

健康人の血清鐵, 鐵結合能 및 transferrin saturation 測定에 關하여

서울大學校 醫科大學 臨床病理學科

蔡 範 錫

= Abstract =

Determination of Serum Iron, Iron-Binding Capacity and Transferrin Saturation in Health.

B.S. Tchaj, M.D.

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Nutritional anemias are an important nutritional problem affecting large population groups in most developing countries. Many reports on investigations of nutritional anemias have been published and there is good evidence that prevalence of iron deficiency anemias in vulnerable groups is high in many areas of the world.

However, there is a general lack of accurate data on its prevalence throughout the world. Methods used to measure different factors have been variable and often of poor quality. Furthermore recent comparison of values obtained in different laboratories have shown a much greater discrepancy in iron binding capacity measurements as compared with serum iron determinations. Since the major cause of these differences appears related to the technique employed, the efforts of the central laboratory will be directed initially to standardization of methodology. My laboratory has been joined interlaboratory comparison of WHO studies of iron standardization.

The determination of serum iron, iron-binding capacity and transferrin saturation was done on healthy adults, 79 males and 20 females, who visited hospital for health certificate from January to July 1970.

The serum iron was determined by the method of modification of Bothwell and Mallett and total iron binding capacity by Ramsay method and Bothwell and Mallett method.

The results of this study are as follows;

- 1) The serum iron concentration of seventy nine adult male by the method presented is $131.5 \pm 37.3 \mu\text{g}/100\text{ml}$. (range $52.5 \sim 225.0 \mu\text{g}/100\text{ml}$) and of twenty female adult is $108.5 \pm 40.2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (range $45.0 \sim 202.5 \mu\text{g}/100\text{ml}$).
- 2) The adult male level of serum iron-binding capacity is $330.9 \pm 48.9 \mu\text{g}/100\text{ml}$ and adult female is $291.2 \pm 55.2 \mu\text{g}/100\text{ml}$.
- 3) The transferrin saturation of healthy male is $35.6 \pm 12.8\%$ (range $15.1 \sim 18.0\%$) and of female as $25.4 \pm 12.4\%$ (range $10.1 \sim 60.0\%$).

序 論

造血因子的攝取不足으로 생기는 榮養性貧血은 熱帶 및 亞熱帶 地域에 있어서 大端히 見인되고 있는 榮養 缺乏症의 하나이다.

血清鐵濃度는 鐵攝取量, 消化器管으로부터의 鐵의 吸收能力, 骨髓의 血色素 生成能力, 赤血球 破壞의 程度等에 依해서 影響되며 또한 肝細胞의 破壞가 있을때 變動된다.

血清鐵(S.I.) 및 血清鐵結合能(TIBC)의 定量은 이들

의 因子의 異常을 招來하는 疾患 特別히 鐵缺乏性貧血, 溶血性疾患, 出血性肝疾患等の 診斷에 있어서 重要한 意義를 가지고 있다.

따라서 血清鐵測定方法에 關한 關心度는 全世界的으로 커가며 여러나라에서 血清鐵定量的 簡便, 正確 및 精密性에 對한 研究가 行해지고 있다. WHO에서는 1968년부터 血清測定方法 標準化를 爲하여 International Committee for Standardization in Hematology의 Expert Panel on Iron과 緊密한 關係를 갖고 研究하고 있다. 著者도 이 研究의 一環으로 血清鐵定量的 標準化를 爲해서 일하고 있으며 健康한 男女를 對象으로 WHO에서 추천하고 있는 本測定方法으로 血清鐵 및 血清鐵結合能을 測定하여 報告하는 바이다.

實驗方法

血清鐵의 定量은 Bothwell & Mallet¹⁾ 變法을 使用했으며 血清鐵結合能測定은 Ramsay²⁾法에 依해 FeCl₃첨가, MgCO₃處理를 한後 Bothwell & Mallet 變法으로 測定하였다.

實驗에 使用되는 모든 容器는 酸處理를 한後 鑛物質을 除去한 蒸溜水로 세척하여 使用하였다. 使用되는 試藥도 역시 無鑛物質의 蒸溜水로 만들어서 使用하였다.

1) 對象

서울大學校 醫科大學 附屬病院 外來에 1970年 1月

부터 6月까지 身體檢査를 받기위해 來院한 健康한 男子 79名과 女子 20名을 對象으로 하였다.

