

尿中 I 型ポルフィリンの著明な増量によって確定診断された先天性赤芽球性ポルフィリン症の1例

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行った結果、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 型異性体、HPLC、光線過敏症

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、今世紀になって初めて、36 例目の新たな CEP 患者を尿中ポルフィリン異性体分析によって見出したので報告する。

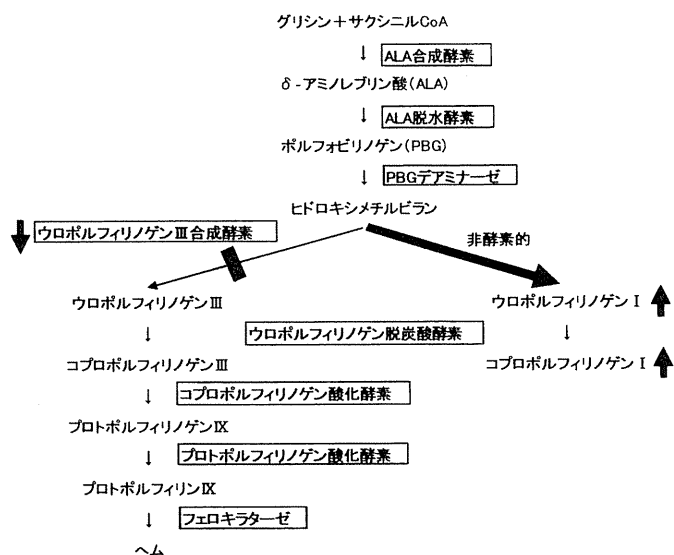


図 1. ヘム合成経路と CEP の代謝障害

1. 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。

2. 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。

3. 結果と考察

CEP は 1911 年に Günther⁶⁾ によって詳細に記載されて以来，世界で約 200 例⁴⁾しか報告されていない極めて稀な疾患であるが，本邦において 36 例目の報告となる患者を見出し報告した。

初診時，赤色尿および遠紫外線照射により赤色蛍光を認め，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。そこで，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

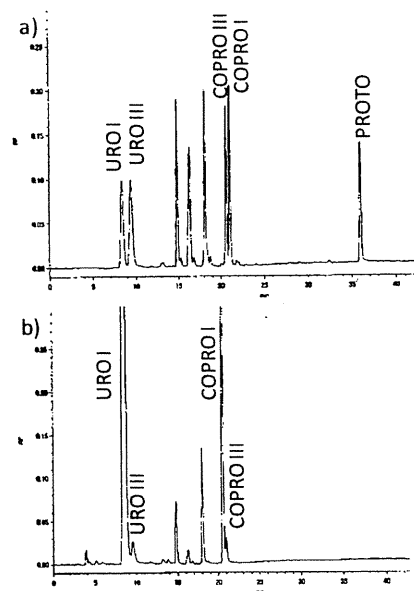


図 3. CEP 患者の尿中 HPLC パターン
a) 標準ポルフィリン各々 5 pmoles, b) 患者尿を 2 μ l に相当する量を各々注入した。URO から COPRO の間は，各々 HEPTA-, HEXA-, PENTA-PORPHYRIN のピークを示す。

表 1. CEP 患者の尿中異性体分析

	μ g/gCr	Nl(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

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 855IU/L, ALP 752IU/L と中等度みられたが、エコーでは肝硬変の所見は認めなかった。また、Hb12.4g/dl, Fe 68µg/dl, UIBC 305µg/dl, フェリチン 60ng/ml と貧血は見られなかった。

現在、日本国内の臨床検査機関ではポルフィリンの異性体分析が行われていないことから、これら希少疾患の診断が困難な状況が長年続

いている。さらに、Dubin-Johnson 症候群などのポルフィリン異性体分析が重要な指標となる疾患の診断に支障が起こっており、早急な対策が望まれる。CEP については、臨床症状がほぼ同等とされる肝赤芽球性ポルフィリン症 (hepato-erythropoietic porphyria, HEP) や PCT との鑑別にはポルフィリン異性体の測定が必須となる。すなわち、CEP およびそのキャリアの診断には、UROS の異常によってウロポルフィリノゲン I およびコプロポルフィリノゲン I 型異性体が過剰生産され (URO I > COPRO I)、これが尿中に大量出現するために、I 型ポルフィリンの測定による確定診断が重要である^{7,8)}。

4. 文献

- 1) 佐藤彰、高橋寛：未ダ記載セラレザル一種ノ家族的貧血症カ偽血色素尿性貧血症（一名、「ポルフィリン」尿性貧血症、児科雑誌 239:47, 1920; 遠山郁三：先天性ポルフィリン尿性貧血症ノ爾後ノ経過、皮膚科泌尿器科、23(5):68-71, 1924
- 2) 近藤雅雄、矢野雄三、浦田郡平、高村昇：本邦で報告された先天性赤芽球性ポルフィリン症の全症例解析。Porphyrins 14(2):69-84, 2005.
- 3) Kondo M, Yano Y, Shirataka M, Urata G, Sassa S: Porphyrin in Japan: Compilation of all cases reported through 2002. Int J Hematol, 79: 448-456, 2004.
- 4) Kappas A, Sassa S, Galbraith RA, Nordmann Y: The Porphyrin. In: The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease (ed by Scriver CR, et al), p2103-2159, McGraw-Hill,

表2. 本邦で報告された全CEP患者

No.	報告年	初診年齢	発症年齢	性	患者名	在住	血族結婚	赤色尿	赤色歯牙	脾腫	肝臓障害	赤血球蛍光	貧血	同胞発症
1	1920	1	50日	男	三〇	仙台	+	+	+	+			+	+
2	1926	15	3	女	大〇	横浜		+	+	+			+	-
3	1927	20	16	女	須〇	東京		+	+	+			+	+
4	1927	23	16	男	須〇	東京		+	+	+			+	+
5	1940	8	1	女	鈴〇	東京	+	+	+					-
6	1941	28	18	女		名古屋	-	+		-				+
7	1941	26	26	女	No6の妹	名古屋	-	+		-				+
8	1944	35	3	女		東京		+	+	+			+	+
9	1951	1	5ヶ月	女	伊〇	不明	+	+	+	+	+		+	-
10	1952	7	数ヶ月	女	満〇	信州	+	+	+		-		+	不明
11	1954	6	2	男	山〇	鹿児島	+	+		-	-		+	-
12	1951	21	7~8歳	女		兵庫		+	+					
13	1962	7	4	女		千葉	+	+						+
14	1963	5	10ヶ月	男	西〇	三重	-	+		+	+	+	+	-
15	1964	4	2	女		東京		+	+					
16	1965	4	3	男		福島	-	+	+			+		-
17	1966	67	35	男	岩〇	静岡	-	+	-				+	-
18	1967	5	1歳10ヶ月	女	木〇	東京	-	+	+	-	-	+		-
19	1969	9ヶ月	9ヶ月	女	中〇	福岡	-	+	+	+	+			+
20	1970	46	1	男	高〇	長崎		+	+					+
21	1970	41	1	男	高〇	長崎		+						+
22	1970	23	1	女	高〇	長崎		+	+					+
23	1970	31	不明	女	高〇	長崎		不明	不明					+
24	1974	0	0	女		三重		+						+
25	1974	1	1	男		三重		+						
26	1974	16	5	男		三重		+						
27	1976	9	0	男	桑〇	三重		+	+			+		
28	1978	2	0	男	丹〇	福島	-	+	+					-
29	1978	4	4ヶ月	女		神奈川	-	+	+	+	+		+	-
30	1987	57	34	女		京都	+	+				+		+
31	1987	50	25	男		京都	+	+				+		+
32	1983	53	小児期	男		新潟	+	+	+	-	-			-
33	1987	1	6ヶ月	女	中〇	福岡	-	+	+				+	+
34	1992	63	不明	男		神奈川		+		-	-		+	
35	1997	54	8歳頃	男	〇本	広島	+	+			+			+
36	2009	33	2歳頃	女		東京	-	+	+		+		-	+

原著論文に記載されている事実を忠実に整理、これをまとめた。空白は未記載を示す。+: あり、-: なし

New York, 1995

- 5) 石塚昌宏、上田康信、宇津木聡、小倉俊一郎、近藤雅雄、大倉一郎：5-アミノレブリン酸 (ALA) 投与後のポルフィリン測定による癌診断の可能性—ポルフィリン測定方法の確立—第 35 回ポルフィリン研究会、2008.5
- 6) Günther H: Die Haematoporphyrin. Dtsch Arch Klin Med 105:89-146, 1911 1912.
- 7) 近藤雅雄：ポルフィリン・ポルフィリン前駆体の測定、特集ポルフィリン症、日本臨床 53(6): 45-51, 52-58, 1995.
- 8) Leahy DT, Brien TG: A simple method for the separation and quantification of urinary porphyrins. J Clin Pathol, 35:1232-1235, 1982.

A case of CEP the diagnosis confirmed by a marked increase of urinary type I porphyrins

Masao Kondo¹⁾, Ryoiti, Kamide²⁾, Masahiro Ishizuka³⁾

1) *Department of Human Sciences, Tokyo City University, Tokyo*

2) *Department of Dermatology, Tokyo Jikei-kai Medical University, Tokyo*

3) *Department of ALA center, Cosmo Oil Co Ltd, Tokyo*

The case is 33-year-old woman of whom the chief complaint who stiffening of the state of the ray hypersensitivity and the hand finger, and is the transformations. The patient has the previous history and the red urine of the hepatic toxicit. The skin type porphyria was doubted from these symptoms. Then, the isomer of the urinary porphyrins were analyzed. As a result, the congenital erythropoietic porphyria that became the 36th example in Japan was found.

Key words: congenital erythropoietic porphyria, uroporphyrin type I isomer, erythrodontia, photosensitivity

特集 光線過敏症—最新の研究から遮光対策まで—

総説 6 Part4. 光線防御

J Visual Dermatol 10:488-489,2011

光線過敏症患者の遮光指導

川原 繁

Key words 光線過敏症, 紫外線, サンスクリーン

はじめに

光線過敏症の治療の中で、日常における遮光の指導は重要な役割を占める。指導に際しては、疾患(とくに作用波長と光線過敏性の程度)、職業、生活習慣、さらには、季節や地域性も考慮して、個々の患者に合わせたきめ細かい指導が望ましい。室内の照明が光線過敏症を悪化させる場合は稀であり、ここでは太陽光線に対する遮光について概説する。

光線過敏症別の遮光指導

疾患により光線過敏をおこす作用波長はさまざまである。日常、比較的遭遇することが多い光線過敏症の中で、薬剤性光線過敏症および光接触皮膚炎の作用波長は長波長紫外線(UVA)の場合が多く、日光蕁麻疹では可視光線のことが多い。また、慢性光線性皮膚炎患者の多くは、中波長紫外線(UVB)だけでなく、UVAから可視光線ま

での幅広い波長域に強い光線過敏を示す。図1に主な光線過敏症と作用波長域を示す。

太陽光線の特性

地上に到達している紫外線量についての基本的な情報は、患者への具体的な遮光指導に有用である。近年、世界保健機構は紫外線の強度をUV指数(UV index)と呼ばれる指標で表わすように推奨している¹⁾。具体的には、UV指数が1~2は軽い、3~5は中程度、6~7は強い、8~10は非常に強い、11以上は極端に強いとされる。気象庁のホームページおよび新聞(主に夏季)にUV指数の値が掲載されるので、参考にするように指導する。

