

軟結合性鉄コロイドによる網内系機能に関する研究

第 1 編

各種鉄化合物のコロイド化学的研究

—— 特に新しく作成したグリチルリチン鉄コロイドについて ——

岡山大学医学部第一外科教室 (指導: 田中早苗教授)

藤 井 宏

〔昭和 41 年 11 月 9 日受稿〕

目 次

第 1 章 緒 言	
第 2 章 実験方法	
第 1 節 実験材料の作成ならびに調整	
1) グリチルリチン鉄コロイド 2) ATP鉄コロイド 3) グロンサン鉄コロイド 4) 血清鉄コロイド 5) コンドロイチン硫酸鉄コロイド 6) フェジン 7) フェロバルト 8) グルフェリコン 9) ブドー糖鉄	
第 2 節 実験方法	
1. 各種鉄化合物の pH 変動による Fe^{3+} 遊離能の測定	
2. 諸 pH 域におけるグリチルリチン鉄コロイド溶液の作成 (コロイド安定 pH 域)	
3. 各種濃度のグリチルリチン鉄コロイド溶液の作成 (鉄抱合能)	
4. 鉄コロイド溶液の電子顕微鏡観察用試料の作成	
5. 鉄コロイドの粒子径測定	
第 3 章 実験成績	
第 1 節 各種鉄化合物の Fe^{3+} 遊離能	
第 2 節 pH の変化によるグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状	
第 3 節 抱合濃度の変化によるグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状	
第 4 節 各種鉄コロイドの電顕像	
第 5 節 pH の変化とグリチルリチン鉄コロイドの電顕像	
第 6 節 グリチルリチン鉄コロイドの粒度分布	
第 4 章 総括ならびに考按	
第 5 章 結 論	

第 1 章 緒 言

網内系は生体防禦反応の中核をなす一つの系統であり, Aschoff¹⁾, Landau および Mc Nee²⁾, 清野³⁾らによつて体系づけられたが, これは全身に散在する細網細胞と内被細胞から構成せられた間葉系の細胞系統で, 共通して貪食の能力を有することを特徴としている。

網内系の本態ならびに帰属分類に関しては学者¹⁾²⁾³⁾⁴⁾により種々の議論がおこなわれており, 病理学的研究についてはわが国においてとくに目覚しいものがあるが³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾, その機能検査法に関して

はいまだ満足すべきものはほとんどない³⁹⁾。

生体の防禦反応を司る網内系の機能には, 1) 貪食による異物摂取 2) 免疫体産生 3) 新陳代謝調節 4) 解毒 5) 造血 6) ホルモン分泌などがあり, あるいはそれらと特に関係することが報告されているが⁴⁰⁾, これらの諸機能の具体的調整についてはいまだ不明で, それら機能も必ずしも並行して亢進または減退するものではなく, ことに異物摂取能はその細胞の種類によつて元来著しく異なるもので網内系の機能は極めて複雑なものである。

従来の網内系機能検査法は網内系に共通した異物摂取能を主体にしたもので, それは大体次の 4 つに

大別される。

1. 注入異物の貪食状態を組織学的に観察する方法⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾。

2) 血流中異物の消失時間測定による間接的網内系機能検査法⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。

3. 皮下結合織内組織球の機能状態を生体染色の手法で観察して網内系の機能状態を判断する方法¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾。

4. 放射性アイソトープコロイドを用いる方法²⁴⁾²⁵⁾。

上述の検査法にはコンゴ赤や生染色素を始めとする各種の異物色素粒子¹³⁾や金²⁴⁾、銀²⁶⁾、墨汁¹⁷⁾、トトロラスト、その他細菌⁶⁰⁾、芽胞¹⁸⁾の類など生体にとって異物¹⁵⁾になるいろいろの微粒子が材料として使用されてきたが、近年に至り含糖酸化鉄コロイドや水酸化鉄コロイドなどの硬結合性鉄コロイドも開発利用されるに至っている¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。これらの材料は所詮異物であり、細胞内に摂取後生体に有利に代謝されてゆく場合は少なく、個体にとっていずれ劣らず毒性負荷、もしくは永久抑留という不利な状態を招くことで、臨床上の使用にもきびしい制限が付きまとい、網内系の貪食という一断面の機能をみるにとどまり、網内系の機能の本質であると考えられる蛋白質代謝の核心²⁶⁾にふれうる方法はほとんど見当たっていない。妹尾²⁷⁾は血清と FeCl_3 から軟結合性の鉄コロイドを作製し、小林²⁸⁾²⁹⁾、栗井³⁰⁾らはその血清鉄コロイドを使用すると、網内系細胞にとり入れられて直ちに Ferritin に合成されることを明らかにして、軟結合性鉄コロイドが速代謝性であるという利点を有すれば、網内系機能検査として極めて有利であることを指摘している。しかしこの血清鉄コロイドも患者に使用する場合、鉄の蛋白結合体であることが滅菌操作や感染もしくはアレルギー反応上の諸問題で臨床使用上に難点があり普及をみなかつた。そこでわたくしはこの問題を解決し臨床的にも使用できる軟結合性鉄コロイドをつくることを目標にして種々の物質に Fe を結合せしめて軟結合性のコロイドを作る企てを行なつた。しかもその出来上つた作品は、(1) 異物蛋白源とならず、(2) 滅菌操作も容易にでき、(3) 簡単に作製され再現性よく、(4) ラジオアイソトープの添加も可能で、(5) その上できる文コロイド粒子の大きさを揃え保存上安定で、(6) 貪食されたコロイドは副作用や抑留現象なく、(7) 軟結合性で生体の代謝により速く有効に代謝されてゆく、という条件を満足せしめるようなも

のであることを条件とした。このような経緯からグリチルリチン鉄コロイドが作成されたが、本編においては主としてその理化学的性状について述べる。

第2章 実験方法

第1節 実験材料の作成ならびに調整

実験に使用する器具はクロム硫酸浸漬後濃塩酸で脱鉄処理をおこない、そのあとイオン交換樹脂処理による脱イオン水でよく洗滌したものをを用い、薬剤はすべて特級品を使用して鉄の混入を極力防止した。

実験には次の9種の鉄化合物を使用した。

1) グリチルリチン鉄コロイド (GIC)

グリチルリチン (ミノファーゲン製薬製のグリチロン注1号) 100mg (5ml) に FeCl_3 溶液 (Fe^{+++} 1mg/ml, 塩酸々性) の 1ml をグリチルリチン液をよく攪拌しながら徐々に滴下し、その後 3% Na_2CO_3 溶液を同様徐々に攪拌滴下して加え充分混和して最終 pH を 7.3 に至らしめる。このようにしてできた溶液に 5% ブドウ糖液を追加して全量を 10ml とすれば、製品グリチルリチン鉄コロイドは Fe^{+++} 10mg %, グリチルリチン 1000mg % となる。グリチルリチン鉄コロイドの滅菌操作はその加熱でグリチルリチン鉄コロイドが沈澱ゲルに変化することがあるため次のような処理をおこなう。すなわち使用器具はすべてクロム硫酸処理後充分水洗し、120°C 1時間乾熱滅菌した。 FeCl_3 溶液 (Fe^{+++} 1mg/ml, 塩酸々性, pH 1.0) は濾過後、滅菌アンプルに封入する。3% Na_2CO_3 溶液も濾過後、滅菌アンプルに封入する。これらアンプルは封入後流通蒸気滅菌法で 100°C, 40分滅菌した。滅菌ずみのグリチロン注1号液、 FeCl_3 溶液、3% Na_2CO_3 溶液、5% ブドウ糖液、蒸溜水等の各々のアンプルは 75% アルコール溶液中に保存しておく。さてグリチルリチン鉄コロイドの作製に当っては滅菌室を使用し、120°C, 30分、1.4気圧で蒸気滅菌をした消毒シートを広げ、手術に準じて消毒着衣を装用し、滅菌ゴム手袋を着用して操作する。

