

## 「生理学ものがたり」第3回 TCA サイクルと木炭バス

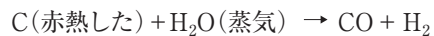
滋賀医大名誉教授 北里 宏

IT (Information technology) の発達はヴァーチャルの世界をどんどん拡大させている。生きている人間の顔が動いたままカードになり、簡単に消されてしまうようなテレビ番組がある。オーディオ機器においても10年ほど前までスイッチは固いスイッチであったが、今ではヴァーチャルなスイッチに取って代われようとしている。ヴァーチャルの世界が広がりつつある中で育つ今の子どもにとって本物に触れる機会はどんどん少なくなっている。本物の世界を自らの目で見、聞き、膚で感じる事がなければ、現象の本質を抽出する能力の発達が阻害されはしまいかと心配である。

前回、ミトコンドリア内膜の電子伝達系（呼吸色素複合体）、シトクローム酸化酵素およびユビキノ系が全体として燃料電池を構成していることを述べた。ところで、この燃料電池を働かせるには、燃料として水素を必要としている。今回はミトコンドリアにおいてどうやって水素が発生し、どのような経路をへて利用場所に送られるかを見つめることにしよう。

現在、CO<sub>2</sub>排出削減の観点から燃料電池が注目されている。燃料電池は水素を燃料としている。水素を得る方法は2つある。その1つは水の電気分解によるものであり、他の1つは水を化学的に分解する方法である。私達の少年時代の都会の景色に毎日伸び縮みする巨大なガスタンクがあった。ガスタンクに蓄えられているガスは都市ガスあるいは石炭ガスと呼ばれている。石炭ガスの主成分は水素と一酸化炭素である。石炭ガス製造の原料は石炭あるいはコークスと水である。ガス発

生器の石炭が点火され、酸素が殆どない状況のもとで赤熱した石炭に水蒸気を吹き付けると次の反応が起こり水素ガスと一酸化炭素が発生する。



上記の反応において石炭は原材料であると共に触媒として働く。石炭ガスの製造に水蒸気を使うので、このガスは水性ガスとも呼ばれる。理想的に反応が進行すれば、炭素1原子当たり1分子の水が分解され、1分子の水素と1分子の1酸化炭素が発生する。水性ガスを発生させるには熱が必要であり、熱は散逸するので、水性ガス製造の効率は決して高くはない。

戦争が始まる少し前から原油の輸入は止まり、「ガソリン一滴、血の一滴」という標語が方々で見られるようになった。ガソリンは払底してバスを動かすのに水性ガスが使われるようになった。エンジンは丁度現在の天然ガス自動車のようにガソリンエンジンをほぼそのまま転用できた。バスに取り付けられていた水性ガス発生装置は都市ガス発生装置を小型化した様なものだった。“ようだった”というのはバスに取り付けられているものは石炭を使用する代わりに木炭を使用していたからである。石炭も貴重であった時代である。木炭を使用するので、このバスは木炭バスと呼ばれた。バスの運転手は朝早く起き、バスを始動させるに先立ってガス発生器の木炭に火をつけ、送風機を手で回し火勢を強め、蒸気発生装置に水を送るコックを少しずつ開き、ガスの発生具合を調整しなければならなかった。乗客の方も大変だった。木炭バスにはガス発生装置からでるガスを貯めて

おく伸縮自在のガスタンクはなかったので、エンジンが必要とする程度に応じて必要な量のガスをエンジンに送り込むことは不可能に近かった。坂道に差しかかる前にバスは速度を上げるが、惰性が足りず坂を登りきれないことも多かった。ときには乗客はバスから降り、坂の上までバスを押し上げなければならなかった。また、車体の後部に熱を発生するものが付いているので、冬はともかく、夏は熱くてたまらなかった。あの頃に較べて今は有難い時代である。戦争が終わったと実感したのはバスに力が戻ったのを感じたときであった。現在、ガソリンの値段が高くなったとはいえ、中東からはるばる運ばれてきた原油から精製したガソリンの価格がペットボトルに入った同じ量の水の値段とほぼ同じである。今の時代、わたし達はエネルギーを余りにも安く使い過ぎているのではないかと思う。

## プロローグ

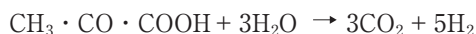
ミトコンドリアにおける H<sub>2</sub> 発生の仕組みは水性ガス発生の仕組みに似ている。ただ水性ガス発生装置では反応生成物は気相にあるのでそのまま利用可能であるが、ミトコンドリアでは反応系が水溶液中にあり、発生した H<sub>2</sub> を水溶液中で捕捉し、疎水性の脂質 2 分子層をつらぬいて反対側の最終的に利用される場所まで運搬しなければならないという問題がある。

