

ELECTROPHORETIC VARIANTS OF BLOOD PROTEINS IN JAPANESE  
II. PHOSPHOGLUCOMUTASE-1 (PGM1)

日本人の血液蛋白質の電気泳動上の変異型  
II. Phosphoglucomutase-1 (PGM1)

CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子

NORIO TAKAHASHI, Ph.D. 高橋規郎

JUNKO KANEKO 金子順子

YASUICHI KIMURA 木村康一

MIKIO FUJITA, M.D. 藤田幹雄

JUN-ICHI ASAKAWA, Ph.D. 浅川順一

TAKESHI KAGEOKA, M.D. 影岡武士

KAZUAKI GORIKI, M.D. 郷力和明

RYUJI HAZAMA, M.D. 迫龍二



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

## ACKNOWLEDGMENT

### 謝 辞

We are grateful to Dr. Keiichi Omoto for kindly providing us a sample of PGM1 1-3<sup>OKINAWA</sup> and Miss Naomi Masunari for her excellent technique in starch gel electrophoresis. We are much indebted to Dr. Howard B. Hamilton for his assistance in preparation of this manuscript.

PGM1 1-3<sup>OKINAWA</sup> の標本を提供していただいた尾本恵一博士並びに澱粉ゲル電気泳動法で優れた技術を発揮された増成直美氏に謝意を表す。更に、本論文作成に御援助をいただいた Howard B. Hamilton 博士に感謝する。

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

本報に基づく報告は下記の雑誌に掲載された:

*Jpn J Hum Genet* 29:287-310, 1984

## 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 not intended to supplant regular journal publication.

放影研業績報告書は、日米研究職員、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 Department of Energy.*

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もので、その経費は日米両政府の平等分担により、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー省との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって運営されている。

ELECTROPHORETIC VARIANTS OF BLOOD PROTEINS IN JAPANESE  
II. PHOSPHOGLUCOMUTASE-1 (PGM1)日本人の血液蛋白質の電気泳動上の変異型  
II. Phosphoglucomutase-1 (PGM1)

CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)<sup>1</sup>; NORIO TAKAHASHI, Ph.D. (高橋規郎)<sup>1</sup>;  
JUNKO KANEKO (金子順子)<sup>1</sup>; YASUICHI KIMURA (木村康一)<sup>1</sup>;  
MIKIO FUJITA, M.D. (藤田幹雄)<sup>1</sup>; JUN-ICHI ASAKAWA, Ph.D. (浅川順一)<sup>1</sup>;  
TAKESHI KAGEOKA, M.D. (影岡武士)\*; KAZUAKI GORIKI, M.D. (郷力和明)\*\*;  
RYUJI HAZAMA, M.D. (迫龍二)<sup>2</sup>

Division of Biochemical Genetics, Department of Clinical Laboratories<sup>1</sup> and Department of Medicine<sup>2</sup>  
臨床検査部遺伝生化学室<sup>1</sup>, 臨床部<sup>2</sup>

## SUMMARY

Starch gel electrophoresis of erythrocyte phosphoglucomutase-1 (PGM1) of 17,126 Japanese from Hiroshima and Nagasaki was performed. Thirteen types of rare variants, 6 migrating anodally and 7 migrating cathodally to the  $\alpha$ -band, were encountered in a total of 103 individuals. Family studies confirmed the genetic characteristics of most of them. The previous observation of the polymorphic occurrence of the *PGM1\*7* allele in the Hiroshima and the Nagasaki populations was confirmed. A significant difference in the frequencies of rare variants between Hiroshima and Nagasaki was observed. A stronger influence of the migrating stream from the south through the Ryukyu Archipelago to Nagasaki is postulated on the basis of the frequencies of *PGM1\*3NG1* and *PGM1\*3OKINAWA*.

## INTRODUCTION

The first paper in this series precisely describes the purpose of the study and circumstances under which the study was performed.<sup>1</sup> The present paper describes electrophoretic variants of erythrocyte phosphoglucomutase-1 (PGM1) encountered in Japanese residents of Hiroshima and Nagasaki. Here we consider only those electrophoretic variants detectable by starch gel electrophoresis (SGE) using Tris-EDTA-maleic acid-MgCl<sub>2</sub> (TEMM) buffer of Spencer et al.<sup>2</sup> Though variants with normal mobility but very weakly staining bands and hence suspected to be deficiency variants were encountered in our screening program, they are

## 要約

広島・長崎の日本人17,126人について、赤血球 phosphoglucomutase-1 (PGM1) を澱粉ゲル電気泳動法で検査した。13種類のまれな変異型が総計103人に検出されたが、そのうち6種類の変異型は $\alpha$ -バンドより陽極側に、7種類は $\alpha$ -バンドより陰極側に移動した。家族調査によってこれら変異型の大部分は、遺伝的なものであることが明らかになった。広島と長崎の両集団において、対立遺伝子 *PGM1\*7* が多型の頻度で存在するという我々の以前の観察が確認された。広島と長崎の間で、まれな変異型の頻度に有意な差のあることが見いだされた。対立遺伝子 *PGM1\*3NG1* と *PGM1\*3OKINAWA* の頻度を根拠として、南方からの民族移動の流れが琉球諸島を経由してより強く長崎に影響を与えたのではないかとこの仮説を述べた。

## 緒言

研究の目的並びに研究が行われた状況は、この一連の報告書の第一報に詳細に記してある。<sup>1</sup> この論文では、広島・長崎の日本人に検出された赤血球 phosphoglucomutase-1 (PGM1) の電気泳動上の変異型について述べる。ここでは、Spencerら<sup>2</sup> の Tris-EDTA-maleic acid-MgCl<sub>2</sub> (TEMM) 緩衝液を用いて、澱粉ゲル電気泳動法 (SGE) を行ったときに検出できる、電気泳動上の変異型についてのみ考察した。今回のスクリーニング・プログラムにおいて、移動度は正常であるが、バンドの染色強度が非常に弱い場合、活性減少変異型ではないかと思われるものが検出されたが、それについては本報では変異型とし

<sup>1</sup>Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba 筑波大学臨床医学研究所

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Mihara Medical Association Hospital 三原医師会病院内科

not included in this report. The populations and the method of family studies are described in the first paper of this series. Briefly, data are obtained from two populations, i.e., the 'Adult' composed of A-bomb survivors and controls, and the 'Child' comprising children born to proximally and distally exposed survivors. Since certain kinships are included in the two groups and within the offspring group, the 'Representative' population was selected from unrelated individuals in the first two populations. The frequencies of alleles are calculated from the third population. As before, the convention in naming variants uses known similar types suffixed with city and order of discovery, abbreviating Hiroshima to HR and Nagasaki to NG.<sup>3</sup>

### MATERIALS AND METHODS

Preparation of the hemolysates for electrophoresis was carried out as described in the first paper in this series.<sup>1</sup> For vertical SGE for routine typing, the TEMM buffer system (pH 7.4)<sup>2</sup> was used, modifying the dilution ratio of gel buffer/bridge buffer to 1/15. Comparison of variants was performed as described previously,<sup>4,5</sup> using both the TEMM buffer and a 0.005 M histidine - 0.41 M citrate (pH 7.0) discontinuous buffer system of Fildes and Harris.<sup>6</sup> Although PGM1 isozymes were stained according to the method of Spencer et al<sup>2</sup> employing agar overlay, 6,928 samples from the Child subjected to testing since September 1978 were stained by applying staining solution to the gel surface with a brush.

PGM activity of rare electrophoretic variants was determined using 20 $\mu$ l of 1:20 diluted hemolysates, along with more than 10 control hemolysates, all PGM1 1 and PGM2 1 phenotypes. Hemolysates for PGM activity measurements were prepared as described previously.<sup>7</sup> Methods for measuring PGM activity, in principle based on the methods recommended by Beutler<sup>8</sup> and Beutler et al,<sup>9</sup> are described in a separate paper concerning a low activity variant of PGM1 (Sato et al in preparation).

Some rare electrophoretic variants of PGM1 have bands with very weak intensity, which is a characteristic of such variants. PGM activity in hemolysates is the sum of the activities of isozymes of PGM1 and PGM2, approximately half of which is considered to be derived from

なかった。対象集団と家族調査の方法は、第一報に述べてある。簡単に述べると、被爆者と対照者で構成される“成人”の集団と、近距離並びに遠距離被爆者の子供で構成される“子供”の集団という二つの集団からデータを得ている。これら二つの集団間、更には子供の集団内においても、血縁関係のある者が含まれているので、最初の二つの集団の血縁関係のない者から“代表者”集団が選ばれた。対立遺伝子頻度は、この第三の集団を用いて計算した。変異型の命名には、既知の変異型の中で類似のものに、広島はHR、長崎はNGと略した都市名と検出順を付けるという従来の方法が用いられた。<sup>3</sup>

### 材料及び方法

電気泳動で用いた溶血液は、この一連の研究の第一報に述べた方法で調製した。<sup>1</sup> 通常のタイピング用垂直 SGE においては、TEMM 緩衝液 (pH 7.4)<sup>2</sup> を用いたが、ゲル緩衝液/ブリッジ緩衝液の割合は、1/15 の希釈割合に変更した。変異型の比較は、前報<sup>4,5</sup> と同様に、TEMM 緩衝液と、Fildes と Harris<sup>6</sup> の 0.005M ヒスチジン-0.41M ケエン酸 (pH 7.0) 不連続緩衝液を用いて行った。PGM1 アイソザイムは、寒天オーバーレイを用いる Spencer ら<sup>2</sup> の方法で染色したが、1978年9月以降に検査を行った子供集団の6,928検体については、はけでゲル表面に染色液を塗布して染色した。

電気泳動上のまれな変異型の PGM 活性の測定は、PGM1 1 及び PGM2 1 表現型を有する10検体以上の溶血液をコントロールとして、20 $\mu$ l の1:20希釈溶血液を用いて行われた。PGM 活性測定用溶血液は、前報<sup>7</sup> の方法で調製した。PGM 活性を測定する方法は原則として Beutler<sup>8</sup> 及び Beutler ら<sup>9</sup> により推奨された方法に基づいており、PGM1 の低活性変異型に関する別の論文(佐藤らが論文作成中)に述べてある。

PGM1 の電気泳動上のまれな変異型の中には、バンドの染色強度が非常に低いものがあり、それが、その変異型の特徴となっている。溶血液中の PGM 活性は、PGM1 のアイソザイム活性と PGM2 のアイソザイム活性の総和であり、そのうち約半分が PGM1

PGM1, the remainder from PGM2.<sup>10,11</sup> In the Japanese, PGM2 is not polymorphic, and the frequency of rare variants is very low.<sup>1,5,12</sup> Therefore, it is assumed likely that there is little individual difference in PGM2 activity so that differences in PGM1 allozyme activity, arising from differences in phenotypes, would be reflected in total PGM activity. We have already examined PGM activity of samples for which the PGM2 phenotype was 1 and the PGM1 phenotype was 1, 1-2, 2 or 1-7 (Satoh et al, in preparation). There was little difference in activity among the four common PGM1 phenotypes. No difference in activity was observed between the Hiroshima and the Nagasaki samples though the condition and the length of time before processing samples were different. For normal activity of PGM, 1.84 IU/g Hb (International Units per gram of hemoglobin) was adopted, the mean value obtained from pooling 386 activity values obtained from 191 Hiroshima subjects (mean, 1.82 IU/g Hb; standard deviation, 0.23 IU/g Hb) and 195 Nagasaki subjects (mean, 1.85 IU/g Hb; SD, 0.19 IU/g Hb) all PGM1 1 and PGM2 1.

When possible, activity was determined for propositi having rare variants. Electrophoresis and determination of PGM activity were also made for their families. The activity of each variant is also referred to when describing its characteristics.

## RESULTS

In a previous paper<sup>5</sup> describing the results obtained for PGM1 and PGM2 in the Adult, data were presented for a total of 4,029 cases, 1,895 examined using TEMM buffer, pH 7.4, and 2,134 using histidine-citrate discontinuous buffer system, pH 7.0, but the data in this paper were obtained only from examinations using the TEMM buffer since it was found that some variants could not be detected by electrophoresis using the latter buffer system. Therefore, the results reported here are from 2,534 cases in the Adult, 1,895 reported previously, 620 tested subsequently, and 19 which, tested previously with the latter buffer system, were later reexamined with TEMM buffer. Grouped by city, 1,301 were from Hiroshima and 1,233 from Nagasaki.

Table 1 shows PGM1 phenotypes and the number of those phenotypes detected in the Adult and

に由来し、残りが PGM2 に由来する活性とみなされる。<sup>10,11</sup> 日本人においては、PGM2 は多型ではなく、また、まれな変異型の頻度は非常に低い。<sup>1,5,12</sup> したがって、PGM2 活性には個人差がほとんどなく、PGM 活性には PGM1 アロザイム活性の相違、すなわち表現型の相違が反映されていると考えられる。PGM2 の表現型が 1 で、PGM1 の表現型が 1, 1-2, 2, 又は 1-7 の標本の PGM 活性については既に検査している(佐藤らが論文を準備中)。これら 4 種のごく普通の PGM1 表現型の活性にはほとんど相違がなかった。広島と長崎の標本の間では、標本処理前の状態や時間が異なっていたにもかかわらず、活性には差がなかった。PGM の正常値としては、1.84 IU/g Hb (ヘモグロビン 1g 当たりの国際単位)を用いた。この値は、PGM1 1, PGM2 1 という表現型をもった広島の対象者 191 人(平均値, 1.82 IU/g Hb; 標準偏差(SD), 0.23 IU/g Hb)と、長崎の対象者 195 人(平均値, 1.85 IU/g Hb; SD, 0.19 IU/g Hb)から得た合計 386 の活性値のデータから求めた平均値である。

可能な場合には、まれな変異型をもつ発端者について活性が測定された。電気泳動と PGM 活性の測定が、その家族についても行われた。各変異型の特徴を述べる際にその活性についても言及してある。

## 結果

成人集団について、PGM1 と PGM2 に関して得た結果を述べた前報<sup>5</sup>には、pH 7.4 の TEMM 緩衝液を用いて検査した 1,895 例と、pH 7.0 のヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液を用いて検査した 2,134 例の合計 4,029 例についてのデータを報告した。しかし、変異型の中には、後者の緩衝液を用いた電気泳動法では検出できないものもあることがわかったので、本報では、TEMM 緩衝液を用いて得たデータのみを報告することにして、したがって、ここで報告する結果は成人集団の 2,534 例から得たもので、この中には前回報告された 1,895 例、その後検査された 620 例、そして前報では後者の緩衝液で検査され、後に TEMM 緩衝液で再検査された 19 例が含まれている。都市別にすると、広島の 1,301 例、長崎の 1,233 例であった。

表 1 には PGM1 の表現型とその数が、成人集団、

TABLE 1 VARIOUS PHENOTYPES OF PGM1 AMONG JAPANESE OF TWO POPULATIONS (ADULT & CHILD) AND THE REPRESENTATIVE POPULATION COMPOSED OF SELECTED MEMBERS FROM THE TWO POPULATIONS<sup>a</sup>

表1 二つの集団(成人集団と子供集団)及びその2集団から選択された個人で構成される代表者集団における PGM1 の種々の表現型<sup>a</sup>

Phenotype	Population				
	Adult	Child	Representative		
			Combined	Hiroshima	Nagasaki
1	1465	8475	6843	3750	3093
1-2	847	4919	4006	2329	1677
2	138	693	595	362	233
1-7	48	317	246	158	88
2-7	14	76	61	42	19
7	2	8	8	4	4
1-3NG1	5	34 (28)	26	8	18
2-3NG1	1	9 (8)	9	4	5
*1-4HR1	1	0	1	1	0
*1-4HR2	0	1 (0)	0 <sup>b</sup>	0	0
*2-4HR2	0	1 (1)	0 <sup>b</sup>	0	0
*4HR2	0	2 (1)	1	1	0
*1-4NG1	0	3 (2)	1	0	1
*1-5HR1	0	1 (0)	0 <sup>c</sup>	0	0
*2-5HR1	0	1 (1)	1	1	0
1-9NG1	1	0	1	0	1
1-6NG1	1	1 (1)	1	0	1
1-6NG2	2	8 (5)	4	0	4
2-6NG2	1	1 (1)	2	2	0
7-6NG2	0	1 (1)	1	1	0
*2-6NG3	0	1 (1)	1	0	1
1-6HR1	1	0	1	1	0
2-6HR1	0	1 (1)	1	1	0
1-6HR2	2	0	2	0	2
2-6HR2	1	4 (4)	2	2	0
1-6HR3	0	3 (2)	2	2	0
*2-6HR3	0	1 (1)	1	1	0
1-8NG1	0	12 (8)	5	0	5
2-8NG1	0	2 (2)	1	0	1
No type	4	17	0	0	0
Total	2534	14592	11823	6670	5153

\* Newly encountered variants in this study.