このグリチルリチン鉄コロイドは滅菌アンプルに封入して、念のため 65°C, 3回、低温間歇滅菌を併用した。次いでブイオン寒天培地で 37°C, 24時間培養し、細菌の発育のみられないことを確認しておく。グリチルリチン鉄コロイドは以上の操作により全く無菌的に作製することができる。

2) ATP 鉄コロイド

武田薬品工業株式会社発売の注射用アデノリン (ATP 10mg) を生理食塩水 5ml に溶解し, FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 1mg/ml) 1ml を攪拌しながら加え, ついで 3% Na_2CO_3 溶液で pH を 7.3 になるように調整し, 5%ブドウ糖液を加えて全量 10ml とする。

3) グロンサン鉄コロイド

中外製薬株式会社発売の注射用グロンサン (α -グルクロノラクトン 100mg) 2ml に FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 1mg/ml) 1ml を充分攪拌しながら加え, 3% Na_2CO_3 溶液で pH を 7.3 に調整し, 5%ブドウ糖液を加えて全量 10ml とする。

4) 血清鉄コロイド (SIC)

妹尾の方法に準拠する²⁷⁾。すなわち健康家兎血清 8ml に FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 1mg/ml, 塩酸々性) の 1ml を, 血清を攪拌しながら徐々に加えて充分混和してできた溶液に 3% Na_2CO_3 を加えて pH を 7.3 に調整し, 血清を追加して全量を 10ml とすれば, 製品グリチルリチン鉄コロイドは Fe^{3+} 10mg% となる。

5) コンドロイチン硫酸鉄コロイド (CSIC)

栗井の方法による²⁷⁾。すなわち科研薬化株式会社発売のコンドロロン注入液 (1%コンドロイチン硫酸ナトリウム液) 8ml に FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 1mg/ml, 塩酸々性) の 1ml をコンドロイチン液をよく攪拌しながら徐々に加えて充分混和して最終 pH を 7.3 に至らしめる。このようにしてできた溶液にコンドロイチン液を加えて全量を 10ml とすれば製品コンドロイチン硫酸鉄コロイドは Fe^{3+} 10mg% となる (現在市販のものは使用しない)。

6) フェジン (含糖酸化鉄)

市販 (吉富製薬株式会社発売) の含糖酸化鉄液 (Fe^{3+} 2.0mg/ml) を 5%ブドウ糖液で希釈して Fe^{3+} 10mg% とする。

7) フェロパルト (デキストラン鉄コロイド)

英国ベンジャール社製のデキストラン鉄コロイド (Fe^{3+} 100mg/2ml) を 5%ブドウ糖液で希釈して Fe^{3+} 10mg% になるように調整した。

8) グルフェリコン (グルコン酸第 2 鉄塩)

塩野義製薬発売の静注用鉄剤 (グルコン酸第 2 鉄 10.0g, 重曹 2.4g, 蒸留水 500ml, Fe^{3+} 約 2g)³¹⁾ で, 5%ブドウ糖液で Fe^{3+} 10mg% になるように希釈する。

9) ブドウ糖鉄 (グルコース鉄)

5%ブドウ糖液 5ml に FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 1mg/ml)

1ml を攪拌しながら加え, つぎに 3% Na_2CO_3 溶液で pH を 7.3 になるように調整し, 5%ブドウ糖液を加えて全量を 10ml とする。

第 2 節 実験方法

1. 各種鉄化合物の pH 変動による Fe^{3+} 遊離能の測定

実験に使用した 9 種類の鉄化合物の各鉄液を 2ml 宛 9 本の試験管にとり (Fe^{3+} 濃度は共通), これに醋酸ソーダ・塩酸混合液 (pH 5.6) を 7ml 宛加えた。その時の pH を HITACHI-HORIBA 製 pH メーターで測定して pH が 5.6 になっているのを調整確認した後, 4%黄血塩 1ml をそれぞれに加えてベルリン青鉄反応を観察した。同様に 9 種の鉄溶液各 2ml に pH 4.5, 2.0 の醋酸ソーダ・塩酸混合液 7ml と 4%黄血塩 1ml を加えた試験管群を用意し, いずれも反応直後, および 24 時間後の鉄遊離状況をその着色反応から観察した。

2. 諸 pH 域におけるグリチルリチン鉄コロイド溶液の作成 (コロイド安定 pH 域)

グリチルリチン鉄コロイドが pH の変化によつてこうむるコロイド化学的变化を観察するため各 pH 域のグリチルリチン鉄コロイドを作成した。

10本の試験管に各々前記グリチルリチン (グリチルリチン 20mg/ml) 5ml を注入し FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 1mg/ml, 塩酸々性) を極めて徐々に 1ml 滴下して充分攪拌混和したのち, 10%塩酸, または 3% Na_2CO_3 溶液を適量加え, 更に 5%ブドウ糖液を加えて全量を 8ml とし, pH を 2 より 11 迄 10 段階に調整した。他に pH 5.1 より pH 6.0 の間と, pH 8.1 より pH 9.0 の間にそれぞれ 10 本づつ試験管を用意して細分し, 10%塩酸または 3% Na_2CO_3 溶液で pH を 5.0 より 0.1 づつ上げて pH 6.0 迄 10 段階, 同様に pH 8.0 より 0.1 づつ上げて pH 9.0 迄 10 段階に調整した。

3. 各種濃度のグリチルリチン鉄コロイド溶液の作成 (鉄抱合能)

グリチルリチン鉄コロイドの Fe^{3+} の濃度によるコロイド化学的性状を観察する目的で, グリチルリチンの一定量に Fe^{3+} の各濃度のものを結合せしめた。すなわち 20 本の試験管の各々に前記グリチルリチン (グリチルリチン 20mg/ml) を 5ml 宛加え, 更に FeCl_3 溶液 (Fe^{3+} 10mg/ml) を 0.1ml より 2.0ml 迄 0.1ml 増しに加えた。3% Na_2CO_3 溶液を徐々に加えて pH はすべて 7.3 とし, 5%ブドウ糖を加えて全量を 10ml とした。

4. 鉄コロイド溶液の電子顕微鏡観察用試料の作成

前記9種の一定 Fe 濃度の鉄化合物溶液を試料とし、蒸留水で100倍に希釈した、11°C~15°Cの再蒸留水の上に広げたホルムバルの支持膜を150シートメッシュですくい上げ、乾燥後カーボン補強を行ない、白金耳またはスプレーで試料をホルムバル膜上に載せて乾燥後検鏡撮影した³²⁾。

5. 粒子径測定

Power, Kakascik の測定法にしたがい、500~1000個の粒子について写真印画上で粒子径を測定した³³⁾。

第3章 実験成績

第1節 各種鉄化合物の Fe⁺⁺⁺ 遊離能

第1表および写真1に示すように pH 5.6 ではフェジン、フェロバルトは反応直後は勿論、反応24時

間後もなおベルリン青の鉄反応は陰性で、Fe⁺⁺⁺ の遊離は認められない。pH 4.5 になつても反応直後フェロバルトには鉄反応は現われないが、フェジンは軽度の Fe⁺⁺⁺ 遊離を呈す。pH 4.5 で反応24時間後はじめてフェジン・フェロバルトに軽度の鉄反応を認めた。グルコース鉄およびグルフェリコンは pH 5.6 で反応直後すでに軽度の鉄反応を呈し、pH 4.5 では反応直後より中等度の鉄反応がみられた。グリチルリチン鉄コロイド、グロンサン鉄コロイド、ATP鉄コロイド、コンドロイチン硫酸鉄コロイドおよび血清鉄コロイドはいずれも pH 5.6 で反応直後軽度ないし中等度の鉄反応がみられ、pH 4.5 で反応24時間後にはすべて強度の鉄反応をみとめた。

