

の発作の出現を防止するために、長時間作動型の GnRH 作動作用のある類似化合物の鼻腔内、あるいは、皮下投与を行う。注：本治療は実際にポルフィリン症を悪化させ得るので、ポルフィリン症治療の専門家においてのみ行われるべきである。

2) 二次病変の予防

- ・ AIP では、思いのほか、自殺が多いので、早期からの精神科的治療、及び、効果的な痛みへの治療が重要である。
- ・ 慢性的な全身動脈の血圧増加の結果起こると考えられる末期腎障害の発症は血圧のコントロールを十分に行えば遅れさせることができる。

3) 回避すべき薬物や環境

- a. アルコール、及び、喫煙。
- b. 急性ポルフィリン発作を引き起こしうる薬物。

- ・ 多くの薬剤、及び、その他の医薬部外の物質の急性ポルフィリン症での安全性についての知見は不完全である。しかしながら、薬剤のポルフィリン症誘発性についての評価のエビデンスに基づくガイドラインが報告され (Thunell S, et al. *Br J Clin Pharmacol.* 2007; 64: 668-79.)、その原則に基づいて分類された処方薬のリストは、ウェブサイト、www.drugs.porphyrina.org、に掲載されている。
- ・ 発作を引き起こす危険のある、あるいは、可能性のある物質のリストは以下のウェブサイトにも掲載されている。
 - [Drugs-porphyrina.org](http://www.drugs-porphyrina.org) (<http://www.drugs-porphyrina.org/>)
 - [Porphyria, A Patient's Guide](http://www.uq.edu.au/porphyrina/) (<http://www.uq.edu.au/porphyrina/>)
 - [The American Porphyria](http://www.americanporphyrina.org/)

Foundation

(<http://www.porphyrinafoundation.com/>)

- [European Porphyria Initiative](http://www.porphyrina-europe.com/) (<http://www.porphyrina-europe.com/>)
- さくら友の会 (<http://www.sakuratomonokai.com/>)
- ・ バルビタール、及び、スルホンアミド系抗菌薬は、有名な急性ポルフィリン症の誘発剤である。
- ・ ゲスタゲン、及び、合成エストゲンは発作を高頻度に誘発する。
- ・ ほとんど全ての抗てんかん薬 (AEDs) は、AIP を含む急性ポルフィリン症を引き起こしうる。ガバペンチン (Gabapentin)、及び、ビガバトリン (vigabatrin) は他の AEDs よりは安全かも。
- ・ 他にも種々のポルフィリン誘発性の処方薬があり、それ等の薬剤は可能な限り避けるべきである。

3. 研究中の治療法

1) 合成ヘム類似化合物、例えば、スズプロトポルフィリン (tin-protoporphyrin)、あるいは、スズメソポルフィリン (tin-mesoporphyrin) はヘム酸化酵素の活性を抑制し、ヘムの分解を減少させ、肝臓のヘム濃度を増加させる。これらの物質は、AIP、及び、VP 患者において、ALA、PBG、及び、ポルフィリンの排出を減少させる。ヘミン効果を延長させる為に本物質を使用することについては、まだ、研究段階である。

2) 組み換え HMBS 酵素の静脈内注入による補充療法が試されており、安全で、かつ、血漿、及び、尿中の、ALA、及び、PBG の除去という指標で見ると、有効であると証明されている。しかしながら、臨床症状の改善に関しては報告されていない

3) アデノウイルス、あるいは、アデノ随伴ウイルスを用いた遺伝子治療は、AIP の動物

モデルで、長期に亘り、肝臓の HMBS 欠損を改善させたと報告されている。

4. その他

HMB S 遺伝子異常ヘテロ接合者には、安全ではない薬物、あるいは、物質を不必要に投与されることを避けることが出来るように、医療上の警告を意味する腕輪、及び、財布に入れるカードを提供する。

5. 経過観察時の注意

AIP 症患者では肝細胞癌の発症率が増加しているため、50歳以上の患者では定期的な肝臓の画像検査を行う。注: AIP 患者で肝細胞癌を併発した場合は、AFPが増加することはまれである。従って、血清の AFP 測定は、他の病因による肝細胞癌の場合と比して、AIP に随伴する肝細胞癌の場合は、スクリーニング検査としての意義は低い。

6. 潜在者（病因遺伝子異常を持っているが未発症の者）の診断意義。

・リスクのある家族の遺伝状況は、その家族で HMB S 遺伝子異常が特定されている場合は、遺伝子解析にて明らかにする。ポルフィリン症では各病型の確定診断の目的での責任酵素の遺伝子解析は、本邦では現在解析可能な施設は限られているが、可能となっている（厚生労働省、遺伝性ポルフィリン症研究班、班員等）。注: 遺伝子解析は HMB S 遺伝子異常を確認する正確な手法であるが、AIP の臨床症状発現の予測にはつながらない；しかしながら、HMB S 遺伝子異常ヘテロ接合体者において、尿中 PBG 濃度の増加がみられた場合、急性発作のリスクが高まっていることが示唆される。

- 臨床的、あるいは、生化学的に異常がない AIP の家族に対しては、予防策をとり、危険因子を避けるように勧告する。

7. 遺伝

AIP は常染色体優性遺伝型式をとる。新生突然変異の割合は不明であるが、多分1%程度であろう。本症患者の子供は50%のリスクで本

症を受け継ぐ；しかしながら、浸透率は10-50%で、また、本症の発病性に関与する因子は不明であるため、遺伝子異常を受け継いでいる者が発症するかどうかを予想することは出来ない。家族での病因遺伝子異常が分かっている場合は、高リスク者の妊娠に際して、出生前診断を行うことは可能であるが、成人発症の、少なくとも部分的には、治療可能な疾患の出生前診断の要望は多くはない。

