《原　著》

フェロカイネティクス——不飽和血清鉄結合能 (UIBC) の低い症例に ^{59}Fe を静注するための前処置——血漿から鉄を除去し，^{59}Fe を完全に自己トランスフェリンに結合させる方法

齊　藤　　宏*

要旨　鉄がヘモグロビン合成に利用されるためにはトランスフェリンに結合していなければならない．それゆえ，フェロカイネティクスに際して静注される放射性鉄はトランスフェリンに結合している必要がある．しかし不飽和血清鉄結合能 (UIBC) の低い血漿では放射性鉄を患者の血漿に結合させることは困難である．そして，高い UIBC をもつ他人の血漿を用いると感染をおこすかもしれない．放射性鉄をトランスフェリンに結合させないで静注すると放射性鉄は直ちに肝に取込まれ，流血中から除去される．その結果，血漿中放射性鉄の計数は低い値になり，放射性鉄の希釈率は過大になり，血漿量は過大評価される．引いては血漿鉄交替率 (PIT) や赤血球鉄利用率 (RCU) も過大評価されかねない．また，多量に肝に取込まれた放射性鉄は放出され難いので，低下した RCU により有効造血を過少評価するおそれもある．上記のような問題を解決するため，下記のような方法を開発した．

血液をクエン酸酸性にして血漿鉄をトランスフェリンから離し，それをイオン交換樹脂で吸着し，除去する．次に，重曹溶液を加えて放射性鉄をトランスフェリンに結合させる．放射性鉄を結合した血漿はミリポアフィルターを通して静注する．血漿鉄除去と放射性鉄の結合は大変効率がよいのでごくわずかの血液ですむ．本法は簡便で臨床的に利用できる．

I. はじめに

トランスフェリンに結合した鉄のみが赤芽球に摂取され，ヘモグロビン (Hb) 合成に利用されるので，フェロカイネティクス[1~4]を行う場合は ^{59}Fe をトランスフェリンに結合させておく必要がある．フェロカイネティクスの対象には不飽和血漿鉄結合能 (UIBC)[5,6] が低い症例は多く，そのような症例では，^{59}Fe を患者自身のトランスフェリンに完全に結合させることはむずかしい．トランスフェリンに結合していない ^{59}Fe は，静注後流血中から瞬時に除去されてしまう．たとえ一部の ^{59}Fe が UIBC に結合できたとしても，血漿中 ^{59}Fe の計数値はきわめて低くなる．たとえその成績から ^{59}Fe の血漿消失曲線が得られたとしても，それを外挿して求めたゼロタイム値は低く，あたかも大量の血漿で希釈されたごとき値となるので，血漿量は過大評価される．この点に気付けば RISA† を用いて血漿量を求めなおすことができるが，気付かないと血漿鉄交替率 (PIT) や赤血球鉄利用率 (RCU) も過大になりかねない．他方，トランスフェリンに結合していなかったため肝にとりこまれた ^{59}Fe は，血漿中に還流し難く，したがって赤血球に利用され難い．そのため RCU は過度に低い値に止まるおそれがある．いずれにしても RCU が不正確になる原因となる．PIT や RCU はフェロカイネティクス上最も重要な造血

* 名古屋大学医学部附属病院放射線科
受付：57年9月20日
最終稿受付：57年11月24日
別刷請求先：名古屋市昭和区鶴舞町 65 (〒466)
名古屋大学医学部附属病院放射線科
齊　藤　　宏

† ^{131}I 標識人血清アルブミン Radioiodinated human serum albumin

の指標であるから，それらの成績は高い精度が要求される．しかし，現状では，UIBC の低い症例でのこれらの成績は不正確なおそれがある．これまで，UIBC の低い症例では ^{59}Fe をトランスフェリンに結合させる安全な方法はなかった．患者自身の血漿の代わりに高いUIBC値を有する他人の血漿を用いれば，^{59}Fe を完全に結合させることは可能であるが，感染の危険が伴うので実行できない．そこで，自己の血漿から血漿鉄を除去したのち，^{59}Fe を加えれば小量の血漿でも ^{59}Fe を完全に結合できるはずであると考えて，種々検討の結果新しい方法を開発することができたので報告する．

