— 綜 説 —

鉄欠乏についての生化学的観察

吉野 芳夫*

日本医科大学第2生化学教室

Biochemical observation on iron deficiency

Yoshio Yoshino

The Second Department of Biochemistry, Nippon Medical School

Iron deficiency including prelatent, latent and manifest conditions is a common form of nutritional deficiency. It occurs even in industrialized countries. In the deficiency not only haemoglobin concentration in blood and iron storage in tissues are reduced, but also specific activity or concentration of intracellular iron containing enzymes in biologically active tissues is affected. Consequently it should be considered as a systemic disease, which has several baneful influences upon the whole body.

The biochemical approaches to the psychic and physical dysfunctions which are seen in iron deficiency and some results obtained therewith are described here. The biochemical methods, such as the measurement of the biological activity of intracellular haem proteins and metalloflavoproteins, the evaluation of serum ferritin concentration and its isoform pattern, and the determination of protoporphyrin concentration in circulating red blood cells, may contribute to the understanding of the biochemistry of iron deficiency as reliable tools.

Key words: iron deficiency, metalloflavoproteins, serum ferritin, erythrocyte protoporphyrin

はじめに

鉄欠乏は栄養状態が充実しているといわれる現在においても頻発する特殊な栄養障害のうちの一つである。しかも先進国または途上国の住民であることに区別なく、それぞれの原因によって惹起するため、広範囲な栄養問題として関心を集めている。WHO 報告においても、1968, 1972, 1975 年など数回にわたってこの問題を取り上げて¹⁻³⁾、注意を喚起しているが、ある種の栄養素欠損にみられるような致死の影響または深刻な後遺症を残さないものと理解されるために、関心を持たれる割合に比べて、その対策を実践する面での熱心さに欠ける傾向にあると思われる。

鉄欠乏の成因については、①外的因子 (agent)、たとえば食物の含鉄量または食物含有鉄の利用効率、②ホ

ストの代謝状況 (host)、たとえば成長、月経または出血による影響、③環境因子 (environment)、たとえば鉤虫症罹患など、成因を分類し検討が加えられているが⁴⁾、そのような疫学的観察は別の機会に譲ることとし、ここには鉄代謝の一環としての鉄欠乏についての生化学的観察を述べることにする。

鉄欠乏を症状の進行状況に従って描写すると、①鉄消耗 (Iron depletion)、②貧血を伴わない鉄欠乏 (iron deficiency without anaemia)、さらに③貧血を伴う鉄欠乏 (iron deficiency with anaemia) の3段階を区分できるが、また名称を prelatent, latent or manifest iron deficiency と表現する方法も行われる⁴⁾。鉄消耗とは端的に表現すると、骨髓 hemosiderin の低下または欠損であり、なおこの範疇には最近注目される血清 ferritin 濃度の低下も含まれる。次に貧血を伴わない鉄欠乏とは上記の貯蔵鉄の欠損に加えて、transferrin 鉄飽和率が15%以下となる状態を意味し、最後に貧血を伴う鉄欠乏とは以上の変化に加えて貧血を併発する場合である⁴⁾。なお貧血をいかに定義するかは困難な問題であるが、WHO報告²⁾ (1972 年) では年令および性別に hemoglobin (Hb) 濃度を基準とし

* 教授

Present address: The Second Department of Biochemistry, Nippon Medical School, 1-1-5, Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

Fig. 1 Theoretical frequency distribution curves for haemoglobin concentrations in (A) subjects with normal haemoglobin levels and (B) subjects with anaemia. The observed distribution of haemoglobins in the total population reflects the summation of distributions in these two subpopulations (WHO, 1972).

—from Ref. 4).

て、次の濃度以下となるものを貧血と示唆している。幼児（6月～6年）11 g/100 ml, 小児（6年～14年）12 g/100 ml, 成人男子 13 g/100 ml, 成人女子 12 g/100 ml, 妊婦 11 g/100 ml.

ただし、このように単一の基準に基づいて“貧血”という術語で表現される非生理的状態を判断することの妥当性に疑問を表す意見もある。例えば、ある集団の人々を Hb 濃度によって分類すると、正常群および貧血群という2つの subpopulation を設定されるが、各群の変動範囲には Fig. 1 に示すように分布の重複の存在することが予期され、1種類の測定値では解決されない曖昧さを認めるからである⁴⁾。したがって鉄欠乏を鉄代謝の観点から正確に理解するためには、生体の鉄化合物（その多くは鉄蛋白質であるが）がいかに存在し、作用するかをなるべく数多くの項目について測定することによって評価するのが最も基本的態度であろうと考えられる。

