

HEPでは10%未満と著明に低下している。赤血球中ではUROD活性はPP生成まで反応が進むのに十分であると考えられる。激しい皮膚所見を呈し、CEPとの鑑別が必要な場合には、尿および糞便中に排泄されるポルフィリン体パターンの解析、およびそれぞれの責任酵素遺伝子の変異の解析が有用である。なお、HEPでは急性ポルフィリン症に特徴的な尿中ポルホピリノゲン(PBD)やデルタアミノレブリン酸(δ -ALA)の増加はみられない。

6. 治療と予後

HEPに対する根本的治療はまだない。PCTと

異なり、鉄負荷を軽減する瀉血や抗マラリア薬であるクロロキンの投与は無効である^{12,13)}。皮膚症状の予防として、太陽光を遮断する帽子や衣服、サンスクリーンなどでできるだけ直接的な日光曝露を避ける。皮膚外傷にも注意し、瘢痕化予防のために二次感染があれば速やかに対処する。

ただ、HEPでは皮膚症状は長期にわたってみられるものの、数例を除いたほとんどの症例で重篤な貧血や肝障害、神経症状などはみられておらず、一般に生命的予後は良好と思われるが、今後更に症例を集積し解析する必要がある。

■ 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), p2991-3062, McGraw Hill, New York, 2001.
- 2) Elder GH, et al: Hepatoerythropoietic porphyria: a new uroporphyrinogen decarboxylase defect or homozygous porphyria cutanea tarda? *Lancet* 1: 916-919, 1981.
- 3) Roberts AG, et al: A mutation(G281E) of the human uroporphyrinogen decarboxylase gene causes both hepatoerythropoietic porphyria and overt familial porphyria cutanea tarda: biochemical and genetic studies on Spanish patients. *J Invest Dermatol* 104: 500-502, 1995.
- 4) Aguadé JP, et al: A case of biochemically unclassifiable hepatic porphyria. *Br J Dermatol* 81: 270-275, 1969.
- 5) Kondo M, et al: Porphyria in Japan: the past, present, and future. *Porphyrias* 18: 1-6, 2009.
- 6) de Verneuil H, et al: Molecular analysis of uroporphyrinogen decarboxylase deficiency in a family with two cases of hepatoerythropoietic porphyria. *J Clin Invest* 77: 431-435, 1986.
- 7) Elder GH: Hepatic porphyrias in children. *J Inherit Metab Dis* 20: 237-246, 1997.
- 8) Moran-Jimenez MJ, et al: Uroporphyrinogen decarboxylase: complete human gene sequence and molecular study of three families with hepatoerythropoietic porphyria. *Am J Hum Genet* 58: 712-721, 1996.
- 9) Armstrong DK, et al: Hepatoerythropoietic porphyria: a missense mutation in the *UROD* gene is associated with mild disease and an unusual porphyrin excretion pattern. *Br J Dermatol* 151: 920-923, 2004.
- 10) To-Figueras J, et al: Hepatoerythropoietic porphyria due to a novel mutation in the uroporphyrinogen decarboxylase gene. *Br J Dermatol* 165: 499-505, 2011.
- 11) Cantatore-Francis JL, et al: Hepatoerythropoietic porphyria misdiagnosed as child abuse: cutaneous, arthritic, and hematologic manifestations in siblings with a novel *UROD* mutation. *Arch Dermatol* 146: 529-533, 2010.
- 12) Phillips JD, et al: Two novel uroporphyrinogen decarboxylase(URO-D) mutations causing hepatoerythropoietic porphyria(HEP). *Transl Res* 149: 85-91, 2007.
- 13) Bundino S, et al: Hepatoerythropoietic porphyria. *Pediatr Dermatol* 4: 229-233, 1987.

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

急性間欠性ポルフィリン症

Acute intermittent porphyria

Key words : 急性ポルフィリン症, 急性間欠性ポルフィリン症(AIP), ヒドロキシメチルピラン合成酵素(HMBS), ポルホピリノゲン(PBG), δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)

前田直人

II

赤血球の異常

はじめに

ポルフィリン症の8病型のうち, 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)およびALAD欠損性ポルフィリン症(ADP)の4病型は急性ポルフィリン症に分類され, その誘因, 臨床症状, 検査所見, 治療方針など実臨床において共通する部分が多い。したがって, 本稿ではAIPについて述べるが, AIPは急性ポルフィリン症の代表病型であり, 他の病型の診療にあたっては本稿もあわせて参考にされたい。また, ポルフィリン症では略語が用いられることが多く, 病名や物質名などを混同しやすいため, 本稿末に付録として略語表を示した。

1. ヘム代謝とポルフィリン症

1) ヘム代謝とポルフィリン症

ヘムは, ヘモグロビンやミオグロビン, チトクローム, カタラーゼ, ペルオキシダーゼなど, 酸素の運搬やプロトンの輸送といった多彩な機能を有するヘムタンパクの補欠分子族であり, 生体機能の根幹反応に関与する重要な生命色素である¹⁾。ヘムの生合成はほぼすべての体細胞で行われるが, 哺乳動物では主として肝細胞と骨髄赤芽球において行われる。ヘム合成は, ミトコンドリア内でのグリシンとサクシニル-

CoAの縮合に始まり, 続いて細胞質で幾つかの種類ポルフィリンを経て段階的に反応し, 再びミトコンドリア内に戻って最終的にヘムとなる(図1)。

ポルフィリン症は, ヘム合成に関与する8つの酵素のうち, 最初の縮合反応を触媒する δ -アミノレブリン酸合成酵素(ALAS)を除くあとの7つの酵素のいずれかの活性が, 主としてそれらをコードする遺伝子の変異によって, 低下または欠損すること起因する。ヘム合成系におけるすべての中間代謝産物は潜在的に人体に対して毒性を有しているが, どの段階での酵素が障害されているかによって過剰に産生される中間体(前駆物質)が異なるため, それぞれ異なる臨床病型を生じることになる。すなわち, ポルフィリン症は遺伝学的にも臨床的にも heterogeneousな疾患群からなる²⁾。

