

ヘム生合成と鉛貧血

原田幸一

Heme biosynthesis and lead anemia

Koichi Harada

Abstract : The nature of lead anemia is still unknown about its mechanism. There are some hypotheses that lead interfere with specific enzymes such as 5-aminolevulinic acid dehydratase, ferrochelatase and reductase participating heme biosynthesis in bodies. It is thought that by the perturbation of lead on the heme pathway 5-aminolevulinic acid and protoporphyrin accumulate in urine and blood, respectively. It is also supposed that lead interfere with intake of iron into the site of heme biosynthesis. The determined values of porphyrins are not only good biological parameters for the effect of lead on heme biosynthesis but also well evaluating the supposed mechanism of lead anemia. The present paper well reviews the point of lead disturbance about heme biosynthesis.

Key words :

Lead anemia, heme biosynthesis, iron deficiency anemia, protoporphyrin, 5-aminolevulinic acid

はじめに

古来より重金属鉛はよく知られた産業・環境中毒の原因物質の一つであった。また、古代ローマ帝国の滅亡の原因がローマ文明の鉛汚染によるといわれている。これは、鉛の鍋を用いて作られたブドウシロップなど鉛に汚染された飲み物や食べ物により、特に支配階級層が鉛中毒となり貧血、流・死産や不妊により、人口減少となり社会階層の転覆がおこったものと考えられる^{1,2)}。

鉛中毒症状としては、従来から貧血、腹部疝痛、神経症状の3主徴がよく知られている³⁾。鉛疝痛は、鉛中毒による腸平滑筋の攣縮によりみられる³⁾。症状は虫垂疝痛に似ており、鑑別診断に注意が必要となる。鉛神経炎では、特徴的な運動障害が主体である。運動麻痺は上肢に顕著であり、

伸筋麻痺（垂れ手）が特徴的である⁴⁾。鉛の中枢への影響としては、鉛脳症がみられる⁴⁾。玩具、剥離ペイントに含有する鉛を経口的に摂取することにより急速に発症する脳疾患であり、とくに乳幼児にみられる⁴⁾。日本では、原因不明の乳児の脳膜炎が、白粉に含まれていた塩基性炭酸鉛が授乳のときに乳児が経口摂取し、鉛脳症を発症したと報告された⁵⁾。鉛含有剥離ペイントによる住環境汚染による鉛中毒は、諸外国では社会問題として現在でも論議されている⁶⁾。特に異食症(pica)傾向のある幼児には注意が必要となる⁷⁾。

鉛貧血については、鉛により赤血球膜の浸透圧に対する脆弱性が増大し、そのため赤血球が破壊することによる溶血性貧血と、ヘム生合成への鉛の阻害作用による貧血の2つの観点から理解される⁸⁾。ここでは、ヘム生合成に影響する鉛による

貧血について考察する。

I ヘム合成⁹⁾

ヘム合成系の解明については、Shiminらによる放射化グリシンや酢酸塩を用いた研究によるところが多い。いままでのところ、グリシンからヘムにいたる生合成系が、つぎのように8つの段階を経ることが判明している(図1)。

1. 5-アミノレブリン酸の生合成⁹⁾

生体におけるヘム合成では、まず、ミトコンドリア内で5-アミノレブリン酸シンターゼ(5-aminolevulinate synthase; ALAS, EC 2.3.1.37)がヘム合成の律速酵素として、グリシンとスクシニルCoAを縮合し、5-アミノレブリン酸(ALA)を生成する^{9,10)}。生合成されたALAは、ミトコンドリアより細胞質へ移動し、つぎの酵素反応の基質となる。ところでこのALASは、ヘム合成系の最終産物であるヘムによる負のフィードバック制御を受けている(図1)。

2. 5-アミノレブリン酸(ALA)からポルフォビリノーゲン(PBG)の生合成⁹⁾

アミノレブリン酸デヒドラターゼ(5-aminolevulinate dehydratase; ALAD, EC 4.2.1.24)の別名はポルフォビリノーゲンシンターゼであり、2分子のALAを脱水縮合した1分子のポルフォビリノーゲン(PBG)および2分子の水を生成する(図1)。