生体内の鉄の90%はHbまたはferritinおよび hemosiderin 分画に含有されるが、その他に細胞内の鉄蛋白質として数多くの物質があり、しかもそれらの動態は鉄欠乏に際してHbと同様に変動するのみならず、鉄負荷によってHb濃度の回復と時期的に同調したり、または先行して回復するのが認められている⁵⁾。したがって鉄欠乏とは単にHb濃度と貯蔵鉄量によって評価され、一般に認められるように約8週間の経口的鉄負荷によってHb濃度が回復すれば⁶⁾、それで治療の目的が達成されたと考えるような生体への

影響力の限定されたローカルな栄養障害ではなくて、多種類の細胞機能に、その酸化還元系または酸素備蓄作用を通じて影響を持つ系統的代謝障害であることをまず理解しなくてはならない。換言するとHb濃度の低下によって直接的に到達するとは思われない機能上、または形態上の異常の発見が鉄欠乏の生化学的研究には含まれることとなる。このような観点に基づいて、鉄欠乏における異常のうち生化学的に興味深いいくつかの現象について述べることにする。

生体の鉄蛋白質への鉄欠乏の影響

1. haem 蛋白質⁵⁾

myoglobin は筋肉細胞に含有される赤色の色素蛋白質で、分子量17,000、筋肉収縮に伴う好氣的酸化に必要な酸素分子を備蓄する作用を持つ。1個のhaemと1個のglobin鎖から形成される単量体である。成人のmyoglobin含量はHb量の約20%と推定される。ヒトmyoglobin含量に対する鉄欠乏の影響は確立されていないが、ブタおよびラットでは鉄欠乏のために成長に伴うmyoglobinの増加(Fig. 2)は阻止される。しかし筋肉の種類によってその影響は一定でなく、ラットでは骨格筋 myoglobin 濃度は顕著に低下するが、心筋での濃度変動はほとんど無いと認められた。

cytochrome 系酵素群は電子伝達系であり、代表的なものに cytochrome b, c および a (cytochrome oxidase) がある。好氣的酸化作用を営む細胞のミトコンドリア内膜(嵴部)に存在する。そのうち cytochrome c はかなり性状が判明しているが、赤色蛋白質で、分子量13,000の単量体である。動物実験によると鉄欠乏の早期において、小腸上皮および骨格筋における濃度は対照に比べて30%にまで低下する。しかしほかの臓器、たとえば心筋または脳では重症鉄欠乏の場合でもその濃度変化はほとんど無い。肝臓および腎臓における変化は中間型である。

cytochrome oxidase 活性は組織化学的に測定可能である。鉄欠乏に際してヒト頬粘膜または小腸上皮の酵素活性が急速に下降するため、鉄欠乏の診断に利用される。Dagg らによると⁷⁾、吸引生検装置を用いてヒト頬粘膜から試料(直径1～2 mm)を採取し、肝臓または腎臓に埋没し、凍結下で薄片標本を作製する。一部にN-phenyl paraphenylene-diamine 処理を施すとともに、残りの標本を haematoxylin-eosin 染色を行い酵素活性の位置的關係を調べた。cytoch-

Fig. 2 Myoglobin concentrations in the skeletal muscle of the rat during development and treatment of iron deficiency. Arrows at 36 and 56 days indicate initiation of ferrous sulphate in each of two groups. Standard errors of the means are shown. (From Dallman and Schwartz, 1965 b.)
-from Ref. 5).

Table 1 Cytochrome-oxidase activity of buccal mucosa, and oral epithelial changes, in normal subjects, and in patients with sideropenia and iron-deficiency anaemia (The oral epithelial changes consisted of atrophic glossitis and cheilosis)

Cytochrome-oxidase activity	No. of normal subjects	Sideropenia		Iron-deficiency anaemia	
		Total number	No. with oral changes	Total number	No. with oral changes
+++	7	1	0	2	1
++	1	8	1	4	2
+	0	4	1	9	5
0	0	3	0	6	2
Total	8	16	2	21	10

-from Ref. 7).

cytochrome oxidase 活性の存在は暗紫色顆粒として認められるが、上皮細胞の基底層に最も多数あった。正常人、潜在性鉄欠乏および鉄欠乏貧血患者についての検査結果は Table 1 に示すごとくで、酵素活性の評価を卅, 卅, + および 0 の 4 段階とすると、正常人では 8 例中 7 例が卅, 潜在性鉄欠乏では 16 例中 12 例が卅~+ であり、また鉄欠乏貧血では 21 例中 15 例が +~0 となったために、鉄欠乏の進行状況を忠実に追跡すると認められた。しかし、このような酵素活性度の低下が鉄欠乏患者にしばしば認められる非特異的症狀である慢性疲労、神経過敏または神経症の原因となるかどうかについては推測の域を出ない。なおラットを用いる動物実験によると、鉄欠乏飼料で飼育後 3 週

