ヘモグロビンの機能と代謝との関係

Disintegration of Hemoglobin in Connection
to its Catalytic Function

日本醫科大學助教授 菊 地 吾 郎

Kikuchi Gorō

(1)

本稿では上代生化学教室において最近行はれたヘモグロビンの生化学的研究の結果を中心に、標題のような一般論を試みてみたい。

ヘモグロビンの生化学としては、その生体内合成、分子構造、機能、代謝、比較生化学の問題などの全体が含まれる訳であるが、われわれは主としてその代謝過程、特に後述のようにヘモグロビンが酸化分解を受ける反応の初期段階の機作解明に、主力を注いでいる。これはヘモグロビンの代謝的分解過程は他の単純な養素や生体構成物質の代謝とは著しく異なるものであつて、ヘモグロビンの触媒能自体の中に実はその代謝への契機が内在しているという興味深い特徴を持っているためである。ヘモグロビンの代謝過程からうかがわれるその構造上機能上の変貌を標題のような捉え方で秩序立てて行くことにわれわれの興味がある。

ヘモグロビン代謝に関するわれわれの研究は先づビリヂンヘミンを材料とする模型実験¹⁻⁵⁾から始められた。その概要は既に上代教授によりやはり本誌の綜説⁶⁾として紹介されたが、本稿ではその後自然のヘモグロビン分子を材料として行はれた実験成績から、かつて上代教授が強調し、本稿で再び標題として取上げた機能と代謝の相関性が一層明らかにされ得たことを指摘するとともに、これを酵素一般の問題として展開させようとする。

尚、ヘモグロビンの代謝過程に見られるヘム部の物質的变化については、やはり上代教授⁷⁾が別に「生体の科学」に詳細に述べたので、こゝでは立入つては触れないことにする。

(2)

酸素ヘモグロビン (HbO_2) にアスコルビン酸を加

えて空気酸素と接触させておくと、酸素消費を伴いながらヘモグロビン (Hb) は緑色のコレグロビン (chologlobin) になる。このコレグロビンはビリベルデンの前駆物質である。又、反応の進行に伴い、アスコルビン酸は酸化されてデヒドロアスコルビン酸となる。

以上の一見甚だ簡単な反応がわれわれの主な実験対象である。生体内でも恐らく Hb はコレグロビンを経てビリベルデンとなるものと信ぜられているから、謂はば生体反応の試験管的模写である。この反応に対するわれわれの研究結果を概括すれば一応次のようになる。これは 1952 年 4 月、日本生化学会総会でコレグロビン生成反応の構造図式として提示された⁸⁾。

但し H_2A はアスコルビン酸、A はデヒドロアスコルビン酸を意味する。

つまり、アスコルビン酸と空気酸素が反応して過酸化水素が出来、これが二価鉄の Hb に作用することにより一方ではメトヘモグロビン (met Hb) を、他方では或中間体 x を経てコレグロビンになると云ふ関係である。又一旦出来た metHb はアスコルビン酸で還元されて再び Hb となつて反応に参加する。

この反応図式で特に指摘したいのは中間体の所謂 x 物質の役割である。われわれの考えではこの x 物質は

Hb の蛋白部分が軽い変性を受け、そのためにヘムの機能に変化を来して Hb 本来の酸素結合能は低下しているが、分子状酸素を活性化する所謂オキシダーゼ作用が特別に強くなっているものである。従つてこの x 物質が出現すればアスコルビン酸の酸化は触媒としての x 物質の増量に対応して促進され、このことは又 x 物質の生成を促す結果となるから再び H_2O_2 産生が増大すると云ふ具合で、本反応は全体として連鎖反応的性格を持った循環的な反応となる。この循環的な過程の廻転が早くなればなる程 Hb からのコレグロビン生成量も又増大する関係となる訳である。

(2)

本稿の主な関心は上述の x 物質についての考察であるが、その前に、上記のような反応構造を考えた実験的根拠について、その主なものを挙げておきたい。

1) 反応の経過は本質的に S 字状である ⁹⁾

図 1 は最も簡単な条件でのコレグロビン生成時間曲線であつて、謂はば本反応の典型である。コレグロビン生成速度はアスコルビン酸増量と共に大きくなるが、或一定量以上のアスコルビン酸を用いれば、その最終生成量には変りがない。

