

# 千葉医学会雑誌

第36巻 第1号

(昭和35年5月28日発行)

## 退官記念最終講義

### 酵素の作用

千葉大学医学部医化学教室

教授 赤 松 茂

SHIGERU AKAMATSU

(昭和35年2月25日、基礎医学新館第一講堂において)

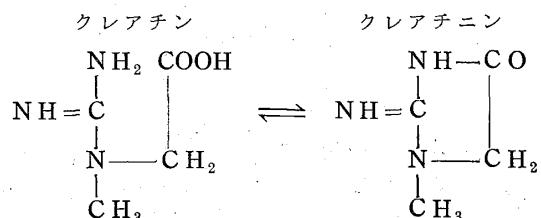
私が一生の半ばを過ごした千葉大学における最終講義を只今からこの基礎医学新館の第一講堂ですることは私にとり一生の記念であり、今日は平素の学生諸君への講義時間と異り、学部長を初め先輩ならびに教授各位、また医化学教室出身の方々の臨席を得たことは誠に光栄である。

第一学年の学生諸君への正規の医化学講義は先日で終了しているので、今日は慣例に従い、私がこの大学で研究した領域に関する題目を選び、酵素は如何に作用するかということを、この医化学教室で研究した方々の報告を実験例として挙げながら述べるが、この教室での研究は種々の方面に亘っているので、これから話に一応の筋道を立てるためにはそれらの報告の年代順序を変えるとか、また時間が限られている関係で省略する報告もあることを予め諒承されたい。

さて酵素は触媒であり、化学反応速度を大にする。このとき理論上では酵素は正逆両反応速度を大にして平衡の位置は変えないのが原則である。しかし水解反応では一般に平衡が甚だしく一方に偏つていて酵素が非酵素的反応で認めらるべき平衡を果して変えないかを検討することは困難である。ところが好都合のことによりクレアチニンは脱水反応でクレアチニンになり、逆にクレアチニンは水解でクレアチニンになることが知られている。

古い外国の報告によるとクレアチニン(C)またはクレアチニン(Cin)の水溶液はそのいづれも中性反

第1図



応で37°に放置されると、両者の相互移行が遅いながら進行し、10数カ月後に Cin/C のモル濃度比が約0.8になり停止する。その後他の学者は、温度が高まると反応速度が大となることを利用し、種々の濃度比の C と Cin との混液を中性反応で100°、70°に加熱し濃度比が依然として変わらない混液における濃度比から平衡恒数 K が短時間求められることを報告した。

第1表 非酵素的クレアチニン・クレアチニン相互移行反応(pH 7)の平衡恒数と温度

$$\ln K = \frac{-\Delta H}{RT} + \text{const.}$$

	25°	37°	50°	70°	100°
K =	[クレアチニン]	0.540	0.739	1.020	1.59
	[クレアチン]	42.5	50	57.5	50

第1表のように K 値は 100°C では 2.9, 70°C では 1.6 であるから、これら両温度を絶対温度に直して

理論式（ここで  $T$  は絶対温度）に代入し、吸熱量  $\Delta H$  と  $\text{const.}$  とが求められると、次には任意の温度  $50^\circ\text{C}$ ,  $37^\circ\text{C}$  などの平衡恒数  $K$  が算出されうる（第1表）。

このように非酵素的試験で定められた平衡恒数がその数値そのままに酵素試験で実証されるであろうか。教室附近の土壤から適応酵素法で分離した菌を供試して実験すると、第2表のように  $C$  と  $\text{Cin}$  とのいずれから出発しても  $37^\circ$  では  $\text{Cin}/C$  が  $43/57$ ,  $50^\circ$  では  $50/50$  で停止し、かくて非酵素反応時の平衡を酵素は移動させないことが証明される。 $70^\circ$  では酵素が失活するから実験しえない。

第2表 土壤菌酵素による  
クレアチニン $\rightleftharpoons$ クレアチニンの平衡 (pH 7)

	基 質	24 時間	48 時間
$37^\circ$	クレアチニン	41.5/58.5	42.0/58.0
	クレアチニン	44.1/55.9	43.3/56.7
$50^\circ$	クレアチニン	48.7/51.3	49.7/50.3
	クレアチニン	50.5/49.5	50.2/49.8

酵素反応で酵素が反応速度を大とする機序は酵素が基質と結合して中間複合体を形成し、ついでこれが分解して酵素と生成物となるのであるが、このとき遊離する酵素は更めて基質と複合体を形成し、酵素と生成物とに分解する過程を繰り返し、かくて微量の酵素が触媒的に作動するのであるから、この中間複合体中では基質が生成物に変化し易い、不安定な、脆い形に変えられていると考えねばならない。この脆い形とはどんな分子状態であるかは解つていないが、それを推定させる実験例はサリチル酸

