

放射性ビタミン B₁₂ の吸収, 体内分布および 排泄に関する臨床的研究

金沢大学医学部内科学第二講座(指導 村上元孝教授)

金沢大学医学部内科学第三講座(主任 服部絢一教授)

河 村 洋 一

(昭和46年3月22日受付)

ビタミン B₁₂ (以下 B₁₂ と略す) の研究は 1926 年 Minot and Murphy による悪性貧血の肝臓療法よりはじまり, つづいて 1929 年 Castle は外因子, 内因子の説を提唱しその後 Berk ら¹⁾ は外因子は肝臓エキス中にある B₁₂ であることをつきとめ, Rickes ら²⁾, Smith³⁾ がほぼ同時に B₁₂ を結晶型として分離することに成功し, 分子量および構造式を明らかにした. 他方内因子の研究も今日まで数多くなされているが, まだ分離精製に成功せず, したがって作用機序なども十分解明されていない状態である. しかし B₁₂ の吸収機構は, 1952 年 Rosenblum ら⁴⁾ の ⁶⁰Co 標識放射性 B₁₂ の導入により飛躍的發展をとげ, 今日では生理的量を投与した時の B₁₂ 吸収は通常 3 つの段階をへておこなわれるものと考えられている. すなわちまず①胃で内因子と B₁₂ が結合し⁵⁾, B₁₂-内因子複合体という保護された形で小腸をくだり, 次に②この B₁₂-内因子複合体が小腸下部の腸管に 1 時吸着され⁶⁾, 最後に③吸着状態より吸収がおこなわれる⁷⁾ とされ, 一方非生理的大量投与時の B₁₂ 吸収は内因子の存在を必要とせず直接吸収されるものと解されている. しかし内因子を中心としたその性状, 産生, 分泌機序また吸収に際して B₁₂-内因子複合体からの B₁₂ の遊離などの詳細に関しては現在のところ未解決な問題が数多く残されている.

1958 年 Barker ら⁷⁾ が *clostridium tetanomorphum* のグルタミン代謝の研究中に発見した補酵素型 B₁₂, 5, 6-dimethylbenzimidazolyl cobamide coenzyme は cyanocobalamin の吸収機構と同様に生理的量を投与した場合内因子を必要とするが⁸⁾⁹⁾, cyanocobalamin と異なる点は組織親和性が大である点である. これらの実験結果の多くはヒトや実験動物の尿および糞中に排泄された放射性 B₁₂ 活性や血漿中

の放射性 B₁₂ 活性の測定によって得られたものである. 著者は少しく観察の角度を変え, 正常人および若干の疾患例につき, 放射性 B₁₂ の吸収, 体内分布, 排泄などを全身計測, 全身線スキャニングで経時的に検討し, 若干の知見を得たので報告する.

実験材料および方法

I. 観察対象

金沢大学医学部附属病院第 2 内科, 第 3 内科入院および外来患者より血液疾患 10 例 (赤白血病 2, 真性多血症 2, 再生不良性貧血 1, 担鉄赤芽球性貧血 1, 発作性夜間血色素尿症 1, 鉄欠乏性貧血 1, サラセミア 1, 悪性貧血 1), 肝硬変症 10 例, 慢性肝炎 12 例, 薬物中毒性肝炎 1 例, 肝癌 1 例, 胆道癌 1 例, その他の悪性腫瘍 3 例, 消化吸収不良症候群 1 例, 甲状腺機能低下症 2 例, 甲状腺機能亢進症 2 例および対照として腎障害, 肝障害, 消化吸収障害および貧血の存在しないもの 12 例計 55 例を観察対象とした.

II. 実験方法

1. B₁₂ 吸収試験について

1) B₁₂ 生理的量の投与時の吸収試験

試験前 2 日間 B₁₂ 剤の投与は一切さけ, 試験用放射性 B₁₂ の投与は早朝空腹時におこない, 投与後 2 時間は飲食を禁じ, その後の食事も 24 時間は肉, 卵等を与えずに試験を施行した. また糞採集終了の目印として経口投与翌日カルミン色素 1.0g を投与した. B₁₂ の吸収を測定する目的には糞中および尿中排泄率測定法, 全身計測および体外計測を下記の要領でおこない測定した.

i) 糞中排泄率測定法¹⁰⁾

B₁₂ の投与量は ⁶⁰Co-cyanocobalamin (以下 ⁶⁰Co-CN-B₁₂ と略す) は 1.0μg (1.0μCi), ⁵⁷Co-5, 6-

A clinical study on the absorption, distribution and excretion of radioactive vitamin B₁₂, Youichi Kawamura, Department of Internal Medicine III (Director: Prof. K. Hattori), School of Medicine, Kanazawa University.

dimethyl benzimidazolyl cobamide coenzyme (以下 ^{57}Co -coenzyme- B_{12} と略す) は $1.0\mu\text{g}$ ($1.5\mu\text{Ci}$) とし、それらを水 100ml にうすめ、そのうち 2ml を standard として保存した。糞の採集は放射能が 1% 以下になってからさらに 2 試料をとり、採集全量を 1 つの容器に入れ 400ml の水を加えホモジエートし、standard scintillation counter で比放射能を測定し、投与量との百分率を求め糞中排泄率とした。

ii) 尿中排泄率測定法

B_{12} の投与量および投与法は上記の糞中排泄率測定時と同様におこない、 24 時間尿を採集し、その 1ml をとり well 型 scintillation counter で尿中比放射能を測定し、全投与量より百分率をもとめ尿中排泄率とした。

iii) 全身計測および体外計測法

多目的 RI 診断を目標として設計された島津製 Medical Universal Human Counter (MUHC) 3.5×2.5 inch NaI cristal 2 個身体の背腹方向に置き、 B_{12} 投与前、直後、 $2, 4, 6, 8, 24, 48$ 時間の全身計測および全身縦軸線スキヤニングを行なった。本装置は r 線の $0.1\mu\text{Ci}$ 程度まで感受が可能であり、スキヤニング速度 $20\text{cm}/\text{min}$ 、記録紙の送りスピード $15\text{cm}/\text{min}$ 、検出器はほぼ 1cm 幅で体横径の総放射活性を感受する条件に設定して測定した。なお体内残存率は投与直後の放射能を 100% として計算した。

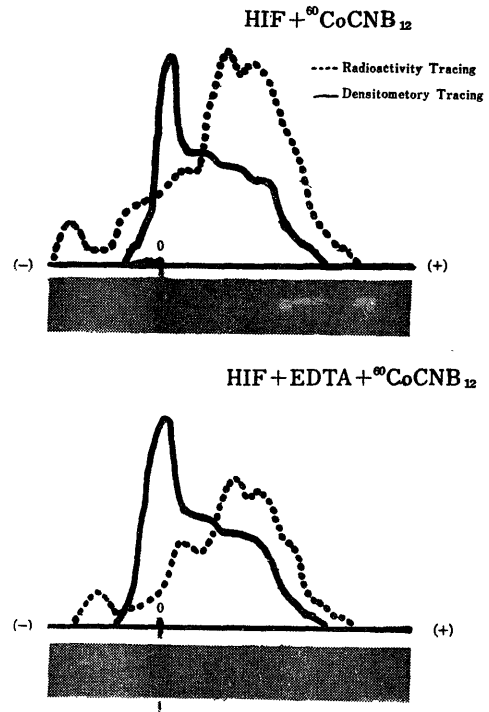
2) B_{12} 非生理的大量投与時の吸収試験

最初に豚内因子 (以下 HIF と略す) と ^{60}Co -CN- B_{12} との組合せたものと ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), HIF および ^{60}Co -CN- B_{12} との組合せたものとの間に HIF- ^{60}Co -CN- B_{12} の結合状態に基本的な差の有無を調べる目的で、 $\text{pH } 8.6$ のペロナール緩衝液 (イオン強度 0.05) を使用して濾紙電気泳動を行ない、図 1 に示すように両者間に HIF- ^{60}Co -CN- B_{12} の結合状態に基本的な差異がないことを確認した。次に EDTA 2g と ^{60}Co -CN- B_{12} $1.0\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ を同時投与したものと、EDTA 2g , ^{60}Co -CN- B_{12} $1.0\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ その上に Carrier として、CN- B_{12} $5,000\mu\text{g}$ を加えて経口投与したものを前記の方法により、糞および尿中排泄率測定、全身計測および全身線スキヤニングを行ない、その吸収動態を観察した。

