《ノート》

# GammaDab Ferritin RIA Kit を用いての血中 Ferritin 測定について

## Measurement of Ferritin by GammaDab Ferritin Ria Kit

浅川　英男*　　森　　亘**

Hideo ASAKAWA* and Wataru MORI**

*Immunological Division, Central Labolatory of Tokyo Medical and Dental University Hospital
**Department of Pathology, Faculty of Medicine, Tokyo University

### I. はじめに

1972 年Addison[1] らがradioimmunoassay(RIA) 法を用いて，はじめて血中フェリチンの測定に成功した．それ以前に肝疾患で血中フェリチンが増加する報告はあるが[2] RIA 法を使用すれば血中フェリチンの減少する鉄欠乏性貧血のようなときでも 10 ng/m*l* 以下の値ですら測定可能となる．血中フェリチンが測定可能となって，体内における鉄の代謝，赤血球→ RES 系→血中→肝→血中→組織への体内鉄の移動についてさらに詳細な情報が得られるようになってきた．

現在血中フェリチンは体内貯蔵鉄量をよく反映するとされる．

他方 Richter[3] ははじめて担癌ラット肝フェリチンと正常肝フェリチンとの相違について報告し，ついで悪性腫瘍に際して，しばしば患者血中フェリチンが増加することが報告された[4,5,6]．これらのことから血中フェリチンの測定が悪性腫瘍の診断，治療効果の判定に役立つのではないかと考えられるに至った．今回，日本トラベノール社の血中フェリチン測定用キットが入手できたので種々検討を行ったのでその結果について記載する．

* 東京医科歯科大学検査部・血清
** 東京大学医学部・病理
受付：55 年 4 月 30 日
最終稿受付：55 年 6 月 17 日
別刷請求先：東京都文京区湯島 1-5-45　(〒113)
東京医科歯科大学検査部
浅　川　英　男

### II. 基礎的検討

**1) 標準曲線**

標準曲線を描くためにキットに付属している肝フェリチンの標準溶液，0, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 ng/m*l* を用い，きめられた方法に従い標準曲線を求めた．$^{125}$I 標識フェリチン 0.5 m*l* の CPM は 11.656 で，各濃度における B/T を % で表示した．その標準曲線を Fig. 1 に示した．標準曲線としてはよいものと考える．

**2) インキュベーション時間の比較**

第一回目に行うインキュベーション時間の相違による標準曲線の変化を Fig. 2 に示した．縦軸は B/T を % で表示し，横軸に肝フェリチン濃度を示した．インキュベーション時間を 1 時間，2 時間，3 時間にして比較してみると，1 時間と 2 時間では余り差は認められず，3 時間にすると，2 ng/m*l* の B/T は45.6%, 500ng/m*l* の B/T は 6.1 % であり，1 時間の 37.4%, 7.7% と明瞭な差が認められた．しかしその差はフェリチン濃度のうすいところでより明瞭であった．

**Key words:** Radioimmunoassay (RIA), Acute Myelogeneous Leukemia (AML), Chronic Myelogeneous Leukemia (CML), Acute Lymphocytic Leukemia (ALL), Acute Leukemia (AL)

