

## 血清トランスフェリン濃度測定 of 鉄栄養評価への応用

萩森玲子, 佐藤正子\*, 五十嵐香織, 趙性妍, 吉野芳夫

### Application of serum transferrin measurement to evaluation of iron status

Reiko Hagimori, Masako Satoh, Kaori Igarashi, Chou Seiken, Yoshio Yoshino

Serum transferrin measurement was performed by radial immunodiffusion for 274 female students in the department of food science in this university after getting the approval of the ethical committee and also the consent of the students. Serum transferrin concentration was measurable in  $0.04 \mu\text{l}$  of serum and the average value in the students was  $321.6 \pm 76.7 \text{mg/dl}$ . Transferrin concentration had statistically negative correlation ( $p < 0.01$ ) for MCV (mean corpuscular volume of erythrocytes), transferrin saturation or serum ferritin concentration within the subjects. The 10~90 percentile range within 256 students, who were in normal Hb value, was 240~386 mg/dl. The estimated percentage, who suffered from iron deficiency in the subjects, was 10.2% in MCV, 19.3% in transferrin saturation and 11.0% in serum ferritin concentration. Provided that 386mg/dl of transferrin concentration was cut-off value of iron nutrition, the percentage beyond that value was 12.8%. Serum transferrin measurement seemed to be a reliable method for evaluating iron status, which can be practiced by less than  $10 \mu\text{l}$  of sera.

トランスフェリンはグロブリン分画に属する分子量79,570Daの糖タンパク質であり、肝臓で合成され、血清に出現する。トランスフェリンの代謝上の特徴は分子内に2個の鉄結合基を持ち、血清の鉄輸送タンパク質として、鉄を要求する組織細胞に向かって、その細胞の表面にあるトランスフェリン受容体を介して、鉄を供給するところにある(1)。生体が鉄欠乏状態になると、血清鉄濃度の低下に伴うフィードバック現象と理解されるトランスフェリン濃度の増加が起こり、また低タンパク質栄養障害、慢性感染症、悪性腫瘍、肝硬変症などにおいては血清トランスフェリン濃度の顕著な低下を来すと言う血清アルブミンの動向と類似した動態を示している(2, 3)。従って血清トランスフェ

リン測定によって、鉄栄養状態のみならずタンパク質代謝、生体機能の変調について貴重な情報を得られるので、栄養生理学的に注目される血清タンパク質の1種である。我々は本学生活科学科学生の3年次末に施行される健康調査にあたり、本学倫理委員会の承認および被験者となる学生の同意を得て、1994年~1996年度において、貧血検査のために採取された血清の一部を使い、鉄栄養状態調査のために、二次免疫拡散法によってトランスフェリン濃度測定さらに酵素標識免疫定量法によって血清フェリチン濃度測定を実施した。その結果、若い女性の鉄栄養評価において、トランスフェリン濃度測定の有用性を認めたので報告する。

\* 国立大蔵病院

## 方 法

調査対象：本学生活科学科学生94, 95および96年度3年次学生総計274名である。健康調査にあたり、調査を委託された東京都予防医学協会が採血した血清試料によって、我々は血清トランスフェリン測定 (TF値) (4, 5) および血清フェリチン測定 (SF値) をキットを使って、免疫定量し、さらにヘモグロビン値 (Hb値)、平均赤血球容積 (MCV) およびトランスフェリン飽和率 (TS%) については東京都予防医学協会の測定値を参照した。

MBLプレート (株医学生物学研究所製品) を使った免疫拡散法の1例をPhoto. 1に示した。同一試料を2回ずつ測定している。MBLプレートとは蓋付きプラスチック容器にトランスフェリン抗体を溶存させた寒天ゲルを流し込んで薄層の固層を作り、それに2列12個の小孔を穿

