^{55}Fe ・ ^{59}Fe ダブルトレーサー法への液体シンチレーション計測法の応用——とくに鉄吸収能測定を中心として

服部理男, 永井輝夫*

(東京大学冲中内科, *放射線医学総合研究所)

(昭和 37 年 8 月 30 日 受理)

液体シンチレーション計数法による ^{55}Fe ・ ^{59}Fe 二重追跡法を改良し, 高測定効率の分別測定法を確立し得た。

この方法を利用し臨床的に消化管よりの鉄吸収率を日を追って調べた結果, きわめて少量の追跡量で満足すべき結果を得ることを知った。

家兎および白鼠を用いた動物実験でも本法が鉄吸収機構の追究にきわめて適切な方法であることを認めた。また結果の一部は全身計数法による吸収率と比較検討された。

本法による鉄吸収率曲線は動物種類によって著しい差異を示した。

1. ま え が き

鉄の放射性同位元素は 2 種あって ^{59}Fe は 1.1 および 1.3 MeV の γ 線のほか, β 線として最大エネルギー 0.46 MeV (54%), 0.27 MeV (46%) の 2 成分からなる放射能を有し, β 線の平均エネルギーは 0.12 MeV である¹⁾。一方 ^{55}Fe は最大エネルギー 0.0059 MeV の軟 X 線を放射する¹⁾。したがって ^{59}Fe は γ 線, β 線のいずれを利用して測定は容易であるが, エネルギーの低い ^{55}Fe の測定はかなり困難である。

しかし, そのような技術的困難にもかかわらず, 各分野で必要性が感じられること, かつ ^{55}Fe ・ ^{59}Fe はほぼ質量が同程度で, アイソトープ効果を無視し得ることなどから, 近來両アイソトープを同時に用いる実験の報告が増加している。

Peacock²⁾ らは両アイソトープを含む血液標本につき, ^{59}Fe にはヘリウム充填マイカ窓の計数管, ^{55}Fe にはアルゴン封入ベリリウム窓の計数

管を用い, 初めて両者の放射能を分別計測することに成功したが, 同様の計測法は Saylor and Finch³⁾, Bothwell⁴⁾, Hallberg and Sölvell⁵⁾, Mendel⁶⁾ らの動物^{3), 6)} および人体^{4), 5)} での鉄吸収実験に応用されている。また ^{59}Fe の β 線を磁場内で偏向せしめ ^{55}Fe の X 線のみを計測する方法が Stewart and Rossi⁷⁾ により報じられ, この方法を応用して Stewart and Gambino⁸⁾ の動物での鉄吸収実験が報告されている。しかし, これらの報告に用いられた方法はいずれも ^{55}Fe の計数効率が低いいため ^{55}Fe の投与量が大で, たとえば Bothwell⁴⁾ の報告では 50~100 μc , Hallberg and Sölvell の報告では 20~50 μc が人に経口投与されている。したがって放射能障害の面からはかなりの危険を含むものといえよう。

最近 ^{55}Fe の計数効率を高める試みとしてガスフロー計数管の応用⁹⁾, さらに Dern らにより液体シンチレーション法^{10), 11), 12)} の応用が発表されている。なかんずく Dern らは著しく高い計数

効率、すなわち ^{55}Fe の測定可能な崩壊 (^{55}Fe 崩壊の約 25% が X 線となり測定可能) の 20~60% が計測されると述べている^{11), 12)}。これは従来の報告、たとえば Saylor and Finch の 1.5% の計数効率と比較すると著しく計数効率を高めたものといえる。

著者は Dern の最初の論文¹⁰⁾に着想を得、これを動物の鉄吸収実験に応用し^{*1}、さらに Dern らのちに発表した方法^{11), 12)}を応用して、人体例で ^{59}Fe 5~8 μC , ^{55}Fe 5~8 μC の少量投与で鉄吸収能を測定することに成功した^{*2} ので、以下にその技術的な方面と、動物、人体につき行なった鉄吸収に関する実験成績を報告する。

