

生理学ものがたり第5回 アロステリック蛋白としてのヘモグロビン

滋賀医大名誉教授 北里 宏

細胞における主なATP合成場所はミトコンドリアである。ミトコンドリアがATPを合成している限り、酸素消費は進行する。ミトコンドリアにおけるATP合成反応の推進に必要な H_2 分子はTCAサイクルにおいて呼吸基質の酸化反応と共役する水の分解および呼吸基質の分子内の水素原子から供給され、 H_2 分子の発生と共に、 CO_2 が発生する。発生する CO_2 は組織から運び去られなければATPの合成はやがて停止する。組織に酸素を供給するものは血液であり、組織から CO_2 を運び去るものも血液である。

動脈血における酸素分圧はほぼ100mmHgであり、酸素含有量は19-20ml O_2 /dl血液である。この酸素含有量は飽和含有量に極めて近い。静脈血の酸素分圧は約40mmHgであり、静脈血の酸素含有量は13-14ml O_2 /dl血液である。酸素分圧が動脈血酸素分圧の4/10に低下する間に、酸素含有量は飽和値の約70%に低下する。通常のMichaelis-Menten型の曲線では反応原系の濃度が飽和濃度の1/10に低下したときにはじめて生成系の濃度は飽和値の90%に低下する。ところが血液が組織毛細血管を通過し、酸素分圧が動脈血酸素分圧の値からその4/10に低下するだけで酸素飽和度が約70%に低下することはまさに驚異である。このことは血液が組織毛細血管を通過する間に飽和含有量の約30%、すなわち6-7ml/dl血液もの酸素を組織に供給する能力を持っていることを意味している。さらに、これだけの酸素を組織に供給した後でさえ、なお13-14ml/dlの酸素を血液は保持している。これが酸素供給能の余力である。血液がこのように大量の酸素を組織に供給することを可

能としているものはhemoglobinの特殊な構造にあることをいまさら述べる必要はないかと思うが、話の始めとして退屈を我慢して読んでいただきたい。ついでに、1気圧の酸素が40°Cの水に溶け込む溶解度は2.3ml/dlである(理科年表・東京天文台、丸善)。水に溶け込む酸素の量はその分圧に比例するので、酸素分圧が100mmHgであるときに水に溶け込んでいる酸素の量は約0.3ml/dlである。したがって酸素分圧が40mmHgに低下したときに水から放出される酸素の量は0.18ml/dlと計算される。水が供給し得る酸素の量に較べて血液が供給し得る酸素の量はその38倍にも達する。これは驚きである。

さて、100mlの血液にあるhemoglobinの量は約16gであり、その全てが赤血球の中にある。赤血球が血液の中で占める容積(ヘマトクリットで代表される)は血液の約45%であるので、赤血球内のhemoglobin濃度は35.5g/dlとなる。Hemoglobinは鉄を含む親水性の蛋白質である。つまり、赤血球の中では100gの水の中に35.5gもの蛋白質が溶け込んでいるのである。この状況を血漿の蛋白質濃度8g/dlと比較してみれば、これ以上hemoglobinを溶かし込むことは殆ど不可能であることが直感的に理解できるであろう。現実の問題として、酸素を失ったhemoglobinは容易に沈殿を起し重合する。Hemoglobinが重合すれば、赤血球は柔軟性を保つことが出来ない。赤血球が柔軟性を失うと毛細血管を通過できなくなる。一方、血液中の赤血球の密度を高めると血液の酸素運搬能を高めることは可能なように見える。しかし、血球の数(密度)を500万/血液 mm^3 以上に高める

ことは血液の流動性を大きく損なう。このように考えると、赤血球内の hemoglobin の濃度は、血液が酸素を運搬できる極限にまで高められていることに気付くであろう。このことにも驚きをおぼえる。

話を最初に戻す。血液の酸素飽和度曲線が Michaelis-Menten 型でなく、S 字状であることについて「ああ、知っている」と言ってしまうのもうお終いである。今回は血液の酸素飽和度曲線が S 字状になる機構について執拗に考えていくことにする。

ところで、ありふれた簡単な A という物質と B という物質が結合して AB となる反応において、反応の原系の諸物質の濃度の積を生成した物質の濃度で割ったものは反応系および生成系を構成する諸物質の濃度とは無関係に一定である。

$$K_{AB} = \frac{[A][B]}{[AB]} \quad (1)$$

これは質量作用の法則と呼ばれているものであり、あらゆる化学反応を解析する際に基礎となるものである。K_{AB} は平衡定数（あるいは解離定数）と呼ばれる。平衡定数の値は原系の物質 A、すなわち B と結合していない状態にある A、の濃度と生成した物質 AB の濃度が等しくなったときの B の濃度を意味する。いいかえると、A を含む物質 (A および AB) の半分が B と結合した状態にあるときの B の濃度が平衡定数の値である。平衡定数の値が小さいほど物質 B の濃度の低い領域においてこの結合反応は平衡に達する。すなわち平衡定数 K_{AB} は物質 A の B に対する親和性を表す (K_{AB} の値が小さいほど親和性は高い)。