紫外線強度について、1日の中で午前9時から午後3時ごろまでがもっとも強い。また、快晴時の紫外線強度を100とした場合、薄曇りでは90、曇りでは60、雨でも35程度は地上に到達している(図2)。さらに、人体が浴びる紫外線の約6割は空気中の塵などが原因の

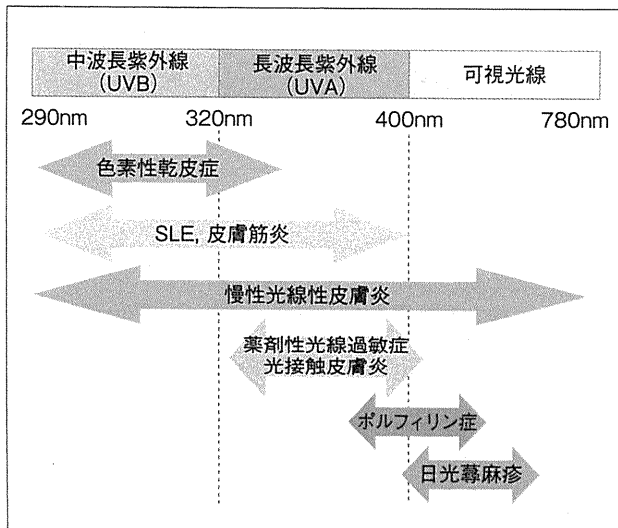


図1 主な光線過敏症と作用波長域

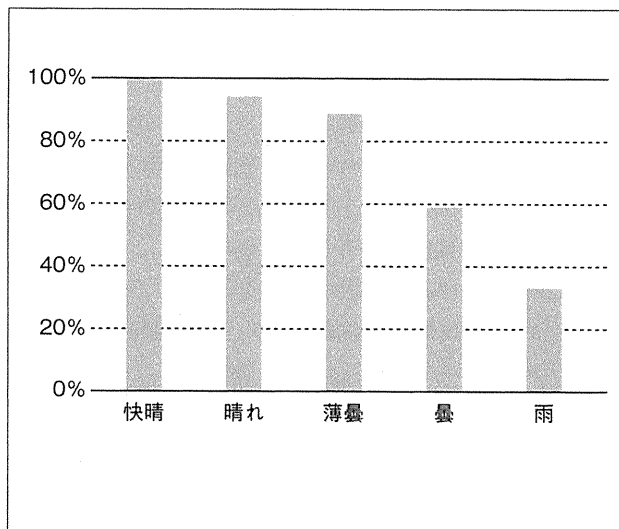


図2 天候による太陽紫外線強度の変化
気象庁ホームページ http://www.data.kishou.go.jp/obs-env/uwhp/3-45uvindex_mini.html より引用。

散乱光であることも知っておくべきであろう。

個々の症例に対しては、これらの情報を元に、日常生活習慣、職業やスポーツの嗜好などに応じて下記に述べるような遮光方法を具体的に指導する。

■ サンスクリンによる遮光

紫外線の遮光に対して確実な方法の一つに、サンスクリン（いわゆる日焼け止め）の使用がある。現在、サンスクリンの効果を表す指標としてUVBに関するSPF (sun protection factor) とUVAに関するPA (protection grade of UVA) の2種類が用いられている。近年のサンスクリンは、ほとんどがSPFが30以上、PAも++または+++と優れたものであり、多種類が発売されているので、適宜選択するように指導する。

サンスクリンの使用に際しては、適切な塗り方の指導が重要である。SPFはサンスクリンを1 cm²当り2 mg 塗布した条件で測定されたものであり、具体的には、顔全体に塗る場合、ローション剤で1円玉硬貨2枚分くらいに相当することになる。実際にはその半分くらいしか塗られていないことが多いとされるので、SPFの値を過信しないように注意する。また、汗によりサンスクリンが容易に落ちてしまうために、発汗時には2～3時間ごとに塗りなおすように指導する。

なお、骨髄性プロトポルフィリン症の作用波長は405 nm 前後にあるため、従来から用いられている紫外線吸収剤を主成分とするサンスクリンの効果は限定的である。一方、微粒子二酸化チタンなどの紫外線散乱材は可視光線もある程度遮光するので、いくらかの効果が期待できる。

サンスクリンの使用時の注意として、サンスクリンにより接触皮膚炎および光接触皮膚炎をおこすことがあり、塗布部位に湿疹反応が生じた場合は、速やかに主治医に相談するように説明する。

■ 帽子による遮光

帽子の着用は比較的使いやすい遮光対策である。つばの幅が6 cm 以上の帽子を深く被ることにより、顔に浴びる紫外線量は額で80～90%、頬で50～60%程度の減少が得られるが、顔では10～20%の減少効果となる²⁾。

前述したように、人体が浴びる紫外線の約6割は散

乱光であるため、日傘による遮光は限定的と考えられる。

■ 衣服による遮光

慢性光線性皮膚炎などは、薄い衣服越しに浴びた日光により悪化することがあるので、衣服による遮光も重要である。衣服はなるべく広く皮膚を覆うものを着用する。また、顔の遮光にはサンスクリンがしばしば用いられるが、手や前腕に対しては手袋による遮光が便利である。

衣服の素材や色により遮光効果に違いがあることが知られている。生地素材では木綿やレーヨンよりもウール、ポリエステル、デニムが優れる。色調では、淡い色よりも濃い色の方が強い遮光効果を示し、同質の繊維であれば、白よりも黒が10倍の遮光効果がある³⁾。

■ フィルムによる遮光

A群色素性乾皮症では、あらゆる光源に対して厳密な遮光が必要であり、室内においても窓ガラスなどに遮光フィルムを張ることなどにより、紫外線を遮光する。遮光フィルムは、スコッチテントTM ウインドウフィルム（住友スリーエム）、ルミクール[®]（リンテック）など数種類が発売されている。

■ おわりに

光線過敏症患者を治療していくうえで遮光指導は重要であるが、実際にはその煩雑さや日常生活の制限が大きいこともあって、コンプライアンスが低い場合も少なくない⁴⁾。しかしながら、遮光をしないために悪化することがほとんどであるため、患者と医師、さらに看護師などのパラメディカルの協力も得て、根気よく遮光を続けるように指導する。

文献

- 1) Kinney JP, Long CS: Dermatol Online J 6: 2, 2000
- 2) Gies P, Javorniczky J, Roy C et al: Photochem Photobiol 82: 750, 2006
- 3) Lautenschlager S, Wulf HC, Pittelkow MR: Lancet 370: 528, 2007
- 4) 川原 繁: 日皮会誌 120: 2584, 2010

川原 繁 Kawara, Shigeru

近畿大学医学部皮膚科
〒589-8511 大阪狭山市大野東 377-2
FAX: 072-368-2120

Case Report

Exogenous coproporphyrin III production by *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* in erythrasma lesionsAyako Yasuma,¹ Toyoko Ochiai,¹ Motoki Azuma,² Hiroyuki Nishiyama,³ Ken Kikuchi,⁴ Masao Kondo⁵ and Hiroshi Handa²

Correspondence

Ayako Yasuma
ayaaya82@gmail.com¹Department of Dermatology, Surugadai Nihon University Hospital, 1-8-13 Surugadai, Kanda, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8309, Japan²Department of Biological Information, Graduate School of Biotechnology, Tokyo Institute of Technology, Midori-ku, Yokohama, Japan³Department of Clinical Laboratory, Surugadai Nihon University Hospital, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan⁴Department of Infection Control Science, Faculty of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan⁵Department of Child Studies, Faculty of Human Life Sciences, Tokyo City University, Setagaya-ku, Tokyo, Japan

Erythrasma is a superficial skin disease caused by Gram-positive *Corynebacterium* species. Coral-red fluorescence under Wood's light, strongly suggestive of erythrasma, can be attributed to the presence of porphyrins. Fractionated porphyrin analysis in erythrasma lesions is yet to be reported. We attempted to investigate erythrasma lesions by isolating the responsible bacteria and determining their exogenous porphyrin production by HPLC analysis. We observed a 78-year-old woman with erythrasma who had a well-demarcated slightly scaling patch on her left foot, between the fourth and fifth toes. Two kinds of colonies on 5% sheep blood agar were obtained from this lesion. Analysis of the 16S rRNA sequence revealed the colonies to be *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans*. HPLC analysis demonstrated that coproporphyrin III (Copro III) levels were clearly elevated, although the amounts of protoporphyrin were diminished. These results indicate that the fluorescent substance was Copro III. This study supports the view that excess Copro III synthesis by *C. aurimucosum* and *M. oxydans* leads to accumulation of porphyrin in cutaneous tissue, which emits a coral-red fluorescence when exposed to Wood's light.

Received 29 October 2010

Accepted 8 March 2011

Introduction

Erythrasma is a skin disease characterized by pink patches that sometimes become brown scales. The disease tends to occur at intertriginous sites, and exhibits a coral-red fluorescence under Wood's light (Hay & Adriaans, 1998). Sarkany *et al.* (1961) demonstrated the presence of Gram-positive rods in the scales of erythrasma and named the causative organism *Corynebacterium minutissimum* (Sarkany *et al.*, 1962). This bacterium is thought to produce excess coproporphyrins (Hay & Adriaans, 1998). Currently, we know very little about the epidemiology of erythrasma and the nature of porphyrin production by these bacteria. We have described a case of erythrasma from which *Corynebacterium aurimucosum* and *Microbacterium oxydans* were isolated. The aim of this study was to examine the amount of extracellular and intracellular porphyrin produced by these bacteria and to clarify the nature of the

porphyrin responsible for coral-red fluorescence. Photoinactivation of bacteria by endogenous porphyrins is of growing interest in the field of photodynamic therapy. If the existence of intracellular porphyrin produced by these bacteria is identified, an appropriate method of photodynamic therapy for erythrasma could be developed. To our knowledge, this is the first study to employ HPLC to investigate porphyrins of bacteria detected from erythrasma lesions.

Case report

A 78-year-old woman with a 1 month history of an asymptomatic scaling rash between the fourth and fifth toes on her left foot was seen in March 2007. Physical examination revealed a well-demarcated, reddish brown, slightly scaly patch with interdigital peeling. Samples dissolved in potassium hydroxide showed no dermatophytes in the affected areas. The patch exhibited coral-red

Abbreviations: Copro III, coproporphyrin III; Uro, uroporphyrin.

fluorescence under Wood's light (Fig. 1). Laboratory test results were within the normal range with the exception of slight hyperglycaemia. The clinical diagnosis was erythrasma. The patient was treated with a topical application of gentamicin ointment in the affected area. The coral-red fluorescence was no longer evident after 4 weeks of treatment.

Smear samples were taken from the scales present in the interdigital sites before treatment and cultured. The cultures were incubated at 35 °C on 5% sheep blood agar for 18 h and Gram stains were performed. Two different types of small, smooth colonies grew from the smear samples. One colony was white while the other was slightly yellow and both colonies fluoresced coral-red under Wood's light. Gram staining revealed similar Gram-positive rods from the colonies, 2–3 µm in length. The bacterial cells were arranged in a V formation or in palisades, characteristic of coryneform bacteria.