今回新しく検出された変異型

<sup>a</sup> See text for the description of the two populations and the Representative population.

2集団及び代表者集団についての説明は本文参照.

<sup>b</sup> Father with PGM1 1-2 was selected as a representative of the family.

PGM1 1-2を有する父親が家族の代表として選択された.

<sup>c</sup> The brother with PGM1 2-5HR<sub>1</sub> was selected as representative.

PGM1 2-5HR<sub>1</sub>を有する弟が代表として選択された.

the Child along with the Representative composed of unrelated individuals selected from the first two populations,<sup>1</sup> the total numbers of the Child and Representative being 14,592 (7,596 from Hiroshima and 6,996 from Nagasaki) and 11,823 (6,670 from Hiroshima and 5,153 from Nagasaki), respectively. Characteristics of the variants have already been reported<sup>4,5</sup> except for those marked with an asterisk, which are shown here for the first time. Since approximately 30% of the Child comprises siblings, the same variant was often detected more than once. The figures in parentheses are the number of variants excluding those detected in siblings. Because 1-4<sub>HR2</sub> and 1-5<sub>HR1</sub> were detected in one sibling each of children who showed 2-4<sub>HR2</sub> and 2-5<sub>HR1</sub>, respectively, numerals in parentheses for them are 0. When the phenotype could not be read clearly, 'no type' is indicated. Representatives with no type were excluded in selecting the Representative. Those cases aside, the representatives were selected by the method described in the first paper of this series.<sup>1</sup> Sometimes, therefore, when there was a member with a normal type and a member with a variant in the family, the former was selected and the latter excluded from the Representative.

子供集団及びこの二つの集団から選んだ血縁関係のない者で構成された代表者集団別に示してある。<sup>1</sup> 子供集団と代表者集団の総数は、それぞれ14,592人(広島7,596人、長崎6,996人)と11,823人(広島6,670人、長崎5,153人)であった。表1中、星印をつけてあるものは今回初めて報告されるもので、それ以外の変異型の特徴については既に報告してある。<sup>4,5</sup> 子供集団には、約30%の同胞が含まれているので、同種の変異型がしばしば1回以上検出された。括弧内の数字は、同胞に検出された変異型を除いた数である。2-4<sub>HR2</sub>と2-5<sub>HR1</sub>をそれぞれ示した子供の同胞各一人ずつに1-4<sub>HR2</sub>と1-5<sub>HR1</sub>が検出されたので、それらの括弧内の数字は0である。表現型が明確に読み取れなかった場合には、“no type”とした。代表者集団を選ぶ際にはno typeであったものは除外するようにした。“no type”の人は代表者としなかったことを除き、代表者は、この一連の研究の第一報<sup>1</sup>で述べられた方法によって選択した。したがって、家族の中に正常型をもつ者と変異型をもつ者がいた場合、前者が代表者集団に選択され、後者が除外された場合もある。

TABLE 2 *PGM1* ALLELE FREQUENCIES AMONG 11,823 UNRELATED JAPANESE EXAMINED BY STARCH GEL ELECTROPHORESIS USING TEMM BUFFER, pH 7.4

表2 TEMM 緩衝液, pH 7.4を用いた澱粉ゲル電気泳動法により検査された血縁関係のない日本人, 11,823人における *PGM1* 対立遺伝子頻度

Allele	Population		
	Combined	Hiroshima	Nagasaki
<i>PGM1*1</i>	0.76047	0.74955	0.77460
<i>PGM1*2</i>	0.22308	0.23283	0.21046
<i>PGM1*7</i>	0.01370	0.01567	0.01116
<i>PGM1*3NG1</i>	0.00148	0.00090	0.00223
<i>PGM1*4HR1</i>	0.00004	0.00007	0
<i>PGM1*4HR2</i>	0.00008	0.00015	0
<i>PGM1*4NG1</i>	0.00004	0	0.00010
<i>PGM1*5HR1</i>	0.00004	0.00007	0
<i>PGM1*9NG1</i>	0.00004	0	0.00010
<i>PGM1*6NG1</i>	0.00004	0	0.00010
<i>PGM1*6NG2</i>	0.00030	0.00022	0.00039
<i>PGM1*6NG3</i>	0.00004	0	0.00010
<i>PGM1*6HR1</i>	0.00008	0.00015	0
<i>PGM1*6HR2</i>	0.00017	0.00015	0.00019
<i>PGM1*6HR3</i>	0.00013	0.00022	0
<i>PGM1*8NG1</i>	0.00025	0	0.00058

Table 2 shows the frequency of alleles calculated from the number of each phenotype in the Representative of Table 1.

#### Polymorphism

Two alleles, *PGM1\*2* and *PGM1\*7*, already found in polymorphic proportions in the Adult,<sup>5</sup> are also polymorphic, 0.223 and 0.014, respectively, in the Representative which is approximately six times larger than the previously reported population. The *PGM1\*2* allele frequencies in both Hiroshima (0.233) and Nagasaki (0.210) were in the range of 0.191-0.249, frequencies also observed in various other Japanese populations.<sup>12</sup>

#### Rare Variants

Of 2,534 individuals of the Adult, 2,530 were clearly typed, and seven kinds of variants, i.e.,  $3_{NG1}$ ,  $4_{HR1}$ ,  $9_{NG1}$ ,  $6_{NG1}$ ,  $6_{NG2}$ ,  $6_{HR1}$ , and  $6_{HR2}$  were encountered in 16 subjects. All of these were detected as phenotypes heterozygous with 1 or 2. Inasmuch as 13 of the 16 subjects were included among the 1,895 individuals of the Adult, on whom tests of PGM1 were made using TEMM buffer and the results have already been reported,<sup>5</sup> the characteristics of six of the variants, i.e.,  $3_{NG1}$ ,  $9_{NG1}$ ,  $6_{NG1}$ ,  $6_{NG2}$ ,  $6_{HR1}$ , and  $6_{HR2}$ , have already been described.<sup>4,5</sup> The remaining 3 subjects were among 639 individuals examined subsequently in whom the variant phenotypes were  $1-3_{NG1}$ ,  $2-6_{NG2}$ , and  $1-4_{HR1}$ . Since  $3_{NG1}$  and  $6_{NG2}$  had already been reported, but  $4_{HR1}$ , newly detected, is described in detail here.

On the other hand, of the already reported  $3_{NG2}$  and  $8_{NG1}$ ,<sup>4,5</sup> the latter was detected in 3 (1 in Hiroshima, and 2 in Nagasaki) of 2,134 subjects who had been typed using the histidine-citrate discontinuous buffer system described in the previous paper, but this variant was not detected among the 2,530 individuals of the present report who were typed using TEMM buffer. The isozyme PGM1  $3_{NG2}$  which was described in the previous paper as a PGM1 variant whose mobility was similar to that of PGM1  $3_{NG1}$  but had weak activity, was subsequently shown to have phosphopentomutase activity, and therefore was considered to be a product of an allele at the *PGM2* locus. The variant therefore was renamed PGM2  $9_{NG1}$  and the allele involved in the synthesis was named *PGM2\*9NG1*. This variant is described in the first paper<sup>1</sup> of the series concerning PGM2.

表2には対立遺伝子頻度が示してあるが、その値は、表1の代表者集団中の各表現型の数に基づいて計算したものである。

#### 多型

前報<sup>5</sup>において、成人集団中に多型の頻度で検出された二つの対立遺伝子 *PGM1\*2* と *PGM1\*7* は、前回報告した集団の約6倍の大きさをもつ代表者集団においても多型の頻度、すなわち、それぞれ0.223及び0.014という頻度で検出された。広島(0.233)、長崎(0.210)両市の *PGM1\*2* 対立遺伝子頻度は、他の様々な日本人集団に観察された0.191~0.249という頻度の範囲に含まれている。<sup>12</sup>

#### まれな変異型

成人集団の2,534人のうち型判定が明らかにできたのは2,530人であり、そのうち16人に  $3_{NG1}$ ,  $4_{HR1}$ ,  $9_{NG1}$ ,  $6_{NG1}$ ,  $6_{NG2}$ ,  $6_{HR1}$  及び  $6_{HR2}$  という7種の変異型が検出された。いずれも1又は2とのヘテロ接合型の表現型として検出された。16人の対象者のうち13人は、成人集団のうち TEMM 緩衝液を用いて PGM1 の検査をし、その結果を既に報告した1,895人に含まれているので、<sup>5</sup> 彼らの示した6種の変異型、 $3_{NG1}$ ,  $9_{NG1}$ ,  $6_{NG1}$ ,  $6_{NG2}$ ,  $6_{HR1}$  及び  $6_{HR2}$  の特徴については既に報告してある。<sup>4,5</sup> 残る3人は、その後検査された639人中に含まれており、彼らの示した変異表現型は  $1-3_{NG1}$ ,  $2-6_{NG2}$  及び  $1-4_{HR1}$  であった。 $3_{NG1}$  と  $6_{NG2}$  は既に報告されているが、新しく検出された  $4_{HR1}$  については今回詳細に述べる。

一方、既に報告している  $3_{NG2}$  と  $8_{NG1}$ <sup>4,5</sup> のうち、 $8_{NG1}$  は前報でヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液を用いて型判定をした2,134人の対象者中3人(広島に1人、長崎に2人)に検出されたが、今回報告する TEMM 緩衝液で検査した2,530人には検出されなかった。移動度が PGM1  $3_{NG1}$  と類似し、活性が弱く、前報では PGM1 の変異型とされていたアイソザイム PGM1  $3_{NG2}$  には、その後 phosphopentomutase 活性のあることが明らかとなり、したがって、PGM2 座の対立遺伝子の産物であると考えられるようになった。したがって、この変異型を PGM2  $9_{NG1}$  と改めて命名し、このアイソザイムを合成した対立遺伝子を、*PGM2\*9NG1* と命名した。この変異型は一連の論文のうち PGM2 について述べた最初の論文<sup>1</sup>中に報告されている。



Of 15,141 samples from the Child, 14,592 were electrophoresed using TEMM buffer, and the phenotypes of 14,575 were recorded excluding 17 whose phenotypes could not be clearly typed. Four 'fast variants' of PGM1 whose major band migrates anodal to *a*-band, i.e.,  $3_{NG1}$ ,  $4_{HR2}$ ,  $4_{NG1}$ , and  $5_{HR1}$  were detected among 52 children. Seven kinds of so-called 'slow variants' whose major band migrated cathodal to *a*-band, i.e.,  $6_{NG1}$ ,  $6_{NG2}$ ,  $6_{NG3}$ ,  $6_{HR1}$ ,  $6_{HR2}$ ,  $6_{HR3}$ , and  $8_{NG1}$ , were detected among 35 children. Two of the four propositi with  $4_{HR2}$  seemed to be homozygotes, but the remaining 85 children were heterozygous for the rare variant alleles and the common alleles of  $PGM1^*1$ ,  $PGM1^*2$  or  $PGM1^*7$ . The variant detected and the number of children in whom these variants were found are shown in column 3 (Child) of Table 1. Of the 14,575 children whose phenotypes could be clearly typed, 87 had the variants, but if only unrelated children are selected, the total number on whom examinations were carried out is 10,484 and the number in whom variants were detected is 68.

Variants in the two populations were repeatedly compared by electrophoresis on the same starch gel. Five of the seven types of variants detected in the Adult, excepting  $9_{NG1}$  and  $4_{HR1}$ , were detected also in the Child. On the other hand, of the 11 types of variants detected in the Child, six types,  $4_{HR2}$ ,  $4_{NG1}$ ,  $5_{HR1}$ ,  $6_{NG3}$ ,  $6_{HR3}$ , and  $8_{NG1}$ , were not detected in the Adult. With the exception of  $8_{NG1}$ , five of these variants and  $4_{HR1}$  found in the Adult are previously unreported new variants, and therefore the characteristics of these six new variants are described below in detail. The photographs and diagrams of the electrophoretic gels of a total of 13 types of the variants, the 6 rare variants being reported for the first time here and the previously reported 7 types which were electrophoretically tested simultaneously with them to compare mobility, are shown in Figures 1, 2, 4, and 5. Fast variants are shown in Figures 1 and 2 and slow variants in Figures 4 and 5.

Family studies for rare variants encountered in the Child were conducted to determine whether they had been transferred from the previous generation. Procedures for collecting family study data and their later treatment have been described in the first paper of this series. Results are compiled in Tables 3 and 4. Of the 16

子供集団の15,141標本のうち, 14,592例は TEMM 緩衝液を用いて電気泳動した。そのうち14,575例については表現型を記録できたが, 17例の表現型は明確にできなかった。主バンドが*a*-バンドの陽極側に移動する PGM1 の4種類の“速い変異型”, すなわち  $3_{NG1}$ ,  $4_{HR2}$ ,  $4_{NG1}$  及び  $5_{HR1}$  が52人の子供に検出された。また, 主バンドが*a*-バンドの陰極側に移動するいわゆる“遅い変異型”である  $6_{NG1}$ ,  $6_{NG2}$ ,  $6_{NG3}$ ,  $6_{HR1}$ ,  $6_{HR2}$ ,  $6_{HR3}$  及び  $8_{NG1}$  の7種類が35人の子供に検出された。 $4_{HR2}$ をもつ発端者4人のうち2人はホモ接合体であると思われたが, 残りの85人の子供は, まれな変異型対立遺伝子と, ごく普通に見られる対立遺伝子の  $PGM1^*1$ ,  $PGM1^*2$ , 又は  $PGM1^*7$  に対しヘテロ接合体であった。検出された変異型とこれらの変異型が検出された子供の数は, 表1の第3欄(子供集団)に示してある。表現型が明確に分類できた14,575人の子供のうち, 87人には変異型があったが, 血縁関係のない子供だけを選択すると, 検査総数は10,484になり, 変異型が検出された数は68になる。

二つの集団中に検出された変異型は, 同一澱粉ゲル上で, 繰り返し電気泳動法を行って比較した。成人集団に検出された変異型7種のうち,  $9_{NG1}$ 及び $4_{HR1}$ を除く5種が子供集団にも検出された。一方, 子供集団に検出された11種の変異型のうち  $4_{HR2}$ ,  $4_{NG1}$ ,  $5_{HR1}$ ,  $6_{NG3}$ ,  $6_{HR3}$  及び  $8_{NG1}$  の6種は成人集団には検出されなかった。このうち,  $8_{NG1}$ を除く5種の変異型と成人集団で検出された  $4_{HR1}$ は, 以前には報告されていない新しい変異型であり, これら6種の新しい変異型の特徴は以下に詳しく述べる。今回初めて報告されるまれな変異型6種と, 以前に報告された7種の合計13種の変異型について, 電気泳動ゲルの写真並びに模式図を図1, 2, 4及び5に示した。既に報告した7種の変異型は, 今回新しく報告する6種と移動度を比較するために, 同時に泳動したものである。速い変異型を図1及び2に, 遅い変異型を図4と5に示した。

子供集団に検出されたまれな変異型が, 前世代から遺伝されたものか否かを調べるために, 家族調査が行われた。家族調査データの収集手段及びその後の処理手段については, この一連の報告書の第一報に述べてある。結果は表3, 4にまとめた。成人集団

individuals with variants in the Adult 13 have been reported previously along with results of family study for 12 of them. One remaining,  $6_{NG1}$ , was previously reported without family study. However, a child in the family, who was a member of the Child, was subsequently examined and found to have the same variant. This is reported as variant No. 10 in the family study for the Child (Table 3). Family study was not possible for three propositi reported here for the first time.

#### Newly Encountered Variants

**PGM1  $4_{HR1}$**  - Since Hopkinson and Harris<sup>13</sup> have named variant allozymes whose major band migrated between bands *a* and *b*, PGM1 4, we named the three types of variants detected in our populations whose major bands move between these two bands PGM1  $4_{HR1}$ , PGM1  $4_{NG1}$ , and PGM1  $4_{HR2}$ , and have also designated the alleles which control them as *PGM1\*4HR1*, *PGM1\*4NG1*, and *PGM1\*4HR2*. The migration shift to the anodal side is in the order of  $4_{HR1} > 4_{NG1} > 4_{HR2}$ . The order of the band intensity observed in routine electrophoresis was  $4_{NG1} \geq 4_{HR1} > 4_{HR2}$ , and even the major band of  $4_{NG1}$  which has the strongest intensity of the three was weaker than that of *a*-, *b*-, *c*-, and *d*-bands observed in a heterozygous phenotype. Nevertheless, when the hemolysates freshly prepared from the erythrocytes preserved in liquid nitrogen were treated with 2-mercaptoethanol (2 mM), the intensities of the major bands of  $4_{HR1}$  and  $4_{NG1}$  were almost the same as that of the *a*-band in the heterozygous phenotype and the mobilities of their bands decreased. These phenomena were observed on both Connaught-starch gel and Electrostarch gel.