細胞にとって主な燃料であるグルコースは細胞に入った後、細胞質において解糖の段階を次々と経て 1 分子のグルコースは 2 分子のピルビン酸になる。グルコースがピルビン酸になるまでの過程においてグルコース 1 分子あたり 2 分子の水素が発生し、それぞれ NAD<sup>+</sup> に渡される。このように解糖の過程においても H<sub>2</sub> が生じるが、H<sub>2</sub> 発生の主な舞台が TCA サイクルであることはよく知られている。なお、解糖の過程において合計 2 分子の ATP が酸化的燐酸化反応を経ずに生じるが、これについては単に指摘するだけにとどめる。

解糖の産物であるピルビン酸が炭酸ガスとなって完全に消失してしまうまでに 4 分子の NADH (NADH<sub>2</sub><sup>+</sup>) と 1 分子の FADH<sub>2</sub> ができることは生

化学の学習において記憶させられたことであろう (図 1)。3 個の炭素原子からなるピルビン酸の分子内には水素は 4 原子しかない。ところが、この分子が消失してしまう間に合計 5 分子の H<sub>2</sub> (10 個の水素原子) が発生している。また、ピルビン酸分子内の酸素原子は 3 個であるが、CO<sub>2</sub> の形で放出される酸素原子の数は 6 個である。差し引き、ピルビン酸分子外からこの反応に付け加わった水素原子および酸素原子の数はそれぞれ 6 個と 3 個である。このことは TCA サイクルを経てピルビン酸が完全に燃焼する間に 3 分子の水が分解されたことを示している。なお、TCA サイクルの中に現われるカルボン酸は全て pH7 の溶液中で殆ど解離しているため、本稿では陰イオンの名称を用いることにする。たとえば、ピルビン酸は pyruvate、クエン酸は citrate というように表す。

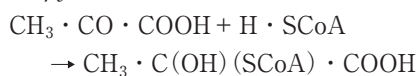
(pyruvic acid)



## 水の分解

水分子が何処で反応に組み込まれるかを見てみることにしよう。水分子が組み込まれる最初の反応はいささか複雑である。ミトコンドリア膜にはピルビン酸を細胞質からマトリクスに運び込む共輸送系がある。マトリクスにはコエンザイム A および TCA サイクルに関与する酵素の全てがある。ピルビン酸が消失する第 1 の段階はピルビン酸にコエンザイム A が結合するところから始まる。このコエンザイム A が水の分解に関与しているのである。コエンザイム A は硫黄原子を含み H · SCoA と書き表されるように元来水素原子と結合した形をとっており、コエンザイム A が結合することは水素原子が持ち込まれることを意味する。pyruvate に H · SCoA が結合したものから 1 分子の CO<sub>2</sub> および 1 分子の H<sub>2</sub> が放出されるとアセチル CoA (CH<sub>3</sub> · CO · SCoA) が生じる。

(pyruvic acid) (CoA)



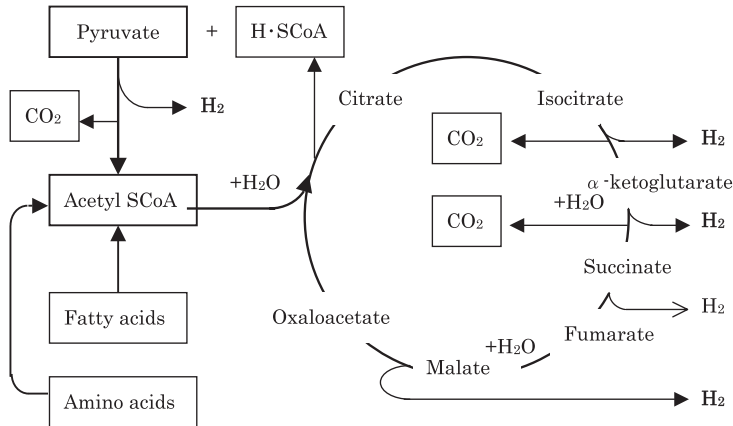
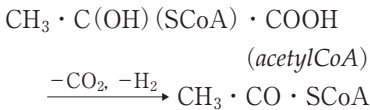
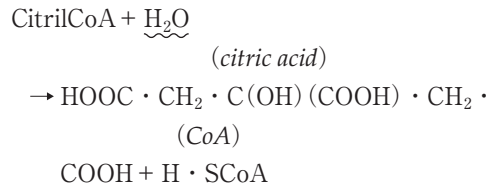
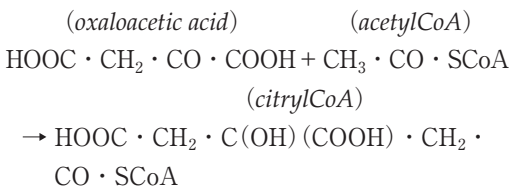


