

# 鉄栄養と健康

中澤 港 (生態情報学助教授 ; nminato @ med.gunma-u.ac.jp)

2006年12月13日

## 目次

1	概論	3
1.1	鉄という元素	3
1.2	環境中の鉄	3
2	ヒト及び他の哺乳類の鉄代謝	4
2.1	概論	4
2.2	体内の鉄	4
2.3	ヒトの鉄出納と貯蔵	5
3	食物中の鉄	7
3.1	概論	7
3.2	Bioavailability	8
4	ヒト体内の鉄代謝	8
4.1	概要	8
4.2	骨髄でのヘモグロビン合成	9
4.3	脾臓でのヘモグロビン分解	9
4.4	体内の鉄代謝経路	9
4.5	鉄代謝と感染症及び免疫機能の関連	9
5	鉄栄養の指標	10
5.1	概要	10
5.2	貯蔵鉄の直接的指標	11
5.3	貯蔵鉄の間接的指標	11
5.4	循環鉄の直接的指標	12
5.5	循環鉄の間接的指標	12
6	鉄欠乏	12
6.1	鉄欠乏の段階	12
6.2	鉄欠乏の原因	13
6.3	鉄欠乏の有害作用(症状)	14
7	鉄過剰	15

7.1 緒言 . . . . .	15
7.2 急性毒性 . . . . .	15
7.3 慢性毒性 . . . . .	15
8 引用文献	19
9 付録	23
9.1 カイノスフェリチン測定キットによる血清フェリチンの測定 . . . . .	23
9.2 総鉄結合能 (TIBC) の測定 . . . . .	24
9.3 血清鉄の測定 . . . . .	25

2006年12月12日 第1版

2006年12月13日 第1.01版 誤タイプセッティングを1箇所修正

中澤 港(著)

\* 内容は正しいつもりですが、もし間違いがあればメールでご指摘ください。

# 1 概論

## 1.1 鉄という元素

鉄は原子番号 26 の元素である。安定同位体として、 $^{54}\text{Fe}$ 、 $^{56}\text{Fe}$ 、 $^{57}\text{Fe}$ 、 $^{58}\text{Fe}$  の 4 つをもち、その存在比は 5.8 : 91.8 : 2.15 : 0.29 である。放射性同位体としては  $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{55}\text{Fe}$ 、 $^{59}\text{Fe}$  の 3 つがあり、半減期はそれぞれ 8.27 時間、2.7 年、44.6 日で、壊変形式は、 $^{52}\text{Fe}$  が  $\beta+$  壊変と軌道電子捕獲、 $^{55}\text{Fe}$  が軌道電子捕獲、 $^{59}\text{Fe}$  が  $\beta-$  壊変である (東京天文台, 1987)。

原子共鳴線の波長は 248.33 nm ( $f$  値<sup>\*1</sup>は 0.34) と 371.99 nm ( $f$  値は 0.04) である。ただし、原子吸光分析では、基底状態と最初の励起状態との間の遷移を起こす 248.33 nm を用いることが多い。この波長は 250 nm より短いため、フレイム原子吸光ではバックグラウンド吸光のゆらぎが起こりやすく、一般に重水素ランプによる補正を行なうが、黒鉛アトマイザーによるフレイムレス原子吸光の方が適している (鈴木, 1984)。鉄の化学的特徴としては、(1) 酸化還元反応に速やかに関与する、(2) 有機化合物・無機化合物の両方を形成して水溶性となる、(3) 水和酸化鉄 (III) (無定形) の表面は化学活性をもち他の物質を吸着して反応の場となる、(4) 生命現象に必須なので全ての生物に存在する、といった点があげられる。

## 1.2 環境中の鉄

鉄の地殻存在度は、質量比にして 46.60%の酸素、27.72%の珪素、8.13%のアルミニウムに次いで 5.00%で元素中第 4 位である。地殻中では主として  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  及び  $\text{FeO}$  の形で存在し、堆積岩中では前者、火成岩及び変成岩中では後者の形で存在する方が多い (東京天文台, 1987)。地殻の 95%は火成岩と変成岩からなり、岩石露頭の 75%は堆積岩からなる。大部分の土壌の鉄含有割合 (質量比) は 0.7~4.2%だが、とくに低緯度地方でよくみられるように土壌が赤色化作用か鉄アルミナ富化作用を受けている場合に鉄含有割合が 15~55%と高くなる。ブリッジズ (1990) によれば、これらの作用は次のように説明されている。

熱帯サバンナのある地方や、強い夏の干ばつにさらされている亜熱帯地方にみられるようなはっきりした乾季がある地域では、土壌が乾季の間に次第に乾燥していき、雨季には溶脱される。乾季の終わりに土壌が再び湿潤になるときに、炭酸塩は土壌から除去され、水和酸化鉄 (III) ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) を含んだ粘土が残る。乾季に土壌が脱水作用を受けると、加水酸化鉄から赤鉄鉱への変換がおこる。これが土壌を鮮明な赤色に着色する。このような赤色の発達を赤色化作用と呼ばれている。地中海赤色土や熱帯の鉄アルミナ質土壌の粘土集積層では、洗脱された粘土と酸化鉄が結合している場合が多い。

鉄アルミナ富化作用<sup>a</sup>は、世界の湿潤熱帯地域における土壌生成に特徴的にみられるものである。簡単にいえば、この作用は、珪酸が失われることによって鉄とアルミニウムの酸化物 ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$  や  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) が相対的に集積する過程である。岩石が湿潤地帯の環境に長期にわたってさらされると、激しく風化されて塩基含量のきわめてすくないオキシック (oxic) 層が生成する。いいかえれば、蒸発散量を上回る降雨量があるとき、熱帯雨林の落葉は急速に分解されて腐植酸が生成し、フリーな水素イオンが生成する。このとき土壌は強度の酸性になる。ちなみに、この分解過程では同時に落葉中に含まれていた元素の多くがフリーになり、植物によって再び吸収されるので、植物と土壌の間での塩基や養分の急速な循環が保たれている。土壌が酸性であるために、粘土鉱物の分解と酸化鉄、アルミナの集積がおこり、ついで珪素が土壌から失われ、カオリナイト群の粘土鉱物が生成し、そこに酸化鉄やアルミナが結合してさらに集積が進む。こうして生じた土壌では排水がよくなるので、珪素、窒素、カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、カリウムなどがますます失われやすくなり、鉄アルミナ富化作用は加速される。

<sup>a</sup> 注：かつてこの過程はラテライト化作用、ラトソル化作用、カオリン化作用などと呼ばれてきた。しかし、これらの用語の定義内容や使用法に混乱がみられるので、鉄アルミナ富化作用という用語を用いるのが望ましい。

地殻から放出された鉄は、水圏や気圏を循環する。水圏では、56 mg/L 以上に達する所もあるが、もっとも低濃度

\*1 注：振動子強度といい、スペクトル線の強度を表す。原子が単位時間に遷移を受け、光子を吸収するか放射する確率をいう。

なところでは  $0.56 \mu\text{g/L}$  という報告もあって、幅が広い。1962年にアメリカ合州国の公衆衛生局が定めた基準値として、飲料水中の許容濃度は  $0.3 \text{ mg/L}$  未満となっている。気圏では、1970年頃の報告によれば、 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{g/m}^3$  というレベルである。現在の地球的移動については、人為的採鉱によって環境中ででてくる量が自然風化によるその8倍にも及んでいる。前者の例としては、鉄鉱石の他にも、ボーキサイトの精錬のときの残滓、肥料、鉱山の酸性排水、製鉄産業の廃棄物、鉄及び鉄鉱産業の廃棄物、などがあげられる(米国立調査委員会, 1981)。

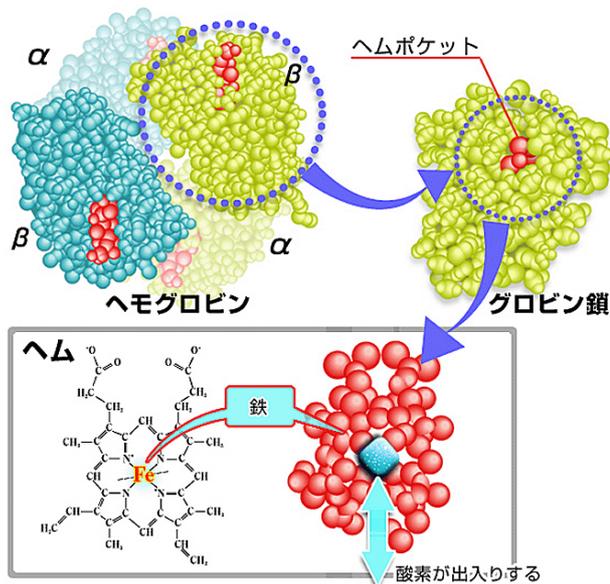
## 2 ヒト及び他の哺乳類の鉄代謝

### 2.1 概論

脊椎動物では、鉄タンパクであるヘモグロビンが酸素を運ぶので、単位体重当りの鉄の必要量は、 $25 \sim 75 \text{ mg/kg}$  であり、無脊椎動物より2桁高い。ヒトの必須鉄量は  $35 \text{ mg/LBM}\cdot\text{kg}^{-2}$  で、残りは貯蔵鉄である。成長とともに変化し、出生時には貯蔵鉄が多い。生後1ヵ月から2歳の間に急速に貯蔵鉄は減少し、 $5 \text{ mg/kg}$  を切ってしまう。再びそれ以上に回復するのは、15歳を過ぎてからである。哺乳類のうち、鉄欠乏になりやすいのはブタである。ブタは成長が急速すぎ、鉄の所要量が大きいためである。他の哺乳類は、体内に鉄を維持できることもあって、なかなか鉄欠乏にはならない。

### 2.2 体内の鉄

血液 ヘモグロビン (Hb) は、分子量 16,000 のポリペプチド 4 つからなる。各々 1 原子の鉄をもつ。 $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖各 2 本なので、 $(\alpha\beta)_2$  と表現する。鎖も鎖も螺旋構造をとる。これにより Hb は非極性となり、鉄の酸化が防がれる。還元 Hb では、Fe は 5 つの配位子をもち、ヘム環の表面から押し出されている。酸化 Hb では 6 番目の配位子に酸素が結び付き、Fe 原子半径が減少してヘム環内に入る。



<http://rikanet2.jst.go.jp/contents/cp0410/contents/s2/sec2-02-03-02.html>

Hb 濃度は、一般の人では、(1) 大気中酸素分圧、(2) 酸素に対する Hb の親和性、(3) 循環血中テストステロン値、によってだいたい決まる。ただし、小児期には、血中有機リン酸濃度が高くなっているために組織での酸素利用効率が上昇するので、相対的に Hb 濃度は低くなっている。

トランスフェリン (Tf) は、分子量約 80,000 の糖タンパクである。成人の正常値は  $2.3 \text{ g/L}$  という報告があ

\*2 注: LBM とは lean body mass の略で除脂肪体重のこと。

る。肝臓で合成され、1分子当たり鉄2原子を結合することができる。しかし、実際には原子間の干渉があるために、平均して1分子が結合できる鉄原子は1.4個である (Guindi ら, 1988)。

**組織鉄** Hb 以外のすべてのヘム鉄は、組織に存在する。ミオグロビンは筋肉 1 kg 当たり 15 mg 存在し、酸素輸送系である。チトクローム a, b, c, P450 は、電子伝達系である。カタラーゼ、ペルオキシダーゼも鉄酵素である。非ヘム鉄化合物である酵素としては、メタロフラボタンパクがある。これには NADH デヒドロゲナーゼ、コハク酸デヒドロゲナーゼ、 $\alpha$ -グリセロリン酸デヒドロゲナーゼなど、酸化を行う酵素が含まれる。ミトコンドリアではチトクロームよりこれら非ヘム鉄酵素群の方が多い。さらに、補酵素として鉄を必要とする酵素があって、これにはアコニターゼや脂質ペルオキシダーゼが含まれる。これらは、プロトコラーゲン中のプロリンやリシンの加水分解に鉄を必要とする。

**貯蔵鉄** 貯蔵鉄を含むタンパクとしては、フェリチンとヘモジデリンがある。フェリチンは、分子量 450,000 で、24 のサブユニットからなり、中心には主として  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  の形で鉄の塊をもつ。通常、Ft と略記される。ヘモジデリンは、Ft の集合体である。光学顕微鏡で、金色を帯びた褐色顆粒として見る事ができる。種々の有機物を含むので、壊れた Ft を含む細胞内小器官であるとする説もある。通常、Hs と略記する。鉄損失が鉄摂取よりも少ないときは、鉄摂取の上昇につれてアポ Ft 合成が高まり、遊離ポリリポゾーム内で Ft への鉄吸着が進行して、肝臓の Ft 貯蔵が増加する。それによって肝臓の Hs 貯蔵量が増加すると同時に、網内系細胞と肝細胞小胞体でのアポ Ft 合成が昂進して、血清 Ft も上昇する。逆に、鉄損失が鉄摂取よりも多いときは、肝臓の Ft から鉄が放出され、血清鉄濃度が上昇する。Ft の鉄吸着と放出は、鉄の原子価が III II III と変化することと関連するといわれている。