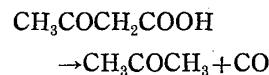
の磷酸エステルの非酵素的な自然水解に関する所見である。

サリチル酸の OH 基に磷酸がエステル結合しているフォスフォサリチル酸を合成し、その水溶液を酵素なしで  $37^\circ\text{C}$  で種々の pH で放置すると（第2図、重金属イオン不添加曲線）、酸性またはアルカリ性では安定であるが、弱酸性域では無機磷酸とサリチル酸とが遊離して来る。このとき pH 5.6 にて極大であり、1時間に 25% の自然水解がある。電気的滴定の結果によると、pH 5.6 ではこのエステルは解離して図下段のような 2価イオン型にあり、これよりも酸性液中では  $\text{COOH}$  は不解離状になり、逆にアルカリ側に向うと結合磷酸の第2の酸基も解離して来る。しかしサリチル酸と異り、 $m$ 、また  $q$  のオキシ安息香酸の磷酸エステルが全 pH 域で安定なことを考えると、フォスフォ・サリチル酸の 2価イオンでは分子内の P と O 位の  $\text{COO}^-$  の O との間に相互作用が行われ、このために分子内の電子配分が変つて P—O 間の結合が弱くなると思われる。

また同じ水溶液に微量の硫酸銅液を加えると、pH 5.6 での自然水解が甚だ促進される。またフォスフォ・サリチル酸が安定な酸度 pH 2 の溶液でも、これに塩化鉄液を添加すると著しい水解反応が起つて来る。これはそれら重金属イオンがフォスフォ・サリチル酸と錯結合していわゆるキレートを形成し分子内の電子配位を変えるからであると考えられる。

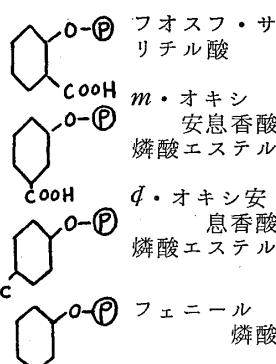
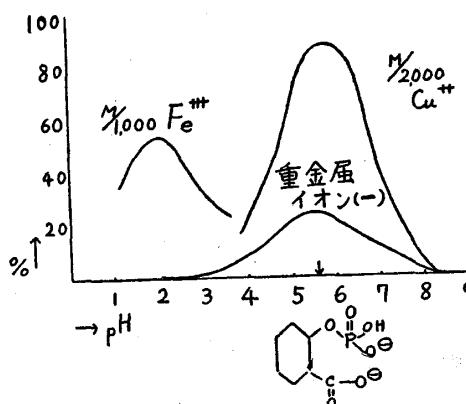
このような基質分子の不安定化は基質が酵素に結合した状態にて起るとすると、この酵素基質複合体を形成するときに、酵素と基質とはそれぞれの分子のどの部分で結合するのであるか。それは酵素の特

殊性にも関係することであるが、模型試験として行つたアセト酢酸の脱  $\text{CO}_2$  反応が酵素基質結合に関連して問題を提供する。

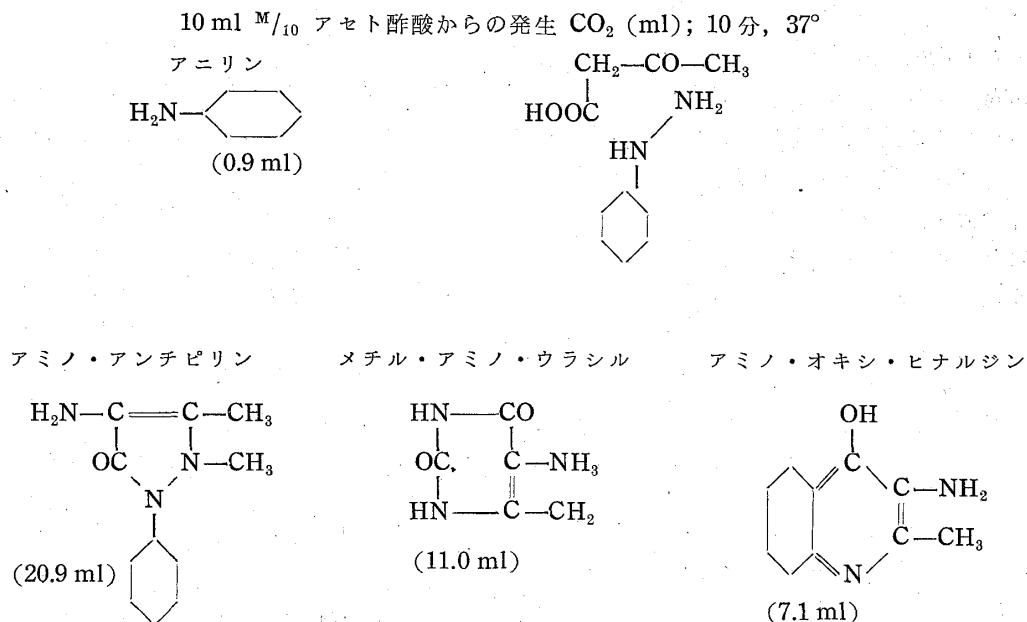


この  $\beta$  ケト酸たるアセト酢酸の自然分解がアミノ化合物、例えばアニリンにより触媒的に促進されてアセトンと  $\text{CO}_2$  になることは既に知られていた。至適酸度は pH 4.2 である。しかしアニリンは有効と

