

原 著

先天性心疾患における赤血球酵素多型の検討

東京女子医科大学 法医学教室 (主任: 阿部和枝教授)

中田 伸子・山下ケサ子・高橋 明美

越智 順子・教授 阿部 和枝

東京女子医科大学 日本心臓血圧研究所 循環器小児科学教室 (主任: 高尾篤良教授)

教授 高尾 篤良・加藤ふみ子

(受付 昭和59年11月29日)

Red Cell Enzyme Polymorphism of Congenital Heart Diseases

Nobuko NAKADA, Kesako YAMASHITA, Akemi TAKAHASHI, Junko OCHI
and Kazue ABE, M.D.

Department of Legal Medicine (Director: Prof. Kazue ABE)

Tokyo Women's Medical College

Atsuyoshi TAKAO, M.D. and Fumiko KATO, M.D.

Department of Pediatric Cardiology (Director: Prof. Atsuyoshi TAKAO), The Heart Institute of Japan

Tokyo Women's Medical College

Gene frequencies of five red cell enzyme systems have been examined in 472 patients with various congenital heart diseases (CHD). All those samples were obtained from the patients with CHD admitted to the Heart Institute of Tokyo Women's Medical College.

Comparing the gene frequencies of those enzymes in CHD patients with those of healthy controls, PGM, GPT and 6-PGD showed about the same values as the healthy subjects. On the other hand, Es-D and AcP showed slightly different gene frequencies, that is, values of Es-D^a, P^b being higher than those of the healthy controls. These differences were statistically significant.

緒 言

先天性心疾患 (Congenital heart disease. 以下 CHD と省略する) は, 新生児期ないし乳児期に発症する場合が多く, 出生頻度は1,000人に対し6~12人程度^{1)~3)}であるとされている。しかし CHD の成因については, まだ完全に解明されておらず, 臨床上取り扱う CHD の大部分は, 遺伝と環境両要因の相互作用による多因子遺伝によるものであるとされている^{4)~7)}。そのため, CHD の成因解明のためには, 多方面からのアプローチが必要と考えられる。

そこで今回は, 182例の CHD 患者について7種類の赤血球酵素多型, Phosphoglucomutase

(PGM), Acid Phosphatase (AcP), 6-Phosphogluconate Dehydrogenase (6-PGD), Glyoxalase I (GLO), Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT), Adenosine Deaminase (ADA), Esterase-D (Es-D) を調べ検討を行なったが⁸⁾, 今回はさらに例数を追加し, PGM, Es-D, AcP, GPT, 6-PGD の5種類の赤血球酵素多型における, 表現型分布および遺伝子頻度について検討を行なった結果, 若干の知見を得たので報告する。

実験対象および実験方法

1. 実験対象

昭和53年1月から昭和54年3月までと, 昭和58年2月から昭和59年9月までの間に, 東京女子医

科大学付属日本心臓血圧研究所に入院したCHD患者(前回182例, 今回290例)472例を対象とした。また明らかな染色体異常症は除外した。対象となったCHD患者の疾患別内訳はTable 1に示した。各病型の診断は, 手術, 剖検, または心臓カテーテル検査, 心血管造影法によって行なった。

2. 実験方法

採血した血液は遠心分離後, 血球部分を生理食塩水で3回洗浄し, 直ちに -70°C のフリーザー内で凍結保存した。そして使用時毎に溶血液を作成し, それを試料とした。

酵素型判定方法は, 澱粉ゲル電気泳動により行ない, 染色は各酵素に特異的な基質を用いて, それぞれ染色した。PGMは, Spencer, N. et al. (1964)⁹⁾の方法を用い, AcPとEs-Dは, 梅津, (1977)¹⁰⁾の同時泳動を用い, GPTは, Chen, S.H. et al. (1971)¹¹⁾, 6-PGDは, Carter, N.D. et al. (1968)¹²⁾の方法にしたがって, それぞれ行なった。