## 2.3 ヒトの鉄出納と貯蔵

定常状態では、きわめて鉄出納は少量である。鉄タンパクが分解されて生じたフリーな鉄は、たいていの場合、別の鉄タンパクに再利用され、簡単には体外に排泄されない。

**生理的鉄損失** 男性の場合、生理的に体外に排泄される鉄は、一日当たり、体重 1 kg 当たり、12~14  $\mu\text{g}$  である。これは、静脈内に  $^{59}\text{Fe}$  や、 $^{55}\text{Fe}$  を注入し、尿、便、汗の放射活性、あるいは体内残存鉄の放射活性、あるいは赤血球の放射活性を数年にわたって測定することによって調べられ (Finch, 1959)、成人男性で約 1 mg/day と報告された。損失の経路は、大別すると 3 つある。消化管と尿と皮膚である。消化管から失われる鉄は、血液、粘膜、胆汁の 3 つの形態があるが、赤血球の形で失われるものがもっとも多い。鉄欠乏のときに損失量は減少し、鉄過剰では増大するが、その幅は 50~200%以内にとどまる。

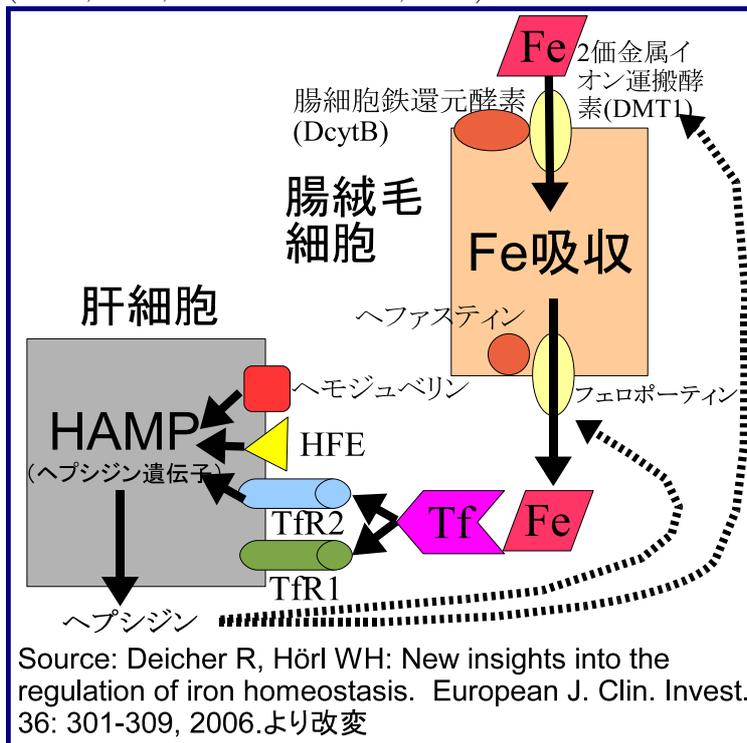
女性では、月経血による損失が、一日当たりにならすと、0.6 mg ある。したがって、平均して男性よりも 1.6 倍の鉄を失っていることになる。Hallberg によれば、月経血による鉄損失量の分布は右裾を引いているので、11%の女性が、1 mg/day を超える量の鉄を月経によって失っていることになる。妊娠中は、胎児に鉄がいたり、赤血球量が増えたりするので、9 ヶ月を平均すると、2.5 mg/day の鉄が失われることになる。

乳幼児と思春期の子どもは、体重 1 kg の増加につき、30 mg の鉄を必要とする。喪失は成人男性と同じレベル、すなわち、一日当たり、体重 1 kg 当たり、12~14  $\mu\text{g}$  なので、鉄欠乏に陥るリスクが高い。

**鉄吸収** 摂取された鉄の大部分は、十二指腸と空調近位部で吸収される。腸粘膜の吸収調節については、体内の貯蔵鉄の影響が大きい。すなわち、ヘモグロビン濃度または血清フェリチン濃度が低下すると吸収効率は向上し、血清フェリチン濃度が高くなると吸収効率は低下する。出血、溶血、低酸素などで、造血作用が昂進すると、鉄吸収効率も向上し、逆にそれらが回復すると、造血作用は定常状態へ復帰し、鉄吸収効率も元に戻る。サラセミア、鉄芽球性貧血などで、ヘモグロビンの合成障害がおきているときは、顕著に鉄吸収効率は上昇する。再生不良性貧血の患者に輸血をすると、鉄吸収効率は低下する。炎症があるときも、鉄吸収は減少する。消化管腔の因子を示唆する実験事実として、胃酸の分泌低下を起こしている人や胃を切除した人では鉄の吸収が低下することがわかっているし、無酸症の患者に塩酸を投与すると鉄吸収が増加することが報告されている。

最近の報告によれば、全身の鉄欠乏、貧血、低酸素症などにより鉄需要が増すと、それに対応して鉄の吸収効率は上昇する。ヒトは過剰な鉄を排出する効果的なメカニズムをもたないので、鉄の需給バランスは、全身の鉄需要に合うように小腸における鉄吸収を調整することによってのみ維持される。

免疫機能にも関係しているとされるヘプシジン (hepcidin) というホルモンは、2001年に発見されたが (Park *et al.*, 2001)、小腸における鉄の取り込みを抑制調節している。一方、2価の鉄を3価に酸化しやすくし、鉄を放出しやすくする\*3フェロポーチン (ferroportin) というタンパクが腸管の細胞の膜やマクロファージにあるが、ヘプシジンはフェロポーチンに結合することによって鉄放出を抑制する作用ももつ。常染色体劣性発現する遺伝性ヘモクロマトーシス (器官や組織に広汎な鉄沈着を起こす) の患者では、ヘプシジンレベルが異常に低いか皆無で、この病因がヘプシジン遺伝子の異常あるいはヘプシジン発現の調節遺伝子の異常によるものである。常染色体上優性遺伝する遺伝性ヘモクロマトーシスは、フェロポーチン遺伝子の異常による (Ganz, 2006; Deicher and Hörl, 2006)。



**鉄出納** 成人男性の鉄出納 (排泄量と吸収量の差) は、平常時は  $12 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{day}$  であるが、鉄欠乏時は  $6 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{day}$  にまで減少する。再生産年齢の女性も平常時は  $20 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{day}$  であるが、鉄欠乏時は  $15 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{day}$  へと減少した。アメリカ合州国の鉄欠乏の成人男性は、通常の食事で、最大  $50 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{day}$  の鉄を吸収可能で、同じ集団の再生産年齢の女性は、やはり通常の食事で、最大  $35 \mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{day}$  を吸収可能であるという報告がある。但し、この最大吸収を達成するためには、食物中に十分な肉やアスコルビン酸が必要である。鉄出納が問題になるのは、月経のある女性、妊婦、及び乳幼児である。

日本人の鉄摂取量 (mg/day) は、国民栄養調査 (平成 14 年以前)・国民健康・栄養調査 (平成 15 年以降) によると、下表の通りである (平成 15 年以降の括弧内は、強化食品・補助食品からの摂取を含めた値)。平成 12 年から平成 13 年にかけて激減しているのは、摂取量の計算に利用する食品成分表が 4 訂から 5 訂に変わった影響もあると思われる。

性別	H2	H11	H12	H13	H14	H15
総数	11.1	11.5	11.3	8.2	8.1	8.1 (8.4)
男性	—	12.2	12.0	8.5	8.4	8.4 (8.9)
女性	—	10.8	10.7	7.9	7.8	7.7 (7.9)

\*3 ただし能動的に放出するメカニズムではない

鉄貯蔵 必要量よりも多く吸収された場合に、鉄は、フェリチンあるいはヘモジデリンとして貯蔵される。これらは、正常人では肝臓、脾臓、横紋筋に均等に配分されている。

### 3 食物中の鉄

#### 3.1 概論

先進国と途上国では食物の成分構成が異なっていて、平均して、エネルギー摂取 1,000 kcal 当たり鉄含有量は、先進国では 6 mg、途上国では 10 mg である。鉄の必要量とエネルギー摂取量から吸収効率を計算すると、先進国では男性 6%、女性 12%となり、途上国では男性 4%、女性 8%となるが、たいていの食品ではこれほど吸収効率は高くない。

もっといえば、その食物が生育した土地の土壌や気候条件の多様性によって、土地ごとに食物の鉄含量は異なっている。鉄のもっとも豊かな源となる食物は、動物の内臓（肝臓と腎臓）、卵黄、乾燥豆類 (legumes)、ココア、サトウキビの糖蜜、及びパセリである。鉄をあまり含まない食物としては、製造工程で鉄が混入しない限りは、牛乳及び乳製品、白砂糖、小麦粉とパン（栄養素強化されていないもの）、精米、サゴ<sup>\*4</sup>、ポテト、たいていの青果といったものがあげられる。中程度の鉄を含む食物としては、動物の筋肉、魚肉、鶏肉、木の実、緑色野菜、全粒粉の小麦粉、パンがある。水に入れて煮込むと、野菜の中の鉄のレベルは、その煮込んだ水を棄てるならば、20%も減ってしまう。また、小麦を挽くと、できあがる小麦粉中の鉄含量はもとより低くなる。例えば、北米の研究の一つによると、小麦とそれを挽いてできた小麦粉の鉄含量は、それぞれ、43  $\mu\text{g/g}$ 、10.5  $\mu\text{g/g}$  である。日本の五訂増補食品成分表でも、小麦は 2.9-3.2  $\mu\text{g/g}$ 、小麦粉は 0.6-1.3  $\mu\text{g/g}$  である（但し全粒粉は 3.1  $\mu\text{g/g}$ ）。食物の精製過程がその鉄含量に与える効果は、サトウキビの品種ごとのさまざまな元素の濃度の研究では、ずっとはっきりしている。報告された鉄の濃度は、乾燥重量 1 g 当りの鉄含量  $\mu\text{g}$  で表示すると、例えばバルバドスブラウンシュガーで 49、デメララシュガーで 8、精製砂糖で 11 に対して、グラニュー糖では 0.1 である。

日本の食品については、五訂増補食品成分表によると、可食部 100 g 当たりの鉄含有量 (mg) の多い食品の代表的なものは下表の通りである<sup>\*5</sup>。

植物性食品					
干しヒジキ	焼き海苔	炒りゴマ	切干大根	小麦胚芽	黒砂糖
55.0	11.4	9.9	9.7	9.4	4.7
動物性食品					
アサリ水煮缶詰	豚レバー	鶏レバー	調製粉乳	卵黄	赤貝
37.8	13.0	9.0	6.5	6.0	5.0

食事からの鉄の全摂取量は、消費する食べ物と飲み物の総量とともに、またそれらが含む鉄が豊富な食品と鉄が乏しい食品の割合とともに、大きく変動する。食べ物または飲み物が加工、貯蔵、調理される過程での鉄の混入の度合もまた、重要であるかもしれない。Prabhavathi と Rao が穀類と豆類をインドの市場で購入して分析したところでは、すべての鉄の 13~47%は食物表面に付着した鉄によっていると結論された。エチオピアの女性で報告されている、きわめて高い鉄摂取量は、部分的には鉄の混入によるものである (Gebre-Medhin and Gobezie, 1975)。合州国の平均的な食事からの鉄摂取量は、成人男性で 15~22 mg/day とか (Sherman, 1937)、15~64 歳の男女について各々 14.6 mg/day と 10.2 mg/day とか (Raper ら, 1984) といった推定値が出されている。他の国については、オーストラリアの成人男性で 20~22 mg/day とか、日本の成人男性で 19 mg とか、英国の若年女性で 8.9 mg/day<sup>\*6</sup>と

<sup>\*4</sup> サゴヤシというヤシの木の幹につまった澱粉を水に溶かして濾しとったものをいう。パプアニューギニアやインドネシアの一部で主食とされる。

<sup>\*5</sup> <http://hfnet.nih.go.jp/contents/detail675.html> に掲載されている『「健康食品」の安全性・有効性情報』から引用し、若干改変した。

<sup>\*6</sup> 注：英国式の食事の成分から計算すると  $23.2 \pm 1.1$  mg/day という推計もある。

いう値が報告されている。多くの途上国の低所得階層では、穀類が多く肉類が少ない食事構成のため、鉄摂取量は上記先進諸国より低いのがふつうである。

典型的な西洋料理は、1,000 kcal あたり 7 mg または 6 mg の鉄の源となるとされている。鉄摂取の総量の決定因子としての総エネルギー摂取量の重要性は、いくつかの北米での研究から明らかである。Monsen らは、普通に食事をとっている 13 人の若い女性の鉄摂取量が、平均して 9.2 mg/day だったと報告している。彼女たちの食事は、タンパクは十分にとれているが、エネルギーが 1,600 kcal/day しかなかった。1984 年の報告では、成人男女について 1 年以上にわたって自ら選んだ食事の記録から計算された摂取量は、エネルギーが男 2,760 kcal、女 1,850 kcal で、鉄が男 16.6 mg、女 12 mg (すべて/day) だった。英国のデータでは、「ダイエット中」の若い女性の平均鉄摂取量 7.6 mg に対して、「ダイエット中でない」若い女性の平均摂取量は、8.9 mg だった。

## 3.2 Bioavailability

鉄バランスの状態や食事に対する生理的反応に個人差があるために鉄の吸収には個人差があり、かつ偶発的な変動もあるため、食物中の鉄利用率は測定困難である。しかし、(1) 同一個人への 2 種類の鉄の放射性同位体の同時投与、(2) 12 名の同性、同年齢の人の比較、(3) 放射性同位体の同一個人への反復投与、といった方法によって、これらの問題点は部分的に解決された。その結果、「ヒトでは、ヘモグロビンが他の鉄化合物に比べて、とくによく吸収される。キレート剤は非ヘム鉄の吸収を阻害するが、ヘモグロビン吸収には影響しない」ことが明らかになった。放射性同位体で標識された食品を用いた鉄吸収率測定実験により、野菜中の鉄はあまりよく吸収されない(吸収効率は 1~10%) が、肉類の鉄はよく吸収される(5~20%) とわかった。その他の鉄吸収に影響する因子としては、可溶性フィチン酸の存在下では非ヘム鉄の吸収は低下し、かつ、天然フィチン酸塩は鉄吸収に影響しないこともわかっている。また、食物繊維も鉄の吸収に関与する。

