

ELECTROPHORETIC VARIANTS OF BLOOD PROTEINS IN JAPANESE
VII. CYTOPLASMIC GLUTAMATE-OXALOACETATE TRANSAMINASE (GOT1)
日本人の血液蛋白質の電気泳動上の変異型
Ⅶ. 細胞質 glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT1)

CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子
NORIO TAKAHASHI, Ph.D. 高橋規郎
YASUKAZU KIMURA 木村康一
AKIKO MIURA 三浦昭子
JUNKO KANEKO 金子順子
MIKIO FUJITA, M.D. 藤田幹雄
KYOKO TOYAMA, M.D. 遠山杏子



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

ACKNOWLEDGMENT

謝 辞

The authors wish to express their thanks to Mrs. C. Ueno, Miss N. Masunari, and Mr. H. Omine for their excellent technical assistance.

技術的な面で並々ならぬ支援をいただいた上野知恵美，増成直美及び大峰秀夫の各氏に謝意を表したい。

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

VII. CYTOPLASMIC GLUTAMATE-OXALOACETATE TRANSAMINASE (GOT1)

日本人の血液蛋白質の電気泳動上の変異型

VII. 細胞質 glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT1)

CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)¹; NORIO TAKAHASHI, Ph.D. (高橋規郎)¹;
 YASUKAZU KIMURA (木村康一)¹; AKIKO MIURA (三浦昭子)¹;
 JUNKO KANEKO (金子順子)¹; MIKIO FUJITA, M.D. (藤田幹雄)¹;
 KYOKO TOYAMA, M.D. (遠山杏子)²

Departments of Genetics¹ and Clinical Studies²

遺伝学部¹, 臨床研究部²

SUMMARY

A total of 16,835 children, of whom 11,737 are unrelated, from Hiroshima and Nagasaki were examined for erythrocyte cytoplasmic glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT1) by starch gel electrophoresis. A variant allele named *GOT1*2HR1* which seems to be identical with *GOT1*2* was encountered in polymorphic frequency. Five kinds of rare variants, 3NG1, 4NG1, 5NG1, 6HR1, and 7NG1 were encountered in a total of 109 children. Except for 7NG1 for which complete family study was unable, family studies confirmed the genetic nature of these rare variants, since for all instances in which both parents could be examined, one of the parents exhibited the same variant as that of their child. Thermostability profiles of these six variants were normal. The enzyme activities of five were decreased, while the value of one was normal compared to that of GOT1 1.

INTRODUCTION

The first paper in this series describes the purpose of the study and circumstances under which the study was performed.¹ The present paper, continuing a series reporting results of electrophoretic studies, describes variants of cytoplasmic glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT1, E.C. 2.6.1.1; aspartate aminotransferase) encountered in a total of 16,835 children of atomic bomb survivors from Hiroshima and Nagasaki; a preliminary report of this work was presented earlier.² Glutamate-oxaloacetate transaminase occurs under independent genetic control in two

要約

赤血球の細胞質 glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT1) について、広島・長崎の子供総計16,835人を澱粉ゲル電気泳動法を用いて検査した。これらの人たちのうち、11,737人には、血縁関係はない。*GOT1*2HR1*と命名した変異型対立遺伝子は、多型の頻度で存在したが、この対立遺伝子は *GOT1*2* と同一であろうと考えられる。3NG1, 4NG1, 5NG1, 6HR1, 7NG1という5種類のまれな変異型が、合計109人の子供に検出された。家族調査において、両親ともに検査できた場合は、全例でいずれかの親に子供と同一の変異型が検出されたので、これらの変異型が遺伝的なものであることが確認された。例外は家族調査を完全に行えなかった7NG1のみである。これら6種類の変異型の熱安定性は正常であった。変異型の酵素活性を、GOT1 1型の酵素活性と比較すると、5種類では減少し、1種類では正常であった。

緒言

本シリーズ第一報では、本研究の目的、及び研究を実施した際の状況について述べた。¹ 本報は、電気泳動法による研究の結果に関する一連の報告の一部であり、広島及び長崎の原爆被爆者の子供合計16,835人に検出された細胞質 glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT1, E.C. 2.6.1.1; aspartate aminotransferase) の変異型について述べる。この調査の予報は既に発表されている。² Glutamate-oxaloacetate transaminase には、それぞれ独自の遺伝的コントロールを受けている2種類の酵素、すなわち細胞質

separate forms, cytoplasmic (GOT1) and mitochondrial (GOT2), both forms sometimes occurring as genetic polymorphisms in humans. The alleles *GOT1*2* and *GOT1*3* were observed in polymorphic or appreciable frequencies in Japanese, Chinese, Filipino, and Amerindian populations, while they were very rare in European and black populations.^{3,4} The allele *GOT2*2* is present in polymorphic frequency in European populations and in appreciable frequency in black populations,^{5,6} in a Japanese population,⁷ and in Malay and Chinese populations.⁸ *GOT2*3* is polymorphic only in black populations.^{5,6}

MATERIALS AND METHODS

The populations, the method of family studies, and preparation of the hemolysates for electrophoresis were described earlier.¹ A total of 16,835 children (age 13 to 38) of A-bomb survivors and controls were examined. Approximately 30% of these children are siblings.

Vertical starch gel electrophoresis and gel staining for the first screening were performed basically following the method of Chen and Giblett.⁴ Electrophoresis was conducted at 4°C and 9 V/cm for 18-20 hours employing 13.3% Connaught starch gel and 0.1 M tris-citrate buffer, pH 7.5, as bridge buffer and a 1/15 dilution solution (pH 7.5) as gel buffer. The staining mixture consists of 10 ml of 0.1 M tris-HCl buffer, pH 7.8, 350 mg of L-aspartic acid (Na-salt), 30 mg of α -ketoglutarate, 10 mg of NADH₂ and 100 units of malate dehydrogenase (MDH). Using the filter paper overlay method, gels were incubated at 37°C for 30 minutes. Defluorescent dark bands of GOT1 appeared against a fluorescent background of NADH₂. For comparison of variants, a discontinuous buffer system (pH 7.5)⁹ as described below was also used. The bridge buffer contained 0.44 M boric acid, 0.04 M tris, and 0.04 M LiOH. The gel buffer contained 0.0124 M tris, 0.0036 M boric acid, 0.0033 M citric acid, and 0.00033 M LiOH.

GOT1 activity was determined spectrophotometrically using 10 μ l of 1:20 diluted hemolysates made from packed red cells preserved in liquid nitrogen. Our procedures in general follow the methods of Beutler et al¹⁰ and the International Committee for Standardization in Haematology.¹¹ Final concentrations of the assay mixture components (500 μ l) were the same as those of

酵素 (GOT1) 及びミトコンドリアの酵素 (GOT2) があり、いずれもヒトにおいて、遺伝的多型性を示す場合がある。対立遺伝子 *GOT1*2* 及び *GOT1*3* は、日本人、中国人、フィリピン人、アメリカインディアン集団に多型の頻度又はそれに近い頻度で認められたが、ヨーロッパ人及び黒人集団には極めてまれであった。^{3,4} 対立遺伝子 *GOT2*2* はヨーロッパ人集団に多型の頻度で存在し、黒人集団、^{5,6} 日本人集団、⁷ マレー人及び中国人集団⁸ にはそれに近いかなりの頻度で存在する。*GOT2*3* は黒人集団にのみ多型の頻度で存在する。^{5,6}

材料及び方法

対象者集団、家族調査の方法及び電気泳動用溶血液の調製法については先に述べた。¹ 原爆被爆者の子供とその対照者の子供合計16,835人(13歳~38歳)について検査を行った。これらの子供の約30%は同胞である。

一次スクリーニングに用いた垂直式澱粉ゲル電気泳動法及びゲル染色法は、基本的には Chen 及び Giblett⁴ の方法に従った。電気泳動は、13.3% Connaught 澱粉ゲルと pH 7.5 の 0.1 M トリス-クエン酸緩衝液をブリッジ緩衝液、その 1/15 希釈液 (pH 7.5) をゲル緩衝液として、4°C、9 V/cm で 18~20 時間行った。染色液は、pH 7.8 の 0.1 M トリス-塩酸緩衝液 10 ml、L-アスパラギン酸 (ナトリウム塩) 350 mg、 α -ケトグルタル酸 30 mg、NADH₂ 10 mg、及びリンゴ酸脱水素酵素 (MDH) 100 units の混合液である。ゲルは、フィルターペーパー、オーバーレイ法により 37°C で 30 分間加温した。全面が NADH₂ の蛍光で光る中に GOT1 の蛍光のない黒いバンドが現れた。変異型の比較のため、下記のような pH 7.5 の不連続緩衝液システム⁹ も使用した。ブリッジ緩衝液は、0.44 M ホウ酸、0.04 M トリス、及び 0.04 M LiOH を含み、ゲル緩衝液は、0.0124 M トリス、0.0036 M ホウ酸、0.0033 M クエン酸、及び 0.00033 M LiOH を含むものであった。

