

201024235A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査
ならびに診断・治療法の開発に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川 田 暁

平成 23 (2011) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- 遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査ならびに診断・治療法の開発に関する研究 …… 1
川田 暁 (近畿大学医学部)
(資料) 班会議議事録及び研究成果中間発表会, ポルフィリン症市民公開講座報告書

II. 分担研究報告

1. 遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査に関する研究 …… 27
川原 繁
(資料) 疫学二次調査票
2. 遺伝性ポルフィリン症の生化学診断法および生化学診断基準の作成 …… 31
近藤雅雄
3. 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 …… 40
中野 創
4. EPP 患者の遺伝子診断に関する研究 …… 43
竹谷 茂
5. 急性ポルフィリン症治療の啓発、及び、その1型である
異型ポルフィリン症の病因遺伝子異常解析 …… 45
大門 真
6. 急性ポルフィリン症の遺伝子解析 …… 48
前田直人
7. 遺伝性ポルフィリン症の光線過敏に対する新規治療薬の開発と有用性の検討 …… 52
川田 暁
8. 皮膚ポルフィリン症の診断法・治療法の開発 …… 55
上出良一
9. 皮膚型ポルフィリン症患者における QOL 評価に関する研究 …… 57
高村 昇
(資料) Skindex など
10. 遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)作成に関する研究 …… 70

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別刷

略語及び用語の定義一覧

略語	省略していない表現 (英)	省略していない表現 (日)
AP	Acute porphyria	急性ポルフィリン症
AIP	Acute intermittent porphyria	急性間欠性ポルフィリン症
HCP	Hereditary coproporphyrin	遺伝性コプロポルフィリン症
VP	Variegate porphyria	多様性ポルフィリン症
CEP	Congenital erythropoietic porphyria	先天性赤芽球性ポルフィリン症
ADP	ALAD deficiency porphyria	ALAD 欠損性ポルフィリン症
EPP	Erythropoietic protoporphyria	赤芽球性プロトポルフィリン症
PCT	Porphyria cutanea tarda	晩発性皮膚ポルフィリン症
HEP	Hepato-erythropoietic porphyria	肝・骨髄性ポルフィリン症
ALAS	δ -Aminolevulinic acid synthase	δ -アミノレブリン酸合成酵素
ALAD	δ -Aminolevulinic acid dehydratase	δ -アミノレブリン酸脱水酵素
HMBS	Hydroxymethylbilane synthase	ハイドロキシメチルピラン合成酵素
PBGD	Porphobilinogen deaminase	ポルホビリノーゲン脱アミノ酵素
UROS	Uroporphyrinogen synthase	ウロポルフィリノーゲン合成酵素
UROD	Uroporphyrinogen decarboxylase	ウロポルフィリノーゲン脱炭素酵素
FECH	Ferrochelatase	鉄導入酵素
ALA	δ -Aminolevulinic acid	δ -アミノレブリン酸
PBG	Porphobilinogen	ポルホビリノーゲン
HMB	Hydroxymethylbilane	ハイドロキシメチルピラン

I. 総括研究報告

遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査ならびに診断・治療法の 開発に関する研究

研究代表者: 川田 暁 近畿大学医学部皮膚科教授

研究要旨

遺伝性ポルフィリン症は、ヘム合成系に関与する酵素群のいずれかが遺伝的に障害されることによって発症する代謝異常症である。本症は患者のQOLを著しく損ない、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。本症は極めて稀な疾患であるが故に関心は低い。実際には数百例の患者がいると推定され、また発症素因をもつ遺伝子キャリアはさらにその数十倍存在すると考えられているにもかかわらず、これまで組織的、体系的にその実態が明らかにされることはなかった。

本研究ではまず、2009年度に行った全国疫学一次調査の結果をふまえて、全国疫学二次調査を行う。調査は常に患者の人権擁護に十分配慮しながら行なう。そして各疾患の分布、発症誘因とその状況、重症度、診断法、治療法、合併症、予後などを詳細に検討することによって、わが国におけるポルフィリン症患者および診療の現状を把握する。

各患者に対しては、十分なインフォームド・コンセントを得た上で、本人及びその家族の遺伝子解析を中心とした家系調査を詳細に行い、より正確な患者数および遺伝子キャリアの実態を把握する。さらに詳しい生化学的解析も行なう。併せて新しい治療法や予防法の開発を行なう。これらから得られたデータをもとに、発症誘発因子、診断、治療法に関して詳しく検討し、ホームページ及び「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)」を作成し、主として医療従事者に対して情報提供ならびに疾患の啓蒙を行う。

同時に患者のQOLの向上のために、現状のQOLの調査を行ない、市民講座を開催する。さらに「患者の会」あるいは「ポルフィリン症相談窓口」なるネットワークを構築し、本症に苦しむ患者及びその家族へ心身ともに十分にサポートできる体制を整備強化する。

分担研究者

上出良一 慈恵医大第三病院皮膚科教授
川原 繁 近畿大学医学部皮膚科准教授
近藤雅雄 東京都市大学人間科学部教授
大門 真 山形大学医学部第三内科准教授
高村 昇 長崎大学大学院医歯薬研究科教授
竹谷 茂 京都工芸繊維大学大学院応用生物学部門細胞分子工学講座教授
中野 創 弘前大学医学部皮膚科准教授
前田直人 鳥取大学医学部消化器内科講師