図1. ピルビン酸がTCAサイクルを経て完全に燃焼する間にH<sub>2</sub>Oが反応に組み込まれる場所とH<sub>2</sub>が発生する場所を示す。

各カルボン酸は陰イオン名で示してある。ピルビン酸 (pyruvate) から acetylCoA に至る過程において1分子のCO<sub>2</sub>と1分子のH<sub>2</sub>が放出され、TCAサイクルにおいて4分子のH<sub>2</sub>が放出される。太字で示したH<sub>2</sub>はNAD<sup>+</sup>に受け取られることを示す。細字のH<sub>2</sub>はFADに受け取られることを示す。AcetylCoAとoxaloacetateの結合物が加水分解する過程で最初の水分子が反応に組み込まれる。α-keotglutarateがsuccinateになる過程で、第2の水分子が反応に組み込まれ、fumarateがmalateになる過程で第3の水分子が反応に組み込まれる。(Lehninger: Bioenergeticsに基づいて水分子が反応に組み込まれる場所が分かるように描いたものである)



アセチル CoA は TCA サイクルの最終成員である oxaloacetate と結合して citrylCoA となる。つまりアセチル CoA はこの循環的な反応系に2個の炭素原子をもたらす。citrylCoA は加水分解を起こし、citryl基に結合している SCoA基は水分子由来のOH基によって置き換えられ citrate が生じる。水分子由来の水素1原子は SCoA基と結合して、コエンザイム A はもとの形に戻る。この段階で水1分子が反応に組み込まれたことになる。



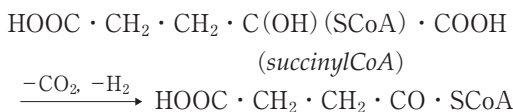
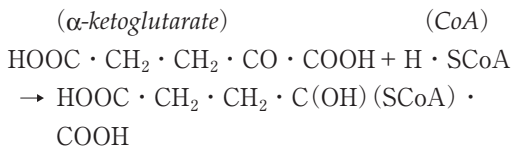
Pyruvate と H · SCoA からアセチル CoA が出来る反応を触媒する酵素は脱水素反応を触媒する部分と脱炭酸反応を触媒する部分ならびに NAD<sup>+</sup>との結合部位とからなる酵素複合体であるが、簡単にピルビン酸脱水素酵素とよばれている。この反応において発生した H<sub>2</sub>は NAD<sup>+</sup>に渡され、NADH<sub>2</sub><sup>+</sup>が生じる。ビタミン B<sub>1</sub>はこの複雑な酵素複合体の主要な構成要素である。マトリクス内の nicotinamide adenine nucleotide (NAD<sup>+</sup>と NADH<sub>2</sub><sup>+</sup>)の数は一定であるので、NADH<sub>2</sub><sup>+</sup>が増加することは NAD<sup>+</sup>は減少することを意味する。NAD<sup>+</sup>濃度が極端に低下すると、脱炭酸反応も脱水素反応も進行せず、ピルビン酸からアセチル

CoA への反応は停止する。すなわち  $\text{NADH}_2^+$  濃度が高くなると、解糖は抑制される。

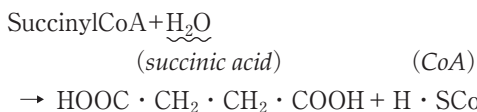
以上、Pyruvate から citrate にいたる過程をまとめると、コエンザイム A が 1 原子の水素を持ち込み、pyruvate 分子内の 1 原子の炭素が炭酸ガスとなって失われ、1 分子の  $\text{H}_2$  が発生する。1 分子の水が分解してコエンザイム A は元の形に戻ると共に水分子由来の水酸基 1 つが反応系に組み入れられ、Pyruvate 分子内の 2 原子の炭素が TCA サイクルに組み込まれるということになる。

Citrate は cis-aconitate, isocitrate を経て  $\alpha$ -ketoglutarate になる。Isocitrate から  $\alpha$ -ketoglutarate になる段階においても  $\text{H}_2$  と  $\text{CO}_2$  が放出され、放出された  $\text{H}_2$  は  $\text{NAD}^+$  に受け取られる。