2) 試藥:

i) 2 NHCl

ii) 20% TCA: 明示된 Fe 함유량이 0.005% 이상이면 Fe 遊離裝置를 使用하여 再蒸溜해서 使用하였다.

iii) Saturated Sodium Acetate 2.5M:

iv) Sulfonated Bathophenanthroline 0.2%: SIGMA社製 Sulfonated Bathophenanthroline을 使用하여 0.2% 溶液을 만들고 100 ml 당 1 ml 석의 thioglycolic acid를 加해서 混和後 使用하였다. 이 溶液을 2個月마다 새로 調製하여 使用하였다.

v) Iron standard solution: ferrous ammonium sulphate로 調製하며 溶液時 Hydrolysis를 防止하기 위하여 1 μg/ml, 2 μg/ml, 3 μg/ml의 濃度로 稀釋時에는 0.005 N-HCl을 使用하였다.

vi) Saturating FeCl₃ solution: anhydrous ferric chloride를 使用해 5 μg/ml 濃度の 溶液을 만들었다. 또는 FeCl₃·6H₂O를 使用하여 同濃度の 용액을 調製하였다. 4°C에서 보관하고 매달 새로 調製하여 使用하였다.

vii) Light MgCO₃: magnesium carbonate, basic을 使用하였다.

3) 測定法

血清鐵測定:

Table 1. Workform for an Analysis of Serum Iron and Iron-Binding Capacity.

	Reagent Blank(R.B.)	Standard (Std)	Serum Iron (SI)	Iron-Binding Capacity (TIBC)
Serum	—	—	1.0	1.0
Deionized water	0.5	—	—	—
Std.	—	0.5	—	—
FeCl ₃	—	—	—	1.0
Light MgCO ₃	—	—	—	stand fro 15 min. 200 mg mix, centrifuge (1500 G. 15 min.)
Supernatant	—	—	—	1.0
2NHCl	0.25	0.25	0.5, stand for 15 min.	0.5,
20% TCA	0.25	0.25	0.5, Mx. centrifuge (1500 G, 15min.)	0.5, 500Mix centrifuge (1 G. 15 min.)
Supernatant	—	—	1.0	1.0
Saturated NaAc	0.5	0.5	0.5	0.5
0.2% Sulfonated Bathophenanthroline	0.1	0.1	0.1	0.1

Read the OD. of RB., Unk., Std. against the water-filled cuvette at 535 nm with Beckman spectrophotometer. Model B.

血清과 試藥은 恒常 1:1.5의 容量比를 維持하였다. 試驗管에 血清 1ml를 加하고 2 N HCl를 0.5 ml 加하여 混和後 10分間 放置하였다가 20% TCA를 0.5 ml 加하고 parafilm으로 封하고 强하게 振盪하고 1500 G에서 15分間 遠心分離하여 血清蛋白質을 除去한 後 上清液 1 ml을 取하여 飽和 sodium acetate 0.5 ml를 加하여 中和하여 後 sulfonated bathophenanthroline을 加하여 呈色시킨 後 적어도 10分間 放置한 後 2時間 內에 波長 535 mμ에서 Beckman B spectrophotometer를 使用하여 再蒸溜水를 blank로 하여 optical density를 測定하였다.

血清鐵結合能測定:

血清鐵測定時와 同量의 血清을 取하여 5 μg/ml 濃度의 FeCl₃ 溶液을 加하고 混和後 15分間 放置하고 MgCO₃ 200 mg을 加하고 parafilm으로 封하고 振盪하여 混和한 後 1500 G에서 15分間 遠心分離하여 過剩의 Fe를 除去한다. 上清液을 取하여 血清鐵測定時와 같은 處理를 하여 optical density를 測定하여 計算後 그 값에 2倍하여 준다.