研究協力者

澤村大輔 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座教授
難波栄二 鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野
諏佐真治 山形大学医学部第三内科助教
林田直美 長崎大学医歯薬学総合研究科
堀江 裕 済生会江津総合病院院長
網中雅仁 聖マリアンナ医科大学予防医学
落合香織 東京北社会保険病院消化器内科

A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症はヘム合成系に関与する 7 つの酵素のいずれかが遺伝的に障害されることによって発症する代謝異常症である。本症は、2009 年 3 月 8 日に朝日新聞社会面で報道された鳥取県の骨髄性プロトポルフィリン症の兄弟例でも知られたように、患者の QOL を著しく損ない、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。本症は全世界に分布するが、わが国において年間発症は数十例という極めてまれな疾患であるが故に関心は低い。実際には数百例の患者がいると推定され、また発症素因をもつ遺伝子キャリアはさらにその数十倍存在すると考えられているにもかかわらず、これまで組織的、体系的にその実態が明らかにされることはなかった。

本研究ではまず、2009 年度に行った全国疫学一次調査の結果をふまえて、全国疫学二次調査を行なう。そして各疾患の分布、発症誘因とその状況、重症度、診断法、治療法、合併症、予後などを詳細に検討することによって、わが国におけるポルフィリン症患者および診療の現状を把握する。

各患者に対しては、十分なインフォームド・コンセントを得た上で、本人及びその家族の遺伝子解析を中心とした家系調査を詳細に行い、より正確な患者数および遺伝子キャリアの実態を把握する。

調査で得られたデータから誘発因子、診断、治療法に関して、比較的研究の進んだ欧米の状況を参考に、わが国でのポルフィリン症診療における問題点を抽出して改善策を検討する。それに基づき、ホームページ及び「遺伝性ポルフィリン症の診断・治

療の手引き(案)」を作成し、主として医療従事者に対して情報提供ならびに疾患の啓蒙を行う。

同時に患者間および専門医との「患者の会」あるいは「ポルフィリン症相談窓口」なるネットワークを構築し、本症に苦しむ患者及びその家族へ心身ともに十分にサポートできる体制を整備強化する。

以上の点で本研究は独創的であり、その一方で、従来より本邦においてポルフィリン症の研究や診療に従事してきた研究者らによってなされるため、研究遂行過程において、遺伝子工学や生化学的手法を用いた新たな診断法の開発、およびより効率のよい治療法の開発へ向けての研究を包含する。

B. 研究方法

本研究遂行に当たり、厚生労働科学研究費難治性疾患克服研究事業研究奨励分野の研究の趣旨から「治療のための指針またはそれに順ずるものを取りまとめ、疾病の実態把握に努めること」とあることから、今回「全国疫学二次調査」、「診断法の開発ならびに診断基準の作成」、「遺伝子解析による実態解明」、「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)の作成」、「患者の QOL の向上および相談窓口の開設」「ホームページの作成」「市民公開講座の開催」についての調査研究を行い、本報告書に現時点で得られた研究成果を報告する。

(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、個人情報に関わる情報と測定データは別途管理する。プライバシーに関わる情報は紙あるいは電子媒体で鍵のかかる保管庫で管理し、研究の終了と同時に焼却あるいは電氣的に消去する。測定データの管理は個人が特定できないように ID 番号で管理した。

2) インフォームド・コンセントについて

本研究におけるデータの収集および解析にあたっては、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、それぞれの担当主治医により患者本人または家族の同意を得た上で行なった。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のみ担当主治医を介して報告するものとし、それ以外の場合は一切報告しない。

3) 情報公開について

解析によって得られた新知見の公表にあたっては患者およびその家族のプライバシーを尊重し、連結不可能匿名化するなど個人情報の厳格な保護に留意した。

C. 研究結果および考察

遺伝性ポルフィリン症の疾患概念の確立を目指し、①患者の実態調査に関する研究、

② 診断基準の作成に関する研究、③ 遺伝子解析による患者の実態解明に関する研究、④ 治療に関する研究、⑤ 疾患マニュアルの作成に関する研究、⑥ 患者の相談窓口の全国ネットワークの構築に関する研究を中心として行なった。

1. 全国疫学調査研究

川原は、厚生労働省難治性疾患克服研究事業「特定疾患の疫学に関する研究」班、永井正規研究代表者および中村好一教授（自治医科大学）の協力・指導を得て、診断基準（臨床所見、検査所見、除外診断、参考事項、診断の判定）を作成し、一次調査を2009年度に施行した。その結果を踏まえて個々の症例の臨床像・治療内容等について二次調査を行った。その結果、二次調査票が比較的多く回収された骨髄性プロトポルフィリン症（34例、回収率55%）についての結果をまとめた。すなわち、10歳までに光線過敏症状で発症した症例が76%であったのに対して、約半数の例で発症後早期に診断されていないこと、急性肝不全による死亡例を含めて肝障害合併例が約4分の1にみられたことが明らかになった。今後、他の遺伝性ポルフィリン症についても解析を進める予定である。

2. 診断基準の作成に関する研究

ポルフィリン症の診断には臨床症状、血液検査、肝機能検査、遺伝子診断、酵素診断、生化学診断、光化学的検査、病理学的

検査など多項目の検査があるが、この中で最も鑑別・確定診断として有効なのが血液、尿尿中のポルフィリンおよびその前駆体（ δ -アミノレブリン酸、ALA、ポルフォビリノーゲン、PBG）の検査である。しかし、これらの測定は一般検査項目として行なわれておらず、また、ポルフィリン関連物質の測定機関が少なく、さらに研究室によって診断基準が異なっていることから、診断が遅れる事が多い。国際的にも、未だに診断基準のないのが現状である。