第2図  
Phosphosalicyl 酸の  
非酵素的水解 ( $37^\circ$ , 60 分)



第3図 酵素模型



はいえ、その作用は左程には強くない (0.9 ml/10分)。強力な触媒を求めて種々のアミノ化合物を検したが、大体にアニリン程度に止まつた。ところがアミノアンチピリンに驚くほどの強い脱  $\text{CO}_2$  作用が認められた(20.9 ml)。この化合物はアセト酢酸エチルとフェニル・ヒドロジンとの縮合物を中間体として合成されるアミノ化合物であり、その構造式を見ると、アセト酢酸残基があり、その  $\alpha$  位に相当する C 原子にアミノ基が結合しているのが知られる。

アミノアンチピリンの強い触媒能はその分子内のアセト酢酸残基が構造近似性にもとづいて緩かに基質アセト酢酸に結合し、ついでアミノ基が脱  $\text{CO}_2$  的に作用するとよると考えられるから、アミノアンチピリン以外の化合物でも分子内にアセト酢酸残基をもち、またその残基の  $\alpha$  位に C アミノ基があれば有効であるとの推定のもとに 5・アミノ・4・メチ

ルウラシル、またアミノオキシキナルジンを合成供試すると第3図に附記するように可成り強い触媒能が認められた。

この酵素模型試験から推定すると、酵素作用が發揮されるためには、酵素分子中には基質のある化学基と相互作用する化学基があるべきほかに、なお基質の特定原子団と近似的電子配位を示す原子団が酵素にあつて、これが酵素と基質とを密着させることが必要である。これが酵素の特殊性を決定することになる。話の順序として次に酵素の特殊性につき述べよう。酵素の特殊性は磷酸酵素で深く研究したので、その成績を実験例として挙げることにする。磷酸酵素とは P—O または P—N のような磷酸関与の結合を水解する 1 群の酵素の総称であり第3表のように磷酸酵素の基質となる磷酸化合物の種類は多く、それらに対応して各種の酵素がある。

第3表 磷酸酵素

1.	$\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}$	Phospho monoesterase
2.	$\text{R}-\text{O}-\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}'$	Phospho diesterase
3.	$\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}$	Inorganic pyrophosphatase
4.	$\text{R}-\text{O}-\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}'-\text{O}-\text{R}''$	Ester pyrophosphatase
5.	$\text{R}-\text{O}-\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}'-\text{O}-\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}''$	Oligo phospho diesterase
6.	$\cdots \text{O}-\text{R}-\text{O}-\textcircled{P}-\text{O}-\text{R}-\text{O}-\text{R}-\text{O}-\text{R}-\text{O}-\textcircled{P}-\text{O} \cdots$	Nuclease
7.		Phospho protein phosphatase
8.	$\text{R}-\text{NH}-\textcircled{P}$	Phosphamidase

これら諸種の酵素は互に相異している。そのうち磷酸モノエステラーゼは磷酸モノエステル、たとえばフェニル磷酸を無機磷酸とフェノールに水解する。磷酸ジエステラーゼは磷酸ジエステル、たとえばジフェニル磷酸を水解してフェニル磷酸とフェノールを生ずる。無機ピロ磷酸酵素は無機ピロ磷酸を2分子の磷酸に水解する。これら3酵素が相異なることはそれらを相互分離することで証明することが出来たので、表に記したように命名したが、モノエステラーゼ、ジエステラーゼなる名称は一般に用いられている。なおこれら3酵素には至適酸度を異にする4型があることも明らかにした(第4表)。

第4表

	I (pH3~4)	II (pH5.6)	III (pH9)	IV (pH6~7)
モノ エステラーゼ	腎 タカ 人尿	米糠	肝	赤血球 血清
ジ エステラーゼ	米糠	タカ	蛇毒	腎 肝
ピロ 磷酸酵素	腎 タカ	米糠 腎	腎	酵母 筋

この表にあるI~IVはこの教室で附した型番号であるが、外国での番号と一致せず、これについては外国からの苦情もあり、近頃は酸性またはアルカリ性モノエステラーゼなどと呼ぶ方が多い。これら酵素のうちモノエステラーゼの測定には増加する無機磷酸、または遊離するOH化合物を定量すればよい。無機磷酸定量には常法のほか、ここで考案した有機色素による超微量法もあるが、遊離OH化合物を定量する場合には基質として $\alpha$ ・ニトロフェニル磷酸を用いるのがよろしい。この方法は簡易、迅速、微量的である点から外国でも採用されているが、同じようにジエステラーゼ基質としてビス $\alpha$ ・ニトフェニル磷酸を用いる法もここで考案したものである。この $\alpha$ ・ニトロフェノール法は硫酸酵素、 $\beta$ グルコシダーゼの測定にも応用せられ、これらも外国で用いられている。

