鉄およびたん白欠乏が成長期ラットのヘム 合成系酵素におよぼす影響†

浦田 郡平, 近藤 雅雄, 木村 秀子
長谷川 葉子, 鈴木 妙子, 梶本 雅俊

国立公衆衛生院栄養生化学部

Effect of Iron and Protein Deficiency on ALA-Dehydratase ALA-Synthetase and Heme-Synthetase Activities of Growing Rats

Gumpei URATA, Masao KONDO, Hideko KIMURA,
Yoko HASEGAWA, Taeko SUZUKI, Masatoshi KAJIMOTO

Department of Nutrition and Biochemistry, Institute of Public Health, Minato-ku, Tokyo

In this paper, the effect of iron deficiency on the hematopoietic function of rats was studied under experimental conditions identical with those described in the preceding report (Part 1). Specimens of peripheral blood, bone marrow and liver from rats in the four groups that had been maintained on diets varying in iron and casein contents were assayed for activities of three of the eight heme synthetic enzymes, i.e. ALA synthetase (ALA-S), ALA dehydratase (ALA-D) and heme synthetase (Heme-S). The first two enzymes are known to take part in the first and second limiting steps in the heme biosynthesis pathway and the latter, the final step. The results were as follows: (1) In the 20% casein group, the ALA-S activity in bone marrow was lowered and the ALA-D activity in peripheral blood increased during the iron deficient stage. The ALA-S activity in bone marrow returned to a control level while the blood ALA-D activity showed a further elevation during the subsequent recovery stage with dietary iron supplementation. In contrast, both ALA-S and ALA-D activity in the 5% casein group did not show any appreciable difference from the control levels, during the iron deficient stage. However, subsequent replacement of the diet with a 20% casein was followed by a sharp increase of the activity of these enzymes. The findings indicated that protein intake had a greater influence than iron intake in this respect in rats under low-protein nutrition, as far as ALA-S and ALA-D activities were concerned. (2) Heme-S activity displayed responses distinct from those observed with the foregoing two enzymes. Both the 5% and 20%-casein diet groups exhibited elevation of this enzyme to essentially the same degree during the iron-deficient stage, with a complete restoration to the control level, in both groups, following resupplementation of feed with iron.

In the (5% casein) group, only the readministration of iron feed was effective for this recovery of the enzyme while replacement with (20% casein) had little or no effect.

From these experimental findings, it is evident that the effects of iron deficiency in respect of changes in ALA-S and ALA-D activities, appear only in those animals maintained on a 20% casein diet; thus remarkably consistent with the body weight and hematological changes seen in this diet group of rats in the previous study. Heme-S activity, on the other hand, seems to have a particular responding pattern to iron deficiency which is considered to occur in direct association with iron metabolism and irrelevant to protein nutrition.

(Received August 14, 1980)

† 鉄およびたん白欠乏が成長期ラットの血色素合成
におよぼす影響 (第2報)

Effect of Iron and Protein Deficiency of
Hematopoiesis in Growing Rats (Part 2)

〒108 東京都港区白金台 4-6-1

前報³¹⁾では鉄欠乏の影響を20%と5%カゼイン食2種類のたん白摂取をさせた成長期ラットについて調べた結果、体重曲線では対照との間に差を認めなかったが、血液ヘモグロビン(Hb)値、ヘマトクリット(Ht)値などは20%カゼイン摂取群にのみ鉄欠乏の影響があらわれ、明白な低下を示したにもかかわらず、5%カゼイン群では対照との間に差が見られないという現象を報告した。

本報ではこの両群における鉄欠乏の影響のちがいが造血機構に対しても同様な変動を起しているのか否かを検討するため、骨髓、肝においてヘム合成の最初の律速段階をつかさどるデルタアミノレブリン酸合成酵素 δ -Aminolevulinic Acid Synthetase=ALA-S (EC 2. 3. 1. 37) と最終段階の2価鉄をProto IXに挿入させるヘム合成酵素 (Heme Synthetase=Heme-S (EC 4. 99. 1. 1)), ならびに末梢血、骨髓、肝からは最初のピロール合成を触媒するデルタアミノレブリン酸脱水酵素 (δ -ALA Dehydratase=ALA-D (EC 4. 2. 1. 24))¹⁾の三つの酵素について検討した。