Presented by Medical*Online

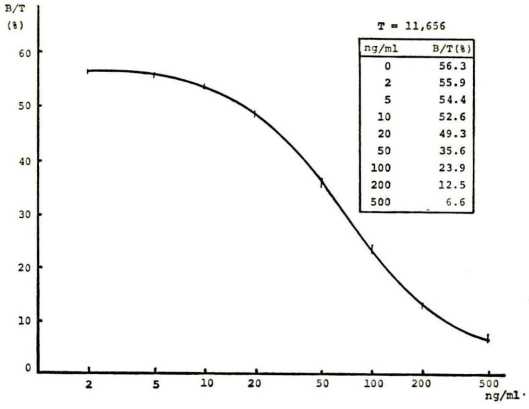


**Fig. 1** Standard curve

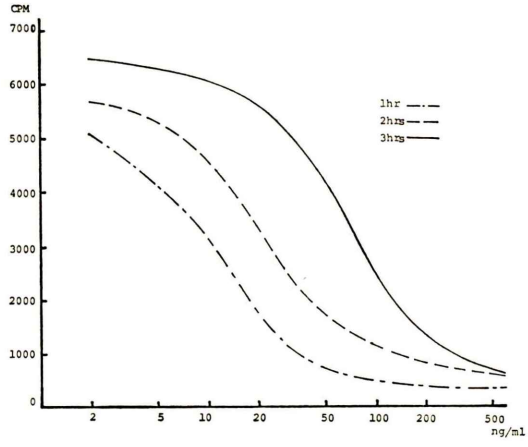


**Fig. 3** Influence of first incubation time

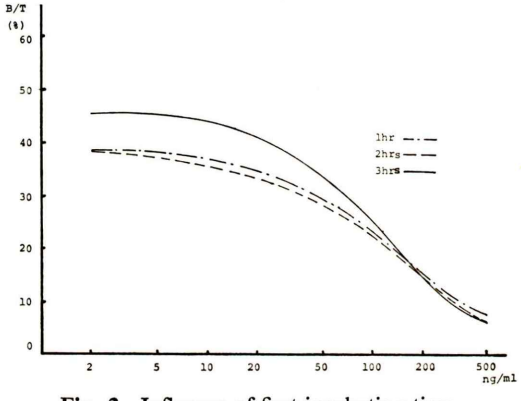


**Fig. 2** Influence of first incubation time

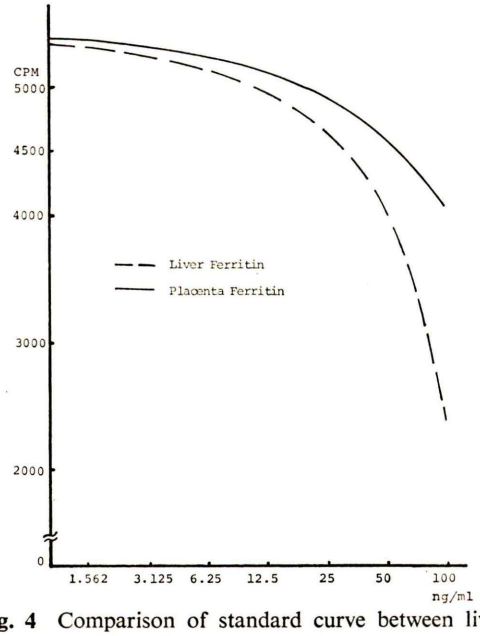


**Fig. 4** Comparison of standard curve between liver ferritin and placenta ferritin

同じデータを B/T ではなく，CPM で表示したものが Fig. 3 であり，この図からは 1 時間より 2 時間，2 時間より 3 時間の方が CPM の数は増加する傾向を認めた．

### 3) ヒト肝フェリチン，ヒト胎盤フェリチン溶液を使用したときの標準曲線の比較

ヒト肝フェリチン，胎盤フェリチンそれぞれの 100 ng/m*l* の $2^n$ の希釈溶液を作製し，このキットを用いて標準曲線を求めてみた．縦軸に CPM，横軸にフェリチン濃度をとり，標準曲線を描いたものが Fig. 4 である．この曲線の示すように濃度の高いところでは両者の CPM の差は大きい．この事実はヒト肝フェリチンとヒト胎盤フェリチンの免疫学的相違を示している．

### 4) 繰り返し測定による再現性

正常男子(輸血部供血者)10例について，同一人で 5 回測定した値の平均値±ISD と CV (変動係数) を Table 1 に示した．CV は 3.3% から 9.8% であり，その平均値は 5.5% であって満足すべきものであった．

同じように正常女子 (輸血部供血者) 10 例にお

Presented by Medical*Online

**Table 1** Intraassay in normal male (n=5)

| | mean±1SD (ng/ml) | CV(%) |
|---|---|---|
| 1 | 91.6±4.1 | 4.5 |
| 2 | 91.1±5.4 | 5.9 |
| 3 | 93.7±3.1 | 3.3 |
| 4 | 27.3±5.2 | 7.2 |
| 5 | 172.6±7.2 | 4.1 |
| 6 | 92.7±2.7 | 2.9 |
| 7 | 61.8±6.1 | 9.8 |
| 8 | 87.4±5.5 | 6.3 |
| 9 | 118.6±5.3 | 4.7 |
| 10 | 82.8±5.3 | 6.3 |

**Table 2** Intraassay in normal female (n=5)

| | mean±1SD (ng/ml) | CV(%) |
|---|---|---|
| 1 | 22.2±2.6 | 6.4 |
| 2 | 34.7±3.3 | 5.2 |
| 3 | 43.4±4.7 | 3.8 |
| 4 | 44.9±3.5 | 3.4 |
| 5 | 29.0±3.2 | 3.9 |
| 6 | 22.0±3.0 | 4.2 |
| 7 | 24.7±2.5 | 5.2 |
| 8 | 104.8±7.7 | 5.1 |
| 9 | 29.4±3.5 | 3.8 |
| 10 | 30.4±4.9 | 3.9 |

