

201024271A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

**Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、  
早期診断基準確立、治療法開発**

平成22年度 総括・分担研究報告書

平成23(2011)年3月

研究代表者 児玉浩子



## 目 次

I. 総括研究報告	
Menkes病・occipital horn症候群の実態調査、早期診断基準確立、 治療法開発に関する研究	----- 1
見玉浩子	
II. 分担研究報告	
1. Menkes病・occipital horn症候群の実態調査に関する研究	----- 12
藤澤千恵	
(資料) 実態調査1次アンケート調査用紙 実態調査2次アンケート調査用紙	
2. Menkes病・occipital horn症候群の新規治療の効果・問題点に関する研究	----- 15
小川英伸	
3. Menkes病モデルマウスであるマク라마ウスでの銅注射と disulfiram経口投与の併用療法の効果に関する研究	----- 17
藤澤千恵	
4. Menkes病の新規治療の治療効果とmicroPETを用いた分子イメージングの研究	----- 23
新宅治夫	
5. Menkes病患者皮膚線維芽細胞のLOX活性に対する diethylthilcarbamate (DEDTC) の効果の検討に関する研究	----- 26
藤澤千恵	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 29
IV. 資料	----- 33

# Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確立、 治療法開発に関する研究

児玉 浩子 帝京大学医学部小児科

## 研究要旨

Menkes 病および occipital horn 症候群は希少疾患で、現在有効な治療法がない。本研究では全国主要小児科に対して実態調査を行い、発症頻度を検討した。Menkes 病は男子出生 100 万人に約 8.03 人、occipital horn 症候群は男子出生の約 68 万人に 1 人と推定された。ヒスチジン銅皮下注射とジスルフィラム（ノックピン®）経口投与の併用療法をモデルマウスおよび該当疾患患者で行った。モデルマウスでは良好な体重増加、血清・脳の銅濃度の改善、および脳での銅酵素であるチトクローム C オキシダーゼ活性の改善傾向が認められた。また、脳内への銅の輸送が確認された。患者では、血清銅・セルロプラスミン値の改善および臨床症状の改善が見られた。副作用は認められなかった。これらの結果から、本治療は Menkes 病に有効と考えられた。

研究分担者：小川 英伸 帝京大学医学部小児科 講師

研究分担者：藤澤 千恵 帝京大学医学部小児科 Research Fellow

研究分担者：新宅 治夫 大阪市立大学大学院医学研究科小児科 教授

研究分担者：清水 教一 東邦大学小児科

研究分担者：黒澤 健司 地方独立行政法人神奈川県立病院機構・神奈川県立こども医療センター 遺伝科 部長

研究分担者：顧 艶紅 独立行政法人・国立成育医療研究センター研究所 研究員

## A.研究目的

Menkes 病は銅輸送 ATPase (ATP7A) 遺伝子異常症である。ATP7A タンパク機能低下により銅の腸管・血液脳関門等での銅輸送障害がおり、銅欠乏による重篤な神経症状・結合織異常（難治性痙攣、血管蛇行、出血、膀胱憩室、骨粗鬆症等）を呈する。Menkes 病患者は幼児期に死亡する例が多く、発症頻度は不明で、有効な治療法もな

い。本症患者の殆どは神経障害発症後の生後 3 か月以降に診断される。しかし神経障害発症後では現在の治療・ヒスチジン銅皮下注射は効果がなく、神経障害は進行する。早期治療開始で神経障害は予防できるが、結合織障害は予防できない。したがって早期診断法と有効な治療法の開発が待たれている。Occipital horn 症候群も ATP7A 異常で Menkes 病軽症型であるが、実態は全く

不明である。本研究の1つの目的は、両疾患での日本での発症頻度・臨床症状の経過・合併症などを全国主要施設に協力してもらいアンケート調査で明らかにし、神経症状発症前の患児の特徴を明らかにし、早期診断基準、早期診断法を確立することである。また同時に遺伝子解析結果と臨床症状の関連を明らかにする。もう1つの目的は、我々がモデルマウスで開発した新規治療法（銅皮下注射とノックピン経口投与の併用療法）の長期的効果をモデルマウスで解明する。治療を希望する患者家族に新規治療を適応し、治療法を確立することである。

## B.研究方法

### 1. 患者数把握のための実態調査、広報活動

Menkes 病および occipital horn 症候群の過去 10 年間の診療経験の有無について、病院小児科、療養施設の医師を対象に全国アンケート調査を行った。患者を診療した経験のある主治医には、2 次アンケートとして、詳細な病歴を調査中である。特に神経症状発症前の臨床的特徴などを詳細に調査する。その際に遺伝子診断が可能であること、Menkes 病友の会の存在なども通知を行った。また、病態、アンケート及び関連広報をホームページ上で行った

(<http://www.pediatric-world.com/menkes/index.html>)。

### 2. 遺伝子型—表現型の関連の解明

遺伝子解析を希望する当該疾患患者で、文書で同意を得た後に、ATP7A 遺伝子のゲノム解析、RT-PCR 法による mRNA 解析、培養線維芽細胞を用いての生化学的診断を行

った。患者家族への遺伝子解析結果説明は遺伝カウンセリング資格を有する小児科医が担当した。

### 3. 新規治療法（disulfiram 経口投与とヒスチジン銅皮下注射）の確立

#### ①モデルマウスを用いた新規治療の短期的および長期的効果の解明

Menkes 病モデルマウスであるマクラマウスを銅と disulfiram 投与群および対象群として銅のみ投与群に分けて 2 カ月間及び 6 ヶ月飼育した。銅は塩化銅 10 µg/回を 2 回/週で皮下注射、ノックピンは 0.3 mg/g body weight を 2 回/週で経口投与した。経過中の体重増加および治療後の各臓器の銅濃度、チトクローム C オキシダーゼ活性、カテコラミンを測定した。さらに一般生化学、血清銅値、肝機能、腎機能等を検討した。同時に各臓器の組織学的検討、肝機能や腎機能を解析し、副作用の有無を明らかにした。