実験方法

1. 実験材料及諸成分含量測定法

動物は前報³¹⁾におけるラット群をそのまま用いた。各個体から採り出した末梢血、肝臓、骨髓について次頁のべる方法で3酵素の活性を測定した。基質として用いた化合物のうち、¹⁴C-succinyl-Co-A は市販の1,4-¹⁴C-succinic anhydride (NEN 社, 10 mCi/mm) と free Co A (協和醗酵) とから通常の方法²⁾を用いて合成した。⁵⁹Fe³⁺ は市販の⁵⁹FeCl₃ (RCC 社, 18 mCi/mgFe) を水で一定に希釈して用いた。プロトポルフィリンはGrinsteinの方法³⁾に従ってヒト末梢血から dimethyl ester として再結晶、使用前に氷冷 10 N-HCl 中で1夜処理して free 化したのち中和して用いた。たん白質濃度の測定は Lowry らの⁴⁾の方法によった。その他、一般試薬、器具は前報と同じものを用いた。

赤血球中プロトポルフィリン (PP) とコプロポルフィリン (CP) の定量は、上記ヘパリン採血を10 ml とり、その血球を生理的食塩水で2回洗浄したものについて Falk-Dresel らの⁵⁾⁶⁾の原法を実施した。定量結果は porphyrin μ g/10 ml RBC として表示した。

網赤血球数の測定法は前報に記載した。

2. 酵素液の調製と活性測定法

ALA-S: ラット各1匹から採り出した2本の大腿骨の両骨端を切り落とし、中央部の骨髓を、一端から氷冷生理的食塩水を圧入しながら洗い出してあつめ、全量を生理的食塩水で2回遠沈洗浄する。全沈殿に2.0 ml 氷冷水を加え、10分間溶血したのち11.5% KCl 0.2 ml を

加えて等張にもどし、このものの10⁴×g, 30分遠心の沈殿(上清は次項のALA-D測定用に用いる)を1.15% KCl (2 mM-KPB, pH 7.5) にて2回洗浄したのち、同液に懸濁して終量3.0 ml に合わせ、ALA-S測定用の酵素液として用いる。すなわち、0.3 ml に0.5 mM-¹⁴C-succinyl Co-A 0.05 ml (0.5 μ Ci), 1 M-glycine (2 mM-pyridoxal-5'-phosphate) 0.05 ml, 10 mM-EDTA 0.05 ml, 0.5 M-NaPB (pH 7.5) 0.05 ml を加え、終量0.5 ml で37°C, 30分インキュベートしたのち、0.3 M-TCA 2.0 ml を加え反応を停止する。遠沈上清に、沈殿の0.3 M-TCA 2.0 ml 洗液を加え、全量につき Aoki らの原法⁷⁾に準じた著者らの方法⁸⁾で¹⁴C-ALA を定量的に精製純化し、最後にジオキサン系シンチレータ中で¹⁴C-放射活性を測定した。次に、採り出したラット新鮮肝1.0 g を薄刃の刃物で細片化したのち、10 ml の0.25 M-sucrose (pH 8.0) でホモジナイズし、以下一般のSchneizer-Hogeboom 法⁹⁾に準じた著者らの方法⁹⁾でミトコンドリアを調製、全量を0.2 mM-pyridoxal-5'-phosphate, 1 mM-EDTA, 0.1 M-glycine, 0.05 M-NaPB (pH 7.5) に懸濁して3.0 ml に合わせたものを酵素液として用い、以下骨髓ALA-S液の場合とまったく同じ操作でALA-S活性を測定した。得られた活性度は pmol ALA/1 mg protein/30 min で表示した。

