

論文内容要旨

I 序 論

Benesch & Benesch (1967)は、赤血球内の解糖系磷酸化合物の一つである 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) が hemoglobin (Hb) の酸素親和性に顕著な影響を与えることを発見した。即ち、溶血液から完全に 2,3-DPG を取り除いた stripped Hb では、酸素親和性が非常に高く、これに 2,3-DPG を添加していくと酸素親和性は順次低下していくという現象である。

しかし、その後この 2,3-DPG の作用に関しては、動物の種類により大きな差のあることがわかってきた。たとえば、ヒツジ、ウシ、ヤギ、ネコには上記の 2,3-DPG 効果のない Hb 成分が含まれており (Bunn, 1971)、またこれらの動物では、他の哺乳動物に比べて赤血球内 2,3-DPG 含量が非常に低いことも報告されている (Rapoport & Guest, 1941; Harkness *et al.*, 1969; Bartlett, 1970)。それにもかかわらず、これらの動物の血液の酸素親和性は、一般の哺乳動物と同程度か、あるいはそれよりも低い (Bartels & Harms, 1959; Bartels *et al.*, 1963; Hilpert *et al.*, 1963)。

本論文では、ヒト、カニクイザル、イヌ、ウサギ、ニホンジカ、ウシの血液を用いて、その酸素親和性と赤血球内諸要因との関連を種々検討したので報告する。このうち特に、ニホンジカについては、シカ赤血球に特有な sickling 現象 (Weisberger, 1964) の解明を目的として、種々の血液学的定数、Hb の均質性と溶解度等を合わせて検討した。

また、ヒト血液に関しては、ACD および CPD 保存血液を用いて、2,3-DPG その他の赤血球内代謝産物の消長と、保存血の酸素親和性との関連を詳細に検討した。

II 材料と方法

III 結 果

A 全血の酸素平衡曲線

種々の血液の酸素親和性を比較するために、 $p\text{He} = 7.40$ という同一基準での P_{50} 値を求めることを試みた。

まず、ヒト新鮮血について、種々の $p\text{He}$ で酸素平衡曲線を描き P_{50} を求めた。これより、 $\log P_{50}$ vs. $p\text{He}$ 曲線を描き、この傾きから、みかけの Bohr 係数 ($\Delta \log P_{50} /$

ΔpHe) が得られる。この Bohr 係数を用いて $pHe = 7.40$ における P_{50} 値を求めると、 26.9 mmHg であった。同様の手順で、カニクイザル、イヌ、ウサギ、ニホンジカ、ウシの新鮮血について求めた P_{50} 値は夫々、 34.2 、 28.8 、 29.0 、 28.2 、 29.5 であった。

B 赤血球内 pH (pHi) と赤血球外 pH (pHe)

従来報告では、 $pHe = 7.40$ での P_{50} 値で酸素親和性を比較している。しかし実際に Hb 分子の働く場は赤血球内であり、従って pHi と P_{50} との関係を得て初めて赤血球内の Hb の酸素親和性を論ずることができよう。そこで、先に酸素平衡実験を行なったヒトおよび数種の哺乳動物血液について、 pHi と pHe との関係、あるいは $\Delta pH (= pHe - pHi)$ と pHe との関係を求めた。その結果、どの動物でも常に $pHe > pHi$ であり、しかも ΔpH は pHe が高くなるほど大きかった。

特にヒト血液につき、oxy 型血液と deoxy 型血液とで pHi と pHe との関係と比較したところ、oxy 型の方がわずかに ΔpH が大きくなる傾向があり、この点について考察を行った。

C みかけの Bohr 係数と真の Bohr 係数

前項で求めた pHi と pHe との関係式を利用してみかけの Bohr 係数 ($\Delta \log P_{50} / \Delta pHe$) を真の Bohr 係数 ($\Delta \log P_{50} / \Delta pHi$) に直した。さらにこの真の Bohr 係数を用いて、 $pHi = 7.20$ での P_{50} を算出した。

D 赤血球内リン酸化合物

deoxy Hb と 1:1 の結合をなすことにより、Hb の酸素親和性を低下させるといわれている 2,3-DPG を中心に、赤血球内の酸溶性リン酸化合物の分布様式を調べてみた。

その結果、今回用いた動物のうち、ヒト、イヌ、カニクイザル、ウサギでは 2,3-DPG が主な有機リン酸化合物であり、Hb とのモル比で 1~2 の間にあった。一方、偶蹄目のシカ、ウシ亜目に属するニホンジカ、ウシでは 2,3-DPG 含有量は非常に低く、Hb とのモル比で夫々、 0.04 、 0.01 であった。

E 2,3-DPG 含量と血液の酸素親和性

A~D の実験結果から次のことが言える。即ち、ヒト、イヌ、カニクイザル、ウサギの血液は、2,3-DPG を Hb とのモル比で 1 以上含有して初めて P_{50} 値を 30 mmHg 前後に維持している。これに対して、ニホンジカやウシの血液の場合には、2,3-DPG/Hb の値が両者とも 0 に近いにもかかわらず、同程度の P_{50} を有しているということになる。

このことは、ニホンジカおよびウシ Hb の 2,3-DPG 感受性が他種 Hb に比し異常に高いことによるのか、あるいはこれらの Hb の intrinsic な酸素親和性が他種に比して低い

ことによるのか、のいずれかであると考えられる。しかしながら兩種Hbは、完全に脱磷した状態でも酸素親和性が低いこと、さらにこれらに2,3-DPGを添加してもその酸素親和性にほとんど影響のないこと(Enoki et al., unpublished)から前者の可能性は除外できる。