そこで近藤は、ポルフィリン症の診断が各病における典型的な臨床症状と同時にポルフィリン関連物質測定値から診断できるよう、患者から得られる血液、尿、糞便中の各種ポルフィリン関連物質の測定法並びに測定値（生化学検査データ）をまとめ、診断基準案を作成した。さらにポルフィリン分析法としては昨年度開発した各種ポルフィリンの同時自動高速液体クロマトグラフィー分析法によって健常者及びポルフィリン症患者の血液および尿尿中のポルフィリン測定を行い、生化学的に診断を行なった。この方法を用いれば、従来よりも容易かつ正確な診断が可能になると思われた。

3. 遺伝子解析による診断法の確立および患者の実態解明に関する研究

1) 皮膚型ポルフィリン症の遺伝子解析

中野は、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を検討した。すなわち今年度新たに11家系の骨髄性プ

ロトポルフィリン症 (EPP) 症例を収集し、フェロケラターゼ遺伝子変異解析を行った。その結果、9家系でフェロケラターゼ遺伝子に変異を同定し得た。そのうち新規変異は5例であった。また、イントロン3に存在する遺伝子多型 IVS3-48C が発症を規定していることが確認された。ゲノム DNA レベルで変異が同定できなかった症例においては、RNA の一次構造解析によって、エクソン単位での欠失が明らかになった。さらに今回新たに MLPA 法を用いてゲノム DNA における当該エクソンのコピー数を定量したところ、健常人が 2n であったのに比較して症例では n と半分になっており、ゲノム DNA レベルでエクソンが欠失していることが明らかになった。その他臨床的に皮膚ポルフィリン症が疑われた 2 症例について遺伝子診断を行い、それぞれ異型ポルフィリン症 (VP)、遺伝性コプロポルフィリン症 (HEP) であることを解明した。今回開発した MLPA 法によって、従来検出不能であったゲノム DNA レベルでのエクソン欠失を同定し得るようになったことから、これまで変異を検出できなかった症例についても、今後遺伝子変異を明らかにできることが示唆された。

竹谷は、EPP 患者の遺伝子診断に関する研究において EPP 家系の遺伝子診断を行った。ヒトフェロケラターゼ遺伝子解析は末梢血から分離したゲノム DNA を用いて、ferrochelatase 遺伝子の各 Exon を挟んだ primer で PCR を行って、それぞれの Exon

部分を増幅した後、DNA シークエンスを決定した。酵素活性はヒト末梢血リンパ球の細胞懸濁液を用いて、亜鉛—プロトポルフィリンの生成量を HPLC 法で分析した。その結果、すでに報告があったフェロケラターゼ遺伝子の T555C (I186T) 変異の患者と同じ変異を有することが分った。また 5 EPP 家族のすべての正常遺伝子型が IVS3-48C に相当することを確認した。さらに、IVS3-48C/T 型によるフェロケラターゼ活性の違いを測定した所 IVS3-48T/T > IVS3-48C/T > IVS3-48C/C の順に低くなり、IVS3-48C/C の活性は IVS3-48T/T のその約 35% であった。その結果 IVS3-48 型での活性の低さが EPP 発症につながることが分った。さらに日本人は IVS3-48C が約半数に達し日本人は EPP 発症率が他の人種に較べて高いことが分った。日本人は EPP 発症率が他の人種に較べて高いことが分った。したがって本法における EPP の遺伝子学的研究がきわめて重要であることが示された。さらにフェロケラターゼの基質が二価鉄であり、ポルフィリン代謝と鉄代謝の調節の要に位置しているため EPP 患者におけるポルフィリンの蓄積の個人差にはミトコンドリアでの鉄利用の違いが関連する可能性が示唆された。

2) 急性ポルフィリン症の遺伝子解析

大門は、異型ポルフィリン症 (VP) の病因遺伝子異常の解析システムの構築を試みた。まず VP の病因遺伝子 (プロトポルフィリノ

ゲンオキシデース (PPOX) 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する。次いでそれらを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。そこで、必要なプライマーをまず設計した。さらに異型ポルフィリン症の遺伝子解析を行う方法を整えることができた。また実際の症例で、その有用性を確認する準備が出来た。

前田は、急性間欠性ポルフィリン症 (AIP) の実態を解明するために、AIP の責任酵素であるヒドロキシメチルビレンシンターゼ (HMBS) の遺伝子解析を行なった。急性発作を繰り返したのち四肢麻痺および球麻痺を来して AIP が疑われた症例を解析した結果、HMBS 遺伝子の変異が同定された。さらにその家系に対して DNA を解析した結果、HMBS 変異は父方由来であり患者の未発症の兄にも変異があることが判明した。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有している。したがって 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にも有効であることが示唆された。

以上の遺伝子学的研究結果から、本症に対する病態機序の解明及び早期確定診断の確立が今後可能であることが判明した。また、本症の遺伝子異常が欧米と大きく異な

っていることが初めてわかり、本邦独自の検討がきわめて重要であることが示された。

4. 治療に関する研究

川田は、遺伝性ポルフィリン症の新規治療薬の開発と有用性を検討した。遺伝性ポルフィリン症のうち骨髄性プロトポルフィリン症と先天性骨髄性ポルフィリン症は光線過敏の治療が QOL を左右することから、その治療法の開発は急務である。そこで、光に当たっても症状を出現させない予防的な外用剤を新規開発した。2009 年度に開発した、410 nm 光を防御する指数の算定方法を用いて、すでに市販されている光防御効果をもつ 4 種類の化粧料の評価を行った。そしてポルフィリンに対する防御指数を算定した。その結果、防御指数の高い試料 1 と 2 の重層法が有効であり、その防御指数が 5-7 であると算定された。この結果から、光防御を有する化粧料 2 種の組み合わせ外用法が実際の遺伝性ポルフィリン症患者へ応用できることが示唆された。

