

3. 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子診断

中野 創 (弘前大学)

はじめに

ポルフィリン症はヘムを合成する代謝経路に関与する酵素群のいずれかの活性低下によって、ポルフィリン中間代謝物が蓄積するために生じる代謝異常症である。酵素異常が一次的に存在する臓器によって骨髄性と肝性とに分けられる。遺伝性のものについてはすべての病型で原因遺伝子が判明しており、臨床診断が決定されればいずれの病型においても遺伝子診断が可能である。光線過敏を有するポルフィリン症の中では晩発性皮膚ポルフィリン症 (porphyria cutanea tarda, PCT) が最も多い。しかし、PCTの大部分の症例には明らかな遺伝性がみいだされず、ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素の遺伝子変異により発症する常染色体劣性遺伝性のPCTは非常にまれである。PCTに次いで多いのが骨髄性プロトポルフィリン症 (erythropoietic protoporphyria, EPP) であり、遺伝性のポルフィリン症のなかでは最多の病型である。従来、本症は不完全な常染色体優性遺伝性疾患であるとされてきた。これは原因遺伝子に明らかな変異を有しながらも発症しない個体、すなわち無症候性キャリアが存在することを意味し、遺伝カウンセリングを行う上で極めて重要である。さらに近年、この“不完全な”遺伝がなぜ起こるのかを説明できる分子遺伝学的メカニズムが明らかになり、EPP患者および家族における遺伝子診断の有用性が非常に大きくなっている。そこで本稿ではEPPにおける遺伝子変異と発症のメカニズムとともに日本人における遺伝子型の特色や遺伝子変異と合併症との関係についても併せて論述したい。

EPPの遺伝子診断

疾患概念

EPP (OMIM : 177000) は先天性のポルフィリン症の中では最も症例数の多い病型である。本症はポルフィリン代謝の最終段階においてプロトポルフィリン IX (PPIX) に鉄イオンをキレートさせ、ヘムを形成する酵素フェロキラーターゼ (FECH : EC 4.99.1.1) の活性が低下することにより、PPIXが骨髄造血系や皮膚などに

蓄積するために生じる。主症状は光線過敏症とそれに付随する皮膚症状である。症状の強さに個体差が認められ、軽症例では単なる日焼けとして見逃されている場合も少なくないとされている。発症時期は日光暴露の機会が増える幼児期以降であり、顔面その他露光部に、熱感、疼痛を伴う浮腫性紅斑、小水疱、湿疹様皮疹を生じる。これらは後にびらん、結痂、色素沈着、陥凹性小癬痕、苔癬化へと変化してゆく。顔面特に頬部は油性の光沢を帯びるのが特徴的とされる。下口唇に浮腫性紅斑、びらんを生じ、光線性口唇炎の像を呈することがある。また、長時間太陽光に曝露した後に、光線性爪甲剝離症を来すこともある。検査上、本症は赤血球中プロトポルフィリンが高値であるが、尿中ポルフィリンは正常上限以下であり、この点で他のポルフィリン症と区別できる。貧血が認められることもある。皮膚症状のみを示している限りEPPの生命予後は良好であるが、数%に重度の肝障害が併発し、予後不良となりえる点が臨床上の大きな問題点である。PPIXは非水溶性であり胆汁中に排泄されるが、日光曝露などにより赤血球中のPPIXが大量に循環血中に放出されると胆管内で結晶化し、胆汁うっ滞型の肝障害を引き起こす。従って、罹患者は定期的に肝機能検査を受ける必要がある。治療としては、遮光による予防的治療以外に有効性の明らかなものはない。βカロテンの内服が有効との報告が多いが医薬品として認められておらず、患者は健康サプリメントを購入して服用しているのが現状である。

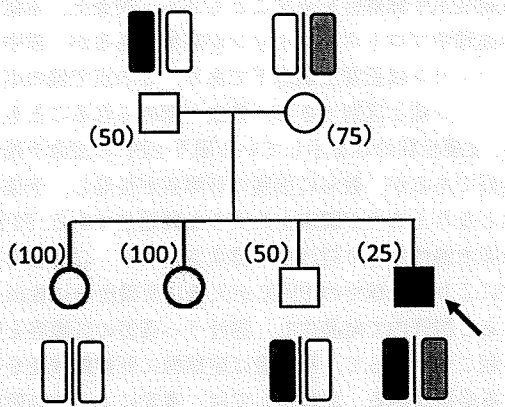
原因遺伝子

EPPの原因遺伝子はFECHをコードするFECH遺伝子であり、第18番染色体の長腕18q21.3に局在する。本遺伝子は11のエクソンからなり、約45kbの長さを有する。cDNAおよび遺伝子は日本で最初にクローニングされている¹⁾²⁾。転写産物は大部分を占める主要なもの (NM_001012515.2)、スプライシングバリエーション (NM_001012515.2) の2種類が存在し、後者から翻訳されるFECH分子は前者のそれよりアミノ酸が6残基少ない。EPP患者にFECH遺伝子の変異が存

表1 本邦報告例のまとめ

家系	血中 PPIX 値 (μg/dl)	光線過敏	肝障害	遺伝子型 (変異/IVS3-48)	浸透率 (%)
1 ⁶	8,520	有	有	c.853del3 (p.285delGln)/C	25
2 ⁶	1,044	有	無	c.683C > T (p.Pro228Leu)/C	100
3 ⁷	1,940	有	有	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/C	100
4 ⁷	9,127	有	有	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/C	不明
5 ⁷	1,209	有	無	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/C	不明
6 ⁷	837	有	無	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/C	不明
7 ⁷	4,892	有	有	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/C	不明
8 ⁸	9,306	有	有	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/C	100
9 ⁹	8,779	有	有	c.574_589del16 (PTC)/不明	100
10 ¹⁰	1,424	有	無	c.IVS4-4A > G (p.154-155insVal)/C	50
11 ¹¹	2,458.9	有	無	c.557T > C (p.Ile186Thr)/不明	100
12 ¹²	2,628	有	無	c.IVS7+1G > A (p.236_268del33)/不明	50
13 ¹³	2,628	有	有	c.IVS9+1G > A (p.305_345del41)/不明	100
					平均 81

PTC: 早期停止コドン.

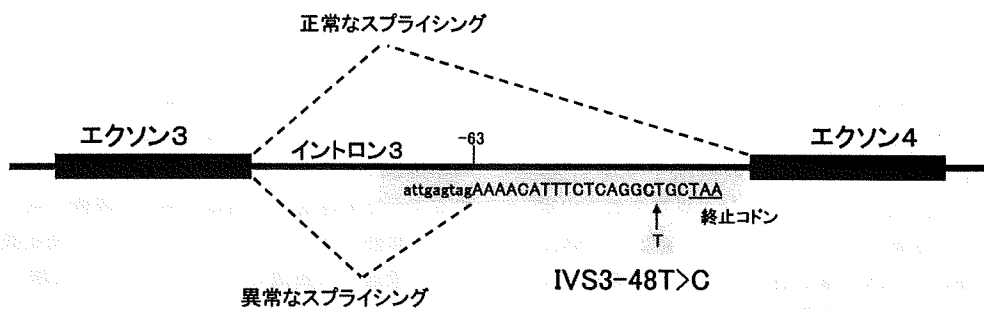


■: delEx10を有する変異アリル、□: 正常アリル、
 ▨: low expression allele、矢印: 発端者、
 括弧内の数字: FECH酵素活性の相対%値

図1 Low expression allele モデル

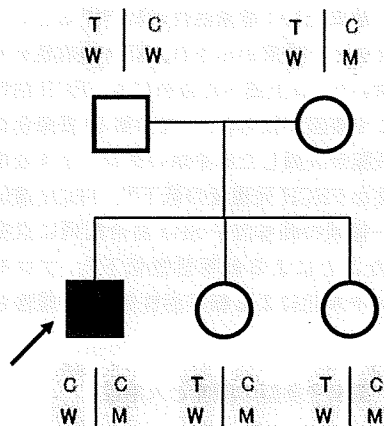
在することは、Lamorilらによって劣性遺伝の家系において初めて証明された³⁾。その後、散発的な報告が相次いだが1998年にRufenachtらがヨーロッパ白人のEPP症例29例中26例に遺伝子変異を同定するとともに、変異を有するリコンビナントcDNAを大腸菌に発現させることによってFECHの活性低下を確認し、原因遺伝子としての確立がなされた⁹⁾。現在までに、ヨーロッパ、アメリカ合衆国および南アフリカの白人、日本人および中国人などさまざまな人種において100

