貧血ラットにみられる鉄吸収の亢進について

吉野 芳夫*, 平松 芳子*, 柳下 晃*, 寺戸 国昭**

* 日本医科大学栄養学教室

**エーザイ株式会社

The Acceleration of Iron Absorption in Response to Iron Deficient Anemia of Rats

Yoshio Yoshino*, Yoshiko Hiramatsu*, Akira Yagishita*, Kuniaki Terato**

* Department of Nutrition, Nippon Medical School, Bunkyo-ku, Tokyo

**Eisai Research Laboratories, Bunkyo-ku, Tokyo

J. Japan Soc. Food and Nutr. 24 (4) 206~210 (1971)

Iron deficient rats (from Donryu strain) were prepared by feeding of iron poor diet for two months. The rats fed on the iron poor diet+deionized water became within this period: body weight $52.6 \pm 4.5 \rightarrow 201.2 \pm 29.3$ g, hemoglobin $11.6 \pm 1.2 \rightarrow 9.7 \pm 1.5$ g/dl and liver nonhemin iron $11.6 \sim 15.1$ μ g/g. The control rats fed on the iron poor diet+iron supplemented drinking water grew as follows: body weight $52.1 \pm 4.7 \rightarrow 228.4 \pm 32.0$ g, hemoglobin $11.6 \pm 1.2 \rightarrow 15.4 \pm 1.4$ g/dl and liver nonhemin iron 112.6 μ g/g.

The rate of iron absorption was assayed after the administration of FeSO_4 which was given in ten doses of 0.3mg Fe per os. Intestinal absorption of ^{59}Fe given with the first dose of iron was $30.8 \sim 43.4\%$ in the iron deficient rats and that of control animals was 7.8% . Hemoglobin value of the iron deficient rats recovered to $12.5 \sim 14.6$ g/dl, but the value of the control showed few change. Accumulation of liver nonhemin iron increased in iron deficient rats. From these results the following equations were calculated between hemoglobin values (x g/dl) and percentage of iron absorption (y): $y = 10895x^{-2.579}$, and between hemoglobin values (x g/dl) and liver nonhemin iron (y μ g): $y = 2.032 \times 10^{-4}x^{5.413}$.

(Received February 4, 1971)

貧血状態においては腸管の鉄吸収はむしろ亢進するといわれている^{1)~5)}。これは生体の要求に対応してみられる自律的な調節現象であると考えられる。鉄欠乏性貧血においては血液ヘモグロビン値（以下 Hb 値と略）の低下と臓器非ヘミン鉄の減少がみられるので、それらと鉄吸収との相関をドンリュラットを用いて観察した。

$^{59}\text{FeSO}_4$ 、あるいは硫酸第一鉄を連続経口負荷した場合の血液 Hb 値および肝臓非ヘミン鉄への ^{59}Fe の取り込みと鉄欠乏の恢復について検討した。

実験方法

雄ドンリュラット（体重40~60g）160匹を日本ラット社より一括購入し、滅菌オガクズ入りのプラスチック飼育箱で2カ月間飼育した。ラットは鉄欠乏食群100匹と対照群60匹の2群に区分し、前者には除鉄飼料（オ

リエントル酵母製、表1）および飲料水に脱イオン水を ad libitum に与えた。後者には同じく除鉄飼料と飲料水に硫酸第一鉄50mg Fe/l（脱イオン水に溶解）溶液を与えた。

上記の鉄欠乏ラット調製に引続いて、鉄欠乏の恢復試験として硫酸第一鉄経口負荷を実施した。鉄欠乏食群を血液 Hb 値によって3群に区分した。I 群：Hb 値7~8 g/dl（平均8.1）、II 群：9~10 g/dl（平均9.5）、III 群：11~12 g/dl（平均11.1）。対照群（IV 群）は Hb 値13~16 g/dl（平均15.7）であった。各群それぞれ10匹ずつとした。これらのラットには9~10am に硫酸第一鉄0.3mg Feを0.5mlの脱イオン水に溶解して経口負荷した。硫酸第一鉄の負荷は11日間に10回実施した。しかしながら第1回の鉄負荷時に $^{59}\text{FeSO}_4$ を約0.3 μ ci添加した。ラットは約5日間隔で体重および血液 Hb 値を測定した。体

Table 1. Composition of the iron poor diet (%)

Corn-starch	32
Granulated sugar	30
Casein	22
Soy-been oil	5
Filter paper	5
McCullum salt (No. 185, iron salt was omitted)	4
Vitamin mixture*	2

* The vitamin mixture was purchased from Oriental Kobo (Yeast) K.K. (Tokyo).

