

回答表

注意事項

1. 対象となる患者さんがいらっしゃる場合のみ、あるいは対象となる疾患を疑う患者さんがいらっしゃる場合のみ、御回答ください。
2. 複数の患者さんがいらっしゃる場合には、それぞれの患者さんについて御回答ください。

- ① 対象患者さんの診断名 ()
- ② 対象患者さんの年齢 (歳)
- ③ 対象患者の性別 ()
- ④ 対象患者さんの具体的な症状 (簡単に記載させていただいて結構です)
- ⑤ 尿、または血液によるポルフィリン体、酵素活性測定の有無 (もし検査結果がわかるようでしたらあわせてご記入ください)

ポルフィリン症を疑われる症例を御存じの方で、

- ⑥ 尿、または血液によるポルフィリン体、酵素活性測定の希望の有無

アンケートは以上です。御協力ありがとうございました。

本邦において報告された遺伝性ポルフィリン症:1920~2008

研究代表者 近藤雅雄 東京都市大学人間科学部教授

研究要旨

わが国において、1920年に先天性赤芽球性ポルフィリン症が初めて報告されてから2008年12月までに898例の報告を見出した。これらの症例は発症者の報告であり、遺伝的素質を持ちながら未発症者または医師が報告していない症例、および誤診症例などは含まれていない。これら898例について、病型別に年齢・性・地理的分布、発症要因、臨床症状、初期診断、ポルフィリン検査値、治療および予後などにつき、集計を行った。その結果、ポルフィリン症の実態解明及び年度別動向など、難病としてのポルフィリン症研究に大変貴重なデータを得ることができた。

A. 研究目的

ポルフィリン症を「病気の主座がポルフィリン代謝の異常にある一群の疾患」と定義する。本症は他の先天性代謝異常症と同じく極めてまれな疾患であるが、その特異的な症状のため、古くから(世界最初の報告例は1876年)知られ、注目されてきた。本症は1923年にGarrodにより先天性代謝異常症の代表的疾患として取り上げられて以来、現在までに8病型が知られ、酵素異常がどの臓器に発現するかによって、肝性と赤芽球性に大別される。しかし、一般的には皮膚の光線過敏症状を主とする皮膚型ポルフィリン症(先天性赤芽球性ポルフィリン症; CEP、赤芽球性プロトポルフィリン症; EPP、肝赤芽球性ポルフィリン症; HEP、晩発性皮膚ポルフィリン症; PCT)と急性の神経症状を主とする急性ポルフィリン症(急性間欠性ポルフィリン症; AIP、多様性ポルフィリン症; VP、遺伝性コプロポルフィリン症; HCP、 δ -アミノレブリン酸脱水酵素欠損性ポルフィリン症; ADP)として分類されることが多い。

本論文では、大正9年(1920)に報告された第1例からポルフィリン症として報告された症例について、本邦におけるポルフィリン症の実態を把握すべく、7病型についての諸情報を整理し(ADPについては情報不足のため除いた)、前報と同じく病型別に年齢・性・地理的分布、発症要因、臨床症状、初期診断、ポルフィリン検査値、治療および予後などにつき、前報以後に得られた新知見を投入しながら臨床統計的検討を行った。

B. 研究方法

大正9年(1920)に報告された第1例から医学中央雑誌(2008年12月現在)にポルフィリン症として記載されたすべての原著の中から、ポルフィリン症として記載するのが適当でないと思われたもの(例えば、他疾患に併発した一過性のポルフィリン尿症、ポルフィリン症の診断基準をみたしていないもの、ポルフィリン症の可能性が高いが検査所見の記述が不十分なものなど)を除き、これに著者らによる未発表の自験症例を加えた。すなわち、2002年に報告した症例数872例から2008

年までの情報に 6 年間に追加して調査を行い、1920 年から 2008 年 12 月までに報告された全報告例についてまとめた。

C. 結果および考察

1) 疫学統計

a. 病型別・性別・報告年代別頻度 (表 1)

遺伝性ポルフィリン症として確定した 898 例につき、病型別、性別および報告年代ごとにまとめた。年代区分は、ポルフィリン生合成系が解明されるまでを～1955、生合成系の解明から ALAS 測定による酵素学的診断の幕開けまでの時期を 1956～1965、生合成系各段階の酵素学的研究の進歩により、ほぼ現在の病型分類が確定した時期を 1966～1975 とした。その後の 1976～1985 および 1986～1995 は高速液体クロマトグラフィーによるポルフィリン症の生化学的診断および酵素活性測定による病型診断が比較的ポピュラーになり、診断がより厳密になると共に、ポルフィリン代謝系の病態解明が盛んとなった時代といえ、1996 以降は他の遺伝性疾患と同様に遺伝子診断による時期といえる。

報告年代と病型別頻度の推移を見ると、各病型とも本邦での第 1 例報告年次から報告数が増加しているが、特に、ポルフィリン生合成系の解明と同時に各病型のポルフィリン症の報告数が増加し、1966～1975 では急性ポルフィリン症の報告

が主流となり、それにやや遅れて EPP、PCT などの皮膚型ポルフィリン症の報告が増加している。

しかし、ここ 20 年、急性ポルフィリン症各型の報告数が少なくなっている。これは本症の発症数の減少を示すものではなく、すでに単なる症例報告のみでは報告する価値が認められない時代に入っていることを反映していると考えられる。または、希少疾患ということで誤診されているものと思われる。したがって、未報告例、潜在例を含めた実数は、本報告書に現れたものの数倍～10 数倍に達するものと思われる。

なお、898 例中 58 例の急性ポルフィリン症についてはデータ不足により分類不明型の急性ポルフィリン症とした。

b. 年齢別報告数

病型ごとに年齢別発症頻度が異なっていた。すなわち、CEP の約半数が幼年～若年に多く、この内 7 例は 16～40 歳に発症しており、注目に値する。EPP は 6～30 歳に多く (男>女)、また、PCT は 30 歳以降の男性に多かった。急性ポルフィリン症では思春期から中年期の女性に多く見られた。CEP を除いていずれも常染色体優性に遺伝することが知られているが、このような年齢差、性差は本症発症機構および発症の予防を考える上で重要であり、急性ポルフィリン症に代表されるごとく、本症の発症には遺伝的酵素障害のほか、別

表 1 日本におけるポルフィリン症患者報告例数 (病型別, 年代別) 1920年1月～2008年12月

病型別	1920～1955	1956～1965	1966～1975	1976～1985	1986～1995	1996～2005	2006～2008	計	本邦第一例報告年
CEP	12(3:9)	4(2:2)	10(5:5)	3(2:1)	4(2:2)	1(1:0)	1(0:1)	35(15:20)	1920
EPP	0(0:0)	2(2:0)	23(13:10)	39(26:13)	42(28:14)	64(39:25)	19(16:3)	189(124:65)	1964
小計	12(3:9)	6(4:2)	33(18:15)	42(28:14)	46(30:16)	65(40:25)	20(16:4)	224(139:85)	
AIP	2(0:2)	36(9:27)	65(11:54)	31(3:28)	31(4:27)	28(5:23)	5(0:5)	198(32:166)	1932
VP	0(0:0)	9(1:8)	17(5:12)	11(0:11)	9(1:8)	8(3:5)	0(0:0)	54(10:44)	1962
HCP	0(0:0)	0(0:0)	21(3:17)* ¹	1(1:0)	4(3:1)	11(3:8)	4(3:1)	41(13:27)* ¹	1966
分類不明†	8(2:6)	11(3:8)	7(2:5)	10(3:7)	13(3:10)	6(3:2)* ¹	3(1:2)	58(17:40)* ¹	
小計	10(2:8)	56(13:43)	110(21:88)* ¹	53(7:46)	57(11:46)	53(14:38)* ¹	12(4:8)	351(72:277)* ²	
PCT	0(0:0)	3(3:0)	41(39:2)	145(137:5)* ³	76(65:11)	43(40:3)	9(8:1)	317(292:22)* ³	1957
HEP	0(0:0)	0(0:0)	1(1:0)	3(2:1)	0(0:0)	1(1:0)	1(0:1)	6(4:2)	1972
小計	0(0:0)	3(3:0)	42(40:2)	148(139:6)* ³	76(65:11)	44(41:3)	10(8:2)	323(296:24)* ³	
計	22(5:17)	65(20:45)	185(79:105)* ¹	243(174:66)* ³	179(106:73)	162(95:66)* ¹	42(28:14)	898(507:386)* ⁵	