間および 8 週間後に cytochrome c および cytochrome oxidase 活性の低下をそれぞれまねいたという報告があるので、cytochrome 系酵素の代謝回転はかなり急速であると想像される⁵⁾。

catalase と peroxidase, catalase は分子量 240,000 の巨大な酵素蛋白質で、赤血球と肝臓に豊富に含有される。赤血球 catalase 酵素活性を Hb 単位重量あたりの比活性として表現すると、鉄欠乏状態のものと正常状態とでは差がないか、または軽度低下を示すに過ぎない。したがって catalase 活性は鉄の供給と無関係であるごとくに認められた。しかし Hb の絶対量が鉄欠乏において減少する事実を考慮すると、catalase と Hb の生産速度は平行するの気付くわけである。

なお、ラット肝臓の catalase は鉄欠乏に際しほとんど無変化である。また peroxidase には一定の特性が無いらしい。骨髓性白血球に含まれる myeloperoxidase は鉄を内蔵するが、赤血球の glutathione peroxidase には鉄の存在が認められない。しかし赤血球の本酵素活性は鉄欠乏において減少するという報告もある⁵⁾。

2. 金属フラビン蛋白質 (metalloflavoprotein)

細胞内の鉄蛋白質には酵素活性を持つが、鉄は haem の形態ではなく、しかも化学的性質が比較的不明瞭なものがある。このグループの大部分は metalloflavoprotein と呼ばれるもので鉄原子と flavin を作用族として包含している。NADH dehydrogenase, succinate dehydrogenase, monoamine oxidase, xanthine oxidase および aldehyde dehydrogenase などが代表的物質である。これらの酵素が鉄欠乏に際してどんな態度を示すかについて、なお十分に明らかでない⁵⁾。

xanthine oxidase は周知のごとく hypoxanthine または xanthine を酸化し、最後には尿酸を生成する酵素である⁶⁾。この酸化作用の電子受容体として酸素分子のみならず Fe^{+++} イオンも働くため、反応系には尿酸生成と共役して過酸化水素または Fe^{++} イオンを出現させる。これら生成物が鉄代謝に大きな影響を及ぼす可能性が推定されるために、鉄代謝への貢献が注目される。この酵素は2個の均等な subunit から合成され、subunit の分子量は約 150,000 あり、そのうちに1原子の Mo^{6+} 、1分子の FAD および1個の Fe_4S_4 化合物が含まれる⁸⁾。肝臓、小腸および腎臓に高含量で存在するため、第1には haem の腸管吸収にあたり、haem からの鉄出動は管腔内では起こらず色素のままで吸収され、小腸上皮細胞または肝細胞で haem 開裂を起こし、鉄を分離するのは従来より知られているが、haem 開裂機構における酸化剤として、xanthine oxidase の反応生成物である過酸化水素の貢献が重要視された⁹⁾。第2に同じく反応産物である Fe^{++} イオンが貯蔵鉄 (ferritin または hemosiderin) からの鉄出動に不可欠な因子と認められた。なぜなら ferritin または hemosiderin に含有される鉄ミセルは水酸化鉄の集合体 (Fe^{+++}) であるが、 Fe^{+++} イオンの中性溶液での溶解性は 10^{-17}M ときわめて難溶であり、したがって細胞内の貯蔵鉄は完全に安定である。一方、 Fe^{++} イオンは中性溶液で 1 M 程度の溶解性を持つため、きわめて溶解性が高く、貯蔵鉄を出

動させるためには $\text{Fe}^{+++} \rightarrow \text{Fe}^{++}$ 還元機構の作動が本質的に不可欠であると考えられた。鉄の腸管吸収、細胞膜を通過する鉄輸送または貯蔵鉄の出動など Fe^{++} イオンの関与を必要とする部位は、また xanthine oxidase の豊富に存在する位置と一致するために、この酵素の作用と共役する鉄の出動現象の存在は理論的に根拠を持つと考えられた¹⁰⁾。上記の2作用について allopurinol を使う酵素阻害実験の結果などを含めて、肯定的意見および否定的意見ともに現在併存する状態であるが^{11,12)}、xanthine oxidase の作用は鉄出動に関与する複数の反応系のうちの1種であると考えるのが妥当と思われる⁵⁾。