なお、肝ホモジネートの10⁴×g, 10分の遠沈上清は次項のALA-D活性測定用酵素液として用いた。

ALA-D: Granick らの方法¹⁰⁾に順じて以下のように行なった。ラットをエーテル麻酔下で腋血管を切断しヘパリン採血する方法で得られた末梢血0.05 ml に0.4 ml の冷水を加えて10分間溶血したのち、これにALA-GSH 混液 (0.05 M-ALA, 0.1 M-GSH, 0.5 M-NaPB (pH 6.8) 3者の混合液) 0.05 ml を加え終量0.5 ml で37°C, 60分間インキュベートしたのち、1 M-TCA 0.5 ml 加えて反応を停止する。この遠沈上清について Granick らの原法¹⁰⁾に従って、生成したPBG (porphobilinogen) 量を測定した。なお、前記ホモジネートおよび骨髓溶血液の10⁴×g, 10分の上清についてもまったく同じ操作でALA-D活性を測定した。活性度は肝、骨髓については nmol PBG/1 mg protein/60 min で表示し、末梢血の場合は洗浄赤血球1 ml あたりに換算して、nmol PBG/1 ml PVE/60 min で表示した。

Heme-S: Sawada らの方法¹¹⁾に準じて以下のように実施した。ALA-Sの項で骨髓または肝から調製したALA測定用酵素液の残部をそのまま用い、その0.5 ml に200 μ M-protoporphyrin (0.1 M-KHCO₃ 中 pH 7.5) 0.1 ml, 200 μ M-FeSO₄ 0.1 ml, ⁵⁹FeCl₃ 水溶液 0.05 ml (1 μ Ci), 0.5 M-Tris 緩衝液 (pH 8.0) 0.2 ml, 0.4 M-

Fig. 1. Effect of dietary protein level and iron deficiency on blood ALA-D activity of rats.

The meaning of marks and lines are as follows. —○—○—, 20%, casein, control; —●—●—, 20% casein, iron deficient; —●—○—, 20% casein, iron deficient, changed to 20% casein, control; ...○...○..., 5% casein, control; ...○—○—, 5% casein, control, changed to 20% casein, control; ...●...●..., 5% casein, iron deficient; ...●...○—, 5% casein, iron deficient, changed to 5% casein, control; ...●—○—, 5% casein, iron deficient, changed to 20% casein, control. The vertical lines represent standard deviation mean. The arrow indicates the time of dietary change.

GSH 0.1 ml を加え、終量 1.05 ml で、空気中 37°C, 2 時間インキュベートしたのち、carrier Hb (ヒトの洗浄末梢血球を 2 倍量の水で溶血したもの) 1.0 ml とアセトン 10 ml を順次加え、生成した沈殿を遠心であつめ、氷酢酸:アセトン混液 (1:4) 10 ml で 2 回へみを抽出して合わせ、これに少量の NaCl 粉末を加え、ヘミンの結晶が出始めるまで減圧濃縮し、1 夜放置して結晶の析出を完成させたのち、これを遠心であつめ、沈殿を 1% HCl で 2 回、水で 1 回洗浄したのち全量を 2 ml の 10% NH₄OH に溶解し、このうち 1.0 ml を γ-counter にかけて ⁵⁹Fe-ヘムの ⁵⁹Fe 放射活性を測定し、0.2 ml に 3% KCN 0.1 ml を加えたあと一定量の水で希釈して 545 nm における O.D. を測定し、別に調製¹¹⁾したヘミンの検量直線を用いてヘミン量を測定する。

活性は pmol ⁵⁹Fe-heme/1 mg protein/120 min で表示した。

実験結果

1. ALA-D 活性

Fig. 1 に末梢血液中の ALA-D 活性の変動を示した。5% カゼイン群、20% カゼイン群ともに、成長にともな

って低下したが、鉄欠乏の影響は、20% 群にたいしてのみ認められた。すなわち、対照にくらべて 1 週目でやや低下したのち、2 週目から急激に上昇し、そのあとの鉄投与による回復期に入ってさらに上昇した。これに対して 5% 群では鉄欠乏の影響はまったく見られず、また鉄再投与によっても変化はなかった。しかし、この群に鉄と 20% カゼイン投与による回復を行なうと、対照群、鉄欠乏群ともに 20% カゼイン鉄欠乏群の鉄投与による回復群と同じ値にまで急上昇した。

前報¹¹⁾の Fig. 6 に網赤血球数の変動を示したが、20% 鉄欠乏群においては対照群にくらべて 1 週目でやや低下したのち、2 週目が上昇に転じ、鉄投与による回復期では約 6 倍の高値を示した。5% 群では、鉄欠乏群、対照群ともに差は見られなかったが、鉄と 20% カゼイン投与による回復群ではそれぞれ約 10 倍に上昇した。