2. B_{12} の体内分布および turnover について

B_{12} 投与法として ^{60}Co -CN- B_{12} は光に対して安定であるので、普通に行なう静脈注射で $1.0\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ を投与し、 ^{57}Co -coenzyme- B_{12} は光に対して不安定であるので分解をさける目的で遮光用褐色注射器を

図 1. ^{60}Co - B_{12} -内因子複合体の濾紙電気泳動および放射活性の分布図。(Veronal Buffer, $\text{pH } 8.6$, $I=0.05$ で泳動)



使用するか、または使用しなかった場合は可及的すみやかに静脈内注射を行なった。投与量は $1.5\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ を使用した。投与直後より $1, 2, 4, 6, 8, 24, 48$ 時間と経時的に前記の方法による全身計測、全身線スキヤニングを行ない、 B_{12} の分布および turnover を観察した。

3. B_{12} 負荷による B_{12} の排泄について

1) 経口投与時について

経口投与法は上記に示したように行ない、同時に Schilling 法¹¹⁾に準じて投与後 2 時間 CN- B_{12} $1,000\mu\text{g}$ を筋肉注射し尿および糞中排泄率測定、全身計測、全身線スキヤニングを上記のような時間間隔で 48 時間まで行なった。

2) 非経口投与時について

B_{12} の体内分布および turnover の実験後、肝臓に充分に集積した後、本実験では B_{12} 投与後 35 日目に第 1 回の CN- B_{12} $1,000\mu\text{g}$ を筋肉注射し、その後 $2,000\mu\text{g}$ を連続 5 日間投与し、その時の変動を全身計測および全身線スキヤニングで追跡し、負荷前の最大放射能を 100% として体内残存率を求めた。

実験成績

I. B₁₂ の吸収について

1. B₁₂ の生理的投与時の吸収について

1) 正常対照例の ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の吸収動態 (図2)

正常対照例5例について検討したが図2に示すように ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 経口投与直後の放射能分布は胃部と思われる部位に1個の peak が認められる。投与後2時間にはその peak は下腹部に移動し、その後8時間までは peak には著明な変化を認めなかった。投与後48時間には尖鋭な peak は消失し肝臓部と思われる部位になだらかな peak が残存するのみとなる。全身計測においては体内残存率は48時間には75%となり、糞中、尿中排泄率の合計とその出納がほぼ一致する。

2) 正常対照例における ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の吸収動態について (図3)

正常対照例男女各々1例について検討した。 ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 投与時と異なり経時的に投与後48時間まで追跡しても尖鋭な peak は得られなかった。しかし糞尿中への排泄にはとくに変化は認められなかった。

2. B₁₂ 非生理的大量投与時の吸収について

1) EDTA 2.0g と ⁶⁰Co-CN-B₁₂ とを同時投与した場合の吸収動態について (図4)

正常対照例1例について検討した。 ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の生理的投与時のもの (図2) に比して、下腹部に尖鋭な peak が得られず、48時間の肝臓部の peak もまったく消失し糞中排泄率は77.6%と増加し、体内残存率は25%と明らかに減少している。

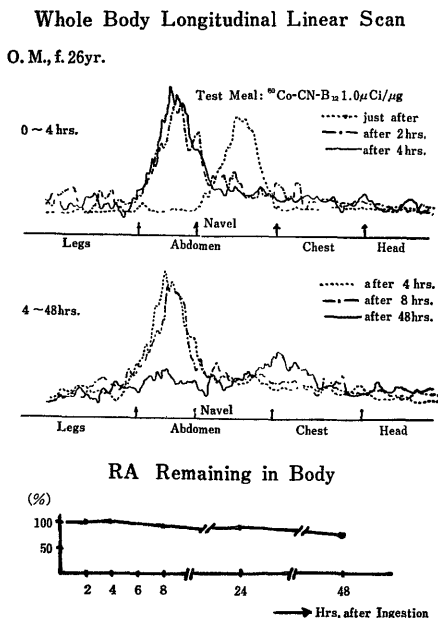
2) EDTA 2.0g, ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μ Ci/ μ g および carrier として CN-B₁₂ 5,000 μ g を同時投与した場合の吸収動態について (図5)

正常対照例1例について検討した。図5に示すように下腹部の尖鋭な peak の存在は認めなかったが、48時間の肝臓部にかすかな peak が認められ、体内残存率も前記の carrier なしの条件下での実験に比して60%と明らかに高く、糞中排泄率も25.7%と減少を示した。

3. 各種疾患における生理的量の投与時の B₁₂ の吸収動態について (図6, 図7)

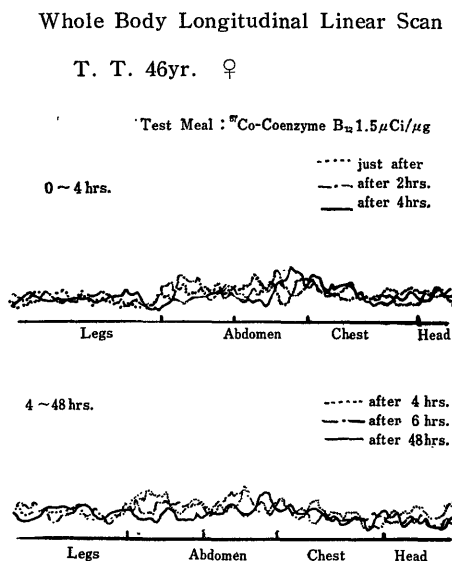
正常対照例の吸収動態と比較してほとんど変化の認められなかったものは赤白血病、再生不良性貧血、担

図2. 正常例における ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μ g 経口投与時の全身縦軸線スキャンによる吸収動態, 体内残存率および糞尿排泄率



Fecal Output: 18.0% per 96hrs.
Urinary Output: 0.3% per 24hrs.

図3. 正常例における ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ 経口投与時の全身縦軸線スキャンによる吸収動態, 体内残存率および糞尿排泄率.



Fecal Output: 9.4% per 72hrs.
Urinary Output: 0.6% per 24hrs.

鉄赤芽球性貧血, 鉄欠乏性貧血, 慢性肝炎, 薬物中毒による肝障害, 悪性腫瘍, 甲状腺機能障害例であった。肝硬変症および胆道癌では図6, 7にみられるように48時間における肝臓部の peak がほとんど認められず, また体内残存率も低下し, 糞中排泄率の増加が認められた。同様の变化が肝癌, サラセミア, 真性多血症にも認められた。

II. B₁₂ の体内分布および turnover

1. 正常対照例における非経口投与時の体内分布および turnover (図8)

正常対照例2例について検討した。2例とも図8に示すように ⁶⁰Co-CN-B₁₂ は, 静注直後, 体の厚みに比例した分布状態を示し, 48時間後には肝臓部への放射能の集積がみられ, 他の部位では放射能の減少がみられた。体内残存率の変化はきわめてゆるやかな減少を示した。⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ についても同様の観察をおこなったが, ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の場合に比してとくに大きな差異は観察されなかった。

2. 若干の疾患における分布と turnover

1) 悪性貧血 (図9)

1例のみの検討であるが, 図9のように ⁶⁰Co-CN

-B₁₂ および ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ とともに24時間で肝臓部への集積が最大となり, 48時間ではすでに両者とも減少傾向を示した。しかし体内残存率については正常例より著明に減少していることは認められなかった。

2) 肝硬変症 (図10)

肝硬変症5例について観察を行なったが, 図10に示すように48時間の肝臓部での peak は ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の方が ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の方より尖鋭であった。体内残存率は極めてゆるやかであった。

3) 慢性肝炎 (図11)

慢性活動性肝炎7例について検討を加えたところ, ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ が24時間で肝臓部の peak が最高となるが, ⁶⁰Co-CN-B₁₂ は投与後6日目になってはじめて peak が最高となった。

