ホヤのバナジウム濃縮機構 —新しい生理化学をめざして—

道 端 齊*

1. はじめに

ホヤが高濃度のバナジウムを濃縮していることは今日よく知られた事実であるが、化学者のこの問題に寄せる関心はきわめて高く、それに応じて主に化学系の雑誌等に総説を著してきた¹⁻⁹⁾。この度、本誌に総説を書く機会を与えられたので、われわれの研究の動機あるいは背景を含めて紹介させていただき、多くの生理学者からも大いなる関心を得て共同研究の輪を広げていきたいと考えている。

地球上には約90種類の元素が存在する。生命体の多くはその中の30種類程度の元素を利用しているに過ぎない。江上は、化学進化や初期生物進化は原始海洋中に多量に溶解していた元素を用いて行われ、微量な元素は触媒の活性中心に使われたと説いている¹⁰⁾。実際、生命体は酸素と窒素、水素などを含む炭素化合物で構成され、ナトリウムやマグネシウム、カリウム、カルシウム、塩素などを電解質として利用し、鉄、亜鉛、銅などを触媒として用いている。これはほぼ海水中の元素の濃度に準じていると言つてよい。

しかるに、ホヤの血球中には最大350mmol/dm³ものバナジウムが濃縮されている¹¹⁾。これは海水中のバナジウムの濃度35nmol/dm³¹²⁾の1,000万倍に相当する。ホヤはどのような機構でこの大きな濃度勾配に逆らってバナジウムを濃縮しているのであろうか、また、多くの生命体の中でどうしてホヤだけがこの元素を濃縮するのであろうか、われわれの研究の出発点は素朴にもここにある。

2. ヘンツェ(Henze)の発見

今世紀初頭はX線や放射能の発見に象徴されるように近代的な科学の高揚がみられた時期である。ドイツのA. Dohrn博士が前世紀後半に創設したナポリ臨海実験所には世界中から様々な分野の研究者

が集い、新しい海洋生物学の拠点となっていた¹³⁾。分析化学の分野では、炎光分光分析法あるいは比色分析法が確立し、生命体に含まれる元素の分析が盛んになり始めた頃に当たる。ドイツの化学者M. Henzeはその先駆者の一人であり、ナポリで得たホヤを比色分析し高濃度のバナジウムが含まれていることを発見した¹⁴⁾。この現象が多くの化学者の興味を引いたことは、それ以降ホヤのバナジウムに関する数多くの論文が発表され^{3, 5, 9, 15-17)}、化学の教科書にも記述されるようになったことから明白である。無脊椎動物と脊椎動物の間に系統学的地位を占めるホヤがバナジウムという特殊な金属元素を濃縮していることに加え、バナジウムがヘモグロビンやヘモシアニンに次ぐ第3の呼吸色素を構成しているかもしれないという可能性¹⁸⁾は、当時脚光を浴びたに違いない。

しかし、Henzeによる初期の顕著な業績の後、この現象の解明は遅々として進まなかった。その大きな原因は、この現象の解明には化学と生物学双方の知識と解析手段が必要であったからである。例えば、Henzeの発見以降ホヤのバナジウムは多くの分析化学者によって定量されているが¹⁵⁻¹⁷⁾、ホヤの系統学を加味してなされたものはほとんどない。また、後述するがバナジウムを濃縮している血球細胞は長年にわたって誤認されてきた^{3, 5, 9)}。このような事実は、生物学的にもきわめて興味深いこの現象が、ほとんど化学者のみによって一方的にアプローチされてきたことを物語っている。

3. バナジウムの定量

ホヤのバナジウム濃縮に対する素朴な疑問から発したわれわれの研究は、過去の文献調査から始まった。しかし、報告されたバナジウムの含有量は分析方法、精度、さらに表示方法も異なるため単純な比

*Michibata HITOSHI, 広島大学理学部附属臨海実験所(〒722 広島県御調郡向島町2445)

図1 放射化分析法によるバナジウム分析 ナツメボヤ *Ascidia ahodori* の血球を立教大学原子力研究所の原子炉を用いて放射化分析した時のγ線スペクトログラムで、血球に含まれるバナジウムの安定元素⁵¹Vは熱中性子によって⁵²Vに放射化され1,434keVのγ線を発する¹⁹⁾。

較は困難であった。加えてそれらのほとんどは1種か2種のホヤを分析したものでしかなかった。

われわれは、日本でのホヤ学の拠点の一つである青森市浅虫の東北大学理学部附属臨海実験所に足しげく通い、沼宮内隆晴助教授にマボヤの解剖学、ユウレイボヤとカタユウレイボヤの見分け方など初歩から教わり、国内外でつぎつぎとホヤを集めて廻った。