Fig. 1 と前報¹¹⁾ Fig. 6 を並べて見ると、末梢血中 ALA-D 活性の変動と網赤血球数の変動が 20% 鉄欠乏群における 3 週目の一点を除き完全に一致しているのがわかる。

Table 1 に骨髓と肝臓における ALA-D 活性の変動を示した。それによると、骨髓中の ALA-D 活性は 5、20% 両群ともに鉄欠乏群のほうが高い傾向を示し、鉄投与による回復、および 20% カゼイン投与による回復群で上昇の傾向を示すなど、末梢血中の活性変動と同様の傾向を示した。肝の ALA-D は末梢血、骨髓にくらべて数倍の高活性を示したが、たん白質摂取の変動、鉄欠乏のいずれによっても、全実験期間を通じて有意の変化が見られなかった。

2. ALA-S 活性

Table 2 に測定結果を示した。骨髓中 ALA-S 活性は 20% の鉄欠乏群において低下し、鉄投与による回復で 0 time 値にもどった。5% 群において対照群と鉄欠乏群の間に差は見られなかったが、回復期においては鉄と 20% カゼイン投与によって約 1.8 倍の上昇を示し、鉄投与だけではほとんど反応を示さなかった。

肝 ALA-S 活性 (Table 2) は一般に測定値が低く、両群とも鉄欠乏では骨髓 ALA-S と同様の変動傾向を示したものの、明白な結論は得られなかった。

3. Heme-S 活性

Table 3 に測定結果を示した。骨髓 Heme-S では両群とも鉄欠乏期において有意に上昇し、次の回復期において、鉄投与によってのみ対照値にもどった。

肝 Heme-S 活性は両群ともに、鉄欠乏および回復について、対照群との間に有意差が認められなかった。

4. 赤血球中遊離ポルフィリン体量

Table 4 に赤血球中遊離ポルフィリン体の定量結果を示した。これによると、まずプロトポルフィリンについ

Table 1. Effect of iron and protein deficiency on ALA-D activity in bone marrow and liver.

Casein (%)	Groups	Periods (weeks)	ALA-D activity (nmol PBG/1 mgp/60 min)	
			Bone marrow	Liver
	Start	0	4.22±0.48	13.2±1.60
20	Control	3	1.85±1.45	14.4±1.35
	Iron deficient	3	2.33±0.95	12.9±1.55
	Control	4	1.05±0.27	13.2±1.56
	Recovery by iron	1	2.94±1.54	13.9±1.24
5	Control	3	1.85±0.70	13.3±3.77
	Iron deficient	3	2.40±1.82	12.3±2.16
	Control	4	3.91±2.12	13.6±1.42
	Recovery by iron	1	2.59±1.18	12.0±1.25
	Recovery by 20% casein	1	4.67±0.86	14.9±1.04
	Recovery by iron and 20% casein	1	3.61±1.27	13.8±1.80

Values represent mean±S.D. of 5 rats per group. The procedure for determination of activity was described in the text.

Table 2. Effect of iron and protein deficiency ALA-S activity in bone marrow and liver.

Casein (%)	Groups	Periods (weeks)	ALA-S activity (pmol ALA/1 mgp/30 min)	
			Bone marrow	Liver
	Start	0	664±201.0	3.4±4.56
20	Control	3	425±170.0	5.0±1.00
	Iron deficient	3	296±53.0	3.6±1.52
	Control	4	679±211.0	5.2±3.56
	Recovery by iron	1	652±228.0	2.6±1.14
5	Control	3	417±152.0	7.4±1.52
	Iron deficient	3	440±70.2	N. D.
	Control	4	428±162.0	9.0±5.83
	Recovery by iron	1	528±173.0	N. D.
	Recovery by 20% casein	1	822±100.0	5.4±2.60
	Recovery iron and 20% casein	1	778±222.0	2.2±1.30

Values represent mean±S.D. of 5 rats per group. The procedure for determination of activity was described in the text.

