

201128139B

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～ 23 年度 総合研究報告書

研究代表者 川 田 暁

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

略語及び用語の定義一覧

I. 班員構成	1
II. 総合研究報告	
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	
川田 暁（近畿大学医学部）	3
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	21
IV. 研究成果の刊行物・別刷	25

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 coproporphyria	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ビラン合成酵素
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ビラン

I . 班員構成

班員構成

研究者名		研究実施場所	職名
研究代表者	川田 暁	近畿大学医学部皮膚科学教室	教授
研究分担者	近藤 雅雄	東京都市大学人間科学部	教授
	前田 直人	鳥取大学医学部機能病態内科学	講師
	上出 良一	東京慈恵医科大学附属第三病院皮膚科	教授
	大門 眞	山形大学大学院医学系研究科 第三内科	准教授
	中野 創	弘前大学医学部皮膚科	准教授
	竹谷 茂	京都工芸繊維大学大学院応用生物学部門 細胞分子工学講座バイオメディカルセン ター	教授
	川原 繁	金沢赤十字病院	皮膚科部長
	高村 昇	長崎大学医歯薬学総合研究科	教授
研究協力者	赤坂 英二郎	弘前大学医学部皮膚科	助教
	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	教授
	諏佐 真治	山形大学医学部内科第三講座	助教
	林田 直美	長崎大学医歯薬学総合研究科	助教
	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教室	助教
	落合 香織	東京北社会保険病院消化器内科	医師

Ⅱ. 総合研究報告

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、また根本的治療はいまだなく、重篤な後遺症を残し、あるいは致死的ともなりうる。2009 年度に発足した本研究班は初めて組織的、体系的にその実態を明らかにすべく研究を開始した。2010 年度と 2011 年度においては、この研究を継続かつさらに発展・拡大する。

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、2010 年度に全国疫学二次調査を開始する。2011 年度には全国疫学二次調査を継続し、本邦の診療の現状を把握する。2010 年度及び 2011 年度において、各患者本人及びその家族の遺伝子診断を中心とした家系調査を詳細に行ない、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。分子生物学的な手法を用いて遺伝子解析をし、引き続き本症の病態解明に努力する。2009 年度に着手した新しい治療法や予防法の開発を、2010 年度と 2011 年度において発展かつ実用化させる。2010 年度と 2011 年度において得られたデータをもとに、「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き」を作成し、医療従事者に疾患の啓蒙を行なう。

同時に患者の QOL の向上のために、2010 年度と 2011 年度において現状の QOL の調査を行なう。2010 年度と 2011 年度においてホームページの追加や市民講座開催によって本症の認知度を上げる。さらに 2010 年度と 2011 年度において「患者の会」と「ポルフィリン症相談窓口」のネットワークを改良し、患者及び家族へのサポート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	金沢赤十字病院皮膚科部長
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

井上克司	SBI アラプロモ(株)研究開発部
澤村大輔	弘前大学大学医学部皮膚科教授
赤坂英二郎	弘前大学医学部皮膚科助教
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教授
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助教
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教室助教
落合香織	東京北社会保険病院

A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症はヘム合成系に関する 7 つの酵素のいずれかの遺伝子異常

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、根本的治療はいまだなく、重篤な後遺症を残し、あるいは致命的ともなりうる。2009 年度に本症のための研究班が初めて発足した。2010 年度と 2011 年度において本研究班は組織的、体系的にその実態を明らかにすべく広汎な研究を施行した。

本研究ではまず、2010 年度に開始した全国疫学二次調査を 2011 年度に継続し、過去 91 年間の累積調査と併せて本邦の診療の現状を把握する。患者と家族の遺伝子診断を中心とした家系調査を詳細に行ない、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。分子生物学的な手法を用いて遺伝子解析をし、引き続き本症の病態解明に努力する。

2009 年度に開始した新しい治療法や予防法の開発を 2010 年度と 2011 年度においてさらに継続かつ発展させる。得られたデータをもとに、「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き」を作成し、医療従事者に疾患の啓蒙を行なう。