検査成績

1. PGM, GPT, 6-PGD

上記3酵素の各疾患別における頻度を, それぞれTable 2, Table 3, Table 4に示す。コントロールとしては, Ishimoto, G.¹³⁾の値を用いた。PGM, GPT, 6-PGDにおいては, コントロールとの間に有意差は認められず, CHD患者の頻度は, 一般集

団と同じような値を示した。

2. Es-D

Table 5に, Es-Dの各疾患別における頻度を示す。Es-Dのコントロールとしては, 原田, et al.¹⁴⁾の値を用いた。Es-Dについては, CHD患者全体におけるEs-D²の頻度がコントロールよりわずかに高い値を示し, 有意差が認められた($p<0.05$)。

3. AcP

Table 1 先天性心疾患の種類別例数

病 名	略 語	例 数
ファロー四徴症	TOF	107
心室中隔欠損症	VSD	94
心房中隔欠損症	ASD	55
大血管転位症(d)	d-TGA	41
肺動脈狭窄	PS	23
大血管転位症(l)	l-TGA	20
両大血管右室起始症	BVRV	18
単心症	SV	14
動脈管開存	PDA	12
三尖弁閉鎖	TA	11
心内膜症欠損	ECD	11
無脾症候群	Asp. S	6
川崎氏病	—	5
ヌーナン症候群	Noon. S	4
肺動脈閉鎖	PA	4
房室伝導障害	AV-Blo	4
その他	—	44
合 計		472

Table 2 Distribution of Phenotypes and Gene Frequencies of Phosphoglucumutase in CHD Patients

	n	1		2-1		2		PGM ¹	PGM ²	x ²	P
		Obs	%	Obs	%	Obs	%				
TOF	107	63	58.88	43	40.19	1	0.93	0.7897	0.2103	4.7178	0.02<p<0.05
VSD	94	61	64.89	29	30.85	4	4.26	0.8032	0.1968	0.0549	0.8<p<0.9
ASD	55	35	63.64	14	25.45	6	10.91	0.7636	0.2364	4.7811	0.02<p<0.05
d-TGA	41	25	60.97	14	34.15	2	4.88	0.7805	0.2195	0.0005	0.98<p<0.99
Others	175	119	68.00	48	27.43	8	4.57	0.8171	0.1829	1.1811	0.2 <p<0.3
Total	472	304	64.41	147	31.14	21	4.45	0.7998	0.2002	0.3575	0.5 <p<0.7
Control								0.7750	0.2250		

Control: Diseases

TOF: $x^2=4.4921$, VSD: $x^2=0.9227$, ASD: $x^2=5.2305$, d-TGA: $x^2=0.6147$,
 $0.1<p<0.2$ $0.5<p<0.7$ $0.05<p<0.1$ $0.7<p<0.8$

Others: $x^2=4.7014$, Total: $x^2=3.7178$,
 $0.05<p<0.1$ $0.1<p<0.2$.

Table 3 Distribution of Phenotypes and Gene Frequencies of Glutamic Pyruvic Transaminase in CHD Patients

	n	1		2-1		2		GPT ¹	GPT ²	x ²	P
		Obs	%	Obs	%	Obs	%				
TOF	107	28	26.17	60	56.07	19	17.76	0.5421	0.4579	0.1794	0.1 < p < 0.2
VSD	94	29	30.85	54	57.45	11	11.70	0.5957	0.4043	3.4892	0.05 < p < 0.1
ASD	55	17	30.91	33	60.00	5	9.09	0.6091	0.3909	3.7174	0.05 < p < 0.1
d-TGA	41	14	34.15	18	43.90	9	21.95	0.5610	0.4390	0.4844	0.3 < p < 0.5
Others	175	53	30.29	92	52.57	30	17.14	0.5657	0.4343	0.8553	0.3 < p < 0.5
Total	472	141	29.87	257	54.45	74	15.68	0.5710	0.4290	5.8552	0.01 < p < 0.02
Control								0.6000	0.4000		

Control : Diseases

TOF: $x^2=4.5330$, VSD: $x^2=3.5251$, ASD: $x^2=3.6869$, d-TGA: $x^2=1.0901$,
 $0.1 < p < 0.2$ $0.1 < p < 0.2$ $0.1 < p < 0.2$ $0.5 < p < 0.7$

Others: $x^2=1.7876$, Total: $x^2=9.0425$,
 $0.3 < p < 0.5$ $0.01 < p < 0.02$.

