

6. 3. 新しく発見された異常ヘモグロビン Hb Karatsu について

山口大学検査部

官 地 隆 興

大 庭 雄 三

松 岡 美 代 子

ま え が き

1962年以来1975年まで西日本地方で約20万例の異常ヘモグロビンのスクリーニング検査を寒天電気泳動法を用いて実施し、この間19例の異常ヘモグロビンを発見した。本例は、新たに1975年7月末日に発見され、ヘモグロビンの分子の先天的な異常と臨床的所見・症状との関係及び本疾患の病態など種々の検討を行った結果、現在までどこにも発見されていない新しい異常ヘモグロビンであることが判明したので、諸種検討した成績を報告する。

研 究 方 法

(1) 資 料

82才の高血圧を有する男子患者からの血液を用いた。

(2) 研究方法

(a) 症例及び血液学的及び血液化学的検査

末梢血液の一般的検査、白血球分類、血清中の蛋白、アルブミン、グロブリン、ビリルビン、ブドウ糖、膠質反応、酵素（トランスアミナーゼ、アルカリ性フォスファターゼ、コリンエステラーゼ）、コレステロール、残余窒素、尿素窒素、尿酸及びクレアチニンの測定を行った。

(b) ヘモグロビン検査

胎児ヘモグロビンは Betke 法、HbA₂ はセルローズアセテート膜電気泳動法、熱変性試験 Carrell のインプロパノール試験、Glycerololysis 時間測定、精製異常ヘモグロビンの吸収曲線の測定及び寒天ゲル電気泳動法（pH 7.0 : pH 8.6）を行なった。

(c) 異常ヘモグロビン精製

溶血液をセルローズアセテート膜(セポラフォーⅢ)電気泳動(pH 8.6, 150V, 3時間)して異常泳動縞の部分をも pH 6.9の磷酸緩衝液に溶出し精製した。

(d) 異常ヘモグロビンの一次構造の同定

(i) α 鎖と β 鎖及び異常 β 鎖の分離精製

患者の溶血液をAnsonmarsky法により冷塩酸アセトン溶液で脱ヘムを行いグロビン精製した。このグロビンをCleggらによる8mol尿素CMCカラムクロマトグラフィー(Na勾配, 0.005から0.015mol)により, 異常 β 鎖, 正常 β 鎖及び α 鎖を分離し, Sephadex G25カラムクロマトグラフィーにより脱塩した後凍結乾燥した。

(ii) Finger print の作製

分離精製した各 α 鎖, β 鎖及び異常 β 鎖(本異常ヘモグロビン及び対照としてHb Hijiyamaの β 鎖)をアミノエチル化し, トリプシン(Sigma, 2× Crystallized)で加水分解(37°C: pH 8.4, 基質酵素化50:1, 4時間)を行い, 1次元で高圧濾紙電気泳動(50V/cm, 60mA, 2時間: ピリジン醋酸緩衝液 pH 6.4)と, 2次元にこれと直角方向にクロマトグラフィー(展開液, n-ブタノール: ピリジン: 醋酸: 水 15:10:3:12, 48時間)上昇法を組み合わせ, 乾燥後0.2%ニンヒドリンアセトン溶液で呈色させFinger print を作製した。

(iii) アミノ酸分析

異常ペプチドを, Finger print より6N塩酸で溶出し105°C, 22時間加水分解を行い, 日立KLA5型アミノ酸自動分析装置を用いて, アミノ酸組成を測定した。

研 究 成 果

(1) 症例及び諸検査成績

患者は, 82才の男子で高血圧症のため検査をうけたら異常ヘモグロビン(Hb Karatsuと呼ぶことにする)が発見された。血液学的検査で, 赤血球数333万/mm³, ヘモグロビン10.8g/dl, ヘマトクリット33.8%, MCC 32.0%, MCV101.5 μ^3 , 網状赤血球1.5%, 赤血球形態は著変な

し、白血球数 $4700/\text{mm}^3$ 、白血球分類で、好酸球増多 (17.0%) を示した。血小板数も正常範囲であった。血液化学検査では、軽度のコリンエステラーゼの低下 (0.66 opH) 及び軽度高窒素血症 (NPN $40\text{mg}/\text{dl}$, urea N $19.5\text{mg}/\text{dl}$, 尿酸 $6.9\text{mg}/\text{dl}$, クレアチニン $1.6\text{mg}/\text{dl}$) を示した他は著変は認められなかった。

(2) ヘモグロビン検査

胎児ヘモグロビン (1.0%), Hb A₂ (3.0%) は正常範囲内であり、熱変性試験及び Carrell のインプロバノール試験も正常であった。この異常ヘモグロビンの吸収曲線も正常ヘモグロビンとの間に差を認めなかった。赤血球の脆弱性を示す Glycerol lysis time も正常であった。異常ヘモグロビン含量は 56% であった。

(3) 一次構造の分析

Finger print で Hb Karatsu の α 鎖と Hb A の α 鎖との間に異常な差は認められなかった。Hb Karatsu の β 鎖では、異常ペプチド斑点が正常の β T p 8.9 のペプチド斑点の直下に出現し、一方 β T p 12 B と β T p 13 のペプチド斑点が消失していた。対称に用いた Hb Hijiyama の β 鎖の Finger print では、 β T p 12 B 及び β T p 13 のペプチド斑点が消失し、異常ペプチド斑点が、Hb Karatsu の β 鎖の異常ペプチド斑点より明らかに陽極側に移動して存在していた。