2. 技術的事項

1) 著者らは初め Dern らの最初に発表した方法¹⁰⁾について検討したので簡単に触れておく。同法は Dern がのちに発表した方法^{11), 12)}に比し ^{55}Fe の計数効率が低い、簡便であるので動物実験のように投与 RI 量のある程度増し得る場合には便利である。なお、Dern の原法は Hb の鉄 10 mg を含有する血液標本 (血液 15~20 cc) を必要とするが、著者らは一部を改変して血液 1 cc について行なえるように工夫したので、細部はかなり異なっている。試料の調製: ^{55}Fe ・ ^{59}Fe を含む試料血液 1 cc に carrier として塩化第 2 鉄 500 γ を加え、濃硫酸 2 cc を加えて加熱、さらに過塩素酸 1~2 滴を加え完全に湿性灰化する。灰化液を希硫酸で数回洗浄して目盛り付き遠心管^{*3}に移したのち濃アンモニア水で中和し、水酸化鉄を生成せしめ数時間放置後遠心、遠沈残さに 8N トリクロール酢酸 0.5 cc を加え溶解後沸とう水浴中に 1 時間保ちトリクロール酢酸を蒸発させる。湯浴 1 時間で赤褐色の鉄液約 0.3 cc を得るから、これにアスコルビン酸 5 mg を加えると鉄は 2 価に還元され無色透明の液を得る。これを注意深

く 1 cc に希釈し、その 0.5 cc を測定に用いる。

放射能測定: 次項に詳述する。

2) Electroplating を行なう法

おおむね Dern らの法^{11), 12)}に準じているが、少量の血液試料で行なえるよう改変した。

湿性灰化: A) に記したと同様であるが、carrier 鉄を 2 mg にした。

Electroplating 装置: 陰極は 20×15 mm の厚さ 0.3 mm の白金板 (A) で、3 mm 径の白金線を溶着してある。陽極は径 0.2 mm の白金線でラセン部は 6 回コイル、長さ約 15 mm である。おのおのを Fig. 1 のように極の支持体からの電線とシリコンチューブ中で連結し、引張って取り

Fig. 1

*.1 要旨は第 1 回核医学会総会に発表

*.2 要旨は第 24 回日本血液学会総会に発表

*.3 市販の目盛では不可。別製を要する。

はずせるようにする。電解は C 図のようにして行ない電極および遠心管は金属性のクレンメで固定し, 上下に運動できるようにするとよい。電源は 12~4 volt の可変電圧電池を使用した。

Electroplating: 水酸化鉄ゲル沈殿を蒸留水で洗浄後, 1 cc の飽和シュウ酸溶液を加え完全に溶解後シュウ酸アンモン飽和溶液 10 cc を加える。この液を上記の電解装置で電気分解すると溶液中の鉄はすべて陰極に集まる。電解開始後 2, 4, 6, 8 分に 1 cc ずつシュウ酸を追加し, 12 分後遠心管を静かに下げ電解を止める*。陰極を手早くはずし, 計測バイアル中で予熱しておいた 0.4 M 過塩素酸 2 cc 中に浸し (Fig. 1 D), ただちにバイアルごと 100°C, 15 分間湯浴させると電極に集まった鉄はすべて過塩素酸に溶解するので陰極を蒸留水で洗いながら引出し, 洗浄後次回の使用にそなえる。同様の装置を 4 組作り, 一度に 4 試料の電解が可能である。なお, 各管を流れる電流は約 3 amp とする。

放射能計測装置および計測の実際

放射能の計測はすべて自動式 Tricarb 液体シンチレーション計数器 (Packard Instr. Co.) を用い, 摂氏 0°C, window 10~100 ボルトで計測を行なった。試料バイアルは 20 ml 内容のガラス製のものを用了。

