

図2. HMBS遺伝子のゲノム配列の解析

GCACGATCCCGAGACTGTTTTTCTGTGTNNCN
) 435 440 445 450 455 460



Exon 12

GAGACTCTGCTTCGC
 GAGACTGCTTCGCTG

↑
 728-729CT del ation
 FS Stop 6

解析した家系中、2家系（新潟、及び、山形）で同じ病因遺伝子異常(730-731delCT)を認めた(図2)。この原因は何であろうか？原因としては以下の2つが考えられる；①遠い祖先が同じ、すなわち、創始者効果。②散発生、すなわち、ホットスポット。本遺伝子異常には、幾つか遺伝子変異の起こり易い領域、ホットスポットの報告が種々なされているが、本邦での報告はない。もし、

この領域がホットスポットということであれば、本疾患の病因の理解に、及び、実際の解析の上でも有用な情報となると思われた。そこで、この領域がホットスポットであるかどうかを検討した。

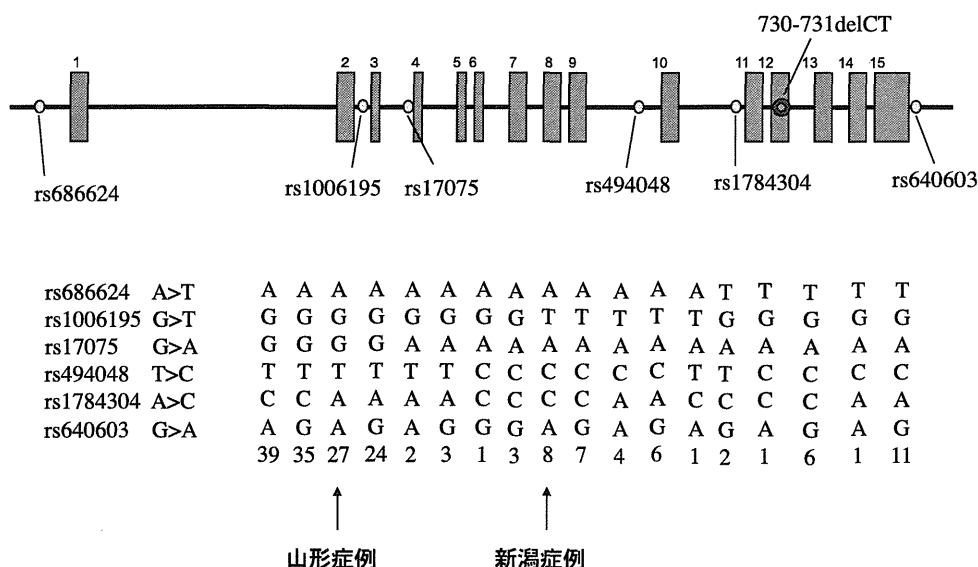
B. 研究方法

本遺伝子異常(730-731delCT)を持つ2症例が同一家系に起因するかどうかを、本遺伝子の全領域をカバーする、6個の単塩基多型(SNP)を選び(図3)、本SNPsを用いたハプロタイプ解析より検討した。

C. 研究結果

本遺伝子異常が載っている遺伝子領域のハプロタイプが、この2症例では異なっており、同一の祖先に起因した異常とは考えにくかった。遺伝子異常(730-731delCT)が、これら塩基配列とはことなるが、本邦のみならず、スウェーデン、フランス、イギリス、ポーランド、イタリア、アリゼンチン、イスラエルでも報告されており、多人種、民族で見られることより、創始者効果ではなく、ホットスポット変異と考えられた。

図3. HMBS730-731delCT遺伝子異常を持つ2症例のハプロタイプ解析



D. 考案

これまでに、9種類の遺伝子異常が世界各地の複数の独立した家系で認められており(**recurrent mutation**)、ホットスポット変異と考えられている。これら、ホットスポットは、いずれも **CpHpG** あるいは **CpG** 塩基配列領域にあり、まさに変異感受性領域であった。

E. 結論

同一の遺伝子異常をもつ、異なる家系の急性間欠生ポルフィリン症患者2症例の解析より、本遺伝子異常(**730-731delCT**)は、遺伝子のホットスポットに生じた変異と考えられた。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

赤芽球ALASの酵素異常とポルフィリン代謝

研究分担者 近藤雅雄 東京都市大学 人間科学部教授

研究協力者 網中雅仁 聖マリアンナ医科大学 予防医学教室講師

研究要旨

赤芽球 δ -アミノレブリン酸合成酵素(ALAS)活性の異常を示す 2 つの疾患について、そのポルフィリン代謝について検討した。ALAS 活性の異常高値を見る新しい型のX連鎖優性プロトポルフィリン症(XLDP)については、文献的にプロトポルフィリンの異常高値と赤芽球性プロトポルフィリン症(EPP)と同様の皮膚光線過敏症を見ることがある。一方、今回検討した ALAS 活性の異常低値が見られた鉄芽球性貧血症 46 例（殆どが X連鎖性鉄芽球性貧血症、XLSA と推測される）では、ALAS の異常低値に対してPBGD 活性の高値並びにポルフィリン代謝産物の増量、とくにプロトポルフィリンの増量を見た。そして、赤血球遊離プロトポルフィリン (FEP) が 1000 μ g/dl RBC 以上を示した 4 例の患者では EPP と同様の皮膚の光線過敏症を見た。

そこで、FEP 値の変化と他のポルフィリン代謝関連物質、並びに肝機能や血液検査データとの関係を追及した。

その結果、FEP と ALAS、ferrochelatase (FEC)には有意な相関($p<0.05$)が認められた。また、ALAS と AST、ALT($p<0.01$)および AST と Ferritin、血清鉄($p<0.05$)に有意な相関を認めた。さらに、因子分析の結果、FEP の変化が、尿中 ALA、ウロポルフィリン (UP)、コプロポルフィリン (CP) I、CPIII、ALAS、Ret、Ferritin、AST、ALT、MCH の変化と関連性のあることが明らかとなった。とくに FEP の変化は Ferritin と MCH の関連性が大きいことが示唆された。AST や ALT にも関連性が見出されたので、ALAS や肝機能との関連性も指摘された。

A. 研究目的

生体内に広く存在するヘム蛋白のヘム部分を生成する系はヘム合成系と呼ばれるが、途中、いくつかの種類のパルフィリン体を経て合成されることからパルフィリン代謝系とも呼ばれる。この系には 8 つの酵素が関与しており、通常、最初の δ -アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS) が律速酵素となってヘムの生成が制御されている。この酵素系のいずれかの部分に異常が生じると、ヘム生産量の減少と同時に体内にポルフィリンまたはその前駆物質が大量に生産・蓄積されることになり、同時に多彩な症状を呈することになる。

これがポルフィリン症と呼ばれる一連の疾患である。そこで、ポルフィリン症を「病気の主座がポルフィリン代謝の異常にある一群の疾患」と定義する。本症は他の先天性代謝異常症と同じく極めてまれな疾患であるが、その特異的な症状のため、古くから（世界最初の報告例は 1876 年）知られ、注目されてきた。本症は 1923 年に AE Garrod により先天性代謝異常症の代表的疾患として取り上げられて以来、現在までに 8 病型が知られている。

本症の分類は酵素異常がどの臓器に発現するかによって、肝性と赤芽球性に大別される。しか

し、一般的には皮膚の光線過敏症状を主とする皮膚型ポルフィリン症（先天性赤芽球性ポルフィリン症；CEP、赤芽球性プロトポルフィリン症；EPP、肝赤芽球性ポルフィリン症；HEP、晩発性皮膚ポルフィリン症；PCT）と急性の神経症状を主とする急性ポルフィリン症（急性間欠性ポルフィリン症；AIP、多様性ポルフィリン症；VP、遺伝性コプロポルフィリン症；HCP、 δ -アミノレブリン酸脱水酵素欠損性ポルフィリン症；ADP）として分類されることが多い。

また、最近 ALAS2 の C 末端側に deletion を持ち、ALAS2 活性の異常高値を示し、光線過敏症を有する 8 家系のポルフィリン症が見いだされ、新型ポルフィリン症として X 連鎖優性プロトポルフィリン症 (XLDP) と命名されたが、XLDP についての情報は少ない。

本研究では ALAS2 の異常低値を示す鉄芽球性貧血症 46 例のポルフィリン代謝について検討し、興味ある結果を得たので報告する。

B. 研究方法

1977 年から 2000 年までに全国の病院から鉄芽球性貧血症と診断された患者において、医師より病態機序解明を目的に患者にインフォームド・コンセントを実施して採取した生検材料（骨髓液、へパリン加採血液、随時尿、糞便）について、骨髓赤芽球 ALAS 活性の測定を依頼された 46 例（この内 37 例が X 連鎖性鉄芽球性貧血症 (XLSA) の疑い、残り 9 例については遺伝子検査を行っておらず、分類不明の鉄芽球性貧血症）を対象とした。

今回、-80°C に保存された血液、尿、糞便中のポルフィリン代謝産物を測定した。骨髓赤芽球ポルフィリン代謝系酵素活性及び赤血球、尿、糞便ポルフィリン代謝産物の測定はすべて著者らの方法によって測定した。すなわち、赤芽球 ALAS、ferrochelatase (FEC) および赤血球 ALA dehydratase (ALAD) 活性は比色法、赤血球 porphobilinogen (PBG) deaminase (PBGD) 活性

は蛍光法、赤血球、尿、糞便中のポルフィリン代謝産物の測定は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法によって、各々測定した。また、血液検査、生化学検査、ミネラル類、ビタミン類等は、各病院医師からの報告データを基に集計した。統計学的解析には、SPSS Statistics 18 を用いた。

(倫理面への配慮)

1) データの管理・保管

患者および医師の個人名など、個人情報にかかわる情報と測定データは別途管理している。プライバシーに関わる情報は紙の場合は鍵のかかる保管庫にて管理しており、電子媒体による情報は研究分担者個人のパーソナルコンピュータ上及びフラッシュメモリでのバックアップにて管理している。研究の終了と同時に必要に応じてシュレッダーにより裁断、あるいは電氣的に消去する予定である。なお測定データの管理はすべて個人が特定できないように ID 番号にて管理している。