動脈血の酸素含有量は飽和酸素含有量に極めて近いとされている。実際、1 気圧 (760mmHg) の純粋な酸素ガスに曝されている血液の酸素含有量は動脈血の酸素含有量とほぼ同じである。血液に接している気相の酸素分圧を 1 気圧以上にしても血液の酸素含有量はほとんど増加しないので、実験室では、酸素分圧が 760mmHg であるときの酸素含有量を飽和酸素含有量としている。各酸素分

圧における酸素含有量をこの飽和酸素含有量で割ったものが酸素飽和度である。動脈血の酸素飽和度は 0.98 と計算され、同様に静脈血の酸素飽和度は約 0.7 と計算されている。酸素飽和度が 0.5 となるときの、すなわち酸素含有量が飽和酸素含有量の 1/2 になるときの、酸素分圧は約 26mmHg である。酸素飽和度が 0.5 になるときの酸素分圧を P₅₀ と書き表し、血液の酸素親和性を表す指標として用いる。酸素飽和度を酸素分圧に対してプロットして得られる曲線を酸素飽和度曲線、あるいは酸素解離曲線という。Hemoglobin は上記のように赤血球の中に高濃度に存在する。赤血球を血液から取り出し生理的食塩水に浮遊させて酸素飽和度を測定し、それを酸素分圧についてプロットしたものは血液の酸素飽和度曲線と一致する。つまり血液の酸素飽和度曲線は赤血球の中にある hemoglobin 溶液 (溶質は hemoglobin だけではない) の酸素飽和度曲線とみなすことができる。

濃度の比は割合の比である。動脈血における酸素飽和度が 0.98 であるということは全結合部位のうち酸素と結合した状態にある結合部位の割合が 0.98 であり、酸素と結合していない結合部位の割合が 0.02 であることを示している。もし hemoglobin と酸素との結合が上記の簡単な物質 A と物質 B との結合反応と同じようなものであれば、hemoglobin と酸素との結合反応の平衡定数 K_{O₂binding} の値は次のようになるであろう。

$$K_{O_2binding} = \frac{0.02}{0.98} \times 100 \text{ mmHg} = 2.04 \text{ mmHg}$$

つまり、hemoglobin と酸素との結合反応において hemoglobin の酸素親和性が酸素分圧とは無関係に不変のものであるならば、酸素分圧が 2.04 mmHg に低下してはじめて酸素飽和度が 0.5 に低下する筈である。ところが先にも述べたように、現実の血液では酸素分圧が 26mmHg に低下すると早くも酸素飽和度は 0.5 に低下する。このことは hemoglobin が単純な分子とは異なり、酸素分圧が低下するに従って酸素に対する親和性が低下する分子であることを示している。酸素分圧の低

下にしたがって hemoglobin の酸素親和性が低下すればこそ、組織毛細血管を通過する間に 6mlO₂/dl 血液もの大量の酸素を組織に供給することができる。“血液の酸素飽和度曲線は S 字状である”と多くの本に書いてある。しかしそれを知識としてのみ受け取るだけでどうしてそうなるかとそこに不思議を感じなければ、“知ること”の喜びは湧いてこない。

第2の不思議は組織毛細血管を血液が通過する間に酸素が組織に供給され、酸素分圧は 60mmHg も低下するにもかかわらず、CO₂分圧は僅か 5mmHg しか上昇しないことである。しかもこの間に、組織に供給された酸素の量とほぼ同量の CO₂ が組織から毛細血管内に移行しているのである。第3の不思議は肺胞壁毛細血管を血液が通過するのに要する時間は僅か 4.5 秒程度である。この極めて短い時間にどうして大量の CO₂ が肺胞腔内に拡散可能かと言う点である。第2、第3の問題は次回にまわすことにして、今回は第1の不思議に関するもののみを取り上げる。

Hemoglobin 分子は4本のポリペプチドと4個のヘムから成る複雑な分子である。1本のポリペプチドと1個のヘムが1つのサブユニットを構成しており、4つのサブユニットが集まって1つの hemoglobin 分子になる。成人の hemoglobin の大部分を占める hemoglobinA (HbA) を構成する4本のポリペプチドのうち2本は141個のアミノ酸残基からなる α 鎖であり、残りの2本は146個のアミノ酸残基からなる β 鎖である。ヘムは protoporphyrin と Fe²⁺ から成り、protoporphyrin は4つの pyrrole がリング状につながったものである。このリングの中心に Fe²⁺ があり、porphyrin リングの中心の4つの N と結合している。Hemoglobin 分子の立体構造は X 線回折像に基づく解析 (M.F. Perutz, 1964) によって完全に解明されており、酸素はこの Fe²⁺ に結合することが確認されている。酸素と結合していない hemoglobin を脱酸素 hemoglobin といい、酸素と結合している hemoglobin を酸素化 hemoglobin という。正常の hemoglobin では酸素が結合しても鉄のイオン価は変わらない。ポリペプチドは protoporphyrin

