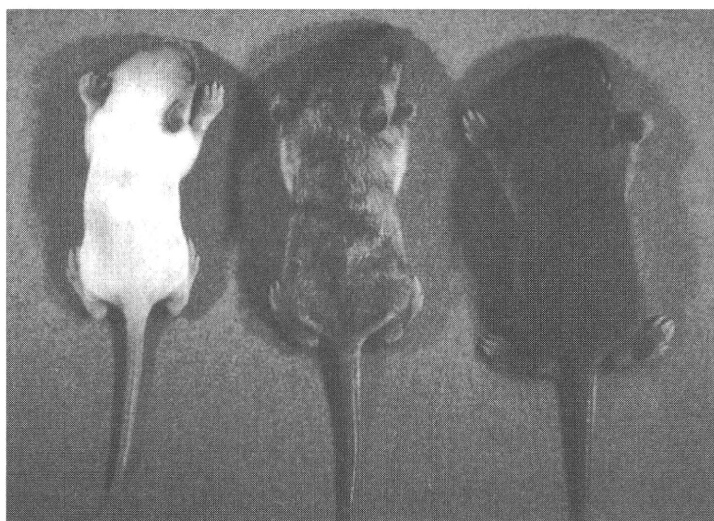


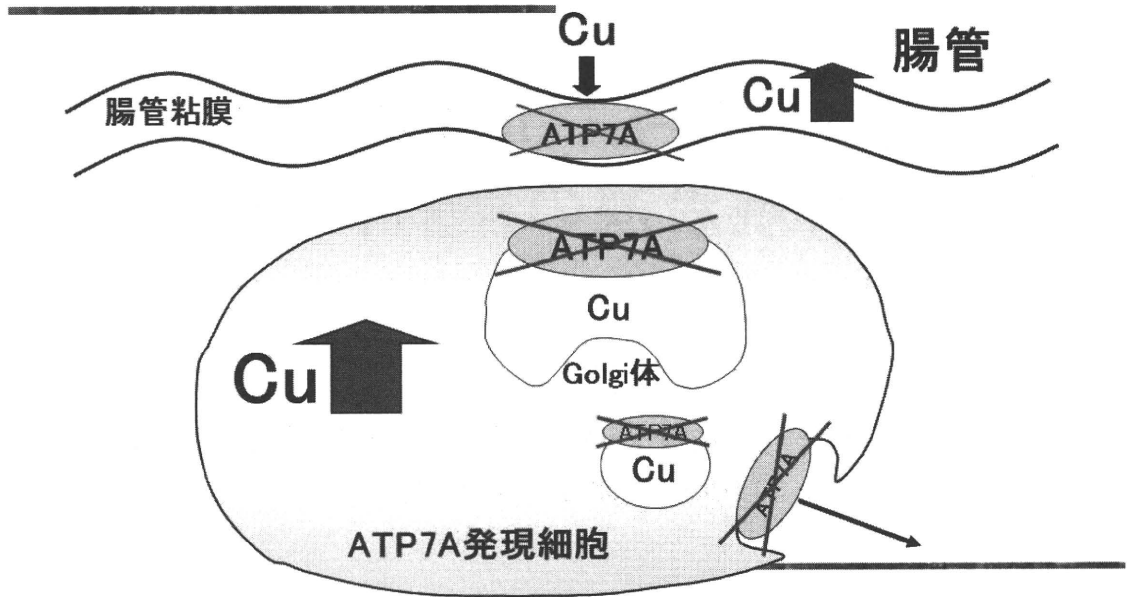
Menkes病モデルマウスでの 新規治療の検討報告

ワッタナポン ペットパラシット, 藤澤千恵, 小川英伸, 児玉浩子
帝京大学医学部小児科

マウス



Menkes病



マウスの小腸の銅染色

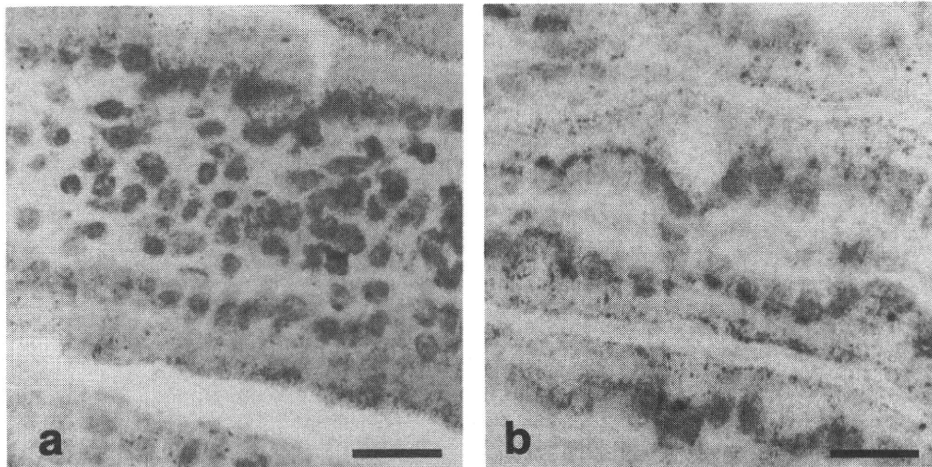


Figure 1. Light microscopic visualization of Cu in the intestinal epithelium by a modified sulfide-silver method. The absorptive epithelial cells of the macular mouse (b) stained more intensely than those of a control mouse (a). Original magnification $\times 400$. Bars = $2 \mu\text{m}$.

a, 正常マウス

b, マクラマウス

$\times 400$. Bars= $2\mu\text{m}$

Kodama et al.; J Histochem Cytochem: 41: 1529, 1993.

マウスの腎臓の銅染色

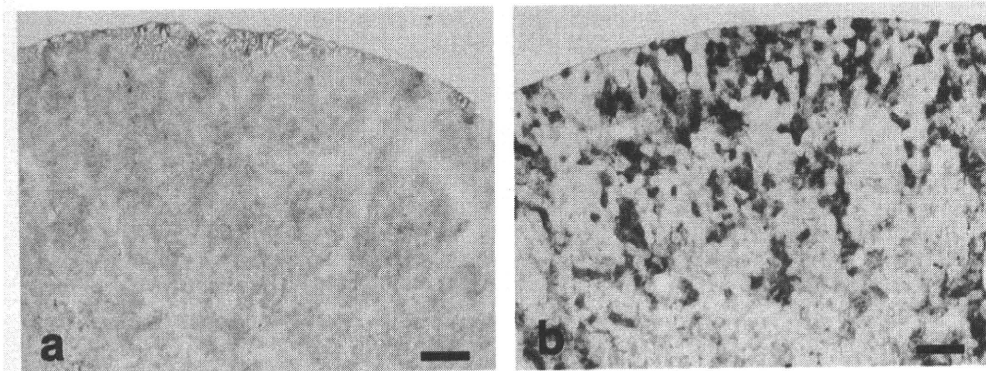


Figure 4. Light microscopic visualization of Cu in the kidney from (a) a control mouse and (b) a macular mouse. Original magnification $\times 20$. Bars = 20 μm .

