

蛋白質化学

編 集

大阪大学教授兼東京大学教授・理学博士

赤 堀 四 郎

東京大学教授・理学博士

水 島 三 一 郎

4-5

蛋白質化学

4

編集委員

東京大学理学部・理博
安藤 鋭 郎

大阪大学理学部・理博
金子 武 夫

東京大学理学部・理博
島内 武 彦

お茶の水女子大学理学部・理博
立花 太 郎

大阪大学理学部・理博
谷 久 也

お茶の水女子大学理学部・理博
成 田 耕 造

東京大学理学部・理博
渡 辺 格

編 集

東京大学教授・理学博士

水島三一郎

大阪大学教授・理学博士

赤堀四郎



共立出版株式会社

序

昭和30年2月 Pauling 教授は Nobel 賞受賞式の帰途日本を訪問された。そのとき“健康人と病人のヘモグロビン”という演題で鎌状赤血球貧血症の話がされ、聴衆に深い感銘を与えた。この病気はしばらく前からヘモグロビン分子の異常性に基くものであることが明かにされ“分子病”といわれていたのであるが、Pauling 教授と板野博士とはこの方面の研究に大きな貢献をされた。Pauling 教授は板野博士が日本人である関係上最近の発達も含めて、この研究の概要を日本で印刷公表する意向を洩されたので、それを蛋白質化学の第4巻の壁頭に掲げることとなったのである。Pauling 教授の訪日後、半年ばかりして編集者はまた Pasadena を訪れる機会があったが、そのときちょうど原稿がき上っていた。早速それを持帰り東大理工研の宇井信生氏に願って記していただいたものが本巻の第1部である。

編集者はまた数年前から Northwestern 大学の Klotz 教授と何度か会う機会があった。同教授の蛋白質と低分子化合物との結合に関する研究は世界的に有名であってその概要は第2巻にも紹介されているが、研究者自身の手になる一篇は編集関係者一同の希望であった。それである機会にこの意向を同教授に伝えたところ、こころよく執筆を承諾されてかなり長い原稿を寄せられた。それを東大の今堀和友博士に願って訳していただいたものが本巻の第2部である。

東大の野田助教授は滯米当時からコラーゲンに関する研究を行われ、きわめて興味ある研究結果を発表された。この結果をも含めてコラーゲンに関する研究の概要を書いていたたいのが本巻の第3部である。コラーゲンは動物体の構成要素であって古くから知られた物質であるが、その医学上における重要な役割が認められるようになったのは最近のことであり、また構造論的研究も軌道にのってからまだあまり時を経っていない。ここに野田氏をわずらわしてコラ

ーゲンの研究に関する最近の発達を論述していただけたことはわれわれ一同の幸甚とするところである。

すべての生物において水は量的に最も重要な組成である。しかしその水の一部は生体の蛋白質と特に強く結びついて生命活動に対して重要な意味をもっている。これが結合水である。北大の東教授は以前から結合水の物理化学的研究に興味をもたれ、その分野で幾多の重要な結果を発表されている。今回特にお願いして分子論的立場から結合水の研究に関する総合的論述をしていただくことになったが、それが本巻の第4部である。

ペプチドホルモンである Oxytocin 及び Vasopressin についての簡単な記載は既に第1巻で行われているが、この二つの物質に対する最近の研究の成果はまことに驚嘆に値するものがある。それゆえここにその最近の発達をも含めて詳細な記載を行うことは蛋白質化学の一部として甚だ望ましいことである。幸いペプチドホルモンの専門家である塩之義製薬研究所の大家英夫氏が執筆を承諾されたので、同じくホルモンの一種として近年大きな問題をなげかけている ACTH についての説明もあわせて御願して本巻の第5部とした。

Sanger が Insulin について行った実験以来 DNP-アミノ酸の問題は蛋白質化学にきわめて重要な知識となった。蛋白質あるいはアミノ酸を DNP-化する実験法は蛋白質化学の研究に今後大きな貢献をなすものと期待される。ヒドラジン分解法の創始者の一人である阪大の大野光氏、DNP-化合物の系統的新分離法をたてられた関得一郎氏が執筆を快諾されて DNP-アミノ酸の一篇を本巻の第6部として入れることのできたのは真に喜ばしい次第である。

蛋白質化学の各分野の発達のためにひたすら熱情を捧げ続けられている執筆の各位の御力によって本書も既に 1, 2, 3 巻の発行を終り、今回はさらに国際色豊かな執筆陣を得て第4巻を世におくるのができた。この機会に編集関係者一同の企画を激励され続刊を可能とされた読者の方々の御厚意に対して厚く感謝の意を表したい。

昭和 31 年 1 月

水 島 三 一 郎

4 卷 目 次

1. 病気に関連した異常ヘモグロビン分子 [1~14]

Harvey A. Itano

Linus Pauling

訳 宇 井 信 生

2. 蛋白質と低分子イオンまたは低分子化合物との結合

[15~63]

