

II 赤血球の異常

ポルフィリン代謝異常 先天性ポルフィリン代謝異常
肝性ポルフィリン代謝異常

ALAD 欠損性ポルフィリン症

ALA dehydratase deficiency porphyria

Key words: 急性ポルフィリン症, ALAD 欠損性ポルフィリン症 (ADP), ALA 脱水酵素 (ALAD), δ -アミノレブリン酸 (δ -ALA), 高チロシン血症, 鉛中毒

前田直人

II

赤血球の異常

1. 概 念

ALAD 欠損性ポルフィリン症 (ADP) は, ALAD 遺伝子の変異に起因する常染色体劣性遺伝性疾患で, ALA 脱水酵素 (ALAD) [EC 4.2.1.24] の活性低下により前駆体の δ -アミノレブリン酸 (δ -ALA) が体内に過剰に蓄積する結果, 他の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 (異型) ポルフィリン症 (VP), 遺伝性コプロポルフィリン症 (HCP)) と同様の急性内臓神経発作を発症する¹⁾. 遺伝性ポルフィリン症の中でも極めてまれな病型であり, 1979 年の第一例報告以来, これまでに世界で 6 症例が報告されているにすぎない²⁻⁶⁾. 最初の報告者²⁾にちなみ, 'Doss porphyria' とも呼ばれる.

2. 疫 学

現在までに世界で 6 例 (ドイツ 3 例, スウェ

ーデン 1 例, ベルギー 1 例, 米国 1 例, すべて男性) のみが報告され²⁻⁶⁾, それぞれ ALAD 遺伝子の変異が確認されている⁵⁻¹¹⁾ (表 1). 常染色体劣性遺伝で, ALAD 遺伝子変異が一方の対立遺伝子のみ存在するヘテロ接合体では通常発症しない. これまでのところ日本からの報告はないが, スウェーデンでは健常者の 2% にヘテロ接合変異がみられるとされており³⁾, 実際には我が国にもこうした変異保因者が一定数存在する可能性はある.

3. 病因と病態

ALAD はヘム合成経路の第 2 ステップ, すなわち, 2 分子の δ -ALA から 1 分子のポルホピリンゲン (PBG) への縮合反応を触媒する酵素である (別稿 '急性間欠性ポルフィリン症 (AIP)' 図 1 参照). ALAD はヘム合成系の律速酵素である ALA 合成酵素 (ALAS) に対して肝での相対活性

表 1 これまでに報告された ALAD 欠損性ポルフィリン症 6 例の遺伝子解析

case No.	nationality	sex	age	exon/intron	mutation type	sequence modification	references
1	Germany	M	15	exon 10/11	missense	R240W/A274T	2,8)
2	Germany	M	15	exon 6/11	missense/ deletion	V153M/818delCT (273fs21X; stop at 294)	2,9)
3	Sweden	M	3	exon 6/11	missense	G133R/V275M	3,7)
4	Belgium	M	63	exon 6	missense	G133R (heterozygous)	4,10)
5	Germany	M	17	intron 3/3	splicing	IVS3AS-11:C→A/T	5)
6	America	M	14	exon 5/5	missense	E89K/C132R	6)

Naoto Maeda: Division of Medicine and Clinical Science, Tottori University Faculty of Medicine 鳥取大学医学部機能病態内科学

0047-1852/13/¥60/頁/JCOPY

が約100倍と高いため、ALAD遺伝子のヘテロ接合変異体では酵素活性が正常人の50%程度の低下にとどまり、前駆体である δ -ALAの過剰産生は起こらず通常ADPとして発症することはない。これに対し、ホモ接合変異体もしくは複合ヘテロ接合変異体では酵素活性が正常人の数%未満にまで低下しているために δ -ALAの過剰蓄積が生じ、急性発作を発症しやすい状態となる。肝でのヘム合成の低下、および薬物投与などチトクロームP-450の消費に伴うヘム需要の増大は、ネガティブフィードバック機構を介して肝ALA合成酵素(ALAS-1)を誘導し、その結果 δ -ALAが更に過剰に産生されADP発症に至る。

なお、ALAD遺伝子の変異とは無関係に、二次的にALAD活性の低下する疾患として、高チロシン血症および鉛中毒があげられる。遺伝性高チロシン血症I型(HT-1)は、チロシン分解酵素の一つであるフマリルアセト酢酸ヒドラーゼ(FAH)の先天的欠損によってフマリルアセト酢酸やその分解産物であるサクシニルアセトンが体内に過剰に蓄積し、肝障害、腎尿細管障害を引き起こす予後不良の極めてまれな疾患である。サクシニルアセトンはALADの活性を競合的に阻害するため、HT-1患者の約40%で急性ポルフィリン症様症状を呈する。一方、鉛はALADのSH基に結合して用量依存性に酵素活性を阻害するため、急性鉛中毒では δ -ALAの過剰蓄積が生じ、ADP類似の内臓神経症状を発症することがある。これに関連して、ALAD遺伝子ヘテロ接合変異体では酵素活性が正常人の約50%に低下しているため、より少ない鉛量で鉛中毒を発症しうることが報告されている^{12,13)}。

4. 症 状

別稿‘AIP’参照。

ADPの発症は典型的には出産直後あるいは小児期にみられるが、それ以降での発症もある。急性内臓神経発作を主徴とし、臨床的には他の急性ポルフィリン症と区別がつかない。他の急性ポルフィリン症と同じく、急性発作中には頻脈、高血圧などの自律神経症状がみられ、診断

の遅れや不適切な治療により球麻痺や呼吸筋麻痺が生じうる。患者によっては上下肢の筋力低下が目立つ例がある。繰り返す急性発作は致命的となる。AIPと同じくADPでも皮膚症状を欠く。また、一般に貧血はみられない。

5. 診断と鑑別診断

ADPでは尿中 δ -ALAが発作の強さに比例して著増するが、ヘム合成マップ(別稿‘AIP’図1参照)からも理解されるように、PBGの尿中への排泄増加はみられない。この点で他の急性ポルフィリン症とは異なる¹⁴⁾。尿中コプロポルフィリンおよび赤血球中プロトポルフィリンの増加がみられるが、その機序は不明である。赤血球中ALAD活性は正常の10%未満に低下していることが多い。赤血球中の亜鉛プロトポルフィリン(Zn-PP; PPは亜鉛に高い親和性をもつ)が増加する。糞便中のポルフィリン体の増加はない。

確定診断にはALAD遺伝子の解析が有用である⁵⁻¹¹⁾。

ADPは極めてまれな病型であり、本症を疑った場合には必ず遺伝性高チロシン血症および鉛中毒との鑑別をしておく必要がある。鉛中毒との鑑別には血中鉛濃度を測定するほか、スチレン、トリクロロエチレン、プロモベンゼンなど外因性のALAD阻害物質の関与を否定しておく。

6. 治療と予後

別稿‘AIP’参照。

誘発因子の除去、大量のグルコース補給および対症療法など、急性ポルフィリン症としての処置を行う。ただし、ADPでは治療に反応する例とそうでない例がある。ヘムアルギニン静注による治療成功例が報告されている⁵⁾。肝移植の報告はこれまで1例あるが¹⁵⁾、臨床症状や生化学所見に対して有効といえるエビデンスは得られていない。発作間欠期には無理なダイエットや喫煙、誘発薬剤、鉛などの発作誘発要因を回避するよう生活指導を行う。

これまでの報告例ではADPの臨床経過は様々であり、症例数が少ないため現時点ではその

予後は明確でない。Dossら²⁾によって最初に報告されたドイツ人少年2人はその後重篤な発作なく、ともに成人期まで経過している。一方、スウェーデンの男児例³⁾では生後すぐから治療抵抗性の急性発作を繰り返し、6歳時に肝移植を受けて症状はやや改善をみたものの尿中 δ -

ALA排泄増加は持続し、9歳で肺炎により死亡している⁵⁾。また、成人期発症のベルギー人男性⁴⁾では、併発する多血症がADPの発病に関与した可能性はあるものの、最終的に悪性血液疾患で死亡しており⁵⁾、やはりADPの予後への影響は不明である。

II

赤血球の異常

■ 文 献

- 1) Anderson KE, et al: Disorders of heme biosynthesis: X-linked sideroblastic anemia and the porphyrias. In: *Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed (ed by Scriver CR, et al), p 2991-3062, McGraw Hill, New York, 2001.
- 2) Doss M, et al: New type of hepatic porphyria with porphobilinogen synthase defect and intermittent acute clinical manifestation. *Klin Wochenschr* **57**: 1123-1127, 1979.
- 3) Thunell S, et al: Aminolaevulinate dehydratase porphyria in infancy. A clinical and biochemical study. *J Clin Chem Clin Biochem* **25**: 5-14, 1987.
- 4) Hassoun A, et al: Biochemical diagnosis of an hereditary aminolaevulinate dehydratase deficiency in a 63-year-old man. *J Clin Chem Clin Biochem* **27**: 781-786, 1989.
- 5) Doss MO, et al: The third case of Doss porphyria (δ -amino-levulinic acid dehydratase deficiency) in Germany. *J Inherit Metab Dis* **27**: 529-536, 2004.
- 6) Akagi R, et al: δ -Aminolevulinate dehydratase (ALAD) porphyria: the first case in North America with two novel ALAD mutations. *Mol Genet Metab* **87**: 329-336, 2006.
- 7) Plewinska M, et al: δ -Aminolevulinate dehydratase deficient porphyria: identification of the molecular lesions in a severely affected homozygote. *Am J Hum Genet* **49**: 167-174, 1991.
- 8) Ishida N, et al: Cloning and expression of the defective genes from a patient with δ -aminolevulinate dehydratase porphyria. *J Clin Invest* **89**: 1431-1437, 1992.
- 9) Akagi R, et al: Novel molecular defects of the δ -aminolevulinate dehydratase gene in a patient with inherited acute hepatic porphyria. *Hepatology* **31**: 704-708, 2000.
- 10) Akagi R, et al: Molecular analysis of δ -aminolevulinate dehydratase deficiency in a patient with an unusual late-onset porphyria. *Blood* **96**: 3618-3623, 2000.
- 11) Jaffe EK, Stith L: ALAD porphyria is a conformational disease. *Am J Hum Genet* **80**: 329-337, 2007.
- 12) Doss M, et al: Lead poisoning in inherited δ -aminolevulinic acid dehydratase deficiency. *Int Arch Occup Environ Health* **54**: 55-63, 1984.
- 13) Dyer J, et al: Plumboporphyria (ALAD deficiency) in a lead worker: a scenario for potential diagnostic confusion. *Br J Ind Med* **50**: 1119-1121, 1993.
- 14) Sassa S: ALAD porphyria. *Semin Liver Dis* **18**: 95-101, 1998.
- 15) Thunell S, et al: Liver transplantation in a boy with acute porphyria due to aminolaevulinate dehydratase deficiency. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **30**: 599-606, 1992.

