α -Ketoglutarate を基質とした肝 δ -aminolevulinic acid 合成活性の異常高値を示した variegate porphyria の 1 例

東京大学医学部第三内科

児玉 龍彦[◇] 高木 正雄 小林 高義 森 真由美
千葉 省三 大久保昭行 寺尾 寿夫 小坂 樹徳
国立公衆衛生院 浦田 郡平 近藤 雅夫
横浜通信病院 高橋 次雄

A CASE OF VARIEGATE PORPHYRIA AND HER HEPATIC δ -AMINOLEVULINIC ACID SYNTHETIC ACTIVITY

Tatsuhiko KODAMA, MD, Masao TAKAGI, MD, Takayoshi KOBAYASHI, MD,
Mayumi MORI, MD, Shozo CHIBA, MD, Akiyuki OHKUBO, MD,
Toshio TERAU, MD and Kinori KOSAKA, MD

The Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Tokyo

Gumpei URATA, PhD and Masao KONDO, PhD

The National Institute of Public Health, Tokyo

Tsuguo TAKAHASHI, MD

Yokohama Teishin Hospital, Yokohama

概要 Variegate porphyria (VP) は、肝におけるヘム合成系の酵素異常を原因とし、神経、筋症状と共に皮膚症状を呈することが知られる。我々は四肢麻痺を示したVPの1例を経験し、肝における δ -aminolevulinic acid (ALA) 合成活性の特異な上昇を証明した。症例は33才、女性で、第一子出産後、腹痛、嘔吐で発症し、フェノバルブ投与後四肢麻痺をおこし、同時に肝機能、電解質の異常を示した。皮膚の光線過敏、皮疹、および急性期に尿中ALA, porphobilinogenが上昇し、便中のcoproporphyrin, protoporphyrinが寛解期にも高値を示したことからVPと診断された。肝性porphyriaには4型が知られるが、各病型と肝ヘム合成系の異常については不明の点が多い。そこで、本例の肝生検組織におけるALA合成活性をsuccinyl CoAを基質としたS活性と α -ketoglutarateを基質としたK活性について測定した。S活性はacute intermittent porphyria (AIP) 例と同程度に上昇し、K活性はAIPやporphyria cutanea tarda例の2～5倍にあたる上昇を認めた。生検所見では肝には電顕所見で層状となつた膜様の特異な構造を認め、脂肪滴の沈着が見られた。これは従来の報告とあわせ肝性porphyriaに特異な所見と思われる。肝におけるALA合成K活性の特異な上昇は本例の多量のporphyrin体産生や、重度の神経筋症状に大きな影響を与えたと思われた。K活性はS活性より生理的なALA合成をよりよく反映すると思われ、これを中心に肝性porphyriaにおける酵素異常について考察した。

〔昭和52年11月12日 第279回関東地方会推薦〕

緒 言

肝性porphyriaは肝におけるヘム合成系酵素異常のため、porphyrin体が過剰産生され、神経、筋症状や、肝機能異常、電解質異常、皮疹など多彩な全身症状を示す疾患として知られる。臨床症状および血液、尿、便中に増加するporphyrin体のパターンによりacute intermittent porphyria (AIP), variegate porphyria (VP), porphyria cutanea tarda (PCT)等の病型が知られている¹⁾。ヘム産生の律速酵素であるALA合成酵素の活性がAIP, VPでは上昇していることが示されているが、従来のALA合成活性の測定方法は多量の肝組織を必要としたため、生前に行なうことは大きな困難を伴っていた。最近、放射性同位元素を用いて、10mg程度の微量の肝組織よりmitochondria分画のALA合成活性を測定する方法が開発されている²⁾。

今回我々は典型的なVPの1例を経験し、微量測定法を用い検索した結果、 α -ketoglutarate(α KG)を基質とした時に、肝でのALA合成活性が特異な上昇を示すと共に、他の肝性porphyriaとの比較、検討を行ないまた病理組織学的にも興味ある所見を認めたので報告する。