表1. 骨髓及び血液検査結果

| Case no. | Age | Sex | RBC (x10 ⁹ / μ l) | Ht (%) | Hb (g/dl) | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | WBC (x10 ³ / μ l) | Pl (x10 ⁴ / μ l) | Reticulo-cytes (%) | Sidero-blasts (%) | Ringed sideroblasts form (%) |
|----------|------|------|----------------------------------|--------|-----------|--------|--------|-----------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------|-------------------|------------------------------|
| A群 | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 63 | M | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 | 80 | M | 2.44 | 27.0 | 10.1 | 111.0 | 36.5 | 33.2 | 3.2 | 252.0 | — | — | — |
| 3 | 57 | M | 2.74 | 19.4 | 6.9 | 71.0 | 24.0 | 33.8 | 3.9 | 120.0 | 0.4 | 62.5 | 15 |
| 4 | 74 | M | 2.83 | 25.1 | 8.1 | — | — | — | 2.7 | 7.1 | 0.5 | 79 | 22 |
| 5 | 1 | M | 3.61 | 21.5 | 5.7 | 59.6 | 15.8 | 26.5 | 9.1 | 56.9 | 2.0 | — | — |
| 6 | — | — | 3.11 | 25.8 | 7.8 | — | — | — | 8.0 | 11.3 | 13.0 | 85 | 26 |
| 7 | 67 | F | 2.13 | 28.0 | 5.7 | 85.7 | 269.0 | — | 7.3 | 267.5 | 2.9 | 95 | 41 |
| Mean | 2.81 | 24.5 | 7.4 | 81.8 | 86.1 | 31.2 | 5.7 | 101.1 | 3.8 | 80 | 80 | 26 | — |
| SD | 0.52 | 3.3 | 1.7 | 22.2 | 121.8 | 4.1 | 2.8 | 124.3 | 5.3 | 14 | 11 | — | — |
| B群 | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 73 | M | 2.19 | 19.2 | 6.5 | 107.6 | 34.9 | 32.4 | 2.9 | 14.5 | 1.7 | 95 | 64 |
| 2 | 71 | F | 1.32 | 13.3 | 4.4 | 101.0 | 33.3 | 32.8 | 2.4 | 13.6 | — | — | 30 |
| 3 | 36 | M | 1.29 | 13.2 | 4.7 | 102.0 | 36.7 | 35.8 | 4.7 | — | 2.5 | — | — |
| 4 | 79 | F | 1.45 | 20.5 | 5.6 | — | — | — | 3.0 | 19.5 | 1.1 | 98 | 68 |
| 5 | 71 | F | 2.03 | 22.8 | 7.8 | — | — | — | 3.7 | 17.1 | 6.6 | — | 35 |
| 6 | — | F | 2.54 | 26.2 | 8.7 | — | — | — | 2.6 | 19.9 | 8.0 | 84 | 52 |
| 7 | 88 | M | 2.82 | 33.5 | 10.7 | — | — | — | 8.1 | 22.6 | 1.1 | — | 60 |
| 8 | 38 | M | 2.28 | 23.0 | 7.7 | — | — | — | — | — | 2.6 | — | 41 |
| Mean | 1.89 | 21.5 | 7.0 | 103.5 | 35.0 | 33.7 | 3.9 | 17.9 | 3.4 | 9.2 | 5.0 | 92 | 50 |
| SD | 0.58 | 6.7 | 2.1 | 3.6 | 1.7 | 1.9 | 2.0 | 3.4 | 2.8 | 7 | 15 | — | — |
| C群 | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 15 | F | 1.57 | 14.0 | 4.8 | 89.0 | 30.6 | 34.3 | 2.9 | 3.1 | 1.0 | 23 | 67 |
| 2 | — | — | 1.92 | 22.5 | 7.6 | — | — | — | 6.6 | 38.2 | — | — | 18 |
| 3 | — | — | 2.22 | 20.0 | 6.9 | 90.1 | 28.9 | 32.0 | 2.9 | 35.6 | — | — | 30 |
| 4 | 59 | M | 2.66 | 21.0 | 7.2 | — | — | — | 4.2 | 90.2 | 1.3 | 68 | 25 |
| 5 | — | — | 2.99 | 28.3 | 9.3 | — | — | — | 4.5 | 31.2 | 1.0 | — | 22.3 |
| 6 | 50 | F | 3.00 | 30.7 | 9.1 | — | — | — | 3.0 | 11.1 | — | — | 38 |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | 70 | F | 2.87 | 28.2 | 8.1 | 98.2 | 28.2 | 28.7 | 3.1 | 13.5 | 1.9 | — | — |
| 9 | 81 | M | 0.63 | 11.1 | 2.6 | 130.1 | 41.8 | 32.1 | 1.4 | 17.7 | — | — | 22 |
| 10 | 41 | M | 2.37 | 23.6 | 7.1 | 99.6 | 30.0 | 30.1 | 3.4 | 29.2 | — | — | — |
| 11 | — | M | 2.09 | 22.2 | 7.7 | 106.1 | 36.7 | 34.6 | 7.2 | 41.6 | 0.9 | 97 | 25 |
| 12 | 10 | F | 1.65 | 17.4 | 5.7 | 105.5 | 34.5 | 32.8 | 4.6 | 31.7 | 2.3 | — | 27.5 |
| Mean | 2.20 | 21.7 | 6.9 | 102.7 | 33.0 | 32.1 | 4.0 | 31.2 | 1.4 | 6.3 | 31 | — | — |
| SD | 0.74 | 6.0 | 1.9 | 13.8 | 5.0 | 2.1 | 1.7 | 23.1 | 0.6 | 37 | 15 | — | — |
| D群 | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 33 | F | 0.89 | 8.4 | 2.9 | 91.0 | 34.2 | — | 1.8 | 12.0 | 1.1 | — | 30 |
| 2 | — | — | — | 19.5 | 6.6 | — | — | — | 12.8 | 14.2 | 8.0 | — | 65 |
| 3 | 70 | M | 2.13 | 22.0 | 7.6 | 106.0 | 35.2 | 33.2 | 1.8 | 40.4 | 3.0 | 50 | 20 |
| 4 | — | — | 2.16 | 19.8 | 6.7 | 91.7 | 31.2 | 34.0 | 6.6 | 18.1 | — | — | — |
| 5 | 69 | M | 1.82 | 19.9 | 6.7 | 109.7 | 36.6 | 33.4 | 5.6 | 26.6 | 2.3 | 86 | 39 |
| 6 | 78 | F | 1.78 | 16.7 | 5.4 | 84.0 | — | — | 32.3 | 0.9 | 10.0 | — | 15 |
| 7 | — | — | 1.87 | 19.2 | 5.7 | — | — | — | 6.6 | 4.9 | — | — | — |
| 8 | 43 | M | 1.46 | 12.0 | 4.1 | — | — | — | 2.7 | 35.1 | 0.8 | 98 | 57 |
| 9 | 33 | F | — | 15.5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 10 | 52 | — | 2.81 | 30.0 | 9.4 | 106.4 | 34.8 | 32.7 | 4.5 | 21.3 | 5.0 | — | — |
| 11 | 79 | M | 1.64 | 16.9 | 5.2 | 102.0 | 31.8 | 30.8 | 3.9 | 13.9 | — | 92 | 8 |
| 12 | 27 | M | — | 17.7 | 6.0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 13 | 15 | M | 5.30 | 32.9 | 10.6 | 62.1 | 20.0 | 32.4 | 3.8 | 21.6 | 1.0 | 59 | 42 |
| 14 | 6 | M | 3.05 | 29.2 | 5.9 | — | — | — | 7.2 | 42.2 | 1.2 | — | 62 |
| 15 | 17 | M | 4.72 | 29.2 | 8.5 | 61.9 | 18.0 | 29.0 | 5.1 | 43.1 | — | — | — |
| 16 | 16 | M | 4.60 | 31.7 | 7.9 | — | — | — | 3.2 | — | 0.8 | 75 | 30 |
| 17 | 20 | M | 3.84 | 31.5 | 9.3 | 82.0 | — | 29.5 | 6.3 | 14.8 | 1.1 | — | — |
| 18 | 4 | M | 5.63 | 38.1 | 12.1 | 66.0 | 19.7 | 30.0 | 6.8 | 70.7 | 1.0 | 51 | 10 |
| 19 | — | — | 1.78 | 14.5 | 4.5 | 81.6 | 24.5 | 31.1 | — | 19.8 | 3.6 | — | 86 |
| Mean | 2.8 | 21.9 | 7.0 | 87.9 | 28.6 | 31.7 | 5.0 | 26.5 | 2.4 | 73.0 | 38.7 | — | — |
| SD | 1.5 | 6.0 | 2.4 | 17.9 | 7.5 | 1.7 | 2.9 | 16.9 | 2.2 | 19.9 | 24.6 | — | — |

プロトポルフィリン値が赤血球100ml中、A群: 550 μ g以上、B群: 219~421 μ g、C群: 101~195 μ g、D群: 87 μ g以下

2) インフォームド・コンセントについて

本研究で用いた試料については、すべて患者の診断のために医師から提供されたものである。したがって、試料の採取に当たってはすべて担当医師から患者本人または家族の同意を得ているものと判断する。測定結果については担当医師にのみ報告をしている。

C. 研究結果

1. 鉄芽球性貧血症の各種検査データ (表 1~4)

表 1~4 は赤血球遊離プロトポルフィリン量が 500 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC 以上を A 群、200~500 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC を B 群、100~200 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC を C 群、100 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC 以下を D 群として示した。

表 1 に年齢、性別、赤血球数 (RBC)、ヘマトクリット値(Ht)、ヘモグロビン濃度(Hb)、MCV、MCH、MCHC、白血球数(WBC)、血小板数(Pl)、網状赤血球数、鉄芽球、環状鉄芽球を示した。全症例において、RBC、Ht、Hb の異常低値を示し、白血球数も低値を示す者が多くみられた。鉄芽球においては、環状鉄芽球が全症例に見られ、その範囲は 10~68%であった (数値の不明確なものが 14 例あった)。

表 2 は骨髄赤芽球細胞ミトコンドリア内の ALAS および FEC 活性値、赤血球 ALAD、PBGD 活性値及び、尿、血液、糞便中の主なポルフィリン測定値を示した。46 例中 37 例に ALAS 活性の著明な低下がみられたが、A~C 群ともに FEP の異常高値を認め、とくに、1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC 以上の症例においては赤芽球性プロトポルフィリン症(EPP)と同様の皮膚光線過敏症が出現した。

表 3 は血清鉄(S-Fe)、フェリチン、不飽和鉄結合能(UIBC)、総鉄結合能(TIBC)、AST、ALT、ALT、LDH、ALP、総ビリルビン値、総蛋白、ハプトグロビン量を示した。表より、鉄関連物質の変動が見られ、フェリチンが高値の症例は肝機能の数値も高い事がわかった。

