

《原 著》

Diisopropylfluorophosphate-³²P (DF³²P) による 平均赤血球寿命の測定法

斎 藤 宏* 酒 井 美 知 子**

緒 言

核医学ルーチン検査として、赤血球寿命の測定には⁵¹Cr が用いられてきた。しかし、⁵¹Cr は赤血球を標識後、引き続き赤血球から遊出するため、赤血球寿命とはならず、放射活性の半減日数をもって赤血球の半寿命として表現せざるをえなかった。ところが、Diisopropylfluorophosphate-³²P (DF³²P) により赤血球を標識すると、標識の遊離がおきないこと¹⁾から、DF³²P は赤血球寿命の測定には不可欠の放射性医薬品となった^{2,3)}。しかし、なぜかDF³²P の利用はまだ普及していない。おそらく DF³²P に関する情報が不足しているためであろう。それ故ここでは DF³²P の利用促進に役立つよう、DF³²P による平均赤血球寿命の測定法と正常人ならびに血液疾患患者の成績、ならびに赤血球寿命測定に関連ある事項について述べる。

材料ならびに方法

材 料

1) DF³²P: DF³²P は英国の Radiochemical centre から入手したもの用いた。この DF³²P は 1 mCi/5 ml (200 μCi/ml) が 1 vial となっている。DF³²P としては 0.76 mg/ml 前後が含有されて

いるので、比放射能は約 260 μCi/mg 以下である。DF³²P は粘稠な propylene glycol 溶液で、1ヶ月間有効である。メーカーが指示している1回の使用量は 2.0 mg 以下であるが、国際血液学会標準委員会は 0.7 mg 以下を使用するよう勧告している⁴⁾。これは DFP により血清等の Cholinesterase 活性の低下をきたすおそれがある¹⁾からである。DF³²P は静注後約 1/3 は 1 日以内に尿中に排泄される。これに対し、大便中への排泄は 10 日間で 5% 以下である。³²P は強い β 線を放出するので患者被曝への配慮を要する。通常の使用量は成人で 50 μCi 以下である。燐酸としての ³²P の最大全身負荷量は 6 μCi であるが、DFP と燐酸との代謝は全く異なるので 6 μCi は適用されない。DF³²P による全身被曝量は赤血球寿命により異なるが、正常人では 0.2 rad 以下である。

2) 対象: 各種血液疾患患者、腎不全、および正常人男女 (19~22 歳) を用いた。

方 法

1) DF³²P の注射法

DF³²P を静注する患者には、あらかじめ特有のにおいがあることを告げておく。DF³²P 液はそのままの状態で静注すると血管痛をともなうので、生理食塩水 10 ml で希釈して用いる。

2) 採血法

一定少量の乾燥ヘパリンを含有する真空採血管を用いる。もしヘパリンの液を用いるときは採血針と筒の下端に残る量とし、毎回同じサイズの針と筒とを用いる。凝固防止のみを念頭に置いてヘパリン液を多く用いると、ヘマトクリット (Ht)

* 名古屋大学医学部放射線科

** 中部労災病院内科

受付: 51年3月1日

最終稿受付: 51年10月8日

別刷請求先: 名古屋市昭和区鶴舞町 65 (番 466)

名古屋大学医学部放射線科

斎 藤 宏

Table 1 Probable contaminants in the erythrocyte

Radioisotopes	Localization	Physical half life	Rays
⁷⁵ Se-Methionine	everywhere as protein	120 days	EC, γ
Na ⁵¹ CrO ₄ in vitro	globin	28 days	EC, γ
⁵⁹ Fe-transferrin	mostly in heme	45 days	γ , β
⁹⁹ TcO ₄ in vitro	intra capsular as colloid	2×10^5 years	β

の変動をきたし、精度がおちる。DF³²P注射当日およびその翌日は採血しない。その後はDF³²Pの血漿中放射活性は無視できるので、リサなどを使ったあとでなければ血清の分離や赤血球の洗滌は不需要である。これまでの使用核種については厳重にしらべておかねばならない (Table 1)。採血量は1回5ml余で、20日間か、それ以内*で7回採血する。通常の検査では血清を用い、血球を捨てる場合が多いので、採血者に対し、血球が必要なことと、採血後上下に攪拌しておくことなど充分注意しておく。全採血試料が揃うまでは試料を冷蔵庫に保存する。