上述の3種の酵素は他の磷酸酵素と同様に無機磷酸および諸種磷酸化合物により阻害される。これは酵素の基質に対する親和性基を阻害性磷酸化合物が基質と競り合う結果で起る阻害である。しかし、一般に阻害が認められたとき、阻害性物質は基質と

競り合うと断定しては誤りである。というのは一般に阻害型式には相競性阻害、非相競性阻害、カプリング阻害の3型が理論上ではありうるからである。これら型式の定義を判り易くするために譬えて、磷酸モノエステラーゼを肺結核専門医とし、この医師は肺結核患者に対してのみ診察治療を行つているとする。相競性阻害とは上述のように基質と近似な、しかし酵素によつては水解されない化合物が基質と競り合うのであるから、喘息患者が来院して診察をうけ結核患者の診察治療を邪魔するようなものである。非相競性阻害は酵素が基質と複合体を形成しているときでも、また全く遊離状態にあるときにも酵素と結合して酵素活性を低下させるに原因するのであり、例えば患者診療中と否とを問わず、医師に何者かが悩ましく付きまとつて診療効果を低めるようなものである。カプリング阻害とは酵素が基質と複合体を形成しているときにのみ、すなわち複合体とのみ結合して阻害する場合で、例えば医師が患者を診療している時に限り苦言を呈し、また電流スイッチを切るなどに当るといえよう。この理論的に可能なる3型の阻害のうちカプリング阻害が酵素反応で実際に起るかは未だ明かでなかつたが、これをモノエステラーゼで証明することが出来た。

第5表 酵素作用阻害の諸型

$$\text{対照(阻害剤なし)} \frac{Vm}{V} = 1 + \frac{Km}{[S]}$$

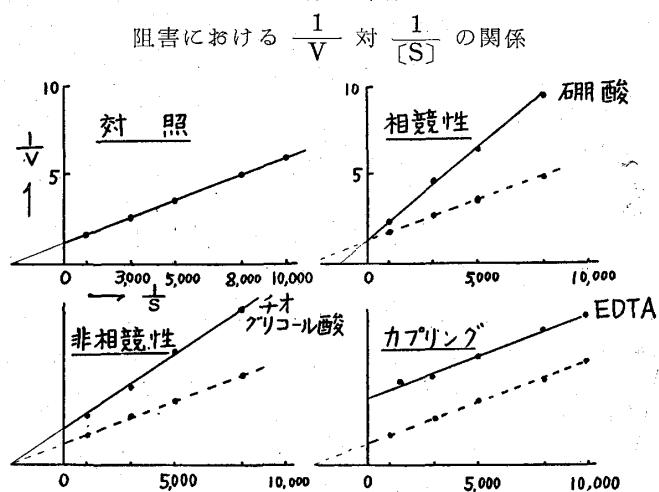
$$\text{相競性阻害} \frac{Vm}{V} = 1 + \frac{Km}{[S]} \left( \frac{Ki + [I]}{Ki} \right)$$

$$\text{非相競性阻害} \frac{Vm}{V} = (1 + \frac{Km}{[S]} ) \left( \frac{Ki + [I]}{Ki} \right)$$

$$\text{カプリング阻害} \frac{Vm}{V} = 1 + \frac{Km}{[S]} + \frac{[I]}{Ki}$$

第5表は3型の阻害のとき反応速度Vと基質濃度[S]との関係を示す理論式で、その導き方はこゝに省略するが、Vm(阻害剤を添加せず、基質濃度を甚しく高めるときの反応速度)、またKm, Kiを恒数とし、なお加えた各種阻害剤Iの濃度[I]をも一定とするとき、 $1/V$ と $1/[S]$ との関係を座標系にプロットすると、理論上では阻害型式に従つてそれぞれ対照(阻害剤なし)の直線と、縦軸で交る直線、横軸で交る直線、あるいは平行する直線を得ることを示し、それらは第4図に実線として記してあるが、3種の阻害剤にて実測点は理論直線上に位置している。硼酸塩と同様に、無機磷酸または磷酸化合物による阻害は相競性であつて他の型の阻害でない

#### 第 4 図



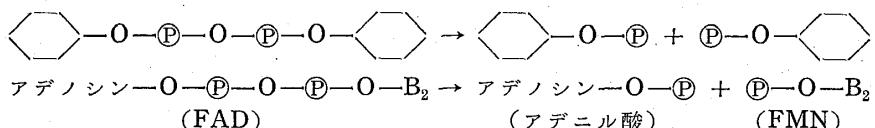
この実験例はここには図示していないが多数の実験を行つて証明している。

磷酸酵素で基質がピロリン酸エステルになると(第2表), 特殊のエステルピロ磷酸酵素によつてのみ水解されて2分子のモノエステルになる。ジフェニルピロ磷酸は2分子のフェニル磷酸に, またFADはフラビンモノヌクオチドとアデニル酸となる(第5図)。