4) 消化吸収不良症候群 (図12)

検討症例は1例であるが, 図12に示すように ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の肝臓部への集積はかなり活発な様子を示したのに, ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ は24時間で peak が最高に達したが, 48時間では平低化の傾向が認められた。しかし体内残存量は対照例と著明な変化は認め

図4. 正常例における ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μg, EDTA 2g 経口投与時の全身縦軸線スキャンによる吸収動態, 体内残存率および糞尿中排泄率。

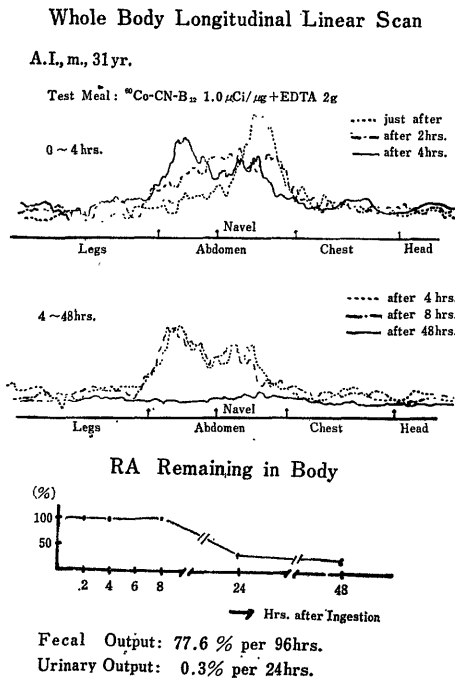
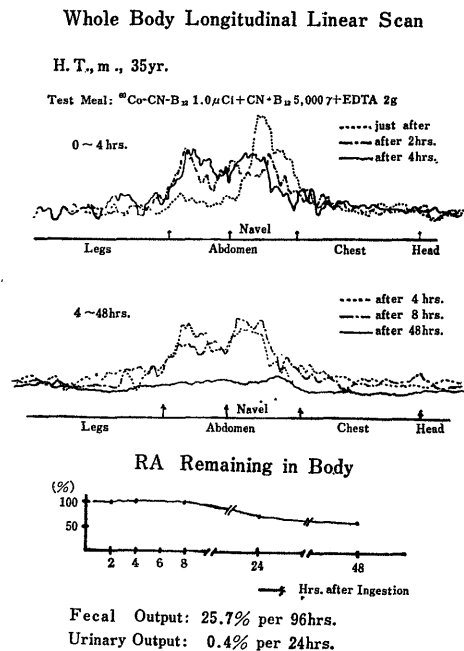


図5. 正常例における ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μg, CN-B₁₂ 5,000 μg および EDTA 2g 経口投与時の全身縦軸線スキャンによる吸収動態, 体内残存率および糞尿中排泄率。



られなかった。

III. B₁₂ の排泄について

1. 正常対照例における排泄について (図13)

Schilling Test 時に行なうように CN-B₁₂ 1,000 μg の筋注で flushing すると内服後 4 時間までの吸収動態は生理的投与量を内服させて実験した場合 (図 2) と同様の変化を示したが、4 時間後における動態はすでに若干の peak の平低化の傾向が認められ、8 時間すなわち flushing 後 6 時間における peak は著明に平低化している。体内残存率を示したグラフにおいても flushing 後 2 時間以後減少傾向がみられた。48 時間後の動態では peak はまったく消失し、48 時間の尿中排泄率は 24.5% 前後と増加したが、糞中排泄率は flushing しない場合と大差を認めなかった。

2. 肝臓内に集積された B₁₂ の排泄について (図14)

静注法で B₁₂ を上記の実験条件で投与した後、最初 CN-B₁₂ 1,000 μg 筋注法で負荷してもほとんど排泄には影響なく、2,000 μg を 5 回計 11,000 μg を投与してもわずかに 6~8% の体内残存率の減少しか認めなかった。

3. 若干の疾患について

表 1 に示すように 1,000 μg の CN-B₁₂ の負荷では排泄にほとんど影響はみとめられず、10,000 μg の負荷でようやく肝硬変症および悪性貧血例で排泄増加が認められた。

考 按

B₁₂ の吸収機構については以前より二重機構の存在が知られている。その一つは B₁₂ の生理的量を投与した場合の吸収機構であり、他は非生理的大量投与の場合である。今回の実験においてはまずこの生理的量の ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の経口投与における吸収を外表測定により動的に観察したわけであるが、最初胃部と目される部位に尖鋭な peak が生じ、この部位で内因子と B₁₂ が B₁₂-内因子複合体を形成⁵⁾¹²⁾ したと考えられる。2 時間後には下腹部に peak が移動したが、これは腸への B₁₂-内因子複合体の移動と考え、4 時間より 8 時間までの動的観察では著明な変化を認められなかったことは小腸管内通過時間および B₁₂ 吸収部位¹³⁾ の小腸粘膜への吸着⁶⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾ と解釈してもさしつかえないと思う。48 時間での肝臓部でのゆるやかな peak

図 6. 肝硬変症例における ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μg 経口投与時の全身縦軸線 スキャンによる吸収動態、体内残存率および糞尿中排泄率。

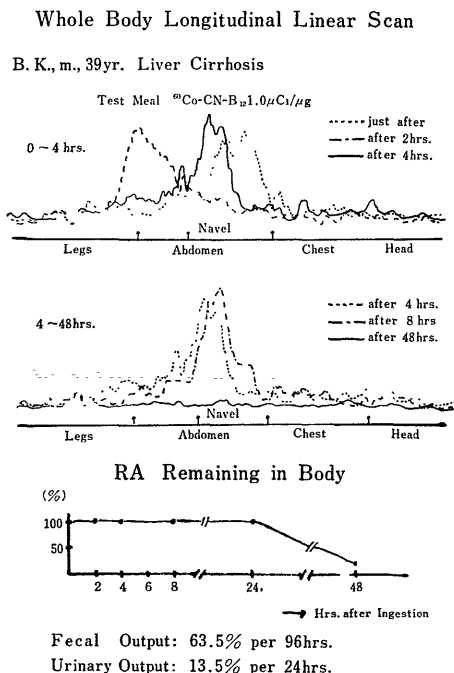
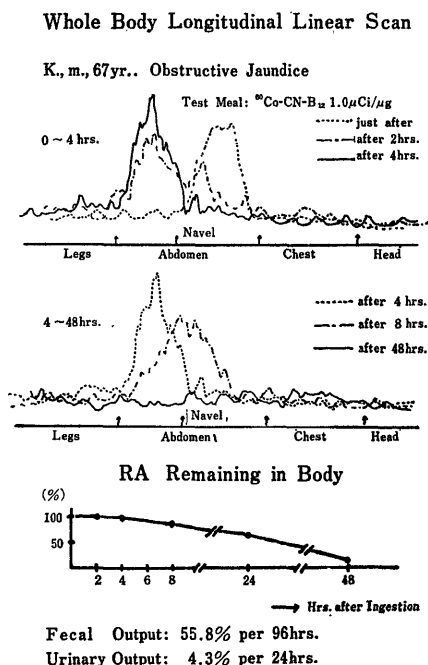


図 7. 胆道癌例における ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μg 経口投与時の全身縦軸線スキャンによる吸収動態、体内残存率および糞尿中排泄率。



は、 B_{12} が小腸粘膜を通過し、門脈をへて体内に運搬され¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾肝臓へ集積されたものと理解できる。しかしここで B_{12} -内因子複合体から B_{12} を遊離させる releasing factor の存在の有無が問題となるが、現在のところこの問題に関しては充分に解明されておらず、 B_{12} -内因子複合体がそのまま吸収される説²¹⁾、遊離型 B_{12} と胃液結合 B_{12} との間に競合が行なわれ B_{12} の交換がなされるという Donaldson ら²²⁾ の交換説などがある。しかし今回の実験ではそのような点まで分析できない。