遺伝性ポルフィリン症の患者 QOL は強く阻害されている。そこで患者の QOL の向上のために、現状の QOL の調査を行なう。ホームページの追加や市民講座開催によって本症の認知度を上げる。さらに「患者の会」と「ポルフィリン症相談窓口」のネットワークを改良し、患者及び家族へのサポート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、本邦においてポルフィリン症の研究や診療にエキスパートとして従事してきた研究者らによってなされるため、世界的なレベルの研究が遂行される。さらにその過程において、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、及びより具体的な治療法開発の研究を包含する。

B. 研究方法

今回「全国疫学二次調査及び累積調査」、「診断基準の作成」、「遺伝子解析による実態解明」、「実地的な治療法の開発」、「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引きの作成」、「患者の QOL の向上」、「患者相談窓口の構築」の調査研究を行ない、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 遺伝子解析による実態解明に関する研究、④ 治療法開発に関する研究、⑤ 疾患の手引き作成に関する研究、⑥ 患者の QOL 向上に関する研究、⑦ 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. 全国疫学調査研究と累積調査

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）先生の協力・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。2010 年度には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。2011年度は二次調査を継続した。35例の骨髄性プロトポルフィリン症 (EPP) (回収率56%) と6例の晩発性皮膚ポルフィリン症を集計した。EPPでは10歳までに光線過敏で発症した症例が77%であった。約半数が発症後早期には診断されていなかった。肝障害合併例(死亡例を含む)が25%にみられた。今後他のポルフィリン症についても解析する予定である。

2) 過去91年間の累積調査の研究

近藤は2009年度に1920年から89年間の累積調査を報告した。2011年度はさらに2年分の追加調査により926症例を見出した。PCTが35%、EPPが22%であり、50%以上が皮膚型ポルフィリン症であった。急性ポルフィリン症の中ではAIPが21%、VP、HCPが5~6%であった。

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、2010年度に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2009年度に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。2011年度には、網中と近藤は本症の355件という大量の試料について検討した。肝機能と造血機能検査値に病型ごとの特徴が見られた。

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

中野は新たな遺伝子変異検出法を開発した。2010年度に新たに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。2011年度には新たに5家系の EPP 症例を収集し、3家系でフェロケラターゼ遺伝子に変異 (うち新規変異は2例) を同定し得た。また、イントロン3の遺伝子多型 IVS3-48C が発症を規定していることを確認した。RNA の一次構造解析法と新規開発した MLPA 法によって、エクソン単位での欠失を明らかにし、今後遺伝子診断の精度の向上が可能であると考えられた。

竹谷は、2010年度には 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。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。またフェロケラターゼ活性を測定した所 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 IVS3-48C が約半数に達したことから、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ので 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。

2011年度には EPP の発症の分子機構を解明する研究を行なった。本邦6人の EPP 患者と家族のフェロケラターゼ遺伝子の正常側の多型がすべて IVS3-48C に相当した。さらに IVS3-48C 型での活性低下と EPP 発症との関連を明らかにした。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。

さらに ALA 由来のプロトポルフィリンの蓄積に関与する因子、CPOX 変異体による harderoporphyrin の蓄積の変化を解析した。

2) 異型ポルフィリン症と急性ポルフィリン症の遺伝子解析

大門は2010年度には異型ポルフィリン症 (VP) の病因遺伝子の解析システムを構築した。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。2011 年度にはその解析システムを用いて VP の 1 症例を解析し、有用性を確認した。患者 PPOX 遺伝子に新規ミスセンス変異を認め、世界的にも新規の変異であることがわかった。

前田は 2010 年度と 2011 年度において急性間欠性ポルフィリン症 (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。2010 年度には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。2011 年度には 3 症例中 1 例に世界初の HMBS 遺伝子変異を確認し、これ

は frameshift による異常蛋白が酵素活性の低下に影響したと推測した。本邦では固有のホットスポットといえる変異はなく、各家庭で異なる変異を有している事が明らかとなった。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た。また現在までに 9 家系 16 症例で変異が確認された。

以上の遺伝子学的研究結果から、本症の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、本邦独自の検討が特に重要であることが示された。

4. 治療に関する研究

川田は 2009 年度に予防的な外用剤の新規開発に着手した。2010 年度には 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 (リキッドファンデーション+パウダーファンデーション) 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。

