<症例報告>

高齢になり HbA1c 異常高値で見いだされた異常ヘモグロビン (HbJ Cape Town) 血症の 1 症例

堀内 敏行 中村 哲郎 堤 久* 宮尾益理子
井上潤一郎 荒木 厚 服部 明德 原野 昭雄**
森 真由美* 井藤 英喜

＜要 約＞ 61歳ではじめて異常ヘモグロビン血症 (HbJ Cape Town) と診断された男性例。3 年前より検診で食後高血糖を指摘されていたが放置。平成 6 年 3 月全身倦怠感、食欲不振が出現し、近医にて尿糖、尿蛋白陽性、肝機能異常指摘され精査目的で入院。入院時検査にて、空腹時血糖116mg/dl, HbA1c 22.3%, GOT 24IU/l, GPT 17IU/l, Al-P 117IU/l, LAP 42IU/l, γ GTP 104IU/l, ChE 199IU/l, 75gOGTT 急峻型高血糖パターンを示した。入院後の経過では、急峻型高血糖は胃切除によるものであり、糖尿病は否定された。HbA1c 高値の原因を調べたところ、等電点電気泳動法で異常ヘモグロビンを陽極側に検出し、CM クロマトグラフィーでのグロビン分画では α 鎖の前に異常ピークを認めた。この α 鎖グロビンを逆相-HPLC で分析したところ正常鎖で α 92位に存在するアルギニン (Arg) がグルタミン (Gln) に置換されていた。この異常ヘモグロビンは色素構造解析によって Hb J-Cape Town であることが判明した。異常ヘモグロビン血症は、通常若年のうちに診断されるが、60歳以上の高齢者において初めて診断されることも稀ではないと考えられた。

Key words: 異常ヘモグロビン血症, グリコヘモグロビン, HbJ Cape Town, 急峻型高血糖

はじめに

ヘモグロビン異常症はグロビン鎖の構造異常による、1) 異常ヘモグロビン症(hemoglobinopathy), 2) グロビン鎖の産生低下によるサラセミア (thalassemia), 3) 遺伝性高胎児ヘモグロビン症(hereditary persistence of fetal hemoglobin; HPFH) に大別される¹⁾。これらヘモグロビン異常症は、遺伝子欠失 (gene deletion) や塩基置換 (base substitution) によって起こることが最近遺伝子解析によってわかってきた²⁾。その病態も、血管内溶血や血管閉塞をきたすものの、酸素親和性に異常を生じ赤血球増多症や紫藍症を呈するものなど多彩である。我々は、75g 糖負荷試験では境界型であるにも拘わらず高度の高 HbA1c 血症を

認め、等電点電気泳動, CM クロマトグラフィー, 逆相-HPLC にて α 鎖グロビン鎖のアミノ酸異常をもった異常ヘモグロビン症を診断し得たのでここに報告する。

症 例

61歳, 男性。

主訴: 全身倦怠感。

既往歴: 46歳, 十二指腸潰瘍にて胃切除施行。57歳, アルコール依存症にて精神病院へ入院。

家族歴: 両親高血圧。家族内の血液疾患に関して不明。

現病歴: 平成 3 年検診にて食後の高血糖を指摘されるが放置。平成 6 年 8 月, 全身倦怠感, 食欲不振, 黒色尿にきづき近医受診。血清総ビリルビン2.5mg/dl, GOT 80IU/l, GPT 53IU/l, Al-P 291IU/l, γ GTP 256IU/l, 尿糖 (+), 尿蛋白 (+), 尿中ウロビリノーゲン (2+) などの異常を指摘され, 精査のため当院へ紹介入院となる。