この両者の異常斑点のアミノ酸組成は、表 1 に示したように両者共 β T p 12 B と β T p 13 のペプチドの組成を示したが、Hb Karatsu ではアスパラギン酸 (又はアスパラギン) が存在し、リジンが減少し、Hb Hijiyama では既報の如くグルタミン酸が増加しリジンが減少していた。両者の異常斑点の移動度を比較すると Hb Hijiyama の異常斑点が Hb Karatsu の異常斑点より陽極側に移動していることより、Hb Karatsu の異常斑点は荷電差が 1 ケ少いことがわかる。この点より Hb Karatsu の β 鎖の異常は、N 末端より 120 番目のリジンがアスパラギンに置換されている $\alpha_2 \beta_2$ 120 Asn であることが判明した。

(1) 本異常ヘモグロビンの分子異常の意味

ヘモグロビン分子を構成するポリペプチド鎖の合成は、遺伝的に支配されていて、この構成アミノ酸の異常が起こると、正常と異なった異常ヘモグロビンが産生される。このようなヘモグロビン分子の一次構造の異常は置換の位置と置換アミノ酸の性質により、機能的（酸素の運搬、溶解度、分子の不安定性など）な障害を決定する。この一次構造の異常は β 鎖であり、N末端より120番目のリジンがアスパラギンに置換されたものである。すなわち塩基性の親水性側鎖を有するアミノ酸（リジン）が少々分子の小さい親水性側鎖を有する中性アミノ酸（アスパラギン）への置換であるので、この置換は著明なヘモグロビン分子の変化や機能の変化を示すとは考えられない。

又このアミノ酸の置換位置は、ヘモグロビン分子を維持するに重要な位置とみなされている。分子内の極性部や非極性部、分子表面の非極性部、各種属を通じて同一アミノ酸が位置されている部分、隣り同志の α 鎖と β 鎖の接触部、対角線上にある α 鎖と β 鎖の接触部及びヘムと接触しヘムを支えている部分、のいずれの部分での置換とは異っている。したがって、この異常ヘモグロビン分子の構造の異常は、何等ヘモグロビンの機能の上に異常をもたらすようなものではないことが想定される。

(2) 臨床的異常との関連について

本患者は、82才の高令の男子で高血圧と軽度の低色素性貧血及び軽度腎機能障害を有している他には著変を認められていない。これら臨床的異常と本Hb

Karatsu との間には直接関係のある証拠はなにもない。一方リジンがアスパラギンに置換した異常ヘモグロビンHb Zambia ($\alpha 60 : E 9$), Hb Budapest ($\alpha 61 : E 10$), Hb Broussais ($\alpha 90 : FG 2$), Hb Hikari ($\beta 61 : E 5$), Hb J Sicilia ($\beta 65 : E 9$)及びHb Andrew Minneapolis ($\beta 144 : HC 1$)はいずれも臨床的異常を示していない。

又Hb Karatsuと同じ位置で、リジンがグルタミン酸に置換したHb Hijiyama は、時折軽度の鉄によく反応する低色素性の貧血を示した。これらの事例よりHb Karatsuは何等かの条件のもとでは時折、軽度の低色素性貧

血をきたすことが暗示されるが、少くとも重とくな臨床的異常はきたさない。

(3) 本異常ヘモグロビンの特種性: $\beta 120$ Lys \rightarrow Asn

異常ヘモグロビンは、現在200種類以上が発見報告されているが、 $\beta 120$ Lys \rightarrow Asn の異常をもつものは、現在まで報告されていない。したがって新しい異常ヘモグロビンであるといえる。

要 約

異常ヘモグロビンのスクリーニング検査で異常ヘモグロビンを発見し、その一次構造の異常を決定し、同時に臨床的異常と分子の異常との関連性などを検討考察したところ、世界でいまだ発見されたことのない新しい異常ヘモグロビンであることが判明し、臨床的には重とくな症状は呈しないが、時に低色素性貧血を生ずる可能性のあることを考察した。又ヘモグロビンの分子異常と臨床的異常との関連を示す新しい知見を加えた。

発 表

入 宮地隆興・大庭雄三・松岡美代子・山本きよみ・佐藤智城(1976).
Hb Karatsu ($\beta 120$ Lys \rightarrow Asn); 異った2家系に発見された新しい
異常ヘモグロビン. 第38回日本血液学会総会.

表 1

Hb Karatsu 及び Hb Hijiyama の異常ホリペプチド班点のアミノ酸組成 (アンダーラインの部が異常)

Amino Acid residue	Expected Tp12B-13 molar ratio	observed, molar ratio	
		Hb Karatsu	Hb Hijiyama
Lysine	2	0.86 (1)	1.01 (1)
Histidine	2	1.60 (2)	1.64 (2)
Aspartic Acid	0	1.24 (1)	0.27 (0)
Threonine	1	0.97 (1)	1.03 (1)
Glutamic Acid	3	2.82 (3)	4.26 (4)
Proline	2	+	+
Glycine	1	1.20 (1)	1.44 (1)
Alanine	3	2.77 (3)	3.18 (3)
Valine	2	1.83 (2)	1.97 (2)
Leucine	1	1.33 (1)	1.11 (1)
Tyrosine	1	0.69 (1)	0.67 (1)
phenylalanine	2	1.82 (2)	1.60 (2)

↓ **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

まえがき

1962 年以來 1975 年まで西日本地方で約 20 万例の異常ヘモグロビンのスクリーニング検査を寒天電気泳動法を用いて実施し、この間 19 例の異常ヘモグロビンを発見した。本例は、新たに 1975 年 7 月末日に発見され、ヘモグロビンの分子の先天的な異常と臨床的所見・症状との関係及び本疾患の病態など種々の検討を行った結果、現在までどこにも発見されていない新しい異常ヘモグロビンであることが判明したので、諸種検討した成績を報告する。