A variant phenotype of PGM1  $1-4_{HR1}$  was detected in a woman from Hiroshima in the Adult (ID No. [redacted]). The PGM activity was 1.76 IU/g Hb, which was 96% of the normal type (PGM1 1, PGM2 1). The two variant bands were located adjacent to the cathodal side of the *a*- and *d*-bands, respectively, under usual conditions, but they moved to a position midway between the *a*- and *b*-bands after 2-mercaptoethanol treatment as shown in Figures 1 and 2. On the basis of these observations, we conclude that PGM1  $4_{HR1}$  is a labile variant though its activity was maintained in the liquid nitrogen. Family study of the propositus has not yet been possible.

内で変異型を有する者は16人で、その中の13人については以前に報告されており、そのうち12人の家族調査の結果も報告されている。残る1人、 $6_{NG1}$ をもった人については、家族調査なしで以前に報告した。しかし、その家族の子供の1人は、子供集団に含まれていたため、その後検査され、同じ変異型をもつことが認められた。これは、変異型 No.10として、子供集団についての家族調査で報告されている(表3)。成人集団中、今回初めて報告される3人の発端者についての家族調査は不可能であった。

#### 新しく検出された変異型

**PGM1  $4_{HR1}$**  Hopkinson と Harris<sup>13</sup> は、主バンドが *a*-バンドと *d*-バンドの間に移動する変異型アロザイムを PGM1 4 と命名したので、今回の調査集団に検出された3種の変異型で、主バンドがこれら二つのバンド間に移動したものを、PGM1  $4_{HR1}$ 、PGM1  $4_{NG1}$ 、及び PGM1  $4_{HR2}$  と命名し、また、それらをコントロールする対立遺伝子を *PGM1\*4HR1*、*PGM1\*4NG1*、及び *PGM1\*4HR2* と命名した。陽極側への移動度は、 $4_{HR1} > 4_{NG1} > 4_{HR2}$  の順である。通常の電気泳動検査におけるバンドの染色強度は、 $4_{NG1} \geq 4_{HR1} > 4_{HR2}$  の順である。これら三つのうちで最も強く染色される  $4_{NG1}$  の主バンドさえ、ヘテロ接合型の表現型に見られる *a*-, *b*-, *c*-及び *d*-バンドよりも弱くしか染まらなかった。しかし、液体窒素中で保存された赤血球から作製した新鮮な溶血液を、2-メルカプトエタノール(2 mM)で処理すると、 $4_{HR1}$  並びに  $4_{NG1}$  の主バンドは、ヘテロ接合型の表現型の *a*-バンドとほぼ同程度に染色され、移動度は減少した。これらの現象は、Connaught-starch ゲルでも Electrostarch ゲルでも認められた。

PGM1  $1-4_{HR1}$  の変異表現型が、成人集団内の広島的女性1人から検出された(ID No. [redacted])。PGM 活性は 1.76 IU/g Hb であり、正常型 (PGM1 1, PGM2 1) の 96% であった。二つの変異型バンドは、通常の泳動条件では、それぞれ *b*-バンド及び *d*-バンドの陰極側に接するところに位置していたが、2-メルカプトエタノール処理後には、図1及び2に示すように、*a*-バンドと *b*-バンドの中間位置に移動した。これらの観察に基づいて、PGM1  $4_{HR1}$  は液体窒素中で活性を維持してはいたが、不安定な変異型であると結論付けた。発端者の家族調査は、まだできていない。

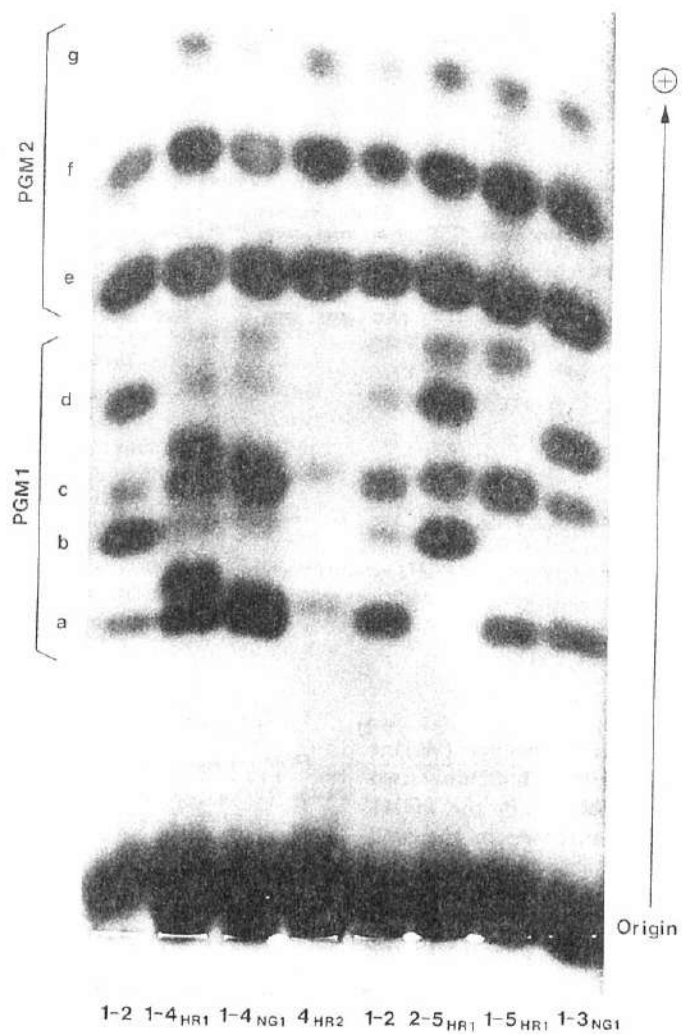


Figure 1. Five types of PGM1 variants migrating faster than PGM1 1 on Electro-starch gel using TEMM buffer, pH 7.4. Hemolysates were treated with 2 mM 2-mercaptoethanol for 30 minutes at 37°C.

図1 TEMM 緩衝液, pH 7.4 を用いた Electro-starch ゲル上で PGM1 1 より速く移動する 5 種の PGM1 変異型. 溶血液は 2 mM の 2-メルカプトエタノールを用い, 37°C で 30 分間処理した

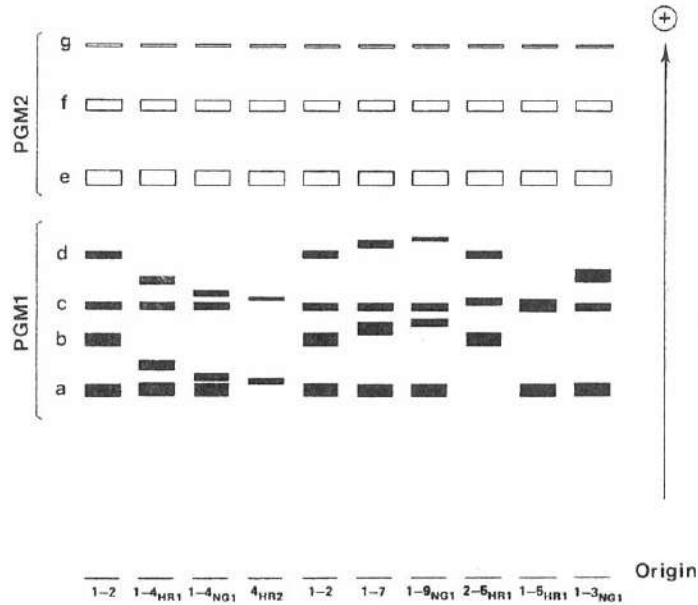


Figure 2. Diagram of six types of PGM1 variants migrating faster than PGM1 1 on starch gel found in Hiroshima and Nagasaki. Conditions same as for Figure 1.

図2 広島・長崎で検出された澱粉ゲル上で PGM1 1 より速く移動する6種の PGM1 変異型の模式図。条件は図1と同じ。

**PGM1 4<sub>HR2</sub>** - In two Hiroshima brothers (variant Nos. 1 & 2), members of the Child, only two very faint bands were observed in the PGM1 area of the zymogram, as shown in the well No. 4 of Figure 1. The location of the major band was slightly anodal to and just adjacent to the position of *a*-band, while the minor band was slightly anodal to and just adjacent to the position of *c*-band. Positions and intensities of the bands did not alter after treatment with 2-mercaptoethanol. Despite the fact that the intensity of the three isozyme bands of PGM2, *e*, *f*, and *g*, were normal, the PGM activities of the brothers were merely 58% and 56% of the mean activity of the normal type (PGM1 1, PGM2 1). The brothers' parents had only *a*- and *c*-bands with very weak intensity as PGM1 isozymes suggesting they have heterozygous phenotypes. The intensity of their three isozyme bands of PGM2 was normal, whereas the total PGM activity was 81% of normal for mother and 67% for father. In naming the allele, which controls the PGM1 allozymes of the brothers, PGM1\*4HR2, two possible phenotypes may be considered, 1) homozygous PGM1 4<sub>HR2</sub> or 2) heterozygous

**PGM1 4<sub>HR2</sub>** 子供集団の広島の実弟2人(変異型No.1及び2)には、図1の well No. 4 に示すように、極めて薄くしか染まらないバンドが2本だけザイモグラムの PGM1 領域に観察された。主バンドは *a*-バンドのわずかに陽極側に、正に隣り合うところにあった。また、副バンドは *c*-バンドのわずかに陽極側、正に隣り合うところにあった。バンドの位置及び染色強度は、2-メルカプトエタノール処理後も変わらなかった。PGM2 の3種のアイソザイムバンド、*e*, *f* 及び *g* の染色強度が正常であったにもかかわらず、この兄弟の PGM 活性値は正常型 (PGM1 1, PGM2 1) の平均活性値の58%と56%にすぎなかった。この兄弟の両親は PGM1 アイソザイムとして、染色強度の極めて低い *a*-バンドと *c*-バンドのみを有しており、ヘテロ接合型の表現型をもつことを示唆した。両親の3本の PGM2 アイソザイムバンドの染色強度は正常であったが、総 PGM 活性は母親で正常値の81%、父親で67%であった。兄弟の PGM1 アロザイムをコントロールする対立遺伝子を PGM1\*4HR2 と命名すると、表現型としては、1) ホモ接合型の PGM1 4<sub>HR2</sub>

PGM1 0-4<sub>HR2</sub>. The two brothers probably have the same phenotype, because their PGM activities were almost identical. 1) If the homozygous phenotype PGM1 4<sub>HR2</sub> is assumed, both parents would be phenotype 1-4<sub>HR2</sub>. Judging from the mobility and the very weak intensity of the variant bands in the brothers, it may be surmised that for the heterozygous phenotype PGM1 1-4<sub>HR2</sub>, variant bands probably would overlap the *a*- and *c*-bands, and it seems most likely that only *a*- and *c*-bands which have an intensity of approximately 1/2 of PGM1 1 would be detected. 2) If they are PGM1 0-4<sub>HR2</sub>, which is a heterozygous phenotype, the parents would have 1-0 and 1-4<sub>HR2</sub>, and thus in either case the intensity of the *a*- and *c*-bands would be 1/2 of that of PGM1 1. In the first case, both parents must possess the same rare variant allele, *PGM1\*4HR2* and for the second case, they would have to possess two different and rare variant alleles, *PGM1\*4HR2* and *PGM1\*Q0*. As shown in the family pedigree in Figure 3, there were two instances of consanguineous marriage in this family, one involving the parents. As the grandmother on the brothers' paternal side was PGM1 1-2, if either I-1 or I-2 had *PGM1\*4HR2*,

又は2) ヘテロ接合型の PGM1 0-4<sub>HR2</sub> の二つが考えられる。この兄弟は PGM 活性がほぼ同一なので、恐らく同じ表現型を有しているであろう。1) もしホモ接合表現型 PGM1 4<sub>HR2</sub> と仮定すると、両親は共に 1-4<sub>HR2</sub> という表現型であると考えられる。兄弟の変異型バンドの移動度と、それが非常に弱くしか染まらないことを考えると、ヘテロ接合表現型 PGM1 1-4<sub>HR2</sub> においては、変異型バンドは恐らく *a*-バンド及び *c*-バンドに重なること、及び染色強度が表現型 PGM1 1 の場合のほぼ 1/2 しかない *a*-バンド及び *c*-バンドのみが検出される可能性が大きい。2) もし、ヘテロ接合表現型の PGM1 0-4<sub>HR2</sub> であると仮定すると、両親の表現型は、1-0 と 1-4<sub>HR2</sub> となり、いずれの場合も、*a*-バンド及び *c*-バンドの染色強度は PGM1 1 の場合の 1/2 になるであろう。第一の場合は、両親とも同じまれな変異型の対立遺伝子 *PGM1\*4HR2* を有するはずであり、第二の場合では、2種の異なるまれな変異型対立遺伝子の *PGM1\*4HR2* と *PGM1\*Q0* を有しているはずである。図3の家系図に示すように、この家系には2回の近親婚があり、そのうち1回は両親の結婚である。兄弟の父方の祖母が PGM1 1-2 であり、もし I-1 か I-2 が *PGM1\*4HR2*

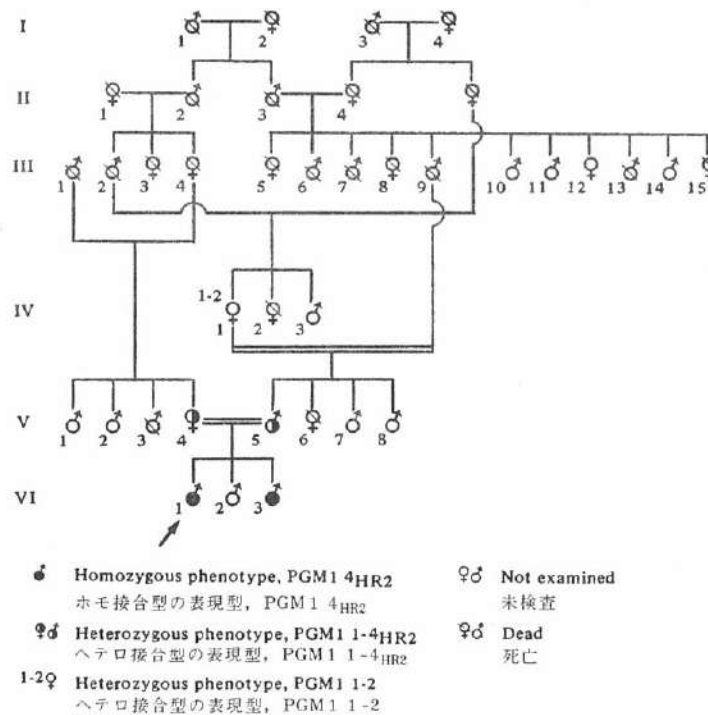


Figure 3. Pedigree of family with a homozygous PGM1 4<sub>HR2</sub>.

図3 ホモ接合型 PGM1 4<sub>HR2</sub> を有する家族の家系図

it is possible that the phenotypes of both parents of the brothers could be  $PGM1\ 1-4_{HR2}$ . The frequency of  $PGM1\ *4_{HR2}$  in the Child which excludes siblings and is composed of unrelated individuals is  $2/10,000$  at most, as shown in this report. On the basis of this frequency and the family pedigree, the probability for both parents to have  $PGM1\ 1-4_{HR2}$  is calculated to be  $(1/2)^7 \times 1/5,000 = 1.6 \times 10^{-6}$ . Although the frequency of  $PGM1\ *Q0$  is not clear, when the mean value of  $1/1,000$  for frequency of deficiency variants of 11 types of erythrocyte enzyme is used,<sup>7</sup> the frequency in the second case in which the phenotypes of parents are  $1-0$  and  $1-4_{HR2}$  will be  $(0.75)^2 \times 1/5,000 \times 1/1,000 = 1.1 \times 10^{-7}$ , which demonstrates that the probability for the first case is approximately 10-fold higher than the second. Given the consanguinity it seems more reasonable to consider the phenotype as homozygous  $PGM1\ 4_{HR2}$  than to suppose two very rare phenotypes occur together in a family of the same generation.