1

遺伝子診断と皮膚疾患

中野 創 (弘前大学)

【要旨】皮膚科領域の遺伝子診断の主な目的は診断確定と遺伝的・臨床的予後の推定である。得られた結果が真に病因と関連しているかどうかを判定するためには家系内での分析が重要である。通常の塩基配列決定法で変異が同定できない場合は、定量的遺伝子解析法が必要になる場合がある。遺伝子診断は栄養障害型表皮水疱症の遺伝形式決定や、骨髄性プロトポルフィリン症の発症前診断に必須の検査となっている。

1. はじめに

近年、原因遺伝子が判明した遺伝性皮膚疾患の数が飛躍的に増え、遺伝子診断例が内外から多数報告されるようになってきた。しかし、遺伝子診断を専門的に行っている施設はまだ限られているのが現状である。本項では遺伝性皮膚疾患を対象とした遺伝子診断の概要を示すとともに、実際に得られた結果の解釈等で生じる問題点についても触れてみたい。

2. 遺伝子診断の目的

遺伝子診断 (gene diagnosis) とは患者あるいは家族の組織から核酸を抽出し、目的の遺伝子あるいはその転写産物の塩基配列を決定し、病因となっている遺伝子変異を同定することである。皮膚科疾患に対して遺伝子診断を行う目的は大きく3つに分けられる。

1) 診断の確定

臨床症状が非常に近似した2つの独立した疾患において、それぞれ異なる原因遺伝子が同定されていれば、遺伝子診断によって両者を区別できる。例えば、遺伝性角化症に分類される水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症の軽症例と Siemens 型水疱性魚鱗癬とを臨床的に区別することは非常に困難である。いずれの疾患も潮紅を伴う魚鱗癬であり、組織学的に顆粒変性を認めるが、原因遺伝子が前者はケラチン1あるいは10遺伝子であり、一方、後者はケラチン2遺伝子と両疾患で異なっているので遺伝子診断によって鑑別することが可能である¹⁾。

2) 遺伝的予後の推定

遺伝子診断によって発端者に同定された変異の有無を家系内で調べることによって遺伝形式が明らかになり、同胞や予定される次子の遺伝的予後推定に有用な知見が得られる。常染色体性劣性遺伝性疾患の場合、発端者のゲノム DNA の原因遺伝子に父母それぞれに由来する病的変異を同定できれば、同胞や次世代の遺伝的予後を正確に推定することが可能である。この遺伝的予後の正確性は出生前遺伝子診断を行う際に特に重要な意味を持つ。常染色体性優性遺伝性疾患の場合には実際上、病的変異を有する個体が100%発症するとは限らない、いわゆる浸透率 (penetrance) の問題があるので、予後推定は経験的データをもとに行わざるを得ない場合がある。だが近年、浸透率が低い常染色体性優性遺伝性疾患である骨髄性プロトポルフィリン症において、原因遺伝子の病的変異に加えて、発症を規定する遺伝学的因子が明らかになり、正確な予後推定を行い得るようになった (後述)。

3) 臨床的予後の推定

原因遺伝子上の変異の位置は、これによって臨床症状の重症度が異なることがあるため、罹患者の医学的マネジメントに役立てられる場合がある。特定の酵素の活性低下が原因で発症する遺伝性疾患の場合、遺伝子変異の位置が酵素の活性にどう影響を与えるかによって臨床症状が変化する。骨髄性プロトポルフィリン症は常染色体性優性遺伝性のポルフィリン症であり、ヘム合成系の最終段階でプロトポルフィリンに鉄

イオンをキレートする反応を触媒するフェロケラターゼをコードする *FECH* 遺伝子の変異により発症する²⁾。本症は主徴である光線過敏症に加えて数%に肝不全を合併するための確な診断を要求されるが、酵素活性を消失させるようなナンセンス変異や欠失変異のほうが、アミノ酸置換を生じるミスセンス変異よりも肝障害を合併しやすい傾向にあることが報告されている³⁾。また、先天性表皮水疱症のうち、VII型コラーゲン遺伝子の変異によって生じる栄養障害型表皮水疱症の劣性遺伝型では短いVII型コラーゲン分子を生じる変異を有する個体のほうが、ミスセンス変異の組み合わせで発症している個体に比べて、より重症な傾向にあることが報告されている⁴⁾。ただし、このような遺伝子型と臨床症状との関係（遺伝子型-表現型関係 genotype-phenotype correlation）には例外もみられ、特定の遺伝子型から臨床的予後を正確に推測するのは実際には難しい。従って、こうした関係を明らかにするためにも、遺伝性皮膚疾患については可能な限り遺伝子診断を行って情報を蓄積する必要がある。

3. 対象疾患

対象となる疾患は皮膚に病的症状を有する遺伝性ないし先天性疾患のうち、原因遺伝子が既に同定されているものである。皮膚症状が主体であり、皮膚科医が遺伝子診断の発展に貢献してきた先天性表皮水疱症の各型から、全身疾患の一部分症として皮膚症状を有するファブリー病まで、きわめて多数の疾患が遺伝子診断の対象となり得る。原因遺伝子が明らかになっていない疾患は検索対象となる遺伝子が不明であり、当然遺伝子診断の対象にはなり得ないが、研究レベルで原因遺伝子の究明を目指す努力は必要である。また、原因遺伝子が判明していても、変異の検出率が低い疾患は一般的に検索の対象とならず、臨床診断でもって患者の遺伝学的マネジメントがなされている。神経線維腫症1型の原因遺伝子はニューロフィブロミンをコードする *NF1* 遺伝子であるが、通常のPCR法を用いた方法による変異の検出率が低いため、遺伝子診断は積極的に行われていない。一方、遺伝性のない先天性疾患も遺伝子診断の対象となることがある。表皮融解性過角化を伴う線状表皮母斑では病変部表皮由来のDNAにケラチン1あるいは10の変異が検出できる症例がある。このとき同時に健常部表皮由来DNAと末梢白血球由来DNAに変異がないことを確認すれば、このような症例は体細胞のモザイクであることが

証明でき、遺伝性がないことを患者や家族に伝えることができる。

4. 臨床診断の重要性

遺伝子診断の実施にあたっては、対象患者の臨床診断が事前に十分になされて検索候補の遺伝子が1つあるいは少数に絞り込まれていることが原則である。例えば、『出生後まもなく四肢、体幹に水疱が生じ、出没を繰り返すので先天性表皮水疱症が疑われるが、どの病型かを遺伝子診断で決定してほしい』という依頼に対しては、有用な遺伝子診断結果を迅速に提供することが難しい。たとえば栄養障害型表皮水疱症の診断には、少なくとも病理組織学的に表皮下水疱であることが確認でき、可能な限り電子顕微鏡による係留線維の無ないし低形成、あるいは蛍光抗体法によるVII型コラーゲンの発現消失ないし低下がみられるかどうかを検討しておくことが望ましいが、こうした病理組織学的所見を加味した臨床診断なしに、118個のエクソンを有するVII型コラーゲン遺伝子の変異検索を行う時間的・経済的損失のリスクは小さくない⁵⁾。遺伝性掌蹠角化症にも同様のことがあてはまり、過角化が掌蹠外に及ぶのかどうか、毛髪、歯牙、爪甲の変化の有無、組織学的な顆粒変性の有無、家族歴などを詳細に調べたうえで臨床病型をある程度決定しておく必要がある。病歴や現症を詳しく記載しておく、後々遺伝子変異が同定され、遺伝子型と表現型との関係を分析する際に非常に有用であるが、実際は文献を渉獵しても必ずしも十分に臨床所見が記載されているとは言えないことがしばしばである。とは言え、多忙な日常診療のなかでまれな遺伝性疾患の臨床診断を決定することはそれほど容易ではなく、ことに電顕や蛍光抗体法は実施できる環境が限られる。従って、筆者の所属施設では臨床診断が確定できない症例でも、患者を含めた家族の同意が得られている場合は検索依頼を積極的に受け入れている。

5. 検体の採取

遺伝子変異を同定するためには発端者とともに同胞、両親など血縁者から採取したゲノムDNAが必要である。一個体のどの組織から採取したものでも検索は可能であるが、通常は抗凝固剤としてEDTAが入った採血管に末梢血を5ml程度採血したものからDNAを抽出している。新生児など十分量の採血ができない場合は1mlに満たない量でも解析は行える。他施設に

血液を送る際は冷蔵が望ましく、冷蔵保存期間が1週間以内であればDNAの量、質ともに問題ない。変異の種類によっては、たとえばスプライシング異常 (aberrant splicing) が想定される場合はメッセンジャーRNAの構造を解析する必要が生じ得る。腸性肢端皮膚炎や遺伝性ポルフィリン症など末梢血白血球でも発現している遺伝子の異常であれば、上述の5mlの採血のうち1mlをRNA用に分けて全RNAを抽出し、解析を進められる (この場合、末梢血の冷蔵期間が長くなるとRNAの収量が減るので注意を要する)。しかし、ケラチン1あるいはI型コラーゲンなどそれぞれ表皮や真皮で特異的に発現しているメッセンジャーRNAを調べるためには、目的の組織から全RNAを抽出する必要がある。他施設に遺伝子変異検索を依頼する場合は、依頼先の推奨する検体採取法に依拠するのがよいと思われる。

