.3 r で鉄を負荷しないものと殆んど同一であり、鉄負荷の影響があらわれて来ない。100 mg% になると総游出は鉄量 74.6 r となつて ascorbin 酸単独投与例 64.0 r に較べて少々増加する傾向がみられた。250 mg に ascorbin 酸を増すと ascorbin 酸単独の場合に較べて明らかに増大し総鉄量は 129.3 r となつた。且つ、曲線に初期後期 2 つの峰が画かれる。

imferon 負荷例では第7図の様に ascorbin 酸 250

第7図 Imferon 負荷後 ascorbin 酸灌流
a) Ascorbin 酸 250 mg (73.6 r)
b) Ascorbin 酸 100 mg% (63.4 r)
c) Ascorbin 酸 50 mg% (46 r)

mg 流しても鉄の総游出量は 80 r 前後で ascorbin 酸 250 mg 単独投与の場合と殆んど同一であつた。然し游出曲線型は FeAC 負荷の場合とよく似ている。

gluferricon 例では、総游出鉄量 70.5 r であまり ascorbin 酸の効果を認めなかつた。次に負荷鉄不足のため明らかでないことを考慮して負荷鉄を 5 倍に増した 22.5 mg/kg 投与実験を行つた。FeAC 第 8 図 a) の様にその游出鉄量が 250 r に増加したが imferon も第 8 図 b) の様に灌流開始と同時に急速に増し、凡

第 8 図 各種鉄剤大量負荷後 Ascorbin 酸灌流

そ 30 分後に再び急激に減少する曲線を示し、総鉄量は 133 r であつた。やはり著明とまでゆかぬが増加した。gluferricon の場合は前 2 者と異なり 78.5 r 前後で投与鉄の増大に關らず僅か増加の傾向に止まつた。

負荷鉄増量に伴つて増加したとは云え、FeAC 群と imferon, gluferricon 群とは明らかに游出量が相違していることが解る。この ascorbin 酸の実験成績からも、組織に捕捉される鉄の状態は明らかに異なること、即ち、FeAC は主として ion 化し易い鉄としてあるため容易に還元され、imferon 及び gluferricon は未だ colloid の状態の儘存在する為還元され難いことが推知出来る。

Cortisone 投与実験

副腎皮質 hormone である cortisone は網内系細胞を活性化して鉄の摂取を増加すると云われる。これに關する研究は、最近横瀬¹⁶⁾、R.C. Crafts¹⁷⁾ らによつて報告確認されている。網内系細胞によつて摂取されるものは主として colloid の性状を持つものであり、

ion 化物質は実質細胞に取り入れられると信じられている。従つて本実験に使用する鉄剤もそれぞれ性質の相異により異なつた細胞に摂取されるので、游出に際しては異なつた態度を示すことが推定される。ここで cortisone を予め投与し網内系細胞を活性化し次で鉄剤を負荷して充分鉄を摂取させた後 ascorbin 酸による鉄の游出がどの様になるかを追究した。

cortisone は 25 mg×5 を皮下注射し、その最も効果が著明である 4 時間後に鉄を負荷し、更に、その後 1 時間 30 分経つた肝臓について実験を行つた。この際効果の判定を容易にするため 負荷鉄は 22.5 mg の多量を用いて行つた。成績は第 9 図である。

第 9 図 Ascorbin 酸の鉄游出効果に及ぼす Cortisone の影響

FeAC は第 9 図 a) 曲線の様な線過をとるがその游出総鉄量は 119.6 r である。imferon 負荷の場合は b) 曲線で総游出量は 60.7 r であつた。gluferricon 投与曲線 c) では 73.2 r と imferon 負荷に較べて少々游出量が少ないようであつた。

この成績から cortisone によつて網内系細胞を活性化すると gluferricon, imferon 共に ascorbin 酸による游出が制約されることが解つた。

Adrenaline 灌流実験

末梢血管を収縮する adrenaline を投与した際の鉄游出状況を観察した。adrenaline は 1 mg% とし連続投与を行なつた。この際灌流液が血管の縮小によつて僅に減少するので、灌流液の圧を調節して正常量を保持様心掛けた。

