

THE FREQUENCY IN JAPANESE OF GENETIC VARIANTS OF 22 PROTEINS

日本人における22種の蛋白質の遺伝的変異体とその頻度

I. ALBUMIN, CERULOPLASMIN, HAPTOGLOBIN,
AND TRANSFERRIN

ROBERT E. FERRELL, Ph.D.

NAOKI UEDA, M.D. 上田尚紀

CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子

ROBERT J. TANIS, Ph.D.

JAMES V. NEEL, Ph.D., M.D., Sc.D.

HOWARD B. HAMILTON, M.D.

TSUTOMU INAMIZU, M.D. 稲水 惇

KIMIKO BABA, M.D. 馬場輝実子



RADIATION EFFECTS RESEARCH FOUNDATION

財団法人 放射線影響研究所

A cooperative Japan - United States Research Organization

日米共同研究機関

A paper based on this report was published in the following journal:

本報告に基づく論文は下記の雑誌に発表した。

Annals of Human Genetics (London) 40:407-18, 1977

RERF TECHNICAL REPORT SERIES

放影研業績報告書集

The RERF Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, and advisory groups. The Technical Report Series is in no way intended to supplant regular journal publication.

放影研業績報告書は、日米専門職員、顧問、諮問機関の要求に応えるための日英両語による公式報告記録である。業績報告書は決して通例の誌上発表論文に代わるものではない。

The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Energy Research and Development Administration.

放射線影響研究所(元ABCC)は、昭和50年4月1日に公益法人として発足した。その経費は日米両政府の平等分担とし、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー研究開発局との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって充てる。


THE FREQUENCY IN JAPANESE OF GENETIC VARIANTS OF 22 PROTEINS

日本人における22種の蛋白質の遺伝的変異体とその頻度

**I. ALBUMIN, CERULOPLASMIN, HAPTOGLOBIN,
AND TRANSFERRIN**

 ROBERT E. FERRELL, Ph.D.¹; NAOKI UEDA, M.D. (上田尚紀)²;
 CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)²; ROBERT J. TANIS, Ph.D.¹;
 JAMES V. NEEL, Ph.D., M.D., Sc.D.¹; HOWARD B. HAMILTON, M.D.²;
 TSUTOMU INAMIZU, M.D. (稲水 惇)²; KIMIKO BABA, M.D. (馬場輝実子)²
Department of Human Genetics, University of Michigan^{1*}
*Department of Clinical Laboratories, Radiation Effects Research Foundation*²

 Michigan 大学人類遺伝学教室^{1*} 放射線影響研究所臨床検査部²
SUMMARY

This report presents the results of an electrophoretic survey of approximately 4000 individuals from the cities of Hiroshima and Nagasaki, Japan, for four serum proteins: albumin, ceruloplasmin, haptoglobin, and transferrin. The haptoglobin gene frequencies obtained for the $HP^1 - HP^2$ polymorphism are in agreement with earlier reports. Rare electrophoretic variants of albumin, ceruloplasmin, and haptoglobin occur with frequencies of 2.48, 0.50, and 0.58 per 1000 determinations, respectively. The noteworthy finding of eight distinct transferrin variants in these populations, with a combined frequency of 20.90 per 1000 determinations, is also presented. Four of these variants (D_{Ch} , D_4 , B_1 , & B_3) have been reported in other populations in Japan, but the other four have not previously been differentiated.

INTRODUCTION

During 1972-75, aliquots of whole blood specimens collected in the course of the research

要 約

本報では、広島および長崎の両市における約4000人を対象とし、albumin, ceruloplasmin, haptoglobin および transferrin の4種の血清蛋白質について実施した電気泳動法による調査の結果が述べられている。Haptoglobin 遺伝子は $HP^1 - HP^2$ が多型を示し、その頻度は従来の報告と一致している。Albumin, ceruloplasmin および haptoglobin の電気泳動上のまれな変異体の出現頻度は1000例あたりそれぞれ2.48, 0.50および0.58例であった。これらの集団中に、8種の別個の transferrin 変異体が認められ、その合計頻度が1000例あたり20.90であるという注目すべき所見についても述べられている。これらの変異体のうちの4種 (D_{Ch} , D_4 , B_1 および B_3) は、日本における他の調査集団にも報告されているが、残りの4種についてはこれまでのところ認められていない。

緒 言

1972年から1975年の間に、原爆傷害調査委員会とその後継団体である現在の放射線影響研究所(放影

* Financial support derived from Contract E(11-1)-1552, Energy Research and Development Administration, Washington, D.C.

Washington, D. C. のエネルギー研究開発庁との契約E(11-1)-1552に基づく支援研究費による。

program of the Atomic Bomb Casualty Commission — now the Radiation Effects Research Foundation (RERF) — were processed for the occurrence of electrophoretic variants of 18 erythrocyte proteins and 4 serum proteins. This investigation was undertaken in connection with a pilot study to determine the feasibility of carrying the appraisal of the potential genetic effects of the atomic bombs to the protein level. However, since the individuals studied were all born prior to the bombs, the possibility of genetic effects of the bombs does not enter into the findings of this investigation. The present series of five papers describes the results of the survey, as a contribution towards delineating the frequency and types of variation of these proteins in the Japanese population. This paper presents the findings with respect to albumin (ALB), ceruloplasmin (CRPL), haptoglobin (HP), and transferrin (TF). The next three papers in the series present results for the 18 erythrocyte proteins. Throughout the first four papers we routinely compare our findings with the results of other similar studies on Japanese. However, of the similar studies on other ethnic groups, only those on inhabitants of the British Isles and Western Europe will be routinely cited. In the final (fifth) paper in the series the thesis will be developed that there are such similarities between the histories of the Japanese and British Islands as to make this comparison especially appropriate, and that such comparisons permit tentative inferences concerning similarities and differences in the mutation rates of the structural genes encoding for the proteins in question.

THE SAMPLE

The individuals upon whom this study is based are members of the Adult Health Study (AHS) being carried out in Hiroshima and Nagasaki by RERF. This study, basically an ongoing medical surveillance, has been described elsewhere.^{1,2} The blood samples for these analyses were aliquots of samples drawn at the time of biennial physical examinations. Since the number of persons examined weekly in connection with the AHS was in excess of the capacity of our laboratory to process samples, priority was given to those samples obtained from the parents of children included in the previous genetic studies of RERF.^{3,4} Otherwise the selection of study samples from members of

研)が実施した研究調査のために収集した血液標本があるが、その一部を用いて18種の赤血球蛋白質および4種の血清蛋白質中の電気泳動上の変異体を調べた。本調査は、原子爆弾が蛋白質のレベルで遺伝的影響をもたらしたか否かについて評価するための、試験調査に関連して実施されたものである。しかし、調査対象者はいずれも原爆時以前に生まれているので、たとえ原爆が遺伝的影響をもたらす可能性があるとしても本調査の所見にはこの可能性は関係しない。今回の調査結果をまとめた一連の報告(第1—5報)は、日本人集団におけるこれら蛋白質の変異の頻度および種類の輪郭をつかむ上に貢献するであろう。本報告(第1報)では、albumin (ALB), ceruloplasmin (CRPL), haptoglobin (HP)および transferrin (TF)に関する所見を述べる。続く三つの報告(第2—4報)で、18種の赤血球蛋白質に関する結果を述べる。これら四つのデータ報告書(第1—4報)では、われわれの得た結果と、日本人に関する他の同様な調査から得られた結果との比較を通常的に行う。しかし、他の人種に関する同様の調査のうちでは、普通には、英国および西欧人に関するものに限って比較した。この一連の報告の最終報告書(第5報)においては、日本と英国との間の歴史的背景に非常に類似性があるので両者の比較は特に当を得たものであり、またこのような比較によって、問題の蛋白質の構造を決定している構造遺伝子の突然変異率の両人種間における類似性および差異に関する暫定的推論を可能にするとの論理を展開する。

調査集団

本調査の基盤となる対象者は、財団法人放射線影響研究所が広島および長崎で実施している成人健康調査の対象群である。基本的に医学調査として実施されているこの成人健康調査については、他の報告に記述されている。^{1,2} 今回分析を行った血液標本は、2年ごとの診察の際に採取されたものの一部である。成人健康調査のもとで毎週受診する者の数は、当研究室の分析能力を超える件数であったので、放影研が以前に行った遺伝学的調査^{3,4}の対象者であった子供たちの親から採取された標本を優先的に使用した。そのほかの点では、対象者選定は成人健康調査

the AHS was essentially at random. The participants in the AHS include a group who received relatively large doses of radiation at the time of the atomic bombs and a matched control group who received little or no radiation exposure at that time. Although the two groups are largely composed of unrelated persons, the manner of selection of the groups did allow for some biologically related persons in the sample.

MATERIALS AND METHODS

The primary determinations were made on fresh plasma from whole blood, drawn in a mixed ammonium-potassium oxalate anticoagulant, between 8 August 1972 and 31 August 1975. Aliquots of each sample were stored at -70°C , and also in liquid nitrogen. When repeat determinations were necessary, the fresh sample was first exhausted, then recourse was had to the sample stored at -70°C , then to the sample in liquid nitrogen.