GOT1 活性は、液体窒素中に保存されていた赤血球で作った 1:20 希釈溶血液 10 μ l を用いて、分光光度計を用いて測定した。我々の用いた方法は、おおむね Beutler ら¹⁰ の方法及び国際血液学基準設定委員会¹¹ の方法に従っている。検査混合液 (500 μ l) 中の各成分の最終濃度は Beutler ら¹⁰ のものと同じで、

Beutler et al,¹⁰ pyridoxal phosphate always being added in a concentration of 0.02 mM. Using an Aminco Rotochem IIa/36, a centrifugal fast analyzer, decrease of optical density of the system at 340 nm and at 30°C was read every 1 minute for 10 minutes after a lag time of 10 minutes. Enzyme activity was expressed by international units per gram of hemoglobin (IU/gHb). Details of sample preparation and data management were as those described by Satoh et al.¹²

Thermostability profiles of variant enzymes were examined as previously described¹³ using 1:20 diluted hemolysates prepared from packed red cells preserved in liquid nitrogen. Percent remaining activities were determined after heating for 10 and 20 minutes at 60°C.

Variants were named according to the method of Ferrell et al¹⁴ except that abbreviations for Hiroshima and Nagasaki are HR and NG, respectively.

RESULTS

Of 16,835 examined children, 9,040 from Hiroshima and 7,779 from Nagasaki totaling 16,819 children, were clearly typed, employing the tris-citrate buffer system of Chen and Giblett.⁴ Numbers of children with various phenotypes are shown in Table 1. When the phenotype could not be read clearly, 'no type' is indicated. Since approximately 30% of the total children comprise siblings, the same variant was encountered more than once. The figures in parentheses are numbers of variants excluding those detected in siblings. The 'Representative' population composed of unrelated children was selected from the total children by the method previously described¹ and the allele frequencies are calculated from this population. Since the first child among the siblings to undergo the test was selected as a member of this population, children having variants may not necessarily be members of this population.

Six kinds of variants were detected. The most common variant phenotype was named 1-2HR1, since its pattern, both mobility and intensity of three bands, is very similar to that of 1-2 shown in the photographs of Chen and Giblett⁴ and Ishimoto and Kuwata,³ though no direct comparison was performed. It was encountered in a total of 459 children and, in addition, a

リン酸ピリドキサルは常に濃度0.02mMで加えた。高速遠心式分析機 Aminco Rotochem IIa/36を用い、10分間のラグタイムの後、340 nm, 30°Cで反応液の光学濃度の減少を1分ごとに10分間読みとった。酵素活性はヘモグロビン1g当たりの国際単位 (IU/gHb) によって表した。サンプル調製及びデータ管理の詳細は、Satohら¹²が述べているとおりである。

変異型酵素の熱安定性は、液体窒素中に保存されていた赤血球から調製した1:20希釈溶血液を用いて先に述べた方法¹³で検査した。残存活性百分率は60°Cで10分間及び20分間加熱した後測定した。

変異型は Ferrellら¹⁴の方法に従って命名した。ただし、広島及び長崎はそれぞれHRとNGの略称を用いた。

結 果

検査した16,835人の子供のうち、広島9,040、長崎7,779の合計16,819人については、Chen及びGiblett⁴のトリス-クエン酸緩衝液を用いて明らかに型判定ができた。表1には種々の表現型の子供の数を示す。表現型を明白に定められなかったものは“No type”としてある。全例の約30%は同胞であるので、同一の変異型が2回以上検出された。括弧内の数字は同胞間に検出されたものを除く変異型の数である。血縁関係のない者から成る“代表者”集団は、前に述べた方法¹で全例から選び、対立遺伝子頻度はこの集団を用いて算出している。同胞中で最初に検査を受けた子供がこの集団の構成員として選定されたので、変異型をもつ者が必ずしもこの集団の構成員とはなっていない。

6種類の変異型が検出された。最も多く認められた変異表現型は、直接的な比較は行わなかったけれども、3本のバンドの移動度と染色強度の両面で、そのパターンがChen及びGiblett⁴並びにIshimoto及びKuwata³の写真にみられた1-2のパターンに酷似しているので、1-2HR1と名付けた。この変異表現型は合計459人に認められた。そのほか、広島の

TABLE 1 VARIOUS PHENOTYPES OF GOT1 AND ALLELE FREQUENCIES AMONG JAPANESE FROM HIROSHIMA AND NAGASAKI

表1 広島及び長崎の日本人におけるGOT1の各表現型及び対立遺伝子の頻度

Phenotype	Total children examined	Representative			Allele frequencies for the combined
		Combined	Hiroshima	Nagasaki	
1	16,250	11,341	6,450	4,891	
1-2HR1	459	322	205	117	<i>GOT1*1</i> = 0.98309
2HR1	1	1	1	0	<i>GOT1*2HR1</i> = 0.01380
1-3NG1	50 (36)	30	20	10	<i>GOT1*3NG1</i> = 0.00128
1-4NG1	50 (42)	36	22	14	<i>GOT1*4NG1</i> = 0.00153
1-5NG1	4 (3)	3	1	2	<i>GOT1*5NG1</i> = 0.00013
1-6HR1	4 (3)	3	2	1	<i>GOT1*6HR1</i> = 0.00013
1-7NG1	1	1	0	1	<i>GOT1*7NG1</i> = 0.00004
No types	16	0	0	0	
Total	16,835	11,737	6,701	5,036	

*Figures in parentheses are number of variants excluding those detected in siblings.

括弧内の数字は同胞に検出されたものを除く変異型の数

homozygous phenotype, GOT1 2HR1 was encountered in a Hiroshima child. The frequencies of *GOT1*2HR1* were 0.015 and 0.012 in Hiroshima and in Nagasaki, respectively.

Five other rare variants designated 3NG1, 4NG1, 5NG1, 6HR1, and 7NG1 were encountered in a total of 109 children as phenotypes heterozygous with 1. Figure 1 shows the patterns of heterozygous variant phenotypes obtained by electrophoresis using the tris-citrate buffer system of Chen and Giblett⁴ and Figure 2 shows them diagrammatically. Electrophoretic characteristics of variants are described below on the basis of patterns obtained with this buffer system unless otherwise described. All of the heterozygous variants are composed of three bands, one corresponding to the major band of 1, and two additional bands. These two additional bands, one considered to be a variant homodimer and the other a variant-normal heterodimer,⁴ in 1-3NG1, 1-4NG1 and 1-5NG1 migrated cathodal to the main band of phenotype 1, while those in 1-6HR1 and 1-7NG1 migrated anodal to the band of 1. One or two secondary bands appeared to the anodal side of the variant homodimer bands of phenotypes 1-6HR1 and 1-7NG1, and to the main band of phenotype 1. These secondary bands are diagrammatically shown in broken line in Figure 2.