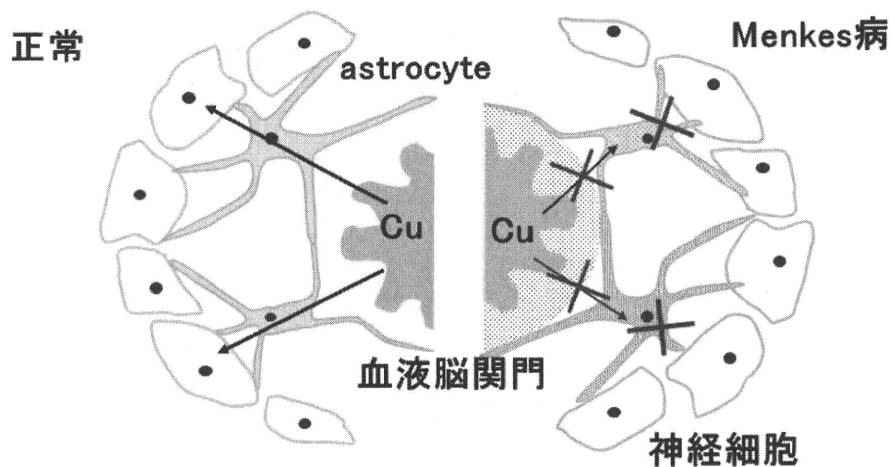
a, 正常マウス

b, マクラマウス

$\times 20$. Bars=2 μm

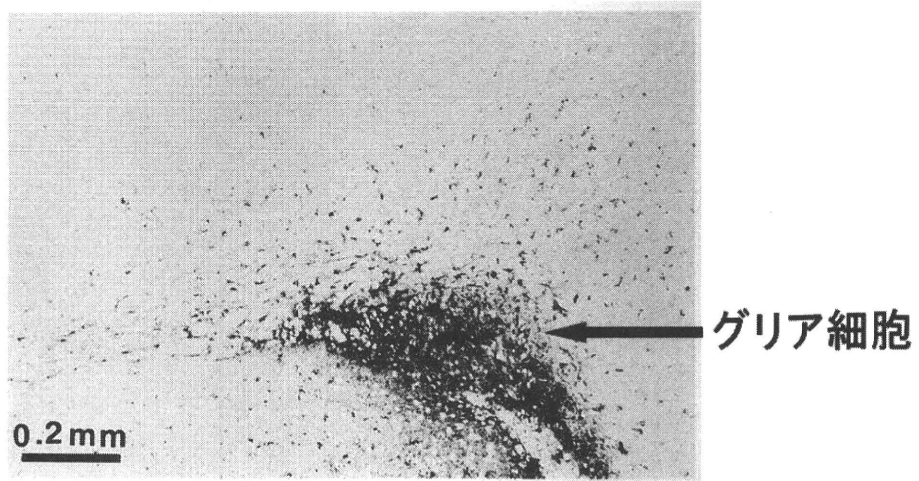
Kodama et al. ; J Histochem Cytochem: 41: 1529, 1993.

Menkes病



マウスの脳の銅染色

銅を脳空内に投与した



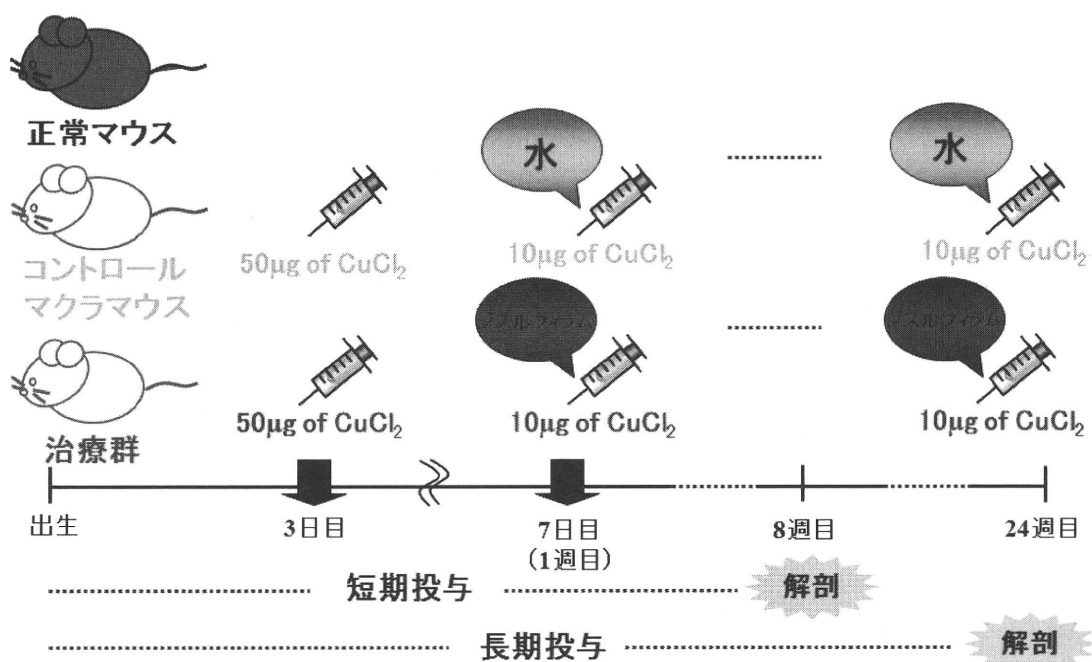
Kodama; J Inher Metab Dis: 16: 791, 1993.

