

学 位 論 文 題 名

非白血病性造血器疾患における赤血球フェリチンの検討

学位論文内容の要旨

目 的

フェリチンは鉄貯蔵蛋白として知られ、日常臨床でも血清フェリチンが体内の貯蔵鉄量を知る指標として頻用されている。しかし、炎症、感染症、肝障害などで上昇するためその解釈に困難を感じることが少なくない。一方、赤血球フェリチンはそれらに影響されることが少なく、より正確に体内の鉄代謝状態を反映するとして注目されている。

フェリチン分子はH(Heavy;21,000Da)とL(Light;19,000Da)という2つのサブユニットが24個集まって1つの分子を形成し、そのHとLサブユニットの割合により等電点電気泳動(IEF)上、酸性、塩基性などのフェリチンが生ずる。したがってIEFを施行することにより鉄代謝に関するさらに詳細な情報を知り得る可能性がある。そこで、種々の非白血病性造血疾患について赤血球フェリチン量を測定し、さらにIEFにて解析してこれらの疾患における病態との関連性を検討することにより、赤血球フェリチン検索の有用性を検討した。

材料および方法

1) 赤血球溶血液：鉄欠乏性貧血18例、遺伝性球状赤血球症7例、巨赤芽球性貧血8例、真性赤血球増加症6例、健常成人53例(男24例、女29例)、合計92例よりヘパリン採血20mlを得、microcrystalline celluloseと $\alpha$ -celluloseを1:1に混合したカラムにて白血球および血小板を除去し、蒸留水を加えて溶血させ、-80℃にて凍結、解凍後に遠心し、その上清を検体とした。フェリチンは抗ヒト肝フェリチンポリクローナル抗体を用いたIRMA (Immunoradiometric Assay)法で測定し、別に測定しておいた赤血球数で除して赤血球1個当たりの量として求めた。

2) 等電点電気泳動法(IEF)：1)で得られた赤血球溶血液を70℃、15分加熱、遠心したのち上清を透析し、pH3.5-10、pH4-6のampholineを1:4に混合した密度勾配等電点分離法で行ない、定電圧800Vで4℃にて15時間泳動した。

結 果

1) 赤血球フェリチン量：健常成人男子の値は $14.3 \pm 10.3 \text{ ag/cell}$  ( $MV \pm SD$ ;  $\text{ag} = 10^{-18} \text{ g}$ )、健常成人女子の値は $7.5 \pm 3.6 \text{ ag/cell}$ であり、Student's t-testにて両者間に有意差を認めた( $p < 0.01$ )。各疾患の平均値は鉄欠乏性貧血症例： $1.9 \text{ ag/cell}$  ( $0.4-3.9 \text{ ag/cell}$ , 最小値-最大値)、遺伝性球状赤血球症： $115.5 \text{ ag/cell}$  ( $11.7-204.1 \text{ ag/cell}$ )、巨赤芽球性貧血： $198.3 \text{ ag/}$

cell(3.9-842.3ag/cell)、真性赤血球増加症：3.3ag/cell(0.8-9.7ag/cell)をそれぞれ示した。健常成人との間に鉄欠乏性貧血と真性赤血球増加症は有意な低下( $p<0.0001$ ,  $p<0.02$ )を、遺伝性球状赤血球症と巨赤芽球性貧血では有意な増加(両者とも  $p<0.01$ )を認めた。

2) 赤血球フェリチンのIEF：健常成人5例(男3例、女2例)では、いずれもほぼpI 5.1-5.7にフェリチンが認められた。非白血病性造血疾患39例のうちIEFを施行し得たのは13例であった。鉄欠乏性貧血(3例)の治療前のpI(等電点)値は、5.6-6.3と健常成人の値に比較して塩基性に偏位してフェリチンが認められ、治療後は、経口的鉄剤投与では酸性側に、経静脈的鉄剤投与では酸性、塩基性、両方のフェリチンが増加した。遺伝性球状赤血球症(4例)ではpI4.9-6.7の広い範囲にフェリチンが分布し、IEF上、疾患との間に一定の傾向は認められなかった。巨赤芽球性貧血(4例)ではpI4.9-6.0と、健常成人に比較してやや広い範囲にフェリチンが認められたが、各症例間でpI値に大きな差は認めなかった。ビタミンB<sub>12</sub>治療後には、フェリチン量は著明に低下したが、フェリチンのpI値は治療前後でほとんど変化しなかった。真性赤血球増加症(2例)ではpI5.2-6.2と軽度塩基性側に偏位した位置にフェリチンが認められ、フェリチン量の低下を考え合わせると鉄欠乏性貧血に類似した結果であった。