前項に記した試料バイアルをさらに 30 分間沸とう浴中で加熱し, 水量をできるだけ少なくする。このようにしたものに下記に示す試薬を順次加え counting mixture とする。すなわち

試料

アスコルビン酸試薬 4 cc

トルエン混液 12 cc

ただし

エタノール (脱水) 100 cc

アスコルビン酸試薬 アスコルビン酸 200 mg

水 0.4 cc

毎週調製

* 陰極が液中にある間に電流を断つと陰極の鉄の一部が液中にもどる。

	特級トルエン	500 cc
トルエン混液	PPO	2 g
	POPOP	50 mg

標準試料としては, それぞれ ^{55}Fe ・ ^{59}Fe のいずれかを単独に含む溶液に血液 1 cc を加えたものを以後通常の試料とまったく同じように処理し計測した。また盲検はアスコルビン酸試薬とトルエン混液のみのものにつき計測した。

3. ^{55}Fe ・ ^{59}Fe 計測値の計算

^{55}Fe ・ ^{59}Fe の両者の放射活性を区別するには以下に述べるように光電子増倍管の印加電圧を変えると ^{55}Fe ・ ^{59}Fe はそれぞれ異なった電圧で計数の最大を示すので, これを利用して両者を分別する。Fig. 2 は ^{59}Fe および ^{55}Fe を単独に加えた標準試料を測定した成績で, 縦軸に計数値を, 横軸に印加電圧が示してある。tap volt 1 は 680 ボルトで, 以後各 tap ごとに約 85 ボルトずつ上昇し, tap 8 は 1200 ボルトである。 ^{59}Fe の放射活性はほとんど β 線によるものである。図から明らかなように ^{55}Fe ・ ^{59}Fe は tap 4, 8 にそれぞれ

Fig. 2 Counting efficiency of ^{55}Fe and ^{59}Fe

Table 1 Cross counting constants

⁵⁹ Fe	No. of sample	⁵⁹ Fe content	cpm in tap-IV	cpm in tap-VIII	IV/VIII cross counting constants
	59 1/2	1.575 mμc	1621	272	0.1677
	59 1	3.15	3666	577	0.1574
	59 3/2	6.30	7776	1147	0.1475
	59 2	6.30	8239	1289	0.1565
	59 3	12.60	17577	2692	0.1532
	59 4/2	12.60	14880	2214	0.1488
	59 4	25.20	32844	4879	0.1486
				average	0.1542
⁵⁵ Fe	55 1/2	25 mμc	2082	186	0.08933
	55 1	50	4239	390	0.09200
	55 2/2	50	4210	374	0.08884
	55 2	100	9986	846	0.08472
	55 3/2	100	8019	709	0.08842
	55 3 A	200	18078	1511	0.08358
	55 3 B	200	16719	1456	0.08708
	55 4	400	44039	4055	0.09207
				average	0.088255

れ極大を有するとともに、たがいの放射活性は重なり合いを起こす。したがって両者の混合試料では計数は両者の和が測定されるから、両者単独の計数を求めなければならない。これはつぎに示す式により求められる。

$$R_{IV} = R_{59} + k \cdot R_{55}$$

$$R_{VII} = R_{55} + f \cdot R_{59}$$

これを解いて

$$R_{59} = \frac{R_{IV} - k \cdot R_{VII}}{1 - f \cdot k} = C(R_{IV} - k \cdot R_{VII})$$

$$R_{55} = \frac{R_{VII} - f \cdot R_{IV}}{1 - f \cdot k} = C(R_{VII} - f \cdot R_{IV})$$

ただし、 R_{IV} 、 R_{VII} はそれぞれ試料の tap 4, 8 における計数値

f, k はいわゆる cross counting constant で標準試料の測定を行なって実験的に求められる。それぞれ

$$k = \frac{{}^{55}\text{Fe, tap-IV}}{{}^{55}\text{Fe, tap-VIII}}, f = \frac{{}^{59}\text{Fe, tap-VIII}}{{}^{59}\text{Fe, tap-IV}}$$