Irving M. Klotz

訳 今 堀 和 友

2.1	はしがき	15
2.2	研究方法	16
	A. 結合する相手物質に起る 性質の変化を利用する方法	16
	B. 蛋白質の変化を利用する方法	22
2.3	質量作用の法則の応用	27
	A. 平衡の定義	27
	B. 結合度への一般式	27
	C. 相互作用のない唯一種の結合 点に対する還元式	28
	D. 互に静電力を及ぼし合う種類の 結合点に対する式	28
	E. 二種の結合点のある場合	28
	F. 結合エネルギーのガウス分布	29
	G. 相互に強め合う種類の結合点	29
	H. 競争的相互作用	29
	I. 結合のデーターを表わす方法	30
2.4	蛋白質と低分子陰イオンとの結合	31
	A. 陰イオン濃度の影響	31
	B. 次々と結合されるイオン間の静電力	33
	C. 温度の影響	33
	D. pH 及び緩衝溶液の性質の影響	35
	E. 陰イオンの分子構造の影響	37
	F. 結合点の競争	41
	G. 蛋白質による相異	41
2.5	蛋白質と低分子陽イオンとの結合	45
	A. 水素イオンとの結合	45
	B. 有機陽イオンとの結合	46
	C. 金属イオンとの結合物	47
2.6	蛋白質と中性低分子との結合	52
2.7	蛋白質結合の生物学的的重要性	54
	文 献	56

3. コラーゲン

〔65~125〕

野 田 春 彦

3.1 結 論	65
3.2 コラーゲン繊維の構造	67
A. 生体内での状態	67
B. 電子顕微鏡による横紋構造の観察	67
C. X線回折による研究	73
D. コラーゲンのポリペプチド鎖の構造	78
3.3 コラーゲン繊維の再生現象	84
A. コラーゲン繊維の希酸による溶解と コラーゲン繊維としての再生	85
B. 自然界に見られない繊維の生成	88
C. コラーゲン繊維, FLS 繊維, SIS 繊維の相互関係	95
D. 生体内での繊維の生成	96
3.4 コラーゲン繊維の二, 三の物理化学的性質	
A. コラーゲン繊維の熱収縮	99
B. コラーゲンの膨潤	100
3.5 コラーゲン分子	101
A. コラーゲン分子のアミノ酸組成	101
B. コラーゲンの分子量	104
C. コラーゲンの電気泳動	113
D. 長周期繊維の生成過程の電子 顕微鏡による観察	114
E. Randall のコラーゲン繊維の模型	118
3.6 結 語	119
文 献	

4. 結 合 水

〔127~162〕

東 健

4.1 序 説	127
4.2 結合水の測定法	130
A. 氷点降下法	130
B. 熱量計法	131
C. 膨脹計法	131
D. 塩化コバルト法	132
E. 蒸気圧法	133
F. 透電率法	134
G. 透電緩和現象に基づく方法	136
H. 核磁気共鳴による方法	138
I. その他の方法	139
J. 全水量の決定	140
4.3 生物組織と結合水	141
A. 昆虫の耐寒性	141
B. 満州産高粱の耐寒性	142
C. 脳腫脹と脳水腫	144
D. 魚肉とその加工品	145
E. 血液その他生体組織	145
F. 繊維素及び木材	147
G. 羊毛	15

4 蛋白質の結合水その他の問題	150
A. B. E. T. の定数	150
B. 蛋白質の透電的挙動	152
C. 水の分子構造	154
D. 水素結合	156
文 献	160

5. ペプチドホルモン

[163~207]

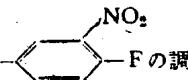
大 塚 英 夫

5.1 Oxytocin	163
A. 分離精製	163
B. アミノ酸組成及び等電点	164
C. 構造研究	165
D. 全合成	174
5.2 Vasopressin	181
A. 分離精製	181
B. アミノ酸組成及び等電点	181
C. Vasopressin 中に認められる Oxytocin作用	182
D. 構造研究	183
E. 全合成	187
5.3 副腎皮質刺激ホルモン Adrenocorticotropic Hormone	190
A. Corticotropin-B	191
B. α -Corticotropin	193
C. Corticotropin-A	196
文 献	205

6. DNP-アミノ酸

[209~265]

大 野、光・関 得 一 郎

6.1 まえがき	209
6.2 DNP-アミノ酸の調製	209
A. DNFB NO ₂ -  -Fの調製法	209
B. DNP-アミノ酸の調製	210
6.3 DNP-アミノ酸の性質	212
6.4 DNP-アミノ酸の分離及び定性	219
A. DNP-アミノ酸の抽出	219
B. シリカゲルクロマトグラフ	220
C. Silicic acid-Celite クロマトグラフ	224
D. Celite クロマトグラフ	227
E. イオン交換樹脂クロマトグラフ	229
F. ペーパークロマトグラフ	233
G. 向流分配法 (Counter current distribution method)	236
H. その他の分離法	240

6.5 定 量	241
A. DNP-化合物の比色定量	241
B. 定量的 DNP-化及び抽出	243
6.6 蛋白質及びペプチドのアミノ末端決定法 (DNP-法)	244
A. 原 理	244
B. 蛋白質の DNP-化	244
C. 加水分解	245
D. DNP-アミノ酸の抽出, 定性 及び定量	245
E. 応用例	246
F. N-末端ペプチド決定法	248
G. 蛋白質中におけるアミノ酸結合順 序決定への応用	250
6.7 蛋白質及びペプチドのカルボキシル末端決定法	250
A. ヒドラジン分解法	250
B. 還元法	257
6.8 その他の応用	258
A. 蛋白質加水分解酵素の基質特 異性の決定	258
B. 分子量測定	258
C. アミノ酸の Optical Configuration の決定	260
D. その他	261
文 献	261