2) 肝性, および急性ポルフィリン症の位置づけ

歴史的にポルフィリン症は, これらヘム前駆体の過剰産生が主として肝細胞内で起こるかあるいは骨髄造血細胞内で起こるかによって, 肝性と骨髄性とに分類されてきた(表1)。これは, ヘム合成系の各酵素の活性が体内の2大ヘム産生臓器である肝と骨髄とでそれぞれ臓器特異的に異なって調節されているためである。

例えば, ヘム合成系の律速酵素であるALASに対するヒドロキシメチルピラン合成酵素(hy-

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

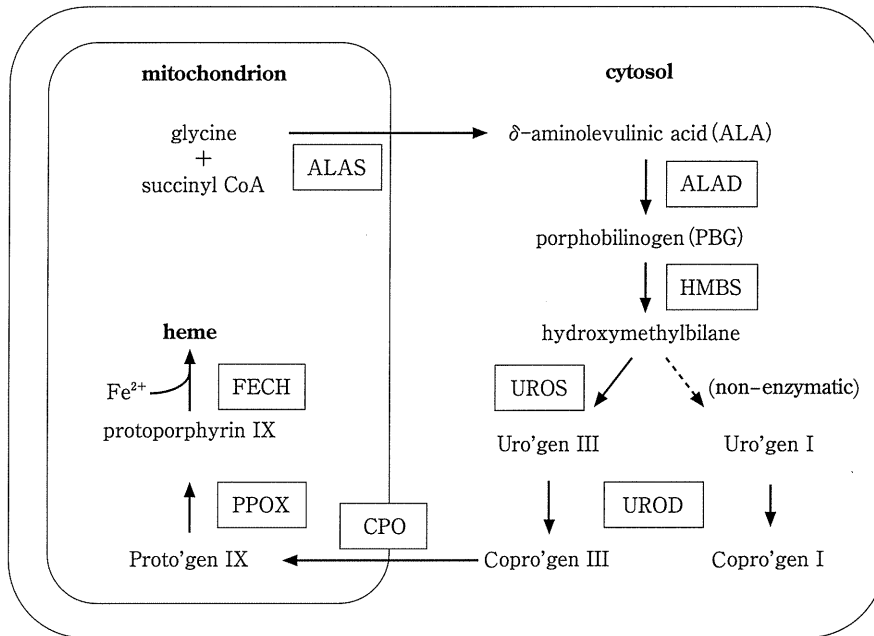


図1 ヘム合成系とポルフィリン症

ヘム合成系に關する酵素(枠線で示す)は全部で8つあるが、ポルフィリン症は、最初の縮合反応を触媒する δ -アミノレブリン酸合成酵素(ALAS)を除く、7つの酵素のいずれかの活性の低下または欠損に起因するため、どの酵素が障害されているかによってそれぞれ異なる病型を生じることになる。

droxymethylbilane synthase: HMBS, 別名 porphobilinogen deaminase: PBGD) [EC 4.3.1.8] の相対活性は肝では2倍程度であるのに対して骨髄では約6倍であり、そのためHMBS活性が正常人の50%に低下しているAIP患者では肝ではヘム前駆物質の過剰産生が生じるが骨髄ではみられず、AIPは肝性ポルフィリン症として分類される。また、赤芽球性(骨髄性)プロトポルフィリン症(EPP)の責任酵素であるフェロケラターゼ(FECH)のALASに対する相対活性は肝では64倍もあるのに対して骨髄では2-6倍程度しかないため、FECH活性が正常人の50%未満に低下した個体では骨髄赤芽球に前駆体のプロトポルフィリンが過剰蓄積することになり、EPPは骨髄性ポルフィリン症に分類されることになる。なお、一般に、肝性ポルフィリン症では肝細胞におけるヘム合成は著しく障害されるが赤芽球では異常はみられず、したがって造血器障害は生じない。

一方、臨床的立場からは、急性内臓神経症状を主徴とする急性ポルフィリン症と皮膚光線過敏症を主徴とする皮膚ポルフィリン症とに分類される。急性症状は患者の訴えも激しいうえ、時に致死的事から、臨床的にはこちらの分類がより実用的と考えられる。急性ポルフィリン症にはAIP, VP, HCP, ADPの4病型が含まれ、皮膚ポルフィリン症には晩発性皮膚ポルフィリン症(PCT)、肝赤芽球性(骨髄性)ポルフィリン症(HEP)、先天性赤芽球性(骨髄性)ポルフィリン症(CEP)およびEPPの4病型が含まれる(表1)。