Ceruloplasmin, haptoglobin, and transferrin were typed using vertical starch gel electrophoresis on Electrostarch (Electro-Starch Co., Madison, Wisconsin, lots 146 and 371) at 4°C , as described by Smithies⁵ and modified by Weitkamp et al.⁶ Albumin was routinely typed using the pH 5.0 sodium acetate system of Weitkamp et al.⁷ Some comparison runs were made using the pH 6.9, tris-EDTA-borate system reported by the same authors and the pH 5.3 system of Arends et al.⁸ Albumin and transferrin were stained with Amido Black 10B, and haptoglobin was stained using 1% benzidine in 1.5M sodium acetate, pH 4.47, followed by 3% hydrogen peroxide, or by the o-dianisidine procedure of Owen et al.⁹ Ceruloplasmin was detected by the method of Shreffler et al.¹⁰ Critical comparisons of suspected variants of transferrin and ceruloplasmin were carried out using polyacrylamide gel electrophoresis (Beckman Microzone System, Beckman Instruments Co., Palo Alto, California), 7% acrylamide, 0.036M tris-glycine, pH 8.4. Transferrin variants were also compared using the 0.096M tris-glycine, pH 8.8, and the 0.005M tris-borate, pH 6.5, polyacrylamide gel systems suggested by Sutton & Jamieson,¹¹ with samples of standard transferrin C-D₀ and C-D_{Chi} provided by Dr. Sutton (Department of Zoology, University of Texas, Austin, Texas). However, the rivanol precipitation step was omitted from our procedure.

対象者から本質的に無作為に行った。成人健康調査の対象集団は、原爆時に比較的大量の放射線を受けた群およびそれと組み合わせた対照群で原爆時放射線にほとんどまたは全然被曝していない群からなる。この二つの群は主として血縁関係のない者で構成されているが、上記のような群の選定法が原因で集団中に生物学的に血縁関係のある者もある程度含まれた。

材料および方法

最初の測定は、1972年8月8日から1975年8月31日までの間に行われ、シュウ酸アンモニウム-シュウ酸カリウム混合物の抗凝固剤を用いて採取された全血から得た新鮮な血漿について行われた。各標本の一部は -70°C 他の一部は液体窒素のなかに保存した。再測定の必要が生じた場合は、まず新鮮な標本を全部使用し、次に -70°C で保存されている標本、そして最後に液体窒素中の標本を用いた。

Ceruloplasmin, haptoglobin, および transferrin の表現型の決定は Smithies⁵ によって記述され、Weitkamp ら(1972年)⁶ によって改良された垂直澱粉ゲル電気泳動法に従って 4°C で Electrostarch (Electro-Starch Co., Madison, Wisconsin, ロット番号146および371)を用いて行った。Albuminの型決定には、通常は Weitkamp ら⁷ の pH 5.0 酢酸ナトリウム緩衝液を用いた。変異体の比較のための泳動には上記研究者の報告した pH 6.9, トリス-EDTA-ホウ酸ナトリウム緩衝液および Arends ら⁸ の pH 5.3 緩衝液を用いた。Albumin および transferrin はアミドブラック10Bで染色した。また haptoglobin は、1.5M 酢酸ナトリウム溶液、pH 4.47に溶解した1%ベンジジンで処理し、次いで3%過酸化水素水を加えて染色するか、Owen ら⁹ の o-ジアニシジンの方法を用いた。Ceruloplasmin の検出は、Shreffler ら¹⁰ の方法によった。Transferrin および ceruloplasmin の疑わしい変異体についての厳密な比較はポリアクリルアミドゲル電気泳動法(Beckman Microzone 方式, Beckman Instruments Co., Palo Alto, California)で、7%アクリルアミド、0.036M トリス-グリシン、pH 8.4を用いて行った。Transferrin の変異体についても H. E. Sutton (Texas 州, Austin 市, Texas 大学, 動物学教室)提供の transferrin C-D₀ および C-D_{Chi} を標準標本として、Sutton および Jamieson¹¹ 提唱のポリアクリルアミドゲル方式、すなわち 0.096M トリス-グリシン、pH 8.8の緩衝液と、0.005M トリス-ホウ酸ナトリウム、pH 6.5の緩衝液の両方を用いる方法で比較を行った。ただし、リバノールによる沈澱過程は省略した。

As the number of reported rare variants in any system increases, so does the problem of nomenclature. This is especially true with respect to the transferrin variants to be described in this study. For all systems, we have identified each variant which did not clearly correspond to a known type, in order of discovery and by the city where the variant was first observed, with abbreviations of HIR for Hiroshima and NGS for Nagasaki. Because the sample from Hiroshima was approximately twice the size of the sample from Nagasaki, electrophoretically indistinguishable variants which occur in both populations were generally encountered first in Hiroshima. When the electrophoretic identity of a variant encountered in Hiroshima or Nagasaki with a previously described variant was established to our satisfaction, the temporary terminology was abandoned and the previous terminology adopted. While we are aware that identical electrophoretic mobility for two variants does not mean chemical identity, we see no alternative to this procedure at the present time. Where for a system conventional nomenclature involves an electrophoretic classification, we have followed it.

In any study of this nature, there are always a few patterns which for a variety of reasons cannot be typed with confidence, even after repeated efforts. We omit these from the figures for 'numbers typed', recognizing that this group has a disproportionately high probability of containing poorly resolved variants.

FAMILY STUDIES

Throughout this work an effort was made to establish the genetic nature of each variant as it was encountered. However, some individuals with a variant protein had no relatives in the immediate vicinity of Hiroshima or Nagasaki, or did not desire their immediate relatives contacted. Furthermore, personnel shortages precluded extensive family studies. Therefore, the general philosophy was adopted of pursuing family studies only until one other family member with the variant was encountered, or until all the immediately available relatives had been found to be negative. However, because in some family studies samples were obtained from several relatives in the course of a single house call, we do have some instances of multiple affected family members in addition to the

いずれの蛋白質においても、まれな変異体の報告される数が増加するにつれて、それらを表現する名称の問題も増大する。このことは、本報告で述べる transferrin の変異体について、特にいえることである。我々は、報告するすべての蛋白質について、既知の型と明確には一致しなかった各変異体を、発見の順番およびその変異体が最初に認められた都市別に（広島はHIR、長崎はNGSの略称を用いて）、識別している。広島の調査集団は長崎の集団の約2倍の大きさであったので、両集団共に認められる変異体で電気泳動法によって区別できないものは、おおむね広島で最初に発見された。広島または長崎で認められた変異体と、従来報告された変異体とが、電気泳動上完全に一致すると考えられた場合は暫定的な呼称はやめて、従来より用いられている名称を用いた。二つの変異体が同一の電気泳動移動度を示したからといって化学的には必ずしも同一物質であるとは限らないが、現在のところ、この方法に代わるものはみあたらない。従来からの慣例的な名称が、電気泳動上の型の分類に用いられている場合は、我々もその名称を用いた。

この種の調査では、いくら検討してもいろいろな理由で、確信をもって型の決定ができないパターンが二・三あるものである。こういうパターンを示すものには移動度の差が明確にできなかった変異体が含まれる可能性が非常に高いが、“型の決定された検体数”の中にはこれらを含めなかった。

家族調査

本研究調査では、変異体が認められたつど、その遺伝的性質を確認するように努めた。しかし、変異体が認められた者の幾人かには、広島または長崎の近郊に親族が居住していない者、または近親者に接触することを望まない者がいた。その上、調査員の不足もあって広範な家族調査を実施できなかった。そこで、家族のもう一人に変異体が発見されるか、近親者の全員に変異体のないことが認められるまで、家族調査を継続するという一般的方法を採用した。しかし、いくつかの家族調査では、一回の家庭訪問で数人の親族から検査材料が得られたので、発端者のほかに複数の家族に変異体を認めた場合もあった。

propositus. The family data will be presented in tabular fashion in the course of the description of the findings for each system.

RESULTS

Albumin

During the course of this investigation, among 4029 examinations, 10 individuals (5 from Hiroshima and 5 from Nagasaki) were encountered who showed an albumin pattern with both the normal and a more cathodal migrating (slow) band. All 10 of these cases showed identical mobility patterns in the routine screening system and the two alternative methods already described. The variant was first observed in an individual from Nagasaki and therefore has been designated albumin Nagasaki 1 (NGS 1). We were able to compare this variant with two previously described albumin variants from Japanese populations, namely albumin Kyoto and albumin Otsu, for which some comparative data are available.¹² Figure 1 shows the results of this comparison as well as a comparison with three Amerindian variants, namely, albumin Naskapi,¹³ albumin Wapishana,¹⁴ and albumin Yanomama 2.¹⁴ Albumin NGS 1 is clearly different from the two available Japanese variants, as well as albumin Naskapi and albumin Wapishana. Although not clearly shown in Figure 1, albumin NGS 1 tends to migrate more slowly than albumin Yanomama 2 (The degree of separation of Yanomama 2 from normal at a given pH varies with the lot number of the starch; resolution is poor in this figure but see Tanis et al.¹⁵). Albumin NGS 1 is also clearly different from albumin Yanomama 2 and albumin Otsu when compared using the pH 6.1 gel system of Tanis et al.¹⁵ Limited family studies were carried out for 9 of the 10 cases, and the presence of the variant albumin pattern was observed in at least one first-degree relative in 7 of these cases (Table 1). There seems to be no surveys on Japanese for the frequency of albumin variants comparable to this one.