3) 試料調製法

全血5mlを5cm径で0.6cmの高さの計数皿に取りわける。血液は室温に一夜放置すれば乾燥する (Fig. 1)。乾燥を急ぐときは赤外線ランプや乾燥器を用いてもよいが、沸騰しないように注意する。乾燥した試料には亀裂が生じるので試料が飛散しないよう注意する。表面をマイラーなどでおおうのはよくない。試料を粉にして測定する必要もない。亀裂防止のため糊を添加すると、ある程度効果はあるが、試料の自己吸収を増加させるおそれがある。もし計数を急ぐときは、乾燥させないでも測定できるが、測定効率は低下する。しかし、液状のときには表面が平坦であるため計数

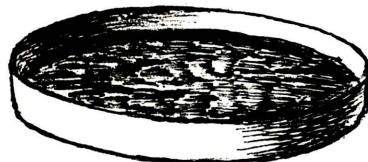


Fig. 1 Dried blood sample in the counting dish.

* 寿命が短いと予想される時は10~15日間でもよい。

上の誤差は少なくなる。血液試料が一部でも凝固していると不正確な値となる。Htは採血毎にしらべておく。本検査中は輸血を行わないよう注意しておく。やむをえず輸血するときはその量をできるだけ少なくし、記録しておき成績を検討する。

4) 測定法と記録法

通常はガイガーカウンターを用いる。われわれは Aloka 社製広窓 5cm 径ガイガーハウジングカウンターを用いている。ガスフローカウンターや液体シンチレーションカウンターは簡便でない。⁵⁹Fe と DF³²Pとの混合試料の分離測定法は別紙³⁾を参照されたい。測定法の詳細は割愛する。データは通常の方眼紙に計数値のまま記録する。%表示は成績相互の比較を図表上容易にするため用いることがあるが、寿命測定だけの目的では必要ない。

5) 出血の補正法

DF³²Pによる平均赤血球寿命も、各種出血により影響をうけるので、出血が疑われる場合はそれを補正することにより、みかけの寿命でない正確な寿命を求めることができる。出血量の検査には⁵¹Crを用いる。腸管内出血に対しては、5日間大便を集め、日別に灰化して測定し、該当日の前日の血液2mlの⁵¹Crの放射活性と比較する。⁵⁹Feを用いた検査後であれば、⁵⁹Feの静注10日以後か経口投与後14日以後の便を用いることができる。しかし、経口投与したヘモグロビン(Hb)の鉄は正常人でも約20%ほどが再吸収されるので、出血部位は異なるにしても、ある程度の再吸収があるとみなすべきであるから⁵¹Crほど正確な値はえられない。それ故、⁵⁹Feを腸管内出血のテストに用いた場合は、再吸収量分は出血を過少評価していると考えねばならない。しかし性器、泌尿器からの出血などは補集が完全ならば、みかけの寿命の補正に役立つ。

成績ならびに考按

1) 臨床成績とその考按

正常人ならびに各種血液疾患を中心とした患者につき DF³²P 法により平均赤血球寿命を測定した結果を Table 2 に示す。従来外国人の成績では、正常人の赤血球寿命は 120 日前後とされていたが、今回の日本人の成績では、120 日より短い例が多く、男子 103 ± 13 日（平均値土標準偏差）および女子 96 ± 12 日であった。多数症例では寿命の短縮がみられたが、真性多血症が疑われる 2 症例で 172 日と 190 日と、著しい寿命の延長がみられた。このような報告はまだみられない。これら 2 症例では赤血球寿命の延長も赤血球増加の要因となっていると考えられる。これら 2 症例と人工弁患者の 1 例では寿命曲線が 7,8 日で屈折していた。標識の遊出は 3 日が限度と考えられる²⁾ ので、これらは 2 種の寿命とした。遺伝性球状および橢円赤血球症では前者で 4/8、後者で 1/3 の 2 重赤血球人口を認めた。腎不全では寿命短縮がみられ、透析中の患者の方が透析前の患者よりも短かった。しかし、同一患者で透析の前後を比較し

たものではない。透析例では赤血球のロスも加味されている。再生不良性貧血では多くの症例で寿命の短縮がみられた。鉄欠乏性貧血やバンチ氏症候群では真性多血症について軽度の短縮を示した。これらの成績を Table 2 に示す。