非ヘム鉄吸収の抑制因子と増強因子という概念は、1970 年代半ばに確立された。Monsen らが 1978 年に提案したモデルによれば、食物中の鉄の bioavailability の推定に必要なのは、食物中のヘム鉄と非ヘム鉄の量と、アスコルビン酸や MFP<sup>\*7</sup> といった吸収増強因子の量である。食物中のヘム鉄を直接測定する方法は確立されていないので、ヘム鉄は、MFP に存在する鉄の総量の 40% と仮定されているが、この値の正確さと応用可能性は不確かである。Schricker らが生豚肉、羊肉、牛肉の全鉄と非ヘム鉄を測定し、それらの差としてヘム鉄を推定しているが、それぞれの肉について、ヘム鉄の割合は 49、57、62% である。食物中の鉄は、MFP 中のヘム鉄以外はすべて非ヘム鉄と仮定されている。非ヘム鉄の吸収割合は、一緒に摂取するアスコルビン酸、MFP の量に依存して変化するし、体の鉄栄養状態によっても変わってくる。貯蔵鉄 500 mg をもつ代表的なヒトについて計算すると、75 単位の増強因子が含まれているとき、ヘム鉄の 20~30%、非ヘム鉄の 3~8% が吸収されることになる。NHANES の結果では、食物中の鉄の bioavailability は、5.9 から 7.7% と推計された。

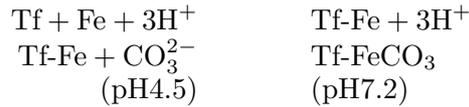
## 4 ヒト体内の鉄代謝

### 4.1 概要

ヘモグロビン (Hb) 合成に鉄がどれだけ必要とされるか? が鍵である。というのは、赤血球系の組織の鉄濃度は 1 g/kg で、他の組織より 2 桁大きいからである。血清中の鉄はトランスフェリン (Tf) に結合して運ばれ、骨髄及び他の組織の Tf レセプターが抱鉄 Tf<sup>\*8</sup> と結合して、それから鉄を受け取る。Tf の鉄との結合・解離は下記のようになっている。

\*7 注: 動物の肉、魚、鶏肉などに含まれる、非ヘム鉄吸収増強効果をもつ鉄タンパクをさす。Monsen ら、1978 *Am. J. Clin. Nutr.*, 31: 134-を参照。

\*8 注: 鉄を結合しているトランスフェリン分子のことを、ここでは「抱鉄 Tf」と表記する。英語では iron-binding transferrin である。



Tf は、系統発生的には Hb と同時に出現したとされ、無 Tf 血症の人は組織中鉄量が過剰でも鉄欠乏性貧血になることが知られている。したがって、Tf は鉄代謝に必須なタンパクである。Tf には鉄のレセプターが 2 つあるが、これらの親和性に差があるかないかは長い間論争的になってきた。最近の知見としては、2 つのレセプターは対等であり、組織の Tf レセプターによって、各々の結合・解離が決定されるという報告がある。また、Tf は、鉄以外の元素とも結合できるが、鉄の場合とはメカニズムが異なる。

## 4.2 骨髄でのヘモグロビン合成

赤血球系組織には、体内の必須鉄の約 90% があり、ここが Tf 結合鉄の第一の利用組織である。第一段階として、骨髄にある幼若赤芽球系細胞の表面に並んで存在する Tf レセプターに、抱鉄 Tf がいくつも結合する。結合した部分は細胞内にくびれ込み、食胞状になって細胞表面とは切り離され、細胞内に入ってゆく。その後、この食胞に水素イオンが作用すると、鉄が遊離して、その 80% 以上<sup>\*9</sup> がミトコンドリアに入り、ヘモグロビンに組み込まれる。残りのアポ Tf と Tf レセプターからなる胞は再び細胞表面に浮上して、細胞外に開いてアポ Tf を血漿中に放出する。この一連の過程によって、Tf 結合鉄はヘモグロビンに受け渡される (Morgan, 1981)。通常、血漿濃度として 0.5 mg/mL 以上の Tf があれば、造血に必要な鉄を骨髄に供給できるとされている。

## 4.3 脾臓でのヘモグロビン分解

大きく分けて 2 つの役割がある。1 つは、寿命の尽きた赤血球<sup>\*10</sup> の処理である。赤血球が処理され、それが含んでいる Hb が分解されて放出される鉄は (この放出のためには、マクロファージにフェロポーチンが十分に存在する必要がある)、一部は細胞内に Ft として蓄えられ、残りは血漿のアポ Tf と再結合して循環血中に戻る。鉄のアポ Tf との再結合には、銅及びセルロプラスミンも関与する。体内に炎症があると<sup>\*11</sup>、細胞内に Ft として蓄えられる割合が増加する。

## 4.4 体内の鉄代謝経路

循環血中の鉄の約 24% が、造血には使われないままに排泄される。この循環血中の鉄の生物学的半減期は、約 7 日である。循環血中の鉄の約 8% が、Tf 結合鉄の血管外との交換に関係し、この場合の生物学的半減期は約 7 時間である。ヒトでは、腸から吸収した鉄は、代謝回転の約 3% しか占めず、体内の鉄代謝には殆ど影響しない。赤血球系組織の鉄取り込みは、正常では 0.4 mg/kg だが、種々の障害によって変動し、0~4 mg/kg にわたる。実質臓器への鉄取り込みはたかだか 0.6 mg/kg である。

## 4.5 鉄代謝と感染症及び免疫機能の関連

感染症との関連では、鉄剤投与の是非をめぐる議論が活発である。Murray らによって報告された「給食マラリア」や Oppenheimer が報告したパプアニューギニアで鉄剤投与によってマラリアが増悪する事例をはじめとして、血清鉄レベルが高くなるとある種の感染症に罹患しやすくなるというデータは多い。最近 *Lancet* に報告された、マラリア流行地の就学前児童を対象とした大規模研究の結果でも、鉄と葉酸のサプリメントで罹患率と死亡率が

\*9 注：過剰の鉄はヘモジデリン (Hs) として細胞質に貯えられる。

\*10 注：赤血球が骨髄を出てから脾臓で分解されるまでの期間、すなわち赤血球の寿命は、ヒトでは平均して 150~180 日程度である。

\*11 注：炎症の有無を示す指標としては、C 反応性タンパク (CRP) が有用である。とくに急性期反応物質として特徴的である。

11%~15%上昇することがわかったので、鉄供給が感染症を悪化させることがあるのは間違いないだろう (Sazawal *et al.*, 2006)。Susan Kent らは、アフリカのサン族において循環鉄が低いのは、寄生生物が多いことへの適応であるという仮説を提唱している (Kent and Dunn, 1993)。最近では、この「寄生体への鉄供給を絶つことによって感染症から身を守る」適応戦略は、Iron-withholding strategy と呼ばれている (Ong *et al.*, 2006)。母乳中のラクトフェリンは鉄をキレートすることで経口で腸管に入ってくる細菌に鉄が奪われるのを防ぎ、細菌の増殖を抑制するというメカニズムがある。鉄剤供与するとラクトフェリンのキレート能を超えた量の鉄が入ってくるので乳児が細菌感染しやすくなるという報告がある (Hughes and Kelly, 2006)。

反論もあって、マラリア流行地でも鉄剤を投与した方が貧血が改善されるし認知機能も向上するといった報告がいくつも出されている。また、鉄欠乏では適応的免疫と生得的免疫の両方が損なわれ、それが鉄剤供与で改善するという報告もある。鉄欠乏では T 細胞の数が減り、T 細胞によるインターロイキン 2 の産生も減り、マクロファージによる MIF 産生も減ることによって、適応的免疫が損なわれるし、生得的免疫としては好中球が減り、NK 細胞の活性が落ちることが報告されている (Hughes and Kelly, 2006)。

まだ結論はでていないが、微妙に論点がすれ違っているようでもある。免疫機能そのものに関しては、ヘプシジンとの相互作用も注目されている (Ganz, 2006)。

## 5 鉄栄養の指標

### 5.1 概要

鉄栄養の指標には、大きく分けると貯蔵鉄と循環鉄の指標があり、それぞれに直接的指標と間接的指標がある (表 5-1)。

表 5-1. 鉄栄養の指標

指標	方法	適用 <sup>a</sup>	試料	コスト	感度	特異性	実用性 <sup>b</sup>	文献 <sup>c</sup>
血清 Ft	RIA	貯間欠	血清	高	中	高	臨野	(1)
血清 Ft	RIA	貯間過	血清	高	高	中	臨野	(2)
血清 Ft	ELISA	貯間欠	血清 <sup>d</sup>	中	中	高	臨野	(3)
血清 Ft	ELISA	貯間過	血清 <sup>d</sup>	中	高	中	臨野	(3)
全血液鉄	瀉血	貯直欠	全血	高	高	高	詳	(4)
骨髓 Hs	骨髓穿刺	貯直欠	骨髓細胞	高	高	高	詳	(5)
TIBC	Ramsay 法	貯間欠	血清	低	中	中	臨野	(6),(7)
肝臓非ヘム鉄	死後解剖	貯直欠	肝細胞	高	中	高	詳	(8)
肝臓鉄	生体穿刺	貯直欠	肝細胞	高	高	高	詳	(8)
肝臓鉄	生体穿刺	貯直過	肝細胞	高	高	高	詳	(8)
Tf 飽和度	計算 <sup>e</sup>	循環欠	血清	低	中	高	臨野	(9)
Tf 飽和度	計算 <sup>e</sup>	循環過	血清	低	高	低	臨野	(9)
CT 減衰	CT スキャン	貯間過	肝臓 (造影)	高	高	中	詳	(10)
MR(L/M)	MRI	貯間過	肝臓 (造影)	高	高	高	詳	(10)

<sup>a</sup> 貯：貯蔵鉄の指標，循：循環鉄の指標，直：直接的指標，間：間接的指標，欠：欠乏の指標，過：過剰の指標

<sup>b</sup> 臨：大規模臨床検査向き，野：フィールド調査向き，詳：少数検査向き

<sup>c</sup> 文献番号と引用文献(著者・発表年)との対応；(1) Addison ら, 1972; (2) Jacobs and Worwood, 1975; (3) Ramm ら, 1990; (4) Walters ら, 1973; (5) ; (6) Ramsay, 1957; (7) Stookey, 1970; (8) Charlton ら, 1970; (9) Cook ら, 1970; (10) Bonkovsky ら, 1990

<sup>d</sup> 胆汁でも測定可能。

<sup>e</sup> Tf 飽和度=血清鉄/TIBC x 100 (%)

間接的指標とは、鉄そのものを測っているわけではないが、鉄ときわめてよく連動する物質であるために間接的に鉄の栄養状態を示すものである。しかし、一つの指標だけでは、欠乏にせよ過剰にせよ早期段階で診断をすることは難しいので、いくつかの指標を組み合わせて診断することになる。一般に、集団検診で鉄欠乏のスクリーニングをする上では、(1) 正常範囲の設定の難しさ、(2) 標本抽出の偏り、(3) 貧血の原因の多様性、といったことによって問題が複雑になっているが、いくつかの指標で共通して異常がみられれば、診断が付きやすいわけである。

例えば、Expert Scientific Working Group (1985) は、合州国での第2回全国健康・栄養試験調査 (NHANES II) のデータに基づき、鉄栄養状態の異常の有病割合を推計するために、3通りのアプローチをしている。第一の、「フェリチンモデル」では、血清フェリチン (Ft) に加えて、トランスフェリン飽和度 (TS) と赤血球プロトポルフィリン (EP) の少なくとも一方が異常値を示すことを診断基準とした。第二の、「MCV モデル」は、平均赤血球容積 (MCV) を Ft の代わりに使ったもので、第三の、「ヘモグロビンパーセントイルシフトモデル」は、個人レベルの異常/正常の診断はせずに、TS と EP の少なくとも一方が異常値を示した人<sup>\*12</sup>のデータを除外した場合にヘモグロビン濃度の中央値がどれくらい上昇するかによって有病割合を推計するもの (Dallman ら, 1984) である。貯蔵鉄欠乏が鉄欠乏の初段階であることから、「フェリチンモデル」で最も高い有病割合が予測されたが、その通りであった。どのモデルでも1~2歳の子供、11~14歳の男児、15~44歳の女性を除けば、有病割合はきわめて低かった。MCVモデルとヘモグロビン濃度の組み合わせから鉄欠乏性貧血の評価をしたところ、20~44歳の白人女性の鉄欠乏性貧血有病割合は1.7%となった。

また、熱帯の発展途上国では感染、炎症、タンパク欠乏など攪乱要因が大きいために鉄欠乏の診断を厳密に考えるべきであるとして、Galan ら (1989) がモーリタニアの田舎の村の子供について行なった研究がある。静脈血を用いて、ferrozine を使った比色法で血清鉄 (SI) を、比濁法で血清トランスフェリン (Tf) を、自動測定機で EP を、ELISA で Ft を測定し、計算によって総鉄結合能 (TIBC) と TS を求めた。彼らは、Ft が鉄欠乏の指標として特異性が高いことに着目し、Ft による診断と他の指標 (SI, EP, TIBC, TS) による診断との cross validation をした結果から、二つの独立した指標が同時に異常値を示すことをもって鉄欠乏の診断をすることが妥当であるとの結論に達した。