### 考 案

健常成人の赤血球フェリチン値は、男女で有意な性差を認めた。これは女性で月経、妊娠など鉄の吸収と排泄のバランスが負に傾きやすいことを反映する結果と考えられた。赤血球フェリチンのIEFの結果では、健常成人では男女ともpI5.1-5.7にフェリチンが認められ、IEFよりみたフェリチン蛋白の泳動性に性差は認められないと考えられた。

鉄欠乏性貧血と真性赤血球増加症では、赤血球フェリチン量が健常成人に比較して有意に低値を示し、IEFの結果では健常成人の値よりもやや塩基性に偏位するという類似性が認められた。これは前者では体内鉄量の絶対的減少、後者では造赤血球能の亢進に伴う鉄の相対的減少を反映した結果と考えられ、塩基性への偏位は酸性フェリチンが赤血球新製に使われて消費された結果と考えられた。鉄欠乏性貧血の鉄剤治療前後のIEFの結果より、経口的治療では酸性側のみに、経静脈的治療では酸性、塩基性の両方にフェリチンが認められた。これは貧血回復時点で、経口的治療では貯蔵鉄分の鉄がまだ投与されておらず、したがって造血に密接に関与すると考えられている酸性フェリチンのみが増加し、経静脈的治療では、貧血回復時点で既に貯蔵鉄も含めた鉄の投与が完了しているため赤血球造血を反映する酸性フェリチンと、貯蔵鉄量を反映する塩基性フェリチンとの両方が増加したものと考えられた。

遺伝性球状赤血球症では、赤血球フェリチン値は健常成人に比較して有意に高値を示したものの症例間で一定の傾向を認めず、IEFによるpI rangeの結果も症例間で関連性は認められなかった。この結果より、本疾患では病態により種々の変化を示すものと推察された。

巨赤芽球性貧血では、赤血球フェリチン値が高値を示すものと低値を示すものとが認められた。低値を示すものは4例中3例が胃全摘手術を受けた症例であり、このため鉄の吸収低下が合併した結果、赤血球フェリチン値の増加がみられなかったものと考えられ

た。IEFの結果では、健常成人のpI rangeに比較してやや広い範囲に拡大してフェリチンが認められたが大きな差はなく、悪性貧血症例と胃全摘後の巨赤芽球性貧血症例との間においても明らかなpI値の差は認められなかった。

#### 結 語

非白血病性造血疾患における赤血球フェリチン量の測定ならびにIEFによるpI値の検討は、それぞれの疾患における病態の把握、さらには予後判定、治療効果等を知るうえに有用な示唆を与えるものと考えられた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 崎 保

副 査 教 授 西 信 三

副 査 教 授 小 林 邦 彦

## 学 位 論 文 題 名

### 非白血病性造血器疾患における赤血球フェリチンの検討

#### 目 的

赤血球フェリチンは炎症、感染症、肝障害などに影響されることが少なく、より正確に体内の鉄代謝状態を反映する指標として注目されてきている。そこで、種々の非白血病性造血器疾患について赤血球フェリチン量を測定し、さらにIEFにて解析してこれらの疾患における病態との関連性を検討することにより、赤血球フェリチン検索の有用性を検討した。

#### 材料および方法

1) 赤血球溶血液：鉄欠乏性貧血18例、遺伝性球状赤血球症7例、巨赤芽球性貧血8例、真性赤血球増加症6例、健常成人53例（男24例、女29例）、合計92例よりヘパリン採血20mlを得、microcrystalline celluloseと $\alpha$ -celluloseを1:1に混合したカラムにて白血球および血小板を除去して溶血液を作製した。フェリチンは抗ヒト肝フェリチンポリクローナル抗体を用いたIRMA (Immunoradiometric Assay)法で測定した。