表2. 骨髄、赤血球、尿、及び糞便中のポルフィリン代謝関連物質の測定結果

| Case no. | Bone marrow cells | | Erythrocytes | | Urine | | | | Erythrocytes | | Feces | |
|--------------------------|--|---------------------------------------|--|----------------------------------|--------------|-------------|-------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--|
| | ALAS (nmol/ALA/10 ⁶ EPL/0.5h) | FEC (pmol/Meso/10 ⁶ EPL/h) | ALAD ($\mu\text{mol}/\text{PBGD}/\text{mlRBC}/\text{h}$) | PBGD (nmolUP/mlRBC/h) | ALA (ng/scr) | UP (mg/scr) | OP (mg/scr) | CPIII ($\mu\text{g}/\text{scr}$) | FEP ($\mu\text{g}/\text{dRBC}$) | ZPP ($\mu\text{g}/\text{dRBC}$) | PP ($\mu\text{g}/\text{gwt}$) | |
| 1 | 12.2 | — | 1.39 | 25.6 | 0.08 | 17.9 | 32.7 | 88.0 | 3266 | 99.4 | 1.576 | |
| 2 | 10.6 | — | 2.50 | 76.0 | — | 271.2 | 126.5 | 179.3 | 1594 | 230.6 | 4.28 | |
| 3 | 10.2 | — | 2.39 | — | 1.56 | 323.7 | — | 252.2 | 1331 | — | 131.2 | |
| 4 | 19.2 | 729.8 | 4.67 | 32.5 | 1.19 | 25.0 | — | 310.0 | 1298 | 70.5 | — | |
| 5 | 4.2 | — | 2.76 | 33.8 | 5.50 | 21.4 | 39.8 | 227.2 | 880 | 49.6 | 5.988 | |
| 6 | 0.5 | — | 0.85 | 31.8 | — | 21.5 | 61.3 | 168.4 | 586 | 55.1 | — | |
| 7 | 5.8 | 25.6 | 3.01 | 89.5 | — | — | — | — | 550 | 299.6 | — | |
| Mean | 9.0 | 378 | 2.51 | 48.2 | 2.08 | 113 | 65 | 204 | 1358 | 134 | 36 | |
| SD | 6.1 | — | 1.22 | 27.2 | 2.36 | 144 | 43 | 77 | 929 | 105 | 64 | |
| B群 | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 6.0 | 129.6 | 5.64 | 220.6 | 1.22 | 80.1 | 48.1 | 70.5 | 421 | 252.1 | — | |
| 2 | 8.8 | 57 | 2.98 | 89.5 | 0.86 | 43.3 | 55.4 | 178.5 | 388 | 122.8 | — | |
| 3 | 4.6 | 199.1 | 2.65 | 30.9 | 0.90 | 16.9 | — | 137.4 | 303 | — | — | |
| 4 | 8.7 | 376 | 2.64 | 58.7 | 0.64 | 23.5 | 58.1 | 221.0 | 282 | 57.4 | — | |
| 5 | 3.2 | 130 | 4.27 | 193.8 | 1.85 | 44.7 | — | 651.3 | 236 | 146.8 | — | |
| 6 | 21.8 | 170 | 1.59 | 83.2 | — | — | — | — | 232 | 95.1 | — | |
| 7 | — | — | 2.79 | 67.5 | — | — | — | — | 227 | 81.4 | — | |
| 8 | 13.9 | — | — | 21.1 | 1.82 | 39.7 | 26.9 | 107.8 | 219 | 195.5 | 3.6 | |
| Mean | 9.6 | 177 | 3.24 | 83.2 | 1.22 | 41 | 47 | 228 | 289 | 136 | 4 | |
| SD | 6.4 | 109 | 1.30 | 73.9 | 0.51 | 22 | 14 | 214 | 78 | 88 | — | |
| C群 | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 8.8 | 41.8 | 2.25 | 41.7 | — | — | — | — | 195 | 59.9 | — | |
| 2 | 5.1 | — | 2.27 | 67.9 | 1.01 | 3.5 | 10.0 | 28.5 | 181 | 44.8 | — | |
| 3 | 1.6 | — | 2.46 | 44.4 | — | 185.1 | 10.5 | 30.1 | 176 | 56.8 | 87.44 | |
| 4 | 3.2 | 282 | 4.14 | 93.6 | 1.77 | 14.8 | — | 19.5 | 170 | — | — | |
| 5 | 11.6 | — | 2.52 | 45.6 | — | 1.9 | — | 6.6 | 190 | 60.2 | 6.292 | |
| 6 | 2.3 | — | 3.95 | 116.9 | 1.13 | 85.6 | 142.3 | 136.7 | 160 | 70.9 | — | |
| 7 | — | — | 0.73 | 40.0 | 1.57 | 14.1 | 40.5 | 53.2 | 149 | 79.5 | 13.28 | |
| 8 | 5.0 | — | 2.56 | 58.3 | — | 66.7 | 38.2 | 59.5 | 122 | 624.6 | — | |
| 9 | 1.9 | 377 | 2.04 | 50.3 | 0.57 | 6.5 | — | 9.1 | 113 | 109.0 | — | |
| 10 | 22.2 | — | 1.22 | 20.8 | — | — | — | — | 107 | 62.5 | — | |
| 11 | 4.5 | 112 | 2.51 | 58.5 | 0.73 | — | — | — | 106 | 47.3 | — | |
| 12 | 8.9 | 44.7 | — | — | 1.14 | 15.3 | — | 53.9 | 101 | 48.2 | — | |
| Mean | 6.8 | 172 | 2.42 | 58.0 | 1.13 | 44 | 48 | 44 | 145 | 115 | 36 | |
| SD | 6.0 | 151 | 0.99 | 28.8 | 0.43 | 61 | 55 | 40 | 33 | 70 | 45 | |
| D群 | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 0.7 | — | — | — | — | — | — | — | 87 | — | — | |
| 2 | 3.3 | — | 2.72 | 47.3 | 1 | 24.3 | — | 108.9 | 78 | 21.5 | — | |
| 3 | 4.9 | 17 | 2.46 | 68.4 | — | — | — | — | 70 | 96.3 | — | |
| 4 | 5.6 | — | 2.43 | 49.8 | — | 7.3 | 21.6 | 51.8 | 66 | 86.1 | — | |
| 5 | — | — | 3.21 | 64.0 | — | — | — | — | 64 | 84.3 | — | |
| 6 | 7.8 | — | 3.06 | 28.0 | 2 | 31.6 | 14.5 | 22.7 | 59 | 46.6 | — | |
| 7 | 4.1 | — | 2.77 | 56.9 | — | 27.3 | 11.2 | 16.9 | 47 | 44.4 | — | |
| 8 | 7.0 | 175 | 3.10 | 56.6 | — | — | — | — | 36 | 143.7 | — | |
| 9 | 0.7 | — | 1.72 | — | — | 1.36 | 17.9 | — | 43.9 | 30 | 14.1 | |
| 10 | — | — | 1.77 | 58.7 | — | — | — | — | 30 | 142.7 | — | |
| 11 | 5.8 | — | — | — | 0.45 | 22.5 | — | 27 | 20 | — | 14.1 | |
| 12 | 1.0 | — | 3.78 | — | 1.10 | 22.5 | — | 49.0 | 19 | 92.3 | 1.92 | |
| 13 | 1.6 | 4.39 | 4.58 | 24.5 | 5.60 | 12.2 | — | 28.7 | 17 | 31.9 | — | |
| 14 | 8.8 | — | 5.28 | 32.8 | 4.59 | 33.7 | 62.9 | 183.7 | 15 | 56.3 | — | |
| 15 | 0.8 | — | 3.60 | 32.9 | — | 22.1 | 16.4 | 74.5 | 17 | 19.5 | — | |
| 16 | 22.4 | — | 3.13 | 23.9 | — | 23.5 | 30.8 | 84.4 | 13 | 62.7 | — | |
| 17 | 19.3 | — | 3.11 | 59.8 | 1.25 | 17.1 | 54.5 | 85.3 | 10 | 19.5 | 23 | |
| 18 | 3.3 | — | 3.25 | 28.1 | 0.74 | 15.4 | 26.1 | 118.2 | 9 | 70.1 | — | |
| 19 | 9.5 | — | 1.91 | 26.0 | 0.80 | 57.6 | 28.3 | 110.0 | 7 | 20.1 | — | |
| Mean | 6.3 | 65.5 | 3.1 | 43.8 | 1.9 | 38.4 | 29.6 | 71.8 | 36.6 | 64.9 | 13.3 | |
| SD | 6.2 | 95.1 | 0.9 | 16.2 | 1.8 | 55.0 | 17.9 | 47.1 | 26.2 | 40.7 | 8.7 | |
| 表3. 生化学、血清タンパク及び血清鉄の検査結果 | | | | | | | | | | | | |
| Case no. | S-Fe ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | ferritin (ng/ml) | UIBC ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | TIBC ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | AST (IU/l) | ALT (IU/l) | LDH (IU/l) | ALP (IU/l) | Tbil (mg/dl) | T.Prot (g/dl) | Hp.glo (mg/dl) | |
| 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 3 | 85 | — | 191 | — | 30 | 54 | 137 | 8 | 1.2 | 7.7 | 45 | |
| 4 | 195 | 4000 | — | 209 | 117 | 248 | 392 | 13 | 0.9 | 6.5 | — | |
| 5 | 233 | 1100 | 73 | 218 | 37 | 63 | 291 | 874 | 0.4 | 8 | 163 | |
| 6 | 110 | — | — | 157 | 11 | 9 | 220 | 138 | 0.6 | 6.4 | — | |
| 7 | 32 | — | — | 444 | 10 | 4 | 1084 | — | 0.7 | 6.5 | — | |
| Mean | 129 | 2550 | 132 | 257 | 41 | 76 | 425 | 258 | 1 | 7 | 104 | |
| SD | 80 | — | — | 128 | 44 | 100 | 380 | 415 | 0 | 1 | — | |
| B群 | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 201 | 1200 | 21 | — | 31 | 23 | 420 | 123 | 0.7 | — | — | |
| 2 | 163 | — | 41 | 204 | 11 | 6 | 313 | 57 | 1.2 | 6.3 | — | |
| 3 | 206 | 1550 | — | 324 | 29 | 34 | 1784 | 212 | 2.49 | 5.66 | — | |
| 4 | 294 | 940 | 39 | 268.6 | — | — | — | — | — | — | — | |
| 5 | 129 | 5201 | 86 | 215 | 68 | 75 | 928 | 81 | 1.5 | — | — | |
| 6 | 348 | — | — | — | 570 | 465 | 303 | 134 | — | 8.6 | 51 | |
| 7 | 196 | 720 | — | 292 | 26 | 25 | 710 | 5 | — | 7.5 | — | |
| 8 | 205 | 302 | — | 265 | — | — | 122 | — | 3.2 | — | — | |
| Mean | 218 | 1652 | 47 | 261 | 123 | 105 | 654 | 102 | 2 | 7 | 51 | |
| SD | 70 | 1789 | — | 46 | 220 | 178 | 568 | 71 | 1 | 1 | — | |
| C群 | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 163 | 330 | — | 257 | 8 | 4 | 308 | 136 | — | 7.2 | 94.7 | |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 4 | — | — | — | 28 | 27 | 776 | 8 | — | — | 6.3 | — | |
| 5 | 215 | — | — | 223 | — | — | — | — | — | — | — | |
| 6 | 302 | 288.4 | — | 344 | 31 | 89 | — | 214 | — | — | — | |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 8 | 23 | 19 | — | 301 | 18 | 12 | 314 | 164 | — | 6.1 | — | |
| 9 | 214 | 715 | — | — | 30 | 24 | 475 | 16 | 0.6 | 6.4 | — | |
| 10 | 262 | 533 | — | 20 | 10 | 11 | 280 | 10 | 1.2 | 7.7 | — | |
| 11 | 192 | — | — | 276 | 13 | 9 | 166 | 136 | — | 6.8 | — | |
| 12 | — | 482 | 38 | 224 | — | — | — | — | — | — | 48 | |
| Mean | 196 | 395 | 38 | 235 | 20 | 25 | 387 | 98 | 1 | 7 | 71 | |
| SD | 89 | 239 | — | 104 | 10 | 29 | 215 | 85 | — | 1 | — | |
| D群 | | | | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | 13 | 14 | — | — | 0.2 | — | — | |
| 2 | 23 | 150 | 97 | 120 | — | — | 599 | — | — | — | — | |
| 3 | 199 | 1600 | 11 | 323 | 12 | 8 | 120 | 163 | 1.4 | 5.9 | — | |
| 4 | 357 | 230 | — | 23 | 67 | 284 | 41 | 0.8 | 5.8 | 5.4 | — | |
| 5 | 83 | 600 | — | 210 | 10 | 3 | 258 | 6 | 0.4 | 6.6 | — | |
| 6 | 140 | 786 | — | 156 | 23 | 26 | 254 | 173 | 0.6 | 5.4 | — | |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 8 | 252 | — | — | — | 21 | 25 | 134 | 30 | — | 6.5 | 115 | |
| 9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 10 | — | — | — | — | 28 | 16 | 254 | 153 | 0.8 | 7.1 | — | |
| 11 | 121 | — | 122 | 194 | — | — | — | — | — | 0.8 | — | |
| 12 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 13 | 142 | 38 | — | 208 | 14 | 9 | 35.7 | 172 | — | 7.3 | 78 | |
| 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 15 | 234 | 1340 | — | 250 | — | — | 307 | — | 0.7 | — | — | |
| 16 | 226 | 400 | 48 | 274 | — | — | — | — | — | — | — | |
| 17 | — | — | — | — | 24 | 23 | 224 | 170 | 3.2 | 7 | 88 | |
| 18 | 79 | 37.1 | 217 | 296 | — | — | — | — | — | — | 148 | |
| 19 | 245 | 377 | — | 290 | 15 | 18 | 195 | 125 | — | 6.7 | 253 | |
| Mean | 175 | 556 | 99 | 232 | 18 | 21 | 242 | 115 | 1 | 6 | 108 | |
| SD | 93.7 | 540.0 | 78.7 | 65.5 | 6.2 | 17.9 | 143.4 | 69.1 | 0.9 | 0.6 | 75.6 | |