入院時現症: 身長170cm, 体重49kg, 心拍数84/分, 血圧124/88mmHg, 呼吸数16/分, 体温36.6°C。入院時

T. Horiuchi, T. Nakamura, M. Miyao, J. Inoue, A. Araki, A. Hattori, H. Ito : 東京都老人医療センター内分泌科

*H. Tsutsumi, M. Mori : 同 血液科

**A. Harano : 川崎医科大学学生化学教室

受付日: 1995. 9. 28, 採用日: 1995. 11. 24

日本老年医学会第21回関東甲信越地方会推薦論文

表 1 入院時検査所見

1. 尿検査		PLT	16.6×10 ⁴	CHE	42 IU/l
SG	1.020	Ret	0.9 %	γGTP	104 IU/l
pH	6.0	Fe	83 μg/dl	CPK	51 IU/l
Pro	(-)	TIBC	385 μg/dl	BUN	12 mg/dl
Glu	(+/-)	Ferritin	<10 ng/ml	Cr	0.6 mg/dl
Uro	(+/-)	Tf	361 mg/dl	UA	4.8 mg/dl
Bil	(-)	3. 出血凝固		Na	146 mg/dl
ヘモジデリン尿	(-)	APTT	25.3 sec (22.6-30.4)	K	4.5 mEqg/l
2. 血液		PT	10.2 sec (10.5-12.3)	Cl	106 mEq/l
WBC	4600 /μl	Fbg	350 mg/dl (200-400)	TG	97 mg/dl
Seg	49 %	FDP-E	50 ng/ml (<120 ng/ml)	TC	182 mg/dl
Bas	0 %	3. 生化学		FPG	116 mg/dl
Eos	0 %	TP	6.7 g/dl	HbA1c	22.3 % ↑
Mono	11 %	Alb	4.1 g/dl	VB ₁₂	661 pg/l
Lymph	40 %	T. Bil	0.6 mg/dl	葉酸	6.4 ng/l
RBC	360×10 ⁴ /μl	D. Bil	0.2 mg/dl	直接クームス	(-)
MCV	107 μm ³ ↑	ZTT	4.5 U	間接クームス	(-)
MCH	35.4 qg ↑	GOT	21 IU/l	HAM test	(-)
MCHC	32.9 %	GPT	17 IU/l	sugar water test	(-)
Hb	12.7 g/dl	LDH	207 IU/l	赤血球膜抵抗	最小0.48%
Ht	38.7 %	ALP	98 IU/l		最大0.36%

検査データは表 1 に示したが、HbA1c 23%、平均赤血球容積 (MCV) および平均赤血球色素量 (MCHC) の上昇、アニソサイトーシス、尿糖 (±) 等の異常所見を認めた。75gOGTT は日本糖尿病学会勧告値に従えば、境界型に分類されるが、糖負荷後 1 時間血糖値は 300mg/dl を越え、いわゆる急峻型の血糖値変動を示した。また 1,5 アンヒドログルシトール (1,5-AG) は 5.8μg/dl と正常値を示した。

入院後の経過：75gOGTT の結果から我々は、糖尿病を否定し、以前黒色尿があったことから溶血性貧血の鑑別診断を行った。51Cr ラベルによる赤血球寿命測定は 30±4 日と正常であり、直接、間接クームス試験：陰性、赤血球膜抵抗試験：正常、Ham、Sugar water 試験：陰性と全て正常であった。これらの結果から本例は糖尿病ではないにも拘わらず高 HbA1c 血症を呈した症例と考えられた。そこでヘモグロビン異常症を疑いさらに検索を進めた。

ヘモグロビン異常の検討

色素構造解析

1) HLC-723GHb による HbA1c の分析

図 1 のように A0 と F のピークの上に HbA1c のピークをみとめ、全ピークの 22.0% を占めている。

2) 等電点電気泳動法

図 1 グリコヘモグロビン分析

黒塗り部分が HbA1c のピークを示している。HbA1c 22.0%、HbA1A 1.5%、HbA0 71.8%であった。

溶血液を作成し、等電点電気泳動法によるヘモグロビン分析を行い、図 2 のような結果が得られた。すなわち、本症例の溶血液ではコントロール症例 (高 HbF 血症) の溶血液の分画に相当する Hb 画分のほか、陽極側 (pH の低い側) に異常分画がみられ、異常ヘモグロビンの存在を示した。また、HbF バンドもみられた。なお成績は示さないが不安定性試験 (イソプロパノール沈殿試験) では陰性を示した。