正常肝臓の場合は第 10 図 c) 曲線に示す通り灌流

第 10 図 各種鉄剤負荷後に Adrenaline を灌流した成績

が進むに従い、一時低下した鉄游出は再び増加し 60 分を境として再度減少する。然し正常肝臓 tyrode 液のみの灌流に比較すれば adrenaline の作用によつて著明に増加を招いていた。

FeAC 4.5 mg/kg 負荷動物肝臓の adrenaline 灌流の場合は a) 曲線の様に adrenaline 単独投与の場合と全く同型の経過を示しているが総鉄游出量が稍々多い。

gluferricon を 4.5 mg/kg 負荷例では曲線 b) の様に、全体としてみれば前実験と同一の経過であるが游出鉄量は adrenaline-tyrode 液単独灌流に較べて僅かながら少ない様に思われる。然し少くとも FeAC 負荷例に対しては、その游出鉄量の減少は確実に認められた。実験の始めにこれら鉄剤の溶存型体から推して adrenaline の投与により細胞内に深く浸入している鉄は余り影響を受けずむしろ末梢血管に沈着している colloid 性の鉄及び網内系捕捉鉄の一部が血管の縮少のためおし出され、游出鉄の増加を招くであろうと期待したが全く逆の成績が得られた。この成績から判断すると colloid 性の鉄は血管縮少によつて更に流動し難くなり、より狭小の部分に押込められ、游出の主体はむしろ従来から考えている細胞内 labile 鉄であり、これが adrenaline の作用で押出されることを示すものと想われる。

Sprase (Hyaluronidase) 投与実験

拡散因子として広く識られている sprase の鉄游出に及ぼす影響を調べた。衆知の通り D. Reynald が見

出した hyaluronidase は結合組織の基質をなしている hyaluron 酸を水解して基質の粘稠性を急速に減じ組織内での液体の拡散を容易にするもので、所謂組織の滲透性又は通過性を良好にすると云われ¹⁸⁾, acetylcholine 或いは、histamine 等の細胞膜の滲透性を変えるものとは、その作用機構が異なる。この拡散因子を用いて游出の態度の変化を観察した。

第 11 図 i) ii) はその成績である。sprase の使用量は 4,000 unit 及び 8,000 unit を灌流液 250 ml 中に溶解させたものである。第 11 図 i) a) 及び b) にみる様に何れも tyrode 液のみの場合に較べて著明な増加が起る。酵素濃度の相違は鉄游出に余り影響を認めない。このことは sprase 8,000 unit を直接門脈に注入した場合も游出量は殆んど同一であることから解る。予め FeAC を Fe として 4.5 mg/kg 負荷した

第 11 図 i) Sprase による灌流

第 11 図 ii) FeAC, Imferon 負荷後に Sprase で灌流した成績

家兎肝では、第 11 図 ii) a) の如く游出量が著しく sprase 投与 30 分後峰をもつて増加する。この曲線型からみると組織間隙に蓄積していた鉄が sprase の作用によって細胞間隙の緊張がとれ游出を招いた様に思われる。実験後半期の流出増加の理由の解釈は困難だが、或いは細胞個体に含有されている鉄によるもので負荷の有無に関係がないのではなからうかと思われる。

imferon の場合は 11 図 ii) b) の様に sprase 単独投与の場合と殆んど同様であつた。

gluferricon 負荷例では第 11 図 iii) の如く一例は

第 11 図 iii) gluferricon 負荷後に sprase で流した成績

極めて初期の流出は認めるが次第に減少し、その游出総量は 45 r であつたが、その他 2 例では曲線に示す通りそれぞれ 57.9 r, 6,450 r と少々游出鉄量が増す。その曲線型及び鉄量は sprase のみ流したものと殆んど同じであつた。

cortisone で鉄の捕捉が増加した肝臓に sprase を投与した実験

先の実験により colloid 性鉄剤は cortisone の投与により肝臓に強く保留されて tyrode, ascorbin 酸灌流による游出に対して抵抗することを識つたが、この状態の肝臓に sprase を作用させてみた成績は第 12 図である。この結果は極めて興味あるもので、FeAC 負荷検体游出曲線型は a) a) b) の如くであるが、総鉄量は 160 r, 125 r で平均 143.5 r と多量の鉄流出が起つている。