1. 病気に関連した

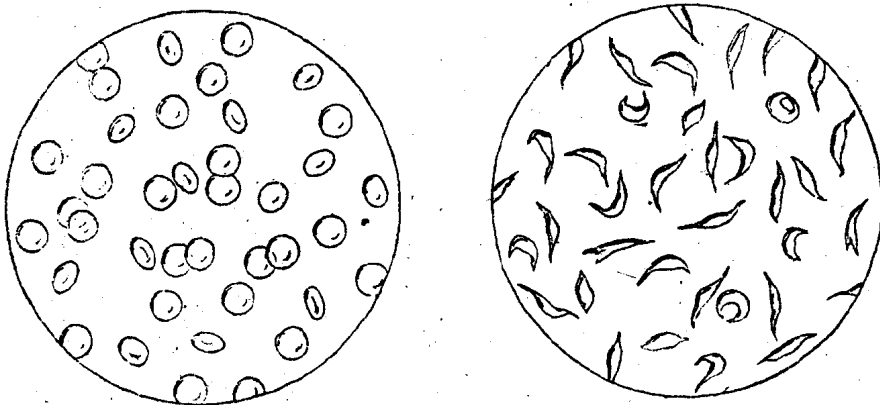
異常ヘモグロビン分子*

Harvey A. Itano and Linus Pauling**
California Institute of Technology

人間の身体もバクテリアや他の病毒を運ぶ昆虫類も皆同じく分子によって構成されている。従ってすべての病気はなんらかの形で分子の病気だといっても差支えない。例えば Phenylketonuria (フェニルケトン尿症) は低能あるいはもっと重症の精神障害を起す病気であるが、これは生れつきの代謝の欠陥によって起り、患者はフェニルアラニンからチロシンへの酸化を行うことができない。この病気が起るのは一組の異常な遺伝子が存在するためで、異常遺伝子が酸化反応を触媒する酵素を産生できないのか、あるいは十分な働きができない異常な酵素分子を作るためと考えられる。

数年前、Sickle-cell anemia (鎌状赤血球貧血症) と呼ばれる病気が Hemoglobin 分子の病気であることが発見された¹⁾。即ちこの病気にかかっている患者は、正常な成人の Hemoglobin とは違った異常な Hemoglobin 分子を産生する。さらに、異常 Hemoglobin 分子が病気の症状の直接の原因となることもはっきり示されている。この発見以後、その他にもヒトの Hemoglobin の異常種によって起る多数の遺伝的な溶血性貧血症が存在することが見出された。この分野については最近数篇の綜説が著されている。²⁻⁷⁾

Sickle-cell anemia は 1910 年 J.B. Herrick 博士によって初めて記載された⁸⁾。この病気の患者の赤血球から一部酸素を除く(静脈血の場合のように)と、第 1.1 図に見られるような形状の変



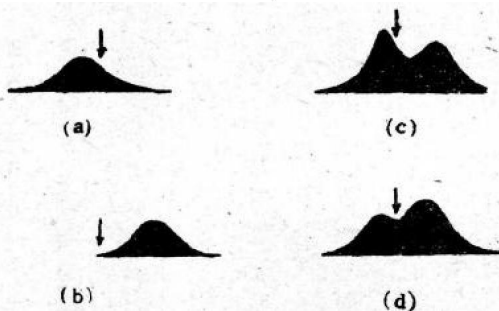
第 1.1 図 正常赤血球 (左) 及び Sickling を起した赤血球 (右)

* 訳者. 宇井信生 (東京大学理工学研究所)

** Clinical Biochemical Research Section, Laboratory of Biochemistry, National Cancer Institute.

化が起る。この形の変化は Sickling (鎌 Sickle に似た変形) と呼ばれる。Sickle-cell anemia 患者の親の血液から採った試料でも、酸素の分圧を十分小さくしさえすれば、Sickling を起すことができる。しかし、このような貧血症でない人間では、静脈中ではっきり分る程度に Sickling を生ずることはない。この病気が遺伝的であることは、1917 年 Emmel⁹⁾ により、1923 年 Taliaferro 及び Huck¹⁰⁾ によって示唆され、Neel は Mendel の遺伝法則に従うことを明らかにした。Neel は Sickling の傾向をもつ Sickle-cell 遺伝子が存在し、異型接合の状態^{*} (一個の Sickle-cell 遺伝子と一個の正常な遺伝子の存在) では Sickle-cell anemia にならないが、同型接合の状態^{**} (二個の Sickle-cell 遺伝子の存在) になると Sickle-cell anemia を起すことを証明している。

Sickle-cell anemia が分子病であることが明らかにされたのは、正常人、Sickle-cell anemia 患者、及びこの病気の運搬者(患者の両親)の Hemoglobin の電気泳動図形の研究からである。¹³⁾ 第 1.2 図



第 1.2 図 各種 Carbonmonoxyhemoglobin の pH 6.90 磷酸緩衝液中の電気泳動図形

- a) 正常 c) Sickle-cell trait
b) Sickle-cell anemia d) a)及びb)の混合溶液

におのおのの図形を示した。pH 6.90 で正常成人の Hemoglobin は負に荷電し、陽極に向けて移動する。これに反して Sickle-cell anemia の Hemoglobin は陰極の方へ移動する。二種の分子の電荷の差はおよそ 3 である。Sickle-cell 異型接合体の赤血球中に存在する Hemoglobin はこの二種の混合物で、普通には正常の成人 Hemoglobin が 50% よりやや多く存在する。¹³⁾ Itano は異型接合体での二種の Hemoglobin, A 及び S^{****} の量を説明するために次のような仮定を立てた。即ち、両者の差は正常 Hemo-

globin の合成速度に差があるためで、実験結果を説明するには正常 Hemoglobin の合成の速度に変化を与える少なくとも三つの機構が存在することが必要である。