(附記) 大日本製薬製造によるコンドロイチン硫酸鉄コロイド液の Fe⁺⁺⁺ 遊離試験は実験室作成によるものと比し Fe⁺⁺⁺ 反応は弱い。

第1表 各種鉄化合物の種々 pH 域における鉄反応

		鉄 液 種 類								
		フェジン	フェロバルト	グリチルリチン鉄コロイド	血清鉄コロイド	グロンサン鉄コロイド	コンドロイチン硫酸鉄コロイド	ATP鉄コロイド	グルフェリコン	グルコース鉄
PH 5.6 における鉄反応	直 後	—	—	+	+	++	++	++	++	++
	24時間後	—	—	++	+	++	+++	+++	+++	+++
PH 4.5 における鉄反応	直 後	±	—	+	±	++	++	++	++	+++
	24時間後	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PH 2.0 における鉄反応	直 後	++	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	24時間後	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

第2節 pH の変化によるグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状

第2表のようにグリチルリチン100mgにFe⁺⁺⁺1mgを滴下したときのコロイドの状態は pH 2, 3 のときは乳白色の不透明な雲絮状濁濁を生じて沈澱を生

じるが、pH 4, 5 では半透明なゼラチン様の物質、すなわちライオゲルとなる。pH 6, 7, 8 では薄い褐色透明なゾル状を呈する。また pH 9 以上ではコロイドは凝集を起し赤褐色の水酸化鉄の沈澱となる。これはコアゲルである。さらに pH 5 と 6 の間を細

第2表 各 pH 域におけるグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状

グリチルリチン ml (20mg/ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FeCl ₃ 溶液 ml (Fe ⁺⁺⁺ : 1mg/ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3% Na ₂ CO ₃ 又は 10% HCl 溶液を適量加えて pH を調整										
pH	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
5% ブドウ糖を加えて全量を 10ml										
性 状	コアゲル	コアゲル	ライオゲル	ライオゲル	ゾル	ゾル	ゾル	コアゲル	コアゲル	コアゲル

分して詳しく調べてみると pH 5.3 迄はライオゲル状であるが, pH 5.4 より pH 5.6 迄は半透明半流動状態を呈し, pH 5.7 以上では薄褐色透明なゾルとなる(第3表). また pH 8 と 9 との間を同様に詳しく観察すると pH 8.4 迄はゾル状を呈するが, pH が 8.5 以上になるとミセルは急に大きく成長

し, コアゲルとなり沈澱を生ずる(第4表). 従つてゾルの状態のグリチルリチン鉄コロイド溶液はグリチルリチン 100mg に対して Fe⁺⁺⁺ 1mg の割合の場合 pH 5.7~8.4 の間でえられるという結果が導かれた.

第3表 pH 5.0 より 6.0 の間のグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状

グリチルリチン ml (20mg/ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FeCl ₃ 溶液 ml (Fe ⁺⁺⁺ : 1mg/ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3% Na ₂ CO ₃ 溶液を適量加えて pH を調整										
pH	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5	5.6	5.7	5.8	5.9	6.0
5% ブドウ糖液を加えて全量を 10ml										
性 状	ライオゲル	ライオゲル	ライオゲル	ライオゲル	ライオゲル	ライオゲル	ゾル	ゾル	ゾル	ゾル

第4表 pH 8.0 より 9.0 の間のグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状

グリチルリチン ml (20mg/ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FeCl ₃ 液溶 ml (Fe ⁺⁺⁺ : 1mg/ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3% Na ₂ CO ₃ 溶液を適量加えて pH を調整										
pH	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8	8.9	9.0
5% ブドウ糖液を加えて全量を 10ml										
性 状	ゾル	ゾル	ゾル	ゾル	コアゲル	コアゲル	コアゲル	コアゲル	コアゲル	コアゲル

第3節 抱合濃度の変化によるグリチルリチン鉄コロイドのコロイド化学的性状

pH が 7.3 のときのグリチルリチン鉄コロイドはグリチルリチン 100mg にたいして, Fe⁺⁺⁺ が 3mg 迄はコロイドはゾル状で薄褐色透明であるが, 4mg から 10mg と結合鉄量を増加せしめると 24 時間以内

にコロイドは凝集を起し, 水酸化鉄のコアゲルとなつて試験管の底に沈澱する. 更に Fe⁺⁺⁺ が 15mg 以上となると数分から12時間以内に赤褐色のコアゲルとなつて沈澱する. 従つてグリチルリチンの鉄抱合限界量は室温で, pH 7.3 において Fe⁺⁺⁺ 3mg/グリチルリチン 100mg である.

第5表 各種濃度におけるグリチルリチン鉄コロイド

グリチルリチン ml (20mg/ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
FeCl ₃ 溶液 ml (Fe ⁺⁺⁺ : mg/ml)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
3% Na ₂ CO ₃ 溶液を適量加えて PH 7.3 に調整										
5% ブドウ糖液を加えて全量を 10ml										
性 状	ゾル	ゾル	ゾル	ゾル	ゾル	ゾル	コアゲル	コアゲル	コアゲル	コアゲル

第4節 各種鉄コロイドの電顕像

1. グリチルリチン鉄コロイド

pH 7.3 の時, コロイドは連珠状に連なり大部分

400~800Å のほぼ円形の粒子からなっている. 粒子はよくみると二重膜構造をしており, 中心の電子線吸収の濃い部分と周囲の比較的薄い部分よりなつ

ている。コロイド溶液を 100°C, 15 分加熱処理後でも、コロイド粒子の大きさ、形には変化は全く見られない。しかし加熱処理によりコロイド粒子は次第に相集つてミセルを形成する傾向を示す(写真2)。次にグリチルリチン鉄コロイド溶液 1ml を健康人の血清 9.0ml に混和して電顕で観察すると連珠状に連なっていたグリチルリチン鉄コロイドは血清中では分散状態を示す粒子が非常に多くみられた(写真3)。

2. ATP 鉄コロイド

粒子は 200~300A° の大きさで、コロイドミセルを形成している。過剰の ATP の結晶も折出しやすい(写真4)。

3. グロンサン鉄コロイド

300A° 前後の類円形の粒子が連珠状に配列している。コロイド粒子の膜二重構造をみとめる(写真5)。

4. 血清鉄コロイド

pH 7.3 の場合、コロイド粒子の大きさは300~400A° の類円形の粒子で、連珠状に連なっている。粒子は前述のグリチルリチン鉄コロイドと同様に電子線をよく吸収する濃い中心部分と周囲の比較的薄い部分よりなっている(写真6)。

5. コンドロイチン硫酸鉄コロイド

数 A° の糸状粒子がみられる。

6. フェジン

200~300A° の小さいコロイド粒子で、連珠状に連なっているが、それが互に凝結して大きなミセルを形成する傾向がある(写真7)。

7. フェロバルト

無定形の大きささまざまな粒子が凝結を生じている(写真8)。

8. グルフェリコン

400~500A° ぐらいの粒子が無秩序に配列し、大きささまざまな全く無定形なミセルを形成している。

9. グルコース鉄

300~500A° の無定形の粒子が不規則に凝集、或は散乱している。

第5節 pH の変化とグリチルリチン鉄コロイドの電顕像

pH 7 では主として 400~800A° の大きさの粒子が連珠状に連らなつて配列している。あまり大きなミセルは形成せず、比較的分散して分布している。ほぼ円形の二重構造をもつた粒子である(写真2)。pH が6となると粒子は形、大きさには変化がないが、互にコロイドが相寄つて凝集してくる傾向を示す。さらに pH が5となりライオゲルの状態になると粒子は一層大きな凝集を生じる(写真9,10)。