ては、20% 群、5% 群ともに対照群においては成長にしたがって低下し、4 週目では出発値の 30~50% を示した。

これにくらべて鉄欠乏においては、20% 群でさらに低下、鉄回復 1 週目でやや上昇を示した。5% 群では低下がややおそくなったように見えたが、鉄投与による回復 1 週目で一転急低下した。またこの群では鉄と 20% カゼインの同時投与による回復 1 週目で逆に急上昇し、

出発値に近づいた。

次にコプロポルフィリンについては、20% 群の対照群で成長にともなって上昇し、鉄欠乏ではこの上昇が見られなかった。また 5% 群の対照群では成長にともなって急上昇したのち、急低下するという激しい変化を示したが、鉄欠乏群でもほぼ同じパターンを示し、低下したあとは、鉄と 20% カゼインによる回復 1 週後でもほぼ不変であった。

Table 3. Effect of iron and protein deficiency on Heme-S activity in bone marrow and liver.

Casein (%)	Groups	Periods (weeks)	Heme-S activity (pmol ⁵⁹ Fe Heme/1 mgp/2 hrs)	
			Bone marrow	Liver
	Start	0	1.83±0.52	0.68±0.21
20	Control	3	1.28±0.19	0.29±0.07
	Iron deficient	3	1.95±0.29	0.32±0.05
	Control	4	1.35±0.39	0.50±0.10
	Recovery by iron	1	1.41±0.30	0.49±0.06
5	Control	3	1.45±0.47	0.41±0.11
	Iron deficient	3	2.05±0.71	0.40±0.11
	Control	4	1.71±0.91	0.52±0.13
	Recovery by iron	1	1.46±0.31	0.41±0.04
	Recovery by 20% casein	1	1.78±0.23	0.34±0.07
	Recovery by iron and 20% casein	1	1.53±0.32	0.47±0.15

Values represent mean±S.D. of 5 rats per group. The procedure for determination activity was described in the text.

Table 4. Effect of iron and protein deficiency in blood porphyrins content.

Casein (%)	Groups	Periods (weeks)	Coproporphyrin (μg/10 ml RBC)	Protoporphyrin (μg/10 ml RBC)
	Start	0	0.42	11.73
20	Control	3	0.72	9.46
	Iron deficient	3	0.59	6.15
	Control	4	1.40	4.09
	Recovery by iron	1	0.41	6.79
5	Control	3	1.60	4.39
	Iron deficient	3	2.15	6.33
	Control	4	0.31	5.53
	Recovery by iron	1	0.20	3.03
	Recovery by 20% casein	1	0.53	10.71
	Recovery by iron and 20% casein	1	0.46	9.20

The peripheral blood from each group pooled, from which RBC was washed twice with 0.9% NaCl and subjected to the determination of protoporphyrin and coproporphyrin content according to Falk-Dresel method.

考 察

1) ALA-D について 骨髄および末梢血中の本酵素は離乳期の初めに最高活性を示し、以後成長にもなって急激に低下していくという生理的性質をもっている^{12)~14)}。著者らはこの低下がたん白摂取量が低いほど早期に、かつ急激に起こることをすでに報告¹²⁾し、今回も同じ結果を得た。Fig. 1 が 20% の鉄欠乏群では 2 週

目から上昇傾向を示し、同時に測定した網赤血球数変動がよく一致した。このことと、一般に血中 ALA-D 活性が網赤血球数にほぼ比例するという既定事実¹³⁾¹⁶⁾とから本実験では 20% カゼイン群では鉄欠乏による造血の刺激が起こっていることが裏づけられる。

しかし、Fig. 1 および前報¹¹⁾ Fig. 6 の示すように、5% カゼイン群のたん白による回復における活性の急上昇は鉄再投与の有無によるよりも、むしろ高たん白食へ

の転換を主体として起こっており、赤血球産生のみならず、ALA-D 活性の制御、おそらく酵素たん白自身の生産調節が、鉄代謝だけでなく、たん白質代謝によっても行なわれることを示唆していると考えられる。なお、ラット末梢血における鉄欠乏と鉄再投与における ALA-D 活性の変動については、Labbe ら¹⁷⁾ がすでにまったく同じ結果を報告している。

