

医学博士三輪史朗氏の「赤血球酵

素異常による遺伝性溶血性貧血の

研究」に対する授賞審査要旨

三輪史朗氏は昭和二六年東京大学医学部を卒業、内科学教室に学び血液学に関心をもち、昭和三四年米国の UCLA 内科に留学、Valentine, Tanaka 博士らと共に赤血球の解糖系諸酵素活性測定方法を開発し、一九六一年遺伝性溶血性貧血患者例でピルビン酸キナーゼ (PK) 欠乏症を発見した。この発見は、血液学の中で「赤血球酵素異常による遺伝性溶血性貧血」という新しい疾患概念確立の端緒となった大きな研究業績であり、三輪氏は本症第一例の直接の発見者である。

帰国後研究の場所は変遷したが、一貫してこの研究に打ち込んで現在も続けており、この分野の先駆者として数多くの重要な新知見を報告している。

症例の頻度は低いが、初期の努力が実って原因不明な溶血性貧血例の検索依頼が集中するようになり、現在迄に PK 欠乏症、G6PD 欠乏症など一四種二六七例とわが国症例の大部分を検索して報

告するに至った。一研究室での種類と症例数の多いことは世界で類をみない。しかも常に綿密な家系調査と酵素的検討を行い、一つの酵素異常の中にもさまざまな異常機能をもつ遺伝的変異種があることを早期に蛋白質レベルで明らかにした。近年原因遺伝子の単離、変異遺伝子の解析に着手し、その知見をもとに異常酵素蛋白の構造、機能と臨床症状の関連を追求している。特に PK 欠乏症の研究では常に世界をリードしていると言える。

PK 欠乏症について主要業績を述べれば、本症第一例を発見した。患者の赤血球と肝の PK が正常の PK と異なる電気泳動易動度を呈することから、本症は異常酵素産生にもとづく分子病であることが明確になるとともに、ヒト PK には四種のアイソザイム (M_1 , M_2 , L , R) があることを阪大田中武彦と共同で見出した(一九七三)。国際血液学標準化委員会に専門委員会を組織して PK 遺伝的変異種の酵素的検索の国際的標準法をまとめた(一九七九)。赤芽球の成熟過程で PK は M_2 から R にスイッチするが、重症例ではスイッチが起らず M_2 が残存することを、遺伝子解析以前の時代に蛍光標識抗体法で明らかにした(一九八三、八四)。ヒトの L , M_2 , R アイソザイムの遺伝子クローニングに成功し塩基配列を決定、 M_1 , M_2 は一五番染色体長腕の M 遺伝子、 L , R は一番染色体長腕の L 遺伝子から生ずることを明らかにした(一九八八、一九九〇)。

症例の遺伝子変異を世界で最初に報告した（一九九〇）。現在迄に二三種におよぶ異なる変異を見出した（一九九〇〜九六）。変異と機能の関連について追求し、変異がA、Bドメイン中の活性中心近傍にあると基質親和性が低下し、一方Cドメイン内のアロステリック構造およびサブユニット間結合にとつて重要な部位近傍の変異ではアロステリック活性化が著しく阻害されて重症である。欠失やスプライシング変異により早期に終止コドンが生じると更に重症でRが無くM₂が残存しているなど（一九九二〜九四）の重要な知見を発表した。赤芽球アインザイムスイッチ機序の遺伝子レベルでの解明に関しては、Rが赤血球に特異的に発現するアインザイムなので、白血球細胞株（K562・MEL）を用いてR型PKプロモーターの解析を行い（一九九二）、さらにプロモーターの上流約4KDにNF-E4認識配列を含む赤芽球特異的なDNase I高感受性領域を同定し（一九九五）解析を進めている。更に最近ヒト重症型に相当してRがなくM₂が残存するPK欠乏症純系マウスを見出し（阪大北村幸彦と共同）、動物モデルによる病因解析および治療、特に遺伝子治療への道を拓いたことは特筆される発見であり、すでに正常マウスの骨髓細胞を移植して好成绩をあげている（一九九五）。