## 5.2 貯蔵鉄の直接的指標

瀉血 (phlebotomy) 直接的だが、侵襲が大きすぎて実用的でない。男性の鉄貯蔵量が1g、女性が1/3gという報告がある。

骨髓穿刺 (autopsy/biopsy) 骨髓中のヘモジデリン量を測るものである。

## 5.3 貯蔵鉄の間接的指標

血清 Ft 血清フェリチン、すなわち serum ferritin を、ここでは血清 Ft と略記する。12  $\mu\text{g}/\text{L}$  未満を欠乏とするのが普通である。測定法としては ELISA と RIA がある。カイノスなどからキットが出ているが、高価なのが欠点。カイノスのキットについての詳細は巻末付録を参照のこと。

TIBC 総鉄結合能、すなわち total iron binding capacity を、ここでは TIBC と略記する。TIBC そのものは一般に鉄欠乏で上昇するが、タンパク栄養の影響も受けるので、単独での基準値はないといってよい。ただし I/N/A/C/G では目安として 400  $\mu\text{g}/\text{dL}$  を超えた場合に鉄欠乏とするという表を載せている。

測定には、原理的に二つの方法のどちらかが用いられる。第一は、過剰な鉄を加えてトランスフェリンを全部飽和させてから、炭酸マグネシウムを加えてフリーな鉄を沈殿させ、残った鉄を測る方法である。この鉄はダイレクトに TIBC である。第二は、トランスフェリンをタンパクとして測定し、トランスフェリン1分子あたり鉄が1.4個結合できると仮定し、計算によって TIBC を推計する方法である。より詳しい方法は巻末付

\*12 注：MCV を加えて三つの指標のうち一つとしても有意な差はなかったので、二つにした。

録を参照のこと。

## 5.4 循環鉄の直接的指標

**血清鉄** 血清鉄がもっとも直接的な循環鉄の指標である。通例、 $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  未満を欠乏とする (I/N/A/C/G では 15 歳以上で  $0.6 \mu\text{g}/\text{mL}$  未満を欠乏とする表を載せている)。血清をそのまま灰化して原子吸光や ICP-AES などで測定すると、採血時溶血によって生じたヘム鉄まで測ってしまうため、比色法で測定するのが望ましいとされる。詳しい測定法は巻末付録を参照のこと。

## 5.5 循環鉄の間接的指標

**Tf 飽和度** トランスフェリン飽和度、すなわち transferrin saturation を、ここでは Tf 飽和度と略記する。血清の TIBC は Tf 濃度に比例するので、血清鉄の TIBC に対する百分率、すなわち Tf 飽和度は、鉄栄養の状態及びその他の要因によってさまざまな値をとる (表 5-2)。

表 5-2. 状態別の Tf 飽和度のレベル (%)

状態	Tf 飽和度のレベル (%)
正常	35
鉄欠乏	5
感染症	15
溶血性貧血 (有効造血)	45
溶血性貧血 (無効造血)	80
特発性ヘモクロマトーシス	100
網内系鉄過剰	100
低タンパク血症	40

特発性ヘモクロマトーシスの場合、Tf 飽和度はしばしば 100% を超える値をとる。これは、血清の Tf が既に鉄で飽和しているのみならず、Tf に結合していないフリーな鉄が血漿中に存在することを意味する。

**血清 hepcidin** 血清 hepcidin も循環鉄の間接的な指標となるが、まだ基準値は確立していない。

# 6 鉄欠乏

## 6.1 鉄欠乏の段階

この項の多くは、International Nutritional Anemia Consultative Group のレポート (1985) に基づいて記載する。

**貯蔵鉄欠乏 (iron deficient stores)** 鉄欠乏には、三つの段階が区別してみられる。第一段階は、「貯蔵鉄欠乏 (iron deficient stores)」と呼ばれ、骨髄での鉄需要を満たすには十分だが予備の貯蔵分が本質的になくなっている状態である。この段階は、骨髄検査で染色される沈着鉄がないことか、あるいは血清フェリチンが  $12 \mu\text{g}/\text{L}$  未満であること ( $10 \mu\text{g}/\text{L}$  とする基準もある) のどちらかによって認識される。鉄不足 (iron lack) は、血清フェリチンの減少と関連している唯一の条件である。従って、血清フェリチンの減少は、鉄欠乏に対してきわめて特異的である。血清フェリチンは、栄養学的調査 (nutritional surveys) において、とくに価値がある。というのは血清フェリチンが、残留貯蔵鉄をもつ人々の集団における鉄栄養状態の指標を提供する、唯一の鉄の測定値だからである。定量的な瀉血研究によって、正常な成人では、 $1 \mu\text{g}/\text{L}$  の血清フェリチンが大まかに

いて 10 mg の貯蔵鉄に相当することが示された。体重ベースで示すと、これは体重 1 kg あたり 150  $\mu$ g に相当する。

鉄欠乏性造血 (iron deficiency erythropoiesis) 鉄欠乏の第二段階は、「鉄欠乏性造血 (iron deficiency erythropoiesis)」とよばれ、赤血球系骨髄 (erythroid marrow) への鉄の供給が縮小される。血清鉄と TIBC の推定値が、ある程度、骨髄への鉄供給の適切さを示している。このとき血清鉄は減少し、鉄欠乏にともなって総鉄結合能は増加するので、もっとも便利な指標はトランスフェリン飽和度、すなわち総鉄結合能に対する血清鉄の比である。トランスフェリン飽和度レベルが 0.15 以下に落ちるとき<sup>\*13</sup>、成長中の赤血球におけるヘモグロビン産生は低下する。トランスフェリン飽和度は有病割合調査において広汎に用いられてきたけれども、その効用にはいくつかの制限がある。実験室では、その測定は鉄汚染をきわめて受けやすい。とくにマニュアル測定ではそうである。生理学的観点からは、血清鉄の診断上の信頼性は、正常な被験者でおこる大きな日内変動のために減少する。さらにまた、トランスフェリン飽和度レベルは、かなり不安定な測定値である。炎症がおこると、微かなものでさえ、数時間以内にそのレベルは低下する。

鉄欠乏性造血を検出するのに使うことができる、もう一つの実験尺度は、赤血球プロトポルフィリンである。成長中の赤血球への鉄の供給が制限されると、循環血流中の赤血球プロトポルフィリンレベルが、通常、ヘモグロビンレベルの検出可能な低下に先立って上昇する (70  $\mu$ g/dL を超えると骨髄への鉄供給の不足を示す)。しかし、トランスフェリン飽和度に比べると、赤血球プロトポルフィリンは、骨髄への鉄供給のより定常的な指標である。というのは、赤血球プロトポルフィリンレベルの上昇は、赤血球系骨髄での鉄欠乏が起こって数週間たたなければ起こらず、鉄投与療法を開始した後での正常レベルへの復帰も、同様にゆっくりと起こるのである。赤血球プロトポルフィリンの (指標としての) 一つの欠点は、とくに子供において、この値が鉛曝露によっても上昇してしまうことである。

鉄欠乏性貧血 (iron deficiency anemia) 鉄欠乏の第三の、最後の段階は、「鉄欠乏性貧血 (iron deficiency anemia)」である。この段階においては、循環血中のヘモグロビンのかなりの低下が起こり<sup>\*14</sup>、貧血として認知される。しかし、ヘモグロビンまたはヘマトクリットをどちらか単独で循環赤血球量の減少を検出する際の確定診断に使うことの信頼性は疑わしい。なぜなら、正常な母集団でも、それらの値は広い範囲を取るからである。鉄の数百ミリグラムに相当する循環血中ヘモグロビンの減少は、通常、貧血が実験室で同定されるようになる前に起こる。

## 6.2 鉄欠乏の原因

食物中の鉄不足 食物を通して摂取する鉄が不足する場合として、(1) 鉄を含む食物を摂取しない、(2) 鉄を含む食物も摂取するが、食事の絶対量が少ない、(3) 食品加工過程で鉄が食品に外から添加されることがない、(4) 食物中の鉄の吸収が天然 (フィチン酸塩、リン酸塩、シュウ酸塩、炭酸塩など) あるいは人工 (例えば EDTA のようなキレート剤) の物質によって妨害を受ける、(5) アスコルビン酸など鉄の吸収を促進する物質の摂取量の減少、といったことがありうる。

鉄の喪失 喪失源としては、消化管からの出血、献血、血管内溶血疾患、に加えて、まれに、肺ヘモジデリン沈着症もある。消化管からの出血の原因としては、痔核が 10%、サリチル酸の服用が 8%、消化性潰瘍及び裂孔ヘルニアが各 7%、憩室症が 4%、腫瘍が 2%、原因不明が 16% である<sup>\*15</sup>。献血では、多くの男性は体内貯蔵鉄が涸渇するが、貧血にはならず、約 2 ヶ月で回復する。血管内溶血疾患<sup>\*16</sup>では、溶血で生じた Hb が血漿 Hp と

\*13 注: I/N/A/C/G の本文では "below 0.15" なのだが、参照されている図中で、" < 16 (%)" とあるので、「0.15 以下」と解釈される。

\*14 注: WHO によれば、標高 0 m のところでの貧血を示すヘモグロビンの基準値は、6 ヶ月~6 歳の乳幼児と妊娠中の女性で 11 g/dL 未満、6~14 歳の子供とそれ以上の年齢の女性で 12 g/dL 未満、15 歳以上の男性で 13 g/dL 未満とされている。高地では生理的反応としてヘモグロビン濃度は上昇するので、基準値ももっと高くなる。

\*15 注: この記載は Beveridge の推定によるが、他の 46% が何なのか不明である。また、熱帯では、鉤虫症がありふれた原因である。

\*16 注: 例えば、発作性夜間血色素尿症、心臓の人口弁置換患者、心房粘液腫、マラリアなど。

結合することによって血中 Hp が涸渇し、Hb 二量体の系球体濾過と尿細管細胞への鉄の沈着がおこる。結果として、Hb または Hs として最大 34 mg/day も尿中に鉄が失われる。

鉄の吸収障害 これは稀であって、消化管手術を除けば、グルテン性腸症<sup>\*17</sup>によっておこる小児脂肪便症のような吸収不良症候群の場合だけである。

### 6.3 鉄欠乏の有害作用（症状）

特異的組織変化 骨髄では鉄芽球が消失し、細胞内皮系細胞中の可染性の鉄顆粒が消失する。消化管では、腸粘膜細胞が萎縮し、鉄欠乏性嚥下困難症<sup>\*18</sup>を起こすこともある。皮膚では、爪のシスチン含有量が減少し、スプーン様爪となる。神経系では、乳頭浮腫及び頭蓋内圧の亢進が起こることがある。鼻では鼻粘膜の萎縮がみられたという報告があるが、これは東欧でしかみられていないので鉄欠乏の特異的作用と断じることはできない。

代謝異常 二つのパターンがあり、一つは、明らかな貧血はないが貯蔵鉄が涸渇し血清鉄濃度ならびに Tf 飽和度が限界まで低下し、疲労症状がある場合である。もう一つは、中等度の貧血があり、鉄欠乏症であることがはっきりしているが症状がない場合である。いずれについても、詳しい研究はすすんでいない。

タンパク質の異常 ヘモグロビン、ミオグロビン、チトクローム、カタラーゼ、パーオキシダーゼなど、酸化物代謝過程で働く、ヘム鉄をもつタンパク質をヘムタンパクというが、この中では、ヘモグロビンが鉄欠乏時に減少することはわかっているが、他のものは不定である。この他の鉄タンパクとしては、コハク酸デヒドロゲナーゼ、 $\alpha$ -グリセロリン酸デヒドロゲナーゼ、NADH デヒドロゲナーゼ、モノアミンオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、アルデヒドデヒドロゲナーゼなど、非ヘム鉄をもつ、いわゆる「メタロフラボタンパク」があるが、これらの代謝が鉄欠乏時にどう変化するかは未知である。

また、鉄を補因子とするタンパクとして、アコニターゼがあるが、これは鉄欠乏患者の全血や白血球では減少している。その他に、鉄との直接の関連はないタンパクで、鉄欠乏時に特異な動態を示すものとして、グルコース 6 リン酸リダクターゼ、PGA デヒドロゲナーゼ、リンゴ酸デヒドロゲナーゼが半減することがラットを使った実験で指摘されている。犬では、鉄欠乏時に、小腸上皮細胞刷子縁の二糖類分解酵素の活性低下がみられる。また、骨髄の DNA 合成が抑制されるという間接証拠から、リボヌクレオチドリダクターゼの合成が鉄欠乏時に阻害されていることが示唆されている。

ミトコンドリアの障害 ミトコンドリアは、鉄欠乏時に肥大し、電子線透過性が昂進し、数が増加することが知られている。また、鉄欠乏症のヒトやラットのミトコンドリアはきわめてもろいことが知られているが、そのしくみは不明である。

機能的異常 まず発育に関しては、ヒトの子供の場合は、発育遅延がみられても、他の食物中栄養分の欠乏と鉄欠乏のどちらに起因するか区別が付きにくいので、多くの知見は動物実験によるものである。ラットでは、著しい貧血に陥ってから、かなり後になって発育遅延があらわれることが知られている。ヒトに関しては、Judish ら (1966) が、幼児の発育には二つの型がみられ、鉄欠乏時に体重増加が遅くなるタイプと鉄投与時に体重増が速くなるタイプであると報告している。