3) DEAE-HPLC

図2 等電点電気泳動法

発端者の溶血液ではコントロールの溶血液の分画に相当する Hb 画分の存在の他、陽極側 (pH の低い側) にヘモグロビン分画が見られた。

溶血液の等電点電気泳動 (pH 範囲: 6—9); P: 発端者, C: 高 HbF のコントロール

DEAE-HPLC [カラム: DEAE-SPW 7.7 x 75 mm, Tosoh Ltd. Co.; 溶離液: 20mM-Tris-HCl (pH 8.0) + 0.1M-NaCl-10mM-Tris-HCl (pH 8.0)]

図3 DEAE-HPLC

ピーク面積からそれぞれの含量比率を積算すると、異常ヘモグロビン含量は21.4%, HbA2 1.26%, HbF 2.25%。

異常ヘモグロビン含量の測定のため、DEAE-HPLCを行い、図3のようなクロマトグラムを得た。このピーク面積から図中に示しているように異常ヘモグロビン含量は、21.4%であった。

4) CMC-クロマトグラフィー

CM-セルローズ(CM-52)カラムクロマトグラフィーによるグロビンの分離 [溶離液: 8M-尿素-リン酸緩衝液(pH 6.8; Na⁺イオン濃度: 7.5-35mM)]

図4 CMC-クロマトグラフィー

正常な β 鎖と α 鎖-グロビンの外に、 α 鎖の前に異常ピークが出現している。

全溶血液から得たグロビンをCM-クロマトグラフィーで分画すると、正常な β 鎖と α 鎖-グロビンの間に異常ピークが現れた(図4)。本検討に加えて等電点電気泳動やDEAE-HPLCにおける異常ヘモグロビンの挙動から、この異常ピークは α 鎖に何等かの異常が生じたものと考えられた。そこでこの異常分画を単離後、アミノ酸置換の解析を行った。

5) 逆相-HPLC

単離した異常 α 鎖グロビンをトリプシンで消化し、得られたペプチドを逆相-HPLCで分析した(図5)。逆相 HPLC で分画された各ピーク(ペプチド)を単離した後、6N-HCl で加水分解し、アミノ酸分析を行い、各ペプチドのアミノ酸組成を求めた。

6) ペプチドのアミノ酸組成

トリプシン消化物の逆相 HPLC から得た各ペプチドのアミノ酸組成につき検討した。本例の α T-10-11に相当するペプチドのアミノ酸組成と理論値(正常な場合のアミノ酸組成)を表2に示したが、その結果、本例の α T-10-11にはアルギニン(Arg)の存在は認められず、その代わりにグルタミン酸が存在することが明らかとなった。この結果から正常鎖で α 92位に存在する Arg がグルタミン酸(Glu)またはグルタミン(Gln)に代わることによって、このペプチドはトリプシン消化を受けず、 α T-10と α T-11がペプチド連結したものと思われた。

7) アミノ酸シーケンス

このアミノ酸置換の Arg $\rightarrow$ Glu または Gln を明らかにするために、直接このペプチドのアミノ酸シーケンスを試みた。Protein Sequencer (Model 477A/120

異常 α -グロビンのトリプシン消化物の逆相高速液体クロマトグラフィー
 [カラム: TSK gel ODS80Ts, 4.6 x 250 mm, Tosoh Ltd. Co.; 溶離液:
 0.2%-TFA → 50%-アセトニトリル-0.2%TFA/100 min]

図5 逆相-HPLC

分離したピーク(ペプチド)を集め、6N-HClで加水分解後アミノ酸分析を行い各ペプチドのアミノ酸組成を求めた。

表2 異常ペプチドのアミノ酸分析と α T-10とT-11ペプチドのアミノ酸組成の理論値。 α T-10-11に相当するアミノ酸組成は表に示されているが本症例ではアルギニンはTraceとなっていて、その存在は認められず、その代わりグルタミン酸が1.14となっており、存在が示された。このアミノ酸置換を明らかにするために、アミノ酸シーケンスを行ったところ、表2の下に示されるように、 α 92位はグルタミン酸となっていた。