† 原論文から得られた情報が不足のため、AIP、VP、HCPのいずれかに決定ができなかったものをこの項に集めた。

したがって、この型は本稿だけ用いられる便宜的なものである。* 性別不明 (数字は例数を示す)。(男:女)

CEP: 先天性赤芽球性ポルフィリン症、EPP: 赤芽球性プロポルフィリン症、AIP: 急性間欠性ポルフィリン症、VP: 多様性ポルフィリン症、HCP: 遺伝性コプロポルフィリン症、PCT: 晩発性皮膚ポルフィリン症、HEP: 肝赤芽球性ポルフィリン症

の発症誘因が加わることが必要である。

c. 同胞発症・血族結婚の頻度 (表2)

遺伝的疾患にかかわらず、血族結婚も同胞発症も見られない弧発例の報告が少なくない。これは、個々の報告の不完全さ、医学中

表2 同胞発症と血族結婚の頻度

	同胞発症			
	+		-	
	+	-	+	-
CEP	2	16	4	12
EPP	1	78	0	75
AIP	8	73	4	107
VP	0	8	1	45
HCP	1	16	1	19
AP	0	6	0	45
PCT	0	3	1	299
HEP	0	3	0	3

央雑誌による資料面での検討という制約にもよるが、著者らの経験からしても、潜在患者のまま無症候性に経過する同胞が少なくないことも事実であり、ここでも誘発因子の有無が重要な意味を持っていると考えられる。PCT に関しては、従来から同胞発症の報告は少なく、これまでに同胞発症を見たものは3例にすぎない。遺伝子機構、発症要因も含めて詳細な検討が必要である。

d. ポルフィリン症の地理的分布 (表3)

都道府県別分布は(資料の関係上患者の出身地ではなく、症例報告者の所属する都道府県になっている)、各病型とも全国から報告されているが、研究者、医療施設の分布による偏りがかなりあると考えられる。日英比較では、各病型において患者の発現頻度が一致していることから、地理的偏りは殆どないものと思われることから、かなりの

表3 ポルフィリン症の地理的分布

病型	病型			計
	赤芽球型	急性型	皮膚晩発型	
北海道	1	7	18	26
青森県	3	1	6	10
岩手県	0	0	3	3
宮城県	4	9	14	27
秋田県	2	6	5	13
山形県	0	4	0	4
福島県	2	2	2	6
茨城県	1	1	1	3
栃木県	3	2	3	8
群馬県	2	7	3	12
埼玉県	2	3	1	6
千葉県	7	5	2	14
東京都	41	62	38	139
神奈川県	10	18	23	51
新潟県	2	40	4	46
富山県	0	2	1	3
石川県	11	4	6	21
福井県	0	1	1	2
山梨県	0	0	3	3
長野県	2	8	8	18
岐阜県	0	6	1	7
静岡県	4	4	3	11
愛知県	7	12	5	24
三重県	7	6	13	26
小計	111	210	162	483

病型	病型			計
	赤芽球型	急性型	皮膚晩発型	
滋賀県	0	0	1	1
京都府	7	9	8	24
大阪府	5	25	13	43
兵庫県	7	5	13	25
奈良県	0	0	3	3
和歌山県	3	2	2	7
鳥取県	1	13	7	21
島根県	0	2	0	2
岡山県	4	10	6	20
広島県	6	2	10	18
山口県	0	3	12	15
徳島県	2	4	1	7
香川県	2	5	2	9
愛媛県	3	0	1	4
高知県	2	5	5	12
福岡県	18	14	18	50
佐賀県	1	0	3	4
長崎県	20	8	40	68
熊本県	7	6	2	15
大分県	0	6	1	7
宮崎県	3	6	5	14
鹿児島県	19	12	4	35
沖縄県	3	3	3	9
県不明	0	1	1	2
小計	113	141	161	415
総計	224	351	323	898

赤芽球性: CEP, EPP, 急性: AIP, VP, HCP, 分類不明, 皮膚晩発性: PCT, HEP

頻度にて診断し得ていない患者が存在するものと思われる。

2) 臨床統計—臨床症状の検討—

ポルフィリン症の臨床症状の特徴から、皮膚型ポルフィリン症は皮膚科で見いだされることが多いが、内科、小児科(血液、肝臓内科)で発見されることもある。一方、急性ポルフィリン症は神経内科、消化器科、精神科などを初診とすることが多く、一部は急性腹症として救急外来、外科、婦人科を最初に受診することも少なくない。

a. 皮膚型ポルフィリン症の臨床症状 (表4)

皮膚型ポルフィリン症の皮膚症状の程度は蓄積するポルフィリン体の種類によって皮膚症状の程度が大きく異なり、CEP が最も激しく、次いでPCT、EPP の順である。CEP では皮膚病変以外に多毛・剛毛、爪の変形、耳、鼻や指の部分的欠損、赤色歯牙、脾腫が注目される。PCT では肝障害がほぼ必発であり、大多数の症例で血清鉄の上昇を認める。また、表5に示したように、PCT 患者の約 39%(123 例/320 例)に肝生検が施行されており、その組織学的所見を表に示したが慢性肝炎、肝硬変、肝癌が多い。さらに、1987 年に C 型肝炎ウイルス(HCV)の抗体検査が可能になって以来、PCT 患者の C 型肝炎合併の報告例が高率で見られ、詳細は不明であるが、その因果関係は今後の問題点の一つである。

表4 皮膚型ポルフィリン症の臨床症状

臨床症状	CEP	EPP	PCT	HEP	計
	(35例中)	(189例中)	(317例中)	(6例中)	
皮膚症状					
日光過敏症	32	127	68	2	229
紅斑	30	29	201	0	260
水疱、びらん	26	23	77	0	126
潰瘍	15	18	110	1	144
痂皮	33	59	179	1	272
瘡痕	33	57	199	1	290
色素沈着	7	1	43	0	51
肥厚・強皮症様瘡痕	15	9	17	0	41
腕弱性	13	6	91	0	110
多毛・剛毛	16	2	41	0	59
脱毛	6	1	3	0	10
骨軟骨の欠損脱落					
(爪の変形、鼻・耳・指の欠損)	18	3	5	0	26
赤色歯牙	22	1	0	0	23
赤色尿	31	1	69	0	101
貧血	9	11	7	2	29
脾腫	8	5	6	1	20
肝 肝硬変	0	6	12	0	18
肝 肝機能障害	7	41	293	6	347
糖代謝異常	0	0	19	0	19
その他(消化器、神経症状など)	0	9	9	2	20

b. 急性ポルフィリン症の臨床症状 (表5~7)

急性ポルフィリン症は多彩な症状が種々の組合せで、急性または亜急性に出現し、増悪・緩解を見るのが特徴である。表5にその自覚的初発症状を、表6に初診時の他覚的所見を、表7に全経過中に見られた症状をまとめた。

自覚的初発症状では神経症状よりは腹痛、嘔吐などの腹部症状が先行することが多いが、まれには意識障害、痙攣などで初発することがあり、表には入れていないが、不眠とか不安感、あるいは胸部絞扼感とか腰背痛などが初発症状と考えられるものも見られた。また、集計には現れてこなかったが、分裂症、うつ症など精神症状として扱われているものの中に急性ポルフィリン症が見逃されていたという報告もあり、注意を要する。

全経過を通じての症状も従来の報告と変わるところはないが、例えば、腹痛だけで終始するという症例もあり、診断上、注意を要する。また、ポルフィリン症といえ、尿の着色が有名であるが、暗褐色尿を見ることは比較的少なく351例中132例(38%)にすぎず、注意しないと診断を誤ることになる。表6、7の自律神経症状としては著明な発汗を認めるものが多く見られた。その他、比較的まれな症状として、デファンクス、運動失調、低血圧、分裂病様精神症状などが見られた。

c. 発症、増悪の誘因 (表8)

急性ポルフィリン症では種々の薬剤その他により発症、増悪することが知られている。とくに薬剤に関してはフェノバルビタール、ヒダントインなどの絶対的禁忌なものから、症例によって、安全とも禁忌とも報告されているものまで複雑であり、日常診療に際しては十分な注意が必要である。