近い変異が同定されているが、アフリカ系黑人には見いだされていない⁵⁾。遺伝子変異解析の方法は通常のゲノムDNAのエクソン領域の塩基配列を決定する手法に加え、変性勾配ゲル電気泳動 (denaturing gradient gel electrophoresis) によるスクリーニングなどが行われてきたが、筆者らは患者末梢血由来白血球からゲノムDNAおよび全RNAを抽出し、はじめにFECH cDNAの分子サイズおよび塩基配列の解析を行い、その後必要に応じてゲノムDNAを用いて全エクソンおよびイントロン/エクソン境界部を含めた領域のPCR産物の塩基配列を解析している。自験例を含め本邦のEPP症例において報告されている変異を表にまとめた⁶⁾⁻¹³⁾(表1)。変異の種類としては、ミスセンス、ナンセンス、スプライシング異常、欠失および挿入変異が国内外を合わせて報告されているが、最も多いのはミスセンス変異である。また、すべてのエクソンにおいて変異が同定されているが、創始者効果によると思われる反復性変異 (recurrent mutation) がスイス由来の白人⁹⁾、日本人⁷⁾および南アフリカ在住の白人¹⁰⁾の症例で報告されている。臨床的に明らかなEPP症例においてFECH遺伝子の変異が同定される割合は90%前後であると報告されているが、これはFECH遺伝子に変異が確認されないEPP症例が10%前後存在することを意味している。その原因としては、通常のPCRによるエクソン領域の増幅では検出できないという技術的問題と、FECH遺伝子以外に原因遺伝子が存在する可能性とが挙げられる。1つ以上のエクソンが一塊と



文献18)より一部抜粋、改変。

図2 IVS3-48C 遺伝子多型とスプライシング異常



M: c.853delCAA, T: IVS3-48T, C: IVS3-48C, W: wild type

図3 IVS3-48C 遺伝子多型で発症が規定される EPP 家系

なって欠失している場合は通常の PCR およびシーケンスではその欠失を検出できない。一対ある FECH 遺伝子のうち一方の正常アリルから PCR 産物が増幅されるためである。こうした変異はほとんどが早期停止コドン (PTC) を生じ、その場合 nonsense-mediated mRNA decay (NMD) によって異常な mRNA が分解されることが予想され、末梢血白血球の RNA を解析しても変異を同定できるとは限らない。このような事例においては各エクソンのコピー数を定量的に解析する必要があるが、最近、リアルタイム PCR などの定量的手法を用いてエクソン単位での欠失を同定し得たという報告があり、注目される^{15) 16)}。

EPP 発症の分子遺伝学的メカニズム

原因遺伝子が同定される以前から EPP は不完全優

性遺伝性疾患であると表現されていた。それは、家系分析上、明らかに変異を有すると考えられるが発病しない個体、いわゆる無症候性キャリアが同一家系内にしばしば認められたためである。このような遺伝様式は浸透率が 100% 未満の優性遺伝とも表現することができる。浸透率は遺伝子変異を有する個体のうち、発症している個体の割合と定義されるが、ヨーロッパの白人 EPP 症例の観察では、変異を有すると考えられる個体の大部分は発症せず、従って浸透率はかなり低いとされてきた。その遺伝学的機序は FECH 遺伝子に変異が同定された後も不明であったが、1996 年 Gouya らは “low expression allele theory” を提唱し、同じ遺伝子変異を有しながらもなぜ発症する個体としない個体が同一家系内に存在するのかを巧妙に示した¹⁷⁾。彼らは FECH 遺伝子にエクソン 10 の欠失 (delEx10) を有する 1 家系に注目し、変異の有無と FECH の酵素活性値とを比較した (図 1)。その結果、delEx10 をヘテロ接合性に有する EPP 患者の FECH 活性が正常の 25% であったのに対して、同じ変異を有するが無症候性キャリアと考えられる父親と兄は活性が 50% であった。一方、delEx10 を持たない臨床的に正常の母親の酵素活性は正常値を下回っていた。2 本の FECH アリルのうち一方が機能しないならば、予想される酵素活性は 50% である。しかし、患者では予想に反して酵素活性が 25% しかないという事実からすると、もう一方のアリルからの FECH 遺伝子発現が半分程度まで減弱しているものと考えられる。つまり患者は delEx10 という酵素活性をほとんど消失させる変異を持つアリルと、遺伝子発現が何らかの原因で低下しているアリル、即ち “low expression allele” とを両方有するために EPP として発症していると説明される。母親は正常アリルと low expression allele を有すると考えると、

理論的には酵素活性が75%になり、実際に正常値を下回っていたことと矛盾しない。その後 Gouya らはさらにハプロタイプ解析を進め、2002年に low expression allele を生じる遺伝子多型の存在を証明した¹⁸⁾。彼らは FECH 遺伝子のイントロン3に遺伝子多型 IVS3-48T>C が存在するとスプライシング異常をおこす頻度が高まり、結果として PTC を生じるため、NMD によって FECH mRNA 量が低下することを実験的に示した(図2)。さらに、変異が明らかな EPP25 症例の全てにおいて、この多型はハプロタイプ解析によって既に同定済みの low expression allele の側、つまり遺伝子変異を持たない方のアレルに存在することも明らかにした。また、健康人の末梢血リンパ球を用いて IVS3-48T/C の遺伝子型と FECH 酵素活性との関係を調べ、IVS3-48T/T、IVS3-48T/C、IVS3-48C/C の順に酵素活性が低下していることを示した。以上のことから EPP は FECH 遺伝子の一方のアレルの酵素活性を明らかに低下させるような遺伝子変異に加え、もう一方のアレルの遺伝子多型 IVS3-48C を併せ持つことによって発症するという分子遺伝学的メカニズムが明らかになった。自験例をもとに具体例を図3に示す。発端者は母親由来の遺伝子変異 c.853delCAA と父親由来の IVS3-48C とを有するため発症しているが、母親と二人の妹は一方のアレルに遺伝子変異を有するものの、もう一方のアレルが正常であるため無症候性キャリアとなっている。この遺伝形式は一見すると劣性遺伝のようであり、実際、大規模な家系分析を行い劣性遺伝として結論付けた報告もあるが¹⁹⁾、IVS3-48C をホモで有しても表現型は正常、即ち病的症状を呈さないもので、あくまで優性遺伝と捉えるべきである。FECH 遺伝子変異と IVS3-48C/T 遺伝子多型との関係を調べた報告によると、ほとんどの症例が IVS3-48C によって EPP の発症が規定されている。従って、EPP 家系において、発端者の FECH 遺伝子変異が同定されれば、その同胞のうち臨床的に無症状な個体が無症候性キャリアであるかそうでないかが確定できる。ただし、ごく少数では明らかな FECH 遺伝子の変異を有しながらも対側アレルが IVS3-48T である症例が報告されているので²⁰⁾、このような家系においては、無症状の同胞がキャリアかどうかを遺伝子診断によって判定することは不可能である。IVS3-48C によって発症が規定されているとは考えられない症例では、他の遺伝的なあるいはエピジェネティックな要因が働いて FECH の酵素活性が低下していると考えられる。EPP の大部分

は以上述べた機序による優性遺伝であり、劣性遺伝の症例は非常にまれである⁹⁾。FECH はヘムやチトクローム c といった、生体機能維持のために欠くことのできない分子の生成に必須であるため、FECH 遺伝子の変異を両アレルに有して、酵素活性がほとんど消失するような劣性遺伝の個体は胎生の段階で致死であるものと推察される。タンパクレベルでの発症機序としては、最近、大腸菌の発現系を用いた実験により、FECH タンパク分子はダイマーを形成し、一方の分子がアミノ酸置換を有し、正常 FECH 分子とのヘテロダイマーを形成した場合(EPP 患者がミスセンス変異のヘテロ接合体である場合に相当)はダイマー形成が不安定となり、結果として酵素活性が低下するというドミナントネガティブ効果が示され、EPP の病態を考える上で興味深い²¹⁾。以上述べた以外にも FECH 活性低下を引き起こす要因が知られ、一对の第18番染色体のうち一方の長腕が欠損した赤芽球のクローナルな増殖による後天性な FECH 発現量の低下²²⁾、FECH 遺伝子プロモーター領域の転写因子 SP-1 結合配列に点突然変異が生じたことによる転写活性低下²³⁾、プロモーター領域のメチル化による転写活性低下²⁴⁾が報告されている。