monoamine oxidase (MAO) は脳、肝臓などの臓器細胞のミトコンドリア外膜に固着する oxidase であって、生理活性を持つ monoamine 類—たとえば epinephrine, norepinephrine, serotonin, tyramine, histamine などに酸化的脱アミノ反応を施す酵素である⁵⁾。その反応生成物はそれぞれに該当するアルデヒド誘導体とアンモニアであるが、アルデヒドはさらに酸化を受けてカルボン酸に転換する。serotonin を例にとると⁸⁾、この物質は tryptophan の誘導体 5-hydroxy-tryptamine であるが、MAO に触媒された酸化作用によってアルデヒド型 (5-hydroxy-tryptophal) とアンモニアを生成し、アルデヒドはさらに酸化を受けて 5-hydroxyindole acetic acid に変化し尿に排泄される (Fig. 3)。ところで鉄欠乏患者に認められる刺激感受性の亢進の機作として、鉄欠乏に起因する MAO 活性の低下が neural mediator の崩壊速度を

Fig. 3 Conversion of serotonin to 5-hydroxyindoleacetic acid

Table 2 Effect of dietary iron deficiency on the metabolism of *n*-[1-¹⁴C] pentylamine and *n*-[1-¹⁴C] amyl alcohol to ¹⁴CO₂ in the rat in vivo. The result is expressed as the percentage of administered ¹⁴C recovered in expired gases as ¹⁴CO₂ in the first 60 minutes.

Diet*	Duration (days)	Rats (No.)	Body weight † (g)	Hemoglobin ‡	¹⁴ CO ₂ (%)
<i>n</i> -Pentylamine					
Supplemented with iron	9	3	78 ± 1	12.2 ± 0.4	32.1 ± 1.6
Deficient in iron	9	3	82 ± 2	8.7 ± 0.7	24.2 ± 2.3
Supplemented	15	6	109 ± 2	10.9 ± 0.5	31.1 ± 1.0
Deficient	15	6	94 ± 3	6.3 ± 0.5	20.4 ± 1.4
Supplemented	22	6	145 ± 4	11.9 ± 0.2	34.4 ± 1.2
Deficient	22	6	112 ± 4	5.2 ± 0.4	21.4 ± 1.2
Supplemented	29	6	184 ± 4	12.8 ± 0.2	37.0 ± 0.6
Deficient	29	6	132 ± 7	4.4 ± 0.3	22.0 ± 1.2
Supplemented	31	3	199 ± 7	12.9 ± 0.3	36.2 ± 0.4
Deficient, then supplemented	28 } 3 }	3	135 ± 12	6.7 ± 0.4	31.9 ± 2.2
Deficient, then supplemented	28 } 6 }	3	147 ± 13	11.2 ± 0.8	36.2 ± 2.9
Deficient	34	3	163 ± 8	4.0 ± 0.6	21.0 ± 0.6
<i>n</i> -Amyl alcohol					
Supplemented	30	3	137 ± 8	13.4 ± 0.4	39.1 ± 2.4
Deficient	30	3	134 ± 8	3.3 ± 0.4	42.9 ± 2.4
Supplemented	70	3	262 ± 8		39.2 ± 1.4
Deficient	70	3	207 ± 7		42.6 ± 2.0

* Rats consumed a nutritionally complete, that is, iron-supplemented diet, or the iron-deficient diet for the indicated number of days. In repletion experiments, rats received the deficient diet for 28 days, followed by the supplemented diet for the succeeding 3 or 6 days, respectively.
† Mean ± standard error is shown. ‡ Hemoglobin was determined on tail blood by the method of Clegg and King (5).

—from Ref. 13).

抑制することによってその細胞内濃度を維持させ、興奮性を高めるように影響するのではないかという考察が行われている。例えば serotonin は平滑筋収縮および血管収縮作用を持つが、脳における作用は十分明らかとはいえない現状にある。しかし大脳の活動に刺激を与えるとともに、その濃度の減少によって抑制的效果を持つと考えられる。なぜなら MAO 阻害剤である iproniazid 投薬後に精神興奮状態を発生させるが、それは MAO 活性を抑制することによって、serotonin の刺激作用を持続させたためと想像されるからである⁵⁾。

なお, Symes らは Sprague-Dawley (SD) ラットを鉄欠乏飼料飼育することによって in vivo で MAO 活性の低下を証明したが、それは行動科学上の変化に生化学的根拠を提供するものとして興味がある¹³⁾。方法の概略を説明すると、MAO に対する人工的基質である pentylamine, すなわち *n*-amylamine の [1-¹⁴C]