図 1 カタラーゼなき場合のコレグロビン生成

5.0 cc.....0.6% HbO_2

4.0 cc.....M/15 磷酸緩衝液 (pH 7.38)

1.0 cc.....アスコルビン酸 (NaOH 中和)

T = 37.5°

図中の数字はアスコルビン酸終濃度 (mg/cc) を示す。

註) 測定方法

数個の小型ビーカーに反応液を入れて反応させ、一定時間毎にその一個づつを取出し、NaOH と少量の $Na_2S_2O_4$ で処理すると、未変化プロトヘムは $558m\mu$ 、コレヘムは $618m\mu$ に特異の吸収極大を示すから、

$\epsilon_{558m\mu}$, $\epsilon_{618m\mu}$ の実測値に或計算を施すことにより、生成コレヘム量を $618m\mu$ における吸光度として捕捉出来る。 $618m\mu$ におけるコレヘムの $\epsilon_{mM} = 13.6$ 詳細は生化学 23, 137 (1952) (菊地) 参照。

この図で特に指摘したいことは、アスコルビン酸が低濃度の場合には、コレグロビン最終生成量が最大値に達しないことのほかに、その生成時間曲線が軽い S 字状を示すことである。これは本反応の本質を露呈するものであつて、アスコルビン酸濃度が高い場合には反応速度が大きすぎてこの部分がかくされてしまつたものと考えることが出来る。

2) カタラーゼは特に反応の起始を抑制する ⁹⁾

本反応系にカタラーゼが共存すると、反応経過の S 字的性格は著しく強められる (図 2)。しかし一旦反応が活発となつて曲線が立上つた後ではカタラーゼ共存のない図 1 の場合と殆んど大差ない速度で反応は進行する。

図 2 カタラーゼ存在する場合のコレグロビン生成

反応条件は図 1 に同じ

アスコルビン酸終濃度 (mg/cc)

I. 0.22 IV. 1.76

II. 0.44 V. 3.52

III. 0.88 VI. 5.28

カタラーゼは周知のように H_2O_2 分解酵素であり、この酵素の共存によつて反応起始がおくれた事實は、コレグロビン生成のためには先きの反応図式に挙げたように特に H_2O_2 の作用が関与することを示しているとともに、カタラーゼの共存にも拘らず、反応が一旦活発化した後は殆んどカタラーゼの影響を除外し得るほどの速度で反応が進行したことは、カタラーゼの活性度に打克ち得る程に旺盛な H_2O_2 産生がはじまつたことを意味するものであつて、これは何かアスコルビン酸酸化を強く触媒して H_2O_2 の産生を促す或種の触

媒が出現していることを推定させる。

3) コレグロビン生成とアスコルビン酸消費の経過はよく平行する^{9,10)}

図1及び図2と全く同じ条件で、消費されるアスコルビン酸量を沃度法で直接測定してみると、その経過はコレグロビン生成の経過とよく平行しており、特に図3に示すように、カタラーゼの共存により、アスコルビン酸消費時間曲線も又明瞭なS字形を示す。これは2)における推定を更に支持する。

図3 カタラーゼ存在する場合のアスコルビン酸分解

反応条件及び図中数字は図2に同じ。

又図4はコレグロビン生成とアスコルビン酸酸化の速度曲線を比較したものであるが、コレグロビン生成の正にその段階で特にアスコルビン酸酸化も旺盛であることをよく示している。

4) 本反応では常に metHb の生成を伴う^{10,11)}

前記の反応系に更に KCN を添加しておく、反応産物は通常のコレグロビンとは異つてブソイドヘモグロビンと称される物質を得るが、この際 Hb からブソイドヘモグロビンへの転化量は、常に比較的少量に留り、残部は CN-metHb として反応系から除外される。すなわち相当量の metHb が同時に生成される訳である。ブソイドヘモグロビン生成反応で metHb の同時生成を確認したのは CN-metHb がアスコルビン酸によつては還元されないと云う利点によるものであるが、普通は metHb はアスコルビン酸により容易に還元されるので、KCN を添加していない通常のコ