参考文献

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=aip>
2. 大門 真：ポルフィリン症. Year note 2011 Selected Articles:659-669,2010

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 近畿大学医学部

1. はじめに

骨髄性 (赤芽球性) プロトポルフィリン症 (Erythropoietic protoporphyria, EPP) は常染色体優性遺伝を示し、原因はプロトポルフィリンからヘムへの合成酵素であるフェロケラターゼ (ferrochelatase) の活性低下である。

2. 臨床症状

① 皮膚症状

EPPの多くは、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。これらの皮膚症状のうち、頬にしばしばみられる淡褐色の色素沈着および浅い小癬痕は EPP の皮膚症状として特徴的である。

② 肝症状

EPP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、突如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。

③ その他の合併症

EPPでは、時に鉄欠乏性貧血、溶血性貧血を伴う。

3. 診断

① 赤血球蛍光の検出

スライドガラス上に患者血液の塗沫標本 (スメア) 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 病理学的検査

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PAS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 赤血球中プロトポルフィリン (PP) 定量診断のために最も確実な検査は、赤血球中 PP の定量である。健常人では 86 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC 以下であるが、EPP 患者では高値を示し、時には 10,000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC を超えることもある。

④ 光線テスト

ほとんどの EPP では、ピーク波長が 305 nm のサンランプと 352 nm のブラックランプを用いる通常の光線テストでは、特に異常反応は誘発されない。

4. 鑑別診断

EPPの鑑別診断には、同様に光線過敏症を伴う種痘様水疱症、色素性乾皮症などがある。

① 色素性乾皮症

A群色素性乾皮症では、乳児期から著しい光線過敏を伴い、光線テストでUVBに対する最小紅斑量の著しい減少がみられる。確定診断には、遺伝子相補性試験や遺伝子検査が行われる。本症では、赤血球中PP量の増加はみられない。

② 種痘様水疱症

露光部に痒みを伴って紅斑、水疱、痂皮が出没するが、疼痛を伴うことはまれである。軽快後にはっきりとした癬痕を残すことが特徴である。本症はしばしばEBウイルス感染と関連していることが知られている。また、本症においても赤血球中PP量の増加はみられない。

5. 治療

EPPに対する最も重要な治療は徹底した遮光である。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対策が望ましい。一方、EPP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。

① 外出する時間帯

比較的太陽光線が強い正午の前後3時間は、

なるべく外出を避ける。曇天でも快晴時の70%程度の太陽光が届いているので、上記時間帯は外出しないようにする。外出する場合は、以下に述べる方法で遮光する。

② 具体的な遮光方法

1) 日焼け止め（サンスクリーン）

光線過敏症の治療では、日焼け止め（サンスクリーン）の使用が有用である。EPPでは、作用波長である400 nm前後の紫外線領域から可視光線領域を遮光することが必要である。紫外線吸収剤は主に380 nm以下の紫外線を主に遮断するため、微粒子酸化チタンなどの紫外線散乱剤を主な成分とする日焼け止めが有用である。また、汗などで落ちてしまうことも多いので、外出時には2～3時間毎に塗り直すのが望ましい。

2) 帽子、手袋と衣服による遮光

露光部を覆うことを目的として、帽子（全周性につばが6 cm以上あるもの）および手袋を着用する。衣服は、なるべく黒っぽい厚手の生地のできた長袖の衣服を選ぶ。

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

竹谷 茂 京都工芸繊維大学

はじめに

EPPはヘム合成の終末酵素である ferrochelatase の欠損によって生じる常染色体優性の遺伝病である。症状としては光線過敏症を呈して、重篤な肝障害を起こして死に至る場合もある。ヒトの ferrochelatase 遺伝子の構造はすでに明らかになっており、遺伝子変異を調べるのが可能である。この酵素は、全ての組織に存在し、特に肝臓や造血細胞に多い。細胞のミトコンドリアの中で2価鉄をプロトポルフィリンに挿入してヘムを産生する反応を触媒する。EPP患者では、光と反応してラジカルを産生するプロトポルフィリンが蓄積するために光線過敏症が引き起こされることが知られている。

ferrochelatase 酵素と遺伝子

ヒトの ferrochelatase は分子量約 42kDa のミトコンドリア内膜に結合した膜蛋白質で、鉄-硫黄クラスター含有の有色 (赤色) 蛋白質である。ferrochelatase 遺伝子は染色体 18q21.3 座に局在して全長約 50kbp におよぶ。11 個の Exon からなり、intron1,2,3 は比較的長く数 kb におよぶことが知られている。mRNA は全長 2.1 と 2.7kb の 2 個が産生される。蛋白質コードの塩基は 1,269 base であり、その結果 423 個のアミノ酸に翻訳される。成熟酵素のアミノ酸はその中の 369 個である。Erythropoietic protoporphyria (EPP)は、世界中の多くの国から報告されており、200 種類以上の ferrochelatase 遺伝子の変異が見いだされている。その中には塩基の点変異によるアミノ酸の変異、イントロン部分の変異による exon の skip, 数塩基の欠失や付加、長い塩基 (~10,000) の欠失などが知られている。一般に 1 つの対立遺伝子の変異して発病する優性遺伝病であるが、まれに劣性遺伝の患者の

出現も知られている。

EPP の遺伝子診断には、現在では一般に末梢血から得られたゲノム DNA を使用する。ゲノム DNA を鋳型にしてそれぞれの exon 部分を PCR して増幅して直接塩基配列を調べて行くことで変異の探索を行う。近い将来次世代 DNA シークエンサーが汎用されるようになるとさらに簡単に速く変異を読み取ることが可能になる。患者の遺伝子変異が見つかるだけでは、信憑性に乏しく、家族内での同変異のリンクが必要であり、さらには新規な変異の場合は変異 ferrochelatase を大腸菌や動物細胞に発現させて、活性の変化を調べる必要がある。