バナジウムは分析の困難な金属元素の一つである。比色分析法や蛍光分析法では感度がきわめて低く、原子吸光法もフレイム法ではほとんど分析できない。当時原子炉を用いた中性子放射化分析法が唯一高感度の分析法であった。横須賀市に出力100kwという小さな原子炉を有している立教大学原子力研究所がある。ここは放射化分析等を行う研究者に共同利用が許されていたので、ホヤの試料を持って頻繁に通い、これまでに2亜目20種のホヤについてそれぞれ8種類の器官・組織別のバナジウム含有量を定量した(図1)。その結果判明したことは、①バナジウムは管鰓類に多く褶鰓類にはきわめて少ない、②同時に測定した鉄とマンガンの含有量は種による差異は小さい、③血球細胞に多くのバナジウムが含まれている等であった¹⁹⁾(表1)。

アイルランドのWebb¹⁵⁾は、脊椎動物にもっとも近い無脊椎動物であるホヤの亜目間でバナジウムの含有量が大幅に異なることに着目し、褶鰓類を境と

してそれより進化の程度が高い生物は鉄を利用し、管鰓類以下の動物はそのままバナジウムを利用してきたと主張した。しかし、褶鰓類にはバナジウムに代わるほど多量の鉄やマンガンは濃縮されていなかった。すなわち、バナジウムの含有量のみがホヤの種や系統の違いを反映していたのである。

3亜目のうち、残りの無管類のバナジウム含有量の調査は進行中である。いずれホヤに近縁の動物種についても放射化分析法による検討を行いたい。ごく最近、放射線医学総合研究所の石井紀明博士らによって環形動物のエラコ *Pseudopotamilla ocellata* に高濃度のバナジウムが含まれていることが報告された²⁰⁾。ホヤ以外では初めての報告であり、意外な生命体がバナジウムを濃縮している可能性を示したものといえよう。

4. 血球分離

放射化分析法で分析した結果、ホヤの組織でもっとも高濃度のバナジウムを含む組織は血球であった¹⁹⁾。このことはこれまでの報告と一致する。一方、ホヤは約10種類の血球を有している(図2)²¹⁾。この内、モルーラ細胞と呼ばれる細胞がバナジウムを濃縮している血球(バナドサイト:vanadocytes)であると考えられてきた^{3, 5, 9, 21)}。しかし、イタリアのナポリ大学のde Vincentiis教授らはその頃普及し始めた分析電子顕微鏡で観察すると、モルーラ細胞

表1 主なホヤのバナジウム含有量(mmol/dm³)

	ユウレイボヤ <i>Ciona intestinalis</i>	バナジウムボヤ <i>Ascidia gemmata</i>	ナツメボヤ <i>A. ahodori</i>	スジキレボヤ <i>A. sydneyensis samea</i>	マボヤ <i>Halocynthia roretzi</i>
被囊	0.002	-	2.4	0.06	0.01
筋膜	0.7	-	11.2	0.7	0.001
エラ	2.0	-	12.9	1.4	0.004
血球	3.1	347.2	59.9	12.8	0.007
血漿	0.03	-	1.0	0.05	0.001

文献^{11, 19)}に基づいて計算した。

図2 ホヤの血球 ナツメボヤ *A. ahodori* の血球は10種類に分けられる。そのうちモルーラ細胞(morula cell)が長年バナジウム含有細胞(バナドサイト)と考えられてきたが、シグネットリング細胞(signet ring cell)がバナドサイトであった^{11, 27, 28)}。スケールバーは10μm。

からはバナジウムが検出できないことを報告した²²⁻²⁵⁾。これに対してアメリカのボストン近郊にある Brandeis 大学の Kustin 教授らは前処理の過程でバナジウムが流出したのだと譲らなかった²⁶⁾。

この問題の解決には別の方法が必要であった。われわれは細胞の比重の違いを利用して密度勾配遠心法で血球を分離し、得られたそれぞれの細胞集団のバナジウムを定量すれば、バナドサイトを特定できるのではないかと考えた。Ficoll の密度勾配を作製しそこに血球を載せて低速で遠心すると、血球はそれぞれの比重に応じていくつかの層に分離した。それらのバナジウム含有量を放射化分析法で測定したところ、モルーラ細胞を多く含む層からはバナジウムがほとんど検出されず、シグネットリング細胞を多く含む層に高濃度のバナジウムが含まれていた。すなわち、バナドサイトはモルーラ細胞ではなく、シグネットリング細胞であったのである^{11, 27, 28)}。