遺伝子多型の頻度と人種差

EPP の発症が IVS3-48C によって規定されるならば本症の浸透率は IVS3-48C の頻度によって決定されるということができる。従って、IVS3-48T>C の遺伝子型およびアレルの頻度を決定することは集団遺伝学的見地から重要である。驚くべきことに、この遺伝子多型の頻度は人種間で非常に大きく異なっていることが明らかになった(表2)。欧米の白人では IVS3-48C/C の頻度が非常に低く、0%⁵⁾ 20%²⁴⁾ から 1.7%⁶⁾ と報告されているのに対し、日本人では我々が解析したところ 19.2% と 10 倍以上高い⁶⁾。また、IVS3-48C のアレル頻度は白人が 11.3% 以下であるのに比較して日本人では 43.3%⁵⁾ から 45.2%⁶⁾ と 4 倍以上高い。アフリカ黒人では 0.05% と最も低い⁵⁾。白人のアレル頻度が低いという事実は EPP の浸透率が白人では低いという従来からの観察と合致している。また、日本人では逆に浸透率がより高いと推察されるが、これを裏付ける統計的データはないため、今後検討される必要がある。現在まで国際誌に報告されている日本人 EPP 症例のうち、家系解析が可能なものから浸透率を求めると平均 81% である(表1)。

FECH 遺伝子変異と臨床症状との関係

EPP においてはこれまで光線過敏の程度に影響を与えるような特定の FECH 遺伝子変異は報告されていない。一般的には FECH の酵素活性が低いほど、即ちミスセンス変異よりも欠失やスプライシング異常など酵素活性の著しい低下をきたす変異を有する個体ほど臨床症状が強いと考えられるが、EPP では必ずしもそのような関係は認められない。また、家系内でも同じ変異を有しながら、光線過敏症状の強い個体と軽症の個体がみられることもまれではない。従って、EPP の光線過敏症状は FECH 遺伝子変異以外の環境的要因などによって修飾されるものと考えられる。EPP は肝障害を併発することがあり、一部は致死的な肝機能障害を来すため注意が必要であるが、肝障害と FECH 遺伝子変異のタイプとの間にはある程度の傾向が認められる。Schneider-Yin らは 108 例の EPP 症例を検討し、ミスセンス変異を有する 19 例には肝障害の併発はないが、ナンセンス変異やエクソン欠失など酵素活性がほとんど失われるような変異を持つ症例 89 例中、18 例に肝障害を認めたと報告した²⁰⁾。実際、FECH 酵素活性が低いほど肝障害が生じやすいという傾向があり、優性遺伝性の EPP よりも酵素活性低下の著しい劣性遺伝性 EPP のほうが重度の肝障害を合併しやすいとされる⁹⁾。ただし、ミスセンス変異を有する患者に肝障害を併発した例が過去に報告されており^{24) 27)}、EPP においては変異の種類にかかわらず定期的に肝機能をモニターしなければならないと考えられる。スプライシング異常を生じる c.IVS3+2T>G が同定された 1 家系では、同じ遺伝子変異を有しながら光線過敏のみの患者と肝障害を併発した患者が混在していた²⁴⁾。このような家系内での症状の不均質性はほかの変異でも認められ、かつ、同じ変異でありながら肝障害を併発した家系としない家系が存在し^{4) 7) 27)}、家系

間でも不均質性がみられる。従って、EPP においては光線過敏と同様に FECH 遺伝子変異以外の要因が肝障害の出現に影響を与えているものと推察される。前述した FECH 遺伝子プロモーター領域のメチル化による遺伝子発現低下は、肝障害の発症に関与していると考えられ、エピジェネティックな要因の一例と思われる⁹⁾。

遺伝カウンセリングにおける FECH 遺伝子変異検索の有用性

上述したとおり、EPP は浸透率が低いために家系内に無症候性キャリアが存在するが、この事実は遺伝カウンセリング上、極めて重要な意味を持つ。なぜなら、無症候性キャリアが健常人との間に児を儲けた場合、児は一定の割合で罹患する可能性があるからである。特に日本人は IVS3-48C を持つ頻度が高いので、無症候性キャリアが患児を得る確率は理論上欧米人より高いことになる。配偶者が IVS3-48C のホモ接合体であると、児は 50% の確率で EPP を発症する。しかし、キャリアの FECH 遺伝子変異と配偶者の IVS3-48T/C 多型の遺伝子型を同定しておけば、児の出生後直ちに遺伝子診断を行うことによって、万一患児と判明しても日光暴露回避などの予防的対策を速やかに講じることができる。従って、EPP 家系では可能な限り FECH 遺伝子変異の検索を行い、変異の同定と遺伝子多型のパターンを決定しておくことが重要であると考えられる。

おわりに

本邦では遺伝子変異解析が行われた EPP 家系が少なく、変異の種類と肝障害との関係や浸透率の決定など未だ明らかになっていない問題が残されている。従って、今後解析症例数を増やすことによってこれらの問題を解決し、患者の予後改善やより効果的な遺伝カウンセリングのために役立てる努力が必要であろう。

文 献

- 1) Taketani S, Inazawa J, Nakahashi Y, Abe T, Tokunaga R: Structure of the human ferrochelatase gene. Exon/intron gene organization and location of the gene to chromosome 18, *Eur J Biochem*, **205**: 217-222, 1992.
- 2) Nakahashi Y, Taketani S, Okuda M, Inoue K, Tokunaga R: Molecular cloning and sequence analysis of cDNA encoding human ferrochelatase, *Biochem Biophys Res Commun*, **173**: 748-755, 1990.
- 3) Lamoril J, Boulechar S, de Verneuil H, Grandchamp B, Nordmann Y, Deybach JC: Human erythropoietic protoporphyria: two point mutations in the ferrochelatase gene, *Biochem Biophys Res Commun*, **181**: 594-599, 1991.
- 4) Rüfenacht UB, Gouya L, Schneider-Yin X, et al: Systematic analysis of molecular defects in the ferrochelatase gene from patients with erythropoietic protoporphyria, *Am J Hum Genet*, **62**: 1341-

