

121. TIBC の測定法に関する検討

齋藤 宏

(名古屋大学 アイソトープ検査室)

現在, TIBC は比色法で求めた SI と FeFe^{59} を結合させ残鉄を除去して求めた UIBC との和で表現されるのが普通である。しかし SI を FeFe^{59} を用いアイソトープ稀釈法により求める方法も報告されている。しかし成績は必ずしも一定せず比色法の SI の方が信頼度が高い, TIBC を求める他の方法として一度鉄で UIBC を飽和させ残鉄を除いて発色比色定量する方法もある。また, charcoal を用いて pH.5.0 で SI を 96%除去することができるので, そのあとで FeFe^{59} を加え UIBC 同様の操作で TIBC を求めようと試みたが結合能が不安定となった。これはトランスフェリンと鉄との結合に必要なあるものが charcoal で除去されるためであるかもしれない。トランスフェリンが酸性化後中性化されるまでに変性する可能性もある。

これらはいずれもまだ安心して使用できない。しかし, トランスフェリンの免疫測定により TIBC を求めたところ(比色法) SI+UIBC (ペータース法)ときわめてよく一致した。免疫測定法は血清もきわめて少量を使うのみで簡単であるから TIBC の測定にはもっとも適していると考えられる。これをさらに感度をあげるにはラジオインムノアッセイがある。アンチトランスフェリン血清を用いてもよいが, UIBC 内で Fe^{59} を結合させた抗原を用いると抗人血清でも測定可能であった。

デスフェリオキサミンにより SI を除去することも試みたが成功しなかった。本実験の免疫反応についてご協力いただいた名大細菌学教室の中島泉先生のご協力に感謝する。

*

122. アイロソルブ-59 法による肝疾患の UIBC 値測定とその臨床的価値について

飯尾正宏 上田英雄 千葉一夫

木谷健一 井出和子 亀田治男

(東京大学 上田内科)

最近 in vitro testing 法として, T-3 テストに代表される新しいラジオアイソトープの臨床検査テスト法への関心が増大しつつある。ここでは飽和分析法中の血清不飽和鉄結合能測定に導入されたアイロソルブ-59 (Irosoorb-59) 法による測定原理, 実際測定法および臨床応

用について検討しえた結果を報告する。

1. 基礎的検討 1) 血清と血漿について:

本法では同一血液についてみると, 血清 $293\mu\text{g}/\text{dl}$, 血漿 $445\mu\text{g}/\text{dl}$ とヘパリン添加によって153%の高値がえられた。したがって本法では必ず血清を使用しなければならない。

2) レジンスポンジ鉄吸着能について: Kit 中の放射性鉄試液中にスポンジをつけ, その鉄吸着能を比較してみたところ 25°C 1時間 incubate の条件で平均 $95.1\% \pm 1.36\%$ で, 1.05 の補正係数で正しい UIBC 値を算出できる。

3) 温度, 熱, 光の影響, 室温で incubate しても温度補正はほとんど必要ない。(30°C : $323\mu\text{g}/\text{dl}$, 23.5°C $323\mu\text{g}/\text{dl}$, 5°C $351.8\mu\text{g}/\text{dl}$), またスポンジは熱, 光に対してかなり安定である。

4) 直線性, 再現性ともに患者血清による検討の結果, 満足すべきものであった。

2. 臨床例: 正常対照25例, 肝炎15例, 肝硬変症11例, 日本住血吸虫皮フ反応陽性例38例, 鉄欠乏性貧血2例, 再生不良性貧血2例について測定, それぞれ以下のごとき結果をえた。

対照, 279.3 (平均値) $\pm 38.5\mu\text{g}/\text{dl}$ (標準偏差), 肝炎, $271.7 \pm 81.8\mu\text{g}/\text{dl}$, 肝硬変症 $147.0 \pm 41.0\mu\text{g}/\text{dl}$, 日本住血吸虫陽性例 236.9 ± 74.9 (Kunkel 法 >12 に肝障害をうけている例), $294.7 \pm 58.5\mu\text{g}/\text{dl}$ (肝障害ない例) 鉄欠乏性貧血 $386, 336\mu\text{g}/\text{dl}$, 再生不良性貧血 $93.7, 195\mu\text{g}/\text{dl}$ であった。日本住血吸虫陽性例全例の UIBC 値と Kunkel 法による肝障害度のあいだの相関を求めると 0.528 の相関係数を示し, 検定で有意の真の相関をみた。本法による測定値は化学法に比しやや高いが, きわめて容易, 再現性の高い方法で研究室間の比較検討にも適している。

追加: 田中正夫 山田英雄 (名古屋大学 第1内科) 正常例20例, 体質性過ビリルビン血症10例, 閉塞性黄疸29例, 伝染性肝炎29例, 肝硬変14例について, 血清鉄 UIBC, TIBC を検索した。血清鉄は正常平均値 $96.4 \pm 18.3\mu\text{g}/\text{dl}$ 体質性過ビリルビン血症 89.8 ± 28.8 , 閉塞性黄疸 91.1 ± 39.4 伝染性肝炎 $212. \pm 50.2$ 肝硬変 $137 \pm 13.7\mu\text{g}/\text{dl}$ であり, U, I, B, C はそれぞれ $214 \pm 40\mu\text{g}/\text{dl}$, 192 ± 62 , 160 ± 69 , 111 ± 63 , 117 ± 62 であった。また TIBC は正常 $310 \pm 54\mu\text{g}/\text{dl}$ 体質性過ビリルビン血症 282 ± 71 閉塞性黄疸 251 ± 52 伝染性肝炎 320 ± 54 肝硬変 254 ± 72 であった。すなわち肝炎など肝細胞性黄疸では