次にポルフィリン症患者 9 例に対して実際に使用してもらい、その有効性と安全性を評価した。疾患としては 7 例が骨髄性プロトポルフィリン症、1 例が多様性ポルフィリン症、1 例が先天性赤芽球性ポルフィリン症であった。効果判定では、有効が 5 例、やや有効が 3 例、効果が少なかったものが 1 例であった。無効例はなかった。また副作用は全例で認めなかった。患者満足度では、満足が 5 例、やや満足が 2 例、不満が 2 例

であった。また全例が今後も継続使用を希望した。今後、症例数を増やしてさらに多くの患者に臨床応用し、その有効性と安全性を確認する予定である。

上出は、皮膚ポルフィリン症の症状としてきわめて重要な光線過敏の予防法を確立した。内外の文献を検索すると共に、自験例の集計結果から、骨髄性プロトポルフィリン症を中心とした皮膚型ポルフィリン症における、ポルフィリン体定量結果と実際に行った光線防御の程度と肝障害予防のための生活指導を関連させて検討した。その結果赤血球中プロトポルフィリン値を参考に具体的な光線防御対策を指導することが重要であること、さらに光線曝露による発赤腫脹などの皮膚症状防止と肝障害予防に役立つこと、過剰な防御によるQOL低下を避けることができることが判明した。

これらの2つの治療法と予防法の研究成果は、患者自身のQOLの向上にすぐに役立つという意味で、きわめて意義が大きい。一般的に難治性疾患というと、治療や予防が困難な場合が多いが、本研究ではこの分野に直接アプローチしているという点で独創的であると思われる。

5. 「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)」作成

一般医療従事者の本症に対する理解度を上げることが目的として、遺伝性ポルフィリン症の各疾患における診断・治療の手引き(案)を作成した。構成は以下の通りであ

る。

1. はじめに 川田 暁
2. 遺伝性ポルフィリン症の概念と疫学 近藤雅雄
3. 遺伝性ポルフィリン症の疫学調査 川原 繁
4. ポルフィリン症の診断基準案 近藤雅雄
5. 急性ポルフィリン症 (特に急性間欠性ポルフィリン症について)
 - 5-1. 急性間欠性ポルフィリン症の診断 前田直人
 - 5-2. 急性間欠性ポルフィリン症の治療 大門 真
6. 皮膚ポルフィリン症
 - 6-1. 骨髄性 (赤芽球性) プロトポルフィリン症の臨床 川原 繁
 - 6-2. 骨髄性 (赤芽球性) プロトポルフィリン症の遺伝子診断
7. 異型ポルフィリン症の診断と治療 上出 良一
8. 先天性骨髄性ポルフィリン症の診断と治療 上出 良一
9. 皮膚ポルフィリン症の遺伝子診断 中野 創
10. 皮膚ポルフィリン症患者のQOL調査 高村 昇

次年度に行われるさらに患者の実態調査をふまえて、より詳細かつ正確なものとして作成・発表する予定である。

6. 患者 QOL の研究

高村は、皮膚型ポルフィリン症患者における QOL の評価に関する研究を行なった。皮膚ポルフィリン症患者の QOL を適切に評価することは、積極的かつ具体的な支援対策を検討する際にきわめて重要であり、長期にわたり患者を支えていくためには必須である。そこで皮膚ポルフィリン症患者 8 名についての QOL 調査を行なった。患者の皮膚症状に対する QOL 評価には、皮膚疾患特異的 QOL 尺度である Skindex-29 の短縮版であり、かつ皮膚疾患患者を対象に広く活用されている Skindex-16 を使用した。8 つの健康概念を測定するための複数の質問項目で構成された MOS 36-item short-form health survey (SF-36)、全般的な精神的健康度を評価する 12-item General Health Questionnaire (GHQ-12) を使用した。その結果、症例数はまだ不十分であるが、皮膚疾患特異的な QOL が全般的な精神的健康度と関連している可能性が示唆された。

7. 患者の相談窓口の全国展開に関する研究

堀江・近藤は、先天性代謝疾患「ポルフィリン症」の相談窓口の全国展開に関する研究を行なった。ポルフィリン症は診断と治療が困難であり、全国的にも専門の医師が極めて少なく、本症例を診断しても、近くに診てもらえる病院がないため患者は日本列島を駆けまわらなければならない。そこで、堀江自身が所属する済生会が全国に 80 を超える病院を有する法人組織であり、その連絡協力体制を本症の診断と治療に適

用すれば、患者の益するところ大きいものがあると考えた。参加が得られた病院は、新潟、東京、大阪、広島、島根の済生会 5 病院であった。相談を受けて患者の振り分けを行い、情報を受診し、会員限定（無料）で相談内容の返事を送信している。2009 年 1 月から、相談窓口をインターネット上に開設し、開始した 3 月中旬まで 1 カ月間に、10 件以上の相談があった。相談内容は確定診断の得られている症例で肝性ポルフィリン症例と骨髄性プロトポルフィリン症例の治療とポルフィリン症と鑑別を要する疾患に大別された。今後は、更なる詳細な情報収集が得られるように、ネット上から相談しやすく、全国の病院と協力できる医師との情報共有や相談者の詳細な情報収集システムを構築する予定である。