3. ポルフォビリノーゲン(PBG)からハイドロキシメチルピランの生合成⁹⁾

ポルフォビリノーゲンデアミナーゼ(porphobilinogen deaminase; PBGD, EC 4.3.1.8)は、4分子のPBGの重合反応を触媒し、1分子のハイドロキシメチルピランを生成する。このハイドロキシメチルピランは閉環しウロポルフォビリノーゲンIとなる(図1)。

4. ハイドロキシメチルピランからウロポルフォビリノーゲンIII(UROgenIII)の生合成⁹⁾

ウロポルフィリノーゲンIIIシンターゼ

(uroporphyrinogen III synthase; UROS, EC 4.2.1.75)は、ハイドロキシメチルピランからウロポルフィリノーゲンIII(UROgenIII)への生成反応を触媒する。UROSの関与しない非酵素反応では、ハイドロキシメチルピランからウロポルフィリノーゲンIが生成する(図1)。

5. ウロポルフィリノーゲンIII(UROgenIII)からコプロポルフィリノーゲンIII(COPROgenIII)の生合成⁹⁾

ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ(uroporphyrinogen decarboxylase; UROD, EC 4.1.1.37)は、ウロポルフィリノーゲンIII(UROgenIII)の4つ酢酸基のカルボキシ基を脱炭酸してメチル基とし、コプロポルフィリノーゲンを生成する。この脱炭酸の過程においてヘプタ(7COOH)、ヘキサ(6COOH)、ペンタ(5COOH)、そしてコプロポルフィリノーゲンが順次生成する(図1)。

6. コプロポルフィリノーゲンIII(COPROgenIII)からプロトポルフィリノーゲンIX(PROTOgenIX)への生合成⁹⁾

コプロポルフィリノーゲンオキシダーゼ(coproporphyrinogen oxidase; CPOX, EC 1.3.3.3)は、ミトコンドリア酵素であり、コプロポルフィリノーゲンIII(COPROgenIII)のプロピオン酸基から2つの水素を引き抜いてビニル基とする。その結果コプロポルフィリノーゲンIIIからハーデロポルフィリノーゲンを経てプロトポルフィリノーゲンIX(PROTOgenIX)が生成する(図1)。

7. プロトポルフィリノーゲンIX(PROTOgenIX)からプロトポルフィリンIXへの生合成⁹⁾

プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ(proto-porphyrinogen oxidase; PROX, EC 1.3.3.4)は、還元型プロトポルフィリノーゲンIX(PROTOgenIX)から6個の水素原子の除去反応を触媒してプロトポルフィリンIXへ生合成する(図1)。

8. プロトポルフィリンIXからヘムへの生合成⁹⁾

フェロケラターゼ(ferrochelatase; FECH,

EC 4.99.1.1) は、ミトコンドリア内膜に存在し、プロトポルフィリンIXへの鉄導入反応を触媒する。本酵素反応では Fe^{2+} より、 Co^{2+} や Zn^{2+} の方がプロトポルフィリン環へ導入されやすいといわれる(図1)。

II 鉛曝露によるヘム生合成の異常反応と曝露指標

ヘム生合成系には、図1に示すように8つの酵素反応が仕組まれているが、この中であきらかに鉛に阻害されるのは、5-アミノレブリン酸デヒドラターゼ(ALAD)とフェロケラターゼ(FECH)である。コプロポルフィリノーゲンオキシダーゼ(CPOX)については未解決の部分がある。以下に鉛の酵素阻害を述べる。

1. ALADへの鉛の阻害作用

鉛は、ALAD活性中心の必須SH基に対して亜鉛と競合的に反応し阻害反応をしめす。その結果、

ALAからPBGへの生合成系が阻害されるため、ALAの生体内蓄積を引き起こし、ALAが水溶性であることから、尿中への排泄増加がみられる。このことから、鉛曝露指標として尿中ALA量(尿中のデルタアミノレブリン酸の量の検査(ml/l))が鉛中毒予防規則53条の健康診断に規定されている¹¹⁾。ALAの測定は、Mauzerall-Granick法により広くおこなわれてきた。これは、ALAがアセチルアセトンと結合して、ALA-ピロールを形成する。このピロールを酸性溶液中で、エールリッヒ試薬の*p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドにより赤色とし、これを比色定量する方法である¹²⁾。最近では、液体クロマトグラフィー法と質量分析法を組み合わせた簡易微量定量法が開発されている¹³⁾。尿中ALAの基準範囲は、 $2.13 \pm 0.42 \text{ mg/日}$ (蓄尿)であり、スポット尿では、 5 mg/l を超えると鉛の影響を考えることになる¹⁴⁾。