研究の目的

血液脳関門に蓄積し、神経細胞に移行されない
銅の問題を解決するため

銅とジスルフィラム併用治療法
の効果についてマク라마ウスを
用いて検討した

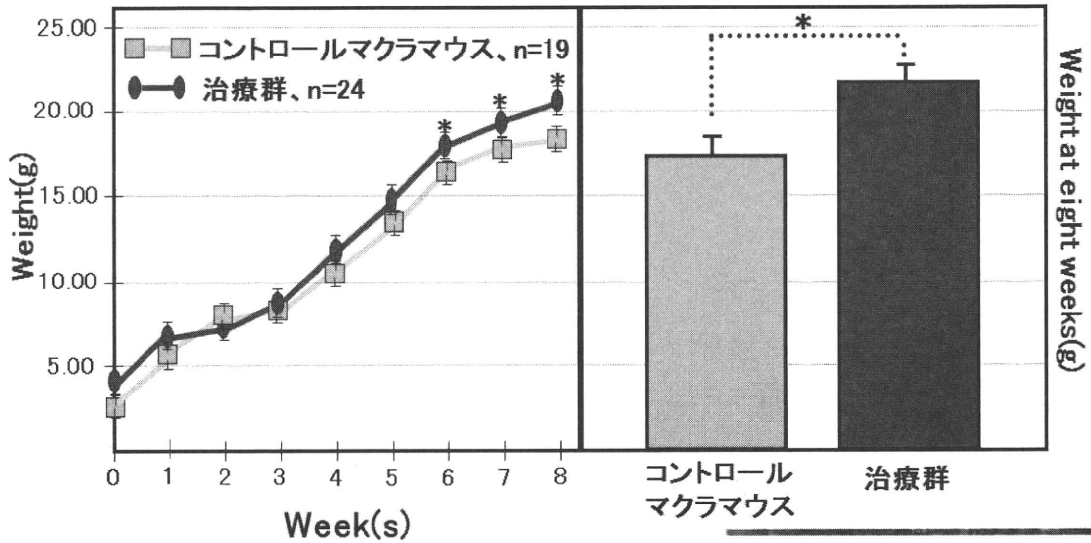
実験方法



実験方法

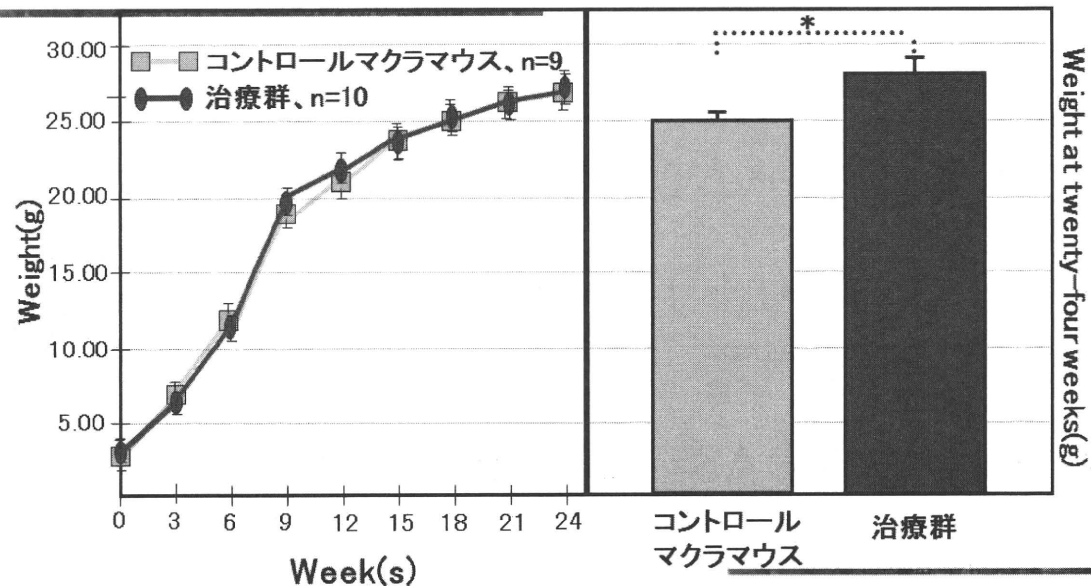
- 銅濃度測定
- チトクロームCオキシダーゼ酵素活性
- ノルアドリナリン、アドリナリン、ドーパミン
酵素の測定
- 血清内のAST, ALT, BUN, CRE

マウスの体重(短期間)



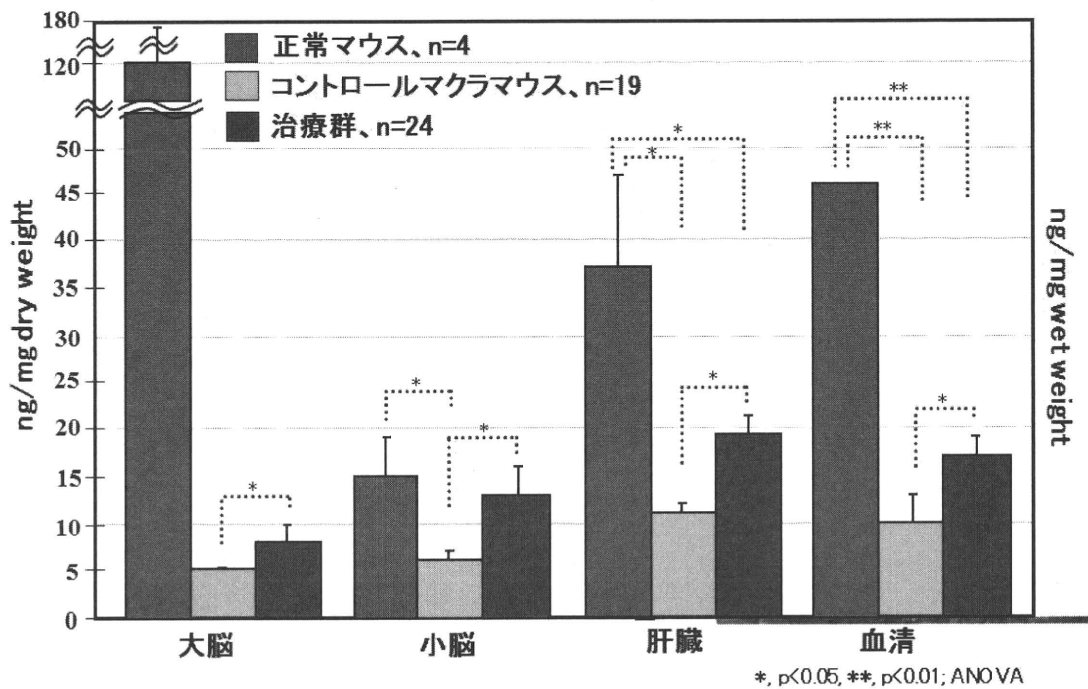
*, p<0.001; t-test

マウスの体重(長期間)

