



Title	ヘモグロビンM症の病態生化学的研究
Author(s)	鈴木, 友和
Citation	大阪大学, 1968, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29523">https://hdl.handle.net/11094/29523</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	鈴木友和 すずきともかず
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1380 号
学位授与の日付	昭和 43 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医学研究科内科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文名	ヘモグロビン M 症の病態生化学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 中馬 一郎

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

数ある異常ヘモグロビン症の中でも、ヘモグロビン M (Hb M) 症は臨床的に独特のチアノーゼを呈する点で特徴的とされているが、溶血性貧血を伴う型の Hb M も存在している。現在まで日本で見出された Hb M は 4 種類である。即ち Hb M<sub>Iwate</sub> (Hb M<sub>I</sub>,  $\alpha_2^{87\text{Tyr}} \beta_2^A$ ), Hb M<sub>Boston</sub> (Hb M<sub>B</sub>,  $\alpha_2^{58\text{Tyr}} \beta_2^A$ ), Hb M<sub>Saskatoon</sub> (Hb M<sub>S</sub>,  $\alpha_2^A \beta_2^{63\text{Tyr}}$ ), Hb M<sub>Hyde Park</sub> (Hb M<sub>H</sub>,  $\alpha_2^A \beta_2^{92\text{Tyr}}$ )。

目的 1, 4 種類の Hb M の機能及び安定性に関する研究を通して、上記の臨床症状の病態生化学的背景を明らかにしようとする。

目的 2, Hb M 分子が 4 量体でありながら、異常鎖はメト型で、正常鎖だけが酸素結合能力をもっているという特徴を利用し、4 量体としての Hb 分子における  $\alpha$ ,  $\beta$  各々のサブユニットの性質、機能的役割を明らかにし、更に Hb のアロステリック機構の究明に貢献したい。

### 〔方法及び成績〕

#### 1, Hb M の酸素結合機能とチアノーゼとの関係

Hb M 症の患者の血液から CG-50 カラムクロマトグラフィーにより Hb M 成分を酸素型で分離し、分光学的方法により酸素平衡曲線を作製した。その結果、Hb M<sub>I</sub>, Hb M<sub>B</sub> では酸素親和性が Hb A に比し著しく低下しており、大気圧では 100% 飽和に達しないことが明らかになった。又 Bohr 効果は殆んど認められず、曲線の S 字状性の著しい減弱及至消失が観察された。一方 Hb M<sub>S</sub>, M<sub>H</sub> では上記 2 者とは対照的に酸素親和性は低下しておらず、Bohr 効果も明らかに認められた。ただ曲線の S 字状性はやはり減弱及至消失していた。

上述の成績より、まず Hb M<sub>I</sub> 症及び Hb M<sub>B</sub> 症の患者のチアノーゼは循環血中にメトヘモグロビンの他に deoxy Hb M が存在していることに起因すると説明される。又、 $\alpha$  鎖異常と  $\beta$  鎖異常の

Hb M の間に見られる極めて大きな機能的差異は、 $\alpha$ ,  $\beta$  鎖の本来の性質にちがひがあるため、立体構造の上で全く対等な位置にアミノ酸置換が起っても、異名の正常鎖に及ぶ影響は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖で異なるためであると考えられる。

## 2, Hb M の所謂安定性と溶血性貧血との関係

1) Hb M の自働酸化性：異常鎖が  $\alpha$  か  $\beta$  かの別を除けば、立体構造上等しく E 7 にチロシンが置換した Hb M $\beta$  と Hb M $\alpha$  の正常鎖の自働酸化速度を 37°C, pH 7.0, 酸素気中で分光学的方法により測定した、この条件では Hb M $\beta$  は Hb A に較べて異常に速く酸化するのに反し、Hb M $\alpha$  は全く対照的に自働酸化しにくく、Hb A とほぼ同速度であった。

2) 還元剤に対する抵抗性：Hb M では置換したチロシン残基はヘム鉄に配位し、安定な phenolate complex を形成している。ハイドロサルファイトを添加すると異常鎖のヘム鉄は還元されて 2 価になり deoxy Hb A と分光学的に区別できなくなる。CO-Hb M $\beta$  と CO-Hb M $\alpha$  について異常鎖の還元速度を比較すると、前者は後者に比し極めて還元されにくいことがわかった。この反応では phenolate complex の切断が律速段階になっていると考えて、この結果を見ると、CN<sup>-</sup>, N<sub>3</sub><sup>-</sup>, 及び F<sup>-</sup> との反応性の結果と符合する。

3) Hb M の熱変性速度：メト Hb M $\beta$  及び Hb M $\alpha$  の熱変性速度を 64°C, pH 6.8 で分光学的に測定した。この場合も両者の態度は対照的で、メト Hb A を挟んでメト Hb M $\beta$  はより安定、Hb M $\alpha$  はより不安定であった。

以上の所謂安定性に関する実験成績から結論されることは、Hb のヘムの配位子（チロシンも含めて）との結合は  $\beta$  鎖より  $\alpha$  鎖ヘムの方がより強固であるということである。 $\beta$  鎖ヘムと配位子の結合が弱いことは Hb A の酸素運搬機能が正常に営まれる上に極めて重要な条件であること及び  $\beta$  鎖本来の不安定性と密接に関係していると考えられる。又  $\beta$  鎖のこの性質は Hb 分子全体の安定性ひいては赤血球の寿命にまで影響をもつのではないかと想像される。事実、現在までに報告された溶血性貧血を伴う異常 Hb 症は全て  $\beta$  鎖異常のものである。Hb M もその例外ではなく、筆者が Hb M $\beta$  症の患者について赤血球寿命を測定した結果では DF<sup>32</sup>P 法、<sup>51</sup>Cr 法のいずれでも正常であったのに反し、 $\beta$  鎖異常の Hb M $\alpha$ , Hb M $\gamma$  症では溶血性貧血が証明されている。

## 3, Hb M $\gamma$ の EPR スペクトル（電子常磁性共鳴吸収）と $\pi$ -ヘム間相互作用、について

Hb の  $\pi$ -ヘム間相互作用、（酸素平衡曲線の S 字状性として見られる）は Hb のアロステリック蛋白としての特性を示すものとして近年新たに注目されているが、その詳細は明らかでない。

Hb M $\gamma$  について EPR を測定したところ、酸素型と還元型で有意の差が認められた。Hb M の EPR シグナルは異常鎖のヘム鉄の d 電子に由来するものであるから、この結果は正常  $\alpha$  鎖の酸素化が  $\beta$  鎖の conformation の変化を介して  $\beta$  鎖ヘム鉄の電子状態に影響を与えたと解釈される。これは文字通りひとつのヘム間相互作用に対する電子論的立場からの実証に他ならない。その意味で Monod らの定義する allosteric transition の実証に一步近づいたともいうことができよう。

〔総括〕

Hb M 症の主要症状であるチアノーゼ及び溶血性貧血の病態生化学的背景を検討すると共に、Hb M Hyde Park の EPR を用い Hb の  $\pi$ -ヘム間相互作用、に対し電子論的に実証を与えた。

## 論文の審査結果の要旨

4種類のヘモグロビンM症を対象に、その主徴であるチアノーゼおよび溶血性貧血の病態生化学的背景を詳細に検討している。そしてその結果に基づきヘモグロビンの  $\alpha$ ,  $\beta$  サブユニットの不等価性を推論し、さらにヘモグロビン M<sub>Hyde Park</sub> の EPR によりヘモグロビンのアロステリック効果を示すヘム間相互作用の電子論的実証に初めて成功したことは方法論的にも高く評価されてよい。