ALAD活性が、鉛により阻害されることから鉛曝露指標とすることについて従来から論議され

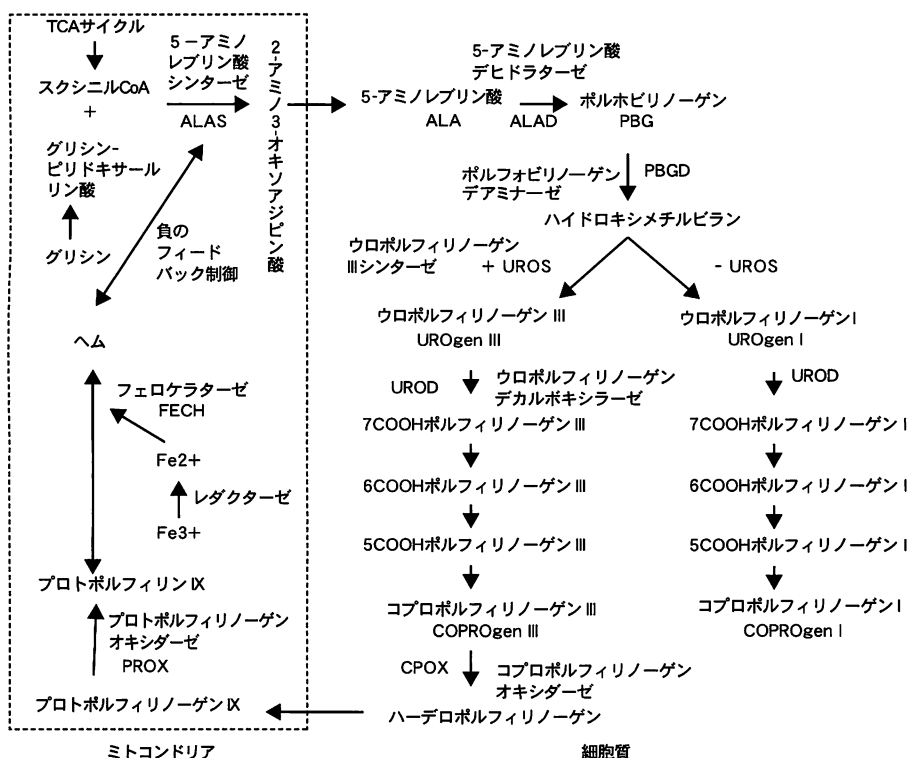


図1 ヘム生合成(原田他の図¹⁰⁾より改変)

てきたが、血液中鉛濃度の変化に対し通常値の上限あたりである $15\sim 20\mu\text{g/dl}$ から鋭敏に変化し、血中鉛 $50\sim 60\mu\text{g/dl}$ でほぼ完全に失活する¹⁵⁾。このため、ALAD活性値を産業職場での鉛曝露影響指標とすることはなかった。

2. 尿中コプロポルフィリンと鉛曝露

コプロポルフィリノーゲンオキシダーゼ(CPOX)が阻害されるとコプロポルフィリノーゲンIIIが蓄積し、これが酸化されてコプロポルフィリンとなり尿中に排泄することが考えられる。造血系のコプロポルフィリノーゲンオキシダーゼ(CPOX)が鉛により阻害されるという積極的な証拠はないが、鉛曝露により尿中コプロポルフィリンの排泄が増加することが知られている²⁾。尿中コプロポルフィリン値が、 $150\mu\text{g/l}$ を超えると鉛職場では健康管理の対象となる^{5,16)}。

これまでのところ、鉛曝露によりヘム生成量が低下するためヘムによるフィードバックの抑制が解かれるため、ヘム生合成系が亢進することになり、その結果、生体のポルフィリン値のレベルが上昇し、尿中コプロポルフィリン値も増加すると理解されている。コプロポルフィリンは、 4COOH ポルフィリンであるが、鉛中毒家兎の尿中ポルフィリン体の排泄から 3COOH 様ポルフィリン体の排泄増加が観察されているが、これも鉛の影響によるヘム生合成系の全体的亢進によるものであると考えられている¹⁷⁾。