#### ②患者への新規治療の実施

Disulfiram（ノックピン®）はアルコール中毒の治療薬として保険診療で認可されている薬剤である。さらに抗がん剤であるシスプラチンの副作用軽減剤、コカイン中毒の解毒薬としても用いられている。文書で同意が得られた患者に本併用療法を行い、効果の評価および副作用の有無を明らかにする。効果は患者の全身状態、神経症状および血清銅、セルロプラスミン値、骨密度、さらに銅酵素活性の改善は血清乳酸、ピルビン酸、カテコラミン分画などで行う。同時に血算、肝機能、腎機能等を定期的に検査し副作用の有無を明らかにする。

（倫理面への配慮）

モデルマウスを用いた Menkes 病治療法開

発の研究は、帝京大学動物実験倫理委員会の承認をすでに得ている（番号；帝医動 07-035）。また、実験を担当する藤澤千恵は獣医で獣医博士を取得しており、実験動物に対する動物愛護に関しても十分に配慮できる。

Menkes 病および occipital horn 症候群患者の遺伝子解析および生化学的診断も、帝京大学医学部倫理委員会の承認をすでに得ている（2007 年、帝京医倫認証済み）。

Menkes 病患者でノックピン経口投与と銅皮下注射の併用療法に関しても、帝京大学医学部倫理委員会の承認をすでに得ている（帝京医倫 08-114）。

アンケート調査に関しても帝京大学医学部倫理委員会の承認を得た（2010 年、帝京医倫 10-053）また、担当する顧艶紅は保健学科出身、日本疫学学会員で、疫学・生物統計学を修得しており、十分な倫理的配慮を持って、統計処理が可能である。

遺伝子解析および治療を希望する患者家族には上記倫理委員会承認内容に準じて対応する。また、遺伝カウンセリング有資格者である共同研究者（黒沢健司医師）が必要に応じて遺伝カウンセリングを行う。

モデル動物での実験、患者の遺伝子解析、患者への新規治療の実践はすでに帝京大学の倫理委員会で承認されている。

## C. 研究結果

### 1. 患者数把握のための実態調査、広報活動

当該疾患を診療する可能性が非常に高い日本小児神経学会会員 1,678 名、日本先天代謝異常学会関連施設 1,209 施設、療育施設 244 施設、Menkes 病主治医 30 名の合計

3,161 施設にアンケート調査を行なった。回収率は 50.5%（あて先不明、返却分を含む）で、62 名の Menkes 病および 7 名の occipital horn 症候群が登録された。現在、患者を診療した主治医に、患者の詳細な病歴に関して 2 次アンケート調査を進めている。

広報活動：

メンケス病・オクチピタルホーン症候群の情報 Web サイトを立ち上げた

（<http://www.pediatric-world.com/menkes/index.html>）。また、平成 22 年 9 月に日本小児神経学会の支援共同研究に申請し承認された（申請番号 10-07）。これにより、日本小児神経学会会員に積極的に協力を依頼することが可能になった。さらに、

Menkes 病家族会を平成 22 年 10 月 25 日に大阪市立大学病院講堂で開催し、患者家族に本研究を詳細に説明し、意見交換を行った。これらの成果から 7 名の Menkes 病患者および 1 例の occipital horn 症候群患者が本研究に参加することに同意した。

### 2. 遺伝子型—表現型の関連の解明

今までの解析も含めて 57 例の Menkes 病患者および 2 例の occipital horn 症候群患者の遺伝子解析を行った。occipital horn 症候群は splice-site 変異と missense 変異であることを明らかにした。遺伝子解析結果は遺伝カウンセリングを行い、患者家族に報告した。

### 3. 新規治療法（ノックピン経口投与とヒスチジン銅皮下注射）の確立

①モデルマウスを用いた新規治療の短期的効果および副作用の解明

体重増加は併用療法群で対象群に比べて有意に増加していた。小脳および血清の銅濃度、小脳チトクローム C オキシダーゼ活性は併用療法群で対象群に比べて高い傾向が認められた。併用療法群の肝機能、腎機能および血液一般生化学検査に異常は認められなかった。

## ②患者への新規治療の実施

7名の Menkes 病患者でヒスチジン銅皮下注射とノックビン経口投与の併用療法を開始した。年齢は3歳～15歳で、6例は男児、1例は女児であった。7例ともヒスチジン銅の皮下注射をすでに行っている患者であった。ヒスチジン銅は原則今までの投与量で行った。ノックビンは30 mg/日から開始し、徐々に増量し、約10 mg/kg/日で現在経過を観察している。1例での血清銅とセルロプラスミン値の変動を図2に示す。血清銅およびセルロプラスミン値は併用療法により、明らかに上昇した。また、よく笑う、上肢をよく動かすなどの全身状態の改善が見られた。全例において明らかな副作用と思われる症状や一般検査の異常は見られていない。

1例の occipital horn 症候群でノックビン経口投与を開始した。現在明らかな副作用は認めていない。

## D. 考察

本研究は平成22年度の2次募集の事業で、採択日は平成22年8月26日である。採択後にアンケート調査、動物実験、患者への治療を開始したものであるため、研究期間が短く、十分な成果はまだ得られていない。しかし、現在も研究は着実に進行中である。今までの結果では、大まかに算定して

Menkes 病は男子出生100万人に約8.03人の発症(62例/過去10年間の男子出生数)、occipital horn 症候群は男子出生の約68万人に1人と考えられる。今後、登録患者を詳細に検討することにより、より正確な発症頻度が明らかになる。また、現在2次調査を実施しつつあり、それにより発症前の詳細な症状が明らかになり、早期診断法を確立する予定である。

モデルマウスおよび患者での研究成果では、併用療法時の血清銅およびセルロプラスミン値は、銅注射のみの場合に比べて、明らかに上昇した。これは腸管での銅の吸収が改善していることを示唆している。さらに、モデルマウスでは、脳内の銅濃度およびチトクローム C オキシダーゼ値が改善する傾向が認められた。これらの結果は、銅が脳血液関門を通過して神経細胞に輸送され、銅酵素であるチトクローム C オキシダーゼに利用されていることを示唆している。すなわち、当初に期待した効果が見られていると言える。また、明らかな副作用は認めていない。患者家族も患者が元気になったことを実感しており、本併用療法が治療法として有効であることを示唆している。今後、モデルマウスおよび患者での長期的効果を検証し、確立した治療法を提唱する予定である。

