

先天性代謝異常症・分子病の
発生予防に関する遺伝生化学的研究

6・1 異常ヘモグロビン症の機能的スクリーニングについて

大阪大学医学部

山 村 雄 一

林 昭

木戸 公 一

一般に臨床的に問題となる異常ヘモグロビン(Hb)の構造異常の大部分は、Hb分子の分子内部、ヘム周辺部、サブユニット接触面などに存在し、電荷の異常をとまなわない中性アミノ酸残基の間での置換が最も多くみられる。したがって、従来から異常Hb症のスクリーニングに最も広く用いられている電気泳動法、クロマトグラフィー法などでは証明されないことが多く、色々問題となっていた。

そこでわれわれは、臨床的に問題となるような構造異常は、必ず機能異常を呈するとの前提の下に、すでに構造の明らかにされている異常Hb症血球の機能的特性を調べ、臨床症状をとまなう異常Hb症の機能的スクリーニングの可能性を検討した。

試料および方法

試料としては、構造既知の異常Hb症、16変異種17人、および赤血球酵素異常症、5変異種18人のそれぞれ患者血球を用いた。

赤血球酸素平衡機能の測定には、すでに報告せる自動記録法を用い、赤血球解糖中間体の一つである2,3-ジホスホグリセリン酸(DPG)の測定はRose-Liebowitzの方法によりおこなった。

研 究 成 績

(1) 臨床証状をともなう異常 Hb 症の酸素平衡曲線

図 1 は、最も代表的な異常 Hb 症血球の酸素平衡曲線を、酵素異常症のそれと比較して示したものである。正常人血球の曲線（実線）と異なる最も大きな特徴は、酵素異常症の場合はその位置であり、異常 Hb 症では位置だけでなく形までも異なる点である。この特徴は、ここに示した代表例だけでなく、調べられたすべての異常 Hb 症および酵素異常症に共通である。

(2) 各種異常 Hb 症および酵素異常症血球の酸素親和性 (p50) および DPG との関係

酸素親和性の指標である p50 と DPG との関係は、酵素異常症ではきわめて密接に相関し、その酸素平衡曲線にあらわれた位置のずれは、血球内 DPG の量の変化によるものであることを示す。(図 2)。一方、異常 Hb 症にはこの様な相関関係がみられず、その血球に含まれる異常 Hb 個有の酸素親和性が酸素平衡曲線の位置のずれを規定していると考えられる。

(3) 異常 Hb 症血球酸素平衡曲線の形の解析

図 3 のごとく Hill プロット; すなわち横軸に酸素分圧の対数、縦軸に

$H = \frac{\text{酸素飽和度}}{1 - \text{酸素飽和度}}$ の対数をとって表現すると、正常人血球と比べて異常

Hb 症血球ではいずれも対称性が失われている。Hb Bethesda では酸素分圧の低い部分が、また Hb M Boston では逆に高い部分が、正常人血球の曲線から大きく外れている。これは、これら異常 Hb 症血球中に酸素親和性の異なる 2 種類の Hb、すなわち、Hb Bethesda 症では酸素親和性の高い異常 Hb が、また Hb M Boston 症では親和性の低い異常 Hb が、それぞれ正常 Hb と共存することを示している。また、ヘム間相互作用の強さを示す指標である n 値は、この Hill プロットの直線部分の勾配から求められるが、正常人血球では $n = 2.8 \sim 2.9$ に対して Hb Bethesda 症では 0.45、Hb M Boston 症では 2.52 といずれも低い値をとる。

(4) 各種異常 Hb 症および酵素異常症における n 値と p50 および DPG との関係について

代表的な異常 Hb 症および酵素異常症について、n 値と p50 および DPG

とを比較してみると、表1のごとく酵素異常症では予測通り酵素異常の種類によりDPGの変動、それにともなうp50の変化のみで、n値は全く正常である。これに対して異常Hb症ではDPGは各変異種の間であまり大きなちがいはみられないが、p50は巾広く変動し、しかも重要なことは臨床症状を呈する異常Hb症ではHb S-Cを除きすべてn値が正常血球よりも低くなっている。また、臨床症状の全くみられないHb Camden症では、n値は完全に正常である。

以上の事実は、臨床症状を発現するようなHbの構造異常は、必ずその赤血球の機能異常をともなうことを示すもので、この原理を応用することにより、従来の方法では見出し得ない臨床的に重要な異常Hb症の機能的なスクリーニングが可能である。

(5) 異常Hb症の機能的スクリーニング

現在までに14例の原因不明の血液疾患につき上記スクリーニングをおこなったが、この中から低いn値を示す異常が6例も見出された。しかも、1例の先天性メトHb還元酵素異常を除き、他の5例はいずれも異常Hb症で、従来の電気泳動、クロマトグラフィー、等電点分割などでは見出されないものばかりであった。

このような高い頻度で臨床的に重要な異常Hb症が見出されたという事実は、これら異常Hb症が、従来から考えられているよりもかなり高い頻度で存在するものであり、これらに対して従来からの方法が如何に無力であるかを示すものである。