8. ホームページの創設と市民講座の開催

遺伝性ポルフィリン症は症例数がきわめて少なく、医療従事者においてもあまり知られていないのが現状である。まず医療従事者に本症の認知度を高め、さらに疾患の内容を正しく理解してもらうことを目的に 2010 年 12 月にホームページ (<http://www.med.kindai.ac.jp/derma/index2.html>) を立ち上げた。名前は遺伝性ポルフィリン症ホームページ (医療関係者向け) とし、概念と疫学、疫学調査、AIP の診断、AIP の治療、EPP、EPP の遺伝子診断、CEP、VP、皮膚ポルフィリン症の遺伝子診断から構成されている。今後さらなる内容の充実を図る予

定である。また一般人向けのホームページも立ち上げる予定である。

前述したように、遺伝性ポルフィリン症は症例数がきわめて少なく、医療従事者のみならず一般市民においてもあまり知られていないのが現状である。そこで一般市民及び患者家族における本症の認知度を高め、さらに疾患の内容を正しく理解してもらうことを目的に2011年1月9日に市民講座を大阪市で主催した。「ポルフィリン症市民講座-ポルフィリン症を正しく知ろう-」という題目とした。プログラムは以下の通りである。

1. ポルフィリン症とは 近藤雅雄
2. 急性ポルフィリン症の診断と治療について 大門 真、前田直人
3. 皮膚ポルフィリン症の診断と治療について 川原 繁、上出良一
4. 全国ポルフィリン代謝異常症患者の会「さくら友の会」の活動について 近藤雅雄

この会には45名の出席があり、質疑も活発に行われた。また出席者の感想として、とてもわかりやすかった、また開催してほしい、などの好意的な意見が多数を占めた。次年度には東京で開催することを予定している。

D. 研究評価等について

1. 達成度について

本研究では、厚生労働科学研究費難治性疾患克服研究事業研究奨励分野の研究の趣

旨において「治療のための指針またはそれに順ずるものを取りまとめ、疾病の実態把握に努めること」とあることから、2009年度に引き続いて研究を継続することができた。当研究費によってポルフィリン症の実態把握について1年間で得た研究成果を検討してみた結果、相当程度達成できたと考えられる。すなわち、①全国疫学調査、②診断基準の作成、③遺伝子解析による診断法の確立および患者の実態解明に関する研究、④治療法の開発、⑤「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)」作成、⑥患者のQOLの向上、⑦患者の相談窓口の全国展開、⑧ホームページの創設と市民講座の開催について、多大な成果を得ることができた。ポルフィリン症研究に経験の深い8施設の分担研究者と連携し、研究協力者を含めると11施設からなる壮大なプロジェクトによってなされた研究成果は非常に高く評価されるものと確信している。今後詳細な実態把握についてはさらなる検討が必要である。以下に各分野における達成度評価を記載した。

1) 全国疫学調査研究

本課題については、難治性疾患克服研究事業の「特定疾患の疫学に関する研究」班、永井正規研究代表者および中村好一自治医科大学教授の指導を得て、2009年度に一次調査を終えた。今年度はそれを受けて、二次調査を開始し、皮膚型ポルフィリン症の半数程度の調査が終了し、詳細なデータが

得られた。残りの症例及び他のポルフィリン症における二次調査を次年度も継続する必要がある。

2) 診断基準の作成に関する研究

ポルフィリン症の診断には臨床症状、血液検査、肝機能検査、遺伝子診断、酵素診断、生化学診断、光化学的検査、病理学的検査など多項目の検査が必要である。特に重要なのが、血液、尿尿中のポルフィリンおよびその前駆体（ δ -アミノレブリン酸、ALA、ポルフォビリノーゲン、PBG）を測定する生化学的検査である。

近藤は、多数の患者から得られた血液、尿、糞便中の各種ポルフィリン関連物質の測定法並びに測定値（生化学検査データ）を統計学的に解析し、診断基準案を作成した。特にポルフィリン分析法として各種ポルフィリンの同時自動高速液体クロマトグラフィー分析法を完成した。これにより、ポルフィリン症の診断が各病における典型的な臨床症状と同時にポルフィリン関連物質測定値から、従来より容易かつ正確に診断できるようになると思われた。

これらの生化学的データと臨床症状との関係を個々の患者において検討する必要があるため、本研究は次年度以降も継続されることが望ましい。今後、疫学調査による実態調査結果を踏まえてさらに修正、検討する必要がある。

3) 遺伝子解析による診断法の確立および患

者の実態解明に関する研究

a) 皮膚型ポルフィリン症の遺伝子解析

2009年度と今年度の研究によって、光線過敏症をきたす皮膚型ポルフィリン症のすべて（CEP、EPP、HCP、PCT、HEP）のそれぞれの原因遺伝子について、遺伝子変異検出法を確立することができた。特に EPP については31家系という多数の症例を収集し、遺伝子解析を行うことができた。このような多数例の解析データは外国でもきわめて稀であり、我々の研究のインパクトが非常に高いことが示された。本研究の成果は国際的な英文学術雑誌に投稿準備中である。