1例にホモ接合の表現型 GOT1 2HR1 が認められた。*GOT1*2HR1*の頻度は広島0.015, 長崎0.012であった。

このほか、3NG1, 4NG1, 5NG1, 6HR1及び7NG1と命名した5種類のまれな変異型が、合計109人中に1とのヘテロ接合表現型として認められた。図1は、ChenとGiblett⁴のトリス-クエン酸緩衝液を用いた電気泳動法によって得られたヘテロ接合変異表現型のパターンを示し、図2はその模式図である。変異型の電気泳動上の特徴を以下に述べるが、それらは特に記述がなければ、この緩衝液を用いて得たパターンに基づいたものである。すべてのヘテロ接合変異型は、タイプ1の主要バンドと、更に2本のバンドからできている。これらタイプ1以外の2本のバンドのうち1本は変異型ホモダイマー、他の1本は変異型-正常型のヘテロダイマーと考えられており、⁴ それらのバンドは1-3NG1, 1-4NG1及び1-5NG1においては、表現型1の主要バンドよりも陰極側に、1-6HR1, 1-7NG1においては、1のバンドの陽極側に移動した。1本又は2本の二次バンドが、表現型1-6HR1及び1-7NG1の変異型ホモダイマーバンドの陽極側と、表現型1の主要バンドの陽極側に現れた。これらの二次バンドは、図2では点線で模式図に示されている。

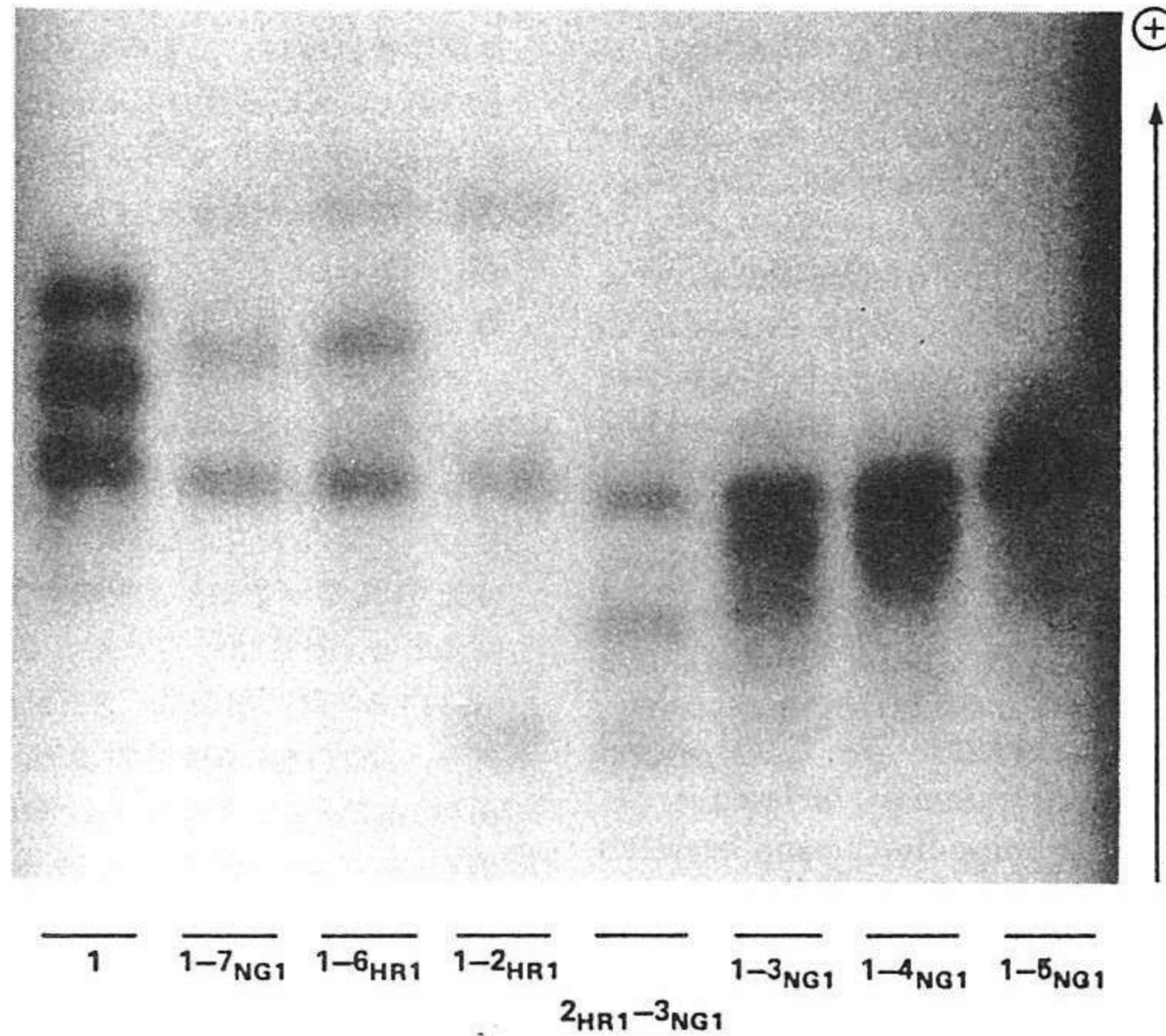


Figure 1. Patterns of normal and seven variant phenotypes obtained from children and one of their mothers by electrophoresis using the tris-citrate buffer, pH 7.5. Mother of a Nagasaki child having 1-3NG1, showing 2HR1-3NG1 (fifth lane from the left).

図1 pH7.5のトリス-クエン酸緩衝液を用いる電気泳動法における正常表現型と、子供及びその母親の1人から得られた七つの変異表現型のパターン。1-3NG1をもつ長崎の子供の母親は、2HR1-3NG1を示す(左から第5列目)。

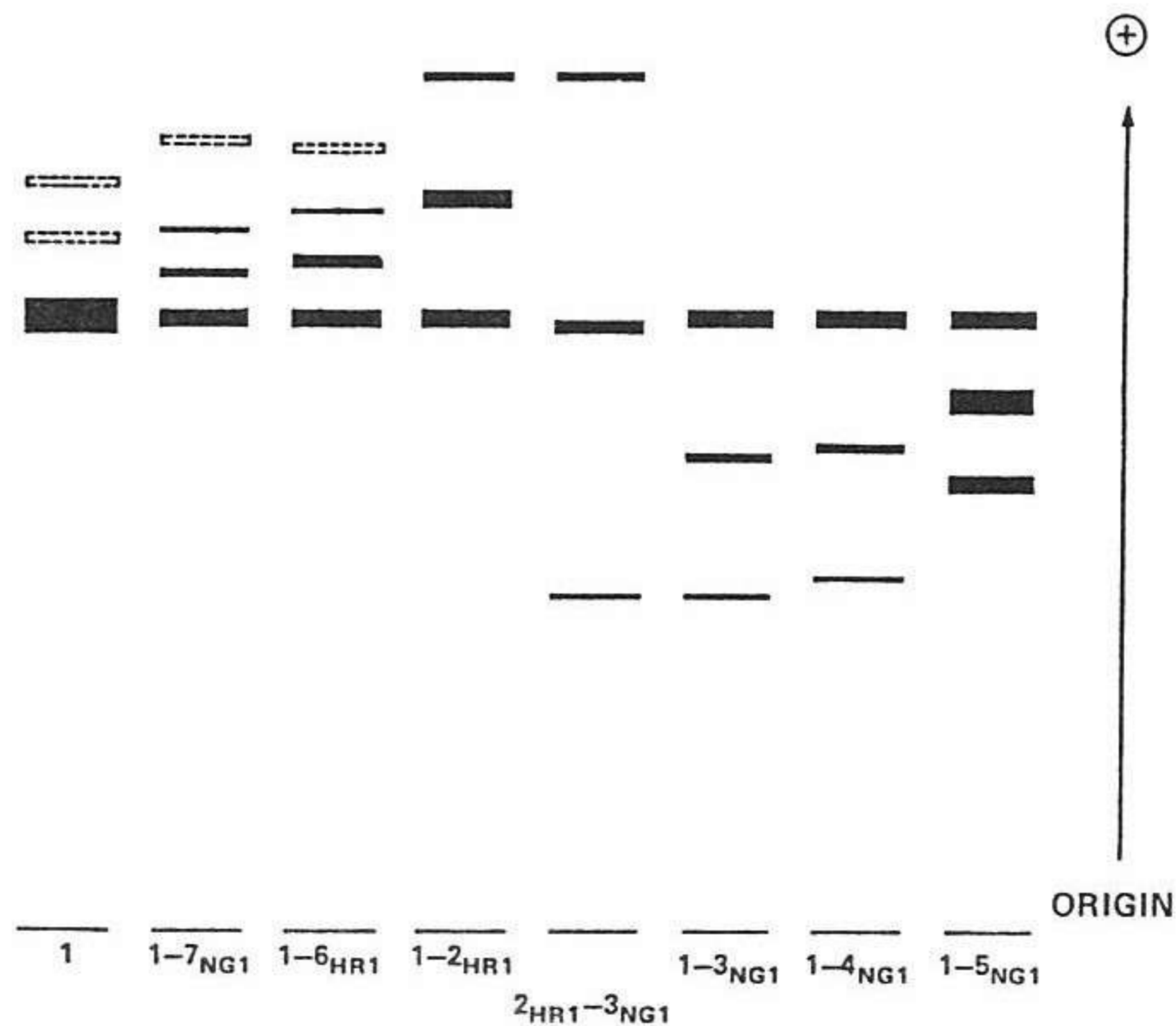


Figure 2. Diagram of seven variant phenotypes on starch gel using the tris-citrate buffer system, pH 7.5.