次に正常例における ^{57}Co -coenzyme- B_{12} の生理的投与量の吸収に関する実験成績を考察する。Heinrich ら²³⁾は正常人で ^{60}Co -CN-DMC (5,6-dimethylbenzimidazolyl-cyanocobamide) と純粋の ^{60}Co -coenzyme- B_{12} の吸収を比較検討しているが、それによると ^{60}Co -coenzyme- B_{12} の吸収は低いと報告し、ラットでの実験では逆の成績を得たと報告している。Herbert ら²⁴⁾も coenzyme- B_{12} の吸収を調べ、CN- B_{12} との比較検討をしている。この際彼らは Schilling 法にもとづく尿中排泄法で吸収状態を観察し、coenzyme- B_{12} は投与後24時間の尿

中排泄率より48時間のものの方が高く、体表測定では両剤を経口投与してから 5日目より 2週間まで肝臓への集積状態はほぼ等しく、coenzyme- B_{12} の方が CN- B_{12} に比較して他の部位すなわち脾、前胸部、仙骨部に多く放射能が観察され、計算では体内残存がかなり多く存在していると報告している。一方 Okuda ら⁸⁾は、ラットでは Heinrich とは別の結果すなわち coenzyme- B_{12} と CN- B_{12} との腸管吸収にはあまり差異がないと報告している。本実験においては48時間までの経過しか追跡していないが、著明な peak が得られなかったのは Herbert らの報告のように吸収から排泄までの coenzyme- B_{12} の代謝がゆるやかなのかも知れない。

EDTA 自身が B_{12} と内因子との complex を形成する際に阻害するかどうかという問題があるが、今回の実験では本質的には EDTA と ^{60}Co -CN- B_{12} との組合せと、その上に内因子を加えた組合せとの間に濾紙電気泳動上差異をみとめなかった点より、EDTA は B_{12} -内因子複合体形成そのものには影響しないと考えられる。

Herbert²⁵⁾ は健康人に空腸ゾンデをのませ、そこ

図8. 正常例の放射性 B_{12} 静注後の体内分布
上段: ^{60}Co -CN- B_{12} 投与時のもの
中段: ^{57}Co -coenzyme B_{12} 投与時のもの
下段: 体内残存率

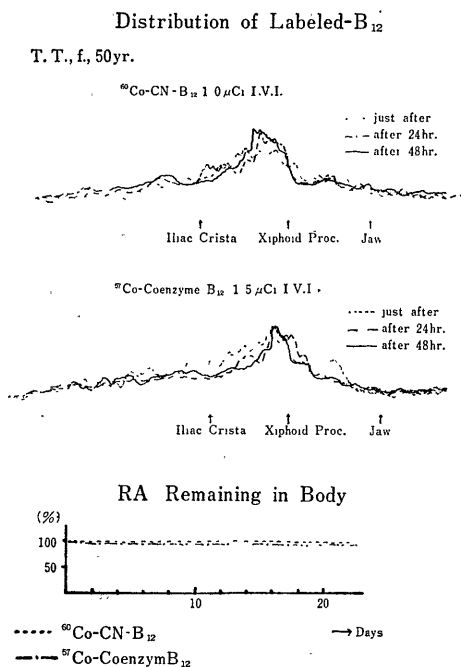
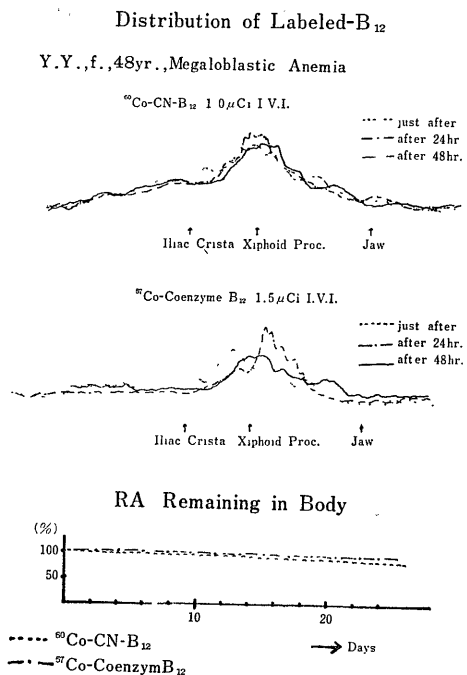


図9. 悪性貧血例の放射性 B_{12} 静注後の体内分布
上段: ^{60}Co -CN- B_{12} 投与時のもの
中段: ^{57}Co -coenzyme B_{12} 投与時のもの
下段: 体内残存率



から放射性 B₁₂ と内因子と EDTA を注入して B₁₂ の吸収を調べている。それによると EDTA により放射性 B₁₂ の吸収はほぼ完全に阻止されるが、ひきつづき Ca⁺⁺, Fe⁺⁺, Mg⁺⁺, Cr⁺⁺, その他 2 価, 3 価のイオン溶液を注入すると Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Sr⁺⁺ の 3 つのみが EDTA の吸収阻害作用を中和すると報告されている。Okuda²⁶⁾ はシロネズミの洗滌小腸ループを *in vivo* で用いて調べているが, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Sr⁺⁺ などのイオン存在下での B₁₂-内因子複合体をおくと約40分の間に粘膜に吸着されるが, EDTA を使用するとこれらの吸着現象が見られなかったと報告している。また Okuda²⁷⁾ はヒトについて B₁₂ の粘膜への吸着を EDTA で腸洗滌をすることにより B₁₂ が粘膜よりはずれてくる現象を確認している。今回の実験においても EDTA 投与例で投与後 4 時間より 8 時間における下腹部の尖鋭な peak が得られないこと, 48 時間の肝臓部の peak の消失, 体内残存率の低下および糞中排泄率の増加という結果は EDTA が B₁₂-内因子複合体の腸粘膜への吸着現象を阻害したものと解される。

非生理的大量投与による B₁₂ の吸収は早くから一般に知られている。Okuda²⁸⁾ はシロネズミ腸管ループを使用し大量の B₁₂ を投与した場合には EDTA の B₁₂ 吸収阻害はおこらないことを証明し, また無胃者に B₁₂ 1,000 μ g を経口投与すると有胃者に同量の B₁₂ を投与した時よりも血中 B₁₂ 量の増加がすみやかであり, しかも著明であると報告している。以前にはこの機構は質量の法則に従うといわれていたが今日では反論もあり明らかでない。しかし内因子が介在しない場合の方が吸収は時間的に速いようである。今回の実験においては EDTA であらかじめ B₁₂-内因子複合体の吸着現象を阻害しておき, その上に大量の B₁₂ を経口投与することによって非生理的大量投与時の B₁₂ の吸収をみたわけであるが, EDTA 2.0g と B₁₂ 1.0 μ g 投与時の吸収動態とは明らかに異なり 48 時間における肝臓部になだらかな peak が出現し, 非生理的大量投与を行なえば, EDTA の影響をうけずに腸管より吸収される B₁₂ が一部存在すること, および内因子の介在がなくても B₁₂ の吸収がおこなわれることを物語っている。なお今回の実験において吸収時間の

図10. 肝硬変症例の放射性 B₁₂ 静注後の体内分布。
 上段: ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 投与時のもの。
 中段: ⁵⁷Co-coenzyme B₁₂ 投与時のもの。
 下段: 体内残存率