を取り囲み、Fe²⁺ に疎水性環境を提供している。この疎水性環境がなければ、血漿という塩水に曝された hemoglobin の鉄は簡単に酸化されて Fe³⁺ になってしまう。つまり錆びてしまう。そうなってしまえば酸素を授受することはできない。ポリペプチドに異変の起こっている hemoglobin 変異種の中に、Fe²⁺ であるべき鉄が Fe³⁺ になってしまっているものもある。これは黒血病と呼ばれる。ところで、脱酸素状態にある hemoglobin の Fe²⁺ は protoporphyrin の面から 0.3Å だけ近位 histidine (N 端から 93 番目のアミノ酸) 側に突出している。Protoporphyrin の面から見て、近位 histidine の反対側に遠位 histidine (N 端から 64 番目のアミノ酸) がある。酸素分子は Fe²⁺ とこの遠位 histidine の間に入り込み、酸素化と共に Fe²⁺ は 0.2Å だけ近位 histidine 側から protoporphyrin の面の方向に引き寄せられる。

Hemoglobin 分子内の水素結合を切れば hemoglobin 分子をサブユニットに分けることは可能である。 α 鎖を持つサブユニットの酸素にに対する親和性は hemoglobin 分子の酸素親和性より遥かに高い。また、 β 鎖をもつサブユニットは自然に4量体 β_4 となり、 β_4 には酸素分圧が低くなると酸素親和性が低下するという性質はみられない。骨格筋に Hemoglobin のサブユニットに似た分子があり、myoglobin と呼ばれる。Myoglobin も1本のポリペプチドと1個のヘムから成る分子である。Myoglobin はとくに水に潜る動物の骨格筋に多い。鯨の myoglobin の酸素親和性は hemoglobin の酸素親和性よりはるかに高く、また hemoglobin と異なり、酸素分圧の低い領域において酸素親和性が低下するといった現象は認められない。これらのことから、酸素分圧の低い領域において酸素親和性が低下する現象はサブユニット自身の性質によるものではなく、1つの分子が複数の、しかも異なった種類のサブユニットから成る構造を持つ事と密接に関係した現象であると考えられるに至った。

赤血球に ATP と 2,3-diphosphoglycerate (DPG) がかなりの濃度存在することは知られていたが、DPG の役割は 1960 年代の半ばまでよく

分かっていなかった。ベトナム戦争の最中、赤血球を通常の血球保存液中に保存すると、輸血しても酸素欠乏症状が改善されない問題に悩まされていた。普通の保存液である acid-citrate-dextrose 溶液中に赤血球を 10 日間保存すると、赤血球内 DPG の濃度は 0.5mM 以下に低下し、 P_{50} は 16 mmHg に移動する。すなわち赤血球の酸素親和性は上昇する。1967 年、Benesch & Benesch は DPG が脱酸素 hemoglobin と 1:1 の割合で特異的に結合し、脱酸素状態を安定化することを明らかにした。また、換気障害がある呼吸器疾患の場合、赤血球の DPG 濃度は 8.0mM にも上昇し、 P_{50} は 31mmHg にも上昇することが報告されている。DPG と結合した状態にある hemoglobin 分子の酸素親和性は低く、DPG と結合していない状態にある hemoglobin 分子の酸素親和性は高い。

脱酸素 hemoglobin も脱酸素 myoglobin も、結晶化は可能である。結晶化された脱酸素 hemoglobin (乾燥状態にある純粋な脱酸素 hemoglobin) も、溶液中の hemoglobin に比して結合速度は低い、酸素と結合する能力をもっている。1937 年、F. Haurowitz は脱酸素 hemoglobin の結晶が酸素化される際に砕けることを見ている。これとは対照的に、脱酸素状態の myoglobin の結晶は酸素化されても砕けることはない。また β サブユニットの 4 量体 β_4 も酸素化されて砕けることはない。M.F. Perutz によると、1 対の $\alpha\beta$ サブユニットを貫く軸ともう一方の $\alpha\beta$ サブユニット対を貫く軸のなす角度は脱酸素 hemoglobin から酸素化 hemoglobin に変わると約 15 度変化することである。なお、結晶化された hemoglobin が溶液中の hemoglobin と同じ構造を持っているかどうかという問題に関しては、結晶化された hemoglobin も溶液中の hemoglobin も同一の酸素分圧のもとでは同一の吸収スペクトルを示す。また X 線回折像に基づいて推定された結晶構造における α ヘリックスの数と旋光分散分析および円偏光 2 色性分光分析によって推定された溶液中の hemoglobin の α ヘリックスの数が同じである。これらのことから、結晶化された hemoglobin は溶液中の hemoglobin と同じ構造を持つことが確かめられ