PCTでは317例中248例(78%)が飲酒歴を有し、PCTの病因論上アルコールの占める役割が重要な課題となっている。諸外国では前立腺癌や更年期障害の治療、あるいは避妊目的でエストロゲ

表5 急性ポルフィリン症の自覚的初発症状

	AIP (198例中)	VP (54例中)	HCP (41例中)	分類不明 (58例中)	計 (351例中)
消化器症状					
腹痛	165	36	31	45	277
嘔吐	76	29	26	26	157
便秘	38	14	10	19	81
下痢	8	1	4	0	13
神経症状					
脱力および運動麻痺	25	17	13	6	61
四肢知覚障害	23	11	10	1	45
言語障害	1	4	1	1	7
嚔下障害	1	3	1	0	5
痙攣	5	1	4	5	15
意識障害	1	0	1	0	2
皮膚症状					
日光紅斑	0	13	3	1	17
色素沈着	0	10	4	0	14
暗褐色尿	35	16	12	11	74

表6 急性ポルフィリン症の他覚的症狀(1)
—初発時症状の主たるもの—

	AIP (198例中)	VP (54例中)	HCP (41例中)	分類不明 (58例中)	計 (351例中)
腹部症状					
圧痛	38	6	7	4	55
イレウス症状	34	0	3	2	39
神経症状					
末梢性運動麻痺	35	15	10	14	74
四肢知覚障害(表在性)	20	10	11	9	50
異常知覚	7	2	0	0	9
反射亢進	4	1	2	1	8
減弱消失	14	7	6	8	35
意識障害	16	5	7	4	32
痙攣、てんかん発作	13	1	8	5	27
脳神経麻痺	8	4	2	2	16
膀胱直腸障害	7	1	0	0	8
精神障害					
幻覚、妄想、せん妄	14	1	2	2	19
ヒステリー	4	0	1	0	5
循環器障害					
高血圧	23	14	10	4	51
頻脈	16	13	10	4	43
皮膚症状					
日光紅斑	0	6	3	0	9
色素沈着	1	12	3	1	17
その他					
肝障害	16	9	6	4	35
暗褐色尿	46	14	11	7	78

表7 急性ポルフィリン症の他覚的症狀(2)
—全経過中にみられたもの—

	AIP (198例中)	VP (54例中)	HCP (41例中)	分類不明 (58例中)	計 (351例中)
腹部症状					
圧痛	52	7	9	10	78
イレウス	42	0	4	4	52
神経症状					
末梢性運動麻痺	102	25	15	25	167
四肢知覚障害(表在性)	72	15	13	18	118
異常知覚	23	4	2	1	30
深部反射亢進	12	1	3	1	17
減弱消失	54	10	8	18	90
病的反射	5	0	2	2	9
意識障害	53	9	11	12	85
痙攣、てんかん発作	33	5	14	11	63
脳神経麻痺	28	5	5	5	43
球麻痺	40	8	1	13	62
膀胱直腸障害	39	2	1	1	43
筋萎縮	31	5	2	1	39
自律神経症状	30	8	4	5	47
精神障害					
幻覚、妄想	51	4	3	4	62
ヒステリー	16	0	1	0	17
循環器障害					
高血圧	87	20	11	10	128
頻脈	85	17	10	7	119
内分泌代謝異常					
電解質異常(SIADH含む)	45	2	2	4	53
糖代謝異常	19	2	0	2	23
甲状腺機能異常	6	3	1	2	12
皮膚症状					
日光紅斑	0	9	3	0	12
色素沈着	1	18	3	1	23
爪・指などの変形・欠損	0	0	0	0	0
その他					
肝障害	45	13	6	7	71
暗褐色尿	90	19	11	12	132

表8 発症、増悪の誘因

	AIP (198例中)	VP (54例中)	HCP (41例中)	分類不明 (58例中)	PCT (317例中)	計 (668例中)
フェノバルビタール	24	7	12	3	1	47
解熱、鎮痛、鎮痙剤	26	1	1	2	1	31
妊娠、月経、分娩	33	2	2	2	1	40
ビール	6	1	1	0	0	8
眠剤	3	1	0	0	0	4
アルコール	4	1	0	1	248	254
血液透析	0	0	0	3	9	12
その他	10	1	2	0	13	26
小計	106	14	18	11	273	422
不明	92	40	23	47	44	246

ン投与による発症例が多い。また、後天性免疫不全症候群 (AIDS) 患者の PCT が多く、HIV や HCV の感染は PCT の誘発因子となっている。EPP では強い紫外線曝露が誘因となることが多い。

d. 初期診断 (表 9)

ポルフィリン症は従来からまれな疾患とされ、また日常の臨床検査では発見されにくいことから、誤診や診断の遅れにより治療の時期を失することが少なくない。とくに急性ポルフィリン症では皮膚症状の出るものは少なく、急激な腹痛にみまわれることが多いため、イレウス、虫垂炎、急性膵炎、結石などを含む急性腹症などと誤診されることが多く、これらの約 1/4 では誤って開腹手術を受けている。つわり、ヒステリー、Guillain-Barre 症候群なども十分に注意することが必要である。

その他の中には脳炎、脳腫瘍、筋萎縮症、腹部てんかん、潰瘍性大腸炎、心因性疼痛、うつ病、心身症、慢性収縮性心膜炎などの病名も見られた。皮膚型ポルフィリン症では致命的な誤診に至るものは少なく、CEP、EPP では初めに日光皮膚炎と診断されることが大部分であり、PCT では肝障害、肝硬変としてフォローされているものが少ない。

e. 治療と予後

1) 治療 (表 10, 11)

皮膚型ポルフィリン症のうち、CEP では外用薬が、EPP ではβ-カロチンが、PCT では断酒、瀉血が遮光と共に治療の主体をなしている。PCT に関しては HCV との関与が示されるようになってからはインターフェロンの投与が試みられるようになってきている。最近 10 年間で 16 例に投与され、肝機能の改善と同時に尿中ポルフィリンの減少が報告されているが、効果については必ずしも一定してなく、皮疹の抑制、鉄やポルフィリンの除去には瀉血が良いとする報告が多い。

表9 初期診断(急性ポルフィリン症)

	AIP (198例中)	VP (54例中)	HCP (41例中)	分類不明 (58例中)	計 (351例中)
急性腹症	50	13	12	19	94
イレウス	28	3	3	5	39
虫垂炎	15	0	1	3	19
ヒステリー、心因性反応	15	0	0	0	15
妊娠悪阻	6	1	1	2	10
急性膵炎	9	2	1	1	13
てんかん	2	0	7	3	12
急性胃炎、胃・十二指腸潰瘍	4	0	2	2	8
肝障害	4	1	1	0	6
Guillain-Barre症候群	2	2	0	0	4
軸捻転(卵巣)	2	0	0	1	3
胆石	1	1	0	0	2
子宮外妊娠	2	0	0	0	2
スモン	2	0	0	0	2
日光皮膚炎	0	1	1	0	2
腎・尿路結石	1	0	0	0	1
ミエロパチー	1	0	0	0	1
その他	1	0	2	0	3

表10 皮膚型ポルフィリン症の治療内容

	CEP (35例中)	EPP (189例中)	HEP (6例中)	PCT (317例中)	計 (547例中)
ステロイド	0	3	1	6	10
β-カロチン	1	17	0	3	21
ビタミン(主としてE)	1	1	0	21	23
皮膚外用薬	16	6	0	23	45
瀉血	0	0	0	64	64
クロロキン	0	0	0	4	4
Ca-EDTA	0	0	0	11	11
インターフェロン	0	0	0	16	16
シメチジン	0	3	0	4	7

表11 急性ポルフィリン症の主たる治療薬

	AIP (198例中)	VP (54例中)	HCP (41例中)	分類不明 (58例中)	計 (351例中)
補液(+グルコース)	82	27	26	19	154
クロロプロマジン	59	15	19	12	105
AMP, ATP	14	3	3	0	20
ステロイド	28	4	2	4	38
ビタミン(主としてB群)	22	1	0	4	27
ACTH	8	0	0	0	8
ワグステイグミン	6	0	0	0	6
Ca剤	5	0	0	0	5
チトクローム C	5	2	5	0	12
血漿交換	1	0	0	2	3
シメチジン	10	1	1	1	13
ヘム・アルギニン酸、ヘマチン	2	1	1	1	5