われわれにとって、この実験から得たものは大きかった。それは、単に長年にわたるバナドサイトの誤認を正したことに留まらず、複雑な細胞の集まりから目的とする細胞集団のみを高純度で得る技術を確認できたからである。実験系の単純化は次の段階の研究への弾みとなった。

5. バナジウムの原子価

では、バナジウムはバナドサイトの中でどのような化学形で存在するのであろうか。多原子価元素のバナジウムは水溶液中では5価、4価、3価をとり得る²⁹⁻³¹⁾。ホヤのバナジウムに興味を抱いた錯体化学の研究者によって、血球中のバナジウムは4価あるいは3価に還元されていることが報告されていた³²⁻³⁷⁾。しかし、その比率は研究者によって異なっていた。われわれは高純度に分離したバナドサイトを用いてこの問題に取り組んだ。

電子スピン共鳴法(ESR)は4価のバナジウム(VO^{2+})だけを検出できる。バナドサイトの細胞集団を還元気流下、液体窒素温度(77K)でESRで測定すると VO^{2+} に由来する微弱なシグナルが検出できた。試料を空気中で一旦溶解させて血球を壊し、再び77Kで測定するとシグナル強度は増大した。この試料に酸素ガスを吹き込むと経時的にシグナル強度は増大し、24時間で飽和した。このことは、バナドサイト中のバナジウムは元々3価であったが、酸素によって4価に酸化されシグナル強度が増大したことを示唆する。さらにこの試料に過酸化水素を添加するとシグナルは消失した。4価のバナジウムが5価に酸化されESRに検出されなくなったのである(図3)。このESRを用いた実験から元々のバナドサイト中ではバナジウムの97.6%が3価に還元されて蓄積されていることが判明した³⁸⁾。

現在、ホヤによるバナジウムの還元濃縮は図4に模式化したように起こると考えられる。すなわち、海水中で5価の陰イオン(H_2VO_4^- , HVO_4^{2-})として溶解しているバナジウムはホヤのエラを経由して体内に取り込まれ、そこで4価の陽イオン(VO^{2+})に還元される。さらにバナドサイトの膜を通して濃縮されたバナジウムは3価(V^{3+})まで還元されて蓄積される。

このホヤの事例を除き、バナジウムが低酸化状態の3価で生体中に存在することは報告されていない。そのため、天然物化学者や錯体化学者はバナジウムを還元する物質の探索さらにはバナジウムを低酸化状態で安定に保つ配位子の探求に強い関心を抱いており、われわれとの共同研究が鋭意進められている。

6. 低pH細胞とバナジウム濃縮

ホヤの溶血液が酸性を示すことは、Henzeによって指摘されている¹⁴⁾。その後の研究者もこれを支持していたが、近年になってKustinのグループはこれを否定した^{39, 40)}。それによると、以前のpHの測定方法では血球を空気中で溶血させており、そのため酸化還元反応と加水分解反応が起って水和イオンが生じ、見かけ上酸性pHを呈したのであり、実際のバナドサイトは中性であると言う。

しかし、Kustinの研究を含めてこれら従来の研究は全血球を分離しないで行なわれたものであった。われわれは、分離した細胞集団を用いてこの問題にチャレンジすることとした。バナジウムボヤの血球をPercollを溶媒とした密度勾配遠心法で分離する

図3 電子スピン共鳴法(ESR)によるバナジウムの原子価の決定 バナジウムボヤ *A. gemmata* の血球を還元気流中、77KでESRで観察すると4価のバナジウムの微弱なシグナルが検出される(a)。血球を空気中で溶血させるとシグナル強度は増大し、さらに酸素ガスを吹き込むと時間とともにシグナルは増大し24時間で飽和した(b-d)。この試料に過酸化水素水を添加するとシグナルは消失した(e)。これをもとにバナジウムの原子価を計算すると、97.6%が3価であった³⁸⁾。

と、図5に示したように血球はそれぞれの層に分配される。それらを空気酸化を防ぐため還元気流中でホモジナイズし、微小pH電極でpHを測定して $[\text{H}^+]$ 濃度に換算した。その結果、シグネットリング細胞の分配パターンと $[\text{H}^+]$ 濃度のパターンが一致することが判明した。すなわち、バナジウムを含有するシグネットリング細胞の溶血液が低pHを示

図4 ホヤによるバナジウムの還元濃縮の模式図 海水中で5価の陰イオン(H_2VO_4^- , HVO_4^{2-})として溶解しているバナジウムはホヤのエラを経由して体内に取り込まれ、そこで4価の陽イオン(VO^{2+})に還元される。さらにバナドサイトの膜を通して濃縮されたバナジウムは3価(V^{3+})まで還元されて蓄積される。ホヤ以外では、バナジウムが低酸化状態の3価で生体中に存在することは報告されていない。