F ニホンジカ血液の血液学的知見について

ニホンジカ血液にはsickling現象が観察された。シカの血液およびHbが他種動物のもの、どのような点で異なるためにsickling現象がおこるのかを知るために、血液の性状、Hbの性質について若干検討した。

G ACDおよびCPD保存血の酸素親和性と赤血球内代謝

ACD液保存、CPD液保存に伴うヒト血液の P_{50} 値と、2,3-DPG含量の変動について、日時経過を追って調べたところ両者の間に平行関係のあることがわかった。また、 $pH_i \sim pH_e$ 関係は保存期間中ほとんど変化しないことがわかった。さらに、ACD保存血とCPD保存血につき、 P_{50} と2,3-DPG/Hbとの関係を比較したところ、両者ともほぼ直線関係にあったが、同一2,3-DPG濃度下ではACD保存血よりCPD保存血の方が常に酸素親和性が低く、また P_{50} vs. 2,3-DPG/Hb曲線の勾配(即ち、 P_{50} の2,3-DPG感受性)はCPD保存血の方が小さかった。

IV 考 察

Hb分子の働く場である赤血球内部では、解糖系代謝が盛んに行なわれており、その中間産物である2,3-DPGがHbの酸素親和性を調節していることはBenesch & Benesch (1967)により明らかにされた。

ところが、動物の種によっては、2,3-DPGの結合に直接関与しているHbの β 鎖N末端近傍部がblockされていたり、短絡しているために、2,3-DPGが結合できずに2,3-DPG感受性がほとんどない場合がある。面白いことに、2,3-DPG感受性のある動物群では、赤血球内に2,3-DPGはHbとのモル比で1ないし1以上存在するのに対し、感受性のないネコ科およびシカ、ウシ亜目の動物群では、2,3-DPGはほとんど存在しない。この2,3-DPGの有無は、もちろん直接的には赤血球膜の透過性や解糖系代謝酵素系等の方に原因があると考えるのが妥当であるが、またHbの一次構造とHbの2,3-DPG感受性、赤血球内2,3-DPG代謝の3者の関係は、今後も興味ある問題を提供してくれるように思われる。

一方、2,3-DPGは ΔpH を定める主要な因子であるともいわれてきたが、ニホンジカ血液の場合、および有効期間(21日)経過後のACD保存血の場合等はいずれも2,3-DPGがほ

とんど0であるのに、ヒト新鮮血と同程度の $\Delta p H$ が観察され、 $\Delta p H$ を規定する因子としてさらに他のものも考えなければならないと思われる。

V 要 約

以上の結果から、少なくともヒト血液の酸素親和性は、一義的にはHb分子自体によって定まり、これをmodifyする因子として赤血球内の塩類濃度、なかでも特に2,3-DPGが酸素親和性低下に大きく寄与しており、本質的にはHb溶液での結果と同様であると思われる。またこの解釈は、先の2,3-DPG感受性のないネコ科およびシカ、ウシ亜目を除く一般の哺乳動物血液にも適用できるものと考えられる。

引 用 文 献

<参 考 論 文>

論文審査の結果の要旨

赤血球内の解糖系中間代謝産物の一つである2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG)が、ヘモグロビン(Hb)の酸素親和性に影響を及ぼしていることが、Benesch and Benesch (1967)によって明らかにされて以来、この2,3-DPGの作用機作に関して、多くの研究が行なわれて来ている。

本論文では、ヒト、カニクイザル、イヌ、ウサギ、ニホンジカ、ウシの血液を用い、それらの酸素親和性に影響を及ぼす赤血球内諸要因を種々比較検討した。

まず、赤血球内のpH(pH_i)と赤血球外のpH(pH_e)とを測定した。この測定結果からえられた pH_i と pH_e との関係式を用いると、みかけのBohr係数($\Delta \log P_{50} / \Delta pH_e$)を真のBohr係数($\Delta \log P_{50} / \Delta pH_i$)に変換することが出来る。この真のBohr係数を用いて、 $pH_i = 7.20$ での血液の酸素親和性を P_{50} 値(mmHg)として求めた。その結果は25.7(ヒト)、35.4(カニクイザル)、29.2(イヌ)、28.1(ニホンジカ)、31.0(ウシ)であった。

次に赤血球内の酸溶性リン酸化合物をDowex 1-X 8イオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィーにより分析した。その結果、赤血球内の2,3-DPG含有量は哺乳動物の種類によって顕著な差のあることが解った。即ち、ヒト、イヌ、カニクイザル、ウサギでは2,3-DPGをHbとのモル比で1~2含有しているのに対し、ニホンジカとウシではその含有量が非常に低く、Hbとのモル比でそれぞれ0.04、0.01であった。しかし、他種と同程度の P_{50} 値を示す。しかもこの両種Hbは外から2,3-DPGを添加しても、その酸素親和性に殆んど影響をうけない。従って、この両種Hbは、2,3-DPGによらず、intrinsicに酸素親和性が低い可能性が明らかとなった。

本論文では、更にニホンジカについて、その血液学的定数を求め、またヒト血液の長期保存条件についても、特に2,3-DPGの消長との関係から加えている。

以上、本論文は数種の哺乳動物について、血液の酸素親和性に影響を及ぼす諸要因を種々比較検討し、基礎的データを集積するとともに、2,3-DPGの効果に関しては、同じ哺乳動物でも種によって著しい差のあることを明らかにし、この分野の研究に貢献するところ大である。

よって、落合威彦提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。