A male child of Hiroshima (variant No. 3) in the Child who was unrelated to the brothers described above showed two very faint bands with the same mobility as that of  $PGM1\ 4_{HR2}$  together with *b*- and *d*-bands. This phenotype was named  $PGM1\ 2-4_{HR2}$ . Though the intensity of *e*-, *f*-, and *g*-bands of this sample was normal, PGM activity was 76% of normal. A male child (variant No. 4) who is in the same population and is also a younger brother of the proband had been detected as  $PGM1\ 1-0$  through screening before the proband was examined. The reason for suggesting this phenotype was that the intensities of the *a*- and *c*-bands of his  $PGM1$  were as weak as those in the heterozygous phenotype, and the PGM activity was only 77% of normal. Since the elder brother (variant No. 3) was later found to have  $PGM1\ 2-4_{HR2}$  with reduced PGM activity, the younger brother's phenotype was assumed to be  $1-4_{HR2}$ . The allozymes and intensity of  $PGM1$  of the mother were identical to those of the younger brother and the PGM activity was 78% of normal. Thus her phenotype was assumed to be  $1-4_{HR2}$ . The father was  $PGM1\ 1-2$ , and another younger brother was  $PGM1\ 1$ . Their PGM activities were 95% and 93%, respectively, of normal. For this family, again, it is possible to assume the presence of  $PGM1\ *Q0$  in the younger brother and mother, and the assumption can be made that the allele

を有していれば、兄弟の両親の表現型がいずれも  $PGM1\ 1-4_{HR2}$  であり得る。同胞を除外し、血縁関係のない個人で構成された子供集団の  $PGM1\ *4_{HR2}$  の頻度は、この報告に示したように最大で  $2/10,000$  である。この頻度と家系図を基にして、両親ともに  $PGM1\ 1-4_{HR2}$  を有する確率を計算すると  $(1/2)^7 \times 1/5,000 = 1.6 \times 10^{-6}$  となる。 $PGM1\ *Q0$  の頻度は明確ではないが、11種の赤血球酵素の活性減少変異型の頻度の平均値が  $1/1,000$  であることを用いると、<sup>7</sup> 第二の場合、すなわち両親の表現型が  $1-0$  及び  $1-4_{HR2}$  である確率は、 $(0.75)^2 \times 1/5,000 \times 1/1,000 = 1.1 \times 10^{-7}$  となる。このことから、第一の場合の確率は第二の場合の確率の約10倍高いことを示している。近親婚があることを考えると、兄弟の表現型はホモ接合型  $PGM1\ 4_{HR2}$  であると考えた方が、同世代の一つの家族内に二つの非常にまれな表現型が発生したと推定するよりも、妥当性があると考えられる。

子供集団の前述の兄弟とは血縁関係のない広島の子供集団の兄弟(変異型No.3)は、*b*-バンドと*d*-バンドと共に、 $PGM1\ 4_{HR2}$ の移動度と同じ移動度をもつ二つの非常に染色度の弱いバンドを示した。この表現型は  $PGM1\ 2-4_{HR2}$  と名付けられた。この標本の *e*-, *f*-及び*g*-バンドの染色強度は正常であったが、PGM活性は正常値の76%であった。同じ集団に属し、発端者の弟である男子(変異型No.4)には、発端者が検査される以前に行われたスクリーニングにおいて、表現型  $PGM1\ 1-0$  が検出された。この表現型と考えられた理由は、彼の  $PGM1$  の *a*-バンド及び*c*-バンドの染色強度が、ヘテロ接合の表現型のそれと同じように弱く、PGM活性が正常値の77%にすぎなかったからである。後に、兄(変異型No.3)には、活性の低い  $PGM1\ 2-4_{HR2}$  のあることが分かったので、弟の表現型は  $1-4_{HR2}$  であると推定された。母親のアロザイムと  $PGM1$  染色強度は弟と同じであり、PGM活性は正常値の78%であった。したがって、母親の表現型は  $1-4_{HR2}$  であると推定された。父親は  $PGM1\ 1-2$ 、もう1人の弟は  $PGM1\ 1$  であった。彼らの PGM 活性はそれぞれ正常値の95%及び93%であった。この家族においてもやはり、弟と母親に  $PGM1\ *Q0$  の存在を推定し、兄の対立遺伝子

TABLE 3 FAMILY STUDIES OF VARIANTS OF PGM1 IN THE CHILD  
 表3 子供集団における PGM1 変異型についての家族調査

Variant No.	City	Propositus			Mother	Father	Other family member	Comments
		Variant type	ID No.	Sex				
1	H	4HR2		M	♀	♂	♀ Grandmother	*1
2	H	4HR2		M				
3	H	4HR2		M	♀	♂	♂ Brother	
4	H	4HR2		M	♀	♂		
5	N	4NG1		M	♀	♂	♂ Brother	
6	H	4NG1		F	♀	♂		
7	H	4NG1		M	♀	♂	♂ Brother	
8	H	5HR1		M	♀	♂		
9	H	5HR1		M	♀	♂		
10	N	6NG1		M	♀	NT	♂ Brother	*2
11	N	6NG2		M	♀	♂	♀ Grandmother	
12	N	6NG2		M	♀	♂	♀ Sister	
13	N	6NG2		F	♀	NT		
14	N	6NG2		M	♀	Dead		
15	N	6NG2		F	♀			
16	N	6NG2		M	♀	♂		
17	N	6NG2		F	♀	♂	♂ Brother	
18	H	6NG2		F	Dead	♂		
19	H	6NG2		M	♀	♂		
20	H	6NG2		M	♀	♂		
21	N	6NG3		M	♀	♂		
22	H	6HR1		M	♀	♂		*3
23	N	6HR2		M	NT	♂	♂ Grandfather	*4
24	H	6HR2		M	♀	♂		
25	H	6HR2		F	♀	♂		
26	H	6HR2		M	♀	♂		
27	H	6HR3		F	♀	♂		
28	H	6HR3		M	♀	♂		
29	H	6HR3		F	NT	NT		
30	H	6HR3		F	♀	♂		
31	N	8NG1		M				
32	N	8NG1		F	♀	♂	♂ Brother	
33	N	8NG1		F				
34	N	8NG1		M				
35	N	8NG1		M	♀	♂		
36	N	8NG1		M	♀	♂		
37	N	8NG1		F	♀	♂		
38	N	8NG1		M	♀	♂		
39	N	8NG1		M	♀	♂	♀ Sister	
40	N	8NG1		F	♀	♂		
41	N	8NG1		F	♀	♂	♂ Brothers	
42	H	8NG1		F	♀	♂	♂ Brothers	
43	H	8NG1		M	♀	Dead	♀ Sister	
44	H	8NG1		M	♀	♂	♀ Sister	

Symbols used in Table 3: 表3に使用された符号:

♀, ♂ Heterozygote for variant alleles at PGM1 locus

PGM1 座位の変異型対立遺伝子に対するヘテロ接合体.

♀, ♂ Homozygote for normal PGM1\*1 正常な PGM1\*1 に対するホモ接合体.

NT Not tested 未検査

|| Siblings or other family members 同胞あるいはその他の家族員.

\*1 Male siblings homozygous for PGM1\*4HR2 (see Figure 2). Paternal grandmother PGM1 1-2

男の同胞で PGM1\*4HR2 に対するホモ接合体(図2参照). 父方の祖母は PGM1 1-2.

\*2 Mother in the Adult, her variant previously reported. Maternal grandmother affected

母親は成人集団に属し, その変異型は前回報告された. 母方の祖母も変異型をもつ.

\*3 Mother in the Adult, previously reported as PGM1 1-6HR1 using histidine-citrate buffer

母親は成人集団に属し, ヒスチジン-クエン酸緩衝液を用いて, PGM1 1-6HR1 であると前回報告されている.

\*4 Father and paternal grandfather in the Adult, both affected, previously reported

父親と父方の祖父は成人集団に属し, 共に変異型をもち, 前回報告されている.

*PGM1\*4HR2* of the elder brother was brought about by mutation. However, rather than assuming that two rare phenomena had occurred together, it seems more plausible that the rare allele, *PGM1\*4HR2*, had been transferred from the mother to her two children, but inasmuch as the mobility of  $4_{HR2}$  differed only slightly from that of the *a*- and *c*-bands and the activity is very weak, the bands of  $4_{HR2}$  of the mother and younger brother failed to separate and were not recognizable.

**PGM1  $4_{NG1}$**  - When usually prepared hemolysates were used, the intensities of both the major and minor bands of the variant allozyme detected in a male child in Nagasaki (variant No. 5) and a female child (variant No. 6) and her elder brother (variant No. 7) in Hiroshima were weak, and the major band located on the anodal side to the center between the *a*- and *b*-bands and its anodal side was almost in contact with the cathodal side of *b*-band. The major band of this variant was separable from the *a*-band, whereas that of *PGM1 4<sub>HR2</sub>* described above, was not. However, there were instances where complete separation was not possible due to slight differences in the electrophoretic conditions or to different lots of starch. In other words, there were instances where only a broad band was observed indicating the presence of a variant band, but not separable from one another into two bands. The mobility was similar to that of *PGM1 4*, reported by Hopkinson and Harris,<sup>13</sup> with a similarly weak intensity. The allozyme was named *PGM1 4<sub>NG1</sub>*. But when hemolysates, freshly prepared from erythrocytes stored in liquid nitrogen, treated with 2-mercaptoethanol were used, the major and the minor bands moved anodally to but could hardly be separated from the *a*-band or *c*-band, though their intensity was only slightly weaker than that of the *a*- or *c*-band (Figures 1 and 2). The phenotypes of the Nagasaki child, his father, two siblings of Hiroshima and their mother were all *1-4<sub>NG1</sub>*. PGM activity of these five people was within 89%-101% of normal.

**PGM1  $5_{HR1}$**  - In a Hiroshima male child (variant No. 8), a variant band was detected slightly anodal to the *c*-band together with *b*- and *d*-bands. The intensity was about the same or weaker than that of the *c*-band in a heterozygous phenotype. This phenotype was named *PGM1 2-5<sub>HR1</sub>*. Only two bands, the *a*-band and a broad *c*-band, were detected as the allozyme of *PGM1* of the elder

*PGM1\*4HR2* は突然変異によるものだと考えることもできる。しかし、二つのまれな現象が同時に生じたと推定するよりも、まれな対立遺伝子 *PGM1\*4HR2* が母親から彼女の2人の子供に受け継がれたが、 $4_{HR2}$ の移動度は、*a*-バンド及び*c*-バンドの移動度とわずかに異なるにすぎず、活性は非常に弱いので、母親と弟の $4_{HR2}$ のバンドを*a*-、*c*-バンドと分離して、別のバンドとして認めることができなかったとする方がより妥当と思われる。

**PGM1  $4_{NG1}$**  普通の方法で作製された溶血液を使用した場合、長崎の男子(変異型No.5)と広島的女子(変異型No.6)とその兄(変異型No.7)に検出された変異型アロザイムの主バンドと副バンドの染色強度はいずれも弱く、主バンドは、*a*-バンドと*b*-バンドの中間点より陽極側に位置し、その陽極側は、*b*-バンドの陰極側とほぼ接触していた。この変異型の主バンドは*a*-バンドと分離できたが、上述した *PGM1 4<sub>HR2</sub>* の主バンドは*a*-バンドと分離できなかった。しかし、電気泳動条件のわずかな相違、又は澱粉の lot の相違により、変異型の主バンドを*a*-バンドから完全に分離することが不可能な場合もあった。言い換えれば、変異型バンドの存在を示唆する幅広いバンドが見られたが、それらのバンドを二つのバンドとして分離できなかった場合もあった。移動度は、Hopkinson と Harris<sup>13</sup> により報告された *PGM1 4* とよく似ており、染色強度も同様に弱かった。このアロザイムは *PGM1 4<sub>NG1</sub>* と命名された。しかし、液体窒素中に保存された赤血球から新たに溶血液を作り、2-メルカプトエタノールで処理してから泳動を行うと、主バンドと副バンドは*a*-バンド及び*c*-バンドの陽極側へと動いたが、それらのバンドを分離することはできなかった。しかし、主バンドと副バンドの染色強度は*a*-バンド、*c*-バンドの染色強度よりそれぞれわずかに弱くなっただけだった(図1と2)。長崎の子供、その父親、広島の子供の2人の同胞及びその母親の表現型は全員が *1-4<sub>NG1</sub>* であった。これら5人のPGM活性は、正常人の89%-101%の範囲にあった。

**PGM1  $5_{HR1}$**  *c*-バンドよりもわずかに陽極側に動く変異型バンドが、*b*-バンド及び*d*-バンドとともに、広島の子(変異型No.8)に検出された。染色強度はヘテロ接合型の表現型の*c*-バンドとほぼ同程度か又は弱かった。この表現型は *PGM1 2-5<sub>HR1</sub>* と命名された。発端者の兄(変異型No.9)の *PGM1* のアロザイムとしては、*a*-バンドと幅の広い*c*-バンドの



brother (variant No. 9) of the propositus. The intensity of his *a*-band was the same as that of the *a*-band of heterozygous phenotype and the *c*-band was broad on the anodal side, the intensity of the two bands being almost equal. All of these observations suggested that he is a heterozygote for a variant allele and *PGM1\*1* and his phenotype was assumed to be 1-5<sub>HR1</sub>. The two bands observed in the father also demonstrated the same characteristics as those in the elder brother, and thus, he was likewise assumed to be 1-5<sub>HR1</sub>. The mother was 1-2. The PGM activity of the two children was 88% of the normal value. The father's value was

2本だけが検出された。この人の *a*-バンドの染色強度は、ヘテロ接合型の表現型に見られる *a*-バンドと同じであり、*c*-バンドは陽極側へと幅広くなっており、二つのバンドの染色強度はほぼ等しかった。これらの所見のすべてが、この人が変異型対立遺伝子と *PGM1\*1* に対してヘテロ接合体であることを示唆しており、その表現型は 1-5<sub>HR1</sub> と推定された。父親に認められた2本のバンドは兄と同じ特徴を示し、彼もまた 1-5<sub>HR1</sub> と推定された。母親は 1-2 であった。2人の子供の PGM 活性は正常値の88%であった。

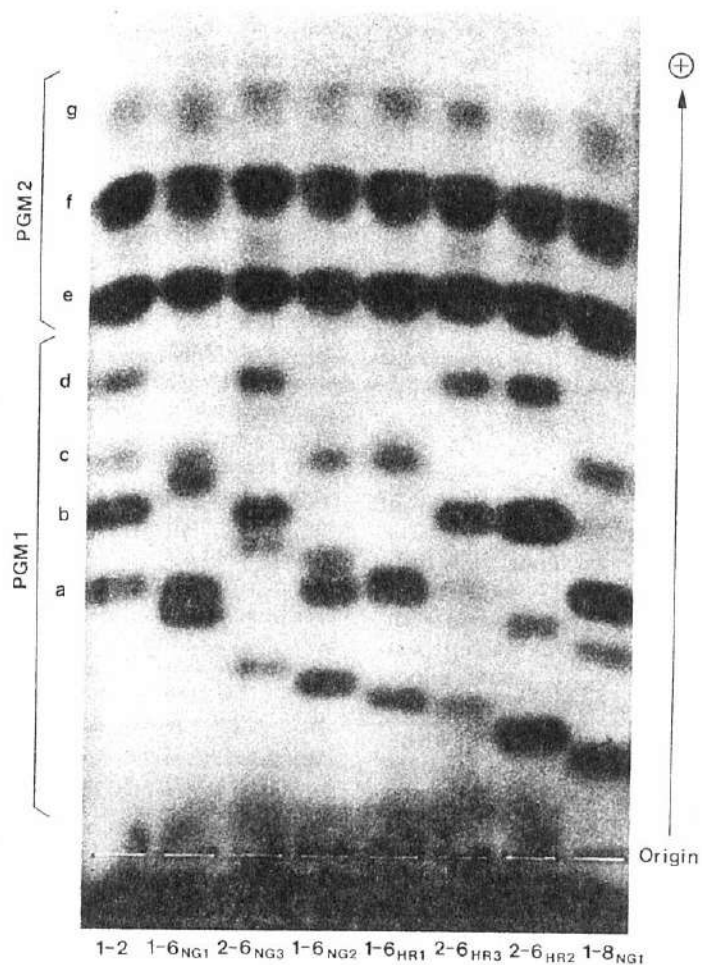


Figure 4. Seven types of PGM1 variants with a major band migrating slower than the *a*-band on starch gel using TEMM buffer, pH 7.4.

図4 TEMM 緩衝液、pH 7.4 を用いた澱粉ゲル上で *a*-バンドより遅く移動する主バンドをもつ7種の PGM1 変異型

94%, while the mother was 107%. In the case of phenotype 1-5<sub>HR1</sub>, it is quite possible to overlook 5<sub>HR1</sub> and consider it as 1 in the screening because the variant band does not separate from the c-band.