- 1352, 1998.
- 5) Gouya L, Martin-Schmitt C, Robreau AM, et al: Contribution of a common single-nucleotide polymorphism to the genetic predisposition for erythropoietic protoporphyria, *Am J Hum Genet*, **78**: 2-14, 2006.
 - 6) Nakano H, Nakano A, Toyomaki Y, et al: Novel ferrochelatase mutations in Japanese patients with erythropoietic protoporphyria: high frequency of the splice site modulator IVS3-48 C polymorphism in the Japanese population, *J Invest Dermatol*, **126**: 2717-2719, 2006.
 - 7) Saruwatari H, Ueki Y, Yotsumoto S, et al: Genetic analysis of the ferrochelatase gene in eight Japanese patients from seven families with erythropoietic protoporphyria, *J Dermatol*, **33**: 603-608, 2006.
 - 8) Onaga Y, Ido A, Uto H, et al: Hypermethylation of the wild-type ferrochelatase allele is closely associated with severe liver complication in a family with erythropoietic protoporphyria, *Biochem Biophys Res Commun*, **321**: 851-858, 2004.
 - 9) Yasui Y, Muranaka S, Tahara T, et al: A new ferrochelatase mutation combined with low expression alleles in a Japanese patient with erythropoietic protoporphyria, *Clin Sci (Lond)*, **102**: 501-506, 2002.
 - 10) Yotsumoto S, Shimada S, Terasaki K, et al: A novel A (-4)-to-G acceptor splice site mutation leads to three bases insertion in ferrochelatase mRNA in a patient with erythropoietic protoporphyria, *J Invest Dermatol*, **117**: 159-161, 2001.
 - 11) Imoto S, Tanizawa Y, Sato Y, Kaku K, Oka Y: A novel mutation in the ferrochelatase gene associated with erythropoietic protoporphyria, *Br J Haematol*, **94**: 191-197, 1996.
 - 12) Nakahashi Y, Miyazaki H, Kadota Y, et al: Human erythropoietic protoporphyria: identification of a mutation at the splice donor site of intron 7 causing exon 7 skipping of the ferrochelatase gene, *Hum Mol Genet*, **2**: 1069-1070, 1993.
 - 13) Nakahashi Y, Miyazaki H, Kadota Y, et al: Molecular defect in human erythropoietic protoporphyria with fatal liver failure, *Hum Genet*, **91**: 303-306, 1993.
 - 14) Parker M, Corrigall AV, Hift RJ, Meissner PN: Molecular characterization of erythropoietic protoporphyria in South Africa, *Br J Dermatol*, **159**: 182-191, 2008.
 - 15) Wood LH, Whatley SD, McKenna K, Badminton MN: Exonic deletions as a cause of erythropoietic protoporphyria, *Ann Clin Biochem*, **43**: 229-232, 2006.
 - 16) Whatley SD, Mason NG, Holme SA, Anstey AV, Elder GH, Badminton MN: Gene dosage analysis identifies large deletions of the FECH gene in 10% of families with erythropoietic protoporphyria, *J Invest Dermatol*, **127**: 2790-2794, 2007.
 - 17) Gouya L, Deybach JC, Lamoril J, et al: Modulation of the phenotype in dominant erythropoietic protoporphyria by a low expression of the normal ferrochelatase allele, *Am J Hum Genet*, **58**: 292-299, 1996.
 - 18) Gouya L, Puy H, Robreau AM, et al: The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by expression of wildtype FECH, *Nat Genet*, **30**: 27-28, 2002.
 - 19) Went LN, Klasen EC: Genetic aspects of erythropoietic protoporphyria, *Ann Hum Genet*, **48**: 105-117, 1984.
 - 20) Wiman A, Floderus Y, Harper P: Novel mutations and phenotypic effect of the splice site modulator IVS3-48C in nine Swedish families with erythropoietic protoporphyria, *J Hum Genet*, **48**: 70-76, 2003.
 - 21) Ohgari Y, Sawamoto M, Yamamoto M, Kohno H, Taketani S: Ferrochelatase consisting of wild-type and mutated subunits from patients with a dominant-inherited disease, erythropoietic protoporphyria, is an active but unstable dimer, *Hum Mol Genet*, **14**: 327-334, 2005.
 - 22) Aplin C, Whatley SD, Thompson P, et al: Late-onset erythropoietic porphyria caused by a chromosome 18q deletion in erythroid cells, *J Invest Dermatol*, **117**: 1647-1649, 2001.
 - 23) Di Pierro E, Cappellini MD, Mazzucchelli R, et al: A point mutation affecting an SP1 binding site in the promoter of the ferrochelatase gene impairs gene transcription and causes erythropoietic protoporphyria, *Exp Hematol*, **33**: 584-591, 2005.
 - 24) Risheg H, Chen FP, Bloomer JR: Genotypic determinants of phenotype in North American patients with erythropoietic protoporphyria, *Mol Genet Metab*, **80**: 196-206, 2003.
 - 25) Whatley SD, Mason NG, Khan M, et al: Autosomal recessive erythropoietic protoporphyria in the United Kingdom: prevalence and relationship to liver disease, *J Med Genet*, **41**: e105, 2004.
 - 26) Schneider-Yin X, Gouya L, Meier-Weinand A, Deybach JC, Minder EI: New insights into the pathogenesis of erythropoietic protoporphyria and their impact on patient care, *Eur J Pediatr*, **159**: 719-725, 2000.
 - 27) Chen FP, Risheg H, Liu Y, Bloomer J: Ferrochelatase gene mutations in erythropoietic protoporphyria: focus on liver disease, *Cell Mol Biol*, **48**: 83-89, 2002.

【3-3】

紫外線とポルフィリン症

川原 繁
 近畿大学医学部皮膚科

1. はじめに

ポルフィリン症とは、ヘム合成系の代謝異常により起こる疾患の総称であり、その中には光線により紅斑、水疱などの皮膚症状、すなわち光線過敏を示す骨髄性プロトポルフィリン症、晩発性皮膚ポルフィリン症などと光線過敏を伴わない急性間歇性ポルフィリン症などがある（表1）。ポルフィリン症は比較的まれな疾患であるが、本邦において光線過敏を伴うポルフィリン症の中で、骨髄性プロトポルフィリン症および晩発性皮膚ポルフィリン症が比較的多い³⁾ので、これらについて概説する。

2. 骨髄性プロトポルフィリン症 (Erythropoietic protoporphyria, E P P)

(1) 原因

E P Pは常染色体優性遺伝を示し、その原因はフェロケラターゼ (ferrochelatase) の活性低下である⁴⁾。フェロケラターゼの遺伝子 *FECH* は第18染色体の短腕にあり、

表1 主なポルフィリン症の分類

	病型	障害酵素	光線過敏
骨髄性	先天性ポルフィリン症 congenital porphyria (CP)	uroporphyrinogen III cosynthetase	+++
	骨髄性プロトポルフィリン症 erthropoietic protoporphyria (EPP)	ferrochelatase	++
肝性	急性間歇性ポルフィリン症 acute intermittent porphyria (AIP)	porphyrinogen deaminase	-
	異型ポルフィリン症 variegate porphyria (VP)	protoporphyrinogen oxidase	+
	遺伝性コプロポルフィリン症 hereditary coproporphyria (HCP)	coproporphyrinogen oxidase	±~+
	晩発性皮膚ポルフィリン症 porphyria cutanea tarda (PCT)	uroporphyrinogen decarboxylase	++

11のエクソンからなり、45kb ペアの塩基配列を持っている。E P Pの浸透性は不完全であり、家族内に同症が見出されるのは、約50%とされる。その理由の一つとして、Gouyaら⁵⁾は、*FECH*遺伝子の一方のアリルに酵素活性を著しく低下させる変異があり、もう一方のアリルには遺伝子発現量を低下させるような遺伝子多型 (IVS3-48T/C: 第3イントロンの-48に位置するチミンがシトシンに変異) が存在する場合に発症する可能性があることを報告した。

Nakanoら⁶⁾は、本邦におけるE P Pの家族例について*FECH*遺伝子の解析を行い、Gouyaらが報告したのと同様に、一方の遺伝子には*FECH*遺伝子の変異があり、もう一方には遺伝子多型があることを示した。さらに、興味深いことに、欧米では遺伝子多型は人口の1%以下にみられるのに対して、日本人では約45%にみられることを報告した。

(2) 臨床症状

① 皮膚症状

多くは、幼児期における光線過敏症状で発症する。初めは日光曝露後、顔や手背などの露光部に痒みやチクチクとした疼痛を伴った浮腫性の紅斑や時に水疱が生じることで気付かれる。その後、日光曝露を繰り返すうちに、顔では褐色の色素沈着および浅い小癬痕がみられるようになり、手指背では色素沈着、苔癬化、多毛などがみられるようになる。頬にしばしばみられる淡褐色の色素沈着やわずかに陥凹した細長い小癬痕は、本疾患の皮膚症状として特徴的である (図1)。

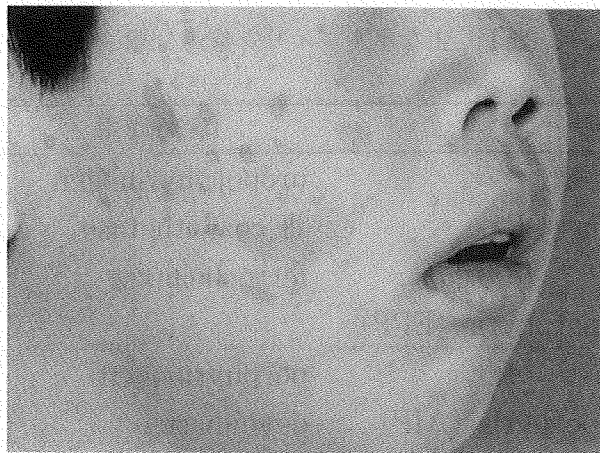


図1 骨髄性プロトポルフィリン症の臨床像

② 肝症状

E P Pの約20%において肝障害を伴う。その重症度は、自覚症状を欠き、血清中肝酵素の軽度上昇がみられる程度の軽症の肝障害から重篤な肝硬変まで様々であり、時に

胆石症を伴うこともある。さらに、肝障害が無症状のまま経過し、突然大量の日光照射または薬剤などにより急性肝不全に進行し、急激に死の転帰をたどった症例も報告されている。

