

## 遺伝性ポルフィリン症：新しいガイドラインの確立に関する研究

研究代表者：中野 創 （弘前大学）

### 研究要旨

遺伝性ポルフィリン症の診断基準・重症度分類を策定した。患者の重症度を適切に分類することによって、病状管理が効果的に行われると期待される。11 家系の新規遺伝性ポルフィリン症を遺伝子診断で確定診断し、うち 1 家系は X 連鎖優性プロトポルフィリン症の本邦第 1 例であった。臨床診断のみでは確定しがたい症例があり、遺伝子診断は必須に検査である。サンスクリーン剤の長期使用により、有効性、安全性が確認された。分子生物学的診断法も有用であり、疾患モデル細胞の樹立への道筋が着いた。ポルフィリン症相談ガイドブックの改訂版を公表し、一般臨床医の疾患への理解が深まると期待される。

### 研究分担者

川田 暁 近畿大学医学部皮膚科  
前田直人 独) 労働者健康福祉機構山陰労  
災病院第二内科  
大門 眞 弘前大学大学院医学研究科内分  
泌代謝内科講座  
竹谷 茂 関西医科大学微生物学講座  
古山和道 岩手医科大学生化学講座分子医  
化学分野  
堀江 裕 済生会江津総合病院  
諏佐真治 山形大学医学部内科学第三講座  
川原 繁 金沢赤十字病院  
網中雅仁 聖マリアンナ医科大学予防医学  
教室  
高橋一平 弘前大学大学院医学研究科社会医  
学講座

### 研究協力者

澤村大輔 弘前大学大学院医学研究科皮膚科  
学講座

難波栄二 鳥取大学生命機能研究支援セン  
ター遺伝子探索分野  
足立智英 東京都済生会中央病院  
近藤雅雄 東京都市大学人間科学部

### A. 研究目的

遺伝性ポルフィリン症は光線過敏、消化器症  
状、神経精神症状を主徴とする疾患群の総称で  
あり、現在 9 つの病型に分類されている。光  
線過敏による熱傷様皮膚炎、腹部疝痛、けいれ  
ん、肝不全等を合併すると死の転帰を取り得る  
ため、臨床的に重要な疾患である。治療法は対  
症療法のみであり、患者の QOL は著しく低い  
が、これまで難病としての指定はなされていな  
かった。本年度、厚生労働省により新たに指定  
難病が選択されることから、難病としての要件  
を満たすべく、客観的な指標を盛り込んだ遺伝  
性ポルフィリン症の診療ガイドライン/ 重症  
度分類を本研究班で策定する。これまでの研究  
によって、毎年度新規の遺伝性ポルフィリン症

が疑われる症例が医療機関を受診しているが、確定診断には遺伝子診断が必要であるため、前年度までの研究班と同様、新規症例に対して遺伝子診断を施行し変異を同定する。診断補助のために分子生物学的検討も行った。光線過敏症を予防するためにサンスクリーン剤の有効な使用法が検討されてきたが、本年度もさらなる有効性の検討を行う。一般医家における遺伝性ポルフィリン症の認知度が未だに低いため、診断・治療を平易に解説したポルフィリン症相談ガイドブックが作成されているが、これの改訂を行う。

## B. 研究方法

### 1. 診療ガイドライン・重症度分類

1980 年以降に医学雑誌に報告された遺伝性ポルフィリン症の本邦症例および 2009 年度に実施した疫学二次調査で回答が得られた症例を解析し、疫学調査の際に用いた診断基準を再検討し、重症度分類案を作成した。

### 2. 遺伝性ポルフィリン症の遺伝子診断

臨床的に遺伝性ポルフィリン症が疑われる症例 16 家系について、患者あるいはその家族から白血球由来ゲノム DNA を抽出し、当該病型の原因遺伝子の配列をサンガー法によって決定し、遺伝子変異の同定を試みた。遺伝子転写産物の分析が必要な症例では、末梢血白血球由来全 RNA を抽出し、一時構造を決定した。サンガー法によって遺伝子変異が同定されなかった症例については、ゲノム DNA のエクソンコピー数を決定するために MPLA 法を行った。

### 3. 分子生物学的診断法の検討

新しい病型 X 連鎖優性プロトポルフィリン症の疾患モデル細胞を樹立するために、ゲノム編集システムを用いた変異導入を行なった。赤芽球系培養細胞 K562 に LifeTechnologies 社の GeneArt CRISPR/Cas9 システムを用いて

目的とする ALAS2 遺伝子変異を導入した。遺伝性ポルフィリン症の肝機能および鉄代謝との関連性を調べるために、既報のポルフィリン症 250 症例の肝機能マーカーおよび造血機能を検討した。

### 4. 新規サンスクリーン剤の効果的使用法の検討

すでに市販され、安全性が確立されているサンスクリーン剤(リキッド、パウダー)と使用感を改善した BB クリームを単独、または組み合わせ、27 例の光線過敏を有するポルフィリン症患者に使用し、光線防御の有効性を検討した。

### 5. ポルフィリン症相談ガイドブックの改訂

平成 24 年度に作成されたポルフィリン症相談ガイドブック初版に最近の知見を盛り込み、改訂版を作成した。

## C. 研究結果

### 1. 診療ガイドライン・重症度分類

1980 年以降に医学雑誌に報告された遺伝性ポルフィリン症の症例報告、ならびに 2009 年度に実施した疫学二次調査で回答が得られた症例を集積し、解析した結果、診断基準は疫学調査で用いた基準に加えて、遺伝子検査を加えることが適当と判断された。また、重症度については、以下の臨床症状のいずれか 1 項目以上を有するものを重症とすることが適切と考えられた。