Table 4 Distribution of Phenotypes and Gene Frequencies of 6-Phosphogluconate Dehydrogenase in CHD Patients

	n	A		A c		C		PGD ^A	PGD ^C	x ²	P
		Obs	%	Obs	%	Obs	%				
TOF	107	87	81.31	20	18.69	0	0.00	0.9065	0.0935	1.1363	0.2 < p < 0.3
VSD	94	84	89.36	10	10.64	0	0.00	0.9468	0.0532	0.2966	0.5 < p < 0.7
ASD	55	45	81.82	10	18.18	0	0.00	0.9091	0.0909	0.5501	0.3 < p < 0.5
d-TGA	41	34	82.93	7	17.07	0	0.00	0.9146	0.0854	0.3569	0.5 < p < 0.7
Others	175	147	84.00	27	15.43	1	0.57	0.9171	0.0829	0.0401	0.8 < p < 0.9
Total	472	397	84.11	74	15.68	1	0.21	0.9195	0.0805	1.6398	0.2 < p < 0.3
Control								0.923	0.077		

Control : Diseases

TOF: $x^2=2.3330$, VSD: $x^2=1.5948$, ASD: $x^2=1.0087$, d-TGA: $x^2=0.5036$,
 $0.3 < p < 0.5$ $0.3 < p < 0.5$ $0.5 < p < 0.7$ $0.8 < p < 0.9$

Others: $x^2=0.2122$, Total: $x^2=1.9323$,
 $0.8 < p < 0.9$ $0.3 < p < 0.5$.

Table 6に, AcPの各疾患別における頻度を示す。AcPのコントロールとしては, Ishimoto, G.¹³⁾の値を用いた。AcPについては, d-TGAにおいてP^bの頻度がコントロールより高い値を示し, 有意差が認められた ($p < 0.05$)。

考 察

先天異常の成因分類は一般に, ①単一遺伝子異常によるもの, ②染色体異常に伴うもの, ③遺伝と環境の相互作用によるものの3つに分類され

る^{4)~7)}。その中でCHDの成因の大部分は, ③の遺伝と環境の相互作用によるもの, つまり多因子遺伝によるものとされている。Nora, J.J.は, CHDの成因を多因子遺伝による「しきい説」を用いて説明している¹⁵⁾。これらのことからCHDの成因解明のためには, 遺伝と環境の, 両方面からのアプローチが必要である。環境面に関する影響については, 分娩時年齢¹⁶⁾, 性差¹⁷⁾, 出生季節¹⁸⁾, 近親婚の頻度¹⁹⁾, などの報告があり, 遺伝面に関する影

Table 5 Distribution of Phenotypes and Gene Frequencies of Esterase D in CHD Patients

	n	1		2-1		2		Es-D ¹	Es-D ²	x ²	P
		Obs	%	Obs	%	Obs	%				
TOF	107	42	39.25	53	49.53	12	11.22	0.6402	0.3598	0.6047	0.3<p<0.5
VSD	94	32	34.04	47	50.00	15	15.96	0.5904	0.4096	0.0856	0.7<p<0.8
ASD	55	22	40.00	27	49.09	6	10.91	0.6455	0.3545	0.2898	0.5<p<0.7
d-TGA	41	12	29.27	23	56.10	6	14.63	0.5732	0.4268	0.8801	0.3<p<0.5
Others	175	74	42.29	81	46.29	20	11.42	0.6543	0.3457	0.0937	0.7<p<0.8
Total	472	182	38.56	231	48.94	59	12.50	0.6303	0.3697	1.1860	0.2<p<0.3
Control								0.6737	0.3263		

Control : Diseases

TOF : x²=1.6739, VSD : x²=5.9336, ASD : x²=0.6838, d-TGA : x²=4.3316,
 0.3<p<0.5 0.05<p<0.1 0.7<p<0.8 0.1<p<0.2

Others : x²=0.6861, *Total : x²=9.0272,
 0.7<p<0.8 0.01<p<0.02.