図1 異常Hb症および酵素異常症の酸素平衡曲線
 37°C, pH7.4, 0.15Mリン酸緩衝液

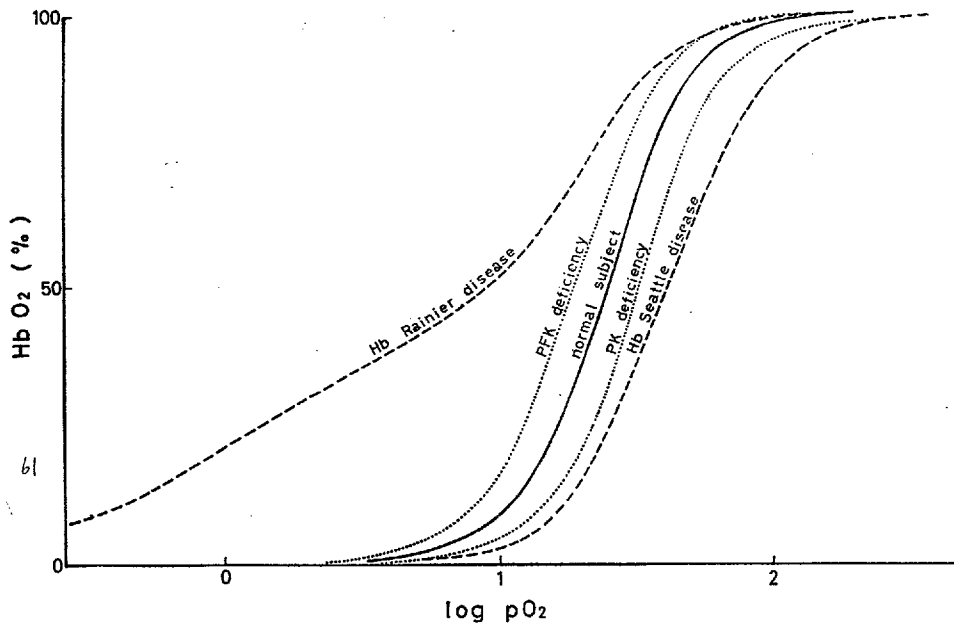


図2 各種異常Hb症および酵素異常症血球の p50 および
 DPG との関係について

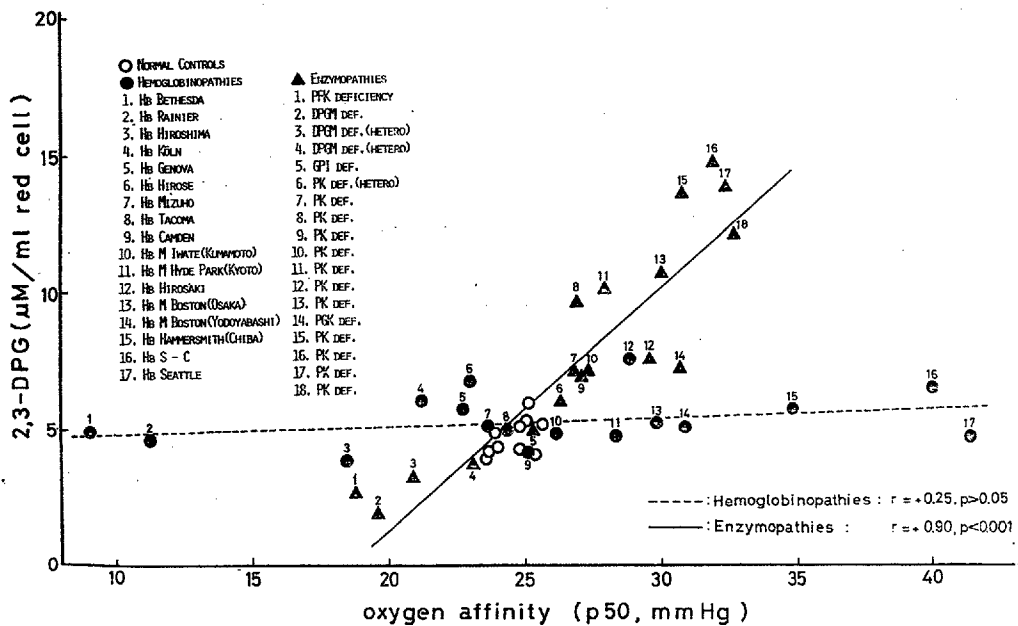


図3 Hb Bethesda 症および Hb M Boston 症血球の Hill プロット
 37°C, pH 7.4, 0.15 M リン酸緩衝液

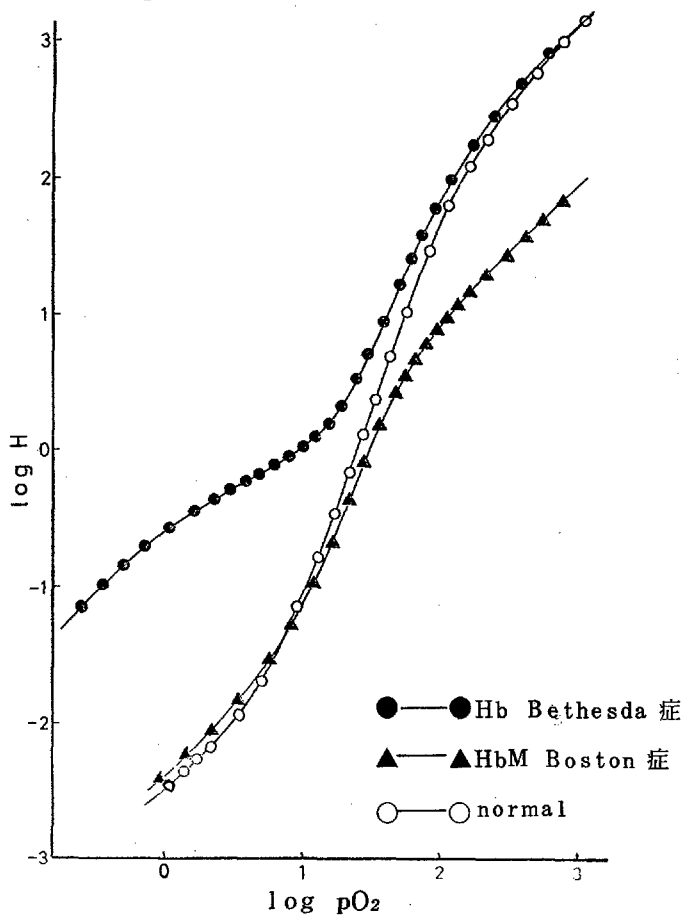
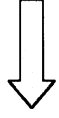


表1 各種酵素異常症および異常 Hb 症血球の機能的特徴

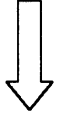
CASES	CLINICAL SYMPTOM	STRUCTURAL ABNORMALITY	p50, mmHg	DPG, $\mu\text{H}/\%$ RBC	n-VALUE	CONTENT OF ABNORMAL Hb, %
PFK DEF.	H.A.	/	18.8	2.5	2.82	/
DPGM DEF.	H.A.		19.6	1.9	2.86	
GPI DEF.	H.A.		25.3	4.9	2.91	
PGK DEF.	H.A.		30.7	7.1	2.88	
PK DEF.	H.A.		32.2	14.3	2.92	
Hb BETHESDA	E	$\beta 145(\text{HC}2)\text{Tyr}\rightarrow\text{His}$	9.0	4.9	0.45	45
Hb RAJNIER	E	$\beta 145(\text{HC}2)\text{Tyr}\rightarrow\text{Cys}$	11.2	4.6	0.68	46
Hb HIROSHIMA	E	$\beta 146(\text{HC}3)\text{His}\rightarrow\text{Asp}$	18.4	3.8	1.86	50
Hb KÖLN	H.A.	$\beta 98(\text{FG}5)\text{Val}\rightarrow\text{Met}$	21.2	6.0	2.57	10