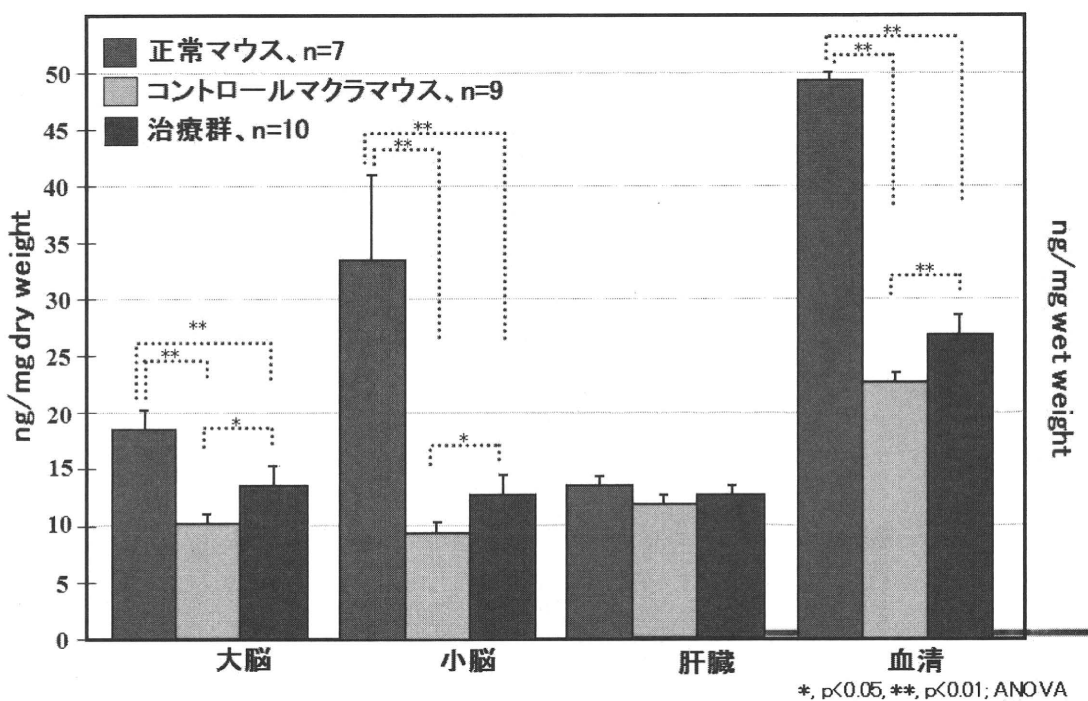


*, p<0.001; t-test

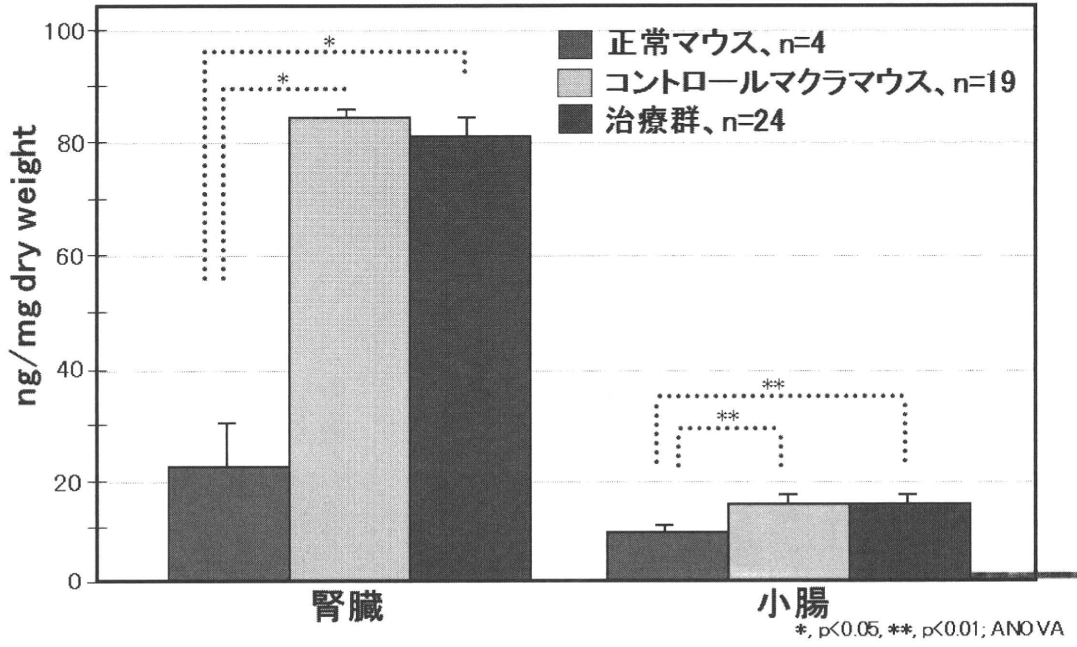
銅濃度(短期間)



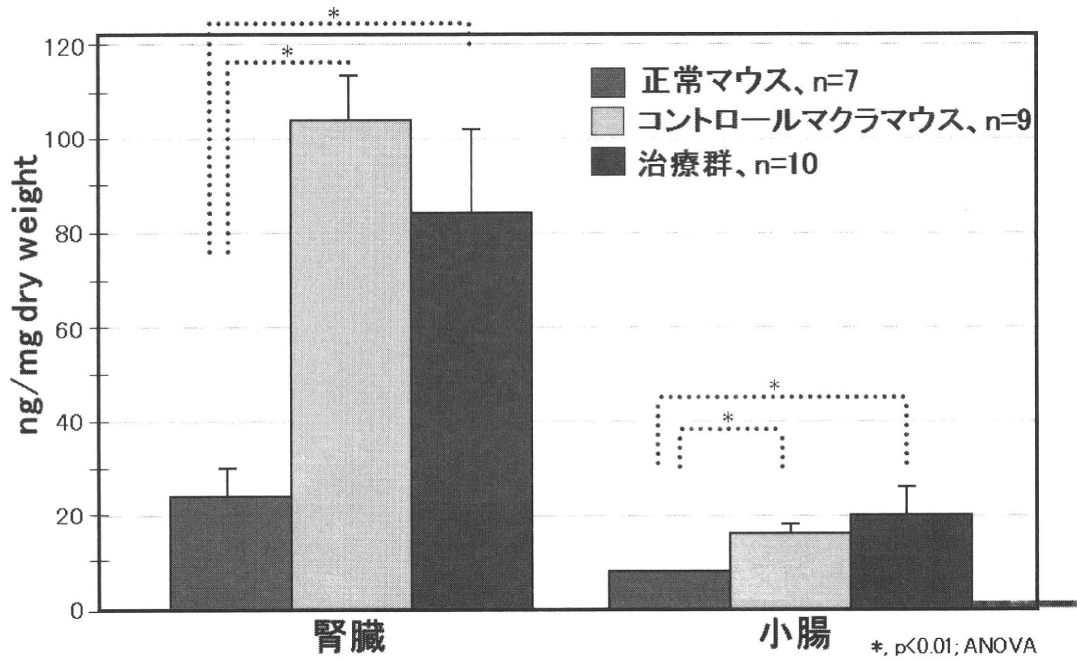
銅濃度(長期間)



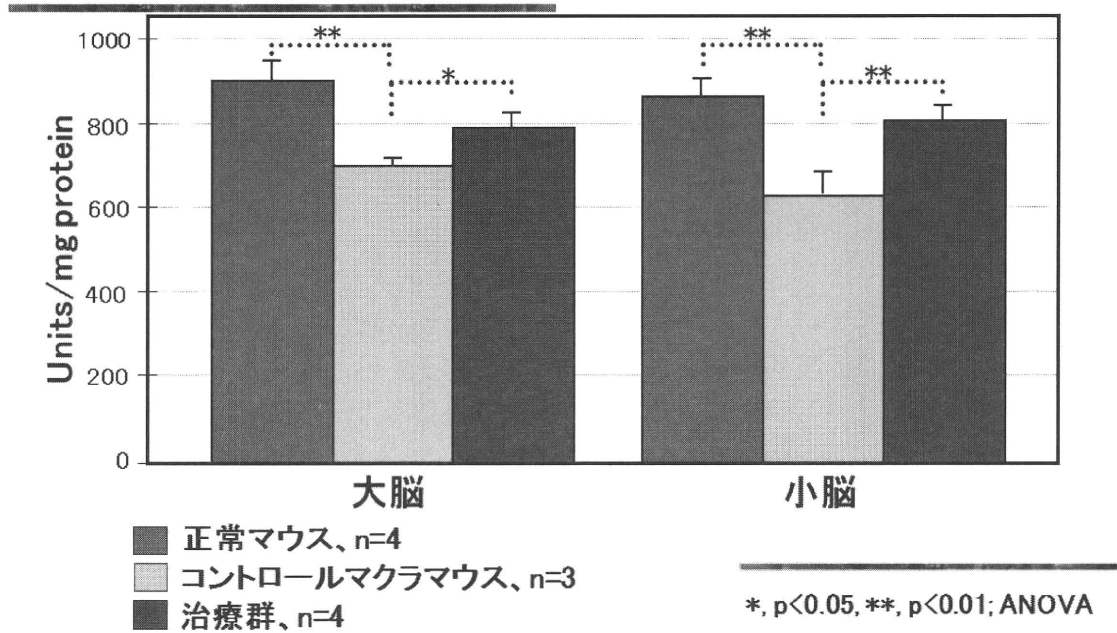
銅濃度(短期間)



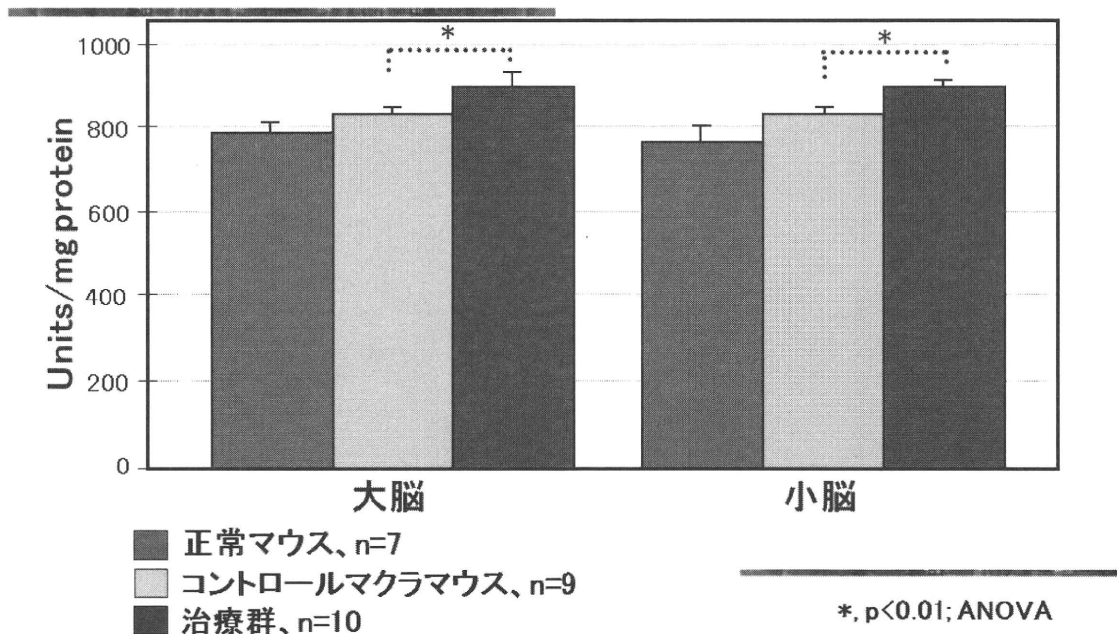
銅濃度(長期間)