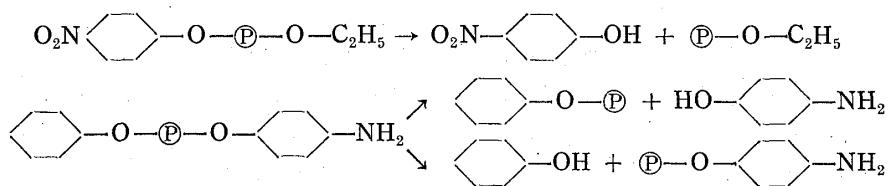
上述したジエステラーゼは基質の磷酸結合1つだけを水解する。 $\alpha$ ・ニトロフェニル磷酸エチルエステルを基質とすると(第5図),  $\alpha$ ・ニトロフェノールが遊離して来る。諸型ジエステラーゼのいずれによつてもエタノールと磷酸との結合は初めから侵さ

第5図

## Esterpyrophosphatase

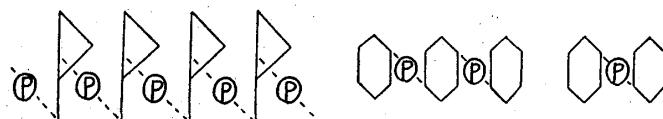


### Phosphodiesterase



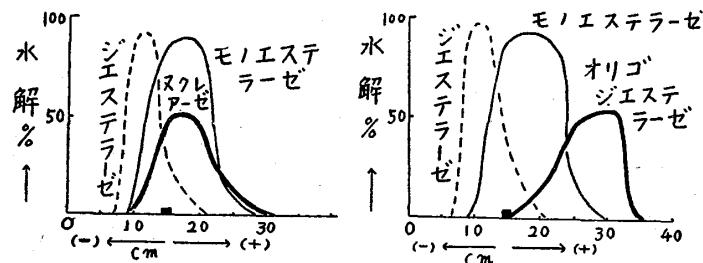
## 第 6 図

## 磷酸ジエステル結合と酵素特殊性



われるから、ビス・フェニル磷酸ヒドロキノンエステルを合成して、ジエステル結合2個の基質として用いつつ、これを水解する酵素の電泳時の移動状況を(第7図、右)モノエステラーゼまたリボヌクレアーゼのそれと比較すると、オリゴジエステラーゼと附記してある分布曲線が示すようにこの新酵素は(+)極に移動して、明かにジエステラーゼ、リボヌクレアーゼと異なる。次にこのジエステル結合2つの化合物を水解する酵素オリゴジエステラーゼの分布域から、特にモノエステラーゼを混有しない割分を取り出してその水解作用後の試験液を検すると、基質からフェニル磷酸とヒドロキノン磷酸フェニルエステルとが生じ、さらに、第二段にモノエステラーゼを作用させるとフェニル磷酸からフェノールの遊離が認められる。

第7図  
澱粉Zone電泳



磷酸化合物でも磷酸蛋白質になると、たとえばカゼインはフォスフォ・プロテイン・磷酸酵素という特殊な酵素の作用をうける。この酵素には現在の純化段階ではモノエステラーゼが混在しているのでカゼイン中の磷酸結合様式を確言し得ないが、蛋白質部分を消化することなく、無機磷酸を遊離する。モノエステラーゼ、またこれと他種の磷酸酵素との混合もカゼインには作用しない。P-N結合を水解するフォスファミダーゼについてもこの教室で早く報告

したが、その後の実験例が乏しいので省略する。

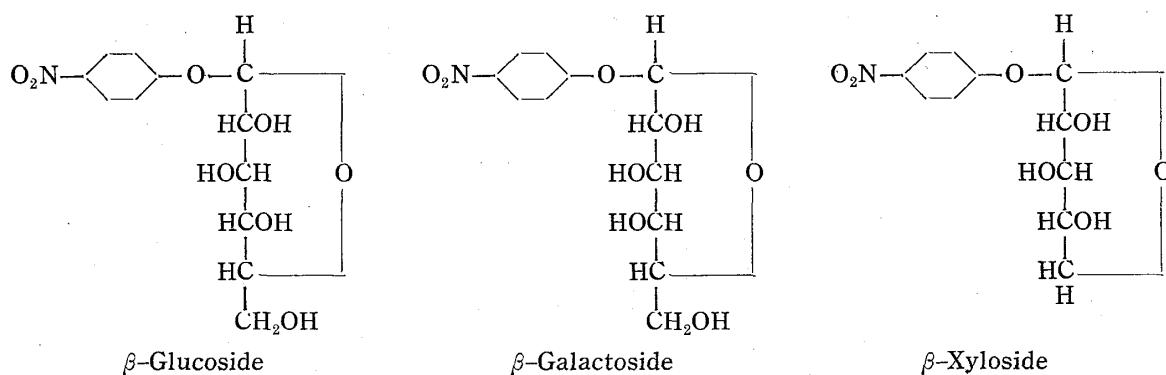
このように諸種の磷酸酵素が存在し、これらは磷酸塩または磷酸化合物により相競性に阻害されることは、それら酵素には共通して基質磷酸基に強い親和性を示す化学基があることを示すが、なお磷酸結合の様式に応じて特殊な酵素があることを説明するにはそのほかに酵素には基質の磷酸基以外の部分と特殊的に結合する化学基が存在するとせねばならない。すなわち、酵素と基質とは互に2カ所またはそれ以上の個所で結合する。このことを磷酸酵素では追及していない。しかし次に述べるβグリコシダーゼでの成績はこの仮説を証明するようである。