3. 赤血球プロトポルフィリンと鉛曝露

ヘム生合成の最終段階でプロトポルフィリンへ鉄を導入するフェロケラターゼ (FECH) が鉛により阻害される。その結果、プロトポルフィリンが赤血球中に蓄積する。Lamolaらは、この赤血球プロトポルフィリンは、亜鉛とキレートした亜鉛プロトポルフィリンであるとした¹⁸⁾。Haradaらは、実験的鉛中毒家兎の赤血球中には、亜鉛プロトポルフィリンと遊離プロトポルフィリンが混在していることをフルオロメーターで示している¹⁹⁾。しかしながら、末梢赤血球中の亜鉛プロトポルフィリンは、鉛による二次的影響物質である

ので、酸性溶液で抽出される総プロトポルフィリンを測定する方が亜鉛プロトポルフィリンの測定より理論的である²⁰⁾。このように赤血球プロトポルフィリンは、鉛曝露をよく反映する指標であることから、日本では1989年の改訂鉛中毒予防規則中の健康診断項目に採用されている^{2,21)}。

ポルフィリン環へ導入される鉄は2価鉄 (Fe^{2+}) であり、フェリチンに貯蔵されている3価鉄 (Fe^{3+}) を還元し導入することが必要である。この Fe^{3+} から Fe^{2+} の還元反応に関与するレダクターゼが鉛により阻害され、ポルフィリン環へ導入される Fe^{2+} の利用をさまたげ、プロトポルフィリンの蓄積を誘導しており、フェロケラターゼ (FECH) に対する阻害は大きくないことが示された²²⁾。

鉛中毒時にプロトポルフィリンが蓄積しているが、光過敏症がみられないのは、ポルフィリン環へ亜鉛が導入されポルフィリンの光感受性を低下させていると考えられる。骨髄性プロトポルフィリン症では、プロトポルフィリンは遊離体であり、また赤血球より血清中に放出されるため光過敏性を呈するものと考えられる²³⁾。

4. 血中鉛濃度とヘム生合成指標との関係

血中鉛濃度の上昇に応じて発現するヘム生合成指標の動向が報告されている²¹⁾。鉛曝露のみられない人の血液中鉛濃度は $10\mu\text{g/dl}$ 以下であるが、血液鉛濃度が $20\mu\text{g/dl}$ を超えると赤血球ALADの阻害が始まる。 $30\mu\text{g/dl}$ を超えると赤血球プロトポルフィリン値の増加がみられる。 $40\mu\text{g/dl}$ を超えると尿中ALA値や尿中コプロポルフィリン値の増加がみられる。 $50\mu\text{g/dl}$ を超えると末梢神経伝導速度遅延があらわれる。

III 鉛貧血と鉄欠乏性貧血の関係

鉛貧血の発症機序をヘム生合成の観点から説明すると、鉛によるフェロケラターゼ (FECH) の阻害²⁴⁾、 Fe^{3+} から Fe^{2+} の還元反応に関与するレダクターゼの鉛による阻害^{22,25)}、ミトコンドリア膜での鉄利用阻害²⁶⁾や食事性鉄摂取障害²⁷⁾などの機

序が関与し、結果としてヘム生合成が抑制するため赤血球プロトポルフィリンの蓄積増加となる。鉄欠乏性貧血では、導入されるべき鉄が不足しており、結果として赤血球プロトポルフィリンの増加が観察される。すなわち、鉄欠乏性貧血の生体指標として赤血球プロトポルフィリン値が提唱されている。鉛貧血、鉄欠乏性貧血では、ともにヘム値やヘモグロビン (Hb) 値の低下とFEPの上昇がみられるので (FEP/ヘム) 比や (FEP/Hb) 比で貧血の程度が評価されている²⁸⁾。

おわりに

今回は、鉛のヘム生合成阻害による貧血の発症機序や鉛曝露の生物学的影響指標としてポルフィリン体測定やヘム生合成系酵素活性測定の有用性を中毒生化学的観点から総括した。一方で鉛中毒の診断だけでなくポルフィリン代謝異常症の系統的診断に対してもヘム生合成酵素の活性測定が推奨されている。ポルフィリン代謝異常症の診断については、将来的に遺伝子診断が可能となるであろうが、確定診断を支えるものとして、ヘム生合成系をめぐる、ポルフィリン体測定や酵素活性測定は省くことはできないであろう。今後ともヘム生合成系から目を離すことはできないものと考え