Sickle-cell anemia の Hemoglobin の性質は多くの点で正常人の Hemoglobin と似ている。両種の Hemoglobin の Porphyrin は等しく Protoporphyrin であることが分っているから、その構造の差は Globin 部分の性質の差と思われる。Schroeder, Kay, Wells は二種の Hemoglobin のアミノ酸組成にはほとんど差がないことを見出しているから、違っているのは組成ではなく、ポリペプチド鎖の巻き方 (Folding) かも知れない。A, F, S 及び C (C はまた別種の異常 Hemoglobin でこれについては後に記す) のアミノ酸組成を Huisman, Jonxis, Van der Schaaf が報告している。これによると A 及び S については Schroeder らの実験結果が確認され、C は A に比

* Heterozygous condition, ヘテロ接合ともいう。

** Homozygous condition, ホモ接合ともいう。

* A は正常 Hemoglobin を、S は Sickle-cell anemia hemoglobin をあらわす (訳註)。

** 後に記される胎児 Hemoglobin をあらわす (訳註)。

してリジン残基が約3個、ヒスチジン残基が1~2個だけ多い。

1940年 Sherman¹⁷⁾ は赤血球を偏光顕微鏡で調べて、Sickling¹⁸⁾ を起したものは複屈折を示すが、正常な赤血球は光学的に等方性であることを明らかにした。Ponder¹⁸⁾ はこの観察に基づいて、Sickling¹⁹⁾ を起した赤血球中で Hemoglobin 分子はきちんと並びバククリスタル状の排列をとり、これが Sickling の原因であると唱えた。Sickle-cell anemia hemoglobin についての最初の論文で、我々は Sickling の起る過程を次のように説明した。「Sickling の起る機構を次のように記すことができる。両種の Hemoglobin で違っているのは Hem ではなく、Globin 部分らしい。Sickle-cell anemia の Hemoglobin の表面に正常分子にはない特別な場所があり、Hemoglobin 分子の別のある場所に対して相補的な立体配置をとると考えよう。この状態は抗原-抗体反応の場合に起こることがほぼ確実視されている状態¹⁹⁾ に多少似ている。Sickling は酸素や一酸化炭素の分圧が低い時のみに起るという事実から、これらの場所のうち一方はいずれかの Hem の鉄原子のごく近くに存在し、鉄原子がこれらの気体と結合すると、両者の相補的な構造関係がかなり減少すると考えられる。さて、適当な条件では、Sickle-cell anemia の Hemoglobin 分子はこの場所でお互いに強い相互作用を示し、赤血球中で少なくとも部分的な排列を起す。この結果、赤血球は複屈折を示し、赤血球膜はその中に生じたかなりしっかりした構造に応じて変形することになる。赤血球に酸素や一酸化炭素を加えると、気体分子と Hem の鉄原子との間の結合が優先的に生じ、Hemoglobin 分子間の弱い結合が幾分切れる。このために Sickling の状態から元の状態に戻る」。

この模型は間もなく顕微鏡を用いた研究によって実証された。Rebuck, Sturrock, Monaghan²⁰⁾ は Sherman の業績を確認して、Sickling の初期には赤血球内の Hemoglobin が非等方的な凝集物となることを認め、これが初期の結晶化であろうとした。Perutz, Mitchison (及び Perutz, Liquori, Eirich)²¹⁾ は Sickling を起した赤血球が、Hemoglobin の結晶に似て著しい二色性をもつことを見出している。Harris²²⁾ はまた 100 ml 中 10g 以上の濃度の、礎質を含まぬ Sickle-cell anemia hemoglobin 溶液は、酸素を除くと長さが1ないし 15 μ の複屈折性の紡錘体を形成することを報告した。これはネマチック型のタクトイド (液晶体) である。かくして Sickle-cell anemia は Sickle-cell anemia hemoglobin が正常成人の Hemoglobin と分子構造が異なるために起る分子病であると呼ぶのが妥当と思われる。即ち、異常 Hemoglobin は酸素を除くと分子同志が結合して長い分子の紐をつくり、さらに分子間の索引力により凝集して赤血球を変形させるほどの機械的な強さをもつタクトイドとなり、赤血球の粘度に変化をあたえる。その結果この病気特有の臨床的な徴候を惹き起すものである。

Perutz とその共同研究者^{21, 22)} は Sickle-cell anemia hemoglobin の溶解度が正常 Hemoglobin, 正常 Oxyhemoglobin, Sickle-cell anemia oxyhemoglobin のどれよりも小さいことを見出した。Sickle-cell anemia hemoglobin とその他の Hemoglobin との混合物の溶解度の研究は Itano²³⁾ によって

* Nematic-type, 液晶体の一様で、分子の長軸方向のみ一定に排列し、その相互の位置は不規則の状態をいふ (訳註)。

詳しく行われ、溶解度測定から Hemoglobin 混合物中の Sickle-cell anemia hemoglobin のおよその量が簡単に求められることが示された。

Sickle-cell anemia hemoglobin が発見されて以来6年の間に、その他多くの異常な Hemoglobin (Hemoglobin C, D, E, G, H, I, J と呼ばれる) が発見された。これらの異常な Hemoglobin はある場合には単独で、ある場合には別種のものまたは Thalassemia* と協同的に働き、これまで臨床的に実在を認められていなかった幾種類かの病気を起すことが分ってきた。その他貧血症の患者が成人後もなお続けて胎児 Hemoglobin (F) を産生するという血液構成成分についての別種の興味ある現象も見出されている。