2) 赤血球寿命測定に関連する問題

DF³²P は注射後しばらくは赤血球内にフリーで存在するが、漸次不可逆的結合状態となる。DF³²P の静注後の標識率は 25 ないし 40% であり、in vitro の標識率は 5 ないし 10% にすぎない。DF³²P は ⁵¹Cr と同様、赤血球の老若に無関係の標識をする。この点、¹⁴C-glycine や ⁷⁵Se-Methionine, ⁵⁹Fe などとは異なる。⁵¹Cr では体表測定ができるが DF³²P ではできない。最近 ^{99m}Tc により赤血球を標識できるようになったが³⁾、^{99m}Tc は減衰が早すぎて赤血球寿命の測定には適しない。鉄代謝からは別の方法で平均赤血球寿命を求めることができる。造血と破壊の定常状態では、全血液中の鉄量 [$\text{HbFe} = \text{Hb} (\text{g}/100 \text{ ml}) \times \text{Blood volume (ml)} \times 0.0034$] を赤血球鉄交替量 red cell iron turnover (RCIT) (mg/day) で除して平均赤血

Table 2 Mean red cell life span in normal and various hematologic disorders

Cases	Number of cases	Mean \pm SD	Range
Normal male	29	103 ± 13	86-130
Normal menstruating female	8	96 ± 12	84-115
Iron deficiency anemia	8	78 ± 21	58-124
Banti's syndrome	7	76 ± 18	51-98
Polycythemia vera	11	86 ± 19	63-125
Polylymphocytosis vera	2	—	7/172*, 8/190*, (130)
Myelofibrosis	4	58 ± 19	42-85
Hemolytic syndrome			
Heredity spherocytosis	8**	—	7-45
Heredity elliptocytosis	3***	—	12-53
Artificial valve	1	—	7/40*
Aplastic anemia	16	64 ± 18	34-115
Renal failure			
without dialysis	4	64 ± 18	46-94
undergoing dialysis	8	49 ± 10	30-61

* Double population

** Four cases of 8 had double population

*** One case of 3 had double population

(130) After phlebotomy therapy in patient with 190 day red cell survival

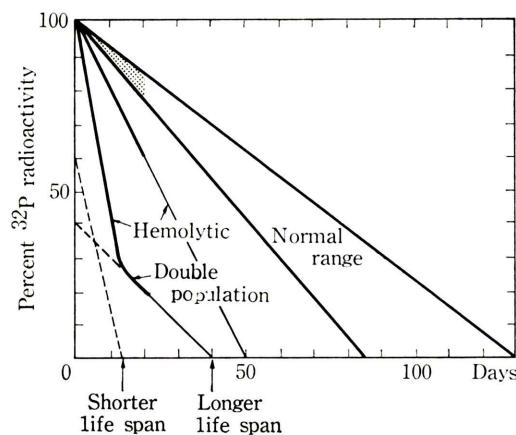


Fig. 2 Survival curves of $DF^{32}P$ labeled red cells.

球寿命とする。ここで、RCIT は、血漿鉄交替量 $plasura$ iron turnover (PIT) \times % 利用率, red cell radioiron utilization (%RCU) \times 1/100 から求める。しかし、%RCU には組織からの ^{59}Fe 還流分を固定したものも含まれるため、RCIT には、正味の赤血球鉄交替以外の鉄交替量も含まれることになり、鉄代謝から求める赤血球寿命は $DF^{32}P$ の値より多くの場合短くなる⁶⁾。特に、輸血や内部環境の急変がおきたときには上記の ^{59}Fe と HbFe による方法では正確な赤血球寿命を求ることはできない。最近、平均赤血球寿命の測定に ^{14}C -Cyanate (^{14}C -CN) が導入された⁷⁾が、これは、初期の標識遊出がみられず好都合ながら、体外で血球を標識することや、液体シンチレーションカウンティングが必要であり、 $DF^{32}P$ に比しかなり面倒な操作を要する。