2. 概念・疫学

AIPは、ヘム合成系における3番目の酵素であるHMBSの先天的(遺伝的)活性低下に起因する²⁾。VP, HCP, ADPとともに急性ポルフィリン症に分類される。

AIPは、遺伝性ポルフィリン症の中では南ア

表1 ポルフィリン症の分類および各病型の特徴

| 分類 | 病型(略号) | 遺伝形式 | 責任酵素 | 酵素遺伝子 | 臨床症状 | 検査成績 | 本邦報告数(～2007) |
|-----|--------------------------|--------|-----------|-------|-------------------------------|--|--------------|
| 肝性 | ALAD欠損性ポルフィリン症(ADP) | 常・劣 | ALAD | ALAD | 消化器, 神経, 精神症状. 軽度肝障害. 皮膚症状はない | 尿中 δ -ALA(PBG増加はない) | 1 |
| | 急性間欠性ポルフィリン症(AIP) | 常・優 | HMBS/PBGD | HMBS | 消化器, 神経, 精神症状. 軽度肝障害. 皮膚症状はない | 尿中PBG, δ -ALA | 193 |
| | 遺伝性コプロポルフィリン症(HCP) | 常・優 | CPO | CPOX | 消化器, 神経, 精神症状. 皮膚症状. 肝障害 | 尿中PBG, δ -ALA, COPRO, 糞便中COPRO | 39 |
| | 多様性(異型)ポルフィリン症(VP) | 常・優 | PPOX | PPOX | 消化器, 神経, 精神症状. 皮膚症状. 軽度肝障害 | 尿中PBG, δ -ALA, URO, COPRO, 糞便中PROTO | 54 |
| 骨髄性 | 晩発性皮膚ポルフィリン症(PCT) | 散発性常・優 | UROD | UROD | 皮膚症状, 肝障害とも強い | 尿中URO, 糞便中isoCOPRO | 318* |
| | 肝赤芽球性(骨髄性)ポルフィリン症(HEP) | 常・劣 | UROD | UROD | 皮膚症状強い. 肝障害 | 尿中URO, 赤血球中PROTO, 糞便中PROTO | 6 |
| | 先天性赤芽球性(骨髄性)ポルフィリン症(CEP) | 常・劣 | UROS | UROS | 皮膚症状, 造血器障害とも強い. 赤色尿. 赤色歯牙 | 尿中URO I, 糞便中COPRO I, URO I | 35 |
| | 赤芽球性(骨髄性)プロトポルフィリン症(EPP) | 常・優 | FECH | FECH | 皮膚症状. 肝障害 | 赤血球中PROTO, 糞便中PROTO | 181 |

* PCTには散発性と家族性があり, 散発性が圧倒的に多く, 家族性の正確な報告数は不明である. なお, 略語については別表(付録)を参照されたい.

フリカとチリを除き, 世界各地で最も頻度の高い病型である. 特にスウェーデンを中心とする北ヨーロッパでは人口10万あたり60-100人の罹患率とされ, これは米国の約10倍の頻度である³⁾. 思春期以降の女性に好発する. AIPは常染色体優性遺伝形式をとるが, 後述するように多因子性疾患の側面があり, 実際に発症するものはHMBS遺伝子変異保因者の10-30%程度にすぎないと考えられている. 我が国では2007年までに190例あまりの報告例がある⁴⁾が, 未発表例や見逃し例, および未発症変異保因者を含めると実際には更に多く存在すると推定さ

れる.

3. 病因と病態

AIPでは, HMBS遺伝子変異に基づくHMBSの活性低下により, ポルフィリン前駆体であるポルホビリノゲン(PBG)および δ -ALAが過剰に蓄積する. 急性発作の特徴である神経系の異常は, 現在のところ, 肝で合成される δ -ALAあるいは他の代謝産物による神経毒であると考えられている. 急性発作の誘因として, 種々の薬物, 性ホルモンのアンバランス(生理前や妊娠初期, 出産直後), 飲酒, 喫煙, カロリー摂取

II

赤血球の異常

不足(無理なダイエット), 感染症などが指摘されている。そのメカニズムとして, 薬物代謝に関与する肝 cytochrome P450 の誘導(=ヘム産生増加), および飢餓や感染症による heme oxygenase の誘導(=ヘム消費亢進)など, ヘムの需要が増大し, 結果として ALAS が誘導される状況が基礎にあることを理解しておく。

遺伝子変異保因者における薬物起因性急性発作の起こりやすさは様々である。すなわち, 同じ変異保因者でも年齢や性, 発作の既往や生化学データなどによりそれぞれ薬物に対する感受性が異なる。例えば, 現在発症している保因者に対しては誘発薬物の影響はより大きく, 一方思春期以前で未発症の保因者では影響は小さいと予想される。より具体的には, 経産婦, 中年以前の男性, 赤色尿, 尿中 PBG 陽性, 5年以内の発症歴などが増悪因子とされる。

なお, 代表的な発作誘発薬剤として, バルビツール系薬剤, サルファ剤, 抗けいれん薬, 経口避妊薬, エストロゲン製剤などが知られている。発作は誘発薬物に曝露後, 通常 24 時間以内に生じる。個々の薬物の安全性確認については関連サイトを利用するとよい([http://www.drugs-porphyrin.org/], [http://www.porphyrin-europe.com/], [http://www.porphyrin-foundation.com/], [http://merckmanual.jp/media/mmpc/pdf/Table_155-4.pdf]など)。

4. 症 状

AIP では他の急性ポルフィリン症と同様, ① 消化器三大徴候といわれる, 腹痛, 嘔吐, 便秘などの腹部症状のほか, ② 痙攣や四肢麻痺などの中枢神経症状, 更に③ 高血圧や頻脈, 多汗などの自律神経症状を呈する。このうち最もよくみられる症状は腹痛である, 左下腹部の痙攣を訴えることが多く数時間ないし数日間続くが, 発熱や白血球増多, 腹膜炎症状を伴うことはまれである。発作は間欠性に起こる。訴えが激しい割には理学的所見に乏しく, また症状が多彩でそれぞれが非特異的なことから, その鑑別には内科, 神経科, 精神科など各科で苦慮することが多く, しばしば急性腹症やイレウス,

虫垂炎, あるいはヒステリーなどと誤診される。

急性発作は不安や多動, 不眠などの行動変化を含む前駆症状で始まる。患者はしばしば脱水や電解質異常をきたす。視床下部-下垂体障害から抗利尿ホルモン不適合分泌症候群(SIADH)に起因する低ナトリウム血症を認め, 重症例では痙攣を起こす。

診断のつかないまま症状を改善する目的で, 誘発因子となる薬物が不適切に用いられた場合, 急性症状は更に増悪する。神経症状はたいてい運動障害であり, 初期の段階では腕や足の筋肉痛がみられる。筋力低下は足よりも腕, 特に近位筋より始まる。筋力低下は進行性であり, やがて四肢麻痺へと進行し, 腱反射消失および運動麻痺が生じる。更に 10-20% の症例で球麻痺, 呼吸筋麻痺により死に至る。その一方で麻痺からの回復は緩徐であり, 一部の症例では非可逆的な後遺症を残す。錐体路徴候や小脳症候群, 一過性の失明, 意識障害が生じることもある。