血清鉄が高く，UIBC が低く，TIBC が正常とかかわらず，閉塞性黄疸では血清鉄は大略正常でTIBC が低いという結果をえた。

Fe⁵⁹ を用いて肝炎で ferrokinesis を行なうと，血清鉄が高いにもかかわらず% RCV は正常であり P.I.T は亢進していた。

*

123. 不飽和血清鉄結合能測定キット

“Irosorb-59” の検討

松原高賢 荒木弘一

(熊本大学 河北内科)

不飽和血清鉄結合能測定用キット “Irosorb-59” は米国では有用性あるものとしてすでに市販されているが，不合理な高値を与えることが少なくないので，わが国の研究者からは測定値の正確度に疑いが持たれている。

私などは，正確な値がえられない所以は，本法を開発した研究者が，レジンスポンジの鉄吸着能が温度および時間の影響を強く受けることを深刻に考えなかったこと，および血清の吸着妨害作用を無視したことにあることを明らかにした。そこで私などは Irosorb 操作法を改良し，臨床上十分な正確さをもって不飽和血清鉄結合能を測定することができるようになった。

レジンスポンジはクエン酸鉄アンモニウムを 37°C で 1 時間内に完全に吸着するが，血清が試料に含まれている場合には吸着速度は遅くなり，数時間内には反応は平衡には達しない。したがって実際の測定に当っては温度，時間を厳重に規定しなければならない。37°C 1 時間が実用上適当である。

血清の吸着妨害の程度は鉄結合能の飽和した血清を用いて測定することができる。もし妨害がなければレジンスポンジの吸着率は 100% であるべきであるが，実際は 85~90% であった。これの逆数が吸着補正係数である。この係数を用いて，任意の血清の不飽和鉄結合能を求める計算式を作った。

私などの改良した Irosorb 法ともっとも正確な方法である分光測光滴定法（私などによって改良された Rath-Finch 法）とを比較したのに，両者はよく一致する値を与えた。

Irosorb 法による正常男女それぞれ 10 例の不飽和鉄結合能は平均 227, 267 γ /dl，飽和率は 34.0, 27.8% であった。

追加：服部理男（東京大学 中尾内科）

われわれもアイロソルブ法については検討し，その結果は「医学のあゆみ」3月号に発表している。われわれも血清の稀釈実験を行なったが，八田氏の指摘したように，原点を通らない結果をえ，諸先生の指摘されたように，LIBC の低い，つまり鉄の多い時レジンスポンジの吸着率がわるいことを示している。この点に関し，私どもの経験を紹介すると，この血清による妨害は，Hyland の凍乾血清を用いると見られないので，何らか新鮮血清中に妨害因子があるらしい。また Peters, Bothwell 法と比較した結果，アイロソルブ法のようにヴェロナール緩衝液血清鉄の共存する状態は Peters 法のようにあらかじめ血清と鉄を結合させ，次いでヴェロトール緩衝液で elute する場合と比較し，多量の Resin (IRA 410) を用いないと同じ吸着能率をえられない。したがって緩衝液がレジン吸着能率に及ぼす影響も考慮に入れる必要がある。このことは米国の研究者も ionic strength と測定値の間に関係があることを認めており無視できないと思われる。

追加：山田英雄（名古屋大学 第1内科）

われわれはアイソトープ法による UIBC 測定法を数年来行ってきたが遊離性鉄除去法として炭酸マグネシウム 0.5~1.0gr を用いることがもっともよいと考えている。この方法によるとヘパリンを用いてえた血漿でも血清と同じ値を示し，また buffer の pH についても 6.0~8.0 の間では影響がないことが判明している。（詳細は核医学 2 巻（3—4号）146~156頁を参照されたい。）

追加：刈米重夫（京都大学 第1内科）

われわれは Irosorb 法と MgCO₃ 法との比較を行なった。諸家の報告と一致して Irosorb 法の方が 30~60 μ g/dl 高値を示す。sponge で遊離の ⁵⁹Fe を除去したの上清にもう一度新しい sponge を加えるときまた ⁵⁹Fe 活性の吸着があり，その上清にさらに新しい sponge を加えるときまた若干の吸着 ⁵⁹Fe 活性がある。これら 3 つの sponge の ⁵⁹Fe 活性を加えて LIBC 値を計算するとほぼ MgCO₃ 法と一致する値をうる。Sponge で余剰の ⁵⁹Fe を除去した上清をセルローズアセテート濾紙電気脈動を行なうと，⁵⁹Fe 活性は β_1 -globulin 上のほかに albumin, α_1 -globulin の上にも相当残存していることがわかる。2 回，3 回新しい sponge で残余 ⁵⁹Fe を除去するにしたがって β_1 -globulin 以外の蛋白の上の ⁵⁹Fe はなくなってくる。

追加：刈米重夫（熊本大学 第1内科）

MgCO₃ で残余 ⁵⁹Fe を除去した血清は ⁵⁹Fe 活性は