Because an electrophoretically identical rare variant was observed in several individuals drawn from a random population, it was of interest to ascertain whether these individuals were related. For 7 of the 10 cases, it was possible to construct a genealogy involving at least three generations preceding that in which the variant was discovered; for no two cases could a common ancestor

家族調査の結果は、表中に各蛋白質の項目別に記載した。

結 果

Albumin

本調査では、4029人の受診者中、10人(長崎5人、広島5人)の者に、正常のバンドと陰極寄りの(遅く移動する)バンドを示す albumin パターンが認められた。これらの10例はいずれも通常のスクリーニング法でも、既述した他の二つの緩衝液を用いた場合も同様な泳動パターンを示した。この変異体は最初、長崎の1対象者に認められたので、Albumin Nagasaki 1 (NGS 1)と命名された。この変異体は、以前に日本人に認められた albumin 変異体、すなわち、Albumin Kyoto および Albumin Otsu と比較することが出来た。これら変異体の詳細については引用文献¹²を参照されたい。図1は、これら変異体ならびに、Amerindian から発見された3種の変異体、すなわち、Albumin Naskapi,¹³ Albumin Wapishana¹⁴ および Albumin Yanomama 2¹⁴ との比較の結果を示すものである。Albumin NGS 1は、入手できた日本の二つの変異体、ならびに Albumin Naskapi および Albumin Wapishana とは明らかに異なるものである。図1では明白には認められないが、Albumin NGS 1は Albumin Yanomama 2よりもおそく移動する傾向がある(一定のpHにおいて、Yanomama 2のバンドが正常なバンドから分離する度合は、使用する澱粉のロットによって異なる。この写真では分離は悪いが、Tanis ら¹⁵の報告を参照されたい)。Tanis ら¹⁵のpH 6.1ゲル緩衝液方式を用いて比較した場合にも、Albumin NGS 1は Yanomama 2および Albumin Otsu とは明らかに異なる。これら10例中9例について限られた範囲での家族調査が行われ、その7例中、少なくとも1人の1親等親族に変異型 albumin が認められた(表1)。日本人を対象にした albumin 変異体の頻度に関する調査で、この変異体に相当するものは見当たらないようである。

電気泳動的には同一の、まれな変異体が無作為に選ばれた人から構成された集団中の数人もの対象者に認められたので、これらの人達が血縁関係にあったかどうかを確かめることが重要であった。10例中の7例については、変異体の認められた世代の3代前までさかのぼって調べたが、どの2家系についても共通の先祖を

TABLE 1 SUMMARY OF FAMILY STUDIES FOR RARE ELECTROPHORETIC VARIANTS OF ALBUMIN, HAPTOGLOBIN, AND TRANSFERRIN

表1 電気泳動法によって認められた albumin, haptoglobin, および transferrin のまれな変異体に関する家族調査の概要

System	Variant	City	Propositus MF No.	Sex	Family Studies			
					Mother	Father	Sibs	Children
Albumin	NGS 1	N	[REDACTED]	M	-	-	* □ ●	-
				F	-	-	-	* ●
				F	* ○	-	□	○ ○
				F	-	-	-	* ○ ■
				F	-	-	-	* ■
				M	* ●	-	-	■
				M	-	-	-	* ●
				F	●	* □	○	-
				F	-	-	-	* □
Haptoglobin	2 _{HIR} 1	H	[REDACTED]	F	-	-	-	* □
	2 _{NGS} 1	N	[REDACTED]	F	-	-	-	* ■ ○
Transferrin	D _{HIR} 1	N	[REDACTED]	F	-	-	-	* □ ○
				F	-	-	-	* □
				M	-	-	-	* ●
				M	-	-	-	* ○
				F	-	-	* ○	-
	D _{NGS} 1	N	[REDACTED]	M	-	-	-	* □ ■ ●
				M	-	-	-	* □ ■
				F	-	-	-	* □ ■
				F	-	-	* ●	-
				F	-	-	-	* ○ ■
	B ₃	H	[REDACTED]	F	-	-	-	* □ ■
				F	-	-	* ●	-
				F	-	-	-	* ○ ■
				F	-	-	-	* □
B _{HIR} 2	H	[REDACTED]	F	-	-	-	* ■	
			M	-	-	-	* □	
			M	-	-	-	* ■	
			F	-	-	-	* ■	
			F	-	-	* ● □ ■	□	
			M	-	-	-	* ○	
B _{HIR} 4	H	[REDACTED]	F	-	-	-	* ●	

*First family member tested. ○ - No variant, ● - variant

be demonstrated. The remaining three cases have not been investigated to date.

Ceruloplasmin

In this survey we have encountered two electrophoretic variants of plasma ceruloplasmin in 4026 individuals tested (2652 from Hiroshima and 1374 from Nagasaki). Three specimens could not be typed. Both of these variants

もっていないことが確認された。残りの3例については、まだ調査を実施していない。

Ceruloplasmin

血漿中の ceruloplasmin に関する調査では、4026人(広島2652人、長崎1374人)中、電気泳動上の変異体は2例認められた。3検体については型決定はできなかった。これら2例の変異体は、いずれも長崎集

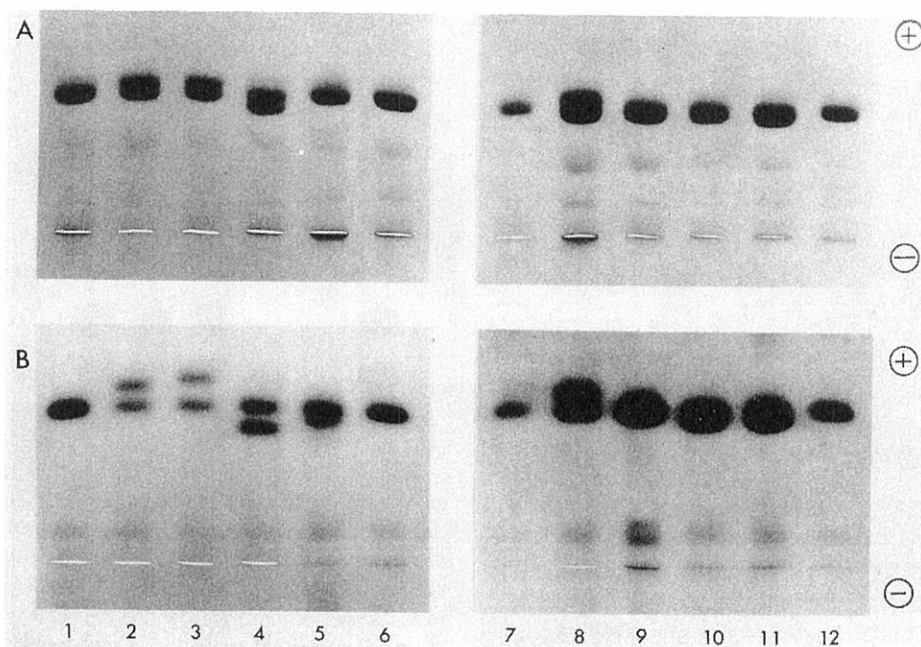


Figure 1. Starch gel electrophoresis of albumin variants in two buffer systems: A. Tris-EDTA-borate, pH 6.9; B. Sodium acetate system, pH 5.0. Wells 1, 6, 7, 9, & 12, normal albumin; well 2, N-Naskapi; well 3, N-Kyoto; well 4, N-Otsu; well 5, N-Yanomama 2; well 8, N-Wapishana; wells 10 & 11, N-NGS 1.

図1. 2種類の緩衝液を用いた場合の albumin 変異体の澱粉ゲル電気泳動所見。A. トリス-EDTA ホウ酸ナトリウム, pH 6.9. B. 酢酸ナトリウム緩衝液, pH 5.0. 第1, 6, 7, 9 および12番目, 正常 albumin; 第2番目, 正常型と Naskapi; 第3番目, 正常型と Kyoto; 第4番目, 正常型と Otsu; 第5番目, 正常型と Yanomama 2; 第8番目, 正常型と Wapishana; 第10および11番目, 正常型と albumin NGS 1.

occurred in individuals from the Nagasaki sample who also possessed the normal B phenotype, and have been designated ceruloplasmin $A_{NGS 1}$, for a sample showing a band migrating anodal to the normal B band, and ceruloplasmin $C_{NGS 1}$ for a sample showing a band migrating cathodal to the normal B band. We have not encountered any previous reports of ceruloplasmin variants in the Japanese.