2011年度はさらに新規の外用剤の組み合わせ(リキッドファンデーション+リキッドファンデーション)を開発した。ポルフィリン症患者19例での有効性と安全性を評価した。効果判定では、有効が4例、やや有効が6例で、変化なしが3例、無効は1例であった。副作用は認めなかった。今後より多くの患者に臨床応用し、有効性と安全性を確認する。

上出は2010年度には、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。2011年度には皮膚ポルフィリン症の光線過敏症状の予防法を確立した。22例という多数例で検討し、赤血球中プロ

トポルフィリン値 2000 μ g/dlRBC 以上での衣類と光線遮蔽化粧品の併用、3,000 μ g/dlRBC 以上での大量の光線曝露による急性肝不全の発症への注意喚起も提言された。

これらの2つの治療法と予防法の研究成果は、具体的かつ実践的な手段を用いることによって、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の場合、治療や予防に具体的な方法が見出せない場合が多い。本研究ではこの分野に直接アプローチし、かつ着実な成果を生んでいるという点で独創的かつ意義があると思われる。

5. 「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き」作成

2010年度に一般医療従事者の本症に対する理解度を上げることを目的として、(案)を作成した。2011年度はそれをより詳細かつ正確なものとして作成し、発表した。

6. 患者 QOL の研究

高村はQOLの評価に関する研究を2010年度と2011年度に行なった。皮膚ポルフィリン症患者8名に4種類の方法を用いてQOL調査を行なった。皮膚疾患特異的QOLと全般的な精神的健康度との関連が示唆された。

7. 患者の相談窓口に関する研究

2010年度と2011年度に堀江・近藤は「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。多くの相談を受け、それに伴いさらに実際の患者に対する診察も行なった。

8. ホームページ追加と市民講座

まず医療従事者への疾患の啓蒙を目的に2010年度にホームページ(医療関係者向け)を立ち上げ、2011年度もそれを継続した。次年度は一般の人々を対象にホームページを立ち上げる予定である。

2010年度は市民講座を大阪市で主催した(2011年1月9日)。2011年度は東京で市民講座を主催し(2011年7月31日)、33名の出席があった。今後も開催を予定している。

D. 研究評価等について

1. 達成度について

本研究は、2009年度に開始された。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、2010-2011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2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

ムページの作成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。2010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程度程度の調査が終了した。今年度はさらに症例を増加し、35例の骨髄性プロトポルフィリン症(EPP)と6例の晩発性皮膚ポルフィリン症について詳細なデータが得られた。2011年度はさらに症例を増加し、35例の骨髄性プロトポルフィリン症(EPP)と6例の晩発性皮膚ポルフィリン症について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。

1920年から91年間の累積調査を行なった結果、926症例を見出した。それらを詳細に検討し、本邦における遺伝性ポルフィリン症の実態解明に大きく寄与した。

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。

2010年度に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。2011年度には本症の355件という大量の試料について生化学データを詳細に検討した。特に肝機能と造血機能検査値に病型ごとの特徴が見られた。

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

2010-2011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。2010年度にEPPについて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。2011

年度においては、特にEPPについては5家系を新規に検討し、従来の家系を合わせると36家系という多数の症例について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。

さらに2010-2011年度において、新たな遺伝子変異検出法を開発した。RNAの一次構造解析法とMLPA法の両者を用いることによって、エクソン単位での欠失を明らかにすることが可能となった。今後遺伝子診断の精度の向上につながることを期待できる。

2010-2011年度においてEPPの発症の分子機構を解明する研究を行ない、本邦のEPP患者と家族におけるフェロケラターゼ遺伝子の正常側の多型と活性低下との関連を明らかにした。

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られる。

b) 急性ポルフィリン症の遺伝子解析

2010-2011年度において異型ポルフィリン症（VP）の病因遺伝子の解析システムの構築し、その有用性を確認することができた。さらに患者PPOX遺伝子において、世

界的にも新規の変異であることを報告した。急性間欠性ポルフィリン症（AIP）においては、2010-2011年度に本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（HMBS）の遺伝子解析を行なった。世界初のHMBS遺伝子変異を確認し、酵素活性の低下との関連を推測した。