表4はビタミンB₆、B₁₂、葉酸、尿素窒素(BUN)、血清尿酸、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素イオンの値を示した。表より、ビタミンB₁₂高値が21例中11例(52%)であった。

表4. 各種ビタミン、腎機能、ミネラルの検査結果

| Case no. | Vitamin B ₆ (ng/ml) | Folic Acid (ng/ml) | Vitamin B ₁₂ (pg/ml) | BUN (mg/dl) | UA (mg/dl) | Na (mEq/l) | K (mEq/l) | Ca (mg/dl) | Cr (mg/dl) |
|-----------|--------------------------------|--------------------|---------------------------------|-------------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| A群 | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 3 | — | — | — | 13.4 | 7.2 | 143 | 4.2 | — | 1.5 |
| 4 | — | 9 | 830 | 18.6 | 4.6 | — | — | — | 1.1 |
| 5 | — | 12.5 | 723 | — | — | 138 | 4.3 | 5.2 | 0.2 |
| 6 | — | 2.6 | 2000 | 8 | 2.4 | 137 | 4.2 | — | — |
| 7 | — | — | — | 20.6 | — | 140 | 4.3 | — | 0.9 |
| Mean | — | 8 | 1184 | 15 | 5 | 140 | 4 | 5 | 1 |
| SD | — | 5 | 708 | 6 | 2 | 3 | 0 | — | 1 |
| B群 | | | | | | | | | |
| 1 | 5.1 | 3.5 | 1814 | — | — | — | — | — | — |
| 2 | — | — | — | 15 | 3.6 | 138 | 3.9 | 8.4 | 0.5 |
| 3 | 15.7 | 0.8 | 440 | 12 | 6.29 | 145 | 4 | — | 0.59 |
| 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 | — | 19.5 | 3200 | — | — | — | — | — | — |
| 6 | — | — | 2700 | 12 | 4.3 | 138 | 4.2 | — | 0.7 |
| 7 | — | 4.67 | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Mean | 10 | 7 | 2039 | 13 | 5 | 140 | 4 | 8 | 1 |
| SD | — | 8 | 1210 | 2 | 1 | 4 | 0 | — | 0 |
| C群 | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | 1400 | 12 | 3.6 | 141 | 3.5 | — | 0.6 |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 4 | — | — | 1700 | 18 | 10.5 | 142 | 4.8 | — | 1.3 |
| 5 | — | 2.4 | 150 | — | — | — | — | — | — |
| 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | — | 5.6 | 1145 | 14 | 3.6 | 142 | 3.4 | 8.4 | 0.6 |
| 9 | — | 4.3 | 1060 | 20.6 | 4.2 | 140 | 4.5 | 3.5 | 1 |
| 10 | — | — | — | 18 | 3.8 | 136 | 4 | — | 0.5 |
| 11 | — | — | — | 27 | 8.2 | 141 | 5 | — | 1.1 |
| 12 | 6 | 5 | 495 | — | — | — | — | — | — |
| Mean | 6 | 4 | 992 | 18 | 6 | 140 | 4 | 6 | 1 |
| SD | — | 1 | 575 | 5 | 3 | 2 | 1 | — | 0 |
| D群 | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 | — | 7.3 | 720 | — | — | — | — | — | — |
| 3 | — | — | 2200 | 13 | 7.4 | 143 | 4.4 | 9.4 | 0.8 |
| 4 | — | — | 756 | 17 | 3.6 | 141 | 4.3 | 8.9 | 0.6 |
| 5 | — | 3.1 | 2360 | 40.7 | 6.8 | 140 | 4.4 | — | — |
| 6 | 0.8 | — | 377 | 11.8 | — | 142 | 3.8 | 4 | 0.5 |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | — | — | 1330 | 19 | 5.3 | 142 | 4.8 | — | — |
| 9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 10 | — | — | — | 11.5 | 4.4 | 139 | 4.2 | 9.4 | 0.7 |
| 11 | — | — | — | 24 | — | — | — | — | 1 |
| 12 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 13 | — | — | — | 13 | 5.4 | 139 | 4.3 | — | 0.9 |
| 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 15 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 16 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 17 | 6.9 | — | 605 | 19.4 | 5.6 | 139 | 4.1 | 9.6 | — |
| 18 | 16.3 | 6.3 | — | — | — | — | — | — | — |
| 19 | — | 3.9 | 692 | 14 | 4.2 | — | — | — | 0.5 |
| Mean | 8 | 5 | 1126 | 18 | 5 | 141 | 4 | 9 | 1 |
| SD | 7.6 | 2.0 | 762.3 | 8.8 | 1.3 | 1.6 | 0.3 | 2.4 | 0.2 |

2. プロトポルフィリン濃度の違いによる骨髄赤芽球細胞内ポルフィリン代謝酵素活性とポルフィリン代謝産物並びに各種臨床検査結果の平均値と標準偏差での比較(表5、6)

表5および表6に、表1~4のA~D群の各群および総計の平均値と標準偏差のまとめを示した。

表5より、ALAS活性はポルフィリン代謝異常が見られない造血性疾患の患者が診断を目的に骨髄液を採取したときに検討したALAS活性の平均値は22.4nmol ALA/10⁸EBL/30minに対して、鉄芽球性貧血症では約1/3の7.4であった。また、ポルフィリン代謝の2番目の反応をつかさどるALAD活性の変動は見られな

かったが、3番目の酵素PBGD活性が健常者のコントロールの平均値29.2に対して約2倍の58.3であった。PBGD活性の上昇がFEP増量の原因であるかどうかはわからないが、尿、血液、糞便中のポルフィリン代謝産物の上昇が確認された。特に、著明に増量したのはプロトポルフィリンであり、健常者のコントロールの平均値に対して赤血球で16倍、糞便で15倍であった。FEC活性に対してはFEPとは逆の動き

表5. 骨髄、赤血球、尿、及び糞便中のポルフィリン代謝関連物質の平均値と標準偏差

| Case no. | Bone marrow cells | | Erythrocytes | | Urine | | | Erythrocytes | | Feces | |
|--------------------------|---|---------------------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|---------------|-------|---------------|
| | ALAS (nmol/ALA/10 ⁸ EBL/30h) | FEC (pmol/Meso/10 ⁸ EBL/h) | ALAD (μmol/PBG/mlRBC/h) | PBGD (nmolUP/mlRBC/h) | ALA (μg/gcr) | UP (mg/gcr) | CP (μg/gcr) | CPH (μg/gcr) | FEP (μg/dRBC) | | ZPP (μg/dRBC) |
| A (n=7) | | | | | | | | | | | |
| Mean | 9.0 | 377.7 | 2.5 | 48.2 | 2.1 | 113.4 | 65.1 | 204.2 | 1357.8 | 134.1 | 35.7 |
| SD | 6.1 | 497.9 | 1.2 | 27.2 | 2.4 | 143.5 | 42.7 | 76.7 | 928.9 | 105.2 | 63.7 |
| B (n=8) | | | | | | | | | | | |
| Mean | 9.6 | 177.0 | 3.2 | 93.2 | 1.2 | 41.4 | 47.1 | 227.7 | 288.5 | 136.0 | 3.6 |
| SD | 6.4 | 108.6 | 1.3 | 73.9 | 0.5 | 22.1 | 14.1 | 214.1 | 77.8 | 68.4 | — |
| C (n=12) | | | | | | | | | | | |
| Mean | 6.8 | 171.5 | 2.4 | 58.0 | 1.1 | 43.7 | 48.3 | 44.2 | 145.1 | 114.9 | 35.7 |
| SD | 6.0 | 150.7 | 1.0 | 26.8 | 0.4 | 60.8 | 54.5 | 39.7 | 33.5 | 170.0 | 45.0 |
| D (n=19) | | | | | | | | | | | |
| Mean | 6.3 | 65.5 | 3.1 | 43.8 | 1.9 | 38.4 | 29.6 | 71.8 | 36.6 | 64.9 | 13.3 |
| SD | 6.2 | 95.1 | 0.9 | 16.2 | 1.8 | 55.0 | 17.9 | 47.1 | 26.2 | 40.7 | 8.7 |
| A~D (n=46) | | | | | | | | | | | |
| Mean | 7.4 | 179.4 | 2.8 | 58.3 | 1.6 | 53.1 | 43.5 | 114.1 | 309.8 | 101.5 | 25.5 |
| SD | 6.1 | 188.7 | 1.1 | 41.2 | 1.4 | 76.9 | 34.0 | 120.7 | 571.2 | 105.7 | 40.7 |
| Control (n=5~150) | | | | | | | | | | | |
| n | 22 | 4 | 64 | 150 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 18.0 |
| Mean | 22.4 | 171.0 | 2.7 | 29.2 | 0.8 | 14.4 | 12.8 | 34.0 | 19.2 | 89.4 | 1.7 |
| SD | 9.1 | 174.0 | 0.5 | 9.3 | 0.4 | 8.4 | 8.2 | 21.9 | 12.7 | 48.9 | 1.1 |

ALA: δ-aminolevulinata, ALAS: ALA synthase, FEC: ferrochelatase, ALAD: ALA dehydratase, PBGD: porphobilinogen deaminase, UP: uroporphyrin, CP: coproporphyrin, FEP: free erythrocyte protoporphyrin, ZPP: zinc protoporphyrin, PP: protoporphyrin, RBC: red blood cell, EBL: erythroblast. プロトポルフィリン値が赤血球100ml中、A群: 550μg以上、B群: 219~421μg、C群: 101~195μg、D群: 87μg以下

を示しているように思われた。

表6より、RBC、Ht、Hbのすべての数値が正常値の約半分の数値であり、貧血は明白であった。MCH(平均赤血球ヘモグロビン濃度、正常値: 26~33pg)は平均40.2pgと上昇し、とくにA群では平均86.1と著明な上昇が見られた。白血球数は正常値の下限であり、鉄芽球性貧血症では低いことが分かった。鉄芽球及び環状鉄芽球はB群が最も高値であった。