図2 pH7.5のトリス-クエン酸緩衝液を用いる澱粉ゲル電気泳動における七つの変異表現型の模式図。

Mobilities and intensities of the two variant bands of 1-3NG1 and 1-4NG1 were similar to those of 1-3, in which the middle band (the heterodimer) was less intense and the slowest band (the variant homodimer) was the least intense, as reported by Chen and Giblett⁴ and Ishimoto and Kuwata.³ The middle and slowest bands of 1-3NG1 migrated slightly cathodal to those of 1-4NG1, respectively. 1-3NG1 was encountered in 27 Hiroshima children (21 unrelated children) and 23 Nagasaki children (15 unrelated children). 1-4NG1 was found in 28 Hiroshima children (24 unrelated children) and 22 Nagasaki children (18 unrelated children). The frequencies of *GOT1*3NG1* in Hiroshima and Nagasaki are 0.0015 and 0.0010, respectively, and those of *GOT1*4NG1* are 0.0016 and 0.0014, respectively. Since difference in mobility of the variant homodimer band between 3NG1 and 4NG1 and that in allele frequency between *GOT1*3NG1* and *GOT1*4NG1* were very slight, and we did not directly compare them with 1-3, it is difficult to determine which of them is the same as 1-3 or whether both of them are different from 1-3. In a family study for a Nagasaki child with 1-3NG1, father was type 1 and mother showed 2HR1-3NG1 in which the position of the middle band was very slightly cathodal to that of the main band of phenotype 1. The same phenomenon was observed in the photograph of 2-3 in the report of Ishimoto and Kuwata.³

Since Wurzinger and Mohrenweiser⁹ succeeded in classifying two kinds of slow variants into five subtypes with a discontinuous buffer system of pH 7.5, we examined all the cases of variants with this buffer system. Results are shown diagrammatically in Figure 3. In addition to ordinary three bands of 1-3NG1, 1-4NG1 or 1-5NG1, two to three bands appeared to the anodal side of the normal homodimer band but no new class of variants were encountered among them. Moreover, we found that the difference in the mobility of the homodimer band between 3NG1 and 4NG1 in this buffer system is smaller than that in the tris-citrate buffer system. On the basis of the migration rate observed in this buffer system, 2HR1 and 3NG1 or 4NG1 seem to correspond to 2A and 3A, respectively, of Wurzinger and Mohrenweiser⁹ encountered in individuals of Oriental ancestry; the ratio of the distance between the homodimer band of 2HR1 and the homodimer band of 1 in

1-3NG1及び1-4NG1の2本の変異型バンドの移動度及び染色強度は、1-3の変異型バンドのものに類似していた。Chen及びGiblett⁴並びにIshimoto及びKuwata³が報告しているように、この1-3の真中のバンド(ヘテロダイマー)の染色強度はやや弱く、最も遅いバンド(変異型ホモダイマー)の染色強度は最も弱かった。1-3NG1の真中のバンド及び最も遅いバンドは1-4NG1のそれぞれのバンドよりやや陰極側に移動した。1-3NG1は、広島の子供27人(21人は血縁関係がない)と長崎の子供23人(15人は血縁関係がない)に認められた。1-4NG1は広島の子供28人(24人は血縁関係がない)と長崎の子供22人(18人は血縁関係がない)に認められた。広島及び長崎における*GOT1*3NG1*の頻度はそれぞれ0.0015及び0.0010であり、*GOT1*4NG1*の頻度はそれぞれ0.0016及び0.0014である。3NG1と4NG1との間の変異型ホモダイマーバンドの移動度の差、並びに*GOT1*3NG1*と*GOT1*4NG1*との間の対立遺伝子頻度の差は非常に小さく、またそれらと1-3とを直接に比較しなかったため、どちらが1-3と同じであるのか、また両者とも1-3と異なるかどうかを決定するのは困難である。1-3NG1を示す長崎の子供1例に関する家族調査では、父親はタイプ1を、母親は2HR1-3NG1を示したが、この表現型においては真中のバンドは、表現型1の主要バンドよりわずかに陰極側にあった。同じ現象がIshimoto及びKuwata³の報告中の写真2-3にも認められた。

Wurzinger及びMohrenweiser⁹は、2種類の遅い変異型をpH 7.5の不連続緩衝液を用いて5種類のサブタイプに分類することに成功しているため、我々も変異型の全例をこの緩衝液を用いて検査した。結果を模式図の形で図3に示す。通常の1-3NG1、1-4NG1又は1-5NG1の3本のバンドのほかに、2本ないし3本のバンドが正常なホモダイマーバンドの陽極側に現れたが、新しい変異型は認められなかった。更に、この緩衝液において3NG1と4NG1との間にみられるホモダイマーバンドの移動度の差は、トリスクエン酸緩衝液を用いた場合に見られる差より小さいことが明らかになった。この緩衝液を用いたときに認められた移動度によれば、2HR1及び3NG1又は4NG1は、Wurzinger及びMohrenweiser⁹が東洋系の人たちに認めた2A及び3Aにそれぞれ相当するようと思われる。すなわち1-2HR1パターンにおける2HR1のホモダイマーバンドと1のホモダイマーバンド間の距離と、1-3NG1又は1-4NG1パターンにおける

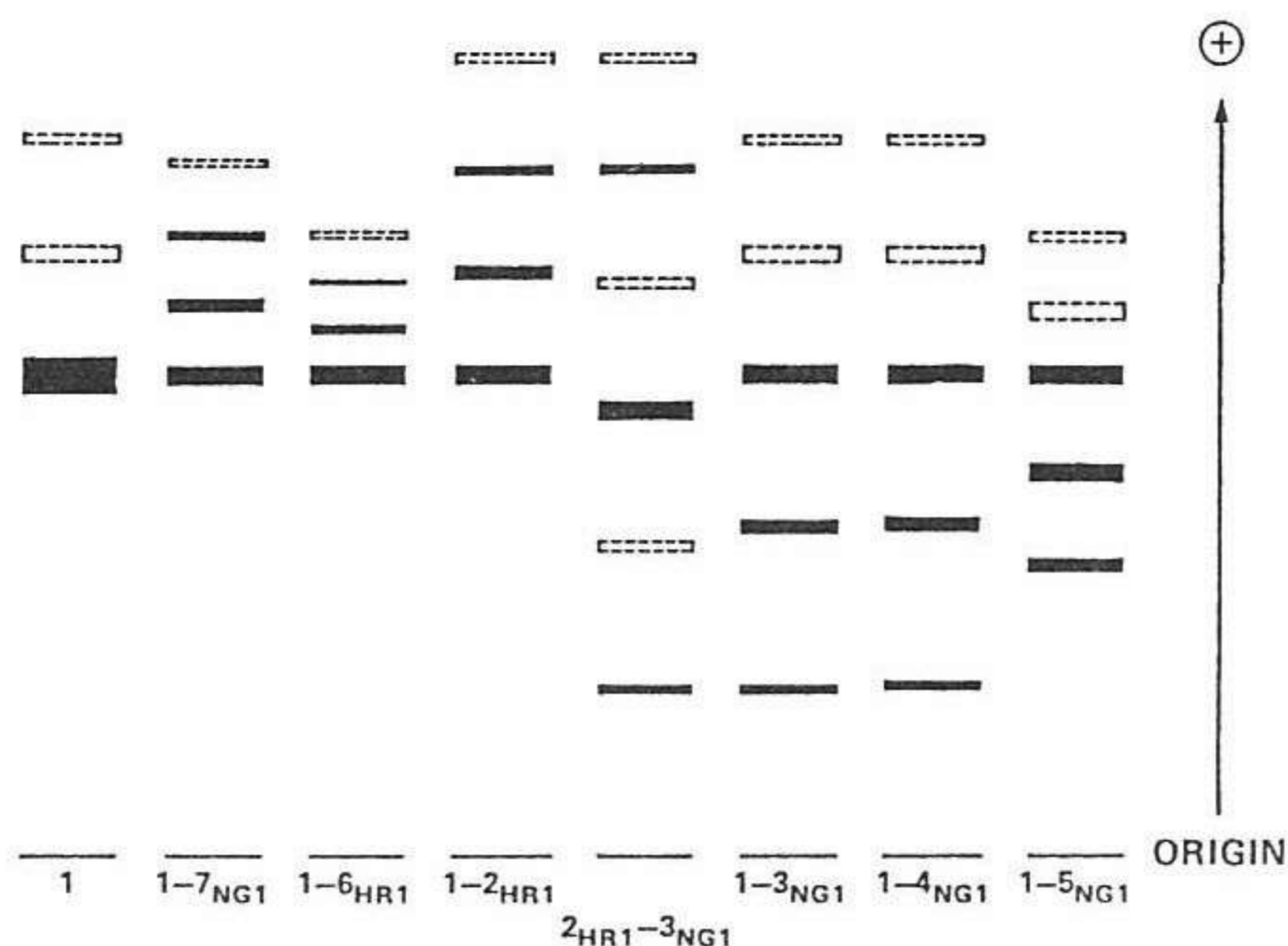


Figure 3. Diagram of seven variant phenotypes on starch gel using the discontinuous buffer system, pH 7.5.