図4 反応速度時間曲線

2.0 cc.....0.6% HbO₂
1.6 cc.....M/15 磷酸緩衝液 (pH 7.38)
0.4 cc.....0.1M アスコルビン酸
図中 I : 毎 30 分のコレヘム生成量
II : " アスコルビン酸消費量

レグロビン生成反応系では、一旦出来た metHb は共存アスコルビン酸の作用によつて還元 Hb となり、再び反応系に参加するものと考えられる。

5) ヘムの1分子の分解には約 20 分子のアスコルビン酸が消費される⁹⁾

図1の実験を詳細に吟味してみると、ヘム1分子がコレヘムになる間に、アスコルビン酸は最小約 20 分子が消費される計算となるが、これはアスコルビン酸の酸化によつて生じた H₂O₂ が必しも全部ヘムの分解に有効に役立っていると云ふ訳ではなく、その相当量が恐らくアスコルビン酸を被酸化物とするペルオキシダーゼ反応で消費されているものと想像される。又アスコルビン酸の一部は当然 metHb の還元にも向けられるであろう。

6) H₂O₂ の単独作用でもコレグロビンは出来る¹²⁾

アスコルビン酸を全然加えてない HbO₂ に H₂O₂ を直接添加しても明らかにコレグロビンを得ることが出来る。但しこの場合は metHb 生成が圧倒的に大きいので、コレグロビンとしての収量は約 30% 程度である。又、反応が激しいので、相当の副反応が起り、定量的操作は困難である。主な副反応産物は propent-dyopent 物質である。いづれにしても H₂O₂ の単独作用でコレグロビンを得ることは、アスコルビン酸と酸素の共同作用によるコレグロビン生成反応においても、恐らく H₂O₂ が主役を演じていることを推定させるものである。

7) metHb は直接コレグロビンとはならぬ

(11, 12)

(4)

6) と同じような形式で、metHb に H_2O_2 を作用させてもコレグロビン生成を証明し得なかつた。又、図1と同じ反応条件でmetHbを用いてコレグロビン生成反応を試みると、図1ではS字形を示さなかつたアスコルビン酸濃度でも、明瞭なS字形が現はれ、その程度はアスコルビン酸濃度低下と共に一層著明となる。このことはmetHbが一旦還元されて後はじめて正常のコレグロビン生成過程がはじまることを示している。同様のことはmetHbから出発したコレグロビン生成反応についてアスコルビン酸消費を測定した場合にも見られることで、この場合には HbO_2 から出発した場合のような典型的なS字状とはならず、初期に一旦相当のアスコルビン酸消費があつて後、その程度がやゝ軽くなる。次で再びアスコルビン酸消費が大きくなるのが認められ、そのために消費速度曲線には波を打つたようなくびれが現はれる。これは反応初期に先づmetHbがアスコルビン酸を消費して還元され、次で新たにコレグロビン生成の過程に入つて行くことを明確に示すものである。

8) 過度のグロビン変性はコレグロビン生成を妨げる¹³⁾

所謂 α 物質とはグロビンが軽度に変性したものであらうと先きに述べたが、グロビン変性が過度に進行すると却つてコレグロビン生成にとつて不適當となる。通常のコレグロビン生成反応では、反応が最大値に達した場合でもプロトヘムがコレヘムに転化した量は凡75~80%程度で、常に約25%程度の未変化のプロトヘムが残る。これは本来この反応が H_2O_2 の作用に関係したかなりはげしい酸化的反応であるため、反応時間と共にグロビンの変性も次第に進行し、屢々変性の至適点を超えてしまうためと考えられる。又、Hbに単独に H_2O_2 を作用させてコレグロビン生成反応を試みる場合も、Hbに予めNaOHを加えてグロビンを変性させておくと、全くコレグロビン生成を認め得ず、副反応による分解だけが起る。しかるに一旦Hbに H_2O_2 を作用させた後では、NaOHを加えてグロビンを変性させてもやはり既にコレグロビンが出来ていることを確認出来るので、ヘムの分解が特にコレヘムに指向されるためには、ヘムに配位するグロビンの性状が甚だ重要な役割を果していることが知られる。