こうした急性発作の多くは 30 歳代に発症し, 男性より女性に多く発症する。思春期前および閉経後にみられることは極めてまれである。患者のほとんどは 1 回もしくは数回の発作を経験したのちほぼ完全に回復するが, 10% 未満の患者では再発を繰り返す。なお, 繰り返し発症した AIP では, 中年以降に腎障害, 肝細胞癌の合併頻度が高くなる。

ちなみに, HCP, VP と異なり AIP に皮膚症状(光線過敏症)はみられない。AIP では HMBS 活性低下により δ -ALA や PBG といったポルフィリン前駆物質が増加するのであって, より下流の酵素欠損によって生成する光線感受性のポルフィリン体(photosensitizing porphyrin)は増加しないからである(図 1)。

5. 診断と鑑別診断

1) 生化学検査

症状および既往歴, 生活歴(誘発因子含む), 家族歴などから急性ポルフィリン症が疑われた場合, 最初に検査すべきは尿中 PBG の測定である⁵⁾。急性期では, 尿中 PBG は ADP を除く急性ポルフィリン症 3 病型すべてにおいて特異的

表2 急性ポルフィリン症の生化学的所見(急性期)

| porphyria | 尿 中 | | | | 糞便中 | | |
|-----------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | δ -ALA | PBG | UP | CP | UP | CP | PP |
| AIP | ++++ | +++ | + | + | ~ | ~ | ~ |
| HCP | ++ | ++ | +++ | +++ | + | +++ | ~ |
| VP | +++ | +++ | ++ | +++ | ~ | + | +++ |

AIP: acute intermittent porphyria 急性間欠性ポルフィリン症, HCP: hereditary coproporphyria 遺伝性コプロポルフィリン症, VP: variegate porphyria 多様性(異型)ポルフィリン症, δ -ALA: δ -aminolevulinic acid δ -アミノレブリン酸, PBG: porphobilinogen ポルホビリノゲン, UP: uroporphyrin ウロポルフィリン, CP: coproporphyrin コプロポルフィリン, PP: protoporphyrin プロトポルフィリン.

に増加する(正常人の20-200倍)(表2)(ADPでは δ -ALAのみが増加). 特にAIPでより高値を示し, またその持続も他の2病型より長い. 一方, 尿中のウロポルフィリンおよびコプロポルフィリン増加は非特異的であり鑑別には役立たない. AIPではVP, HCPと異なり, 糞便中へのポルフィリン体の排泄増加はない. また, 3病型ともに発作間欠期(寛解期)においては, 尿中および糞便中のポルフィリン体濃度はおおむね正常値を示す. これら3病型の鑑別には一般的な尿および糞便の生化学的検査では必ずしもクリアカットな結果が得られないうえ, 治療上はそれぞれの病型で特異的なものはないため, 治療にあたっては急性ポルフィリン症として一括して扱って問題ない. その他の鑑別法としてHPLC分析や赤血球中のHMBS酵素活性の測定も可能ではあるが, 一般的ではない.

いずれにせよ, 尿中PBGが正常上限の10-100倍以上の高値を示す場合にはAIPを含めた急性ポルフィリン症の発症を考え, 直ちに治療を開始すべきである.

2) 遺伝子解析

上記のように, 従来よりAIPの臨床診断には尿中 δ -ALAやPBGを測定する生化学的手法が用いられており, 急性期の迅速な診断やその後の経過観察, 寛解期における患者管理などに広く利用されている. しかしながら, 年齢や病期, 病勢の強弱, あるいは個体差などにより, その結果判定には必然的に疑診, いわゆるグレイゾーンが存在する. こうしたことを背景に, 近年

の遺伝子工学の進歩を受け, ポルフィリン症各病型の診断に責任酵素遺伝子の解析が行われるようになった.

AIPに関してはポルフィリン症の中でいち早くその責任酵素であるHMBS遺伝子がクローニングされ⁶⁾, 欧米を中心としてこれまでに欠失変異や挿入変異, ミスセンス変異, スプライシング変異を含めて350あまりの遺伝子変異が報告されている. 遺伝子解析ではグレイゾーンの確定診断が可能であり, 遺伝子解析は遺伝性ポルフィリン症診断におけるgold standardとさえいえる^{7,8)}. また, いったん遺伝子変異が明らかになれば, 従来は困難であった家系内の未発症保因者の正確な把握とその将来の発症予測・発症予防が可能となる⁹⁾. 現在我が国ではポルフィリン症の遺伝子解析が可能な施設は限られているが, 平成22年度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・治療の開発に関する研究’班によれば, 我が国のAIPについてはこれまでに全国各地の18家系の解析が報告されている¹⁰⁾.

6. 治療と予後

AIPを含めて急性ポルフィリン症に対する根本治療はなく, 発症予防(誘因の回避・除去)と対症療法が基本となる. 治療は急性ポルフィリン症の4病型(AIP, VP, HCP, ADP)すべてに共通するもので, 可及的早期に開始する. 増悪因子, 特に誘発薬を除去し, 感染症を治療し,

低カロリーを是正する。使用薬物が安全であるか危険であるかについてはインターネットなどを通じて情報が得られる(前述)。

急性期における初期治療としては、ALAS活性の阻害およびカロリー補充を目的に大量の5-10%ブドウ糖液(3,000-4,000mL/日)の点滴静注が用いられる。また肝ALAS活性抑制の目的でシメチジンの静脈内投与も行われる。対症療法として、腹痛、嘔吐、頭痛、不安に対しクロロプロマジンや時に大量のオピオイドが必要となる。麻薬によって便秘が増悪した場合には緩下剤を併用する。バルピツール酸系薬は症状を増悪させるため禁忌である。頻脈や高血圧など自律神経症状に対しては β -ブロッカーが用いられる。低ナトリウム血症による痙攣では電解質補正に加えてジアゼパムを使用するが、ジアゼパムは誘発薬剤の扱いで緊急もしくは危険を上回る効果が望める場合に限られる。このため、急性ポルフィリン症の急性期治療では痙攣のコントロールに最も難渋する。更に重篤な例では呼吸管理を含めた集中治療も必要となる。初期治療に反応すれば良好な予後が期待できる。