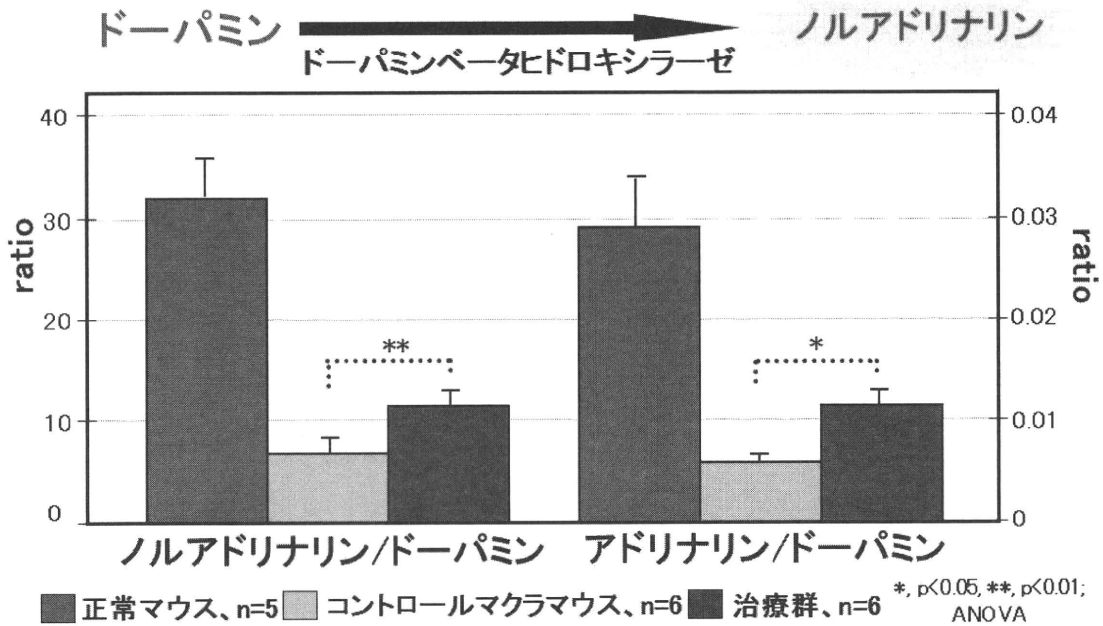
チトクロームCオキシダーゼ酵素活性 (短期間)



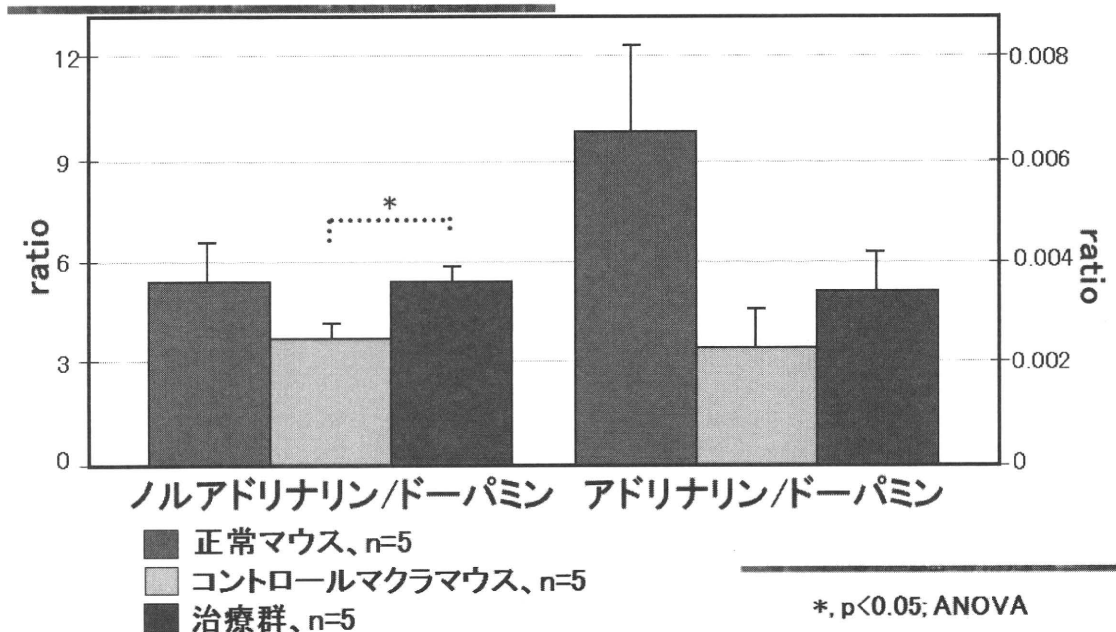
チトクロームCオキシダーゼ酵素活性 (長期間)