ったものである。各の小孔に試料をマイクロシリンジ (Drummond pipette (4)) によって $4\mu\text{l}$ 注入し、蓋をほどこし、湿潤箱に48時間静置した。トランスフェリンの存在は抗原が拡散してできる抗原抗体反応によって、小孔の周囲に作る沈降輪で認められるが、トランスフェリン濃度は沈降輪の直径の対数と直線相関するため、片対数表で作った計算図表を利用して、濃度未知の検体の沈降輪の直径から検体濃度を測定できる。2回測定の平均値によって検体のトランスフェリン濃度を判定した。この試験法はきわめて少量の血清によって、血清トランスフェリン濃度の測定が可能である。

## 結 果

Hb値、MCV、TS%、SF値およびTF値について、それぞれ274名の平均値、標準偏差、最小値、最大値、さらに限界値を逸脱する頻度を

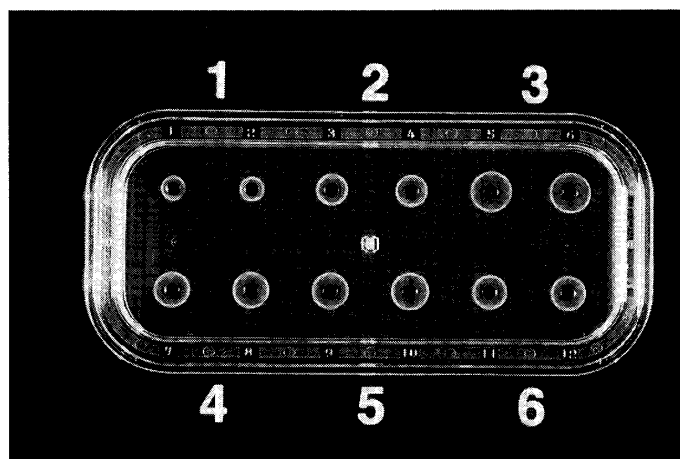


Photo. 1 Radial immunodiffusion of transferrin against transferrin antiserum dissolved in agar gel, the precipitation rings were formed after 48 hours incubation in wet chamber

- 1 : transferrin standard 95mg/dl
- 2 : transferrin standard 254mg/dl
- 3 : transferrin standard 510mg/dl
- 4~6 : sera to be measured

Table 1 に示した。Hb 値の平均値および標準偏差は  $13.1 \pm 0.9 \text{ g/dl}$  であって、貧血限界値  $12 \text{ g/dl}$  未満 (6) の頻度は 6.6% ある。MCV の平均値および標準偏差は  $90.3 \pm 5.0 \text{ fl}$  であって、小球性貧血の限界値  $85 \text{ fl}$  未満 (7) の頻度は 10.2% である。TS% の平均値および標準偏差は  $28.0 \pm 13.4\%$  であって、鉄欠乏の限界値 16% 未満 (3) の頻度は 19.3% である。SF 値の平均値および標準偏差は  $55.6 \pm 49.8 \mu \text{ g/l}$  であって鉄欠乏の限界値  $12 \mu \text{ g/l}$  未満の頻度 (7) は 11.0% である。TF 値では  $325.6 \pm 76.7 \text{ mg/dl}$  となった。

TF と鉄栄養を評価する因子である Hb, MCV, TS%, SF との間で 274 例の対応する症例間で回帰分析をおこなったところ、TF 値は鉄欠乏の進行に伴って増加するため、Hb 値, MCV, TS% または SF 値との間に何れも負の方向係数を示す相関性を得た。有意水準を検定したところ、TF 対 Hb 間では  $p > 0.05$  であるため、分散分析値に有意性を認めないが、TF は MCV, TS% または SF との間に  $p < 0.01$  以下で有意な負の回帰直線を描いた (Table 2)。これは TF 濃度が貯蔵鉄の代表的パラメーターである MCV 値, TS% および SF 値との間に顕著で、しかも矛盾の無い負の相関性を示すことを明示するものである。Hb 値が正常範囲にある学生たちを同年代女性の健康人と見なし、TF 値の正常範囲を調査した。すなわち Hb 値  $12 \text{ g/dl}$  未満の症例 18 名を削除した 256 例について TF 値のヒストグラムを Fig. 1, さらに累積度数分布表を Table 3 に示した。TF 値のヒストグラムは正規分布を示し、平均値  $322 \text{ mg/dl}$ , 標準偏差  $72 \text{ mg/dl}$ , 最小値  $72 \text{ mg/dl}$ , 最大値  $600 \text{ mg/dl}$  となった。上位および下位の各 10% すなわち 26 名ずつには異常値が含まれる可能性を考慮して削除し、10~90 パーセントイル値の間を正常範囲と仮定すると、TF 値の正常範囲は  $240 \sim 386 \text{ mg/dl}$  と認められた。