また逆に pH が8になるとコロイド粒子は大きさ、形を変えることなく、やはり凝集の傾向を示す(写真11)。pH がさらに高くなり10になるとコロイドは一層大きな凝集を生じてくるが、粒子の形、大きさには依然として変化はみられない(写真12)。

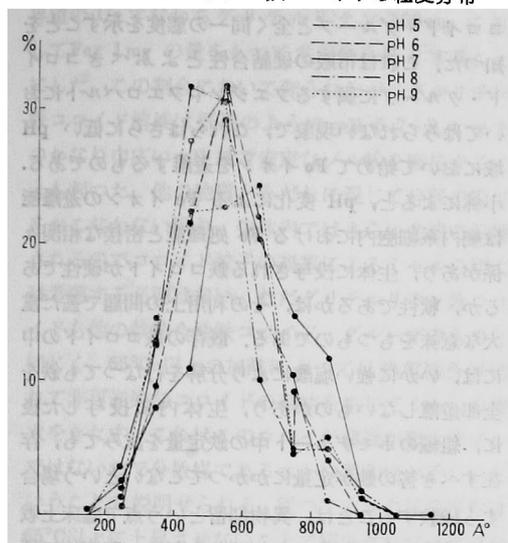
第6節グリチルリチン鉄コロイドの粒度分布

pH 5 から pH 9 迄の粒度分布曲線は 400 から 600 A° に頂点をもち、その前後で急峻な勾配を示して下降し、200~900 A° の間にほとんどすべての粒子が含まれてしまう。従つてグリチルリチン鉄コロイドは常用 pH 域では比較的粒子径のそろつたコロイド粒子より成るといえる(第6表, 第1図)。

第6表 グリチルリチン鉄コロイド凝集粒子に対する Power, Kakascik の測定法による粒度分布

PH	A°	1	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300
		99	199	299	399	499	599	699	799	899	999	1099	1169	1299	1399
5	個数	0	0	36	126	317	305	100	48	49	19	0	0	0	0
	%	0	0	3.6	12.6	31.7	30.5	10.0	4.8	4.9	1.9	0	0	0	0
6	個数	0	0	41	96	218	318	220	99	42	0	0	0	0	0
	%	0	0	1.4	9.6	21.8	31.8	22.0	92.2	4.2	0	0	0	0	0
7	個数	0	3	25	80	109	293	204	148	118	16	2	2	0	0
	%	0	0.3	2.5	8.0	10.9	29.3	20.4	14.8	11.8	1.6	2.0	0.2	0	0
8	個数	0	0	8	128	276	315	155	104	12	2	0	0	0	0
	%	0	0	0.8	12.8	27.6	31.5	15.5	10.4	1.2	0.2	0	0	0	0
9	個数	0	0	22	148	226	228	248	48	58	17	3	0	2	0
	%	0	0	2.2	14.8	22.6	22.8	24.8	4.8	5.8	1.7	0.3	0	0.2	0

第1図 グリチルリチン鉄コロイドの粒度分布



第4章 総括並びに考按

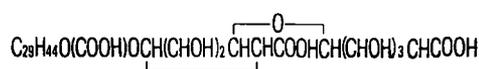
既述のように従来網内系機能検査には墨汁、トトラスト、金、銀コロイドやコンゴ赤をはじめ、含糖酸化鉄もしくは水酸化鉄コロイドなどの微粒子を投与することで、生体がいかにこれを貪食するかを指標として機能を表現する方法が長い期間利用されてきた。なるほど網内系諸細胞の共通の機能は異物微粒子の貪食で表現されるが、小島²⁶⁾のいうように網内系貪食細胞は、微粒子が自己の生体蛋白との静電的引き合いで coating されている限り、それがいかなる物質であれ、非常に積極的に細胞内にとりこまれて了うので、とりこみの直後から網内系細胞内で演ぜられるところの異物処理機構を考へることなしには網内系機能は論じられない。事実投与する物質によつては細胞に与える障害は大きく、網内系細胞内における墨粒による吸着現象や、重金属中毒による代謝障害現象はもつとも懸念すべきところであり、いれずみ操作で用いられるような諸色素粒子の場合も、細胞内に半永久的な抑留も起るが、この填塞現象にも留意されなければならない。またコンゴ赤による方法も、Adler¹³⁾以来動物にも臨床的にも繁用されてきたが、コンゴ赤は静注後速かに胆汁に排泄され、網内系細胞中にその局在が証明されず、血中よりの除去速度が網内系の貪食機能よりもむしろ肝の排泄機能を示すということで網内系機能検査法としての価値が否定されている。従つて網内系細胞の機能を検討する方法は、細胞の障害を起したり、永久抑留を起さしめないような物質の

微粒子を選んで行なわれるべきであり、出来れば細胞内処理過程において、速やかな分解が行なわれて、生体代謝経路に有効に利用されてゆくようなものが取り上げられる必要がある。このような観点から菌芽胞¹⁴⁾や酸化鉄あるいは水酸化鉄コロイドは一段と進歩した着想に従うものであるが、临床上患者を主体に考へる際には、なお一層慎重が期されなければならない。鉄コロイド溶液は一般に pH の変化や加熱反応で容易にミセル化してゲル状に変化する性質を有し、この点で市販のものは安定度を向上せしめるために、また鉄コロイド粒子の粒度分布を均一化するよう種々の特異な操作が加えられてあり、安定性向上のあまり鉄コロイドは強塩酸の作用でも Fe イオンを遊離しないような強固な形に作りあげられている。そのような既存の市販の鉄コロイドが網内系に摂取されると、いれずみの場合同様半永久抑留の形に似た人為的ヘモグロビン沈着症を惹きおこす可能性が強いで、これらの欠点を除いた Fe 易遊離性の均一安定性の鉄コロイドの出現が望まれていた。

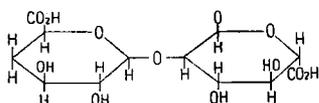
わたくしはこのような観点から新しい鉄コロイドを作成するに当つて、1. 異物蛋白源とならず、2. 滅菌操作も可能で、3. 用に応じて簡単に作成できて再現性が優秀で、4. コロイド粒子径が比較的均一安定で、5. 貪食されたコロイドは生体に対して有害な副作用や抑留現象を示さず、6. 進んで網内系細胞の代謝過程に入る易処理性のものでなければならぬという条件を満足せしめるものに意を注いだ。

生体にとって有用なコロイドを作成するには、理想的にはホモの血清蛋白を保護膠質とすることが最良の方法である。この血清蛋白と静電結合でコロイドを作りうるものには諸種の重金属や稀土類元素があるが、その中で生体に代謝的役割を演ずるものはひとり鉄イオンであり、血清と鉄イオンによるコロイドが理想的な物質であることは言をまたない。妹尾は門下の粟井、小林らと血清鉄コロイドを作り、それは生物学的実験でも易処理性のコロイドであることを確めているが、しかし血清を保護膠質とする生物学的製品ということで感染や抗原抗体反応の面で多くの不利な面があり、保護膠質の血清を他の安定な物質に変換研究されることが望まれていた。粟井は一方においてコンドロイチン硫酸を用いる方法について研究し、他方小林と著者は多くのスクリーニングの結果、諸種のアミノ酸や、グリチルリチン、ATP、 α -グルクロノラクトンなどが Fe イオンと静