II. 使用材料

全血，抗凝固剤としてヘパリン，^{59}Fe クエン酸鉄†，鉄イオン吸着剤としてアンバーライト CG 400 イオン交換樹脂（レジン），無菌試験管，クエン酸，食塩水，ゴムキャップ，重曹††，ミリポアフィルター†††，攪拌器，注射針および筒．

III. 方法の検討

血漿鉄は pH 6.0 以下でトランスフェリンから遊離する．そこで，血漿に酸を加え，レジンを加えれば鉄イオンを除去できる[7~8]．これに ^{59}Fe を加え pH をアルカリ性側にもってくると，キャリヤー鉄量を結合能が上回れば，^{59}Fe の全量を結合できる[7~8]．

^{59}Fe をトランスフェリンに結合させる時は，通常はヘパリン採血後血漿を遠心分離して後 ^{59}Fe を加える．しかし，トランスフェリンの鉄結合力はきわめて強いので全血（血球＋血漿）のままでも ^{59}Fe を加えれば，UIBC がある範囲で ^{59}Fe を結合する．網赤血球数が多い場合は Hb 合成のため ^{59}Fe を摂取するおそれがあるが，それ以外では ^{59}Fe を全血に添加しても ^{59}Fe が血球側に結合することはない．血漿分離のための遠心操作が省かれるならば省きたい．そこで，全血とクエン酸との量を種々変えて血漿鉄の除去が可能であるか，溶血はどの程度おきるかなどを検討した．その結果，クエン酸だけでは溶血がおきることがわかった．除鉄率は良くても，溶血は好ましくないので，クエン酸を生理食塩水と溶解させて，クエン酸生食液としたところ，クエン酸の濃度が低く，pH が 5.0 以下にならない程度であれば溶血はほとんどおきないことがわかった．そこで，クエン酸は 0.6% の生理食塩水とし，全血 1.0 容に対し，これを 1.5 容加え，pH 5.0 に調整し，レジンとともに回転攪拌することとした．室温で10分間の攪拌により，血漿鉄の 93% を除去できた (Table 1)．

37°C では除去率はほぼ 100% となるが，臨床応用上は室温が簡便であり，実際的であるので 37°C での除去は行わないことにした．

上記のごとく鉄を除去した血液クエン酸レジン混液を遠心し，上清をとり，^{59}Fe を加え，さらに 3 m*l* の 8.4% 重曹溶液（メイロン 84）を加えて pH 8.0 に調整する．室温で 20 分間回転攪拌し，^{59}Fe をトランスフェリンに結合させ，ミリポアフ

Table 1 Efficiency of elimination of plasma iron from whole blood after 10 and 20 minutes rotation at room temperature with citric acid saline resin mixture

Sample No.	Percent eliminated 10 min.	20 min.
1	92.3	98.8
2	95.0	99.5
3	93.0	99.2
Mean ±SD	93.4±0.4	99.2±03

Table 2 Efficiency of iron binding to iron eliminated plasma following the procedure as described in this paper

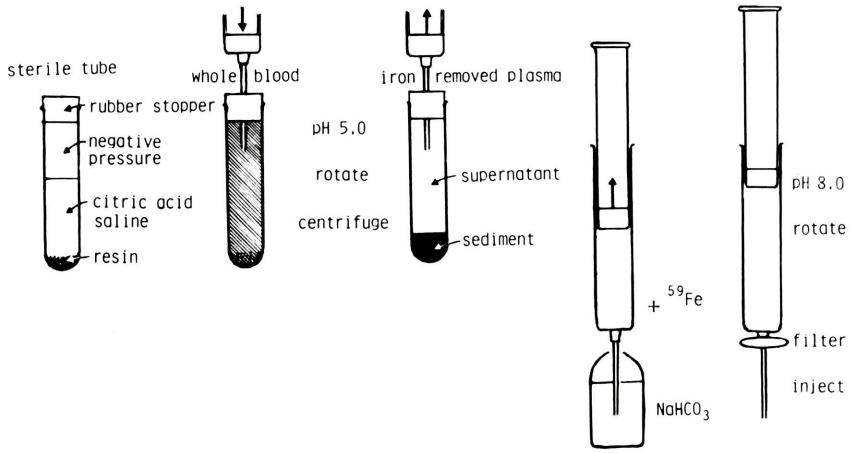
Sample No.	Percent bound	Percent unbound*	Percent recovered
1	96.1	3.7	99.8
2	98.7	2.8	101.5
3	96.9	3.1	100.0
4	100.5	3.3	103.8
Mean±SD	98.1±1.7	3.2±0.3	101.3±1.6