ている。

脱酸素 hemoglobin が酸素化されると hemoglobin の DPG に対する親和性が低下し、DPG が hemoglobin 分子から離れると共に、hemoglobin 分子の形が多少変形することは確かである。この僅かな形の変化が hemoglobin の酸素親和性に影響を与える可能性がある。複数のサブユニットから成る分子の何れかのサブユニットに基質が結合すると、他のサブユニットの基質に対する親和性が変化するような性質をアロステリック (allosteric) な性質という。酸素飽和度曲線が単純な直角双曲線ではなく S 字状であることは hemoglobin がアロステリックな性質を持つ蛋白分子であることを示している。酸素化されれば、どうして DPG が hemoglobin 分子から離れるのかという問題については、次回に考察することにする。

Perutz の X 線回折像解析に基づく見解では 1 分子の DPG が脱酸素 hemoglobin の β_1 サブユニットと β_2 サブユニットの間にあり、2 つの α サブユニットが酸素と結合すると DPG 分子は hemoglobin から離れるとのことである。Hemoglobin 分子全体の酸素化は次のように進行すると考えられている。

- (1) 4 つのサブユニットの何れにも酸素は結合していない。Hemoglobin 分子に 1 分子の DPG が結合している。(低酸素親和性状態)
- (2) α_1 サブユニットに酸素が結合する。
- (3) α_2 サブユニットに酸素が結合する。
- (4) hemoglobin 分子の変形と DPG の放出。(高酸素親和性状態へ変化)
- (5) β_1 サブユニットに酸素が結合する。
- (6) β_2 サブユニットに酸素が結合する。

酸素親和性が低い状態にある hemoglobin 分子を T、酸素親和性が高い状態にある hemoglobin 分子を R で表し、この反応経過を化学式で表したものを図 1 に示す。

T 状態にある hemoglobin の DPG に対する親和性は非常に高いので、T 状態にある hemoglobin のすべてが DPG と結合しているとされている。

上記の経過を Monod-Wyman-Changeux 風に数式化すると次のようになる。T 状態にある he-

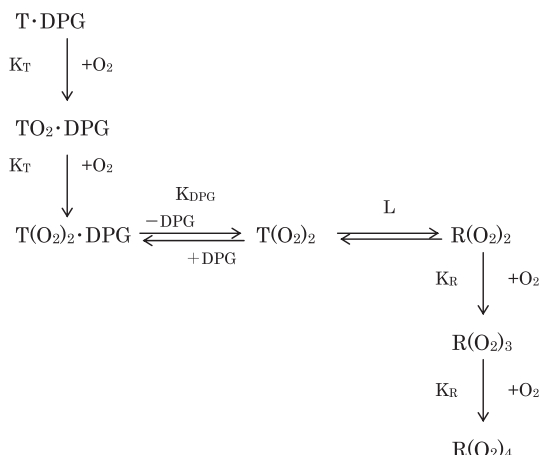


図1. hemoglobin 分子と酸素との反応式
hemoglobin 酸素化反応の Monod-Wyman-Changueux 風アロステリック・モデル.

T は酸素親和性が低い状態にある hemoglobin 分子を示し, R は酸素親和性が高い状態にある hemoglobin 分子を示す. K_T および K_R はそれぞれ T 状態および R 状態にある hemoglobin と酸素との結合反応における平衡定数 (解離定数) を示す. 脱酸素状態では全ての hemoglobin が DPG (diphosphoglycerate) と結合しているとする. T 状態の hemoglobin に2分子の酸素が結合すると DPG は hemoglobin 分子から離れやすくなる. K_{DPG} は Hemoglobin と DPG との結合反応における平衡定数である. L は2分子の酸素と結合した T 状態の hemoglobin のうち DPG と結合していないものと2分子の酸素と結合している R 状態の hemoglobin の濃度比を示す. R 状態の hemoglobin の DPG 親和性は極めて低い.

hemoglobin と酸素との結合反応における平衡定数を K_T で示すと(式2a および 3a), 1分子の酸素と結合している hemoglobin の濃度は式2b で表され, 2分子の酸素と結合している hemoglobin の濃度は式3b で表される.

$$K_T = \frac{[T \cdot DPG]P_{O_2}}{[TO_2 \cdot DPG]} \quad (2a);$$

$$[TO_2 \cdot DPG] = [T \cdot DPG] \frac{P_{O_2}}{K_T} \quad (2b)$$

$$K_T = \frac{[TO_2 \cdot DPG]P_{O_2}}{[T(O_2)_2 \cdot DPG]} \quad (3a);$$

$$[T(O_2)_2 \cdot DPG] = [T \cdot DPG] \left(\frac{P_{O_2}}{K_T} \right)^2 \quad (3b)$$

酸素2分子と結合した hemoglobin はコンフォメーション変化を起こし, R 状態となる. この過程において T 状態にある hemoglobin 分子から DPG が離れる.