第6図は3種のp-ニトロフェノールβグリコシドの構造式であるが、水解されると遊離p-ニトロフェノールを生じ定量は容易である。この3種

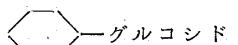
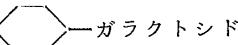
の化合物は構造上は僅かに違つているのみであり、外国ではこれらが同一酵素により水解されると云われたが、千葉での成績ではβ-グルコシダーゼ、β-ガラクトシダーゼ、β-キシロシダーゼなど相異する酵素があり、なお前2酵素に関しては、それらにはそれぞれタカ型とエムルシン型があることが明かにされた。タカ型とは酵素がまず特殊的に

基質の糖部分と結合し、ついで第2段に非特殊的にβグリコシド結合部分に結合するもので、したがつてタカ型は基質の糖部分と同種の糖またはその誘導体で相競的に阻害される。エムルシン型は第1段では非特殊的に基質のグリコシド結合部分に結合し、第2段に特殊的に糖部分に結合する。すなわちβ-グリコシド結合を持つ化合物では共通的に相競性阻害をうけるが、糖によつては影響されない。この関係は第6表に示してある。

第8図 p-ニトロフェノールグリコシド



第6表  $\beta$ -ニトロフェノールヘキソシド水解の阻害

	タカ型		エムルシン型	
	$\beta$ -Gase	$\beta$ -GALase	$\beta$ -Gase	$\beta$ -GALase
所 在	モロコシ	豚 脾	通常変形菌	大腸菌
グルコース	+	0	0	0
	+	0	+	+
グルコノラクトン	+	0	+	+
ガラクトース	0	+	0	0
	0	+	+	+
ガラクトノラクトン	0	+	+	+

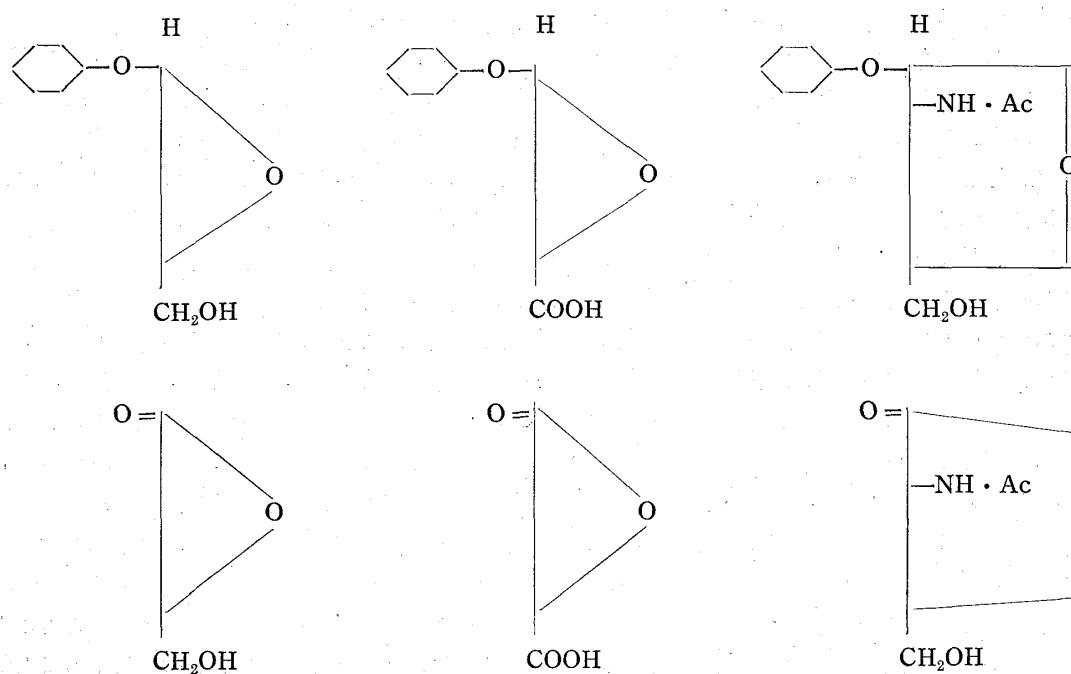
この表には両型の両酵素がそれぞれ他型酵素を含まないで天然に存在していることも示してある。なお、この表に示すように両種の糖から誘導される On 酸ラクトンはそれぞれのグルコシド化合物と同じ阻害を示すが、その阻害力は相当に強力である。第9図の上段には左からグルコース、グルクロン酸、アセチルグルコサミンのフェノール  $\beta$ -グリコシドの構造式を掲げ、下段には相応する酸のラクトン、すなわち、グルコノラクトン、サツカロラクトン、アセチルグルコサミノラクトンを示してあるが、左のグルコノラクトンの阻害性から考えてサツカロラクトンは  $\beta$ -グルクロニダーゼを強く阻害することが推定されたので、実は  $\beta$ -グルクロニドを

