山羊における赤血球グルコースリン酸イソメラーゼ (GPI) 欠乏症の血液所見

阿部恒夫・天野 卓*・勝又 誠*・大西 彰*・浜田龍夫

農林水産省畜産試験場, 茨城県基崎村 305

*東京農業大学, 世田谷区 156

Haematological Data of Erythrocyte GPI Deficient Goat

Tsuneo Abe, Takashi Amano*, Makoto Katsumata*,

Akira Onishi* and Tatsuo Hamada

National Institute of Animal Industry, Tsukuba Norindanchi

P. O. Box 5, Ibaraki 305

*Tokyo University of Agriculture, Tokyo 156

赤血球酵素異常による先天性溶血性貧血は, まれな疾患であるが, 人において近年急速に研究が進められている。現在までに, 13種の酵素欠乏症が知られているが, そのうち9種類は赤血球のエネルギー源として重要な糖代謝異常にもとづくものである(三輪, 1971)。

一方, 家畜においては赤血球酵素の遺伝的変異体についての報告は多いが, それらの欠乏症についての報告はほとんどない。

勝又ら(1981)は, わが国に飼われている山羊の血液蛋白質の遺伝的変異について研究し, その過程において調査個体245頭中日本ザーネン種の3頭にグルコースリン酸イソメラーゼ(GPI)活性が電気泳動像においてほとんど見られないものを発見し, これをGPI 0-0型として報告した。本実験は, それらのうちで実験に供用できた1頭について血液性状と酵素活性との関係を正常のものと比較検討した。

材料および方法

供試動物は, 農林水産省畜産試験場に飼われている日本ザーネン種58頭である。

血液試料は, ヘパリンを加えて採血後, 生理的食塩水を用いて3回洗滌し, packed cell として-80℃に凍結保存し, これを電気泳動に用いた。酵素の活性は, 血球計算を行なって一定濃度にした新鮮血球浮遊液を用いた。白血球の分離は, Ficoll-Paque(生化学工業)を用い遠心重層法によった(吾郷ら, 1976)。

澱粉ゲル電気泳動によるGPI isozymeの検出は, Detterら(1968)の方法によって行なった。GPI酵素活性の測定は, Baughanら(1968)の方法, G6PD活性の測定はLöhr

& Waller (1974) の方法によった。ヘモグロビンの定量は、和光純薬キットを使用してシア
 ンメトヘモグロビン法によって行なった。自己溶血試験は、無菌的脱繊維血を用いて Simon ら
 (1964) の報告に記載されている方法に従って行なった。その他の血液性状の検査は、通常行な
 われている方法によった。

結果および考察

日本ザーネン種 58 頭の赤血球 GPI isosyme を澱粉ゲル電気泳動法で検出したところ、図 1
 に示されるように GPI 活性バンドが原点附近の陰極側に極めて薄くみられる 1 個体 (S7-2)
 が見出された。その他のものは、すべて陽極側に濃い 3 本のバンドとさらに易動度が速く薄い 2 本の
 バンドがみられた。この型は勝又ら (1981) のいう 1-1 型であり、陰極側に濃い 1~2 本のバ
 ンドを有する 2-2 型および 1-2 型はこの集団では認められなかった。GPI 活性バンドが極めて
 薄いものを勝又らは 0-0 型としているが、その遺伝は未だ明らかにされていないので、ここにおい
 ては単に GPI 欠乏個体とした。

GPI 欠乏個体の父親 (S5-11) の赤血球 GPI の泳動像は、図 1 に示されるように主な 3 本の
 バンドは正常の 1-1 型のそれらとほとんど変りがないが、易動度の速くて薄い 2 本のバンドは認め
 られなかった。

Fig.1. Starch gel electrophoresis demonstrating GPI deficient and normal isozyme in goat erythrocytes (E.) and leukocytes.(L.)

赤血球 GPI 欠乏個体の白血球 GPI バンドは、赤血球の場合と同様に正常個体の白血球 GPI バ
 ンドと易動度および活性の強さにおいて明らかに異っていた。

次に、GPI 欠乏個体の血液性状と酵素活性をその父親および他の正常個体 (1-1 型) のそれら
 と比較した成績を表 1 に示した。最も顕著な差異が認められたのは、赤血球の GPI 活性であり、欠
 乏個体の活性は正常のものの 1/18 であった。白血球の GPI 活性も正常の 1/4 であった。欠乏