Amino Acids	分析値 (mol/mol)	理論値	
		α T-10	α T-11
Aspartic acid	1.96	0	2
Glutamic acid	1.14	0	0
Valine	1.94	0	2
Leucine	0.89	1	0
Phenylalanine	0.89	0	1
Lysine	0.98	0	1
Proline	1.10	0	1
Arginine	trace	1	0

Amino acid sequence:

Normal: -Leu-Arg-⁹²-Val-Asp-⁹⁵Pro-Val-Asn-Phe-⁹⁹Lys
 ↓
 Abnormal: -Gln- - - - -

A, Applied BioSystem, Inc.) による分析では、表2の下に示すように、 α 92位はGlnであることが示され、この異常ヘモグロビンはHbJ-Cape Town {92位 Arg → Gln} と決定した³⁾。

考 察

本症例は血液検査では、MCV, MCHの上昇を認めたが、血色素値、ビタミンB12、葉酸値、直接、間接クームステスト、HAMテスト、Sugar Water test、赤血球膜抵抗試験は全て正常であり、大球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、発作性夜間血色素尿症は否定された。他施設で測った総ビリルビン値は2.5mg/dlと高値を示していたが、本人はアルコール多飲酒家であった事、アルコール飲酒を止めた後、総ビリルビン値が0.6mg/dlに下がった事、各種肝炎ウイルス抗体陰性の点から、肝機能の異常はアルコール性肝障害によるものと考えた。HbA1cを測定する液体クロマトグラフィーのパターンにてHbA1cの部分が異常に増加していたため、当初糖尿病を考えたが、75g-OGTTの結果は境界型であり、糖尿病は否定され、急峻型血糖パターンは胃切除によるものと考えられた。本症例のHbA1c高値の原因は異常ヘモグロビンの液体クロマトグラフィーにおけるピークと通常でるHbA1cのピークが重なったためと考えられる。また実際糖尿病患者に液体クロマトグラフィーの検査で異常ピークまたはHbA1c高値によって異常ヘモグロビン症が見つかった報告がある。ヘモグロビンの β 鎖の変異によって起きたHb Raleighがそのひとつである⁴⁾。

溶血液の等電点電気泳動にて異常ヘモグロビンが証明され、その後のDEAE-HPLC, CM-クロマトグラフィー、アミノ酸分析にて、本症例はHbJ Cape Town

であることが証明されたが、家族内で、本人と同じく HbA1c 高値または多血症などの疾患をもった人がいるかを問診したが、家族とは若い時に死別しており情報は得られなかった。

本症例は現在までのところ、HbJ Cape Town に発症するとされている多血症を呈していない。HbJ Cape Town はグルタミン残基がトリプトファンのカルボキシル群と水素結合を形成する。それによって酸素親和性が高くなり、多血症を呈すると言われている⁵⁾。しかし92位の置換で最も多血症を呈しやすいのは、Arg が Leu に変わる Hb Chesapeake である⁶⁾。これに比べて、HbJ Cape Town では Arg が Gln に変わっているため、Hb Chesapeake に比較し親水性が弱く、より低い酸素親和性になるため Hb Chesapeake のように多血症をなかなか呈しない。Hb Chesapeake では正常の酸素親和性の5～8倍だが、HbJ Cape Town では通常の1.6～2倍程度である⁷⁾。また高齢者は貧血傾向にあり⁸⁾、多血症を呈しにくいことも考慮しなければならない。

異常ヘモグロビン症が診断される年齢分布は、40歳から60歳にピークがあり、本症例も61歳時に発見された。近年、糖尿病の診断にグリコヘモグロビンの測定が日常的に用いられるようになり、サラセミアや鎌状赤血球症のような異常ヘモグロビン血症が貧血や溶血症状がなくても検出されるようになった。本症例のように症状を伴わない異常ヘモグロビン症の発見には血糖値のみならず HbA1c の検査が役立つ可能性が示唆された。