急性ポルフィリン症ではグルコースを主体とする大量の補液が治療の中心と

表12 ポルフィリン症の予後

	軽快	不変~悪化	死亡	不明数	剖検数
CEP	7	21	4	4	1
EPP	46	19	13	110	6
HEP	1	0	4	1	0
小計	54	40	21	83	7
AIP	113	8	47	27	27
VP	34	5	9	6	4
HCP	32	2	1	6	0
分類不明	27	9	10	10	3
小計	206	24	67	40	34
PCT	125	95	5	95	4
計	385	159	93	208	45

なり、疼痛のコントロールにはクロロプロマジンが用いられている。最近では急性発作に対してシメチジンの投与に関する報告が 13 例あり、そのうち 9 例に症状の改善がみられている。また、国外ではヘム・アルギニン酸、ヘマチン静注療法が比較的原因療法に近いものとして利用されているが、本剤は国内では市販されていない関係から、報告数は少ない。

2) 予後 (表 12)

急性ポルフィリン症は知識の普及による早期発見、血漿交換、人工呼吸器などの普及により死亡する症例が減少し、軽快する例が多いが、いまだに死の転帰をとるものの割合も高い。一方、PCTでは不変、または増悪する例の割合が高く、C型肝炎との合併率が高いことなどから、今後肝癌死亡例が増加することが予想される。HEPでは予後が悪く6例中4例が死の転帰（主に肝不全）をとっている。EPPでは血中PP値が高い例ほど肝障害を起こす可能性が高く、肝硬変、肝不全により予後は悪い。

f. 検査値と診断基準 (表 13)

1985年以降、高速液体クロマトグラフィー法を用いた正確な測定値や酵素活性測定による確定診断⁸⁾がかなり普及しているが、それ以前の症例では報告者により、測定方法及び健常値の範囲が異なる。また、近年においても、検査データの読み間違いからおこる鑑別診断ミスがいまだに絶えず、そのため、これまでの検査値を一括して比較検討するにはかなりの無理があり、ここに記載された結果はあくまでも一つの参考に過ぎない。

D. 結論

わが国において、1920年にCEPが初めて報告されてから2008年12月までに898例を見出した。これらの症例は発症者の報告であり、遺伝的素質を持ちながら未発症者または医師が報告していない症例、および誤診症例などは含まれていない。これら898例について、原著や症例報告書に記載してある内容についてまとめたが、ポルフィリン症の実態解明に大変参考になるデータと思われる。

これまでに、海外においてはポルフィリン症についての統計についての報告は一部の研究室レベルにて散見されるが、国家的な集計はない。今

回の調査は、国際的にも大変参考になるデータであり、本症は世界中に存在し、その希少性および深刻な症状から注目されているが、その実態については不明である。今回、本研究にて集計されたデータは国際的に広く利用され、いまだに報告例

表13 ポルフィリン体および前駆体の検査値の頻度

	尿																	
	PBG		ALA		UP		CP		PP		PP							
	前値	後値	前値	後値	前値	後値	前値	後値	前値	後値	前値	後値						
CEP	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++
EPP	2	0	0	0	0	0	3	0	0	1	1	8	0	2	8	0	0	0
AIP	12	2	0	1	0	0	17	2	0	1	0	0	19	4	2	3	0	0
VP	11	14	55	4	16	11	13	16	44	12	12	3	8	32	28	7	13	1
HCP	6	7	10	5	6	0	7	2	10	7	2	1	8	8	9	10	2	2
分類不明(AP)	5	3	12	9	4	0	8	6	6	13	1	0	4	6	11	9	3	0
PCT	5	6	4	2	0	0	7	2	4	3	1	1	1	2	2	2	1	0
HEP	52	3	0	2	0	0	60	2	1	0	0	0	7	76	86	4	9	2
	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0

	血液																				
	UP		CP		PP		CP		PP		PP										
	前値	後値	前値	後値	前値	後値	前値	後値	前値	後値	前値	後値									
CEP	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++
EPP	0	1	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	1	0
AIP	6	1	0	0	0	0	31	12	8	2	0	0	26	11	67	2	3	1	16	4	1
VP	4	0	0	0	0	0	11	14	1	6	2	1	14	8	8	3	2	2	21	11	4
HCP	0	0	0	0	0	0	5	3	1	1	2	0	3	3	5	4	2	0	8	12	5
分類不明(AP)	1	0	0	0	0	0	4	3	0	1	1	0	3	2	4	1	1	1	2	17	1
PCT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
HEP	10	1	0	0	0	0	46	9	5	1	0	0	50	13	8	1	0	1	38	22	1
	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0

[尿]	PBG	0:2mg/日未満 +:2以上20mg/日未満 ++:20mg/日以上	[血液]	CP	0:2μg/dRBC未満 +:2以上10μg/dRBC未満 ++:10μg/dRBC以上
	ALA	0:5mg/日未満 +:5以上20mg/日未満 ++:20mg/日以上		PP	0:15μg/dRBC未満 +:30以上100μg/dRBC未満 ++:100μg/dRBC以上
	UP, CP	0:100μg/日未満 +:100以上1000μg/日未満 ++:1000μg/日以上	[糞便]	CP, PP	0:100μg/1gdw未満 +:100μg/1gdw以上

が見られないと東南アジアなどの途上国にても、診断されるものと推測され、このような意味からも社会的意義は高い。

今後、毎年データを積み重ねていくと同時に、本症の症状の多様性など医療現場の医師などに広く啓蒙し、早期診断の向上並びに患者のホローを行う必要がある。また、患者の相談窓口や医師のネットワーク作りを行う必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 近藤雅雄:ポルフィリン代謝異常、代謝・栄養疾患、内科学書改定第7版、中山書店399-405, 2009.
- 2) 近藤雅雄、矢野雄三、浦田郡平;本邦において報告されたポルフィリン症:1920~2008、Porphyrins, 18(4):5-11, 2009.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

遺伝性ポルフィリン症の生化学診断法および診断基準の作成

研究代表者 近藤雅雄 東京都市大学人間科学部教授

研究要旨

標準ポルフィリンとして8, 7, 6, 5, 4, 2カルボキシルポルフィリンI型およびIII型異性体の同時自動分析法を高速液体クロマトグラフィーを用いて新規開発した。本法は同時再現性及び希釈直線性試験ともに良好な値を示し、血漿および尿中からの添加回収試験も100%前後の値を得た。本法を用いて、健常者及びポルフィリン症患者の血液と血漿および尿中のポルフィリン測定を行い、診断基準の作成資料とする。

A. はじめに

これまでに、生体試料中の異性体を含めた全ポルフィリン分析はまだ報告されていない。我々は、生体試料として尿と血漿を用い、前処理操作および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、移動相の溶媒およびグラジエント条件、分離時間、分離カラムを検討し、異性体を含む全ポルフィリンの正確な分離分析法の開発を新規試みた結果、異性体を含めたウロポルフィリン (UP) からプロトポルフィリンIX (PP IX) までのポルフィリン濃度を正確に測定できる方法を確立した。さらに、ヒト生体試料にて検証するために、健常人およびポルフィリン症患者の血液、尿および糞中のポルフィリン濃度に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

1. 試薬

Porphyrin Acid Chromatographic Marker Kit (uroporphyrin I (UP I), heptaporphyrin (7P), hexaporphyrin (6P), pentaporphyrin (5P), coproporphyrin I (CP I) 異性体, mesoporphyrin (Meso) を含む、以下 Kit と略)、uroporphyrin III (UP III), coproporphyrin III (CP III) は Frontier Scientific, Inc. より購入した。

アセトニトリルは HPLC 用、その他はすべて試薬特級品を使用した。

2. 試料の調製

1) 試料の採取・保存

ポルフィリンは光により分解し易いので尿、血液、糞便などの試料は必ず遮光する。

尿はスポット尿を用い、クレアチニン単位で補正した。血液はヘパリン加血液または洗浄赤血球を用いた。ポルフィリン定量値は単位赤血球量 (ml または d1RBC) 当りで表した。血漿は全血液状態に比べ、光りによるポルフィリン分解を受けやすいのでただちに遮光保存した。糞1回量を用い、1 g 乾燥重量で表した。これら、ポルフィリン測定に用いる試料は遮光して-20 °C以下に保存した。これによって長期間安定である。