Table.1. Haematological data of erythrocyte GPI deficient goat

Subject	Erythrocytes $\times 10^6$ per mm^3	Leukocytes $\times 10^3$ per mm^3	Hematocrit %	Hemoglobin g/dl	GPI activity of		G6PD activity of erythrocytes μ moles/min/ 10^6 cells
					Erythrocytes	Leukocytes	
					μ moles/min/ 10^{10} cells	μ moles/min/ 10^{10} cells	
					at 37°C		at 37°C
Deficient animal (S7-2)	8.15	2.18	25.5	9.04	0.82	315.6	0.47
Father (S5-11)	10.32	3.45	28.7	9.86	8.53	993.1	0.31
Normal range (n=5)	14.50	4.58	35.1	11.24	15.15	1359.1	0.24
	(11.2-17.39)	(2.6-6.5)	(28.9-47.0)	(10.34-12.46)	(14.57-15.8)		(0.19-0.29)

個体の父親の赤血球および白血球の GPI 活性も，明らかに正常のものより低い値を示した。

一方，GPI 欠乏個体の赤血球 G6PD の活性は正常のものよりも高い傾向が認められている。その理由としては解糖系の GPI 活性が低いために別経路のペントースサイクルの酵素である G6PD 活性が逆に高まっているものと推察される。GPI 欠乏個体の他の赤血球酵素として，6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD)，Acid phosphatase (Acp)，esterase -D (Es-D) について澱粉ゲル電気泳動により調べてみたが，とくに異常はみられなかった。

赤血球数，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量は，いずれも GPI 欠乏個体では，正常範囲よりも低い値であった。GPI 欠乏遺伝子についてヘテロ接合体と考えられる父親のこれらの値は，いずれも正常の平均値よりやや低い傾向であるが有意差はみられなかった。

人における GPI 欠乏症は，欧米では 12 家系 15 例，わが国では 2 家系 2 例 (Miwa ら, 1978) が発見され，常染色体性劣性遺伝形質であることが知られている。

人の場合には患者として病院に行きはじめて発見され，多くの場合に溶血性貧血がみられるが，溶血症状を伴わない変異体も知られている。

今回の実験における山羊の GPI 欠乏個体は，外見上とくに異常はないが，行動は鈍く，血液性状において軽度の貧血の所見が見られている。この貧血が赤血球の GPI 欠乏により生じたものであるか否かについては 1 例であるので断言することはできない。この欠乏個体の赤血球の低張食塩水に対する抵抗性は，0.56~0.70 であり，正常のものとの範囲 0.50-0.56~0.66-0.70 と大差がなかった。また自己溶血試験の結果においても正常のものとの差異はみられなかった。GPI 活性の耐熱性試験においては，欠乏個体の GPI は 48°C，60 分の加熱により，電気泳動像による活性バンドは全く消失したが，正常個体では活性バンドの濃度に変化がみられなかった。人における GPI 欠乏症においてもその活性が熱に不安定であることが知られている (Miwa ら, 1978)。

GPI 欠乏の遺伝を調べるために，この個体と父親との戻し交雑を試みたが，欠乏個体の秋季における発情がみられないため，過去 2 年間産子が得られなかった。また母親もすでに死亡している。この欠乏個体と同じ電気泳動像を示す個体が日本ザーネン種において他に 2 個体，計 3 個体がいることが，勝又ら (1981) により報告されている。他の品種には全く認められていない。もし，GPI 欠

乏遺伝子が日本ザネン種に多型として存在するとすれば、これまで調べられた総頭数 245 例中 3 例に欠乏がみられたので、その遺伝子頻度は 0.11 であると推定される。すなわち欠乏個体は 100 頭に 1 頭、carrier は 20 頭程度であると推察される。

以上、赤血球 GPI 欠乏によると思われる山羊の貧血所見の一例を報告したが、その遺伝については今後検討を要する。

文 献

- 吾郷一利・小崎正己・長野豊美・田中一栄・高橋雅俊・鈴木正三，1976 日畜会報，**47**：393-394.
- Baughan M. A., et al., 1968 Blood, **32**：236-248.
- Detter, J. C., P. O. Way and E. R. Giblett, 1968 Ann. Hum. Genet., **31**：236-248.
- 勝又 誠・野沢 謙・天野 卓・新城明久・阿部恒夫，1981 日畜会報，**52**：553-561.
- Löhr, G. W. and H. D. Waller, 1974 Method of Enzymatic Analysis. 636-643. Ed. by H. U. Bergmeyer, Academic Press, Inc., N.Y.
- 三輪史朗，1971 代謝，**8**：134-137.
- Miwa, S., et al., 1978 ACTA Haem. Jap., **36**：70-73.
- Simon, E. R., and P. O. Ways, 1964 J. Clin. Invest., **43**：1311-1321.