Identification tests for *Corynebacterium* were performed on the colonies using the commercial RAPID CB PLUS System (Remel) according to the manufacturer's protocols (Funke *et al.*, 1998). As the results did not correspond to those for any corynebacteria, DNA from the two colonies was subjected to sequencing analysis targeting the 16S rRNA genes. Extraction of DNA was performed using achromopeptidase as previously described (Kikuchi *et al.*, 2003). The primers used for PCR amplification were Univ1 (5'-GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG GA-3') and Univ2 (5'-AAG GAG GTG ATC CAG CCG CA-3') and were synthesized by Operon Biotechnologies (Edwards *et al.*, 1989). The PCR was carried out in a 50 µl volume containing 2.5 U *Taq* polymerase (Perkin-Elmer Cetus), 10 × PCR buffer (TaKaRa), 0.2 mM dNTPs and 25 pmol of each primer. The thermal profile involved an initial denaturation step at 95 °C for 10 min, and then 30 cycles of 95 °C for 30 s, 65 °C for 30 s and 72 °C for 90 s; the



Fig. 1. Well-demarcated, reddish brown, slightly scaly patch seen on the left foot of the patient between the fourth and fifth toes. The patch fluoresced coral red under Wood's light.

reaction was terminated by a final extension step at 72 °C for 5 min.

Sequencing reactions were performed using a Big Dye terminator (version 1.1) Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) in conjunction with an ABI PRISM 3100 genetic analyser (Applied Biosystems) (Sasaki *et al.*, 2007). Multiple alignment was carried out by the CLUSTAL_X program (Thompson *et al.*, 1997). Construction of the unrooted phylogenetic tree was performed by the neighbour-joining method (Saitou & Nei, 1987).

We extracted haem precursors from the *C. aurimucosum* and *M. oxydans* strains and conducted HPLC analysis on these precursors (Fig. 2a, b). To detect haem precursors in the bacteria, colonies obtained from the sheep blood agars were grown for 96 h in thioglycollate medium (Becton Dickinson) at 37 °C (Thomson & Miller, 2003). The concentration and absolute number of cells in culture was measured using the McFarland method (McFarland, 1907). The culture was centrifuged at 3000 g for 10 min at 37 °C and the supernatant and precipitate were processed separately for HPLC analysis. As a control, a strain of *Staphylococcus aureus* that was isolated from a case of impetigo contagiosum and did not exhibit fluorescence under Wood's light was used in the present study. The precipitates were homogenized with 5 ml ethyl acetate:acetic acid (3:1, v/v). After centrifugation at 5000 g for 10 min, the supernatant was concentrated into 1 ml and 10 µl samples and subjected to chromatography on a C₁₈ reverse-phase HPLC column equipped with a fluorometric detector (Kondo & Kajiwara, 1987; Azuma *et al.*, 2008). The culture medium was lyophilized, extracted with 5 ml ethyl acetate:acetic acid (3:1, v/v) and subjected to chromatography (Nitzan *et al.*, 2004). In the culture medium, the amount of coproporphyrin III (Copro III) was significantly increased in *C. aurimucosum* and *M. oxydans* compared to *S. aureus* strains ($P < 0.05$, Student's *t*-test), while the levels of uroporphyrin (Uro) and other haem precursors were not increased (Fig. 2c, d). In the cell pellets, the amounts of Uro and Copro III were significantly increased in *C. aurimucosum* and *M. oxydans* compared with *S. aureus* ($P < 0.05$).

The Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare provides guidelines on ethics regarding clinical research. These guidelines state that if the research was carried out as a part of a physical examination, and the field of research is directly related to micro-organisms detected in specimens of patients, and is not a phenomenon of the patient's health, then ethics approval is not required. Therefore, we consider that our study required no ethics approval or informed consent.

Discussion

In this study, we isolated *C. aurimucosum* and *M. oxydans* from erythrasma lesions, conducted 16S rRNA sequence analysis on the isolates, and identified Copro III in the

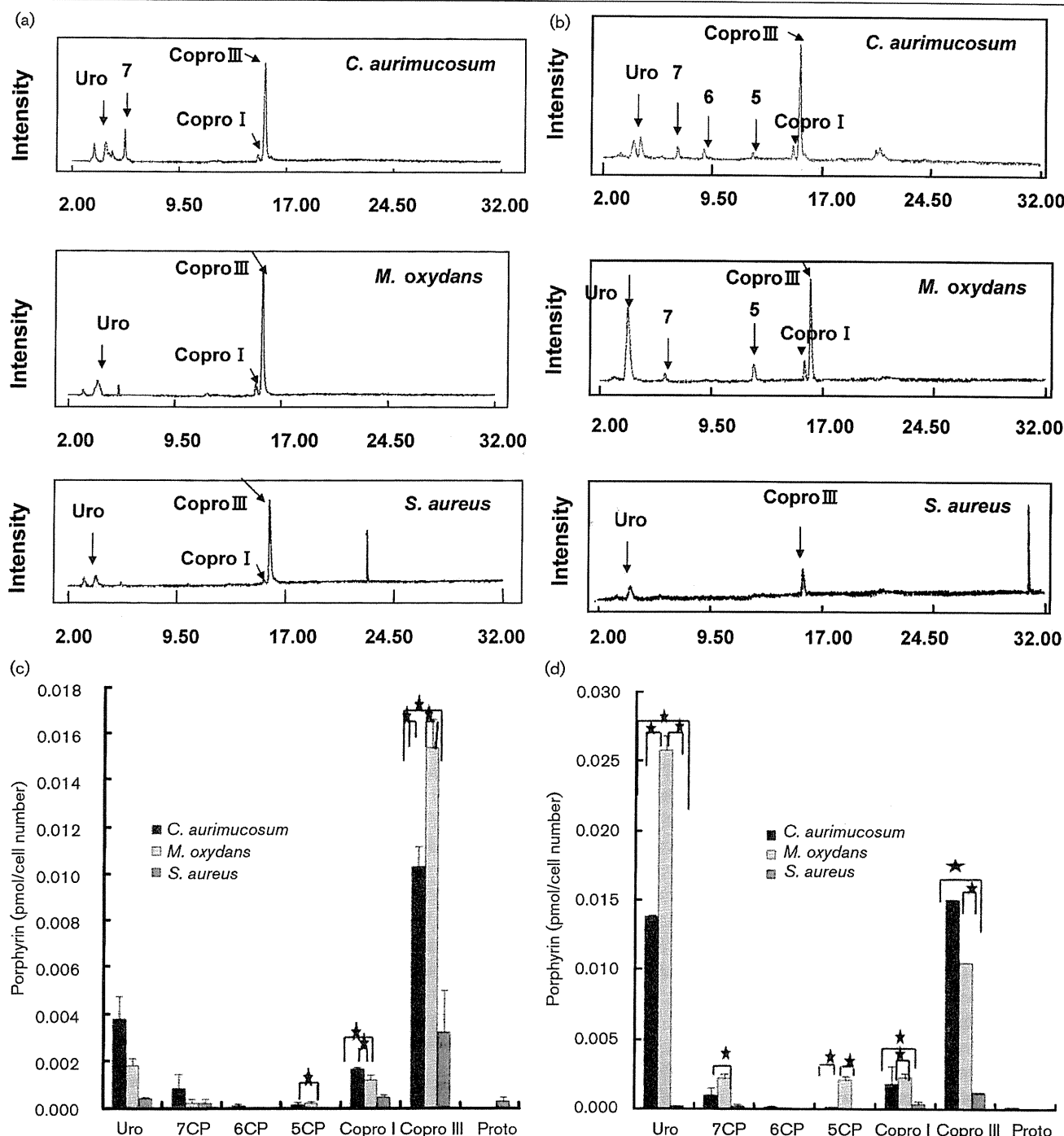


Fig. 2. Analysis of haem biosynthesis in *C. aurimucosum*, *M. oxydans* and *S. aureus*. (a) Haem precursors in culture medium obtained from *C. aurimucosum*, *M. oxydans* and *S. aureus* were analysed by HPLC. Colonies were grown for 96 h at 37 °C. The culture medium was volatilized under negative pressure and then porphyrins were extracted with 5 ml ethyl acetate : acetic acid (3 : 1, v/v) and subjected to chromatography on a C_{18} reverse-phase HPLC column equipped with a fluorometric detector. (b) Intracellular haem precursors from *C. aurimucosum*, *M. oxydans* and *S. aureus*. Bacteria were grown for 96 h at 37 °C and homogenized with 5 ml ethyl acetate : acetic acid (3 : 1, v/v). After centrifugation at 5000 g for 10 min, the supernatant was concentrated and subjected to chromatography. Quantification of each haem precursor obtained from culture medium (c) and from *C. aurimucosum*, *M. oxydans* and *S. aureus* cells (d). In the medium, the amount of Copro III was increased in *C. aurimucosum* and *M. oxydans* compared with *S. aureus* (c). In the cells, the amount of Uro and Copro III were significantly increased in *C. aurimucosum* and *M. oxydans* compared to *S. aureus* (d). The data were analysed with a fluorometric detector. Uro, Uroporphyrin; Copro, coproporphyrin; 7CP, heptaporphyrin; 6CP, hexaporphyrin; 5CP, pentaporphyrin; Proto, protoporphyrin. Quantification of haem precursors is presented as the mean \pm SEM from six independent experiments. Student's t -test was performed to determine statistical significance among the experimental groups; * $P < 0.05$ was considered statistically significant.

culture medium. To the best of our knowledge, there have been no previous reports in which *C. aurimucosum* and *M. oxydans* were isolated from lesions associated with erythrasma.

It is known that erythrasma is a superficial skin disease caused by *Corynebacterium* species. Sarkany *et al.* (1961) originally detected Gram-positive rods from lesions associated with erythrasma and named the bacterium *C. minutissimum* (Sarkany *et al.*, 1962). Somerville (1973) classified aerobic cutaneous diphtheroids into 15 groups from the results of nine tests. These groups encompass lipophilic characteristics, lipolytic ability, porphyrin production, nitrate reduction and ability to decompose glucose, maltose, sucrose, fructose and galactose. This classification differs from that described in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Somerville (1973) stated that all groups of fluorescent diphtheroids were isolated from erythrasma lesions as the result of an overgrowth of diphtheroid members in the normal skin flora, and that *C. minutissimum* belonged to group 2. Takei (1996) succeeded in the isolation of 24 fluorescent diphtheroids from 43 lesions and identified them using API biochemical tests. Sixteen isolates were *C. minutissimum*, six were *Corynebacterium jeikeium*, one was coryneform group G-1 and the final isolate was coryneform group G-2. Takei (1996) also stated that *C. jeikeium* and *C. minutissimum* belonged to group 2 of Somerville's classification scheme.

The strain of *C. aurimucosum* isolated in this study was novel, as described by Yassin *et al.* (2002). Strains originally designated CDC coryneform group 4 bacteria represent a heterogeneous group and include pigmented variants of *C. aurimucosum*. *Corynebacterium nigricans* is related to *C. aurimucosum* at the species level as demonstrated by DNA–DNA hybridization analysis and sequencing of the 16S rRNA gene (Daneshvar *et al.*, 2004). Yassin *et al.* (2002) stated that *C. aurimucosum* is genealogically related to *C. minutissimum* (99.8% nucleotide identity for 16S rRNA) with a similar basic biochemical profile. The DNA–DNA hybridization experiments demonstrated that *C. aurimucosum* is distinct from *C. minutissimum* with only 42% nucleotide sequence identity (Yassin *et al.*, 2002).

M. oxydans is a coryneform bacterium that grows aerobically, is asporogeneous, irregularly shaped, not acid-fast, and can be visualized as Gram-positive rods. The majority of *Microbacteria* form colonies with a yellow pigment on nutrient agar. *M. oxydans* is one of the species of *Microbacteria* most frequently isolated from clinical specimens.