肝障害を起こす機序としては、赤血球中に蓄積されているプロトポルフィリンが光溶血により血中に急速に増加し、肝臓における排泄能力を超えると、肝細胞内および毛細胆管内に析出し、肝細胞が障害されるという機序が考えられている。肝疾患の合併を予測する因子として、全血中プロトポルフィリン量が1,500mg/dl以上の場合、そのリスクが高くなるという報告⁷⁾がある。

近年、E P P患者が開腹による手術、または内視鏡検査を受けた後、急性肝不全を起こしたという報告が散見される。その原因として、術中に大量の光線を内臓面に照射したために、急速に光溶血が起こった結果と推測され、E P P患者に対して手術や内視鏡検査を行う場合は、作用波長の光線を遮光するフィルターを用いることが提案されている⁸⁾。

(3) 診断

診断のために以下に述べる検査が有用である。

① 赤血球蛍光の検出

スライドガラス上に患者血液の塗抹標本(スメアー)を作成し、蛍光顕微鏡で観察すると、患者赤血球に橙赤色の蛍光が観察される。

② 皮膚生検

露光部皮膚の生検組織像では、真皮上層の毛細血管周囲に淡い好酸性物質の沈着がみられる。その好酸性物質はP A S染色で明瞭に染色され、ジアスターゼでは消化されない。

③ 血中プロトポルフィリン(P P)定量

診断のために最も有用な検査は、赤血球中プロトポルフィリンの定量である。健常人では100 μ g/dl RBC以下であるが、E P P患者では高値を示す。

(4) 治療

E P P患者の血中P P量は1年を通じて測定すると、夏に高くなり、冬に低くなることはしばしば経験されるので、太陽光の曝露量が血中P P量の増減に深く関与しているのは明らかである。現時点におけるE P Pに対する最も重要な治療は徹底した遮光であろう。前述したように大量の日光曝露により急性肝不全に進行することもあり、皮膚症状および肝症状を予防するためには遮光が最も重要である。作用波長が長波長紫外線から可視光線領域にあるので、それらの光線を遮断するようなサンスクリーンなどを用いる。また、外科的手術の際に光溶血を予防するために照明にフィルターを用いるなどの対策が必要と考えられる。

一方、E P Pに有効な薬物療法はまだ確立されていない。比較的多く行われているのは、 β -カロテンの内服であるが、その評価は一定していない。

3. 晩発性皮膚ポルフィリン症 (Porphyria cutanea tarda, P C T)

(1) 原因

肝臓のウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素 (uroporphyrinogen decarboxylase) の活性低下により、組織中にウロポルフィリンが蓄積し、そのために光線過敏などの皮膚症状を呈する疾患である⁹⁾。基礎疾患としては、アルコール性肝障害、C型肝炎、透析、薬剤性肝障害 (グリセオフルビン、エストロゲン製剤) などがある。生来、ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素の活性低下があり、さらにアルコールや各種薬剤によりさらに酵素活性が低下する結果、本症が発症すると考えられる。

遺伝性はほとんどないとされるが、一方で本症における遺伝子解析も検討されていて、欧米ではヘモクロマトーシス遺伝子 (*HFE*) の変異が関係しているという報告¹⁰⁾があるが、本邦では *HFE* 遺伝子を伴わないとされる。

(2) 臨床症状

40歳代以降の中年男性に発症することが多いが、近年、女性例も増加している。初めは光線過敏、すなわち、日焼けしやすくなったという程度で気付くことが多く、次第に露光部に色素沈着、水疱、びらん、瘢痕などが生じる。時に多毛、脱色素斑を伴う。

(3) 診断

本疾患では、尿中ポルフィリン体の定性検査がスクリーニング検査として有用である。診断確定には、蓄尿して1日の尿中ウロポルフィリン排泄量を定量する。血液中のポルフィリン体の増加はみられない。生検組織像では、E P Pとほぼ同様の所見が得られる。

(4) 治療

アルコールが誘因の場合は、これを控える。また、本症を悪化させる薬剤の使用が考えられる場合は、それを中止する。また、他の光線過敏症と同様に日常生活における遮光が必要である。

現在、広く用いられている対症療法が瀉血療法である。欧米で2～3週に1回300～500mlの瀉血を行うとされるが、本邦では、1回200mlの瀉血を行い、ヘモグロビンが12.0 mg/dl、血清鉄が50～60 μ g/dl、尿中ウロポルフィリンが50～100 μ g/日以上にならないように行うことが一応の目安とされている。

4. 紫外線とポルフィリン症との関係

ポルフィリン体は400nm前後の光、すなわち主にUVA領域の紫外線により一重項酸素を産生し、それが組織障害を起こすという機序¹¹⁾が考えられている。E P Pおよ

びPCTにおいて、皮膚症状は患者のQOLを妨げるものであり、さらに、EPPでは紫外線曝露を続けるうちに次第に肝硬変に進展するだけでなく、急激に大量の紫外線を浴びると急性肝不全を誘発する恐れがあるので、患者にとって紫外線対策は極めて重要である。

5. おわりに

ポルフィリン症に関する遺伝学的研究は日々進歩しており、次第にその病態が解明されつつあるが、まだまだ不明な点も少なくない。

さらに、骨髄性プロトポルフィリン症は時には肝不全のために死に至ることもある疾患であるにも関わらず、比較的まれなこともあって、社会的にはまだまだ広く周知されていない。今後、社会的な啓蒙活動によりポルフィリン症が広く認識され、研究の進歩と共によりよい治療の開発が進むことが期待される。

参考文献

(総説)

- 1) 野中薫雄, 三浦 隆: ポルフィリン症, 光線過敏症 (改定第3版), 金原出版, 2002.
- 2) 川原 繁: ポルフィリン症, *Derma*, **96**: 35-39, 2005.

(引用文献)

- 3) Kondo M, et al: Porphyrrias in Japan: Complications of All Case Reported through 2002. *Int J Hematol*, **79**: 446-456, 2004.
- 4) Nakahashi Y, et al: Molecular cloning and sequence analysis of cDNA encoding human ferrochelatase. *Biochem Biophys Res Commun*, **173**:748-55, 1990.
- 5) Gouya L, et al: The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by expression of wildtype FECH. *Nat Genet* **30**: 27-28, 2002.
- 6) Nakano H, et al.: Novel Ferrochelatase Mutations in Japanese Patients with Erythropoietic Protoporphyria: High Frequency of the Splice Site Modulator -IVS3-48C Polymorphism in the Japanese Population. *J Invest Dermatol* **126**: 2717-9, 2006.
- 7) Bloomer JR: The liver in protoporphyria, *Hepatology*, **8**: 402-407, 1988.
- 8) Wahlin S, et al.: Protection from phototoxic injury during surgery and endoscopy in erythropoietic protoporphyria. *Liver Transpl*, **14**: 1340-6, 2008.
- 9) Kushner JP, et al.: The enzyme defect in porphyria cutanea tarda. *N Engl J Med*. **306**: 799-800, 1982.

- 10) Roberts A, et al.: Increase frequency of the hemochromatosis Cys282Tyr mutation in sporadic porphyria cutanea tarda. *Lancet*, **349**: 321-323, 1997.
- 11) Goldstein BD, Harber LC: Erythropoietic protoporphyria: lipid peroxidation and red cell membrane damage associated with photohemolysis. *J Clin Invest*, **51**: 892-902, 1972.

Mini Review

Porphyria in Japan : The Past, Present, and FutureMasao Kondo¹⁾ and Tetsuya Kubo^{2,3)}

¹⁾ Faculty of Human Life Sciences, Musashi Institute of Technology, 8-9-18, Todoroki, Setagaya-ku, Tokyo 158-8586, Japan, ²⁾ Faculty of Environmental and Information Studies, Musashi Institute of Technology, 3-3-1, Ushikubo-Nishi, Tsuzuki-ku, Yokohama 224-0015, Japan ³⁾ Department of physiology, School of Medicine, Showa University, 1-5-8, Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8555, Japan

Summary: Porphyrias are a group of disorders caused by inherited deficiencies in the activities of the enzymes of the heme biosynthetic pathway. Afflicted patients suffer either from neurological disturbances, cutaneous photosensitivity, or both. The first recorded case of porphyria in Japan was a patient with congenital erythropoietic porphyria (CEP), and was reported by Sato and Takahashi in 1920. Since then, 884 cases of porphyria have been diagnosed based on characteristic clinical and/or laboratory findings (502 males, and 375 females and 7 of unknown gender). The most recent data available is dated December 31, 2007. We analyzed these 884 cases on the basis of chronological occurrence, age distribution, gender difference, geographical distribution, risk factors, initial diagnosis of acute porphyric patients, and prognosis. In this study, we discuss our findings and will also explain the difficulties in gathering reliable data for accurate epidemiological research.