cortisone 非投与群に及ぼす sprase の効果より稍

第 12 図 Sprase の鉄游出効果と cortisone との関係

々増加の傾向を示す。このことは cortisone によって網内系の活性化が起り網内系細胞に摂取される鉄の絶対量が増加したためとも考えられる。

gluferricon の場合も曲線 C) の様に総鉄量 106 r で明らかに増加した。

考 按

何等かの理由で臓器の鉄が減少した場合、それを急速に補うためには、どのような種類の鉄剤を使用するのが、最も効果的であるかと言う問題は古くから検討されたが、今尚新しい課題である。鉄 ion は極めて毒性が強いため、非経口の投与の場合には、種々鉄剤が考案されている。即ち、製剤は鉄醋塩として、或いは colloid 鉄として用いられているが現在でも充分その目的に沿つたものは無い様である。

小泉は静脈内鉄負荷後の消失速度から真の臓器の鉄要求度を識るために種々の鉄剤、例えば ion 化性鉄として FeAC を、colloid 鉄としては血漿の pH で極めて安定な imferon 及び不安定な gluferricon の 3 種類を使用して研究しているが⁷⁾、その結果から、FeAC が最もこの目的に適すると云う。gluferricon は消失速度は最も急速であるが、これは組織への物理的沈着によるもので、目的に添わないと報告している。colloid 鉄の沈着も結核は水解されて細胞内に捕捉さ

れるに到るであろうが、少くとも投与後、一定期間は
その儘の状態 で存在することは確かであるから、たと
え圧倒的に他の鉄剤に較べて臓器に多量捕捉されたた
としても、その短時間内での利用率は極めて低いこと
になる。細胞に攝取され貯蔵鉄へ転換するには、遊離
の鉄 ion の型を経ることは当然であるが、この転換の
容易さは負荷鉄の利用度の標尺となり得るから、生理
的条件下で、この速度を予め知ることは極めて重要な
ことである。血色素の再成速度から推すことも 1 つの
方法であるが、その生成過程が種々の因子によつて影
響を受けるために鉄そのものの利用率を知るには適当
でないと思われる。

そこで著者は、その手段として肝臓灌流法の応用を試みた。即溶存状態の異なる3種類の鉄剤を予め負荷した後、種々の鉄流出を促す条件を与えて、その際灌流液に出現する鉄量を比較することにより負荷鉄剤の効率を議ろうとしたのである。

使用鉄剤は小泉に準じ ion 化鉄としては FeAC を、安定 colloid 鉄剤は imferon、不安定な colloid 鉄としては gluferricon を使用した。

実験によって得られた多様な結果を解析して効率の良否を比較する場合に、これら溶存状態の異なる鉄剤がどのような状態で組織に捕捉されているかを予め承知して置く必要がある。従来 ion 化鉄剤は実質細胞に colloid 性の鉄は網内系細胞に摂取されると云われ、事実組織学的の所見はそれを明確に認めている。

肝臓の組織学的な構造を考えると血流は肝動脈を通して肝臓に入るが末梢に於いて門脈血流と合して sinusoid を形成して肝臓 lobus を通つた後中心静脈に集つて vena cava sup. に入る。sinusoid と肝細胞群との間には、所謂 perisinusoid space を形成し組織液で満されている。これは lymphに通じるわけである。肝 lobus を通る sinusoid の一部のものは、末梢動脈との連絡がないもので、所謂 venous sinusoid 又は arteial sinusoid と呼ばれるものもある。

末梢毛細管は門脈に較べてその内容は狭少である
(第 13 図 1～2 参照)

搬入されれば、末梢血管の部で沈着すると同時に vena portae と混合した後 sinusoid に移り、この部分に沈着するか、又は kupper 細胞に喰食される。これに対し非沈着性の ion 化鉄剤は sinusoid 膜を通過して perisinusoid space に移動し更に細胞実質に摂取されるであろうと思われる。