4) 計算:

實驗에서 얻은 Unknown, Standard, Reagent Blank의 O.D.를 다음의 式에 依하여 濃度를 計算하거나 standard curve(標準曲線)를 利用하여 求하였다.

$$f = \frac{\text{Fe Concentration of Std. } (\mu\text{g/ml})}{\text{O.D. of Standard} - \text{Reagent Blank O.D.}}$$

$$\text{SI}(\mu\text{g}/100\text{ml}) = f \times (\text{O.D. of Unknown} - \text{O.D. of Reagent Blank}) \times 100$$

$$\text{TIBC}(\mu\text{g}/100\text{ml}) = f \times (\text{O.D. of Unknown} - \text{O.D. of Reagent Blank}) \times 100 \times 2$$

Serum Transferrin Saturation(%)

$$= \frac{\text{Serum Iron}(\mu\text{g}/100\text{ml})}{\text{Total Iron Binding Capacity}(\mu\text{g}/100\text{ml})} \times 100$$

實驗結果

1) 血清鐵濃度

本實驗에서 얻은 男女別 血清鐵 測定值의 分布는 表 2와 같다. 體重이 59.1±4.8 kg이고 身長이 166.0±3.4 cm인 健康한 男子 79名의 血清鐵濃度의 平均値는 131.5±37.3 μg/100 ml이고 體重이 52.1±2.4 kg이고 身長이 161.4±1.7 cm인 健康한 女子 20名의 血清鐵 平均値는 108.5±40.2 μg/100 ml였다. 血清鐵測定值의 分布를 보면 男子는 52.5~225.0 μg/100 ml의 範圍에 分布되어있으며 100 μg/100 ml以下가 20.2%였고 女子는 45.0~202.5 μg/100 ml의 範圍에 들며 100 μg/100 ml以下가 40%나 되었다.

또한 女子의 血清鐵測定值가 男子의 血清鐵測定值보다 낮았다. 貧血解當值인 50 μg/100 ml以下에 드는 例는 男子에는 없으나 女子는 19例中 1例로 5.5%가 있었다.

2) 血清鐵結合能:

健康한 男子 78名과 健康한 女子 18名의 血清鐵結合能 測定值의 男女別 分布는 表 3와 같으며 男子의 血清鐵結合能·平均値는 330.9±48.9 μg/100 ml이며 女子의 血清鐵結合能, 平均値는 291.2±55.2 μg/100 ml이다.

血清鐵濃度와 마찬가지로 女子의 血清鐵結合能은 男子의 血清鐵結合能보다 낮았다. 男子의 血清鐵結合能의 分布는 260~467.5 μg/100 ml의 範圍內에있으며 400 μg

Table 2. Serum Iron

Total number of cases	Mean	S.D.	Proportion(%) of cases with the following serum iron levels (μg/100ml)													
			20	20~39	40~59	60~79	80~99	100~119	120~139	140~159	160~179	180~199	200~219	220~239	≥240	
M 79	131.5	37.3	—	—	1.2	10.1	8.9	13.9	24.1	20.3	12.7	5.1	2.5	1.2	—	
F 20	108.5	40.7	—	—	5	30	5	20	30	—	—	5	5	—	—	

Table 3. Iron Binding Capacity

Total number of cases	Mean	S.D.	Proportion(%) of cases with the following total serum iron binding capacity(μg/100 ml)												
			149	150~199	200~249	250~299	300~349	350~399	400~449	450~499	500~549	550~599	600~649	650~699	≥700
M 78	330.9	48.9	—	—	1.3	24.4	43.6	20.5	8.9	1.3	—	—	—	—	—
F 18	291.2	55.2	—	—	—	5.5	16.7	33.3	27.8	16.7	—	—	—	—	—

Table 4.

Transferrin Saturation

Total number cases	Mean S.D.	Proportion of cases with the following transferrin saturation values(%)											
		0~10	10.1~15	15.1~20	20.1~30	30.1~40	40.1~50	50.1~60	60.1~70	70.1~80	80.1~90	90.1~100	≥100
M 77	35.61 2.8	—	—	5.2	14.3	27.1	36.2	10.8	3.9	2.6	—	—	—
F 18	25.41 2.4	—	5.6	22.2	38.9	16.7	5.6	11.0	—	—	—	—	5.6

/100 ml 이상은 10.2% 이었다.

여자의 경우 295.0~485.0 μg/100 ml 의範圍에 分布되며 400 μg/100 ml 이상이 44.5%나 되었다.

3) 血清 Transferrin Saturation.

健康한 男子 77名 및 女子 18名의 血清 Transferrin saturation 値의 男女別 分布는 表 4와 같다. 男子의 平均値는 35.6±12.8%이고 女子의 平均値는 25.4±12.4% 이었다. 15%以下는 男子에서는 없고 女子에 있어서는 5.6%나 되었다. 分布範圍를 보면 男子가 15.1~80.0%, 女子는 10.1~60.0%에 分布되어 있다.