水分子が反応に組み込まれる第 2 の場所は  $\alpha$ -ketoglutarate が succinate に変化する段階にある。この段階でも pyruvate が acetylCoA になる場合のようにコエンザイム A がこの反応に水素 1 原子を持ち込む。



SuccinylCoA は加水分解を起こし、succinate が生じると共に SCoA 基は水由来の水素原子と結合してもとの  $\text{H} \cdot \text{SCoA}$  に戻る。すなわちこの反応において 2 番目の水分子由来の水酸基 1 つが反応系に持ち込まれたことになる。

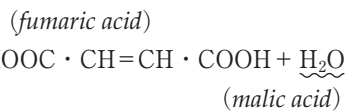


さきにあセチル CoA によって TCA サイクルにもたらされて 2 個の炭素原子はこの段階において消失してしまう。この反応群を触媒する酵素は脱水素酵素と脱炭酸酵素の複合体であり、 $\text{NAD}^+$  との結合部位を持つ。この酵素複合体もピルビン酸脱水素酵素と同様にビタミン  $\text{B}_1$  を重要

な構成要素としている。

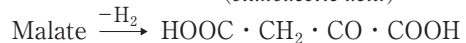
Succinate は水素 1 分子を放出して fumarate になり、分子内に 2 重結合ができる。この段階では炭酸ガスは発生せず、放出された  $\text{H}_2$  は FAD に受け取られる。

3 番目の水が反応に組み込まれる場所は fumarate が malate に変化するところにある。この段階にコエンザイム A は関与しない。水 1 分子が単純に fumarate の 2 重結合部分に入り込み、malate が生じる。



Malate から水分子由来の水酸基の水素原子 1 個と同一の炭素原子に結合している水素原子 1 個が  $\text{NAD}^+$  に渡され、malate はケト酸である oxaloacetate に変化する。

(oxaloacetic acid)



これで、TCA サイクルは一巡したことになる。1 分子の pyruvate は 3 分子の  $\text{CO}_2$  となって完全に消失してしまう。この間に 3 分子の水が分解され 5 分子の  $\text{H}_2$  が放出される。これまでの過程において  $\text{CO}_2$  発生に要した酸素はピルビン酸分子由来のものと水由来のものであって、外界からいわゆる呼吸によって持ち込まれたものではない。呼吸によりもたらされる酸素はシトクローム酸化酵素における  $\text{H}_2$  の酸化に消費される。

## $\text{H}_2$ の担体

ミトコンドリア内の諸反応において放出される  $\text{H}_2$  を受け取る担体は  $\text{NAD}^+$  と FAD である。 $\text{NAD}^+$  および FAD は共に親水性の物質であるので、これらがそれぞれ内膜のマトリクス側表面にある NADH 脱水素酵素および succinate 脱水素酵素まで水素分子を運ぶ。これら  $\text{H}_2$  担体の濃度が低下すると TCA サイクルの各反応は進行しない。 $\text{NAD}^+$  の重要な構成要素は水溶性ビタミン B 群に属するニコチン酸 (Niacin) であり、FAD の重要な構成要素はビタミン  $\text{B}_2$  (riboflavin) であ

る。水の分解に関連して水素原子を反応原系に持込むコエンザイム A はパントテン酸の誘導体であり、パントテン酸もビタミン B グループに属する。ビタミン B<sub>1</sub> (thiamine) はじめビタミン B グループの何れが欠乏しても H<sub>2</sub> 発生は阻害される。

ミトコンドリア内膜表面には NADH 脱水素酵素および succinate 脱水素酵素がある。NADH 脱水素酵素は NADH<sup>+</sup> から H<sub>2</sub> を受け取り、次に述べるユビキノンの H<sub>2</sub> を渡す。NADH 脱水素酵素から H<sub>2</sub> を受け取ったユビキノンは内膜を貫いて電子伝達系 1 (前回の図 3A 参照) の外側界面に H<sub>2</sub> を供給する。NADH 脱水素酵素は 1 モルの FMN, 26 原子の硫黄, 26 原子の non-heme Fe をふくむ巨大な分子 (分子量 900,000) である。Succinate 脱水素酵素 (分子量 200,000) は 1 モルのフラビン, 8 原子の硫黄, 8 原子の non-heme Fe を含み、FADH<sub>2</sub> から H<sub>2</sub> を受け取り、ユビキノンを介して電子伝達系 2 の外側界面に H<sub>2</sub> を供給する。つまり、NADH 脱水素酵素および succinate 脱水素酵素は水溶液相の H<sub>2</sub> 担体から疎水性相の H<sub>2</sub> 担体に水素分子を渡す仲介の役割を果たす。