## E. 結論

Menkes 病および occipital horn 症候群は希少疾患で、現在有効な治療法がない。全国主要小児科に対して実態調査を行い、発症頻度を検討した。Menkes 病は男子出生100万人に約8.03人、occipital horn 症候群は男子出生の約68万人に1人と推定さ

れた。ヒスチジン銅皮下注射とノックビン経口投与の併用療法をモデルマウスおよび該当疾患患者で行い、病態に対して有効であることが示唆された。今後、2次調査結果で早期診断法の確立を行う。また、併用療法の長期的効果を検討し、治療法を確立する予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W: Pathology, clinical features and treatments of congenital copper metabolic disorders -focus on neurologic aspects. *brain dev.* 33(3):243-51 2011
- 2) Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W: Inherited Copper Transport Disorders: Biochemical Mechanisms, Diagnosis, and Treatment. *Current Drug Metabolism* in press.
- 3) Katsumata K, Ogawa E, Fujiwara I, Fujikura K. Novel CYP17A1 mutation in a Japanese patient with combined 17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase deficiency. *Metabolism Clinical and Experimental*, 59:275-278. 2010
- 4) Doi K, Haga T, Shintaku H, Kawano S. Development of coarse-graining DNA models for single-nucleotide resolution analysis. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2010; 13:368(1920):2615-28.
- 5) Fujii C, Sato Y, Harada S, Kakee N, Gu YH, Kato T, Shintaku H, Owada M, Hirahara F, Umehashi H, Yoshino M. Extended use and long-term storage of newborn screening spots in Japan. *Pediatr Int.* 2010;52(3):393-7
- 6) Adachi M, Muroya K, Asakura Y, Kurosawa K, Nishimura G, Narumi S, Hasegawa T. Ruvalcaba syndrome revisited. *Am J Med Genet Part A* 152A:1854-7, 2010.
- 7) Tsuyusaki Y, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi N, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K. 1p36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype. *Pediatr Int* 52:547-550, 2010.
- 8) Osaka H, Hamanoue H, Yamamoto R, Nezu A, Ssaki M, Saitsu H, Kurosawa K, Shimbo H, Matsumoto N, Inoue K. Disrupted SOX10 regulation of GJB2 transcription causes Pelizaeus-Merzbacher-like disease. *Ann Neurol* 2010;68:250-254.
- 9) Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening

- for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 28. 2010 [Epub ahead of print]
- 10) Komatsuzaki S, Aoki Y, Niihori T, Okamoto N, Hennekam RC, Hopman S, Ohashi H, Mizuno S, Watanabe Y, Kamasaki H, Kondo I, Moriyama N, Kurosawa K, Kawame H, Okuyama R, Imaizumi M, Rikiishi T, Tsuchiya S, Kure S, Matsubara Y. Mutation analysis of the SHOC2 gene in Noonan-like syndrome and in hematologic malignancies. *J Hum Genet.* 2010. [Epub ahead of print]
- 11) Tsuji M, Takagi A, Sameshima K, Iai M, Yamashita S, Shinbo H, Furuya N, Kurosawa K, Osaka H. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency with progressive polyneuropathy in an infant. *Brain Dev.* 2010. [Epub ahead of print]
- 12) Saito Y, Kubota M, Kurosawa K, Ichihashi I, Kaneko Y, Hattori A, Komaki H, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M. Polymicrogyria and infantile spasms in a patient with 1p36 deletion syndrome. *Brain Dev.* 2010. [Epub ahead of print]
- 13) Shimizu N, Fujiwara J, Ohnishi S, Sato M, Kodama H, Kohsaka T, Inui A, Fujisawa T, Tamai H, Ida S, Itoh S, Ito M, Horiike N, Harada M, Yoshino M, Aoki T: Effects of long-term zinc treatment in Japanese patients with Wilson disease: efficacy, stability, and copper metabolism. *Transl Res* 156: 350-357, 2010
- 14) Fujii C, Sato Y, Harada S, Kakee N, Gu YH, Kato T, Shintaku H, Owada M, Hirahara F, Umehashi H, Yoshino M. Attitude to extended use and long-term storage of newborn screening blood spots in Japan. *Pediatr Int.* 52(3):393-397,2010.
- 15) Gu YH, Kato T, Harada S, Inomata H, Aoki K. Time Trend and Geographic Distribution of Treated Patients with Congenital Hypothyroidism Relative to the Number of Available Endocrinologists in Japan. *The Journal of Pediatrics.* 157(1):53-157,2010.
- 16) 清水教一：Wilson病。小児診療 73 Suppl: 518-519, 2010
- 17) 清水教一：微量元素代謝異常症。小児内科 42: 1195-1199, 2010
- 18) 顧 艶紅、張 靈、加藤忠明。神経管閉鎖障害の発症要因と予防：中国現地調査と文献考察。小児保健研究 69(1)：85-90, 2010.
- 19) 顧 艶紅、小林弘典、加藤忠明、長谷川有紀、原田正平、山口清次。Two - Source Capture Recapture Method を用いた日本におけるメチルマロン酸血症の発症率及び小児慢性特定疾患治療研究事業での登録率の検討。日本マス・スクリーニング学会誌 20(1)：33-37, 2010.
- 20) 竹原健二、原田正平、加藤忠明、顧 艶紅、鈴木恵美子、渡辺倫子、南谷幹史。わが国の新生児マス・スクリーニングに関する実態調査—精密検査対象者に対する受診勧奨・受診確認は適切におこなわ