Key words: Porphyria, Hepatic porphyria, Erythropoietic porphyria, Acute porphyria, Cutaneous porphyria

Introduction

Porphyrias are a group of disorders, which induce excess production of porphyrins, as well as cause their accumulation in the tissues [1,2]. They also increase the excretion of metabolites, as a result of inherited or acquired deficiencies in the activities of the enzymes of the heme biosynthetic pathway. There are 8 types of porphyria. Like other congenital metabolic disorders, this disorder is very rare, has attracted attention for a long time because of its specific symptoms, and was first observed by AE Garrod in 1923 [3], in his study *Inborn errors of metabolism*. Porphyria manifests a wide variety of symptoms, including cutaneous, psychoneurotic, gastrointestinal, and endocrine; endogenous and exogenous environmental factors influence the manifestation of these symptoms [4]. Therefore, acute porphyria may be fatal because of false and/or delayed diagnosis. A poor prognosis may be anticipated. Therefore, it is important that we have accurate knowledge of porphyria. In this report, we outline the past, present, and future of porphyria related research.

Results and Discussion**1. Classification of porphyria. (Fig.1)**

8-9-18, Todoroki, Setagaya-ku, Tokyo 158-8586, Japan

Received 04/ 09, 2009

Porphyrin metabolism	Enzyme	Porphyria
Glycine + Succinyl-CoA		
↓	ALA synthase (ALAS)	
ALA		
↓	ALA dehydratase (ALAD)	ADP
PBG		
↓	PBGD deaminase (PBGD)	AIP
HMB		
↓	UPgen III synthase (UROS)	CEP
UPgen III		
↓	UPgen decarboxylase (UROD)	PCT, HEP
CPgen III		
↓	CPgen oxidase (CPO)	HCP
PPgen IX		
↓	PPgen oxidase (PPO)	VP
PP IX		
↓ Fe ²⁺	Ferrochelatase (FeC)	EPP
Heme		

Fig. 1 Heme biosynthetic pathway and porphyrias

ALA; δ -aminolevulinic acid, PBG; porphobilinogen, HMB; hydroxymethylbilan
 UP; uroporphyrin, CP; coproporphyrin, PP; protoporphyrin

Heme biosynthesis involves 8 enzymes [5], and the absence of just one leads to an arrest of heme production and then mortality. In other words, reduction in enzyme activity as a result of abnormalities in enzyme-encoding genes can induce excessive production of porphyrin metabolites in porphyria. Massive accumulation of such metabolites in the tissues can have various clinical manifestations through phototoxic reaction and the generation of active oxygen. Porphyria types can be classified according to the clinical symptoms (cutaneous or acute), organs affected (erythropoietic or hepatic), or enzymes affected, but no harmonization of these classifications has been attempted.

2. Diagnostic criteria of porphyria. (Table1)

Porphyria, which manifests as a variety of symptoms, is often falsely diagnosed. The disease is diagnosed on the basis of clinical symptoms, blood examination, liver function tests, gene diagnosis, enzyme diagnosis, biochemical diagnosis, and pathology. Biochemical quantification of blood and fecal/urine porphyrins and its precursors (ALA and PBG) is the most effective way of achieving a differential or definitive diagnosis [6]. Because an examination for porphyrin is never done as part of a general clinical checkup, the delay in the diagnosis of porphyria that commonly results, often markedly impairs patients' quality of life. There are a limited number of institutions that conduct examinations for porphyrin, and no international diagnostic criteria currently exist. Therefore, measurement is often done by a small number of specialists on the basis of different diagnostic criteria, and this can lead to confusion. This situation illustrates the fragility of healthcare policies for rare diseases in our country. Urgent countermeasures are required to address this problem.

3. Porphyrias reported in Japan from 1920 to 2007. (Table2), (Fig 2)

From the time of the first case of congenital erythropoietic porphyria (CEP) as reported by Sato

Table 1. Classification of porphyrias

Classification	Porphyrias		Enzyme defect	Inheritance	Clinical features		Biochemical signs Porphyrins and its precursors
	Condition				Skin	Neurologic	
Erythropoietic	Cutaneous	Congenital erythropoietic porphyria (CEP)	UROS	Recessive	+++	-	UP I (Urine, Blood)
		Erythropoietic protoporphyria (EPP)	FECH	Dominant	+~++	-	FP (Blood)
		Hepato erythropoietic porphyria (HEP)	UROD	Recessive	+++	-	UP III (Urine), ZP (Blood)
		Porphyria cutanea tarda (Familial) (f-PCT)	UROD	Dominant	+~+++	-	UP III (Urine), isoCP (Feces)
Hepatic	Acute	Porphyria cutanea tarda (Sporadic) (s-PCT)	UROD	Unknown	+~+++	-	UP III (Urine), isoCP (Feces)
		Variegate porphyria (VP)	PROX	Dominant	+~+++	++	ALA, PBG, Up III (Urine), PP, XP (Feces)
		Hereditary coproporphyria (HCP)	CPO	Dominant	-~++	++	ALA, PBG, CP III (Urine), CP (Feces)
		Acute intermittent porphyria (AIP)	PBGD	Dominant	-	++	ALA, PBG (Urine)
		ALAD deficiency porphyria (ADP)	ALAD	Recessive	-	++	ALA (Urine)

FP; Free erythrocyte protoporphyrin, ZP; Zinc chelated protoporphyrin

Table 2. Porphyrrias reported in Japan from 1920 up to 2007

	CEP	HEP	EPP	ADP	AIP	HCP	VP	PCT	AP	Total
Year	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)	Total (M:F:U)
1920-1955	12 (3:9:0)	0	0	0	2 (0:2:0)	0	0	0	8 (2:6:0)	22 (5:17:0)
1956-1965	4 (2:2:0)	0	2 (2:0:0)	0	35 (7:28:0)	0	9 (1:8:0)	3 (3:0:0)	11 (3:8:0)	64 (18:46:0)
1966-1975	10 (5:5:0)	1 (1:0:0)	22 (12:10:0)	0	65 (13:51:1)	21 (3:17:1)	17 (5:12:0)	42 (39:3:0)	7 (2:5:0)	185 (80:103:2)
1976-1985	3 (2:1:0)	3 (2:1:0)	37 (26:11:0)	0	31 (4:26:1)	1 (1:0:0)	11 (0:11:0)	147 (141:5:1)	10 (3:7:0)	243 (179:62:2)
1986-1995	4 (2:2:0)	0	43 (29:14:0)	0	31 (4:27:0)	4 (3:1:0)	9 (1:8:0)	73 (60:12:1)	13 (3:9:1)	177 (102:73:2)
1996-2005	1 (1:0:0)	2 (1:1:0)	60 (37:23:0)	1 (0:1:0)	27 (6:21:0)	11 (3:8:0)	8 (3:5:0)	46 (42:4:0)	5 (2:2:1)	161 (95:65:1)
2006-2007	1 (0:1:0)	0	17 (12:5:0)	0	2 (1:1:0)	2 (2:0:0)	1 (1:0:0)	7 (7:0:0)	2 (0:2:0)	32 (23:9:0)
Total	35 (15:20:0)	6 (4:2:0)	181 (118:63:0)	1 (0:1:0)	193 (35:156:2)	39 (12:26:1)	55 (11:44:0)	318 (292:24:2)	56 (15:39:2)	884 (502:375:7)
Year*	1920	1972	1964	1979	1932	1966	1962	1957	1962	

M, male; F, female; U, unknown gender; CEP, congenital erythropoietic porphyria; EPP, erythropoietic protoporphyria; HEP, hepatoerythropoietic porphyria; ADP, δ -aminolevulinatase dehydratase porphyria; AIP, acute intermittent porphyria; HCP, hereditary coproporphyria; VP, variegate porphyria; AP, acute porphyria of undefined origin; PCT, porphyria cutanea tarda. *, Year when the 1st case was reported

et al. in 1920 [7] though to December 2007, a total of 884 cases have been reported by individual