標識物の一定量を腹腔注射し、一定時間内に呼出される呼気の [¹⁴C] CO₂ を定量するもので、[¹⁴C] CO₂ 排出量は MAO 活性に依存する。鉄欠乏飼料飼育ラットでは飼育から 9 日後には排出量の低下を起し、3 週間後には対照の 60% 程度に減少した (Table 2)。つぎに鉄欠乏ラットに鉄負荷を始めると、3 日後には [¹⁴C] CO₂ 排出量の増加を起し、9 日後には対照ラットと同程度にまで回復した (Table 2)。なお、正常ラットに MAO 阻害剤の iproniazid 負荷後に、[1-¹⁴C] *n*-amylamine を経口投与すると、[¹⁴C] CO₂ の排出は極度に抑制され、また *n*-amylamine の脱アミノ誘導体である valeric aldehyde は同時に *n*-amyl alcohol 崩壊の中間産物でもあることから、鉄欠乏ラットに *n*-amyl alcohol を負荷すると、その崩壊速度は正常ラットと一致するなどの事実が認められたために (Table 2)、鉄欠乏ラットの *n*-amylamine 分解作用の遅延現象の律速因子は MAO 活性であるのが推定された。

なお、鉄欠乏小児は時として刺激に過敏 (irritable) であるが、その症状は経験を積んだ専門家の観察によると鉄剤治療から1週間後には回復する場合がある。それは Hb 回復よりも時期がかなり先行するという記載もあり、中等度の鉄欠乏小児では注意力の散漫を起こすという報告もある。さらに MAO 阻害剤負荷後に認められる行動の変化のうちに、不安、過敏などがあり、それは鉄欠乏患者の症状との間に共通性を持つのは興味ある現象である⁹⁾。

鉄欠乏ラットについての succinic dehydrogenase (SDH) 活性測定は Beutler らによって実施された¹⁴⁾。SD ラットおよび Holtzman ラットを鉄欠乏飼料で長期間飼育し、明瞭な貧血におちいるのを確認した後に肝臓、心臓および腎臓の本酵素活性をマノメーター法により測定した。この方法は臓器 homogenate を酵素とし、基質と反応させ、検圧計内での酸素消費量を計測するもので QO_2 ($\mu l O_2$ uptake/hour/mg dry-weight) として表現される。鉄欠乏ラットの肝臓の SDH 活性は対照と比べて不変であるが、心臓および腎臓の酵素活性は顕著な下降を認めた。

3. 血清 ferritin

血清 ferritin 濃度はきわめて微量であるため従来、ほとんど関心を惹かなかった。しかし ^{125}I - または ^{131}I - 標識抗 ferritin 抗体を使用する immunoradiometric assay (IRMA) が ferritin 定量法に応用されて以来、ヒト血清 ferritin 濃度の測定は広範囲に実施されている。正常状態における血清 ferritin 濃度の動態は被験者の貯蔵鉄量を忠実に反映すると認められるが、それは以下の現象を根拠としている。①血清 ferritin 濃度は繰り返し瀉血法によって測定された貯蔵鉄量と密接に相関し、②正常成人では常に男子 > 女子の関係にあり、③組織化学的方法で測定された骨髓 hemosiderin 顆粒の数量と密接に平行するのみでなく、④鉄欠乏患者に認められる貧血依存性鉄吸収の亢進現象との間に逆相関を持つのを認めるためである³⁾。わが教室で¹⁵⁾、東京周辺に居住する人々 (WHO 基準から貧血を否定される人々) について測定した結果では男子 205 名および女子 421 名の相乗平均値はそれぞれ 70 ng/ml および 12 ng/ml となった (Table 3)。なお無作為に選んだ高校生男子 (93 名) および女子 (240 名) について、それぞれ Hb 濃度と血清 ferritin 濃度との相対的關係を図示し、図内に血清 ferritin 濃度からみた貯蔵鉄欠乏の限界値 12 ng/ml¹⁶⁾、および

Table 3 Geometric mean, 95% confidence limits and median of serum ferritin is shown in apparently healthy nonanemic males and females.

	No.	Age	Geometric mean	95% Confidence range	Median
Male	205	16-25	70 ng/ml	12-411 ng/ml	68 ng/ml
Female	421	16-59	12 ng/ml	1-211 ng/ml	16 ng/ml

-from Ref. 15).

Fig. 4 A The relation between serum ferritin concentration and hemoglobin value in 93 high school boys. Four quadrants are made by crossing the lines of serum ferritin at 12 ng/ml and hemoglobin value at 13 g/100 ml.

Fig. 4 B The relation between serum ferritin concentration and hemoglobin value in 240 high school girls. Four quadrants are made by crossing the lines of serum ferritin at 12 ng/ml and hemoglobin value 12 g/100 ml.

-from Ref. 15).