ヘミンの経静脈投与は特異的かつ病因論的な治療法で^{9,11)}、欧米では高い有効性が認められ第一選択薬となっている(我が国では未承認であるが、2012年5月現在シミックホールディングス(株)から承認申請中)。ヒトヘミンはネガテ

イブフィードバックによって肝でのALASの誘導を抑制し、速やかに尿中へのALAおよびPBG排泄を減少させる。ヨーロッパではヘムアルギネート製剤であるNormosang[®](Orphan Europe, Paris)(3-4mg/kg/日)が広く用いられており、標準投与期間である4-5日程度の短期使用ではほとんど副作用はみられない。妊娠中の急性発作に対しても母子への副作用なく投与可能である¹²⁾。

その他、まだ少数ではあるが重篤なAIP患者に対して肝移植の行われた例が報告されている。肝移植により尿中PBG排泄量は正常化し、急性発作は回避され、患者のQOLは向上する¹³⁾。

いずれにしても、遺伝子変異を有する患者では、症状のあるなしにかかわらず、カロリーを考慮した食餌、禁酒や禁煙、感染症対策、安全な薬物と危険な薬物を記した一覧表など、発症予防に向けた十分な管理が必要である。特に薬物を投与する場合にはその有効性と危険性を常に考慮しなくてはならない。本症に対する認識が広まり、早期の正確な診断、適切な健康管理および効果的な治療が行えるようになれば、AIPを含めた急性ポルフィリン症の予後は更に改善されるものと期待される。

最近、AIPモデルマウスを用いて、酵素障害の改善を目的とした遺伝子導入療法も試みられ、良好な成績が示されている¹⁴⁾。

■ 文 献

- 1) Mauzerall DC: Evolution of porphyrins. *Clin Dermatol* 16: 195-201, 1998.
- 2) 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), p2991-3062, McGraw Hill, New York, 2001.
- 3) Sassa S: Modern diagnosis and management of the porphyrias. *Br J Haematol* 135: 281-292, 2006.
- 4) Kondo M, et al: Porphyria in Japan: the past, present, and future. *Porphyrias* 18: 1-6, 2009.
- 5) Anderson KE, et al: Recommendations for the diagnosis and treatment of the acute porphyrias. *Ann Intern Med* 142: 439-450, 2005.
- 6) Grandchamp B, et al: Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase. Two isoenzymes from a single gene. *Eur J Biochem* 162: 105-110, 1987.
- 7) Maeda N, et al: A splicing mutation in the hydroxymethylbilane synthase gene in a Japanese family with acute intermittent porphyria. *Clin Biochem* 32: 411-417, 1999.
- 8) Maeda N, et al: Two deletion mutations in the hydroxymethylbilane synthase gene in two unrelated Japanese patients with acute intermittent porphyria. *J Hum Genet* 45: 263-268, 2000.
- 9) Sassa S, Kappas A: Molecular aspects of the inherited porphyrias. *J Intern Med* 247: 169-

付録) ポルフィリン症に関係する主な略語

| | | |
|------------|---|---------------------|
| ポルフィリン症 | | |
| ADP | ALA dehydratase deficiency porphyria | ALA脱水酵素欠損性ポルフィリン症 |
| AIP | acute intermittent porphyria | 急性間欠性ポルフィリン症 |
| CEP | congenital erythropoietic porphyria | 先天性赤芽球性(骨髄性)ポルフィリン症 |
| PCT | porphyria cutanea tarda | 晩発性皮膚ポルフィリン症 |
| HEP | hepatoerythropoietic porphyria | 肝骨髄性ポルフィリン症 |
| HCP | hereditary coproporphyria | 遺伝性コプロポルフィリン症 |
| VP | variegate porphyria | 多様性(異型)ポルフィリン症 |
| EPP | erythropoietic protoporphyria | 赤芽球性(骨髄性)プロトポルフィリン症 |
| ヘム合成系酵素 | | |
| ALAS | δ -aminolevulinatase synthase | ALA合成酵素 |
| ALAD | δ -aminolevulinatase dehydratase | ALA脱水酵素 |
| HMBS | hydroxymethylbilane synthase | HMB合成酵素 |
| (PBGD) | (porphobilinogen deaminase) | (PBG脱アミノ酵素) |
| UROS | uroporphyrinogen III synthase | Uro'gen III合成酵素 |
| UROD | uroporphyrinogen decarboxylase | Uro'gen脱炭酸酵素 |
| CPO | coproporphyrinogen oxidase | Copro'gen酸化酵素 |
| PPOX | protoporphyrinogen oxidase | Proto'gen酸化酵素 |
| FECH | ferrochelatase | フェロケラターゼ(鉄導入酵素) |
| ポルフィリン関連物質 | | |
| ALA | δ -aminolevulinic acid | δ -アミノレブリン酸 |
| PBG | porphobilinogen | ポルホビリノゲン |
| HMB | hydroxymethylbilane | ヒドロキシメチルピラン |
| Uro'gen | uroporphyrinogen | ウロポルフィリノゲン |
| Copro'gen | coproporphyrinogen | コプロポルフィリノゲン |
| Proto'gen | protoporphyrinogen | プロトポルフィリノゲン |

II

赤血球の異常

178, 2000.