T 状態にある hemoglobin と DPG の結合反応における平衡状態を K_{DPG} で表すことにする.

$$K_{DPG} = \frac{[T(O_2)_2][DPG]}{[T(O_2)_2 \cdot DPG]} \quad (4)$$

$T(O_2)_2$ と $R(O_2)_2$ の濃度の比を L であらわす. L はこの2つの状態の安定度の差に基づく.

$$L = \frac{[T(O_2)_2]}{[R(O_2)_2]} \quad (5)$$

式4 および式5を式3bに代入すると, 次の式が得られる.

$$[R(O_2)_2] = \frac{K_{DPG}}{L[DPG]} [T \cdot DPG] \left(\frac{P_{O_2}}{K_T} \right)^2 \quad (6)$$

R 状態にある hemoglobin に第3の酸素分子および第4の酸素分子が結合する反応はそれぞれ次の様に表される.

$$K_R = \frac{[R(O_2)_2]P_{O_2}}{[R(O_2)_3]} \quad (7a);$$

$$[R(O_2)_3] = \frac{K_{DPG}}{L[DPG]} [T \cdot DPG] \frac{P_{O_2}}{K_R} \left(\frac{P_{O_2}}{K_T} \right)^2 \quad (7b)$$

$$K_R = \frac{[R(O_2)_3]P_{O_2}}{[R(O_2)_4]} \quad (8a);$$

$$[R(O_2)_4] = \frac{K_{DPG}}{L[DPG]} [T \cdot DPG] \left(\frac{P_{O_2}}{K_R} \right)^2 \left(\frac{P_{O_2}}{K_T} \right)^2 \quad (8a)$$

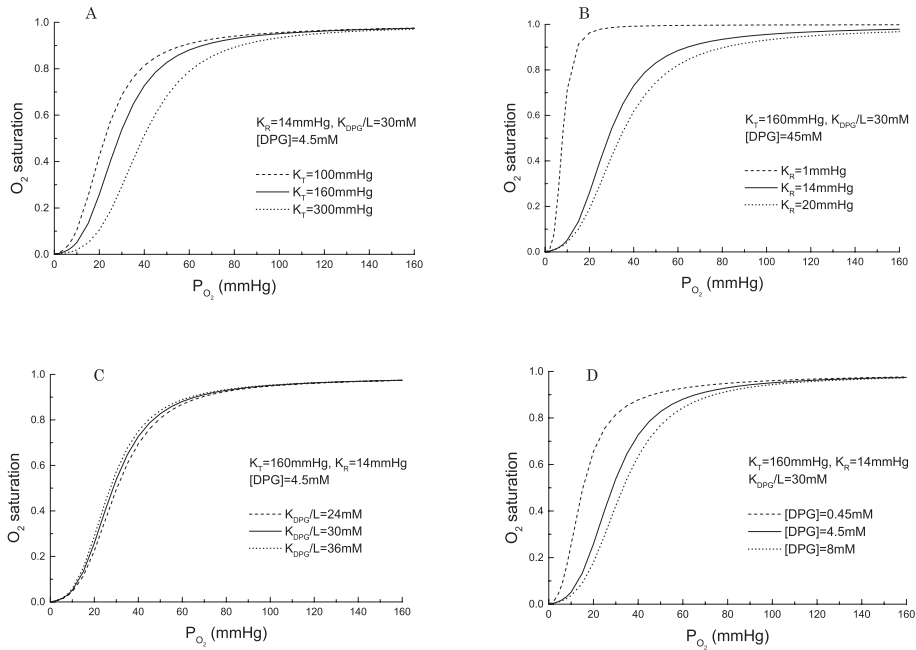


図2. Monod-Wyman-Changeux 風モデルに基づく hemoglobin の酸素飽和度曲線。Monod-Wyman-Changeux 風モデルに基づいて計算によって得られた hemoglobin の酸素飽和度曲線。A は K_T の値が hemoglobin 酸素飽和度曲線の形に及ぼす影響を示す ($K_T = 100, 160, 300\text{mmHg}$)。DPG 濃度は 4.5mM 、 $K_{\text{DPG}}/L = 30\text{mM}$ 、 $K_R = 14\text{mmHg}$ である。B は K_R の値が hemoglobin 酸素飽和度曲線の形に及ぼす影響を示す ($K_R = 1, 14, 20\text{mmHg}$)。 $K_T = 160\text{mmHg}$ であり、その他の条件は A の場合と同じである。C は K_{DPG}/L の値が hemoglobin 酸素飽和度曲線におよぼす影響を示す ($K_{\text{DPG}}/L = 24, 30, 36$)。 $K_T = 160\text{mmHg}$ 、 $K_R = 14\text{mmHg}$ であり、 $[\text{DPG}] = 4.5\text{mM}$ である。D は DPG 濃度が hemoglobin 酸素飽和度曲線に及ぼす影響を示す ($[\text{DPG}] = 0.45, 4.5, 8.0\text{mM}$)。 $K_T = 160\text{mmHg}$ 、 $K_R = 14\text{mmHg}$ であり、 $K_{\text{DPG}}/L=30$ である。