重測定は毎回全ラットについておこない、Hb 測定は除鉄飼料で飼育中は実験群対照群とも毎回無作為に選んだ20匹についてまた硫酸第一鉄経口負荷時には全ラットについて実施した。最終回の鉄負荷より48時間後にラットをエーテル麻酔下に採血致死させ以下の各項について測定した。

1. 血液 Hb 値⁶⁾

尾静脈または心臓穿刺により採血し、シアノメトヘモグロビン法によって測定した。

2. 臓器非ヘミン鉄の測定⁷⁾

肝脾の組織ホモジネートにピロリン酸・トリクロール酢酸混合液を添加して加熱抽出し、o-フェナンスロリン法を用いて測定した。

3. 臓器非ヘミン鉄および赤血球への ^{59}Fe 取り込みの測定

肝脾の非ヘミン鉄画分への取り込みはピロリン酸・トリクロール酢酸混合液を用いる加熱抽出液について実施した。赤血球への取り込みはエーテル麻酔下に心臓穿刺して得られる血液1.0mlを5mlの等張クエン酸Na溶液の入れてある γ 線測定用プラスチック小試験管中にとり、遠心した後上清液を除去して測定した。放射能の測定はウエル型 γ 線シンチレーションカウンター（理研製）を使用した。

実験結果

1. 鉄欠乏食群および対照群の飼育期間における体重および血液 Hb 値について

1) 体重増加 60日間の飼育によって鉄欠乏食群(100匹)の体重は $52.6 \pm 4.5 \text{ g}$ より $201.2 \pm 29.3 \text{ g}$ 、対照群(60匹)は $52.1 \pm 4.7 \text{ g}$ より $228.4 \pm 32.0 \text{ g}$ に成長した(図1)。飼育期間の終了時の両群の体重平均値には有意の差がある ($P < 0.001$)。飼料は自由摂取であり、したがってその投与量が発育の制限因子とならないので、鉄摂取量の多少によって両群に体重の不均衡が起ったと考えられる。

2) 血液 Hb 値の推移 実験開始時に $11.6 \pm 1.2 \text{ g/dl}$ の

Fig. 1. Body weight of rats during the feeding of iron poor diet.

○—○ : iron poor diet administered group
●—● : the control group

Fig. 2. Hemoglobin value of rats in response to the feeding of iron poor diet.

○—○ : iron poor diet administered group
●—● : the control group

ものが図2に示めす経過をたどって飼育終了時に鉄欠乏食群 $9.7 \pm 1.5 \text{ g/dl}$ 、対照群 $15.4 \pm 1.4 \text{ g/dl}$ となった。両群のHb値の間には有意の差がある ($P < 0.001$)。なお鉄欠乏食群は飼育期間中に2匹死んだが、生存した98匹のラットの血液Hb値の分布は図3のようなほぼ正規分布を示めすのを認めた。

2. 硫酸第一鉄経口負荷による鉄欠乏ラットの回復試験

1) 血液 Hb 値の回復 鉄欠乏食群をHb値によってI, II, III群に分け対照群をIV群とする4実験群に 0.3 mg Fe の硫酸第一鉄を水溶液として毎日1回総計10回経口負荷したが、その間のHb値の経過は表2に示めた。終了時のHb値の増加量はI群 4.4 g/dl 、II群 4.6 g/dl

Fig. 3. Distribution of hemoglobin value of 98 rats at the end of 2 months feeding of iron poor diet.