- 10) 川田 暁(研究代表)ほか：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23年度総括・分担研究報告書，厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業，2012.
- 11) Herrick AL, et al: Controlled trial of haem arginate in acute hepatic porphyria. *Lancet* i: 1295-1297, 1989.
- 12) Badminton MN, Deybach JC: Treatment of an acute attack of porphyria during pregnancy. *Eur J Neurol* 13: 668-669, 2006.
- 13) Soonawalla ZF, et al: Liver transplantation as a cure for acute intermittent porphyria. *Lancet* 363: 705-706, 2004.
- 14) Unzu C, et al: Porphobilinogen deaminase over-expression in hepatocytes, but not in erythrocytes, prevents accumulation of toxic porphyrin precursors in a mouse model of acute intermittent porphyria. *J Hepatol* 52: 417-424, 2010.

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

多様性(異型)ポルフィリン症

Variegate porphyria

Key words : 急性ポルフィリン症, 異型ポルフィリン症(VP), プロトポルフィリノゲン酸化酵素(PPOX), プロトポルフィリン, ポルホビリノゲン(PBG), δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)

前田直人

1. 概 念

多様性(異型)ポルフィリン症(VP)は、ヘム合成系の7番目の酵素であるプロトポルフィリノゲン酸化酵素(protoporphyrinogen oxidase: PPOX) [EC 1.3.3.4]の遺伝的活性低下に起因する常染色体優性遺伝性疾患である¹⁾。急性ポルフィリン症に分類され、急性間欠性ポルフィリン症(AIP)と同様、薬物などが誘発因子となって腹痛や神経精神発作などの急性症状を発症しうが、一方で、VPでは光線過敏症がみられることが特徴で、日光照射部位の水疱形成、慢性癬痕、皮膚の脆弱性、色素沈着、多毛症など多彩な皮膚症状を伴う。実際、VP患者のうち半数以上は急性発作を発症せず、皮膚症状のみが認められる。

なお、VPについては、当時の侍医の記録などを基に英国王のジョージ三世(George III, 1738–1820)が本症に罹患していたとする説もあり、真偽のほどはさておき、大変興味深い²⁾。

2. 疫 学

VPはすべての人種にみられ、ヨーロッパではその頻度はAIPの1/2程度とされている。しかし、南アフリカにおいてはAIPよりもVPの方が頻度が高い(人口1,000人に3人)。これは、17世紀のあるオランダ人移民を共通の祖先とする、いわゆる‘founder effect’(創始者効果)に

よるものと考えられている³⁾。我が国では2007年までに55例のVP報告例が確認されている⁴⁾。

3. 病因と病態

PPOXはミトコンドリア内膜に局在し、ヘム合成系において7番目の酵素としてプロトポルフィリノゲンIXからプロトポルフィリンIXへの酸化反応を触媒する。VPではPPOXをコードする遺伝子の変異を伴うが、通常、変異のヘテロ接合体においてはPPOXの酵素活性は正常人に比べて約50%に低下している。外来性の発作誘発因子(VPでは薬物によることが多い)が加わってヘムの需要が増大し、ヘム前駆物質が体内に過剰蓄積される結果、急性症状を発症する(別稿‘急性間欠性ポルフィリン症(AIP)’参照)。しかし、実際の浸透度は必ずしも高くはなく、変異保因者の半数近くは無症候のまま経過する。また、患者の多くは遺伝的にヘテロ接合、まれにより重篤化する複合ヘテロ接合を示すが、これまでに同一変異のホモ接合体の報告はない。ホモ接合状態は生存に不適合であり胎児死亡をもたらすためと考えられる。

VPを含めて、皮膚症状を呈するポルフィリン症各病型では大量のポルフィリン体が主として皮膚真皮層に蓄積する。ポルフィリン体を構成するテトラピロール核は光反応性が高く、400 nm近辺の紫外線を照射されると励起状態となって630–690 nm付近の赤色蛍光を発する。

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

と同時に、一重項状態に励起されたポルフィリン分子は周囲の様々な生物学的分子にエネルギーを転換することで元の状態に戻ろうとするが、この過程で産生された活性酸素が脂質膜の過酸化や核酸およびポリペプチドの酸化を促進し、皮膚組織を障害するに至る。なお、一般に、ポルフィリン症の各病型における皮膚症状の発現および程度の差は、蓄積されるポルフィリン体の種類と量、日光への曝露時間に依存する。

4. 症 状

PPOX 遺伝子変異を有する保因者のうち、実際にVPを発症するのは6割程度であるが、更にその約6割の患者では皮膚光線過敏症が唯一の症状であり、急性内臓神経発作のみ、もしくは両者を併発する症例はむしろ少ない。

1) 急性症状

別稿‘AIP’参照。

VPの急性内臓神経発作は、症状からはAIPなどの他の急性ポルフィリン症と区別がつかない。典型的には、数時間かけて腹部不快感から次第に強い腹部仙痛へと増悪し、痛みは背中や大腿部へと広がる。AIPと同様、嘔気や嘔吐、便秘、高血圧、頻脈がみられることがある。四肢の疼痛や筋力低下は弛緩性の四肢麻痺、更に球麻痺や呼吸筋麻痺への進展を示唆する。不安感、興奮、錯乱、痙攣、昏睡も生じうる。VPでは、こうした発作の多くは新たな薬物を服用した際にみられ、その他の誘発要因(月経に伴うホルモンの変動、妊娠、ホルモン剤、感染、ストレスなど)によるものはそれほど多くない。また、AIPに比べて急性発作を示す頻度は少なく、再発を繰り返すことも少ない。一般に思春期前の発症はない。

2) 皮膚症状

VPでは光線過敏症による皮膚障害で発症することが多く、皮膚科領域で診療されることが多い。VPにみられる皮膚病変は水疱形成性であり、病変は手背、顔面、後頸部など光線曝露部にみられる。こうした水疱や小水疱が治癒するのに数週間を要する。皮膚の脆弱性も特徴の一つで、ひっかき傷ができやすく、わずかな外