また従来の方法では解析しえなかった症例については、RNA の一次構造解析法や MLPA 法によるゲノム DNA の解析法などのあらたな方法を開発し検討することができた。さらにフェロケラターゼの遺伝子解析と同時に酵素活性を測定することによって、EPP 患者におけるポルフィリンの蓄積の個人差とミトコンドリアでの鉄利用の関連が示唆され、病態解明に一步近づく所見が得られた。これらの成果は学術的にきわめて意義深いものと考えられた。

遺伝性ポルフィリン症の患者数や予後については未だその全貌が明らかでなく、さらなる分子遺伝学的調査によって実態を把握し、発症予防や重篤な病状への進展を抑えるべく、研究を継続すべきであると考え

b) 急性ポルフィリン症の遺伝子解析

今年度の研究においては、異型ポルフィリン症 (VP) の病因遺伝子異常の解析システムの構築を試み、実際の症例で、その有用性を確認する準備が出来た。急性間欠性ポルフィリン症 (AIP) においては、責任酵素であるヒドロキシメチルピレンシクターゼ (HMBS) の遺伝子解析を行なった。その結果、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がなく、各家庭でそれぞれ異なる変異を有していることがわかった。したがって 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にも有効であることが示唆され、今後さらに症例の検討を重ねていく必要がある。

以上の今年度における遺伝子学的研究結果から、本症に対する病態機序の解明及び早期確定診断の確立が今後可能であり、さらに症例数を増やして検討することが必要であることがわかった。また、本症の遺伝子異常が欧米と大きく異なっていることが初めて解明され、本邦独自の検討がさらに継続して必要であると思われた。したがって、本邦におけるポルフィリン症の実態解明のためには、遺伝子学的研究が次年度の中心的な課題となることが望まれ、次年度への継続が必要である。

4) 治療法の開発

ポルフィリン症の治療指針はまだ確立していないが、遺伝子異常であることから、本研究では対症療法としての治療法の開発を試みた。まず、皮膚型ポルフィリン症の光線過敏に対する外用治療薬として、高い防御効果を有する試料の開発に成功した。さらに実際の患者 9 例に使用してもらい、その安全性と有効性を確認した。このような研究は諸外国でも今までにないものである。さらに実際の患者の QOL を直接向上しうることができたため、きわめて意義が大きい。今後症例数を増やし、さらに長期使用の安全性を確認するため、次年度以降の継続研究が必要である。

また光線過敏の予防法を確立した。特に赤血球中プロトポルフィリン値を参考に具体的な光線防御対策を指導することが重要であることを初めて明らかにした。患者や医師に対する新しい情報としてきわめて有用である。

急性ポルフィリン症に対してはヘム製剤の投与が諸外国にては承認され使用されている。しかし、わが国では未承認薬であり、現在その認可に向けた治験が実施中である。本研究においても、治療の成果検討に入る予定である。それによって、急性ポルフィリン症の治療指針が作成されるものとなる。

5) 「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き (案)」作成

各研究分担者と研究協力者によって、遺伝性ポルフィリン症の各疾患における診

断・治療の手引き(案)を作成した。従来疾患ごとの論文総説、成書の記載はあったが、このように一元的にまとめたものはなかった。したがって、今回作成したものは最新のポルフィリン症についての医学的情報が全て網羅されており、きわめて貴重なものとする。次年度に行われるさらなる患者の実態調査をふまえて、より詳細かつ正確なものとして、次年度に作成・一般公開する予定である。

6) 患者の QOL の検討

遺伝性ポルフィリン症においては患者の QOL は著しく低下することが多い。本研究では皮膚型ポルフィリン症患者における QOL の評価に関する研究を行なった。皮膚ポルフィリン症患者 8 名について Skindex-16、MOS 36-item short-form health survey (SF-36)、12-item General Health Questionnaire (GHQ-12) を使用して検討した結果、皮膚疾患特異的な QOL が全般的な精神的健康度と関連していることが示唆された。このような研究は外国でも例がなく、きわめて意義深い。次年度でのさらなる解析症例の積み重ねによって、より詳細なデータを集積し、患者 QOL の向上をめざしたい。

7) 患者の相談窓口の全国展開に関する研究

新潟、東京、大阪、広島、島根の済生会の 5 病院でネットワークを形成した。相談を受けて患者の振り分けを行い、情報を受

診し会員限定で相談内容の返事を送信している。

2009 年 1 月から、相談窓口をインターネット上に開設しており、多くの相談を受けて、患者に情報を提供してきた。今後は、更なる詳細な情報を提供し、全国の病院医師と情報を共有できるシステムを構築する予定であり、次年度への継続が必要である。

8) ホームページの創設と市民講座の開催

医療従事者に本症の認知度を高め、さらに疾患の内容を正しく理解してもらうことを目的に 2010 年 12 月にホームページ、「遺伝性ポルフィリン症ホームページ (医療関係者向け)」を立ち上げた。概念と疫学、疫学調査、AIP の診断、AIP の治療、EPP、EPP の遺伝子診断、CEP、VP、皮膚ポルフィリン症の遺伝子診断などと、内容は詳細かつ最新のものである。次年度にはさらなる内容の充実を図る予定である。また一般人向けのホームページも立ち上げる予定である。

本研究班の活動として、患者や一般市民と直接交流することもきわめて重要と考えている。一般市民及び患者家族における本症の認知度を高め、さらに疾患の内容を正しく理解してもらうことを目的に 2011 年 1 月に市民講座「ポルフィリン症市民講座-ポルフィリン症を正しく知ろう-」を大阪市で主催した。多くの出席者があり、質疑も活発に行われ、成功を得た。次年度には東京で開催することを予定している。

2. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

① 全国疫学調査、② 診断基準の作成、③ 遺伝子解析による診断法の確立および患者の実態解明に関する研究、④ 治療法の開発、⑤ 「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)」作成、⑥ 患者のQOLの向上、⑦ 患者の相談窓口の全国展開、⑧ ホームページの創設と市民講座の開催、に関する研究について、本報告書の C. 研究結果及び考察ならびに D. 研究評価の達成度を示した。日本において初めてポルフィリン症のプロジェクト研究が行われたこと、しかも厚生労働科学研究費補助金の難治性克服研究事業の研究奨励分野として2年目に行われたことは極めて重要であり、その成果は極めて大きい。しかし、本プロジェクト研究は当然2年間では十分とは言えず、今後の継続が期待される。

遺伝性ポルフィリン症は国際的にも有名な疾患であり、難病として重大な病気であるが、これらの総合的な検討は海外ではほとんどみられない。その意味からも、今後本研究班の研究が世界で注目されることと思われる。特に本研究で行なわれた遺伝子学的研究と生化学的な研究は、学術的にきわめて高いレベルにある。さらに本研究は「患者の立場に立った総合的研究」という視点のもとで遂行されている。特に治療法・予防法の開発、患者QOLの向上、ホームページ・市民講座などの活動はより患者に寄与する部分が多い。今後の難病研究

の在り方としてもそのモデルとして注目されることであろう。さらに今回得た研究成果は学術的・国際的・社会的意義は極めて高いものと確信している。

3. 今後の展望について

今年度本研究によって解明することができた内容は、① 全国疫学二次調査による患者実態の把握、② 遺伝子学・生化学的解析、③ 治療法・予防法の開発、④ 一般医療者向けの診断・治療の手引き作成、⑤ 患者QOL向上の直接的な試み、に分類できる。それぞれの内容のレベルは、諸外国のそれと比較してもきわめて高い。さらに患者のために直接役立つ要素がきわめて強いという点が、特に優れていると思われる。しかし、現状の患者の実態については、全国疫学調査として始まったばかりであり、今後継続して研究を進めることによって、より重要なエビデンスが得られる。遺伝子学・生化学的解析は単に診断するためだけではなく、病態解明につながるより高度な段階に入りつつある。今後継続すれば、より重要な情報が得られるであろう。治療についても、皮膚型ポルフィリン症における光線過敏症の治療と予防、致命的となる肝障害の機序やその治療など、まだ未解決のものが多く、問題は山積しているといえる。急性ポルフィリン症についても未承認薬（ヘム製剤）が治験中であり、精神・神経症状発症の機序解明の問題などを含め、今後の継続が必要である。患者のQOLの向上、早期診断、

治療、予防などを総合的に確立していくためには、本研究班における今後の活動がきわめて重要であると考えられる。

4. 研究内容の効率性について

従来ポルフィリン症の研究は、各研究者によって個別に行なわれてきた。それぞれの研究レベルは国際的にも高かったが、基礎・臨床・疫学の相互の交流がなく、研究が非効率的であったといえる。今回、我が国のポルフィリン症研究者のトップランナーのほぼ全員を研究協力者及び研究分担者として集めることができた。実際には厚生労働科学研究費にて分担研究として8施設を募り、さらに、研究協力者として新たに3施設、合計11施設で共同研究を行ない、研究がきわめて効率化できた。すなわち本研究では疫学、基礎医学、臨床医学の各専門家から成るプロジェクトを構築し、それぞれの専門家が精力的に研究を行い、それぞれの研究の進捗状況の発表会など合計2回にわたる班会議にて議論を重ね、現在の問題点を共有することによって、研究の効率化を図ることができた。さらに従来にない、患者と直接交流して、研究を進めていくことができた。これらの結果は、遺伝性ポルフィリン症のまだ不明の分野（特に治療法の開発）や患者のQOL向上に大きな光明をもたらすものと思われる。今後の研究の継続によって発展することが期待される。

E. 結論

遺伝性ポルフィリン症は極めて稀な疾患であり、これまでわが国における本症の実態は不明であった。2009年度及び今年度の難治性疾患克服研究事業の研究奨励分野として、本研究班による研究「遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査ならびに診断・治療法の開発に関する研究」が実施された。全国疫学調査による患者数と患者実態の把握、遺伝子学・生化学的解析、治療法・予防法の開発、一般医療者向けの診断・治療の手引き作成などに大きな成果を挙げた。これらを通じて、遺伝性ポルフィリン症の疾患概念を確立し患者の実態を明らかにするという、本研究事業の目的は十分に達成することができたと確信する。

さらに診断するだけでなく、実際の治療・予防への応用や患者QOL向上の試みなどを通じて、患者自身に直接的な利益をもたらすことができたことは、きわめて有用かつ意義深いと考える。従って、より多くの患者を対象として今後も研究を継続すべきであると考えられる。