考 按

韓國에서 貧血中 가장 發生頻도가 높은 鐵缺乏性貧血 그리고 鐵分代謝에 影響을 미치는 感染性疾患, 榮養不足, 寄生虫感染症等 各種 疾患의 鑑別診斷 및 治療을 위해 簡便하고 正確한 血清鐵濃度 測定方法이 필요로 要求되고 있다.

血清鐵測定法은 일찌기 Warburg³⁾에 의해 鐵의 生化學의 研究에 이어서 1937年 Heilmeyer & Plötner⁴⁾가 測定法을 發表한 以來 Kitzes, Elvehjem & Schuette⁵⁾法 Trinder⁶⁾法, Balkan & Walker⁷⁾法, Bothwell & Mallett¹⁾法, Peterson⁸⁾法, Ramsay^{2,9,21)}, Peters et al¹⁰⁾等 많이 研究되어 왔다.

이들 血清鐵測定法들은 實驗에 있어서 主要한 三段階, 即 1) transferrin으로부터 Fe을 完全 遊離시키고 2) 血清蛋白을 除去하고 3) 呈色시키고 比色하는 段階는 共通의이나 各段階의 操作時에 여러가지 方案을 提示하고 있다. 그러나 무엇보다도 어느 案이 가장 正確히 그리고 簡便하게 生體內 極微量인 血清鐵量을 測定해 낼 수 있는가가 問題인 것이다.

實驗 첫段階인 transferrin(iron-binding globulin)으로부터의 Fe 遊離는 酸性液性에서 (pH 5以下) 遊離가 이루어지는데 Barkan²²⁾이 使用하는 稀釋된 HCl濃度 (0.2~0.35N)에서는 Fe 遊離가 不完全(75~80%程度) 하였으나 Barkan & Walker와 Schales¹¹⁾는 Reducing agent를 HCl과 같이 併用시키므로써 Fe 遊離의 完

全을 期하고 있다. Peters et al¹⁰⁾은 同時에 還元劑로 thioglycolic acid를 併用하고 있으나 몇몇 學者들은 thioglycolic acid같이 강한 還元劑 使用으로 hemoglobin으로부터의 Fe 遊離를 招來할 우려가 있다하여 이의 使用을 避하고 있다. 獨逸系 및 스칸디나비아系 學者¹³⁻¹⁹⁾들은 HCl濃度를 1~6N程度로 強하게 하므로써 나중에 中性化를 爲해 많은 量의 알카리가 必要하기는 하나 Fe의 完全 遊離를 시킬수 있다고 한다. Bothwell & Mallett¹⁾는 中間程度의 濃度の HCl 使用을 提案하고 있다. Barkan & Walker⁷⁾에 의한 測定値는 Ramsay^{9,21)}에 의하면 高濃度の HCl 使用을 主張하는 Heilmeyer & Plötner⁴⁾와 比較할때 좀 낮게 나오고 있다. 著者는 International Committee for Standardization in Hematology의 Expert Panel on Iron에서 추천하는 本 血清鐵測定法을 擇하여 2NHCl을 本實驗에서 Fe 遊離에 使用하고 있는데 本法은 또한 WHO의 technical group에서 現在하고 있는 Standardization of Methodology on Iron에도 使用하고 있는 것이다.

둘째단계로 呈色을 妨害하는 血清蛋白除去를 爲해서 Schade²⁰⁾는 血清蛋白을 沈澱시키지 않고 pH6에서 ascorbic acid를 使用하여 血清蛋白을 除去하고 있으며 Valhquist¹⁹⁾는 ultrafiltration으로 血清蛋白을 除去하며, Ramsay²¹⁾는 hydroxylamine을 使用하여 血清蛋白을 除去했으나 濾過는 誤差의 原因이 되므로 hydroxylamine 대신 sulphite를 代置^{9,21)}하므로써 誤差를 적게 할 수 있다고 한다.

Peterson⁸⁾은 thioglycolic acid를 使用하여 血清蛋白을 除去했고 Kitzes et al⁵⁾과 Trinder⁶⁾는 TCA와 加熱로, Kochikawa²³⁾는 hydroxylamine과 加熱을 併用하여 血清蛋白을 除去하고 있다. 著者는 本實驗에서 20% TCA를 使用하여 血清蛋白을 沈澱시켜 除去하였다.