* Unbound free iron ion was adsorbed by resin

† 科研化学社：Ferric citrate (^{59}Fe), Amersham International Ltd., UK. 通常の使用量 20 μCi 中 carrier Fe を 2 μg 弱含有する．

†† 大塚製薬：メイロン 84

††† 日本ミリポアリミテッド：マイレックス GS



Whole blood 3 m*l*+0.6% citric acid saline 4.5 m*l* add amberlite CG 400 resin (pH 5.0) rotate for 10 min. at room temperature centrifuge for 3 min. at 3000 rpm.
Supernatant 5–6 m*l*+^{59}Fe 20 μCi containing less than 4 μg of carrier iron. add 8.4% $NaHCO_3$ solution 3 m*l* (pH 8.0) rotate for 20 min. at room temperature inject through millipore filter.

Fig. 1 Procedure of radioiron labeling for the patient's own plasma having low UIBC.

ィルターを通して静注する．この際，^{59}Fe のトランスフェリンとの結合率は Table 2 に示すごとくきわめて良好である．以上の操作を Fig. 1 に示す．全操作は無菌的に行う．

前採血量が 20 m*l* をこえる場合は，採血，孵置などの操作は容易でなくなるので前採血量が 20 m*l* をこえるような UIBC の低い症例では本法を用いる方がよいであろう．鉄代謝の検査を開始する前に UIBC が測定してない被検者では UIBC の推定は必ずしも容易ではないし，採血必要量もわからない．それ故，被検者の UIBC は鉄代謝の検査に近い時点で測定しておかねばならない (鉄代謝の検査の直前に採血しても UIBC 値はすぐには得られない)．そして，既知の UIBC 値が，鉄代謝検査開始時の UIBC よりは低い場合もあることに配慮して，採血する量を決めねばならない．もし既知の UIBC が 25 μg/d*l* (=0.25 μg/m*l*) で，20 μCi の ^{59}Fe を使用する時，その中に含有されるキャリヤー鉄量が 2 μg とすれば，2 μg の鉄を完全に自己血漿トランスフェリンに結合させるためには 2 μCi÷0.25 μCi/m*l*＝8 m*l* 以上の血漿が必要となる．被検者の静脈ヘマトクリット (Ht) が 30% であるとすると，少なくとも全血として 12 m*l* は採血しなければならない．もし，キャリヤー鉄量が 4 μg 含有される場合は全血として 24 m*l* 以上採血しなければならない．そこで，本法を実施するとすると，被検者の TIBC 値が必要である．上記被検者で TIBC が 250 μg/d*l* であるとすれば，本操作で血清鉄の除去率が低く見積って 90% として，20 μCi の ^{59}Fe に 4 μg のキャリヤー鉄が含有されている場合は 4 μg÷2.5 (μg/m*l*)×0.9＝1.8 m*l* 以上の血漿が必要となる．Ht が 30% ならば，全血として 3 m*l* かそれ以上を採血すればよい．UIBC は，血清鉄の日内変動が大きく日々の変動も大きいのでそれにつられて大きく変動することに配慮しなければならない．しかし，TIBC は鉄欠乏性貧血に対する鉄剤静注治療以外では急激な変化はおきないし，日内変動もない．それ故，すでに測定してある TIBC の値は基準にして採血量を決め，本法を実施する方が UIBC から採血量を推定して ^{59}Fe と孵置するよりも ^{59}Fe を完全に自己トランスフェリンに結合させうる確度が高い．