以上挙げたいくつかの実験事実を中心として先述のような構造図式を考えた訳であるが、コレグロビン生成は二価鉄状態のHbから出発すること、またヘムの分解はヘム分子自身を被酸化物とするペルオキシダーゼ的反応によるものであることなどの重要な結論のほかに、ヘムの分解が常に特定のコレヘム生成を指向するのはそれに配位するグロビンの性状による方向づけの結果である点に注目したい。殊に本反応の形式として最も特徴的なことは反応の経過がS字状になることであり、この性格はグロビン蛋白の微妙な変性に依存するらしいことにわれわれは特別の関心を持つ。

もともとHbの色素部分であるヘム(又はヘマチン)は、それ自身酸素や過酸化水素に対する反応性が高く、オキシダーゼ的、カタラーゼ的、ペルオキシダーゼ的諸触媒能を本来併せ持つている。これらの特性は、それに配位する蛋白質の種類によつて一層分化するものであり、その分化が高度となつたものとしてカタラーゼ、ペルオキシダーゼ、チトクロームオキシダーゼ、チトクロームなど、特殊性が質的にはつきり区別される天然酵素が多数存在する。しかし例えばカタラーゼは過酸化水素を水と分子状酸素に分解するのが本来の機能であるが、適当な被酸化剤が共存すれば明らかにペルオキシダーゼとしての反応性を示す事も出来¹³⁾、条件次第では本来のカタラーゼとしての作用が全くかくされてしまふこともある。又代表的なチトクロームとしてのチトクロームCは元来は分子状酸素と何らの反応性をも示さないものであるが、それにペプシンやトリプシンを作用させて蛋白部構造を幾分変えてやると、明らかに分子状酸素を活性化し、自身も又自酸化性となる¹⁴⁾。Hbは偶々特に酸素を安定に結合する能力が大きくなり、酸化還元的にはあまり活性でなくなつたヘモ蛋白質であるが、只今述べた関係からみて、Hb蛋白に何らかの構造変化が起ればHb本来の機能に或変異を来し、ヘムの性質に内在する他の機能が替つて優勢になることはまことに自然なことである。

(5)

さて変性とは言ふまでもなく蛋白質構造の秩序が破れてペプチッド鎖の立体配置が乱雑不規則となる現象である。ヘモグロビンの場合には蛋白部分に起つた構造変化を実験的に捉えるには、それが赤い色素であり、

スペクトルの可視部に特有な吸収を持つことを利用して分光学的に観察するのが最も便利である。又それに伴ふ機能の変化はその機能に即した反応系について反応速度の変化を測定するのが好都合である。先づその構造変化の問題であるが、先きにコレグロビン生成反応の実験成績の紹介においても述べたように、グロビンが高度に変性することは本反応にとつて好ましからぬ条件となるので、出来るだけ軽度の、謂はば可逆的段階での変性を実験的に起し得るならばわれわれの目的にとつて甚だ好都合である。既に 1934 年に行はれた古い研究であるが Anson, Mirsky¹⁵⁾ は metHb にサリチル酸曹達を作用させるとその吸光像に変化を来し、しかもこれはサリチル酸曹達を除くことによつて完全に旧に復し得ることを報告した。この研究を後に Holden¹⁶⁾ が追試し、同様の効果はサリチル酸曹達のほかに安息香酸曹達や沃度加里にも見られることを認め、この程度の軽い構造変化を一般の所謂変性と區別して“perturbation”と呼ぶことを提議し、このような作用のある物質を“perturbator”と呼んだ。そこで本教室津島は Anson, Mirsky 及び Holden の報告を更に詳細に追試し、それが事実であることを認め