ける回繰り返し測定における平均値±ISD, CVをTable 2 に示した．そのCV は 3.4% から 6.4% の範囲にあり，その平均値は 4.5% で満足すべき結果であった．

**5) 測定者による測定の変動**

健康男子 10 名について 5 名の測定者による平均値± ISD と CV を Table 3 に示した．そのCV は 2.6% から8.2% の範囲にあり，平均値は4.0% で満足すべき値であった．また同時に健康女子10名について 5 名の測定者によるその値の平均値± ISD を Table 4 に示した．その CV は 3.0% から 8.3% の範囲にあり，平均値は4.3% で，満足すべき結果を得た．

**6) 測定日による測定値の変動**

健康男子 10 例を対象として同一人により 4 日間にわたる測定値の変動を求めた．測定に用いたロット番号は同一のものを使用した．その値の平均値 ±ISD, CV を Table 5 に示した．その CV は 3.5% から7.8%，平均値は 4.9% であり，満足すべき結果であった．

**Table 3** Interassay (man to man) in normal male (n=5)

| | mean±1SD (ng/ml) | CV(%) |
|---|---|---|
| 1 | 109.9±3.0 | 2.7 |
| 2 | 95.4±2.6 | 2.7 |
| 3 | 174.2±4.5 | 2.6 |
| 4 | 68.3±3.0 | 4.3 |
| 5 | 75.4±2.9 | 3.8 |
| 6 | 69.6±3.7 | 5.4 |
| 7 | 74.5±4.1 | 5.5 |
| 8 | 90.7±4.8 | 5.3 |
| 9 | 121.3±8.3 | 8.2 |
| 10 | 107.8±5.1 | 4.7 |

**Table 4** Interassay (man to man) in normal female (n=5)

| | mean±1SD (ng/ml) | CV(%) |
|---|---|---|
| 1 | 46.9±1.0 | 3.8 |
| 2 | 48.7±1.5 | 3.0 |
| 3 | 96.5±4.0 | 4.2 |
| 4 | 20.9±0.7 | 3.1 |
| 5 | 25.5±2.1 | 8.3 |
| 6 | 103.5±3.3 | 3.2 |
| 7 | 45.2±1.4 | 3.1 |
| 8 | 45.3±3.2 | 7.0 |
| 9 | 40.8±1.5 | 3.7 |
| 10 | 50.5±1.7 | 3.4 |

**Table 5** Interassay (day to day) in normal male (n=4)

| | mean±1SD (ng/ml) | CV(%) |
|---|---|---|
| 1 | 110.3±8.6 | 7.8 |
| 2 | 97.8±5.0 | 5.2 |
| 3 | 170.8±6.7 | 3.9 |
| 4 | 63.4±2.2 | 3.5 |
| 5 | 73.8±3.8 | 5.1 |
| 6 | 73.8±3.5 | 4.8 |
| 7 | 72.0±2.9 | 4.1 |
| 8 | 90.0±6.8 | 7.6 |
| 9 | 90.0±2.9 | 3.5 |
| 10 | 109.1±3.8 | 3.5 |

Presented by Medical*Online

**Table 6** Interassay (lot to lot) in normal (n=2)

| | mean±1SD (ng/ml) | CV(%) |
|---|---|---|
| 1 | 112 ±4.4 | 3.9 |
| 2 | 93.5±4.9 | 5.2 |
| 3 | 171.5±7.2 | 4.2 |
| 4 | 62 ±2.6 | 4.2 |
| 5 | 71.3±3.0 | 4.3 |
| 6 | 75.8±5.4 | 7.2 |
| 7 | 73.8±2.9 | 3.9 |
| 8 | 85.3±4.4 | 5.2 |
| 9 | 89.0±4.5 | 5.1 |
| 10 | 111 +6.2 | 5.6 |

**Table 7** Recovery test

| | estimated value (ng/ml) | recovery(%) |
|---|---|---|
| 1 | 0+ 5.0 | 100 |
| 2 | 0+ 5.0 | 108 |
| 3 | 5.0+ 10.0 | 100 |
| 4 | 5.0+ 10.0 | 106 |
| 5 | 10.0+ 20.0 | 105 |
| 6 | 10.0+ 20.0 | 98 |
| 7 | 10.0+ 50.0 | 95.6 |
| 8 | 10.0+ 50.0 | 98 |
| 9 | 10.0+100.0 | 103 |
| 10 | 10.0+100.0 | 102 |

**7) ロット間の測定値の変動**

健康人10例を対象としてロット間の測定値の変動をみた．Lot 130, Lot 149を用い，2回測定による値の平均値±ISD，CV を求めた．CV は 3.9%から7.2%の範囲にあり，その平均値は4.9%を示し，ロット間の差は殆んど問題とならないと思われる．Table 6