또한 Ressler & Zak²⁴⁾는 알카리性 pH에서 多價의 thorium을 作用시켜 血清 蛋白과 結合시켜 除去하고 있다.

셋째段階인 呈色段階에서는 이때까지는 thiocyanate, α-α'-dipyridyl, terpyridine, O-phenanthroline 및 batho-

Table 5. Published Reports on the Normal Range of Serum Iron, Iron finding Capacity and Transferrin Saturation

	Serum Iron ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Total Iron-binding Capacity ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Transferrin Saturation (%)
Moore, C.V. ²⁷	70~180	300~450	30~45
Beutler et al ²⁶	50~180	300~400	
Davidsohn & Nelson ²⁸	75~150	250~400	
Hagedorn ²⁹	60~150		
Ramsay ³⁰			30~40
Heilmeyer & Plötner ⁴	126		
Brendstrup ³⁵ Davies and Oberholzer, ³³ Frederikson ³⁴ Hagberg, Peters et al ¹²	120~146(133)	300~340	
Bainton and Finch ³¹			30~40
李東烈 外二人 ³⁷	114 \pm 2.48		
北口勝美 外三人 ³⁶	107 \pm 28		
著者 (男)	131.5 \pm 37.3	330.9 \pm 48.9	35.6 \pm 12.8
(女)	108.5 \pm 40.2	291.2 \pm 55.2	25.4 \pm 12.4

phenanthroline 을 사용하였다. 이 중에서 주로 α - α' -dipyridyl 을 Ramsay^{9,21)} 등이 주로 사용했고 Peterson 이 異例의으로 感도가 높은 4.7-phenyl-1.10-phenanthroline 을 사용하였으나 물에 不溶性이라서 isoamyl alcohol 이나 n-butanol, n-hexanol 등을 사용해서 押出해야되는 번거로움이 있었으나, Trinder⁶⁾가 그와 感도가 같으나 水溶性인 sulfonated bathophenanthroline 을 만들어 사용하므로써 近來에는 이를 널리 사용하고 있다. 이외에도 Warburg³⁾가 提案하는 cysteine 을 사용하거나 Budtz-Olsen 의 O-tolidine 사용으로 Fe 의 酸化를 일으키는 catalysis 를 利用한다면 感도를 좀더 높일 수 있다.

著者は 本實驗에서 SIGMA 社製 sulfonated bathophenanthroline 을 呈色劑로 쓰고 있으며 이는 unstable 하므로 thioglycolic acid 를 加해서 呈色試藥의 stability 를 높여주었다.

以上과 같이 여러가지 實驗方法이 論議되고 있는데 Ramsay는 그의 論文²⁾에서 Trinder⁶⁾法, Ramsay 法을 modify 한 Fulton²⁴⁾法, Ramsay²⁾法 및 Bothwell & Mallett¹⁾法을 比較實驗한 結果 Bothwell & Mallett¹⁾法에 依한 結果値가 다른 세가지 法들의 測定結果値보다 낮다고(p=0.01) 報告하고 있다.

血清鐵結合能測定法에는 Peters et al¹⁰⁾의 ion exchange resin 을 利用하는 resin method 가 있는데 ferrous ion (ferric ammonium citrate 사용)를 加하여 saturated serum 으로 하여 過剩의 Fe 를 anion exchange resin (Amberlite IRA 410)으로 轉移시켜 測定하는 方法과

Rath & Finch²⁵⁾에 依한 optical method 가 있다. Resin method 로 하는 경우 測定値는 optical method 보다 약간 높다.

血清 TIBC 測定은 血清이 檢體의 食餌攝取, 貯藏으로 因해 物理的 特性을 變化시켜, density 에 影響을 때는 吸光度가 變하게 되므로 optical method 로는 正確히 測定할 수 없다.

Beutler et al²⁶⁾이나 Moore, C.V.²⁷⁾에 依하면 正常血清鐵量, 血清鐵結合能 및 血清 transferrin saturation 은 各各 50~180 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 300~450 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 30~45% 이라고 報告하였다.