父親の値は94%で、母親は107%であった。表現型 1-5<sub>HR1</sub>の場合、変異型バンドがc-バンドから分離できないので、スクリーニングにおいては5<sub>HR1</sub>を見落とし1とみなす可能性が高い。

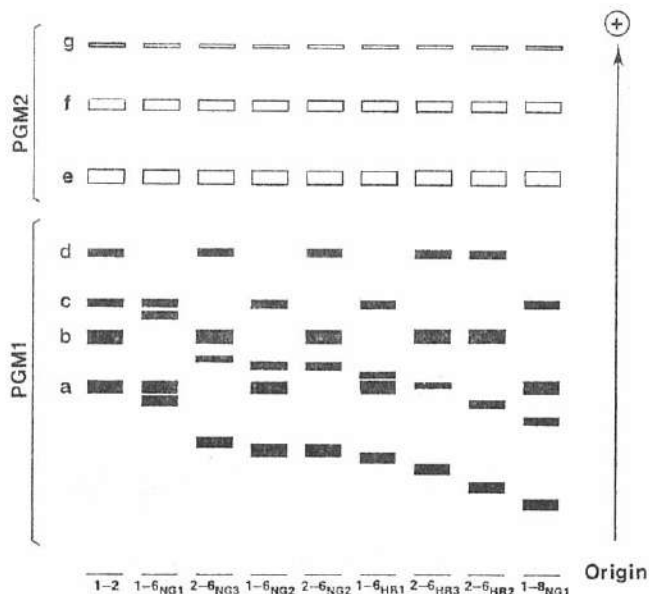


Figure 5. Diagram of seven Hiroshima and Nagasaki PGM1 variants having a major band migrating slower than the a-band. Conditions same as for Figure 4.

図5 a-バンドより遅く移動する主バンドを有する広島と長崎の7種のPGM1変異型の模式図。条件は図4と同じ。

**PGM1 6<sub>NG3</sub>** - Two variant bands detected in a male child from Nagasaki (variant No. 21) migrated slightly more to the anodal side than the two bands of PGM1 6<sub>NG2</sub>. The minor band located closer to the b-band than midway between the a- and b-bands. Thus this variant was obviously different from 6<sub>NG2</sub> whose minor band was closer to the a-band, and it was named 6<sub>NG3</sub>. It was already reported that 6<sub>NG2</sub> demonstrated the same mobility on SGE as standard PGM1 6,<sup>14</sup> which was provided us by Dr. Lie-Injo, regardless of whether TEMM buffer system or histidine-citrate discontinuous buffer system was employed.<sup>4</sup> The phenotype of the propositus and his father was PGM1 2-6<sub>NG3</sub>, and of the mother, PGM1 2. The intensities of the two variant bands in both the propositus and his father were much weaker than those of the simultaneously detected b- and d-bands, and even the intensities of the major bands were weaker than those of any of the four bands,

**PGM1 6<sub>NG3</sub>** 長崎の男子(変異型No.21)に検出された2本の変異型バンドは、PGM1 6<sub>NG2</sub>の2本の変異型バンドよりやや陽極側に移動した。副バンドは、a-バンドとb-バンドの中間点よりもb-バンドに近いところにあった。このように、この変異型は副バンドがa-バンドに近いところにある6<sub>NG2</sub>とは明らかに異なっており、6<sub>NG3</sub>と命名された。6<sub>NG2</sub>は、TEMM緩衝液を用いて泳動しても、またヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液を用いて泳動した場合も、澱粉ゲル電気泳動で、Dr. Lie-Injoによって提供された標準PGM1 6<sup>14</sup>と同様の移動度を示すことは既に報告した。<sup>4</sup>発端者とその父親の表現型はPGM1 2-6<sub>NG3</sub>であり、母親はPGM1 2であった。発端者と父親両者に見られた2本の変異型バンドの染色強度は、同時に検出されたb-バンド及びd-バンドよりもはるかに弱く、主バンドの染色強度でさえ、表現型1-2のa, b, c及びdの4本のバンドのどれよりも弱かつ

*a*, *b*, *c*, and *d*, of phenotype 1-2. Therefore, since the intensities of the two variant bands of  $6_{NG2}$  are the same as those of the *a*- and *c*-bands, respectively,  $6_{NG3}$  differs from  $6_{NG2}$  not only in mobility but also in activity. When comparison of PGM activity was made with the normal type, the activity of the propositus and his father was 84% and 71%, respectively, both of which were lower than that of the mother in whom it was 95%, whose phenotype was 2.

**PGM1  $6_{HR3}$**  - A variant whose major band moved faster than  $6_{HR2}$ , but slower than  $6_{HR1}$  on electrophoresis in the TEMM buffer system, was detected in four children in Hiroshima (three unrelated children and a sibling of one), and was named  $6_{HR3}$ . Two slow variants,  $6_{HR1}$  and  $6_{HR2}$  have already been reported. In phenotype 2- $6_{HR3}$  (variant No. 30), a minor band with weak intensity was detected at the location of the *a*-band, but in three cases of another phenotype, 1- $6_{HR3}$ , it was completely overlapped by *a*-band. Various alterations of electrophoretic conditions failed to separate it from *a*-band or to broaden the *a*-band which can suggest the existence of a variant band. In the three cases of 1- $6_{HR3}$ , the intensity of the major band of  $6_{HR3}$  was almost the same or weaker than that of the *c*-band, and the intensity of the minor band detected in 2- $6_{HR3}$  was extremely weak. Of the four children, 1- $6_{HR3}$  was detected in the father of two siblings (variant Nos. 27 & 28) and the father of a female child (variant No. 30), but for a remaining female child (variant No. 29), study of parents was not possible. Though the intensity of the bands of  $6_{HR3}$  was weak, PGM activity in two cases of 1- $6_{HR3}$  and a single case of 2- $6_{HR3}$ , in whom the PGM activity could be determined, was 93%, 98%, and 93% of normal, respectively.

#### *Variants Already Encountered in the Adult*

**PGM1  $3_{NG1}$**  - It was reported earlier that five cases were detected in the Adult all in Nagasaki, but subsequently one case (ID No. [redacted]) was found in Hiroshima. In the Child, this variant was detected in 43 individuals; when seven cases among siblings were excluded, this variant was found in 36 unrelated individuals. Of the 36, 12 were born in Hiroshima and 24 in Nagasaki. The results of family studies of these 43 individuals from 36 families are summarized in Table 4. Among the 25 cases in whom both parents could be studied,  $3_{NG1}$

た。  $6_{NG2}$  の 2 本の変異型バンドの染色強度は、*a*-バンド及び *c*-バンドとそれぞれ同じなので、  $6_{NG3}$  は、移動度だけでなく活性においても  $6_{NG2}$  とは異なっている。正常型と PGM 活性の比較をすると、発端者とその父親の活性はそれぞれ 84% と 71% で、表現型が 2 であり、活性が 95% を示した母親よりも低かった。

**PGM1  $6_{HR3}$**  TEMM 緩衝液を用いた電気泳動法において、主バンドが  $6_{HR2}$  より速く、  $6_{HR1}$  より遅く移動する変異型バンドが広島の子供 (3 人は血縁関係のない子供で、残る 1 人は 3 人のうち 1 人の同胞) に検出され、  $6_{HR3}$  と命名された。  $6_{HR1}$  と  $6_{HR2}$  の二つの遅い変異型については、既に報告されている。表現型 2- $6_{HR3}$  (変異型 No. 30) においては、弱い染色強度をもつ副バンドが *a*-バンドの位置に検出されたが、別の表現型 1- $6_{HR3}$  をもった 3 例では、副バンドは完全に *a*-バンドと重なっていた。電気泳動条件を様々に変化させたけれども、副バンドを *a*-バンドと分離させることはできず、また、*a*-バンドの幅を広くして変異型バンドの存在を示唆するようにすることもできなかった。1- $6_{HR3}$  の 3 例において、  $6_{HR3}$  の主バンドの染色強度は *c*-バンドとほぼ同じか、又はそれよりも弱く、2- $6_{HR3}$  に検出された副バンドの染色強度は非常に弱かった。4 人の子供のうち、2 人の同胞 (変異型 No. 27 と 28) の父親と 1 人の女の子供 (変異型 No. 30) の父親に 1- $6_{HR3}$  が検出されたが、残りの女の子供 (変異型 No. 29) の両親の検査はできなかった。  $6_{HR3}$  のバンドの染色強度は弱かったが、PGM 活性が測定できた 1- $6_{HR3}$  の 2 例と 2- $6_{HR3}$  の 1 例の PGM 活性は、それぞれ正常値の 93%、98%、93% であった。

#### 成人集団において既に検出された変異型

**PGM1  $3_{NG1}$**  成人集団に 5 例検出され、そのすべてが長崎から検出されたことを以前に報告した。その後 1 例 (ID No. [redacted]) が広島で検出された。子供集団では、この変異型は 43 人に検出された。7 人の同胞を除くと、血縁関係のない 36 人に検出されたことになる。36 人中、12 人は広島で、24 人は長崎で生まれた。これら 43 人、36 家族の調査結果を表 4 にまとめた。両親ともに検査できた 25 例では、片親に  $3_{NG1}$  が検出

TABLE 4 FAMILY STUDIES FOR PGM1 1-3<sub>NG1</sub> AND PGM1 2-3<sub>NG1</sub> FOUND IN THE CHILD表4 子供集団に検出された PGM1 1-3<sub>NG1</sub> と PGM1 2-3<sub>NG1</sub> についての家族調査

	Propositus		Mother	Father
	Combined	Hiroshima		
12	3	9	♀	♂
13	5	8	♀	♂
2	2	0	♀	Dead
1	0	1	♀	NT
1	0	1	Dead	♂
1	0	1	Dead	♂
2	0	2	NT	Dead
3	2	1	NT	NT
1	0	1	Dead	Dead

♀,♂ Heterozygote for PGM1\*3<sub>NG1</sub> PGM1\*3<sub>NG1</sub> のヘテロ接合体.

♀,♂ Homozygote for normal PGM1\*1 正常な PGM1\*1 のホモ接合体.

NT Not tested 未検査.

was detected in one parent, thus confirmed as a genetic variant. In addition, in four out of five cases where only one parent could be studied, the parent had 3<sub>NG1</sub>. In the fifth, the father had 1-2 while the mother was deceased. In the six cases remaining, family studies were not possible. Among the rare variants, 3<sub>NG1</sub> is the most frequently encountered (Table 1), and the frequency in the Representative was 0.0015 (Table 2). However, the frequency in Nagasaki was 2.5 times higher than in Hiroshima (0.0022 vs 0.0009).

When variants PGM1 3<sub>OKINAWA</sub> detected in Ryukyu islanders of Okinawa, the frequency of the allele which controls the isozyme PGM1 3<sub>OKINAWA</sub> being 0.0039,<sup>15</sup> and PGM1 3<sub>NG1</sub> were compared on the same gel using TEMM buffer, the locations of the major bands on gels of both Connaught-starch and Electrostarch were the same, as were those of the minor bands for these two variants on Connaught-starch gel. No minor band could be detected on electrostarch gel for these two variants.

Though the intensity of the major band of 3<sub>NG1</sub> was much stronger than that of *a*- or *b*-bands, the intensity of the minor band was weaker than that of *c*- or *d*-bands. PGM activity of individuals having 1-3<sub>NG1</sub> phenotype was normal; the mean activities for propositi, affected parents, nonaffected parents were 1.98 IU/g Hb, 1.96 IU/g Hb, 1.90 IU/g Hb,

され、遺伝的変異型であることが確認された。更に、片親だけの検査ができた5例中4例の親が3<sub>NG1</sub>を有していた。第5例では、父親が1-2で、母親は死亡していた。残りの6例の家族調査はできなかった。まれな変異型のうち、3<sub>NG1</sub>は最も多く検出され(表1)、代表者集団における頻度は0.0015(表2)であった。しかし、長崎における頻度は広島より2.5倍高かった(0.0022対0.0009)。

沖縄の琉球諸島の住民に検出されたアイソザイム PGM1 3<sub>OKINAWA</sub> をコントロールする対立遺伝子の頻度は0.0039であったが、<sup>15</sup> この変異型 PGM1 3<sub>OKINAWA</sub> と PGM1 3<sub>NG1</sub> を、TEMM 緩衝液を用いて同じゲル上で比較したところ、それぞれの主バンドの位置は、Connaught-starch ゲルにおいても、Electrostarch ゲルにおいても同じ位置にあり、Connaught-starch ゲル上の両者の副バンドも、同じ位置に認められた。Electrostarch ゲル上では、この二つの変異型の副バンドは検出できなかった。

3<sub>NG1</sub> の主バンドの染色強度は、*a*-バンド又は*b*-バンドよりもずっと強かったが、副バンドの染色強度は、*c*-バンド又は*d*-バンドよりも弱かった。1-3<sub>NG1</sub> 表現型を有する対象者の PGM 活性は正常であり、発端者、変異型をもった親、変異型をもたない親の活性の平均値は、それぞれ 1.98IU/g Hb, 1.96IU/g Hb,

respectively (Table 5). Thus, it appears that PGM1 3<sub>NG1</sub> allozyme is more stable than PGM1 1 allozyme, that the degree of change from major to minor band is smaller than that from *a* to *c* or *b* to *d*, and that consequently, the major band of 3<sub>NG1</sub> shows the strongest intensity of the three major bands.

1.90IU/g Hbであった(表5)。したがって、PGM1 3<sub>NG1</sub> アロザイムは PGM1 1 アロザイムよりも安定であり、主バンドから副バンドへの変化の程度は、*a* から *c*、又は *b* から *d* への変化に比べて小さく、その結果、3<sub>NG1</sub>の主バンドは、3本の主バンドの中で最も強い染色強度を示すようになってきているようである。

TABLE 5 PGM ACTIVITIES OF CHILDREN WITH PHENOTYPE PGM1 1-3<sub>NG1</sub> AND THOSE OF FAMILY MEMBERS

表5 表現型 PGM1 1-3<sub>NG1</sub> を有する子供と、その家族の PGM 活性

		n	PGM activity	
			Mean (IU/g Hb)	SD (IU/g Hb)
Propositus	Combined	15	1.98	0.21
	Hiroshima	8	2.01	0.23
	Nagasaki	7	1.95	0.20
Family	Affected (Hiroshima)	9	1.96	0.16
	Not affected (Hiroshima)	6	1.90	0.25

**PGM1 6<sub>NG1</sub>** - This is a variant detected as 1-6<sub>NG1</sub> in a woman (ID No. [redacted]) of the Adult, living in Nagasaki.<sup>5</sup> Since the variant was detected at the same time through family study in her son (ID No. [redacted]), a subject of the Child, he was regarded as the propositus and the results of the family study are shown in Table 3 (variant No. 10). 1-6<sub>NG1</sub> was also detected in his maternal grandmother. The major band of 6<sub>NG1</sub> located adjacent to the cathodal side of the *a*-band is the fastest variant among the so-called slow variants.<sup>4</sup> The PGM activity of the propositus was 1.96 IU/g Hb (107% of normal).

**PGM1 6<sub>NG1</sub>** これは、長崎在住の成人集団内の女性対象者1人(ID No. [redacted])に1-6<sub>NG1</sub>として検出された変異型である。<sup>5</sup> この変異型は、子供集団の対象者でもある彼女の息子(ID No. [redacted])に、家族調査の際に同時に検出されたので、息子を発端者とするこゝにして、その家族調査の結果を表3(変異型No.10)に示した。1-6<sub>NG1</sub>は、また、彼の母方の祖母にも検出された。6<sub>NG1</sub>の主バンドは*a*-バンドの陰極側に接した位置にあり、いわゆる遅い変異型<sup>4</sup>の中では、最も速い変異型である。発端者の PGM 活性は 1.96IU/g Hb(正常値の107%)であった。

**PGM1 6<sub>NG2</sub>** - This variant was the most frequently found slow variant. Its major and minor bands have exactly the same mobility as those of the PGM1 6 provided by Dr. Lie-Injo.<sup>4</sup> Among the three cases detected in the Adult, two cases of 1-6<sub>NG2</sub> have already been reported.<sup>5</sup> Subsequently one case was detected as 2-6<sub>NG2</sub> in a Hiroshima individual (ID No. [redacted]). In the Child, PGM1 6<sub>NG2</sub> was found in 10 individuals, but if those detected in siblings are excluded, one case each of 2-6<sub>NG2</sub> and 7-6<sub>NG2</sub> were detected in Hiroshima and five cases of 1-6<sub>NG2</sub> in Nagasaki, totaling seven 6<sub>NG2</sub> cases. The results of family studies of these seven cases are shown in Table 3. In four cases, both parents

**PGM1 6<sub>NG2</sub>** この変異型は遅い変異型の中では最も多く検出された。その主バンド及び副バンドは、Dr. Lie-Injo によって提供された PGM1 6<sup>4</sup> のバンドと全く同じ移動度を示す。成人集団で検出された3例のうち、1-6<sub>NG2</sub>の2例は既に報告してある。<sup>5</sup> その後、広島の対象者(ID No. [redacted])に2-6<sub>NG2</sub>が1例検出された。子供集団において PGM1 6<sub>NG2</sub>が10人に検出されたが、同胞に検出されたものを除くと、2-6<sub>NG2</sub>と7-6<sub>NG2</sub>が各1例広島で、1-6<sub>NG2</sub>が5例長崎で、計7例の6<sub>NG2</sub>が検出された。これら7例の家族調査の結果を表3に示した。4例において、

were examined and  $6_{NG2}$  was detected in one parent of each case. In two cases where only one parent was studied,  $6_{NG2}$  was found, while in the remaining case, one parent showed 1-2 but the other parent was dead. The mean PGM activity of the 10 propositi with  $6_{NG2}$  in the Child was 1.93 IU/g Hb (SD=0.26 IU/g Hb), and that of the five parents with variants was 1.80 IU/g Hb (SD=0.30 IU/g Hb), 105% and 98% of normal, respectively. In view of the fact that the value of the four parents with normal type was 1.92 IU/g Hb (SD=0.26 IU/g Hb), PGM1  $6_{NG2}$  activity is assumed to be normal. Band intensities of  $6_{NG2}$  suggested the same conclusion. The frequency of the allele PGM1\* $6_{NG2}$  in Nagasaki was higher than in Hiroshima in the Representative (Table 2): 0.00039 vs 0.00022.