Only a small number of studies examining porphyrins from erythrasma lesions have been published. Sarkany *et al.* (1961) examined aqueous extracts of fluorescent substances from culture medium using a spectrophotometer and described that the substances had a maximum peak at 400–402 nm and a single sharp peak at 603 nm, although fractionated porphyrin analysis was not demonstrated. Hay

& Adriaans (1998) stated that the coral-red fluorescence under Wood's light in erythrasma lesions was due to Copro III, but did not provide any further details of their results.

In our study, HPLC analysis of haem precursors from the culture medium of *C. aurimucosum* and *M. oxydans* revealed that Copro III levels were clearly elevated (Fig. 2c) and the amounts of protoporphyrin were diminished. Analysis of intracellular porphyrin showed that the Uro and Copro III levels were very high, although the protoporphyrin levels were low (Fig. 2d). These results indicate that the fluorescent substance was actually Copro III. We could not clarify the complex mechanisms of excess Copro III production in the supernatants in this study. The conversion from Copro III to protoporphyrinogen IX is carried out by coproporphyrinogen oxidase (Hayashi, 1995). Almost nothing is known about the regulation of haem-biosynthetic enzyme activities in *Corynebacterium* bacteria. We postulate that the low levels of coproporphyrinogen oxidase activity in *C. aurimucosum* and *M. oxydans* likely lead to an accumulation of large quantities of Copro III.

Recently, photoinactivation of bacteria by endogenous porphyrins has garnered interest in photodynamic therapy (Maisch *et al.*, 2004; Nitzan *et al.*, 2004). In this study, analysis of intracellular porphyrin in *C. aurimucosum* and *M. oxydans* showed that the levels of Uro and Copro III were very high. Porphyrins have a common absorption maximum (Soret band) around 400 nm and another peak at 500–650 nm (Kondo, 1995). The photodestructive wavelength range of porphyrins is reckoned to be 407–420 nm (Ashkenazi *et al.*, 2003). The bacterium *Propionibacterium acnes* produces mainly Copro III, which accumulates in the cells. The effectiveness of photodynamic therapy for acne treatment has been demonstrated by Kawada *et al.* (2002), who reported that blue light (407–420 nm) was effective for acne patients in a clinical setting. Ashkenazi *et al.* (2003) stated that illumination of the endogenous coproporphyrin with blue light played a major role in *P. acnes* photoinactivation. We believe that photodynamic therapy, especially with light in the blue wavelengths, could be applied to treat erythrasma lesions.

In conclusion, the results of this study support the view that excess Copro III synthesis by *C. aurimucosum* and *M. oxydans* leads to accumulation of porphyrin in cutaneous tissue, which fluoresces a coral-red colour when exposed to Wood's light.

References

- Ashkenazi, H., Malik, Z., Harth, Y. & Nitzan, Y. (2003). Eradication of *Propionibacterium acnes* by its endogenic porphyrins after illumination with high intensity blue light. *FEMS Immunol Med Microbiol* 35, 17–24.
- Azuma, M., Kabe, Y., Kuramori, C., Kondo, M., Yamaguchi, Y. & Handa, H. (2008). Adenine nucleotide translocator transports haem precursors into mitochondria. *PLoS ONE* 3, e3070.
- Daneshvar, M. I., Hollis, D. G., Weyant, R. S., Jordan, J. G., MacGregor, J. P., Morey, R. E., Whitney, A. M., Brenner, D. J.,

- Steigerwalt, A. G. & other authors (2004).** Identification of some charcoal-black-pigmented CDC fermentative coryneform group 4 isolates as *Rothia dentocariosa* and some as *Corynebacterium aurimucosum*: proposal of *Rothia dentocariosa* emend. Georg and Brown 1967, *Corynebacterium aurimucosum* emend. Yassin *et al.* 2002, and *Corynebacterium nigricans* Shukla *et al.* 2003 pro synon. *Corynebacterium aurimucosum*. *J Clin Microbiol* **42**, 4189–4198.
- Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M. & Böttger, E. C. (1989).** Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res* **17**, 7843–7853.
- Funke, G., Peters, K. & Aravena-Roman, M. (1998).** Evaluation of the RapID CB plus system for identification of coryneform bacteria and *Listeria* spp. *J Clin Microbiol* **36**, 2439–2442.
- Hay, R. J. & Adriaans, B. (1998).** Bacterial infections. In *Rook/Wilkinson/Ebling: Textbook of Dermatology*, 6th edn, pp. 1133–1134. Edited by R. H. Champion, J. L. Burton & F. J. G. Ebling. Oxford: Blackwell.
- Hayashi, N. (1995).** [Porphyrin biosynthetic pathway and its regulation]. *Nippon Rinsho* **53**, 1329–1337 (in Japanese).
- Kawada, A., Aragane, Y., Kameyama, H., Sangen, Y. & Tezuka, T. (2002).** Acne phototherapy with a high-intensity, enhanced, narrow-band, blue light source: an open study and in vitro investigation. *J Dermatol Sci* **30**, 129–135.
- Kikuchi, K., Takahashi, N., Piao, C., Totsuka, K., Nishida, H. & Uchiyama, T. (2003).** Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing neonatal toxic shock syndrome-like exanthematous disease in neonatal and perinatal wards. *J Clin Microbiol* **41**, 3001–3006.
- Kondo, M. (1995).** [Methods of determination of porphyrins and their precursors – introduction of analytical methods for porphyrin metabolites]. *Nippon Rinsho* **53**, 1357–1363 (in Japanese).
- Kondo, M. & Kajiwara, M. (1987).** Measurement of porphyrins using high performance liquid chromatography and its clinical evaluation. *LC family (JASCO Report)* **22**, 5–10.
- Maisch, T., Szeimies, R. M., Jori, G. & Abels, C. (2004).** Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochem Photobiol Sci* **3**, 907–917.
- McFarland, J. (1907).** The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *JAMA* **49**, 1176–1178.
- Nitzan, Y., Salmon-Divon, M., Shporen, E. & Malik, Z. (2004).** ALA induced photodynamic effects on gram positive and negative bacteria. *Photochem Photobiol Sci* **3**, 430–435.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987).** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* **4**, 406–425.
- Sarkany, I., Taplin, D. & Blank, H. (1961).** The etiology and treatment of erythrasma. *J Invest Dermatol* **37**, 283–290.
- Sarkany, I., Taplin, D. & Blank, H. (1962).** Organism causing erythrasma. *Lancet* **280**, 304–305.
- Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. & Hiramatsu, K. (2007).** Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J Clin Microbiol* **45**, 1118–1125.
- Somerville, D. A. (1973).** A taxonomic scheme for aerobic diphtheroids from human skin. *J Med Microbiol* **6**, 215–224.
- Takei, A. (1996).** A bacteriological study of fluorescent diphtheroids isolated from the lesions of erythrasma. *J Med Soc Toho University* **43**, 373–386.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. (1997).** The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* **25**, 4876–4882.
- Thomson, R. & Miller, J. (2003).** Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edn, pp. 286–330. Edited by P. Murray, J. Baron, J. Jorgensen, M. Pfaller & R. Tenover. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Yassin, A. F., Steiner, U. & Ludwig, W. (2002).** *Corynebacterium aurimucosum* sp. nov. and emended description of *Corynebacterium minutissimum* Collins and Jones (1983). *Int J Syst Evol Microbiol* **52**, 1001–1005.

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

近藤雅雄¹⁾、網中雅仁²⁾、石塚昌宏³⁾

1) 東京都市大学人間科学部、2) 聖マリアンナ医科大学予防医学教室、

3) SBI アラプロモ株式会社

ポルフィリン症には酵素障害ならびに病態機序の違いによって8病型が報告されているが、鑑別・確定診断のための検査法および診断基準はいまだに統一および一般化されていない。現在、本症の診断には臨床症状から、ポルフィリン症を疑い、特殊検査としてポルフィリン関連物質の測定を行った後、判定するのが一般的であり、診断には1週間以上を要する。

本研究では、ポルフィリン症における典型的な臨床症状と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値をまとめ、本症の早期診断を目的に、高速液体クロマトグラフィーを用いた生化学診断法による鑑別・確定診断法の確立と診断基準案の作成を検討した。その結果、現状においては十分に診断可能なシステム並びに診断基準案を作成した。

Key Words : ポルフィリン症、生化学診断、診断基準

はじめに

ポルフィリン症はポルフィリン代謝酵素活性の低下によるポルフィリン代謝関連物質の異常蓄積が原因で発症する一群の疾患と定義する(図1)¹⁻³⁾。本症は1920年に本邦にて発見されて以来2008年12月までに894例の報告を見るに過ぎないという希少疾患であり、難病である⁴⁾。本症の診断には臨床症状、血液検査、肝機能検査、光化学的検査、病理学的検査、遺伝子診断、酵素診断、生化学診断など多項目の検査⁵⁾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)の測定による生化学的検査である^{6,7)}。しかし、これらの測定は現在一般検査項目として扱われていない。また、ポルフィリン関連物質の測定機関が少なく、さらに検査機関、大学などの研究室によって診断基準が異なっていることから、誤診や診断が遅れる事が多く、患者のQOLを著しく阻害している⁸⁾。国際的にも、未だに診断基準のないのが現状である。

我われは生体試料中のポルフィリン関連物質

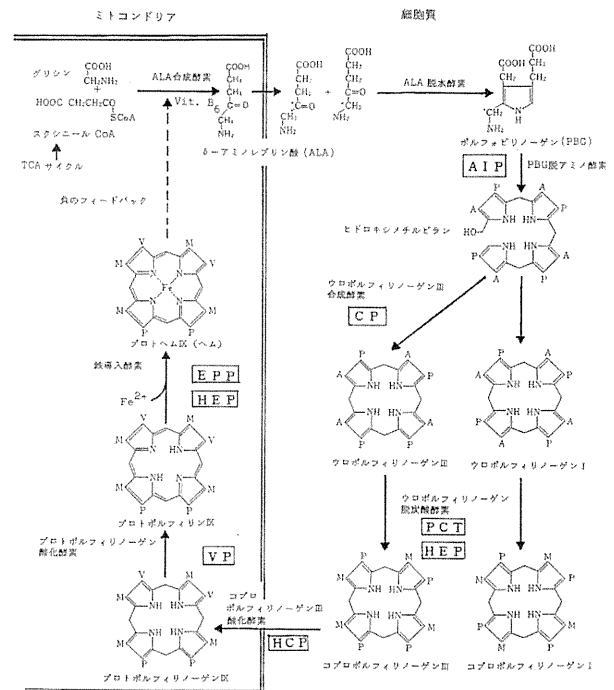


図1. ポルフィリン代謝とポルフィリン症
図の□はポルフィリン症の略語を示す。略語は本文に示した。

測定の標準化を目指し、前処理操作および高速液体クロマトグラフィー (high-performance liquid chromatography; HPLC) を用いて、各種検討した結果、ポルフィン異性体を含めたポルフィリンの分析法を先に開発・報告した⁹⁾。さらに、移動相

の溶媒およびグラジェント条件、分離時間、分離カラムを検討し、異性体を含む全ポルフィリンの正確な分離分析法の開発を新規試みた結果、異性体を含めたウロポルフィリン (UP) からプロトポルフィリンIX (PPIX) までのポルフィリン濃度を正確に測定できる方法を確立した¹⁰⁾。