6. 解析方法と結果の解釈

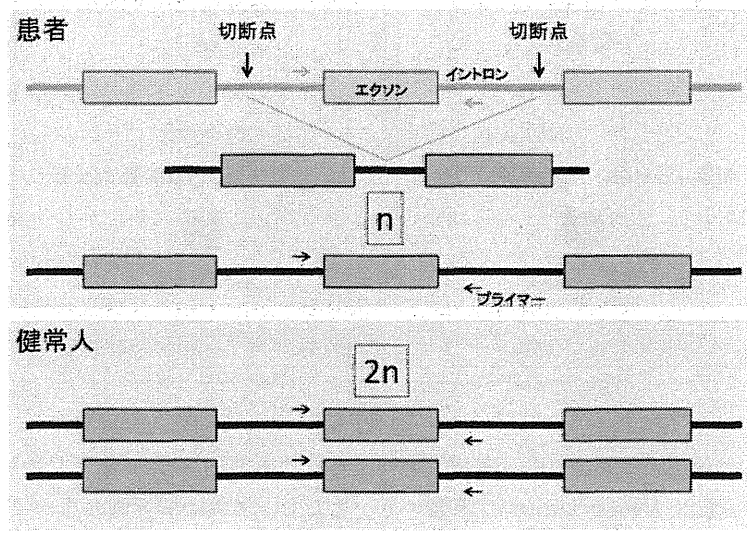
1) 塩基配列の決定

はじめに目的の遺伝子のタンパク質をコードしている領域の塩基配列を調べる。これはゲノムDNAをテンプレートにしてPCRを行い、増幅されたPCR産物の塩基配列をダイレクトシーケンスによって決定する。プライマーの配列やPCRの条件は文献を参考にできるが、論文として公表されているプライマーの配列には意外に誤りが多く、また、データベースに記載されている遺伝子の塩基配列も随時更新されているので、最新のデータをもとに正しい塩基配列のプライマーを設定する必要がしばしば生じる。この段階ではタンパク質をコードする領域の配列を決定できるので、アミノ酸置換を生じるミスセンス変異 (missense mutation)、停止コドンを生じるナンセンス変異 (nonsense mutation)、1つないし複数の塩基が消失/挿入している変異 (deletion/insertion mutation) を検出できる。欠失/挿入変異の場合、コドンの読み枠 (フレーム) である3の倍数個の塩基が欠失/挿入すると (インフレーム欠失/挿入 in-frame deletion/insertion)、1ないし複数個のアミノ酸欠失/挿入が生じる。これ以外の塩基数の欠失/挿入では下流の読み枠がずれるため (フレームシフト変異 frame shift mutation)、通常、本来の停止コドンの位置より5'側に早期停止コドン (premature termination codon, PTC) が生じる。ナンセンス変異や欠失/挿入変異の場合は生じるタン

パク分子が機能的に異常であることがほとんどであるので、それ自体病的変異と考えて問題は少ないが、ミスセンス変異の場合、アミノ酸の置換が本来のタンパク分子の機能にどの程度影響を与えているかは、変異タンパクの機能解析を行わない限り不明である。臨床遺伝学では一般に、遺伝子の配列に変化があってもそれが疾患としての病的症状を発現しない場合は、その変化は遺伝子多型 (gene polymorphism) と表現され、狭義の遺伝子変異 (gene mutation) と区別されている。遺伝子多型は常染色体性であれば当該遺伝子の1%以上に存在すると考えられる。従って、過去に報告のないミスセンス変異が検出された場合は、健常人50人 (クロモソーム100本) 以上のゲノムDNAを調べて、見つからなければそれは多型ではなく病的変異であろうと考える。ダイレクトシーケンスによってエクソン/イントロンの接合部も調べ、スプライドナーあるいはスプライスアクセプターに塩基の変化があれば、スプライシングの際にエクソンがスキップされるか (エクソンスキッピング exon skipping)、別の配列をドナーあるいはアクセプターと誤認識してスプライシングが行われるか、あるいはイントロンをエクソンであるかのように翻訳してしまうリードスルー (read through) を起こすかのいずれかのスプライシング異常が生じると考えられる。スプライシング異常が実際に起こっているかどうかは、メッセンジャーRNAレベルで確かめられるが、上述のとおり当該遺伝子が発現している組織あるいは細胞を採取し、メッセンジャーRNAの一次構造を調べる必要がある。ただし、PTCを生じるような変異の場合、nonsense-mediated RNA decay (NMD) によって変異アリルからの転写産物が分解されることが知られており、必ずしも異常なRNA分子を検出できるとは限らない。

遺伝子変異の種類がどのようなものであっても、それが疾患の原因となっていることを裏付けるためには、家系内で変異の有無を検索することが重要である。常染色体性優性遺伝性疾患では少なくとも家系内で発症している個体は発端者に同定された変異を持っているはずであり、変異を有していなければ無症状のはずである。つまり、同定された遺伝子の変化は発症者に限って検出される (segregate されている) はずである。発端者のみで遺伝子変異解析を行った結果、アミノ酸置換を生じる新規の遺伝子配列変化が同定され、健常人コントロール50人には同じ配列変化が見つからないため、多型ではなく変異であると結論付けたと

図1 インترون領域に切断点があるエクソン欠失



しても、極めて頻度の低い多型である可能性は捨てきれない。従って、遺伝性皮膚疾患の遺伝子変異解析を行う場合は、家系内のできるだけ多くの個体について変異の有無を調べる必要がある。

2) 制限酵素切断片長多型 (Restriction fragment length polymorphism, RFLP) 解析

現在はシーケンサーの性能が著しく向上しており、塩基配列も迅速に決定できるようになったため、家系内で変異の有無を調べる場合でも複数の検体全てについてシーケンスを行うことが多いが、異なる方法で変異を確認したほうが結果の信憑性がより高くなるので、RFLP解析も併用している。本法は塩基配列変化によって制限酵素認識部位が障害される、あるいは新たに認識部位が生じることを利用したもので、特殊な装置を別途に必要としないため低コストであり、筆者の所属施設のように検索対象疾患が複数ある場合には有用である。

3) 変異が同定されない場合の解釈

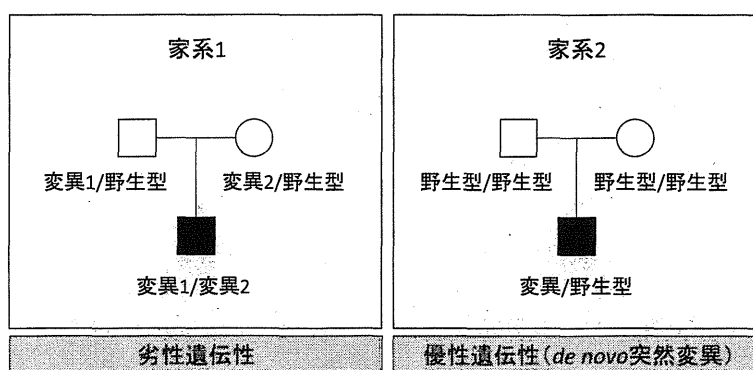
原因遺伝子を想定して変異解析を行っても必ずしも変異が同定できない場合がある。原因遺伝子の全てのエクソンおよびエクソン/イントロン接合部を調べても変異が見つからない場合はプロモーター領域も確認する。ただし、プロモーター活性を有するシスエレメントを全て解析することは現実的には難しい。通常の検索で変異が見つからない場合に比較的可能に存在するのはエクソン単位での欠失 (exonal deletion) と

思われる。例えば特定のエクソンが、一方のアリルにおいてイントロン領域に切断点 (break point) が生じて欠失した場合、通常のPCRでは正常のアリルから正常のPCR産物が増幅されるので、そのシーケンスを読んでも見掛け上変異がないと判定される (図1)。この場合、定量的なPCRを行うと患者で欠失しているエクソンのコピー数が健常者では $2n$ であるのに対して患者では n になる。こうした変異は様々な疾患で知られており、骨髄性プロトポルフィリン症では症例の10%程度にみられるという⁶⁾。従って、通常のPCRを介したアプローチで変異が同定できない場合は、エクソン単位での欠失を考慮すべきであろう。この目的で現在汎用されているエクソンコピー数定量法はMLPA法である。もちろん、通常の変異検索法で変異が見つからない場合は臨床診断や原因遺伝子の再考を要する場合もある。

7. データベース

一般の遺伝性疾患と同様に遺伝性皮膚疾患を扱う場合でも The National Center for Biotechnology Information (NCBI) 内の Nucleotide や Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM[®]) は頻用される。NCBI 以外のサイトでは The Human Gene Mutation Database (HGMD[®]) が有用である (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>)。本サイトは無料の登録制で誰でも閲覧できる。ケラチンを検索する場合は Human Intermediate filament Database が非常によく整理されていて利便性が高い (<http://www.interfil.org>)。遺伝子変異の記載法に

図2 家系内孤発例 DEB：遺伝子診断による遺伝形式の決定



関する国際規約は Human Genome Variation Society 内の Guidelines for human gene nomenclature に詳細が記されており、論文投稿の際にこのガイドラインに準拠した記載が求められることが多い (<http://www.genenames.org>).