図5 密度勾配遠心法によるバナドサイトの分離

FicollあるいはPercollで密度勾配を作製し、その上層に血球を載せて軽く遠心すると細胞はそれぞれの比重に応じて層をなすので、それぞれの層のバナジウム含有量とプロトン濃度を測定したところ、シグネットリング細胞(SRC)がバナジウムを含有し、低pHの細胞であることが判明した^{11, 27, 28, 38)}。MC: morula cell, CC: compartment cell, $[\text{H}^+]$: プロトン濃度, V: バナジウム濃度

図6 電子スピン共鳴法によるpH測定
の検量線 4価のバナジウム(VO^{2+})に由来する-7/2のシグナルの半値幅はpHの低下に依存して小さくなり、図のような検量線が得られる。これをバナドサイトに適用すると非破壊法でpHの測定ができる¹¹⁾。

すことが判明したのである¹¹⁾。

次に、溶血によって水和イオンが生じ、見かけ上低 pH を示したとする Kustin の主張を覆すために、われわれは電子スピン共鳴法を駆使して細胞を破壊せずに pH を測定し、微小電極法で得られた結果を確認することとした。

電子スピン共鳴法で検出できる 4 価のバナジウムのシグナルの半値幅は、酸性溶液中では pH の低下に応じて小さくなり、図 6 に示すような検量線が描ける。これをバナドサイトに適用してみると、バナジウムボヤでは pH1.86 という値が得られた(表 2)。この値は微小 pH 電極法によって得られた値とほぼ同じであった。バナドサイトが低 pH を示すことはアーティファクトではなかったのである¹¹⁾。

7. バナジウム濃縮のエネルギー

近年、リソソームの他にも、細胞内膜系に属する細胞内小器官の内部が酸性であり、それらの小器官の膜に液胞型 H^+ -ATPase と呼ばれる ATP の加水分解によって駆動する H^+ ポンプが存在することが明らかとなってきた⁴¹⁾。このポンプの働きによって酸性化された小胞は、神経伝達物質やイオンの濃縮、タンパク質分解など重要な生理機能を果たしている。

バナジウムの濃縮にこの H^+ ポンプが関わっているとすれば、濃縮のエネルギー機構の一端が明らかになる。われわれは、大阪大学産業科学研究所の二井將光教授から供与された牛の副腎髄質のクロマフィン顆粒膜を抗原とする抗血清が、バナドサイトの液胞膜に反応するか否かを検討した。その結果、液胞膜上に液胞型 H^+ -ATPase の反応が見られた。また、イムノブロットの結果はこの酵素の 72kDa と 57kDa のサブユニットがホヤのバナドサイトにも存在することを示していた(図 7)。液胞型 H^+ -ATPase は 9 種類のサブユニットから成り、その中 72kDa と 57kDa のサブユニットは植物や昆虫にも共通であり、酵素の触媒部位を構成している。今回の研究で、原素動物のホヤにもこのサブユニットが存在することが明らかになった。

バナドサイトに蛍光色素のアクリジンオレンジを取り込ませると、液胞は朱色に染まって低 pH であることを細胞学的にも観察できる。この細胞に液胞型 H^+ -ATPase の特異的阻害剤であるバフィロマイシン(bafilomycin)を作用させると、アクリジンオレンジの朱色の発色は見られない。これは、阻害剤によって H^+ ポンプがストップし、液胞に H^+ を保て

表 2 バナドサイトの pH

種	pH
バナジウムボヤ <i>Ascidia gemmata</i>	2.42(1.86)
ナツメボヤ <i>A. ahodori</i>	2.67
スジキレボヤ <i>A. sydneiensis samea</i>	4.20

分離したバナドサイトを還元気流中で溶血させた時の値を、()は電子スピン共鳴法で非破壊的に測定した値を示す¹¹⁾。

なくなったためであり、ホヤのバナドサイトに存在する H^+ ポンプが実際に機能していることを意味する⁴²⁾。

現在、われわれはこの H^+ ポンプとバナジウムの濃縮がエネルギー的に共役している証拠を得ようとしている。

8. モノクローナル抗体

約10種類にものぼるホヤの血球を区分するのは容易ではない。バナドサイトの同定を巡っても一部で未だに混乱が見られる。これは血球を形態学的に区別することが困難であることに加え、ホヤの血球の細胞系譜が不明であることも理由と思える。