- れているか？. 日本マス・スクリーニング学会誌 20(1):39-43, 2010.
- 21) 竹原健二、原田正平、加藤忠明、顧 艶紅、鈴木恵美子、渡辺倫子、南谷幹史. わが国における新生児マス・スクリーニングで発見された陽性者に対する追跡調査の実施状況. 日本マス・スクリーニング学会誌 20(1):45-51, 2010.
- 22) 竹原健二、原田正平、渡辺倫子、鈴木恵美子、顧 艶紅、加藤忠明. 各自治体における先天性代謝異常等検査実施要綱の記載内容に関する研究. 日本マス・スクリーニング学会誌 20(3) : 235-240, 2010.
- 23) 黒澤健司 神経線維腫症 1 型における分子細胞遺伝学的スクリーニング 日レ病会誌 1:35-37. 2010
2. 学会発表
- 1) ワッタナボン ペットパラシット、吉野美香、藤澤 千恵、小川 英伸、児玉浩子. Effect of copper and Disulfiram combination therapy on the macular mouse, an animal model of Menkes disease. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会・第 9 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2010 年 10 月 21 日-23 日、大阪国際会議場
- 2) ワッタナボン ペットパラシット、吉野美香、藤澤 千恵、小川 英伸、児玉浩子. Effect of copper and Disulfiram combination therapy on the macular mouse, an animal model of Menkes disease. 第 2 回メタロミクス研究フォーラム、2010 年 11 月 2 日-3 日、京都薬科大学.
- 3) Hiroki Fujioka, Taisuke Takeda, Shiho Nomura, Eiichi Ninomiya, Chie Fujisawa, Hiroko Kodama, Haruo Shintaku Effect of disulfiram on mental status with a patient of Menkes Disease. the 2010 SSIEM Annual Symposium Istanbul, Turkish, Aug 31-Sep 3 2010
- 4) Haruo Shintaku, Development of dopaninergic neurons and serotonin neurons in an aspect of neurobiochemistry. 11th International Child Neurology Conference, Cairo, Egypt · May 2-7, 2010
- 5) 武田泰輔, 野村志保, 二宮英一, 藤岡弘季, 野崎聡, 和田康弘, 渡辺恭良, 新宅治夫: microPET imaging によるヒストジン銅、ジスルフィラム併用療法の効果検討、第 55 回日本未熟児新生児学会、神戸、2010.11.5-7
- 6) 清水教一, 藤原順子, 那須野聖人, 中村浩章, 井上美沙子, 小川絢子, 関根孝司, 青木継稔: Wilson 病の肝機能障害に対する亜鉛薬の治療効果に関する検討. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 盛岡, 2010.4
- 7) 井上美沙子, 清水教一, 小川絢子, 舘野昭彦, 佐地勉, 関根孝司, 青木継稔: Wilson 病の服薬コンプライアンスならびに予後に関する検討. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 盛岡, 2010.4
- 8) 水口浩一, 小田優子, 中村浩章, 清水教一, 関根孝司, 青木継稔: 銅キレート薬と亜鉛薬の併用により銅欠乏を生じた神経型 Wilson 病の 1 例. 第 14 回ウイルソン病研究会, 東京, 2010.5
- 9) 中村孝裕, 中村浩章, 山口佳世, 清水教

- 一，関根孝司，青木継稔：服薬コンプライアンス不良により肝不全を呈した Wilson 病の 1 例. 第 14 回ウイルソン病研究会，東京，2010.5
- 10) 清水教一，井上美沙子，小川絢子，青木継稔：全国調査からみた神経型・肝神経型 Wilson 病の臨床的特徴に関する検討. 第 52 回日本小児神経学会総会，福岡，2010.5
- 11) 平井香，中村浩章，小田優子，水口浩一，清水教一，青木継稔，関根孝司：神経症状が重度であった，ウイルソン病 2 症例の画像所見と臨床経過の検討. 第 52 回日本小児神経学会総会，福岡，2010.5
- 12) 清水教一，黒岩玲，中村孝裕，逸見仁道，青木継稔：Wilson 病非定型例に対する遺伝子診断の有用性に関する検討. 第 21 回日本微量元素学会，京都，2010.7
- 13) 清水教一，井上美沙子，小川絢子，青木継稔：生涯治療が必要な慢性疾患患者における服薬コンプライアンスに関する検討，ウイルソン病友の会会員への調査成績. 第 57 回日本小児保健学会，新潟，2010.9
- 14) 井上美沙子，小川絢子，清水教一，関根孝司，青木継稔：亜鉛薬による治療が奏効した Wilson 病の 3 例. 第 37 回日本小児栄養消化器肝臓学会，高松，2010.10
- 15) 井上美沙子，小川絢子，清水教一，関根孝司，菅原由美，栗山進一，青木継稔：Wilson 病における予後関連因子に関する検討. 第 52 回日本先天代謝異常学会，大阪，2010.10
- 16) 榎本啓典，岸谷康弘，石川亜貴，古谷憲孝，升野光雄，黒澤健司 LIS1 を含まない 17p13.3 領域の端部欠失を認め低身長・軽度発達遅滞・Miller-Dieker 症候群様の顔貌を呈する 1 女児例 第 33 回日本小児遺伝学会 2010.4.22 盛岡
- 17) 石川亜貴，岸谷康弘，榎本啓典，古谷憲孝，黒澤健司，吉橋博史，石切山敏 サブテロメア FISH 解析にて診断に至った 19 番染色体短腕部分トリソミーの 1 例 第 33 回日本小児遺伝学会 2010.4.22 盛岡
- 18) 吉橋博史，林深，黒澤健司，稲澤譲治 欠失型 Greig cephalopolysyndactyly 症候群の 1 例 第 33 回日本小児遺伝学会 2010.4.22 盛岡
- 19) 小崎里華，黒澤健司，岡本伸彦，水野誠司，小崎健次郎，峰岸真千子 Rubinstein-Taybi 症候群患者・家族からのニーズ 第 33 回日本小児遺伝学会 2010.4.22 盛岡
- 20) 榎本啓典，石川亜貴，古谷憲孝，黒澤健司 全サブテロメア FISH による診断未定症例のスクリーニング 第 113 回日本小児科学会 2010.23-25. 盛岡
- 21) 石川亜貴，榎本啓典，古谷憲孝，朝倉由美，室谷浩二，安達昌功，黒澤健司，小崎健次郎 CHARGE 症候群 24 例の臨床的検討 第 113 回日本小児科学会 2010.23-25. 盛岡
- 22) 黒澤健司，黒木良和 先天異常モニタリング調査 (KAMP) からみた多胎発生頻度の推移 第 113 回日本小児科学会 2010.23-25. 盛岡