これらの推察が正しいかどうかを解明すべく透過性を変化させる薬剤を用い、且前記性状の異なる 3 種の鉄剤を用いて検討した。即ち、各 3 種鉄剤を負荷した後、細胞膜の透過性を亢進すると云う acetylcholine 及び histamine を流すと游出鉄は約 30 分に峰を持つ増加が起る。この際 FeAC が imferon 並びに gluferricon にくらべて、少々多い様に思つて差支えない結果であつた。最も、膜の透過性に関係するものは、sinusoid 膜並びに肝細胞膜であろうが、先ず perisinusoid space 中のクエン酸 ion 鉄が游出して来るものと推定出来る。

同時に肝細胞内にある游離 Fe^{++} も出動を起すであろう。これ等の鉄量は恐らく FeAC 投与群が最も多く imferon がこれに次ぎ gluferricon 群では僅少と考えられる、従つて灌流による鉄の流出量は、この順序に差が認められると考えたが、然し実際には、gluferricon と imferon との間には、それ程著明な差がなかつた。これは後 2 者では space 中に蓄えられる鉄量自体にそれ程大きな差がないものか、或いは実験法が不鋭敏のために相違を認められないか何れかであろう。

然し、一時的の鉄流出が起ることを考えると space 及び細胞中の蓄積鉄の游出を想わしめる。名和が細胞内にある labile 鉄の游出と考えたことと一致する。

鉄と強力な結合力をもち錯塩を作る EDTA 及び *o*-phenanthroline を用いた場合も perisinusoid 或いは実質細胞中の鉄が游出するもので、colloid 性の鉄剤が出動しにくいのは錯塩形成が容易でないためと考えられる。

次に還元剤を灌流した場合の成績をみると ascorbin 酸濃度の増加に伴い流出鉄量が増して来た。このことは組織内鉄が還元に伴つて游出することを物語る。FeAC が最も著明で imferon 及び gluferricon がこれに次ぐ。ascorbin 酸 250 mg%, 負荷鉄 22.5 mg/kg の多量投与の際は FeAC 及び imferon の実験例では鉄游出が灌流直後と 80 分前後と二度認められたが、この初期の游出が perisinusoid space の鉄及び実質細胞中の labile 鉄が還元されたものか、或い

は kupper 細胞に摂取された鉄が出たものかは予断を許さない。

然し gluferricon が極めて沈着し易いため perisinusoid space には入り難いと思われること、且還元によつてその初期の増加を認めなかつた実験成績から考えると FeAC 及び imferon 例の初期増加は、むしろ perisinusoid 又は実質細胞中の鉄によるものと考えた方がよいかも知れない。又 perisinusoid space の鉄又は実質細胞内の鉄の方が、kupper 細胞内に視られる colloid 性の鉄の型より容易に還元されるであろうことは考えられるので前述の推定に有利である。

次に adrenaline 投与実験について考えると、従来 adrenaline は末梢血管の血流の増加を招くことはよく知られている。然し急速な静注又は腹腔内投与で、反つて減少を招き²⁾、又灌流実験で肝臓が anoxia に傾く状態では、正常の場合と異なつた反応性を招くと云われている²⁰⁾。sinusoid は spranchnic arteries よりも adrenaline に対して、反応性は弱いと云われるが²¹⁾著者の実験では明らかに灌流液の減少を認めている。従つて adrenaline 灌流は僅かながら圧を調節して灌流液量を同一にする様にしたわけである。正常動物肝臓を adrenaline 加 tyrode 液で灌流すると、直ちに一過性の明らかな鉄の游出が起るが、また直ちに減じその後 40~60 分を峰として初期の増加を上廻る著しい出動を認めた。生体に adrenaline を投与すると、常に投与初期血清鉄の増加を認めることとよく一致する⁴⁾。

生体の場合はその後直ちに急速な低下を招くが、これは adrenaline による cortison の分泌増加が起り網内系の鉄摂取が亢進したためによるものと思われる²²⁾。本実験群の游出鉄の機作については充分説明し難いが arterial sinusoid の収縮並びに perisinusoid space の圧縮等によつて放出が起るためと思われる。

