霊長類におけるヘモグロビンの分子進化の遅延

毎 田 徹 夫

はじめに

分子進化の速度を最初に計算し、報告したのはZuckerlandlとPaulingで(1962年)、彼らはヒトとウマのヘモグロビンの α 鎖間のアミノ酸変異数と、古生物学的に推定されていたヒトとウマが分岐した年代とから、アミノ酸1個が置換するのに要する年数は平均 14.5×10^6 年であろうとしている(Zuckerlandl & Pauling, 1962)。(その後、他のヘモグロビンの構造をも加味して、その年数を 7×10^6 年としている)この計算に際しては変異の速度はその期間を通じて著しい増減はないものと仮定している。その後、Kimuraは1968年、蛋白質の分子進化に関する中立説を提唱した(Kimura, 1968)。それに関連して、ある一種の蛋白質の分子進化の速度は、その全過程を通してほぼ一定であるとする論議が多いようである。

一方、われわれは、1968年アカゲザルのヘモグロビンの一次構造を決定し、それを他の哺乳類ヘモグロビンと比較することによって、霊長類ではヘモグロビンの置換速度が減少しているのではないかと思った(Matsuda, Maita & Ota, 1968)。その後、種々の霊長類ヘモグロビンの一次構造の研究を行い、ヘモグロビンの分子進化の速度は必ずしも一定ではなく、年代に応じて変化していると推測せざるを得ないようになった。

霊長類ヘモグロビンの分子進化速度の減少

Goodmanらは、ヘモグロビンのアミノ酸配列から導かれるDNAの塩基配列を基に、最大

節約法を用いて祖先型を推定し、ヘモグロビンの系統樹を作製し、分子進化の速度を求めている(Goodman, Moore & Matsuda, 1975)。

表1. 真獣類祖先ヘモグロビン以降の分子進化速度.

Species	α chain		β chain	
	MMD	NR %	MMD	NR %
Primates				
Human	17	13.4	19	14.5
Langur	18	14.2	21	16.0
Rhesus	20	15.8	25	19.0
Japanese	20	15.8	24	18.3
Savannah	21	16.6	24	18.3
Spider	16	12.6	22	16.7
Capuchin	17	13.4	22	16.7
Slow loris	20	15.8	22	16.7
average		14.7	average	17.0
Other mammals				
Rabbit	47	37.0	23	17.5
Mouse	22	17.3	52	39.6
Dog	40	31.5	15	11.4
Horse	21	16.6	47	35.8
Bovine	21	16.6	40	30.4
average		23.8	average	26.9

MMD: minimum mutation distance.

NR%: nucleotide replacements per 100 codons per 1×10^8 years.

表1は彼らの結果を示したもので、真獣類の祖先以後のヘモグロビンの分子進化の速度を霊長類と他の哺乳類に分けて比較したものである。表にみられるように霊長類ヘモグロビン α 鎖の置換速度は平均14.7 NR%, β 鎖のそれは平均

The Rate of Molecular Evolution of Primate Hemoglobin is Becoming Slower.

Tetsuo MAITA, Department of Biochemistry, Nagasaki University School of Medicine
Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan

〒852 長崎市坂本町 長崎大学医学部生化学教室

17.0 NR %であるのに対して、他の哺乳類では α 鎖で平均 23.8 NR %, β 鎖で平均 26.9 NR %と、霊長類の方が分子進化の速度が遅くなっている。さらに、霊長類の祖先以降の置換速度は表 2 に示すように、 α 鎖で平均 7.8 NR %, β 鎖で平均 10.9 NR %と、表 1 に示した真獣類祖先以後の霊長類ヘモグロビンの置換速度より、さらに減少している。

表 2. 霊長類祖先ヘモグロビン以降の分子進化速度.

Species	α chain		β chain	
	MMD	NR %	MMD	NR %
Human	5	5.9	9	10.3
Langur	6	7.1	8	9.1
Rhesus	8	9.5	11	12.6
Japanese	8	9.5	10	11.4
Savannah	9	10.6	10	11.4
Spider	4	4.7	9	10.3
Capuchin	5	5.9	9	10.3
Slow loris	8	9.5	10	11.4
	average		average	
	7.8		10.9	

MMD: minimum mutation distance.
NR %: nucleotide replacements per 100 codons per 1×10^8 years.