本實驗에서 健康한 男女를 그 對象으로 하였으나 正常値의 範圍에 드는 例는 男子가 91.2%, 83%, 63.3% 이고 女子는 90%, 77.8%, 22.3%가 해당된다. 그러므로 健康人中 貧血解當者가 20%程度 된다는 것은 注目할만한 일이다. 本實驗에서 얻은 健康人의 血清鐵量, 血清 TIBC, 血清 transferrin saturation 을 다른 여러사람들의 測定値와 比較해보면 表 5와 같다.

또한 男子와 女子의 各 測定値를 서로 比較해 보면 男子가 女子보다 크다.

結 論

韓國人 健康한 男女를 對象으로 血清鐵, 血清鐵結合能 및 血清 transferrin saturation 을 WHO에서 추천하는 Bothwell & Mallett 變法 및 Ramsay 法으로 測定한 結果는 다음과 같다.

1) 健康한 男子의 血清鐵 測定值의 平均値는 131.5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 이고 分布範圍는 52.5~225.0 이며 標準偏差는 37.3 이었다. 또 血清鐵結合能 測定值의 平均値는 330.9 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 이고 分布範圍는 230~457.5 이고 標準偏差는 48.9 이었다.

2) 健康한 女子의 血清鐵 平均値는 108.5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 이고 分布範圍는 45.0~202.5 이고 標準偏差는 40.2 이었고 血清鐵結合能 平均値는 330.9 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 이고 分布範圍는 295.0~485.0 이고 標準偏差는 55.2 이었다.

3) 健康한 男子의 transferrin saturation 平均値는 35.6 \pm 12.8% 이고 健康한 女子의 transferrin saturation 平均値는 25.4 \pm 12.4% 이었다.

4) 女子의 血清鐵 測定值가 男子의 血清鐵 · 測定值 보다 낮았다.

5) 血清鐵의 貧血解當值인 50 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 以下에 드는 例는 男子에는 없으나 女子는 5.5%가 解當되었다.

6) 血清鐵結合能이 400 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 以上인 男子는 10.2% 이었으나 女子는 44.5%가 解當되었다.

7) 血清 transferrin saturation 이 15% 以下에 解當되는 男子는 없고 女子의 경우 5.6%가 解當되었다.

REFERENCES

- 1) Bothwell T.H. and Mallett, B.: *The determination of iron in plasma or serum*, *Biochem. J.* 59: 599-602, 1965.
- 2) Ramsay, W.N.M.: *The determination of the total iron-binding capacity of serum*, *Clin. Chim. Acta* 2:221-226, 1957.
- 3) Warberg, O., and Kerbs, H.: *Über locker gebundenes kupfer und eisen in blutserum*. *Biochem. Z.* 190:143-149, 1927.
- 4) Heilmeyer, L., and Plötner, K.: *Das serum eisen und die Eisenmangelkrankheiten; Gustav Fischer in Jena.* 1937.
- 5) Kitzes, G., Elvehjem, C. & Schuette, H.: *The determination of blood plasma iron*. *J. Biol. Chem.* 155:653-660, 1944.
- 6) Trinder, P.: *The improved determination of iron in serum*. *J. Clin. Pathol.* 9:170-172, 1956.
- 7) Barkan, G., and Walker, B.: *Determination of serum iron and pseudohemoglobin iron with O-phenanthroline*, *J. Biol. Chem.* 135:37-42, 1940.
- 8) Peterson, R.E.: *Improved spectrophotometric procedure for determination of serum iron*. *Anal. Chem.* 25:1337-1339, 1953.
- 9) Ramsay, W.N.M.: *An improved technique for the determination of plasma iron*. *Biochem. J.* 57, XVII 1954.
- 10) Peters, T., Giovannello, T., Apt, L. and Ross, J.R.: *A new method for the determination of serum iron-binding capacity*. *J. Lab. Clin. Med.* 48:274-279, 1956.
- 11) Schales, O.: *Serum iron. In standard methods of clinical chemistry. Vol. II, (D. seligson, ed.). pp. 69-78. Academic Press, New York, 1958.*
- 12) Peters, T., Giovannello, T., Apt, L., and Ross, J.R.: *A simple improved method for the determination of serum iron*. *J. Lab. Clin. Med.* 48: 280-288, 1956.
- 13) Valhquist, B.: *Das serum eisen. Acta paediat. (suppl. 5) 28:1-374, 1941.*
- 14) Laurell, C.: *Studies on the transportation and metabolism of iron in the body. Actaphysiol. Scand. (suppl. 46) 14:1-129, 1947.*
- 15) Wintrobe, M.: *"Clinical hematology" (4th edition) Lea & Febiger, Philadelphia, Pennsylvania 1956.*
- 16) Hagberg, B.: *The iron-binding capacity of serum infants and children. Acta paediat. Scand. (suppl.) 93:1-80, 1953.*
- 17) Matsubara, T.: *A new method of serum iron determination and commentary on various methods of determination. Kunamoto Med. J. 8:81-92, 1955.*
- 18) Burch, H., Lowry, O., Bessey, O., and Berson, B.: *The determination of iron in small volumes of blood serum*. *J. Biol. Chem.* 174:791-802, 1948.
- 19) Josephs, H.: *Determination of iron in small amounts of serum and whole blood with the use of thiocyanate*. *J. Lab. Clin. Med.* 44:63-74, 1954.
- 20) Schade, A., Oya ma, J., Reinhart, R. and Miller, J.: *Bound iron and unsaturated iron-binding capacity of serum; rapid and reliable determination. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 87:443-448, 1954.
- 21) Ramsay W.N.M.: *The determination of iron in*