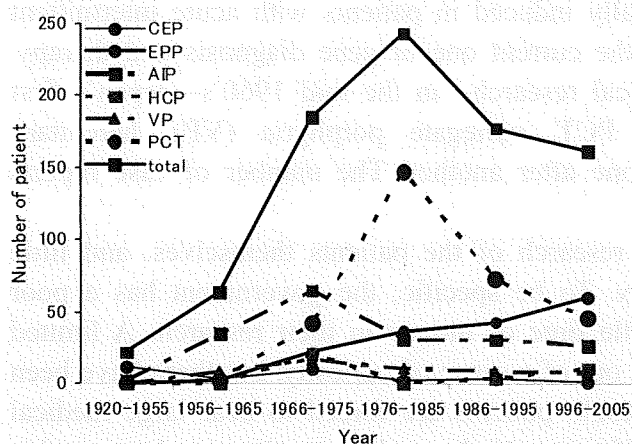


Fig 2. Porphyrrias reported in Japan from 1920 up to 2005

researchers or in *Igaku Chuo Zasshi*. In recent years, there have been a decreasing number of porphyria reported, possibly because physicians have become less interested in the disease. The actual number of patients with porphyria may therefore be several times higher than the reported figure, and the estimated population of genetic carriers is presumed to be several tens of times higher than the number of cases.

The few hundred patients with the most intense cutaneous manifestation of CEP have been reported all over the world [8], whereas only 35 of these types of patients have been reported in Japan. Almost no cases have been reported in Asian countries other than Japan. Porphyria must exist in these developing countries, so improvement of techniques for the definitive diagnosis and understanding of porphyria is needed there.

4. Precipitating factors, initial diagnosis, and prognosis of porphyria.

The factors that had precipitated the development of clinical symptoms are strong ultraviolet light in the case of erythropoietic protoporphyria (EPP); long-term alcohol intake in the case of porphyria cutanea tarda (PCT); and phenobarbital and other agents, pregnancy, menstruation, delivery, and other types of stresses in the case of acute porphyria, in which daily lifestyle factors play important roles [4]. Many porphyria are not diagnosed properly during initial medical examinations or

Table 3. Initial diagnosis of acute hepatic porphyrias (%)

	AIP	VP	HCP	AP	Total
Acute abdomen	48	53	48	63	51
Ileus	25	13	8	17	19
Appendicitis	15	0	4	10	10
Psychogenic disorders (hysteria)	15	0	0	0	8
Pancreatitis	9	8	4	3	7
Epilepsy	2	0	24	7	6
Hyperemesis gravidarum	6	4	4	7	6
Acute peptic ulcer	4	0	4	7	4
Liver dysfunction	4	4	4	0	3
Neuropathy	3	4	0	0	2
Guillain-Barre syndrome	2	8	0	0	2
Ovarian volvulus	2	0	0	3	2
Ectopic pregnancy	2	0	0	0	1
Gallstone	1	4	0	0	1
Subacute opticoneuropathy (SMON)	2	0	0	0	1
Kidney/Ureter stones	1	0	0	0	1
Myelopathy	1	0	0	0	1
Photodermatosis	0	4	4	0	1
Others	1	0	4	0	1

hospital admissions. The initial diagnoses of these porphyria cases, as summarized in Table 3, include various neurologic, gastrointestinal, and dermatologic disorders. Especially acute porphyria is often falsely diagnosed, and thus frequently results in fatal outcomes. Porphyria is often incorrectly identified as acute abdominal pain or ileus; about one-fourth of patients undergo laparotomy after a false diagnosis. These outcomes indicate that physicians have an inadequate understanding of porphyria and need to be educated accordingly.

5. The past, present, and future of porphyria.

The world's first porphyria case was reported by Schultz in 1874 [9]. Since then, clinical investigations and biochemical research to clarify the causes of porphyria have always been conducted in parallel, thus enabling significant investigatory progress. Specifically, biochemical investigations into porphyrin began with an analysis of the chemical structure of each porphyrin body by Fischer in 1915 [10]. The heme biosynthetic pathway was discovered in the 1940's [11]. Then, between 1963 and 1964—in the era of enzymological research— δ -aminolevulinate synthase (ALAS) activity was demonstrated to be abnormally induced in patients with acute intermittent porphyria (AIP) [12]. This era was followed by the current one of gene diagnosis and therapy. Around the beginning of the time of enzymological research—in the mid 1960's—Japan's first cases of various disease subtypes, including PCT, variegate porphyria (VP), hereditary coproporphyria (HCP), and EPP, were reported one after another. The number of case reports increased accordingly (Table 2).

However, there has been little non-case-study research of the patients themselves, and little government action has been taken in our country. To be specific, the government has a poor appreciation of rare diseases and has invested little time or money in their research. A limited number of researchers have investigated porphyria out of a sense of curiosity, but there have been few patient-directed studies on porphyria. As a result, patients are forced to bear large medical expenses, without reliable therapy, for their entire lifetimes. Under such circumstances, because this disease has not yet been designated intractable, and uniform diagnostic procedures and therapy have not been established, many female patients refrain from marriage and childbirth in order to avoid passing their genes on to the next generation. Thus a form of unpardonable, self-imposed tradition of purification is now being handed down to future patients. The government needs to understand these issues so that patients can improve the quality of their lives and receive highly advanced medical treatment to relieve their symptoms. This will require a prompt overhaul of the current system.

6. Activities by a porphyria patient group.

In 1998, the Japanese porphyria patient group SAKURA Friends was formed by several volunteers. One of them, a CEP patient, established a homepage for porphyria patients (URL:<http://www.sakuratomonokai.com/>). Since then, many patients have enrolled in this group, and its activities include distribution of a newsletter, medical consultation, drug information, and

intercommunication. The content of the homepage has been improved. Currently, the group is actively involved in the approval process for new pharmaceuticals and in efforts to have porphyria designated a rare disease. Portions of the articles of the patient group are given below.

1) Objectives

In the group, we strive for a complete cure of this syndrome of abnormal metabolism, through the support of research investigating the causes of disorders of porphyrin metabolism, early diagnosis, and the establishment of treatment. We also strive to promote mutual support and social contact among members in order to enhance knowledge about disorders of porphyrin metabolism and encourage optimistic daily care. Also, we aim to reinforce the medical system and promote social measures such as the improvement of patient welfare.

2) Our undertaking covers these topics:

1. Social contact and welfare among members
2. The publication of a bulletin
3. Medical care and medical consultation to promote a sound support system and information about health care centers
4. Support of the medical system
5. Publicity for the group
6. Exchange of information and experiences with organizations and groups in regard to disorders of porphyrin metabolism within and outside Japan
7. Other items, as considered necessary, for attaining the objectives of the group

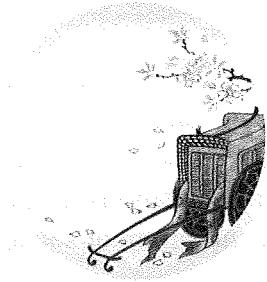
Acknowledgment

This work has been supported in part by grants from the Japan Porphyria Foundation .

References

1. Sassa S. The hematological aspects of porphyria. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligson D, eds. *Williams Hematology*. 6th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001:703-720.
2. Kauppinen R. Porphyrins. *Lancet* 2005; 365:241-252.
3. Garrod AE. *Inborn errors of metabolism*. Hodder & Stoughton. London, 1923.
4. Kondo M, Yano Y, Shirataka M, Urata G, Sassa S. Porphyrins in Japan: complication of all cases reported through 2002 (Review article). *Int J Hematol*, 2004:448-456.
5. Dailey HA. Enzymes of heme biosynthesis. *JBIC* 1997; 2:411-417.
6. Kondo M. Biological diagnostic technique of porphyria. *Jpn J Dermatol* 1997; 106:1-8.
7. Sato A, Takahashi H. Family anemia of a certain kind or an anemia of hemoglobinuria which is not yet reported. *Acta Paediatr Jpn* 1920; 239:47-48.
8. Kondo M, Yano Y, Urata G, Takamura N. Congenital erythropoietic porphyria in Japan: Complication of all cases reported through 2005. *Porphyrias* 2005; 14:69-84.
9. Schultz JH. Ein fall von Pemphigus leprosus, compliciert durch Lepra visceralis (thesis), Gleiswald, 1874.
10. Fischer H, Hilger J. Zur kenntnis der naturlichen porphyrine. II. Uber das Turacin, *Z Physiol Chem* 1923; 128:167-174.
11. Shemin D. The succinate-glycine cycle. The role of δ -aminolevulinic acid in porphyrin synthesis. *Porphyrin Biosynth Metab Ciba Found Symp*. Churchill, London 1955:4, 4-22.