FeAC の負荷家兎の肝臓の場合は adrenaline 単独投与の游出曲線と極めて類似する、游出は多少増すが、特に著しく増加するとは云い難い。これは網内系細胞の鉄及び肝細胞中の貯蔵鉄は関与せずに末梢血管及び perisinusoid 中に含まれる鉄のみが游出するためであろうことを思わせる。

imferon 及び gluferricon 負荷では adrenaline 単独投与の対照に比べて殆んど大差なく、むしろ減少の傾向があると云える。これら鉄剤が沈着又は網内系細胞に捕捉されたとすれば、血管の縮小によつてより流

出が困難になったかもしれない。

cortisone 投与実験成績は又興味ある結果を得た。既に述べた様に cortisone は網内系細胞を活性化して鉄の摂取を増強すると云われるが、cortisone を投与後その作用が最も強い時期、4～5時間後に3種類の鉄剤を負荷し、更に1時間30分後に肝臓灌流を還元剤添加の下に行うと colloid 性鉄投与群では游出の増加が著明でない。これは活性 kupper 細胞に摂り入れられた場合は ascorbin 酸によつて還元速度がにぶくなるためと考えなければ説明がつかない。

次に space を単独に灌流した場合 tyrode 液単独のものに較べて明らかに游出鉄量の増加が起つて来た。又、鉄剤負荷後の肝臓を sprase で灌流すると夫々の鉄非負荷例に較べて游出鉄量が増加したが、その割合は FeAC が最も多く imferon, gluferricon では、明瞭でなかつた。ところが cortisone を投与した後、鉄を負荷した家兎の肝臓について sprase を灌流してみると明らかに何れの鉄剤負荷例でも游出鉄量の増加をみた。この両者の矛盾についてはよく解らないが cortisone が網内系以外にも作用を持つものか、又 sprase か何等かの道を通して作用し cortisone の網内系細胞鉄捕捉効果を減弱する為のものかも知れぬ。然し Fe が sprase の作用を抑制すること、cortisone も又 sparse の作用を抑制すると報告されること等を考え合わせると、必ずしも満足な説明とは云い難いかも知れない。更に詳細な実験が必要と思われる。

稿を終るに臨み恩師島田教授の御懇篤なる御指導、御校閲に深く感謝し、併せて種々御助力を願つた中島信治博士始め

栄養学教室各位並びに神成節子嬢の御援助に深謝致します。

文 献

- 1) 明石敏彦：日本医大誌，**26**，471 (1956)
- 2) A.S. Gorden et al：Annal, New York Academy of Science, **52**, 31 (1949)
- 3) 吉野芳夫：生化学誌，**27**，53 (1955)
- 4) 山口文男：日本医大誌，**27**，1 (1960)
- 5) P. Saltmann：J. Biol. Chem., **220**，741 (1956).
- 6) C.E. Rath and C.A. Finch：J. Clin. Invest., **28**，79 (1949).
- 7) 小泉泰孝：日本医大誌，**23**，70 (1957)
- 8) 名和長昌：日本医大誌，**26**，462 (1959)
- 9) G. Barkan：J. Biol. Chem. **135**，37 (1940).
- 10) R.O. Wellenstein et al：Iron in clinical Medicine Univ. of California press (1958).
- 11) 前島 豊：日本医大誌，**26**，987 (1959)
- 12) 福 島：血液学討議会報告，II輯 1 (1949)
- 13) 山下泰道：日本医大誌，**26**，1374 (1959)
- 14) J. Lange：Eisen, Kupfer und EiweiB an Beispiel der Leber-Krankheiten. Georg Thiene Verlag Stuttgart.
- 15) A.E. Martell：Chemistry of the Metal Ckelate Compounds (1952).
- 16) 横瀬武正：日本医大誌，**24**，8 (1956)
- 17) R.C. Crafts et al：Endocrinology, **41**，341 (1948).
- 18) 榊原 仟：Hyaluronidase と臨床，医家叢書 53. 医学書院 (1953)
- 19) M. Ginsberg et al：J. Physiol, **123**，574 (1954).
- 20) H. Hopper，：Liver；Structur and Funktion I McGraw-Hill book company, Inc. New York **131** (1957)
- 21) C. Smith et al：J. Clin. Invest., **32**，625 (1953).
- 22) G. Sayers and M.A. Sayers：Endocrinoe, **40**，265(1947).
- 23) J.C. Opsahl：Yale J. Biol. Med., **21**，255 (1949) : **22**，115 (1950).