PK欠乏症以外にG6PD欠乏症、アルドラーゼ欠乏症、アデニル酸キナーゼ欠乏症についても、遺伝子解析を世界的にみて早い時

期に行い変異を報告している（一九八七〜八九）。

以上述べたように三輪氏は、PK欠乏症を発見し、以後本症の研究では常に世界の先端にあり、これを中心にすえ、広くその他の種類を含む「赤血球酵素異常による遺伝性溶血性貧血」について幅広い病因解析研究をしている。このような稀な症例を多数対象とした臨床的・基礎的研究が実現できたのは、広く臨床の研鑽を積み、患者や家族・主治医の信頼を得て多くの患者についてきめ細かい臨床経過のフォローアップを実践した臨床家としての誠実な人柄によるところが大きくあり、また他大学の基礎研究者と積極的に共同研究を行ったことがあげられる。血液病の臨床家の実績の一端を示すものとしては、東大医科研での二〇床の骨髓移植無菌病室の設立、大著「血液病学」の編纂があげられる。

これらの業績に対しベルツ賞、日本人類遺伝学会賞、武田医学賞、日本医師会医学賞、紫綬褒章が授与され、また日本人でただ一人のアメリカ血液学会名誉会員であり、一九九六年より四年間国際血液学会の会頭に任ぜられている。

主要な著書、論文の目録

(一)著書

溶血の知識(単著)、中外医学社、一九六八

血液細胞アトラス (単著) / 文光堂、初版一九七二、第四版 (共著) 一九九〇
 血液疾患の治療 (単著) / 永井書店、一九七四
 血液とからだ (単著) / 創元社、一九八一
 血液病学 (編著) / 文光堂、初版一九八一、第二版一九九五
 貧血 (単著) / 講談社、一九八七
 臨床検査テクニック (編著) / 文光堂、一九八八
 血液の話 (単著) / 中央公論社、一九八八

◇単語索引

Valentine WN, Tanaka KR, Miwa S: A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital non-spherocytic hemolytic anemia. *Trans Ass Amer Physicians* 74: 100-110, 1961.
 Ohyama H, Kumatori T, Nishina T, Miwa S: Functionally abnormal pyruvate kinase in congenital hemolytic anemia. *Acta Haemol Jpn* 32: 330-335, 1969.
 Imamura K, Tanaka T, Nishina T, Nakashima K, Miwa S: Studies on pyruvate kinase (PK) deficiency. II. Electrophoretic, kinetic and immunological studies on pyruvate kinase and other tissues. *J Biochem* 74: 1165-1175, 1973.
 Miwa S, Nakashima K, Ariyoshi K, Shinohara K, Oda E, Tanaka T: Four new pyruvate kinase (PK) variants and a classical PK deficiency. *Brit J Haemat* 29: 157-169, 1975.
 Miwa S, Boivin P, Blume KG, Arnold H, Black JA, Kahn A, Staal GEJ, Nakashima K, Tanaka KR, Paglia DE, Valentine WN, Yoshida A, Beutler E: International Committee for Standardization in Haema-