で示される値で恒数である。

$R_{59} \cdot R_{55}$ は未知の ${}^{55}\text{Fe} \cdot {}^{59}\text{Fe}$ 自体の計数値であ

る。Table 1 は著者らが測定した cross counting constant の値を示す。 k は平均 0.08826, f は平均 0.1542 であり、またこの表から明らかなようになりにかなりよい定量性が得られること、また計測効率はかなり高く、 ${}^{59}\text{Fe}$ はその崩壊の平均 56.93 %, ${}^{55}\text{Fe}$ の測定可能な崩壊の 16.16% の放射能が計測されることがわかる。 ${}^{55}\text{Fe}$ の値は Dern の報告に比べやや低い、おそらく carrier 鉄の量などによるものであろう。

4. 生体の鉄吸収能測定に対する応用

${}^{55}\text{Fe}$ 、 ${}^{59}\text{Fe}$ ダブルトレーサー法はや金学・植物学などにも広い応用範囲を持つといわれるが^{9), 10)}、生物学的な応用面でもっとも重要なものは生体の鉄吸収能測定であり、本論文のまえがきに紹介した論文の大部分が鉄吸収実験の報告であることからその事情が察せられよう。著者らの実験目標もその点にあったので以下に著者らの成績を中心に、概要を紹介する。

1) 測定法の原理

生体の鉄吸収は腸管細胞による鉄の摂取と、それに続く鉄の血中への放出の機構から成立っている。ダブルトレーサー法は、腸管から血中にはいる鉄量を測定するもので、腸管内に存在してまだ血中に放出されない鉄量は含まない。したがって同法により測定される吸収量は上記のような内容として定義され、生体に摂取された全鉄量にかなり近いが、厳密には一致しないことに注意すべきである。腸管から運び出される鉄は結局血液中にはいり、鉄結合蛋白と結合して造血器、貯蔵臓器に摂取され、さらにそのかなりの部分が末梢血中に出現してくる。したがって鉄の1つのアイソトープを経口投与し、吸収されてのち末梢血中にふたたび出現する比率を知り、他方静脈内に投与されたほかの鉄 RI が造血器貯蔵鉄にはいって赤血球中に出現する過程の速度比率を知れば鉄の吸収量が計算できるわけである。

1953 年 Saylor and Finch⁸⁾ は以上の考え方のもとづき実験を行ない、動物でダブルトレーサー法により得た鉄吸収量値は、動物の全死体の計測により得られる値とまったく一致することを報告し、以後同法は Bothwell⁴⁾ そのほかの業績に広く用いられている。

計算は次式による。すなわち、経口投与される RI の投与総量を Y 、末梢血中の放射活性を y 、静注投与された RI のそれをおのおの X , x とし、仮に鉄吸収量を A で表わせば、鉄の 2 つの RI は血液中にはいったのちはまったく等しい態度で生体を利用され末梢血中に出てくるから、

$$\frac{y}{A} = \frac{x}{X}$$

これを解いて

$$\% \text{ absorption} = \frac{A \times 100}{Y} = \frac{y \times \left(\frac{X}{x}\right) \times 100}{Y}$$

となる。

この方法での最大の問題点は経口投与された RI の吸収経過が長くなるような場合は、静脈内投与される RI との間に時間的なずれが生じる懸念があることである。

したがってこの方法を応用する場合、RI 投与後早期には上の計算式が成立たない可能性があること、また実験動物が実験期間中比較的恒常な状態にあることの 2 点に留意が必要と思われる。最近 RI 投与後早期の吸収動態を解決する試みとして、比較的大量のアイソトープを使用して、投与後の血清中の RI 活性を求め、これから微分方程式などを用いて鉄の吸収動態を求める試み^{5), 6)} がなされている。それらによれば犬、人の場合、鉄吸収過程は迅速で、両者とも 3 時間以内に吸収総量の約 80% 以上の吸収 (血中への放出) が完了するという。