**PGM1  $6_{HR1}$**  - The minor band of this variant was observed to migrate slightly anodal to the position of the  $a$ -band in the phenotype PGM1 2- $6_{HR1}$ , but in 1- $6_{HR1}$ , it could not be separated from the  $a$ -band. The intensity of the major band was slightly weaker than that of the  $a$ -band. A single case each of 1- $6_{HR1}$  and 2- $6_{HR1}$  was detected in Hiroshima individuals in the Adult and the Child, respectively. The previous paper<sup>5</sup> has already described the former (1- $6_{HR1}$ ; ID No. [redacted]). Since his parents were deceased, only a male sibling was available for study. He was PGM1 1-2. The second individual, 2- $6_{HR1}$  (variant No. 22), is in the Child, and at the same time the son of the Hiroshima woman (ID No. [redacted]) in the Adult who was described as 1- $6_{HR1}$  in the previous report at the time of study using histidine-citrate discontinuous buffer system. Since only the results of studies using TEMM buffer are reported in this paper, it was decided to treat the son as the propositus and the mother a member of the family. Since the father is PGM1 1-2, the phenotype PGM1 2- $6_{HR1}$  of the propositus is obviously inherited from his parents.

**PGM1  $6_{HR2}$**  - The anodal side of the minor band of this variant was in contact with the  $a$ -band on the cathodal side. The intensities of both the major and minor bands of  $6_{HR2}$  were clearly lower than those of the  $a$ -,  $b$ -,  $c$ -, and  $d$ -bands. However, no difference in PGM activity was observed between these variant phenotypes and PGM1 1. A report was previously made of the three cases detected in the Adult and

両親ともに検査し、各例とも片親に  $6_{NG2}$  が検出された。片親だけを検査した2例では、 $6_{NG2}$  が検出されたが、残る1例においては、片親が1-2を示し、もう一方の親は死亡していた。子供集団内の  $6_{NG2}$  を有する発端者10人の PGM 活性平均値は、1.93IU/g Hb (SD=0.26IU/g Hb) であり、変異型を有する5人の親の PGM 活性平均値は、1.80IU/g Hb (SD=0.30 IU/g Hb) で、それぞれ正常値の105%及び98%であった。正常型をもつ4人の両親の値が、1.92IU/g Hb (SD=0.26IU/g Hb) であることを考慮すると、PGM1  $6_{NG2}$  の活性は正常であると考えられる。 $6_{NG2}$  のバンドの染色強度からも同じ結論が示唆される。代表者集団における対立遺伝子 PGM1\* $6_{NG2}$  の頻度は、広島より長崎の方が高く、0.00039対0.00022であった(表2)。

**PGM1  $6_{HR1}$**  この変異型の副バンドは、 $a$ -バンドよりもわずかに陽極側に移動することが表現型 PGM1 2- $6_{HR1}$  において観察されたが、1- $6_{HR1}$  の場合には、その副バンドと  $a$ -バンドとを分離できなかった。主バンドの染色強度は  $a$ -バンドよりわずかに弱かった。1- $6_{HR1}$  と 2- $6_{HR1}$  の各1例が、広島の成人集団と子供集団に検出された。前者(1- $6_{HR1}$ ; ID No. [redacted]) については、以前の論文<sup>5</sup> で既に述べてある。その男性の両親は死亡していたので、男の同胞1人を検査できたのみであった。彼は PGM1 1-2 であった。第2例の 2- $6_{HR1}$  (変異型 No.22) を示した人は、子供集団に属していると同時に、ヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液を用いて調査を行った前回の報告で 1- $6_{HR1}$  の検出された広島の成人集団の女性 (ID No. [redacted]) の息子でもある。今回の報告では、TEMM 緩衝液を用いた調査結果のみを報告するので、息子は発端者として、母親は家族の一員として扱うことにした。父親は PGM1 1-2 であるため、発端者の表現型 PGM1 2- $6_{HR1}$  は明らかに彼の両親から遺伝したものである。

**PGM1  $6_{HR2}$**  この変異型の副バンドの陽極側は  $a$ -バンドの陰極側と接していた。 $6_{HR2}$  の主バンドと副バンドの染色強度はいずれも、 $a$ -,  $b$ -,  $c$ -及び  $d$ -バンドの染色強度より明らかに低かった。しかし、変異表現型と PGM1 1 の PGM 活性の間には相違がみられなかった。成人集団に検出された3例については

among them was a father and son combination (ID Nos. [redacted] and [redacted]). The four cases detected in the Child were all observed to have the 2-6<sub>HR2</sub> phenotype. Among these, one individual in Nagasaki was a grand child of the family of the above-mentioned father and son combination. The result of the family study centering around him as the propositus (variant No. 23), is shown in Table 3.

**PGM1 8<sub>NG1</sub>** - Two cases of this variant were detected during study of the Adult using histidine-citrate discontinuous buffer, but in subsequent electrophoresis using TEMM buffer, none were found in the Adult though it was detected in the Child. In all, 14 cases of 8<sub>NG1</sub> were encountered, but with siblings excluded, it was found in 10 unrelated individuals. In all eight families in which both parents were studied, it was detected in one of the parents in each family. In the remaining two families in which only one parent could be studied, 8<sub>NG1</sub> was detected in the mother for variants Nos. 42 and 43 who are siblings, but in the other case (variant No. 39), the mother was PGM1 1 and the father was deceased. Under our electrophoretic conditions, the minor band of this variant was always detected on the cathodal side of  $\alpha$ -band and clearly separated from it. The mobility of this variant under various different conditions and the fact that it was confirmed to be electrophoretically identical with PGM1 8 by Dr. D.A. Hopkinson, have already been reported.<sup>4</sup> The intensity of the major band of 8<sub>NG1</sub> was slightly weaker than that of the  $\alpha$ -band for almost all cases, but in the 10 children in whom PGM activity was measured, the mean value was 1.86 IU/g Hb (SD=0.22 IU/g Hb), which is normal. Among these, the intensity of the variant band was extremely weak in variant No. 39 in two blood samples which were obtained on different occasions. Thus it may be more labile than the others. However, since this is the above-mentioned case whose father is dead and his mother did not have this variant, whether the lability is of a genetic nature or not, could not be established.

#### *Effect of Buffers on Relative Mobility of Variants*

In a previous report on PGM1 of the Adult,<sup>5</sup> it was stated that although the mobility of 6<sub>HR2</sub> is greater (migrates a greater distance on the anodal side) than 8<sub>NG1</sub> in TEMM buffer,

以前に報告が行われ、その中には父親と息子の1組 (ID No. [redacted] 及び [redacted]) が含まれていた。子供集団に検出された4例はすべて2-6<sub>HR2</sub>表現型であった。この4例中、長崎の1例は、上述の父と息子の組み合わせのある家族の孫にあたる人であった。この人を発端者(変異型No.23)として行った家族調査の結果を表3に示した。

**PGM1 8<sub>NG1</sub>** この変異型は、2例がヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液を用いて行った成人集団の調査中に検出されたが、その後に行った TEMM 緩衝液を用いた電気泳動では、成人集団には全く検出されなかった。しかし、子供集団には検出された。全部で14例の8<sub>NG1</sub>が検出されたが、同胞を除くと血縁関係のない10人に検出されたことになる。両親の検査を行った8家族のすべてにおいて、この変異型が片親に検出された。片親だけ検査のできた残る2家族では、同胞である変異型No.42と43の母親に8<sub>NG1</sub>が検出されたが、他の1例(変異型No.39)では母親がPGM1 1で父親は死亡していた。我々の電気泳動条件では、この変異型の副バンドは常に $\alpha$ -バンドの陰極側に検出され、 $\alpha$ -バンドからは、はっきりと分離された。種々の異なる条件下の、この変異型の移動度、及び電気泳動上 PGM1 8 と等しいことが Dr. D.A. Hopkinson により確認されたという事実は、既に報告された。<sup>4</sup> 8<sub>NG1</sub>の主バンドの染色強度は、ほとんどすべての例において $\alpha$ -バンドよりやや弱かったが、PGM 活性を測定した10人の子供において、その平均値は1.86IU/g Hb (SD=0.22IU/g Hb)で正常であった。これらのうち、変異型No.39の変異型バンドの染色強度は極めて弱かった。それは異なる時期に採取した二つの血液標本において認められた。したがってこの変異型は、他のものより不安定であると言える。しかし、この変異型は発端者の父親が死亡し、その母はこの変異型を有していないという先に述べた例であるので、その不安定性が、遺伝的性質をもつものかどうかを確認できなかった。

#### 変異型の相対移動度に対する緩衝液の影響

成人集団の PGM1 に関する前回の報告<sup>5</sup>では、6<sub>HR2</sub>の移動度は、TEMM 緩衝液では8<sub>NG1</sub>より大きい(陽極側へ、より遠くまで移動する)、ヒスチジン-

in the histidine-citrate discontinuous buffer system,  $8_{NG1}$  migrated further to the anodal side. This reverse phenomenon was observed also for  $8_{NG1}$  and the newly detected variant  $6_{HR3}$  (Figures 6B and 7), and for another new variant  $6_{NG3}$  and  $6_{NG1}$  (Figures 6A and 7).

Further, as briefly reported<sup>16</sup> and will be precisely described in a separate paper, the relative mobility of variants on polyacrylamide slab gel isoelectric focusing (IEF) was also different from the two kinds of relative mobilities obtained by the two buffer systems on starch gel electrophoresis.

クエン酸不連続緩衝液では  $8_{NG1}$  の方が陽極側により遠くまで移動すると述べられている。このような移動度の逆転現象は、 $8_{NG1}$  と新しく検出された変異型  $6_{HR3}$  (図6Bと図7)、及び別の新しい変異型  $6_{NG3}$  と  $6_{NG1}$  (図6Aと図7)の間にもみられた。更に、以前簡単に述べられ、<sup>16</sup> また別の論文で詳しく述べる予定になっているが、ポリアクリルアミドスラブゲル等電点分離法 (IEF) を用いた場合の変異型の相対移動度もまた、2種類の緩衝液で澱粉ゲル電気泳動法を行ったときに得られた2種類の相対移動度とは異なっていた。

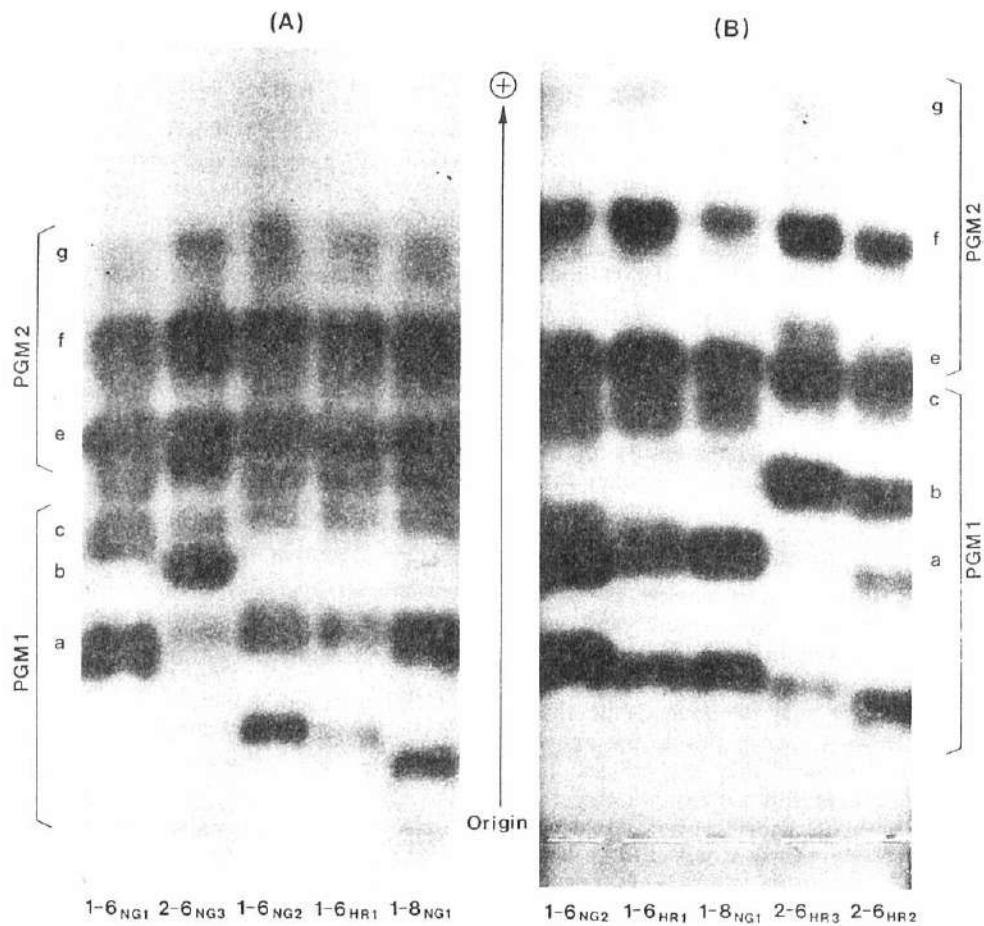


Figure 6. The same seven PGM1 variants shown in Figures 4 and 5 on starch gel using a histidine-citrate discontinuous buffer system, pH 7.0

図6 図4及び図5に示されたものと同じ7種のPGM1変異型のヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液, pH 7.0を用いた澱粉ゲル上の移動



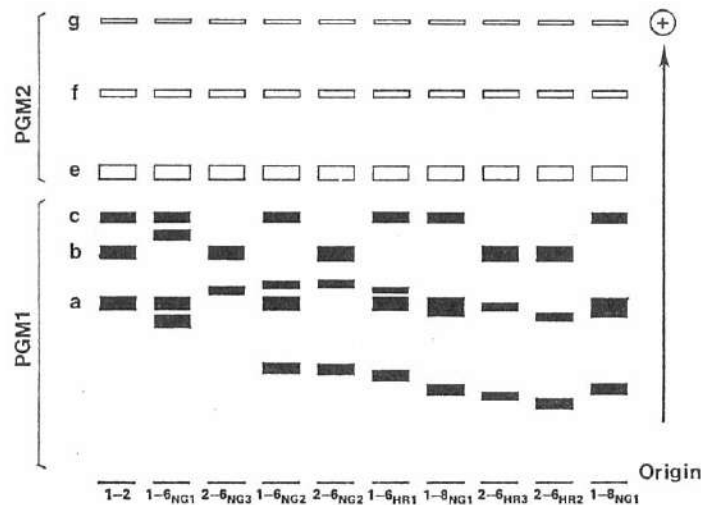


Figure 7. Diagram of the same seven PGM1 variants shown in Figures 4 and 5 on starch gel using histidine-citrate discontinuous buffer system, pH 7.0.