この問題に対応する第一歩として、京都大学理学部の佐藤矩行助教授の協力を得て、バナドサイトに特異的なモノクローナル抗体の作製を試みた。スジキレボヤのバナドサイトを抗原としてマウスに注射して得られたモノクローナル抗体は、同種のバナドサイトのみならずバナジウムボヤやナツメボヤのバナドサイトも認識した。その抗原分子は45kDa のポリペプチドであった⁴³⁾。

この結果、われわれは確実な細胞標識を得たことになる。現在、この抗体を用いてバナドサイトが生体組織のどこに局在しているのかを検討している。いずれ、もっと分化初期の血球のモノクローナル抗体を作製するとともに種々の分化マーカーを用いて、ホヤの造血組織の局在と血球の細胞系譜を明らかにしたいと考えている。

9. 発生過程

ホヤの発生過程で、いつからバナジウムの濃縮が始まるのかは不明であった。それは幼生に含まれるバナジウムの濃度が低く、分析が困難であったためである。われわれは、バナジウム含有量の多いホヤを用いるとともに、高感度の放射化分析法を武器に

図7 バナドサイトに存在する液胞型 H^+ -ATPase バナドサイトの膜から調整したタンパク質を液胞型 H^+ -ATPase の72kDa と57kDa のサブユニットの抗体でイムノブロットした結果、これらのサブユニットがホヤのバナドサイトにも存在することが明らかとなった。AはSDS-PAGEを、BとCは72kDa と57kDa のサブユニット抗体によるイムノブロットをそれぞれ示す。レーン1と2はそれぞれマウスの脳とスジキレボヤの血球の可溶化試料を示す。

してこの問題に挑んだ。

バナジウムボヤの未受精卵には、1個当たり3.9 pg のバナジウムが含まれていた。この含有量は24時間後の孵化時までほとんど変化しなかったが、その後オタマジャクシ幼生が変態すると徐々にバナジウム含有量は増大し、変態後2週間頃から急激な取り込みが見られた。2ヶ月後1個体当たりのバナジウム含有量は2,300 ng と未受精卵の60万倍に達していた⁽⁴⁴⁾ (図8)。

この発生過程でバナドサイトに特異的なモノクローナル抗体で認識される抗原の発現がいつ見られるのかをスジキレボヤを用いて観察したところ、バナジウムの急激な濃縮が始まる変態後2週間目に体壁の細胞に抗原の発現が認められ、その後この細胞集団は急増して6週後には形態的にもバナドサイトと認めることができた。すなわち、バナドサイトの分化・増殖とバナジウムの濃縮の時期が符合することが判

明したのである⁽⁴⁵⁾ (図9)。

10. バナジウム結合物質

ホヤの体内でバナジウムと特異的に結合し、運搬に携わる物質の探索は、これまでも熱心に行われてきた。それは、他の生物に例を見ない特異な金属元素濃縮のカギを握るからである。加えて濃縮されたバナジウムが生体には希有な3価にまで還元されていることから、その物質の還元作用の有無も検討されてきた。

ヘモバナジン(haemovanadin)は最初に報告されたバナジウム結合物質である⁽⁴⁶⁾。しかし、これはバナジウムと硫酸、窒素を含んだタンパク質あるいはピロール化合物が混ざった化合物に付けられた名前であり、特定の化学構造を持った物質の名前ではなかった。Bielig ら⁽⁴⁷⁾はこのヘモバナジンの役割を生化学的に検討し、バナドサイト中でのバナジウムの

図8 ホヤの発生過程におけるバナジウムの濃縮 バナジウムボヤ *A. gemmata* の未受精卵に含まれるバナジウムは約 4 pg であるが、変態後 2 週間頃から急激にバナジウムが取り込まれ、2 ヶ月後には約 60 万倍の 2,300 ng/個体に達した⁴⁴⁾。

図9 ホヤの発生過程におけるバナドサイト特異的モノクローナル抗体で認識される抗原の発現 バナドサイトのモノクローナル抗体で認識される抗原は変態後 2 週間の幼生の体壁に発現し(a), 3 週間後にはシグネットリング細胞の特徴をもつ細胞に(c), 6 週後には典型的なシグネットリング細胞(d)に発現が認められた。この抗原の発現時期は図 8 で示したバナジウムの濃縮時期と符合しており、バナドサイトの分化・増殖が発生過程でのバナジウム濃縮に関与していることが判明した⁴⁵⁾。上段の写真はノマルスキー像を下段は蛍光像を示す。(b)はネガティブコントロール、スケールバーは 50 μ m。