2) ALA-S について この酵素は主として骨髓の赤芽細胞に含まれ、肝にも弱く存在する。ALA-S 活性は生後直後から成長期にわたり徐々に上昇することがわかっている¹²⁾。本実験における鉄欠乏群のうち、20% カゼイン群では開始後3週目に一度低下したが、鉄回復1週目で開始値にもどったのに対し、5% カゼイン群では鉄欠乏期間中はやや低下したものの、回復期では対照値の約1.5倍に上昇しており、しかもこの上昇が鉄の再投与によってではなく、20% カゼインに切りかえただけで起こったところからみて、たん白栄養の影響が鉄の影響を上回ったと見られる。Table 2 によると20% カゼイン鉄欠乏群において、骨髓 ALA-S 活性が低下することを示している。これまでの報告では、同様の実験条件下に低下¹⁸⁾と上昇¹⁹⁾という相反する結果が得られており、どちらが真の事実であるかについては、これまで鉛中毒²⁰⁾やポルフィリン症など²⁰⁾のヘム合成異常において、ALA-S と ALA-D の活性変動パターンがしばしば密接に連動していることが知られており、鉄欠乏においても同様の動きが起ると推定してみると、ALA-S は Fig. 1 に示した ALA-D のように一度低下してから上昇に転ずるというパターンをとってもよいことになり、これまでの報告者がこのうちの低下の時期と上昇の時期の一点ずつをとらえていたのかもしれないという可能性が生ずる。ヒトの鉄欠乏性貧血での測定報告では、いまのところ、すべて上昇値²⁰⁾が得られており、著者らの測定でもわずかに上昇的である²¹⁾。

3) Heme-S について Table 3 によれば鉄欠乏に対する Heme-S の応答は ALA-S、ALA-D の場合とは逆のパターンを示すことがわかる。そして鉄欠乏時の活性上昇が回復期において対照値にもどるのは鉄再投与によってのみ起こっており、たん白再投与では無効であったことから、本酵素は鉄の欠乏と再投与に対して ALA-D、ALA-S よりも直接的な応答をすることは明らかである。ヒトの鉄欠乏性貧血では、いまのところ、本酵素活性は変わらないという報告²²⁾が多い。

以上、3 酵素のそれぞれについて、活性変動を観察したが、つぎに、これらをまとめ鉄欠乏時における造血酵素の全体的変動として考察すると、20% カゼイン群については、鉄欠乏の影響は1週目で現われはじめ、末梢血中および骨髓の ALA-D と、おそらく ALA-S が低下し、

ついでこの両酵素は上昇に転じて刺激状態となり、これが鉄投与による回復期に入っても続き、その後さらに一定期間続くものと考えられる。ALA-S と ALA-D のこのような動きにくらべると、骨髓 Heme-S の動きは鉄欠乏で上昇し、回復1週目で完全に対照値にもどり、鉄の有無にたいして直接的に応答することを示した。このような本酵素活性の応答の引き金になる因子が鉄欠乏のどの段階に存在するであろうかについて推定してみると、まず貯蔵鉄の動きについて前報²¹⁾の Table 3 の結果をみると、血清鉄および肝鉄含量、脾鉄含量の動きは5%群と20%群ともに共通点が多い。しかし末梢血中の Hb 含量、網赤血球数は5%群では鉄欠乏の影響がまったく見られない。

以上の事実からラット鉄欠乏における本酵素の上昇は貯蔵鉄の減少にもとづく造血系への刺激による直接誘導と考えるよりも、むしろ、腸管からの鉄吸収の激減を最初の刺激として開始される鉄吸収の活性増大^{23)~25)}に直結して起こる本酵素の誘導現象と考えるのが妥当のように思われる。20% カゼイン群におけるこれらの酵素変動の大部分は前報²¹⁾における同群の血色素量の動きとよく呼応している。また Table 4 に記載した血中ポルフィリン量の変動をみると、プロトポルフィリンについては5%カゼイン、20%カゼイン両群とも鉄欠乏で低下、その後鉄やたん白摂取の回復によって上昇に転じていることから鉄欠乏期が続けば上記 ALA-D、ALA-S 活性同様上昇に転ずる時期があると推定すれば、これまでの報告と矛盾しない。またコプロポルフィリンについてはラットの成長にもなって上昇する時期があることがわかったが、これが鉄欠乏によってどのように変動するかについては確実な結論は得られなかった。

