

東京地区の日本人，マニラ在住のフィリ ピン人およびネグリティ族のホルマザンリ ング法による G6PD 異常症の頻度調査

三輪 史朗

(東京大学医科学研究所
病態薬理学研究・内科)

藤井 寿一 高橋 圭介

(東京大学医科学研究所
病態薬理学研究部)

尾本 恵市

(東京大学理学部人類学教室)

1. はじめに

G6PD 異常症は世界で最も頻度の高い赤血球酵素異常症であるが¹⁾，われわれがすでに行った Beutler のスポットテスト²⁾，および電気泳動法でのスクリーニングでは日本人（主に山口県下）の頻度は0.1~0.5%である。大半の G6PD 異常症は無症状であるが，重症例（いわゆる WHO 分類¹⁾ の class 1 および class 2）では酸化的薬剤の服用，感染などにより急性溶血発作を起こす。さらに G6PD 異常症の頻度は人種間で非常に差があり，熱帯，亜熱帯とマラリアの濃厚な浸潤地で頻度が高いことが判明している。従って G6PD 異常症の発見は血液学的にも人類遺伝学上も重要である。

今回は新たに開発した G6PD 異常症のスクリーニング法を用いて東京地区における日本人，マニラ在住のフィリピン人およびフィリピンの山間部に住む少数民族であるネグリティ族における G6PD 異常症の頻度調査を行ったので報告する。

2. 方 法

1) ホルマザンリング法

方法の検討には血液学的に正常な対照血，G6PD 活性が正常の50%に低下しているが臨床無症状である G6PD Ube，活性が正常の2.8%と低下し，慢性溶血を伴う G6PD Fukushima を用いた。あらかじめ 10 mM MgCl₂ を含む 100 mM Tris-HCl, pH 6.5 に浸し乾燥させた陽イオン交換セルロースペーパー (Whatman P81) に 10 μ l の血液を塗布，乾燥後サンプルとした。反応プレートは 25 mg glucose 6-phosphate (G6P)，5 mg nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP)，5 mg 3 (4,5 dimethylthiazolyl 1-2) 2,5 diphenyl-tetrazolium

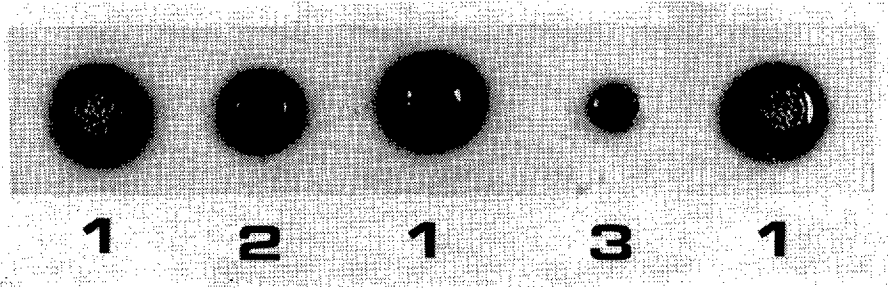


図1 ホルマザンリング法

1: 正常対照, 2: G6PD Ube, 3: G6PD Fukushima

bromide (MTT), 5 mg phenazine methosulfate, 150 mg agar を 10 mM $MgCl_2$, 1 mM sodium azide を含む 100mM Tris-HCl, pH 6.5, 20ml に加温, 溶解後, 13×6×2 cm のプラスチックボックスに注ぎ作製した。ゲルプレート表面に血液を塗布した濾紙ディスク検体(直径 6 mm のパンチ片)を置き, 暗所37°C, 8時間孵置し濾紙周囲の青色ホルマザンリング産生の有無とその大きさを測定し, G6PD 活性を判定する。

2) 検査対象

東京地区の日本人は日赤医療センターの外来受診者と入院患者 2,449 名, マニラ在住フィリピン人はフィリピン National Red Cross で献血の際の健康成人 198 名とネグリティ族 221 名を対象とした。

なお, G6PD 異常症の変異酵素の検索は WHO の国際標準化法によった¹⁾。

3. 結果および考察

図1に正常 G6PD 活性, G6PD Ube, G6PD Fukushima のホルマザンリング法での結果を示した。この方法は最大の特徴は血液を陽イオン交換濾紙に塗布することであり, pH 6.5 ではヘモグロビンは正に, G6PD は負に帯電するためヘモグロビンの拡散による妨害なしに G6PD 活性による青色ホルマザンの大きさが容易に測定できるが, 血液を普通の濾紙に塗布した場合でもヘモグロビンの拡散による赤色とホルマザンの青色とは容易に区別でき判定に支障を来さない。図1に示すように面積を測定しなくても50%活性低下を示す G6PD Ube と正常対照との違いは明らかである。図2は種々の G6PD 活性を示す検体とホルマザンリング面積を示すが, 正の相関を示し, 相関係数は0.94である。この方法によれば正常の50%活性低下を示す G6PD 異常症の検出は容易であり, さらに乾燥濾紙をデシケーターに保存すれば室温でも7日, 4°Cでは30日後でも判定可能である。

この方法は従来の G6PD スクリーニング法³⁾と比較して(1)手技が非常に簡単であり, (2)反応ゲルは暗所保存により数ヶ月間安定で使用可能であり, (3)検者1人で1日に数百検体と多検体の処理が可能であり, (4)結果の判定が容易で, (5)孵置温度は室温でも何ら支障はなく恒温槽, 分光光度計や UV ライトなどの特殊な装置は不要であり臨床検査および genetic survey