遺伝子診断

現在までに、日本人の EPP 8 家族と 3 家族の白人の ferrochelatase 遺伝子の変異の同定を経験した。同定した変異は、他の日本人や欧米の EPP 家族でも同じ変異が報告されている。また、ferrochelatase mRNA レベルの変動を RT-PCR で比較したり、抗体を用いた蛋白質レベルの解析を行った。一方、ferrochelatase 活性は肝臓や骨髄組織を用いて測定するのが高い活性が得られて適切であるが、ヒトでは末梢のリンパ球を単離して活性測定を行って EPP 症の診断に用いている。EPP 患者の活性は正常人の 8-45%を示し、活性のばらつきが見られる。これらは、ferrochelatase 蛋白質の変異の場所によって残存の活性や酵素の安定性の違いによると考えられてきた。しかし、近年、ferrochelatase の活性は人によって遺伝的 (SNP: FECH IVS3/-48C/T) に異なって、EPP 患者の ferrochelatase 遺伝子の正常側対立遺伝子は IVS3/-48C であり、IVS3/-48T はキャリアーであることが判明した。

検査項目：ferrochelatase 遺伝子解析、末梢リンパ球細胞の ferrochelatase 活性 (ALA-D, PBG-D, URO-D, CPOX, PPOX) などのヘム合成系酵素の

活性測定も可能)

以下にヘム合成終末酵素系の活性測定法を示す。

1. **Ferrochelatase 活性測定法**：**検体**：ヒト末梢リンパ球細胞 (2×10^6) を 10 mM Tris-HCl, pH 8.0/ 10% glycerol に懸濁して音波破碎した後、低速の遠心分離 (600 x g, 10 min) を行って得た細胞懸濁液。**反応液** (0.15 ml)：100 mM Tris-HCl, pH 8.0/0.1% Tween 20/ 1 mM sodium palmitate/mesoporphyrin IX (20 nmol)/zinc acetate (40 nmol)/細胞懸濁液 (+/-)。**反応**：37 度、60 分、**HPLC 分析**：反応液に 70% methanol/30% dimethylsulfoxide (0.5 ml) を加えて混合後、高速の遠心分離 (10,000 x g, 10 min, 4 度) を行う。上清 (10 μ l) を用いて C18 カラム装着 HPLC 分析を行う。溶媒：10% 1 M 酢酸アンモニウム, pH 5.18/90% methanol。**検出**：吸光度 400 nm の吸収もしくは蛍光 580 nm (400 nm 活性化) の強度
2. **URO-D 活性測定**、**検体**：(a)ヒト末梢リンパ球細胞 (2×10^6) を 10 mM Tris-HCl, pH 7.5/ 10% glycerol に懸濁して音波破碎した後、低速の遠心分離 (600 x g) を行って得た細胞懸濁液、(b)赤血球溶解液、(c) DE52 などの陰イオン交換樹脂の小カラムを通して、脱ヘモグロビンをを行った赤血球溶解液 **基質調製**：暗所操作、1 mM uroporphyrin I 溶液にアマルガム (Sigma 社製) を少量加えて強攪拌して退色させた後、終濃度 50-100 mM 2-mercaptoethanol を加えて低速遠心後、上清を 6M リン酸にて中和して、直ちに使用。**反応液** (0.15 ml)：100 mM Tris-HCl, pH 7.5, uroporphyrinogen (20 nmol)/細胞懸濁液。**反応**：暗所 37 度、60 分反応後、5 分間光照射する。**HPLC 分析**：反応液 2N HCl (0.5 ml) を加えて混合後、高速の遠心分離 (10,000 x g, 10 min, 4 度) を
3. **CPOX 活性測定法**：**検体**：ヒト末梢リンパ球細胞 (2×10^6) を 10 mM Tris-HCl, pH 7.5/ 10% glycerol に懸濁して音波破碎した後、低速の遠心分離を行って得た細胞懸濁液。**基質調製**：暗所操作；1 mM coproporphyrin III/ 0.02 NaOH にアマルガム (Sigma 社製) を加えて強攪拌して退色させた後、50-100 mM 2-mercaptoethanol を加えて低速遠心後、上清を 6M リン酸にて中和して、直ちに使用。**反応液** (0.15 ml)：100 mM Tris-HCl, pH 7.5 coproporphyrinogen (20 nmol), 細胞懸濁液 (+/-)。**反応**：暗所 37 度、60 分、**HPLC 分析**：反応液に 70% methanol/30% dimethylsulfoxide (0.5 ml) を加えて混合後、光照射 (5-10 分)、高速の遠心分離 (10,000 x g, 10 min, 4 度) を行う。上清 (10 μ l) を取り出し、C18 カラム装着 HPLC 分析を行う。溶媒：10% 1 M 酢酸アンモニウム, pH 5.18/90% methanol。**生成物の検出 (protoporphyrin)**：蛍光 620 nm (400 nm 活性化) の強度
4. **PPOX 活性測定法**：**検体**：ヒト末梢リンパ球細胞 (2×10^6) を 10 mM Tris-HCl, pH 7.5/ 10% glycerol に懸濁して音波破碎した後、低速の遠心分離 (600 x g) を行って得た細胞懸濁液。**基質調製**：暗所操作；1 mM protoporphyrin IX/ 0.1 NaOH にアマルガム (Sigma 社製) を加えて強攪拌して退色させた後、50-100 mM 2-mercaptoethanol を加えて低速遠心後、上清を 6M リン酸にて中和して、直ちに使用。**反応液** (0.15 ml)：100 mM Tris-HCl, pH 7.5 /protoporphyrinogen (20 nmol)/細胞懸濁液 (+

／－) . 反応 : 暗所 37 度、60 分, HPLC 分析 : 反応液に Ethanol (0.5 ml) を加えて混合後、直ちに高速の遠心分離 (10,000 x g, 10 min, 4 度) を行う。 生成物 (protoporphyrin) の 定量 : 迅速操作 ; 蛍光 620 nm (400 nm 活性化) の蛍光強度.

dominant-inherited disease, erythropoietic protoporphyria, is an active but unstable dimer. Ohgari, Y., Sawamoto, M., Kohno H., and Taketani, S.(2005) Hum. Mol. Genet. 14, 327-334.