図3 pH7.5の不連続緩衝液を用いる澱粉ゲル電気泳動における七つの変異表現型の模式図。

the 1-2HR1 pattern to that between the homodimer band of 3NG1 or 4NG1 and the homodimer band of 1 in the 1-3NG1 or 1-4NG1 pattern was the same as the ratio of that in the 1-2A to that in the 1-3A shown in their diagram. Since the difference in the mobility between the homodimer band of 3NG1 and that of 4NG1 is very slight in this buffer system, it is difficult to decide which of them corresponds to 3A.

The most cathodal band of 1-5NG1 showed the same intensity as that of 1 and migrated to a position slightly cathodal to that of the middle band of 1-3NG1. The intensity of the middle band of 1-5NG1 was stronger than those of the other two bands. This variant was encountered once in Hiroshima and three times (two unrelated individuals and a sister of one of them) in Nagasaki. In the fourth variant, 1-6HR1, the most anodal band migrated slightly cathodal to the position of the middle band of 1-2HR1 and its intensity was slightly weaker than that of band 1. This variant was encountered in two unrelated Hiroshima children and two Nagasaki siblings. The fifth rare variant phenotype of 1-7NG1 of which the most anodal variant band migrated slightly cathodal to that of 1-6HR1 and to the middle band of 1-2HR1 was encountered in a Nagasaki child. Nevertheless, when electrophoresis of 1-2HR1, 1-6HR1, and 1-7NG1 was

3NG1又は4NG1のホモダイマーバンドと1のホモダイマーバンド間の距離の比率は、Wurzinger及びMohrenweiserの図に示された1-2Aの距離と1-3Aの距離との比率と同じであった。3NG1のホモダイマーバンドと4NG1のホモダイマーバンドとの間の移動度の差は、この緩衝液においては極めて小さいので、どちらが3Aに相当するかを決定するのは困難である。

1-5NG1の最も陰極寄りのバンドは1のバンドと同じ染色強度を示し、1-3NG1の真中のバンドよりやや陰極寄りに移動した。1-5NG1の真中のバンドの染色強度は、他の二つのバンドの染色強度より強かった。この変異型は広島で1回、長崎で3回(血縁関係のない2例と、その一方の姉妹1例)認められた。第4の変異型1-6HR1では、最も陽極寄りのバンドは、1-2HR1の真中のバンドよりもわずかに陰極寄りに移動し、その染色強度はバンド1よりやや弱かった。この変異型は血縁関係のない広島の2例と長崎の同胞2例に検出された。第5番目のまれな変異表現型の1-7NG1は、長崎の子供に認められた。この1-7NG1の最も陽極側の変異型バンドは1-6HR1の最も陽極側のバンドよりもわずかに陰極側のところに、また1-2HR1の真中のバンドよりやや陰極側のところに移動した。しかし、1-2HR1、1-6HR1及び1-7NG1の

carried out using the discontinuous buffer system of pH 7.5, four to five bands appeared for each of them. The difference in mobility of each of the bands between 1-2HR1 and 1-6HR1 or between 1-2HR1 and 1-7NG1 was smaller than that observed using the tris-citrate buffer. In addition, the order of migration from the anodal side in the discontinuous buffer system was 2HR1>7NG1>6HR1 while that in the tris-citrate buffer system was 2HR1>6HR1>7NG1.

Results of family studies for rare variants are summarized in Tables 2, 3, and 4. For all instances in which both parents could be examined, one of the parents exhibited the same variant as that of the propositus. Even in five cases (one case of 3NG1 and four cases of 4NG1) where only one parent could be examined, the variant was encountered in that parent. Thus, the genetic nature of 3NG1, 4NG1, 5NG1, and 6HR1 was confirmed in most of the cases. Concerning 7NG1, although the propositus exhibited the phenotype 1-7NG1 in two samples obtained in two different occasions, its genetic nature has not yet been confirmed since the father showed phenotype 1 but the mother could not be examined.

電気泳動を、pH 7.5の不連続緩衝液を用いて行くと、それぞれ4本ないし5本のバンドが現れた。1-2HR1と1-6HR1との間、又は1-2HR1と1-7NG1との間の各バンドの移動度にみられる差は、トリス-クエン酸緩衝液を用いた場合よりも小さかった。更に、不連続緩衝液を用いた場合、変異型は陽極側から、2HR1>7NG1>6HR1の順で移動したが、トリス-クエン酸緩衝液を用いたときには、2HR1>6HR1>7NG1の順であった。

まれな変異型に関する家族調査の結果は、表2、3及び4にまとめて示した。両親共に検査ができた場合はすべて、両親の一方が発端者と同じ変異型を示した。片親のみに検査を実施できた5例(3NG1が1例、4NG1が4例)においてさえ、この変異型はその親に認められた。このように、3NG1、4NG1、5NG1及び6HR1の遺伝性は変異型の大部分で確認された。7NG1については、発端者は、別々のときに得られた二つのサンプルで、表現型1-7NG1を示しているが、父親は表現型1を示し、母親は検査できなかったため、その遺伝性はまだ確認されていない。

TABLE 2 FAMILY STUDIES FOR GOT1 1-3NG1
表2 GOT1 1-3NG1に関する家族調査

Combined	Propositus		Mother	Father
	Hiroshima	Nagasaki		
1	1	0	♀	♂
18	11	7	♀	♂
11	6	5	♀	♂
1	0	1	♀	Dead
5	3	2	NT	NT

♀ ♀ Homozygote for *GOT1**3NG1
♀, ♂ Heterozygote for *GOT1**3NG1
♀, ♂ Homozygote for normal *GOT1**1
NT Not tested

TABLE 3 FAMILY STUDIES FOR GOT1 1-4NG1
表3 GOT1 1-4NG1に関する家族調査

Combined	Propositus		Mother	Father
	Hiroshima	Nagasaki		
1	0	1	♀	♂
15	9	6	♀	♂
13	8	5	♀	♂
3	2	1	♀	NT
1	1	0	♀	Dead
8	4	4	NT	NT
1	0	1	NT	Dead

♀, ♂ Heterozygote for *GOT1*4NG1*
 ♀, ♂ Homozygote for *GOT1*1*
 NT Not tested

TABLE 4 FAMILY STUDIES FOR GOT1 VARIANTS
表4 GOT1 変異型に関する家族調査

Variant No.	Variant Type	Propositus			Mother	Father
		City	ID No.	Sex		
1	5NG1	N	681657	F	♀	♂
2	5NG1	N	681659	F		
3	5NG1	N	718532	F		
4	5NG1	H	918887	F	NT	NT
5	6HR1	N	705392	F	NT	NT
6	6HR1	N	705393	F		
7	6HR1	H	402717	F	♀	♂
8	6HR1	H	919318	F	NT	NT
9	7NG1	N	143543	M	NT	♂

♀, ♂ Heterozygote for variant alleles at *GOT1* locus
 ♀, ♂ Homozygote for normal *GOT1*1*
 NT Not tested
] Siblings

GOT1 activities of variants were determined when blood samples were available from family studies. Means and standard deviations (SDs) for GOT1 activities obtained from propositi, affected parents and normal parents from Hiroshima are summarized in Table 5. The means and the SDs for type 1 and type 1-2HR1 were obtained from 3,505 and 113 Hiroshima children, respectively, examined in screening for deficiency variants of red cell enzymes; a part of these data have already been reported.¹² Inasmuch as Wurzinger and Mohrenweiser⁹ presented data that the level of erythrocyte GOT1 activity of nonpregnant females (five individuals) is 1.3 times higher than that of males (13 individuals), we calculated the means and SDs by sex: Mean \pm SD (IU/gHb) for type 1 from 1,802 females and 1,703 males are 4.52 ± 0.66 and 4.73 ± 0.66 , respectively; for type 1-2HR1 from 52 females and 61 males are 3.68 ± 0.49 and 3.81 ± 0.50 , respectively. In addition to these values, we observed that the differences in the means of the activities of other variant phenotypes between the females and males were less than 1SD (data not shown).