T 状態にある hemoglobin の DPG に対する親和性は非常に高く、 $T(\text{O}_2)_2$ の濃度は $T(\text{O}_2)_2 \cdot \text{DPG}$ の濃度に較べると無視されうるほど低いと考えられるので、これを省略すると、飽和度 Y は次式で示される。

$$Y = \frac{[\text{T} \cdot \text{DPG}] + 2([\text{T}(\text{O}_2)_2 \cdot \text{DPG}] + [\text{R}(\text{O}_2)_2]) + 3[\text{R}(\text{O}_2)_3] + 4[\text{R}(\text{O}_2)_4]}{4([\text{T} \cdot \text{DPG}] + [\text{T}(\text{O}_2)_2 \cdot \text{DPG}] + [\text{R}(\text{O}_2)_2] + [\text{R}(\text{O}_2)_3] + [\text{R}(\text{O}_2)_4])} \quad (9)$$

分離された Hemoglobin のサブユニットは DPG と結合しておらず、酸素に対する親和性は myoglobin の酸素親和性と等しいとされている。また、myoglobin の $K_{\text{O}_2\text{binding}}$ の値は 1mmHg と報告

されているので、DPG と結合していない hemoglobin の O_2 結合部位の K_R を 1mmHg とし、実際の酸素飽和度曲線に良く合うように K_T および K_{DPG}/L の値を選んで描くことを試みた。しかし、 K_R を 1mmHg とすると曲線の立ち上がりの勾配が急峻となり、実際の酸素飽和度曲線に合わせることは出来なかった。様々な条件で計算した曲線を図2に示す。

上式を用いた計算では、酸素飽和度は $P_{\text{O}_2} = 760\text{mmHg}$ でも厳密には1にならない。しかし酸素分圧が 100mmHg 以上の領域では曲線はほぼ平坦となるので、実験室では $P_{\text{O}_2} = 760\text{mmHg}$ で飽和していると判断している。したがって $P_{\text{O}_2} = 760$

mmHg であるときの酸素含有量で各酸素分圧における酸素含有量を割ったのが酸素飽和度として記載されている。

K_T の値を小さくすると、曲線は P_{O_2} が低い領域において立ち上がる (図 2A)。 K_R の値を小さくすると、曲線の立ち上がりはより急峻になる (図 2B)。 K_{DPG}/L の値を小さくすると、 P_{50} は左方へ移動する (図 2C)。また、DPG の濃度が 4.5mM である場合、 $K_R=14\text{mmHg}$ 、 $K_T=160\text{mmHg}$ とし、 $K_{DPG}/L=30\text{mM}$ とすると、実測値に最も近い曲線が得られる。この条件下での P_{50} は 26.8mmHg になる。 L の値がもし 0.01 であれば、 K_{DPG} の値は 0.3mM と推測される。 $T(O_2)_2$ の DPG に対する親和性が低ければ $R(O_2)_2$ 濃度が高くなり、 $R(O_2)_2$ に第 3 の酸素および第 4 の酸素分子が次々と結合していくので、 P_{O_2} の上昇にともなって全体として R 型にある hemoglobin の割合が急激に増加することになる。なお、図 2D に示すように、DPG 濃度の値が 0.45mM である場合には、 P_{50} は 15.5mmHg となり、赤血球中の DPG が減少した場合に報告されている P_{50} の値にほぼ一致する。また逆に、DPG 濃度を 8.0mM として曲線を描くと、 P_{50} は 32.6mmHg となり、換気不全状態にある患者血液の酸素飽和度曲線とほぼ一致する。この図に見られるように、赤血球内の DPG が 8mM 程度まで増加していれば、動脈血酸素分圧が 80mmHg に低下している血液が組織に至り、組織毛細血管において健常人と同量の酸素を組織に放出しても、静脈血の酸素分圧は健常人のそれとほぼ同じ値に留まり得ることになる。

Hemoglobin の酸素飽和度曲線は現象論的には Adair の式で表される。Adair の式に現われる係数である K_1 、 K_2 、 K_3 、および K_4 とここで用いた K_T 、 K_{DPG} 、 L および K_R との関係を書いておかなければならない。 K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 はそれぞれ次のように定義されている。

$$K_1 = \frac{[Hb]P_{O_2}}{[HbO_2]} \quad (10a)$$

$$K_2 = \frac{[HbO_2]P_{O_2}}{[Hb(O_2)_2]} \quad (10b)$$

$$K_3 = \frac{[Hb(O_2)_2]P_{O_2}}{[Hb(O_2)_3]} \quad (10c)$$

$$K_4 = \frac{[Hb(O_2)_3]P_{O_2}}{[Hb(O_2)_4]} \quad (10d)$$

上記の式では今まで話してきたこととの比較を容易にするために、Original の Adair の式に現われる K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 の定義とは異なり、分子分母を逆にしていることに注意していただきたい。Hemoglobin の酸素飽和度は上記の K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 を用いて次の様に表される。

$$Y = \frac{[Hb] \left(\frac{P_{O_2}}{K_1} + 2 \frac{(P_{O_2})^2}{K_1 K_2} + 3 \frac{(P_{O_2})^3}{K_1 K_2 K_3} + 4 \frac{(P_{O_2})^4}{K_1 K_2 K_3 K_4} \right)}{4 \left\{ [Hb] \left(1 + \frac{P_{O_2}}{K_1} + \frac{(P_{O_2})^2}{K_1 K_2} + \frac{(P_{O_2})^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{(P_{O_2})^4}{K_1 K_2 K_3 K_4} \right) \right\}} \quad (11)$$