Table 6 Distribution of Phenotypes and Gene Frequencies of Acid Phosphatase in CHD Patients

	n	A		BA		B		P ^a	P ^b	x ²	P
		Obs	%	Obs	%	Obs	%				
TOF	107	6	5.61	35	32.71	66	61.68	0.2196	0.7804	0.2239	0.5 <p<0.7
VSD	94	3	3.19	28	29.79	63	67.02	0.1809	0.8191	0.0027	0.95<p<0.98
ASD	55	3	5.45	23	41.82	29	52.73	0.2909	0.7091	0.6576	0.3 <p<0.5
d-TGA	41	0	0.00	6	14.63	35	85.37	0.0732	0.9268	0.2554	0.5 <p<0.7
Others	175	6	3.43	64	36.57	105	60.00	0.2171	0.7829	1.0027	0.3 <p<0.5
Total	472	18	3.81	156	33.05	298	63.14	0.2034	0.7966	0.1878	0.5 <p<0.7
Control								0.1990	0.8010		

Control : Diseases

TOF : x²=0.8588, VSD : x²=0.3893, ASD : x²=3.1346, *d-TGA : x²=8.3223,
 0.5<p<0.7 0.8<p<0.9 0.2<p<0.3 0.01<p<0.02

Others : x²=1.8052, Total : x²=0.3058,
 0.3<p<0.5 0.8<p<0.9.

響については、HLA 型^{20)~22)}, Gm 型²²⁾, 皮膚紋理²³⁾, 赤血球酵素型⁸⁾, などの報告がみられる。

前回我々は、182例の CHD 患者における 7 種類の赤血球酵素多型について調べ、検討を行なった結果、6-PGD, GPT, Es-D の 3 酵素において、コントロールとの間に有意差が認められた。今回はさらに 290 例、例数を追加し、前回有意差のあった 3 酵素も加えて、5 種類の赤血球酵素多型について再検討を行なった。その結果 PGM, GPT, 6-PGD については、CHD 患者とコントロールとの間に有意差は認められなかった。Es-D については、

CHD 患者全体において有意差が認められたが、各疾患別では有意差は認められなかった。前回は、TGA において有意差が認められたが、それは例数が 22 例と少なかったためではないかと思われる。AcP については、前回有意差が認められなかったが、今回は、TGA をさらに細かく分け、l-TGA と d-TGA とについて検討したところ、d-TGA において P^b の頻度が高く有意差が認められた。つまり B 型の出現頻度が非常に高く、BA 型は低く、A 型は 1 例も出現しないという、非常に興味ある結果が得られた。

以上の結果から、今回有意差が認められた Es-D と AcP は、多因子遺伝様式をとる CHD の成因との関連において更に検討されるべきであろう。

総 括

472例の CHD 患者における 5 種類の赤血球酵素多型, PGM, AcP, Es-D, GPT, 6-PGD について、表現型分布およびその遺伝子頻度について検討を行なった。

PGM, GPT, 6-PGD については、各疾患別における頻度とコントロールとの間には、有意差は認められず、CHD 患者の頻度は、一般集団とほぼ同じような値を示した。