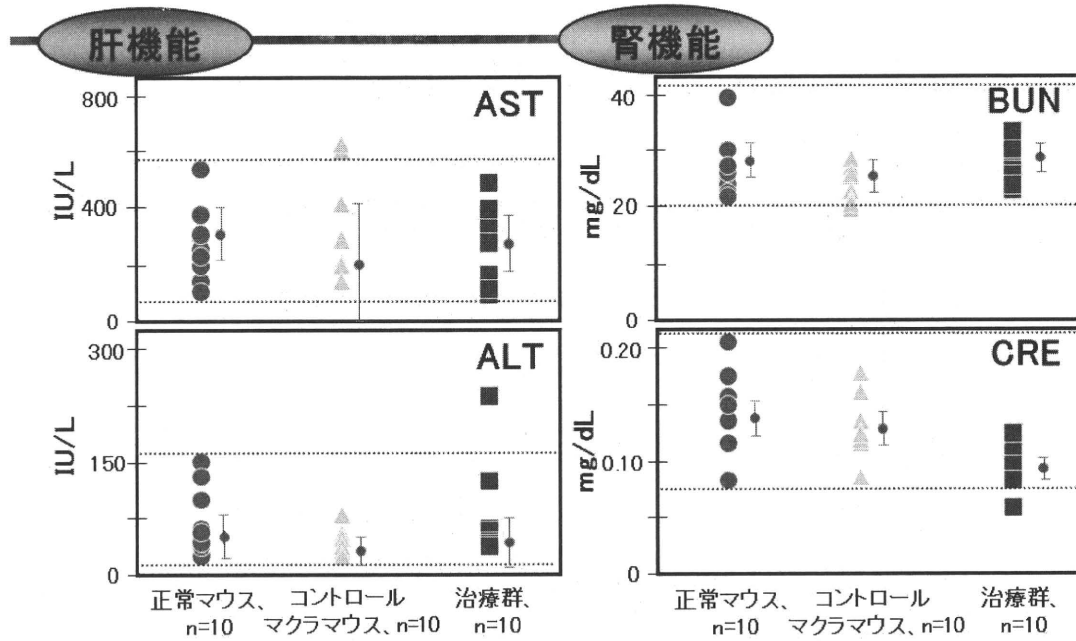
小脳内のノルアドリナリン/ドーパミン、 アドリナリン/ドーパミン（短期間）



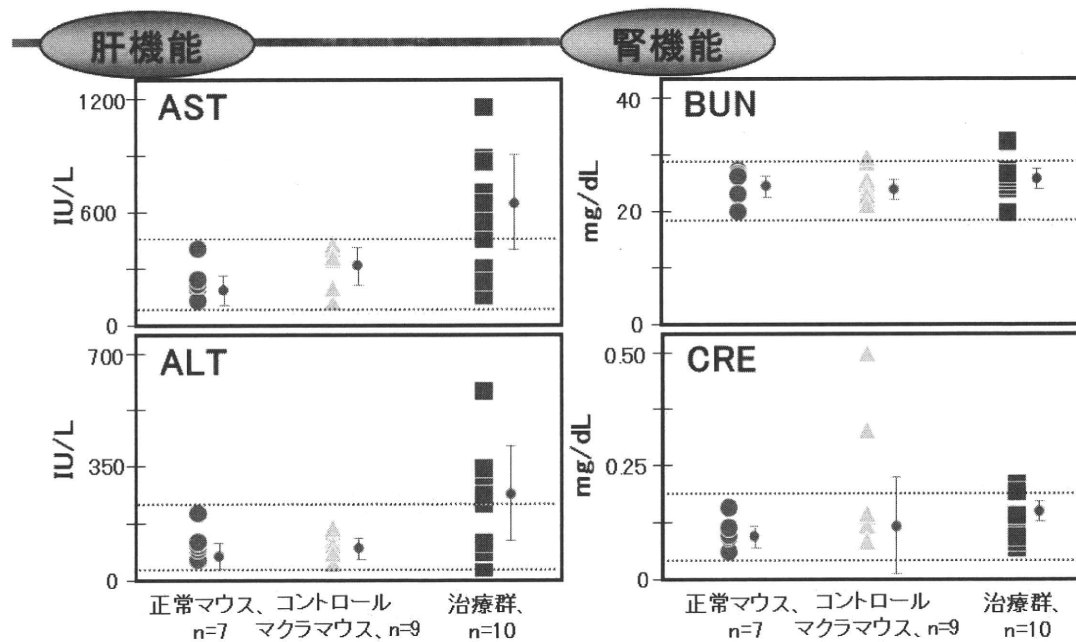
小脳内のノルアドリナリン/ドーパミン、 アドリナリン/ドーパミン（長期間）



肝機能・腎機能(短期間)



肝機能・腎機能(長期間)



まとめ

銅とジスルフィラム併用投与することによって

- 腸管での銅の吸収は改善した
- 銅が血液脳関門を通過し、銅醇に有効に働いている

長期間投与することによって、AST、ALTが上昇したことより肝障害をきたす危険がある

MICROPET IMAGINGによるヒスチジン銅、ジスルフィラム併用療法の効果検討

武田泰輔¹⁾ 野村志保¹⁾ 二宮英一¹⁾ 藤岡弘季¹⁾ 野崎聡²⁾
和田康弘²⁾ 渡辺恭良²⁾ 新宅治夫¹⁾

1) 大阪市立大学医学研究科発達小児科学

2) 理化学研究所分子イメージング科学研究センター

緒言

- 近年、microPET (小動物用PET) の画像解像度の向上、またトレーサー作成技術の向上やその種類の増加によって、microPETを用いた、分子イメージング研究が発展してきている
- microPETを利用することで、非侵襲的に生体内の分子動態を定量的にしかも繰り返し測定することができる。また可視化することでわかりやすく、また空間的、時間的な動態が分子レベルで解析できる
- 今回、Menkes病治療のジスルフィラム投与による効果をmicroPETを用いて検証した

MENKES病

- ✓ 銅輸送蛋白であるATP7Aの異常により生じる銅欠乏性の銅代謝代謝異常症。腸管内での銅吸収障害および諸臓器での銅転送障害を主因とする。
- ✓ 銅欠乏による症状と、銅要求酵素の活性低下による症状を呈する。毛髪異常(kinky hair)、痙攣、運動発達遅滞、低体温、尿路感染などの症状を呈する生命予後不良な疾患である。
- ✓ 治療はヒスチジン銅の皮下注が用いられてきたが、血液脳関門で銅がトラップされるため神経症状には効果が少ない。
- ✓ 銅の油性キレート剤である、ジスルフィラム(ノックビン)はヒスチジン銅と併用することで、銅の膜貫通を改善し、神経症状を改善することが期待される。

症例

病歴

4か月時に筋緊張低下を主訴に当科受診。一部の毛髪に脱色を認めた。MRAにて脳血管の蛇行、彎曲を認めた。血液検査にて血中の銅は19 µg/dl、セルロプラスミンは 10.3 mg/dlと低値を認めた。ATP7A遺伝子検査にて missense mutation (c.1370 C>T (R409X)) を認めたためMenkes病と確定診断した。1歳時からヒスチジン銅の皮下注が開始され、血中の銅濃度は正常範囲内に改善したが、毛髪色の改善以外には症状の改善を認めなかった。

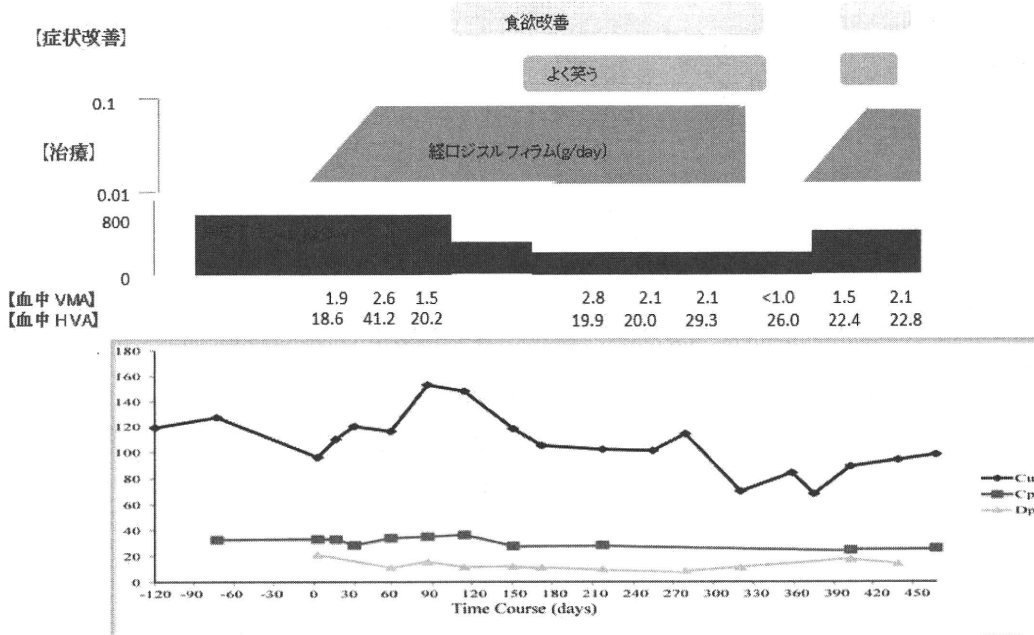
家族歴

母にはATP7A遺伝子の変異を認めず。



➡ 倫理委員会の承認を得て、患児にジスルフィラム投与を開始した。

患児の経過



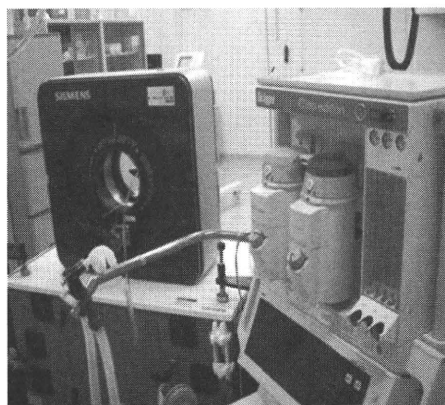
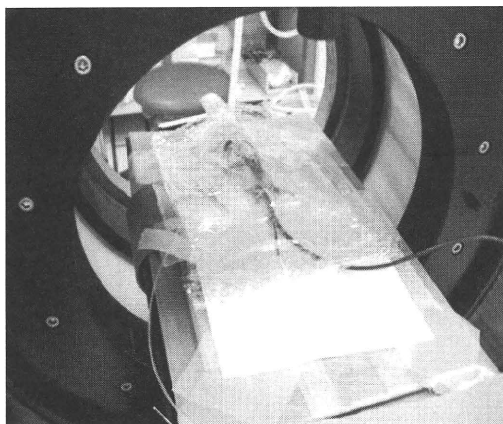
理化学研究所 (CMIS)