ると共に、この種の軽度の構造変化が Hb の機能にどのような質的变化をもたらすかを追求した。

こゝでしばらくその成績¹⁷⁾を紹介するならば、metHb に種々の濃度にサリチル酸曹達を加えることにより吸収像は図 5 の如く変化する。二つの isobestic point が明瞭に認められることから、本系は単純な 2 成分系であることが知られる。perturbation の極限の吸光像は質的にはビリヂンヘマチン（ヘマチンの鉄の両側より 2 個のビリヂン窒素が配位したもの）と全く一致する。これは天然の Hb ではヘム鉄は蛋白側のただ一つの窒素と結合しているにすぎないのに、perturbation の結果グロビン蛋白の構造が崩れてペプチド鎖が弛み、更にもう一つの蛋白窒素がヘム鉄に配位するに到つたものと理解される。

安息香酸曹達を用いても全く同様の現象が認められる。津島は新たに 2 価鉄の還元 Hb について同様に安息香酸曹達を作用させたところ、この場合も明らかにヘム鉄に対し蛋白窒素が両側から配位したヘモクロム像を認め、更にこの反応も全く可逆的であることを見出した。

(6)

図 5 サリチル酸曹達による metHb の吸光像変化

met Hb 0.17%
サリチル酸曹達終濃度
I . 0.5 M II . 0.3 M
III . 0.2 M IV . 0.0 M
pH 7.0

以上のことから、サリチル酸曹達や安息香酸曹達の作用で Hb 分子が受ける変化は甚だ軽度であることが判つたので、これらが Hb の機能に与える影響を検討する第一歩として、HbO₂ に対するこれらの perturbator の影響を観察したところ、その作用によつて Hb の自酸化は著明に促進されることを知つた。この際自酸化は完全に一次反応の形式で進行し、その速度は加えられた perturbator の濃度が大きくなるに従つて増大する。安息香酸曹達を用いた実験で反応温度と反応速度との間にも又きれいな規則性があり、反応の賦活エネルギーは $E = 28.7 \text{ kcal.}$ と求められた。津島によつて安息香酸曹達を用いて行はれた実験成績を一括して図 6 に示した。

これによれば、その影響の度合いはいずれの場合にも perturbator の濃度の対数に対して高次のシグモイドとなる。こゝで特に興味深いのはヘモグロビンが 3 価鉄の metHb として存在するか 2 価鉄の還元 Hb として存在するか、更に又それが酸素を結合して HbO₂ となつているか否かによつて、夫々が影響される安息香酸濃度範囲に相当の差があることである。すなわち metHb が最も抵抗が弱く、次で HbO₂、還元 Hb の順で抵抗が強くなる。これに関連して想起されるのは

図 6 吸光像変化から測定した perturbation の度合と perturbator 濃度との関係

Perutz¹⁸⁾ 等がX線解析の結果、還元 Hb と met Hb とはその蛋白構造が全く異つていることを唱え、又、HbO₂ のX線像はむしろ met Hb 型であることを Wyman¹⁹⁾ が指摘している事実である。単に鉄の荷電が3価か2価か、又同じ2価でもそれが酸素と結合しているか否かだけの違いで、このように蛋白構造全体にその影響が及ぶことは驚くべきことであり、蛋白質と云ふ物質がいかに flexible であることを示す好例であるが、同時にこれらのことから、蛋白質の機能と構造のいかにも深い関連性を読みとることが出来る。津島が得た成績も恐らくヘモグロビンの存在様式によるグロビンの構造上の差異が perturbation に対する抵抗の強弱の差として現はれたものと推察され、注目に値するものと考ええる。尙、1941年、Ross 及び Turner²⁰⁾ はトリプシンによる水解に対し、ヘムを結合していないグロビンが最も抵抗が小さく、次で metHb, HbO₂, 還元Hb, HbCO の順にその抵抗が増大することを報告しているが、その順序は津島の場合と同一であり、やはり共通の原因にもとづくものであろう。

(7)

再びヘモグロビン代謝過程の問題に戻るが、perturbator の作用が以上の如くであれば、予め perturbator によつて積極的に Hb に軽い変性を起させておき、これについてコレグロビン生成反応を試みるならば、これはコレグロビン生成反応の性格を規定する実体としての所謂 X物質を追求する新しい手段となり得る筈である。実際にこれを試みた結果²¹⁾ を図7