異常ヘモグロビン症は先天性の疾患であるが、グロビン鎖の異常部位によって症状の出現時期や症状の重症度が異なっている。今回我々の経験した HbJ Cape Town 型の異常ヘモグロビン症は無症状のまま小児、成人期を経過し、老年期に糖尿病のグリコヘモグロビン検査にて初めて異常を指摘された症例であった。今

後、糖尿病が疑われる症例に対しグリコヘモグロビン検査が行われた場合、異常ヘモグロビン血症が検出される可能性が高いと考えられた。

本論文の要旨は第21回日本老年医学会関東甲信越地方会で発表した。

文 献

- 1) 藤井寿一：ヘモグロビン異常症。日本臨床 1992 ; 50 : 810—818.
- 2) 原野昭雄：診断法をめぐる最近の進歩。ヘモグロビン異常症の遺伝子診断。医学のあゆみ 1993 ; 別冊血液疾患 State of Arts : 198—201.
- 3) Botha MC, Beale D, Lsacs WA, Lehmann H : HemoglobinJ Cape Town- α 292 Arginine $\rightarrow$ Glutamine β 2. Nature 1966 ; 5064 : 792—795.
- 4) Landin B, Jeppson JO : Rate β chain hemoglobin variants found in swedish patients during HbA1c analysis. Hemoglobin 1993 ; 17 : 303—319.
- 5) Lines JG, McIntosh R : Ixygen binding of haemoglobin J Cape Town α 292 (Arg $\rightarrow$ Gln). Nature 1967 ; 215 : 297—298.
- 6) Wajcman H, Kister J, M'Rad A, Soummer AM, Galacteros F : Hb Cemenelum 「 α 92 (FG4) Arg $\rightarrow$ Trp」 : A hemoglobin vatiant of the α 1/ β 2 interface that displays a moderate increase in oxygen affinity. Ann Hematol 1994 ; 68 : 73—76.
- 7) Kavanaugh JS, Rogers PH, Case DA, Arnone A : High-resolution X-ray study of deoxy-hemoglobin Rothschild 37 β Trp $\rightarrow$ Arg : A mutation that creates an intersubunit Chloride-binding site. Biochemistry 1992 ; 31 : 4111—4121.
- 8) 森真由美：老年者の貧血。老化と疾患。1990 ; 3 : 561—566.

Abstract

**A Case of Abnormal Hemoglobin (HbJ Cape Town)
With High Serum Levels of HbA1c**

Toshiyuki Horiuchi, Tetsurou Nakamura, Hisashi Tsutsumi*, Mariko Miyao,
Jun-ichirou Inoue, Atsushi Araki, Akinori Hattori, Akio Harano**,
Mayumi Mori* and Hideki Ito

We describe a case of hemoglobinopathy detected on admission for examination for high blood glucose levels and abnormal liver function. In 1991, it was pointed out that he had postprandial hyperglycemia. In 1994, at age 60, he had lassitude and anorexia. He was admitted to our hospital on the suspicion of diabetes mellitus and liver disease. Glycosylated hemoglobin levels was very high, but the 75 gram oral glucose tolerance test result was within the normal range. After abstinence from alcohol, his glutamic oxaloacetic transaminase,

glutamic pyruvic transaminase and gamma glutamyl transpeptidase became normal. Diabetes was excluded and abnormal hemoglobinopathy had been suspected. We analyzed his abnormal hemoglobin. In isoelectrophoresis a fast moving variant was detected suggesting the presence of abnormal hemoglobin at the cathode. We fractionated hemolytic globin by CM-chromatography and detected an abnormal peak before the α chain band. Subsequently, we sequenced isolated abnormal α chain and detected the substitution of Arginine for Glutamine at position 92 (Hb J Cape Town). So far he has not demonstrated any symptoms or signs of HbJ Cape Town. Hemoglobinopathy is not uncommon in aged people.

Key words: *Hemoglobinopathy, Hb J Cape Town, Glycosylated hemoglobin*
(Jpn J Geriatr 1996; 33: 110—115.)

Department of Endocrinology, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

* Department of Endocrinology, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

** Department of Biochemistry, Kawasaki Medical College