2) 等電点電気泳動法(IEF)：1)で得られた赤血球溶血液を加熱、遠心した後、透析し、pH3.5-10、pH4-6のampholineを1:4に混合した密度勾配等電点分離法を用いて検索した。

#### 結 果

1) 赤血球フェリチン量：健常成人男子の値は $14.3 \pm 10.3 \text{ ag/cell}$  ( $\text{MV} \pm \text{SD}$ ;  $\text{ag} = 10^{-18} \text{ g}$ )、健常成人女子の値は $7.5 \pm 3.6 \text{ ag/cell}$ であり、Student's t-testにて有意差を認めた( $p < 0.01$ )。各疾患の平均値は鉄欠乏性貧血 $1.9 \text{ ag/cell}$ 、遺伝性球状赤血球症 $115.5 \text{ ag/cell}$ 、巨赤芽球性貧血 $198.3 \text{ ag/cell}$ 、真性赤血球増加症 $3.3 \text{ ag/cell}$ をそれぞれ示し、健常成人との間に鉄欠乏性貧血と真性赤血球増加症とは有意な低下を、遺伝性球状赤血球症と巨赤芽球性貧血では有意な増加を認めた。

2) 赤血球フェリチンのIEF：健常成人5例（男3例、女2例）では、ほぼpI 5.1-5.7にフェリチンが認められた。鉄欠乏性貧血(3例)の治療前のpI(等電点)値は、5.6-6.3と健常成人の値に比較して塩基性に偏位して認められ、治療後は経口的鉄剤投与症例では酸性側に、経静脈的鉄剤投与症例では酸性、塩基性、両方のフェリチンが増加した。遺伝性球状赤血球症(4例)ではpI 4.9-6.7の広い範囲にフェリチンが分布し、IEF上、疾患との間に

一定の傾向は認められなかった。巨赤芽球性貧血(4例)ではpI4.9-6.0にフェリチンが認められ、症例間でpI値に大きな差を認めなかった。ビタミンB<sub>12</sub>治療後には、フェリチン量は著明に低下したが、フェリチンのpI値はほとんど変化しなかった。真性赤血球増加症(2例)ではpI5.2-6.2と軽度に塩基性側に偏位してフェリチンが認められ、鉄欠乏性貧血に類似した結果であった。

#### 考案および結語

鉄欠乏性貧血と真性赤血球増加症では、赤血球フェリチン量が健常成人に比較して有意に低値を示し、IEFでは健常成人よりもやや塩基性に偏位するという類似性が認められた。これは前者では体内鉄量の絶対的減少、後者では造赤血球能の亢進に伴う鉄の相対的減少を反映した結果と考えられた。鉄欠乏性貧血の鉄剤治療前後のIEFの結果、経口的治療では貧血回復時点で貯蔵鉄分の鉄がまだ投与されておらず、したがって造血に密接に関与すると考えられる酸性フェリチンのみが増加し、経静脈的治療では、貧血回復時点で既に貯蔵鉄を含めた鉄の投与が完了しているため赤血球造血を反映する酸性フェリチンと、貯蔵鉄量を反映する塩基性フェリチンの両方が増加したと考えられた。

遺伝性球状赤血球症では、赤血球フェリチン値は健常成人に比較して有意に高値を示したものの症例間で一定の傾向を認めず、IEFによるpI rangeの結果も症例間でその関連性は認められなかった。この結果、本疾患では病期、病態により種々の変化を示すものと推察された。

巨赤芽球性貧血では、赤血球フェリチン値が高値を示すものと低値を示すものとが認められた。低値を示すものの4例中3例は胃全摘手術を受けた症例であり、鉄の吸収低下が合併していた結果、赤血球フェリチン値の増加がみられなかったものと考えられた。IEFの結果では、健常成人のpI rangeに比較してやや広い範囲に拡大してフェリチンが認められたが大きな差はなく、悪性貧血症例と胃全摘後の巨赤芽球性貧血症例との間においても明らかなpI値の差は認められなかった。

#### 結 語

非白血病性造血疾患における赤血球フェリチン量の測定ならびにIEFによるpI値の検討は、それぞれの疾患における病態の把握、理解のみならず、治療に対する反応性を判断する上で有用な示唆を与えるものと考えられた。

以上より、本研究は博士〔医学〕の学位論文として妥当なものと判断される。