参考文献

1. Disorders of Heme Biosynthesis: X-linked Sideroblastic Anemia and the Porphyrin. Anderson, K.E., Sassa, S., Bishop, D.F. & Desnick, R.J. The Molecular and Metabolic Basis of Inherited Diseases. 8th ed. (eds. Scriver, CR. et al.) pp2991-3062. McGraw-Hill, New York. (2001).
2. フェロケラターゼ欠損の性状と分子変異 竹谷 茂 (1993) 臨床検査 37, 1265-1266
3. 遺伝病マニュアルー骨髄性ポルフィリン症
竹谷 茂, 中橋佳嗣 (1995) Molecular Medicine (中山書店) 32, 194-195.
4. Lead and the Terminal Mitochondrial Enzymes of Haem Biosynthesis. Rossi, E., Taketani, S. & Garcia-Webb, P. (1993) Biomed. Chromatogr. 7, 1-6
5. The Ferrochelatase Gene Structure and Molecular Defects Associated with Erythropoietic Protoporphyrin Taketani S. & Fujita, H. (1995) J. Bioenerg. Biomembr. 27, 231-238
6. Measurement of the Ferrochelatase Activity (Maines M. D., Costa, L. G., Reed, D. J., Sassa, S., & Sipes, I. G. eds.) Current Protocols in Toxicology. Taketani S., Wiley & Sons Inc. Vol. 1., Suppl. 2 Unit 8.7.1-8.7.8 (1999)
7. Ferrochelatase consisting of wild-type and mutated subunits from patients with a

7.先天性骨髄性ポルフィリン症の診断と治療

上出良一 慈恵医大

疾患概念

先天性骨髄性ポルフィリン症 (Congenital Erythropoietic Porphyria, CEP) は、ヘム合成系の四番目の酵素である Uroporphyrinogen III synthase (UROS) 遺伝子の異常によって酵素活性が低下し、I型ウロポルフィリン、コプロポルフィリンが過剰産生され、皮膚、肝臓に蓄積して様々な症状を引き起こす疾患である¹⁾。

1874年 Schultzが、幼少時より光線過敏があり、黄疸、脾腫、褐色尿を認めた患者の検死解剖を記載。その後1912年に Günther が褐色尿と日光暴露部の水疱形成を繰り返す、赤血球遊離ポルフィリンの増加を認める患者を congenital hematoporphyria として発表した。この経緯は Madan²⁾が詳しく述べている。

CEPの発生頻度は低く、現在までに世界では約200症例の報告があるが、オーバーラップした症例もあり、実際は130例程度とされる³⁾。本邦では1920年に最初に報告されて以来、36症例の報告にすぎない^{4,5)}。

本症は、常染色体劣性遺伝で、ほとんどが乳幼児期に発症するが、20%で思春期以降の発症がみられた⁴⁾。男女差はなく、人種特異性、地域特異性を認めない。さらに本邦では62%に同胞発症、29%に血族結婚の報告がある⁴⁾。

症状

通常は光線過敏症状が本症の診断のきっかけとなるが、生後まもなくおむつが尿中ポルフィリンの過剰排泄でピンク色に染まることで気がつくことがある。光線過敏症状は、露出部の紅斑、水疱、びらん、その後、色素沈着・脱失・多毛を生じる。光線暴露を繰り返すたびに皮膚が脆弱になり、軽微な外力によっても皮膚にびらん、潰瘍を生じ、癒痕化、さらに高度になると皮膚は強皮症様になり、手指・耳介・鼻の変形、さらに脱落をきたすことがある。その他、ポルフィリン体の蓄積により、肝機能障害、貧血、赤色尿、赤色歯芽、強膜病変などの出現の

報告が多い⁴⁾。

診断

本症の診断は、上記の臨床症状に加え血中のプロトポルフィリン、尿中ウロポルフィリン、コプロポルフィリン値の上昇と、HPLCによるポルフィリン異性体の分析でI型の尿中コプロポルフィリン、ウロポルフィリンの上昇で他のポルフィリン症と鑑別される⁴⁾。

病因酵素の UROS 遺伝子の変異は現在までに32種類報告されている。本邦では、T62A, Q249X, T228M, S212P, V3F, G27Rの変異の報告がある⁴⁾。一方、欧米では、UROS 遺伝子のうちC73Rにおける突然変異が最も頻度が高く、C73Rのホモ接合体、一部のヘテロ接合体は重症となることが報告されており、重症度の指標ともなっている¹⁾。

治療

CEPは、ポルフィリン症の中でも激しい光線過敏症状を呈することで知られており、醜形を避け、致命的な肝障害を来さないために、早期診断と光線防御が極めて重要であり、患者やその家族には光線過敏症状の程度に応じた適切かつ具体的な遮光指導が必要である。