表 1 および表 2 に示した分子進化の速度は前述したように、最大節約法を用いて推定した祖先ヘモグロビンの遺伝子の構造に基づいて計算されたものであるが、以下は単純にアミノ酸の置換数を基に霊長類ヘモグロビンの置換速度を見てみたい。

硬骨魚類のキンジョと15種の霊長類（ヒト、オランウータン、テナガザル、ハヌマンラングール、アカゲザル、ニホンザル、パタスモンキー、サバンナモンキー、クモザル、フサオマキザル、ワタボウシタマリン、シルバーマーモセット、オオガラコ、スローロリス、スレンダールリス）のヘモグロビン α 鎖（143 残基）間のアミノ酸置換数は平均 69.3 ± 0.8 であり、これはキンジョと霊長類以外の動物（ニワトリ、ダチョウ、カンガルー、ウサギ、マウス、ウマ、ウシ、イヌ、ヨーロッパハリネズミ）のヘモグロビン α 鎖間に認められる置換数、平均 69.3 ± 1.9 とほとんど一致している。魚類と上記の動

物とが分岐した年代を古生物で推定されている古生代の石炭紀、 30×10^7 年前とすると、この間の置換速度は、アミノ酸 1 座位当り 1 年間の置換率で表わすと、霊長類でも他の動物でも平均 $8.08 (\pm 0.35) \times 10^{-10}$ とほとんど同じである。次に鳥類のニワトリと霊長類とが分岐した年代を中生代のジュラ紀、 18×10^7 年前とし、同じように α 鎖の置換速度を求めると $8.14 (\pm 0.29) \times 10^{-10}$ 、また、食虫類と霊長類が分岐した年代を中生代の白亜紀の中頃、 10×10^7 年前とし、ヨーロッパハリネズミと霊長類を比較すると、その置換速度は $8.96 (\pm 0.43) \times 10^{-10}$ である（表 3）。このように、分岐してからの年数が大きいものを比較すると、その置換速度はほぼ一定であるとみなされる。

表 3. 霊長類ヘモグロビン α 鎖のアミノ酸置換速度.

Comparison		$v \times 10^{10}$
Gold fish	—Primates	8.08 ± 0.15
Chicken	—Primates	8.14 ± 0.29
Hedgehog	—Primates	8.96 ± 0.43
Slow loris	—Anthropoidea	5.35 ± 0.86
Spider monkey	—Catarrhini	4.60 ± 0.71

他方、原猿類のスローロリスと原猿類以外の霊長類のヘモグロビン α 鎖間の置換数と、原猿類と真猿類とが分岐した年代、晩新世の終り頃 6×10^7 年前とから、その間の置換速度を求めると $5.35 (\pm 0.86) \times 10^{-10}$ となり、前述の魚類、鳥類、食虫類と比較して得られた値より 33~40 %もの減少が認められる。さらに、新世界ザルと類人猿および旧世界ザルを比較した場合は、分岐年代を漸新世の終り頃 4×10^7 年前とすると、その置換速度は $4.60 (\pm 0.71) \times 10^{-10}$ とさらに減少している。以上のことを表 3 にまとめて示した。

表 4 は、 α 鎖の場合と同様にして求めた霊長類ヘモグロビン β 鎖の置換速度を示したものである。 α 鎖の場合に認められた現象が β 鎖でも同じように認められる。このことは、霊長類で

表4. 霊長類ヘモグロビン β 鎖のアミノ酸置換速度.

Comparison	$v \times 10^{10}$
Gold fish — Primates	8.24 ± 0.11
Chicken — Primates	8.57 ± 0.20
Hedgehog — Primates	8.93 ± 0.27
Slow loris — Anthropoidea	6.45 ± 0.65
Spider monkey — Catarrhini	5.79 ± 1.26

はヘモグロビンの分子進化の速度が次第に遅くなっていることを強く示唆している。

霊長類における分子進化速度の減少の機構

我々は霊長類におけるヘモグロビンの分子進化速度の減少は、その構造上の自由度が減少していることに基因していると考えている。分子進化に対する構造上の自由度という概念は松田の提唱によるもので (Matsuda, 1978), 蛋白質の分子進化の過程において、機能的に一応完成された蛋白質は、それぞれその機能に関連した一定の構造上の制限を有し、その制限の範囲をその蛋白質の構造上の自由度とし、この自由度を越えて著明な変化をもたらすアミノ酸置換は許容されないけれども、その自由度の範囲内にとどまるような置換は自由に行われ得るとする。霊長類ヘモグロビンはすでに、それぞれの赤血球内環境に適応し、それに応じた構造上の自由度をもっているが、それはかなり制限されたものとなっており、その結果アミノ酸の置換速度も減少していると考えられる。

所で、機能的に完成されていると考えられる動物のヘモグロビン、即ち、ヘム間相互作用や Bohr 効果を有し $\alpha_2\beta_2$ の四量体構造をもつヘモグロビンでも、それらの構造上の自由度は全ての動物に共通なものではなく、あるグループと別のグループのヘモグロビンでは異なっていると我々は考えている。

例えば、哺乳類のヘモグロビンでも 2・3DPG (ジホスホグリセリン酸) をアロステリック効果体としているグループと、そうでないグループとでは効果体との結合に関与している部位の