$DF^{32}P$ で平均赤血球寿命を測定し、全 HbFe 量を除すると赤血球鉄更新量 red cell iron renewal (RCIR) (mg/day) が得られる。この中には赤血球以外の鉄交替量を含まないので、この値は正味の RCIT に相当する。すなわち RCIR は赤血球の正味の有効造血量を示す。そこで、鉄交替の総量 (PIT) の中に占める RCIR の割合を求める $RCIT/PIT$ の値は正味の有効造血の割合を示すことになる。この値は %RCU よりははるかに忠実度の高い有効造血の指標である⁷⁾。さらに、組織との鉄交替が無視できる鉄欠乏性貧血などの場合には $(PIT-RCIT)/PIT$ は無効造血の割合を示す⁸⁾。これらの有効造血量、有効造血率は、血液疾患の病態生理、赤血球回転を把握する上で極めて重要な指標である (Table 3)。

結 語

$DF^{32}P$ を利用すると平均赤血球寿命を正確に測定することができるが、その利用方法はまだ充分理解されていないし、普及もしていない。本報告では、 $DF^{32}P$ をはじめて利用する人々のためにすぐ役立つように技術的な面についても詳述した。われわれは $DF^{32}P$ を用いて正常人および各種血液疾患者の平均赤血球寿命を測定した。その結果、真性多血症疑の 2 症例において著明な赤血球寿命の延長を認めた。このような事実はまだ報告をみない。他の多くの疾患では赤血球寿命の短縮がみられた。本法では二種の赤血球寿命を示す症例も発見できた。有効造血量および有効造血率の

Table 3 Effective erythropoiesis (EE) and effective erythropoiesis rate (EER)

No. of cases	RCIT	(EE) RCIR		RCU	(EER) RCIR/PIT
		mg/kg/day	%		
Iron deficiency anemia	4	0.51	0.33	93	63
Polycythemia vera	7	1.28	0.66	97	61
Renal failure	11	0.49	0.32	71	51
Aplastic anemia	11	0.36	0.30	51	49
Hemolytic syndrome	8	1.73	0.76	61	30
Idiopathic hemochromatosis	2	0.85	0.50	64	64

測定のための DF³²P の利用法とその意義を述べた。

謝辞：本論文作成に御協力いただいた名大放射線科小原健先生に感謝します。

文 献

- 1) Cohen JA, and Warringa M: The fate of ³²P-labelled diisopropylfluorophosphonate in the human body and its use as a labelling agent. *J Clin Invest* **33**: 459-467, 1954
- 2) Hojort PF, Paputchis H, and Cheney B: Labeling of red blood cells with radioactive diisopropylfluorophosphonate (DF³²P). Evidence for initial release of label. *J Lab Clin Med* **55**: 416-424, 1960
- 3) Cline MJ, and Berlin NI: Evaluation of DF³²P and ⁵¹Cr as methods of measuring red cell life span in man. *Blood* **22**: 459-465, 1963
- 4) International Committee for standardization in hematology. Recommended methods for radioisotope red cell survival studies. *Blood* **38**: 378-386, 1971
- 5) 斎藤 宏: DF³²P と ⁵⁹Fe とが混在する血液試料からの平均赤血球寿命と鉄代謝の測定法. *日血誌* **36**: 859-864, 1973
- 6) Saito H, and Yamada H: Studies on red cell production and destruction in various hematological disorders in view of ferrokinetics. *Acta Haematol. Jap.* **36**: 681-709, 1973
- 7) Eschbach JW, Korn D, and Finch CA: ¹⁴C-cyanate as a tag for red cell survival in normal and uremic man. Before publication
- 8) 斎藤 宏, 山田英雄, 平出美知子: 各種血液疾患のフェロカイネティクスにおける有効造血率の測定とその意義. *日血誌* **39**: 138-144, 1976

Summary

The Method for Determining Mean Red Cell Life Span with DF³²P was Introduced in Detail: The Procedures of Injection, Blood Sampling, Sample Counting, and Correction for Blood Loss

Hiroshi SAITO* and Michiko SAKAI**

* Department of Radiology, Nagoya University School of Medicine

** Department of Internal Medicine, Chubu Rosai Hospital

The mean red cell life span was measured in normal subjects and patients with various hematologic disorders. A marked extension of red cell survival was observed in 2 cases with polycythemia vera. The marked extension of red cell survival, 172 and 90 days, seems to be an important cause of polycythemia in these patients.

The red cell survival was shortened in the most cases of hematologic disorders. There found double red cell population in 4 cases out of 8 in hereditary spherocytosis.

In addition, the meaning of the amount and rate of effective erythropoiesis was explained, and the results were reported.