CEP患者の治療は困難であるが、骨髄移植の成功例が報告されている¹⁾。2008年に Robert-Richard Eら⁶⁾がLentivirusを用いてモデルマウス Uros^{mut248}の造血幹細胞にヒトのUROS cDNAを組み込み、ポルフィリンの蓄積、貧血、光線過敏に対し持続的な長期の改善を報告している。このように遺伝子操作モデルマウスをもちいた造血幹細胞への遺伝子導入の実験が今後のCEP患者の遺伝子治療の発展につながることを期待したい。

文献

- 1) Desnick RJ, Astrin KH : Br J Haematol, 117 : 779-795, 2002
- 2) Madan P, et al: Photodermatol Photoimmunol Photomed 23:261, 2007
- 3) Fritsch C. et al: J Am Acad Dermatol 36:594, 1997

- 4) 近藤雅雄, 他 : Porphyris **14:69**, 2005
- 5) 近藤雅雄, 他 : Porphyris **18:1**, 2010
- 6) Robert-Richard E et al : Am J Hum Genet **82;113**,2008

8.異型ポルフィリン症の診断と治療

上出良一 慈恵医大

疾患概念

異型ポルフィリン症 (variegata porphyria, VP) は、プロトポルフィリノーゲン酸化酵素 (protoporphyrinogen oxidase, PPOX) の欠損による常染色体優性遺伝病である。本症は急性ポルフィリン症に属し、通常、神経・内臓症状と皮膚症状をあわせもつ。本邦では 2002 年までに 54 例が報告されている¹⁾。

近年、PPOX 遺伝子構造が明らかになり、欧米の VP 症例を中心に約 70 種の PPOX 遺伝子の異常が報告されている²⁾。本邦では佐々木ら³⁾により初めて VP 症例での遺伝子異常が報告されている。

症状

臨床症状のうち神経症状は急性間歇性ポルフィリン症 (acute intermittent porphyria, AIP) と類似し、皮膚症状は晩発性皮膚ポルフィリン症 (porphyria cutanea tarda, PCT) と類似する。思春期以降に発症することが多い。皮膚症状は明らかな光線過敏症状よりも、皮膚の脆弱性が主体である。手背や顔面皮膚が軽微な外力で水疱形成し、痂皮となり円形萎縮性癬痕、色素沈着を残す。神経症状は消化器では腹痛、嘔吐、便秘、筋肉では四肢脱力、けいれんなどが様々な程度、頻度で起こる。軽症の場合は倦怠感のみのこともある。そのた発熱、頻脈なども生じる。

診断

VP の診断は、既往歴での皮膚脆弱性と神経症状がみられることが主体となる。特に露光部に陳旧性の癬痕を認め、倦怠感を訴える場合は、本症の可能性を考える。発作時には尿中 δ -アミノレブリン酸 (δ ALA)、ポルフォビリノーゲン、尿中ウロポルフィリン、コプロポルフィリンが著明に増加するが、急性症状の間欠期には増加はほとんどみられないこと、常に糞便中にコプロポルフィリンやプロトポルフィリンの増加がみられること、などによる²⁾。

PPOX の変異を検出することが、同様症状を呈する AIP、HCP などとの鑑別に必要となることもある。

治療

光線過敏症状については、衣類による光線防御を励行する。神経症状に関しては AIP と同様の対応が必要で、発作を誘発する化学物質 (薬剤) を避けることが重要である。月経前や妊娠、出産など性ホルモンのアンバランス、アルコール、感染症、ストレスなども誘因となる。

文献

- 1) Katou, M, et al :Hematology,79:448,2004
- 2) Watley S,et al:Am J Hum Genet 65:984,1999
- 3) 佐々木祐一郎, 前田直人:米子医誌 J Yonago Med Ass 51:186-193,2000
- 2) 和田攻, 野寺誠:日本臨牀別冊血液症候群 I, 発行所, 477-479,1998

9.皮膚ポルフィリン症の遺伝子診断

中野 創 弘前大医学部

はじめに

遺伝性ポルフィリン症のうち皮膚症状を呈するものは6病型あるが(表1)、それぞれの原因遺伝子が明らかになっており遺伝子診断が可能である(弘前大学皮膚科ホームページ; http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~derma/ja/g_home.html)。遺伝子診断の目的は、的確な遺伝カウンセリングを行うことにある一方、遺伝性ポルフィリン症においては遺伝子診断によって確定診断を得るという意味合いも大きい。それは、症状が非定形的(軽症、晩発など)であるばあい、臨床病型を必ずしも決定できないことがまれならず経験されるからである。なお、遺伝子診断を実施するに当たっては、ヘルシンキ宣言や、政府および関連学会が制定した遺伝子解析研究に関するガイドライン等を順守する必要がある。本研究班では平成21、22年度と皮膚ポルフィリン症の症例を全国から集め、遺伝子変異解析を行ってきたので、それらの結果も踏まえながら皮膚ポルフィリン症の遺伝子診断の現状を概説する。

遺伝子診断の実際

臨床診断によっていずれの病型かが決定されれば、家系内の発端者を含めた罹患者および無症候者から採血し、核酸を抽出する。通常抗凝固剤としてEDTAを用いた採血管で末梢血を5ml採取する。うち、3mlからDNAを、2mlからRNAを抽出する。遺伝性ポルフィリン症の原因遺伝子の転写産物は末梢血白血球においても発現がみられるので、RNAも抽出しておくのが望ましい。我々の施設でははじめに目的の原因遺伝子のcDNAの翻訳領域の全シークエンスを調べている。この時点でミスセンス変異、ナンセンス変異あるいはスプライシング異常などが検出できる。ただし、ナンセンス変異やフレームシフトに伴う早期停止コドン