そこで、本研究では、すでに臨床症状と生化学的検査によって確定診断のついている、遺伝性ポルフィリン症5病型と後天性ポルフィリン症1病型の合計6病型について、すなわち、遺伝性の急性ポルフィリン症として急性間欠性ポルフィリン症 (acute intermittent porphyria; AIP)、異型ポルフィリン症 (variegate porphyria; VP)、遺伝性コプロポルフィリン症 (hereditary coproporphyria; HCP) の3病型、皮膚ポルフィリン症として後天性の晩発性皮膚ポルフィリン症 (porphyria cutanea tarda; PCT)、遺伝性の先天性赤芽球性ポルフィリン症 (congenital erythropoietic porphyria; CEP)、赤芽球性プロトポルフィリン症 (erythropoietic protoporphyria; EPP)、肝赤芽球性ポルフィリン症 (hepatic-erythropoietic porphyria; HEP) の4病型、および健常者の血液、尿および糞中のポルフィリン関連物質を測定し、その測定値から6病型の診断基準の作成を行った。なお、HEPについては症例数が少なく、対象外とした。

I. 研究方法

1. 患者試料

臨床症状からポルフィリン症が疑われた患者に、診断のために必要であることの同意を得て血液、尿、糞便を採取し、これを試料とした。患者は、AIP 83 検体、VP 14 検体、HCP 21 検体、PCT 44 検体、CEP 11 検体、EPP 61 検体、および健常者 108 検体、総検体数 342 の血液、尿および糞を用いた。これらの試料は測定日まで、 -80°C に保存した。採取した試料はすべて日本人であり、地域は北海道から沖縄までの全国に至る。

2. 試薬

Porphyrin Acid Chromatographic Marker Kit (uroporphyrin I (URO, UP I)、heptaporphyrin (HEPTA, 7P)、hexaporphyrin (HEXA, 6P)、pentaporphyrin (PENTA; 5P)、coproporphyrin I (COPRO, CP I) 異性体、mesoporphyrin (MESO, MP) を含む、以下 Kit と略)、uroporphyrin III (URO, UP III)、coproporphyrin III (COPRO, CP III)、protoporphyrin (PROTO, PP)、zinc-chelated protoporphyrin (ZP)、deuteroporphyrin (DP) はすべて Frontier Scientific, Inc. より購入した。アセトニトリルは HPLC 用、その他の試薬はすべて特級品を使用した。

3. 試料の調製

1) 試料の採取・保存

ポルフィリン、PBG は光により変化し易いので尿、血液、糞便などの試料はすべて遮光し、 -80°C 保存した。

尿はスポット尿を用い、クレアチニン単位で補正した。血液はヘパリン加血液または生理的食塩水にて洗浄した赤血球を用いた。ポルフィリン定量値は単位赤血球量 (d1 RBC) 当りで示した。血漿は全血液状態に比べ、光によるポルフィリン分解を受け易いので直ちに遮光保存した。糞便は排便1回量を用い、1 g 乾燥重量として示した。

(1) 尿中 ALA、PBG の測定

尿中 ALA と PBG の測定は急性ポルフィリン症、鉛中毒、先天性チロシン血症の診断に重要である^{11, 12)}。ALA、PBG の測定は我われが開発した¹²⁾ イオン交換樹脂への特異的な吸着と、ピロール化合物に特異的に反応するエールリッヒ試薬による発色とを利用し、分光光度計で測定した。

(2) 尿中ポルフィリン分析

尿については酢酸 (0.05% I_2 を含む) にて2倍量に希釈したものを直接 HPLC カラムに $10\ \mu\text{l}$ 注入する方法によって分析した¹³⁾。分析条件は“4. HPLC 分析条件”に示した。

(3) 赤血球中ポルフィリン分析

ヘパリン加血液 0.05ml に DMF 溶液 2.5ml を加え攪拌した後、3,000 rpm、10 分間遠心し、その上清を 20 μ l を逆相カラム (4.6 \times 150mm, 5 μ) に注入する HPLC 法によって測定した^{14, 15)}。溶離液は 50mM テトラブチルアンモニウム溶液 (pH7.5) とアセトニトリルの混液 (34:66) を用い、流速 1ml/分、40°C で保持した。赤血球内に存在する遊離赤血球プロトポルフィリン (free erythrocyte protoporphyrin; FP)、亜鉛結合プロトポルフィリン (zinc chelated protoporphyrin; ZP) は 5 分以内に分離し、これを蛍光検出器の励起波長 420nm、蛍光波長 630nm にて検出した (FP の吸収極大: Ex=403nm, Em=619nm, ZP の吸収極大: Ex=419nm, Em=577nm)。

(4) 血漿、糞便及び組織中ポルフィリン分析

著者らの方法^{16, 17)}で、血漿 1ml に酢酸エチル-酢酸 (4/1, v/v) 溶液にて総ポルフィリンを抽出した後、HPLC 分析した。

4. HPLC 分析条件

HPLC 分析システムは Shimadzu LC-10A VP を用い、カラムは Shiseido CAPCELL PAK C18 AG120、検出器は RF-10AXL 蛍光検出器 (Ex. 406 nm, Em. 609 nm) を用いた。移動相は A 液: 12.5%アセトニトリル・1M 酢酸アンモニウム混合液 (pH 5.15)、B 液: 80%アセトニトリル・50mM 酢酸アンモニウム混合液 (pH 5.15) を用い、A 液で 5 分間 hold し、A/B (100/0) - A/B (65/35) 35 分 Linear グラジエント、A/B (65/35) - A/B (0/100) 1 分 Linear グラジエント、B 液で 9 分間 hold し、A/B (0/100) - A/B (100/0) 1 分 Linear グラジエント、A 液で 9 分間 hold した。測定は、流速 1.0 ml/min、温度 40°C で行った。

II. 結果および考察

1. 急性ポルフィリン症の尿中 ALA および PBG

急性ポルフィリン症 3 病型 (AIP、VP、HCP) は共にポルフィリン前駆物質である ALA および PBG が大量に尿中出现することから、急性ポルフィリン症の鑑別診断として重要である。

表 1 に AIP 73 例、VP 7 例、HCP 14 例、健常者 32 例の尿中 ALA および PBG の平均値、標準偏差、最大値、最小値を示した。表より、ALA の健常値の平均値に対する比率は平均 AIP、HCP、VP の順で高く、各々 21.4 倍、8.1 倍、4.3 倍と高値であった。PBG は同様に 89.3 倍、23.5 倍、6.6 倍で、ALA よりも高値であった。また、最低値も ALA が 2.6 倍、1.5 倍、1.2 倍、PBG が 9.5 倍、1.5 倍、1.4 倍と健常値よりも高値であった。この関係を図 2 に示した。

表 1. 健常者及び急性ポルフィリン症の尿中 ALA, PBG 量
(1) 健常者の尿中 ALA, PBG (μ g/creatinine)

n	ALA	PBG
	32	23
Mean	1412.9	672.3
SD	470.0	568.5
Max	2820.0	2690.0
Min	468.2	70.0

(2) 急性ポルフィリン症の尿中 ALA, PBG (μ g/creatinine)

n	ALA			PBG		
	AIP	HCP	VP	AIP	HCP	VP
n	51	14	7	73	12	6
Mean	30197	11468	6137	60007	15789	4411
SD	26213	18323	3162	38284	17277	4606
max	124200	69200	9950	179231	45300	13400
min	3663	2160	1665	6387	980	947

(3) 急性ポルフィリン症の尿中 ALA, PBG 量の健常値比

n	ALA			PBG		
	AIP	HCP	VP	AIP	HCP	VP
n	64	14	7	83	13	6
Mean	21.4	8.1	4.3	89.3	23.5	6.6
SD	18.6	13.0	2.2	56.9	25.7	6.9
max	87.9	49.0	7.0	266.6	67.4	19.9
min	2.6	1.5	1.2	9.5	1.5	1.4

(n: 例数、健常値比とは健常者の平均値に対する急性ポルフィリン症の平均値の倍率を示す)

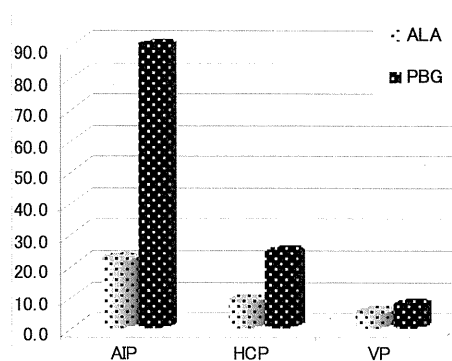


図 2 急性ポルフィリン症の尿中 ALA および PBG

急性ポルフィリン症/健常値比			
	AIP	HCP	VP
ALA	21.4	8.1	4.3
PBG	89.3	23.5	6.6

2. 尿中総ポルフィリンの分画測定

尿中ポルフィリンはEPPを除いた全てのポルフィリン症にて増量し、ポルフィリンの種類が病型によって異なることから、ポルフィリン症の鑑別診断に重要である。また、EPPにおいても、肝臓障害時にはコプロポルフィリンのI型異性体が増量することから肝機能の診断に重要である。そこで、標準物質を用いてポルフィリンの種類別の測定法としてHPLCを用いたパターン分析の手法の開発を行った。その結果、標準ポルフィリン溶液のHPLCパターンを図3に示したように、カルボキシル数の多い順、すなわち、URO Iから7、6、5、4 (CP)、3、2、カルボキシルポルフィリン、並びに2カルボキシルポルフィリンであるZn-PROTO (ZP), DEUTERO (DP), MESO (MP), PROTO (PP)の順に出現した。HPLC分析はそれぞれの標準物質濃度に対するピーク量(面積及び高さ)をあらかじめ検量線として作成し、ピークが出現する保持時間(横軸)にて、未知の物質を同定し、定量した。本法の保持時間に対する同時再現や標準物質による検量直線の再現性等、すべての点において極めて再現性のいい結果を得た。