症 例

患者： 33才，主婦。

主訴： 四肢麻痺，全身倦怠。

家族歴： 母（68才）は、19才頃より、腹痛、嘔吐の発作が何回かあり、その際尿が赤変したという。顔一面に深いしわがあり、皮膚の一部に水泡が見られた。

既往歴： 18才虫垂切除術，妊娠2回，うち1回自然流産。

現病歴： 1977年1月19日（第一子出産約1ヵ月後）早朝より上腹部に局在性のはつきりしない鈍痛を感じ、悪心、嘔吐が出現し、尿が赤くなつた。近医にて感冒といわれ、抗生物質の投与を受けたが、軽快せず、24日横浜通信病院に入院した。

横浜通信病院での経過： 入院後、悪心、嘔吐はおさまつたが、興奮状態続き、不眠を訴えたため、10%フェノバル筋注をうけた。初め両下肢

を針でチクチクさすような痛みがあり、それが全身に広がった。尿が再び赤くなり、尿中porphyrin体が定性で陽性となつたためフェノバル注射は31日中止した。2月3日、食事中両下肢に脱力が出現し、同時に嗄声も出現した。四肢麻痺は遠位に強く、弛緩性であつた。同時に高血圧(140~170/100~120)および洞性頻脈(100~140/分)となつた。

横浜通信病院に入院当初は、血算、電解質に特に異常なく、肝機能も総コレステロール308mg/dlと高値の他は正常であつたが、四肢麻痺発症後2月7日血清Na 129mEq/l, Cl 86mEq/lまで低下。尿中Na, Clの排泄はそれぞれ193mEq/日, 172mEq/日と増加し、血清ADHも高値を示した。総コレステロールも437mg/dlへ上昇した。2月10日にはGOT, GPTは、それぞれ205KU 185KUであつた(図1)。5% glucoseを主とした輸液が行なわれ、2月中旬より、嗄声、四肢麻痺は徐々に改善し始め、肝機能、電解質も正常化してきた。3月にはいり、肘関節、膝関節の屈伸も可能となつた。porphyria精査のため東大第三内科へ5月24日転院した。

東大第三内科入院時現症： 身長150cm，体重35kg，食欲不振，便秘で神経質な小柄の女性。色はあさ黒く下肢に剛毛がみられた。手背に浮腫と

図1. 発症後東大第三内科入院前（横浜通信病院）の臨床経過

米粒大隆起性口疹を認めた。脈拍100/分，血圧168/108，頭頸部正常。胸部聴打診正常。腹部では表面平滑，辺縁やや鈍の肝を右季肋部に2横指ふれた。脾，腎はふれなかつた。

神経学的には，やや神経質だが，意識清明，見当識等は正常。瞳孔は正円，左右同大。眼球運動，嚥下等に異常なく，脳神経は正常。筋力は上肢遠位1度，近位1～2度，下肢遠位2～3度，近位2～4度で，遠位に強い低下を認めた。握力は0 kg，歩行，起立不能であつた。反射は二頭筋，三頭筋反射はやや低下，腹壁反射，アキレス腱反射，膝蓋腱反射は消失しており，四肢は弛緩性麻痺を示した。異常運動，異常反射，運動失調はなく，知覚系は，位置覚，温痛覚，振動覚いずれも正常だつた。

東大第三内科入院時一般検査成績：尿検査では蛋白(+)，porphyrin体(+)であつた(porphyrin体の詳細は後述する)。血算は正常，生化学的にも総コレステロールの他には異常は認められなかつた(表1)。心電図では洞性頻脈でST低

表1. 入院時検査所見

Urine;	pH 7.0, protein(+), glucose(-), porphyrin(+), urobilinogen(±), bilirubin(-)
Blood;	Ht 39.8%, Hb 13.4%, RBC 409×10^4 , WBC 5700, Platelet 19.4×10^4
Serum;	GOT 22 KU, GPT 9 KU, LDH 318 WU, CPK 6 mU/ml, T.Chol 306mg/dl, TG 107mg/dl, FFA 0.72mEq/l, UN 11mg/dl, UA 6.0mg/dl, Creat 1.39mg/dl, Fe 74γ/dl, TIBC 288γ/dl, Transferrin 290μg/dl, Na 147mEq/l, K 3.8mEq/l, Cl 103mEq/l, RA(-), CRP(-), Coombs(-)
	TP 6.3g/dl, Alb 3.3g/dl, α_1 32%, α_2 7.3%, β 11%, γ 15.4%, IgG 1520mg/dl, IgA 920mg/dl, IgM 306mg/dl