図7 図4及び図5に示されたものと同じ7種のPGM1変異型のヒスチジン-クエン酸不連続緩衝液、pH7.0を用いた澱粉ゲル上の模式図

When the slow variants are listed according to mobility from the anodal side, they are:

In TEMM buffer,

$$\underline{6_{NG1}} \geq \underline{6_{NG3}} > \underline{6_{NG2}} > \underline{6_{HR1}} > \underline{6_{HR3}} > \underline{6_{HR2}} > \underline{8_{NG1}};$$

in histidine-citrate buffer,

$$\underline{6_{NG3}} > \underline{6_{NG1}} > \underline{6_{NG2}} > \underline{6_{HR1}} \geq \underline{8_{NG1}} > \underline{6_{HR3}} > \underline{6_{HR2}};$$

and by IEF,

$$\underline{6_{NG1}} > \underline{6_{HR1}} > \underline{6_{NG2}} \geq \underline{6_{HR3}} > \underline{6_{NG3}} \geq \underline{6_{HR2}} > \underline{8_{NG1}}.$$

Groups of underlined variants showed reversed relative mobility. Based on the differences in mobility obtained by these three electrophoretic methods, variants can be distinguished which are otherwise difficult to separate because of only slight differences in mobility. The reason for the change in relative mobility caused by different electrophoretic conditions is now under study and it will be the subject of a separate paper.

#### DISCUSSION

Polymorphism of human PGM1 based on the presence of two alleles *PGM1\*1* and *PGM1\*2* has been observed in all populations in the world heretofore examined by SGE and the allele *PGM1\*7* has been encountered in polymorphic proportions in the Pacific area such as the

遅い変異型を陽極側からの移動度順に並べると次のようになる:

TEMM 緩衝液では,

ヒスチジン-クエン酸緩衝液では,

IEF では,

下線を引いた1組の変異型は、相対移動度が逆転した組み合わせである。移動度にわずかな相違しかないため識別の困難な変異型を、これら3種類の電気泳動法で移動度が異なることを利用すれば区別することができる。異なる電気泳動条件により相対移動度に変化が生ずる理由については、現在研究中であり、別の論文の主題となるであろう。

#### 考 察

二つの対立遺伝子 *PGM1\*1* 及び *PGM1\*2* の存在に由来するヒト PGM1 の多型性は、現在まで SGE により検査された世界中の集団に観察されており、対立

Western Caroline Islands,<sup>17</sup> west Malaysia,<sup>18</sup> the Chinese,<sup>14,19</sup> Okinawa,<sup>15</sup> and Japan.<sup>5,20</sup> *PGM1\*3* has been also found in polymorphic frequency in New Guinea.<sup>21</sup> In addition to these common alleles, at least 10 kinds of rare electrophoretic variants have been reported.<sup>5,13,21</sup> Therefore, human PGM1 was known as an enzyme of high genetic diversity even in the days when SGE using TEMM buffer of Spencer et al<sup>2</sup> was the principal technique.

Later, IEF<sup>22-26</sup> and acid starch gel electrophoresis<sup>27</sup> classified the conventional  $PGM_1^I$  into two subtypes,  $PGM_1^{I+}$  and  $PGM_1^{I-}$  (or  $PGM_1^{a1}$  and  $PGM_1^{a3}$ ), and  $PGM_1^{IS}$  and  $PGM_1^{IF}$ , respectively, and the  $PGM_1^2$  into two subtypes,  $PGM_1^{2+}$  and  $PGM_1^{2-}$  (or  $PGM_1^{a2}$  and  $PGM_1^{a4}$ ), and  $PGM_1^{2S}$  and  $PGM_1^{2F}$ , respectively. Furthermore, Scozzari et al<sup>28</sup> reported an electrophoretically cryptic polymorphism of human PGM1 based on their sensitivity to heat denaturation. According to them, each of four 'isoelectric point alleles' was subtyped into a heat sensitive allele and a heat resistant allele, making eight common alleles in all. Thus, PGM1 is a very diversified protein and is potentially, a system that may provide clues to the molecular evolution and origin of populations.

Recently, we reported that the conventional allele *PGM1\*7* can be subtyped into *PGM1\*7+* and *PGM1\*7-*,<sup>29</sup> and *PGM1\*3* into *PGM1\*3+* and *PGM1\*3-*, by IEF.<sup>30</sup> Family studies confirmed these isoelectric point subtypes as real alleles. Based on the isoelectric points of all of the eight 'isoelectric point alleles', four of which are common to all the populations of three human races along with the four new alleles found in the Japanese, and considering the distribution of the conventional alleles of *PGM1\*7* and *PGM1\*3* in the Pacific area, we proposed an evolutionary phylogeny of isoelectric point alleles of PGM1, an enlargement of the hypothesis originally proposed by Carter et al.<sup>31</sup>

The existence of the *PGM1\*7* allele in polymorphic proportions in the Japanese was first described by us.<sup>5</sup> Nishigaki et al<sup>20</sup> also observed this polymorphism of the *PGM1\*7* allele in another Japanese population. When one of their samples whose starch gel electrophoretic phenotype was PGM1 7 was examined by IEF,

遺伝子 *PGM1\*7* は西カロリン諸島,<sup>17</sup> 西 Malaysia,<sup>18</sup> 中国人,<sup>14,19</sup> 沖縄,<sup>15</sup> 及び日本<sup>5,20</sup> といった太平洋地域に多型の頻度で検出されている。*PGM1\*3* もまた、New Guinea において多型の頻度で検出された。<sup>21</sup> これら多型性の頻度を示す対立遺伝子に加え、少なくとも10種類のまれな電気泳動上の変異型が報告されている。<sup>5,13,21</sup> したがって、Spencer ら<sup>2</sup> の TEMM 緩衝液を用いた SGE が主たる分析法であった時代でさえ、ヒト PGM1 は遺伝的多様性の高い酵素として知られていた。

その後、IEF,<sup>22-26</sup> 又は酸性澱粉ゲル電気泳動法<sup>27</sup> を用いると、従来の  $PGM_1^I$  はそれぞれ、 $PGM_1^{I+}$  と  $PGM_1^{I-}$  (又は  $PGM_1^{a1}$  と  $PGM_1^{a3}$ ) 又は  $PGM_1^{IS}$  と  $PGM_1^{IF}$  に、 $PGM_1^2$  はそれぞれ、 $PGM_1^{2+}$  と  $PGM_1^{2-}$  (又は  $PGM_1^{a2}$  と  $PGM_1^{a4}$ )、又は  $PGM_1^{2S}$  と  $PGM_1^{2F}$  という二つの亜型に分類されるようになった。更に、Scozzari ら<sup>28</sup> は、電気泳動法では検出できない種類の熱変性に対する感受性に基づく、ヒト PGM1 の多型性を報告した。彼らは、'等電点に差のあることに基づく対立遺伝子' 4個の各々を熱感受性対立遺伝子と熱抵抗性対立遺伝子という亜型に分類し、その結果、多型性頻度を示す対立遺伝子は全部で8個となった。このように PGM1 は、非常に多様性のある蛋白質であり、分子進化や、集団の起源を解く手掛かりを与え得る蛋白質である。

最近、我々は IEF を用いて、従来の対立遺伝子 *PGM1\*7* を、*PGM1\*7+* と *PGM1\*7-* に、<sup>29</sup> *PGM1\*3* を *PGM1\*3+* と *PGM1\*3-* の亜型に分類できることを報告した。<sup>30</sup> 家族調査によりこれらの等電点に基づく亜型は、真の対立遺伝子であると確認された。三つの人種のすべての集団に共通する対立遺伝子4個と、日本人に検出された新しい対立遺伝子4個の、合計8個の'等電点对立遺伝子'の等電点に基づき、また従来からの対立遺伝子 *PGM1\*7* と *PGM1\*3* の太平洋地域における分布を考察し、我々は、PGM1 の等電点对立遺伝子の進化の系統樹を提唱した。これは、最初は Carter ら<sup>31</sup> によって提唱された仮説を拡大したものである。

日本人に *PGM1\*7* 対立遺伝子が多型の頻度で存在することについて述べたのは我々が最初である。<sup>5</sup> Nishigaki ら<sup>20</sup> もまた、*PGM1\*7* 対立遺伝子の多型性を別の日本人集団に認めた。Nishigaki ら<sup>32</sup> は、彼らの標本のうち澱粉ゲル電気泳動法で検査したときの

Nishigaki et al<sup>32</sup> detected two different bands, one of which focused anodally to the secondary band of PGM2 1 and the other focused cathodally to the primary band of PGM2 1. He considered them to be the bands of PGM1 7<sup>+</sup> and PGM1 7<sup>-</sup>, respectively. Later we were asked to compare his sample with our samples known to be heterozygous for PGM1 7<sup>+</sup> or PGM1 7<sup>-</sup>, and found that the two bands from his sample migrated to the same positions as those of our samples, the primary bands of PGM1 7<sup>+</sup> and PGM1 7<sup>-</sup> moving slightly anodally and cathodally to the primary band of PGM2 1, respectively, thus confirming the phenotype of his sample to be PGM1 7<sup>+</sup>-7<sup>-</sup> (Takahashi et al, in preparation). The migration position of PGM1 7 in a Japanese individual living in the Tokyo area examined with IEF by Maneyama et al,<sup>33</sup> was the same as that of our PGM1 7<sup>-</sup>. Thus, the conventional PGM1 7 discovered in Japanese populations seems to be either PGM1 7<sup>+</sup> or PGM1 7<sup>-</sup>. Nevertheless, those rare PGM1 7 variants described by Kuhl and Spielmann,<sup>34</sup> Santachiara-Benerecetti et al,<sup>35</sup> and Tipler et al<sup>36</sup> focused at various positions. All of these were different from those of the Japanese PGM1 7<sup>+</sup> and PGM1 7<sup>-</sup>, though they were reported to migrate to the same position as that of the PGM1 7 of Hopkinson and Harris<sup>13</sup> on SGE. One possibility is that they are different rare variants whose mobility is slightly different from that of PGM1 7, but without direct comparison it is difficult to distinguish them. A second possibility is that different variants showed the same mobility as that of PGM1 7 on SGE and only IEF can detect the difference in mobility. A third possibility is sample deterioration. For the first possibility, we have found that though PGM1 9<sub>NG1</sub> showed a slightly different mobility from that of PGM1 7 on SGE using TEMM buffer, gel buffer being 1:15 diluted bridge buffer, they were indistinguishable on the gel using a 1:10 diluted bridge buffer.

Differences in variation of PGM1 between Hiroshima and Nagasaki, both in kinds and in frequency of alleles, were noted previously.<sup>5,37</sup> They were again observed in the Representative described in this paper, which is approximately six times larger than the previous population. PGM1\*8<sub>NG1</sub> was observed in six unrelated Nagasaki children, but none in Hiroshima. PGM1\*3<sub>NG1</sub> was detected in 24 unrelated individuals from Nagasaki, but only in 12

表現型が PGM1 7 であった 1 標本を IEF で検査し、2 本の異なるバンドを検出した。そのうち 1 本は、PGM2 1 の 2 次バンドの陽極側に、もう 1 本は、PGM2 1 の 1 次バンドの陰極側に検出された。Nishigaki は、それらをそれぞれ、PGM1 7<sup>+</sup> 及び PGM1 7<sup>-</sup> のバンドとみなした。後に我々は、彼の標本と、我々の標本で PGM1 7<sup>+</sup> 又は PGM1 7<sup>-</sup> に対しヘテロ接合型のものと比較するよう依頼され、彼の標本の 2 本のバンドが我々の標本と同じ場所に移動することを観察した。すなわち PGM1 7<sup>+</sup> と PGM1 7<sup>-</sup> の 1 次バンドは、PGM2 1 の 1 次バンドに対し、それぞれ、わずかに陽極側、陰極側に移動し、このことから、彼の標本の表現型は、PGM1 7<sup>+</sup>-7<sup>-</sup> であることを確認した(高橋ら、論文作成中)。東京地域在住の 1 人の日本人の PGM1 7 を Maneyama ら<sup>33</sup> が IEF で検査したところその移動位置は、PGM1 7<sup>-</sup> と同じであった。したがって、従来日本人集団に検出されていた PGM1 7 は、PGM1 7<sup>+</sup> か PGM1 7<sup>-</sup> であると思われる。しかし、Kühl と Spielmann,<sup>34</sup> Santachiara-Benerecetti ら<sup>35</sup> 及び Tipler ら<sup>36</sup> が報告したまれな変異型 PGM1 7 は IEF において、種々な位置にバンドを形成した。これら変異型はすべて、Hopkinson と Harris<sup>13</sup> の SGE 上の PGM1 7 と同じ位置に移動すると報告されているが、IEF では日本人の PGM1 7<sup>+</sup> 及び PGM1 7<sup>-</sup> のバンドの位置とは異なるところに検出された。これを説明する第一の可能性としては、これらの変異型は、PGM1 7 の移動度とは若干異なるが、直接に比較をしなければ識別困難な移動度をもつような、異なるまれな変異型であることが考えられる。第二の可能性としては、異なる変異型が SGE 上では PGM1 7 と同じ移動度を示し、IEF によってのみ移動度の相違を検出できるということが考えられる。第三の可能性は、標本の変質である。第一の可能性について述べるならば、TEMM 緩衝液を用いた SGE でブリッジ緩衝液を 1:15 で希釈したゲル緩衝液を用いると PGM1 9<sub>NG1</sub> は、PGM1 7 の移動度とはわずかに異なる移動度を示したが、1:10 に希釈したブリッジ緩衝液を用いたゲル上では、識別不可能であった。

PGM1 変異型の対立遺伝子の種類及び頻度における広島・長崎間の差異については、以前に報告した。<sup>5,37</sup> この差異は、前回の集団の約 6 倍大きく、本報で述べる代表者集団においても認められた。すなわち、PGM1\*8<sub>NG1</sub> は長崎で血縁関係のない 6 人の子供に認められたが、広島では認められなかった。PGM1\*3<sub>NG1</sub> は、長崎で血縁関係のない 24 人に検出されたが、広島ではわずか 12 人に検出されたにすぎ

individuals from Hiroshima. And the total number of rare variants encountered in Nagasaki was 39 as opposed to 24 in Hiroshima. The differences between the two cities in the frequencies of the *PGM1\*3NG1* allele and of the total rare alleles are statistically significant ( $P < 0.01$  for both). Plainly, the populations of Hiroshima and Nagasaki are genetically different. One possible explanation for this phenomenon, among others, may lie in the migration into the Japanese Islands in prehistoric ages for which two different major routes are postulated; one from the south through the Ryukyu Archipelago, the other through the Korean Peninsula.<sup>16</sup> Since on SGE, the mobility of *PGM1 3<sub>OKINAWA</sub>* found in Ryukyuan from Okinawa Island is identical with that of *PGM1 3<sub>NG1</sub>* and the allele frequency of the *PGM1\*3OKINAWA* was reported to be 0.0039 while that for *PGM1\*3NG1* was 0.0022 in Nagasaki and 0.0009 in Hiroshima, the difference seems to express the stronger influence of the southern migration stream into Nagasaki (Kyushu) compared to Hiroshima, on Japan's mainland (Honshu), northeast of Nagasaki.

Among slow variants, *6<sub>NG2</sub>* and *8<sub>NG1</sub>* showed the same mobility as that of 6 of Lie-Injo et al<sup>14</sup> and that of 8 of Hopkinson and Harris,<sup>13</sup> respectively, on the same starch gel for comparison run. In addition to these two variants at least four kinds of slow variants (*6<sub>NG1</sub>*, *6<sub>HR1</sub>*, *6<sub>HR2</sub>*, and *8<sub>Nara</sub>*) have been reported in Japanese<sup>4</sup> and two additional variants (*6<sub>NG3</sub>* and *6<sub>HR3</sub>*) are described in this paper. Though Blake and Omoto<sup>21</sup> discussed the heterogeneity of 6 and 8 detected in the various populations, in most of the reports slow variants were named 6 or 8 without precise characterizations and no data were shown to determine whether they are electrophoretically identical with one of the Japanese variants or one of the other slow variants discussed by Blake and Omoto.<sup>21</sup> Given the sporadic distribution and probable heterogeneity among the slow variants, at present they do not seem to be adequate markers for discerning population movements.