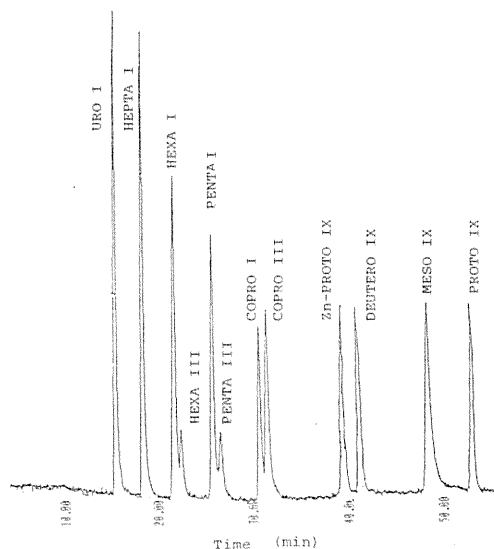


図3. 各種標準ポルフィリンのHPLCパターン
各々5picomoles注入した。

本法を用いて、各種ポルフィリン症の尿中ポルフィリンの出現パターンを見たのが、図4である。図は左から、健常者、CP (CEP)、PCT、EPP、HEP、

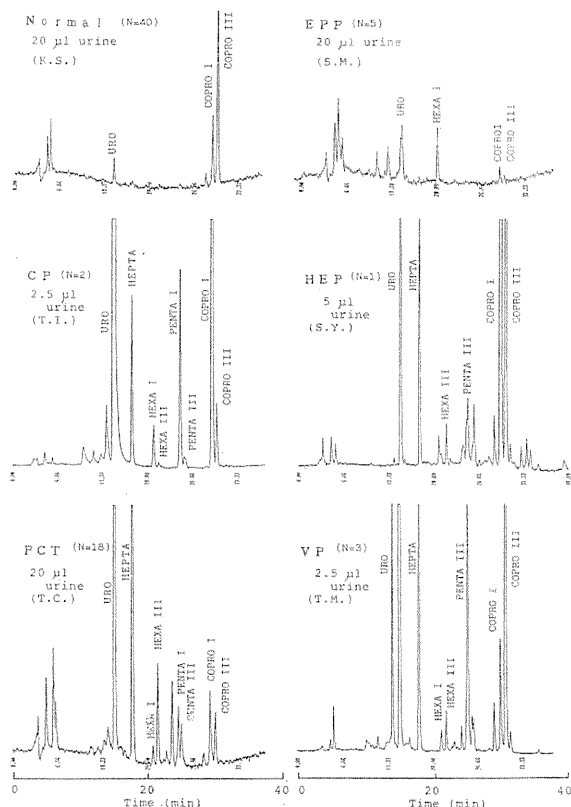


図4. 各種ポルフィリン症の典型的な尿中ポルフィリンのHPLCパターン

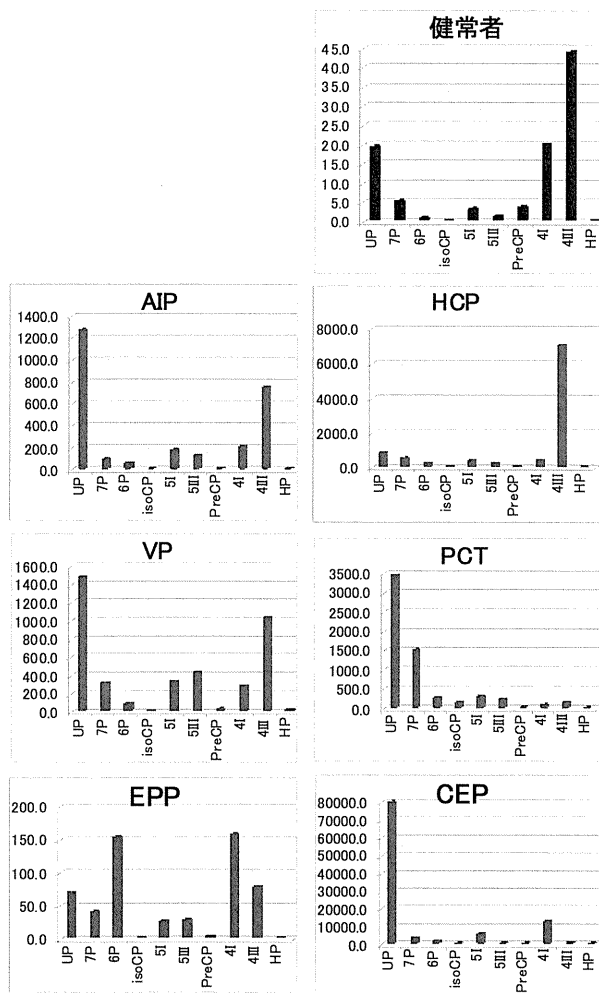


図5. 尿中ポルフィリンの分画分析
横軸: 各種ポルフィリン、縦軸: ポルフィリン量(μg/g creatinine)

VP の典型的な尿中ポルフィリンの HPLC パターンを示す。クロマトの図より、健常者においても URO (UP)、COPRO (CP) が少量出現するがポルフィリン症患者ではすべての病型において尿中ポルフィリンが増量し、総ポルフィリン量は健常値よりも減少することはない。図のパターンから、CEP では I 型ポルフィリンが優位、PCT では URO (UP)、HEPTA (7P) が優位、HEP では COPRO (CP) I、III が優位、VP では UP、HEPTA (7P)、PENTA (5P)、COPRO (CP) の III 型が優位であり、それぞれの病型

で異なっていることが確認された。図には示さなかったが、HCP では COPRO (CP) III が優位、AIP では COPRO (CP) III が高く、症状の出現に際して URO (UP) が増量する。したがって、本法ではポルフィリン症全病型の鑑別・確定診断に有用である。

表 2 には各種ポルフィリン症の尿中ポルフィリン平均値、標準偏差、最大値、最小値、表 3 に尿中ポルフィリンの平均値を示した。表 2, 3 より各々のポルフィリン症の特徴がみられ、これを図 5 に示した。図から図 4 と同様にポルフィリン

表 2. 各種ポルフィリン症の尿中ポルフィリンの平均値、標準偏差、最大値、最小値

健常者	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	95	86	35	29	67	39	31	97	98	29	98	97
Mean	19.1	5.0	0.6	0.1	3.0	1.1	3.4	19.8	43.7	0.1	90.4	0.6
SD	24.3	6.7	1.7	0.4	3.5	1.4	2.7	13.7	36.2	0.2	66.1	0.4
Max	196.0	55.2	9.0	2.2	14.7	5.9	12.6	77.9	199.1	0.9	385.7	2.8
Min	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.5	0.6	0.0	7.2	0.1
AIP	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	65	62	47	14	56	48	19.0	65	61	16	65	61
Mean	1260.4	84.7	49.2	0.6	170.0	117.4	6.9	201.9	737.8	3.7	2507.6	0.5
SD	1420.7	111.4	80.6	0.7	307.0	239.6	6.1	644.0	2467.2	3.5	4146.8	1.3
Max	6863.0	586.0	455.0	1.8	2043.2	1494.4	19.8	5141.1	19392.7	14.3	31251.2	8.4
Min	179.2	8.0	2.7	0.0	12.4	6.5	0.6	4.7	13.9	0.0	509.1	0.1
HCP	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	20	20	19	4	21	21	5	21	21	5	21	21
Mean	805.6	485.0	191.2	1.2	348.3	200.2	19.0	364.3	7017.0	7.1	9338.6	0.1
SD	800.1	530.3	190.2	2.4	345.9	209.4	15.8	402.8	8160.4	10.3	9566.8	0.1
Max	3377.7	1775.0	612.0	4.8	1203.5	688.9	37.1	1818.9	34875.7	24.7	39879.7	0.4
Min	32.8	0.0	6.7	0.0	12.9	4.3	2.7	40.4	112.3	0.0	241.8	0.0
VP	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	10	10	9	4	11	10	4	11	10	3	11	10
Mean	1466.2	308.6	78.6	0.0	327.3	423.5	22.0	271.4	1023.0	13.6	3603.3	0.2
SD	2646.7	504.0	81.2	0.0	434.4	947.0	12.5	419.5	1201.2	21.7	4752.6	0.2
Max	8682.5	1395.9	209.2	0.0	1263.2	3075.5	38.5	1403.6	3509.1	38.7	15921.4	0.7
Min	33.5	2.8	0.0	0.0	2.6	2.3	8.1	13.1	159.0	0.2	226.2	0.0
PCT	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	42	42	40	10	40	24	6	42	41	6	41	41
Mean	3418.9	1489.2	252.5	131.8	282.1	214.0	10.4	76.0	136.7	0.0	5906.9	0.7
SD	3726.7	1853.4	261.5	85.7	266.7	245.5	6.1	47.7	143.4	0.0	5851.2	0.4
Max	18133.5	11581.6	962.7	294.3	936.2	1039.9	20.4	209.2	896.0	0.0	31926.9	1.5
Min	116.5	68.2	9.0	13.3	11.8	12.9	3.3	10.4	14.1	0.0	247.3	0.1
CEP	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	11	11	10	3	11	6	3	11	8	3	10	7
Mean	79484.8	3236.2	1232.1	0.0	5418.3	189.5	3.1	12546.2	668.5	0.0	10014.9	20.6
SD	65469.9	3165.5	1740.2	0.0	6335.3	232.8	5.3	9926.8	534.0	0.0	7192.7	11.1
Max	205903.7	11913.1	6097.6	0.0	23579.5	546.8	9.2	38861.4	1707.6	0.0	22643.1	30.6
Min	663.4	47.4	326.6	0.0	221.8	0.0	0.0	1087.8	43.2	0.0	2092.2	4.5
EPP	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
n	37	35	29	9	27	14	15	37	37	6	42	37
Mean	68.0	39.1	151.7	0.5	25.8	27.6	3.2	156.2	78.1	0.7	431.0	1.5
SD	169.1	80.3	727.5	1.5	44.0	61.3	2.9	396.6	127.7	1.2	974.8	1.2
Max	1035.6	451.6	3930.9	4.6	183.3	223.5	8.7	2144.7	708.9	2.9	4886.3	4.2
Min	7.1	1.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.4	4.9	4.0	0.0	2.2	0.1

n: 例数、AIP; acute intermittente porphyria, HCP; hereditary coproporphyrin, VP; variegate porphyria, PCT; porphyria cutanea tarda, EPP; erythropoietic protoporphyria, CEP; congenital erythropoietic porphyria, UP; uroporphyrin, 7P; heptaporphyrin, 6P; hexaporphyrin, 5P; pentaporphyrin, isoCP; iso-coproporphyrin, HP; harderoporphyrin, Total P; total porphyrins

表 3. 各種ポルフィリン症の尿中ポルフィリンの平均値

	UP	7P	6P	isoCP	5I	5III	PreCP	4I	4II	HP	Total P	CPI/III
健常者	19.1	5.0	0.6	0.1	3.0	1.1	3.4	19.8	43.7	0.1	90.4	0.6
AIP	1260.4	84.7	49.2	0.6	170.0	117.4	6.9	201.9	737.8	3.7	2507.6	0.5
HCP	805.6	485.0	191.2	1.2	348.3	200.2	19.0	364.3	7017.0	7.1	9338.6	0.1
VP	1466.2	308.6	78.6	0.0	327.3	423.5	22.0	271.4	1023.0	13.6	3603.3	0.2
PCT	3418.9	1489.2	252.5	131.8	282.1	214.0	10.4	76.0	136.7	0.0	5906.9	0.7
CEP	79484.8	3236.2	1232.1	0.0	5418.3	189.5	3.1	12546.2	668.5	0.0	10014.9	20.6
EPP	68.0	39.1	151.7	0.5	25.8	27.6	3.2	156.2	78.1	0.7	431.0	1.5

略語は表2と同じ

症の6病型によってポルフィリン出現のパターンが異なる。したがって、ポルフィリン症の鑑別確定診断にはポルフィリンの分画測定が重要であることがわかった。

図6は急性ポルフィリン症の健常値に対する倍率を示した。図より、急性ポルフィリン症ではHCP>VP>AIPの順にポルフィリンの出現率が高く、さらに各病型によって明確にポルフィリン出現パターンが異なることが分かった。

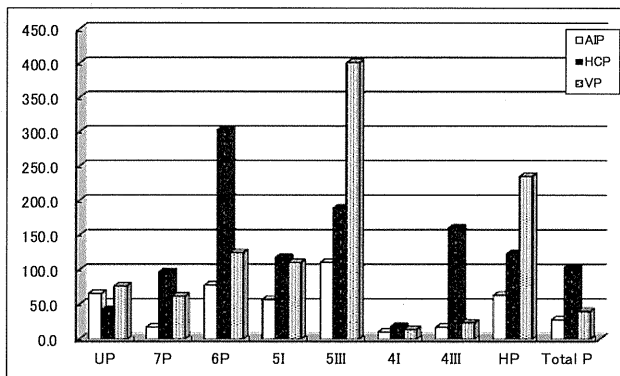


図6 急性ポルフィリン症の尿中各ポルフィリンの健常者に対する倍率
また、各々の病型の各ポルフィリン値の総量と健常値に対する比率を図7に示した。図より、

CEPが健常者の平均値の1,108倍と圧倒的に高く、最も少ないのがEPPの5倍であった。EPPは脂溶性のPROTO

(PP)が増量し、尿中ポルフィリンはあまり増加しないが、肝障害に伴って増量した。

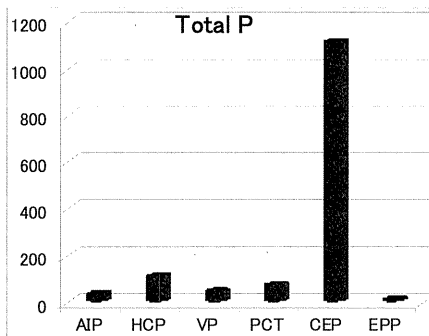


図7 各種ポルフィリン症の尿中総ポルフィリン量
健常値に対する倍率: AIP 28倍、HCP 103倍、VP 40倍、PCT 65倍、CEP 1108倍、EPP 5倍