ミトコンドリア内膜にはユビキノンの存在がある。ユビキノンはキノンに複数のイソプレン  $-(\text{CH}_2 \cdot \text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3) \cdot \text{CH}_2)_n-$  からなる側鎖がついたものであり、疎水性が強い。キノン (quinone) の部分は 2 つの水素原子と可逆的に結合するので、内膜の中で H<sub>2</sub> 担体として働く。側鎖のイソプレンの数  $n$  は 10 であるものももっとも多い。ユビキノンは何処にでもある (ubiquitous) という意味でこのように呼ばれる。また、ユビキノンはコエンザイム Q と呼ばれ、10 個のイソプレンからなる側鎖を持つユビキノンをコエンザイム Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) と書き表す。ユビキノンは 1 モルの Cyt. b に対して 6—10 モルの割合で存在する。ユビキノンの分子量は約 860 であり、ヘムに比べてもかなり小さい。ユビキノンは NADH 脱水素酵素から 1 番目の電子伝達系外側界面に H<sub>2</sub> を供給する H<sub>2</sub> 運搬系を構成する他、1 番目の電子伝達系マトリクス側界面と 2 番目の電子伝達系外側界面、および 2 番目の電子伝達系マトリクス側界面と 3 番目の電子伝達

系外側界面を結ぶ H<sub>2</sub> 運搬系をも構成する (前回の図 3A 参照)。つまり、ユビキノンは H<sub>2</sub> ガスを送る燃料パイプのような役割を演じる。ミトコンドリア内膜においては、ユビキノンのイソプレン鎖はキノンの部分を管状に包み込み他のユビキノン系から互いに隔離する役割を果たしているように思える。(以上 NADH 脱水素酵素, succinate 脱水素酵素の分子量および組成については Lehninger による。)

## H<sub>2</sub> 発生効率

先に述べたように水性ガス発生装置ではガスを発生させる際に熱が発生する。熱はそのまま利用されずに散逸してしまうので、水性ガス製造の効率はあまり高くない。ミトコンドリアにおいては各酵素が反応系の活性化エネルギーを下げるように働いているので、H<sub>2</sub> 発生率は水性ガス発生装置ほど悪くはないであろう。しかし反応自身は、ある程度、熱を発生させると考えられる。

1 モルのグルコースが空気中で燃焼すると 686 Kcal の熱が発生する。一方、生体内で 1 モルのグルコースが酸化的燐酸化の過程において炭酸ガスに変化する間に 36 モルの ADP が燐酸化され 36 モルの ATP ができる。正常の細胞内環境のもとでは ATP が加水分解して ADP と無機燐酸になる際に放出される熱量は約 12Kcal/molATP であるので、ATP 分子内の結合エネルギーとして保存されたエネルギーは  $36 \times 12\text{Kcal} = 432\text{Kcal}$  となる。したがってグルコースを燃料とする酸化的燐酸化の効率は  $432/686 = 0.63$ , 約 63% ということになる。ATP 分子内の結合エネルギーとして保存されなかった 37% のエネルギー、すなわち 254 Kcal, は利用されずに放散したことになる。H<sup>+</sup> の流れが為す仕事が ATP 分子内の結合エネルギーに変換される効率は非常に高いと考えられるので、この利用されずに放散したエネルギーの殆ど全ては TCA サイクルにおける H<sub>2</sub> を作り出す過程において熱として散逸したとみて大きな間違いはないであろう。そしてこの熱が体温を高くしているのである。いわゆる摂取エネルギーの全てが熱に変化するのではない。

ATP分子の形に蓄えられたエネルギーを用いて仕事が為された場合、無為に熱として散逸するエネルギーは非常に少ないであろう。そのことは神経系のATP利用効率を考えれば分かる。Na/Kポンプにおいては、ATP加水分解のポテンシャル(化学ポテンシャル)はほぼ100%Na/K濃淡電池の電気化学ポテンシャルに変換される。Na/K濃淡電池の形に蓄えられたエネルギーがイオン電流

となって仕事をする場合、イオンの流れはむしろ吸熱的である。つまりNa/K濃淡電池が仕事をしていても熱は発生しない。濃度の高い方から低い方へ溶質が移動すると、熱は吸収される。湿度の高い実験室でビーカに水を入れ、これに食塩を入れてかき回すと、ビーカが冷たくなり、壁に細かい水滴がつき、ガラスの表面がうっすらと曇るのを見たであろう。