したがって犬、人など比較的吸収過程の速やかな動物の場合、RI 投与後かなり早期から上掲の Finch の式が正しい結果を与えられ、以下に述べる著者らの実験でラットでもそれが実証された。しかし RI 投与後 48 時間以内ではさらに、吸収さるべき鉄が腸壁細胞の中にわずかに残留するので、腸壁から摂取された鉄の総量より当然わずかに低い値をとることになる。

1) 人における実験

M. I. ♀, 21 y.

Diagnosis: essential hypochromic anemia

Hb 10.4 g/dl

Fig. 3

Fig. 3~5 は著者らが測定した人の鉄吸収実験例で、上段に Finch の式で計算した鉄吸収 %, 下段に放射性鉄の赤血球利用率を示す。

これらの例には経口的に ^{59}Fe を $5\sim 8\ \mu\text{c}$ carrier 鉄 (塩化第2鉄液) $2.5\ \text{mg}$ とともに投与し、経口投与2時間後に $5\sim 8\ \mu\text{c}$ の ^{59}Fe を肘静脈投与してある。

Fig. 3 は合併症のない鉄欠乏貧血例, Fig. 4 は鉄剤の効果不良のため入院後、胆嚢炎の合併が発見された例である。PID は両例とも著明に短縮し、骨髓の鉄利用は活発であり、両者の赤血球鉄利用率には著しい差がない。しかし、合併症を有する例では、鉄吸収は正常範囲の上界程度になっている。Bothwell⁴⁾ も、合併症のある鉄欠乏性貧血例では、純粋な鉄欠乏性貧血例に比べ鉄吸収能が低いことを認めているが、この問題は今後多数例の検索によって結論を下すべき性質のものであろう。Fig. 5 は idiopathic hemochromatosis の例であり、吸収率は良好である。これら各例の結果から共通の結論として、投与後4日ぐらい経過したのちは吸収の過程はまったく終了するこ

T. I. ♀, 51y.

Diag: Iron deficiency anemia + cholecystitis
Hb $12.0\ \text{g/dl}$

Fig. 4

H. I. ♂, 56y.

Diag: Idiopathic hemochromatosis
Hb $14.4\ \text{g/dl}$

Fig. 5

と、したがって鉄吸収率は恒常の値を示すといえる。

現在人体の鉄吸収能を測定するほかの方法としては、糞便中の投与放射能を累計する法と human counter を用いる全身計測法とを考え得るが、 ^{59}Fe - ^{59}Fe ダブルトレーサー法はことに前者と比べては早期に結果を知り得るとともに、造血能の状態を同時に把握でき、RI 投与量の問題も吸収総量の測定に関しては解決されたように思われるので、今後広く使用されるべき方法であろうと考える。

3) 動物種による鉄吸収態度の差異

著者らは動物種間の鉄吸収能の差異を知るためラット・家兎についても実験を行なったのでその結果を報告する。

i) 家 兎

正常家兎における鉄吸収率は低く、7% 以下であり (4 例で 0.97, 1.1, 5.2, 6.2%), また人体例に比し吸収率が6日までは低く、9日に至ってようやく最終的なプラトー値に達した。Fig. 6 に示した汚血貧血家兎でも、明らかに同一の傾向が認

められる。これはラット、人などではまったく認められない現象で鉄吸収機構、なかんずく、腸管細胞から鉄が血中に放出される機構が緩徐であるためと思われるが、現在のところ未解決である。また図から明らかなように鉄吸収率と赤血球利用率の間には相関はほとんどない。

Iron absorption in anemic rabbits
(^{55}Fe ・ ^{59}Fe double isotope method)

ii) ラット

体重 200 g 前後の成熟ラットに ^{59}Fe 1~2 μc を経口投与し、そののち連日東芝製プラスチックシンチレーションカウンターによって全身計測すると Fig. 7 に示すように RI 投与後 48 時間以降は恒常値となる。このプラトーに達したときの値が吸収率を表わしているが、その値は正常ラット 20 匹の成績で 10~40% の間に一様に散在し