(premature termination codon、PTC)が生じた場合は、ナンセンス依存性メッセンジャーRNA分解(nonsense-mediated mRNA decay、NMD)によって分解されるために、異常なRNAを必ずしも検出できない可能性もある。次にゲノムDNAを用いて目的の遺伝子の全エクソンおよびその近傍をダイレクトシークエンスし塩基配列を決定する。ミスセンス変異、ナンセンス変異、エクソン・イントロン接合部の変異、欠失、挿入などが同定できる。ただし、後述の骨髄性プロトポルフィリン症などで知られるが、エクソンがまるごと欠失するような変異のばあい、通常のPCRとシークエンスの組み合わせでは欠失を検出できないため、MLPA法などの定量的な解析が必要である(図1)。ここまでの検索で、なお変異が検出されないばあいは診断を見直すことはもちろん、プロモーター領域の解析、メッセンジャーRNAの定量、酵素活性測定などを考慮する。以下、いくつかの病型について解説する。

骨髄性プロトポルフィリン症(erythropoietic protoporphyria, EPP)

EPPは遺伝性を示す皮膚ポルフィリン症のなかでは最も報告数が多い。プロトポルフィリン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ゼ(FECH)をコードするFECH遺伝子の変異により発症する。臨床的に極めて注意が必要な点は、数%の症例で重度の肝障害を生じ致命的なばあいがあることである。本症は常染色体性優性遺伝性疾患であるが、原因遺伝子が同定される以前から不完全優性遺伝性疾患であると言われていた。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、すなわち無症候性キャリアが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く10%程度とされてきた。現在ではなぜ浸透率が

低いのかを説明する分子遺伝学的メカニズムが明らかになっており、*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 量が低下することが判明している (Gouya *et al.*, 2002 ; 図2)。つまり、EPP は *FECH* 遺伝子の一方のアリ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、もう一方のアリルの遺伝子多型 IVS3-48C を併せ持つことによって発症する、すなわち、変異の反対側のアリルの IVS3-48C が発症を規定している (図3)。*FECH* 遺伝子変異と IVS3-48T/C 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おり、本研究班の解析結果も同様であった。従って、EPP 家系において、発端者の *FECH* 遺伝子変異が同定できれば、その同胞のうち臨床的に無症状の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。EPP の大部分は以上述べた機序による優性遺伝であるが、劣性遺伝の症例がまれに存在する。IVS3-48C 多型の頻度には人種差があり、欧米人に比べ日本人では IVS3-48C のアリル頻度が4倍高い (Nakano *et al.*, 2006)。従って、本邦では EPP の浸透率が欧米より高いと考えられる (中野、2009)。

EPP における遺伝子診断のもっとも重要な臨床的意義は、潜在的 EPP 罹患児を発見することにある。EPP は通常、出生後すぐには発症せず幼児期になって光線過敏を示すようになる。そのため、罹患児と知らずに多量の日光に曝露されると重度の光線過敏症状のみならず、血中に大量に放出されたプロトポルフィリンによる急性肝不全で死に至る危険性がある。従って、EPP と診断された家系では遺伝子診断を行い、特に、光線過敏を示さない幼児において遺伝子型を決定し、発症する可能性の有無を明らかにしておくことが極めて重要である。その他、EPP の遺伝子診断で問題となる点は2つある。ひとつは肝障害の合併と特異的に関係のある *FECH* 遺伝子変異が未だ明らかになっていない点である。

これまでのデータから、*FECH* の活性を著しく低下させるような変異、例えば停止コドンが生じるような変異ではミスセンス変異に比べて肝障害を引き起こす可能性が高いことが示唆されている。しかし、一方ではミスセンス変異であっても肝障害を生じた家系が報告されている。従って、今後さらに症例を増やして、変異の種類と肝障害との関係を分析する必要がある。もうひとつの問題は、一定の割合で変異が検出できない症例が存在する点である。通常の PCR とシーケンスの組み合わせで変異が同定できない EPP 症例は、ヨーロッパからの報告では6家系に1つの割合でみられるという (Whatley SD *et al.*, 2007)。こうした症例ではゲノム DNA レベルでのエクソン単位での欠失が生じていることが明らかになっている。我々の検索でも前述の MLPA 法を用いたエクソンの定量的解析により、ゲノムレベルでのエクソン欠失を同定し得た症例が存在した (未発表データ)。従って、臨床診断で EPP が強く疑われながらも *FECH* 変異が同定できない症例では、ゲノムレベルでの定量的解析を行う必要がある。

異型ポルフィリン症 (variegate porphyria, VP)
VP は EPP について報告が多い遺伝性皮膚ポルフィリン症であり、常染色体性優性遺伝性である。プロトポルフィリン酸化酵素をコードする *PPOX* 遺伝子の変異により発症する。本症はその名のとおり、臨床症状が非定形的であり、急性間欠性ポルフィリン症と晩発性皮膚ポルフィリン症 (PCT、後述) との混合型と位置付けられている。VP は青壮年期から光線過敏を生じるようになり、しかも自覚症状を欠く場合もあるため、遺伝子変異検索によって初めて診断が確定する症例もまれではない。また、本研究班では EPP や PCT など他のポルフィリン症が疑われて検索を進めるうちに、*PPOX* 遺伝子の変異同定をもって VP と診断された症例を3例経験したため、遺伝子診断は極めて有用であると言える。

遺伝性コプロポルフィリン症 (hereditary

coproporphyrin, HCP)

HCP はコプロポルフィリノーゲン酸化酵素をコードする *CPOX* 遺伝子の変異で発症する、常染色体性優性遺伝性のポルフィリン症である。本症のこれまでの報告数は非常に少ないが、やはり他のポルフィリン症との鑑別の過程で遺伝子診断によって診断確定された症例が存在するので、今後報告が増加すると予想される。

先天性ポルフィリン症 (congenital porphyria, CEP)