Variants whose mobility is similar to that of *PGM14* of Hopkinson and Harris<sup>13</sup> were observed in polymorphic frequencies in several Amerindian populations such as Chilean Aymara (*PGM1 4<sub>AYM1</sub>*),<sup>38</sup> Wayampi of French Guiana (*PGM1 4/10 Wayampi*),<sup>39</sup> and Macushi of

ない。長崎で検出されたまれな変異型の総数は、広島  
の24に対し、39であった。*PGM1\*3NG1* 対立遺伝子  
頻度と、まれな対立遺伝子頻度の総和における両市間  
の差異は、統計的に有意であった(双方とも  $p < 0.01$ )。  
端的に言えば、広島と長崎の集団には遺伝的に相違  
がある。この現象について考え得る説明の一つは、  
先史時代における日本諸島への移動である。この移動  
には、琉球諸島を通る南からの経路と、朝鮮半島を  
通る経路の主に二つの異なる経路が仮定されてい  
る。<sup>16</sup> SGE 上では、沖縄本島の琉球人に検出された  
*PGM1 3<sub>OKINAWA</sub>* の移動度は、*PGM1 3<sub>NG1</sub>* の移動  
度と等しく、また、*PGM1\*3NG1* の対立遺伝子頻度  
は長崎で0.0022、広島で0.0009であるのに対し、  
*PGM1\*3OKINAWA* は0.0039であると報告されてい  
ることから、この差異は、日本本土(本州)で長崎の  
北東にある広島に比べると長崎(九州)の方に、南  
からの移動の強い影響があることを示すものよう  
である。

遅い変異型の中で、*6<sub>NG2</sub>* 並びに *8<sub>NG1</sub>* は、同じ澱粉  
ゲル上で比較すると、Lie-Injo ら<sup>14</sup> の6、Hopkinson  
と Harris<sup>13</sup> の8とそれぞれ同じ移動度を示した。  
日本人には、これら二つの変異型に加え、少なくとも  
4種類の遅い変異型(*6<sub>NG1</sub>*, *6<sub>HR1</sub>*, *6<sub>HR2</sub>* 及び *8<sub>Nara</sub>*) が  
報告されており、<sup>4</sup> 更に二つの変異型(*6<sub>NG3</sub>* 及び *6<sub>HR3</sub>*)  
について今回報告した。Blake と Omoto<sup>21</sup> は、様々な  
集団に検出された6と8の異質性について考察した  
が、ほとんどの報告においては、細かい特徴づけも  
なく、遅い変異型は6か又は8と命名されており、  
それらが日本人の変異型の一つ、又はBlake と Omoto<sup>21</sup>  
が考察した他の遅い変異型の一つと、電気泳動上  
同一のものであるかどうか判断するデータを何も示し  
ていない。遅い変異型は、その分布が散在性であり、  
それらが恐らく異質なものであることを考慮すると、  
これらの変異型は現在のところ、集団の移動を識別  
するための適当な指標だとは思えない。

移動度がHopkinson と Harris<sup>13</sup> の *PGM1 4* とよく似  
た変異型が、チリーのAymara (*PGM1 4<sub>AYM1</sub>*),<sup>38</sup> フラ  
ンス領Guiana のWayampi (*PGM1 4/10 Wayampi*),<sup>39</sup>

Venezuela (PGM1 10<sub>MAC1</sub>),<sup>40</sup> variants of Wayampi and Macushi appearing to be identical in mobility on SGE and IEF,<sup>39</sup> with a staining intensity different from each other. The intensity of the Wayampi variant was identical with and those of Macushi, and Aymara variants were weaker than either that of PGM1 1 or PGM1 2. Though three kinds of PGM1 4 variants, whose major band migrated between *a*- and *b*-bands, were encountered in very low frequencies in Japanese, the mobility of PGM1 4<sub>HR2</sub> was quite different from that of PGM1 4. It is impossible to determine whether one of the two remaining variants of PGM1 4<sub>HR1</sub> and PGM1 4<sub>NG1</sub> is electrophoretically identical with PGM1 4 or one of the Amerindian variants, without standard samples for direct comparison. PGM1 4 variants are not frequent in any population except for the above-mentioned Amerindian populations.

The work described here is the largest account of information yet reported for the PGM1 in the Japanese. The diversity of PGM1 among the Japanese is clearly demonstrated in the results from screening over 17,000 individuals, in contrast to PGM2 which is monomorphic and the occurrence of variants is very rare, despite probable common origin through gene duplication.<sup>41</sup> In a hypothetical evolutionary phylogeny for the PGM1 alleles,<sup>30</sup> we suggested that the PGM1\*7 allele played an important role in establishing PGM1 diversity in Japan. This hypothesis will be tested in the near future when probes for the gene encoding PGM1 become available. The variants described here should be excellent components for this investigation.

Recently, human population genetic studies have increasingly made use of IEF since it is able to separate subtypes and variants of proteins not separable by SGE, while on the other hand, there are certain isozymes which cannot be separated by IEF but which are effectively distinguished by SGE.<sup>16,42</sup> An example is the combination of PGM1 2+ and PGM1 7-, both of which are polymorphic variants in the Japanese. Thus, though IEF is now a necessary tool, SGE too, is essential in human population genetics.

及び Venezuela の Macushi (PGM1 10<sub>MAC1</sub>)<sup>40</sup> といった幾つかのアメリカインディアンの集団に多型の頻度で観察された。Wayampi と Macushi の変異型は SGE の場合にも、IEF の場合にも互いに等しい移動度を示したが、<sup>39</sup> 染色強度は異なっていた。Wayampi 変異型の染色強度は、PGM1 1 及び PGM1 2 の染色強度と等しかったが、Macushi 変異型及び Aymara 変異型の染色強度は、そのいずれよりも弱かった。主バンドが *a*-バンドと *b*-バンド間に移動する PGM1 4 の 3 種類の変異型の頻度は、日本人においては非常に低かったが、PGM1 4<sub>HR2</sub> の移動度は、PGM1 4 とは全く異なっていた。残る二つの変異型、PGM1 4<sub>HR1</sub> と PGM1 4<sub>NG1</sub> のうちの 하나가、PGM1 4 又はアメリカインディアンの変異型の一つと電気泳動上で同一なのかどうかは、直接に比較できる標準標本なしに判断することはできない。PGM1 4 の頻度は、上述したアメリカインディアンの集団を例外として、どの集団においても高くはない。

今回報告した研究結果は、日本人の PGM1 について現在までに報告されたデータの中で最大のものである。17,000人以上をスクリーニングすることによって、日本人における PGM1 の多様性を明らかにしたが、この PGM1 の多様性は、PGM2 とは対照的である。PGM1 と PGM2 は、恐らくは共通の起源から遺伝子重複<sup>41</sup> によって分化したものと考えられるが、PGM2 は多型形質ではなく、まれな変異型の頻度も非常に低いのである。PGM1 対立遺伝子の進化の系統樹に関する仮説<sup>30</sup> において、我々は PGM1\*7 対立遺伝子が、日本における PGM1 の多様性の確立に重要な役割を果たしたことを示唆した。近い将来、PGM1 をコードする遺伝子を検出するプローブが得られれば、この仮説が吟味されるであろう。今回報告した変異型は、その種の研究において格好の材料となるはずである。

SGE では分離不能な蛋白質の重型及び変異型を、IEF を用いると分離できるので、ヒトの集団に対する遺伝学調査においては、近年ますます IEF が利用されるようになった。しかし、反対に、IEF によっては識別できないが、SGE では効果的に識別できるようなアイソザイムがある。<sup>16,42</sup> PGM1 2+ と PGM1 7- の組み合わせがその例で、いずれも日本人における多型性変異型である。このように、IEF は現在必要な方法であるけれども、SGE もまたヒト集団遺伝学には不可欠な方法である。

## REFERENCES

## 参考文献

1. SATOH C, TAKAHASHI N, ASAKAWA J, MASUNARI N, FUJITA M, GORIKI K, HAZAMA R, IWAMOTO K: Electrophoretic variants of blood proteins in Japanese. I. Phosphoglucomutase-2 (PGM<sub>2</sub>). *Jpn J Hum Genet* 29:89-104, 1984 (RERF TR 11-84)
2. SPENCER N, HOPKINSON DA, HARRIS H: Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature* 204:742-5, 1964
3. FERRELL RE, UEDA N, SATOH C, TANIS RJ, NEEL JV, HAMILTON HB, INAMIZU T, BABA K: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. I. Albumin, ceruloplasmin, haptoglobin, and transferrin. *Ann Hum Genet* 40:407-18, 1977 (RERF TR 3-76)
4. SATOH C, UEDA N, HORAI S, OMOTO K: Further studies on phosphoglucomutase-1 phenotypes in Japanese. I. Comparison of "slow" variants. *Jpn J Hum Genet* 21:85-96, 1976 (RERF TR 9-76)
5. SATOH C, FERRELL RE, TANIS RJ, UEDA N, KISHIMOTO S, NEEL JV, HAMILTON HB, BABA K: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. III. Phosphoglucomutase-1, phosphoglucomutase-2, 6-phosphogluconate dehydrogenase, adenylate kinase, and adenosine deaminase. *Ann Hum Genet* 41:169-83, 1977 (RERF TR 5-76)
6. FILDES RA, HARRIS H: Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature* 209:261-3, 1966
7. SATOH C, NEEL JV, YAMASHITA A, GORIKI K, FUJITA M, HAMILTON HB: The frequency among Japanese of heterozygotes for deficiency variants of 11 enzymes. *Am J Hum Genet* 35:656-74, 1983 (RERF TR 2-83)
8. BEUTLER E: *Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods*, 2nd ed. New York, San Francisco, London, Grune and Stratton, 1975
9. BEUTLER E, BLUME KG, KAPLAN JC, LÖHR GW, RAMOT B, VALENTINE WN: International Committee for Standardization in Hematology: Recommended methods for red-cell enzyme analysis. *Br J Haematol* 35:331-40, 1977
10. TERRENATO L, SANTOLAMAZZA C, SCOZZARI R, MODIANO G: Red cell phosphoglucomutase polymorphism. II. Densitometric studies. *Hum Hered* 20:94-103, 1970
11. McALPINE PJ, HOPKINSON DA, HARRIS H: The relative activities attributable to the three phosphoglucomutase loci (PGM<sub>1</sub>, PGM<sub>2</sub>, PGM<sub>3</sub>) in human tissues. *Ann Hum Genet* 34:169-75, 1970
12. ISHIMOTO G: Red cell enzymes. In *Human Adaptability, Vol. 2: Anthropological and Genetic Studies on the Japanese*. Ed by S. Watanabe, S. Kondo and E. Matsunaga. Tokyo, University of Tokyo Press, 1975. pp 109-39
13. HOPKINSON DA, HARRIS H: Rare phosphoglucomutase phenotypes. *Ann Hum Genet* 30:167-81, 1966
14. LIE-INJO LE, LOPEZ CG, POEY-OEY HG: Erythrocyte and leukocyte phosphoglucomutase in Chinese. *Am J Hum Genet* 20:101-6, 1968
15. OMOTO K, ISHIZAKI K, HARADA S, AKAISHI S, KUDO T, TAKAHASHI K: The distribution of serum protein and red cell enzyme types among blood donors of Okinawa Island, the Ryukyus. *J Anthrop Soc Nippon* 81:159, 1973
16. TAKAHASHI N, SATOH C: Isoelectric focusing of rare variants of human phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>) and phosphoglucomutase-2 (PGM<sub>2</sub>). *Proc 27th Annual Meeting of Jpn Soc Hum Genet*, 1982

17. BLAKE NM, OMOTO K, KIRK RL, GAJDUSEK DC: Variation in red cell enzyme groups among populations of the Western Caroline Islands, Micronesia. *Am J Hum Genet* 25:413-21, 1973
18. WELCH QB, LIE-INJO LE, BOLTON JM: Phosphoglucomutase and carbonic anhydrase in West Malaysian Aborigines. *Hum Hered* 22:28-37, 1972
19. LIE-INJO LE, POEY-OEY HG: Phosphoglucomutase, carbonic anhydrase and catalase in Indonesians. *Hum Hered* 20:215-9, 1970
20. NISHIGAKI I, ITOH T, FUJIKI N, KONDO M: Phosphoglucomutase polymorphism in an isolated community in Japan. *Jpn J Hum Genet* 23:377-82, 1978
21. BLAKE NM, OMOTO K: Phosphoglucomutase types in the Asian-Pacific area: A critical review including new phenotypes. *Ann Hum Genet* 38:251-73, 1975
22. BARK JE, HARRIS MJ, FIRTH M: Typing of the common phosphoglucomutase variants using isoelectric focusing - A new interpretation of the phosphoglucomutase system. *J Forensic Sci Soc* 16:115-20, 1976
23. KÜHNEL P, SCHMIDTMANN U, SPIELMANN W: Evidence for two additional common alleles at the PGM<sub>1</sub> locus. A comparison by three different techniques. *Hum Genet* 35:219-23, 1977
24. SUTTON JG, BURGESS R: Genetic evidence for four common alleles at the phosphoglucomutase-1 locus (PGM<sub>1</sub>) detectable by isoelectric focusing. *Vox Sang* 34:97-103, 1978
25. DOBOSZ T, KOZIOL P: Subtypes of the phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>) locus detectable in Polish population by isoelectric focusing on Cellologel. *Hum Genet* 56:119-21, 1980
26. DYKES DD, POLESKY HF: Isoelectric focusing of PGM<sub>1</sub> (EC 2.7.5.1) on agarose. Application to cases of disputed parentage. *Am J Clin Pathol* 75:708-11, 1981
27. BISSBORT S, RITTER H, KÖMPF J: PGM<sub>1</sub> subtyping by means of acid starch gel electrophoresis. *Hum Genet* 45:175-7, 1978
28. SCOZZARI R, TRIPPA G, SANTACHIARA-BENERECETTI AS, TERRENATO L, IODICE C, BENINCASA A: Further genetic heterogeneity of human red cell phosphoglucomutase-1: A non-electrophoretic polymorphism. *Ann Hum Genet* 45:313-22, 1981
29. TAKAHASHI N, NISHIZAKI J, SATOH C: Study of PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> by isoelectric focusing. *Jpn J Hum Genet* 26:155-6, 1981
30. TAKAHASHI N, NEEL JV, SATOH C, NISHIZAKI J, MASUNARI N: A phylogeny for the principal alleles of the human phosphoglucomutase-1 locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:6636-40, 1982
31. CARTER ND, WEST CM, EMES E, PARKIN B, MARSHALL WH: Phosphoglucomutase polymorphism detected by isoelectric focusing: Gene frequencies, evolution and linkage. *Ann Hum Biol* 6:221-30, 1979
32. NISHIGAKI I, BENKMANN HG, GOEDDE HW: Isoelectric focusing studies of human red cell PGM<sub>1</sub> in Japanese, with special reference to the characterization of PGM<sub>1</sub><sup>7</sup>. *Hum Hered* 32:301-7, 1982
33. MANEYAMA Y, HORAI S, OMOTO K: The distribution of the phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>) subtypes in Japanese. *Jpn J Hum Genet* 23:383-7, 1978
34. KÜHNEL P, SPIELMANN W: Investigations on the PGM<sub>1</sub><sup>a</sup> polymorphism (phosphoglucomutase-EC 2.7.5.1) by isoelectric focusing. *Hum Genet* 43:57-67, 1978

35. SANTACHIARA-BENERECETTI AS, RANZANI GN, ANTONINI G, BERETTA M: Subtyping of phosphoglucomutase locus 1 (*PGM<sub>1</sub>*) polymorphism in some population of Rwanda: Description of variant phenotypes, "Haplotype" frequencies and linkage disequilibrium data. *Am J Hum Genet* 34:337-48, 1982
36. TIPLER TD, DUNN DS, JENKINS T: Phosphoglucomutase first locus polymorphism as revealed by isoelectric focusing in southern Africa. *Hum Hered* 32:80-93, 1982
37. NEEL JV, UEDA N, SATOH C, FERRELL RE, TANIS RJ, HAMILTON HB: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. V. Summary and comparison with data on Caucasians from the British Isles. *Ann Hum Genet* 41:429-41, 1978 (RERF TR 7-76)
38. DOES JA, RUBINSTEIN P, KHAN PM: A rare *PGM<sub>1</sub>* variant in Chilean Aymara Indians. *Hum Genet* 45:327-9, 1978
39. TCHEN P, SÉGER J, BOIS E, GRENAND F, FRIBOURG-BLANC A, FEINGOLD N: A genetic study of two French Guiana Amerindian populations. II. Rare electrophoretic variants. *Hum Genet* 45:317-26, 1978
40. NEEL JV, TANIS RJ, MIGLIAZZA EC, SPIELMAN RS, SALZANO F, OLIVER WJ, MORROW M, BACHOFER S: Genetic studies of the Macushi and Wapishana Indians. I. Rare genetic variants and a "private polymorphism" of esterase A. *Hum Genet* 36:81-107, 1977
41. HOPKINSON DA, HARRIS H: Red cell acid phosphatase, phosphoglucomutase and adenylate kinase. In *Biochemical Methods in Red Cell Genetics*. Ed by J.I. Unis. New York, London, Academic Press, 1969. pp 368
42. FUJITA M, SATOH C, ASAKAWA J, NAGAHATA Y, TANAKA Y, HAZAMA R, KRASSTEFF T: Electrophoretic variants of blood proteins in Japanese. VI. Transferrin. *Jpn J Hum Genet* 30:191-200, 1985 (RERF TR 5-85)