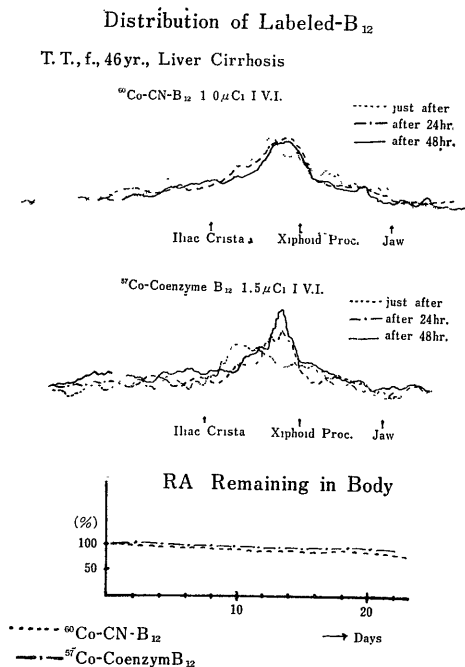
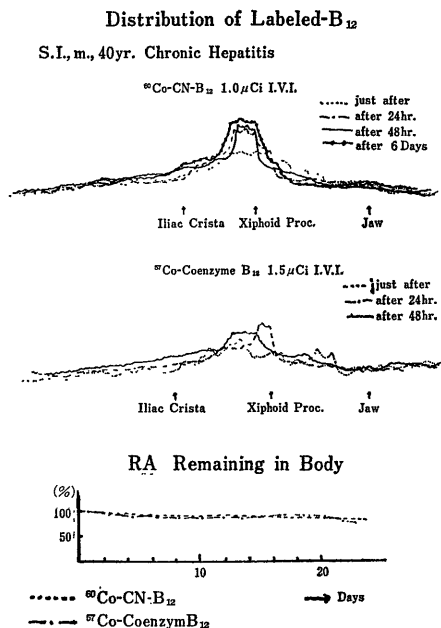


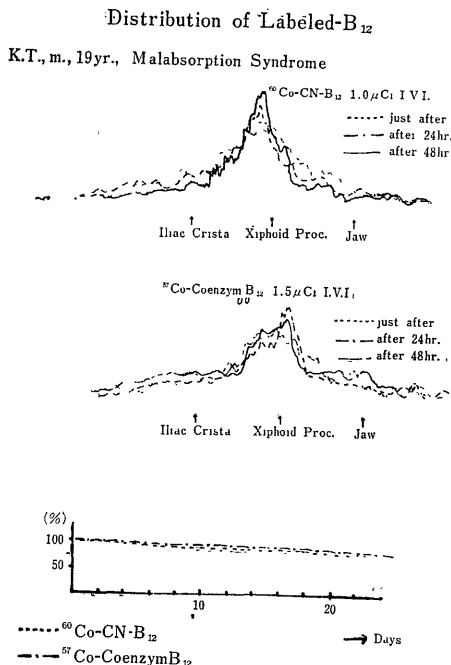
図11. 慢性肝炎例の放射性 B₁₂ 静注後の体内分布。
 上段: ⁶⁰Co-CN-B₁₂ 投与時のもの。
 中段: ⁵⁷Co-coenzyme B₁₂ 投与時のもの。
 下段: 体内残存率



問題すなわち内因子の介在のない場合のほうが吸収がすみやかであるかどうかという点は方法論的に不適当であり観察できなかった。

各種疾患におけるB₁₂の吸収については今回の実験では少数例もあるが、肝硬変症、サラセミア、真性多血症においてB₁₂の肝臓集積状態の低下がみられた。これに関する臨床研究は数多く報告されているので、これらの一、二を紹介しながら考察を加えてみよう。Doscherholmen²⁹⁾はSchilling法でB₁₂の吸収を観察しているが、腸管よりの吸収障害が存在する疾患以外はすべて正常であったと報告している。一方Spärchezら³⁰⁾はSchilling法に準じて⁵⁸Co-CN-B₁₂を投与して肝臓部への集積状態を調べているが、それによると正常者や慢性肝炎で安定化してしまった症例に比較して慢性活動性肝炎や肝硬変症では集積状態は明らかに低下している。しかし腸管でのB₁₂の集積状態は慢性活動性肝炎では著明に上昇している。またflushingを行わずに経口投与して観察した場合でも慢性活動性肝炎や肝硬変症では低下しているとのべ、彼等はこの結果を腸管よりの吸収のもの

図12. 消化吸収不良症候群例の放射性B₁₂静注後の体内分布。
上段: ⁶⁰Co-CN-B₁₂投与時のもの。
中段: ⁵⁷Co-coenzyme B₁₂投与時のもの。
下段: 体内残存率。



の障害よりも肝臓でのB₁₂の取り込みの障害ではなからうかと推測し、とくにその機構の中で腸管から吸収されて肝臓へ行く時の放射性B₁₂の化学的構造が取り込まれるのに不適当な構造をしているのではないだろうかと推測している。一方、右京ら³¹⁾³²⁾の実験では肝障害時に尿中のmethylmalonic acid (MMAと

図13. 正常例における⁶⁰Co-CN-B₁₂ 1.0 μg 経口投与2時間後にCN-B₁₂ 1,000 μgでflushingした時の全身縦軸線スキャン、体内残存率および糞尿中排泄率

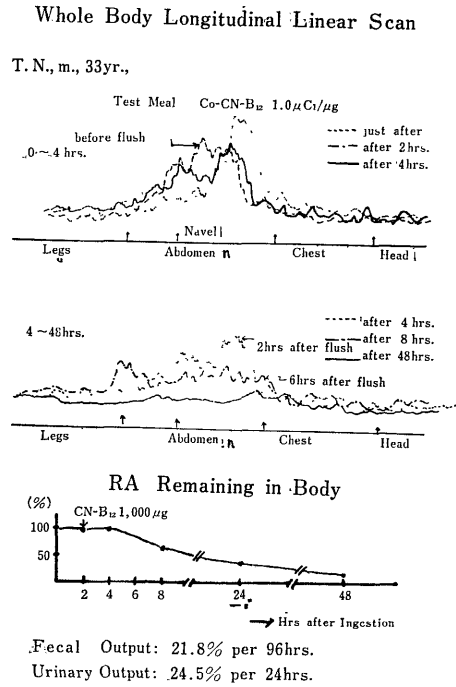


図14. 組織に蓄積された放射性B₁₂に対するCN-B₁₂大量負荷の影響

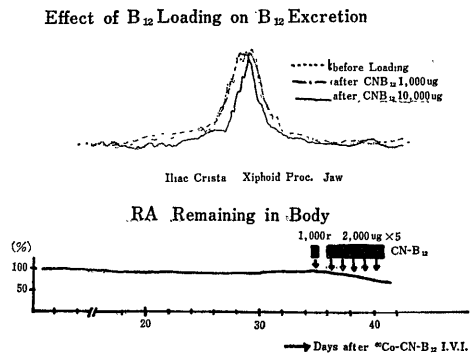


表1. 肝臓内の放射性 B₁₂ に対する CN-B₁₂ 大量負荷による影響

Materials				Before B ₁₂ Loading	CN-B ₁₂ 1,000 μg	CN-B ₁₂ 2,000 μg × 5
Name	Sex	ys	Diagnosis			
S. I.	♂	40	Control	100%	100%	93.6%
T. T.	♀	46	Liver cirrhosis	100%	92.7%	78.2%
Y. Y.	♀	48	Megaloblastic Anemia	100%	100%	58.0%
K. T.	♂	19	Malabsorption Syndrome	100%	100%	100.0%

略す)を測定し、被検肝疾患患者総数53例中30例、すなわち56.6%に尿中 MMA 排泄増加を認めたと報告している。今回の実験では Spärchez らのいうように慢性活動性肝炎例にはっきりした肝臓への⁶⁰Co-CN-B₁₂の集積状態の低下は認められなかったが、この理由は明らかでない。肝硬変症の場合は諸家の検査所見と一致して、⁶⁰Co-CN-B₁₂の取り込みは低下していた。サラセミアの場合の肝臓部への集積状態の低下は病理解剖で hemochromatosis を合併していたことを確認している³³⁾、そのための高度の肝臓障害をきたし、B₁₂の代謝障害をきたしたものと考えられる。真性多血症に肝腫が伴うことはよく知られ³⁴⁾³⁵⁾、また肝硬変症を合併することも外国ではしばしば報告されている。しかし本邦では稀とされている³⁶⁾。今回の実験に使用した症例は2例とも肝腫はもちろんのこと、肝機能検査および酵素的検査(GOT, GPT, LDH)にも異常所見はみられなかったのに、48時間後のB₁₂の肝臓部への集積状態が欠如している原因は現在のところ不明であり症例をふやして検討を行なわなければならない問題である。