身体的能力は、鉄欠乏のみで倦怠・疲労感が起こるかどうかは、報告が少ないので確実でない。トレッドミルで運動能力をみると、鉄剤投与で回復するものが多いという報告が多いが、異論もある。Hb 濃度とステップテストの結果に関連があったという報告もある。一方、精神的能力に関しては、定量的な評価が困難である。Hb 濃度が 9~10 g/dL の貧血の子供と、鉄剤投与で 12 g/dL 以上に引き上げた子供との間で、Stanford-Binet や Goodenough の知能テストには得点差はないが、総合テストをすると、鉄欠乏群に、注意力低下、目的のない動作の増加、注意集中時間の減少、複雑で目的をもった活動の低下などがみられた。また、鉄欠乏では、異食症もみられる。

\*17 注：この場合、グルテンを含まない食物による食事療法が行われる。

\*18 注：咽頭の輪状軟骨下部から上部食道にかけての粘膜萎縮と膜形成によって惹起される嚥下困難を主な病態とする疾患。

生殖に関連しては、妊娠中に鉄欠乏性貧血がよくみられるが、母体が鉄欠乏でも、たいていの場合、胎児は鉄欠乏にならないと報告されている。感染症との関連では、ほぼすべての病原微生物はホストの鉄を必要とするので、鉄欠乏が感染症への抵抗性を増す可能性もある。他の金属の代謝にあたる潜在的影響としては、ラットの鉄欠乏では、マンガン、コバルト、カドミウム、鉛といった金属の吸収が増加することが報告されている。このうち、コバルトとマンガンについてはヒトでも同様である。ラットでは、セシウム、マグネシウム、水銀、カルシウム、銅の吸収は鉄欠乏と無関係であることが報告されている。

## 7 鉄過剰

### 7.1 緒言

健康なヒトでは鉄の吸収は厳しく調節されており、体内の鉄の量が増えてくると吸収効率が低下するので、過剰症は発症しにくい。そのためあまり過剰障害は研究されず、安全な摂取量の上限を決めるにはデータが乏しい状況にある。一般に、50 mg/day あるいは 25-75 mg/day の摂取なら安全とされているが、それより高いレベルの鉄を長期間摂取しても障害がおきなかったという報告もある (Morris, 1987)。しかし、過剰な鉄を排泄する生理学的な経路がないため、鉄が体内に大量に入ってくると経時的に蓄積していき、組織に致命的な障害が起こる危険がある (Pippard, 1990)。以下、主たる鉄の急性毒性と慢性毒性について記す。

### 7.2 急性毒性

急性毒性に関する研究はそれほど多くないが、ラットにおける LD50 値は、経口で、無機の塩化鉄 (III) としては 310 mg/kg 体重、有機のフェロセン ( $\text{FeC}_{10}\text{H}_{10}$ ) としては 354 mg/kg 体重という値が報告されている (不破, 1981)。

ヒトに関しては、成人男性 6 人に 20 mg/kg 体重を経口投与したところ、投与後 2 時間以内に、悪心、頭がくらくらとする、吐き気、重度の痙攣性の胃痛、大量の下痢などの毒性症状が現れたという報告がある (Burkhart ら, 1991)。一方、約 40 mg/kg 体重の鉄剤投与が行われた 339 人のうち、腸管に副作用の自覚症状が現れたのは 23% だけであり、40-60 mg/kg 体重の投与を受けた患者には重篤な副作用は皆無であったという報告もある (Klein-Schwartz ら, 1990)。

また、子どもが鉄剤を間違えて過剰に飲み込んでしまった場合、早期に適切な治療が行われないと致命的である (Morris, 1987)。テネシー大学小児医療センターの 1976 年 1 月から 1992 年 6 月までの記録によれば、128 人の子どもが鉄の急性毒性で入院しており、吐き気、下痢、白血球増加、高血糖などの症状が現れている。このうち、血清鉄濃度が 500  $\mu\text{g/dL}$  を超えた子どもでは、昏睡、放射線不透過、白血球増加、アニオンギャップの上昇が同時に見られている (Chyka and Butler, 1993)。

鉄によって細胞障害が起こるメカニズムは現在のところはっきりしていないが、一つの仮説としては、フリーラジカル生成の関与が示唆されている (Pippard, 1990)。即ち、鉄が過剰に存在するときはフリーラジカルが生成されやすくなっており、それが細胞のタンパク質を変性させ、リン脂質を過酸化することによって細胞膜に障害を与えるということである。

### 7.3 慢性毒性

現在のところ、直接的な発癌性や催奇形性は知られていない。職業的な曝露による障害としては、酸化鉄の粉塵の吸入による比較的軽い塵肺（鉄肺・溶接工肺）の報告があるが (不破, 1981)、他の金属に比べると職業的曝露による障害例は少ない。むしろ、吸収調節の遺伝的障害や、伝統的に過剰な鉄を摂取する集団での毒性や、輸血に伴う過剰の方が詳しく調べられ、多くの報告がある (表 7-1)。

表 7-1. 鉄過剰の原因

1. 輸血	先天性の貧血（例えばホモ接合型 サラセミア，鉄芽球性貧血，赤血球無形成），後天性の不応性貧血（例えば脊髄形成異常，形成不全性貧血）に対して
2. 鉄の吸収過剰	特発性（遺伝性）ヘモクロマトーシス，無効造血（例えば，ヘテロ接合型 サラセミア，鉄芽球性貧血，先天性造血障害貧血）
3. 鉄の摂取過剰	
(a) 経口鉄剤投与が長期にわたった場合	吸収過剰の患者がとくにリスクが高い
(b) 鉄濃度の高いアルコール飲料を飲んでいる	バンツー族のジデローシス
(c) 非経口鉄剤投与が長期にわたる場合	
4. 肝臓疾患合併症	アルコール性肝硬変門脈下大静脈吻合術

出典：Pippard MJ: Iron deficiency and overload. In. Oxford Textbook of Medicine. pp. 19.83-19.91, Oxford University Press, 1990. (一部改変)

慢性毒性としては，一般に組織の障害及び繊維症がみられるが，その前駆症状としての，肝臓，心臓，内分泌腺（膵臓，脳下垂体など）の実質細胞への鉄の沈着は，ヘモクロマトーシスと呼ばれる。肝臓への鉄沈着は繊維症から肝硬変に，心臓への鉄沈着は心筋障害に，膵臓への鉄沈着は糖尿病に，脳下垂体への鉄沈着はゴナドトロピン分泌低下につながることもある。また，皮膚への色素沈着がみられることが多い(三輪, 1987)。ヘモクロマトーシスの患者では，肝細胞が脆弱になり，血漿中にトランスフェリンに結合していない鉄が現れるという報告がある。このフリーな鉄はヒドロキシラジカル生成を起こしやすく，組織に障害がおこる大きな原因である (Pippard, 1990)。以下，表 7-1 の分類に従い，慢性毒性について原因別に記載する。

(A) 輸血が原因である場合 ホモ接合型の サラセミアや，先天性赤血球無形成症のような，健康な赤血球の産生能力が無い貧血患者では，生存のために輸血が不可欠である。この場合，輸血 1 単位，即ち全血 450 ml で，ほぼ 200 mg の鉄が体内に入ることになる。100 単位以上の輸血で心臓への鉄沈着が起こるとい報告がある (Pippard, 1990)。一般に，輸血された後で老化した赤血球は，細網組織中のマクロファージに取り込まれ，分解される。その後，中に含まれていた鉄がトランスフェリン結合鉄の形で血液を介して再分配され，肝臓や内分泌腺などの実質組織に比較的均等に蓄積すると考えられている (刈米, 1980)。

45 歳以上の鎌型赤血球貧血の患者 3 人に対して数単位の輸血を行なった結果，肝臓の貯蔵鉄レベルを示す指標である血清フェリチン濃度が 6,000 ng/ml を超え，同時に重体となり，まもなく死亡したという報告がある。この報告によれば，死因は 3 人とも鬱血性心不全であったが，うち 1 人について死後解剖を行なった結果，甲状腺が鉄の沈着によって繊維症をおこしており，それによって甲状腺ホルモンレベルが低下したことが関連しているということである (Phillips ら, 1992)。

輸血による鉄負荷の速度は予測できるので，それに見合った量のキレート剤 (desferrioxamine など) を投与することによってコントロールできるが，キレート剤は，鉄過剰でないときに投与されると深刻な副作用をもたらすので，使用には細心の注意を要する (Bentur ら, 1991)。

その他，サラセミア患者に輸血を行なった結果，全肺気量の低下がみられたという報告もあり，鉄負荷による肺の組織への障害が示唆されているが，その作用機序は不明である (Factor ら, 1994)。

(B) 吸収過剰が原因である場合 無効造血 無効造血とは，赤芽球が赤血球にならず，したがって末梢血中に出てゆかず死滅することをいう。例えば，鉄芽球性貧血では，赤芽球のミトコンドリアに鉄が蓄積して鉄芽球

となり、末梢血中に出ずに死滅してしまうのであるが、この原因は、赤芽球内のヘム合成過程に障害があり、とりこまれた鉄がヘムになれずフェリチンとして蓄積してしまうことにある(刈米, 1980)。死滅した鉄芽球から遊離した鉄は、骨髄内で再利用されるほかにも、トランスフェリンに結合して、全身の実質組織にも運ばれて蓄積され、鉄過剰の症状を呈する。無効造血時には造血作用自体は昂進するので、血清中のトランスフェリンレセプター濃度が上昇し(Kohgo ら, 1987)、鉄の吸収効率が上昇すると考えられ(Kuhn, 1989)、体内の鉄濃度が高いにもかかわらず鉄が吸収され続け、吸収過剰となるのである。

**特発性ヘモクロマトーシス** 特発性ヘモクロマトーシスは、遺伝性ヘモクロマトーシスともいい、第6染色体上のHLA-A3 遺伝子による疾患で、現在では遺伝子を直接分析することによって診断が可能である。特発性ヘモクロマトーシス遺伝子ホモ接合の頻度は、一般に人口1,000人当たり3-5人であるが、肝臓穿刺によって病理学的にヘモクロマトーシスと診断されるのは人口1,000人当たり1-2人である(Edwards ら, 1989)。一方、遺伝子によって診断された患者135人について肝臓の臨床所見を調べたDeugnier らの報告によれば、重篤な肝硬変にいたらなくとも鉄沈着はかなり一般的に起こることがわかっている(Deugnier ら, 1992)。

Milder ら(1980)は、34人の特発性ヘモクロマトーシス患者の分析から、自覚症状と臨床所見を表7-2のようにまとめている。血液所見としては、血漿中のトランスフェリン濃度が低いことが特徴である。特発性ヘモクロマトーシス患者では食物からの鉄吸収効率が低いとされ、それが過剰蓄積の根本的な原因であるとされてきたが、アポトランスフェリンが多いわけではなく(Edwards ら, 1989)、また、血漿トランスフェリンレセプターレベルも高くないので、吸収効率が高い原因としては、腸管に局在されたトランスフェリンレセプターレベルの上昇しか現在のところ考えられない(Baynes ら, 1994)。正確な吸収過剰のメカニズムは、21世紀に入ってから、やっと解き明かされはじめた。ヘプシジンとフェロポーチンの役割が重要であることが示唆されている(Ganz, 2006)。

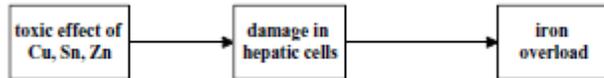
表 7-2. 特発性ヘモクロマトーシスの臨床像 (34人の患者調査による)

自覚症状	%	臨床知見	%
虚弱, 嗜眠	74	皮膚色素沈着	82
性欲減退	56	肝臓肥大	76
性的不能	56	睾丸萎縮	50
体重減少	53	脾臓肥大	38
腹痛	50	心疾患	35
関節炎	47	体毛の脱落	32
錯乱, 昏迷	12	腹水	15
末梢神経炎	9	女性化乳房	12
眩暈	6		
吐き気	6		

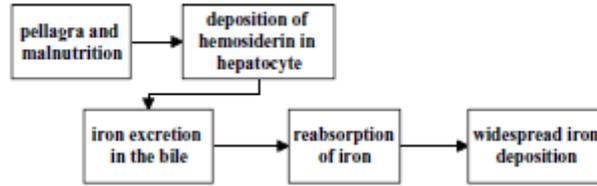
出典: Milder MS, Cook JD, Stray S, Finch CA: Idiopathic hemochromatosis, an interim report. *Medicine*, 59, pp. 34-49, 1980.