傷から表在性のびらんとなり、やがて痂皮を形成し線状瘢痕となる。疱疹を形成した部位は萎縮し茶褐色の色素沈着を呈するほか、頬や耳介、腕に多毛症がみられる。皮膚症状には季節性があり、夏と秋に特に症状が強い。なお、複合ヘテロ接合体では乳児期より重篤な皮膚症状を呈することが報告されている^{5,6)}。

以上のように、VPでは急性発作および皮膚障害が単独あるいは併発するために病状が極めて多彩(‘多様性’の由来)となり、AIPなどと比べてもなかなか本症の想起にすら結びつかないことが多い。

5. 診断と鑑別診断

別稿‘AIP’表2参照。

急性期には他の急性ポルフィリン症同様、尿中にポルホビリノゲン(PBG)、 δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)が著明に増加するほか、ウロポルフィリンおよびコプロポルフィリンの増加が認められる。赤血球中のポルフィリン体は通常増加しない。VPでは急性期・寛解期にかかわらず糞便中にプロトポルフィリンが検出されるが、特に急性発作時に著増するため、他の急性ポルフィリン症との鑑別に有用である。ただし、皮膚症状のみを呈するような寛解期にはこれらの尿および糞便の生化学的異常は不明瞭となる。

病型診断にあたり、VPの診断における最も鋭敏な生化学的検査は血漿蛍光分光分析である。AIPとHCPがともに620nm付近に蛍光波長のピークを有するのに対し、VPでは626–628nmに特異的なピークが認められる^{7,8)}。

DNA解析はVPにおいても診断のgold standardといえる⁹⁾。VPの責任遺伝子である*PPOX* 遺伝子の変異については、ミスセンス変異、ナンセンス変異、スプライス変異、欠失変異、挿入変異を含めて現在までに約170種が報告されている(The Human Gene Mutation Database: HGMD[®])。我が国でも一部のVP症例で解析が行われ、新規の変異が同定されている⁹⁾。

6. 治療と予後

VPに限らず、尿中PBGが正常上限の10倍以上を示す場合には急性ポルフィリン症と判断し、病型診断を待つまでもなく早期に対処すべきである。VPの急性発作に対する治療はAIPと同様である(別稿‘AIP’参照)。急性発作を誘発する因子の除去が原則となる。通常、軽症例では誘因の除去と初期治療のみで良好な反応を示し、一般に生命的予後は悪くない。しかし、診断の遅れや不適切な治療は病状を悪化させ、致死的ともなる。妊娠中に発作を起こすことはまれであるが、時に発作誘発性薬物の不適切な使用により発症することがある。この場合は通常の治療を行うが、ヒトヘミン製剤の投与も有効である。VPでの肝移植の報告はあるが¹⁰⁾、現段階では確立された治療とはいえない。

皮膚障害に対しても発症予防と対症療法が基

本である。日光曝露を避け保護服や不透明なサンスクリーンの使用など工夫する。皮膚症状に対する有効な内服治療はない。

他の急性ポルフィリン症と同様、VPに対する根本的治療はなく、患者には疾患についてよく理解させるとともに普段の生活指導を行い、また、かかりつけ医に誘発薬剤のリストを示すなど、再発予防に努める。定期的に尿中PBGおよびポルフィリン体の測定を行うことが望ましい。たとえそれらが高値を示しても、自覚症状がない場合にはブドウ糖を含む食品の経口摂取で経過をみることも可能である。

発症者の遺伝子変異が同定されていれば、家族のDNA解析により家系内潜在性患者の発掘は容易であり、将来の発症予防や発症した場合の早期診断・早期治療に備えて遺伝カウンセリングなども考慮する。

■ 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), p2991-3062, McGraw Hill, New York, 2001.
- 2) Peters T: King George III, bipolar disorder, porphyria and lessons for historians. *Clin Med* 11: 261-264, 2011.
- 3) Meissner PN, et al: A R59W mutation in human protoporphyrinogen oxidase results in decreased enzyme activity and is prevalent in South Africans with variegate porphyria. *Nat Genet* 13: 95-97, 1996.
- 4) Kondo M, et al: Porphyria in Japan: the past, present, and future. *Porphyrias* 18: 1-6, 2009.
- 5) Frank J, et al: Homozygous variegate porphyria: identification of mutations on both alleles of the protoporphyrinogen oxidase gene in a severely affected proband. *J Invest Dermatol* 110: 452-455, 1998.
- 6) Corrigall AV, et al: Homozygous variegate porphyria in South Africa: genotypic analysis in two cases. *Mol Genet Metab* 69: 323-330, 2000.
- 7) Enriquez de Salamanca R, et al: Clinical utility of fluorometric scanning of plasma porphyrins for the diagnosis and typing of porphyrias. *Clin Exp Dermatol* 18: 128-130, 1993.
- 8) Whatley SD, et al: Diagnostic strategies for autosomal dominant acute porphyrias: retrospective analysis of 467 unrelated patients referred for mutational analysis of the HMBS, CPOX, or PPOX gene. *Clin Chem* 55: 1406-1414, 2009.
- 9) Maeda N, et al: Three novel mutations in the protoporphyrinogen oxidase gene in Japanese patients with variegate porphyria. *Clin Biochem* 33: 495-500, 2000.
- 10) Stojeba N, et al: Recovery from a variegate porphyria by a liver transplantation. *Liver Transpl* 10: 935-938, 2004.