Comparisons of the variants encountered in this study have been made with the A-B and B-C ceruloplasmin types encountered in American Negro populations by Shreffler et al.¹⁰ The results of this comparison are shown in Figure 2A. As can be seen from this comparison, the two Japanese variants are clearly different from the ceruloplasmin variants from Negro populations. The $A_{NGS 1}$ variant appears to be electrophoretically similar to the A_{Cayapo} variant reported by Tanis et al.¹⁴ in South American

団中の対象者に認められたもので、いずれの場合も正常なB表現型も同時に認められた。正常なBバンドより陽極側へ移動した変異体は Ceruloplasmin A Nagasaki 1 ($A_{NGS 1}$)と命名され、正常なBバンドより陰極側へ移動したものは、Ceruloplasmin C Nagasaki 1 ($C_{NGS 1}$)と命名された。今までに日本人における ceruloplasmin 変異体に関する報告はまだ見当たらない。

本調査で認めた変異体と、Shreffler ら¹⁰が米国の黒人集団で認めた ceruloplasmin のA-B型およびB-C型との比較を行った。その結果は図2Aに示した。この比較の泳動ゲルにみられるように、2例の日本人の変異体は、黒人集団中の ceruloplasmin の変異体とは明らかに異なっている。 $A_{NGS 1}$ 変異体は、南米インディアン集団の調査で Tanis ら¹⁴が報告した A_{Cayapo} 変異体と電気泳動上で移動度が近似

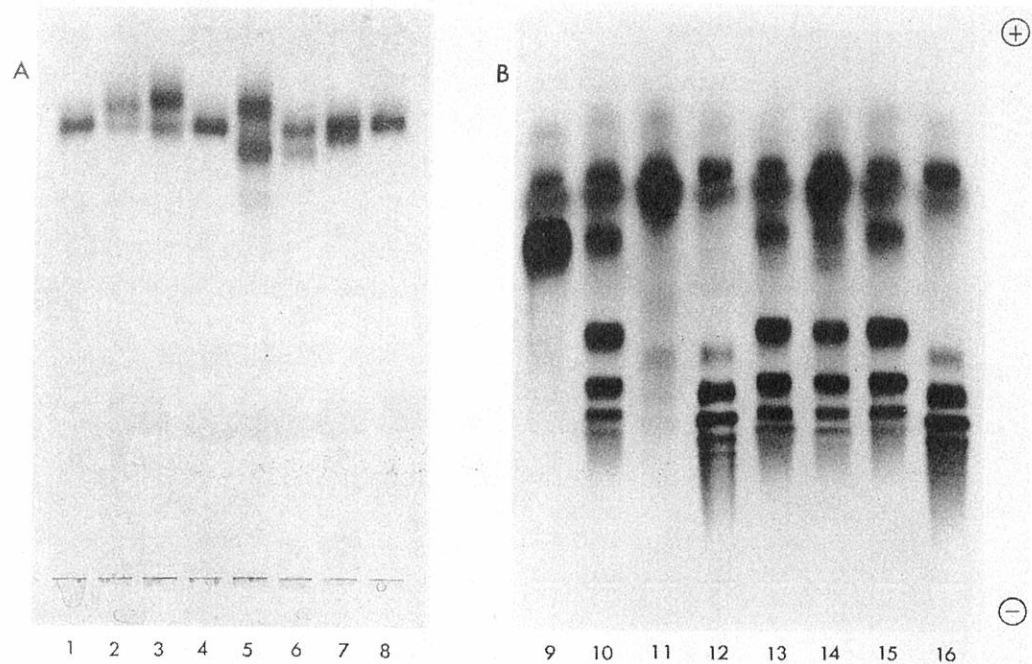


Figure 2. A. Polyacrylamide gel electrophoresis of Japanese ceruloplasmin variants, and comparison with previously reported variants. Wells 1, 4, & 8, normal ceruloplasmin B; well 2, type B-A from Negro populations; well 3, type B- A_{NGS1} ; well 5, type A-C from Negro populations; well 6, type B-C from Negro populations; well 7, type B- C_{NGS1} . B. Starch gel electrophoresis of haptoglobin variants from Hiroshima and Nagasaki. Well 9, HP 1; wells 10 & 15, HP 1-2; wells 12 & 16, HP 2; well 11, HP 1-2 $_{HIR1}$; well 13, HP 1-2 $_{NGS1}$, son of the propositus; well 14, HP 1-2 $_{NGS1}$, propositus (MF [redacted]).

図2. A. 日本人の ceruloplasmin 変異体のポリアクリルアミドゲル電気泳動像ならびに今までに報告された変異体との比較. 第1, 4および8番目, 正常 ceruloplasmin B; 第2番目, 黒人集団から得た B-A型, 第3番目, B- A_{NGS1} 型, 第5番目, 黒人集団から得た A-C型; 第6番目, 黒人集団から得た B-C型; 第7番目, B- C_{NGS1} 型. B. 広島および長崎で発見された haptoglobin 変異体の澱粉ゲル電気泳動像. 第9番目, HP 1; 第10および第15番目, HP 1-2; 第12および第16番目, HP 2; 第11番目, HP 1-2 $_{HIR1}$, 第13番目, HP 1-2 $_{NGS1}$, 発端者の息子; 第14番目, HP 1-2 $_{NGS1}$, 発端者 (MF [redacted]).

Indian populations. The C_{NGS1} variant appears similar to the New Haven variant reported by Shokeir & Shreffler¹⁶ (see also Giblett¹⁷). No direct comparison with these variants was possible. Family studies could not be carried out on these variants.*

Haptoglobin

The well-known haptoglobin polymorphism due to the HP^1 and HP^2 alleles has been described in a large number of Japanese populations as summarized by Omoto.¹⁸ The phenotypes and gene frequencies encountered in our screening of

しているように思われる. C_{NGS1} 変異体は, Shokeir および Shreffler,¹⁶ が報告した New Haven 変異体と近似していると思われる (Giblett¹⁷ の総説も参照のこと). しかしながらこれらの変異体との直接比較はできなかった. 発見された変異体については, 家族調査を行うことができなかった.*

Haptoglobin

Omoto¹⁸ の総説にあるように HP^1 および HP^2 対立遺伝子による周知の haptoglobin の多型が, 多くの日本人集団の調査において報告されている. 表2は,

*Family studies for both variants were done after 31 August 1975. The genetic nature of Ceruloplasmin A_{NAG1} was confirmed.

1975年8月31日以降になって C_{NGS1} , A_{NGS1} とも家族調査が行われ, A_{NGS1} は遺伝的変異体であることが確認された.

TABLE 2 PHENOTYPES AND GENE FREQUENCIES FOR THE HAPTOGLOBIN POLYMORPHISM IN HIROSHIMA AND NAGASAKI

表2 広島・長崎における haptoglobin の多型とその表現型および遺伝子頻度

City	Phenotype				No type*	Total	Gene Frequency**	
	1	2-1	2	Variants			HP ¹	HP ²
Hiroshima	132	764	1165	1	11	2073	0.249	0.751
Nagasaki	98	500	767	1	8	1374	0.255	0.745
Total	230	1264	1932	2	19	3447	0.252	0.748

*These samples gave no haptoglobin pattern or a pattern too weak to be typed accurately.

これらの標本では、haptoglobin のバンドを示さなかったか、バンドが薄すぎて正確な型の決定ができなかった。

**Calculation of gene frequencies excludes "no-types" and variants.

遺伝子頻度の算定には、“型の決定ができないもの”や変異体は含まれていない。

3447 individuals are shown in Table 2. There is no significant departure from Hardy-Weinberg proportions in either city, and the gene frequencies for HP¹ do not differ between Hiroshima and Nagasaki. The gene frequencies for the HP¹ allele fall within the narrow range of 0.23-0.29 observed in other Japanese populations. The HP¹ frequency of 0.255 obtained for the Nagasaki sample is in agreement with the frequency reported in two previous studies in Nagasaki Prefecture.^{19,20} Although several samples failed to exhibit a haptoglobin pattern following starch gel electrophoresis, no effort was made to determine whether this was due to the presence of an HP⁰ allele or to some non-genetic factor. Ogawa & Kawamura²¹ have reported the presence of a haptoglobin variant similar to haptoglobin Carlberg, first reported by Galatius-Jensen,²² in 10% of the unrelated outpatients seen at Kyushu University Hospital. These results were obtained using polyacrylamide gel electrophoresis, and it is probable that this haptoglobin type would not have been detected by the starch gel method employed in the work reported here.