(1) 尿中ポルフィリン分析

尿については酢酸 (0.05% I₂ を含む) にて2倍に希釈したものを直接 HPLC カラムに 10 μl 注入した。

(2) 赤血球中ポルフィリン分析

ヘパリン加血液 0.05ml に DMF 溶液 2.5ml を加え攪拌した後、3,000 rpm、10 分間遠心し、その上

清を 20 μ l を逆相カラム (4.6 \times 150mm, 5 μ) に注入する。溶離液は 50mM テトラブチルアンモニウム溶液 (pH7.5) とアセトニトリルの混液 (34:66) を用い、流速 1ml/分、40°C で保持した。赤血球内に存在する FP、ZP は 5 分以内に分離し、これを蛍光検出器の励起波長 420nm、蛍光波長 630nm にて検出した (FP の吸収極大: Ex=403nm, Em=619nm, ZP の吸収極大: Ex=419nm, Em=577nm)。

(3) 血漿、糞便及び組織中ポルフィリン分析

著者らの方法で、血漿 1ml に酢酸エチルー酢酸 (4/1, v/v) 溶液にて総ポルフィリンを抽出したのち、HPLC 分析した。

3. HPLC 分析条件

システムは Shimadzu LC-10A VP を用い、カラムは Shiseido CAPCELL PAK C18 AG120、検出器は RF-10AXL 蛍光検出器 (Ex. 406 nm, Em. 609 nm) を用いた。移動相は A 液: 12.5% アセトニトリル・1M 酢酸アンモニウム混合液 (pH5.15)、B 液: 80% アセトニトリル・50mM 酢酸アンモニウム混合液 (pH5.15) を用い、A 液で 5 分間 hold し、A/B (100/0) - A/B (65/35) 35 分 Linear グラジエント、A/B (65/35) - A/B (0/100) 1 分 Linear グラジエント、B 液で 9 分間 hold し、A/B (0/100) - A/B (100/0) 1 分 Linear グラジエント、A 液で 9 分間 hold した。測定は、流速 1.0 ml/min、温度 40°C で行った。

C. 研究結果

1. HPLC 分析条件の検討

標準ポルフィリン溶液は Kit に 1.5N HCl の 0.2mL を添加し、超音波処理し溶解後、約 5mL の 50% 酢酸で 10mL メスフラスコに洗い込んだ。UPIII と CPIII は、それぞれを 1mg 精密に秤量し、2.4N HCl の 10mL を添加し、超音波処理し溶解後、50% 酢酸で 20mL メスアップし、それぞれ 55.329nmol/mL、68.715nmol/mL の標準溶液とした。Kit に UPIII 標準溶液及び CPIII 標準溶液の 10nmol 相当量を添加

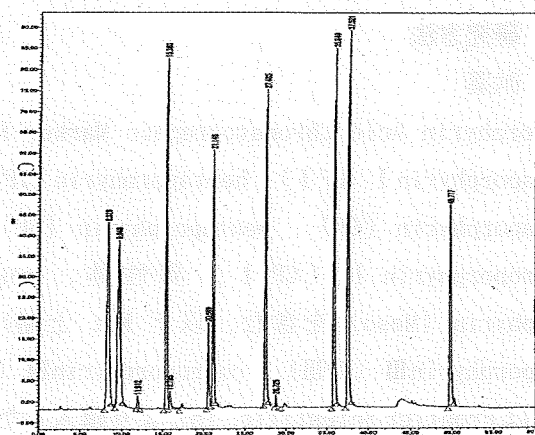
し、50% 酢酸を用いて 10mL にメスアップし、各ポルフィリン類の濃度が 1000nmol/L の標準原液を調整した。これをカラムに 40 μ L 注入し、本方法により異性体を含む全ポルフィリンの分離が可能になった (図 1)。次に本方法の定量性を確認するため、希釈直線性試験、同時再現性試験、添加回収試験を行った。

希釈直線性試験は、健常人血漿に標準原液を添加し各ポルフィリン濃度が 50nmol/l の血漿試料を調製したのについて所定の前処理を行い、得られたメタノール-酢酸溶液を 50% 酢酸水溶液で 2, 4, 8, 倍に希釈し、20 μ l を HPLC に注入した。その結果、検量線から各ポルフィリンの測定値を求め希釈直線性をプロットしたところ、いずれも相関係数: $r = 0.995$ 以上を示し、血漿を用いて作成した 8 種類のポルフィリン類は良好な直線を示した。また、尿中においても同様に相関係数: $r = 0.995$ 以上を示し良好な直線を示した (データ省略)。

同時再現性試験は、尿試料については健常人プール尿に各ポルフィリンを 400nmol/l となるように添加したものを、また血漿試料については健常人血漿に各ポルフィリンを 50nmol/l となるように添加したものを試料として用いた。

その結果、血漿および尿を用いて 5 重測定したところ、変動係数は尿中で 3.4% から 4.1%、血漿中で 0.6% から 4.6% と CV=5% 以内の良好な変動係数値が確認された。

添加回収試験は、健常人プール尿あるいは健常人



血漿 9 容に各ポルフィリン濃度を 500nmol/l に調製した標準原液あるいは精製水 1 容を添加したものを試料として用いた。

添加回収率の算出は以下の計算式を用いた。

添加回収率(%) = $\frac{(\text{尿 or 血漿} + \text{標準の測定値}) - (\text{尿 or 血漿} + \text{精製水の測定値})}{50} \times 100$ 。その結果、ベースとなる尿中、血漿中には、CP I と III が存在していたが、添加回収率は尿中で 82% から 103%、血漿中で 93% から 108% と ±20% 以内の良好な添加回収率結果を得た。

以上の結果から、本法は、ヒト尿および血漿中の 8 種類のポルフィリン類を測定する方法として妥当であることが確認された。

2. 尿・血液・糞便中のポルフィリン分析

検体総数 879 件 (CEP : 60、AIP : 131、HCP : 48、VP : 35、AIP : 256、HEP : 2、PCT : 36、健常者 : 133) のポルフィリン測定データの結果を表にまとめた。これら検体数は、患者の治療中の試料など重複するが、各病型別診断には有用と思われる。詳細な診断基準は、これらのデータを基に、今後さらに検討していきたい。

D. 考察

従来、血液、血漿中、尿尿中のポルフィリン測定は近藤の HPLC 法が広く用いられてきたが、移動相のアセトニトリル系溶離液中に含有する塩濃度を高濃度から低濃度にグラジエントすることによって異性体を含めたポルフィリンの同時分離定量法を可能にした。本方法では、回収率や再現性なども日常検査として十分精度ある範囲で定量することが検証された。

E. 結論

遺伝性ポルフィリン症の生化学的鑑別診断法を確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 近藤雅雄、上出良一、石塚昌宏 ; 尿中 I 型ポルフィリンの著明な増量によって確定診断された先天性赤芽球性ポルフィリン症の 1 例、Porphyrins, 18(4) : 1-4, 2009.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表. ポルフィリン症の分類と特徴的な生化学的所見

分類	ポルフィリン症病型	障害酵素	尿中ポルフィリンおよびその前駆体	赤血球中ポルフィリン	糞便中ポルフィリン	血漿中ポルフィリン
急性 肝 臓	A I P	PBDD	ALA, PBG, 5P	正常範囲内	正常範囲内	ALA, PBG
	A D H	ALAD	ALA, UP, CP III	PP	CP, PP	ALA, CP III, PP
	V P	PPO	CP III, UP III, ALA, PBG	正常範囲内	PP > CP, XP	CP III, PP
	H C P	CPO	CP III, ALA, PBG	正常範囲内	CP III	CP III
皮膚 型	P C T	UROD	UP, 7P	正常範囲内	CP > PP, isoCP	UP, 7P
	H E P	UROD	UP, 7P	PP (FP, ZP)	isoCP	UP, PP (FP)
	C E P	UROS	UPI > CPI	CP, PP (ZP)	CPI	UP I, CP I
	E P P	FeC	肝障害により CP I	PP (FP)	PP	PP (FP)