電結合を行なつて所期の易処理性の鉄コロイドを作りうることを知つた。ここで問題となつた条件は生体 pH (7.2~7.3) 領域において安定で均一なコロイド粒子がえられることである。次いで Fe イオンと膠質との量的関係が膠質安定の点でも、生体投与の点でも合理的であることである。結局わたくしは膠質化学的立場と生物学的投与という二つの立場からグリチルリチンと Fe イオンから得られたグリチルリチン鉄コロイドがもつとも優れていることを知つた。グリチルリチンは Voss および Pfirschke⁴¹⁾ (1937年) によると $C_{42}H_{62}O_{12}$ (分子量 822.92) で



Lythgoe および Trippett⁴²⁾ (1950年) によれば



で表現され、2分子のグルクロン酸が β -1'-2 結合を行なつていることが明らかにされている。

本物質はウラル甘草から抽出してえるもので、白色鱗片結晶で甘味を有し融点 $220^{\circ}C$ で、このもの自体 1) 解毒作用⁴³⁾, 2) 抗アレルギー作用⁴⁴⁾, 3) コルチコイド作用⁴⁵⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾, 4) 脱コレステロール作用⁴⁸⁾, 5) 肝機能改善作用⁴⁹⁾ を有し、6) さらに網内系細胞や間質組織の機能をも亢進せしめる作用を併せ有するものである。

元來貪食細胞は、貪食時にヒスタミンもしくはセロトニン様物質を放出し、その著明な際にはコロイド・ショックを惹起することは既知の事実であり、コロイドの基質分散媒のグリチルリチン自体に抗アレルギー、コルチコイドなどの作用があることはこのショック予防に甚だ有用であり、さらに網内系機能を亢進せしめる作用はコロイド微粒子貪食後の処理機構に拍車をかける意味でさらに大きな期待が寄せられる。

このようにして作り出されたグリチルリチン鉄コロイドの膠質化学的性質はすでに本編の実験結果に示した通りである。グリチルリチン鉄コロイド溶液は塩酸々性による pH の低下で既に 5.6 域で容易に Fe イオンを遊離し、これは他の同様の方法でわたくしが作成したグロンサン鉄コロイドや ATP 鉄コロイドのほか、オリヂナルの血清鉄コロイドや栗井のコ

ンドロイチン硫酸鉄コロイドなどを含む軟結合性鉄コロイド・グループと全く同一の態度を示すことを知つた。これは市販の硬結合性とよぶべきコロイド・グループに属するフェジンやフェロバルトにおいてはみられない現象で、これらはさらに低い pH 域において始めて Fe イオンを遊離するものである。小林によると、pH 変化による Fe イオンの遊離能は網内系細胞内における Fe 処理能と密接な相関関係があり、生体に投与される鉄コロイドが硬性であるか、軟性であるかは、その利用上の問題で甚だ重大な意味をもつものである。既存の鉄コロイドの中には、いかに強い塩酸により分解を行なつても鉄を全部遊離しないものがあり、生体内に投与した後に、組織のホモジネート中の鉄定量を試みても、存在すべき筈の鉄が定量にかかつてこないという場合すら経験することは、異物抑留という点で臨床で戦慄に値すべきことといわねばならない。臨床的に硬結合性鉄コロイド液を誤つて静脈外にもらしたり、あるいは筋肉内や皮下に注射がおこなわれた場合には、これは極めて長期間その局所に着色という状態で抑留がみとめられることはすでに多くの経験が物語つているところであり、硬結合性鉄コロイドがいかに生体内で処理され難いかを明らかにするものである。しかし一部研究者の間では、かかる硬結合性鉄コロイドでも鉄欠乏性貧血に際して不足せる鉄量を計算で求めて、その不足分だけを算術の概念で静注補足すれば治療目的を達する⁵⁰⁾がごとき報告を行なつているのは心外の極みである。少なくとも生体に静注される鉄コロイドは易処理性の軟結合性鉄コロイドであることは不可欠の条件である。このたび試作のグリチルリチン鉄コロイドは少なくとも試験管内実験で Fe 易遊離性の軟結合性鉄コロイドであることが確められた。

さて、次に Fe の量とそれが対応する基質分散媒の量との相互関係についての実験では、pH 7.3 で限界値 (鉄抱合能) がグリチルリチン 100 mg に対して $Fe^{+++}3mg$ であることが判つた。その範囲内では安定したコロイド溶液がえられる。両者の結合は pH の変動による可逆的なライオゲル-ゾルーコアゲルの変化状態からみても明らかのように、これは定型的な静電結合反応であり³⁴⁾、生体にとつて非常に処理しやすい全く理想的な結合状態といえる。安定度の上からはグリチルリチンに対する Fe^{+++} の量が少なければ少ない程、ゲル化の懸念はない訳であるが、あまりに Fe の量が少なきに過ぎて

もまた意味を失うことになるのでわたくしは抱合限界値の $1/3$ すなわちグリチルリチン 100 mg に対して Fe^{3+} 1 mg の量をもつて常用結合量とすることにした。この割合において作られたグリチルリチン鉄コロイド溶液は既述のように pH 5.7~8.4 までのかかなり広い pH 域で安定なゾル状を維持することも判つた。他の物質とみだりに混じて静脈内投与をおこなわない限り、生体内ではさらに血清で保護されるのでコロイド粒子の凝集によるミセルの増大は考慮する必要はない。ただグリチルリチン鉄コロイドも他の軟結合性鉄コロイド・グループのものと同じく、 65°C 以上の加熱によつては静電結合が切れて非可逆的なコロイドの凝結を生じてミセルの増大をきたす。これはこのコロイド溶液が親水性ゾルではないので分散媒である水との親和性が乏しいということで説明せられる。従つて本品の滅菌操作は 65°C 以上の上昇させないことで解決されなければならないことは作成の項において記載した通りである。

コロイド粒子の大きさは、電子顕微鏡で測定した。その結果は 200Å から 900Å で、80%は $400\sim 800\text{Å}$ の間にあり、比較的粒子が良く揃つた状態といえる。他の軟結合性鉄コロイド・グループもほぼこれに類似している。コロイド粒子の大きさは pH 自体では不変であるが、コアゲルを生じた時はコロイド粒子の凝集が起つてくることによるものであることを明らかにした。血清を同時に添加すると静電結合を補足保護し、よりよく粒子を散在せしめうる。

さてグルコース鉄とグルフェリコンは、対照の意味で実験に使用したが、これらは pH の変化によるゾルゲルの可逆性もなく、また電顕的にも不定形物で、コロイドとはいいがたい。これらは Fe^{3+} を遊離しやすい点では一見利用価値がありそうであるが、それ自体コロイドではないため網内系に食食されることなく殆んど尿中に排出せしめられる。

最後に長期保存の問題に関して、グリチルリチン鉄コロイドについてわたくしは凍結乾燥法による3年後の復元で、 Fe^{3+} の遊離、ゾルゲルの可逆変化、電顕的粒子の観察などにおいて、作成直後のデータと変らない結果を得ることができた。なお、コロイド液状のままの保存では、膠質学的には2・3の界面活性物質の添加で加熱反応にも耐えうる状態に持ち来たすことが出来るが、界面活性物質の溶血能が生体には副作用として大きく、現在の段階では実用の域ではない。