- 23) 井上健、小坂仁、黒澤健司、高梨潤一、山本俊至、岩城明子 先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究 第 52 回日本小児神経学会 2010.5.20-22. 福岡
- 24) 石川亜貴、黒澤健司、山下純正 MECP2、L1CAM を含む Xq28 領域の重複を認めた重度精神遅滞の男児例 第 52 回日本小児神経学会 2010.5.20-22. 福岡
- 25) 関澤浩一、加藤誠久、石井健介、黒澤健司、田辺秀之、岸邦和 染色体構造異常を中心としたヒト核型分析学習ソフトウェアの開発 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 26) Bamshad MJ, Kurosawa K (31 名中 18 番目), Shendure J. Discovery of a gene for kabuki syndrome by exome sequencing and genotype-phenotype relationship in 110 cases. 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 27) 黒澤健司 Cytogenetic Array が遺伝医療にもたらすもの 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 28) 宮武聡子、山下純正、黒澤健司、三宅紀子、松本直通 劣性遺伝性白質脳症の 1 家系の疾患責任遺伝子解析 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 29) 富田博秋、小野千晶、愈志前、田邊陽一郎、福與なおみ、西村章、黒滝直弘、黒澤健司、岡本伸彦、松本直通 ソトス症候群罹患者リンパ芽球のマイクロアレイ解析—NSD1 の下流で発現調節を受ける遺伝子群の探索— 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 30) 井上健、岩城明子、小坂仁、黒澤健司、高梨潤一、出口貴美子、山本俊至 先天性大脳白質形成不全症：難治性疾患克服研究による希少性疾患の統合的研究の推進 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 31) 小松崎匠子、青木洋子、新堀哲也、岡本伸彦、大橋博文、水野誠司、渡辺順子、近藤郁子、黒澤健司、川目裕、今泉益栄、力石健、土屋滋、呉繁夫、松原洋一 Noonan 症候群類縁疾患および血液腫瘍細胞における SHOC2 遺伝子変異解析 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 32) 福與なおみ、岡本伸彦、黒澤健司、松本直通、荻野谷和裕、植松貢、土屋滋、富田博秋 本邦におけるソトス症候群の診断の実態調査 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 33) 富永牧子、鮫島希代子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、和田敬仁、京田学是、小坂仁、黒澤健司 14 番染色体長腕近位部における dosage sensitive genes の推定 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 34) 榎本啓典、富永牧子、石川亜貴、古谷憲孝、安達昌功、水野誠司、山内泰子、升野光雄、近藤達郎、黒澤健司 young-Simpson 症候群の長期的な臨床像—新生児期から青年期にかけて— 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市

- 35) 石川亜貴、富永牧子、榎本啓典、古谷憲孝、黒澤健司 Sotos 症候群 43 例の臨床的検討 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 36) 和田敬仁 新保裕子、三谷忠宏、小坂仁、黒澤健司、岡本伸彦 ATR-X 症候群の診断基準の作成 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 37) 山田裕一、山田憲一郎、水野誠司、古谷憲孝、松尾真理、平木洋子、黒澤健司、斎藤加代子、若松昭延 Mowat-Wilson 症候群典型例における ZFHX1B 遺伝子変異 第 55 回日本人類遺伝学会 2010.10.27-30. さいたま市
- 38) 関澤浩一、加藤誠久、石井健介、黒澤健司、田辺秀之、岸邦和 染色体検査のためのヒト核型分析学習ソフトウェアの開発 第 5 回日本臨床検査学教育学会
- 39) Wada T, Shimbo H, Mitani T, Osaka H, Kurosawa K, Okamoto N. Clinical and Molecular genetic study of ATR-X syndrome Patients in JAPAN and proposal of clinical diagnostic criteria of ATR-X syndrome. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 40) Enomoto K, Furuya N, Adachi M, Mizuno S, Yamanouchi Y, Masuno M, Kondoh T, Kurosawa K. Follow-up and Management of Young-Simpson Syndrome. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 41) Abe Y, Aoki Y, T. Niihori T, Ohashi H, Kurosawa K, Okamoto N, Kawame H, Mizuno S, Ogata T, Kuriyama S, Kure S, Matsubara Y. Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardiofacio-cutaneous syndrome in Japan. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 42) Kurosawa K, Enomoto K, Furuya N, Masuno M, Kuroki K. Trends of the incidence of twin births in Japan. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 43) Komatsuzaki S, Aoki Y, Niihori T, Okamoto N, Hennekam RCM, Hopman S, Ohashi H, Mizuno S, Watanabe Y, Kamasaki H, Kondo I, Moriyama N, Kurosawa K, Kawame H, Imaizumi M, Rikiishi T, Tsuchiya S, Kure S, Matsubara Y. SHOC2 mutation analysis in Noonan-like syndrome and hematologic malignancies. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 44) Miyatake S, Miyake N, Yamashita S, Kurosawa K, Matsumoto N. A novel homozygous intronic DARS2 mutation in a family with congenital leukoencephalopathy. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 45) Yamada Y, Yamada K, Mizuno S, Furuya N, Matsuo M, Urano M, Hiraki Y, Kurosawa K, Saito K, Wakamatsu N. Novel mutations of ZFHX1B responsible for the typical