**8) 回収率**

回収率を次の方法によって検討した．0+5, 5+10, 10+20, 10+50, 10+100 (ng/ml) について回収率を求めた．回収率＝回収量／添加量とし，100分率で示した．Table 7. 回収率は95.6%から108%にわたり，その平均値は 101.6% であった．回収率は十分と思われる．

## III. 臨床的検討

**1) 健康人の血中フェリチン値**

健康男子 18 例の血中フェリチン値は 60 ng/ml から 175 ng/ml の範囲にあり，その平均値±ISD は 90.9±26.2 ng/ml を示した．健康女子 17 例の血中フェリチン値は 40.9±26.8 ng/ml であり，女性の血中フェリチン値は男性のそれのほぼ 1/2 よりやや小さい値であった．(Table 8)

**Table 8** Mean value of serum ferritin in various diseases

| Diagnosis | Cases | Mean±SD (ng/ml) |
|---|---|---|
| Acute Myelogeneous Leukemia (AML) | 14 | 1569.2±1084.6 |
| Chronic Myelogeneous Leukemia (CML) | 4 | 1851.3±1507.1 |
| Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) | 1 | 1545 |
| Acute Leukemia (AL) | 9 | 1097.8± 887.2 |
| Aplastic Anemia | 19 | 1258.4±1050.8 |
| Hepatoma | 23 | 1507.5± 914 |
| Pancreus Cancer | 16 | 1467.4± 757 |
| Acute Hepatitis | 10 | 927 ± 427 |
| Chronic Hepatitis | 10 | 877.9± 540.9 |
| Liver Crrosis | 10 | 629 ± 263.1 |
| Normal | 18 | 90.9± 26.2 |
| Normal | 17 | 40.9± 26.8 |

**2) 各種疾患における血中フェリチン値**

各種白血病 28 例における成績では急性骨髄性白血病 (AML) 14 例における平均値 ±ISD は 1569.2±1084.6 ng/ml, 慢性骨髄性白血病 (CML) 4 例における平均値 ±ISD は 1851.3±1507.1 ng/ml であった．急性リンパ性白血病はわずかに 1 例であるが 1545 ng/ml であり，9 例の急性白血病における平均値 ±ISD は 109.8±887.2 ng/ml であった．

再生不良性貧血 19 例における平均値 ±ISD は 1258.4±1050.8 ng/ml であり，白血病に匹敵する高値を示した．

肝癌 23 例における血中フェリチン値の平均値 ±ISD は 1507.5±914 ng/ml であり，膵癌16例におけるそれは 1467.4±757 ng/ml であった．

他方急性肝炎 10 例，慢性肝炎 10 例，肝硬変症 10例における血中フェリチンの平均値±ISD はそれぞれ，927±427, 877.9±540.9, 629±263.1ng/ml の高値を示した．

Presented by Medical*Online

## IV. 考　案

二抗体法による RIA 法は固相法に認められる高濃度におけるフック現象がない．その点が最もよいところと思われる．この Gamm Dab Fenitin Kit はフェリチンに $^{125}$I を標識したことで二抗体法を成立させていて，その標準曲線は満足すべきものであった．

第1回目のインキュベーションの時間は3時間をかけるのがよい．1時間，2時間では不足である．

このキットを使用し，私の作製したヒト胎盤フェリチン溶液の 100 ng/m*l* とキット附属の 100 ng/m*l* のヒト肝フェリチン溶液の $2^n$ 希釈シリーズをそれぞれ測定した結果からヒト肝フェリチンとヒト胎盤フェリチンでは免疫学的に相違する結果を得た．

本キットを使用したときの再現性はよく，同1人の繰り返しによる測定，測定者5名による測定値の CV はいずれも良好な結果を得た．またロット番号は同じで，4日間の同じ対象による日差変動を検討した結果の CV の値も満足すべきものであった．

次にロット間の測定値の CV を検討したところ，その CV はやはりよい値を示した．

以上 intra assay, inter assay ともに問題点はなく，十分使用できる kit と考えられた．

次に回収試験の結果から，その回収率は 95.6% から 108% であるが，その平均値は 101.6% で，回収率としてはよい結果と思われる．

臨床成績についてみると，健康人対象の値は男子：90.9±26.2, 女子 40.9±26.8 ng/m*l* で同じキットを用いた依田[7] らの報告とほぼ一致しており，本邦および他の報告と[8,9] ほぼ等しい値を示した．健康女子の値は健康男子のほぼ 1/2 またはややそれより低値である．