表6. 血液、生化学、ビタミン、ミネラル等の検査データ

| | A (n=7) | | B (n=8) | | C (n=12) | | D (n=19) | | A~D (n=46) | |
|---------------------------------|---------|-------|---------|------|----------|------|----------|------|------------|------|
| | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD |
| Age | 57.0 | 28.6 | 65.1 | 20.1 | 51.8 | 24.9 | 37.8 | 27.2 | 48.2 | 26.5 |
| RBC (X10 ⁵ /μl) | 2.8 | 0.5 | 2.0 | 0.6 | 2.2 | 0.7 | 2.8 | 1.5 | 2.5 | 1.1 |
| Ht (%) | 24.5 | 3.3 | 21.5 | 6.7 | 21.7 | 6.0 | 21.9 | 8.0 | 22.1 | 6.7 |
| Hb (g/dl) | 7.4 | 1.7 | 7.0 | 2.1 | 6.9 | 1.9 | 7.0 | 2.4 | 7.0 | 2.1 |
| MCV (fl) | 81.8 | 22.2 | 103.5 | 3.6 | 102.7 | 13.8 | 87.9 | 17.3 | 92.7 | 17.6 |
| MCH (pg) | 86.1 | 121.6 | 35.0 | 1.7 | 33.0 | 5.0 | 28.6 | 7.3 | 40.2 | 49.0 |
| MCHC (g/dl) | 31.2 | 4.1 | 33.7 | 1.9 | 32.1 | 2.1 | 31.7 | 1.7 | 32.0 | 2.2 |
| WBC (X10 ³ /μl) | 5.7 | 2.8 | 3.9 | 2.0 | 4.0 | 1.7 | 5.0 | 2.9 | 4.6 | 2.4 |
| Plt (X10 ³ /μl) | 101.1 | 124.3 | 17.9 | 3.4 | 31.2 | 23.1 | 25.5 | 16.9 | 37.6 | 55.3 |
| Reticulocytes (%) | 3.8 | 5.3 | 3.4 | 2.8 | 1.4 | 0.6 | 2.4 | 2.2 | 2.7 | 2.8 |
| Sideroblasts (%) | 80.4 | 13.6 | 92.3 | 7.4 | 62.7 | 37.3 | 73.0 | 19.9 | 76.3 | 21.3 |
| Ringed sideroblasts form (%) | 26.3 | 10.7 | 50.0 | 14.9 | 30.5 | 14.8 | 38.7 | 24.6 | 37.3 | 19.8 |
| S-Fe (μ/dl) | 129.0 | 80.1 | 217.8 | 70.4 | 195.9 | 88.8 | 175.1 | 93.7 | 183.1 | 86.2 |
| Ferritin (ng/ml) | 2550 | 2051 | 1652 | 1789 | 395 | 239 | 556 | 540 | 956 | 1227 |
| UIBC (μ/dl) | 132 | 83 | 47 | 28 | 38 | — | 99 | 79 | 82 | 66 |
| TIBC (μ/dl) | 257 | 128 | 261 | 46 | 235 | 104 | 232 | 66 | 243 | 80 |
| AST (IU/l) | 41 | 44 | 123 | 220 | 20 | 10 | 18 | 6 | 45 | 105 |
| ALT (IU/l) | 76 | 100 | 105 | 178 | 25 | 29 | 21 | 18 | 50 | 94 |
| LDH (IU/l) | 425 | 380 | 654 | 568 | 387 | 215 | 242 | 143 | 403 | 362 |
| Tbil (μg/dl) | 258 | 415 | 102 | 71 | 98 | 85 | 115 | 69 | 129 | 168 |
| Tbil (mg/dl) | 0.8 | 0.3 | 1.8 | 1.0 | 0.9 | 0.4 | 1.0 | 0.9 | 1.1 | 0.8 |
| T.Prot (g/dl) | 7.0 | 0.8 | 7.0 | 1.3 | 6.8 | 0.6 | 6.5 | 0.6 | 6.7 | 0.8 |
| Hgpc (mg/dl) | 104.0 | 83.4 | 51.0 | — | 71.4 | 33.0 | 108.3 | 75.6 | 96.6 | 65.2 |
| Vitamin B ₆ (ng/ml) | — | — | 10.4 | 7.5 | 6.0 | — | 8.0 | 7.8 | 8.5 | 6.2 |
| Folic Acid (ng/ml) | 8.0 | 5.0 | 7.1 | 8.4 | 4.3 | 1.4 | 5.2 | 2.0 | 6.0 | 4.7 |
| Vitamin B ₁₂ (pg/ml) | 1184 | 708 | 2039 | 1210 | 992 | 575 | 1126 | 762 | 1270 | 841 |
| BUN (mg/dl) | 15.2 | 5.7 | 13.0 | 1.7 | 17.9 | 5.4 | 18.3 | 8.8 | 17.0 | 6.8 |
| UA (mg/dl) | 4.7 | 2.4 | 4.7 | 1.4 | 5.7 | 3.0 | 5.2 | 1.3 | 5.2 | 2.0 |
| Na (mEq/l) | 139.5 | 2.6 | 140.3 | 4.0 | 140.3 | 2.3 | 140.6 | 1.6 | 140.3 | 2.2 |
| K (mEq/l) | 4.3 | 0.1 | 4.0 | 0.2 | 4.2 | 0.7 | 4.3 | 0.3 | 4.2 | 0.4 |
| Ca (mg/dl) | 5.2 | — | 8.4 | — | 6.0 | 3.5 | 8.3 | 2.4 | 7.4 | 2.5 |
| Cr (mg/dl) | 0.9 | 0.5 | 0.6 | 0.1 | 0.9 | 0.3 | 0.7 | 0.2 | 0.8 | 0.3 |

プロトポルフィリン値が赤血球100ml中、A群: 550μg以上、B群: 219~421μg、C群: 101~195μg、D群: 87μg以下

血液生化学検査において、血清鉄はA群よりもB、C、Dの各群で高値であった。フェリチンはA、B群で異常高値を示し、A～D群の平均値は正常値の約6倍高値であった。AST、ALT、LDHはCおよびD群では正常範囲内であったが、B群は明らかに高値であり、A群も同様であった。

ビタミンB₆およびB₁₂は全体的に高値であったが、とくにB群が高値であった。葉酸はA群が最も高値で、次いでB群であった。

3. 各種検査項目の統計学的検討

表7に全測定項目の結果に対しての各項目間の有意差判定を行った結果、FEPはALASおよびFEC活性と有意な相関関係を認めた($p<0.05$)。さらにALASはASTおよびALTと強い相関を認めた($p<0.001$)。FECはMCVと有意な相関を認め($p<0.05$)、MCVは鉄芽球との相関を認める事ができた。その他、表7に示したように、ASTとALTは血清鉄($p<0.05$)、フェリチン($p<0.05$)、血清蛋白質(AST; $p<0.001$ 、ALT; $p<0.01$)と有意な相関を認めた。

A～Dの群間相関ではFEP($p<0.001$)、CPIII($p<0.01$)、フェリチン($p<0.01$)、LDH($p<0.05$)、PBGD($p<0.01$)、血小板数($p<0.01$)の有意な相関関係を認めた。

また、因子分析の結果、FECの変化が、ALAS、血球数、フェリチン、AST、ALT、MCHの変化と関連性のあることが明らかとなった。

表7. 有意水準

| | FEP | ALAS | FEC | Sidero | RBC | WBC | Ret | PI | TIBC | SFs | Ferr | Tprot | LDH | AST | K |
|-------|------|------|------|--------|-----|------|------|------|------|------|------|-------|------|-----|------|
| ALAS | 0.04 | | | | | | | | | | | | | | |
| FEC | 0.02 | | | | | | | | | | | | | | |
| Ht | | | | 0.00 | | | | | | | | | | | |
| Hb | | | | 0.00 | | | | | | | | | | | |
| WBC | | | | | | | 0.01 | | | | | | | | |
| TIBC | | | | | | 0.02 | 0.00 | | | | | | | | |
| Tprot | | | | | | | 0.03 | | | | | | | | |
| LDH | | | | | | | 0.03 | | | | | | | | |
| AST | | 0.00 | | | | | 0.01 | | 0.02 | 0.02 | 0.00 | | | | |
| ALT | | 0.00 | | | | | | | 0.04 | | 0.01 | | 0.00 | | |
| ALP | | | | | | | | 0.05 | | | | | | | |
| Na | | | | | | | | | | 0.01 | | 0.04 | | | |
| BUN | | | | | | | | | | | | | | | 0.01 |
| Cr | | | | | | | | | | | | | | | 0.00 |
| B12 | | | | | | 0.02 | | | | | | 0.00 | | | |
| MCV | | | 0.03 | 0.02 | | | | | | | | | | | |
| MCH | | | | | | | | 0.01 | | | | | | | |

D. 考 察

46例の鉄芽球性貧血症のポルフィリン代謝異常について検討した。鉄芽球性貧血症は極めてまれな疾患であり、骨髄赤芽球のALAS変異に伴うXLSAが最も多く知られている。XLSAの臨床的特徴として、小球性貧血、鉄過剰状態、男児発症であること、半数以上の症例でビタミンB₆投与に反応することが知られているが、ポルフィリン代謝について詳細に検討した報告はあまりない。今回、46症例の鉄芽球性貧血症の殆どはXLSAと思われるが、ALAS2の遺伝子が明らかとされたのは1992年であり、それ以前の症例については、詳細な遺伝子検索はほとんど行われていないままである。そこで、鉄芽球性貧血症として、ポルフィリン代謝の検討を行った結果、ALAS活性の異常低値に対して、FEP等のポルフィリン代謝関連物質の高値、とくに血液由来のプロトポルフィリンの異常高値を見出した。

プロトポルフィリンの増量が知られているXLSA/A型の鉄芽球性貧血症ではABC7の変異による鉄の沈着は、ALAS2の発現低下を介したヘム合成不全ではなく、排出不全を基礎とした別の機序によることが推測されている。しかしながら、XLSA/A型の鉄芽球性貧血症はXLSAと異なり、乳幼児期から非進行性の脊髄・小脳の機能異常を呈することが特徴であるが、本症例の中では見られない。また、組織の貯蔵鉄の増加も見られないことから、今回の殆どの症例はXLSAと思われる。

PBGD活性の上昇が特徴的に見られ、PBGDを精製し、その酵素蛋白量をカラムクロマトグラフィー法にて健常者と比較したところ、酵素蛋白絶対量が増量していることが分かった。このことはヘモグロビン値の低下から、骨髄赤芽球でのヘム生産量低下によって、誘導生成されたものと推測される。

FEPの増量については赤芽球ミトコンドリア内のFEC活性が正常であったことから2価鉄の

減少が考えられ、 Fe^{3+} から Fe^{2+} の還元異常が推測される。その結果、FECの基質である Fe^{2+} の減少によって、もう一つの基質であるプロトポルフィリンの増量が見られたのではないかと推測される。

一方、今回検討した多項目の相関関係について有意差判定を行った結果、FEPはALASおよびFEC活性と有意な正の相関関係を認めた($p < 0.05$)。ALASはさらにASTおよびALTと強い相関を認めた($p < 0.001$)。FECはMCVと有意な相関を認め($p < 0.05$)、MCVは鉄芽球との相関を認める事ができた。その他、ASTとALTは血清鉄($p < 0.05$)、フェリチン($p < 0.05$)、血清蛋白質(AST; $p < 0.001$ 、ALT; $p < 0.01$)と有意な相関を認めた。これらFEPの変化はフェリチンとMCHの関連性の大きい事が示唆された。さらにASTやALTにも関連性が見いだされたので、ALASや肝機能との関係も示唆されたことは興味深い。今後さらに検討することが重要である。