尿から分離または化学的に合成して供試せんとしたが、成功しないうちに残念ながら外国で先きに実験された。しかし N・アセチル  $\beta$ -フェノール・グルコサミド水解をアセチルグルコサミン酸が阻害する事は実証し得たし、またこの実験のとき一部はラクトンに移行して阻害することも推定されるのである。

さて上述のように酵素と基質とは 2 カ所以上で結合し、このとき結合の起る順序が異なる場合があり、これらのことことが酵素の特殊性を決定するのであるが、基質分子は酵素と複合体を形成した状況下で脆くなるとして、その場合に切れ易くなる位置について考察すると、例を磷酸モノエチルにとれば、P

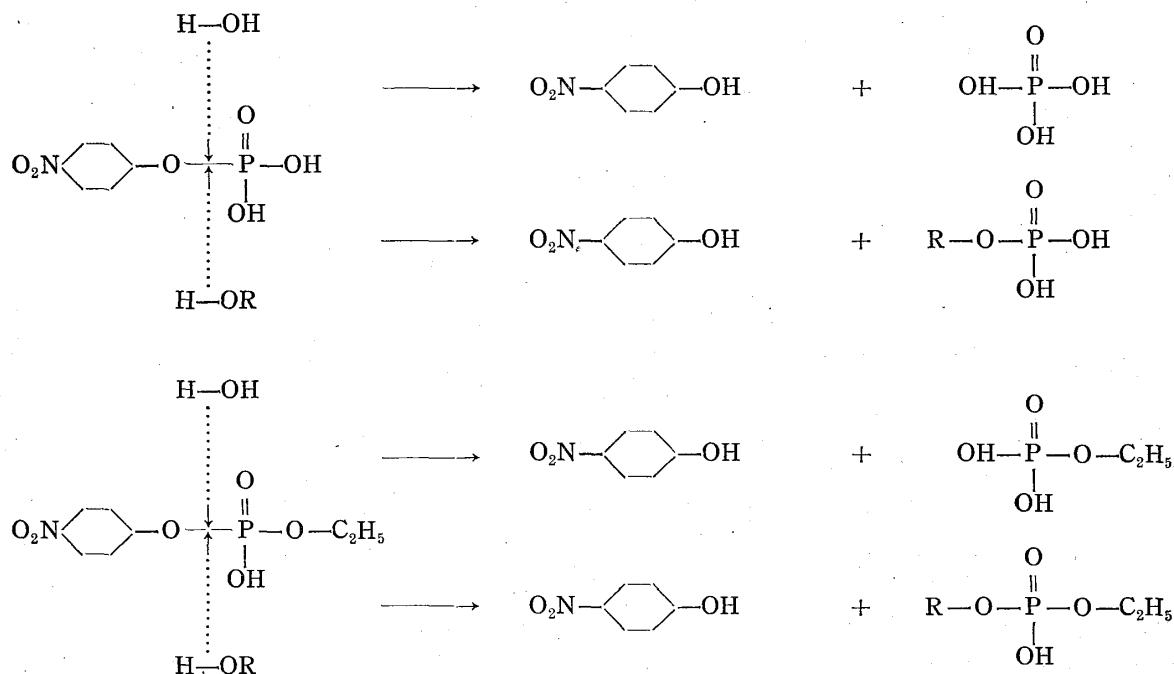
第9図

On 酸 ラクトン の 阻害能



第10図

## 水解と転移



$-\text{O}-\text{C}$ なる結合のうちPとOとの間であり、このとき生ずる活性磷酸が水と反応すれば無機磷酸を、またたまたま溶液中に共存する ROH と反応すれば新たな磷酸モノエチルが生ずる。すなわち磷酸転移が認められることになる。この単純な転移反応は  $\alpha$ ・ニトロフェニル磷酸を基質として外国で報告されたのであり、折角この基質を磷酸酵素研究に提唱した当教室としては黒星であるが、上述した  $\alpha$ -ニトロフェニル磷酸エチルエステルを基質とするジエステラーゼによる転移反応が起り新たにエチル磷酸の諸エステルが新生することを実証することが出来た。すなわちこの場合には中間に活性エチル磷酸が形成されるのである。

しからば酵素表面で中間に生ずる活性磷酸とか、一般に活性化学基とは何か。恐らく基質が脆くなつて切離され易くなる部分が酵素分子中のその近接部にある化学基と結合した不安定な化合物、例えばモノエステラーゼの場合には磷酸・酵素結合体であり、この結合磷酸のすぐ近くに水があれば活性磷酸は水と反応して無機磷酸に、また近接して OH 化合物 ROH があれば磷酸 R エステルになると考えられる。このように水または ROH がすぐ近くにあるということは実は酵素表面に水分子、または ROH 分子を結合する部分があるという意味である。すなわち水分子と同様に ROH も酵素に結合されている状態で初めて活性磷酸と反応すると考えられる。