8. 遺伝子診断の実際

1) 栄養障害型先天性表皮水疱症 (dystrophic epidermolysis bullosa, DEB)

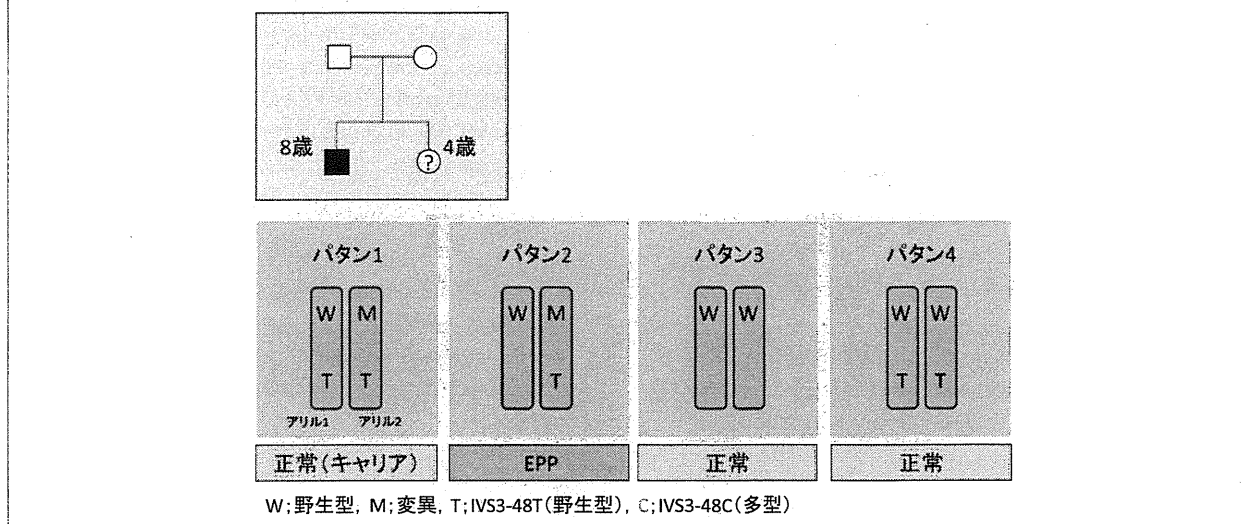
当施設では1996年以来、DEBの遺伝子診断を150家系以上行っている。本疾患の原因遺伝子はVII型コラーゲン遺伝子であるが、遺伝形式から優性型と劣性型に、劣性型はさらに全身性の水疱、びらんと指趾の癒着、拘縮、食道狭窄などをきたす最重症型の severe generalized 型と指趾の癒着を生じない軽症型の generalized other 型に大別される。臨床上特に問題となるのは、乳児期にこれらの病型を鑑別することが極めて困難な場合がある点である。特に両親に症状がない家系内孤発例の優性遺伝性 DEB と劣性遺伝性の generalized other 型との鑑別は難しい⁷⁾。患児の両親が次子を望んでいる場合はこれら病型の鑑別をせずして正確な遺伝カウンセリングを行い得ないが、遺伝子診断によって変異を同定できればこの問題を解決できる。患児のVII型コラーゲン遺伝子変異解析の結果2つの変異が見つかり、その一方が父親から、他方が母親から由来していることを確認出来れば、患児は劣性遺伝性 DEB であり次子が罹患する確率は25%である(図2, 家系1)。また、患児に変異が1つ同定され、両親のいずれにも変異がなければ患児は恐らく de novo 突然変異による優性遺伝性 DEB と考えられ、次子が罹患する確率はほぼゼロであるが、患児が将来児をも

うけた場合は50%の確率で罹患する(図2, 家系2)。ただし、多数の解析例のなかには解釈に苦しむ症例も存在する。痒疹型 DEB という特殊な病型の家系内孤発例の1家系について筆者の施設で遺伝子変異解析を行ったところ、罹患児である発端者に既報のVII型コラーゲンのグリシン置換を1つ同定した⁸⁾。全てのエクソンとその近傍のシーケンスを調べたが他に変異は見つからず、かつ、両親が無症状であったため、当初は de novo の優性遺伝性 DEB と考えられた。ところが、父親にも同じグリシン置換が検出された。父親はこれまで水疱やびらん、あるいは発端者と同様の皮疹が生じたことはないという。この場合考えられるのは、遺伝形式は優性遺伝性だが、父親は現在潜伏期にあり、今後発症してくる可能性である。痒疹型 DEB には晩発性に発症する症例が知られており、最も遅発の症例では70歳を過ぎて発症したという報告がある⁹⁾。あるいは、本家系は劣性遺伝性の DEB であり、母由来の変異が技術的問題で同定できていないという可能性も残されている。こうした家系例では遺伝的予後の推定が難しいため、継続したフォローアップを行っていく必要がある。

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

EPP は不完全優性遺伝性疾患として知られ、FECH 遺伝子の2つのアレルの一方に変異を有していても必ずしも発症しない場合がある。欧米では変異を持つ者が発症する割合、すなわち浸透率は10%程度とされている。現在ではその分子遺伝学的メカニズムが明らかになっており、一方のアレルの変異に加え、もう一方のアレルのイントロン3に存在する多型 IVS3-48C を併せ持った場合に発症することが多くの症例で実証さ

図3 FECH 遺伝子型の決定による予後推定



れている。この多型が存在するとスプライス異常の頻度が高まり、これによって生じた異常な FECH メッセンジャー RNA が NMD により分解され、結果として正常な転写産物の発現量が減少し、ひいては FECH の酵素活性も低下することが実験的に証明されている¹⁰⁾。この多型は日本人に多くみられ、人種差があることが明らかになっている¹¹⁾。

EPP は乳幼児期以降、光線曝露の機会が多くなってから発症する、つまり潜伏期間を有することがしばしばであり、この点が臨床的に大きな問題になっている。EPP に罹患していると知らずに急激な光線曝露を受けた後に、急性の肝不全をきたして死に至った症例も存在する(金沢赤十字病院川原繁先生未発表データ)。肝障害のメカニズムについては、体表を循環する赤血球が光線曝露により破壊され、血中にプロトポルフィリンが放出される結果、肝にプロトポルフィリンが蓄積するためと考えられている。急性の肝不全を生じないまでも、軽度の光線過敏に留まる程度の光線曝露による高プロトポルフィリン血症が持続すると、慢性の肝障害から肝硬変にいたる危険性がある。このため EPP 家系においては遺伝子診断が必須であり、無症候の同胞に遺伝子診断を適用すれば、今後発症するか否かを正確に予想することが可能である、つまり発症前遺伝子診断 (presymptomatic gene diagnosis) が極めて有用である(図3)。図3の家系のように、第1子が明らかな EPP として発症しているが、第2子が無症候のことがある。この年齢では第2子が潜伏期の EPP である可能性があるため、遺伝子診断を行うべきであ

る。遺伝子診断によって潜伏期の EPP 罹患児と判明しても、適切な光線防御を講じれば肝不全は防ぎ得ると考えられる。

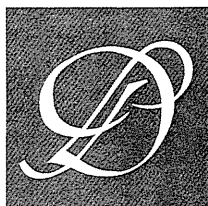
9. 今後の展望

遺伝子診断が普及したとはいえ、症例の蓄積はまだ不十分と言える。今日、分子生物学の進歩により、不治とされた遺伝性皮膚疾患にも治療が試みられる段階に入って来たが、遺伝子診断の結果をもとにした病態の詳細な検討が、遺伝性皮膚疾患に対する今後ますます発展するであろう根本的治療に有益な知見をもたらすと確信する。

文献

- 1) Nishizawa A, Toyomaki Y, Nakano A, et al: A novel H1 domain mutation in the keratin 2 gene in a Japanese family with ichthyosis bullosa of Siemens, *Br J Dermatol*, 2007; 156: 1042-1044.
- 2) 中野 創: 皮膚科セミナー 3. 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子診断, 日皮会誌, 2009; 119: 1225-1230.
- 3) Schneider-Yin X, Gouya L, Meier-Weinand A, Deybach JC, Minder EI: New insights into the pathogenesis of erythropoietic protoporphyria and their impact on patient care, *Eur J Pediatr*, 2000; 159: 719-725.
- 4) Tamai K, Murai T, Mayama M, et al: Recurrent COL7 A1 mutations in Japanese patients with dystrophic epidermolysis bullosa: positional effects of premature termination codon mutations on clinical severity, *J Invest Dermatol*, 1999; 112: 991-993.

- 5) Fine JD, Eady RJA, Bauer EA, et al: The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the third international consensus meeting on diagnosis and classification of EB, *J Am Acad Dermatol*, 2008; 58: 931-950.
- 6) Whatley SD, Mason NG, Holme SA, et al: Gene dosage analysis identifies large deletions of the FECH gene in 10% of families with erythropoietic protoporphyria, *J Invest Dermatol*, 2007; 127: 2790-2794.
- 7) 玉井克人: 栄養障害型表皮水疱症, 玉置邦彦編: 水疱症 膿疱症 最新皮膚科学大系, 第6巻, 東京, 中山書店, 2002, 186-197.
- 8) Takiyoshi N, Nakano H, Sawamura D: Epidermolysis bullosa pruriginosa with marked phenotypic heterogeneity caused by a recurrent glycine substitution: Incomplete penetrance or a latent case? *J Dermatol*, in press.
- 9) Hayashi M, Kawaguchi M, Hozumi Y, et al: A case of dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa of elderly onset, *J Dermatol*, 2011; 38: 173-178.
- 10) Gouya L, Puy H, Robreau AM, et al: The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by expression of wildtype FECH, *Nat Genet*, 2002; 30: 27-28.
- 11) Nakano H, Nakano A, Toyomaki Y, et al: Novel ferrochelatase mutations in Japanese patients with erythropoietic protoporphyria: high frequency of the splice site modulator IVS3-48C polymorphism in the Japanese population, *J Invest Dermatol*, 2006; 126: 2717-2719.