図 7 コレグロビン生成反応に対するサリチル酸曹達及び安息香酸曹達の影響

I : コレグロビン生成に対するサリチル酸曹達の効果
 I' : アスコルビン酸消費 “ “
 II : コレグロビン生成に対する安息香酸曹達の効果
 II' : アスコルビン酸消費 “ “
 番号なきものは夫々吸光像から測定した perturbation (図6参照)

に示す。すなわちコレグロビン生成の速度は perturbator 添加濃度の増加に応じて明らかに著しく増大し、これと平行して Warburg 測圧計で反応に伴ふ酸素消費を測定した結果でも同様に著しい速度増大が認められる。これは先きの予想に対するよき応答である。

次に図7からすぐ気付かれることであるが、perturbator による反応促進効果はその一定濃度において或限界に達し、以後は少々その濃度が増しても差が現はれない平坦部がある。又それ以上に perturbator の濃度を高めると酸素消費速度もコレグロビン生成速度も却つて低下し、著しい高濃度では対照例以下にもなる。これらのことは Hb のオキシダーゼ作用を強めたりヘムの安定性を低下させたりするために必要な蛋白構造変化は perturbator の一定濃度で既に完成されており、それ以上では蛋白質の変性が進みすぎて却つて反応のための至適条件が失はれるものと考えられる。すなわち Hb 分子が受ける変化には段階があり、その中間には準安定な状態のあることが推定されるがこの事実は本年4月の日本生化学会総会において、荒谷²²⁾ が卵アルブミンの熱変性について、また楠²³⁾ が馬血清アルブミンと種々の色素との結合反応に対する

尿素変性の影響について、やはり同様に変性には段階のあることを報告したことを軌を一にする。

(8)

以上の成績を津島が吸光像の変化から *perturbation* を観察した結果と比較してみると(図6及び7)コレグロビン生成反応促進効果が著しいのは、*perturbation* に対して最も抵抗の弱い *metHb* でさえも吸光像の上ではまだ何の変化も見られないような甚だ稀薄な濃度範囲であり、反応の出発点となる HbO_2 の吸光像に変化を来す濃度とは、遙かにかけはなれている。吸光像の上に構造変化の証拠が明瞭に認められるような濃度では却つてその効果が失はれて来る。これはコレグロビン生成反応のために最適の *Hb* 蛋白構造変化はほんの軽度の状態に限られることを意味するとともに、吸光像の上では何ら変化を表さないような稀薄な *perturbator* 濃度であつても、その影響で既に蛋白部分は相当の変化を蒙っていることを示すものと考えられる。以前から荒谷²⁴⁾ がよく指摘しているように蛋白質分子構造の *mild* な変化の持つ生物学的意義の重要性に鑑み、変性とか *perturbation* とかを抜ふには、それを観測するためにどのような手段を選ぶべきかが重要であることを考えさせる成績と言ふべきである。

コレグロビン生成反応の速度は反応温度によつてかなり大きく影響される。一般に蛋白質の変性はその温度係数の大きいことが知られているので、この事実もまた先きにわれわれが α 物質について蛋白変性を考えた理由の一つとなつたものであるが、*perturbator* を添加したコレグロビン生成反応では温度上昇に伴ふ反応速度増大は更に飛躍的であつた。すなわち $20^\circ \sim 25^\circ$ 程度の比較的低温では *perturbator* 濃度増大とともにコレグロビン生成速度も酸素消費速度も対応して増大しているが、温度が高まるにつれてその至適濃度は次第に低い方に移り、 37° では図7の成績ようになる。これは *perturbation* 進行の温度係数が相当に大きいためであつて、低温では高濃度、高温ではその低濃度に反応促進効果最大条件があると云ふ事実も又、ヘモグロビンの機能がオキシダーゼ的に変化したり分解を受け易くなつたりする条件と云ふものはその蛋白部分の実に僅かな変化に微妙に依存していることを示すものである。

(9)