採血に際しては抗凝固剤として EDTA を用い

るべきではない．市販の EDTA 入り採血管には，血漿中の Ca^{++} がきわめて高い症例でも十分抗凝固作用が発揮できるように多量の EDTA が封入されている．それゆえ，これを用いて採血すれば Fe^{+++} は完全にキレートされる．酸性下で遊離した血清鉄が EDTA にキレートされるのは問題ないが，そのあとで加える ^{59}Fe もキレートされるので ^{59}Fe は血漿トランスフェリンとは結合できなくなる．トランスフェリンから鉄を遊離させるために用いるクエン酸には抗凝固作用もあるので採血に当たりあらかじめ注射筒にクエン酸生理食塩水を入れておけばヘパリンを添加する必要はない．

IV. 考　案

血漿から鉄を除去する際に使用する酸やレジンの種類や量などの問題は TIBC のラジオアッセイ法[7,8]を開発するに際して検討したのでそれを参考にした．

血漿から鉄を除去するに際して血漿を分離せず，全血のままで操作することにしたのは遠心分離の操作を省くためである．しかし，全血にクエン酸のみを加えると溶血するのでクエン酸を生理食塩水溶液として使用した．その結果，溶血はおきなくなった．クエン酸を生理食塩水溶液としたことにより試料中のイオンが増加するが，そのために血漿鉄の除去率が低下することはなかった．患者の試料中には種々の濃度のイオンや薬物が存在するが，過去に，ルーチンの TIBC のラジオアッセイ上支障がおきたことはなかった．^{59}Fe のトランスフェリンへの結合を妨害しうる薬物としては鉄の選択的キレート剤であるデスフェリオキサミンがあるが，使用中止1日後には支障がない．

鉄代謝の検査対象患者には UIBC の低い例の方が多い．本法は UIBC が低い場合に必要な方法である．^{59}Fe をトランスフェリンに結合させてから静注するためには UIBC 値と，それに結合しうる ^{59}Fe 量の見当をつける必要がある．使用する ^{59}Fe のキャリヤー鉄量と，UIBC および必要血漿量は Fig. 2 に示すごとくである．Fig. 2 と患者の Ht から，採血量が過大となり，本操作

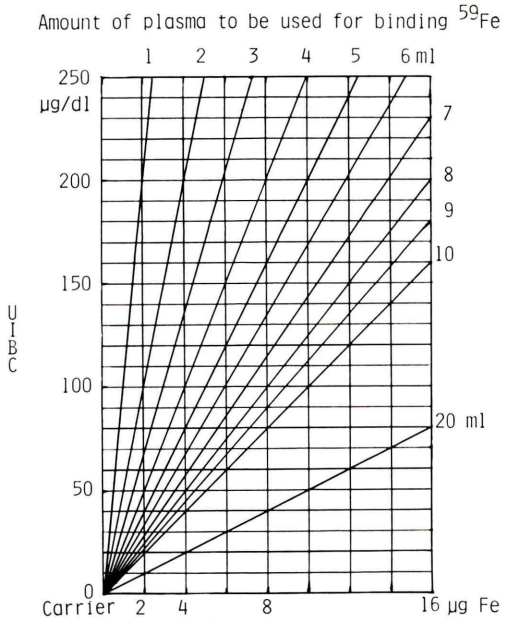


Fig. 2 Relationship between the amount of carrier iron contained in radioiron solution and UIBC. The amount of blood sufficient for binding radioiron can be determined from the chart. If UIBC is low and more than 20 m*l* of blood is needed for complete binding of radioiron, iron elimination and binding procedure as described in this paper is recommended.

を必要とすると判断した場合は，患者の TIBC と Ht とから本操作に必要な採血量がわかる．UIBC がきわめて低い場合でも，TIBC が十分量あれば本操作により ^{59}Fe を完全にトランスフェリンに結合できるので問題はない．しかし，無トランスフェリン血症のごとく TIBC が低い場合は，TIBC 値に応じて採血量を増やさねばならない．被検者の Ht には相当の差がありうるが，血液に加えるクエン酸生理食塩水溶液の量およびその後で加える重曹液の当量に影響することはない．

従来のフェロカイネティクスに関する報告や，指導書や教科書では「^{59}Fe をトランスフェリンに結合させて静注する」とは記載しているが，UIBC の低い症例では ^{59}Fe を血漿と孵置しても ^{59}Fe を結合できないことや，その解決法については述べられていない．UIBC が十分にある他人の血漿または市販のトランスフェリンを用いると