◆特集／多様化する光線過敏症
ヘム合成経路とポルフィリン症

中野 創*

Key words : ポルフィリン症 (porphyria), ヘム合成経路 (heme synthesis pathway), 骨髄性プロトポルフィリン症 (erythropoietic protoporphyria), 晩発性皮膚ポルフィリン症 (porphyria cutanea tarda)

Abstract 皮膚症状を呈するポルフィリン症のなかで最も遭遇する機会の多い病型は骨髄性プロトポルフィリン症 (EPP) と晩発性皮膚ポルフィリン症 (PCT) である。EPP は光線過敏に加えて致死的な肝障害を併発するおそれがあるため、正確な診断が必要である。潜在的 EPP が遺伝子診断で見つかる場合があり、家系内での遺伝子診断が特に肝障害の予防のために重要である。遮光が治療上の大きな位置を占める。PCT の大部分は後天性で、肝炎やアルコール過剰摂取が背景にあることが多い。また、ある種の薬剤で増悪する可能性があることを患者に伝える必要がある。PCT の場合は遮光とともに背景の増悪因子を除くことが治療上大切である。

ヘム合成経路

ヘムはグリシンとサクシニル CoA から複数の中間代謝産物を経て合成される (図 1)。この合成経路にかかわる酵素は 8 つあるが、それぞれの酵素をコードする遺伝子の変異により、ポルフィリン症は現在 9 つの臨床病型に分類されている (表 1)。ポルフィリン症の基本症状は皮膚症状 (光線過敏など)、消化器症状 (肝障害など)、および神経症状 (しびれ、感覚異常など) であるが、急性間歇性ポルフィリン症 (AIP) とアミノレブリン酸脱水素酵素欠損性ポルフィリン症は、酵素活性低下によって蓄積する中間代謝産物 (ポルフィリン体前駆物質) が光で励起されないため、光線過敏症状を呈さない。また、骨髄性プロトポルフィリン症 (EPP) のように神経症状を示さない病型もあり、一つの代謝経路内のどの酵素が障害されるかによって、臨床症状の発現の仕方がそれぞれの病型

で異なっている。また、異型ポルフィリン症では、発作が生じる急性期以外では光線過敏症状が出現しないこともあり、実際、光線過敏を全く自覚していない症例も存在するため、確定診断には遺伝子変異検索が必要となる。X 連鎖優性プロトポルフィリン症は、最近新たに記載された病型で、アミノレブリン酸合成酵素 2 の変異が原因であることが判明したことから、フェロキラーゼ遺伝子 (*FECH*) に変異が同定できない EPP から独立疾患として分離された¹⁾。本邦におけるポルフィリン症の過去の報告の集計では晩発性皮膚ポルフィリン症 (PCT) が最多であり、次いで AIP、EPP の順であった²⁾。このうち、PCT は大部分が後天性と考えられ、ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素遺伝子の変異による優性遺伝性の症例はごく稀である。従って、遺伝性を示すポルフィリン症のうち、皮膚科領域で診療する機会の最も多いものは EPP であろう。そこで、本稿ではポルフィリン症のなかから EPP を中心として、PTC についても付随的に臨床皮膚科学上の重要なポイントを述べる。

* Hajime NAKANO, 〒036-8562 弘前市在府町
5 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座,
准教授

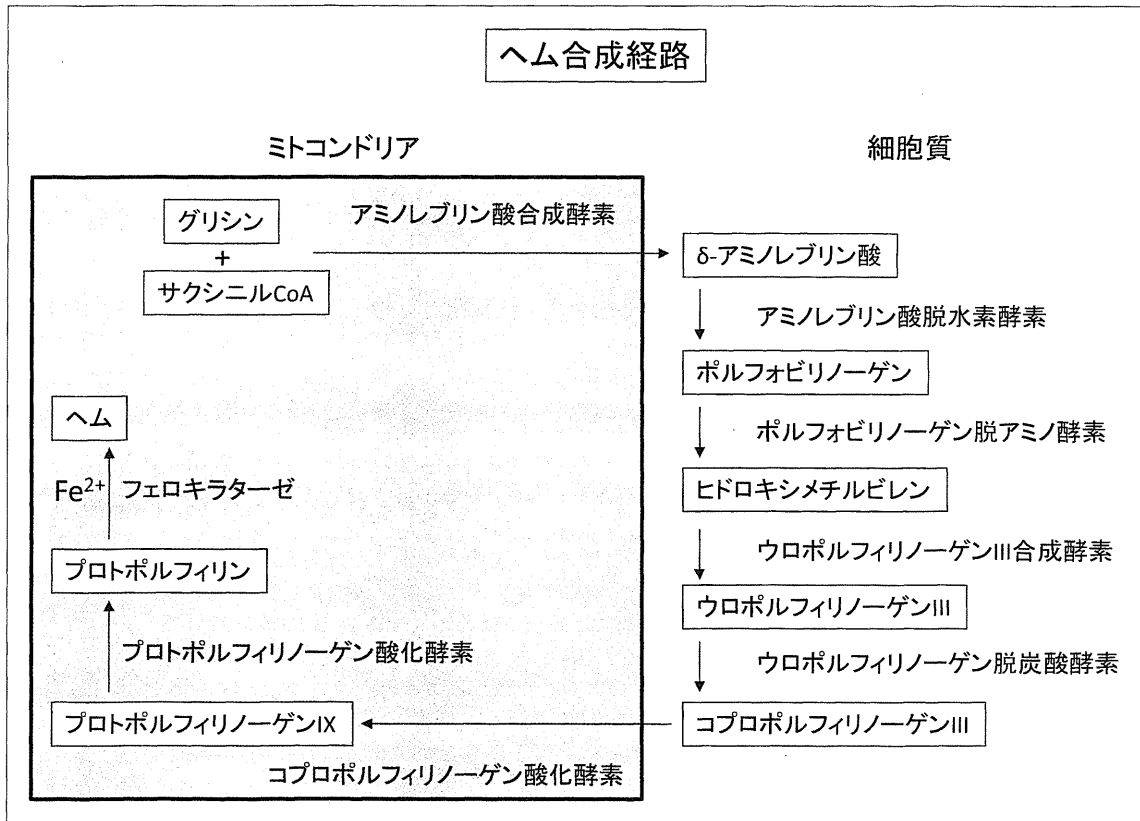


図 1. ヘム合成経路

表 1. ポルフィリン症の病型と原因遺伝子

病型	原因遺伝子産物	遺伝形式
先天性ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン合成酵素	常劣
骨髄性プロトポルフィリン症	フェロキラーターゼ	常優
X連鎖優性プロトポルフィリン症	アミノレブリン酸合成酵素2	X連
急性間歇性ポルフィリン症	ポルフィロビリノーゲン脱アミノ酵素	常優
アミノレブリン酸脱水素酵素欠損性ポルフィリン症	アミノレブリン酸脱水素酵素	常劣
異型ポルフィリン症	プロトポルフィリノーゲン酸化酵素	常優
遺伝性コプロポルフィリン症	コプロポルフィリノーゲン酸化酵素	常優
晩発性皮膚ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素	常優
肝性骨髄性ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素	常劣

常劣：常染色体性劣性遺伝 常優：常染色体性優性遺伝
X連：X染色体連鎖

EPP

<臨床的特徴>

EPPはプロトポルフィリン(PP)に鉄イオンをキレートさせ、ヘムを形成する酵素フェロキラーターゼ(FECH)をコードするFECHの変異によりFECHの活性が低下し、PPが蓄積することによって発症する(図1, 表1)。臨床的には光線過敏症と赤血球中PP値の上昇でEPPと診断されるが、確定診断には遺伝子変異検索が必要である。遺伝形式は常染色体優性遺伝である。本症は遺伝性ではあるが、光線過敏症状は出生後ただちに生じるのではなく、数年を経てから出現するケースが多い。そのため、EPPに罹患していると気づかれない場合が稀ではない。また、さらに重要な点は、症例の数%に重度の肝障害を合併し、生命予後を脅かすことである。従って、正しい診断の下に的確な生活指導を行うことが肝要である。皮膚科的な主症状は光線過敏症とそれに付随する皮膚症状である。幼児期以降、日光曝露後に顔面や手背な

どの露光部に、熱感、疼痛を伴う浮腫性紅斑、小水疱、湿疹様皮疹を生じる。これら急性期の皮疹はその後びらん、結痂、色素沈着、陥凹性小癬痕、苔癬化といった慢性期の症状に取って代わられる。顔面、特に頬部は油性の光沢を帯びるのが特徴的といわれる。また、下口唇に浮腫性紅斑、びらんを生じ、光線性口唇炎の像を呈する場合もある。長時間の屋外活動の後に、光線性爪甲剥離症をきたすこともある。患者は日焼けを起こしやすい体質と自覚し、平素から光線曝露を意識的に避けているため、皮膚科受診時に急性期症状を呈していない可能性もあるが、その場合、露光部の小陥凹を確認することが診断の有力な決め手となる。ただし、同様の所見は種痘様水疱症や多型日光疹などでもみられるため、それらとの鑑別が必要である。

<病 態>

EPP 患者では赤血球に PP が多量に蓄積される。PP の作用波長は 400 nm をピークとする長波長紫外線(UVA)と、それより長波長側の可視光線域にあるので、患者が日光に曝露すると、皮膚を循環する末梢血赤血球中の PP が励起され活性酸素を生じ、赤血球を破壊するとともに、周辺の皮膚組織に障害を与えることによって光線過敏症状が引き起こされると考えられる。PP は水に不溶であり、健常人では大部分は肝臓を経て胆汁中に排出され、糞便から体外に排出されるが、EPP 罹患者では血漿中に過剰に放出された PP が肝臓で処理される過程で処理能力を超えた PP ないしその代謝物が肝細胞や Kupffer 細胞、あるいは肝内胆管に沈着することによって肝障害が生じると考えられている。従って、光線曝露を抑えることが肝障害を予防するために必須である。

遺伝学的に本症はやや複雑な伝播様式をとるが、原因遺伝子が明らかにされる以前から不完全優性遺伝性疾患として認知されていた。それは、家系分析から、明らかに変異を有すると考えられるが発病しない個体、すなわち無症候性キャリアの存在が認められたからである。こうした遺伝様