上述の実験ではサリチル酸曹達と安息香酸曹達とを用いた訳であるが、その作用は全体としての傾向はよく似ているが、安息香酸曹達の場合はその有効濃度がかなり高濃度側に偏つており、又その効果と濃度との関係はゆるやかである(図7)。これは津島の実験でも認められることであり、種々の実験結果を総合してみると、安息香酸曹達の場合には *Hb* の *perturbation* は質的に軽度なのではないかと考えられる。例えば図7においてサリチル酸曹達を作用させた場合にはコレグロビン生成に対する促進効果の方が酸素消費速度に対する効果よりも大きいのであるが、安息香酸曹達ではこの関係が逆である。また吸光像の上で完全に *perturbation* が完成しているような高濃度条件では、サリチル酸曹達の場合は反応は殆んど進行しないのに対し、安息香酸曹達ではゆるやかながら着実に進行するのが認められ、特にオキシダーゼ作用の強さは、その 1.2M の高濃度においてもなほ対照のものを超えている。

(10)

以上述べたことによつて、ヘモグロビンからコレグロビンへの分解は沢山の可能な分解経路のうち、たまたまその一つが特に優勢となつたものであること、この経路を指向するためにはヘムに配位する蛋白質の性質による制約があること、しかも本反応は元々酸化的反応であるため、*Hb* 分子の蛋白は変性を蒙り易いこと、その必然として起る蛋白構造変化によつて *Hb* の機能に質的な変異を来し、このことが逆に *Hb* 自身の分解を自触的に増大すると云ふ関係を一通り述べ得たものと思う。ヘモグロビンの機能と代謝との間に見られるこのような相互依存性は単に *Hb* のみに限られたことではなく、ヘミン錯塩一般に共通なことである。前述のようにヘミン分子の性格そのものが配位子の種類と性質によつて例えばその酸化還元電位や触媒としての特殊性などが多様に変化し得るものであり、結局はヘミン分子の中心に位置する鉄の性質がヘミンの共鳴構造や配位子との結合様式や鉄の荷電転換に対応する媒体の酸化還元電圧などの規制を受けて分化するにすぎないのであつて、ヘモグロビン代謝の特に初期反応の解析がヘミン誘導体の構造と機能との対応関係の緊密さを実験的に捕捉する重要な手段となり得る理由もこの点にもとづく。すなわちヘモグロビン分解反応

と云う一見単純な反応を通してヘミン誘導体一般の作用の特性を解析しようとするわれわれの方法論も実はこの点に立脚しているのである。

このような問題は今日必しもヘモ蛋白質にだけ限られたことではなく、酵素一般についても取上げられようとする趨勢にある。すなわち酵素の作用機作の根本は、最初に酵素が基質と結合し、次で基質を賦活して反応性を高めることにあるが、酵素が基質を賦活するための実体的な根拠がどこにあるかについては今なおあまり明かでない。この点についてもヘモグロビンの研究は多くの暗示を授けている。前述のように Wyman¹⁹⁾ はヘモグロビンと酸素との結合によつて蛋白部分に起る変化の大きいことに注目し、これを酵素一般の問題に拡張して、次のような想像を述べている。すなわち酵素が基質と結合することによつてヘモグロビンにおける場合と同様な構造変化が起り、この構造変化に伴うエントロピー変化が実は酵素による基質活性化の真の原因であろうと言うのである。Stryer²⁵⁾ 及び Tekman²⁶⁾ が cationic detergent に対し HbO₂ よりも HbCO の方がはるかに変性しにくいことを報告し、CO により蛋白部分が一層安定化されるものとの考えを述べているのも同じような見解からのことと思はれる。このような推論は最近 Laidler^{26) 27)} により、ウレアーゼやペプシンの作用機作の熱力学的研究結果からも提出されている。Laidler によればこの種の水解酵素においてもその基質との結合段階においてあたかも変性を想はせる酵素分子の構造変化が起るらしく、酵素のはたらきと失活とは酵素蛋白にとつては同じ現象の二つの面にすぎないのではないかと論じている。更に昨年、Riggs²⁸⁾ は Hb と酸素との飽和度曲線の性質がグロビンの -SH 基により著明な影響を受けることを報告した。天然の Hb ではヘム間の相互作用のために、飽和度曲線は酸素分圧の対数に対して Hill の式における $n=2.8\sim 2.9$ のシグモイド曲線となるが、予めその -SH を遮蔽しておくともヘム間の相互作用は著しく低下し、 $n=1.4$ となる。-SH の遮蔽を取除けば再び可逆的に $n=2.9$ に戻ると云う。