Hemoglobin C は Itano 及び Neel²⁵⁾ が発見した。Hemoglobin C と Hemoglobin A の電気泳動易動度の差は、S と A との差より約2倍も大きい。C の電荷と A の電荷との差は約5である。Hemoglobin C は最初ある種の貧血症患者の血液中に S に伴って存在することが見出された。この患者は C に対する遺伝子一個と S に対する遺伝子一個をもつと考えられる。即ち、Hemoglobin C 及び Hemoglobin S の異型接合体で、それぞれを父及び母から受け継いだものである。調査の結果によると一方の親は A 及び C の混合物をもち、他方の親は A 及び S の混合物を有していた S を C で希釈したのでは、S を A で希釈したときほど Sickling の傾向を阻止しない。この結果 SC 型は貧血症となり、この病気は Sickle-cell : hemoglobin-C 病と呼ばれる。C (と A と) の異型接合の状態では病気は起らない。Sickling の起りやすさ、地上高度、脾臓の梗塞 (Splenic infarction) の三者の間には興味ある関係が見出されている。脾臓の梗塞は恐らく血管内で起る Sickling によるものであろう。Smith, Conley²⁶⁾ は Sickling を起す赤血球をもった人間が飛行中に起した脾臓梗塞の例 16 例をまとめて報告している。この内 4 人は Sickle-cell : hemoglobin-C 病であり、他は Sickle-cell の異型接合である。Sickle-cell 異型接合のすべては 10,000~15,000 フィートの高度で梗塞を起したが、2人の Sickle-cell : hemoglobin-C 病患者では 4,000~6,000 フィートですでに脾臓梗塞を起している。脾臓梗塞は Sickle-cell anemia では普通に起ることで、このため子供のときに脾臓が萎縮することが多い。Sickle-cell : Hemoglobin-C 病では脾臓の萎縮はさほど多くなく、脾臓肥大がしばしば見られる。²⁷⁾

Sickle-cell : hemoglobin-C 病は Sickle-cell anemia と臨床的に区別できる。²⁸⁻³¹⁾ Smith, Conley³¹⁾ は濾紙電気泳動を使って、調査した 500 人のネグロ中 Hemoglobin S は 8.4%, Hemoglobin C は 2% に存在することを見出した。このことは S 遺伝子の出現が 4.2%, C 遺伝子の出現が 1% であることに相当する。Edington 及び Lehmann³²⁾ は西アフリカでは S 遺伝子の出現が 20.5%, C 遺伝子の出現が 12% であることを見出し、Schneider³³⁾ はテキサス州の 505 人のネグロで C 遺伝子の出現が 1.5% であることを認めた。1% 遺伝子が発現することは、同型接合の状態では Hemoglobin C をもつ人間の発生率が 0.01² 即ち 1 万分の 1 であることに相当する。軽度の溶血性貧血

* これについては p.5 及び第 1.2 表を参照 (訳註)。

症で赤血球中には Hemoglobin C のみを持ち、多分同型接合の Hemoglobin-C 病と思われる患者の例が報告されている。^{31-42, 43)} ある同型接合の Hemoglobin-C 病患者の赤血球の約 2% には結晶 Hemoglobin が存在するとのことである。⁴⁰⁾

Hemoglobin の構成が複雑な様相を呈することは興味をひいていたが、貧血症患者が胎児期を過ぎても長く胎児 Hemoglobin を作りつづけることが分って一部解決を見た。Wells, Itano はおだやかな症状の Sickle-cell anemia 患者の血液の中に、S 以外の蛋白質が全体の 5~10% 程度の僅かな量存在することを見出した。²⁵⁾ さらに Itano, Neel は Sickle-cell:hemoglobin-C 病患者は大量の S 及び C (それぞれ 39% 及び 48% 存在する) の他、別の Hemoglobin を 13% もつことを報告している。この Hemoglobin は測定した pH (pH6.50) で A と同じ電気泳動易動度をもつ。⁴³⁾ 後に Singer, Chernoff, Singer は多くの Sickle-cell anemia やそれ以外の血液学的な病気の患者の血液中にアルカリ変性に対して抵抗性をもつ Hemoglobin が存在し、その性質が胎児 Hemoglobin (F) と同じと考えられることを指摘した。彼らは Wells, Itano の報告した Hemoglobin は A ではなく、F であるといっている。⁴⁴⁾ Liquori は Thalassemia の患者の血液中の Hemoglobin のうち 50% ほどは胎児 Hemoglobin であることを見出した。⁴⁵⁾ さらに Rich は Thalassemia major の 2 人の患者で赤血球中に F 以外の Hemoglobin が存在しない例をも発見している。現在では、貧血症患者は一生を通じてかなりの量の F を産生しつづけることがあり、F の存在で病気の状態が変化を受けることが明らかになっている。

Thalassemia (Coley's anemia または Mediterranean anemia とも呼ばれる) は成人の Hemoglobin の合成過程が或る遺伝子の支配を受けて妨害される遺伝性貧血症である。⁴⁶⁾ この病気はほとんど地中海北岸出身の人間に限られる。同型接合型の Thalassemia 遺伝子は Thalassemia major と呼ばれる非常に強度の貧血症を起し、子供のときに死んでしまう。この遺伝子の異型接合の状態では軽い貧血症となり、Thalassemia minor と呼ばれる。イタリアのある地方、特にフェララの周辺地域では Thalassemia minor の出現が約 10% で、遺伝子の頻度約 5% に相当する。⁴⁷⁾