## 考 察

血清鉄 (Serum Iron, SI) および総鉄結合能 (Total Iron Binding Capacity, TIBC) を鉄定量法によって測定し、SI を TIBC で除してトランスフェリン飽和率 (Transferrin Saturation, TS%) を算出し、TS%, 16% 以下を輸送鉄の欠乏症と判定する検査法が従来おこなわれたが (3), 血清鉄測定法には多くの困難を伴った (2, 4)。例示すると、まず血清使用量が過大であることで、1 回の測定に少なくとも  $500 \mu \text{ l}$  の血清を必要とし、TS% を算出するためには血清鉄測定を 2 回するために多量の血清を必要とし、それに加えて、血清への鉄汚染防止に細心の注意を払わねばならない。また血清鉄濃度にはホルモン影響下の日内変動へ配慮しなくてはならない。具体的には午前が高く、午後低下するため、採血時間に慎重な考慮を必要とした。他方、トランスフェリンを免疫定量法する場合には抗原性を根拠とするため、鉄汚染防止への配慮は軽減され、しかも血清の使用量を約 1/100 量以下に

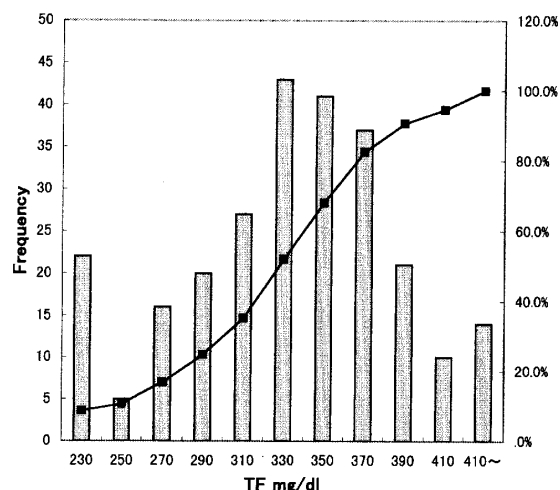


Fig. 1 Histogram of transferrin concentration in sera of 256 subjects with normal Hb value

TF: transferrin

Table 1 Average value of hematological findings in 274 female students during '94 ~ '96

	Hb g/dl	MCV fl	TS %	SF $\mu$ g/l	TF mg/dl
Average	13.1	90.3	28	55.6	325.6
SD	0.9	5	13.4	49.8	76.7
Min	8.2	63	2.4	1	62
Max	15.2	100	74.1	424.5	600
Cut-off value	12>	85>	16>	12>	$\geq$ 386*
% out of cut-off value	6.6%	10.2%	19.3%	11.0%	12.8%

Abbreviation Hb: hemoglobin MCV: mean corpuscular volume  
 TS: transferrin saturation SF: serum ferritin  
 TF: transferrin  
 SD: standard deviation

\* denotes the upper limit of 10 percentile value in 256 subjects with normal Hb concentration

Table 2 Regression analysis in pairs of TF and other hematological findings

Pairing	Level of Significance
Hb vs.TF	p>0.05 not significant
MCV vs.TF	p<0.005 significant
TS % vs.TF	p<0.01 significant
SF vs.TF	p<0.005 significant