A single individual from the Hiroshima sample exhibited a variant haptoglobin 1 pattern, designated HP 1_{HIR 1}: The variant pattern was characterized by a reduced staining intensity and an anodal shift of the bands characteristically present in the normal HP 1-2 phenotype. This pattern is shown in Figure 2B well 11, and resembles closely the haptoglobin 2-H reported by Robson et al.²³ In the figure, the anodal shift of the first HP band is observed by the presence of hemoglobin, but the existence of this band has been clearly demonstrated by

3447人について行った今回のスクリーニングで認められた表現型および遺伝子頻度を示したものである。両市とも遺伝子頻度は Hardy-Weinberg の法則から得られる理論値と大差はなく、HP¹ の遺伝子頻度は広島・長崎集団間に差はなかった。HP¹ 対立遺伝子の遺伝子頻度は、他の多くの日本人集団で認められている0.23-0.29という狭い範囲内にあった。長崎集団について得られたHP¹ 遺伝子頻度0.255という値は、長崎県において行われた過去の二つの調査^{19,20}で報告された頻度に一致する。いくつかの標本では、澱粉ゲル電気泳動法では haptoglobin パターンを認めることができなかったが、これがHP⁰ 対立遺伝子の存在によるものか、あるいは非遺伝性の因子によるものか否かを決定するための調査は行われなかった。小川および河村²¹は、Galatius-Jensen²²によって最初に報告された Haptoglobin Carlberg に近似した haptoglobin 変異体を九州大学病院で血縁関係のない外来患者の10%に認めたことを報告している。これらの結果は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって得られたもので、この haptoglobin の変異型は、本報で用いられた澱粉ゲル泳動法によっては発見できなかったと考えられる。

広島の対象者の1例において、haptoglobin 1の変異型が見出され、HP 1_{HIR 1}と命名された。この変異型は、典型的なHP 1-2型のバンドが、薄く染色され、かつ陽極側にずれたようなパターンを示すことが特徴であった。このパターンを、図2Bの第11番目に示してあるが、Robsonら²³によって報告された haptoglobin 2-Hと非常によく似ている。図中ではヘモグロビンがあるためにHP変異型の一番陽極側のバンドは、はっきり認められないが、グラジエント(濃度勾配のある)ポリアクリルアミドゲルを用いて、

gradient polyacrylamide gel electrophoresis employing a tris-boric acid-EDTA buffer at pH 8.4. Unfortunately only one family member was available for study and this individual did not show the variant phenotype.

Another single individual exhibited the unusual haptoglobin phenotype shown in Figure 2B, characterized by an extra, weakly staining band, migrating cathodally to the normal HP^1 band, the remainder of the pattern being typical of a 1-2 type. This pattern does not conform to any of the previously reported haptoglobin variants. In order to rule out artifacts that might result from sample preparation or storage, we collected a second sample from the propositus, and also samples from two children of the propositus. The unusual pattern was confirmed in the propositus, and was also present in the son, the daughter showing a normal haptoglobin pattern. Although we have not done any detailed studies of this unusual haptoglobin, we have assumed that it represents a new genetic phenotype, designated $HP\ 1-2_{NGS\ 1}$. The absence of any apparent doubling of the bands in the 1-2 region of the pattern is probably due to the low level of the variant material in the sample.

Ogawa & Kawamura²¹ encountered one individual showing the phenotype $HP\ 1-2$ Johnson in a survey of 1000 Japanese from Fukuoka Prefecture and Sugita & Tsunenari²⁴ have reported a single case of the same type in 1100 individuals from Kumamoto Prefecture. This type was not seen in our study.

Transferrin

Eight different electrophoretic variants of transferrin, involving 84 persons, were encountered during the screening of 4020 persons; the frequency of each is shown in Table 3. Nine additional samples were not typed because the transferrin region was obscured by hemoglobin due to hemolysis. Electrophoretic comparisons of these variants, using polyacrylamide gel electrophoresis, are shown in Figure 3. Fifty-five of these, of five different mobilities, are variants showing a band cathodal to the normal C band, generically termed D variants. The most commonly encountered D variant in our study is identical in electrophoretic mobility to the variant D_{Chi} first reported by Parker & Bearn²⁵ in Chinese living in New York City. This comparison was made with a sample of transferrin C- D_{Chi} provided by Dr. H. E. Sutton. The

トリス-ホウ酸ナトリウム-EDTA, pH 8.4を緩衝液として電気泳動を行うとはっきりと認められる。残念ながら、家族調査ではただ一人の家族からしか検体を得ることができず、かつ、その人には変異型は認められなかった。

他にもう一例、図2Bにみられるような特異な haptoglobin 型を示した例があった。この泳動像は、 HP^1 遺伝子に由来するバンドよりも陰極側に、弱く染色されたバンドが1本余分にあるほかは典型的な $HP\ 1-2$ 型であった。このパターンは、今までに報告された haptoglobin 変異体のいずれの型にも当てはまらない。この変異体が標本の作製過程や保存状態によって起った人工的なものでないことを確かめるために、発端者から再び標本を採取し、また発端者の2人の子供からも標本を採集した。発端者で、変異型は再確認され、その息子にも変異型が認められたが、娘は正常な haptoglobin 型を示した。われわれはこの特異な haptoglobin についての詳細な検討をまだ行ってはいないが、新しい遺伝的表現型を示すものと考えており、 $HP\ 1-2_{NGS\ 1}$ と命名した。このパターンでは、1-2型の領域に、バンドが重複して現れるという現象は見られないが、これは、おそらく検体中の変異物質の量が少ないことによると思われる。

小川および河村²¹は、福岡県内の日本人1000人を対象にした調査で、 $HP\ 1-2$ Johnson の表現型を示す者を1例認め、また杉田および常成²⁴は、熊本県内の1100人の対象者中1例に同型を認めたことを報告している。この型は今回の調査では認められなかった。

Transferrin

4020人の対象者についてのスクリーニングで、84人の電気泳動所見に8種の transferrin 変異体を認めた。その頻度は表3に示した。溶血現象によるヘモグロビンのため transferrin の発色領域が不鮮明となった9例の標本については型の決定は行われなかった。図3は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によるこれらの変異体の比較を示したものである。これら変異体中の55例は、正常なCバンドよりも陰極側に認められるいわゆるD型変異体で、各々移動度の異なる5種類があった。最も多く発見されたものは Parker および Bearn²⁵ が New York 市に居住する中国人に関する調査ではじめて発見して報告した D_{Chi} と同じ移動度を示した。この比較検討は、Dr. H. E. Sutton から提供された transferrin C- D_{Chi} を含む標本をもちいて行った。今回の調査の全対象者

TABLE 3 PHENOTYPE AND GENE FREQUENCIES FOR TRANSFERRIN
VARIANTS SEEN IN HIROSHIMA AND NAGASAKI
表3 広島・長崎でみられた transferrin 変異体の表現型および遺伝子頻度

Phenotype	Hiroshima	Nagasaki	Total
C	2580	1356	3936
C-D _{Chi}	36	11	47
C-D _{HIR 1}	1	1	2
C-D _{HIR 2}	2	0	2
C-D _{HIR 3}	3	0	3
C-D _{NGS 1}	0	1	1
C-B ₃	6	3	9
C-B _{HIR 2}	15	4	19
C-B _{HIR 4}	1	0	1
No type*	9	0	9
TOTAL	2653	1376	4029
<i>TF</i> ^{C**}	.9879	.9927	
<i>TF</i> ^{D Chi}	.0068	.0040	
<i>TF</i> ^{D HIR 1}	.0002	.0004	
<i>TF</i> ^{D HIR 2}	.0004	0	
<i>TF</i> ^{D HIR 3}	.0006	0	
<i>TF</i> ^{D NGS 1}	0	.0004	
<i>TF</i> ^{B 3}	.0011	.0011	
<i>TF</i> ^{B HIR 3}	.0028	.0014	
<i>TF</i> ^{B HIR 4}	.0002	0	

*These samples gave a transferrin pattern which could not be typed accurately.

これらの標本では、正確に分類できるような transferrin のパターンが認められなかった。

**Calculation of gene frequencies exclude "no type".

遺伝子頻度の算定では、“型の決定ができないもの”は除外してある。

gene frequency for *TF*^{D Chi} in our overall sample was 0.006. We have also observed two examples of a D transferrin with a mobility faster than D_{Chi} and probably corresponding to the variant D₄ (see Sutton & Jamieson¹¹ for the standard mobility table used). This variant has been designated D_{HIR 2}. As discussed later in this section, both of these variants have been encountered in previous Japanese studies.