E. 結論

赤芽球ALAS活性の異常を示す2つの疾患について、そのポルフィリン代謝について検討した。ALAS活性の異常高値を見る新しい型のX連鎖鎖性プロトポルフィリン症(XLDP)については、文献的ではあるがプロトポルフィリンの異常高値とEPPと同様の皮膚光線過敏症を見るという。

一方、今回検討したALAS活性の異常低値が見られた鉄芽球性貧血症46例(殆どがX連鎖鎖性鉄芽球性貧血症、XLSAと推測される)では、ALASの異常低値に対してPBGD活性の高値並びにポルフィリン代謝産物の増量、とくにプロトポルフィリンの増量を見た。そして、FEPが1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ RBC以上を示した患者ではEPPと同様の皮膚の光線過敏症を見た。

F. 研究発表

1. 論文・著書発表

- 1) 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* 1:33-43、2012.
- 2) 近藤雅雄、矢野雄三、浦田郡平：日本の遺伝性ポルフィリン症～1920年(第一例報告)から91年間(2010年)の集計、*ALA-Porphyrin Science* 2：印刷中、2012.
- 3) Kondo M: Abnormal Porphyrin Metabolism, Aminolevulinic acid - Science, Technology and Application, p.11-22, Tokyo Institute of Technology Press, 2012.
- 4) 近藤雅雄：ポルフィリンーヘム代謝異常症、ポルフィリンーヘム代謝異常症：概論、日本臨牀社、別冊日本臨床、領域別症候群シリーズ No.20、先天代謝異常症候群(第2版)、P.165-175、2012.
- 5) 近藤雅雄、網中雅仁：遺伝性コプロポルフィリン症、血液症候群(I)、-その他の血液疾患を含めて一第2版、印刷中、日本臨牀社、2012.
- 6) 近藤雅雄、堀江裕：先天性ポルフィリン症、血液症候群(I)、-その他の血液疾患を含めて一第2版、印刷中、日本臨牀社、2012.
- 7) 網中雅仁、高田礼子、近藤雅雄：鉛中毒によるポルフィリン症、血液症候群(I)、-その他の血液疾患を含めて一第2版、印刷中、日本臨牀社、2012.
- 8) 近藤雅雄：ポルフィリン(コプロポルフィリン、プロトポルフィリン、ポルホピリノゲン)、内科11(6)：印刷中、2013.
- 9) 近藤雅雄：尿中ポルフィリンとその前駆物質、臨床検査ガイド2013-2014、印刷中、文光堂、2012.
- 10) 近藤雅雄：ポルフィリン症、内科学書、

中山書店、印刷中、2013.

2. 学会発表

- 1) 近藤雅雄：食生活と免疫強化、日本抗加齢医学会、SEMINAR 2012, Sunday, March25, Tokyo, p.1-31、2012、東京.
- 2) 近藤雅雄：先天性ポルフィリン症の疫学、病態、臨床、平成 24 年度済生会医学・福祉共同研究発表会、2012、大阪.
- 3) 網中雅仁、近藤雅雄、高田礼子、山内博：ポルフィリン症の病型と一般生化学検査所見との関連性、第 82 回日本衛生学会総会、日本衛生学雑誌 67(2):283,2012、京都.
- 4) 堀江裕、藤井康善、松岡宏至、岡本敏明、山内延広、前田直人、村脇義和、近藤雅雄：ポルフィリン症例の相談窓口の全国展開の経験～鑑別診断も含めて～、第 2 回ポルフィリン・ALA 学会プログラム・要旨集 p.14, 2012、東京.
- 5) 近藤雅雄：遺伝性ポルフィリン症第 1 例報告（1920 年）から 91 年間(2010 年)の累積、第 2 回ポルフィリン・ALA 学会プログラム・要旨集 p.16, 2012、東京.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ALAS-E タンパク質のカルボキシル末端領域の機能の解析

研究分担者 古山和道 東北大学医学系研究科准教授

研究要旨

Erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase (ALAS-E)をコードする ALAS2 遺伝子は X 染色体上に存在する。近年、ALAS2 の機能獲得型変異が伴性優性遺伝型赤芽球性ポルフィリン症(X-linked dominant protoporphyria: XLDPP)の原因となることが報告され、新しいタイプのポルフィリン症の発症機序として注目されている。XLDPP 患者で同定された ALAS2 遺伝子変異により ALAS-E タンパク質のカルボキシル末端は約 20 アミノ酸を欠失すると考えられることから、本研究では ALAS-E タンパク質のカルボキシル末端領域がどのような機能を有するのかについて検討した。

A. 研究目的

ヘム生合成系の律速酵素は初発反応を触媒する 5-aminolevulinate synthase (ALAS)で、ALAS には全ての細胞で発現している non-specific ALAS (ALAS-N または ALAS1)と赤芽球でのみ発現する erythroid-specific ALAS(ALAS-E 又は ALAS2)の二つのアイソザイムが存在する。ALAS-N 遺伝子の異常に起因する疾患は今のところ知られていないが、肝臓における ALAS1 の過剰な発現が肝性ポルフィリン症の増悪原因となることが知られており、また、ALAS2 遺伝子の機能欠失型の変異が X 染色体連鎖鉄芽球性貧血の原因となることが知られていた。近年、ALAS2 遺伝子の機能獲得型変異が伴性優性遺伝性プロトポルフィリン症 (X-linked dominant protoporphyria: XLDPP)の原因となることが報告され、新たな赤芽球性ポルフィリン症の発症機構として注目されつつある。XLDPP 症例で報告された 2 種類の ALAS2 変異がいずれも frame shift 変異であり、その結果、カルボキシル末端の約 20 アミノ酸が欠失した変異酵素が翻訳されると予

想されたことから、本研究では、ALAS-E タンパク質のカルボキシル末端の機能を明らかにし、さらにはその欠失が酵素の機能にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを主な目的とした。

B. 研究方法

まず、ほ乳類、鳥類の ALAS-N および ALAS-E と大腸菌の ALAS のカルボキシル末端領域のアミノ酸配列の相同性を比較した。その後、ヒト ALAS-E のカルボキシル末端の欠失変異体が大腸菌で発現させて精製し、その酵素活性を *in vitro* で測定した。また、ヒト ALAS-E のカルボキシル末端の 33 アミノ酸の欠失変異体をヒト胎児腎細胞由来の HEK293 細胞で安定的に発現する細胞株を樹立し、培養液中にシクロヘキシミド(CHX)を添加することにより翻訳を停止させた後に系時的(0, 3, 6, 9, 12 時間後)に細胞から試料を調製し、細胞内の ALAS-E タンパク質と GAPDH の発現レベルを Western blot 法により検出した。その後、それぞれの ALAS-E のシグナル強度を

GAPDHのシグナル強度で標準化した後に、0時間のそれと比較して相対的なシグナル強度をプロットすることにより細胞内における欠失変異体の半減期を算出し、同様に算出した野生型ALAS-Eの半減期と比較した。

C. 研究結果

ヒト、マウス、クジラ、ニワトリのALAS-NとALAS-E、および大腸菌のALASのアミノ酸配列を比較したところ、図1に示す様に、ヒトALAS-Eのカルボキシル末端の33のアミノ酸配列は大腸菌では欠失しており、脊椎動物にのみ存在していることが明らかになった。大腸菌のALASで欠失している領域の配列は、ほ乳類のALAS-EとALAS-Nでは若干異なっていたが、各ほ乳類のALAS-Eタンパク質とALAS-Nタンパク質のそれぞれのアイソザイム間では良く保存されていた。

また、同じALAS-Eの中でもほ乳類と鳥類(ニワトリ)の間では余り保存されていなかった。従って、ヒトALAS-Eタンパク質のカルボキシル末端の33アミノ酸の配列はほ乳類の間でのみよく保存されているものと考えられた。

次に、カルボキシル末端から10、20、33アミノ酸を欠失するALAS-Eタンパク質を大腸菌で発現させ、精製して酵素活性を測定したところ、カルボキシル末端から10アミノ酸を欠失させた場合(Del-C10)には野生型(WT-ALAS2)と比較して酵素活性が低下したが、20アミノ酸(Del-C20)あるいは33アミノ酸(Del-C33)を欠失させた場合には酵素活性は上昇することが明らかになった(図2)。また、Del-C20とDel-C33の間には大きな差は認めなかった。

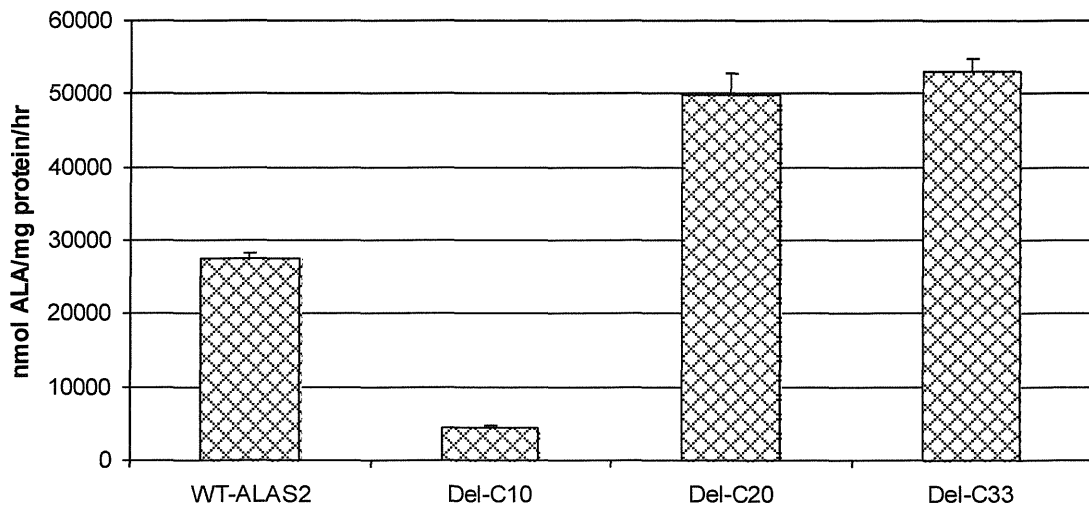
最後に、カルボキシル末端の33アミノ酸がALAS-Eタンパク質の細胞内における安定性にどの様に関与するのかを明らかにすることを目的に、CHXで翻訳を停止させたHEK293細胞におけるタンパク質の半減期を求めた。図3Cに示す様に、野生型のALAS-E(WT-ALAS2)の半減期は約8時間であったが、カルボキシル末端の33アミノ酸を欠失させたALAS-E(delC33)の半減期は、測定した範囲内では判定できない程度まで延長することが明らかとなった。