Es-D については、CHD 患者全体における Es-D²の頻度がコントロールより僅かに高い値を示し、有意差が認められた。

AcP については、d-TGA における P^bの頻度がコントロールより高い値を示し、有意差が認められた。

これらのことから、Es-D と AcP の 2 酵素多型は、多因子遺伝様式をとる CHD の成因との関連において更に検討されるべきであろう。

文 献

- 1) Mitchell, S.C., Korones, S.B. and Berender, H.W.: Congenital heart disease in 56109 birth, incidence and natural history. *Circulation* 43 323~332 (1971)
- 2) Keith, J.D., Rowe, R.D. and Vlad, P.: *Heart disease in Infancy and Childhood*, 3rd Edition, Macmillan New York (1978)
- 3) 安藤正彦: 新生児期心疾患の疫学. 周産期医学 8(9) 991~999 (1978)
- 4) 高尾篤良: 心疾患予防への道 (4). 先天性疾患. 医学のあゆみ 108(13) 811~822 (1974)
- 5) 高尾篤良: 第 9 回志摩循環カンファレンス先天性心疾患の成因論. 心臓 8(14) 1481~1490 (1976)
- 6) Nora, J.J.: Multifactorial inheritance hypothesis for the etiology of congenital heart disease: The genetic-environmental interaction. *Circulation* 38 604~617 (1968)
- 7) 森 克彦: 先天性心疾患の遺伝様式の検討. 東女医大誌 45(2) 118~135 (1975)
- 8) 阿部和枝・山館伸子・中村茂基・大上 治・山下ケサ子・秋山勝則・高尾篤良・金 勇: 赤血球酵素多型と先天性心疾患について. 東女医大誌 50(10・11) 927~933 (1980)
- 9) Spencer, N., Hopkinson, D.A. and Haris, H.: Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature* 204 742~745 (1964)
- 10) 梅津和夫・鈴木庸夫: 同時電気泳動における acid phosphatase と esterase D の型判定について. 科学警察研究所報告 30(2) 133~135 (1977)
- 11) Chen, S.H. and Giblette, E.R.: Polymorphism of soluble glutamic-pyruvic transaminase: A new genetic marker in man. *Science* 173 148~149 (1971)
- 12) Carter, N.D., Fildes, R.A., et al.: Genetically determined electrophoretic variation of human phosphogluconate dehydrogenase. *Acta Gnet Baset Basel* 18 109~122 (1968)
- 13) Ishimoto, G.: Red cell enzyme, Japanese committee the International biological program. 2 109~139 (1975)
- 14) 原田勝二・三沢章吾: 日本における赤血球 Esterase D の多型性変異. 5(4) 161~164 (1974)
- 15) Nora, J.J.: Etiologic factor in congenital heart disease. *Pediatric Clin North Am* 18(4) 1059~1074 (1971)
- 16) Milham, J.R.: Parental age and malformations. *Hum Biol* 37(1) 13~22 (1965)
- 17) Kenna, A.P., Smithells, R.W. and Fielding, D.W.: Congenital heart disease in liverpool: 1960~1969. *Q J Med* 44(173) 17~44 (1975)
- 18) Feldt, R.H., Avasthey, P., Yoshimasu, F., Kurland, L.T. and Titus, J.L.: Incidence of congenital heart disease in children born to residents of olmsted country, minn 1950~1969. *Mayo Clin Proc* 46 794~799 (1971)
- 19) 柳瀬敏夫: 病気の遺伝学 368. 金原出版 東京 (1981)
- 20) Friedman, J.M. and Paul, M.H.: Studies of HLA complex in families of children with congenital heart disease. *Tissue Antigens* 11(5) 479~483 (1978)
- 21) Mohl, W. and Mayr, W.R.: ASD of the secundum type and HLA. *Tissue Antigens* 10(2) 121~122 (1977)
- 22) 木下良順: 先天性心疾患の遺伝学的研究—とくに、多因子遺伝について—. 医学研究 51(5) 244~259 (1981)
- 23) Ando, M.: Dermatoglyphics in congenital heart disease. *Jap J Hum Genet* 18(1) 73~75 (1972)