We have also observed three D variants not previously reported in Japanese. Three individuals from the Hiroshima sample showed a variant, designated D_{HIR 3}, which migrates in a relative position equivalent to transferrin D_{Raiford} in the polyacrylamide test system.¹¹ Two examples were encountered of a variant, designated D_{HIR 1}, which migrates near the normal C band on starch gel, but is well separated by polyacrylamide gel electrophoresis. This variant seems to correspond to the D₀ variant reported by Giblett et al.²⁶ We have

における *TF*^{D Chi} の遺伝子頻度は、0.006であった。このほかに D transferrin に属するが、D_{Chi}よりも移動度の速い変異体を認めたが、これは電気泳動的には D₄ と同じものと考えられる (Sutton および Jamieson¹¹ の用いた標準移動度表を参照されたい)。この変異体は、D_{HIR 2} と命名された。後述するようにこれらの変異体はいずれも過去の日本の調査でも認められたものである。

本調査では、これまで日本人については報告されていない3種のD型変異体を認めている。広島集団中3人の対象者には、D_{HIR 3} と命名された変異体が認められたが、これは Sutton と Jamieson¹¹ の用いたポリアクリルアミド標準検査法では Transferrin D_{Raiford} に相当する位置まで移動した。D_{HIR 1} と命名された2例の変異体は、澱粉ゲル上では、正常なCバンドの近くまで移動するが、ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動ではCバンドから、十分に分離した。この変異体は、Giblett ら²⁶ が報告した D₀ 変異体に相当するようと思われる。また、D_{NGS 1} と命名した

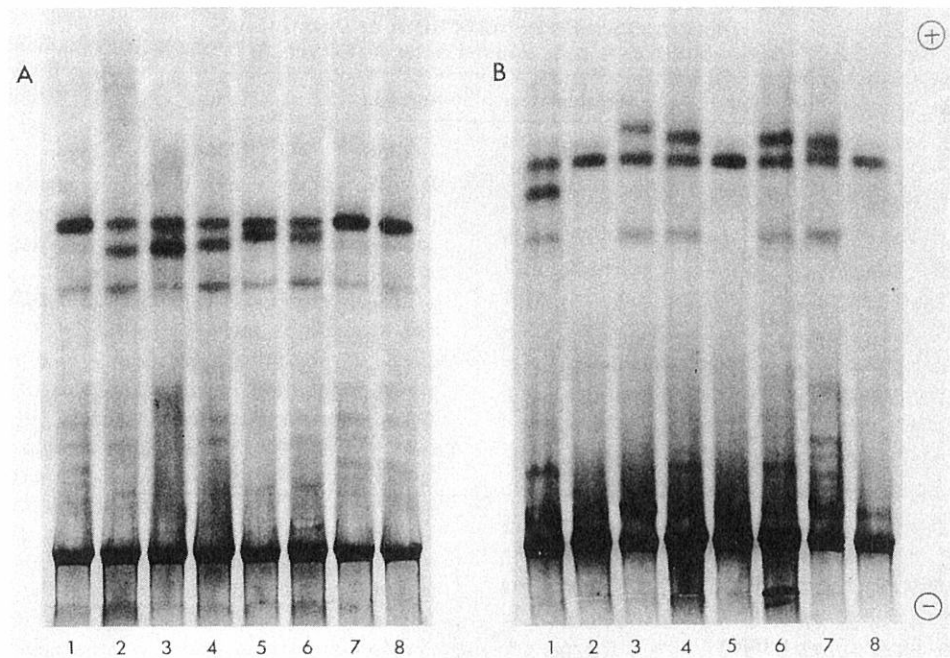


Figure 3. Polyacrylamide gel electrophoresis in tris-glycine buffer pH 8.4 of transferrin variants encountered in this study. A. Transferrins C-D; wells 1, 7, & 8, normal controls, type C; well 2, C-D_{HIR} 3; well 3, C-D_{Chi}; well 4, C-D_{HIR} 2; well 5, C-D_{HIR} 1; well 6, C-D_{NGS} 1. B. Transferrins C-B; wells 2, 5, & 8, normal controls, type C; well 7, C-B₃; wells 4 & 6, C-B_{HIR} 2; well 3, C-B_{HIR} 4; well 1, C-D_{Chi}.

図3. 本調査で認められた transferrin 変異体のトリス-グリシン緩衝液, pH 8.4 を用いた場合のポリアクリルアミドゲル電気泳動像. A. Transferrin C-D: 第1, 7, 8番目, 正常な対照例のC型; 第2番目, C-D_{HIR} 3; 第3番目, C-D_{Chi}; 第4番目, C-D_{HIR} 2; 第5番目, C-D_{HIR} 1; 第6番目, C-D_{NGS} 1. B. Transferrin C-B: 第2, 5および8番目, 正常な対照例のC型, 第7番目, C-B₃; 第4および6番目, C-B_{HIR} 2; 第3番目, C-B_{HIR} 4; 第1番目, C-D_{Chi}.

also found a single example of a variant, D_{NGS} 1, which is indistinguishable from the normal C type in the routine starch gel screening system, and was discovered when run in the tris-glycine, pH 8.4, polyacrylamide gel system as a putative normal (Figure 3). We have examined 100 randomly chosen samples presumed to be transferrin C by this polyacrylamide gel electrophoresis method without finding additional D_{NGS} 1 types. The frequency of this type in the total sample cannot be accurately estimated at this time, but it is probably quite low. Family studies have confirmed the genetic nature of three of the five D types. For D_{HIR} 2 the only family member available for testing was phenotypically normal, for D_{HIR} 1, two children were tested without finding the variant.

Parker & Bearn²⁵ also reported the discovery of a single example of a rapidly migrating transferrin type, which they designated B₃, in a sample of

変異体を1例認めたが, これは通常の澱粉ゲルを用いたスクリーニング法では正常のC型との区別はつかない. この変異体は, 正常型とされていた標本を, トリス-グリシン, pH 8.4の緩衝液を用いて, ポリアクリルアミドゲル上で泳動した時に偶然発見されたものである(図3). Transferrin C型と思われた標本を無作為に100例選んで, このポリアクリルアミドゲル電気泳動法で再検査してみたが, D_{NGS} 1型は, ほかには認められなかった. 現在のところ全対象群中のこの型の頻度は正確には推定できないが, おそらくかなり低いものと思われる. 家族調査によって, 5種類のD型のうち, 3種については遺伝的変異型であることが確認された. D_{HIR} 2については, 検査を行うことのできた唯一人の家族員が正常な表現型を有しており, D_{HIR} 1については, 2人の子供を調べたが, 変異型は認められなかった.

Parker および Bearn²⁵ は, 宇部に住む日本人46人の集団中に, 速く移動する transferrin 型を1例発

46 Japanese from Ube, Japan. In this study, we have seen nine examples of a B type variant which has the same relative mobility as B_3 in the standard system of Sutton & Jamieson.¹¹ We have therefore designated this variant B_3 but no direct comparison has been made. We have also observed 19 examples of a B type variant which migrates anodal to the B_3 type, designated $B_{HIR 2}$. Its relative mobility in the standard system places it between the variants B_1 and B_3 . However, it may be identical to the B variant, designated B_1 , seen by others in Japan (see below). In addition to these more common B types, we have observed a single variant, designated $B_{HIR 4}$, which has an electrophoretic migration anodal to $B_{HIR 2}$. Transferrin $B_{HIR 4}$ shows, at both pH 6.5 and pH 8.8, an electrophoretic mobility similar to that of $B_{Lambert}$ at pH 6.5.¹¹ Family studies have confirmed the genetic nature of the three B types observed in this study. Table 1 shows the results of family studies for both the B and D types and Figure 4 shows the results of family studies for three cases.

Following the discovery in 1961 of the transferrin variant designated D_{Chi} in New Yorkers of Chinese extraction,²⁵ Japanese investigators soon demonstrated the presence of a D variant in Japan, presumed to be the same as D_{Chi} . Matsumoto²⁷ has reported 12 instances of the C-D type in 822 unrelated Japanese, and Omoto & Harada²⁸ reported three examples of what they presumed to be C- D_{Chi} in 245 people from Amami Oshima Island. Since these early studies, many additional examples of the transferrin C-D phenotype have been reported in studies of Japanese populations, but in many of these studies primary standards were not available for comparison. However, Omoto & Harada²⁹ using a direct comparison with D_{Chi} reported the presence of 19 examples of a phenotype indistinguishable from D_{Chi} in a sample of 1085 non-Ainu Japanese from the district of Hidaka, Hokkaido, and 14 examples of the D_{Chi} phenotype in 466 Ainu. The frequency observed in non-Ainu Japanese (0.009) is similar to that found in this study.

In addition to the commonly encountered C- D_{Chi} phenotype, two other C-D transferrin patterns have been reported in earlier studies of Japanese populations. These involved a total of 29 persons. Omoto & Harada²⁸ found a D variant with an electrophoretic mobility slightly

見し、 B_3 と命名した。今回の調査では、Sutton および Jamieson¹¹の標準方式のもとで B_3 と同じ相対的移動度を示すB型変異体を9例に認めている。したがって、この変異体を B_3 と命名したが、直接的な比較は行っていない。またB型変異体で、 B_3 型より陽極側へ移動するものを19例に認めて $B_{HIR 2}$ と命名した。 $B_{HIR 2}$ の相対移動度は標準方式のもとで、変異体 B_1 と B_3 の中間に位する。しかし、日本における他の研究者(下記参照)が発見して B_1 と命名したB変異体と同一のものであるかもしれない。これらのありふれたB型のほかに、 $B_{HIR 2}$ よりも陽極側に泳動する変異体を1例発見し $B_{HIR 4}$ と命名した。Transferrin $B_{HIR 4}$ の移動度は、pH 6.5、pH 8.8のいずれにおいても、 $B_{Lambert}$ のpH 6.5¹¹における移動度と近似している。家族調査によって、本調査で認められた3種のB型は、遺伝的変異型であることが確認された。表1は、B型およびD型の双方に関する家族調査の結果を示し、図4は3例の家族調査の結果を示している。