- cases of Mowat-Wilson syndrome. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.
- 45) Gu YanHong, Kodama Hiroko, Fujisawa Chie, Kamada Nodoka, Ozawa Hiroshi, Kato Tadaaki. Clinical outcomes among 31 Japanese deceased patients with Menkes disease treated with parenteral copper histidine. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases, Fukuoka, JAPAN, 7-10 March, 2010.
- 47) Chieko Fujii, Yuki Sato, Shohei Harada, Naoko Kakee, Yan-Hong Gu, Tadaaki Kato, Haruo Shintaku, Misao Owada, Fumiki Hirahara, Hozo Umehashi, Makoto Yoshino. Extended use and long-term storage of newborn screening blood spots in Japan. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases, Fukuoka, JAPAN, 7-10 March, 2010.
- 48) Yan-Hong GU, Ting ZHANG, Tadaaki KATO. Maternal FT3, FT4, THS and homocysteine levels and the risk of neural tube defects in the offspring in a high-risk of China. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research, Taipei, TAIWAN, 15-18 April, 2010.
- 49) Yan-Hong GU, Hiroko KODAMA, Tadaaki KATO. Congenital malformations in Japanese patients with Menkes disease. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research, Taipei, TAIWAN, 15-18 April, 2010.
- 50) YanHong GU, Chie FUJISAWA, Hiroko KODAMA, Tadaaki KATO. A girl with Menkes disease administered combination therapy with copper histidine and diethyldithiocarbamate. The 7th International Copper Meeting "Copper in Biology". Alghero, Sardinia, Italy, October 16-20, 2010.
- 51) Kodama Hiroko, Fujisawa Chie, Ogawa Eishin, Siga Katsuaki, Wattanaporn Bhadhprasit, Gu YanHong, Ozawa Hiroshi. Clinical Outcomes of 20 Patients with Menkes Disease. 2010 Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium. Istanbul. August 31 and September 3, 2010.
- 52) 竹原健二、原田正平、加藤忠明、顧 艶紅、鈴木恵美子、渡辺倫子。各自治体における先天性代謝異常等検査事業の実施要綱に記載されている項目と実施状況の関連。同上日本マス・スクリーニング学会。
- 53) 加藤忠明、武井修治、原田正平、掛江直子、顧 艶紅、竹原健二。小児慢性特定疾患治療研究事業（膠原病）の非継続症例の経過に関する実態調査。第57回日本小児保健学会、新潟市。9月17,18日, 2010。
- 54) 顧 艶紅、張 霆、加藤忠明。中国神経管閉鎖障害の多発地域の妊婦における甲状腺機能に関する研究—パイロットスタディ。同上日本小児保健学会。
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



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）

Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確立、

治療法開発に関する研究 分担報告書

研究課題：「Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査」

分担研究者

小川 英伸（帝京大学小児科・講師）

藤澤 千恵（帝京大学小児科・Research Fellow）

研究報告

研究要旨

今回我々は全国の小児神経専門医、国公立病院施設、大学病院、重症心身障害者施設に Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査を行うための 1 次アンケートを送付、回収した。アンケート調査の結果、患者が確定できた数は Menkes 病 62 名、occipital horn 症候群 7 名であった。患者情報を提供できるとの回答を得られた主治医に対して 2 次調査アンケートを送付した。2 次調査結果については現在集計を進行中である。

#### A. 研究目的

Menkes 病患者の殆どは神経障害発症後の生後 3 か月以降に診断される。しかし神経障害発症後では現在の治療方法であるヒスチジン銅皮下注射では効果がなく、神経障害は進行する。ヒスチジン銅の早期治療開始で神経障害の軽減が可能である。早期診断基準を作成し、早期診断、治療を行うことは患者にとって最重要事項である。Menkes 病の軽症型である Occipital horn 症候群は、発症頻度は不明で、治療法もない。本研究の目的は両疾患の発症頻度、臨床症状等を実態調査で解明することである。また、神経症状発症前の患児の特徴を明らかにし、早期診断基準を作成する。

#### B. 研究方法

2010 年 8 月 26 日に厚生労働省難治性疾患克服事業として「Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確立、治療法の確立」が採択されたことから実態調査の一環として一次アンケートを作成、送付を行った。一次調査送付先は小児神経専門医 1,678 人、公立病院及び大学病院 1,209 施設、重症心身障害児施設 244 施設（重症心身障害者施設：公立・法人立日本重症児福祉協会加盟施設及び国立重症心身障害協議会加盟施設）、Menkes 病患者主治医 30 名（計 3,161）に送付した。一次アンケート質問 1. 過去 10 年間で Menkes 病もしくは occipital horn 症候群の患者を診察したことがありますか。という質問で、あると答え

た主治医のみに質問 2 以降の記入回答を依頼した。質問 1. の患者ある・なしに係らず返却を依頼した。調査用紙が重複した場合についても返却を依頼した。

一次アンケート調査で患者情報の提供が可能であると回答した主治医に対して二次調査アンケートの送付を行った。二次調査アンケートの回収、集計を行った。

### C. 研究結果

一次アンケート調査回収率は小児神経認定医 54.8% (1,708 人中 936 通で)、病院施設 45.6% (1,209 施設中 551 通)、重度心身障害施設 44.3% (244 施設中 108 通) であった。総合では 3,161 通中 1,595 通 50.5% の回収率となった。1 次アンケート調査回収結果です。質問 1 の過去 10 年間で Menkes 病もしくは occipital horn 症候群の患者を診療したことがありますか。では患者有が 108 名、施設 25、重心施設 3 の総合 136 であった (表 1)。

表 1. 1 次アンケート調査回収結果 (質問 1)

	患者有	患者無	重複	その他
個人 (小児神経認定医)	108	798	3	19
施設 (一般病院等)	25	437	68	11
重度心身障害施設	3	98	6	1
総合	136	1,333	49	77

患者

無は 798 名、437 名、98 名の 1,333 で残りは重複もしくは不明とであった。

患者有と記入した医師にのみ質問 2 以降について回答を依頼した結果、Menkes 病で 62 名、occipital horn 症候群で 7 名が患者として確定した (表 2)。両疾患ともに男児での発症がほとんどであり、生存率は Menkes 病で 51.6%、occipital horn 症候群で 85.7% となった。

表 2. 患者様概要 (質問 2・3)

		Menkes 病	OHS
確定患者数	合計	62	7
	男女比	60:2	6:1
	生:死	32:28 (不明2)	6:1
患者不確定回答数 (カルテの提示不可能)	合計	65	2
	男女比	64:1	2:0
	生:死	12:21 (不明32)	0:1 (不明1)

過去 10 年間 (2000 年～2010 年) における Menkes 病の出生数は出生児 100 万人に当たり約 3.93 人であった (Figure 1)。

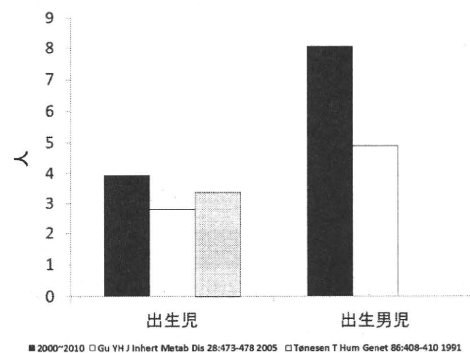


Figure 1.