変異型の GOT1 活性は血液サンプルが家族調査の際に入手できたときに測定した。広島発端者、異常のある親及び正常な親から得た GOT1 活性の平均値及び標準偏差 (SDs) を表 5 に要約した。タイプ 1 及びタイプ 1-2HR1 の平均値及び標準偏差は、赤血球酵素の活性欠損変異型のスクリーニングで検査を受けた広島の 3,505 人 (タイプ 1) 及び 113 人 (タイプ 1-2HR1) から得た。これらのデータの一部は既に報告されている。¹² Wurzinger 及び Mohrenweiser⁹ は、妊娠していない女性 (5 人) の赤血球 GOT1 活性値は男性 (13 人) の値より 1.3 倍高いというデータを発表しているため、我々は性別の平均値及び標準偏差を計算したところ、次のような値を得た。すなわち、1,802 人の女性及び 1,703 人の男性から得たタイプ 1 の平均値 \pm 標準偏差 (IU/gHb) はそれぞれ 4.52 ± 0.66 及び 4.73 ± 0.66 であり、52 人の女性及び 61 人の男性から得たタイプ 1-2HR1 の値はそれぞれ 3.68 ± 0.49 及び 3.81 ± 0.50 である。これらの値のほか、他の変異表現型の活性の平均値にみられる男女間の

TABLE 5 ACTIVITIES (IU/gHb) OF VARIOUS GOT1 VARIANTS ENCOUNTERED IN HIROSHIMA CHILDREN AND THEIR PARENTS

表 5 広島の子供とその親に検出された各種の GOT1 変異型の活性 (IU/gHb)

Phenotype	Propositus		Affected parent		Normal parent	
	Number	Activity (Mean \pm SD)	Number	Activity (Mean \pm SD)	Number	Activity (Mean \pm SD)
1	3505	4.63 ± 0.67				
1-2HR1	113	3.75 ± 0.49	10	3.05 ± 0.33	10	4.12 ± 0.41
2HR1	1	2.09	2*	2.53 ± 0.20	0	
1-3NG1	9	3.20 ± 0.32	4	3.49 ± 0.93	4	4.37 ± 0.42
1-4NG1	15	3.30 ± 0.51	11	3.64 ± 0.81	9	4.52 ± 0.64
1-5NG1	1	4.56				
1-6HR1	2	3.06 ± 0.10	1	3.64	1	3.23

*Both parents showed 1-2HR1. 両親共に 1-2HR1 を示す。

Thus, our data show no difference by sex for the activity of GOT1, and therefore the means shown in Table 5 were obtained by combining values from both sexes in Hiroshima. Activities of propositi having heterozygous phenotypes such as 1-2HR1, 1-3NG1, 1-4NG1, and 1-6HR1 as well as those of affected parents were between 70% and 80% of the mean value of type 1, while normal parents showed normal levels of activity.

差は 1 SD より小さいこともわかった (データは示さない)。このように我々のデータによれば GOT1 の活性に男女差はなく、したがって表 5 に示した平均値は広島の男女のデータを合計して計算したものである。1-2HR1, 1-3NG1, 1-4NG1 及び 1-6HR1 などのヘテロ接合表現型をもつ発端者、並びに異常のある親の活性はタイプ 1 の平均値の 70% から 80% の間にあっ

The activity of 1-7NG1 in a Nagasaki child was 2.90 IU/gHb, or 66% of the mean value (4.38 IU/gHb) obtained from 427 Nagasaki children having type 1. On the other hand, the activity of 1-5NG1 from a Hiroshima child was normal. The activity of 1-5NG1 in three Nagasaki children (two siblings and one unrelated child) and their carrier parents was also normal. These observations are consistent with those concerning intensities of variant bands in the above described variants where the band of variant homodimer was the least intense of the three bands and that of the heterodimer was less intense than the homodimer band of 1, except for 1-5NG1 where the intensity of the variant homodimer band which is the most cathodal, was as strong as that of homodimer band of 1.

Regarding the thermostability of GOT1 variants, we have already reported that phenotypes 1-2HR1, 1-3NG1 and 1-4NG1 have normal or increased thermostability.¹³ Family studies for these variants confirmed the genetic nature of this characteristic, shown in Table 6. In addition,

たが、正常な親は正常な活性値を示した。長崎の子供の1人に認められた1-7NG1の活性は2.90IU/gHb, すなわちタイプ1を有する長崎の子供427人から得た平均値(4.38IU/gHb)の66%であった。一方、広島の子供1人から得た1-5NG1の活性は正常であった。長崎の子供3人(2人は同胞, 1人は血縁関係なし)及びキャリアーである彼らの親の1-5NG1活性も正常であった。これらの観察結果は、最も陰極側にある変異型ホモダイマーバンドの染色強度が、1のホモダイマーバンドの染色強度と同じである1-5NG1を除いて、上記の変異型においては、変異型ホモダイマーバンドは3本のバンドの中で最も染色強度が弱く、ヘテロダイマーバンドは1のホモダイマーバンドより染色強度が弱かったという観察結果と一致する。

GOT1変異型の熱安定性については表現型1-2HR1, 1-3NG1及び1-4NG1の熱安定性は、正常又は正常値よりも増大していることを既に報告した。¹³ 表6に示すように、これらの変異型に関する家族調査において、この特性が遺伝的なものであることを確認した。

TABLE 6 THERMOSTABILITY PROFILES OF VARIOUS GOT1 PHENOTYPES ENCOUNTERED IN THE CHILDREN AND THEIR PARENTS

表6 子供とその親に検出された各種GOT1表現型の熱安定性

Phenotype	Propositus				Affected parent			
	Sex	Number of samples	Remaining activity (%)*		Number of samples	Remaining activity (%)*		
			10 min (Mean ± SD)	20 min (Mean ± SD)		10 min (Mean ± SD)	20 min (Mean ± SD)	
1	Male	460	83 ± 8	81 ± 10				
	Female	481	84 ± 7	82 ± 9				
1-2HR1	Male	21	91 ± 7	91 ± 10	Father	5	89 ± 3	91 ± 4
	Female	21	89 ± 8	89 ± 13	Mother	4	89 ± 2	89 ± 5
1-3NG1	Male	2	87 ± 11	88 ± 22	Father	1	89	85
	Female	2	85 ± 6	84 ± 6	Mother	3	83 ± 8	84 ± 4
1-4NG1	Male	2	94 ± 3	90 ± 1	Father	3	96 ± 5	97 ± 16
	Female	4	92 ± 2	96 ± 9	Mother	2	94 ± 9	102 ± 26
1-5NG1**	Female	2	92 ± 6	92 ± 1				
1-6HR1	Female	2	85 ± 4	77 ± 7	Mother	1	94	99
1-7NG1**	Male	1	87	79				

*The activity remaining in the hemolysates after heating for 10 and 20 minutes at 60°C were compared with and expressed as % of that of the unheated hemolysates.

60°Cで10分間及び20分間加熱した後の溶血液中に残存する活性を、加熱しない溶血液の活性と比較し%で示した。

**Data are mainly from Hiroshima children and their parents except for two phenotypes labeled with two asterisks, where only Nagasaki children could be examined.

データは主として広島の子供とその親から得た。ただし、2個の星印をつけた二つの表現型については、長崎の子供のみを調べることができた。

normal or increased thermostability has been encountered in three new variants, 1-5NG1, 1-6HR1, and 1-7NG1.

Since Wurzinger and Mohrenweiser⁹ observed the difference in thermostability of GOT1 1 phenotype by sex, though they did not show examination numbers, and were able to subtype electrophoretic variants on the basis of thermostability profiles, the means and SDs of the percent remaining activities after heating for 10 and 20 minutes at 60°C of various phenotypes encountered in our populations were calculated by sex, and the thermostability profiles of samples in each variant class were carefully compared, though our conditions for determining thermostability profiles were different from those of Wurzinger and Mohrenweiser.⁹ In addition, thermostability profiles of small number of samples were also examined under their conditions (10 males and 10 females of phenotype 1, three samples of type 1-2, two each for 1-3NG1 and 1-4NG1). Neither sex difference was observed in the data shown in Table 6 obtained under our conditions and those under their conditions nor subtypes were observed for phenotype 1 or the electrophoretically variant phenotypes. With regard to subtypes, it is worth noting that the variants of Wurzinger and Mohrenweiser⁹ were present in a heterogeneous American population composed of different ethnic groups, while our variants occurred in polymorphic or appreciable frequencies in two Japanese populations which are much more homogeneous. It seems likely that rare variants encountered in different ethnic groups are products of different alleles arising from different mutations and that the Japanese variants are products of identical alleles caused by single mutations which subsequently spread in the population.