このように難しいことをいうのはアミジン転移反応における所見をもとにしている。

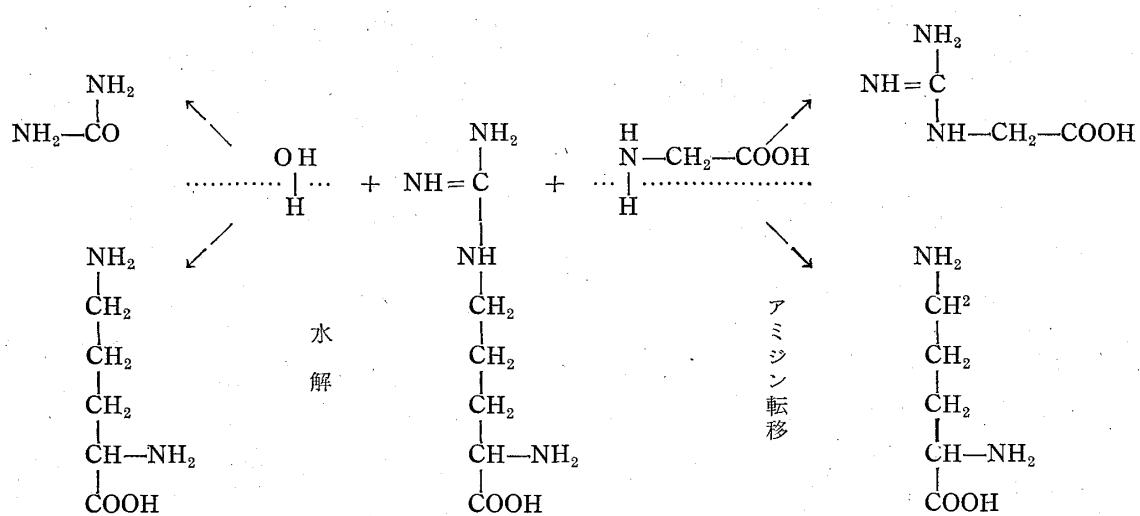
肝アルギナーゼを適当に純化してアルギニンに作用させると完全に尿素とオルニチンになることは周知の通りであり、このとき溶液中に  $\text{R-NH}_2$  なるアミノ化合物があつてもこれに尿素が結合したアミジン化合物の新生はない、すなわちアミジン転移は起こらない。

これに反し、腎から純化し、さらに電気泳動法で混在するアルギナーゼを除いた酵素トランスアミジナーゼをアルギニンに作用させると、溶液中に  $\text{R-NH}_2$  としてのグリシンがあると、これと尿素とが結合したグリコシアミンがアミジン転位反応で生じ、グリシンがないときには尿素は遊離せず、またグリシン以外のアミノ酸ではアミジン転位は認められない。このことは活性尿素が反応するためにはアルギナーゼの場合には近接して酵素に結合された水分子があり、またトランスアミジナーゼの場合には近接して特殊的にグリシンを結合する部位があつてこの結合グリシンとのみ活性尿素が反応すると考えねばならぬことになる。このような論はトランスアミジナーゼを純化した結果いえることである。

以上、酵素の作用する機序を水解酵素について考察したが、これを要約すると次のようにある。一種の蛋白質である酵素はその分子の表面の 2 カ所以上で基質の 2 カ所以上と結合し、この結合することが

第11図

## アミジン転移



酵素の特殊性を定める。結合が行われる順位は必ずしも一定しないし、これが酵素の型を定めることがある。結合された基質分子は不安定になる。脆くなつて切れ易くなる部位は酵素によつて異なるが、切り離される部分は中間的に酵素と結合して、いわゆる活性型化学基となり、それに近接して水分子を、または他の化合物を特殊的に結合する部位が酵素表面にあると、活性型化学基が水と反応しては水解反応の経過をとり、特殊化合物と反応するときには転移反応として示されることになると云い現わすことが出来る。

一時間半に亘つて理論的のことばかり述べたが、これを以つて私の最終講義とする。私は30数年に亘り本学にて医化学の講義をした。初めて講義したのは旧医学専門学校の生理学講堂であつたが、間も

なく矢作地区の旧基礎医学教室が設営され、その医化学教室で戦災まで約20年間、終戦後は方々の講堂を転々としたが、同地区に復旧工事の一部として西側講堂が竣工したのでこゝで約10年間、ついで昨秋には亥鼻地区の基礎医学新館に医化学教室が移転してこの第一講堂で6カ月講義をしたことになる。この長い間に千葉医科大学はめざましい発展をし、多くの俊英を迎えたが、私が学生諸君に講義した内容を顧みると、私自身としては良い解り易い講義をと準備し、また努力したに拘らず、生化学の進歩が急速であるために講義が難解であつたことも免れなかつたと思うが、年々歳々、学生諸君が医化学を良く学習して呉れたので教官としての私の任務も大過なく果たすことでき出来たことを感謝する。