以上の研究結果からVPとAIPにおける遺伝子解析は診断の確定のみならず、病態解明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2010-2011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考えられるため、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2010-2011年度において対症療法としての治療法の開発を試みてきた。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、高い防御効果と実用性を有する試料の新規開発に成功した。

さらに実際の患者の多数例に使用してもらい、その安全性と有効性を確認した。特に安全性においては、長期使用での安全性を確認することができた。このような研究は諸外国にはないものである。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、衣類と光線遮蔽化粧品の併用というきわめて実用的な方法を提案し、実際に多くの患者に実行してもらった。さらに赤血球中プロトポルフィリン値が高値の場合の、大量の光線曝露による急性肝不全の発症への注意喚起も提言された。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。わが国でも現在その認可に向けた治験が実施中である。次年度には認可後の本剤の治療の成果検討を行なう予定である。それによって、急性ポルフィリン症の治療指針がさらに充実すると考えられる。

5) 「遺伝性ポルフィリン症の診断・治療の手引き(案)」作成

2010年度に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。2011年度にはさらに新知見を加えて改訂した。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。今後の本邦での患者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。2010-2011 年度において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 名について種々の QOL 尺度を用いて検討した結果、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。このことから、患者の精神的な部分にもアプローチする必要性が明らかにされた。次年度では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たい。そして精神的な側面から患者 QOL が向上するようなプランを作成する予定である。

7) 患者の相談窓口の全国展開に関する研究

2009 年度から新潟、東京、大阪、広島、島根の済生会の 5 病院で形成したネットワークを用いて、相談窓口をインターネット上に開設している。2010-2011 年度には多くの患者から相談を受けて、本症についての情報を提供した。今後は全国の医師からも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 年度にホームページ、「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。2011 年度はこれを継続した。次年度には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はきわめて重要である。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 2010 年度に 1 回目の市民講座「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-」を大阪市で主催し成功を得た。2011 年度は東京で開催し、33 名の出席があり、患者及び家族から好評を得た。次年度にも開催を予定している。

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. 研究評価の達成度に示した。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2009年度に開始され、2010-2011年度に行な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3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重要な疾患であり、かつ難病としての側面もある。しかし、これらの総合的な検討は海外ではほとんどみられない。したがってその意味からも、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と思われる。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

2010-2011年度の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部分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、全国疫学調査の二次調査が進捗しているところであり、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っている。今後継続すれば、さらに重要な情報が得られる。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。急性ポルフィリン症についても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。2009年度及び2010-2011年度及び今年度の班研究において、我が国の主要なポルフィリン症研究者のほぼ全員を研究協力者及び研究分担者として集めた。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2010-2011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（一次及び二次調査）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拡大・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. 論文発表

1. 川田 暁. 日焼けと紫外線防止クリーム. チヤイルドヘルス 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. 手背の色素沈着と癬痕 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 erythropietic 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. 光線防御 光線過敏症患者の遮光指導. *Visual Dermatol* 10: 488-489, 2011.
19. Yasuma A, Ochiai T, Azuma M, Nishiyama H, kikuchi K, Kondo M, Handa H. Exogenous coproporphyrin III production from *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* in erythrasma lesions. *J Med Microbiol* 60:1038-1042, 2011.
20. Kondo M. Abnormal porphyrin metabolism, aminolevulinic acid. In: *Aminolevulinic acid – Science, Technology and Application in Agriculture and Healthcare*. Pp.11-22, Tokyo Institute of Technology Press, 2011.
21. 近藤雅雄, 網中雅仁, 石塚昌宏. 遺伝性ポルフィリン症の生化学診断法および診断基準案の作成. *ALA-porphyrin-science 1*: 印刷中
22. 近藤雅雄. 臨床検査ガイド 2001~2012~これだけは必要な検査のすすめかた・データのよみかた. pp.961-964, 文光堂, 2011.
23. Ohgari Y, Miyata Y, Chau TT, Kitajima S, Adachi Y, Taketani S. Quinolone compounds enhance δ -aminolevulinic acid (ALA)-induced accumulation of protoporphyrin IX and photosensitivity of tumor cells. *J Biochem* 149: 153-160, 2011.
24. Gotoh S, Nakamura T, Kataoka T, Taketani S. Egr-1 regulates the transcriptional repression of