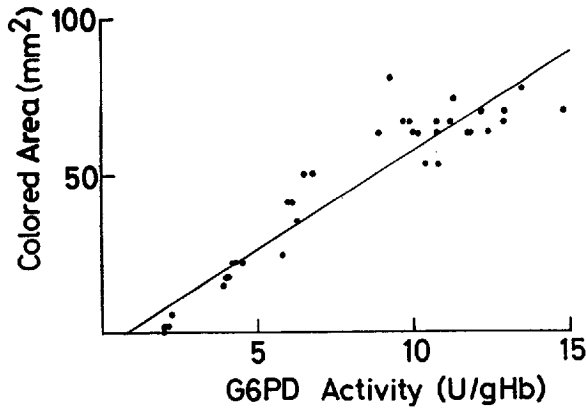


図2 G6PD 活性とホルマザンリング面積の関係

表1 G6PD 異常症の酵素学的特徴

	赤血球 G6PD 活性 (% of normal)	電気泳動 (% of normal)	Km G6P (μ M)	Km NADP (μ M)	Ki NADPH (μ M)	基質類似物の利用率			熱安定性 (20分後 の残存 酵素活 性)	pH 曲線
						2-deoxy G6P (% of G6P)	Gal-6P	deamino NADP (% of NADP)		
正常酵素	100	100	31~71	2.6~6.6	4.9~12.9	1.6~6.4	4.3~12.7	51~69	66~99	正 常
T. S.	53.8	106(tris ^a) 107(TEB ^b) 107(ph ^c)	42	6.8	10.8	3.1	9.8	53	97	正 常
T. A.	51.3	107(tris) 105(TEB) 111(ph)	32	6.9	11.1	4.7	4.3	52	79	正 常

a : tris-hydrochloride buffer, pH 8.8, b : tris-EDTA-borate buffer, pH 8.6, c : phosphate buffer, pH 7.0

の目的に有用な方法となりうる。

東京地区では2,449名の内2名のG6PD異常症を発見し、頻度は0.08%であった。これはすでにわれわれが山口県下で検討した頻度0.1~0.5%と比較してやや低いようである。これはG6PD異常症の頻度が高い東南アジア地方からのgeneの移入が東京地区より山口県地方の方が濃厚である可能性も考えられるが、この点に関しては今後検体数を増やし検討したい。

東京地区で発見した2症例の酵素学的諸性質をWHOの規定に従って検索し、その結果を表1に示した。2症例ともに赤血球G6PD活性は正常の約50%に低下し、電気泳動の易動度は正常酵素より速いのみの変異酵素である。この変異酵素はわれわれがG6PD Konanとして報告した変異酵素で⁴⁾、山口県下ではG6PD Ube とならんで多い変異酵素である。G6PD

Konan はわが国に広く分布している変異酵素と考えられる。

フィリピンにおける調査ではマニラ在住のフィリピン人198名のうち15名(7.6%)、ネグリティ族221名のうち15名(6.8%)がG6PD異常症と判明した。フィリピンにおけるG6PD異常症の頻度はブリリアントクレッシェルブルー退色法によるMotulskyら⁵⁾の初期のデータがあるが、これによれば頻度は6.6%となっており、ほぼ今回のデータと一致する。ネグリティ族に関してはこの種の調査はなされておらず、G6PD異常症の分布を考える上で重要と思われ、さらにこれら変異酵素の同定を行えばネグリティ族の起源を探る上で有力な情報になると考えられる。

文 献

- 1) WHO Scientific Group : Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. WHO Tech. Rep. Ser., **366** : 1~53, 1967.
- 2) Beutler, E. and Mitchell, M. : Special modification of the fluorescent screening method for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Blood, **32** : 816~818, 1968.
- 3) Beutler, E., Blume, K.G., Kaplan, J.C., Löhr, G.W., Ramot, B. and Valentine, W.N. : International Committee for Standardization in Haematology : Recommended screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. Brit. J. Haematol., **43** : 465~467, 1979.
- 4) Nakatsuji, T. and Miwa, S. : Incidence and characteristics of glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in Japan. Hum. Genet., **51** : 297~305, 1979.
- 5) Motulsky, A.G., Stransky, E. and Fraser, G.R. : Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency, thalassaemia, and abnormal haemoglobins in the Philippines. J. Med. Genet., **I** : 102~106, 1964.



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



1.はじめに

G6PD 異常症は世界で最も頻度の高い赤血球酵素異常症であるが、われわれがすでに行った Beutler のスポットテスト,および電気泳動法でのスクリーニングでは日本人(主に山口県下)の頻度は 0.1~0.5%である。大半の G6PD 異常症は無症状であるが,重症例(いわゆる WHO 分類の class 1 および class 2)では酸化的薬剤の服用,感染などにより急性溶血発作を起こす。さらに G6PD 異常症の頻度は人種間で非常に差があり,熱帯,亜熱帯とマラリアの濃厚な浸潤地で頻度が高いことが判明している。従って G6PD 異常症の発見は血液学的にも人類遺伝学上も重要である。

今回は新たに開発した G6PD 異常症のスクリーニング法を用いて東京地区における日本人,マニラ在住のフィリピン人およびフィリピンの山間部に住む少数民族であるネグリティ族における G6PD 異常症の頻度調査を行ったので報告する。