非経口的投与方法によるB₁₂の体内分布とturnoverに関する実験報告は、人体においては少ない³⁰⁾³⁷⁾³⁸⁾。39)。諸家の結果では正常人における肝臓部での集積状態は投与後1時間より上昇を認め、24時間後にはplateauの状態に達すると報告している。なおSpärchezら³⁰⁾は同時に循環血液中の放射性B₁₂の消失曲線をもとめているが、それによると第1相では半減期は13秒と報告している。内野ら³⁹⁾の実験では、CN-B₁₂、coenzyme-B₁₂ともに肝臓、腎臓への分布は他の臓器より高く、肝臓への集積状態は、coenzyme-B₁₂の方が速く、CN-B₁₂はやや遅れて集積されると報告している。Heinrichら²³⁾も同様に観察を行ない、coenzyme-B₁₂の方が組織親和性が大であると推測している。これに反し、鈴木ら⁴⁰⁾はメチルコバラミンの生体内運命に関する実験をこころみ、とくに

B₁₂同族体への転換という点からメチルコバラミンが投与後3時間して肝臓、腎臓で90%程度hydroxocobalamin(OH-B₁₂)、5,6-dimethylbenzimidazolyl cobamide coenzyme(DBC coenzyme)分画に現われ、組織親和性としてはDBC coenzymeまたはOH-B₁₂の方がより高いように思われると報告している。今回の実験において正常例では諸家の実験同様注射直後は体の厚みに比例するように分布し、その後徐々に放射性B₁₂は肝臓に集積され、24時間で肝臓部の曲線はplateauに達しこの集積状態は48時間でも変化を認めなかった。しかしCN-B₁₂とcoenzyme-B₁₂の集積状態の間に大差は認めなかった。体内残存率は両者の間にとくに差はなく、20日程度の測定では投与時の体内残存率と比較して変化を認めなかった。このことに関してはReizenstein⁴¹⁾はB₁₂の生物学的半減期は約1年という長い期間であるというから、今回の実験のような短時間の観察では結論を出すのに短かすぎるのかも知れない。

悪性貧血の病因は内因子の欠如によるB₁₂の吸収障害にあることは周知の事実であるが、この際のB₁₂の代謝異常については現在でも完全に知られているわけではない。例えば悪性貧血時に生ずる特徴的な巨赤芽球の発生についても部分的な事実しか得られていない。すなわち巨赤芽球の発現はB₁₂欠乏期だけのものではなく葉酸欠乏時にも認められ、この時の巨赤芽球の発生機序はpurine合成の初期のone carbon transferおよびpyrimidine合成のdeoxyuridine monophosphateからthymidylic acidの生成障害によるものだという事は明確にされている⁴²⁾。このことに着目し実際に悪性貧血患者の骨髓細胞のRNA/DNA比が高くないこと⁴³⁾、骨髓巨赤芽球のautoradiography検索結果S期、G₂期の延長が示唆されること⁴⁴⁾からB₁₂欠乏時の巨赤芽球の出現は核酸合成の障害を推測させる。この核酸合成障害は最初LactobacillusにおけるB₁₂欠乏時のribonucleotide

reductase 活性の低下によって DNA 合成障害がおこる事実⁴⁵⁾⁴⁶⁾から説明がこころみられたが、この所見は動物の骨髄内赤芽球では認められないとする報告⁴⁷⁾⁴⁸⁾があり、一応現在ではこの考えは放棄された。一方生体反応で補酵素型葉酸の役割の1つとして homocystine より methiomin に転換する際関与する N_5 -methyl FH₄-homocystine transmethylase が prosthetic group として methyl B₁₂ を含んでいることが細菌およびシロネズミ肝で知られている⁴⁹⁾⁵⁰⁾。また B₁₂欠乏症の場合尿中の forminoglutamic acid (FIGL) がしばしば証明されたり⁵¹⁾、血中の葉酸の上昇例の報告⁵²⁾より葉酸合成への過程で関与する点で B₁₂ も関与することが考えられるようになった。すなわち deoxyuridine monophosphate より thymidylate への反応 thymidylate synthetase の媒介を必要とするが、その点で B₁₂ が関与しているように思われるようになってきた。事実 thymidylate synthetase 活性の低下をうらづける研究報告⁵³⁾がなされている。しかし B₁₂欠乏時のすべてが pyrimidine 合成の関与で説明すべきでなく、もちろん purine 合成の関与も考慮に入れなければならない。今回の実験において悪性貧血例で静注後1日肝臓へ大部分が集積され、その後肝臓部の B₁₂ の集積が減少するが、全身の体内残存量には変化のないことから注入された B₁₂ は骨髄での上記の生体反応に参与するために、すみやかに肝臓より骨髄へ動員されたと解釈される。

B₁₂ は肝臓に集積された後、肝臓内で coenzyme-B₁₂ に転換され⁵⁴⁾⁵⁵⁾⁵⁶⁾貯蔵される。この coenzyme-B₁₂ は肝臓内では methyl malonyl CoA isomerase の cofactor として propionic acid の代謝過程における methylmalonyl CoA の succinyl CoA への異性化に関与することが明らかとなった⁵⁷⁾⁵⁸⁾。この事実をうらがきする臨床所見として肝障害時において右京ら³¹⁾は前述したように薄層クロマトグラフィ法を用い、肝疾患患者の L-valine (10g) 経口投与後の尿中 MMA を測定し、急性肝炎では尿中の MMA の増加は認めなかったが肝硬変症や慢性活動性肝炎では増加した症例が多かったと報告している。またこの肝疾患で尿中 MMA の増加した症例に coenzyme-B₁₂ を筋注して尿中 MMA の減少または消失した事実をみとめている。右京ら³²⁾は基礎実験として CCl₄ で肝障害をおこさせたシロネズミの尿中 MMA 排泄におよぼす CN-B₁₂ および coenzyme-B₁₂ 投与の影響を調べているが、coenzyme-B₁₂ 筋注投与群では筋注前に平均 408.2 μ g/日であった尿中 MMA 排泄が筋注後には平均 232.9 μ g/日まで著明に減少したのに

反し、CN-B₁₂ 筋注投与群では筋注後平均 383.8 μ g/日の排泄にとどまり、あまり減少を示さなかったと報告し、これらの事実より肝障害時における B₁₂ の代謝障害は CN-B₁₂ より DBC-coenzyme-B₁₂ への転換障害であると推測している。同時に彼ら³²⁾は CCl₄ 障害シロネズミ肝、腎の B₁₂ 摂取率を調べているが、肝摂取は DBC-coenzyme-B₁₂ 投与群の方が CN-B₁₂ 投与群の約2倍も高いのに対し、腎摂取は逆に CN-B₁₂ 投与群の方が DBC-coenzyme-B₁₂ 投与群より高かったといっている。今回の実験の結果においても、48時間で肝硬変症および慢性活動性肝炎で ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の方が peak が鋭鋭であることは諸家の報告のように ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の肝臓への親和性が高いことを意味しているものと思う。しかし慢性活動性肝炎例で CN-B₁₂ の plateau に達する時間が coenzyme-B₁₂ よりおくれる理由については今回の実験結果からは不明である。

消化吸収不良症候群1例は上記の悪性貧血例に比較して ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の48時間の peak がそれ程低下していないのは、体内の B₁₂ の量によるものであろう。すなわちこの症例は以前に CN-B₁₂ の投与がなされており貧血も軽度であり投与された CN-B₁₂ の残存量が悪性貧血例より大であるためであろう。その他はとくに悪性貧血例と大差はみとめなかった。

B₁₂ 尿中排泄試験は Schilling によって確立され、B₁₂ 0.5 μ g を経口投与しその腸管からの吸収は投与後約3時間経って血漿に出現し、血漿濃度が最高に達する時間は8時間より12時間とされている⁵⁹⁾。吸収された B₁₂ は投与後約6時間までは組織と結合しない free vitamin B₁₂ として血漿中に存在するものが多く、この free vitamin B₁₂ は腎臓よりすみやかに排泄される⁶⁰⁾⁶¹⁾。その後 B₁₂ は組織親和性を増し、一旦組織と結合すれば flushing をしても尿中に排泄されない状態になるとされている。従って Miller ら⁶²⁾は flushing を行なう場合は投与後約6時間以内に行なわなければ、B₁₂ の尿中排泄量が減少し、値が不正確となると強調している。今回の実験は Schilling 法に準じて施行したものであるが、内服後4時間までの吸収動態は生理的量を投与した場合と同様の変化を示したが、4時間からすでに若干 peak の平低化が認められ、8時間後には著明な peak の平低化をきたしている。これらは上述のように血漿中の free vitamin B₁₂ が flushing されて尿中へ排泄されたものと解釈できる。これは、flushing した場合、糞中排泄率は flushing をしない場合とほぼ同様である