図1. ヒト、マウス、クジラ、ニワトリ由来のALAS-NおよびALAS-Eと大腸菌ALASのカルボキシル末端領域のアミノ酸配列の比較

| Majority | TWKRVLPLKXSSAXCNFCRRPLHFEXMSERERSYFGGMX-KXVSAXA | |
|------------------|---|-----|
| | 540 550 560 570 580 | |
| ALAS2(Human).pro | AWTAVGLPLQDVSVAACNFCRRPVHFEI MSEWERSYFGNMGPOYVTTYA | 587 |
| ALAS2(mouse).pro | ...E.....H..... | 587 |
| ALAS2(whale).pro | ...E.....T..... | 582 |
| ALAS2(chick).pro | C.G...REPPGPS.SS.H.LLSLPL.DQ.VR---AAAG | 513 |
| ALAS1(human).pro | T.KQ...E.KPH.S.E.....L.V...R.K...SGLS-KL.SAQ | 640 |
| ALAS1(mouse).pro | T.KR...E.KPH.S.E.....L.V...R.KA.SG.S-KM.SAQ | 641 |
| ALAS1(whale).pro | T.KR...E.KPH.S.E.....L.V...R.K...FG.S-KL.SAQD | 640 |
| ALAS1(chick).pro | T.KD...E.KPH.S.E.....L.V...R...SG.S-KLLSVS | 635 |
| B japonicum.pro | V.DRL...KQK.L.E | 409 |

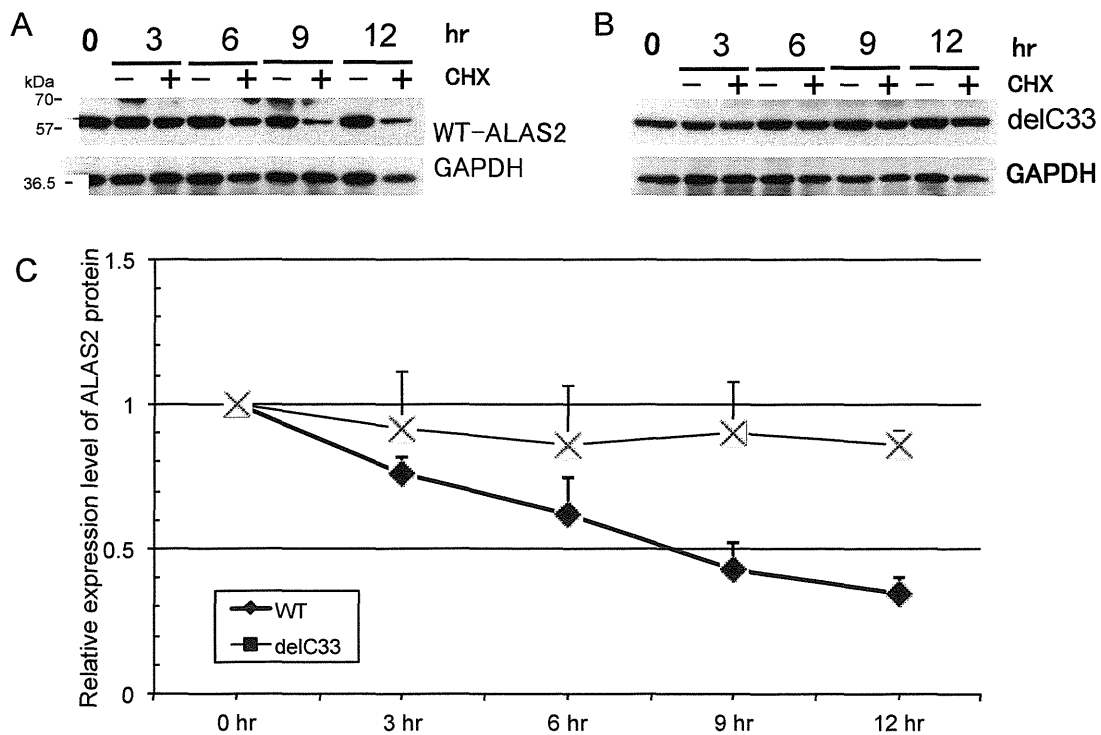
ヒトALAS-Eタンパク質と同じアミノ酸は“(ドット)”で示し、異なる場合にはそれぞれのタンパク質に固有のアミノ酸の一文字略語で示す

図2. カルボキシル末端の欠失変異体の酵素活性



野生型(WT-ALAS2)とカルボキシル末端の10(Del-C10)、20(Del-C20)、33(Del-C33)アミノ酸を欠失させたALAS-Eタンパク質を大腸菌で発現させて精製後、その酵素活性を測定した

図3. カルボキシル末端33アミノ酸の欠失によるALAS-Eタンパク質の安定性の変化



野生型(WT-ALAS2)とカルボキシル末端の33アミノ酸を欠失させた(delC33)ALAS-Eタンパク質をHEK293細胞で発現させ、シクロヘキサミド(CHX)を添加後0, 3, 6, 9, 12時間後のそれぞれのタンパク質の発現量をWestern blot法により検出し(AおよびB)、0時間時の発現量を1とした場合の割合を算出しプロットした(C)。

D. 考 察

ヒト ALAS-E タンパク質のカルボキシル末端の 33 アミノ酸の配列は、大腸菌由来の ALAS では欠失しており、ほ乳類においては種を超えて保存されていることが明らかとなった。一方、ALAS-N のカルボキシル末端の 33 アミノ酸の配列は ALAS-E のそれとは異なることから、その部分の配列が組織特異的な調節に関与する可能性が示唆された。また、ALAS-E タンパク質のその領域を欠失させると、組換えタンパク質として大腸菌で発現させた酵素の酵素活性が上昇し、また、細胞内における安定性も増すことから、カルボキシル末端の 33 アミノ酸は ALAS-E の細胞内における活性を抑制する「内因性の機能抑制ドメイン」として機能するものと考えられる。抑制機能の発現機序は今のところ明らかではないが、20～33 アミノ酸を欠失させた場合には酵素活性が亢進するものの、10 アミノ酸を欠失させた場合には酵素活性が低下することから、それぞれの欠失によりダイナミックな構造変化が引き起こされるか、あるいは ALAS-E に結合してその機能を調節する他の何らかのタンパク質との複合体の形成が阻害される可能性も否定できない。また、XLDPP 患者で認められる様に **frame shift** 変異によるカルボキシル末端の欠失は機能獲得型の変異となるが、一方で同じ領域におけるミスセンス変異は機能喪失型変異となることが報告されているので、いずれにしてもその制御機構は様々な要素が複雑に絡み合っている可能性が高いものと予想される。

E. 結 論

ほ乳類の ALAS-E タンパク質で保存されているカルボキシル末端の 33 アミノ酸は、内因性の機能抑制ドメインとして機能していることがあきらかになった。また、カルボキシル末端の 10 アミノ酸の欠失は機能欠失型の変異となることが予想され、20～33 アミノ酸の欠失は機能獲得

型変異となるものと考えられる。従って、ALAS-E タンパク質のカルボキシル末端 20～33 アミノ酸の欠失は、欠失断端の位置に依らず XLDPP の発症原因となるものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Furuyama K, Yamamoto M. Differential regulation of 5-aminolevulinate synthase isozymes in vertebrates. "Handbook of Porphyrin Science", ed. by Ferreira G.C., World Scientific Publishing Co. Inc., New Jersey, 2013, in press
- 2) Ohba R, Furuyama K, Yoshida K, Fujiwara T, Fukuhara N, Onishi Y, Manabe A, Ito E, Ozawa K, Kojima S, Ogawa S, Harigae H. Clinical and genetic characteristics of congenital sideroblastic anemia: comparison with myelodysplastic syndrome with ring sideroblast (MDS-RS). *Ann Hematol.* 2013, vol.92:p1-9.
- 3) Hiep NC, Kinohira S, Furuyama K, Taketani S. Depletion of glutamine enhances sodium butyrate-induced erythroid differentiation of K562 cells. *J Biochem.* 2012, in press
- 4) Kadirvel S, Furuyama K, Harigae H, Kaneko K, Tamai Y, Ishida Y, Shibahara S. The carboxyl-terminal region of erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase acts as an intrinsic modifier for its catalytic activity and protein stability. *Exp Hematol.* 2012, vol.40:p477-486.
- 5) Li B, Takeda K, Ishikawa K, Yoshizawa M, Sato M, Shibahara S, Furuyama K. Coordinated Expression of 6-Phosphofructo-2-kinase/Fructose-2,6-b

isphosphatase 4 and Heme Oxygenase 2: Evidence for a Regulatory Link between Glycolysis and Heme Catabolism. *Tohoku J Exp Med.* 2012, vol. 228:p27-41.

- 6) Kaneko K, Nishiyama H, Ohba K, Shibasaki A, Hirose T, Totsune K, Furuyama K, Takahashi K. Expression of (pro)renin receptor in human erythroid cell lines and its increased protein accumulation by interferon- γ . *Peptides.* 2012, vol.37:p285-289.

2. 学会発表

- 1) Furuyama K, Kaneko K, Fujiwara T, Harigae H, Shibahara S. Identification of the Novel Erythroid-Specific Enhancer in the First Intron of Human ALAS2 Gene;

The Mutation Disrupting GATA Transcription Factor-Binding Site in the Enhancer Causes X-Linked Sideroblastic Anemia. 54th Annual Meeting of American Society of Hematology; 2012; Atlanta, U.S.A.

- 2) 古山和道、金子桐子、藤原亨、張替秀郎、柴原茂樹. ヒト赤芽球特異的 5-アミノレブリン酸合成酵素遺伝子における新たな赤芽球特異的エンハンサーの同定. 第 85 回日本生化学会大会; 2012; 福岡

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

肝障害を伴う赤芽球性プロトポルフィリン症におけるABCG2遺伝子の多様性についての検討に関する研究

研究分担者 竹谷 茂 京都工芸繊維大学・教授

研究要旨

薬剤輸送ポンプ ABCG2 のポルフィリン輸送体として機能もしくは肝障害を伴う Erythropoietic Protoporphyrin (EPP)症患者の ABCG2 の多様性についての検討を行った。その結果、ABCG2 はポルフィリン輸送に関与するが、機能低下型 ABCG2 と肝障害の関係は得られなかった。

A. 研究目的

EPP患者の中でも、重篤な肝障害に至る場合があるが、その原因は不明である。今回、protoporphyrinの細胞外への排泄に関与するのではないかとされているABCG2とprotoporphyrinの蓄積との関係を明らかにする事を目的にした。

B. 研究方法

肝障害が有無のEPP患者からDNAを分離してABCG2のSNPを調べるために、Exon4と Exon5のPCRを行ってDNAシーケンスを行った。また、HeLa細胞のABCG2安定発現株を樹立して、ALA-PDT、ヘミンおよびProtoporphyrinの取り込みを調べた。さらに、ALA要求酵母を用いて、細胞へのProtoporphyrinやヘミンの取り込みと増殖の関係を調べた。

C. 研究結果

肝障害を有する2人のEPP患者を含む5人の患者のABCG2のexon4,5の配列を調べた結果、正常とされるSNP(376, c/c; 421c/c)が得られた。機能低下を考えられる376t, 421aは全く認められなかった。

また、ABCG2安定発現株はZn-protoporphyrin

やALA-PDTはコントロール細胞と変わらなかったが、hematoporphyrinの取り込みは若干増加した。さらにヘム要求性酵母にヒトABCG2を発現させてALA, heminやprotoporphyrinを培地に加えて生長を比較した結果、protoporphyrin (5・M)で生長の促進が見られた。

D. 考察

ABCG2とポルフィリンやヘム輸送の関係を調べた所、ポルフィリンの取り込みに対する関与が認められたが、ポルフィリンの排泄としての機能は認められなかった。また、EPP患者の肝機能の低下はABCG2の機能低下によるポルフィリンの排泄の低下によるのではないかと考えられたが、調べた限りでは積極的な役割を明らかにする事が出来なかった。

E. 結論

EPP患者の肝障害の有無はABCG2の機能低下とは関係が低い事が分った。ABCG2発現株はhematoporphyrinの取り込みが増加した、また、ABCG2発現酵母ではprotoporphyrinの添加で生長が促進された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 亜鉛—プロトポルフィリン：安全な食肉色素の開発のための基礎的研究 竹谷 茂、Chau Tuan Thanh, New Food Industry, 2012;54(7):7-15.
- 2) Tamura R, Chen Y, Shinozaki M, Arai K, Wang L, Tang W, Hirano S, Ogura H, Mitsui T, Taketani S, Ando M, Kataoka T: Eudesmane-type sesquiterpene lactones inhibit multiple steps in the NF- κ B signaling pathway induced by inflammatory cytokines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012;201222(1): 207-211.
- 3) N.C. Hiep, S. Kinohira, K. Furuyama, S. Taketani: Depletion of glutamine enhances sodium butyrate-induced erythroid differentiation of K562 cells. *J. Biochem.* 2012;152(6): 509-519.

