

氏 名	徳 永 力 雄 とく なが りき お
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 545 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 48 年 7 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	COMPARATIVE STUDIES ON NONENZYMIC AND ENZYMIC PROTOHEME FORMATION (非酵素的ならびに酵素的プロトヘム生成に関する比較研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 沼 正 作 教 授 早 石 修 教 授 佐 野 晴 洋

論 文 内 容 の 要 旨

血色素・チトクロームCなどのいわゆるヘム蛋白質の活性中心を構成し、酸素の運搬や生体酸化に重要な役割を果たしているプロトヘムは、プロトポルフィリンに二価鉄を導入して生成される。このプロトヘム生成反応は生体では鉄導入酵素によって触媒されるとされているが、反応機構については殆んど解明されていない。一方非酵素的鉄導入の可能性も示唆されているが確証がない。したがってポルフィリン環への鉄導入機構の研究はヘム生合成の分野で意義があるばかりでなく、ポルフィリン代謝異常をもたらす鉛中毒症の本態究明にも有力な知見を与えるものと考えられる。著者は生理的条件下でプロトヘムが非酵素的に生成されることを見い出してその反応条件を検討したのち、酵素的プロトヘム生成と比較し、更に各種ポルフィリンへの鉄導入について研究した。

非酵素的プロトヘム生成はプロトポルフィリンと二価鉄のみからでは殆んど認められないが、ヒドロサルファイトあるいはラウリル硫酸ソーダを添加すると、トリス緩衝液中嫌氣的条件下、38℃で容易に起る。ヒドロサルファイト添加系でのヘム生成は、まずヒドロサルファイトと二価鉄から黒色の沈澱—おそらく活性鉄・硫黄複合体—が形成され、これにプロトポルフィリンが反応してプロトヘムが生成される。反応は常に沈澱状態で進行し、pH 7.8-9.6 での収率は 30%/h で、-SH 阻害剤や鉛イオンによって阻害されるが、硫化鉄によって促進される。硫化ソーダもヒドロサルファイトと同様の作用を示すが、システインや GSH などの硫黄化合物あるいは還元剤は効果を示さない。これらの事実は、ヒドロサルファイトは還元剤として作用しているのではなく、活性鉄・硫黄複体の形成に関与し、硫黄が鉄の媒体として重要な役割を果たしていることを示している。

陰イオン性界面活性剤であるラウリル硫酸ソーダ添加系では、pH 7.1-9.6 において pH の増加とともにヘム生成は増加し、pH 8.2 における収率は 40%/h であるが沈澱形成はみられず、-SH 阻害剤や鉛イオンによって全く影響を受けない。ラウリル硫酸ソーダに代えて他の陰イオン性界面活性剤を添加した系でのヘム生成は約 10%/h で、非イオン性および陽イオン性界面活性剤添加系ではヘムは全く生成され

ない。以上より本系では、ポルフィリン分子をとりまくラウリル硫酸基と二価鉄の両イオン間の電氣的吸引力によって鉄がポルフィリン核に近づき、その結果ヘム生成が高められると考えられ、ハイドロサルファイト添加系とは全く異なる機構によることを明らかにした。

牛肝ミトコンドリアより可溶化して得た鉄導入酵素によるプロトヘム生成は、pH 7.4-8.8 において一定で、収率は非酵素系のそれとほぼ同じであるが、非イオン性界面活性剤によって促進され、-SH 阻害剤や鉛イオンによって弱く、陽イオン性界面活性剤によって完全に阻害された。

ジアセチルデューテロー、ジホルミルデューテロー、ヘマトー、メゾー、コプロポルフィリン、ポルフィリンCへの鉄導入についても検討し、鉄導入の起りにくいジアセチルデューテロポルフィリンやジホルミンデューテロポルフィリンに対してもハイドロサルファイトが効果的であることを明らかにした。還元型ポルフィリン環への鉄導入についてはプロトポルフィリノーゲン-三価鉄の酸化還元系において非酵素的鉄導入が起り得ることを示し、かかる系でのヘム生合成の可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

ヘム生合成の最終段階でプロトポルフィリンに鉄が導入されてプロトヘムが生成される反応は酵素的反応であるとされているが、精製が困難で反応機構については殆ど明かでない。また非酵素的なヘム生成は今迄に報告はなかった。本研究は生理的 pH, 温度条件下で次の2つの反応系(A), (B)において非酵素的にもヘムが生成されることを初めて明かにし、鉄導入機構について新しい知見を加えた。即ち(A)系の Fe^{++} - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 系で、活性な鉄・硫黄複合体が形成され、従来の定説を破って colloidal な条件下でも大量のプロトヘムの生成を見た。(B)系では Fe^{++} -SDS 系の可溶性条件下で electrostatic effect によって鉄導入の起ることを見出した。牛肝ミトコンドリア抽出酵素を用いヘム合成の反応速度と反応量を調べたが非酵素的の場合とほぼ同じでありまた酵素の至適 PH を認めなかった。従って本研究の結果から推察すると、従来の抽出酵素は単なる Fe の carrier か、或はミトコンドリアの脂質部分がポルフィリンの溶解度を高めているのかも知れない。また(A)系にみられる様な labile な鉄化合物の生体内存在も予測される。本実験はヘム生成という生体内の重要な反応において新しい知見を見出し、鉄導入機構の解明に大きく貢献した。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。