自由度は異なっていると考えられる。霊長類のほとんどのヘモグロビンは 2・3DPG をアロステリック効果体としているが、キツネザルではそうでないことが知られている。キツネザル・ヘモグロビンの構造を他の霊長類のものと比較すると、 α 鎖での置換数は 13~17 とスローロリスやガラゴの場合とほとんど変りはないのに対して、 β 鎖での置換数は 23~27 とスローロリスやガラゴの場合のほぼ 2 倍にも達している。このことは、2・3DPG の結合部位が β 鎖に存在することを考えると納得される。つまり、キツネザルは霊長類でありながら、他の霊長類とは類なる構造上の自由度をもつヘモグロビンをもっていると云えるのではないだろうか。

ヘモグロビンはその立体構造も詳細に解析され、構造と機能の関係も良く知られている蛋白質の 1 つである。そこで、ヘモグロビンの機能あるいは立体構造の維持とは関係ないと考えられている部位 (霊長類間に認められるアミノ酸置換の多くはこれらの部位で生じている。) でのアミノ酸置換を霊長類とそれ以外の哺乳類に分けて比較してみると興味あることが知られた。 $\beta 9$ に出現しているアミノ酸の種類とその頻度は、図 1 に示したように霊長類でも他の哺乳類でもほぼ同じである。次の $\alpha 78$ では、霊長類以外の哺乳類ではツパイを除いて全てグリシンによって占められているのに対して霊長類では 4 種類のアミノ酸が認められる。一方、 $\alpha 115$ では霊長類以外のものでは実に 7 種類ものアミノ酸が認められるのに対して霊長類ではすべてアラニンである。この $\alpha 115$ のような例は、このほか $\alpha 22$, $\alpha 64$, $\alpha 82$, $\beta 12$, $\beta 117$ などでも程度の差はあるが認められる。これらの現象は、ヘモグロビンの分子進化に対する構造上の自由度がすべての動物に共通ではないことを示すものであろう。

	$\beta 9$				$\alpha 78$					$\alpha 115$							
	S	A	N	T	N	H	S	T	G	A	G	S	T	N	D	E	
Human, Gorilla, Orangutan	o				o					o							
Hanuman langur		o				o				o							
Rhesus, Japanese monkey			o		o					o							
Savannah, Patas monkey				o		o				o							
Spider monkey		o			o					o							
Capuchin,Tamarin, Marmoset	o				o					o							
Slow, Slender loris	o						o			o							
Galago			o				o			o							
Blown Temur		o					o			o							
<hr/>																	
Tupai		o				o				o							
<hr/>																	
European hedgehog		o					o			o							
Musk shrew		o					o			o							
Mouse		o					o			o							
Rabbit	o						o					o					
Dog	o						o							o			
Bovine		o					o					o					
Sheep		o					o								o		
Horse		o					o								o		
Kangaroo			o				o									o	
Echidna				o			o										

図 1. ヘモグロビン $\beta 9$, $\alpha 78$ および $\alpha 115$ に出現しているアミノ酸の比較

おわりに

我々は、この20年間に20種類以上の霊長類ヘモグロビンの一次構造を決定し、それをもとに霊長類ではヘモグロビンの分子進化の速度が遅くなっていること、そして、それは構造上の自由度の減少によるということを提唱してきた。所で、このような減少は霊長類ヘモグロビンにのみ認められるものであろうか。我々は、そうではなく、生理機能をもつ1つの蛋白質について、分岐してからの年代の近いもの同志を比較すると同様な現象が認められるのではないかと考えている。つまり、1つの蛋白質が生理的な役割を発揮するには、その蛋白質のみでは不十分であり、その蛋白質に相互作用をおよぼす種々の因子、細胞内環境が必要とされる。そうすると、一応機能的に完成され、その細胞内環境に適応した蛋白質の構造上の自由度は低くならざるを得ないのではなからうか。

引用文献

- Goodman, M., Moore, G. W. and Matsuda, G., 1975. Darwinian evolution in the genealogy of haemoglobin. *Nature*, 253: 603-608.
- Kimura, M., 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217: 624-626.
- Matsuda, G., Maita, T. and Ota, H., 1968. The primary structures of primate hemoglobins and their phylogenetic implication. *Proc. VIIth Int. Congr. Anthropol. Ethiol. Sci.*, vol. 1: 376-383.
- Matsuda G., 1978. Molecular evolution of hemoglobins. In: "Matsubara, H. and Yamakawa, T. ed., *Evolution of protein molecules*" pp. 175-185. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Zuckenkandl, E. and Pauling, L., 1962. Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity. In: "Kasha, M. and Pullman, B. ed., *Horizons in Biochemistry*" pp. 189-225. Academic Press Inc., New York.