WHO 基準に基づく貧血の限界値²⁾を境界として4分画を行うと、I群はHb濃度および血清ferritin濃度ともに正常群、II群は潜在性鉄欠乏を疑われる群、III群は鉄欠乏貧血を疑われる群、そしてIV群は鉄欠乏以外の原因に基づく貧血群と考えられる(Fig. 4A・4B)。この結果によると、男子の94.5%は正常群であるのに対して、女子では正常群は52.3%に過ぎず、しかも潜在性鉄欠乏者が40.7%もあるというきわめて特徴的結果を得た。女子に関する鉄栄養状態は欠乏症の限界線上にあるのを如実に示唆している。なお血清ferritin濃度を上昇させる因子として鉄過剰症(たとえば輸血過多のための鉄沈着症)、またはhaemochromatosis、肝障害または悪性腫瘍などが指摘されるが^{17,18)}、鉄欠乏以外の原因によって濃度低下を認める報告はみあたらないので、鉄欠乏を発見するための鉄の栄養評価法として血清ferritin濃度測定は有効な方法であると考えられる。ただし血清ferritin濃度測定についての問題点を指摘すると、まず抗血清の選択である。これまでヒト肝臓、脾臓または胎盤ferritinを抗原として抗体は作製されているが、各臓器ferritinには少なくとも5~6種類の同位体の存在が等電点電気泳動法によって測定されたpIの不均一性から検出されている^{15,19)}。そして肝臓および脾臓ferritinは比較的アルカリ側同位体を持つものに対して心臓、腎臓または胎児肝臓ferritinは比較的酸性側同位体を持つという特徴がある^{15,17,18)}。各種の臓器ferritin由来の抗体と各臓器ferritinとの組み合わせの場合をつくして抗原抗体反応を実施すると、反応性の強さに不均一性を検出される^{20,21)}。この事実は血清ferritinのオリジンはどこかという問題とも関連し、血清ferritin濃度測定用抗体の選択に関心がもたれる理由である。なお貯蔵鉄量を評価する目的にはヒト肝臓^{15,22)}または脾臓ferritin抗体²³⁾が一般に利用されるが、悪性腫瘍を研究するためには血清ferritin同位体パターンの変動を考慮したうえで、抗体の選択に注意を払わなくてはならないと思われる^{24~27)}。

4. 赤血球 protoporphyrin (PROTO)

PROTOはhaem合成の中間生成物であり、赤芽球および網赤血球のミトコンドリアに固着するferrochelataseの作用を受けて鉄原子を包含しhaemに進化する。しかしferrochelataseの異常、たとえば先天性障害または鉛中毒による酵素阻害、あるいは一方の基質である鉄の供給不足など反応条件を劣化させる

環境においてはhaem合成は完成されずに、異常に高濃度のPROTOを含有した赤血球が循環血液に出現する。先天性酵素異常において生産されるPROTOは遊離型であるが、上記の2種の後天的障害時に生産されるPROTOはZn-PROTOであるとされる²⁸⁾。血中鉛濃度は病因の鑑別に不可欠な因子であるが、小児では60 μ g/100ml以上、また成人では80 μ g/100ml以上が鉛中毒を発生する危険値と認められる²⁸⁾。なお赤血球PROTO濃度は平均値として正常人15.5 μ g/100ml赤血球となり、40 μ g/100mlを超えることは無い。潜在性鉄欠乏(sideropenia)では93.3 μ g/100ml(正常値に対して $P<0.001$)、また鉄欠乏貧血では159.2 μ g/100ml(正常値に対して $P<0.001$)という結果がある(Table 4)²⁹⁾。次に鉄欠乏患者を鉄治療開始後に経時的にHbおよびPROTO濃度の回復を比較すると、PROTOが正常値に復帰するのに少なくとも3カ月を必要とし、Hb濃度の回復よりも遅延するのを認めた(Table 5)²⁹⁾。ferrochelataseはミトコンドリアに固着する酵素であるため、ミトコンドリアの消失した成熟赤血球にはほとんど存在せず、したがってPROTO濃度の復原には新生赤血球の増加を待つほかはないという事情によると理解される。Pratoらは鉄欠乏患者の赤血球ではhaem合成のみならずPROTO合成も阻害されるという結果を発表しているが³⁰⁾、このことはhaem合成系における鉄の誘導機構の研究に示唆を与えるものである。

これまで行われたPROTO測定法は20mlという大量の血液と複雑な抽出操作を必要としたために、日常利用する検査とするには制約があったが³¹⁾、Piomelliは20 μ lの血液を使用する微量法を開発した³²⁾。そのためPROTO定量は慣用手段となり、鉄代謝研究に有力な武器を提供することとなった。

Table 4 Erythrocyte protoporphyrin levels in haematologically-normal subjects, and in patients with sideropenia and iron-deficiency anaemia

No. of subjects	Diagnosis	Erythrocyte protoporphyrin (μ g/100 ml. erythrocytes)	
		Mean ($\pm$ S.D.)	Range
30	Haematologically normal	15.5 $\pm$ 8.3	6.4-35.2
15	Sideropenia	93.3 $\pm$ 59.8	15.2-229.9
27	Iron-deficiency anaemia	159.2 $\pm$ 96.5	28.1-490.2

S.D. Standard deviation.