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 分子のポルホピリノゲン (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)の先天性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死的となる。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。赤血球中の垂鉛プロトポルフィリン(Zn-PP; PPは垂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、ブ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: Aminolaevulinic acid 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 aminolaevulinic acid 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 (delta-aminolevulinic acid dehydratase deficiency) in Germany. *J Inher Metab Dis* **27**: 529-536, 2004.
- 6) Akagi R, et al: delta-Aminolevulinic acid 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 -Aminolevulinic acid 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 -aminolevulinic acid dehydratase porphyria. *J Clin Invest* **89**: 1431-1437, 1992.
- 9) Akagi R, et al: Novel molecular defects of the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene in a patient with inherited acute hepatic porphyria. *Hepatology* **31**: 704-708, 2000.
- 10) Akagi R, et al: Molecular analysis of delta-aminolevulinic acid 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 delta-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 aminolaevulinic acid 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と末梢血白血球由来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ら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、実際は文献を渉猟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のも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5 mlの採血のうち1 ml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

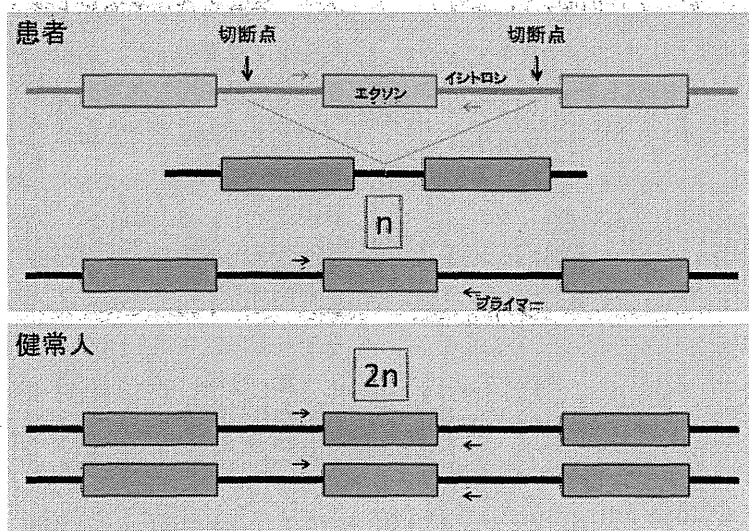
1) 塩基配列の決定

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、データベースに収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が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、スプライスドナーあるいはスプライサ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

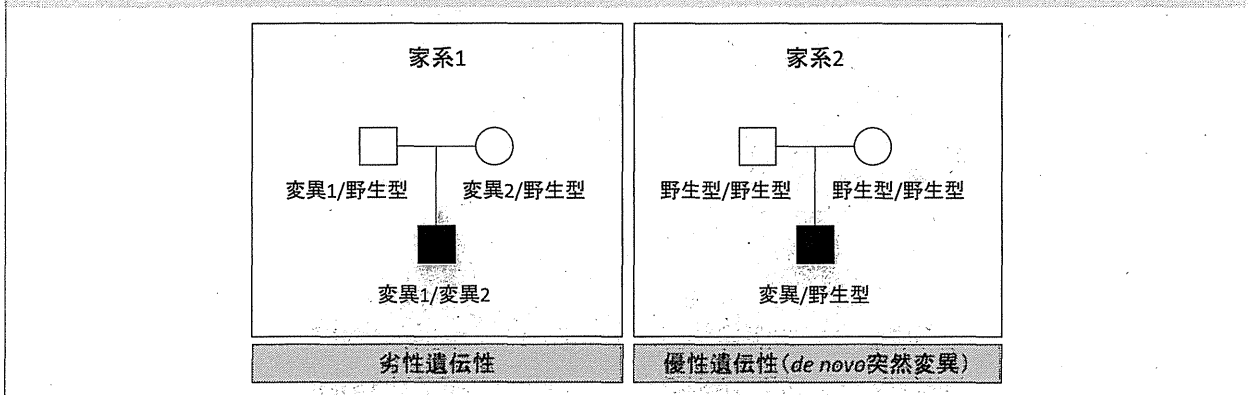
原因遺伝子を想定して変異解析を行っても必ずしも変異が同定できない場合がある。原因遺伝子の全てのエクソンおよびエクソン/イントロン接合部を調べても変異が見つからない場合はプロモーター領域も確認する。ただし、プロモーター活性を有するシスエレメントを全て解析することは現実的には難しい。通常の検索で変異が見つからない場合に比較的可能に存在するのはエクソン単位での欠失 (exonal deletion) と

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⁹⁾。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)

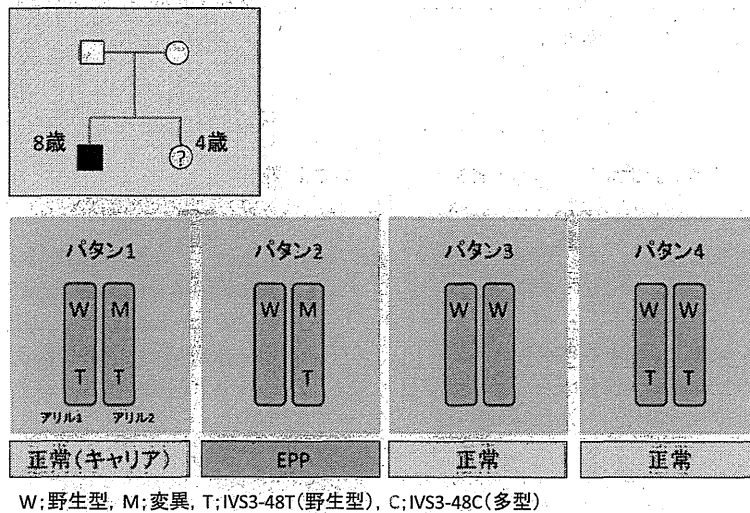
当施設では1996年以來、DEBの遺伝子診断を150家系以上行っている。本疾患の原因遺伝子はVII型コラーゲン遺伝子であるが、遺伝形式から優性型と劣性型に、劣性型はさらに全身性の水疱、びらんと指趾の癒着、拘縮、食道狭窄などをきたす最重症型の severe generalized 型と指趾の癒着を生じない軽症型の generalized other 型に大別される。臨床上特に問題となるのは、乳児期にこれらの病型を鑑別することが極めて困難な場合がある点である。特に両親に症状がない家系内孤発例の優性遺伝性 DEB と劣性遺伝性の generalized other 型との鑑別は難しい⁷⁾。患児の両親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クエ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膚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 メッセージ 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, 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.