第5章 結 論

人体静注に耐えうる網内系検査用コロイドは、単に食食機能のみならず、当該細胞内における代謝機能を検討しうるものでなければならず、それに加え

- 1) 異物蛋白源とならず
- 2) 滅菌操作も容易で
- 3) 作成が簡単でラデオ・アイソトープの添加も可能で

4) 膠質化学的に粒度分布が良好で、粒子直径が適当の大きさに揃つており

5) 保存上安定で再現性よく

6) 生体内投与時網内系で食食後次の代謝過程に有効に入り抑留現象を起さず、生体に有害でないものでなければならない、

ことをわたくしは主張した。わたくしは以上の主張を実現するため、まず鉄コロイドに着目して多数のスクリーニングの結果、グリチルリチン鉄コロイド、グロンサン鉄コロイド、ATP 鉄コロイドなどを試作した。これらは pH のわずかな低下で Fe^{3+} を遊離することができるような、生体にとり易処理性の軟結合性鉄コロイドである。

なかでもグリチルリチンは網内系機能検査用コロイドの鉄抱合体として理想的であり、グリチルリチン鉄コロイドは電顕的に80%以上が $400\sim 800\text{Å}$ の粒度分布を示し、均一性が良好で、その上血清や血漿との接触でさらに安定度が高められる。

グリチルリチンの鉄抱合能は pH 7.3 においてはグリチルリチン 100 mg に Fe^{3+} 3 mg である。

グリチルリチン鉄コロイドは pH 5.7 より pH 8.4 までの間では安定なゾルであり、pH 5.6 以下でライオゲルに、pH 8.5 以上でコアゲルとなる。

グリチルリチン鉄コロイドは簡単に作製でき、滅菌も完全にできる。

グリチルリチン鉄コロイドはゾルからゲルに変化しても、個々のコロイドの大きさに変化はなく、凝集現象をおこすにとどまり、pH の変化で可逆的であることを知つた。

以上の結果からグリチルリチン鉄コロイドは膠質化学的には網内系機能検査用コロイドとして著者の主張の通り理想に近いコロイドである確信がえられた。

稿を終るにのぞみ御指導、御校閲を賜つた田中

早苗教授、陣内伝之助教授に深甚の謝意を表するとともに、本研究について種々の御高教、御指導を頂いた妹尾左知丸教授、および当教室の小林淳一博士に感謝します。また御援助頂いた電子顕微鏡室の各位、グリテロン1号を提供されたミノファーゲン製

薬本舗にも厚く敬意を表する。

(本研究は文部省科学研究費の補助による)

(本論文の要旨は第3回日本網内系学会において発表した)

第 1 編 文 献

- 1) Aschoff, L.: Das Reticulo-Endotheliale System, *Erg. inn. Med.* 26, 1—118, 1924.
- 2) Landau, M. & Mc Nee, J. W.: Zur Physiologie des Cholesterinstoffwechsels, *Beiter. path. Anat.* 58, 667—693, 1914.
- 3) 清野: 生体染色の研究, 2版, 昭4.
- 4) 赤崎: 細網内皮系統とその腫瘍, *日病理誌*, 41, 1—26, 昭27. 網内系の概念, *最新医学* 17, 168—175, 昭37.
- 5) Eppinger, H. & Stohr, F.: Zur Pathologie des reticulo-endothelialen Systems, *Klin. Wschr.* 1, 1543—1544, 1922.
- 6) Paschkis, K.: Zur Biologie des Reticulo-Endothelialen Apparates, *Wien. Klin. Wschr.* 43, 839—840, 1922.
- 7) 大西: 生体染色の研究, 第3報トリパン青墨汁による研究, *日血会誌* 14, 207—208, 昭26.
- 8) 赤崎, 小島: 炎症防衛機構に於ける細胞内皮系統の役割について, *最新医学* 13, 986—1003, 昭33.
- 9) Saxl, P. & Donath, F.: Über Exsudationshemmung durch Pituitrin und einige andere auf das reticuloendotheliale System wirkend substanzien, *Klin. Wschr.* 4, 1866—1867, 1955.
- 10) Landwall, K.: Neuere Untersuchungen ueber den Funktionszustand des Reticuloendothelialen Systems bei schwangeren und nicht schwangeren Frauen und ihre Bedeutung fuer die Konstitutionsforschung, *Arch. Gynack.* 132, 19—23, 1927.
- 11) 松原, 鳥井: 含糖酸化鉄をもつてする新たな網内系機能検査法, *医学と生物学* 42, 151—155, 昭32.
- 12) 中山: 網内系機能に関する研究, 第1編, 骨髄機能と網内系機能との関連について, 第2編, 網内系と鉄代謝の関係について, 第3編, 放射性鉄による網内系機能と鉄代謝に関する研究, *岡山医誌* 71, 4031—4041, 4943—4054, 4055—4067, 昭34.
- 13) Adler, H. & Reimann, F.: Beitrag zur Funktionsprüfung des reticuloendothelialen Systems, *Zschr. exper. Med.* 47, 617—633, 1925.
- 14) 赤崎: 網状内被組織系統機能と異種赤血球貪食作用との関係, (第II回報告), 免疫体産生と異種赤血球貪食作用との関係, *日微生物会誌* 21, 345—357, 昭2.
- 15) 高田: 結核症における網状織内皮細胞系機能の実験的研究: 第1報 実験的結核家兎に於ける網状織内皮細胞系の鶏血球の処理作用について, *結核* 27, 293—299, 昭27.
- 16) Metschnikoff, E.: Ueber eine Sprosspilzkrankheit der Daphnien. Beitrag zur Lehre ueber den Kampf der Phagocyten gegen Krankheitserreger, *Virchow's Archiv* 96, 177—195, 1884.
- 17) Halpern, Benacerraf, B. & Biozzi G.: Quantitative Study of the Granulopectic Activity of the Reticulo-Endothelial System. I: The Effect of the Ingredients present in India Ink and of Substances affecting Blood clotting in Vivo on the Fate of Carbon Particles Administered Intravenously in Rats, Mice and Rabbits, II: Study of the R. E. S. in relation of the Dose of Carbon injected, Relationship between of the Weight of the Organs and their Activity, *British J. exper. Path.* 34, 426—440, 441—457, 1953.
- 18) 青木, 工藤: 網内系機能測定法についての一考察, *最新医学* 17, 228, 昭37.
- 19) 杉山: 血液及組織の新研究と其方法, 東京, 昭17.
- 20) Kauffmann, F.: Die oertlich-entzuendliche Reaktionsform als ausdruck allergischer Zustände: Zugleich ein Beitrag zur Funktionellen Pathologie des erweichtern reticulo-endothelialen Systems, *Krkh. forschung, Leipzig* 2, 448—499, 1926.
- 21) Bouffard, G.: Injection des Couleurs de Benzidine aux animaux normaux, *Etude experimen-*