-from Ref. 29).

Table 5 Effect of iron therapy on haemoglobin and erythrocyte protoporphyrin in three cases of sideropenia and five cases of iron-deficiency anaemia

Sideropenia				Iron-deficiency anaemia			
Case No.	Duration of therapy (months)	Haemoglobin (g./100 ml.)	Erythrocyte protoporphyrin (μ g./100 ml.)	Case No.	Duration of therapy (months)	Haemoglobin (g./100 ml.)	Erythrocyte protoporphyrin (μ g./100 ml.)
5	Initial	12.3	66.1	16	Initial	9.9	200.5
	1	13.6	64.6		1	12.4	132.0
	2	13.1	43.3		2	13.4	—
	3	14.3	29.3		3	14.7	42.0
11	Initial	12.3	55.1	17	Initial	7.8	490.2
	1	13.0	45.0		1	12.1	283.2
	2	14.3	28.2		2	13.0	141.5
	3	14.0	29.9		3	13.5	104.8
12	Initial	12.4	229.9	18	Initial	6.6	172.5
	1	13.0	249.1		1	12.6	81.7
	2	13.9	202.5		2	12.7	63.2
	4	13.6	131.1		3	13.7	37.0
	5	14.0	103.8		4	13.4	20.7
				19	Initial	7.8	128.8
					1	11.2	67.6
					2	12.7	72.6
					3	13.1	—
				20	Initial	9.3	319.3
					1	12.4	315.3
					2	13.1	164.1
					4	13.1	60.8
					6	12.6	41.0
					7	12.0	66.2
					9	13.3	54.0

-from Ref. 29).

まとめ

鉄欠乏および鉄欠乏貧血は現在においても発生しやすい栄養障害の一つであること、またそれは単に赤血球 Hb 濃度と貯蔵鉄量によって代表される限られた範囲の障害を意味するものではなく、各種臓器細胞の含鉄酵素の動態への影響をもつ全身的系統的疾患となることを指摘した。鉄欠乏において認められる精神的または肉体的機能の減退に生化学的方法によるアプローチを試みる方法と得られた結果のいくつかについて紹介した。haem 蛋白質および金属フラビン蛋白質の消長、または血清 ferritin の量的および質的変化の追跡は興味深い課題である。なお赤血球 PROTO 濃度の変化を最後に記したが、この物質は必ずしも鉄蛋白質の範疇には属さない。しかし鉄代謝との関連におい

てきわめて近縁の物質であるため、登場させた次第である。

文献

- 1) WHO Technical Report Series, No. 405, Nutritional anaemias. Report of a WHO Scientific Group, 1968.
- 2) WHO Technical Report Series, No. 503, Nutritional anaemias. Report of a WHO Group of Experts, 1972.
- 3) WHO Technical Report Series, No. 580, Control of Nutritional Anaemia with Special Reference to Iron Deficiency. Report of an IAEA/USAID/WHO joint meeting, 1975.
- 4) Beaton, G.H.: Epidemiology of Iron Deficiency. "Iron in Biochemistry and Medicine" (A. Jacobs and M. Worwood, eds.), p. 477~528, Academic Press, New York, 1974.
- 5) Dallman, P.R.: Tissue Effects of Iron Deficiency. "ibid", p. 437~475, Academic Press, New York,