下，T逆転がI，aVL，V₄₋₆で認められた。筋電図では上下肢共，low voltage, short duration, polyphasic patternを認め，筋原性，神経原性が混在した所見を示した。100gGTTは糖尿病パターンでその際，成長ホルモンが奇異的に上昇した。

生検組織所見：1) 肝：腹腔鏡では肝はやや暗い灰褐色で腫大していた。生検像ではグリソン鞘周辺に軽度の細胞浸潤を認めた。細胞質内には多数の脂肪滴が沈着し，一部にはリポフスチン様物質がみられた(写真1)。mitochondria内には

写真1. 肝電顕像。右端にmyelin figure様構造がみられ，mitochondria内に濃い顆粒がある。脂肪滴沈着もみられる。

写真2. 筋肉電顕像

写真3. 末梢神経電顕像

写真4. 末梢血管へのIgG沈着

electron denseの小体があり、一部の肝細胞にはmyelin figure様の層状構造を認められた。2) 皮膚；手背の皮膚生検組織ではhyperkeratosis著明で、表皮はrete ridge消失しatrophicであり、真皮上層から深層までfibroblastの増殖著明で血管新生も多く皮疹をくり返したと考えられる像を示した。3) 筋肉・末梢神経；大腿四頭筋の生検組織では、angulated fiber, grouped atrophyがあり、電顕的にもZ帯のstreamingがみられた(写真2)。筋組織中へも脂肪滴沈着は増加していた。筋肉中の末梢神経には髄鞘の菲薄化がみられ脱髄様のパターンと考えられた(写真3)。筋組織中の血管壁へはIgG沈着が蛍光抗体法により示された(写真4)。

Porphyrin代謝の検討： 1) 血液、尿、便中のporphyrin体濃度は急性期(2月16日)と症状安定期(6月15日)において表2の通りであった。急性期には、尿中ではALA PBG, uroporphyrin, coproporphyrinが増加していたが、安定期に

表2. 尿、血液、便中のポルフィリン体濃度

		Patient		Patient's
		16/II	15/VI	mother
Urine				
ALA	(1-4 µg/ml)	20.6	10.4	5.78
PBG	(trace µg/ml)	24.2	5.98	trace
Uroporphyrin	(0.4-4.0 µg/dl)	110	29.2	trace
Coproporphyrin	(4.0-20.0 µg/dl)	285	119.5	8.0
Protoporphyrin	(trace µg/dl)	0	0	0
Blood				
Uroporphyrin	(trace µg/10ml)	trace	trace	trace
Coproporphyrin	(0-0.2 µg/10ml)	0.5	0.55	0.65
Protoporphyrin	(1.5-3.0 µg/10ml)	2.74	2.50	5.34
Stool				
Uroporphyrin	(trace µg/1gw.w)	trace	-	-
Coproporphyrin	(2-10 µg/1gw.w)	297	129	143
Protoporphyrin	(3-15 µg/1gw.w)	187	127	39

なると尿中のLAL, PBG等はやや低下の傾向をみせるのに対し、便中のcoproおよびprotoporphyrinは、正常値の約10倍の高値を保っている。血中で

図2. 肝ALA合成活性

のporphyrin体は正常値を示した。これらの所見はVPの特徴と一致していた。2) 肝組織中のALA合成活性；肝組織中のALA合成活性測定は、浦田らの方法を用いて行なつた⁴⁾。needle biopsyにより採取された肝組織10mgを0.25M蔗糖溶液中でホモジナイズし、20000Gで30分遠心分離し、沈渣をALA合成活性測定に用いた。沈渣を2つに分け、一方はglycineと1-4-¹⁴C-succinyl CoAを基質とし合成されるradioactiveなALAの量（S活性）を測定し、もう一方はglycineと5-¹⁴C- α -ketoglutarateを基質とするALA合成活性（K活性）を測定した。

同時に、コントロールとして他の肝性porphyriaであるAIP 5例、PCT 1例、porphyria以外の肝疾患13例でのALA合成活性を測定値と比較した。

結果は図2のとおりで、本例においてはS活性234.0（以下単位はいずれもALA picomol/protein mg/30min）K活性1229.1、一方コントロール群では、AIP 5例平均では、S活性204.6（162.3～212.3）K活性503.3（272.8～830.1）PCT例ではS活性21.9、K活性386.1、他肝疾患13例平均 S活性23.1、K活性168.5であつた。