^{59}Fe を完全に結合させることはできるが感染の危険を伴う．その点自己の血漿を用いる本法では感染の危険はない．本法はキット化可能であり，安全かつ簡便な方法となる．

本法により，UIBC の低い患者血漿でも ^{59}Fe を結合させることが可能になったので，その ^{59}Fe 消失曲線から血漿量を正確に求めることができるようになった．その結果，フェロカイネティクスの重要な指標である PIT や RCU を過大に，または RCU を過少に評価する恐れもなくなった．

V. 結　語

フェロカイネティクスを行う場合，UIBC の低い症例では ^{59}Fe がトランスフェリンに結合できないため問題があった．そこで，血漿から鉄を除去したのち，放射性鉄を結合させるべく検討の結果，少量の自己の血液を用いて簡単に ^{59}Fe を結合させる方法を開発した．本法により，血漿量は正確に求められるようになり，^{59}Fe が過度に肝に沈着することも防止できる．その結果，PIT や RCU の誤評価も防止できる．UIBC の高い他人の血漿を用いて ^{59}Fe をトランスフェリンに結合させる必要もなく，感染の危険もなくなる．

本法は簡便であり，臨床的に利用できる．

文　献

1) Huff RL, Hennessy TG, Austin RE, et al: Plasma and red cell iron turnover in normal subjects and in patients having various hematopoietic disorders. J Clin Invest **29**: 1041–1052, 1950
2) Pollycove M, Mortimer R: The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects. J Clin Invest **40**: 753–782, 1961
3) Finch CA, Deubelbeiss K, Cook JD, et al: Ferrokinetics in man. Medicine **49**: 17–53, 1970
4) Saito H, Yamada H: Studies on red cell production and destruction in various hematological disorders in view of ferrokinetics. Acta haemat Jap **36**: 681–709, 1973
5) Bothwell TH, Jacobs P, Kamener, R: Determination of unsaturated iron-binding capacity of serum using radioactive iron. S Afr J Med Sci **24**: 93–98, 1959
6) 齊藤　宏：レジンストリップによる不飽和血清鉄結合能の測定法．Radioisotopes **19**: 179–183, 1970
7) Saito, H: New method for determining total iron-binding capacity of serum (TIBC) with radioiron by eliminating iron from transferrin. J Nucl Med **7**: 489–492, 1971
8) 齊藤　宏，井口健次，小田原美津，中根清司：放射性鉄を用いて総血清鉄結合能を測定する簡便法．Radioisotopes **22**: 12–18, 1973

Summary

Ferrokinetics—A Method for Binding Radioiron to Patient's Own Plasma Having Low Unsaturated Iron-Binding Capacity (UIBC) After Eliminating Serum Iron from transferrin

Hiroshi SAITO

Radioisotope Laboratory, Nagoya University Hospital, Nagoya

Iron must be bound to transferrin to be utilized for hemoglobin synthesis. Therefore, radioiron should be bound to transferrin when it is used for ferrokinetics. However, it is difficult to bind radioiron to the patient's own plasma having low unsaturated iron-binding capacity (UIBC), and the use of high UIBC plasma of other person may be a cause of infection. When radioiron is injected without binding to transferrin, radioiron is cleared immediately from the circulation by liver uptake. Consequently, radioiron counts in plasma are lowered, radioiron dilution rate is greater and plasma volume may be overestimated. This may results in the overestimation of plasma iron turnover rate (PIT) and red cell radioiron utilization (RCU). Furthermore, the radioiron taken up by the liver can hardly be released, and the rate of effective erythropoiesis may be underestimated from lowered RCU. To avoid the above described problem, a method for radioiron-binding to patient's own plasma was devised.

Blood is acidified by citric acid and plasma iron is detatched from transferrin, and eliminated by adsorbing it with ion exchange resin. Thereafter, radioiron is bound to transferrin by adding sodium bicarbonate solution. The radioiron bound plasma is injected through a millipore filter. Plasma iron elimination and radioiron binding is so effective that only a small amount of blood is needed.

The procedure is simple, easy to perform and can be used clinically.

Key words: Ferrokinetics, Iron binding capacity, Elimination of plasma iron, Iron binding to transferrin, Plasma iron disappearance.