1953 年 Powell, Rodarte, Neel は Thalassemia minor と Sickleemia* との合併症の一例を報告した。生じた Sickle-cell:thalassemia 病は Thalassemia minor より重症である。この病気の他の患者について Sturgeon, Itano, Valentine 及び Neel, Itano, Lawrence の記載がある。⁴⁸⁾ ⁴⁹⁾ ⁵⁰⁾

他の新しい病気 Thalassemia:hemoglobin-C 病の患者も報告されている。文献 30) の脚註に記された患者は文献 52) で研究されている患者と同一である。^{51, 52)}

第三に発見された異常 Hemoglobin, Hemoglobin D, は Itano が同一家族中の 5 人に発見した。その内 2 人は Sickle-cell anemia に似た病気の患者であるが、通常の Sickle-cell anemia はり幾分軽い。この Sickle-cell:hemoglobin-D 病の 2 人の患者の血液は、S 及び D の他、少量の F (6~12%) を含む。Hemoglobin D は電気泳動的には S に似ているが、溶解度の点では A に似て

* Sickleemia とは Sickle-cell 遺伝子の異型接合の状態である (著者より水島教授への私信)。

いる。この家族の母親が Hemoglobin D の運搬者で、英国、アイルランド及びアメリカインディアンの家系の人であった。^{53,54)} Hemoglobin-D 病患者の第二の症例は最近イギリスで報ぜられた。⁵⁵⁾ 父親はジャマイカで生れ、アイルランド、フランス、スコットランドの家系である。彼は Sickle-cell trait の状態で、顔形はややネグロ的である。母親は Hemoglobin-D trait の状態で、イギリスに生れ、コーカサス人の顔立ちをしている。3人の子供のうち1人は Sickle-cell:hemoglobin-D 病で、1人は Hemoglobin-D trait、残りは健全である。

四番目の異常 Hemoglobin, E, は Itano, Bergren, Sturgeon が3人の人間の血液中に発見した。1人は Thalassemia:hemoglobin-E 病の貧血症患者であった。この患者の母親は Thalassemia minor で、赤血球中にはA以外の Hemoglobin は存在しない。患者の赤血球には 41% の F と 59% の E とが含まれた。⁵⁶⁾ 患者の父親及び腹違いの姉妹はともに AE 型を示す。⁵⁷⁾ この場合共通の親である父親がE病の運搬者と思われるが、彼はインドの出である。患者は Thalassemia minor を母から、Eをつくる対立因子を父から受け継いでいるわけである。この患者の赤血球には Hemoglobin E 及び F (41%) しかなく、Thalassemia 遺伝子がAの産生を完全に抑えたものと思われる。

同型接合型の Hemoglobin-E 病及び Thalassemia:hemoglobin-E 病はタイ国で観察されている。⁵⁸⁻⁶⁰⁾ 5人の同型接合型の Hemoglobin-E 病患者の Hemoglobin 組成はEが 94~98%, Fが 6~2% であり、14人の Thalassemia:hemoglobin-E 病患者での組成は E 60~80%, F 40~20% であった。正常成人の Hemoglobin はどの患者にも存在しない。タイ国で調べた 590人中 72人は Hemoglobin-E trait, 2人は同型接合型の Hemoglobin-E 病であった。Hemoglobin E はセイロン、⁶¹⁾ インドネシア⁶²⁾でも発見されている。

Hemoglobin E はその電気泳動易動度が pH で顕著に変化する性質をもっている。pH 6.5 ではその易動度はAより大きく、Sよりは若干小さいが、pH 8.8 ではCとほとんど同じである。Eの吸収スペクトル、溶解度、アルカリ変性に対する抵抗性はAに似ている。

昨年(1954年)になってまた幾つかの新しい Hemoglobin が発見された。Edington 及び Lehmann⁶³⁾ は一つの試料(西アフリカのもの)で Hemoglobin A の他、pH 8.6 で濾紙電気泳動を行うとAとSとの中間の速度で移動する一つの成分を見出した。Hemoglobin F もこの位置で泳動するが、新しい成分はアルカリ変性を受けやすい点でFに似ていない。彼らは Hemoglobin G と名づけた。

Edington, Lehmann, Schneider⁶⁴⁾ はこのGを有する人の9人の子供はすべて AG 型で、父がG同型接合型、母は正常であると報告している。

Battle, Lewis⁶⁵⁾ は2人のコーカサス人兄弟に新しい Hemoglobin を発見した。彼らの母親及び

* この場合遺伝子に関しては異型接合の状態 ($Hb^A Hb^E$) であるが、表現型で言えば、A, S いずれもが優位でなく、血液中の Hemoglobin はAとSとの混合物となる。このような状態を一般に Trait と呼ぶ(訳註)。

** 相対立する形質を対立形質と呼び、これに関与する遺伝子を対立因子 Allele という(訳註)。

兄弟のうちの1人の子供にも同じ Hemoglobin が見出されている。⁶⁶⁾ この Hemoglobin の電気泳動易動度は pH 6.5 及び 7.8 で A と S との中間の値をとり、濾紙上では pH 8.6 で A と同じ易動度を示した。まだこの Hemoglobin は命名されていない。電気泳動での性質及び家族についての知見から見ると、この4人はいずれも A 及び新しい Hemoglobin の異型接合型である。しかし全部が軽度の Hypochromic microcytic hemolytic anemia (低色素小血球性溶血性貧血症) を起している。⁶⁶⁾