引用文献

- 1) 大場英樹：環境問題と世界史、34-36、公害対策技術同友会、東京、1979
- 2) 堀口俊一：鉛-環境中鉛と生体影響、1-2、労働科学研究所出版部、川崎、1993
- 3) 柳澤裕之：医学書院医学大辞典、1825、医学書院、東京、2003
- 4) 井上尚英：医学書院医学大辞典、1825、医学書院、東京、2003
- 5) 徳永力雄：9-II鉛 総合衛生公衆衛生学改訂第2版、930-938、南江堂、東京、1985
- 6) Montgomery M. et al.: A preliminary study of residential paint lead concentrations in Johannesburg. Environmental Research. 98: 279-283, 2005
- 7) 仲田誠：医学書院医学大辞典、107、医学書院、東京、2003
- 8) 藤田博美他：Pb 鉛 Toxicology Today中毒学から生体防御の科学へ、129-147、金芳堂、京都、1994
- 9) 原田幸一他：ポルフィリンとポルフィリン前駆体の動態、代謝、排泄様式、日本臨牀、53: 1349-1356、1995
- 10) Kappas A. et al.: The porphyries, The Metabolic Basis of Inherited Disease 6th ed, 1305-1365, McGraw-Hill, New York, 1989
- 11) 厚生労働省安全衛生部化学物質調査課編：新版鉛作業主任者テキスト、217-250、中央労働災害防止協会、東京、2001.
- 12) 原田章他：Mauzerall-Granick法、鉛健康診断のすすめ方、71、全国労働団体連合会、東京、1990
- 13) Felitsvn NM.et al.: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of delta-ALA, tyrosine and creatinine in biological fluids, Clinica Chimica Acta, 350: 219-230, 2004
- 14) 金井正光編：臨床検査法提要、194、金原出版、東京、2005
- 15) 三浦創：9-III 鉛中毒-特論- 総合衛生公衆衛生学改訂第2版、930-938、南江堂、東京、1985
- 16) 原田章：尿中コプロポルフィリン量の測定、鉛健康診断のすすめ方、79-81、全国労働団体連合会、東京、1990
- 17) 原田幸一他：実験的鉛中毒家兎の尿中トリカルボキシリックポルフィリン様物質、日本衛生学雑誌、38: 817-822、1983
- 18) Lamola AA.et al.: Zinc protoporphyrin in the erythrocytes of patients with lead intoxication and iron deficiency anemia, Science, 186: 936-938, 1974
- 19) 三浦創他：中毒学における生化学的アプローチ、166-178、篠原出版、東京、1980
- 20) Harada K. et al.: Free erythrocyte protoporphyrin (FEP) and zinc protoporphyrin (ZnP) as biological parameters for lead poisoning, International Archives of Occupational Environmental Health, 53: 365-377, 1984
- 21) 杉本寛治：改訂第3版産業医ハンドブック、170-175、南江堂、東京、2002
- 22) Taketani S. et al.: Reconstitution of heme-synthesizing activity from ferric ion and porphyrins, and the effect of lead on the activity, Archives of Biochemistry and Biophysics, 242: 291-296, 1985
- 23) Bickers DR. et al.: Harrison's Principles of Internal Medicine, 328-334, McGraw-Hill, New York, 1998
- 24) Fujita H.et al.: Lead, chemical porphyria, and heme as a biological mediator, Tohoku Journal of Experimental Medicine, 196:53-64, 2002
- 25) Rossi E.et al.: Effect of occupational lead exposure on lymphocyte enzymes involved in heme biosynthesis, Clinical Chemistry, 36:1980-1983, 1990
- 26) 原田幸一他：実験的鉛中毒家兎のヘム生成および鉄動態、産業医学、25: 161-174、1983
- 27) Kim HS. Et al.:Cross-sectional study of lead effects on iron status in Korean lead workers, Nutrition, 19:571-

576, 2003

- 28) Harada K. et al.: Comparison of unitages for total free erythrocyte protoporphyrin (total EP) in anemia screening, Clinica Chimica Acta, 180: 87-92, 1989