XP: X-porphyrin peptide, FP: free protoporphyrin, ZP: zinc-protoporphyrin

遺伝性ポルフィリン症の簡易診断機器の試作開発研究

研究代表者 近藤雅雄 東京都市大学人間科学部教授
研究協力者 井上克司 SBI アラプロモ（株） 研究開発部長

研究要旨

臨床の現場（外来）にて採取される尿、血液をそのまま光学的手法を用いてポルフィリン症の早期診断を目的とし、ポルフィリンの有無を判定する有用で安価な簡易ポルフィリン検出器を開発した。

A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症においては他の遺伝性疾患と同様早期診断法が重要であることから、日常診療の場所において、簡単に診断できる機器の開発が急がれる。そこで、ポルフィリン症の特徴として、ポルフィリン代謝異常によるポルフィリンの過剰蓄積・排泄が見られることから、尿や血液材料中のポルフィリンを肉眼的に高感度に検出できる装置の開発を試みた。

B. 研究方法

ポルフィリン特有の 440nm 付近の Soret バンドおよび赤色蛍光を利用し、分光光学的に極微量のポルフィリンの検出ができる安価な簡易機器の試作および尿などの生体試料中を用いて蛍光スペクトルの計測系について光学的な検討を行った。

C. 研究結果および考察

- 1) 蛍光スペクトル解析装置の試作が完了した。
- 2) AIP, CEP, HCP, PCT の各病型について、蛍光スペクトル解析を行った。その結果、最もスペクトルが高いのは CEP であった。また、各病型スペクトルのピーク波長に個人差は見られなかった。

3) 健常人とポルフィリン症患者との明確な差を検出しており、早期スクリーニング系として有効であると思われる。

4) 他の病型での検討、N 数の増加による検証が必要である。

D. 結論

典型的なポルフィリン代謝異常を示したポルフィリン症 4 病系型 (AIP, CEP, HCP, PCT) について検討したところ有効な結果を得た。この研究成果の学術的・国際的・社会的意義については、本研究のような試みはあまりなく、ポルフィリン症の診断には専門的な技術と知識を要することから、検討はあまり行われてこなかった。今回、臨床の現場にて簡単に早期診断できる機器を開発できたことは、遺伝性ポルフィリン症の早期診断に大きく貢献することとなり、社会的意義は大きい。また、ポルフィリン類は生命の根源物質であり、医学分野だけでなく、植物、農学、薬学、栄養学、理工学と他分野のポルフィリン研究者にも利用できる。

今後は、さらに症例数を増やして検討することと、他のポルフィリン症および鉛中毒や肝障害などのポルフィリン代謝異常症についても検討する必要がある。

E. 研究発表

- 1) 論文発表 なし
- 2) 学会発表 なし

F. 知的財産権の出願・登録状況 検討中

皮膚型ポルフィリン症の遺伝子変異検出法の開発および実態

研究分担者 中野 創 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座准教授

研究要旨

本邦においては遺伝性ポルフィリン症の遺伝子診断による確定診断が十分なされておらず、患者実数の把握、病態解明あるいは遺伝カウンセリングにおいて支障をきたしている。そこで、皮膚型ポルフィリン症を中心に症例を収集し、分子遺伝学的解析を行った。その結果、本邦の骨髄性プロトポルフィリン症は欧米に比較して発症頻度が高い可能性が示唆され、遺伝カウンセリングに有用であった。また、未発症の罹患児を検出できたため、発症予防の具体的対策を立てることができた。他の病型についても遺伝子診断法を確立できたため、皮膚型ポルフィリン症の今後のさらなる遺伝子変異検索のために十分な準備が整った。

A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症は先天的なポルフィリン代謝の異常により生じる、非常にまれな遺伝性疾患である。本症は8病型に分類されるが、臨床的に皮膚の光線過敏症状を主とする皮膚型ポルフィリン症と急性の神経症状を主とする急性ポルフィリン症とに大別される。これらの病型の中には遺伝子診断を行わなければ確定診断が難しいものも含まれる。現在、全ての病型で遺伝子診断が可能になっているが、本邦においては散発的に行われているのみで、十分な症例数が解析されているわけではない。そのため、患者実数の把握、病態解明あるいは遺伝カウンセリングにおいて著しく支障をきたしている。

そこで本研究では皮膚に症状を現し得る遺伝性ポルフィリン症(骨髄性プロトポルフィリン症、異型ポルフィリン症、先天性ポルフィリン症、遺伝性コプロポルフィリン症、晩発性皮膚ポルフィリン症、肝性骨髄性ポルフィリン症)の本邦症例を収集し、遺伝子診断を行うことによって、我が国における遺伝性ポルフィリンの遺伝子変異が

病態とどう関係しているかを明らかにしようと試みた。

B. 研究方法

皮膚型ポルフィリン症患者並びに家族の末梢血 DNA を採取し、PCR 法を用いて疾患原因遺伝子を増幅し、オートシーケンサーで塩基配列を決定した。一部の症例では末梢血リンパ球由来 RNA の構造やポルフィリン代謝系の酵素活性も調べた。遺伝子変異解析にあたって、倫理面ではヘルシンキ宣言や、政府および関連学会が提出した遺伝子解析研究に関するガイドライン等を順守した。また、研究実施施設における倫理委員会の承認も得た。

C. 結果および考察

1) 現在まで収集した骨髄性プロトポルフィリン症 20 家系、32 症例の検体を解析し、次のことを明らかにした。a) 20 家系中 15 家系において原因遺伝子であるフェロキラーゼの遺伝子異常を明らかにした。内、b) この遺伝子診断によって 3

家系において未発症の患児を検出した。c) 本疾患の発症を左右する遺伝子多型 c. IVS3-48C の頻度が欧米と比較して日本人集団では7倍高いことを見出し、従って、日本人は本疾患の罹患率が高いと推定できた。d) 遺伝子診断で変異が確定できなかった症例については、フェロキラーゼ酵素活性を測定することによって診断を確定し得た。

2) 異型ポルフィリン症2家系において原因遺伝子であるプロトポルフィリノーゲン酸化酵素の遺伝子異常を明らかにし、診断を確定し得た。

3) その他光線過敏症をきたすポルフィリン症のすべての病型(先天性ポルフィリン症、遺伝性コプロポルフィリン症、晩発性皮膚ポルフィリン症、肝性骨髄性ポルフィリン症)の原因遺伝子について、遺伝子変異検出法を確立した。

D. 結論

本研究は遺伝子診断による潜在的未発症者の検出という、発症予防手段の具体的方法を確立できたため、人命を救いえる、かつ、医療経済上有用な情報をもたらす研究といえる。従って、今後にもさらに多くの患者を対象として研究を展開すべきと考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) 中野創. 皮膚科セミナリウム 3. 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子診断. 日皮会誌 119 巻7号 p1225-1230.

2. 学会発表

1) 中野創ほか. 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子診断: 本邦18家系の解析結果. 第31回日本光医学・光生物学会 2009年7月24, 25日 大阪市.