患者の手掌大以上の大きさの水疱・びらんを伴う日光皮膚炎がある場合

手指の機能全廃またはそれに準じる障害

直近 1 年間で 2 回以上入院加療を要する程度の腹部疝痛発作がある場合

直近 1 年間で 2 回以上入院加療を要する程度の脱水症状を伴う下痢を認める場合

直近 1 年間で 2 回以上入院加療を要する程度の腸閉塞症状を呈する便秘を認める場合

CHILD 分類で ClassB 以上の肝機能障害を認める場合

血中ヘモグロビン濃度が 10.0g/dL 未満となる溶血性貧血

## 2. 遺伝性ポルフィリン症の遺伝子診断

遺伝性ポルフィリン症が疑われた新規の 16 家系を遺伝子変異検索し、11 家系について原因遺伝子に変異を同定し、確定診断を得た。11 家系の内訳は骨髄性プロトポルフィリン症 6 家系、X 連鎖優性プロトポルフィリン症 1 家系、先天性ポルフィリン症 2 家系、急性間欠性ポルフィリン症 2 家系であった。

## 3. 分子生物学的診断法の検討

変異 K562 細胞に導入された変異のタイプを検討した所、多くは欠失で、数塩基から 30 塩基程のものが大半を占めた。また、過半数の変異導入クローンで両方のアレルに異なる変異が導入されており、高い変異導入効率を得られた。これらのクローンの中から両方のアレルに変異が導入されたクローンを選択し、ALAS2 メッセンジャーRNA 量を、リアルタイム PCR 法を用いて野生型の K562 細胞と比較した所、比較した全ての変異 K562 細胞で ALAS2 メッセンジャーRNA の発現量が低下していた。また、ポルフィリン症 250 症例の肝機能マーカーおよび造血機能を検討した結果、肝機能に関連する AST、ALT、 $\gamma$ -GTP および造血機能に関連する血清鉄 (Fe)、鉄飽和率 (TSAT) の値は病型に特徴が認められ、急性間欠性ポルフィリン症は AST および ALT が高値、 $\gamma$ -GTP および造血系検査では基準範囲であることが特徴であった。異型ポルフィリン症は ALT、 $\gamma$ -GTP、AST は基準範囲、造血系検査は TSAT の低値が特徴的であった。遺伝性コプロポルフィリン症は、肝機能検査が基準範囲、造血系検査の Fe および TSAT において高値であった。一方、晩発性皮膚ポルフィリン症は  $\gamma$ -GTP、ALT、AST、

Fe、TSAT が高値を認め、骨髄性プロトポルフィリン症では  $\gamma$ -GTP、ALT、AST で高値を認めたが、造血系検査は ALT、AST が基準範囲、 $\gamma$ -GTP は高値であることが特徴であった。

## 4. サンスクリーン剤の効果的使用法の検討

サンスクリーン剤を 6 か月以上の長期間使用した、ポルフィリン症患者 27 例について光線防御の有効性を検討した(内訳:男性 15 例、女性 12 例)。疾患の内訳は 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。また、副作用は全例で認めなかった。最長 3.5 年の使用でも副作用は認めなかった。リキッドとパウダーの組み合わせは女性には問題なく使用されていた。しかし、男性ではリキッド単独またはリキッド+リキッドに変更する傾向がみられた。リキッド単独またはリキッド+リキッドを使用中の患者の 4 例(いずれも男性)がより良い使用感が得られる BB クリームに変更した。リキッド+パウダー、リキッド単独、リキッド+リキッド、BB クリームの 4 者間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。

## 5. ポルフィリン症相談ガイドブックの改訂

新たに寄せられた医療関係者、患者からのポルフィリン症に対する質問や、医学的新知見を盛り込んで、改訂第 1 版を発行した。

## D. 考察

### 1. 診療ガイドライン・重症度分類

近年新しく記載された X 連鎖優性プロトポルフィリン症を新たに加え、遺伝子診断を確定診断に必須の項目として記載し、より客観的な診断基準となった。具体的な基準値を盛り込んだ重症度分類が作成され、患者の重症度に応じたきめ細かい病状管理が可能になると思われる。

## 2. 遺伝性ポルフィリン症の遺伝子診断

遺伝性ポルフィリン症の疑い例が新規に 16 家系あり、確定診断を目的に遺伝子診断がなされ、11 家系で確定診断が得られた。一方、5 家系では遺伝子変異が同定されなかったが、これらの家系では新規原因遺伝子が存在する可能性や、ポルフィリン体の上昇が二次的な変化であって、真の遺伝性ポルフィリン症でない可能性などが考えられた。

## 3. 分子生物学的診断法の検討

X 連鎖優性プロトポルフィリン症の疾患モデル細胞の樹立可能な見通しが高まり、これからの診断・治療に応用出来ると期待される。遺伝性ポルフィリン症の病型により、肝機能マーカーや造血機能検査データのプロファイルに特徴が見られ、診断に有用である。

## 4. サンスクリーン剤の効果的使用法の検討

サンスクリーン剤の剤形や組み合わせによる有効性の違いは無いので、使用感に満足が得られる方法を選択するのが良いと考えられた。

## 5. ポルフィリン症相談ガイドブックの改訂

一般医家の遺伝性ポルフィリン症に対する認知度は未だに低いのが現状であるため、ポルフィリン症相談ガイドブックを普及させ、本疾患の啓蒙をはかる必要があると考えられた。

## E. 結論

遺伝性ポルフィリン症の研究グループは我々の研究班が国内唯一のグループであるため、国内の遺伝子診断例のほぼ全例を担っているとされる。引き続き症例を集積し、今回策定した診断基準・重症度分類の妥当性を検討する必要がある。

## F. 研究発表

業績一覧参照。