CEP はウロポルフィリノーゲン合成酵素をコードする *UROS* 遺伝子の変異により発症する、常染色体性劣性遺伝性の非常にまれなポルフィリン症である。本症は出生後間もなく発症するので、臨床診断は困難ではないと思われるが比較的軽症な症例も存在するため、遺伝子診断が決め手となることがある。

晩発性皮膚ポルフィリン症 (Porphyria cutanea tarda, PCT)

PCT はポルフィリン症全体の中では最も方向数の多い病型であるが、大多数は後天性と考えられ、遺伝性を示さない。しかし、ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素をコードする *UROD* 遺伝子の変異による常染色体性優性遺伝性の症例が報告されているため、遺伝子診断を行う価値はあると考えられる。本遺伝子の変異が両方のアレルに生じると肝性骨髄性ポルフィリン症 (hepatoerythropoietic porphyria, HEP) となる。*UROD* 遺伝子の特定の変異が PCT の発症と関係するとの報告がフランスからなされたが、本邦の PCT では関与が否定されている。しかし、後天性とされる PCT の発症に関する遺伝的背景はいまだに明らかになっておらず、今後の研究が待たれる。

おわりに

本邦における皮膚ポルフィリン症の遺伝子診断は未だ十分なされていないと言えないが、本研究班のこれまでの研究において遺伝子診断

により病型確定された症例が数多く経験されたことから、今後も引き続き解析例を増やして診断および治療に有益な情報がもたらされるよう努力すべきである。

参考文献

中野創. 皮膚科セミナー 3. 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子診断. 日皮会誌, 2009年119巻7号 p1225-1230.

Gouya L, Puy H, Robreau AM, Bourgeois M, Lamoril J, Da Silva V, Grandchamp B, Deybach JC. The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by expression of wildtype FECH. *Nat Genet.* 2002; 30: 27-8.

Nakano H, Nakano A, Toyomaki Y, Ohashi S, Harada K, Moritsugu R, Takeda H, Kawada A, Mitsuhashi Y, Hanada K. 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.* 2006; 126: 2717-9.

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.* 2007; 127: 2790-4.

表1 皮膚ポルフィリン症の病型と原因遺伝子

病型	原因遺伝子産物	遺伝形式
先天性ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン合成酵素	常劣
骨髄性プロトポルフィリン症	フェロケラターゼ	常優
異型ポルフィリン症	プロトポルフィリノーゲン酸化酵素	常優
遺伝性コプロポルフィリン症	コプロポルフィリノーゲン酸化酵素	常優
晩発性皮膚ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素	常優
肝性骨髄性ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素	常劣

常劣、常染色体性劣性遺伝；常優、常染色体性優性遺伝

図1 インترون領域に切断点があるエクソン欠失

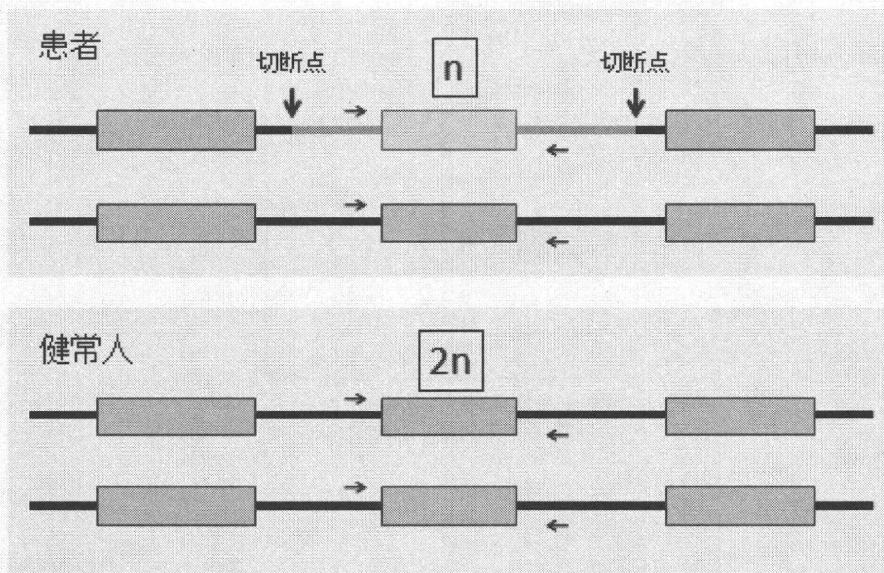


図2 IVS3-48C遺伝子多型とスプライシング異常

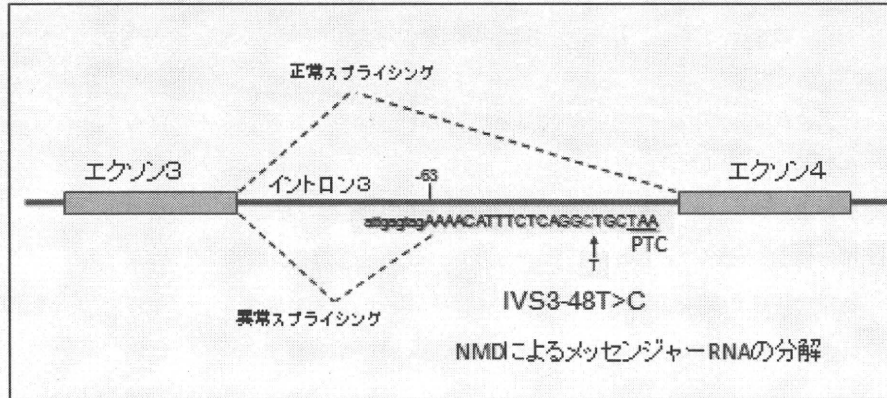
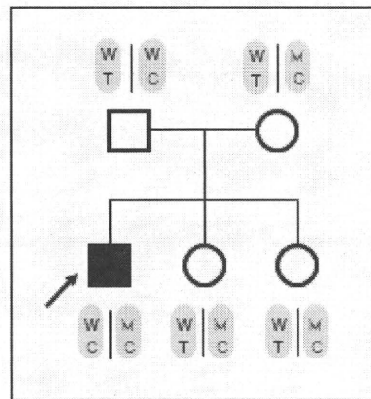