- (C) 摂取過剰が原因である場合 アフリカ型鉄過剰症(バンツーシデローシス)が最もよく知られている。南アフリカなどに居住するバンツウの人々は、伝統的に、鉄製の容器を用い、麦芽とトウモロコシを原料としてビールを自家醸造している。このビールの鉄含有量は8.2 mg/dLときわめて高く(市販のものは1.9 mg/dL)、その吸収効率もよいと報告されている(Bothwell ら, 1964)。バンツウの成人では、このビールを大量に消費することによって、肝臓などの実質組織への鉄沈着がおこっている。彼らの鉄過剰症が特発性ヘモクロマトーシスと異なるのは、広汎な上皮への蓄積が見られる点であるが、肝臓や網内系での鉄の蓄積は同様である(Seftel ら, 1961)。この現象は1929年に報告されたが、その成因については、1920年代からいろいろな仮説が提唱されてきた(下表参照)。

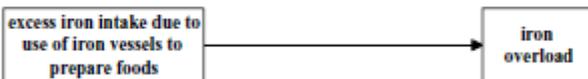
The first description of haemochromatosis as South African "not uncommon disease" by Strachan (1929)



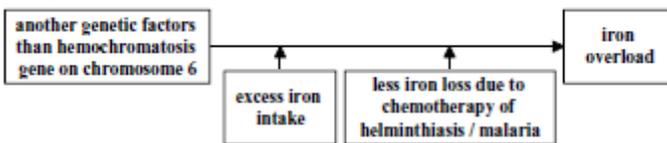
Gillman and Gillman's two stages hypothesis (1947, 1951)



Excess iron intake due to home-made beer hypothesis (Walker and Arvidsson, 1953)



Multiple factors of gene-environment hypothesis (Gordeuk *et al.*, 1992)



18ヶ国 3,983人について剖検によって肝臓の鉄貯蔵量を調べた結果では、先進国では肝臓の乾燥重量 1 g 当たり平均 0.1-0.3 mg であるのに対し、バンツューでは 0.8-2.8 mg に達し、かつ高齢になるほど高濃度になる (Charlton ら, 1970)。これは、摂取過剰による鉄沈着を示す一つの証拠である。アフリカ型鉄過剰症でも、血漿トランスフェリンレセプターレベルは正常であり、レセプターによる鉄吸収調節はまったく正常であるが、曝露量が大きすぎるために鉄が体内に過剰に入ってしまうと考えられる (Baynes ら, 1994)。

しかし、20世紀末になって、過剰な曝露量のためだけで蓄積するわけではないとの説が提唱された。36家族 236人のアフリカ人を対象として行われた研究の結果、[1] 伝統的なビールによる鉄過剰摂取をしていた 100人のトランスフェリン飽和度の分布は二峰性となり、56人は正常、44人は高値を示したことで、[2] トランスフェリン飽和高値群の人は、正常群の5倍の血清フェリチン値を示し、肝臓への鉄過剰蓄積があると考えられたこと、[3] トランスフェリン飽和度と不飽和鉄結合能には、家系とビール摂取量が有意に影響していたが、HLA 遺伝子型とは関連がなかったこと、の3点から、アフリカ型鉄過剰症は、鉄負荷を高める作用をもつ、特発性ヘモクロマトーシスとは別の遺伝子と、鉄摂取過剰との相互作用で発症すると示唆された (Gordeuk ら, 1992)。この後も Gordeuk らの国際共同研究グループはこの方向での証拠を蓄積しており (Moyo ら, 1998)、常染色体上に HLA-A3 とは別に、鉄蓄積傾向に関与する遺伝子があることは、かなり確かであるといつてよい (おそらくフェロポーチン遺伝子と関連している?)。

エチオピアでテフというイネ科植物を食べている集団でも、食物からの鉄摂取量は 400 mg/day 以上と推計されている。しかし、植物由来の鉄は吸収効率が低く、とくに体内の鉄が十分に存在するときほとんど吸収されないために、テフによっては鉄過剰症は起こっていない。パプアニューギニアのギデラ族でも、鉄摂取量が 100 mg/day に達する村落もあるが、やはり植物由来の鉄のために吸収効率が低いことと、伝統医療としての瀉血、マラリアや腸管寄生虫による失血などのために、過剰症にいたる人は少なく、むしろ鉄欠乏と考えられる人も存在する (鈴木, 1991; Nakazawa ら, 1996)。バンツューは、サハラ以南のアフリカというマラリア蔓延地に居住するので鉄損失もおこっているはずであり、高い鉄摂取のためだけで過剰症が多いとは考えられない。このことから、Gordeuk らの仮説がもっともらしく思われる。

(D) 肝臓疾患の合併症としておこる場合 慢性のウィルス性肝炎や、アルコールの慢性摂取によって引き起こされ

た肝硬変の患者でも、鉄過剰が起こっているという報告がある。これは、肝細胞の壊死による鉄やフェリチンの放出によって血清の鉄レベルが上昇していることによるが、フリーラジカルの生成につながる可能性があるので、やはり過剰による細胞毒性が起こりうる場合の一つに数えることができる (Bonkovsky ら, 1990; Di-Bisceglie ら, 1992)。

## 8 引用文献

- Addison, G.M., M.R. Beamish, C.N. Hales, M. Hodgkins, A. Jacobs and P. Llewelin (1972) An immunoradiometric assay for ferritin in serum of normal subjects, and patients with iron deficiency and iron overload. *Journal of Clinical Pathology*, 25: 326-329.
- Baynes, R.D., J.D. Cook, T.H. Bothwell, B.M. Friedman and T.E. Meyer (1994) Serum transferrin receptor in hereditary hemochromatosis and African siderosis. *American Journal of Hematology*, 45: 288-292.  
血清トランスフェリンレセプターが鉄過剰蓄積とは無関係だった、というデータ。
- Bentur Y, McGuigan M, Koren G: Deferoxamine (desferrioxamine). New toxicities for an old drug. *Drug Safety* 6(1), pp. 37-46, 1991.
- Bonkovsky, H.L., D.P. Slaker, E.B. Bills and D.C. Wolf (1990) Usefulness and limitations of laboratory and hepatic imaging studies in iron-storage disease. *Gastroenterology*, 99: 1079-1091.
- Bothwell, T.H., H. Seftel, P. Jacobs, J.D. Torrance and N. Baumslag (1964) Iron overload in Bantu Subjects. Studies on the availability of iron in Bantu beer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 14: 47-51.
- Burkhart KK, Kulig KW, Hammond KB, Pearson JR, Ambruso D, et al.: The rise in the total iron-binding capacity after iron overdose. *Annals of Emergency Medicine*, 20(5), pp. 532-535, 1991.
- Charlton, R.W., D.M. Hawkins, W.O. Mavor and T.H. Bothwell (1970) Hepatic storage iron concentrations in different population groups. *American Journal of Clinical Nutrition*, 23: 358-371.
- Chyka PA, Butler AY: Assessment of acute iron poisoning by laboratory and clinical observations. *American Journal of Emergency Medicine*, 11(2), pp. 99-103, 1993.
- Cook, J.D., B.S. Skikne and R.D. Baynes (1993) Serum transferrin receptor. *Annual Reviews of Medicine*, 44: 63-74.
- Dallman, P.R., R. Yip and C. Johnson (1984) Prevalence and causes of anemia in the United States, 1976 to 1980. *American Journal of Clinical Nutrition*, 39: 437-455.  
鉄欠乏の有病割合推計のための、「ヘモグロビンパーセントシルシフトモデル」の提案。
- Deicher R, Hörl WH (2006) New insights into the regulation of iron homeostasis. *European Journal of Clinical Investigation*, 36: 301-309.
- Deugnier YM, Loreal O, Turlin B, Guyader D, Jouanolle H, et al.: Liver pathology in genetic hemochromatosis: a review of 135 homozygous cases and their biochemical correlations. *Gastroenterology*, 102(6), pp. 2050-2059, 1992.
- Di-Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR: Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology*, 102(6), pp. 2108-2113, 1992.
- Edwards, C.Q., L.M. Griffen, J. Kaplan and J.P. Kushner (1989) Twenty-four hour variation of transferrin saturation in treated and untreated haemochromatosis homozygotes. *Journal of Internal Medicine*, 226: 373-379.
- Expert Scientific Working Group (1985) Summary of a report on assessment of the iron nutritional status

of the United States population. *American Journal of Clinical Nutrition* , 42: 1318-1330.

- Factor JM, Pottipati SR, Rappoport I, Rosner IK, Lesser ML, et al.: Pulmonary function abnormalities in thalassemia major and the role of iron overload. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 149(6), pp. 1570-1574, 1994.
- Ferguson, B.J., B.S. Skikne, K.M. Simpson, R.D. Baynes and J.D. Cook (1992) Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* , 19: 385-390.
- Friedman, B.M., R.D. Baynes, T.H. Bothwell, V.R. Gordeuk, B.J. MacFarlane, R.D. Lamparelli, E.J. Robinson, R. Sher and S. Hamberg (1990) Dietary iron overload in southern African rural blacks. *South African Medical Journal* , 78: 301-.
- Galan, P., J.F. Etard, E. Borel, C. Debenaze and S. Hercberg (1989) Relationship between serum ferritin, erythrocyte protoporphyrin and transferrin saturation in Mauritanian free living children. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research* , 59: 214-218.
- Ganz T (2006) Hepcidin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology*, 1: 29-35.
- Gordeuk, V., J. Mukiibi, S.J. Hasstedt, W. Somowitz, C.Q. Edwards, G. West, S. Ndambire, J. Emmanuel, N. Nkanza, Z. Chapanduka, M. Randall, P. Boone, P. Romano, R.W. Martell, T. Yamashita, P. Effler and G. Brittenham (1992) Iron overload in Africa. Interaction between a gene and dietary iron intake. *New England Journal of Medicine* , 326: 95-100.

アフリカ型鉄過剰症でも遺伝子がか関係していることを示したもの。

- Guindi, M.E., B.S. Skikne, A.M. Covell and J.D. Cook (1988) An immunoassay for human transferrin. *American Journal of Clinical Nutrition* , 47: 37-41.

トランスフェリンの定量法、及びトランスフェリンの値からの総鉄結合能の推計。

- Hughes S, Kelly P (2006) Interactions of malnutrition and immune impairment, with specific reference to immunity against parasites. *Parasite Immunol.*, 28(11): 577-88.
- International Nutritional Anemia Consultative Group (1985) *Measurements of Iron Status* . Nutrition Foundation Inc., Washington.
- Jacobs, A. and M. Worwood (1975) Ferritin in serum. Clinical and biochemical implications. *New England Journal of Medicine* , 292: 951-956.
- Judish, J.M. *et al.* (1966) The fallacy of a fat iron-deficient child. *Pediatrics* , 37: 987-990.
- Kaltwasser, J.P. and E. Werner (1989) Diagnosis and clinical evaluation of iron overload. *Baillieres Clinical Haematology* , 2: 363-389.

さまざまな鉄過剰症の診断法（直接法／間接法）と臨床的評価のレビュー。

- Kent, S. and Dunn, D. (1993) Etiology of hypoferrremia in a recently sedentary Kalahari village. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 48: 554-567.
- Klein-Schwartz W, Oderda GM, Gorman RL, Favin F, Rose SR: Assessment of management guidelines. Acute iron ingestion. *Clinical Pediatrics*, 29(6), pp. 316-21, 1990.
- Kohgo, Y., Y. Nitsu, H. Kondo, J. Kato, N. Tsushima, K. Sasaki, M. Hirayama, T. Numata, T. Nishisato and I. Urushizaki (1987) Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis. *Blood* , 70: 1955-1958.
- Kuhn LC: THE transferrin receptor: a key function in iron metabolism. *Schweizer medizinische Wochenschrift*, 119, pp. 1319-1326, 1989.
- Melamies, L. (1983) Rapid quantification of C-reactive protein by centrifugal analysis. *Clinical Chemistry* , 29: 696-697.

急性期反応物質として炎症の指標となる、C反応性タンパクの迅速簡便な定量法。

- Meyer, T., R. Baynes, T. Bothwell, T. Jenkins, P. Jooste, E. Du Toit, R. Martell and P. Jacobs (1990) Phenotypic expression of the HLA linked iron-loading gene in males over the age of 40 years: A population study using serial serum ferritin estimations. *Journal of Internal Medicine* , 227: 397-406.  
Baynes *et al.* (1994) の報告の母体となる研究。遺伝性ヘモクロマトーシスの血清フェリチンによる評価。
- Milder MS, Cook JD, Stray S, Finch CA: Idiopathic hemochromatosis, an interim report. *Medicine*, 59, pp. 34-49, 1980.
- Morgan, E.H. (1981) Transferrin, biochemistry, physiology and clinical significance. *Molecular Aspects of Medicine* , 4: 1-123.
- Morris ER: Iron. In: Mertz W, editor. Trace Elements in Human and Animal Nutrition volume 1: 5th ed. pp.79-142., Academic Press, 1987.
- Moyo, Victor M., Eberhard Mandishona, Sandra J. Hasstedt, Innoceny T. Gangaidzo, Zvenyika A.R. Gomo, Hlosukwazi Khumalo, Thokozile Saungweme, Clement F. Kiire, Alan C. Paterson, Peter Bloom, A. Patrick MacPhail, Tracey Rouault and Victor R. Gordeuk (1998) Evidence of genetic transmission in African iron overload. *Blood* , 91: 1076-1082.
- Nakazawa, M., R. Ohtsuka, T. Kawabe, T. Hongo, T. Inaoka, T. Akimichi and T. Suzuki (1996) Iron nutrition and anaemia in malaria endemic environment: Haematological investigation of the Gidra-speaking population in lowland Papua New Guinea. *British Journal of Nutrition* , 76: 333-346.
- Ong ST, Ho JZ, Ho B, Ding JL. (2006) Iron-withholding strategy in innate immunity. *Immunobiology*, 211(4): 295-314.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T (2006) Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.*, 276(11): 7806-7810.
- Phillips G-Jr, Becker B, Keller VA, Hartman J-4th: Hypothyroidism in adults with sickle cell anemia. *American Journal of Medicine*. 92(5), pp. 567-570, 1992.
- Pippard MJ: Iron deficiency and overload. In. *Oxford Textbook of Medicine*. pp. 19.83-19.91, Oxford University Press, 1990.
- Ramm, G.A., L.R. Duplock, L.W. Powell and J.W. Halliday (1990) Sensitive and rapid colorimetric immunoassay of ferritin in biological samples. *Clinical Chemistry* , 36: 837-840.  
ELISA によるフェリチン定量法の改良。
- Ramsay, W.N.M. (1957) The determination of iron in blood, plasma or serum. *Clinica Chimica Acta* , 2: 214-220.
- Sazawal S, Black RE, Ramsan M, Chwaya HM, Stoltzfus RJ, Dutta A, Dhingra U, Kabole I, Deb S, Othman MK, Kabole FM. (2006) Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 367(9505): 133-143. (Erratum in: *Lancet*. 2006 Jan 28; 367(9507): 302.)
- Seftel HC, Keeley KJ, Issacson C, Bothwell TH: Siderosis in the Bantu: the clinical incidence of hemochromatosis in diabetic subjects. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 58(6), pp. 837-844.
- Stookey, L.L. (1970) Ferrozine — a new spectrophotometric reagent for iron. *Analytical Chemistry* , 42: 779-782.
- Walters, G.O., F.M. Miller and M. Worwood (1973) Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects. *Journal of Clinical Pathology* , 26: 770-772.