dl, Ⅲ群3.5g/dl, Ⅳ群-0.9g/dlである。ヘモグロビンの回復量は実験開始時の貧血の強さの順と一致する傾向にある。

2) $^{59}\text{FeSO}_4$ の吸収率 第1回の鉄負荷は硫酸第一

鉄0.3mg Fe に痕跡量の $^{59}\text{FeSO}_4$ を添加し経口負荷したが、その後の9回は非放射性の硫酸第一鉄のみを与えた。最終回の負荷より48時間後に赤血球および臓器非ヘミン鉄への ^{59}Fe の取り込みを測定した。循環血液量を体重の6%とすると⁸⁾、赤血球への取り込み率はⅠ群43.4%、Ⅱ群36.3%、Ⅲ群30.8%であるのに対して対照群(Ⅳ群)では7.8%であり、赤血球への鉄の取り込みが鉄欠乏食群では対照群に比べて顕著に亢進している。肝臓非ヘミン鉄分画への ^{59}Fe の取り込み率ではⅠ群0.7%、Ⅱ群0.8%、Ⅲ群1.6%、Ⅳ群0.5%である。Ⅲ群の取り込みが最大となり、Ⅳ群は鉄欠乏群よりやや低値をとる傾向にある。なお脾臓非ヘミン鉄への取り込みは非常に低率であるので記載をやめた(表3)。

3) 肝臓非ヘミン鉄について

(i) 硫酸第一鉄経口負荷前の肝臓非ヘミン鉄：硫酸第一鉄経口負荷実験と同一の分類になるように Hb 値で区分して鉄欠乏食群よりⅠ'、Ⅱ'、Ⅲ'群および対照群よりⅣ'群を作った。肝臓非ヘミン鉄は新鮮重量あたりⅠ'群11.6 $\mu\text{g/g}$ 、Ⅱ'群11.6 $\mu\text{g/g}$ 、Ⅲ'群15.1 $\mu\text{g/g}$ 、Ⅳ'群112.6 $\mu\text{g/g}$ である。鉄欠乏食飼育群の肝臓非ヘミン鉄は対照群の1/7以下であり、鉄欠乏ラットの調製を確実に実施できた(表4)。

(ii) 硫酸第一鉄経口負荷後の肝臓非ヘミン鉄：肝臓非ヘミン鉄はⅠ群38.4 $\mu\text{g/g}$ 、Ⅱ群38.7 $\mu\text{g/g}$ 、Ⅲ群64.5 $\mu\text{g/g}$ 、Ⅳ群126.3 $\mu\text{g/g}$ である(表5)。鉄負荷前の肝臓非ヘミン鉄の単位重量あたりの含量を表4の成績と見做すと、鉄負荷によるその増加量は単位重量あたりの非ヘミン鉄増加量(表5と表4の数値の差より求める)に表5の肝臓重量を乗じて求められる。その結果はⅠ群174.2

Table 2. Recovery of blood hemoglobin value (g/dl) in the period of FeSO_4 administration

		0 day	3rd day	6th day	9th day	13th day
Group	I	8.1 $\pm$ 0.4	9.0 $\pm$ 0.5	11.3 $\pm$ 1.2	13.2 $\pm$ 1.1	12.5 $\pm$ 1.0
	II	9.5 $\pm$ 0.5	10.7 $\pm$ 0.5	11.6 $\pm$ 1.6	13.7 $\pm$ 1.1	14.1 $\pm$ 1.5
	III	11.1 $\pm$ 0.4	11.4 $\pm$ 0.8	12.8 $\pm$ 1.1	14.9 $\pm$ 1.0	14.6 $\pm$ 0.7
	IV	15.7 $\pm$ 1.4	—	14.2 $\pm$ 1.7	16.4 $\pm$ 0.9	14.8 $\pm$ 1.2

0.3mg Fe was given to each rat per os divided by ten administrations. Group I, II & III: iron deficient rats, Group IV: control rats.

Table 3. Incorporation of ^{59}Fe within red blood cells & liver nonhemin iron 12 days after per oral administration of $^{59}\text{FeSO}_4$ (%)

		Rat number	Incorporation into red blood cells	Incorporation into liver nonhemin iron
Group	I	9	43.4 $\pm$ 10.8	0.7 $\pm$ 0.3
	II	10	36.3 $\pm$ 10.0	0.8 $\pm$ 0.5
	III	10	30.8 $\pm$ 9.5	1.6 $\pm$ 0.9
	IV	10	7.8 $\pm$ 1.0	0.5 $\pm$ 0.3

0.3mg Fe was administered as carrier iron.