のに、尿中排泄率が増加する事実で根拠づけられている。

Doscherholmen⁶³⁾ は非経口的大量投与法で B₁₂ を負荷した場合一旦体内に蓄積された B₁₂ がどのように影響をうけるかという実験をこころみているが、肝臓の放射性 B₁₂ の集積状態が最高に達した時を100%とし、その時点より毎日連続 CN-B₁₂ 1,000 μg を筋注し肝臓の放射能活性を測定し、最初の 1,000 μg のみでは全く変化なく、負荷総計 62,000 μg で肝臓の放射能活性が49.5%になり、対照は82.6%と明らかな差を認めたと報告している。著者は今回の実験で正常例と若干の疾患例において B₁₂ 負荷時の肝臓に蓄積された放射性 B₁₂ の変動を調べたが、総負荷量 11,000 μg では肝臓部の放射能活性にほとんど変動はみられず、肝硬変症、悪性貧血例でのみ減少傾向を認めたと過ぎなかった。

結 論

B₁₂ の吸収、体内分布および排泄に関して従来の方法と異なる全身計測、全身線スキヤンを用い、正常例および若干の疾患例について検討し次の結果を得た。

1. ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の生理的吸収は、下部腸管のかなり局限した部位で投与後 2～8 時間の間集積状態が続き、その後徐々に主として肝臓に担送され、48時間にはかなり肝臓に ⁶⁰Co-CN-B₁₂ が集積される。

2. ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の生理的量を投与した場合は特別な peak は得られなかったが糞中尿中排泄率の増加は認められなかった。

3. ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の非生理的大量投与時では内因子と関係なく程度は弱い、⁶⁰Co-CN-B₁₂ は吸収され、肝臓内に集積が認められた。

4. 肝硬変症、肝癌、サラセミア、真性多血症例に ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の生理的量を投与した場合、48時間の肝臓部の peak はほとんど認められなかった。

5. ⁶⁰Co-CN-B₁₂ および ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の注射後の体内分布に関しては、ともに肝臓部が主な集積臓器と考えられる。また悪性貧血および消化吸収不良症候群例では48時間の肝臓部の peak は減少傾向を示し、肝硬変症例では48時間の肝臓部の peak が ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ の注射時の方が、⁶⁰Co-CN-B₁₂ 注射時よりも尖鋭であり、慢性活動性肝炎では ⁵⁷Co-coenzyme-B₁₂ が投与後 24時間で肝臓部の peak が最高に達するのに反し、⁶⁰Co-CN-B₁₂ は投与後 6日目に peak が最高となった。すなわち、肝疾患時には coenzyme-B₁₂ の吸収および肝臓内集積は CN-B₁₂ より高い傾向を示した。

6. B₁₂ 負荷による B₁₂ 吸収および肝臓内に集積された B₁₂ におよぼす影響をみるに、正常者に ⁶⁰Co-CN-B₁₂ の経口投与後 2時間以内に CN-B₁₂ の非経口的大量投与を行ない flushing すると 48時間後の肝臓部の peak は認められなかった。また静脈注射 35日後肝臓に B₁₂ が蓄積された時期に、11,000 μg の B₁₂ を負荷し肝臓部の peak の変動および全身計測による変動を追跡するに、両者とも著明な変動を示さなかった。このことは B₁₂ は一旦組織(肝)に蓄積されると外部からの条件たとえば B₁₂ の大量負荷のような条件を加えられてもあまり動かないことを示唆している。他方、肝硬変症例、悪性貧血症例に、同じ B₁₂ を負荷実験すると肝臓集積量の減少傾向と B₁₂ の排泄増加を示した。

稿を終るにあたり、終始ご懇篤なご指導とご校閲を賜った恩師村上元孝教授、服部純一教授の謝意を表わすとともに、研究にご協力いただいた金沢大学第二内科黒田満彦博士、熊登逸学士、東福要平学士、北陸中央病院高田孝学士に深謝いたします。

文 献

- 1) Berk, L., Castle, W. B., Welch, A. D., Heinle, R. W., Anker, R. & Epstein, M. : *New Eng. J. Med.*, **239**, 911 (1948).
- 2) Rickes, E. L., Brink, N. G., Koniuszy, F. R., Wood, T. R. & Folkers, K. : *Science*, **107**, 396 (1948).
- 3) Smith, E. L. : *Nature*, **161**, 638 (1948).
- 4) Rosenblum, C. & Woodbury, D. T. : *Science*, **113**, 215 (1952).
- 5) Cooper, B. A. & Castle, W. B. : *J. Clin. Invest.*, **39**, 199 (1960).
- 6) Okuda, K. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 320 (1962).
- 7) Barker, H. A., Weissbach, H. & Smyth, R. D. : *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **44**, 1093 (1958).
- 8) Okuda, K. & Tantengco, V. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **110**, 396 (1962).
- 9) Wong, V. G., LaCombe, M., Okuda, K. & Chow, B. F. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **10**, 134 (1962).
- 10) 永井輝夫 : 日本血液学全書(日本血液学会編), 第6巻一Ⅱ術式. 965頁, 東京, 丸善株式会社, 1965.
- 11) Schilling, R. R. : *J. Lab. Clin. Med.*, **42**, 860 (1953).
- 12) Gräsbeck, R. : *Advances Clin. Chem.*, **3**, 299 (1960).
- 13) Booth, C. C. & Million, D. L. : *Lancet*, **1**, 18 (1959).
- 14) Abels, J., Vegter, J. M., Wordring, M. G.,