PCTは長期飲酒、エストロゲン、鉄などによって誘発される病型^{18,19)}で、我が国において発見されているのはすべて後天性のポルフィリン症^{4,5)}である。PCTは放置すると肝硬変、肝臓がんに移行するが、適切な対症療法によっては尿中ポルフィリンが減少し、正常に回復するユニークな病型で、未だにその発症機序は不明である。最近ではC

型肝炎との合併症が多く報告されている^{20,21)}。

3. 血液中総ポルフィリンの分画測定

血液中のポルフィリン測定は赤芽球性ポルフィリン症(CEP、EPP)の診断に重要であるが、鉄芽球性貧血症、鉄欠乏性貧血、鉛中毒、溶血性貧血症で高値を示す。これら疾患においてはFPおよびZPの増量比が異なることが知られている¹⁴⁾。そこで、血液中のポルフィリン測定としてはFPとZPの両方を同時に測定することが望ましく、これを可能にしたのが我われの開発したHPLC法である¹⁴⁾。

表4に赤芽球性ポルフィリン症(EPP、CEP)の血液中ポルフィリンの平均値、標準偏差、最大値、最小値を示した。表よりEPPではFPが最大19,298 μg/dlRBCを示した。CEPではFPはあまり増量せ

表4 赤芽球性ポルフィリン症の血中ポルフィリン量(μg/dlRBC)

健常者	CP	FP	ZP	Total P	FP/ZP
n	23	27	27	27	27
Mean	1.7	12.6	62.3	76.3	0.2
SD	0.6	15.5	31.0	43.0	0.1
Max	2.9	67.8	142.8	172.3	0.7
Min	0.6	2.1	20.0	23.7	0.0

EPP	CP	FP	ZP	Total P	FP/ZP
n	43	43	39	39	43
Mean	7.4	4637.4	282.1	4900.7	28.3
SD	9.3	3972.7	244.6	4131.6	33.6
Max	41.1	19398.7	883.3	20166.7	134.8
Min	0.9	179.1	33.2	191.7	3.8

CEP	CP	FP	ZP	Total P	FP/ZP
n	8	9	8	8	8
Mean	57.1	156.3	275.9	393.6	0.3
SD	7.3	289.5	296.1	325.4	0.1
Max	65.8	924.0	805.0	958.8	0.5
Min	45.8	38.8	98.0	194.2	0.1

n: 例数, CP: coproporphyrin, FP: free erythrocyte protoporphyrin, ZP: zinc protoporphyrin, RBC: red blood cell, Total P: total porphyrins

ず、ZPの方がより増量していた。そこで、各病型の平均値を健常者の平均値で割った値を図8に示した。図より、EPPはFPが著明に増量し、CEP

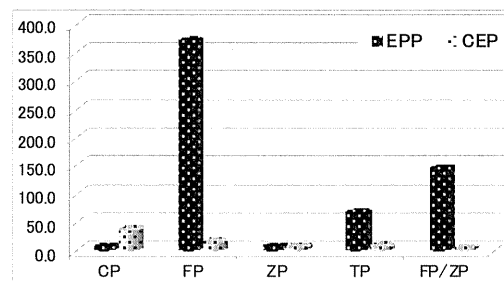


図8 赤芽球性ポルフィリン症の健常者の平均値に対する倍率
EPP、CEPに対する赤血球中のポルフィリン量の健常者に対する比率

	CP	FP	ZP	Total	FP/ZP
EPP	4.5	366.9	4.5	64.2	141.4
CEP	34.3	12.4	4.4	5.2	1.6

とは著しく異なっていることが分かった。表並びに図には示さなかったが、鉄欠乏性貧血症や鉛中毒では ZP が優位となり、EPP、溶血性貧血症、鉄芽球性貧血症では FP が増量、優位となることが分かっている¹⁴⁾。したがって、CEP であっても鉄欠乏性貧血を伴えば ZP 上昇、溶血性貧血を伴っていれば FP が増量するので、判別には注意を要する。

4. 糞便中のポルフィリン分析

現在、わが国においては糞便中のポルフィリン分析は行われていない。糞便中には約 20 種類の

ポルフィリンが検出され、いまだに同定されていないポルフィリンが多い。その理由としては、一部の腸内細菌によって生産されたものが糞便中に出現することが推測される¹⁶⁾。

糞便ポルフィリン分析の重要性は VP、HCP、EPP の 3 病型である。VP、HCP の急性ポルフィリン症ではキャリアの診断に重要であり、EPP では血液中の FP がそれほど増量しないが、糞便中には大量の PP が出現する患者もあり、早期診断にも重要である。したがって、ポルフィリン症の鑑別・確定診断には、尿、血液、糞便の 3 種類の検体を用いて総合的に判断するのが望ましい。

表5. 各種ポルフィリン症の糞便中のポルフィリンの平均値、標準偏差、最大値、最小値(μg/g)

健康者	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.52	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
n	16	15	14	21	21	6	24	22	20	108	17	15	17	16	11	5	24	24
Mean	0.8	0.2	0.1	1.2	0.7	0.2	3.8	2.2	1.7	0.1	0.5	3.4	9.3	2.7	0.6	0.6	22.5	44.8
SD	1.0	0.3	0.0	0.9	0.7	0.2	2.5	1.6	1.5	0.6	0.5	5.9	19.9	3.8	0.8	0.4	26.1	47.5
Max	4.2	1.1	0.2	4.1	2.5	0.6	11.5	6.0	5.7	4.9	2.2	20.3	69.9	13.1	2.6	1.0	121.1	218.3
Min	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	1.0	0.3	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	8.0

AIP	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.5	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
n	7	4	4	4	4	2	10	9	7	75	1	3	3	7	2	2	10	10
Mean	6.0	0.8	4.0	2.2	1.5	0.1	9.4	2.5	2.0	0.1	0.2	0.4	2.4	1.1	0.5	0.6	18.3	44.8
SD	4.7	1.1	7.1	1.2	0.8	0.0	9.6	1.1	1.2	0.7	0.0	0.3	2.0	1.0	0.0	0.4	16.4	27.5
Max	12.6	2.4	14.6	3.5	2.7	0.2	35.1	4.0	3.9	5.5	0.2	0.7	4.0	3.0	0.5	0.9	54.8	93.6
Min	0.9	0.1	0.1	1.1	0.8	0.1	3.3	1.0	0.4	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	0.5	0.3	2.6	11.5

HCP	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.5	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
n	5	5	12	17	17	4	18	17	18	20	2	2	3	9	2	1	18	18
Mean	3.6	1.9	14.9	24.5	159.7	5.6	52.6	786.5	28.6	5.7	2.7	1.7	0.7	17.9	1.6	1.3	11.6	1035.7
SD	4.1	2.3	23.5	25.7	156.4	4.2	71.9	914.6	37.7	10.9	2.8	1.5	0.5	42.8	1.4	-	17.2	1259.6
Max	8.7	5.1	86.0	104.4	464.0	10.2	246.4	3359.6	142.4	48.8	4.7	2.8	1.2	131.6	2.6	1.3	72.0	4233.8
Min	0.1	0.1	0.4	1.6	8.6	0.9	1.5	9.7	1.7	0.0	0.7	0.6	0.4	0.1	0.5	1.3	0.0	0.0

VP	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.5	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
n	6	6	6	9	9	-	12	11	11	14	3	4	7	9	3	3	12	12
Mean	6.9	8.9	22.5	25.9	53.2	-	56.5	168.2	85.2	20.7	28.3	27.0	30.5	55.8	20.7	4.7	356.7	914.8
SD	8.2	20.3	49.6	38.0	70.4	-	70.9	220.9	95.1	30.1	23.5	36.6	46.9	41.6	22.2	5.9	334.7	880.2
Max	22.6	50.3	123.6	118.4	190.8	-	238.4	731.2	275.6	102.4	43.4	78.0	135.6	134.2	44.8	11.5	1031.2	3103.9
Min	0.7	0.1	0.2	0.4	0.8	-	2.0	1.2	1.4	0.0	1.2	0.4	4.2	0.4	1.0	26.1	26.1	49.2

PCT	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.5	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
n	14	16	18	4	3	4	21	12	8	44	-	2	2	19	1	2	21	21
Mean	23.7	9.1	68.0	10.6	7.2	12.7	21.6	7.1	5.5	2.7	-	4.4	16.6	3.4	0.1	27.7	14.0	204.3
SD	42.1	15.1	98.5	8.5	6.9	9.0	19.5	9.1	9.2	8.0	-	5.5	19.6	2.5	-	39.0	15.9	247.8
Max	162.6	60.4	304.0	20.5	14.0	21.6	60.3	29.9	28.1	50.0	-	8.2	30.5	7.3	0.1	55.3	68.6	1029.7
Min	0.6	0.1	0.0	0.6	0.2	0.1	1.2	0.7	0.6	0.0	-	0.5	2.7	0.0	0.1	0.1	1.1	5.5

EPP	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.5	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
n	16	15	14	15	15	4	32	29	27	61	13	13	14	29	12	10	35	35
Mean	1.0	0.2	1.1	1.9	9.5	0.8	6.9	24.7	33.1	2.3	16.0	20.6	7.8	9.1	3.0	5.8	814.9	520.0
SD	0.9	0.4	1.9	2.9	21.6	1.1	10.5	75.1	65.1	7.8	28.9	49.1	9.5	15.2	4.1	10.3	2901.6	2327.7
Max	3.5	1.8	7.2	11.5	78.5	2.4	44.9	299.0	337.2	55.3	99.7	178.0	30.0	64.4	12.2	31.1	17258.0	18011.9
Min	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.2	0.0

CEP	6P	CPI	CPIII	HP	18.5	MP	PP	Total P
n	1	1	1	1	8	1	1	1
Mean	20.4	2167.6	390.4	18.1	0.4	32.0	33.7	3091.6
SD	-	-	-	-	-	-	-	-
Max	20.4	2167.6	390.4	18.1	3.6	32.0	33.7	3091.6
Min	20.4	2167.6	390.4	18.1	0.0	32.0	33.7	3091.6

n: 例数、AIP; acute intermittent porphyria, HCP; hereditary coproporphyrin, VP; variegate porphyria, PCT; porphyria cutanea tarda, EPP; erythropoietic protoporphyria, CEP; congenital erythropoietic porphyria, UP; uroporphyrin, 7P; heptaporphyrin, 6P; hexaporphyrin, 5P; pentaporphyrin, isoCP; iso-coproporphyrin, HP; harderoporphyrin, ZP, zinc protoporphyrin, DP; deuteroporphyrin, MP; mesoporphyrin, PP; protoporphyrin, 18.5, 27.3, 30.5; retention time, Total P; total porphyrins