- Worwood, M., S.J. Thorpe, A. Heath, C.H. Flowers and J.D. Cook (1991) Stable lyophilized reagents for the serum ferritin assay. *Clinical and Laboratory Haematology* , 13: 297-305.  
ELISA による血清フェリチン定量法確立のための、安定した凍結乾燥抗体の作成。
- ブリッジズ (Bridges, E.M.) [著]、永塚鎮男、漆原和子 [共訳] (1990) 世界の土壌. 古今書院, 東京.  
土壌中の鉄の動態について引用した。
- 刈米重夫: 鉄代謝とその異常. In: 新版日本血液学全書刊行委員会 (編) 貧血 I, pp. 245-300, 丸善, 1980.
- 三輪史朗: 貧血・血液を科学する, pp. 121-122, 講談社学術文庫, 1987.
- 東京天文台 [編] (1987) 理科年表. 丸善, 東京.  
元素としての鉄の基礎データとして引用した。
- 不破敬一郎: 生体と重金属, pp. 162-176, 講談社, 1981.
- 米国立調査委員会 (National Research Council) [編], 木村正己, 荒記俊一ら [訳] (1981) 環境汚染物質の生体への影響 12 銅・鉄. 東京化学同人, 東京.  
構成上の参考にした。また、日本語になっているレビューとしては、非常に良くまとまっている部類である。ちょっと古いのが欠点。
- 鈴木継美: パプアニューギニアの食生活. p. 209, 中公新書, 1991.
- 鈴木正巳 (1984) 原子吸光分析法. 共立出版, 東京.  
原子吸光分析の標準的な教科書。

## 9 付録

\* 文中、「現在」とあるのは 1995 年頃のことである。

### 9.1 カイノスフェリチン測定キットによる血清フェリチンの測定

- 1) 測定原理 酵素免疫測定法 (EIA) に基づくキット (FERRITIN-MP「三井」) を使用して測定する。本キットによる血清中フェリチンの測定は、固相サンドイッチ法に基づく。以下、簡単に固相サンドイッチ法をまとめる。検体中に抗原 (フェリチン) が存在すると、溶液中に分散している磁性微粒子に固定されているウサギ抗フェリチン抗体 (ヒトフェリチンをウサギの血中に注射したときにウサギが作る抗体の IgG 分画を用いて作成されたもの) と結合する。これをさらにペルオキシダーゼ結合ウサギ抗フェリチン抗体と反応させると、抗原を挟んだ三者のサンドイッチ複合体、すなわち、[磁性微粒子:抗フェリチン抗体]-[フェリチン]-[抗フェリチン抗体:ペルオキシダーゼ] という複合体が形成される。固相に結合する酵素標識抗体の量は抗原の量に比例するので、過酸化水素水および 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ) を基質として用い、生成する TMBZ 酸化物を 450 nm で比色定量してその酵素活性を測定することにより、血清中のフェリチン濃度を測定することができる。
- 2) キット仕様 名称: FERRITIN-MP「三井」  
製造: 三井製薬工業 (株)  
販売: カイノス
- 3) キット構成 抗体結合磁性微粒子液 (R-1): ウサギ抗フェリチン抗体結合磁性微粒子懸濁液 13 mL。うち、ウサギ抗フェリチン抗体 IgG 画分 130  $\mu$ g を含む。冷暗所で一年間安定。  
酵素標識抗体液 (R-2): 12 mL。うち、ペルオキシダーゼ結合ウサギ抗フェリチン抗体 2.04  $\mu$ g を含む。冷暗所で一年間安定。  
標準溶液 No.3: 標準フェリチン 250 ng/mL 溶液 5 mL。濃度表示値は、WHO 標準フェリチンを基準としている。冷暗所で一年間安定。  
希釈液: 標準溶液の希釈に用いる。冷暗所で一年間安定。  
発色液セット: 呈色液 (R-3A) は、38 mL 中に 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンを 2.47 mg 含む。酵素质質液 (R-3B) は、2 mL 中に 166  $\mu$ L の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を含む。すなわち 30% の過酸化水素水である。この二液を混合しない状態では一年間安定だが、R-3A 全量に R-3B を 200  $\mu$ L 加えて混和した状態 (酵素质質液 - 呈色液) (R-3) では、冷暗所で一ヶ月安定。  
洗浄原液: 濃リン酸バッファで、室温で一年間安定。これを精製水を用いて 5 倍希釈し、洗浄液とする。洗浄液は室温で六ヶ月安定。  
反応停止液 (R-4): 1 N の硫酸で、室温で長期安定。  
標準溶液セット: No.1 (0 ng/mL), No.2 (50 ng/mL), No.3 (250 ng/mL), No.4 (500 ng/mL), No.5 (1000 ng/mL) が各濃度 0.8 mL x 2 本ずつ。冷暗所で一年間安定。
- 4) 測定性能 (三井製薬の自動分析器使用時) 感度: 標準品 0 ng/mL における吸光度の + 2SD と検体吸光度の - 2SD の交わらない検体濃度を検出限界としたとき、1.6 ng/mL である。  
特異性: 表示値に対し、95.8 ~ 104% である。  
再現性: 変動係数 (CV) は、4.8% 以下である。
- 5) 注意 抗体結合磁性微粒子液 (R-1)、標準溶液、酵素標識抗体液 (R-2)、及び希釈液は、冷蔵時の安定性を増すために (2 ~ 10 で約一年間は安定) チメロサル (エチル水銀チオサリチル酸ナトリウム) が添加されているので、すべての廃液は有機水銀廃液として処理する。実は、アスピレータで吸引してしまう液もこれを含むため、できれば水流式でないアスピレータを使うべきである。

特に必要な器具としては、450 nm の吸光が測れる分光光度計、磁石付きの試験管立てがある。かつて測定した際、後者は三井製薬から借用した。

## 9.2 総鉄結合能 (TIBC) の測定

1) 測定法開発史 血漿の TIBC を測定するための初期の *in vitro* の技法は、無色のアポトランスフェリンが鉄と複合体をつくるときに、サーモン・ピンク色を発し、その値は複合体のピーク吸光度を示す 470nm で読むことができるという事実に基づいていた。したがって、量が既知の鉄（通常は 50  $\mu\text{g}/\text{dL}$  の濃度のもの）を血清または血漿に加えれば、鉄によるトランスフェリンの完全飽和点に到達しない限り、吸光度も鉄添加分だけ上昇する。その後、どんなに鉄を加えても吸光度に変化がなくなるようになる。このアプローチでは、トランスフェリンが多量の過剰鉄添加によって飽和する。そこで、不飽和鉄結合能 (UIBC) は、吸光度の変化を測り、それを校正曲線に関連させることで決定される。しかし、この原理に基づくテクニックは、とくに血漿のバックグラウンド吸光が大きいときは、感度が低いという欠点をもつ。

トランスフェリン結合鉄の吸光度は低いので、鉄結合発色試薬を使って感度を上昇させるようなテクニックが多く導入された。その場合、鉄に結合していないトランスフェリンのすべてを飽和させるのに十分な量の鉄が血漿または血清に添加される。その後、鉄結合発色試薬が加えられ、それはトランスフェリンに結合していない（過剰な）鉄とだけ反応する。UIBC は、はじめに血漿に添加した鉄の量から発色試薬に結合した鉄の量を引くことで計算される。このアプローチの欠点は、吸光度の読み取りを血漿タンパクや色素の高いバックグラウンド吸光がある状態で行なわねばならないことである。このテクニックはおそらくルーティンワークの臨床検査として行なうには適当だが、第一の reference standard とするには精度が不足している。

血漿または血清の鉄結合能を決定する、もっともポピュラーな方法は、トランスフェリンの結合能を超える鉄を添加するものである。それからトランスフェリンに結合していない鉄を分析前にサンプルから物理的に除去する。よくやるアプローチは、トランスフェリンに結合していない鉄と化合物を作る不溶性の物質を添加するものである。そうすれば遠心してその化合物を除去することができる。このタイプの方法は、鉄吸収体の性質によって便宜上分類される。こうしたテクニックの最初のもは、鉄はくえん酸鉄 (III) として添加され、過剰分はイオン交換樹脂である Amberlite IRA 410 によって除去される（塩素イオンのかわりに、くえん酸塩と結合する）。第二の方法では、鉄は塩化鉄 (III) として添加され、過剰分は炭酸マグネシウムで吸着される。第三の方法では、硫酸鉄 (II) アンモニウムがトランスフェリンを飽和させるために使われ、非結合の過剰鉄は、ヘモグロビンでコーティングした活性炭粒子を加えることによって除去される。

二つの方法が、吸着によって過剰な鉄を除去した後の上清の鉄含量を推定するために使われてきた。樹脂法でも炭酸マグネシウム法でも、上清に対しては比色によって TIBC を決定することが行われてきた。しかし、コーティングした活性炭を吸着剤として使うと、活性炭中に存在する鉄による上清への contamination のために、これらのテクニックを使うことはできない。これに代わるアプローチが一つあり、これなら 3 つの吸着剤全てが使える。それは、血漿または血清の初期状態でのトランスフェリン飽和度に対して、既知の特異的活性をもつ鉄の放射性同位体を使うことである。そうすれば、吸着剤でトランスフェリンに結合していない鉄を除去した後の上清に残っている放射活性から、UIBC を直接測定することができる。吸着剤を使う方法はきわめて広く使われているので、その正確さと精度を決定するために、多くの研究が実施されてきた。その妥当性は少なくとも 3 つの仮定に依存している。第一に添加した鉄がどの不飽和トランスフェリンとも定量的に結合すること、第二にそれに続く吸着剤の添加によってトランスフェリンから鉄が除去されることがないということ、第三に吸着剤が定量的にトランスフェリンに結合していない鉄を除去することである。この証拠をレビューすることはこの文章の議論のスコープを逸脱するが、ある種の一般的結論は保証されるようだ。UIBC より少ない量だけ添加された鉄は、実に定量的にトランスフェリンに結合し、全回収率は約 105% である。このみかけ上の過剰回収は、技術的要因による。活性炭粒子は血漿の水相の約 5% を置換するが、他の二つの

吸着剤は、血漿を同じパーセンテージだけ脱水するからである。必要であれば、これらの現象は補正することができる。これらの研究で鉄の完全な回収が示されているという事実は、どの吸着剤もトランスフェリンから鉄を除去しないことを示唆する。吸着剤が不完全なことに起因する可能性のある誤差は、トランスフェリン飽和度 100%を超えて放射性的鉄を加えて飽和させることによって、精度として明らかになっている。三つの吸着剤のどれについても UIBC は一定でなく、増加していく。飽和後の上清の放射活性の上昇は、トランスフェリンに結合していない過剰鉄の量に比例するのだが、炭酸マグネシウム、コーティングした活性炭、樹脂について、それぞれ 2.7, 3.4, 6.8%であった。以上の知見から、現在使える吸着剤の中では炭酸マグネシウムが最も優れており、それを使用することが推奨される。きわめて正しく測れる方法が二つ、最近報告されたが、時間がかかるので、ルーティンワークの臨床検査でなく、reference standard とするのに向いている。

2) 過剰鉄添加後フリーの鉄を沈殿させる方法 トランスフェリンの結合能を超えた量の鉄を含む溶液を血漿または血清サンプルに加える。トランスフェリンに結合しなかった鉄は炭酸マグネシウムに吸着させることによってサンプルから除去される。血清の鉄結合能を測定するアプローチは二つ考えられる。第一は遠心分離後、上清の一部をとって比色によって鉄を測定する（血清鉄の測定法は後述）。このやり方での測定値はトランスフェリンが完全に飽和したときにサンプル中に存在する鉄（すなわち TIBC）からなる。第二は、飽和させるための鉄溶液を既知の特異的放射活性をもつものにし、炭酸マグネシウムで処理した後の上清に存在する放射活性を測定することによって行う。このやり方ではサンプル中でフリーだったトランスフェリンによって取り込まれた鉄の量（すなわち UIBC）を推定することができる。

3) トランスフェリン (Tf) の測定による方法 TIBC は Tf の量に比例するので、鉄の結合能を直接測らずにタンパク質として血清 Tf を測定し、Tf 1 分子当たり鉄原子が平均 1.4 個結合できるとして計算により求めることもできる。すなわち、

$$\text{TIBC}(\mu\text{g}/\text{dL}) = 1.4 \times [\text{Tf}(\text{mg}/\text{dL})] \times 55.85/76500 \times 1000$$

として推計する。Tf そのものの測定は、例えば、単純免疫拡散法 (SRID) を使ったヘキストのキットで可能である。具体的には下記のとおり。

器具・試薬：NOR パルチゲンプレート，NOR パルチゲン用蛋白標準血清，NOR パルチゲン用コントロール血清，ハミルトンのマイクロシリンジ（10  $\mu\text{L}$  用），ノギス，Immunoviewer