現在

までに報告されている出生率と比較すると国内では帝京大学小児科で報告した 1992 年から 2002 年までの調査 (Gu YH J Inher Metab Dis 28:473-478 2005) で約 2.8 人と今回の方が多かった。海外の報告では 1991 年に 12 年間で調査 (Tønesen T Hum Genet 86:408-410 1991) した約 3.37 人という結果が報告されており今回の結果とほぼ同様であった。

全国の男児 100 万人に対する Menkes 病出生数は約 8.03 人であった。帝京大学小児科で報告した調査では約 4.9 人であり、過去 10 年で増加している結果となった。

一次アンケート調査で質問、意見を記入してもらったところヒスチジン銅治療、ジスルフィラム治療 (ノックピン治療) についての質問が寄せられたため、個別に回答を返送した。

一次アンケート調査で患者有、情報開示可能の医

師に対し二次調査アンケートを送付した。二次調査はより臨床症状、治療についての質問を行った。回答に関しては現在も回収、統計処理中である。

#### D. 考察

一次調査アンケートの結果 2000 年以降の Menkes 病患者出生数が増加していたのは 1993 年に Menkes 病関連遺伝子が確定された結果、遺伝子解析による診断が可能になったためと考えられる。Menkes 病関連遺伝子である ATP7A 遺伝子は X 染色体上にあるため男児に発症すると考えられているが今回の調査で国内における女児発症例が確認された。このことから女児に対する診断についても注意が必要であると考えられる。

#### E. 結論

確定された患者により出生数が明らかとなったが確定されていない患者も存在すると考えられ、今後更に Menkes 病、occipital horn 症候群の理解を広めることが重要である。二次調査アンケート結果から診断基準、症状の比較などを明らかにし、することが治療へと役立つと考えられる。

#### 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

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）  
Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確立、  
治療法開発に関する研究 分担報告書

研究課題：「Menkes病・occipital horn症候群の新規治療の効果・問題点」

分担研究者

小川 英伸（帝京大学小児科・講師）

研究報告

研究要旨

メンケス病患者および occipital horn 症候群患者に対してジスルフィラム経口投与を行い、これら疾患の症状および検査値改善に有効である可能性を示した。

A. 研究目的

メンケス病患者および occipital horn 症候群（OHS）患者におけるジスルフィラムの有効性を検討するため、ジスルフィラムの経口投与を行い、臨床症状および検査値への効果を検討する。

B. 研究方法

メンケス病患者 3 名と OHS 患者 1 名に対して、ジスルフィラム（ノックビン®）経口投与を行い、臨床症状の変化を観察するとともに、以下の検査値を指標として効果を検討した。なお、メンケス病患者ではすべてヒスチジン銅皮下注射療法を行っており、その投与量は変更しなかった。血中銅・セルロプラスミン（Cp）濃度、血中アドレナリン（AD）・ノルアドレナリン（NAD）・ドパミン（DA）濃度、尿中（VMA）・（HVA）濃度。

（倫理面への配慮）

帝京大学医学部附属病院の倫理委員会において承認を得た。また、それぞれの患者ご両親から治療についての同意を得た。

C. 研究結果

メンケス病患者 1 例において、ジスルフィラム投与後に、ヒスチジン銅投与量の変更なく、血中銅および Cp 値の上昇がみられ、活動性の増加など、神経症状の改善とも考えられる変化が見られた。その他の症例においても、明確な変化ではなかったものの、わずかな上昇傾向がみられたが、症状に変化は見られなかった。銅酵素である Dopamine  $\beta$  hydroxylase 活性の指標となる、血中 NAD/DA 比・AD/DA 比、および尿中 VMA/HVA 比はいずれも明らかな変化は見られなかった。また、副作用と思われる臨床症状や検査値異常は認めなかった。

D. 考察

ジスルフィラムがヒスチジン銅との併用で脳

内銅濃度や銅酵素活性を改善させることをこれまで動物実験で示してきた。今回メンケス病および OHS 患者においてもジスルフィラム投与後に血中銅・Cp 値の上昇傾向

がみられ、腸管における銅吸収がジスルフィラムによって増加した可能性を示すものと考えられる。しかし、明確な効果が見られない症例もあるため、投与量・投与方法についてのさらなる検討が必要と思われた。

#### E. 結論

メンケス病および OHS 患者においてジスルフィラムは症状および検査値改善に有効である可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記入)

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1. メンケス病に対するジスルフィラムの治療効果について。第 53 回日本小児神経学会、平成 23 年 5 月 26 日、パシフィコ横浜。
2. Menkes 病に対するジスルフィラムの治療効果について。第 53 回日本小児科学会、平成 23 年 4 月 15 日 (8 月 12 日に延期)、グランドプリンスホテル新高輪。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



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）  
Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確立、  
治療法開発に関する研究 分担報告書

研究課題：「Menkes病モデルマウスであるマクラマウスでの銅注射と  
disulfiram経口投与の併用療法の効果」

分担研究者

藤澤 千恵（帝京大学小児科・Research Fellow）

研究協力者

ワッタナボン・ペットパラシット（帝京大学小児科・Research Fellow）

吉野 美香（帝京大学小児科・Research Fellow） 研究報告

研究要旨

Menkes 病患者に対する新規治療効果を検討するために、銅と脂溶性キレート剤 disulfiram の併用投与を Menkes 病モデルマウスであるマクラマウスに行いその効果を検討した。この併用投与により銅の吸収が増加し、銅酵素活性が上昇する可能性が示唆された。また、銅が血液脳関門を通過するとともにカテコラミン代謝を促進したと考えられた。本研究結果から銅と disulfiram 併用投与による Menke 病への新規治療法は有用であると考えられた。

A. 研究目的

Menkes 病患者では非経口投与で銅治療を行っても重篤な神経症状、結合織異常に対しての効果は得られていない。Menkes 病患者治療においては投与した銅を有効的にゴルジ体膜や血液脳関門を通過させることが重要である。今回、脂溶性キレート薬と結合した銅はゴルジ体膜や血液脳関門を通過し、銅欠乏が改善されるとの仮説を立て研究を行った。本研究の目的は Menkes 病の治療法を開発し、有効な治療法を確立することである。