DISCUSSION

Wurzinger and Mohrenweiser⁹ reported that cord blood erythrocyte GOT1 activity was 1.3 times the activity in erythrocyte from pregnant females, 1.5 times the activity in nonpregnant females, and 2.0 times the activity in males. The cord blood-adult blood disparities were thought to be related to cell age,¹⁵⁻¹⁷ while those between pregnant females and normal adults were related to increased vitamin B6 (pyridoxine) intake of the pregnant females, which intake would raise the GOT1 levels,^{18,19} since pyridoxal phosphate

更に、三つの新しい変異型、1-5NG1、1-6HR1及び1-7NG1においても熱安定性は正常又は増大していることが認められた。

Wurzinger 及び Mohrenweiser⁹ は、検査数は示していないが、GOT1 1 表現型の熱安定性に男女差を認め、熱安定性プロフィールに基づいて電気泳動変異型を更にサブタイプに分類できたので、我々の調査集団に認められた種々の表現型を60°Cで10分間及び20分間加熱した後、残存活性百分率の平均値及び標準偏差を性別に計算し、各変異型クラスにおけるサンプルの熱安定性プロフィールを慎重に比較した。ただし、我々の用いた熱安定性プロフィールの測定条件は Wurzinger 及び Mohrenweiser⁹ の条件とは異なっていた。更に、Wurzinger らと同じ条件で少数のサンプル(表現型1の男女各10例、タイプ1-2を3例、1-3NG1及び1-4NG1を各2例)の熱安定性プロフィールも調べた。表6に示すように、我々の条件下で得たデータ及び Wurzinger らの条件下で得たデータには男女差は認められず、また表現型1又は電気泳動上の変異表現型の中に、サブタイプも認められなかった。サブタイプに関しては、Wurzinger 及び Mohrenweiser⁹ の変異型は、異人種群で構成される不均一なアメリカ人集団に存在し、一方、我々の変異型は、多型の頻度又はかなり高い頻度で、はるかに均一性の高い二つの日本人集団中に検出されたということを指摘しておきたい。異人種群に存在するまれな変異型は別々の突然変異から生じた別々の対立遺伝子の産物であり、また日本人に検出された変異型は、単一の突然変異によって生じた同一の対立遺伝子が、その後日本人集団に広がったものによって作られた可能性が強い。

考 察

Wurzinger 及び Mohrenweiser⁹ は、臍帯血赤血球 GOT1 活性は妊婦の赤血球活性の1.3倍、非妊婦の活性の1.5倍、また男性の活性の2.0倍であったと報告した。臍帯血-成人血間の差は細胞年齢に関係がある¹⁵⁻¹⁷と考えられたが、妊婦と正常成人との間の差は妊婦のビタミンB6(ピリドキシン)摂取の増加に関係があるとされた。なぜなら、ビタミンB6を摂取すれば、リン酸ピリドキサルが GOT 活性の補助因子

serves as a cofactor for the activity of GOT. These authors suggested that the differences between nonpregnant females and males might be connected to the fact that oral contraceptives taken with oral supplementation of vitamin B6 increase erythrocyte GOT levels to a greater degree than oral intake of vitamin B6 alone.²⁰ They also reported differences in thermostability of erythrocyte GOT1 among samples from the above-described four groups. We were unable to confirm the differences in activity level and thermostability of erythrocyte GOT1 between Japanese males and females for either the normal phenotype or the electrophoretically variant phenotypes. The fact that oral contraceptives are not available in Japan may explain the different observations concerning the activity level and thermostability of GOT1 between the Americans and the Japanese.

Activities of variant phenotypes other than 1-5NG1 were lower than that of phenotype 1, while the thermostability profiles of variant GOT1 were normal or stable. This indicates that asymmetry in the triple-banded patterns of the variants other than 1-5NG1 is not caused by differences in stability but may be due to either decreased synthesis or lower specific activity of the variant enzyme proteins.

Polymorphic occurrence of *GOT1*2* and *GOT1*3* in Mongoloid populations were reported by Chen and Giblett⁴ though the population size was small. They reported that allele *GOT1*2* was observed in six populations, the highest frequency being 0.056 observed in 188 Canadian Indians. The allele *GOT1*3* occurred in only two Indian populations, Yakima and Peruvian, the frequencies being 0.018 and 0.025, respectively. Ishimoto and Kuwata³ examined seven different Japanese populations and the allele frequencies of *GOT1*2* and *GOT1*3* were reported to be 0.0092 and 0.0025, respectively, for all the populations combined. Frequencies of *GOT1*2HR1* in Hiroshima and Nagasaki children in this study were 0.015 and 0.012, respectively. Though the frequencies of the *GOT1*2* and *GOT1*2HR1* alleles are similar to each other, and the electrophoretic patterns of the 1-2 and 1-2HR1 phenotypes closely resemble one another, we are reluctant to conclude that the two alleles, *GOT1*2* and *GOT1*2HR1*, are identical until the nucleotide sequences or the amino acid sequences of the gene products are

として働き, GOT1 値が上昇するからである.^{18,19} これらの著者は, 非妊婦と男性の間の活性の差は, ビタミンB6とともに服用される経口避妊薬が, 赤血球 GOT 値を, ビタミンB6のみを経口摂取する場合よりも高い度合まで増大させる事実²⁰に関連がありうることを示唆している. 彼らはまた, 上記4群のサンプル間にみられる赤血球 GOT1の熱安定性の差についても報告した. 我々は正常表現型又は電気泳動上の変異表現型のいずれについても, 日本人男女間における赤血球 GOT1の活性及び熱安定性の差を確認することはできなかった. 経口避妊薬は日本では入手できないという事実は, アメリカ人と日本人との間にみられる GOT1の活性値と熱安定性に関する観察結果の差を説明するものかもしれない.

1-5NG1以外の変異表現型の活性は表現型1の活性より低かったが, 変異型 GOT1の熱安定性プロフィールは正常又はより安定であった. このことは, 1-5NG1を除いて, 変異型の3本のバンドに見られる染色強度の差による非対称性は, 変異型酵素蛋白質の安定性の差によるのではなく, 変異型酵素蛋白質の合成低下又は蛋白質当たりの活性の低下のいずれかによって生じうることを示している.

Chen 及び Giblett⁴ は, 集団規模は小さかったけれど, モンゴロイド集団において *GOT1*2* 及び *GOT1*3* が多型の頻度で存在したことを報告した. それによると, 対立遺伝子 *GOT1*2* は六つの集団に認められ, その最高頻度はカナダ・インディアン188人に認められた0.056であった. 対立遺伝子 *GOT1*3* は Yakima 及び Peruvian の二つのインディアン集団にのみ存在し, 頻度はそれぞれ0.018と0.025であった. Ishimoto 及び Kuwata³ は七つの日本人集団を調査し, その集団を全部合計して *GOT1*2* と *GOT1*3* の対立遺伝子頻度を計算すると, それぞれ0.0092と0.0025となったと報告した. 本研究における広島及び長崎の子供の *GOT1*2HR1* の頻度はそれぞれ0.015と0.012であった. *GOT1*2* 及び *GOT1*2HR1* の対立遺伝子頻度は互いに近い値であり, また1-2表現型と1-2HR1表現型の電気泳動パターンも互いに非常によく似ているが, *GOT1*2* と *GOT1*2HR1* のヌクレオチド配列, 又はそれら遺伝子の産物のアミノ酸配列が同じであることが明らかになるまでは, *GOT1*2* と *GOT1*2HR1* と