還元はヘモバナジンとの相互作用によると解釈した。

これに対し、Kustin のグループは、ヘモバナジンはホヤの血球細胞を空气中で溶血させたために生じた人工産物であると否定し、自らは還元気流中で *Ascidia nigra* の血球細胞からツニクロームと名付けた低分子化合物を抽出した^{48, 49)}。Columbia 大学の中西香爾教授らは Kustin のグループと共同でこのツニクロームの化学構造を決定し、3 分子のピロガロールからなる分子量 555 のポリフェノール化合

物であることを明らかにした⁵⁰⁾。しかし、ツニクロームの構造にはバナジウムと特異的結合をする部位を認め難いこと、バナジウムを 3 価に還元する能力がないこと⁵¹⁾、さらにバナドサイトに含まれていないこと^{28, 52)} などから、現在バナジウムの還元濃縮に直接携わる物質であることには疑問が持たれている。

一方、われわれはホヤの血球にはバナジウムと結合した物質が存在すると考え、還元環境下での抽出を行ってきた。その結果、スジキレボヤ *A. sydneyi*-

*ensis samea*の血球からバナジウムと結合した物質を見い出すことができた⁵³⁾。バナードピン(vanadobin)と名付けた分子量約1300の物質は、その後バナジウムを高濃度に含むホヤには共通に見い出されること⁵⁴⁾、シグネットリング細胞に局在すること⁵⁵⁾、さらに *in vitro* の実験で5価のバナジウムを少なくとも4価に還元する能力があることが明らかになった⁵⁶⁾。しかし、まだ構造決定には至っていない。

現在、われわれは血球中に存在するこのバナードピンの他に、ホヤの血漿中であってバナジウムを血球に運ぶタンパク質、さらには血球の膜に特異的に結合する膜結合型タンパク質を探索中である。バナジウムはカルシウム等とは異なり、酸化還元の起こりやすい多原子価元素であり、配位子との結合と解離は微妙な化学的条件に左右されがちである。それ故、結合タンパク質の抽出にあたっては還元気流中での操作が要求されたり、緩衝液のpH等の微妙な条件設定が必要とされ、格段の努力を傾けているところである。

11. バナジウム濃縮に係る遺伝子

これらのタンパク質をコードしている遺伝子群を明らかにすることにより、ホヤのバナジウム濃縮の問題を生命体による金属元素の選択と利用という問題へ止揚させることができると思われる。すなわち、クローニングした遺伝子をプローブにしてホヤ以外の生命体に類似の遺伝子群が存在するか否かを探ることによって、なぜホヤのみが高濃度のバナジウムを濃縮しているのかというわれわれを駆り立ててきた素朴な疑問に答えることができ、さらに生命体が多くの元素の中からどのようにして30種類余りの元素を選択し、利用してきたかという謎に迫ることも可能になろう。

また、上述したようにホヤの血球の細胞系譜はまだ分かっていない。バナジウムを濃縮する細胞の機能発現がいつ起こるのか、どの細胞から分化するのかもまだまだ不明である。さらに大きな謎の解明に向けて、われわれは遺伝子レベルでの検討を始めた。

12. 新しい生理化学をめざして

この80余年来の謎であったホヤによるバナジウム濃縮の問題は、今黎明期を迎えつつある。われわれの約15年にわたる挑戦の跡を辿ってみたが、未知の現象の解明に魅せられて、自分の能力を省みる余裕もなく、次々と必要とされる手段を投入して登って

きたようである。

今ふと周りを見渡すと、微量な金属元素が生命体の生理機能に重要な働きをしているという発見が相次ぎ、われわれは孤峰をよじ登って来たのではなかったという思いがしている。遺伝子の発現制御に関わるZnフィンガーしかり、ミトコンドリアの内膜にあって電子伝達に働く多くのFe/Sタンパク質しかり、光合成の光化学系IIにはMnを含む酸素発生複合体がある。そしてなにより、酵素の少なくとも1/3以上が金属酵素であることが明らかになっている。分子量数万の酵素の活性は数個の金属原子が握っているといつてよい。

バナジウムそのものの役割も分かってきた。海藻や藓苔類に含まれるブロムペルオキシダーゼ(bromoperoxidase)、ラン藻あるいはバクテリアに含まれるニトロゲナーゼ(nitrogenase)の活性発現には補欠分子族としてバナジウムが必須であり、現在分子レベルでの研究が精力的に進められている^{9, 57)}。

このような状況にあつて、高濃度のバナジウムを含むホヤは、微量金属元素の働きを調べる上でますます重要性を増している。次に横たわる大きな問題は、高濃度に濃縮されたバナジウムの生理的役割の解明であろう。研究上の利点を備えたホヤを用いて、金属元素の生命体での役割を追求する生体元素機能論とでも言うべき新しい生理化学の分野を築き上げたいと願っている。