- tale et histologique., *Ann. Indt. Pasteur, Paris*, 20, No. 7, 538—546, 1906.
- 22) 森：白血球貪食能の簡単なる検査法について，十全会誌 33, 639—645, 昭3.
- 23) 添田：細網内被系統と白血球遊走能に関する研究，東北医誌 58, 367—381, 昭33.
- 24) 加賀： ^{198}Au コロイドの臨床的応用に関する研究，貪食能を利用した ^{198}Au コロイドによる肝血流量測定法並びに肝シンチグラム法の研究，東京医誌 68, 483—518, 昭35.
- 25) Dobson, E. L. & Jones, H. B.: The behavior of intravenously injected Particular material, *Acta med. Scand.* 144, Suppl., 273, 1952.
- 26) 小島：網内系細胞の貪食機構に就て，最新医学 17, 194, 昭37.
- 27) Seno, S., Awai, M., Kobayashi, J., Ose S., & Kimoto, T.: The Reticulo-endothelial System, Its Function in Phagocytosis and Iron Metabolism, *Tohoku J. Exper. Med.* 76, 179—188, 1962.
- 28) 小林：生体における鉄利用に関する実験的研究，日本血液学雑誌 22, 93—102, 昭34.
- 29) 小林：生体に於ける鉄の利用に関する実験的研究 岡山医学会雑誌 71, 973, 昭34.
- 30) Awai, M.: Pathophysiological Studies on Ferric iron, *Acta Med. Okayama* 12, 328—335, 1958.
- 31) 滝野：大日本蔵器研究所 グルフェリコン Data 集, 1958.
- 32) 電子顕微鏡学会編：電子顕微鏡の理論と応用，Ⅲ，理工学への応用，136—142.
- 33) 電子顕微鏡の理論と応用，Ⅲ，理工学への応用，161—165.
- 34) 浅岡：コロイド化学：102—105, 昭37.
- 35) 千田：白血球の貪食：日本網内系学会会誌 1, 15—25, 昭36.
- 36) 牛場：実験的チフス症における食菌と細胞内菌増殖，日本網内系学会会誌，26—32, 昭36.
- 37) 小島：網内系細胞の貪食機構について，日本網内系学会会誌 1, 33—44, 昭36.
- 38) 田中：生体染色機転の電子顕微鏡的解析，特に貪食現象との対比に於て，日本網内系学会会誌 1, 45—57, 昭36.
- 39) 飯島，影山，小島，荒木，島峰，花岡，田中，天木，小野：網内系とその周辺，最新医学 19, 1109—1113, 昭39.
- 40) 山形：網内系と臨床，日本網内系学会会誌 2, 2—14, 昭37.
- 41) Voss, W., & Phirschke, J.: Ueber ein Neuartige Disaccharid als Zuckeranteil des Glycyrrhizins (II, Mitteil, Ueber Glycyrrhizin), *Ber* 70, 132, 1937.
- 42) Lythgoe, B., & Trippett, S.: The Constraction of the Disaccharide of glycyrrhizin Acid, *J. Chem. Soc.* 1950, 1983.
- 43) 三好：グリチルリチンの解毒価値，日新医学 39, 1952.
- 44) 外松，高石，広井，浪方，岡野：皮膚とグリチルリチン，皮膚と泌尿 21, (2), 138, 1959.
- 45) Molhuysen, J. A., Gerbrandy, J., De Vries, L. A., De Jong, J. C., Lenstra, J. B., Turner, K. P., & Borst, J. G. G.: A Licorice Extract with Deoxycortone-like Action, *Lancet* 259, 381, 1950.
- 46) 熊谷 他：グリチルリチンの Steroid, hormone 作用の本態に関する研究，日本臨床 15, (3), 583, 1957.
- 47) 石塚：黄体ホルモン代謝に関する研究，第9回日本産科婦人科学会宿題報告 1957.
- 48) 堂野前，他：グリチルリチンの脱コレステロール作用について，日本医事新報 1843, 20, 1959.
- 49) 大野，他：グリチロン治験例，新医と臨床 5, (6), 493, 1956.
- 50) 清水，藤進：結核菌の死菌を注射せるリンパ腺細胞移譲による抗体産物の研究，日本網内系学会会誌 2, 79, 昭37.
- 51) 中尾：貧血の治療，内科 2, 530—531, 昭33

Studies on Function of Human Reticulo-endothelial System by
a New Loose-Binding Iron Colloid

Part 1. A study on colloidal chemical properties of various iron
compounds—with special reference to a newly prepared
glycyl-lycines iron colloid

By

Hiroshi FUJII

The First Department of Surgery Okayama University Medical School Okayama, Japan
(Director: Prof. Sanae Tanaka)

Abstract

On a colloidal solution for the functional examination of human reticuloendothelial system that will withstand the intra venous injection, Kobayashi of our laboratory and the author have proposed the following requirements as essential: 1) that it should not become a source of heterogenous protein; 2) that it should be readily sterilized; 3) that it should be easily prepared and radioisotope can readily be added to it; 4) that its granule distribution is colloidchemically adequate and the diameter of granules is uniform in size; 5) that it is stable and can be harvested for use any time after storage; and 6) that, after being phagocytized by the reticuloendothelial system *in vivo*, it would enter the next metabolic step effectively without eliciting inhibitory phenomenon and should be not harmful *in vivo*.

However, we have as yet no colloidal solutions that meet satisfactorily these conditions. Therefore, the authors have selected some of iron colloids that are of loose binding in nature for this purpose, and conducted a series of screening tests with them. As the result it has been possible to prepare several new loose-binding iron colloid solutions. The present communication deals briefly with the colloidal chemical properties of these preparations.

The conclusions reached may be stated as follows:

1. It has been found that glycyl-lycine iron colloid, serum iron colloid, chondroitin iron phosphate colloid, glutamic iron colloid, and ATP iron colloid are all loose-binding colloids, and with only a slight lowering of pH, Fe^{+++} can readily be released, without causing iron-blocking in the reticulo-endothelial system, and thus enabling Fe^{+++} to enter readily into the next metabolic step.

2. More than 80% of glycyl-lycine iron colloid is composed of colloidal granules of the size ranging 400—800 Å, being approximately uniform in size and distributed evenly, and when brought in contact with serum or plasma its granule distribution becomes more satisfactory.

3. When 100 mg glycyl-lycine is made to bind to Fe^{+++} , up to 3 mg equivalent of Fe^{+++} turn to a stable sol.

4. Glycyl-lycine iron colloid stays in the form of sol at the pH between 5.7 and 8.4, but it transforms to lyogel below pH 5.6, and above pH 8.5 to coagel.

5. Glycyl-lycine iron colloid can be prepared readily and it can be sterilized completely.

6. Even when glycyl-lycine iron colloid transforms from sol to gel, the size of individual colloidal granules remains unchanged excepts for the change in the size of micelles, and the colloid form of sol and gel is reversible by the change of pH.

These results have verified conclusively that glycyl-lycine iron colloid is almost an ideal colloid for the use in examining the function of human reticulo-endothelial system, judging from its chemical properties.