shown to be identical. Since electrophoretic patterns, that is, mobilities and intensities of three bands, of 1-3NG1 and 1-4NG1 are very similar, 1-3 phenotypes encountered in other populations may include phenotypes identical with 1-3NG1 and/or 1-4NG1. The combined frequencies of *GOT1*3NG1* and *GOT1*4NG1* are 0.0031 and 0.0024 in Hiroshima and Nagasaki, respectively. These values are similar to the frequency of *GOT1*3* obtained by Ishimoto and Kuwata³ from seven Japanese populations combined, who noted that *GOT1*3* allele may occur at a lower frequency in the southern localities of Japan, though they did not have sufficient data to make this conclusion wholly convincing. We were unable to confirm their observation in our study, since differences between Hiroshima and Nagasaki in the frequencies of *GOT1*3NG1* ($\chi^2=1.12$, $df=1$, $0.20 < P < 0.30$) or *GOT1*4NG1* ($\chi^2=0.24$, $df=1$, $0.50 < P < 0.70$) or in the combined frequencies of these two alleles ($\chi^2=1.16$, $df=1$, $0.20 < P < 0.30$) are not statistically significant even though Nagasaki is located southwest of Hiroshima. Nevertheless, populations from Hiroshima and Nagasaki have been considered to be genetically different on the basis of significant differences observed in the frequencies of certain types of variants of phosphoglucomutase-1 (PGM1) and glucose phosphate isomerase (GPI) between the two cities.^{1,21} To explain the discrepancy in frequency of GOT1 variants compared with PGM1 and GPI, one may speculate that mutations producing *GOT1*3NG1* and *GOT1*4NG1* alleles as well as *GOT1*2HR1* allele probably occurred and spread among Mongoloid populations, and some of them subsequently migrated to the Japanese Archipelago, while mutations producing rare alleles of PGM1 or GPI might have occurred among peoples who migrated at later times to the Japanese Islands from southern Asia or southern Pacific area. Differences in frequencies of some alleles of PGM1 and GPI in Nagasaki compared to Hiroshima were considered to express the stronger influence of the southern migration stream into Nagasaki.^{1,22}

いう二つの対立遺伝子は全く同じであると結論を下すことは避けたい。1-3NG1及び1-4NG1の電気泳動パターン、すなわち3本のバンドの移動度と染色強度は非常によく似ているので、他のヒトの集団に検出された1-3表現型は1-3NG1及び/又は1-4NG1と全く同じ表現型を含むことも考えられる。*GOT1*3NG1*及び*GOT1*4NG1*の合計頻度は、広島及び長崎でそれぞれ0.0031及び0.0024であった。これらの値はIshimoto及びKuwata³が七つの日本人集団の合計から得た*GOT1*3*の頻度と類似している。彼らは、*GOT1*3*対立遺伝子は日本南部に行くに従って頻度が低くなっているかもしれないと述べているが、この結論を完全に裏付ける十分なデータはもっていなかった。長崎は広島の南西に位置しているにもかかわらず、広島と長崎の両都市間において*GOT1*3NG1*の頻度($\chi^2=1.12$, $df=1$, $0.20 < P < 0.30$), *GOT1*4NG1*の頻度($\chi^2=0.24$, $df=1$, $0.50 < P < 0.70$), あるいはこの二つの対立遺伝子の合計頻度($\chi^2=1.16$, $df=1$, $0.20 < P < 0.30$)に関して統計学的に有意な差はなかったため、我々の研究においては、彼らの観察所見を確認することはできなかった。しかし、ホスホグルコムターゼ-1(PGM1)及びグルコースリン酸イソメラーゼ(GPI)のある種の変異型の頻度には、両都市間で有意な差が認められるために、広島と長崎の集団は遺伝的に異質な集団であると考えられている。^{1,21} PGM1及びGPIと比較したとき、GOT1変異型頻度には、両都市間に、有意差がないという不一致を説明するため、次のように推測することも可能である。すなわち、*GOT1*3NG1*及び*GOT1*4NG1*対立遺伝子並びに*GOT1*2HR1*対立遺伝子をもたらず突然変異はおそらくモンゴロイド集団に発生し、集団内に拡散したもので、その一部はその後日本列島へ渡ったが、PGM1又はGPIのまれな対立遺伝子をもたらず突然変異はその後南アジア又は南太平洋地域から日本列島へ移動した人々に生じたのではないかという推測である。長崎と広島の間にもみられるPGM1及びGPIの幾つかの対立遺伝子頻度の差は、南方からの移動の流れが長崎に対してより強い影響を与えたことを表していると考えられた。^{1,22}

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 (PGM2). *Jpn J Hum Genet* 29:89-104, 1984 (RERF TR 11-84)
2. KIMURA Y, KANEKO J, MASUNARI N, TAKAHASHI N, FUJITA M, HAZAMA R, GORIKI K, SATOH C: Genetic variants of erythrocyte glutamate-oxaloacetate transaminase (soluble GOT) in Japanese populations (Hiroshima, Nagasaki). *Jpn J Hum Genet* 26:155, 1981
3. ISHIMOTO G, KUWATA M: Studies on human glutamic-oxaloacetic transaminase variation, including enzyme patterns in some nonhuman primates. *Jpn J Hum Genet* 18:364-72, 1974
4. CHEN SH, GIBLETT ER: Genetic variation of soluble glutamic-oxaloacetic transaminase in man. *Am J Hum Genet* 23:419-24, 1971
5. DAVIDSON RG, CORTNER JA, RATAZZI MC, RUDDLE FH, LUBS HA: Genetic polymorphisms of human mitochondrial glutamic oxaloacetic transaminase. *Science* 169:391-2, 1970
6. HACKEL E, HOPKINSON DA, HARRIS H: Population studies on mitochondrial glutamate-oxaloacetate transaminase. *Ann Hum Genet* 35:491-6, 1972
7. TOYOMASU T, SAKAKIBARA S, KAGAMIYAMA H, MATSUMOTO H: Genetic polymorphism of mitochondrial glutamate-oxaloacetate transaminase in Japanese. *Hum Genet* 69:90-1, 1984
8. TENG YS, TAN SG, LOPEZ CG, NG T, LIE-INJO LE: Genetic markers in Malaysians: Variants of soluble and mitochondrial glutamic oxaloacetic transaminase and salivary and pancreatic amylase, phosphoglucomutase III and saliva esterase polymorphisms. *Hum Genet* 41:347-54, 1978
9. WURZINGER KH, MOHRENWEISER HW: Studies on the genetic and non-genetic (physiological) variation of human erythrocyte glutamic oxaloacetic transaminase. *Ann Hum Genet* 46:191-201, 1982
10. BEUTLER E, BLUME KG, KAPLAN JC, LÖHR GW, RAMOT B, VALENTINE WN: International Committee for Standardization in Haematology: Recommended methods for red-cell enzyme analysis. *Br J Haematol* 35:331-40, 1977
11. INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY: Recommendations for haemoglobinometry in human blood. *Br J Haematol (Suppl)* 13:71-5, 1967
12. 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)
13. SATOH C, NEEL JV, MIURA A, UENO C, ARAKAWA H, OMINE H, GORIKI K, FUJITA M: Inherited thermostability variants of seven enzymes in a Japanese population. *Ann Hum Genet* 49:11-22, 1985 (RERF TR 18-84)
14. 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)
15. SASS MD, VORSANGER E, SPEAR PW: Enzyme activity as an indicator of red cell age. *Clin Chim Acta* 10:21-6, 1964
16. GAHR M, MEVES H, SCHROTER W: Fetal properties in red blood cells of newborn infants. *Pediatr Res* 13:1231-6, 1979

17. MOHRENWEISER HW, FIELEK S, WURZINGER KH: Characteristics of enzymes of erythrocytes from newborn infants and adults: Activity, thermostability and electrophoretic profiles as a function of cell age. *Am J Hematol* 11:125-36, 1981
18. RAICA N, SAUBERLICH HE: Blood cell transaminase activity in human vitamin B6 deficiency. *Am J Clin Nutr* 15:67-72, 1964
19. CINNAMON AD, BEATON JR: Biochemical assessment of vitamin B6 status in man. *Am J Clin Nutr* 23:696-702, 1970
20. BOSSÉ TR, DONALD EA: The vitamin B6 requirement in oral contraceptive users. I. Assessment by pyridoxal level and transferase activity in erythrocytes. *Am J Clin Nutr* 32:1015-23, 1979
21. TANIS RJ, UEDA N, SATOH C, FERRELL RE, KISHIMOTO S, NEEL JV, HAMILTON HB, OHNO N: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. IV. Acid phosphatase, NADP-isocitrate dehydrogenase, peptidase A, peptidase B and phosphohexose isomerase. *Ann Hum Genet* 41:419-28, 1978 (RERF TR 6-76)
22. 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