- 4) M. Sawamoto, T. Imai, M. Umeda, K. Fukuda, T. Kataoka, S. Taketani: The p53-dependent expression of frataxin controls 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced accumulation of protoporphyrin IX and photo-damage in cancerous cells. *Photochem. Photobiol.* in press.
- 5) M. Shiota, Y. Yasuda, S. Taketani, (2012) Erythropoietin is involved in hemoprotein syntheses in developing human decidua. *Congenital Anomalies*, in press.

2. 学会発表

- 1) 竹谷 茂：鉄シャペロン frataxin 発現の p53 による調節とミトコンドリアのヘム代謝の関係. 2012.12. 福岡
- 2) 竹谷 茂：癌特異的 ALA 誘導性 Protoporphyrin の蓄積：酵素、遺伝子発現および物質輸送からの検討.
日本農芸化学会 2013 年度大会（シンポジウム）2013.3. 仙台

遺伝性ポルフィリン症の光線過敏に対する新規治療薬の開発と有用性の検討

研究分担者：川田 暁 近畿大学医学部皮膚科

研究協力者：上出 良一 慈恵医大第三病院皮膚科

川原 繁 近畿大学医学部皮膚科

研究要旨

遺伝性ポルフィリン症の主な臨床症状である光線過敏に対する新規治療薬の開発を行った。化粧料の組み合わせを2種類が光線防御効果を有することがわかった。実際に27例の遺伝性ポルフィリン症患者に使用してもらい、その有効性と安全性を確認できた。さらに2種類の組み合わせについて比較したところ、有効性には差がなかったが、実用面で違いがみられた。

A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症のうち骨髄性プロトポルフィリン症と先天性骨髄性ポルフィリン症では、主な臨床症状として光線過敏が重要である。光線過敏は患者にとってきわめて苦痛をもたらすものであり、QOLを低下させる。特に青少年患者では屋外及び社会活動が制限されるため、光線過敏に対する治療薬が望まれてきた。2010年度から本研究班は新規治療薬を開発し、その有用性を検討してきた。本研究では、遺伝性ポルフィリン症の光線過敏の新規治療薬をさらに開発し、その有効性と安全性を検討することを目的とする。

B. 研究方法

光線過敏の治療薬としては、光に当たっても症状を出現させない予防的なものが望ましい。そこで、ポルフィリンに吸収されて様々な有害事象を起こす光を防御する外用剤を開発し、その有用性

を検討する。

まずポルフィリン症において主に有害な光が波長410 nmの可視光であることは、すでに知られている。この光を防御する指数の算定方法は2009年度にすでに開発した。2010年度にはこの方法を用いて、すでに市販されている光防御効果をもつ化粧料の評価を行い、比較検討した。次に、この方法で検討した化粧料のうち、最もポルフィリン症の有用と思われるものを、実際に9例の遺伝性ポルフィリン症患者に使用してもらい、その効果・安全性を検討した。2011年度は同化粧料をより多くの患者に使用してもらった。さらにより使用感の良い2番目の化粧料を開発し、その有用性を検討した。今年度は1番目と2番目の化粧料の比較検討を行った。

使用する試料は、既に市販されているものであり、安全性と有用性が確認されている。また多くの正常人において日常的に使用されていて、安全

性が担保されているため、倫理的には問題が生じない。

C & D. 研究結果及び考察

まず 2010 年度に開発した、ポルフィリンに対する防御効果のある 2 種類の化粧料の組み合わせ (リキッド+パウダー、以下 L+P) を、引き続きより多くの遺伝性ポルフィリン症患者に使用していただいた。さらに新たに使用感の改良を図った別の 2 種類の化粧料の組み合わせ (リキッド+リキッド、以下 L+L) を開発し、これも遺伝性ポルフィリン症患者に使用していただいた。

これらの有効性と安全性を評価・比較した。試料を 6 ヶ月以上使用した、ポルフィリン症患者 27 例について検討した。その内訳は男性 15 例、女性 12 例、年齢は 7-66 歳 (平均 24 歳) であった。疾患としては 23 例が骨髄性プロトポルフィリン症、2 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、1 例が晩発性皮膚ポルフィリン症であった。通年で使用したのが 5 例、夏に使用したのが 11 例、強い日差し時に使用したのが 11 例であった。実際の防御効果では症状消失が 14 例、症状が出現するまでの露光時間が延長できたものが 10 例であった。効果判定では、有効が 6 例、やや有効が 10 例、変わらなかったものが 1 例であった。無効が 2 例であった。また副作用は全例で認めなかった。最長 1.5 年の使用でも副作用は認めなかった。

27 例のうち L+P を開始したのが 23 例であった。そのうち 11 例が継続使用し、8 例が L+L に変更した。4 例が L のみを使用した。L+L は上記の 8 例に、新規 1 例と合わせて、9 例が使用したが、うち 1 例は L+P に戻した。L+P は女性には問題なく使用されていたが、男性では使用が困難であり、L 単独または L+L 変更する傾向がみら

れた。L+P、L 単独、L+L では有効性に差はなかった。しかし塗布方法、塗り心地、外観には個々で差があった。個々の症例に合わせた化粧料の選択が重要であると考えられた。

E. 結論

本研究によって、遺伝性ポルフィリン症患者に対する新規治療薬 2 種類の開発が確立した。さらに多数例のポルフィリン症患者において、本治療薬の有効性と安全性が示され、有用性が確認できた。それぞれに特徴があり、患者にとって選択肢になりうることを示された。来年度には、より利便性が良くかつ有用であることが期待される第 3 の化粧料の開発を計画している。この研究が継続されれば、さらに多くのポルフィリン症患者がこの治療薬を使用することが可能となり、患者の QOL 向上に寄与することを確信している。

G. 研究発表

口頭発表 5 件

原著論文及び著書による発表 1 件

それ以外の発表 0 件

そのうち主もの

1. 論文及び著書発表

1) Kawada A, Kawara S, Nakano H. Erythropoietic protoporphyria. *Current Genetics in Dermatology*, InTech, Croatia, pp. 97-104, 2013

2. 学会発表

1) 川原 繁, 川田 暁, 上出良一, 中野 創, 近藤雅雄. 骨髄性プロトポルフィリン症の疫学二次調査結果報告. 111 回日本皮膚科学会総会, 京都, 2012.6.1-3

2) 藤田美幸, 川田 暁, 川原 繁, 中野 創. 異型ポルフィリン症の 1 例. 63 回日本皮

膚科学会中部支部学術大会，大阪，
2012.10.13-14

3) 平尾文香, 川田 暁, 川原 繁, 上出良一,
浅野 新, 寺村 崇. 遺伝性ポルフィリン
症に対する新規光線防御剤の有用性-第2
報-. 63 回日本皮膚科学会中部支部学術大
会, 大阪, 2012.10.13-14

4) 遺伝性ポルフィリン症に対する新規光線
防御剤の有用性と安全性

川田 暁, 川原 繁, 上出良一, 浅野 新, 寺
村 崇. 第 2 回光皮膚科研究会, 名古屋,
2013.02.17

5) Kawada A, Hirao A, Sato M, Kawara S,
Kamide R, Asano H, Teramura T. The
effectiveness and tolerability of a
combination of cosmetic foundations for
photosensitivity in erythropoietic
protoporphyrria. 71st Annual Meeting of
the American Academy of Dermatology,
Miami, 2013.3.1-5

H. 知的所有権の出願・取得状況
なし

急性ポルフィリン症の遺伝子解析

研究分担者 前田 直人 鳥取大学医学部講師

研究要旨

本研究では本邦の急性ポルフィリン症の実態解明に寄与することを目的に、急性間欠性ポルフィリン症（acute intermittent porphyria: AIP）の責任酵素であるハイドロキシメチルビレンシンターゼ（HMBS）、および遺伝性コプロポルフィリン症（hereditary coproporphyrin: HCP）の責任酵素であるコプロポルフィリノゲンオキシダーゼ（CPOX）の遺伝子解析を行った。その結果、AIP1家系1例およびHCP1家系1例において新規の遺伝子変異を見いだした。一方、生化学的に異常なく臨床症状のみから急性ポルフィリン症が疑われた症例（AIP疑いの1家系2例）の解析では遺伝子変異は認められなかった。急性ポルフィリン症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された。さらにこうした結果をもとに、第16回日本肝臓学会大会、および「ポルフィリン症」医学・福祉共同研究講演会等において、医療従事者（主として医師）を対象に急性ポルフィリン症に関する情報提供を行い、本疾患を広く啓蒙することができた。

A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症は、ヘム合成系に關与する8つの酵素のいずれかの活性が遺伝的に欠損することにより、ポルフィリン前駆体あるいは各段階のポルフィリン体が体内に過剰蓄積し種々の臨床症状を呈する疾患群である。AIPはヘム合成酵素のハイドロキシメチルビレンシンターゼ（HMBS）の活性低下により前段階の δ -アミノレブリン酸（ δ -ALA）やポルフォビリノゲン（PBG）が体内に過剰蓄積し、それらの有する神経毒性によって急性症状や神経障害を呈する疾患である。一方、HCPは同じくヘム合成系酵素であるコプロポルフィリノゲンオキシダーゼ（CPOX）の活性低下により、 δ -ALAおよびPBGのみならず難溶性のコプロポルフィリンの皮膚沈着により皮膚症状をも呈する疾患である。分担研究者は本研究全体の中において、本邦AIPおよびHCP症例につき

それぞれの責任遺伝子を解析するとともにDNAレベルでの家族解析を行い、診断の確定を通じて、本邦急性ポルフィリン症の実態解明に寄与することを目的とした。

B. 研究方法

本年度は、済生会江津総合病院、津和野共存病院、および東京北社会保険病院にてそれぞれ急性ポルフィリン症（AIPあるいはHCP）が疑われた計3家系4症例を対象とし、順次解析を進めた。遺伝子解析の方法として、末梢血DNAを用い、AIP疑い症例ではHMBS遺伝子の各エクソン（1～15）を含む領域を、HCP症例ではCPOX遺伝子の各エクソン（1～7）を含む領域をそれぞれにつきPCR増幅したのち、オートシーケンサーにより塩基配列を決定し、変異の有無を確認した。（倫理面への配慮）