表7. 各種ポルフィリン症の糞便中ポルフィリンの平均値の健康者に対する倍率

	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.52	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
AIP	7.1	4.2	68.5	1.8	2.3	0.9	2.5	1.1	1.2	0.7	0.5	0.1	0.3	0.4	0.8	1.0	0.8	1.0
HCP	4.2	10.1	257.5	19.8	235.2	35.0	13.9	359.7	16.4	38.9	5.7	0.5	0.1	6.6	2.5	2.0	0.5	23.1
VP	8.3	47.5	390.4	20.9	78.3	0.0	14.9	76.9	49.0	142.5	59.9	7.9	3.3	20.6	33.2	7.4	15.8	20.4
PCT	28.3	48.5	1178.6	8.5	10.6	79.0	5.7	3.3	3.2	18.8	0.0	1.3	1.8	1.2	0.1	44.1	0.6	4.6
EPP	1.2	1.3	18.6	1.5	14.0	5.0	1.8	11.3	19.0	16.1	33.8	6.1	0.8	3.4	4.7	9.3	36.1	11.6

略語: 表5に同じ

表6. 各種ポルフィリン症の糞便中ポルフィリンの平均値

健康者	UP	7P	6P	5I	5II	isoCP I	CPI	CPIII	HP	18.52	ZP	DP	23.7	MP	27.3	30.6	PP	Total P
AIP	6.0	0.8	4.0	2.2	1.5	0.1	9.4	2.5	2.0	0.1	0.2	0.4	2.4	1.1	0.5	0.6	18.3	44.8
HCP	3.6	1.9	14.9	24.5	159.7	5.6	52.6	786.5	28.6	5.7	2.7	1.7	0.7	17.9	1.6	1.3	11.6	1035.7
VP	6.9	8.9	22.5	25.9	53.2	0.0	56.5	168.2	85.2	20.7	28.3	27.0	30.5	55.8	20.7	4.7	356.7	914.8
PCT	23.7	9.1	68.0	10.6	7.2	12.7	21.6	7.1	5.5	2.7	0.0	4.4	16.6	3.4	0.1	27.7	14.0	204.3
EPP	1.0	0.2	1.1	1.9	9.5	0.8	6.9	24.7	33.1	2.3	16.0	20.6	7.8	9.1	3.0	5.8	814.9	520.0

略語: 表5に同じ

表5に糞便中ポルフィリンの平均値、標準偏差、最大値、最小値を示した。表のポルフィリン類において、数字にて示したもの(18.5, 23.7, 27.3, 30.6)は保持時間(分)を示し、本HPLC分析システムの保持時間に検出されたポルフィリン類には標準物質がなく、未同定である。表6に健常者および各病型のポルフィリン症の糞便中ポルフィリンの平均値をまとめて示した。表7は各々の平均値の健常者に対する比率を示した。糞便中には主にPP(血液ではFPと示す)などの脂溶性ポルフィリンである2カルボキシルポルフィリン(表7において主にZP~PPまでに出現するポルフィリン類を指す)が出現する。COPRO(CP)は水溶性、脂溶性の両方の性質を持ち、糞便中にも出現する。しかし、PCT、VP、CEPなどのポルフィリン症では体液中の水溶性ポルフィリン(UP、7P、6P)も出現する。これらをまとめたのが図9、10である。

は、健常者の平均値のそれぞれ1.0、23.1、20.4、4.6および11.6倍であった。

5. その他のポルフィリン代謝異常症

化学的ポルフィリン症の代表として鉛中毒^{2,2)}の尿中ポルフィリンのHPLCパターンを図12に示した。鉛中毒ではCPⅢが異常に増量し、他の遺伝性ポルフィリン症と異なったパターンを呈する。その他、肝硬変症、肝がんなどの肝臓疾患、鉄欠乏性貧血症や鉄芽球性貧血症などの血液疾患、代謝亢進、内分泌疾患など多くの疾患で、また、ピ素や水銀などの元素中毒、ダイオキシンやPCBなどの多芳香族ハロゲン化合物、フェノバルビタール、セドルミド、グリセオフルビン、カルバマゼピン等多くの医薬品によって体内のポルフィリン代謝の異常が起こることが知られている¹⁻³⁾。これら疾患をまとめてポルフィリン尿症という。ポルフィリンの測定はこれら疾患の病態生化学機序解明にも重要である。

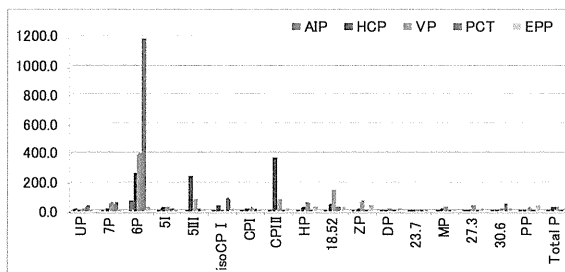


図10. 各種ポルフィリン症の糞便中ポルフィリン平均値の健常値に対する倍率

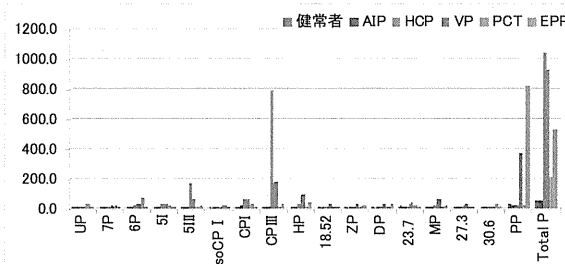


図9. 各種ポルフィリン症の糞便中ポルフィリンの平均値

図11は各種ポルフィリン症の総ポルフィリンに対する健常値に対する比率を示した。AIP、HCP、VP、PCTおよびEPP

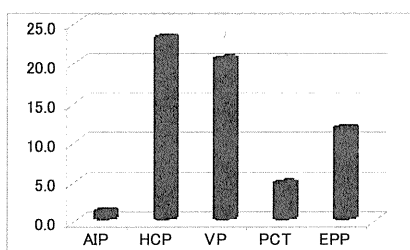


図11. 各種ポルフィリン症の健常値に対する糞便中ポルフィリンの倍率

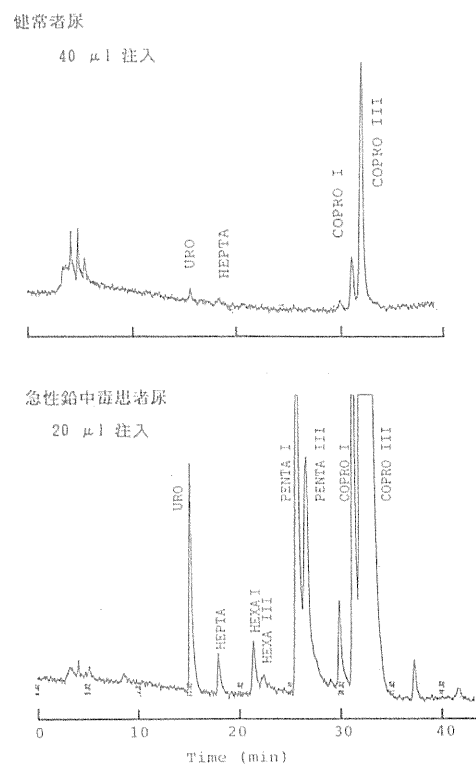


図12. 鉛中毒の尿中ポルフィリンのHPLC
図上: 健常者尿、図下: 急性鉛中毒患者尿

III. 結 論

ポルフィリン症の診断には臨床症状による診断が最も重要であるが、その症状は多彩であり、現実的ではない。そこで、ポルフィリン症として赤色尿や蛍光赤血球などの典型的な症状を診た場合に、簡易検査として Watson-Schwartz 法^{2,3)} や我われが開発したマイクロプレート法^{2,4)}、光照射法^{2,5)} などによって陽性反応が出た場合に、鑑別・確定診断法として本論文に記載した、生化学検査データが必要である。

その検査データとして、表8に生化学的検査の特徴をまとめた。そして、診断のための具体的な検査値としては以下の値の範囲あることによって鑑別診断することを提言する。

表8 ポルフィリン症の分類と特徴

ポルフィリン症		主要症状			生化学的所見			
分類	病型	皮膚	神経	肝	尿	血液	糞便	
赤芽球性肝	皮膚	CEP	+++	-	+	UP I>CPI	CP,ZP	CP
	皮膚	EPP	+~++	-	+	肝障害によりCP I	FP	PP
	肝	HEP	+++	-	+	UP III>7P, CP	FP, CP	PP, isoCP
急性	肝	PCT	+~+++	-	+	UP III>7P	正常	isoCP, CP>PP
	肝	VP	+~+++	++	+	ALA, PBG, CP III>UP III	正常	PP>CP, X-P
	肝	HCP	-~+++	++	+	ALA, PBG, CP III	正常	CP>PP
慢性	肝	AIP	-	++	+	ALA, PBG	正常	正常

略語は本文に示した。EPPは蛍光赤血球、EPP以外のポルフィリン症では赤色尿が診られる。生化学的所見でのポルフィリン代謝関連物質は特徴的な増量所見を示す。

1. 急性ポルフィリン症の生化学診断基準案

AIP : 尿中

- 1) ALA : 正常値の 3~90 倍 (平均約 20 倍)
- 2) PBG : 正常値の 10~270 倍 (平均約 90 倍)

HCP :

- 1) 尿中 ALA : 正常値の 1.5~50 倍 (平均約 8 倍)
- 2) 尿中 PBG : 正常値の 2~70 倍 (平均約 25 倍)
- 3) 尿中 CP : 正常値の 3~800 倍 (平均約 160 倍)
- 4) 糞中 CP : 正常値の約 360 倍

VP :

- 1) 尿中 ALA : 正常値の 1.5~10 倍 (平均約 5 倍)
- 2) 尿中 PBG : 正常値の 1.5~20 倍 (平均約 10 倍)
- 3) 尿中 UP : 正常値の 2~500 倍 (平均約 80 倍)
- 4) 尿中 CP : 正常値の 4~80 倍 (平均約 25 倍)
- 5) 糞 CP, PP : 正常値の約 80 倍、16 倍

2. 皮膚型ポルフィリン症の生化学診断基準案

EPP : 赤血球中

- 1) PP : 正常値の 15~1540 倍 (平均約 370 倍)

PCT : 尿中

- 1) UP : 正常値の約 6~950 倍 (平均約 180 倍)
- 2) 7P : 正常値の約 10~2400 倍 (平均約 300 倍)

CEP :

- 1) 尿中 UP I : 正常値の 35~11000 倍 (平均約 4000 倍)
- 2) 尿中 CP I : 正常値の 60~2000 倍 (平均約 700 倍)
- 3) 血液中 CP I : 正常値の約 30 倍

IV. 謝 辞

本研究は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」の研究予算によって行われた。

V. 文 献

- 1) 近藤雅雄 : ポルフィリン代謝異常症、内科学書、改訂第7版 p399-405、中山書店、2009.
- 2) 近藤雅雄 : ポルフィリン症. 医学のあゆみ 190 : 1123-1127、1999.
- 3) Kappas A, Sassa S, Galbraith RA, Nordmann Y: The Porphyrin. In: The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease (ed by Scriver CR, et al), p.2103-2159, McGraw-Hill, New York, 1995.
- 4) Kondo M, Yano Y, Shirataka M, Urata G, Sassa S: Porphyrin in Japan: Compilation of all cases reported through 2002. Int J Hematol 79 : 448-456, 2004.
- 5) 近藤雅雄、矢野雄三、浦田郡平 : 本邦において報告されたポルフィリン症、ポルフィリン 18(4) : 5-11, 2009.