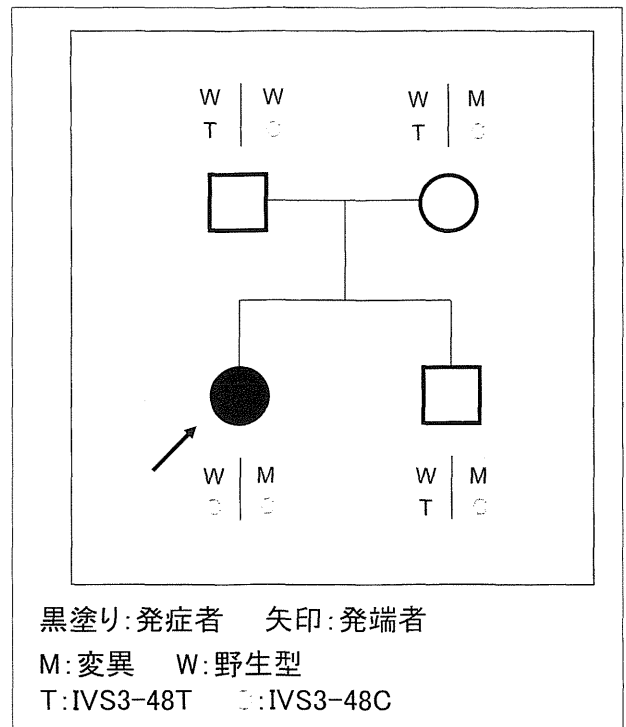


図 2. 遺伝子多型 IVS3-48C で発症が規定される EPP 家系発端者の同胞と母は一方のアリルに遺伝子変異を有するが、他方のアリルに IVS3-48C を持たないため発症しない。

式は換言すれば、浸透率が 100% 未満の優性遺伝ともいえる。一般に、浸透率は遺伝子変異を有する個体のうち、発症している個体の割合と定義されるが、ヨーロッパの白人 EPP 症例では、浸透率は 10% 程度とされてきた。つまり、遺伝子変異を有していても発症するのは 10 人に 1 人ということになる。EPP におけるこのようなメンデルの優性遺伝に 100% 従わない遺伝様式の様式が現在では分子遺伝学的に明らかになっている。体細胞に 2 つ存在する *FECH* のうち、一方のアリルに酵素活性を著しく低下させるような変異があり、かつ、もう一方のアリルのイントロン 3 に遺伝子多型 IVS3-48C が存在すると、スプライシング異常を起こす頻度が高まり、その結果、早期停止コドンを生じるため、ナンセンス依存性 mRNA 分解機構によって *FECH* mRNA 量が低下することが解明されている³⁾。一方のアリルに病的変異があっても、もう片方のアリルに IVS3-48C がなければ、EPP として発症しない。つまり、EPP の発症は変異の対側のアリルの IVS3-

表 2. ポルフィリン体検査項目

赤血球プロトポルフィリン 血中コプロポルフィリン
尿中ポルフィリン 尿中δ-アミノレブリン酸 尿中コプロポルフィリン 尿中ウロポルフィリン

48Cによって規定されている(図2)。このことはEPP家系において的確な遺伝カウンセリングを行ううえで極めて重要である⁴⁾。

<検査>

光線過敏を訴える患者について、EPPをはじめとするポルフィリン症を疑った場合、血液および尿中のポルフィリン体を測定する。表2に示したとおり、現在、臨床検査委託会社で測定可能な項目は複数あるが、EPPとそれ以外のポルフィリン症との鑑別が必要になることがあるので、表2に掲げた項目は一式測定したほうがよい。EPPでは赤血球プロトポルフィリン値が高値である一方、尿中ポルフィリン体は通常いずれも陰性である。定性的検査法として、末梢血の塗末標本を蛍光顕微鏡下で観察するとEPP患者では赤血球が蛍光を発しているのが確認できる。また、末梢血にUVAを照射して溶血が起こるかどうかを調べる、光溶血試験も有用である。これら2つの検査法は医療施設での検査環境が整っていれば、簡便で有用な検査法である。一般採血では貧血、肝機能障害をきたしうるので、定期的チェックが必要である。なお、EPPが骨髄異形成症候群に併発したという報告があるので、貧血を伴っている場合にはその質的診断が必要となる。病理組織学的には真皮の毛細血管周囲にPAS陽性物質が沈着する。

臨床症状と赤血球プロトポルフィリン高値でEPPが強く疑われた症例で、FECHに変異が同定できれば確定診断を得られる。現在、臨床的にEPP確実例の家系でFECHに変異が同定される割合は9割程度である。FECH変異とIVS3-48T/C遺伝子多型との関係を調べた報告を総合すると、大部分の症例がIVS3-48CによってEPPの発症が規定されている。従って、EPP家系にお

いて、発端者のFECH変異が確定できれば、IVS3-48T/Cの遺伝子型も調べることによって、患者の同胞のうち、臨床的に無症状の個体が無症候性キャリアであるかそうでないかが特定できる⁴⁾。

EPPにおける遺伝子診断の最も重要な臨床的意義は、潜在的EPP罹患児の発見である。いまだ発症していないEPP罹患児が、それと知らずに多量の日光に曝露されると重度の光線過敏症状を生じるのみならず、血中に大量に放出されたPPに起因する急性肝不全で致命的になる危険性がある。従って、EPPと診断された家系では遺伝子診断を行い、特に、無症候の同胞について、EPPであるかどうかを明らかにしておかなければならない。これまでのところ、肝障害の合併に特異的なFECH変異は決定されていない。停止コドンが生じるようなナンセンス変異やスプライシング異常のようにFECHの活性がほぼゼロになるような変異では、ミスセンス変異に比べて肝障害を引き起こす可能性が高いことが示唆されているが、その一方、ミスセンス変異であっても肝障害を生じた家系が報告されている。また、同一のミスセンス変異でも肝障害を合併する場合としない場合もあり、特定の変異から将来肝障害を併発するかどうかを推定することは不可能である。

<治療>

EPP患者の管理目標は、光線過敏症状を起こさないようにすることと、肝障害を併発させないことにある。光線に曝露させないためには遮光が必要であるが、現在では、サンスクリーンによって完全に紫外線を遮断する必要はなく、直射日光は無論避けるべきであるが、ある程度紫外線に曝露されて色素沈着を獲得したほうが、耐性を生じるため好ましいという考え方がある⁵⁾。光線性皮膚炎が生じてしまった場合は、紅斑が主体の皮疹に対しては病変部位に応じたステロイド外用剤を用いる。びらんを伴う皮疹には創傷治療促進外用薬と外用抗菌剤とを適宜併用する。掻痒があれば抗ヒスタミン内服薬を使用する。活性酸素除去によ

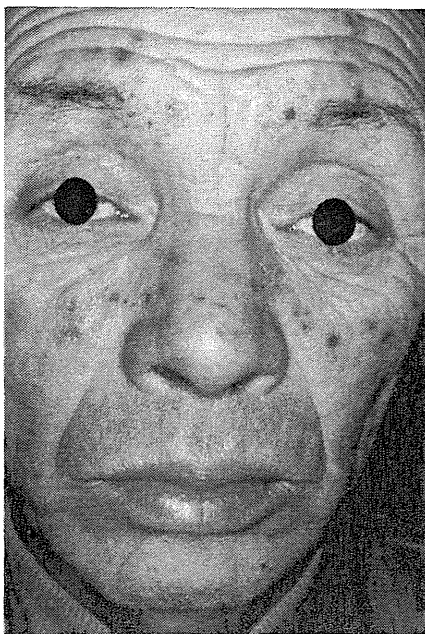


図 3. PCT の顔面皮膚病変
前額部、両頬部、および鼻部に小びらんが
散在している。



図 4. PCT の強皮症様皮膚病変
皮膚硬化のために手指の進展が妨げられてい
る。強皮症でみられる bowed finger のごと
き所見である。

る皮膚炎の症状軽減を期待して、ビタミンCやビタミンEなどの抗酸化ビタミンの投与も行われているが、有効性に関する確かなエビデンスはない。欧米ではEPPに対してβ-カロチン内服療法が行われ、有効とする報告が複数あるが、本邦では未承認である。しかし、光線過敏が軽減されたと述べる患者も実際に経験するため、そのような症例では利用する価値があると思われる。軽度の肝障害に対しては、胆石溶解薬や陰イオン交換樹脂の有効性が報告されている。肝障害は軽度にとどまるうちから小児科医あるいは内科医にコンサルトし、定期的にフォローアップしてもらうべきである。

<日常生活における注意点>

ポルフィリン症の作用波長を効果的に遮蔽可能で使用感にも優れたサンスクリーン剤は現在市販されていないが、厚生労働省研究班が開発中である⁶⁾。現状では従って、つば広の帽子や長袖シャツ、長ズボンなどの着用により物理的に光線を遮断する方法に頼らざるをえない。なお、作用波長光線はガラスも透過するので、室内あるいは自動車内においても光線曝露には十分留意すべきである。

PCT

<臨床的特徴>

本症は通常壮年期以降に発症する。露光部に色素沈着、水疱、びらん、瘢痕、皮膚脆弱、多毛などがみられる(図3)。光線過敏症状はほとんど目立たず、自覚されないこともある。皮膚硬化を伴うことがあり、稀に強皮症を思わせる所見を呈する場合がある(図4)。ウイルス性肝炎や肝細胞癌を含めた肝障害、アルコール摂取過剰、鉄負荷、薬剤摂取が背景にあることが多い。

<病態>

肝臓でのウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素の活性低下により発症するとされる(図1、表1)。稀に常染色体性優性遺伝の症例があるが、大部分は後天性と考えられている。しかし、ヘモクロマトーシスの原因遺伝子HFEのアミノ酸置換が関与しているなど、遺伝的背景が発症にかかわっている可能性が欧米では示唆されている。