つぎに5%カゼイン群について考察する。鉄欠乏によって ALA-D、ALA-S の変動はまったく見られなかった。これを前報²¹⁾の同じラット群(5%カゼイン)についての結果と合わせて見ると、低たん白摂取ラットでは鉄欠乏によって体重や Hb 量などのいわゆる外面レベルでは差が起らないこととよく符合する。ところが Heme-S 活性だけは鉄欠乏に対応して上昇し、これが鉄再投与によってのみ元にもどることは上にのべた。さらにこの群の血中ポルフィリン値を見ると20%群よりも反応が激しく、鉄欠乏によって急上昇した。一般に鉄欠乏時には腸管からの鉄の吸収やヘムの取り込みが促進されることが知られている^{23)~25)}。これらの知識に本実験結果を加えてみると、鉄の代謝に限って以下のような推定になる。鉄が欠乏すればたん白栄養状態にかかわらず鉄の吸収、輸送、ヘムの組み入れなどの全過程について迅速な誘導がかかり、鉄の再投与によってただちにもの状態にもどるという適応機構が存在する。

肝臓中の造血3酵素活性の変動 (Table 1, 2, 3) については、大部分が両群ラットともに骨髓3酵素活性と同様の傾向を示したものの、活性度、変動幅ともに低く、確実な結論にはいたらなかった。

以上の考察は、今後さらに長期間にわたって肝、骨髓およびその他の組織におけるヘム鉄含量、貯蔵量²⁴⁾²⁶⁾、血清鉄¹²⁾などの動き (前報参照) とともに詳細に検索を進めなければならない。

最近、ヒトのクワシオコール、マラスムスなどの栄養障害において必ずしも貧血が高度でない者が見いだされており²⁷⁾²⁸⁾、わが国でも一般地域住民についての栄養調査において低たん白摂取と貧血の程度が必ずしも平行しないという報告²⁹⁾がある。これらの現象はヒトの栄養摂取パターンの複雑な変化が関与しており、本研究における5%カゼイン群のような単純な系で得られた実験結果をそのままではめることはできないが、少なくともヒトにも同じような適応の機能が存在するのではないかと推定の根拠を提示するものである。

要 約

本報では鉄欠乏がラットのヘム合成酵素活性に及ぼす影響をしらべた。すなわち、前報³¹⁾とまったく同じ実験条件下におけるラットのそれぞれから採り出した末梢血、骨髓、および肝について、ヘム合成系酵素8種のうちからALA-S (ALA synthetase), ALA-D (ALA Dehydratase), Heme-S (Heme Synthetase) の3種を選び活性を測定した。前2者はヘム合成の初期段階を、後者は最後の段階を律する酵素である。

1) 20% カゼイン群では、鉄欠乏によって骨髓のALA-S 活性が低下、末梢血のALA-D 活性が上昇し、鉄の再投与による回復期においてALA-S 活性は対照値にもどったが、ALA-D 活性はさらに上昇した。一方、5%カゼイン群では、鉄欠乏期間中はALA-S, ALA-D 活性ともに対照値との間にまったく差が起らなかった。しかし、このあとたん白を5%カゼインから20%カゼインに切りかえたところ両酵素活性ともに急上昇し、ALA-S, ALA-D 活性に関する限り、5%カゼインラットでは鉄の影響よりもたん白栄養の影響が上まわることを示した。

2) Heme-S 活性は前2酵素とは異なる対応を示した。すなわち鉄欠乏によって20%, 5%カゼイン群、ともに同程度に上昇し、鉄再投与によって完全に対照値にもどった。この回復現象は5%カゼイン群においては鉄の再投与のみが有効であり、20%カゼイン食への切りかえは無効であった。

3) 末梢血ALA-D 活性は網赤血球数とほぼ比例した。

4) 肝のALA-S, ALA-D, Heme-S 活性に対する鉄欠乏の影響は少なかった。

以上から鉄欠乏の影響は、ALA-S, ALA-D 活性に関する限り、20%カゼイン群にのみ出現することがわかり、これは前報における同ラット群の示した体重、血液性状などの変化とよく一致する。しかし、Heme-S 活性の変動は、たん白栄養と無関係に、鉄の代謝と直結して起こると推定される。