Hemoglobin H は A よりも低い等電点をもつ異常な Hemoglobin として最初に見出されたものである。この Hemoglobin はシナ人の系統の一族で2人の子供中に Hemoglobin A とともに存在することが発見された。⁶⁷⁾ 両親の赤血球中にはいずれも Hemoglobin H は見られない。一方の親は Thalassemia minor で、Hemoglobin H をもつ子供は Thalassemia major と区別できない貧血症にかかっている。Bergren, Itano, Sturgeon 及び Motulsky はスコットランド系及びフィリピン系の人間に、電気泳動的挙動が Hemoglobin H と同一の異常 Hemoglobin を観察している。⁶⁷⁾ ⁶⁸⁾

等電点が H 及び A の中間にある Hemoglobin が Jensen ⁶⁹⁾ により報ぜられた。彼は Rigas, Koler, Osgood の仕事を知らなかったため、その発見を報じた抄録中に Hemoglobin H の名を用いた。しかし現在ではこれを Hemoglobin I と改名することに同意している。Hemoglobin I は北カロライナのネグロ家族で三代にわたって見出された。Trait の状態しか見られず、この状態の人は Hemoglobin A 及び I を 80:20 の比でもっている。

Hemoglobin J と名づけるべきまた別の Hemoglobin も発見されたが、その等電点は I と A との中間にある。Hemoglobin J はバージニア州に住むネグロの一族で、二代にわたり Trait として存在し、いずれも Hemoglobin A 及び J の二種をほぼ等量ずつ有した。⁷⁰⁾ Hemoglobin-I trait も Hemoglobin-J trait も臨床的、血液学的異常性をもたない。

第 1.1 表にはヒトの各種 Hemoglobin 間の差の若干を表示してある。二、三種以上の Hemoglobin に用いられた方法だけが記載されている。第 1.2 表は異常 Hemoglobin 及び Thalassemia 因子によって起るとされている状態を記したものである。Sickle-cell 病の表現型は異常 Hemoglobin の研究の初期に定義された。³⁾ 異常 Hemoglobin によって起るこれ以外の貧血症について得られた知見をまとめた新しい綜説では、これらの貧血症は軽度の溶血過程と Hemoglobin 合成の相対的な阻害とがからみ合っ起ることを明らかにしている。⁷⁾ このためその臨床的所見も、血液学的所見も Thalassemia major と類似して、実に多くの場合これと間違えられている。A, S, C, D が対立因子の性質をもち、^{14, 71)} S, C に対する遺伝子と Thalassemia 遺伝子とは対立関係をもたないという仮定は、実験事実によって支持されている。^{51, 72)} 他方 Hemoglobin-E : thalassemia 病に Hemoglobin A が存在しないことは、⁵⁶⁾ Thalassemia 遺伝子が E に対する遺伝子に対し対立関係にあるとすれば最も良く説明される。⁵⁾ 異常 Hemoglobin 因子に対し対立関係にある遺伝子、及び非

* 遺伝子構成によって生じた表面的形質のタイプを表現型 (Phenotype) と呼ぶ (訳註)。

第 1.1 表 各種のヒト Hemoglobin の特徴

物理的性質	Hemoglobin										
	A	F ¹⁾	S ²⁾	C	D	E	G	H	I	J	X ³⁾
等電点 ⁴⁾	6.87	6.98	7.09	7.2	7.09	—	—	—	—	—	—
電気泳動移動度 × 10 ⁵ (pH 6.5) ⁵⁾	2.4	2.2	2.9	3.2	2.9	2.8	A 及び S の間	-0.1	1.7	2.0	A 及び S の間
泳動速度の順序 (pH 8.6) ⁶⁾	4	5	6	8	6	7	≈5	1	2	3	≈4
溶解度(pH 6.8 の 2.58M 磷酸塩溶液中) ⁷⁾	1.39	>A	≪A	3.5	≈A	≈A	0.6	—	≈A	—	—

- a) イオン強度 0.1 の磷酸塩緩衝液中で、Carbonmonoxyhemoglobin としての値。^{1,78,79)}
- b) 移動界面法による測定値で、単位は $\text{cm}^2 \text{sec}^{-1} \text{volt}^{-1}$ 。溶媒はイオン強度 0.1 のカコジル酸塩緩衝液である。^{25,58,59,78)}
- c) イオン強度 0.05~0.06, pH 8.6 のペロナール緩衝液を用い、濾紙電気泳動で求めた値。Hemoglobin H が最も速く、C が最も遅い。数値は定量的な意義をもたない。^{33,34,56,58~70,80)}
- d) 25°C で無定形の Ferrohemoglobin としての 1l 中のグラム数を示す。Hemoglobin S は 2.24M の磷酸塩中で 0.1g/l の溶解度をもつ。D, E, I のおおよその溶解度は天然の A との混合物中の溶解度から推定した。A 及び S では、結晶 Ferrohemoglobin としての溶解度に関して同じような値が得られている。^{24,64,78)}
- e) 高い pH で変性に対して抵抗性をもち、2898 Å に吸収スペクトルの極大がある。³⁶⁾
- f) 赤血球中で Ferrohemoglobin として存在する場合には Sickling を起し、濃い溶液を脱酸素化するとマクトイドを形成する。²³⁾
- g) Battle, Lewis の Hemoglobin をあらわす。⁸¹⁾