F. 健康危険状況

なし。

G. 研究発表

今年度は以下の研究発表が行なわれた。今後国内外にて、学会報告や原著論文として多くの業績が期待される。

1. 論文・著書など発表

1. 川田 暁. 日焼けと紫外線防止クリーム. *チャイルドヘルス* 13: 473-475, 2010.
 2. 川田 暁. 小児の日焼けとその対策. *東京小児科医学会会報* 29: 13-17, 2010.
 3. 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, *ポルフィリン* 18:1-4, 2010.
 4. 川原 繁. 光線過敏を伴うポルフィリン症. *皮膚病診療* 32 : 385-388, 2010.
 5. 川原 繁. 皮膚ポルフィリン症の診断と治療. *日本医事新報* 4507 : 65-58, 2010.
 6. 川原 繁. 手背の色素沈着と瘢痕 *medicina* 48 : 84-86, 2011.
 7. 近藤雅雄. 5-アミノレブリン酸の機能性とその利用. *食品と開発* 45 : 7-9, 2010.
 8. 近藤雅雄. ポルフィリン症. 季刊健康 秋号, 彩風舎, 2010.
 9. 近藤雅雄. ポルフィリンおよび前駆体. *臨床検査ガイド 2009~2010~これだけは必要な検査のすすめかた・データのよみかた*. 文光堂, 印刷中.
 10. 竹谷 茂. 遺伝子発現調節のリガンドとしてのヘムの機能. *ビタミン* 84: 123-127, 2010.
 - 11 Tahara T, Yamamoto M, Akagi R, Harigae H, Taketani S. The low expression allele (IVS3-48C) of the ferrochelatase gene leads to the low enzyme activity associated with erythropoietic protoporphyria. *Int J Hematol* 92: 769-771, 2010.
 12. Chau TT, Ishigaki M, Kataoka T, Taketani S. Porcine ferrochelatase: the relationship between iron-removal reaction and the conversion of heme to Zn-protoporphyrin. *Biosci Biotechnol Biochem* 74: 1415-1420, 2010.
 13. 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, 東京, pp66-67, 2010.
 14. 前田直人. 急性間欠性ポルフィリン症. 山口 徹ほか編集. *今日の治療指針*. 医学書院, 東京, pp605-606, 2010.
 15. 前田直人. ポルフィリン症. 村脇義和監修, 向坂彰太郎, 孝田雅彦編集. *遺伝性肝疾患*. 中外医学社, 東京, pp164-172, 2010.
 16. 堀江 裕, 前田直人. 急性間欠性ポルフィリン症の長期経過観察例. 村脇義和監修, 向坂彰太郎, 孝田雅彦編集. *遺伝性肝疾患*. 中外医学社, 東京, pp182-184, 2010.
 17. 前田直人, 村脇義和, 堀江 裕, 近藤雅雄. 急性間欠性ポルフィリン症における遺伝子解析の意義. *薬理と臨床* 38: S189-S192, 2010.
 18. 川原 繁. 骨髄性プロトポルフィリン症ハンドブック. 2011.
2. 学会発表
1. 川田 暁. 紫外線から肌を守り, いつまでも美しく -皮膚科医から化粧品業界に望むこと -. 35 回日本化粧品学会, 東京, 2010.6.3-4
 2. 川原 繁, 川田 暁, 上出良一, 中野 創, 前田直人, 高村 昇, 近藤雅雄. 皮膚ポル

- イリン症に関する全国疫学調査結果報告 (第一報). 32回日本光医学・光生物学会, 東京, 2010.7.30-31
3. Kawada A, Sasaya H, Hirao A, Wada T, Ishihara K. Skin typing, sun exposure, and sunscreen use in a population of Japanese females. The First Eastern Asia Dermatology Congress, Fukuoka, 2010.9.30-10.3
4. 近藤雅雄, 堀江 裕, 前田直人, 川原 繁, 川田 暁, 中野 創, 高村 昇, 大門 真, 上出良一, 井上克司. 遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査並びに診断・治療法の開発に関する研究. 第37回ポルフィリン研究会, 東京, 2010.4.17
5. 鈴木進一, 臼田 寛, 河野公一, 堀江 裕, 近藤雅雄, 網中雅仁, 工藤吉郎. 急性間欠性ポルフィリン症 (AIP) と異型ポルフィリン症 (VP) 2家系のその後について. 第37回ポルフィリン研究会, 東京, 2010.4.17
6. 前田直人, 村脇義和, 堀江 裕, 近藤雅雄. 急性間欠性ポルフィリン症における遺伝子解析の意義. 第37回ポルフィリン研究会, 東京, 2010.4.17
7. 前田直人, 村脇義和, 堀江 裕, 近藤雅雄. 急性間欠性ポルフィリン症における遺伝子解析の意義. 第18回肝病態生理研究会, 2010.5.26
8. 前田直人, 村脇義和, 堀江 裕, 近藤雅雄. 急性間欠性ポルフィリン症における遺伝子解析の意義. 第46回肝臓学会, 山形, 2010.5.27
9. 近藤雅雄. 日本のポルフィリン症. 第34回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会シンポジウム シンポジウム 1「日本のポルフィリン症」, プログラム・抄録集, p20, 東京, 2010.9.11
10. 近藤雅雄. 晩発性皮膚ポルフィリン症と鉄代謝. 第34回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会シンポジウム シンポジウム 1「日本のポルフィリン症」, プログラム・抄録集, p21, 東京, 2010.9.11
11. 竹谷 茂. ポルフィリン症と鉄代謝. 第34回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会, 東京, 2010.9.
12. Nakano H. Genetic analysis in Japanese families with erythropoietic protoporpyria. International Symposium: Treatment, from DNA to Stem cell. Keimyung, Korea, 2010.6.12
13. 中野 創. ポルフィリン症の遺伝子診断. 平成22年度北陸地方会生涯教育講演会, 金沢市, 2010.6.27
14. 中野 創. 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子変異解析. 第32回日本光医学・光生物学会, 東京, 2010.7.30

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。