1961年に New York 市民中の中国人に D_{Chi} と命名された transferrin 変異体が発見されて間もなく、²⁵ 日本人研究者はおそらくそれと同一と思われるD変異体を日本でも発見した。松本²⁷は血縁関係のない日本人822人中に12例のC-D型を報告し、Omoto および Harada²⁸は奄美大島の住民245人中にC- D_{Chi} と思われる者3例を報告している。これら初期の調査以来、ほかにも日本人集団の調査で transferrin C-D 表現型の例が多数報告されているが、これらの調査の多くでは標準標本との比較が行われていない。しかし、Omoto および Harada²⁹は、 D_{Chi} と直接比較泳動を行って、北海道日高地方の非アイヌ日本人1085人の集団中に、 D_{Chi} と区別できない表現型を持つ19例を認め、またアイヌ人466人中 D_{Chi} 表現型を14例認めたことを報告している。非アイヌ日本人に認められた頻度(0.009)は、今回の調査で得られたものと近い値である。

頻繁に認められるC- D_{Chi} 表現型に加えて日本人集団についての従来の調査において、別の2種のC-D transferrin の型が報告されている。これらは合計29人に認められたものである。Omoto および Harada²⁸は、電気泳動上の移動度が D_{Chi} よりやや速いD型変

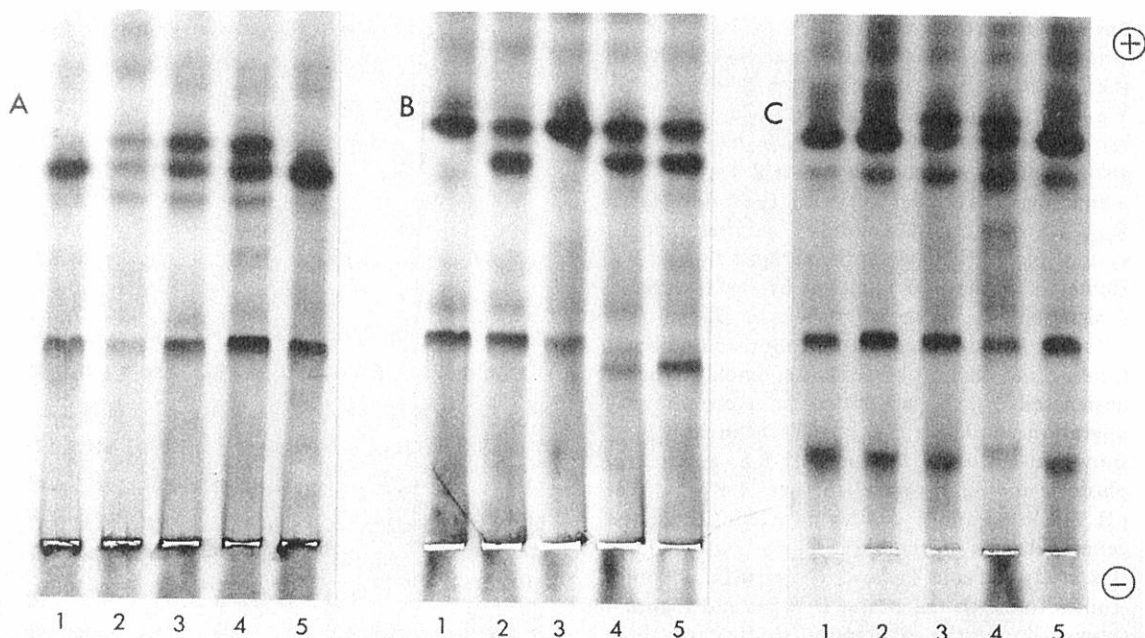


Figure 4. Starch gel electrophoresis of some transferrin variants encountered in this study. A. Transferrin C-B_{HIR 2}; wells 1 & 5, normal controls, type C; well 2, C-B_{HIR 2}; well 3, propositus (MF 263809); well 4, son of the propositus. B. Transferrin C-D_{Chi}; well 1, normal control; well 2, propositus with C-D_{Chi} (MF 267406); well 3, mother of propositus; wells 4 & 5, affected brothers of propositus. C. Transferrin C-B₃; wells 1 & 5, normal controls; well 2, normal son of propositus; well 3, affected son of propositus; well 4, propositus (MF 267406).

図4. 本調査で認めた transferrin 変異体の澱粉ゲル電気泳動像. A. Transferrin C-B_{HIR 2}: 第1および第5番目, 正常な対照者, C型; 第2番目, C-B_{HIR 2}; 第3番目, 発端者 (MF 263809); 第4番目, 発端者の息子. B. Transferrin C-D_{Chi}: 第1番目, 正常な対照者; 第2番目, C-D_{Chi}を有する発端者 (MF 267406); 第3番目, 発端者の母, 第4および5番目, 発端者の兄弟で変異体を認めた者. C. Transferrin C-B₃: 第1および5番目, 正常な対照者; 第2番目, 発端者の正常な息子; 第3番目, 発端者の息子で変異体の認められる者; 第4番目, 発端者 (MF 267406).

faster than D_{Chi} and Kudo & Ishimoto³⁰ have observed a D variant with an electrophoretic mobility slower than D_{Chi} and possibly slower than D₁. Although no direct comparisons were possible, our variant D_{HIR 2} exhibits an electrophoretic mobility similar to the fast variant (faster than D_{Chi}) seen by Omoto and Harada.

The transferrin variant B₃ has been shown to be widespread in Japanese populations. This variant has been reported in studies by Matsumoto,²⁷ Omoto & Harada,²⁹ and Kudo & Ishimoto.³⁰ Earlier studies in Japanese populations have also reported the presence of the transferrin variant B₁. Kudo & Ishimoto³⁰ have observed this type more frequently than the B₃ variant in a sample

異体を認め, 工藤および石本³⁰は, 移動度がD_{Chi}よりも遅く, またおそらくD₁よりも更に遅いと思われるD型変異体を認めている. 直接の比較は行えなかったが, われわれの発見した変異体, D_{HIR 2}の移動度は, Omoto および Harada が認めた (D_{Chi}よりも) 速い変異体に非常に近い.

Transferrin 変異体B₃は日本人集団中に多いことが認められている. この変異体は, 1964年から1973年までの間に Matsumoto,²⁷ Omoto と Harada²⁹ および工藤と石本³⁰らによって報告されている. 既に発表された日本人集団に対する調査においても, transferrin B₁の存在が報告されている. 工藤および石本³⁰は, 三重県の630人の集団中に, B₁型を

of 630 individuals from Mie Prefecture. As discussed earlier, we also have encountered a variant of the B type ($B_{HIR\ 2}$) more frequently than the B_3 variant, but our comparisons suggest that the variant encountered in this study is not electrophoretically the same as B_1 . Because of the similarity in gene frequencies it seems likely that the variant designated B_1 by others and the variant designated $B_{HIR\ 2}$ represent the same variant. No direct comparisons with either a standard B_1 or the Japanese B_1 have as yet been made.

DISCUSSION

The most interesting finding with respect to these serum proteins has been the variety of transferrin variants present in Hiroshima and Nagasaki. We have encountered 84 individuals apparently heterozygous for one or the other of eight distinct types of transferrin variants in a sample of 4020 individuals. The genetic nature of most of these variants has been verified by family studies, and their relative mobilities verified by electrophoresis in both starch gel and polyacrylamide gel under a variety of conditions. This work confirms the findings from other investigations of Japanese populations with respect to the occurrence of the variants D_{Chi} , B_3 , and a variant electrophoretically similar to B_1 , and a D variant which migrates faster than D_{Chi} . Four of the variants encountered in this study have not been previously distinguished. As mentioned earlier, the comparison of observed electrophoretic variants, between and within populations, is complicated by the lack of adequate standard electrophoretic types in this and other studies. We have tried to standardize our results using polyacrylamide gel electrophoresis at two pH values, one acidic and one basic, as suggested by Sutton & Jamieson,¹¹ but until this or some other standard system becomes more widespread the comparison of findings from different studies remains somewhat arbitrary.

The variant D_{Chi} is widespread in Chinese and Japanese populations, but appears to be absent from Caucasian and African populations.³¹ Arends and Gallango^{32,33} have reported a variant with the mobility of D_{Chi} in high frequency among the Yupa Indians of Venezuela, and Tanis et al¹⁴ have observed a similar variant in the Piaroa of Venezuela. Others have reported

B_3 変異体よりも多く認めている。また前述のように本調査でも、ある種のB型に属する変異体 ($B_{HIR\ 2}$) を B_3 変異体よりも、高頻度で発見している。しかし、われわれが比較検討したところでは、このB型変異体は電気泳動上 B_1 と同一ではないことが示唆されている。遺伝子頻度がよく似ていることから、他の研究者が B_1 と命名した変異体と、われわれが命名した $B_{HIR\ 2}$ とは同一の変異体と考えられるようである。標準型 B_1 または日本型 B_1 のいずれであるかを直接に比較する実験はまだ行われていない。