上式においては、分子および分母に現われる $[Hb]$ を残しておいた。これを消去したものがいわゆる Adair の式である。実測値に合うようにこれらの K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 係数の値を選ぶと $K_1 > K_2 > K_3 > K_4$ の関係があることが知られている。

Adair の式の根底にある $[Hb]$ 、 $[HbO_2]$ 、 $[Hb(O_2)_2]$ 、 $[Hb(O_2)_3]$ 、 $[Hb(O_2)_4]$ はそれぞれ Monod-Wyman-Changeux 風モデルでは右辺に示した項に相当する。

$$[Hb] = [T \cdot DPG] \quad (12a)$$

$$[HbO_2] = [T O_2 \cdot DPG] \quad (12b)$$

$$[Hb(O_2)_2] = [T(O_2)_2 \cdot DPG] + [T(O_2)_2] + [R(O_2)_2] \quad (12c)$$

$$[Hb(O_2)_3] = [R(O_2)_3] \quad (12d)$$

$$[Hb(O_2)_4] = [R(O_2)_4] \quad (12e)$$

これを代入して整理すれば、次の関係が得られる。

$$K_1 = \frac{[T \cdot DPG] P_{O_2}}{[T O_2 \cdot DPG]} = K_T \quad (13a)$$

$$K_2 = \frac{K_T}{1 + \frac{K_{DPG}}{[DPG]} \left(1 + \frac{1}{L}\right)} \quad (13b)$$

$$K_3 = K_R \left(\frac{L[DPG]}{K_{DPG}} + L + 1 \right) \quad (13c)$$

$$K_4 = \frac{[R(O_2)_3] P_{O_2}}{[R(O_2)_4]} = K_R \quad (13d)$$

上記の13式から、 $K_T \gg K_R$ である場合には $K_1 > K_2 > K_3 > K_4$ の関係が生じることが理解されるであろう。

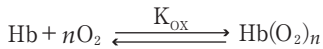
Monod-Wyman-Changeux 風のこのモデルではサブユニットの2つに酸素が結合すれば、hemoglobin 分子の形 (コンフォーメーション) が変化すると仮定したが、サブユニットの何れか1つに酸素が結合するとコンフォーメーションが変化すると仮定しても、図2に示した曲線と同様な曲線を描くことは可能である。

最後に、myoglobin の役割について少し考えてみることにする。図2に見られるように、赤血球内の DPG 濃度が 0.45mM に低下すると、 P_{50} が 15.5mmHg 程度に低下する。正常血液の酸素分圧が 100mmHg から 40mmHg に低下する間に放出される酸素量と同じ量の酸素をこのような血液から放出させるには酸素分圧を最初の 100mmHg から約 20mmHg にまで下げなければならない。すなわち失血者が正常な状態と同じように酸素を消費しているならば、赤血球内の DPG が減少した血液を輸血したところで静脈血の酸素分圧は 20mmHg 程度まで低下することになる。失血により hemoglobin の量が不足しているため、実際には組織の酸素分圧は 15mmHg 以下にもなると推測される。DPG に関する臨床的な報告によると、出血した負傷者に DPG 濃度の低下した赤血球を輸血しても酸素不足状態は改善されないとのことであるため、組織の酸素分圧が 15mmHg に低下すると、もはや十分に酸化的燐酸化反応は進行しないと考えられよう。

正常な血液において酸素分圧が 20mmHg から 10mmHg の範囲では、酸素分圧の低下に従ってなおかなりの量の酸素を放出する余力が血液には残っている。これが生命を辛うじて支えている。血液の酸素分圧が 10mmHg 以下になると、もはや血液には酸素を組織に放出する余力はない。ところで骨格筋には myoglobin があり、myoglobin の酸素飽和度曲線は直角双曲線で表される。すなわち、Michaelis-Menten 型である。この結合反応における $K_{O_2 \text{binding}}$ の値が報告されているように 1 mmHg であれば、酸素分圧が 10mmHg であるとき酸素飽和度は 0.9 である。つまり組織の酸素分圧が 10mmHg にまで低下しても、myoglobin に結合している酸素の僅かしか放出されない。ところが血液の酸素分圧が 10mmHg 以下に低下し、組織の酸素分圧がそれ以下に低下すると、酸素放出量/酸素分圧低下比は急激に増加する。これが組織ひいては血液の酸素分圧のさらなる低下を防止するように働いているのであろう。ところで、組織の酸素分圧が 15mmHg にまで低下するともはや十分に酸化的燐酸化反応が進行しないのであれば、myoglobin の $K_{O_2 \text{binding}}$ の値が報告されている値より高い (酸素親和性が低い) 方が組織の酸素分圧を高く保つ上で望ましい。myoglobin の $K_{O_2 \text{binding}}$ の値が 5mmHg 程度であれば、組織の酸素分圧を 30~40mmHg 程度に保つことが出来よう。組織に myoglobin の酸素親和性を低くする未知の因子があるのかも知れない。あるいは組織の酸素分圧が 10mmHg まで低下しても酸化的燐酸化反応は十分に進行するのであろうか。