Hb MIZUHO	H.A.	$\beta 68(\text{E}12)\text{Leu}\rightarrow\text{Pro}$	23.6	5.1	2.40	*
Hb SEATTLE	H.A.	$\beta 70(\text{E}14)\text{Ala}\rightarrow\text{Asp}$	41.5	4.6	2.14	45
Hb M BOSTON	C	$\alpha 58(\text{E}7)\text{His}\rightarrow\text{Tyr}$	29.8	5.2	2.52	22
Hb M IMATE	C	$\alpha 87(\text{F}8)\text{His}\rightarrow\text{Tyr}$	26.1	4.8	2.58	21
Hb M HYDE PARK	C	$\beta 92(\text{F}8)\text{His}\rightarrow\text{Tyr}$	28.3	4.7	2.22	42
Hb CAMDEN	NONE	$\beta 131(\text{H}9)\text{Glu}\rightarrow\text{Glu}$	25.1	4.1	2.82	45
Hb S-C	H.A.	$\beta 6(\text{A}3)\text{Glu}\xrightarrow{\text{Val(s)}}\text{Lys(z)}$	40.0	6.4	2.82	S, 50, C, 50
NORMAL CONTROL	NONE		24.9-26.9	4.2-5.3	2.80-2.92	

H.A.: HEMOLYTIC ANEMIA, E: ERYTHROCYTOSIS, C: CYANOSIS * UNCERTAIN



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



一般に臨床的に問題となる異常ヘモグロビン(Hb)の構造異常の大部分は、Hb分子の分子内部、ヘム周辺部、サブユニット接触面などに存在し、電荷の異常をともなわない中性アミノ酸残基の間での置換が最も多くみられる。したがって、従来から異常 Hb 症のスクリーニングに最も広く用いられている電気泳動法、クロマトグラフィー法などでは証明されないことが多く、色々問題となっていた。