- blood plasma or serum. *Biochem. J.* 53:227-231, 1953.
- 22) Barkan, G.: *Eisenstudien. Die verteilung des leicht abspaltbaren Eisens zwischen Blutkörperchen und plasma und sein verhalten unter experimentellen Bedingungen*. *Z. physiol Chem.* 171:194-221, 1927.
- 23) Koshikawa, H., and Konno, K.: *Measurement of serum iron*. *Sogo Igaku* 10:804-805, 1953.
- 24) J.V. Fulton: *To be published.*
- 25) Rath, C., and Finch, C.: *Measurement of iron-binding capacity of serum in man*. *J.Clin. Invest* 28:79-85, 1949.
- 26) Beutler, E., Robson, M.J. and Buttenweiser, E.: *A comparison of the plasma iron, iron-binding capacity, sternal marrow iron and other methods in the clinical evaluation of iron stores*. *Annals of Internal Med.*, 48:60, 1958.
- 27) Moore, C.V.: *Iron, in Modern Nutrition in Health and Disease, Chap. 11:339-364, Lea & Febiger, 4th ed., 1968.*
- 28) Davidsohn, I. and Nelson, D.A.: *The blood, in clinical diagnosis by Laboratory Methods, p. 212-213, Chap. 5, 14th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1969.*
- 29) Hagedorn, A.B.: *Symposium Hematological Disorders; Diagnosis and Treatment of iron-deficiency Anemia, Med. Clin. North America, 40: 983-991, July, 1956.*
- 30) Ramsay, W.N.M.: *Plasma iron in advanced in clinical Chemistry I. p. 19, Academic press, Inc. New York, 1958.*
- 31) Bainton, D.F. and Finch, G.A.: *The diagnosis of iron deficiency anemia, Amer. J. Med., 38: 62, 1964.*
- 32) Balfour, W.M., Hahn, P.F., Bale, W.F., Pommerenke, W.T. and Whipple, G.H.: *Radioactive iron absorption in clinical conditions; Normal, pregnancy, anemia and hemochromatosis. J. Exptl. Med.* 79:15-30, 1942.
- 33) Davies, G., Levin, B., and Oberholzer, V.G.: *The micro-estimation of serum iron and iron-binding capacity in normals and in disease. J. Clin. Pathol.* 5:312-316, 1962.
- 34) Frederikson, K.A.: *Significance of serum iron in differential diagnosis between gastric carcinoma and peptic ulcer. Acta Med. Scand.* 146:259-267, 1953.
- 35) Brendstrup, P.: *Serum copper, serum iron and total iron-binding capacity of the serum during treatment with coli vaccine. Acta Med. Scand.* 146:114-122, 1953.
- 36) 北口勝美外二人：血清鐵結合能の簡易測定ならびに正常者および諸種疾患時の總鐵結合能，臨床病理，16:6, 1968.
- 37) 李東烈, 李文鎰, 李聖浩：鐵 및 銅代謝에 관한 研究. 第1報 韓國人 血清鐵 및 血清銅의 正常值. 서울醫大雜誌 1:1, 1961.