図3 IVS3-48C遺伝子多型で発症が規定されるEPP家系



黒塗り: 発症者、矢印: 発端者
 M: 変異, T: IVS3-48T, C: IVS3-48C,
 W: 野生型

10.皮膚ポルフィリン症患者の QOL 調査

高村 昇 長崎大学医学部

はじめに

皮膚型ポルフィリン症は、日光曝露による光線過敏症（紅斑、水疱、腫脹）、色素沈着、癬痕などの皮膚症状を主体とした多彩な臨床症状が特徴的で、多様な生活上の困難をもたらす疾患である。病型によって症状に差異があるものの、ポルフィリン症患者の中には体力の著しい低下や日常生活上の制約によって、通常の社会生活を送ることに困難を抱える者もいる。身体的、精神的苦痛のみならず、経済的、社会的側面においても困難に直面することが多く、加えて慢性的な経過を辿る疾患であるため療養生活も長期に及ぶ。さらに、ポルフィリン症患者の抑うつや不安のレベルが一般住民よりも高いことを示す調査¹⁾も散見され、ポルフィリン症患者の QOL (Quality of Life: 生活の質) ならびに精神的健康度が低下している状況が推察できる。しかし、国内はもとより、海外でも皮膚ポルフィリン症患者の QOL 評価を包括的に行った報告は極めて少ない。その背景には、希少疾患であるがために必然的に対象者が限られてしまうことや、臨床データベースが整備されていないために実態調査が実施できないといった理由が考えられる。

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の一助になると思われ、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、現在、筆者らは皮膚ポルフィリン症患者の QOL 調査を開始したので、報告する。

対象と方法

研究に先立ち、長崎大学大学院医歯薬学総

合研究科研究倫理委員会の承認を得た（承認番号：10022468）。質問紙は皮膚型ポルフィリン症患者の診療に携わる医師から患者に直接配布し、回答を得た。属性として、年齢、性別、家族同居の有無、症状を自覚した年齢、皮膚型ポルフィリン症と診断された年齢、受診状況、既往症を聴取した。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、皮膚ポルフィリン症患者の QOL と精神的健康度の評価を行った。

結果と考察

現時点で 8 名（男性 6 名、女性 2 名）からの回答を得た。GHQ 高値群と低値群を比較したところ、高値群では Skindex の機能スコア (Functioning score) が有意に高かった (表 1)。また、SF-36 と Skindex-16 のスコアを単相関で比較したところ、Skindex-16 の総スコアは、SF-36 の総スコア ($r=-0.854, p=0.007$)、日常役割機能 (身体) (Role physical: $r=-0.731, p=0.040$)、体の痛み (Bodily pain: $r=-0.866, p=0.005$)、全体的健康感 (General health: $r=-0.823, p=0.012$) とそれぞれ有意に相関していた (表 2)。また、Skindex-16 の症状スコアは SF-36 の体の痛み ($r=-0.792, p=0.019$) と、感情スコアは SF-36 の総スコア ($r=-0.844, p=0.008$)、体の痛み ($r=-0.923, p=0.001$)、全体的健康感 ($r=-0.767, p=0.026$) と、機能スコアは日常役割機能 (身体) ($r=-0.709, p=0.049$)、全体的健康感 ($r=-0.767, p=0.026$)

とそれぞれ有意に相関していた。

今後対象数を増やしたうえで、マッチングさせた比較対照群との比較検討を行う予定である。QOL の向上を目指した支援対策を検討するためにも、皮膚ポルフィリン症患者の QOL の実態把握は急務である。本研究では皮膚症状が中心の皮膚ポルフィリン症患者を対象としているが、国内におけるポルフィリン症患者の臨床データベースが整えば、他のタイプのポルフィリン症患者にも対象を拡大し、ポルフィリン症患者全体の QOL 評価を行っていくことが必要であると考えられる。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する 一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
川原 繁		川原 繁	骨髄性プロトポルフィリン症ハンドブック		大阪	2011	
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		2011	印刷中
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	今日の治療指針	医学書院	東京	2010	605-606
前田直人	ポルフィリン症	向坂彰太郎、孝田雅彦	遺伝性肝疾患	中外医学社	東京	2010	164-172
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	向坂彰太郎、孝田雅彦	遺伝性肝疾患	中外医学社	東京	2010	182-184
中野 創	ポルフィリン症	馬場 直子	小児科臨床ピクシス	中山書店	東京	2010	66-67

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
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
川原 繁	手背の色素沈着と癬痕	medicina	48	84-86	2010
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(8)	7-9	2010
近藤 雅雄	ポルフィリン症	季刊健康	秋号		2010
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 (3)	123-127	2010
竹谷茂	The low expression allele (IVS3-48C) of the ferrochelatase gene leads to the low enzyme activity associated with erythropoietic protoporphyria.	Int J Hematol	92 (5)	769-771	2010
竹谷茂	Porcine Ferrochelatase: The Relationship between Iron-Removal Reaction and the Conversion of Heme to Zn-Protoporphyrin.	Biosci Biotechnol Biochem	74 (7)	1415-1420	2010
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
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(4)	1-4	2010

IV. 主な研究成果の 刊行物・別冊