Iron absorption in normal rats
(whole body counting)

ている。したがってラットでは家兎よりも吸収過程が迅速で吸収総量も一般にはるかに高い。

この鉄吸収過程をさらに明らかにするため、Fig. 8 に示すように 3~5 匹ずつ経時的に屠殺して全臓器放射活性を計測すると、RI 投与後 3 時間においては、吸収された鉄の大部分が腸壁に

存在するが、以後時間の経過とともに急速に減少し、その鉄が造血器に運搬されるさまがよくわかる。しかし、24 時間以内は腸壁にかなりの鉄が残留していることは注目に値する。

Table 2

Rat No.	Iron absorption % 24 hours after isotope administration	
	Double isotope method	Whole body counting
No. 34	19.3	23.8
No. 35	9.5	15.4

Table 2 は同一ラットにつき RI 投与後 24 時間で、全身計測法、ダブルアイソトープ法の両者で同時測定を行ない、両者の値を比較したものであるが、ダブルアイソトープ法の値がわずかに低いことは以上の事実からよく説明できる。

以上の人体および動物実験から

- (1) 鉄吸収過程は動物種によりかなり著明な差があり、ラットでは著しく迅速、家兎では著しく緩慢で、人はラットに近い態度を示している。
- (2) 吸収総量も動物種間で著差がある。
- (3) 鉄の吸収量は造血能とは直接の関連を持たない。などの諸点が結論できる。

4. 結 語

著者らは ^{55}Fe ・ ^{59}Fe 混合試料の計測に、Dern が発表した方法にもとづいて液体シンチレーション計測法を応用したので、その技術的な問題につき解説を加え、かつ著者らの成績を示した。

また同法を生体の鉄吸収実験に応用することを試み、人に ^{55}Fe ・ ^{59}Fe 各 5~8 μC の投与により鉄吸収試験を行なうことに成功したので、その成績を報告した。

さらに動物実験で、鉄吸収の動態は動物種によりかなり差のあることを認めた。

稿を終るに臨み、本論文をご校閲たまわった恩師沖中教授に感謝申し上げるとともに、終始ご援助

をたまわった放射線医学総合研究所櫻田義彦、岩倉哲男両博士に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Loevinger, R.: Average Energy of Allowed Beta-Particle Spectra, *Physics Med. and Biol.*, 1, 330 (1957)
- 2) Peacock, W. C., Evans, R. D., Irvine, J. W. Jr., Good, W. M., Kip, A. F., Weiss, S. and Gibson, J. G.: The Use of Two Radioactive Isotopes of Iron in Tracer Studies of Erythrocytes, *J. Clin. Invest.*, 25, 605 (1946)
- 3) Saylor, L. and Finch, C. A.: Determination of Iron Absorption Using Two Isotopes of Iron, *Am. J. Physiol.*, 172, 372 (1953)
- 4) a) Bothwell, T. H., Pirzio-Biroli, G. and Finch, C. A.: Iron Absorption I. Factors Influencing Absorption, *J. Lab. and Clin. Med.*, 51, 24 (1958)
b) Pirzio-Biroli, G., Bothwell, T. H. and Finch, C. A.: Iron Absorption II. The Absorption of Radioiron Administered with a Standard Meal in Man, *ibid.*, 51, 37 (1958)
- 5) Hallberg and Sölvell, L.: Iron Absorption Studies, *Acta Medica Scand.*, 168, Suppl. 358 (1960)
- 6) Mendel, G. A.: Studies on Iron Absorption I. The Relationship between the Rate of Erythropoiesis, Hypoxia and Iron Absorption, *Blood*, 18, 727 (1961)
- 7) Stewart, W. B. and Rossi, H. H.: *Nucleonics*, 11, 66 (1953)
- 8) Stewart, W. B. and Gambino, S. R.: Kinetics of Iron Absorption in Normal Dogs, *Am. J. Physiol.*, 201, 67 (1961)
- 9) Rediske, J. H., Palmer, R. F. and Cline, J. F.: Assay of Iron-55 and Iron-59 in Biological Samples, *Anal. Chem.*, 27, 849 (1955)
- 10) Dern, R. J.: Liquid Scintillation Counting of the Isotope ^{56}Fe , Liquid Scintillation Counting, 205, Pergamon Press, London, N. Y., Paris, and Los Angeles (1958)
- 11) Dern, R. J. and Hart, W. L.: Studies with Doubly Labeled Iron I. Simultaneous Liquid