- 1974.
- 6) Jacobs, A.: Erythropoiesis and Iron Deficiency Anaemia "ibid", p. 405~436, Academic Press, New York, 1974.
- 7) Dagg, J.H., Jackson, J.M., Curry, B., and Goldberg, A.: Cytochrome Oxidase in Latent Iron Deficiency (Sideropenia). *Br. J. Haematol.*, **12**, 331~333, 1966.
- 8) White, A., Handler, P., Smith, E.L., Hill, R.L.: *Principles of Biochemistry*. 6th ed. McGRAW-HILL KOGAKUSHA, Tokyo, 1978.
- 9) Dawson, R., Rafal, S., and Weintraub, L.R.: Absorption of Hemoglobin Iron; The Role of Xanthine Oxidase in the Intestinal Heme Splitting Reaction. *Blood*, **35**, 94~103, 1970.
- 10) Mazur, A., Green, S., Saha, A., and Carleton, A.: Mechanism of Release of Ferritin Iron in vivo by Xanthine Oxidase. *J. Clin. Invest.*, **37**, 1809~1817, 1958.
- 11) Barry, W.E.: Effect of an Inhibitor of Xanthine Oxidase on Iron Absorption in Dogs. *Clin. Res.*, **13**, 267, 1965.
- 12) Davis, P.S., and Deller, D.J.: Effect of a Xanthine Oxidase Inhibitor (Allopurinol) on Radioiron Absorption in Man. *Lancet*, **II**, **7461**, 470~472, 1966.
- 13) Symes, A.L., Missala, K., and Sourkes, T.L.: Iron- and Riboflavin Dependent Metabolism of a Monoamine in the Rat in vivo. *Science*, **174**, 153~155, 1971.
- 14) Beutler, E., and Blaisdell, R.K.: Iron Enzymes in Iron Deficiency V. Succinic Dehydrogenase in Rat Liver, Kidney and Heart. *Blood*, **15**, 30~35, 1960.
- 15) Yoshino, Y., Hirai, Y., Aoki, T., Morita, T., Eguchi, Y., Yajima, T., and Kagawa, Y.: Serum Ferritin Concentration and Isoferritin Patterns Detected by Immunoradiometric Assay. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **26**, 87~97, 1980.
- 16) Cook, J.D., Finch, C.A., and Smith, N.J.: Evaluation of the Iron Status of a Population. *Blood*, **48**, 449~455, 1976.
- 17) Halliday, J.W., and Powell, L.W.: Serum Ferritin and Isoferritins in Clinical Medicine. *Prog. Hematol.*, **11**, 229~266, 1979.
- 18) Hazard, J.T., and Drysdale, J.W.: Ferritinaemia in Cancer. *Nature*, **265**, 755~756, 1977.
- 19) McKeering, L.V., Halliday, J.W., Caffin, J.A., Mack, U., and Powell, L.W.: Immunological Detection of Isoferritins in Normal Human Serum and Tissue. *Clin. Chim. Acta*, **67**, 189~197, 1976.
- 20) Hazard, J.T., Yokota, M., and Drysdale, J.W.: Immunologic Differences in Human Isoferritins. *Blood*, **49**, 139~146, 1977.
- 21) 江口儀太: ラット臓器 Ferritin の精製とその Microheterogeneity について. *日医大誌*, **47**, 302~314, 1980.
- 22) Ryan, S., Watson, L.R., Tavassoli, M., Green, R., and Crosby, W.H.: Methods for Establishing a Working Immunoradiometric Assay for Serum Ferritin. *Am. J. Hematol.*, **4**, 375~386, 1978.
- 23) Jones, B.M., and Worwood, M.: An Immunoradiometric Assay for the Acidic Ferritin of Human Heart; Application to Human Tissues, Cells and Serum. *Clin. Chim. Acta*, **85**, 81~88, 1978.
- 24) Niitsu, Y., and Urushizaki, I.: Measurement of Serum Ferritin and its Clinical Application. *Acta Haematologica. Jpn.*, **41**, 1301~1308, 1978.
- 25) 渡辺直樹, 新津洋一郎: Isoferritin の Hybrid 構造と免疫学的特性に関する研究. *札幌医誌*, **48**, 385~396, 1979.
- 26) Mori, W., Asakawa, H., Taguchi, T., and Sakai, R.: Human Isoferritin and Malignant Neoplasms. *Acta Haematol. Jpn.*, **41**, 1309~1317, 1978.
- 27) 吉野芳夫: 生体の鉄代謝. "血液の病態生化学" (高久, 水上編), p. 145~157, 朝倉書店, 東京, 1979.
- 28) 佐々茂: ヘムおよびグロビン合成の調節とその異常. "ibid." p. 110~145, 朝倉書店, 東京, 1979.
- 29) Dagg, J.H., Goldberg, A., and Lochhead, A.: Value of Erythrocyte Protoporphyrin in the Diagnosis of Latent Iron Deficiency (Sideropenia). *Br. J. Haematol.*, **12**, 326~330, 1966.
- 30) Prato, V., Mazza, U., Massaro, A.L., Bianco, G., and Battistini, V.: Porphyrin Synthesis and Metabolism in Iron Deficiency Anaemia; II. in vitro Studies. *Blut*, **17**, 14~19, 1968.
- 31) Rimington, C., Morgan, P.N., and Nicholis, K.: Griseofulvin Administration and Porphyrin Metabolism. *Lancet*, **II**, 318~322, 1963.
- 32) Piomelli, S.: A Micromethod for Free Erythrocyte Porphyrins; The FEP test. *J. Lab. Clin. Med.*, **81**, 932~940, 1973.

(受付: 1980 年 7 月 28 日)