藤井論文附図

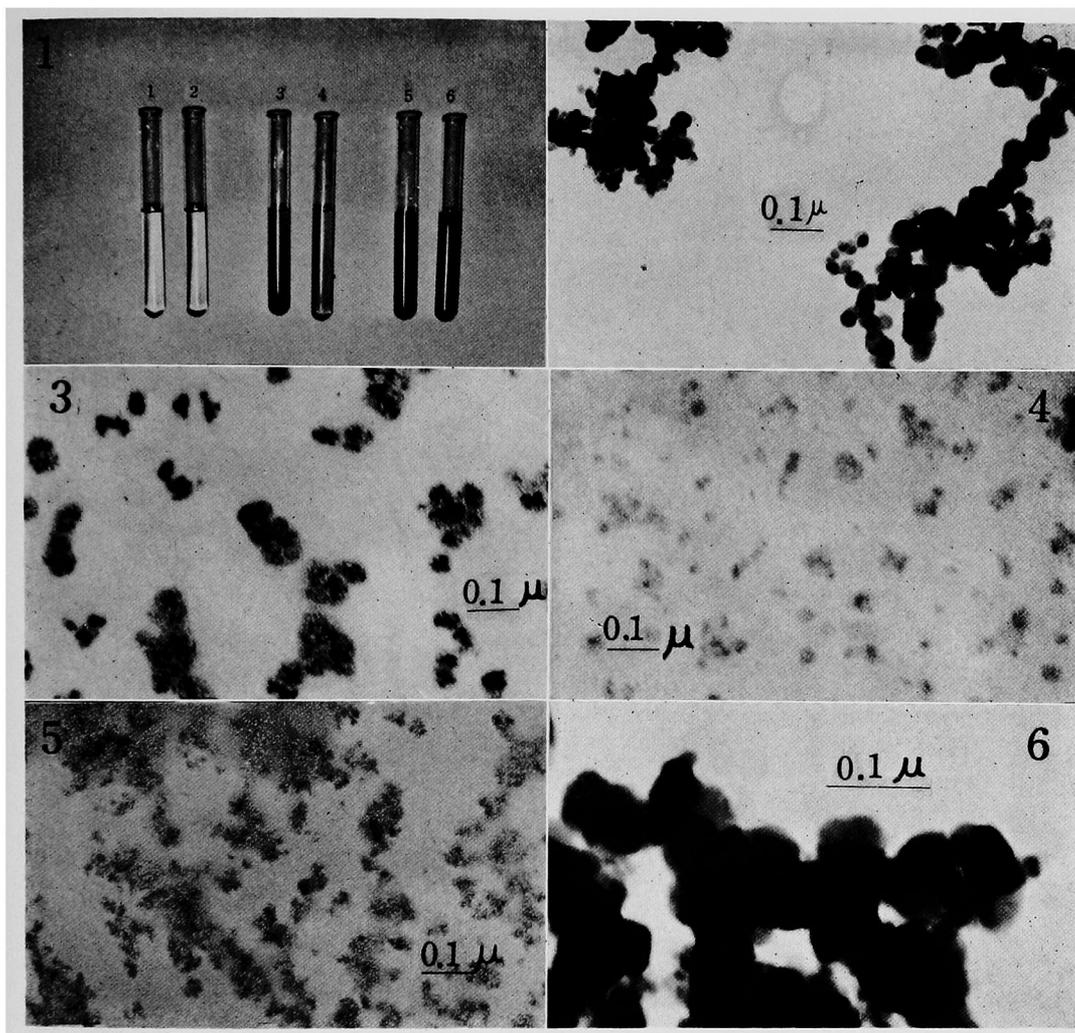


写真1：各種鉄化合物の pH 5.6 における 24 時間後の鉄反応。フェジン、フェロバルトのような硬結合性鉄コロイド・グループには鉄反応は現われていない。軟結合性グルークで Fe^{+++} がよく遊離して呈色反応を示す。

試験管 1：フェジン

2：フェロバルト

3：グリチルリチン鉄コロイド

4：血清鉄コロイド

5：グルフェリコン

6：グルコース鉄

写真2：pH 7.0 におけるグリチルリチン鉄コロイドの電顕像。400~800Å の連球状。

写真3：pH 7.0 グリチルリチン鉄コロイドに健康人血清を加えた時のコロイドの分散状態。コロイドはよく分散している。

写真4：ATP 鉄コロイド。結晶を混じた 200~300 Å のコロイド。

写真5：グロンサン鉄コロイド。300 Å 前後の珠玉状凝集がみられる。

写真6：血清鉄コロイド。300~400 Å の類円形。コロイドの分散良好。

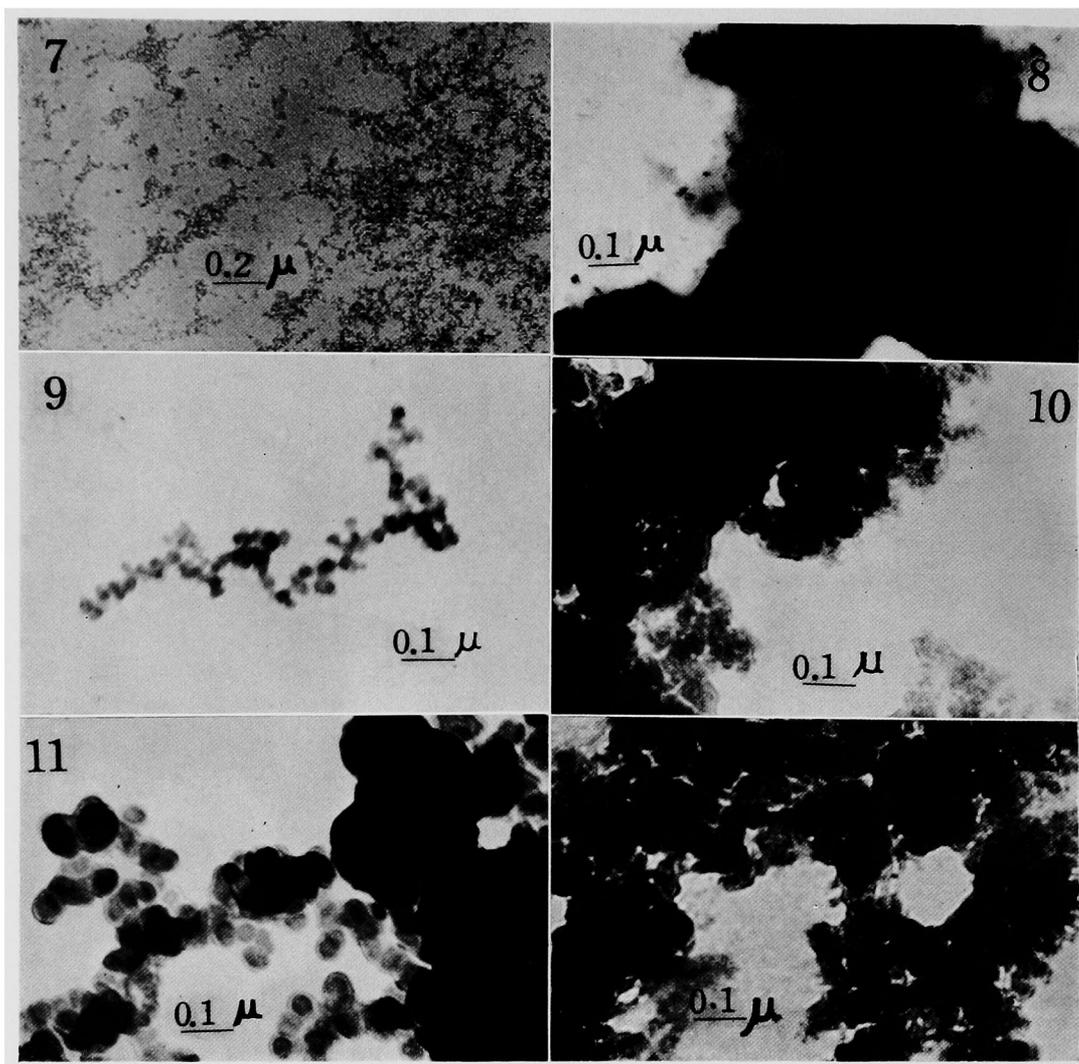


写真7：フェジン， $200\sim 300\text{ \AA}$ のコロイド。

写真8：フェロバクト，無定形の粒子の凝集がみられる。

写真9：pH 6におけるグリチルリチン鉄コロイド。凝集が次第に大きくなって来ているが、コロイドの大きさに著変がみられない。

写真10：pH 5におけるグリチルリチン鉄コロイド。ミセルは成長しているが、個々のコロイドは大きさを変えていない。

写真11：pH 8におけるグリチルリチン鉄コロイド。ミセルは大きくなっているが、コロイドの大きさに著変はない。

写真12：pH 10におけるグリチルリチン鉄コロイド。個々のコロイド粒子の大きさには変化はみられないが、ミセルが大きく成長している。