入院後経過：入院後、神経学的異常は順調に回復し、四肢麻痺も着実に改善をみ、歩行、自力での食事摂取可能となり、約3カ月の入院で退院した。

考 案

本例は四肢麻痺、異常知覚、皮膚症状、肝機能、電解質の異常等を示し、典型的なVPの急性発作時の臨床症状を示していた。又母親も便中ポルフィリン体の増加、腹痛発作の既往よりVP患者と思われ母親よりの遺伝が推察される。これら一見多彩な症状も、今日では肝でのヘム合成系の異常と、それによる神経障害として理解されており、これを中心に組織学的検討を含めて考察したい。

VPの神経症状としては、末梢神経、自律神経、脳神経、大脳機能いずれもが障害されることが知られている⁵⁾。本例においても、末梢神経障害によると思われる四肢麻痺、異常知覚が認められ、不眠、興奮等の中枢神経症状がみられた。腹痛、便秘についても自律神経系の障害によると考えられている⁵⁾。高血圧、頻脈等も交感神経緊張状態による影響が大と思われる。内分泌、代謝上の異常では、成長ホルモンの糖負荷時奇異の上昇や、ADH分泌異常による低Na血症等、視床下部障害⁶⁾が推察されている。

神経障害の組織学的所見については、脱髄を一次的と考えるもの⁷⁾軸索や細胞の変化を一次的と考えるもの⁸⁾また血管の痙攣の結果、虚血性に神経病変をおこしたと唱える説⁹⁾があるが、本例の末梢神経の電顕所見は、髄鞘の菲薄化の所見を示していた。また、筋肉内の血管周辺へのIgGの沈着は、免疫学的な機序による変化も示唆している。

肝でのヘム合成系の異常と、同時にこれらの神経障害がおこることは明らかとされているが、その関連については不明な点が多い。ここでは特に肝におけるヘム合成の律速段階とされているALA合成に焦点をあわせて検討したい。

肝におけるALA合成は、図3の通り、 α KGからTCA回路によつてsuccinyl CoAが作られ、これとglycineが縮合してALAが合成される。合成されたALAはPBGからuro, copro, protoporphyrinをへてヘム合成酵素によりFe²⁺をはめこまれてへ

図3. 肝におけるALA合成経路

ムとなる。ALA合成を触媒するALA合成酵素がこのヘム合成の律速段階であり¹⁾、もし、ALAからヘムの合成へのいずれかのステップの酵素に障害があると、ヘムによるALA合成の抑制がはずれてALA、PBGおよびporphyrin体の過剰産生により、様々な臨床症状がひきおこされてくる。

今回の肝ALA合成活性の測定では、本例を始めとする肝性porphyria各型毎に、S活性、K活性の上昇のしかたに、異なつたパターンが見られた。従来から肝mitochondria分画には α KGとsuccinyl CoAどちらを用いてもALAを合成する活性のあることが知られていたが、従来の合成活性についての検討はS活性(succinyl CoAを基質とした場合)についてのみが行なわれていた。succinyl CoAに対する K_m 値は 10^{-3} ~ 10^{-4} Mに対し、 α KGでは 10^{-4} ~ 10^{-5} Mと報告されており、しかもそれぞれの活性をもつ分画が分離して抽出されている⁴⁾。K活性、S活性の関連については、 α KGよりsuccinyl CoAをつくる α KG脱水素酵素とALA合成酵素が一種の酵素複合体をつくり、succinyl CoAのうけ渡しを容易にしている可能性が考えられる。 α KG脱水素酵素とALA合成酵素はいずれもmitochondriaの内膜、基質分画に存在することが知られている¹⁰⁾¹¹⁾。S活性が、このALA合成酵素の活性のみを示すのに対し、K活性はこの二つの酵素が複合体を作っており、そのALA合成能を示している可

能性が大きいと思われるが、まだ不明の点も多く、今後の検討を要すると思われる。

最近Bonkowskyらは、ヒトの肝生検組織を用いて、ALA合成が、succinyl CoA供給系の働きにより大きく左右されることを報告¹²⁾しており、我々の結果とあわせて興味深い。