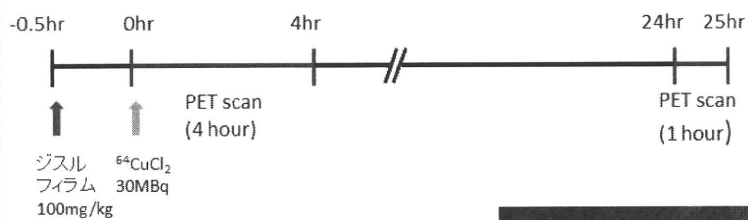
神戸ポートアイランド先端医療センター前にある施設 近くには神戸中央市民病院などもある。
分子イメージングの拠点。



MICROPET装置



【PROTOCOL OF MICROPET IMAGING】

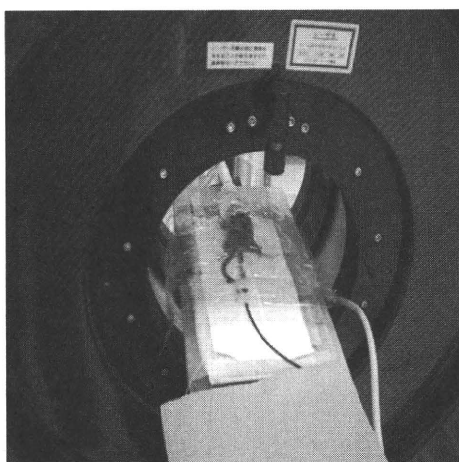


動物: C3H/He 4週齢 ♂

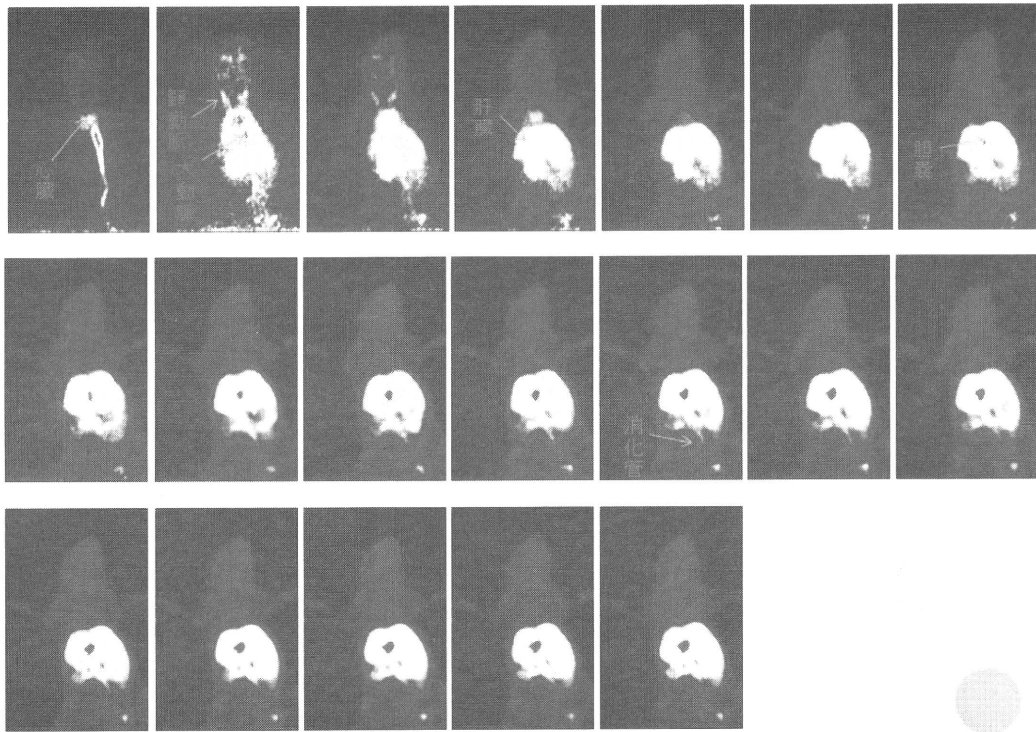
麻酔: 吸入麻酔(イソフルラン、笑気)

撮像: micrpPET
Focus220(Siemens,USA)

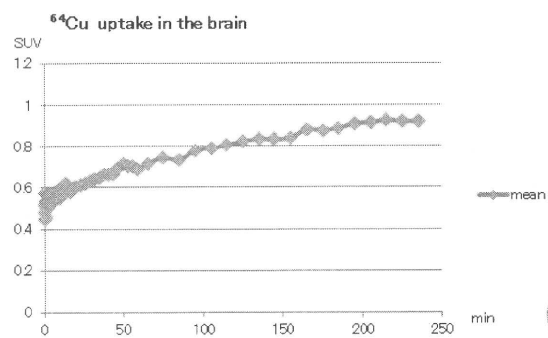
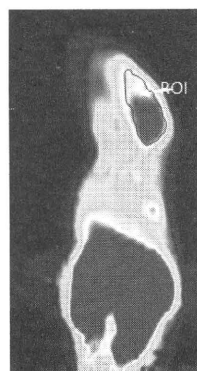
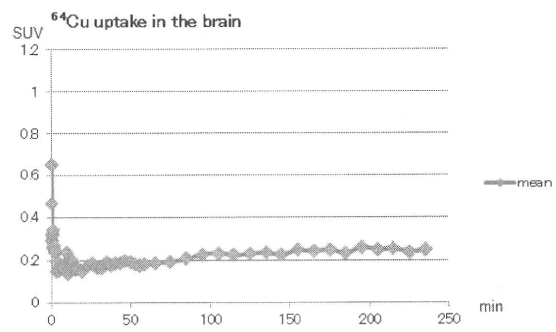
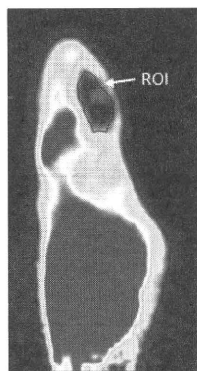
ジスルフィラム群はジスルフィラム 100mg/kgを腹腔内投与後30分後に $^{64}\text{CuCl}_2$ を尾静脈投与。
コントロール群には $^{64}\text{CuCl}_2$ のみを投与した。