3. 著書

1) 中野創. ポルフィリン症. 小児科臨床ピクシス. 馬場直子編. 中山書店 印刷中.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

遺伝子解析による急性間欠性ポルフィリン症の実態解明に関する研究

研究分担者 前田直人 鳥取大学医学部講師

研究要旨

本研究では本邦 AIP の実態解明に寄与することを目的に、急性間欠性ポルフィリン症の責任酵素であるヒドロキシメチルビレンシンターゼの遺伝子解析を行った。互いに縁戚関係のない本邦 AIP7 家系 11 症例を解析した結果、うち 5 家系でそれぞれ異なる 5 種の変異が同定され、さらにその中の 4 種は世界での初めての変異であった。本邦 AIP 症例の HMBS 遺伝子変異には、わが国特有の、いわゆるホットスポットといえるような変異はなく、各家庭でそれぞれ異なる変異をもつことが明らかになった。また、AIP における遺伝子解析は診断の確定のみならず、家系内保因者の早期発見や将来の発症予防、あるいは変異がないことで患者家族の精神的苦悩の除去にも有効であると考えられた。ただし、疾患スクリーニングを目的とした場合には、遺伝子解析はきわめて非効率的な手段であると考えられた。

A. 研究目的

急性間欠性ポルフィリン症（AIP）は、ヘム合成系酵素のひとつであるヒドロキシメチルビレンシンターゼ（HMBS）の活性低下によって前段階の δ -アミノレブリン酸やポルフォビリノゲンが体内に過剰蓄積し、急性症状や神経障害を呈する遺伝性疾患である。分担研究者は本研究全体の中において、本邦 AIP 症例について HMBS 遺伝子を解析するとともに DNA レベルでの家族解析を行い、診断の確定とその家系内未発症保因者の発掘を通じて、本邦 AIP の実態解明に寄与することを目的とする。

B. 研究方法

症状や生化学所見、家族歴などから AIP と診断された、もしくは臨床的に AIP が疑われた 7 家系 11 症例を解析の対象とした。遺伝子解析の方法として、末梢血 DNA を用いて HMBS 遺伝子の各エクソン（1-15）を含む領域それぞれにつき PCR 増幅を行

ったのち、オートシーケンサーにより塩基配列を決定し、変異の有無を確認した。

（倫理面への配慮）

1) データの管理・保管について

患者および医師の個人名など、個人情報に関する情報と測定データは別途管理している。プライバシーに関わる情報は紙の場合は鍵のかかる保管庫で管理しており、電子媒体による情報は研究分担者個人のパーソナルコンピュータ上およびフラッシュメモリでのバックアップにて管理している。研究の終了と同時に、必要に応じてシュレッダーにより裁断、あるいは電氣的に消去する予定である。なお、測定データの管理は個人が特定できないように ID 番号等で管理している。

2) インフォームド・コンセントについて

本研究における遺伝子解析にあたっては、あらかじめ本研究の目的・内容・方法について記載された「説明書」、「同意書」および「同意撤回書」

を作成しているが、例外として、患者側から遺伝子解析依頼のあった場合にはそれぞれの担当主治医から患者本人または家族の同意を得ていただくことも認めている。患者及び家族の解析結果については本疾患が遺伝性疾患であることを鑑みて、当人の要求があった場合には担当主治医を介してのみ報告するものとし、それ以外の方法では一切報告していない。

C. 研究結果

本研究ではこれまでに縁戚関係のない本邦7家系11症例を解析しえた。解析した中には、血液生化学的にはポルフィリン症は否定的でありながら臨床症状のみからAIPを疑われて解析依頼となったもの（2家系3症例）も含まれていた。

その結果、確認されたHMBS遺伝子変異は 1) イントロン5: +5c→a、2) エクソン9: 490delA、3) エクソン12: 730delCT、4) エクソン12: 733 delC、5) イントロン13: +3del aagt の5種類であり、それぞれ家系ごとに異なっていた。これらは、4)を除いて、これまでに世界でも報告のない初めて発見された変異である。変異がみられたうち2家系において家族解析を行ったところ、どちらの家系も次世代への変異の遺伝は認められなかった。また、血液生化学的に異常なく臨床症状のみでAIPを疑われた2家系3症例ではHMBS遺伝子の変異は確認できなかった。

D. 考察

今回の結果を考察すると、本邦AIP症例のHMBS遺伝子変異には、わが国特有の、いわゆるホットスポットといえるような変異はなく、各家庭でそれぞれ異なる変異をもつことが明らかになった。また、AIPにおける遺伝子解析は、診断の確定のみならず、家系内保因者の早期発見や将来の発症予防、あるいは変異がないことの確認により患者家族の精神的苦悩の除去にも有効であると考えられた。

本研究において、AIP症例もしくはその疑診例に対するHMBS遺伝子解析の方法は確立されたといつてよい。このことは、AIPの診断は従来より生化学的手法により行なわれ、その結果判定には、疑診、いわゆるグレイゾーンがあったが、HMBS遺伝子の解析によりグレイゾーンのない確定診断が可能となったことを意味する。すなわち、遺伝子解析はAIP診断のgold standardとして貢献すると考えられた。

その一方で、血液生化学的にAIPが否定的であった症例では遺伝子解析でも変異が認められなかった。本研究での遺伝子解析は1症例につきHMBS遺伝子の各エクソン一つ一つについて塩基配列を決定してゆくという方法でしか行えないため、疾患スクリーニングを目的とした場合には遺伝子解析はきわめて非効率的な手段であるといわざるをえない。しかしながら、遺伝子解析の煩雑な手法に対しては現時点で解決案はなく、今後ともこの手技を変更することはできず、また、解析可能な施設も限られると思われる。疾患スクリーニングについては、現在の生化学的方法を凌駕する、より正確でより効率的な方法の開発が望まれる。

本研究では引き続いて順次遺伝子解析を行ってゆく方針であるが、現時点ではその数はまだ7家系11症例にとどまる。国際的に変異部位などの比較が可能と考えられる20家系以上の解析を目標としているので解析症例数の達成率としてはまだ3割程度であるが、もともと発生頻度の少ない疾患であり、解決法として、今後も継続して地道に症例を集積しながら研究を行ってゆく必要がある。幸い、本研究分担者には現在も国内各地からAIPが疑われる症例の遺伝子解析の依頼があり、解析可能症例数はさらに増えると期待される。

E. 結論

本研究では、互いに縁戚関係のない本邦AIP7家系11症例を解析しえた。うち5家系でそれぞれ異なる5種の変異が同定され、さらにその中の4種は

世界での初めての変異であった。AIPにおける遺伝子解析は診断の確定のみならず、家系内保因者の早期発見や将来の発症予防、あるいは変異がないことで患者家族の精神的苦悩の除去にも有効であると考えられた。一方、血液生化学的にAIPが否定的な症例では遺伝子解析でも変異が認められなかったことから、疾患スクリーニングを目的とした場合には、現時点では遺伝子解析はきわめて非効率的な手段であるといわざるをえない。

先頃来報道されている鳥取県のプロトポルフィリン症の兄弟例でも知られたように、ポルフィリン症は患者のQOLを著しく損なわしめ、また疾病に対する根本的治療はいまだなく、適切な対処がなされない場合には重篤な後遺症を残し、あるいは致命的ともなりうる。このため、本症と診断された患者たちは不安な日々を過ごすことを余儀なくされている。本研究を次年度以降も継続し、この難治性疾患の克服に向けて研究を一步でも前進させてゆく必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

前田直人. 急性間欠性ポルフィリン症. 山口 徹、北原光夫、福井次矢 総編集. 今日の治療指針. 医学書院、東京. 2010、pp605-606.

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

急性ポルフィリン症の病因遺伝子異常解析

研究分担者 大門 真 山形大学医学部内科学第三講座准教授

研究要旨

急性間欠性ポルフィリン症病因遺伝子解析を実際の臨床に役立てることが出来るような、解析方法、及び、システムの構築を目的とし、本症2例で遺伝子解析を施行した。2症例ともに病因遺伝子異常（症例1：502番目塩基グアニンのチミンへの変異；症例2：728-729番目の塩基シトシン、チミンの欠損）を特定することが出来、本症遺伝子異常解析法が確立できた。なお、症例2の遺伝子変異は既報のものと同じであったが、症例1は新規の遺伝子変異であった。

A. 研究目的

急性発作を主症候とする急性ポルフィリン症は、診断を誤り適切な治療を行わなかった場合、死亡にもつながる疾患であり、発症時速やかに、あるいは、発症前に診断されていることが望まれる。発症時の診断は、酵素異常にともなう各種ポルフィリン体、および、その前駆物質の尿中および赤血球中の量を測定することより可能である。しかしながら、本疾患の病因遺伝子異常を持っているが未だ発症していない者（潜在者）の診断は、前述の検査では不可能なことが多い。潜在者の診断には、遺伝子診断が不可欠であるが、本疾患の病因遺伝子異常には特定のもものがなく、症例家系毎に異なる病因異常をもっていると考えても過言ではない程であり、現在、web上で検索できるデータベース(HMGD)では、447種類もの異なった遺伝子異常が報告されている。従って、潜在者の診断を確実にを行うには、家系毎に病因遺伝子異常の解析をまず行い、その後、その遺伝子異常の有無により家系内の潜在者の診断を行う必要があるが、解析の技術、時間および経費がかかることが大きな問題であり、これまでは、一般的な方法としては行われていない。私達は、本研究にて、本疾患遺伝子解析を実際の臨床に役立てること