<検査>

PCTでは尿中ウロポルフィリンが高値になるが、血中ポルフィリン体は正常値である。血清鉄、

フェリチン値が高値を示す。また、肝機能異常、特にウイルス性肝炎や肝細胞癌の合併を調べなければならない。組織学的に毛細血管周囲のPAS陽性物質沈着が認められるが、EPPほど高度ではないという。

<治療>

PCTでは瀉血療法が有効であり、鉄過剰の患者では特に効果が高いとされる。1回500mlの瀉血を2週に1ないし2回行い、ヘモグロビン値が10g/dl程度になるまで行う。ポルフィリン体が正常値に回復するまでは瀉血療法終了から数か月以上を要するため、それまでは遮光を継続しなければならない。また、抗マalaria剤が有効とされ、欧米では一般的である。鉄キレート剤、シメチジン、インターフェロン(C型肝炎合併例)の有効性が報告されている。いずれにしても、肝障害や薬剤など増悪ないし誘発因子がある場合、症状改善のためにはそれらを可及的に除去する必要がある。

<日常生活における注意点>

他の疾患の治療目的に投薬を受ける際は、ポルフィリン症を悪化させることが知られている薬剤(エストロゲン、バルビツレート、スルホンアミドなど)の使用を避けるべきである。アルコール摂

取も制限する。また、PCTは鉄過剰状態にあり、貧血の合併に対して鉄剤を投与すると、原疾患を悪化させる可能性があることに注意が必要である。

文献

- 1) Watley SD, Ducamp S, Gouya L, et al: C-terminal deletions in the ALAS2 gene lead to gain of function and cause X-linked dominant protoporphyria without anemia or iron overload. *Am J Hum Genet*, **83**: 408-414, 2008.
- 2) Kondo M: Porphyria in Japan: The past, Present, and Future. *Porphyrias*, **18**: 1-6, 2009.
- 3) Gouya L, Puy H, Robreau AM, et al: The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by expression of wildtype FECH. *Nat Genet*, **30**: 27-28, 2002.
- 4) 中野 創: 皮膚科セミナリウム 3 骨髄性プロトポルフィリン症の遺伝子診断. 日皮会誌, **119**: 1225-1230, 2009.
- 5) 上出良一: 光線過敏症. 皮膚臨床, **51**: 1380-1391, 2009.
- 6) 川田 暁, 上出良一: 遺伝性ポルフィリン症の光線過敏にたいする新規治療薬開発の検討. 厚生労働省科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業 遺伝性ポルフィリン症の全国疫学調査ならびに診断・治療法の開発に関する研究 平成 21 年度総括・分担研究報告書, pp. 69-72, 2011.

特集 知っておくべき「肝疾患と皮膚病変」—ウイルス性肝炎治療を中心に

topics 3 Part2. 皮膚科医が知って得する, 肝臓と皮膚のトピックス

J Visual Dermatol 11: 1168-1172, 2012

肝障害と晩発性皮膚ポルフィリン症

中野 創

Key words 晩発性皮膚ポルフィリン症, ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素, 肝障害

はじめに

ポルフィリン症はヘム合成系に関わる8つの酵素のいずれかの活性低下によって、ポルフィリン体あるいはその前駆体が蓄積し、皮膚症状、消化器症状、神経症状などを呈する疾患群の総称であり、現在9つの病型が知られている(表1)。

それらのうち、晩発性皮膚ポルフィリン症(porphyruria cutanea tarda: PCT)はヘム合成系の5番目の酵素であるウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素[(uroporphyrinogen decarboxylase: UROD (EC 4.1.1.37)]の活性が低下することによって、ポルフィリン体が過剰に生成され、光線過敏性皮膚障害と尿中ウロポルフィリン(uroporphyrin: UP)の大量排出を来すポルフィリン症である¹⁾。ポルフィリン症の他の病型とは異なりPCTの多くは遺伝性を認めず、孤発性PCT (sporadic PCT: sPCT)とよばれるが、欧米ではPCT症例の20~30%がURODをコードするUROD遺伝子のヘテロ接合性変異による常染色体性優性遺伝性のPCTであるとされ、家族性PCT (familial PCT: fPCT)とよばれている(OMIM#176100)。sPCTをI型、fPCTをII型

とし、さらに家族内発症が認められるものの、URODの活性低下が肝臓に留まるものをIII型として分類する場合もある。

本邦においては1957年から2002年までに報告されたPCT 303症例中、家族歴の明らかなPCTはわずかに3症例の報告があるのみであり、欧米に比べて圧倒的にsPCTが多い²⁾。発症の男女比はほぼ1対1である。sPCTは中年以降に発症することが多いが、fPCTの多くは20歳までに発症するとされる³⁾。

■ 病因・病態

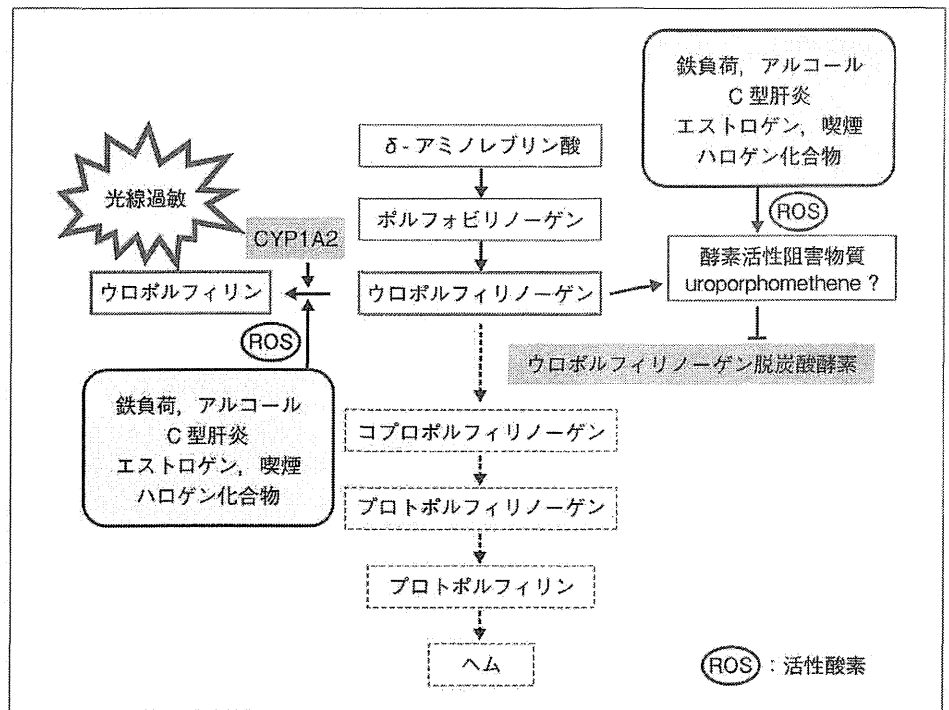
URODは、ヘム合成系においてウロポルフィリノーゲンIII(uroporphyrinogen III:UROGEN III)から脱カルボキシル化によってコプロポルフィリノーゲンIII(coproporphyrinogen III:COPROGEN III)を生じる反応を触媒する酵素である。sPCTでは部分的UROD活性低下が肝で選択的に生じている。このためUROGENが多量に生じるが、これが肝において酸化を受けてUPになり、循環血中に放出されたものが皮膚に蓄積し、日光曝露を受けて皮膚障害をひき起こすものと理解されている(図1)。

表1 ポルフィリン症の病型

病型	原因遺伝子産物	遺伝形式
先天性赤芽球性ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン合成酵素	常劣
赤芽球性プロトポルフィリン症	フェロケラターゼ	常優
X連鎖優性プロトポルフィリン症	アミノレブリン酸合成酵素2型	X優
急性間欠性ポルフィリン症	ポルフォビリノーゲン脱アミノ酵素	常優
アミノレブリン酸脱水素酵素欠損性ポルフィリン症	アミノレブリン酸脱水素酵素	常劣
多様性ポルフィリン症	プロトポルフィリノーゲン酸化酵素	常優
遺伝性コプロポルフィリン症	コプロポルフィリノーゲン酸化酵素	常優
晩発性皮膚ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素	常優
肝性赤芽球性ポルフィリン症	ウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素	常劣

常劣:常染色体性劣性遺伝, 常優:常染色体性優性遺伝, X優:X染色体連鎖優性

図1 PCT発症のメカニズム



このUROGENの酸化反応にはPCTの誘発因子として知られる鉄、アルコール、エストロゲン、ある種の化合物などによって生成される活性酸素が関与しているとの考えが一般的である⁴⁾。マウスでは肝においてCYP1A2によりUROGENが酸化されてUPを生じることがわかっている(図1)。ただし、ヒトの正常肝はマウスに比べて酸化活性がはるかに低い⁵⁾。

PCTの病態の本質は肝におけるURODの活性低下であるが、なぜ肝選択的にURODの活性低下が生じるかはわかっていない。これまでの通説は肝においてUROD阻害物質が形成されるというもので、ここにも各種誘因が作り出す活性酸素が関与しているとの考えが支持されている⁴⁾。近年、鉄依存性に生じる内因性のUROD阻害物質がuroporphometheneとして報告されたが⁵⁾、その存在に疑念を挟む意見もあり⁶⁾、実際今日までその阻害物質は追認されていない。

fPCTでは肝臓以外に、赤血球、皮膚線維芽細胞においても活性低下が証明されており¹⁾、すべての細胞でUROD活性が低下していると考えられる。UROD遺伝子にヘテロ接合性の変異を有する個体では、すべての細胞でUROD活性が50%まで低下しているが、sPCTと共通した誘因により、肝でUROD活性がさらに低下す

るとfPCTとして発症する。sPCTでは皮膚におけるUROD活性は正常で、ヘム合成系自体には異常がないと考えられるが、やはり光線過敏が生じることから、光線過敏性皮膚障害に関しては肝由来のUPが大きく寄与していると思われる。