toLOGY: Recommended methods for the characterization of red cell pyruvate kinase variants. *Brit J Haemat* 43: 275-286, 1979.
 Miwa S, Fujii H, Takegawa S, Nakatsuji T, Yamamoto K, Ishida Y, Ninomiya N: Seven pyruvate kinase variants characterized by the ICSH recommended methods. *Brit J Haemat* 45: 575-583, 1980.
 Takegawa S, Fujii H, Miwa S: Change of pyruvate kinase isozymes from M_2^- to L-type during development of the red cell. *Brit J Haemat* 54: 467-474, 1983.
 Takegawa S, Miwa S: Change of pyruvate kinase (PK) isozymes in classical type PK deficiency and other PK deficiency cases during red cell maturation. *Am J Hemat* 16: 53-58, 1984.
 Takegawa S, Shinohara T, Miwa S: Hemin-induced conversion of pyruvate kinase isozymes in k562 cells. *Blood* 64: 754-757, 1984.
 Tani K, Fujii H, Tsutsumi H, Sukegawa J, Toyoshima K, Yoshida MC, Noguchi T, Tanaka T, Miwa S: Human liver type pyruvate kinase: cDNA cloning and chromosomal assignment. *Biochem Biophys Res Commun* 143: 431-438, 1987.
 Tani K, Fujii H, Nagata S, Miwa S: Human liver type pyruvate kinase: Complete amino acid sequence and the expression in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 1792-1795, 1988.
 Satoh H, Tani K, Yoshida MC, Sasaki M, Miwa S: The human liver-type pyruvate kinase (PKL) gene is on chromosome 1 at band q21. *Cytogenet Cell Genet* 47: 132-133, 1988.
 Tani K, Yoshida MC, Satoh H, Mitamura K, Noguchi T, Tanaka T, Fujii H, Miwa S: Human M_2^- -type pyruvate kinase: cDNA cloning, chromosomal assignment and expression in hepatoma. *Gene* 73: 509-516, 1988.
 Kanno H, Fujii H, Hirono A, Miwa S: cDNA cloning of R-type pyru-

- vate kinase (PK) and identification of single nucleotide substitution in PK variant (PK Tokyo) associated with hereditary hemolytic anemia. *Blood* 76: 33a, 1990 (abstr suppl).
- Kanno H, Fujii H, Hirono A, Omine M, Miwa S: Identical point mutations of the R-type pyruvate kinase (PK) cDNA found in unrelated PK variants associated with hereditary hemolytic anemia. *Blood* 79: 1347-1350, 1992.
- Kanno H, Ballas SK, Miwa S, Fujii H, Bowman S: Molecular abnormality of erythrocyte pyruvate kinase deficiency in the Amish. *Blood* 83: 2311-2316, 1994.
- Kanno H, Wei DCC, Chan LC, Mizoguchi H, Ando M, Nakahata T, Narisawa K, Fujii H, Miwa S: Hereditary hemolytic anemia caused by diverse point mutations of pyruvate kinase gene found in Japan and Hong Kong. *Blood* 84: 3505-3509, 1994.
- Kanno H, Morimoto M, Fujii H, Tsujimura T, Asai H, Noguchi T, Kitamura Y, Miwa S: Primary structure of murine red cell-type pyruvate kinase (PK) and molecular characterization of PK deficiency identified in the CBA strain. *Blood* 86: 3205-3210, 1995.
- Morimoto M, Kanno H, Asai H, Tsujimura T, Fujii H, Kasugai T, Hirono A, Ohba Y, Miwa S, Kitamura Y: Pyruvate kinase deficiency of mice associated with nonspherocytic hemolytic anemia and cure of the anemia by marrow transplantation without host irradiation. *Blood* 86: 4323-4330, 1995.
- Miwa S, Fujii H: Molecular basis of erythroenzymopathies associated with hereditary hemolytic anemia: Tabulation of mutant enzymes (Concise Review). *Am J Hemat* 51: 122-132, 1996.
- Takizawa T, Yoneyama Y, Miwa S, Yoshida A: A single nucleotide base transition is the basis of the common glucose-6-phosphate dehydrogenase variant A (+). *Genomics* 1: 228-231, 1987.
- Kishi H, Mukai T, Hirono A, Fujii H, Miwa S, Hori K: Human aldolase A deficiency associated with a hemolytic anemia: Thermolabile aldolase due to a single base mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 8623-8627, 1987.
- Matsuura S, Igarashi M, Tamizawa Y, Yamada M, Kishi F, Kajii T, Fujii H, Miwa S, Nakazawa A: Human adenylate kinase deficiency associated with hemolytic anemia. *J Biol Chem* 264: 10148-10155, 1989.
- 藤井寿一、菅野仁、広野晃、三輪史朗：厚生省特定疾患酵素障害調査研究班 平成七年度研究報告書 二七二八頁、七六頁、一九九六。