白血病における血中フェリチン値は上昇し[10,11] 慢性骨髄性白血病の blastic phase のとき最高値を示した．螢光抗体法を用いて検討した結果から白血病細胞がフェリチンを産生していることは確実であるが，完全寛解時の血中フェリチン値が，患者の輸血量に左右されるという報告から[7]，悪性腫瘍に際しては十分留意してモニターとして用うべきと思う．

再生不良性貧血では白血病に匹敵する高値を示したが，これは鉄代謝における本症の特徴像を示している．その他 refractory anaemia においても高フェリチン血症が報告されている[12]．

肝癌，膵癌いずれも高値を示した．これらの癌では血中フェリチン値は AFP, CEA の値とともに治療効果のモニターとして有用と思われる．

悪性腫瘍以外で高フェリチン血症の認められるものに肝疾患がある．Reissman[2], Lipschitz[13] らの報告がある．これは悪性腫瘍時の高フェリチン血症の評価に肝機能障碍を留意する必要性を示唆するものであろう．

その他輸血のため[14]およびヘモクロマトーシス，ヘモジテローシス[13] でも高値を示す．また心筋梗塞[4]，腎疾患時[13] で高フェリチン血症が報告されている．

以上血中フェリチン値の高値について述べたが，鉄欠乏性貧血では著明な低値を示す．即ちしばしば 10 ng/m*l* 以下となる[13]．血中フェリチンは体内貯蔵鉄のよいパラメータであり，血中フェリチンの 1 mg/m*l* は正常人の貯蔵鉄の 8 mg に相当するとの報告がある[15]．

従来正常人の血中フェリチンは測定できず，RIA法の出現によって測定可能となり，かつ鉄欠乏性貧血のような10 ng/m*l*以下でも測定できる．流血中のフェリチンの値が明らかとなることにより鉄の赤血球→網内系→流血→肝→流血または組織へと鉄の移動の状態が理解され得るようになった．

このフェリチンキットは使用法も簡単であり，intra assay, inter assayの成績，回収率からもよい結果を示し，フェリチン測定に十分有用である．

## V. 結　語

1) 本キットを用いたときの標準曲線は満足すべきものであった．

2) 再現性，回収率は共に問題はなく，第1イ

Presented by Medical*Online

ンキュベーション時間は3時間が適当と思われた.

3) 0ngから500 ng/m$l$ までの標準曲線が得られるので，低フェリチン血症，高フェリチン血症，いずれも測定可能であり，被験血清の希釈により，さらに高値も測定できる．鉄欠乏性貧血，肝疾患，悪性腫瘍の診断，治療効果のモニターとして本キットを用いて血中フェリチンの測定は十分役立つものと考えられる．

## 文献


1) Addison GM., et al: An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and overload. J. Clin. Pathol. **39**: 326, 1972
2) Reissman K.R, Dietrich M.R: On the presence of ferritin in periferal blood of patients with hepatocellular disease. J. Clin. Inves. **35**: 588, 1956
3) Richter G.W: Comparison of ferritin from neoplastic and non-neoplastic human cells. Nature **207**: 616, 1965
4) Mori W, Asakawa H, Taguchi T: Antiserum against leukemia cell ferritin as a diagnostic tool for malignant neoplasma. J. Natl. Cancer Inst. **55**: 513, 1975
5) Dragg S.J, et al: Isoferritin in acute leukemia. Brit. J. Cancer **35**: 675, 1977
6) Hazard J, Drysdale J.W: Ferritine-mia in Cancer. Nature **265**: 755, 1977
7) 依田安弘，花田 尚，阿部 師：急性白血病にける血清フェリチン値の意義．臨床血液 **20**: 1594, 1979
8) Cook J.D, et al: Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. Am J Clin Nutr **27**: 681, 1974
9) Jacobs A.F, et al: Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. Brit. Med. J. **4**: 206, 1972
10) 浅川英男，他：悪性腫瘍における鉄含有タンパクの動態．癌と化学療法 **5**: 335, 1978
11) Summer M, Worwood M, Jacobs A: Ferritin synthesis in lymphocytes, polymorphs and monocytes. Brit. J. Haematol. **30**: 425, 1975
12) Jacobs A, et al: Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deflciency and iron overload. Brit. Med. J. **4**: 206, 1972
13) Lipschitz DA, et al: A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. New Engl. J. Med. **290**: 1213, 1974
14) Letsky E.A, et al: Serum ferritin in children with thalassemia regulary transfused. J. Clin. Pathol. **27**: 652, 1974
15) Walter G.O, Miller F.M, Worwood: Serum ferritin centration and iron stores in normal subjects. J. Clin. Pathol **26**: 770, 1973


Presented by Medical*Online