PCTと肝障害

PCTは古くから肝障害と密接な関係があるといわれてきた。それは、誘因としてよく知られるアルコール過剰摂取やC型肝炎ウイルス(HCV)感染が肝障害を伴うからである。しかし、他の誘因のなかにはエストロゲン摂取のように、それ自体肝障害を必ずおこすものではない誘因もある。実際にPCT患者の肝でほぼ必ずみられる異常所見は、組織学的な鉄沈着である³⁾。

PCTの病態における肝障害の位置づけは、3割の症例に肝障害がみられる赤芽球形プロトポルフィリン症のように、遺伝子変異によってポルフィリン代謝酵素活性が低下し、ポルフィリン体が肝に蓄積することによって、二次的に肝障害を来すのとは根本的に異なる(図2)。

sPCTの場合は鉄負荷を伴う肝障害が基盤にあり、そのためにUROD活性の低下がおこることによってポルフィリン体の生成が過剰になり、結果、皮膚の光線過敏

特集 知っておくべき『肝疾患と皮膚病変』—ウイルス性肝炎治療を中心に

topics 3 肝障害と晩発性皮膚ポルフィリン症

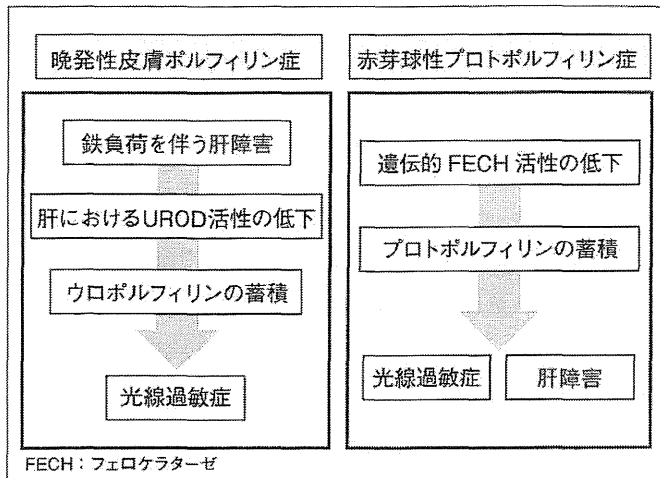


図2 ポルフィリン症における肝障害の位置づけ

がひきおこされる(図2)。fPCTにおいても、UROD 遺伝子のヘテロ接合性の変異によって肝を含む全身の細胞のUROD活性が50%まで低下しているが、それだけでは発症せず、sPCTと共通した誘因が関与して、さらに肝におけるUROD活性が低下することによって、発症していると理解されている。

PCTとその誘発因子

現在までにPCTの誘因として知られているものを表2に掲げた。これら誘因のうち、UROD活性を低下させることが明らかに証明されたものは多くはない。かつて食用穀類の殺菌剤として用いられ、多数のPCT-like syndromeをひきおこしたhexachlorobenzeneはUROD活性の阻害剤であることが明らかにされている。以下、個々の誘因とPCTの病態における役割を簡単に述べる。

① 鉄負荷

肝における鉄負荷は、PCTのほぼすべての症例において共通してみられる所見である。瀉血によって体内の鉄量を減少させるとPCTの症状が改善されることから、鉄負荷の病態への関与は明らかであろう。鉄は活性酸素を介してUPなどのポルフィリン体産生を促進するほか、細胞内のδ-アミノレブリン酸(δ-aminolevulinic acid: ALA)レベルを上昇させることが知られている⁴⁾。鉄代謝に影響する遺伝的因子としては、遺伝性ヘモクロマトーシスの原因遺伝子であるHFE遺伝子のアミノ酸置換があげられ、p.Cys282Tyrあるい

表2 PCTの誘発因子

鉄負荷
アルコール過剰摂取
エストロゲン服用
C型肝炎ウイルス感染
喫煙
ハロゲン化合物摂取

はp.His63Aspを生じる遺伝子変異が発症に関与しているとの報告が多数ある⁴⁾。しかし、すべてのPCT症例にこれらの変異がみられるわけではない。また、HFE遺伝子に病的変異を有する遺伝性ヘモクロマトーシス患者ではPCTよりもはるかに高度の鉄負荷が存在するが、それらの症例がすべてPCTを発症するわけではない。したがって、鉄負荷はその絶対量ではなく質的な変化が影響しているのかもしれない。

② アルコール過剰摂取

アルコールの過剰摂取は25～90%の症例で認められる⁴⁾。アルコールの過剰摂取は当然肝機能障害をひきおこす。エタノール自体はALA脱水素酵素やフェロケラターゼといったヘム合成系の酵素を阻害することが知られ、また、アルコール摂取した健常人やアルコール依存者において、赤血球UROD活性が低下していることが示されている⁷⁾。アルコール性肝障害ラットでは、肝を含めた全身の鉄貯蔵量が増加していることも示されている⁸⁾。

③ エストロゲン服用

女性のPCT症例におけるエストロゲン服用者の割合は30～70%である⁴⁾。しかし、エストロゲン服用者のうちPCTを発症するのはきわめて一部分にすぎず、本薬剤の発症における役割はわかっていない。HCV感染を伴わないエストロゲン服用女性PCTの6例すべてにおいて、組織学的な脂肪肝が確認されている¹⁰⁾。したがって、エストロゲン服用によって組織学的肝障害が生じるような個体ではPCTが発症するのかもしれない。また、男性の前立腺癌患者がホルモン療法の目的でエストロゲンを服用し、PCTを発症した症例も報告されている。

④ C型肝炎ウイルス感染

ウイルス感染がPCTの発症メカニズムとどのように関係しているかについてもこれまであまりわかっていなかった。HCVの関与が強いとする報告が多数ある一方、明らかな関連性を認めないとする報告もある^{3,10)}。近年、HCV感染者の肝では対照と比較して、鉄代謝に関与するヘプシジンの遺伝子発現が低下していることが示された¹¹⁾。非常に興味深いことに、PCT患者肝では同程度の鉄負荷を有する遺伝性ヘモクロマトーシス患者と比較して、ヘプシジンの発現が有意に低いことが明らかにされている¹²⁾。

ヘプシジンは25残基のアミノ酸からなるシステインが豊富なペプチドであるが、本ペプチドはIL-6等の刺激により肝細胞での産生および血中への放出が促進され、十二指腸の腸細胞に作用して、同細胞から循環系への鉄放出を負に制御する機能を有している¹³⁾。したがって、HCV感染によりヘプシジン発現が低下し、腸細胞から全身への鉄供給が増加し、肝における鉄負荷が生じるためPCTを発症するという機序が考えられている。

⑤ 喫煙

PCT患者の喫煙率は80%以上と高い⁴⁾。喫煙は肝においてCYP1A2を誘導することが知られているため、UP生成に促進的に働く可能性がある。また、活性酸素を発生させることからUROD活性を抑制しているとも考えられる。

以上、PCTの誘発因子について述べたが、症例の大部分はこれら因子が複数関与しているとされており¹⁴⁾、発症要因が個々の症例ごとに多様であることをうかがわせる。

■ PCTの臨床症状

露光部皮膚、とくに手背に水疱、びらん、痂皮を生じる。治癒後に癬痕や稗粒腫をしばしば形成する。手背に皮膚の脆弱性がみられる。痒痒を伴うことが多い。ただし、軽症例では光線が皮疹の原因になっていると自覚されない場合もある。顔面に多毛を生じる。強皮症様皮膚硬化がみられることがある¹⁵⁾。肝障害があれば、その病勢に応じた症状が出現する。

■ 診断と鑑別診断

1) 臨床診断

光線過敏性皮膚症状と尿中ポルフィリン体が陽性の場

合、まずはPCTが疑われる。本症では尿中UPが高値になるが、赤血球中ポルフィリン体は正常値である。尿中コプロポルフィリン(coproporphyrin: CP)も上昇する。7-カルボキシルポルフィリンが尿中で検出され、診断に有用である。糞便中にCPやイソコプロポルフィリンが検出され、後者は特異性が高い。肝機能異常、HCV感染の有無を調べる必要がある。血清鉄、フェリチン値が高値を示す。水疱部皮膚では病理組織学的に表皮下の水疱形成、真皮浅層毛細血管周囲のPAS陽性物質沈着がみられる。

2) 遺伝子診断

患者末梢白血球由来DNAを用いてUROD遺伝子の変異検索が行われており、sPCTとfPCTの鑑別が可能である(弘前大学皮膚科: <http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~derma/>)。本邦ではUROD遺伝子に変異が同定された症例はない。海外では2012年8月現在、113の変異が報告されているが、変異の種類と臨床症状の重症度との相関はみられていない。

3) 鑑別診断

他の遺伝性ポルフィリン症のなかで、多様性ポルフィリン症と遺伝性コプロポルフィリン症も光線過敏性皮膚障害と尿中ポルフィリン体陽性を示すため、鑑別が必要になることがある。そのためには尿中のUP、CPおよびALAを調べなければならないが、これらは臨床検査委託会社に依頼可能であり、保険適用になっている。PCTでは尿中ポルフィリン体は常にUP優位であり、ALAは検出されない。

■ 治療と予後

1) 治療

ウイルス性肝炎、アルコール摂取や薬剤などPCTの誘発因子が存在する場合は、できる限りそれらを除去する。瀉血療法が有効であり、鉄過剰状態の患者ではとくに有効である⁸⁾。抗マラリア剤クロロキンが有効であり、欧米では一般的に使用されている。鉄キレート剤、シメチジン、インターフェロン(C型肝炎合併例)の有効性が報告されている。また、貧血を伴っている場合に鉄剤を投与すると、鉄過剰を増長し、症状を悪化させるので注意を要する。

2) 予後

合併している肝障害その他の状態による。PCTは肝細胞癌を発症する率が高いとされ³⁾、長期間未治療の症