Scintillation Counting of Isotopes ^{55}Fe and ^{59}Fe as Ferrous Perchlorate, *J. Lab. and Clin. Med.*, 57, 322 (1961)

12) Dern, R. J. and Hart, W. L.: Studies with Dou-

bly Labeled Iron II. Separation of Iron from Blood Samples and Preparation of Ferrous Perchlorate for Liquid Scintillation Counting, *J. Lab. and Clin. Med.*, 57, 460 (1961)

Liquid Scintillation Counting of ^{55}Fe and ^{59}Fe Doubly Labeled Sample and its Application to the Studies on the Gastrointestinal Absorption of Iron

By

Masao HATTORI and Teruo NAGAI*

(The Third Dept. of Internal Med., Faculty of Med., Univ. of Tokyo,

*National Inst. of Radiological Sciences, Chiba)

(Received August 30, 1962)

Part 1.

A modification of the method of Dern, et al. has been described for the liquid scintillation counting of ^{55}Fe and ^{59}Fe in a single sample. It has been shown that the two isotopes can be quantitatively determined by this technique at a high level of efficiency.

The average counting efficiency of ^{55}Fe and ^{59}Fe obtainable with this method were found to be 16.2, and 56.3% respectively for the measurable emanations of these two isotopes.

Part 2.

Iron absorption studies were performed in three human subjects after the ingestion of test iron solution which contained 2.5 mg of elementary iron.

Employment of the liquid scintillation counting technique made it possible to reduce the iron doses of ^{55}Fe and ^{59}Fe to a

quite safety range, that is, 5-8 μc for both isotopes.

A case with essential hypochronic anemia showed iron absorption rate of 90% on the third day of experiment, and this value remained constant during 22 days of experiment.

Another case of iron deficiency anemia with a complication of cholecystitis showed only 21% of iron absorption, although this case showed almost as equally high red cell utilization rate of the intravenously administered iron isotope as the uncomplicated case.

A case with idiopathic hemochromatosis demonstrated 30% of iron absorption, with a similarly good red cell utilization rate.

In these latter two cases iron absorption rate showed always constant value after the fifth day of the experiments.

It was suggested from these results that

the main process of iron absorption in human subjects would be carried out within 3 days after the iron ingestion.

Part 3.

Animal experiments were also performed and results were as follows:

1) Total iron absorption rate in 4 normal rabbits was uniformly very low and less than 6% of instilled iron. The iron absorption of rabbits seemed to be a very slow process, which required about ten days even rabbits were in anemic states.

2) Iron absorption rate were estimated in 20 normal male wistar rats using the whole body counting technique.

The initial high radioactivity immediately after the ^{59}Fe instillation rapidly decreased and reached to the constant level in 48

hours after the ingestion in all cases.

It was also revealed that normal absorption rates were ranged from 10 to 40%.

Seventy per cent of absorbed iron was found in the intestinal wall 3 hours after the iron instillation, and this iron was exponentially decreased and almost entirely transported to the bone marrow, but not completely disappeared before 48 hours after the iron instillation.

It was concluded that the process of iron absorption in normal rat was very active and rapid compared to that of rabbit and human subject.

The existence of the slow phase of iron absorption which followed the initial fast phase was also demonstrated.