これで終りにしようと思った途端に、Hill の式の n は何を表しているのかという声が聞こえた。これは尤もなことである。この疑問にも答えなければならない。Hill の式は次の仮定に基づいている。すなわち、hemoglobin 分子には酸素と結合する binding-site が n 個あり、この binding-sites の何れにも酸素が全く結合していない状態にあるか、さもなければ、 n 個の binding-sites の全てに酸素が結合しているか、この2つの状態しかない、という仮定である。この前提の上に立って、hemoglobin と酸素との反応は次の化学式で書き表され

るとする.



K_{OX} は上記の反応の平衡定数である. この平衡定数 K_{OX} は次のように定義される.

$$K_{\text{OX}} = \frac{[\text{Hb}][\text{O}_2]^n}{[\text{Hb}(\text{O}_2)_n]} \quad (14)$$

ここで問題であることは, hemoglobin と酸素との結合が上記のように書き表せうるものであるかということである. Hemoglobin 分子に1つの binding-site しかなく ($n=1$), 1分子の酸素としか結合しなければ, 上式は化学反応の平衡定数を表すものとして問題はない. しかし, hemoglobin 分子は複数の酸素分子と結合する. この分子に複数の酸素分子が一挙に結合するならば, その反応は上記のように書きうるかも知れない (その場合でも問題があろう). しかし実際には, 複数の binding-site に一挙に酸素分子が結合することは有り得ない. 酸素分子は hemoglobin 分子に1個ずつ順次結合していく. つまり hemoglobin 分子に1つの酸素分子が結合したものと, 2個の酸素分子が結合したものと, 3個の酸素分子が結合したものと4個の酸素分子が結合したものと等がある. こういった状態にあるものを全く無視し, hemoglobin 分子には酸素と全く結合していないものと, 複数の binding-sites の全てに酸素が結合したものとしかないと考えることは非論理的である. Hill の式が導かれた頃, hemoglobin 分子に幾つ酸素 binding-sites があるか不明であった. そういった時代に binding-site の数を知りたいと言う強い願望からこのような無理な仮定を置いてしまったのであろうと思える.

ところで, hemoglobin には酸素と全く結合していない状態か, さもなければ, n 個の binding-sites の全てに酸素が結合している状態のこの何れかしかないということを数式で書くと次の様になる.

$$[\text{Hb}]_{\text{total}} = [\text{Hb}] + [\text{Hb}(\text{O}_2)_n] \quad (15)$$

14式と15式から酸素飽和度 Y は次のようになる.

$$Y = \frac{[\text{Hb}(\text{O}_2)_n]}{[\text{Hb}]_{\text{total}}} = \frac{1}{1 + \frac{K_{\text{OX}}}{[\text{O}_2]^n}} \quad (16)$$

$[\text{O}_2]^n = K_{\text{OX}}$ であるとき, Y は $1/2$ となる. 酸素をモル濃度ではなく酸素分圧 P_{O_2} で表し, $Y=1/2$ であるときの酸素分圧を P_{50} と書くことにすると, 上式は次の様に変形される.

$$Y = \frac{P_{\text{O}_2}^n}{P_{\text{O}_2}^n + P_{50}^n} \quad (17)$$

これがいわゆる Hill の式である. また, n は Hill 係数と呼ばれている. Hill 係数の値は, 次の様にしてグラフから求める. $1-Y$ は $P_{50}^n / (P_{\text{O}_2}^n + P_{50}^n)$ であるので, 上式から次の式が導き出される.

$$\frac{Y}{1-Y} = \left(\frac{P_{\text{O}_2}}{P_{50}} \right)^n \quad (18)$$

上式を対数で表すと, 次の様になる.

$$\log \left(\frac{Y}{1-Y} \right) = n \log(P_{\text{O}_2}) - n \log(P_{50}) \quad (19)$$

この式は $(Y/(1-Y))$ の対数を P_{O_2} の対数についてプロットするとその勾配は n を表すということを示している. このプロット法は Hill プロットと呼ばれている. 実際に hemoglobin の酸素飽和度のデータを用いて Hill プロットを行うと, その勾配は 2.8 付近となる. 勾配が 1 である場合にはその分子の binding-site の数は 1 つであるとは言えるが, 勾配が 1 でない場合には binding-site の数は 1 ではなく, おそらく複数であろうと言えるだけである. Hill プロットの勾配が整数でないと言うことは Hill の式を導く際に用いた前提に誤

りがあることを示している。

今回は分かりきったことをくどくどと述べたような気がして、あまりすっきりした気持ちになれ

ない。しかしたまには執拗に考え検証することがあってもいいのではないかと思いながら筆を進めた。