測定手順：(1) パルチゲンプレートの穴 1 ~ 3 に蛋白標準血清を 5  $\mu\text{L}$  ずつ滴らす。次のサンプルに移るときは蒸留水で洗う（2 ~ 3 回吸っては外に捨て、を反復）。(2) パルチゲンプレートの穴 4 ~ 11 に血清を 5  $\mu\text{L}$  ずつ滴らす。(3) パルチゲンプレートの穴 12 にコントロール血清を 5  $\mu\text{L}$  滴らす。(4) 48 時間放置する。(5) Immunoviewer 上でノギスを使い、沈降輪の直径を 0.1 mm の単位まで測り、縦軸に直径の二乗、横軸に濃度をとった検量線から濃度を計算する。

### 9.3 血清鉄の測定

1) 測定原理とその歴史 一般に最も正確であると考えられている、いくつかの血漿（または血清）鉄濃度測定法は、除タンパクを含む。それらの測定法は、どれもが 4 つの基本的なステップをもつ。すなわち、第一に血漿または血清を酸で処理して鉄とトランスフェリンの結合を切り、第二に鉄を還元し、第三に血漿タンパクをトリクロロ酢酸処理または熱処理で沈殿させて遠心して除去し、最後に鉄に結合して発色する試薬を上清に加え、比色によって二価の鉄濃度を決定する。これらの方法で重要なステップの一つは、鉄をトランスフェリンから切り離す手段である。初期の方法の大部分では、塩酸だけが使われていた。このアプローチは新鮮な血漿についての測定には適当だが、凍結サンプルまたは凍結乾燥サンプルについては、タンパクの沈殿とともにかなりの鉄損失がおこることは明らかである。

不完全な回収を防ぐには、メルカプト酢酸 (thioglycolic acid) またはアスコルビン酸といった還元剤をタンパク沈殿の前に加えればよい。しかし、このような状況では、かなりの量の鉄が血漿中に存在するヘモグロビン

から放出される。国際血液学標準化委員会 (ICSH) の鉄部門によるこの問題の系統的な研究によれば、血漿中に存在するヘモグロビンからの鉄の放出は、酸化の前でなく、後または同時に還元剤を加えることで避けられる。

血漿鉄濃度の測定についての、これに代わる、より単純なアプローチの一つは、トランスフェリンから鉄を放出させるために、酸バッファと還元剤をまず加えるものである。ついで、タンパク沈殿なしに、二価鉄結合発色試薬を直接加える。血漿のバックグラウンド吸光は発色試薬を加える前に、そのチューブそのものか、同じ操作をした別のチューブかのいずれかで測っておく。しかし、このアプローチには大きな欠点がある。血漿のバックグラウンド密度が高くなるため、とくにヘモグロビン、ビリルビン、あるいは血漿脂質濃度が高いとき、感度が低くなる（実際にはあってもバックグラウンドでマスクされてしまい、検出されなくなることがある）のである。

- 2) 現在望ましいとされている測定方法 塩酸とトリクロロ酢酸によって血清または血漿から酸抽出することによって、トランスフェリンから鉄を放出させ、タンパク質を沈殿させる。この酸性の試薬はメルカプト酢酸も含み、これが鉄を二価の状態に還元する。その鉄は、ferrozine の酢酸ナトリウム溶液を加えることによって生じる、562 nm のライラック色の吸光を測ることで定量できる。酢酸ナトリウムの機能は、鉄結合発色試薬 (iron chromogen) が最大の吸光をするための正しい pH に溶液を緩衝することである。

この、推奨される方法は、ICSH の鉄部門によって記述されたそれ (バソフェナントロリン法) に基づいている。しかし、I/N/A/C/G の recommendation としては、ferrozine をスルホン化バソフェナントロリン (sulfonated bathophenanthroline) の代わりに用いることにしている、というのは、それがより安価であり、より大きな感度をもつからである。具体的には下記の通り (なお、和光純薬から出ている鉄測定キット Fe-Test Wako が安価で便利である)。

試薬 次にあげる試薬は、すべて、得られる中で鉄含有量がもっとも少ない分析グレードのものをを用いなければならない。トリクロロ酢酸、塩酸、メルカプト酢酸 (チオグリコール酸)、酢酸ナトリウム、Ferrozine [3-(2-pyridyl)-5,6-bis-(4-phenylsulfonic acid)-1,2,4-triazine] (PDT ジスルホネート [鉄 (II) 用])、原子吸光分析用鉄標準液 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

鉄を含まない水 ガラス器具を洗うために、また試薬溶液を作るのに使う水は、鉄を含まないもの = 鉄濃度が 1  $\mu\text{g}/\text{dL}$  未満であること = にするべきである。ガラス蒸留水もこの特定の目的には適合するだろうが、Elgastat Spectrum System C (Elga Products) のような、活性炭とイオン交換膜の両方を含んだ脱イオン器を通して得られる水が、より望ましい。

無鉄ガラス器具 試薬の調製と測定の実施に用いるガラス器具は、すべて鉄を含まないものでなければならない。Extran (Merck and Company) のような実験用洗剤で洗った後、ガラス器具は、50%硝酸につけて一晩おき、その後蒸留水で洗い、最後に鉄を含まない水で洗うべきである。

タンパク質沈澱用溶液 200 ~ 300 mL の鉄を含まない水を入れた容量 500 mL のメスフラスコ中に、50 g のトリクロロ酢酸、0.5 mol の塩酸 (ここではどうせ 500 mL に希釈するので、濃度が問題ではなくて、 $[\text{H}^+]$  と  $[\text{Cl}^-]$  の量が正確なことが必要である。だから、例えば、20 N の HCl 溶液を 25 mL でよい)、そして 15 mL の濃メルカプト酢酸を加える。よく溶かしながら、鉄を含まない水で 500 mL の標線に合わせる。もし、トリクロロ酢酸の鉄濃度が 0.00003% (0.3 ppm) より大きかったら、もっと純度の高いものを入手しなければならない。このタンパク質沈澱用溶液は、暗褐色瓶中で保存すれば、少なくとも二ヶ月は安定である。

二価鉄結合発色試薬溶液 (0.025% の ferrozine を含む 1.5 M 酢酸ナトリウム溶液) 酢酸ナトリウムを 102 g と ferrozine を 125 mg、予め 200 ~ 300 mL の鉄を含まない水をいれておいた容量 500 mL のメスフラスコに加える。それを溶かし、鉄を含まない水で 500 mL の標線にあわせる。ここで用いる酢酸ナトリウムは、その鉄濃度が 0.00002% (0.2 ppm) 未満のものにするべきである。この試薬は、暗褐色瓶中にいれ、アルミホイルでくるんで保管すれば、少なくとも二週間は安定である。

標準血清 測定の際は、既知量の鉄を含む、同じ血清をモニタすべきである。それによって測定精度管理ができる。I/N/A/C/Gによれば、Ortho Diagnostic Systemsの、「オーソ リキッドリファレンス血清 I, II for Chemistry」が推奨されている。NBS(NIST)のSRM937で校正されているので、正確さは信頼できる。1 mL × 30本で1セット。IとIIは濃度レベルが違い、鉄の場合、normalまたは欠乏が疑われる集団に対してはI、過剰症が疑われる集団に対してはIIを使うべきである（一般集団なら両方使えれば理想的）。日本では創和科学が扱っており、I, IIを1セットずつで5万円程度（1995年）。

測定試料 測定は、I/N/A/C/Gの本の七章「試料の収集」で推奨されているやり方（注：低年齢の子供から採血する場合を除いて、前腕の表面の静脈か肘静脈窩（antecubital fossa）の静脈、または、もし腕の表面に静脈が見あたらない場合は手の甲の静脈から採血するのがよい）で静脈から採取した血液から分離した血清または血漿について実施できる。血漿の収集については、やはり七章に記載されているように、採血用のチューブまたはシリンジは抗凝血剤（注：通常、全血1 mL当たり15~20 USP unitsのヘパリン、または、EDTAの二カリウム塩（全血1 mL当たり1 mg）か二ナトリウム塩（全血1 mL当たり1.5 mg））を含むべきである。

血清を用いるときは、採血した日のうちに血餅から分離するべきである。このために、血餅のできたサンプルを1,500 Gで15分間遠心し、その後注意深く、血清を無鉄パスツールピペットで取り出す操作を行う。長期保存する場合は、血清の方が血漿より好ましい。なぜなら、血漿では保存中にフィブリンが析出してくるからである。

本質的なことは、血液サンプルを集めるのに用いられる道具が鉄 free だということである。使い捨てのステンレススティール製の針とプラスチックシリンジを用いるべきであり、それらが鉄汚染を受けていないことをモニターするべきだ。モニターの方法は、各ロットからランダムに針とシリンジを選び、鉄結合発色色素の中で洗うことによって鉄汚染をスクリーニングするのである。今では、無鉄 Vactainer チューブ (Becton Dickinson) を用いることができるので、それを使うべきである。

血漿や血清は、測定までの間、密封したチューブ内で4週間で一週間保存することができる。細菌汚染がありそうな状況下では、サンプルはすぐに凍結しなければならない。血清は、凍結した状態であれば、少なくとも二年間は貯蔵可能である。凍結はかなりの量のヘモグロビン鉄を遊離させるかもしれないので、有意な溶血を示している血清試料については、測定はすぐに実施するべきである。血漿は凍結しないほうが望ましい、というのは、凍結過程でサンプルからフィブリンが沈澱しがちだからである。

健康な被検者においては血漿鉄濃度にはっきりした日内変動があるため、採血時刻は標準化するのが好ましい。血漿鉄濃度のピークは健康な被検者の大部分では早朝にくるので、正常な被検者と鉄欠乏の被検者との間の血漿鉄濃度は、早朝のサンプルをとった場合にもっとも大きな差がでるだろう。経口鉄投与療法は、少なくともサンプリングの24時間前には中断するべきである。

分析に使用する装備 Vortex ミキサー（付随的なものである）、遠心分離器、サンプル容量1~1.5 mLのマイクロキュベットが使用できる分光光度計（もし分光光度計が利用できなければ、ピークがほぼ562 nmにあるフィルターをつけたフィルター式の光度計も使うことができる）

- 測定手順
1. 血漿または血清1 mLを無鉄試験管にとり、タンパク質沈澱用溶液を1 mL加えて、手またはVortex ミキサーで45秒間徹底的に混和する。少なくとも5分間おいた後、1,500 Gで15分間遠心分離する。15分経ったときには、上清は光学的に透明なはずである。
  2. 2 µg/mLの鉄標準液（原子吸光分析用標準液を500倍に希釈する）1 mLを無鉄試験管にとり、タンパク質沈澱用溶液を1 mL加え、完全に混和してから少なくとも5分間静置する。
  3. 1.での血漿の代りに鉄を含まない水を使ったものを、試薬ブランクとして準備する。
  4. 1-3の上清を1 mL取り分けて、無鉄試験管に入れる。各々に鉄発色試薬を1 mL加え、よく混和し、少なくとも10分間静置する。
  5. 4.で得られた溶液の吸光度を、蒸留水に対して（蒸留水の吸光度を0として）波長562 nmで分光

光度計で測定する。

$$\text{計算 血漿鉄濃度 } (\mu\text{g/dL}) = (A_{unk} - A_{blk}) / (A_{std} - A_{blk}) \times 200$$

ここで、 $A_{unk}$ 、 $A_{blk}$ 、 $A_{std}$  は、それぞれ、未知血漿 (1)、試薬ブランク (3)、鉄標準液 (2) の吸光度である。サンプルの量は、(1)、(2)、(3) すべて半分にして、(4) でも 0.5 mL の上清としても標準液との比だから、本質的には測定可能なはずである。

- 3) この方法での測定実施上の注意 光路 1 cm のキュベットを使ったときに蒸留水に対して読まれる試薬ブランクの吸光度は、0.025 より小さくあるべきである。これより高い値は、コンタミネーション（水やガラス器具の）か、あるいは試薬のどれか（塩酸、トリクロ酢酸、酢酸ナトリウム、あるいは ferrozine）の鉄含有量が高かったか、の結果かもしれない。後者の場合、個々の試薬の別ロットを選択することが、試薬ブランクの吸光度を許容できるレベルにまで下げるのに必要かもしれない。

血漿鉄濃度の定量の際に起こる実験誤差の大部分は、試験管のコンタミネーションの結果である。このため、また再利用可能なガラス器具を鉄を含まない状態にしておくために必要な時間のため、使い捨てのプラチューブがより好まれる。たいていの、しかし全てではない、使い捨ての市販のチューブは、鉄を含まない。このため、試験管は、各ロットからランダムに選ばれ、鉄結合発色試薬で洗うことによって鉄で汚染されていないかチェックすることができる。

この方法の効率化は、除タンパク剤と鉄結合発色試薬溶液を加えるのに半自動の試薬分注器を使うことによって大いに改善される。Oxford ピペッター (Curtin Matheson) は、この目的にふさわしいことがわかっている。こうした分注器は、血漿鉄測定のためにとっておくべきであり、試薬と接触する面に金属があってはならない。

desferrioxamine あるいは抗凝血剤でもある EDTA といった鉄キレート剤は、測定の障害になるかもしれない。それらがある場合、正常な血清や血漿と比較して発色の進行速度がより遅いのでわかる。EDTA を抗凝血剤として使用した場合は、それを添加してからサンプルの吸光度を読む前に少なくとも 15 分間、時間が経つのを待つべきである。