B. 研究方法

(1) disulfiram 投与

実験にはマクラマウスと正常コントロールとして正常雄マウスを使用した。マクラマウスは生後早期に銅投与を行わなければ死亡するため予め生後 3 日に  $\text{CuCl}_2$  を銅換算で  $50 \mu\text{g}$  となるように皮下投与した。生後 7 日目から週 1 回マクラマウスに銅  $10 \mu\text{g}$  の皮下注射とジスルフィラム  $0.3$

$\text{mg/g}$  body weight を経口投与した（マクラマウス治療群）。対照群としてマクラマウスに銅  $10 \mu\text{g}$  皮下注射と水（DDW）の経口投与を行った（マクラマウス対照群）。正常雄マウスには何も投与を行わなかった（正常マウス群）。投与期間は短期投与として 8 週間、長期投与として 24 週間投与を行った。投与とともに体重の測定を行った。

(2) 検体の回収

マウスを解剖後、血清は採血後遠心、使用まで  $-80^\circ\text{C}$  にて保存した。各臓器は、銅濃度測定用、cytochrome c oxidase 活性測定、カテコラミン分析、血清 AST, ALT, BUN, クレアチニンの測定を行った。

(3) 銅濃度測定

各種臓器の銅濃度測定を行った。臓器は  $20 \text{mg}$  前後計量採取し、 $120^\circ\text{C}$  で乾燥した後再度計量し dry weight を算出した。乾燥したサンプルに濃硝酸  $400 \mu\text{l}$  を添加し、 $120^\circ\text{C}$  で濃縮乾固した後、 $2\text{N}$  硝酸  $1 \text{ml}$  で希釈、原子吸光光度計にて銅濃度を

測定した。

#### (4) cytochrome c oxidase 活性測定

マウスの各臓器からミトコンドリアを Mitochondria isolation kit for tissue (Thermo Scientific) を用いて抽出したのち Cytochrome c oxidase Assay kit (Sigma-Aldrich) を用いて測定を行った。

#### (5) カテコラミン分析前処理

0.4N 過塩素酸を用いてホモジナイズしたのち上清を回収し、カテコラミンを HPLC (SRL) にて測定した。

#### (6) 血清中生化学検査

-80℃で保存した血清をオリエンタル酵母に外注し、生化学検査を行った。

#### (7) 統計処理

それぞれの統計処理として体重の変化は t 検定、3 群間比較は一元配置分散分析 (ANOVA) にて有意差があったもののみ Tukey 法にて群同士の有意差を求めた。また、各検査、検討において個体差が大きいことから外れ値検定を行い、外れ値を抜いたものについても同様に t 検定、ANOVA、Tukey 法を行った。

### C. 研究結果

#### (1) 体重の変化

マク라마ウス治療群及びそのコントロールであるマク라마ウス対照群における体重の経時的変化を計測した (Figure 1)。短期投与群では生後 7 週目よりマク라마ウス治療群でマク라마ウス対照群よりも有意に体重の増加が認められた。長期間投与群においてはそのような体重の違いが認められなくなった。マク라마ウスは生後早期に銅を注射することにより生存可能となる。その後の成長は生後半年では正常マウスと違いが認められないことから長期間投与では最終的な体重に差が認められなかったと考えられる。

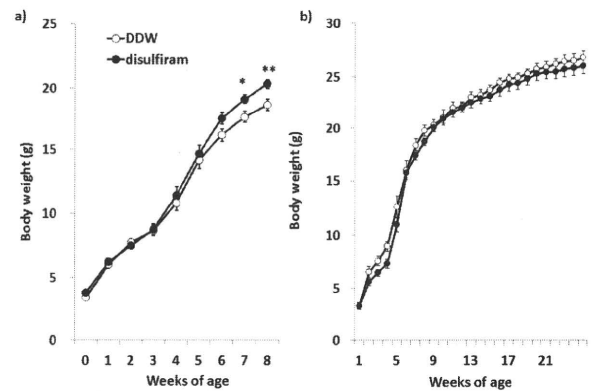


Figure 1. 体重変化  
a; 短期間投与群; b; 長期間投与群  
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$

#### (2) 各臓器における銅濃度

短期投与及び長期投与終了後に各マウスの臓器中銅濃度の測定を行った (Figure 2, 3)。

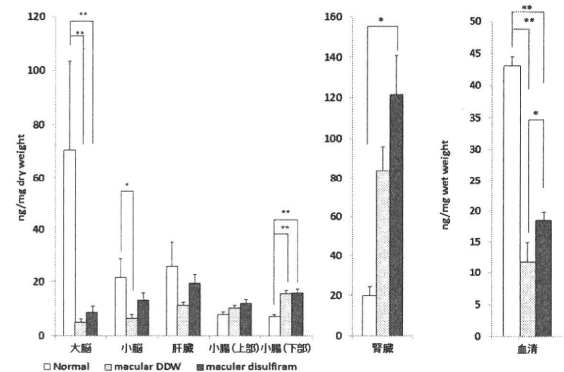


Figure 2. 短期間投与後の各臓器内銅濃度  
Normal; 正常マウス (n=8), macular DDW; macular マウス (n=19), CuCl<sub>2</sub>+DDW, macular disulfiram; macular マウス (n=24), CuCl<sub>2</sub>+disulfiram

大脳においてマク라마ウスではマク라마ウス対照群、マク라마ウス治療群ともに正常マウスに比べ有意に銅濃度が低かった。小脳においてはマク라마ウス対照群のみが有意に低く、マク라마ウス治療群ではそのような差が認められなかった。また、マク라마ウス治療群がマク라마ウス対照群に比べ大脳、小脳ともに銅濃度が高い傾向が認められた。血清中銅濃度はマク라마ウス治療群がマク라마ウス対照群に比べ有意にその濃度が高かった。長期間投与における各臓器の銅濃度はマク라마ウス対照群とマク라마ウス治療群の間において違いが認められなくなった (Figure 3)。