謝 辞

研究を進めていると壁に突き当たってしまうことがよくある。しかし、その度にわれわれは多くの白馬の騎士に助けられてここまで研究を進めることができた。ホヤの採集等では東北大学沼宮内隆晴、岩手大学星野善一郎、岡山大学故吉田正夫、山本雅道の各先生に、化学的な知識や技術では京都薬大桜井弘、北海道大学小林淳一、富山大学金森寛の各先生に、モノクローナル抗体では京都大学佐藤矩行先生、バナジウムのアイソトープの作製には東北大学井戸達雄先生、エネルギー機構の解明には大阪大学二井将光、森山芳則両先生にご教示願った。改めて深謝したい。

東京大学海洋研究所大槌臨海研究センターと立教大学原子力研究所には共同利用研究でお世話になった。また、科研費が取れずに途方に暮れているとき

は、日本証券奨学財団、岩谷直治記念財団、ソルト・サイエンス研究財団等からの暖かい援助を得ることができ、なんとか研究を続けることができた。今後とも、各分野の方々からのなお一層のご支援を賜りたいと念じている。

最後に、これまでのわれわれの研究は原著論文に名を連ねた学生達によって成し遂げられたものである。一緒に研究の苦勞と喜びを分かち合ってきた学生達には深奥からの感謝を表したい。現在の研究は、助手の宇山太郎、大学院生の内山純子、能勢泰寛、川西央晃、金子綾、若林篤光君によって推し進められている。

文 献

- 1) 道端 齊・桜井 弘: 化学, 43, 372-377 (1988)
- 2) 桜井 弘・道端 齊: 現代化学, 211, 18-23 (1988)
- 3) Michibata, H.: Zool. Sci., 6, 639-647 (1989)
- 4) 道端 齊: 化学と生物学, 28, 103-110 (1990)
- 5) Michibata, H., & Sakurai, H.: Vanadium in Biological Systems, Chasteen, N. D. ed., Kluwer Acad. Publ., Netherlands, pp. 153-171 (1990)
- 6) 道端 齊: 放射線科学, 35, 261-265 (1992)
- 7) 道端 齊: 化学増刊, 121, 167-169 (1992)
- 8) 道端 齊: 朝日百科, 67, 221-223 (1992)
- 9) Michibata, H.: Adv. Biophys., 29, 103-131 (1993)
- 10) 江上不二夫: 生命を探る第二版, 岩波書店, (1980)
- 11) Michibata, H., Iwata, Y., & Hirata, J.: J. Exp. Zool., 257, 306-313 (1991)
- 12) Cole, P. C., Eckert, J. M., & Williams, K. L.: Anal. Chim. Acta, 153, 61-67 (1983)
- 13) 中埜栄三: 学術月報, 43, 6-13 (1990)
- 14) Henze, M.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 72, 494-501 (1911)
- 15) Webb, D. A.: J. Exp. Biol., 16, 499-523 (1939)
- 16) Goodbody, I.: Adv. Mar. Biol., 12, 1-149 (1974)
- 17) Biggs, W. R., & Swinehart, J. H.: Metal Ions in Biological Systems., Sigel, H. ed., Marcel Dekker Inc., New York, pp. 141-196 (1976)
- 18) Carlisle, D. B.: Proc. Roy. Soc. London B, 171, 31-42 (1968)
- 19) Michibata, H., Terada, T., Anada, N., Yamakawa, K., & Numakunai, T.: Biol. Bull., 171, 672-681 (1986)
- 20) Ishii, T., Nakai, I., Numako, C., Okoshi, K., & Otake, T.: Naturwissenschaften, 80, 268-270 (1993)
- 21) Wright, R. K.: Invertebrate Blood Cells. Vol. 2, Ratcliffe, N. A., & Rowley, A. F. eds. Academic Press, London, pp. 565-626 (1981)
- 22) Botte, L., Scippa, S., & de Vincentiis, M.: Experientia, 35, 1228-1230 (1979)
- 23) Scippa, S., Botte, L., & de Vincentiis, M.: Acta Zool. (Stokh.), 63, 121-131 (1982)
- 24) Scippa, S., Botte, L., Zierold, K., & de Vincentiis, M.: Cell Tissue Res., 139, 459-461 (1985)
- 25) Rowley, A. F.: J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 62, 607-620 (1982)
- 26) Robinson, W. E., Agudelo, M. I., & Kustin, K.: Comp. Biochem. Physiol., 78A, 667-673 (1984)
- 27) Michibata, H., Hirata, J., Uesaka, M., Numakunai, T., & Sakurai, H.: J. Exp. Zool., 244, 33-38 (1987)
- 28) Michibata, H., Uyama, T., & Hirata, J.: Zool. Sci., 7, 55-61 (1990)
- 29) Chasteen, N. D.: Biological Magnetic Resonance ed. by Berliner, L. & Reuben, J., Plenum Press, New York, Vol. 3, pp. 53-119 (1981)
- 30) Chasteen, N. D.: Struct. Bonding, 53, 105-138 (1983)
- 31) Kustin, K., McLeod, G. C., Gilbert, T. R., & Briggs, 4th. L. B. R.: Struct. Bonding, 53, 139-160 (1983)
- 32) Tullius, T. D., Gillum, W. O., Carlson, R. M. K., & Hodgson, K. O.: J. Am. Chem. Soc., 102, 5670-5676 (1980)
- 33) Dingley, A. I., Kustin, K., Macara, I. G., & McLeod, G. C.: Biochim. Biophys. Acta, 649, 493-502 (1981)
- 34) Frank, P., Carlson, R. M. K., & Hodgson, K. O.: Inorg. Chem., 25, 470-478 (1986)
- 35) Sakurai, H., Hirata, J., & Michibata, H.:

- Biochem. Biophys. Res. Commun., 149, 411-416 (1987)
- 36) Sakurai,H., Hirata,J., & Michibata,H.: Inorg. Chim. Acta, 152, 177-180 (1988)
 - 37) Lee,S., Kustin,K., Robinson,W.E., Frankel, R.B., & Spartalian,K.: J. Inorg. Biochem., 33, 183-192 (1988)
 - 38) Hirata,J., & Michibata,H.: J. Exp. Zool., 257, 160-165 (1991)
 - 39) Dingley,A.L., Kustin,K., Macara,I.G., McLeod,G.C., & Roberts,M.F.: Biochim. Biophys. Acta, 720, 384-389 (1982)
 - 40) Agudelo,M.I., Kustin,K., & McLeod,G.C.: Comp. Biochem. Physiol., 75A, 211-214 (1983)
 - 41) 森山芳則 : 生化学, 65, 413-436 (1993)
 - 42) Uyama,T., Moriyama,Y., Futai,M., & Michibata,H., in preparation.
 - 43) Uyama,T., Nishikata,T., Satoh,N., & Michibata,H.: J. Exp. Zool., 259, 196-201 (1991)
 - 44) Michibata,H., Uchiyama,J., Seki,T., Numakunai,T., & Uyama,T.: Biol. Trace Elem. Res., 34, 219-223 (1992)
 - 45) Uyama,T., Uchiyama,J., Nishikata,T., Satoh,N., & Michibata,H.: J. Exp. Zool., 265, 29-34 (1993)
 - 46) Califano,L., & Caselli,P.: Pubbl. Stazione Zool. Napoli, 21, 261-271 (1948)
 - 47) Bielig,H.-J., Bayer,E., Dell,H.-D., Rohns, G., Mollinger,H., & Rudiger,W.: Protides Biol. Fluids, 14, 197-204 (1966)
 - 48) Macara,I.G., McLeod,G.C., & Kustin,K.: Biochem. J., 181, 457-465 (1979)
 - 49) Macara,I.G., McLeod,G.C., & Kustin,K.: Comp. Biochem. Physiol., 63B, 299-302 (1979)
 - 50) Bruening,R.C., Oltz,E.M., Furukawa,J., Nakanishi,K., & Kustin,K.: J. Am. Chem. Soc., 107, 5298-5300 (1985)
 - 51) Bulls,A.R., Pippin,C.G., Hahn,F.E., & Raymond,K.N.: J. Am. Chem. Soc., 112, 2627-2632 (1990)
 - 52) Michibata,H., Hirata,J., Terada,T., & Sakurai,H.: Experientia, 44, 906-907 (1988)
 - 53) Michibata,H., Miyamoto,T., & Sakurai, H.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 141, 251-257 (1986)
 - 54) Michibata,H., Hirose,H., Sugiyama,K., Ookubo,Y., & Kanamori,K.: Biol. Bull., 179, 140-147 (1990)
 - 55) Michibata,H., & Uyama,T.: J. Exp. Zool., 254, 132-137 (1990)
 - 56) Michibata,H., Morita,A., & Kanamori,K.: Biol. Bull., 118, 189-194 (1991)
 - 57) Wever,R., & Kustin,K.: Adv. Inorg. Chem., 35, 81-115 (1990)