考 察

これらの血清蛋白質に関する最も興味深い所見は、広島・長崎で多種の transferrin 変異体が発見されたことである。4020人の集団中に、8種の明確な transferrin 変異型のいずれかに対してヘテロ接合であると思われる者84例を認めた。これらの変異体のほとんどは、遺伝的なものであることが家族調査によって確認された。その相対的移動度も、澱粉ゲルおよび異なる条件を用いたポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動検査で確認されている。本調査によって、日本人を対象とした他の研究者の得た所見で、 D_{Chi} , B_3 , 電気泳動の移動度が B_1 に類似する変異体、およびD変異体であつて D_{Chi} よりも速く泳動するものが存在するという点が、確認された。本調査で確認した変異体のうちの4種は、今までに日本では確認されていないものである。前述のように、本調査およびその他の調査に共通する適切な標準的電気泳動法がないために、集団間および集団内に認められた電気泳動上の変異体の相互比較は難しい。われわれは、Sutton および Jamieson¹¹ (1972年)の提案に従い酸性と塩基性との2種類のpHのもとでポリアクリルアミドゲル電気泳動法を行うことによって、本調査の結果の標準化を試みた。しかしながらこの標準方式または他の標準方式がもっと普及するまでは、別の調査所見と比較する場合は幾分独断的なものにならざるを得ない。

D_{Chi} 変異体は中国人および日本人には多く見られるが白人および黒人集団にはないようである。³¹ Arends および Gallango^{32,33} は、Venezuela の Yupa Indian に D_{Chi} と等しい移動度を示す変異体が高い頻度で存在することを報告しており、Tanis ら¹⁴ も Venezuela の Piaroa 族に同様の変異体を認めている。別の研

an unspecified D type variant or a variant similar to D₁ in Indian tribes, but many tribes lack the D_{Chi} variant. If the D_{Chi} variant encountered in some Indian populations is indeed identical with the D_{Chi} of Chinese and Japanese, then this may be viewed as a Mongoloid trait of great antiquity which is lacking in Negro and Caucasian populations. The D_{Chi} variant also appears to be absent from Asiatic and Oceanic populations geographically close to the Japanese. We have confirmed the reports¹⁸ that the transferrin variant D₁, present in Negro, Asian, and Melanesian populations, is not found in Japanese.

究者のある者は、D型ではあるが細かい分類のされていない変異型を、他の者はD₁によく似た変異体を Indian 部族中に報告しているが、多くの部族には D_{Chi} 変異体はない。一部の Indian 集団に認められている D_{Chi} 変異体が本当に中国人および日本人の D_{Chi} 変異体と同一のものであるとすれば、これは黒人や白人集団にはない非常に古い黄色人種の特徴とみなし得るかもしれない。D_{Chi} 変異体はまた、日本人と地理的に近いアジアおよびオセアニアの集団にもみられないようである。本調査では、黒人、アジア人およびメラネシア人の集団に存在する transferrin 変異体 D₁ は日本人には認められないという報告¹⁸を確認した。

REFERENCES

参考文献

1. HOLLINGSWORTH JW, BEEBE GW, ISHIDA M, BRILL AB: Medical findings and methodology of studies by the Atomic Bomb Casualty Commission on atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki. In *Proceedings, Seminar on the Use of Vital and Health Statistics for Genetic and Radiation Studies, Geneva, 5-9 September 1960*, New York, United Nations, 1962. p77
2. BELSKY JL, TACHIKAWA K, JABLON S: The health of atomic bomb survivors: A decade of examinations in a fixed population. *Yale J Biol Med* 46: 284, 1973
3. NEEL JV, SCHULL WJ: The Effect of Exposure to the Atomic Bombs on Pregnancy Termination in Hiroshima and Nagasaki. NAS-NRC Publication No. 461. Washington, National Academy of Sciences-National Research Council, 1956
4. NEEL JV, KATO H, SCHULL WJ: Mortality in the children of atomic bomb survivors and controls. *Genetics* 76:311, 1974
5. SMITHIES O: An improved procedure for starch gel electrophoresis: Further variations in the serum proteins of normal individuals. *Biochem J* 71:585, 1959
6. WEITKAMP LR, ARENDS T, GALLANGO ML, NEEL JV, SCHULTZ J, SHREFFLER DC: The genetic structure of a tribal population, the Yanomama Indians. III. Seven serum protein systems. *Ann Hum Genet* 35:271, 1973
7. WEITKAMP LR, FRANGLIN G, ROKALA DA, POLESKY HF, SIMPSON NE, SUNDERMAN FW, BELL HE, SAAVE J, LISKER R, BOHLS SW: An electrophoretic comparison of human serum albumin variants: eight distinguishable types. *Hum Hered* 19:159, 1969
8. ARENDS T, GALLANGO ML, LAYRISSE M, WILBERT J, HEINEN HD: Albumin Warao: New type of human alloalbuminemia. *Blood* 33:414, 1969
9. OWEN JA, SILBERMAN HJ, GOT C: Detection of hemoglobin and hemoglobin-haptoglobin complexes and other substances with peroxidase activity after zone electrophoresis. *Nature* 182:1373, 1958
10. SHREFFLER DC, BREWER GJ, GALL JC, HONEYMAN MS: Electrophoretic variation in human serum ceruloplasmin: A new genetic polymorphism. *Biochem Genet* 1:101, 1967
11. SUTTON HE, JAMIESON GA: Transferrins, haptoglobin and ceruloplasmin. In *The Glycoproteins*, 2nd edition, Ed by A. Gottschalk, Amsterdam, Elsevier, 1972. p 653
12. WEITKAMP LR, YAMAMOTO M, NISHIYAMA J: The population distribution of uncommon, inherited albumin variants: Two examples from Japan. *Ann Hum Genet* 37:485, 1974

13. MELARTIN L, BLUMBERG BS, MARTIN JR: Albumin polymorphism (albumin Naskapi) in Eskimos and Navahos. *Nature* 218:787, 1968
14. TANIS RJ, NEEL JV, DOVEY H, MORROW M: The genetic structure of a tribal population, the Yanomama Indians. IX. Gene frequencies for 18 serum protein and erythrocyte enzyme systems in the Yanomama and five neighboring tribes: Nine new variants. *Am J Hum Genet* 25:655, 1973
15. TANIS R, FERRELL RE, NEEL JV, MORROW M: Albumin Yanomama-2, a 'private' polymorphism of serum albumin. *Ann Hum Genet* 38:179, 1974
16. SHOKEIR MH, SHREFFLER DC: Two new ceruloplasmin variants in Negroes—Data on three populations. *Biochem Genet* 4:517, 1970
17. GIBLETT ER: *Genetic Markers in Human Blood*. Philadelphia, F.A. Davis, 1969
18. OMOTO K: Serum protein groups. Chap. 4. In *Human Adaptability*, Vol. 2: Anthropological and Genetic Studies on the Japanese. Ed by S. Watanabe, S. Kondo & E. Matsunaga, Tokyo, University of Tokyo Press, 1975. p 140
19. ISHIMOTO G, KUWATA M: Studies on the polymorphic types of ten blood proteins in Kyushu district, southwestern part of Japan. *Jpn J Legal Med* 27:346, 1973
20. OHYA I: Comment on the report of Ishizu and Ando. *Jpn J Legal Med* 26:347, 1972
21. OGAWA K, KAWAMURA K: On a pedigree of Hp 2-1 Johnson and a few atypical Hp types. *Jpn J Hum Genet* 10:127, 1965
22. GALATIUS-JENSEN F: Rare phenotypes in the Hp system. *Acta Genet (Basel)* 8:248, 1958
23. ROBSON ER, GLEN-BOTT AM, CLEGHORN TE, HARRIS H: Some rare haptoglobin types. *Ann Hum Genet* 28:77, 1964
24. SUGITA H, TSUNENARI S: The distribution of haptoglobin types in Kumamoto District. *Jpn J Legal Med* 28:422, 1974
25. PARKER WC, BEARN AG: Haptoglobin and transferrin variation in humans and primates: Two new transferrins in Chinese and Japanese populations. *Ann Hum Genet* 25:227, 1961
26. GIBLETT ER, HICKMAN CG, SMITHIES O: Serum transferrins. *Nature* 183:1589, 1959
27. MATSUMOTO H: Distribution and genetics of haptoglobin and transferrin types. *Jpn J Legal Med* 18:380, 1964
28. OMOTO K, HARADA A: Investigations on some genetical traits among inhabitants of Amami Oshima Island. In *Proceedings, Joint Meeting of Anthropology & Ethnology* 22:55, 1967
29. OMOTO K, HARADA S: The distribution of polymorphic traits in the Hidaka Ainu. II. Red cell enzyme and serum protein groups. *J Fac Sci Univ Tokyo, Section VI* 5(2): 171, 1972
30. KUDO T, ISHIMOTO G: A case of a rare type of serum transferrin. *Jpn J Legal Med* 27:447, 1973
31. GIBLETT ER: The plasma transferrins. In *Progress in Medical Genetics*, Vol. 2. Ed by A. Steinberg & A.G. Bearn, New York, Grune & Stratton, 1962. pp 34-63
32. ARENDS T, GALLANGO ML: Transferrin groups in South American Indians. In *Proceedings, 10th Congress of the International Society of Blood Transfusion, Stockholm, 1964*. Basel, S. Karger, 1965. p 401
33. ARENDS T, GALLANGO ML: Transferrins in Venezuelan Indians: High frequency of a slow-moving variant. *Science* 143:367, 1974