本例の場合、K活性は他の肝性porphyriaと比較してもはるかに高値を示した。VPにおいては、尿中、便中に多量のporphyrin体が検出され、特に便中のporphyrin体は無症状期にも高値を示すことが知られている。porphyrin体の量が非常に多いため皮膚症状をひきおこすとも考えられており、今回のK活性高値は、ALA合成の亢進をよく示しているといえよう。

また、肝におけるALA合成酵素は、バルビタール、5B-Hステロイドなどで誘導され⁵⁾、porphyriaの症状を悪化させる。またporphyriaの急性症状は、女性の月経前の時期に多発する場合のあることが知られている。本例においても発症は、おそらく第一子出産後の初回月経前におこり、それがフェノバル投与により増悪させられたと思われる。

一方、肝の組織所見では、電顕的には、lysosome変性物様の特異な構造がみられ、これと類似のmyeline figure様の構造がAIPにみられたとのBiempicaの報告や¹³⁾、PCTでも同じ構造を認めた我々の報告¹⁸⁾と共に、肝性porphyriaに共通の特徴的構造と思われる。また肝細胞内への脂肪滴沈着は、急性期の高脂血症と関連が考えられる。

AIPの患者ではuroporphyrinogen I合成酵素活性が、肝臓¹⁴⁾、赤血球¹⁵⁾、線維芽細胞¹⁶⁾で正常人の約50%低下しており、何らかのきっかけでALA合成が上昇しても、ヘム合成量は増加せず、ヘムによる抑制がかからず、ALAが産生され急性増悪をきたすとされている。PCTにおいても従来、ALA合成活性の上昇は示されていなかったが²⁾今回のK活性では上昇が確認されており、生理的条件下ではALA合成が上昇していると思われる。遺伝型PCTではcoproporphyrinogen脱水素酵素の減少¹⁷⁾が報告されそのためやはりヘムによる抑制がとれ

ALA合成の上昇することが考えられる。本症を始めとするVPにおいてもALA合成活性の上昇から、ヘム合成系の他の酸素障害の確認が急がれるであろう。

文 献

- 1) 浦田郡平：ポルフィリン代謝異常総論。皮膚臨床 19: 11, 1977.
- 2) Dowdle EB, et al: ALA synthetase activity in normal and porphyric human livers. S Afr Med J 41: 1093, 1967.
- 3) Kaufman L, et al: Biochemical defects in two types of human hepatic porphyrias. New Engl J Med 283: 954, 1970.
- 4) 浦田郡平, 近藤雅雄：ポルフィリン症における酵素異常。文部省特定研究「難病」班52年度研究業績 534, 1978.
- 5) Tschudy DP, et al: Acute intermittent porphyria. Ann Intern Med 83: 851, 1975.
- 6) Hellman ES, et al: Abnormal electroneutrality and water metabolism in acute intermittent porphyria. Amer J Med 32: 734, 1962.
- 7) Gibson JB and Goldberg A: The neurology of acute porphyria. J Pathol Bacteriol 71: 495, 1956.
- 8) Cavanagh JB and Mellic RS: On the nature of the peripheral nerve lesions associated with acute intermittent porphyria. Neurol Neurosurg Psychiatry 28: 320, 1965.
- 10) Zuyderhoudt FM, et al: Intramitochondrial localization of ALA synthetase. Biochem Biophys Acta 178: 408, 1969.
- 11) Schnaitman C, et al: Enzymatic properties of the inner and outer membrane of rat liver mitochondria. J Cell Biol 38: 158, 1968.
- 12) Bonkowsky HL, et al: Human hepatic ALA synthetase. Clin Sci Mol Med 52: 509, 1977.
- 13) Biempica L, et al: Hepatic porphyrias. Arch Pathol 98: 336, 1974.
- 14) Strand L, et al: Decreased red cell uroporphyrinogen-I synthetase activity in acute intermittent porphyria. J clin Invest 51: 2530, 1972.
- 15) Strand L, et al: Enzymic abnormalities in heme biosynthesis in acute intermittent porphyria. Proc Natl Acad Sci USA 67: 1315, 1970.
- 16) Meyer U, et al: Acute intermittent porphyria. Enzyme 16: 334, 1973.
- 17) Kushner JP, et al: An inherited enzyme defect in porphyria cutanea tarda. J clin Invest 58: 1089, 1976.
- 18) 児玉竜彦, 他：ポルフィリアと肝障害, 第13回日本肝臓病学会東部会抄録, 肝臓. 20: 759, 1978.