Table 4. Contents of liver nonhemin iron of rats before FeSO₄ administration

	Rat number	Body weight g	Hb value g/dl	Liver weight g	Liver nonhemin iron μg/g	Total amount of liver nonhemin iron μg
Group I'	8	154.9	8.2±0.6	5.0	11.6	57.6± 11.9
II'	7	194.3	9.5±0.4	5.9	11.6	66.8± 14.8
III'	6	210.8	11.1±0.6	6.9	15.1	98.0± 15.2
IV'	7	176.0	16.1±0.9	5.5	112.6	647.7±378.4

Group I', II' & III': iron deficient rats, Group IV': control rats

Table 5. Contents of liver nonhemin iron of rats after FeSO₄ administration

	Rat number	Body weight g	Liver weight g	Liver nonhemin iron μg/g	Total amount of liver nonhemin iron μg
Group I	9	203.0	6.5	38.4	243.9± 80.5
II	10	199.2	6.6	38.7	257.9±119.8
III	10	209.3	7.2	64.5	460.5± 68.4
IV	10	200.1	6.8	126.3	862.8±304.0

μg Fe, II群178.9μg Fe, III群355.7μg Fe, IV群 93.2 μg Feとなる。⁵⁹Feの肝臓への取り込みの場合と同様にIII群の鉄蓄積が最大となり, IV群(対照)は鉄欠乏ラットと比べてむしろ低値をとる。

考 察

鉄欠乏ラットを作るために除鉄飼料飼育法を用いた。その飼料内鉄含量は原子吸光度計で測定した結果, 5.5μg/gである。その他の鉄供給源として飲料水は脱イオン水を使用するので殆んど無視できるが, 滅菌オガクズまたは排泄糞便を摂取する可能性もある。したがってそれらに含まれる鉄量を考慮しなくてはならない。滅菌オガクズには平均180ppm含むが, ラットの保温, 四肢の負傷予防または排泄物の吸着などの利点があるため使用を継続した。ラットは飼育期間に開始時体重の約4倍にまで成長し, 成長につれておこる鉄要求の増大に対して鉄供給を可能なかぎり抑制することによって相対的に鉄欠乏を発症させた。以上の飼育条件によってHb値9.7±1.5g/dl, および肝臓非ヘミン鉄は対照の1/7以下に低下した鉄欠乏ラットを調製することが出来た。ラット体重は平均値で対照群より27.2gの低下をきたしたが, しかし外観, 運動状態および内臓の肉眼所見には対照とくらべて特記すべき異常を認めなかった。

⁵⁹Feの経口負荷試験において⁵⁹Feの赤血球への取り込み率を規制する因子として腸管の鉄吸収率と臓器非ヘミン鉄量すなわちいわゆる iron poolの大きさの両因子の関与が考えられる。しかし肝臓非ヘミン鉄への⁵⁹Feの取り込み率を鉄欠乏ラットと対照ラットについて比較すると両群とも投与量の1%前後であり, むしろ対照群がや

や低値をとる傾向にある(表3)。肝臓は非ヘミン鉄含量が最大の臓器であるので, この成績は非ヘミン鉄全体への取り込みの傾向を示めすものと考えられる。したがって赤血球への⁵⁹Feの取り込み率を測定して鉄吸収率の判定のパラメーターと認めて支障ないと思われる⁴⁾。

鉄吸収率(赤血球への取り込み率)と血液Hb値との関係を求めるために39匹のラットについての実験成績を図示すると図4のグラフを得られる。鉄吸収率は貧血状

Fig. 4. The relation of hemoglobin value & per cent recovery of ⁵⁹Fe in red blood cells in 39 rats.

Abscissa (x): hemoglobin value (g/dl),
Ordinate (y): per cent recovery of ⁵⁹Fe in red blood cells given by per oral administration. The equation of $y=10,895x^{-2.579}$ was calculated from this result.

Fig. 5. The relation of hemoglobin value & liver nonhemin iron in 55 rats.

Abscissa(x): hemoglobin value (g/dl)

Ordinate (y): liver nonhemin iron (μg Fe)

The equation of $y = 2.032 \times 10^{-4} x^{5.413}$ was calculated from this result.