- Jans, J. H. & Nieweg, H. O. : Acta Med. Scand., 165, 105 (1957). 15)
- Doscherholmen, A. & Hagen, P. S. A. : J. Clin. Invest., 36, 1551 (1957). 16)
- Okuda, K. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 113, 229 (1963). 17) Ellenbogen, L. & Highly, D. R. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 113, 229 (1963). 18) Herbert, V., Cooper, B. A., & Castle, V. B. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 110, 315 (1962). 19)
- Reizenstein, P. G., Cronkite, E. P., Meyer, L. M., Usenik, E. A. & Driscoll, D. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 105, 233 (1960). 20)
- Taylor, K. B. & French, J. E. : Quart. J. Exp. Physiol., 45, 72 (1960). 21) Ukyo, S. & Cooper, B. A. : Am. J. Physiol., 208, 9 (1965). 22) Donaldson, Jr., R. M., R. M. & Katz, J. H. : J. Clin. Invest., 42, 534 (1963). 23) Heinrich, H. C. & Gabbe, E. E. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 112, 871 (1962). 24) Herbert, V. & Sullivan, L. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 112, 855 (1962). 25) Herbert, V. : J. Clin. Invest., 38, 102 (1959). 26) Okuda, K. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 320 (1962). 27)
- Okuda, K. & Mito, T. : J. Vitamin., 11, 281 (1965). 28) Okuda, K. : Am. J. Physiol., 199, 84 (1960). 29)
- Doscherholmen, A. : Studies in the Metabolism of Vitamin B₁₂, p. 83, Minneapolis, The University of Minnesota Press, 1965.
- 30) Spârchez, T., Gheorghescu, B., Jovin, Gh. & Merculiev, E. : Nuclearmedizin, 7, 371 (1968). 31) 右京成夫・脇坂行一 : 綜臨, 17, 1749 (1968). 32) 右京成夫・脇坂行一 : 代謝, 5, 535 (1968). 33) Murakami, M., Izumi, H., Morimoto, S., Kuroda, M., Kawamura, Y., Nishino, T. & Sakurai, N. : Acta Haem. Jap., 32, 336 (1969).
- 34) Calabresi, P., Meyer, O. O. : Ann. Int. Med., 502, 1182 (1959). 35) Shval, A. R. : Arch. Int. Med., 62, 925 (1938).
- 36) 日比野進・山崎健之・栗田宗次 : 日本血液学全書 (日本血液学会編), 5巻・661頁, 東京, 丸善株式会社, 1962. 37) Glass, G. B. J., Boyd, L. J. & Gellin, G. A. : Blood, 10, 95 (1955). 38) Meyer, L. M., Berlin, N. I., Jiminez-Casado, M. & Arkun, S. N. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91, 129 (1956). 39) 内野治人・右京成夫・矢切良穂・脇坂行一・笈 守 : ビタミン, 25, 190 (1962). 40) 鈴木紘一・遠田 稔・桑 徳明・大前清甫・内野治人 : ビタミン, 40, 358 (1969).
- 41) Reizenstein, P. G. : Acta Med. Scand., 165, 467 (1957). 42) O'Brien, J. S. : Cancer Res., 22, 267 (1962). 43) Glaser, H. S., Mueller, J. F., Jarrold, J., Sakurai, K., Will, J. J. & Vilter, R. W. : J. Lab. Clin. Med., 43, 905 (1954). 44) Uchino, H. : Acta Haem. Jap., 29, 491 (1966).
- 45) Beck, W. S., Goulian, M. & Hook, S. : Biochim. Biophys. Acta, 55, 407 (1962).
- 46) Blakley, R. L. & Barker, H. A. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 16, 391 (1964).
- 47) Blakley, R. L., Ghambeey, R. K., Nixon, P. F. & Vitols, E. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 20, 439 (1965).
- 48) Bolinder, A. & Reichard, P. : J. Biol. Chem., 234, 2723 (1959). 49) Kerwar, S. S., Mangum, J. H., Scrimgeour, K. G., Brodie, J. D. & Huennekens : Arch. Biochem., 116, 305 (1966). 50) Taylor, R. T. & Weissbach, H. : J. Biol. Chem., 242, 1517 (1967). 51) Zalusky, R. & Herbert, V. : J. Clin. Invest., 41, 1134 (1962).
- 52) Waters, A. H. & Mollin, D. L. : Brit. J. Haemat., 9, 319 (1963). 53) Killmann, S. : Acta Med. Scand., 175, 489 (1964).
- 54) Uchino, H., Ukyo, S., Yagiri, Y., Yoshino, T. & Wakisaka, G. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 112, 844 (1964). 55) Pawelkiewicz, J., Gorna, M., Fenrych, W. & Mogas, M. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 112, 641 (1964). 56) Uchino, H., Yagiri, Y., Kondo, N. & Wakisaka, G. : Nature, 205, 176 (1965). 57) Flavin, M., & Ochoa, S. : J. Biol. Chem., 229, 965 (1957).
- 58) Bech, W. S. : New Eng. J. Med., 266, 708, 765, 814 (1962). 59) Doscherholmen, A. & Hagen, P. S. : J. Clin. Invest., 35, 699 (1956). 60) Sokoloff, M. F., Sanneman, E. H. & Bread, M. F. : Blood,

7, 234 (1952). 61) Mollin, D. L. & Ross,
G. I. M. : J. Clin. Path., 6, 54 (1953).
62) Miller, A., Corbus, H. F. & Sullivan,
J. F. : Blood, 12, 347 (1956). 63)

Doscherholmen, A. : Studies in the Metabo-
lism of Vitamin B₁₂, p. 219, Minneapolis,
The University of Minnesota Press, 1965.

A b s t r a c t

Numerous studies of the absorption metabolism and excretion of vitamin B₁₂ have been made by various methods. However there have been few reports on the metabolism of vitamin B₁₂ studied on human subjects using the median level whole body counter. In an attempt to evaluate the data on the absorption, distribution and excretion of vitamin B₁₂ obtained mainly by counting ⁶⁰Co-labelled B₁₂ in blood, urine, feces, liver and intestinal tissues, the author, using ⁶⁰Co-cyanocobalamin (⁶⁰Co-CN-B₁₂), ⁵⁷Co-5,6-dimethylbenzimidazolyl cobamide (⁵⁷Co-Coenzyme-B₁₂) and the median level whole body counter, investigated the metabolism of vitamin B₁₂ in both normal and pathological conditions.

Materials used here were 12 normal subjects and 43 patients with hepatic diseases such as liver cirrhosis, chronic active hepatitis, and hepatoma, blood disorders such as pernicious anemia, polycythemia vera, thalassemia, malabsorption syndromes, etc.

1. Dynamic study using the median level whole body counter showed that immediately (5min) after a peroral administration of ⁶⁰Co-CN-B₁₂, 1.0 μg, to normal subjects, a sharp, pronounced spike-like curve appeared possibly in the stomach region; then during a period of 24-48 hours a low curve with its broadest base near the liver region was seen. In the case of a peroral administration of ⁵⁷Co-Coenzyme-B₁₂, 1.0 μg to normal subjects, none of the above-mentioned curves were seen.

2. In simultaneous, peroral administrations of EDTA 2 g and ⁶⁰Co-CN-B₁₂, 1.0 μg, there resulted no accumulation of radioactivity in the liver region during a period of 24-48 hours, but instead, an increase (77.6%) in the fecal excretion of ⁶⁰Co-CN-B₁₂. Thus, it was likely that EDTA inhibited the intestinal adsorption and/or absorption of B₁₂-intrinsic factor-complex. On the other hand, in simultaneous, peroral administrations of EDTA, 2 g, ⁶⁰Co-CN-B₁₂, 1.0 μg and CN-B₁₂, 5,000 μg, the second curve at the iliac region was not seen, although the third curve at the liver region still appeared. Thus it was likely that the perorally administered CN-B₁₂ in a large dose could be absorbed regardless of the presence of either intrinsic factor or EDTA (a possible inhibitor).

3. In the patients with liver cirrhosis, the patterns of absorption and/or distribution of ⁶⁰Co-CN-B₁₂ up to 48 hours were not different from those in the normal subjects, but the third curve at the liver was definitely lower than that in the normal subjects. The same change was seen in the patients with hepatoma, thalassemia and polycythemia vera.

4. Comparative study of the effect of ⁶⁰Co-CN-B₁₂, 1.0 μg and ⁵⁷Co-Coenzyme-B₁₂, 1.5 μg showed that both forms of B₁₂ were accumulated mostly in the liver, but under pathologic conditions the degrees were different with diseases. In the patients with pernicious anemia and malabsorption syndrome, the accumulation rate at the liver was lower than that in the normal subjects. In the patients with liver cirrhosis, the radioactivity of ⁵⁷Co-Coenzyme-B₁₂ in the liver region was higher than that in the case of ⁶⁰Co-CN-B₁₂. In the patients with chronic active hepatitis, the maximal radioactivity of ⁵⁷Co-Coenzyme-B₁₂ was found in 24 hours, whereas that of ⁶⁰Co-CN-B₁₂ in 6 days.

5. To see a flush-out effect of a large dose of CN-B₁₂, CN-B₁₂ 1,000 μg was parenterally injected to a normal subject who had 2 hours prior to the injection, been given ⁶⁰Co-CN-B₁₂, 0.1 μg perorally. The human counting on this subject showed that the

second curve in 4 hours at first appeared normally but with a shift of peak adsorption to an area located nearer the chest region; it soon thereafter became lower and disappeared in 8 hours, and the third curve at the liver was no longer detected.

6. To see the effect of the administration of a large dose of B₁₂ upon the amount of B₁₂ accumulating in the liver, 11,000 μ g of CN-B₁₂ was parenterally given in fractionated dosage for 5 days to a normal subject and the patients with pernicious anemia, liver cirrhosis, who had previously been given ⁶⁰Co-CN-B₁₂. The results revealed that the accumulated vitamin B₁₂ in the liver did not change in the normal subject, but in the above-mentioned patients it was decreased while urinary excretion of vitamin B₁₂ was increased. The explanation for this change remained to be resolved in the future.