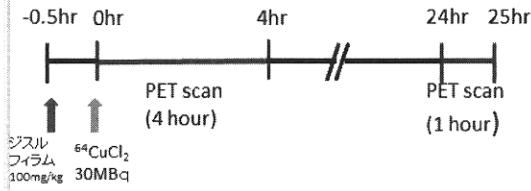
0 min →



← 240 min



【PROTOCOL OF MICROPET IMAGING】

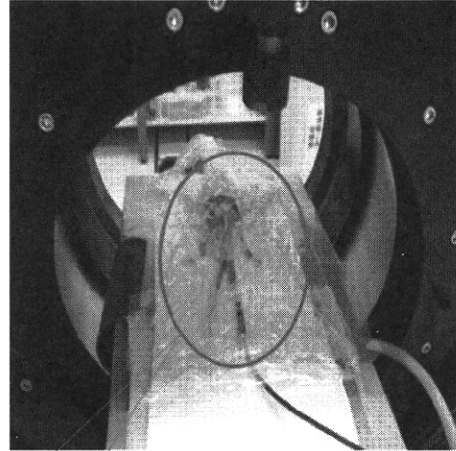


動物:マクラマウス 4週齢 ♂

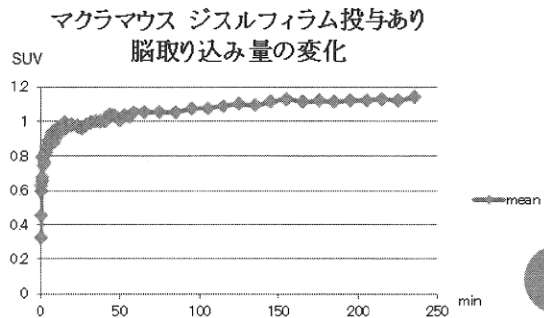
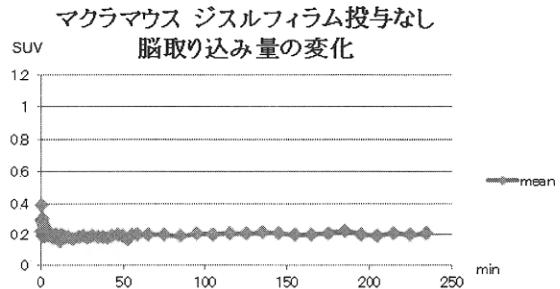
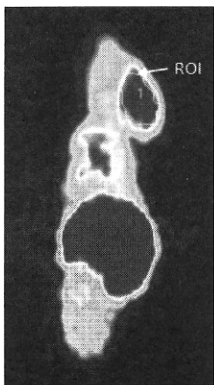
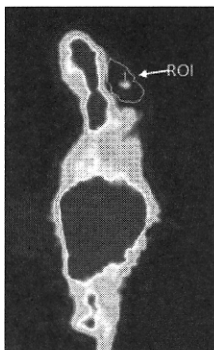
麻酔:吸入麻酔(イソフルラン、笑気)

撮像: micropPET
Focus220(Siemens,USA)

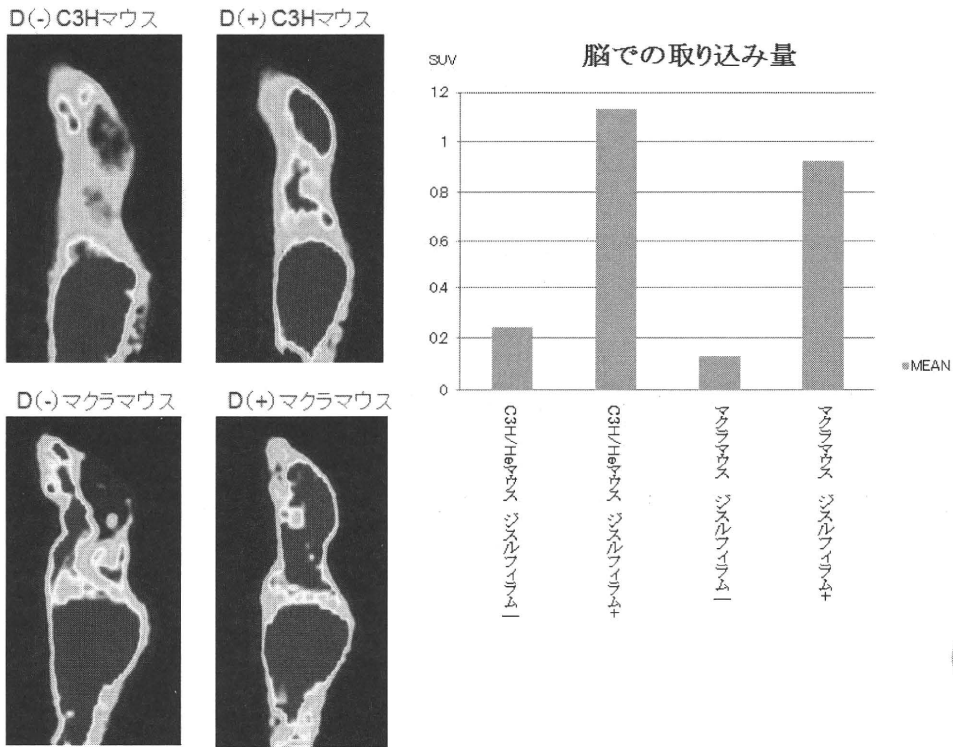
ジスルフィラム群はジスルフィラム 100mg/kgを腹腔内投与後30分後に $^{64}\text{CuCl}_2$ を尾静脈投与。コントロール群には $^{64}\text{CuCl}_2$ のみを投与した。



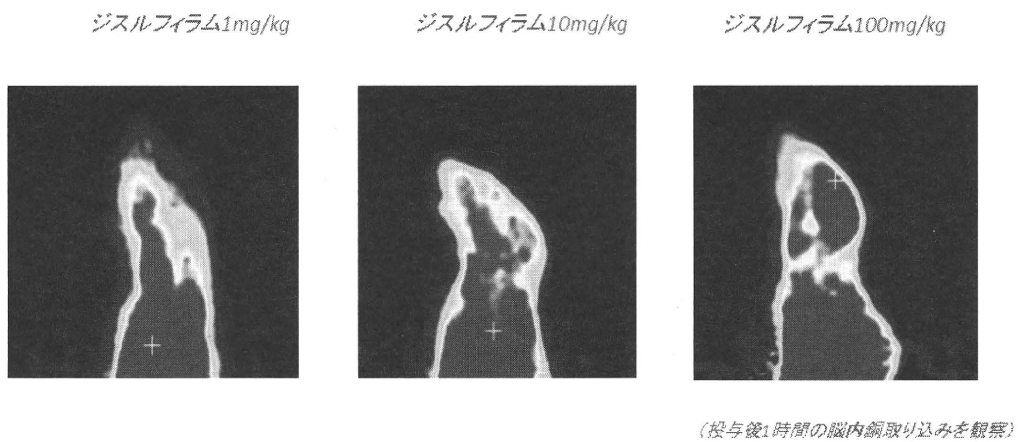
帝京大学児玉先生に提供していただいたマクラマウス(メンケス病モデルマウス)



投与後24時間の脳内銅取り込み



ジスルフィラム投与量の検討



一定のdose-dependencyを認める

結果

- ✓ 銅はほとんどが肝臓に取り込まれ、一部が胆道から消化管に排せつされた。
- ✓ ジスルフィラム投与群では脳実質への銅集積増加が認められた。
- ✓ 24時間後も脳内の銅取り込み量は増加していた。
- ✓ 脳の銅取り込み量は、ジスルフィラム投与量との相関を認めた。

結語

- ✓ 分子イメージング技術をもちいることで、銅の時間的、空間的な動態を確認し得た。
- ✓ ヒスチジン銅&ジスルフィラム併用療法はヒスチジン銅単独療法にくらべて有効な治療法であると考えられた。
- ✓ ジスルフィラムによる神経細胞への銅取り込み作用はATP7Aを介さない経路で起こっていると考えられる。