態において極めての高値をとるが、Hb 値 13g/dl の近傍においてほぼ15%となる。ヘモグロビン含量がそれ以上の対照群においての鉄吸収率はすべて10%以下である。したがって両者の間に双曲線型の相関関係が成立すると考えられるので、相関係数を Olivetti programma 101 電子計算機によって求めると $y = 10,895x^{-2.579}$ の実験式を得られた。以上の実験成績によると、Hb 値 13g/dl を境界として貧血により亢進した鉄吸収が安定化した正常状態の鉄吸収にもどるものと考えられる。

Hb 値と肝臓非ヘミン鉄との関係を 55 匹のラットについて求めると図 5 のグラフを得られる。Hb 値 13g/dl の近傍を境界としてそれ以上においては肝臓非ヘミン鉄の急激な増大を認める。すなわちラットは鉄欠乏貧血において鉄吸収率が亢進し同時に吸収された鉄の大部分は、Hb 合成に利用されるが、Hb 値 13g/dl 以上となると鉄吸収率が低下した安定状態になると同時に摂取された鉄はむしろ非ヘミン鉄へ優先的に取り込まれると考えられる。この成績は正の曲線相関が成立すると推定されるので、Hb 値 10g/dl 以上の測定値 44 例について Hb 値と肝臓非ヘミン鉄の間の相関係数を前記と同様に求めると、 $y = 2.032 \times 10^{-4} x^{5.413}$ の実験式が得られた。このように鉄吸収は生体の需要度に応じて円滑に実施されるので、この調節を支配する調節機構の存在を想像させる可能性が強いと考えられる。Greenberger らは腸管の鉄吸収の効率

に影響を及ぼす体液性因子の存在を報告しているが¹⁰⁾、機構の本態または調節作用を活動させる誘因についての研究など今後に残された興味ある課題であると考えられる。

結 論

1) ドンリュールラット (雄) 平均体重 52 g/60 匹を 2 分し、除鉄飼料飼育 (100 匹) および対照飼育 (60 匹) をそれぞれ 2 カ月間実施した。その結果鉄欠乏食群では血液 Hb 値 9.7 ± 1.5 g/dl、肝臓非ヘミン鉄 $11.6 \sim 15.1$ μg/g および体重 201.2 ± 29.3 g となり、対照群では 15.4 ± 1.4 g/dl、 112.6 μg/g および 228.4 ± 32.0 g (同順序) となった。

2) 鉄欠乏食群および対照群に 0.3mg Fe の硫酸第一鉄を連続 10 回経口負荷した後の鉄吸収率、血液 Hb 値および肝臓非ヘミン鉄について測定した。第 1 回の鉄投与に添加した $^{59}\text{FeSO}_4$ の吸収率は鉄欠乏食群では 30.8% 以上、対照群では 7.8% である。鉄負荷の結果鉄欠乏食群では血液 Hb 値および肝臓非ヘミン鉄の回復をみとめたが、対照群の Hb 値には殆んど変化が無かった。

3) 血液 Hb 値と鉄吸収率の間には負の曲線相関、また血液 Hb 値と肝臓非ヘミン鉄の間には正の曲線相関を認められ何れも実験式を計算した。

この研究にあたってご援助を賜った島田敏夫教授に厚く謝意を表します。

文 献

- 1) Manis, J. G., Schacter, D.: *Am. J. Physiol.*, **203**, 81 (1962)
- 2) Helbock, H. J., Saltman, P.: *Biochim. Biophys. Acta*, **135**, 979 (1967)
- 3) Wheby, M. S., Jcnes, L. G., Crosby, W.H.: *J. Clin. Invest.*, **43**, 1433 (1964)
- 4) Hoek, R.V., Conrad Jr., M.E.: *J. Clin. Invest.*, **40**, 1153 (1961)
- 5) Wiseman, G.: *Absorption From The Intestine*, 246 (1964), Academic Press, New York
- 6) Wintrobe, M. M.: *Clinical Hematology*, 396 (1962), Lea & Febiger, Philadelphia
- 7) 吉野芳夫: 日医大誌, **19**, 395 (1952)
- 8) 吉野芳夫, 熊木敏郎, 山下博邦, 若林恒郎: 日医大誌, **30**, 19 (1964)
- 9) Fried, W., Plzak, L. F., Jacobson, L. O., Goldwasser, E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**, 237 (1957)
- 10) MacDermott, R. P., Greenberger, N. J.: *Clin. Res.*, **17**, 306 (1969)

(昭和46年2月4日受理)