

(様式3号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 Chris Adhiyanto

[題名]

Severe phenotype of a new mutant of  $\beta^0$ -thalassemia complicated with P4.2<sub>Nippon</sub> may have developed based on the oxidative state of the  $\beta$ -thalassemia.

(新規の $\beta^0$ -thalassemia変異と赤血球膜蛋白異常P4.2<sub>Nippon</sub>の複合ヘテロ接合体症例における臨床症状悪化の原因にoxidative stateが関与)

[要旨]

A new  $\beta$ -thalassemia ( $\beta$ -thal) frameshift mutation was found at CD 102 (AAC>ATCAC) in a 17-year-old Japanese male and his 14-year-old sister. Both demonstrated a more severe phenotype than the usual  $\beta$ -thal minor. No mRNA derived from the thalassemic allele, or  $\beta^T$ mRNA, was detected in the sequencing analysis of mRNA. However, a small amount of the  $\beta^T$ mRNA was amplified by amplification refractory mutation system and the qPCR demonstrated a negligible amount of  $\beta^T$ mRNA. Thus, their more severe phenotype was not caused by the “dominant type”  $\beta$ -thal in which a considerable amount of the  $\beta^T$ mRNA is present. We further searched for the cause of their severe phenotype. We noticed that the red cells morphology revealed ovalocytosis and small numbers of stomatocytes that were seen in the hereditary spherocytosis (HS), especially by mutations of membrane protein P4.2. The sequence of the *P4.2* gene of our patient disclosed heterozygous P4.2<sub>Nippon</sub>, or missense mutation at codon 142 (GCT>ACT) on exon 3, which is the most common mutation of Japanese HS. Another mutations of other membrane proteins, Band 3 and ankyrin were not detected. When HS by P4.2<sub>Nippon</sub> develops it is homozygous and no P4.2 protein is observed in the red cell ghost by SDS-PAGE, while in our case the amount of the P4.2 was almost normal. We suspected that the oxidation by free excess  $\alpha$ -globin chain in  $\beta$ -thal minor might impair the function of altered membrane protein P4.2 by P4.2<sub>Nippon</sub>. However, there are few reports about the oxidative state of  $\beta$ -thal minor measured by malondialdehyde and total antioxidant capacity. Our study for thirty-three Japanese patients with  $\beta$ -thal minor disclosed that the  $\beta$ -thal minor was related to oxidation that was evidenced by higher malondialdehyde and lower total antioxidant capacity ( $p<0.001$ ). In addition, glycerol lysis time (GLT<sub>50</sub>) that was invariably prolonged in that was highly correlated with both malondialdehyde and total antioxidant capacity ( $p<0.01$ ), or oxidation. Thus, the GLT<sub>50</sub> prolongation in  $\beta$ -thal *per se* may reflect the membrane alteration or injury by the oxidation. Such alterations of the membrane in  $\beta$ -thal may precipitate the further derangement of the red cell membrane by heterozygous P4.2<sub>Nippon</sub> to cause hemolytic involvement.

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第1359号	氏名	Chris Adhiyanto
論文審査担当者	主査教授	市原 清志	
	副査教授	徳田 信子	
	副査教授	田中 伸明	
<p>学位論文題目名</p> <p>Severe phenotype of a new mutant of <math>\beta</math>-thalassemia complicated with P4.2<sub>Nippon</sub> may have developed based on the oxidative state of the <math>\beta</math>-thalassemia.</p> <p>(新規の <math>\beta</math>-Thalassemia と赤血球膜蛋白異常 P4. 2<sub>Nippon</sub> の複合ヘテロ接合体の重篤化に <math>\beta</math>-Thalassemia の酸化状態が関与している可能性がある)</p>			
<p>学位論文の関連論文題目名</p> <p>A NEW <math>\beta^0</math>-THALASSEMIA MUTATION (CODON 102, AAC&gt;ATCAC) IN COEXISTENCE WITH A HETEROZYGOUS P4.2<sub>NIPPON</sub> GENE,</p> <p>(赤血球膜蛋白異常 P4. 2<sub>Nippon</sub> ヘテロ接合体と新規の <math>\beta^0</math>-Thalassemia (CD102 AAC→ATCAC) を持つ症例の解析)</p> <p>掲載雑誌名 Hemoglobin,37(3)</p> <p>巻・号・頁・年 37(3): 227-240, 2013</p>			
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>小球性貧血で受診した17歳男性の診断を行ない、新規の <math>\beta</math> サラセミア (CD102 AAC→ATCAC) であることを明らかにした。しかし、その臨床症状は軽症型 <math>\beta</math> サラセミア症と比較すると重症であるため、この新規のサラセミアがドミナントタイプであるかどうかの確認を ARMA 法や定量 PCR 法などを駆使し確認し軽症型であることを証明している。また、赤血球の形態異常をきたしている点から赤血球膜蛋白の異常が考え、赤血球膜蛋白の異常を検索し、P4.2 の異常である P4.2<sub>Nippon</sub> を突き止めている。P4.2<sub>Nippon</sub> はホモ接合体では球状赤血球症で溶血性貧血となるが、ヘテロ接合体では臨床症状を示さない。この2つの遺伝子異常が共存するとどのようなメカニズムで臨床症状を悪化させるのを説明している。その原因が軽症型 <math>\beta</math> サラセミアに於いても正常血球より優位に高くなる酸化状態と考え、脂質の酸化状態を表す MDA: malondialdehyde より TAC: total antioxidant capacity がサラセミアに特徴的な GLT<sub>50</sub> と相関が高いことから、赤血球膜脂質だけでなく膜蛋白の酸化も起こしていると判断している。軽症型サラセミアだけでは溶血症状を起こさないギリギリの状況であるが、悪化させるその他の要因、例えば妊娠や感染症などが加わる事により溶血症状をきたすため、今回の症例は軽症型 <math>\beta</math> サラセミアにより赤血球膜蛋白が酸化状況に有ることに加え、無症候性赤血球膜異常症 P4.2<sub>Nippon</sub> が加わった事により重篤化した症例であることを述べている。</p> <p>論文の新規性</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 新しいタイプの <math>\beta</math> サラセミアを発見し、この変異が軽症型であることを mRNA レベルの解析などを行い、徹底的に解析をしている(データが揃っている)</li> <li>2. 過去に <math>\beta</math> サラセミアにドミナントタイプの球状赤血球症 (HS) や楕円赤血球症が共存する事で臨床症状が増悪化するという報告は有るが、常染色体劣性遺伝のヘテロ接合体の患者でも臨床症状の悪化が起こっている事を報告した例は始めてである。</li> </ol> <p>今後、劣性遺伝病の症例の悪化に関わっている可能性が高い症例を経験した場合に引用されると考えられる。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. 重症型 <math>\beta</math> サラセミアの酸化状態を報告した論文は有るが、軽症型サラセミアでも高い酸化状態にあることを示した最初の論文である。</li> <li>4. この論文は、軽症型 <math>\beta</math> サラセミアと非症候性の膜蛋白異常症が共存すると、どのようなメカニズムで溶血症状と伴うのか説明した論文である。</li> </ol>			
<p>備考 審査の要旨は800字以内とすること。</p>			