が出来るような、解析方法、及び、システムの構築を目的とした。

B. 研究方法

急性間欠性ポルフィリン症(AIP)、及び、遺伝性コプロポルフィリン症(HCP)の病因遺伝子(ポルホビリノーゲンデアミナーゼ、及び、コプロポルフィリノーゲンオキシデース遺伝子)の全エクソン、付随するイントロン部分およびプロモーター領域をPCR直接シーケンシング法およびPCR-クローニング-シーケンシング法にて解析し、正常塩基配列と比較する事により病因遺伝子異常を見つける方法を構築した。

本解析法を用いて、AIPの2症例（症例1：29歳女性。腹痛を主訴に度々医療機関を受診し開腹術を受けるも異常なく、その後低ナトリウム血症を契機に尿中δ-アミノレブリン酸、ポルフォビリノーゲンの高値から本症と診断された。；症例2は20歳女性。100km無休憩の自転車走行を行った後、腹痛、発熱を生じ入院。尿中δ-アミノレブリン酸、ポルフォビリノーゲンの高値から本症と診断された。）で病因遺伝子異常の解析を試みた。

C. 研究結果 (図1、2)

症例1：ポルホビリノーゲン デアミナーゼ遺伝子の502番目塩基グアニンがチミンに変異していた。本変異は168番目のコドンであるグリシンを終止コドンに変化させることから病因変異と考えられた。

症例2：同遺伝子の728-729番目の塩基シトシン、チミンの欠損を認めた。本変異は、フレーム

シフトを引き起こし、6アミノ酸残基C端側で終止コドンで終わることから病因変異と考えられた。

症例2の遺伝子変異は本邦で既に報告されているものと同じであったが、症例1の遺伝子変異は世界でも報告の無い新規の遺伝子変異であった。

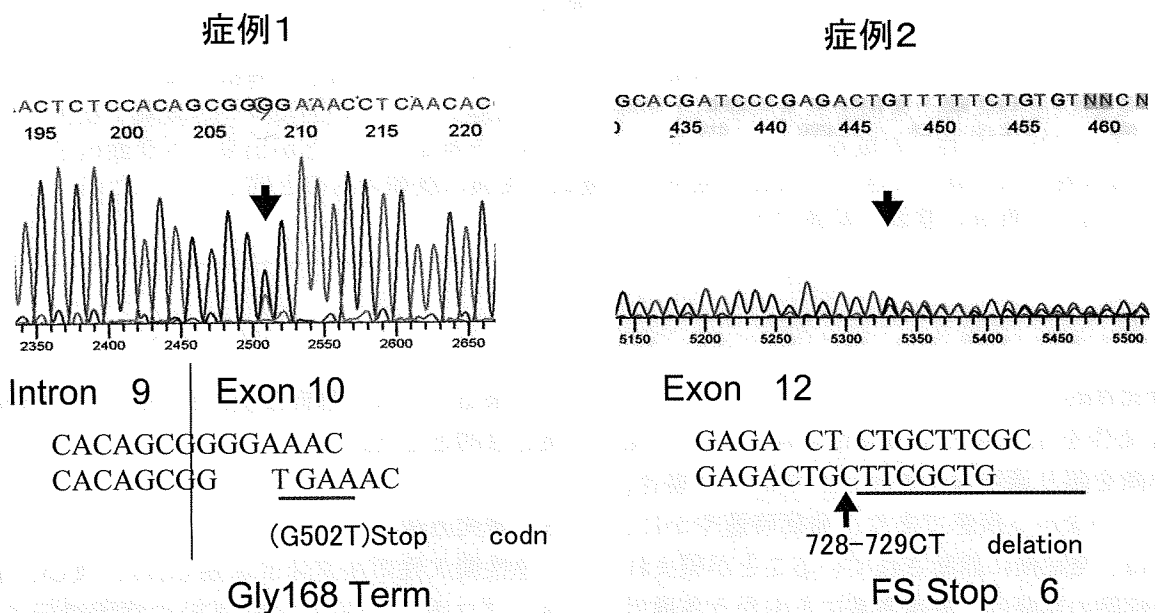


図1.AIP2症例のHMBS 遺伝子異常

D. 考察

世界で初の新規の遺伝子異常の発見につながり、学術的・国際的にも意義が高いと思われた。また、実際の臨床への応用の可能性を示したことは社会的に意義が高いと思われた。

解析システムが確立されたことにより、多くの症例で遺伝子解析が可能となった。本解析システムは実臨床に役立つと思われた。

E. 結論

急性ポルフィリン症の遺伝子解析を行う方法を確立させ、その1型である、急性間欠性ポルフィリン症では、実際の症例で、その有用

性を確認した。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表

1) 諏佐真治、他：急性間欠性ポルフィリン症2例の遺伝子解析；第82回日本内分泌学会学術総会（前橋）2009.4.23-25.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

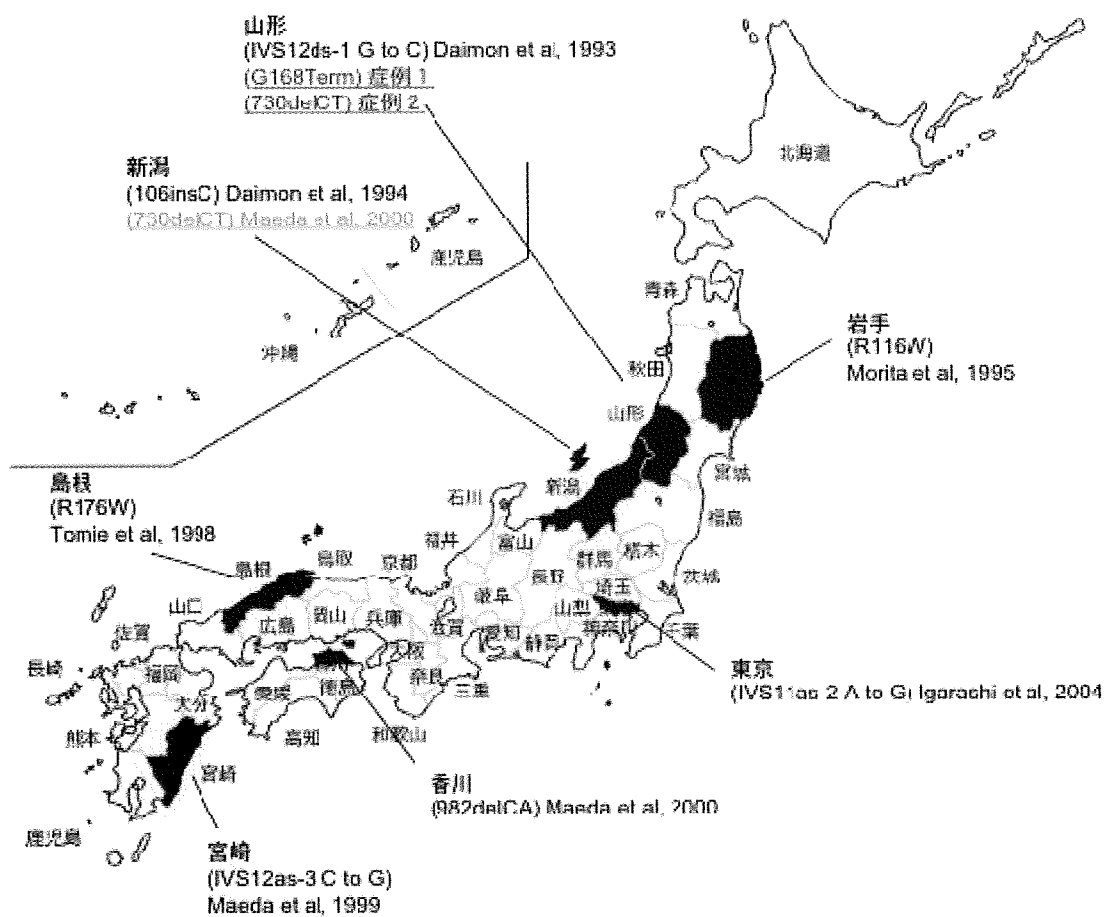


図2. 本邦における急性間欠性ポルフィリン症家系の遺伝子異常