蛋白質、特にヘモグロビンに見られるこのような構造と機能との相関について、またわれわれによつて明らかにされたそれらと代謝との相互依存性について、われわれは益々深い興味を覚える。このような研究方向は今日ではまだ多分に面的であろう。生化学本来の目標としてわれわれはこのような相互的な関係がその上に成立つ筈の構造上の実体を捉えなければならな

い。更にはもつと生理的な環境条件で上述のような関係が具体的にどのような役割を果しているかを解明することも必要である。それらはわれわれの将来の課題である。

稿を終るに当り上代教授の不断の御指導と教室員各位の御協力に深謝する。又、常々啓発をうけている荒谷真平氏（東京医科歯科大学教授）に感謝する。

1953, 5, 13

文 献

- 1) 菊地：生化学，**22**, 214(1950)；**22**, 235(1950)；**23**, 38(1951)；**23**, 44(1951)
- 2) 菊地，富村：生化学，**24**, 49(1952)
- 3) 上代，菊地：J. Biochem., **38**, 213(1951)；**39**, 63(1952)；**39**, 193(1952)；**39**, 357(1952)
- 4) 上代，菊地：血液学討議会報告 (1951)
- 5) 鈴木：日医大誌，**19**, 954(1952)
- 6) 上代：日医大誌，**17**, 732(1950)
- 7) 上代：生体の科学，**4**, 74(1952)
- 8) 菊地，小川：J. Biochem., **39**, No.5, 11(1952)
- 9) 菊地，小川：生化学，**24**, 70(1952)
- 10) 小川：生化学，**24**, 200(1953)
- 11) 菊地：生化学，**24**, 62(1952)
- 12) 菊地：生化学，**24**, 55(1952)
- 13) Keilin, D. a. Hartree, E.F. : Biochem. J., **39**, 289, 293(1945)；Chance, B. : J. Biol. Chem., **182**, 643, 649(1950)；阿南：J. Biochem., **38**, 19(1951)；Theorell, H. : Advances in Enzymology, **7**, 265 (1945)
- 14) Tsou, C.L. : Biochem. J., **49**, 362, 367 (1951)
- 15) Anson, M.L. a. Mirsky, A.E. : J. Gen. Physiol., **17**, 399(1934)
- 16) Holden, H.F. : Australian J. Exptl. Biol. a. Med. Sci., **25**, 47(1947)
- 17) 津島：生化学，**25**, 27(1953)；原著未発表
- 18) Perutz, M. F. : Nature, **160**, 786 (1947)；Proc. Roy. Soc., **A 195**, 474 (1949)
- 19) Wyman, J. Jr. : 科学，**21**, 62(1951)；J. polymer Sci., **7**, 499 (1951)
- 20) Ross, W.F. a. Turner, R. : J. Biol. Chem., **139**, 603(1941)
- 21) 菊地，富村，牧田：生化学，**25**, 28(1953)；原著未発表
- 22) 荒谷：生化学，**25**, 26(1953)
- 23) 楠：生化学，**25**, 26(1953)
- 24) 荒谷：生体の科学，**4**, 57(1952)
- 25) Stryer, Z. a. Tekman, D. S. : Bull. faculté méd. Istanbul, **14**, 18(1951) (Chem. Abstr., **46**, 2587 (1952))
- 26) Laidler, K.J. a. Casey, E.J. : J. Am. Chem. Soc., **72**, 2159(1950)
- 27) Laidler, K.J. a. Hoare, J.P. : J. Am. Chem. Soc., **72**, 2489(1950)
- 28) Riggs, A.F. : J. Gen. Physiol., **33**, 1 (1952)