12. Nakao K, Wada O, Kitamura T, Uono K, Urata G. Activity of aminolevulinic acid synthase in normal and porphyric human liver. *Nature* 1966; 210:838-839.



The SAKURA TOMONOKAI is a meeting which the patients made, and an official name is called a Japan Porphyria Foundation. This meeting was born from a purpose to live brightly and forward like cherry blossoms every day.

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

近藤雅雄¹⁾、上出良一²⁾、石塚昌宏³⁾

¹⁾東京都市大学人間科学部、²⁾慈恵医大第三病院皮膚科、³⁾コスモ石油(株)

要約

症例は 33 歳の女性で光線過敏症状と手指の硬化、変形を主訴とし、肝障害の既往歴及び赤色尿を有する。これらの症状から皮膚型ポルフィリン症を疑い、尿中ポルフィリンの異性体分析を高速液体クロマトグラフィー法によって解析した結果、本邦において 36 例目となる先天性赤芽球性ポルフィリン症 (congenital erythropoietic porphyria, CEP) を見出した。

キーワード：先天性赤芽球性ポルフィリン症、ウロポルフィリン I 異性体、HPLC、光線過敏症

1. はじめに

先天性赤芽球性ポルフィリン症 (congenital erythropoietic porphyria, CEP) は常染色体劣性遺伝であり、皮膚型ポルフィリン症の中では最も激しい皮膚光線過敏症を呈する希少疾患である。本邦では 1920 年¹⁾にはじめて報告されて以来、今日までに 35 例が見出されている^{2,3)}。CEP はウロポルフィリノゲン III 合成酵素遺伝子の異常によって、本酵素の活性が正常の 2~20% に減少しているため、生体内では利用されない I 型ポルフィリンの過剰生産・蓄積・排泄が起こり (図 1)、その結果、皮膚症状をはじめとする各種症状が出現する⁴⁾。われわれは、高速液体クロマトグラフィー (high-performanced liquid chromatography, HPLC) を用いたポルフィン異性体分析法を新規開発し、皮膚型ポルフィリン症が疑われた症例の尿中ポルフィリン解析によって、今世紀になって初めて、36 例目の新たな CEP 患者を見出したので報告する。

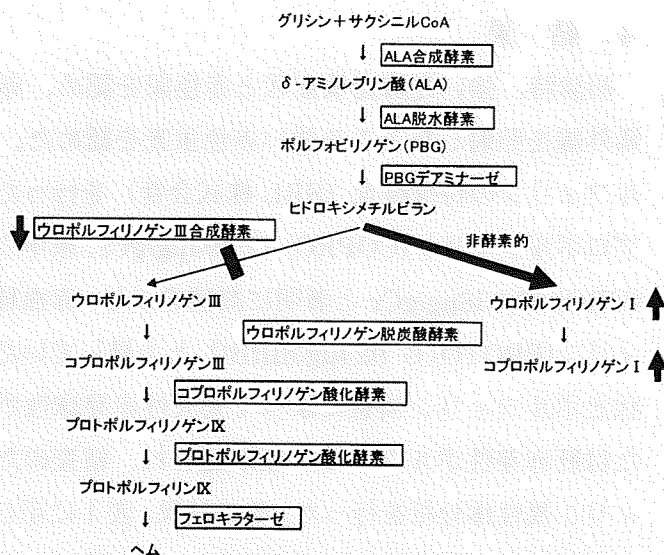


図1. ヘム合成経路とCEPの代謝障害

〒158-8586 東京都世田谷区等々力 8-9-18
2009 年 12 月 1 日受理

2. 症 例

患者は33歳女性で、光線過敏症状、顔面、手指の硬化、変形を主訴とし、肝障害の既往歴を持つ。

家族歴：同胞1名、両親、祖父母に光線過敏症、肝障害なし。血族結婚なし。

現病歴：2歳頃より光線過敏があり、日光曝露で紅斑を生じ、運動会など長時間の日光曝露で水疱を形成し、1週間ほどかかって上皮化した。十分な精査を受けず、頓着せず日光曝露を受けていたため、顔面、手指の紅斑、水疱形成を繰り返すうちに、色素沈着・脱失、瘢痕化を生じ、皮膚は硬化して次第に強皮症様になった。手指は短縮し、屈曲拘縮するに至った。口囲の硬化・萎縮、耳介変形、手指の拘縮と短縮が著明である。歯牙の着色と赤色尿を認めた。

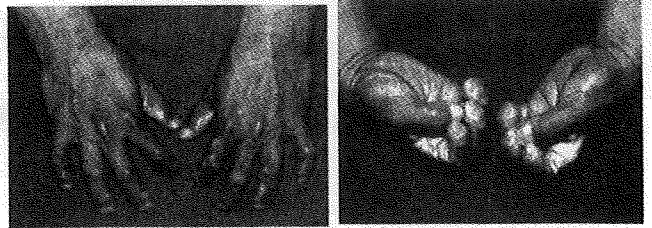


図2-1. 患者の臨床像(1)：手背の色素沈着・脱失、瘢痕化と手指の硬化、変形、短縮などが見られる



図2-2. 患者の臨床像(2)：口囲の硬化・萎縮、耳介変形、手指の拘縮と短縮が著明である。

3. 方 法

尿中ポルフィリン異性体分析

われわれが開発した方法によって分析した⁵⁾。HPLCは島津製LC10ADを用い、蛍光検出器(波長Ex406nm, Em609nm)、ODS逆相カラム(4.6×250mm)、アセトニトリル-酢酸アンモニウム系の移動相にて分析した。標準ポルフィリンはFrontier Sci Inc製、UFS-1を用いた。

4. 結 果

初診時、強い光線過敏症状と赤色尿を認め、赤色尿に関して遠紫外線を照射したところ強い赤色蛍光を認めた。そこで、尿中ポルフィリンの特殊検査(SRL株式会社)を行ったところ、尿中コプロポルフィリン(COPRO) 17,894 μ g/gCr、尿中ウロポルフィリン(URO) 87,036 μ g/gCrと著明に高値を示し、赤血球中プロトポルフィリン(PROTO)も924 μ g/dlRBCと上昇していた。これら臨床症状とポルフィリン検査によって先天性赤芽球性ポルフィリン症または肝赤芽性ポルフィリン症が疑われ、精査のため、尿中ポルフィリン異性体分析を行った。その結果、表1に示したように、URO I型異性体とIII型異性体の比率から、典型的なCEPであることを確認した。一方、肝障害がAST 99IU/L, ATL 85IU/L, LDH

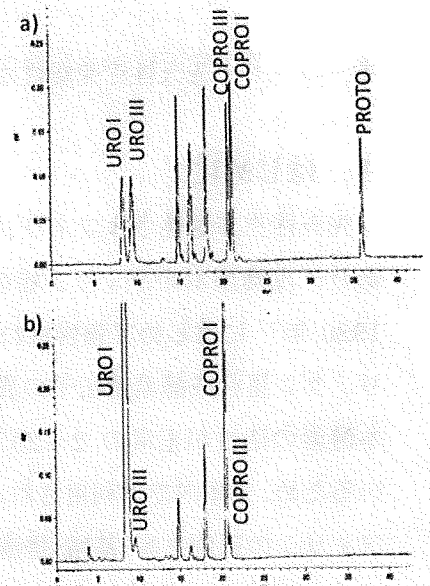


図3. CEP患者の尿中HPLCパターン
a)標準ポルフィリン各々5pmoles, b)患者尿を2 μ lに相当する量を各々注入した。UROからCOPROの間は、各々HEPTA-, HEXA-, PENTA-PORPHYRINのピークを示す。

表1. CEP患者の尿中異性体分析

	μ g/gCr	NI(Mean)
URO I	104881	11.7
URO III	2295	
HEPTA	2935	3.7
HEXA	658	<2
PENTA	4369	3.8
COPRO I	19735	18.3
COPRO III	996	39.9