Number of subjects: 274 female students

Table 3 Frequency of TF concentration in 256 subjects with normal Hb values

TF mg/d	Frequency	Cumul. %
230	22	8.6%
250	5	10.5%
270	16	16.8%
290	20	24.6%
310	27	35.2%
330	43	52.0%
350	41	68.0%
370	37	82.4%
390	21	90.6%
410	10	94.5%
410~	14	100.0%
Sum	256	

Average  $\pm$  SD: 322  $\pm$  72mg/dl

Min:72mg/dl, Max:600mg/dl

Range of 10~90 percentile:240~386mg/dl

減少させることができる。またトランスフェリン自体には日内変動が無いため採決時間への配慮を必要としないなどの利点がある。

現在、貯蔵鉄または輸送鉄の欠乏症すなわち潜在性鉄欠乏症の検出法、また鉄欠乏性貧血診断の手段として(7)、SF, MCV, TS%, 赤血球遊離ポルフィリン濃度、または血清トランスフェリン受容体濃度の定量(8)に関心が集まり、トランスフェリン免疫定量を採用する機会はやや低下傾向にある。この傾向はTS定量の結果がTS%の診断価値と生理学的機構に類似点があり、またTS%測定が臨床検査室における自動分析機による日常の検査項目に組み込まれ、十分量の血清を供給されて流れ作業によって実施されているためと想像される。しかしTFの免疫定量には、理論的にTS%を超える利点があるので、再評価される必要があると思われる。

なお、TF濃度386mg/dl異常を鉄欠乏症の指標とすると、今回の調査対象全員274名の内、鉄欠乏症と疑われるヒトの頻度は35名12.8%となった。文献上血清トランスフェリン濃度の正常値は187~312mg/dl、正常人の平均値は313mg/dl、また鉄欠乏性貧血患者ではトランスフェリン濃度は310~510mg/dlの間にあると記載されている(4)。我々の測定値ではHb値12g/dl以上の健康人256名でTF値と標準偏差は322±72mg/dl、10~90パーセントイルの範囲は240~386mg/dlとなった。我々の調査対象は平均年齢21歳の若い女性であるのに対して、文献値における正常値は42名の栄養状態良好な健康人に由来すると記載されるのみである。性別年齢別は不詳であるが、TF値は我々の数値とほぼ一致すると思われた。

## 文 献

- (1) G. de Jong, J. P. van Dijk, H. G. van Eijk: The biology of transferrin *Clinica Chimica Acta*, 1990; 190: 1-46
- (2) E. H. Morgan: Transferrin, *Biochemistry, Physiology and Clinical Significance. Molec. Aspects Med.* 1981;4:1-123.
- (3) T. H. Bothwell, R. W. Charlton, J. Cook, C. A. Finch: *Iron Metabolism in Man.* Blackwell Scientific Publications, 1979. London.
- (4) S. H. Tsung, W. A. Rosenthal, K. A. Milewski: Immunological measurement of transferrin compared with chemical measurement of total iron-binding capacity. *Clin. Chem.* 1975; 21/8, 1963-1066.
- (5) M. El Guindi, B. S. Skikne, A. M. Covell, J. D. Cook: An immunoassay for human transferrin. *J. Clin. Nutr.* 1988; 47:37-41.
- (6) 河合 忠: 正常値と異常値の間. 中外医学社 p.86, 1995, 東京.
- (7) P. R. Dallman, A. C. Looker, C. L. Johnson, M. Carrol: Influence of age on laboratory criteria for the diagnosis of iron deficiency anaemia and iron deficiency in infants and children. In "Iron Nutrition in Health and Disease" ed. by L. Hallberg, Nils-Georg Asp, p.65~74, 1996, John Libbery, London.
- (8) M. T. Carriagg, B. S. Skikne, B. Finley, B. Culter, J. D. Cook: Serum transferrin receptor for the detection of iron deficiency in pregnancy. 1991; 54: 1077-81.