対立的な遺伝子の両者いずれもが Thalassemia 効果を生ずるとは考えにくい。⁷⁾ 第 1.2 表に仮定された遺伝子型は Hemoglobin の型を決定する遺伝子は相互に対立因子的であるが、Thalassemia 因子に対しては対立関係にないことを仮定している。胎児 Hemoglobin の存在は異常 Hemoglobin 遺伝子や Thalassemia 遺伝子の直接作用によるのではなく、相補的な機構によるものと思われる。しかしその化学的、遺伝的性質はまだ知られていない。いま 9 種の Hemoglobin, A, S, C, D, E, G, I, J, X (X は Battle, Lewis の Hemoglobin をあらわす)、が対立形質であるとすれば、45 種の Hemoglobin 型が存在することになる。即ち 9 種の同型接合体 AA, SS, …, 及び 36 種の異型接合体 AS, AC…である。9 種の同型接合体のうち 5 種、AA, SS, CC, EE, GG, が認められている。AA, GG 以外は貧血を起させる(第 1.2 表参照)。異型接合体中の 10 種(いずれも A あるいは S を含む)も見出されているが、この他異常 Hemoglobin S, C, E に Thalassemia minor が共同的に働く場合もある(第 1.2 表参照)。

Thalassemia 遺伝子は正常成人の Hemoglobin の産生を妨害するが、異常 Hemoglobin の場合には通常大した妨害をしないことは興味深く思われる。ただし一つの例外(Hemoglobin C が含まれる場合)^{7,52)}が報告されている。

異常 Hemoglobin の起源や遺伝に関しては未解決で興味深い疑問が多数残されている。例えば

* 遺伝子組成のタイプを遺伝型 (Genotype) と呼ぶ (訳註)。

第 1.2 表 異常な Hemoglobin の状態に対応した Hemoglobin 組成と仮定された遺伝子型

表現型	状況	Hemoglobin ^{a)}			遺伝子型 ^{b)}
		A	異常	F	
微鉄のない状態 ^{c)}	Sickle-cell trait	+	S	-	$Hb^A Hb^S Th^N Th^N$
	Hemoglobin-C trait	+	C	-	$Hb^A Hb^C Th^N Th^N$
	Hemoglobin-D trait	+	D	-	$Hb^A Hb^D Th^N Th^N$
	Hemoglobin-E trait	+	E	-	$Hb^A Hb^E Th^N Th^N$
	Hemoglobin-G trait	+	G	-	$Hb^A Hb^G Th^N Th^N$
	Hemoglobin-I trait	+	I	-	$Hb^A Hb^I Th^N Th^N$
	Hemoglobin-J trait	+	J	-	$Hb^A Hb^J Th^N Th^N$
	G の同型接合	-	G	-	$Hb^A Hb^G Th^N Th^N$
Thalassemia minor	+	-	±	$Hb^A Hb^A Th^N Th^T$	
Sickle-cell病 ^{d)}	Sickle-cell anemia	-	S	±	$Hb^S Hb^S Th^N Th^N$
	Sickle-cell : hemoglobin-C 病	-	S, C	±	$Hb^S Hb^C Th^N Th^N$
	Sickle-cell : hemoglobin-D 病	-	S, D	+	$Hb^S Hb^D Th^N Th^N$
	Sickle-cell : thalassemia 病 ^{e)}	±	S	±	$Hb^A Hb^S Th^N Th^T$
Thalassemia 病 ^{f)}	Thalassemia major	±	-	+	$Hb^A Hb^A Th^T Th^T$
	Hemoglobin-C 病	-	C	±	$Hb^C Hb^C Th^N Th^N$
	Hemoglobin-C : thalassemia 病	+	C	±	$Hb^A Hb^C Th^N Th^T$
	Hemoglobin-E 病	-	E	+	$Hb^E Hb^E Th^N Th^N$
	Hemoglobin-E : thalassemia 病 ^{g)}	-	E	+	$Hb^A Hb^E Th^N Th^T$
	Battle, Lewis の記載した患者 ^{65, 66)}	+	X	-	$Hb^A Hb^X Th^N Th^N$
	Rigas, Koler, Osgood の記載した患者 ⁶⁷⁾	+	H	-	h)

- a) + は存在, - は存在しないことを表わし, ± は存在したり存在しなかったりすることを示す。
- b) Hb^A, Hb^S 等は Hemoglobin 型を決定する遺伝子の複対立因子群で, Th^T, Th^N は Thalassemia 遺伝子及びその正常な対立因子である。この表示法は A. C. Allison (Science, 印刷中) によって提案されたものと同一である。 Hb の座と対立関係にある Thalassemia 遺伝子 Hb^T も存在するかも知れない。^{5, 7)}
- c) 赤血球が形態学的な異常性を示しても, 溶血的な病気は存在しない。
- d) 赤血球が Sickling を起す溶血性の病気。³⁾
- e) Hemoglobin S 及び F のみを持ち, A は持たない人間の遺伝子型は $Hb^S Hb^T Th^N Th^N$ と書いても差支えない。⁷⁾
- f) Hemoglobin の合成が相対的に阻害される溶血病。⁷⁾
- g) 遺伝子型を $Hb^E Hb^T Th^N Th^N$ と書いても Hemoglobin の存在しないことと首尾一貫する。⁵⁾
- h) 現在までに得られた実験結果では, Hb 及び Th の座に関する遺伝子型を正しく予想することができない。

^{73, 74)} Lehmann によって指摘されたように, アメリカでは Sickle-cell anemia は悪質の病気であるが, アフリカにおいては遙かに悪質の病気でないように思われる。これはアフリカの患者が何らかの理由でアメリカの患者より多量の胎児 Hemoglobin を産生することで説明されるかも知れない。まだアフリカ人の Hemoglobin に関する研究が十分に行われていないが, これが行われた際には解決されることと思われる。