文 献

- 1) Tschudy, D.P. and Lamon, J.M.: Porphyrin Metabolism and the Porphyrins. Metabolic Control and Disease (Bordy, P.K. and Rosenberd, C.E., eds.), p. 939 (1980), Saunders (Philadelphia)
- 2) Simon, E.J. and Shemia, D.: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 2520 (1953)
- 3) Grinstein, M.: *J. Biol. Chem.*, 167, 515 (1947)
- 4) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 5) Dresel, E.I.B. and Falk, J.E.: *Biochem. J.*, 63, 72 (1956)
- 6) 浦田郡平: 臨床検査技術全書 (石井暢編集, Vol. 6), p. 357 (1975), 医学書院 (東京)
- 7) Aoki, Y., Takaku, F., Urata, G. and Wada, O.: *J. Clin. Invest.*, 53(5), 1326 (1974)
- 8) 浦田郡平, 近藤雅雄, 清水純孝: 文部省特定研究「難病」班報告書 (昭和52年度), p. 534 (1978)
- 9) Hogeboom, G.H.: Methods in Enzymology (Colowick, S.P. & Kaplan, N.O., eds., Vol. 1), p. 16 (1955), Academic Press, Inc. (New York)
- 10) Granick, S. and Mauzerall, D.: *J. Biol. Chem.*, 232, 1119 (1958)
- 11) Sawada, H., Takeshita, M., Sugita, Y. and Yoneyama, Y.: *Bioch. Biophys. Acta*, 178, 145 (1969)
- 12) 浦田郡平, 梶本雅俊, 鈴木妙子, 山田美恵子, 木村秀子, 近藤雅雄, 佐々木敦子, 小林克己: 日米医学協力計画低栄養専門部会報告書 (昭和50年度), p. 67 (1975)
- 13) 丸田英夫: 産業医学, 19, 167 (1977)
- 14) Adbulla, M., Svensson, S., Hager-Aronsen, B., Mathur, A. and Wallenius, K.: *Enzyme*, 23, 170 (1978)
- 15) 浦田郡平, 鈴木妙子, 梶本雅俊, 小林克己, 千葉省三, 浦部晶夫: 生化学, 48, 695 (1976)
- 16) Abdulla, M. and Svensson, S.: *Enzyme*, 23, 164 (1978)
- 17) Labbe, R.F. and Finch, C.A.: *Biochem. Med.*, 18, 323 (1977)
- 18) 東條仁美, 新聞副刊: 栄養学雑誌, 37, 147 (1979)
- 19) 浦田郡平, 梶本雅俊, 鈴木妙子, 近藤雅雄, 木村秀子, 佐々木敦子: 日米医学協力計画栄養異状専門部会報告書 (昭和53年度), p. 85 (1979)
- 20) 佐々茂: 日本臨床 (増刊号), 453, 244 (1980)
- 21) 浦田郡平, 木村秀子, 青木洋祐, 和田 攻: 原子力平和利用研究成果報告書 (科学技術庁), 2, 270 (1972)
- 22) 佐々茂, 高久史麿, 和田 攻, 中尾喜久: 臨床血液, 8, 181 (1967)
- 23) 刈米重夫: 日本臨床 (増刊号), 453, 257 (1980)

- 24) Bothwell, T.H., Charlton, R.W., Cook, J.D. and Finch, C.A. : Iron Metabolism in Man, p. 256 (1979), Blackwell Scientific Publications (London)
- 25) Ezyat, K.A. and Hegsted, D.M. : *J. Nutr.*, **101**, 927 (1971)
- 26) Dallman, P.R. : *J. Nutr.*, **97**, 475 (1969)
- 27) Viteri, Alvarado and Luthringer, Wood : *Vitamin & Horm.*, **26**, 573 (1968)
- 28) Viart, P. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 334 (1977)
- 29) 新居美都子, 和田 佐, 石田元男 : 小児科診療, **38**, 94 (1975)
- 30) 近藤雅雄, 梶本雅俊, 佐々木敦子, 丹羽源男, 鈴木妙子, 木村秀子, 浦田郡平 : 中毒学における生化学的アプローチ (井村伸正他編集), p. 179 (1980), 篠原出版 (東京)
- 31) 梶本雅俊, 長谷川葉子, 鈴木妙子, 近藤雅雄, 木村秀子, 丹羽源男, 浦田郡平 : 栄養と食糧, **34**, 43 (1981)

(昭和55年8月14日受理)