



Toho University

Treatment of patients with neurologic Wilson disease

Norikazu Shimizu, M.D.

Associate Professor,

Department of Pediatrics, Toho University School of
Medicine, Ohashi Medical Center

Tokyo, Japan



Dr. Samuel A. K. Wilson
1878~1937

He described about this disease at 1912 in Brain



Toho University

Wilson disease

- Autosomal recessive disorder based on inborn error of copper metabolism
- Incidence: one in 35,000 to 45,000 in Japan
- Chromosomal locus: 13q14.3
- Gene: *ATP7B*
- Pathophysiology: reductions in the biliary excretion of copper and copper incorporation into ceruloplasmin
- Onset age: 2 to 50 years old
- Clinical symptoms (triad): liver cirrhosis, extra pyramidal signs, Kayser-Fleischer rings
- Biochemical features: low serum ceruloplasmin levels, elevation of urinary copper excretion, elevation of hepatic copper contents
- Treatment: copper chelating agents, zinc, low copper diet, liver transplantation
- ₂ Model animal: Long Evans Sinnamon (LEC) rat



Phenotype of Wilson disease

- Hepatic type
- Neurologic type
- Hepato-neurologic type
- Presymptomatic type

Basic strategy of treatment for Wilson disease

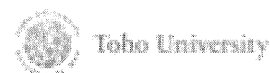
1. **Copper chelating agents**
D-penicillamine
Trientine
2. **Zinc**
3. **Low copper diet**
4. **Liver transplantation**
5. **Others**



4

D-penicillamine

- The first choice drug for Wilson disease patients in Japan
- The chelating effect of this drug is excellent
- Dose: 20-25mg/kg/day, it should be given at least 1 h before or 2 h after meals
- Various side effects appear in 20–25% of patients
- Some patients develop neurological issues or demonstrate a worsening of their symptoms in the early stages of treatment



5

Trientine

- **The second drug of choice for the treatment of Wilson disease**
- **It is usually used when D-penicillamine has to be withdrawn because of the occurrence of severe side effects**
- **Dose: 40-50mg/kg/day, it should be given at least 1 h before or 2 h after meals**
- **Neurological worsening is less frequent than D-penicillamine**
- **It has few toxic effects**

6



Zinc acetate

- **Zinc blocks intestinal copper absorption by inducing metallothionein synthesis in mucosal cells**
- **Zinc protects against copper toxicity in the liver by promoting non-toxic metallothionein-bound form**
- **Dose: 75-150mg/day (children : 50-75mg/day), it should be given 1 h before or 2 h after meals**
- **It has no severe side effects**
- **It is too slow acting to optimal copper metabolism**

7



Most important problem of treatment for Wilson disease patients with neurologic impairment

→ neurologic worsening by drugs

8



Frequency of neurologic worsening

- **D-penicillamine: 30-50%**
- **Trientine: 20-25%**
- **Zinc: No neurological worsening, but too slow acting**

9



Case 1

- Case: 13-year-old boy
- Clinical course: When he was 12 years old, dysarthria and gait disturbance occurred. He was diagnosed as Wilson disease by another hospital, and treatment by D-penicillamine was started. Two years later, he came our hospital.

10



Case 1

Symptoms

dysarthria

tremor

gait disturbance

psychiatric symptoms

↑
diagnosis

Treatment

D-penicillamine 600mg/day

Trientine 2,000mg/day

Age

13Y

15Y

21Y

11



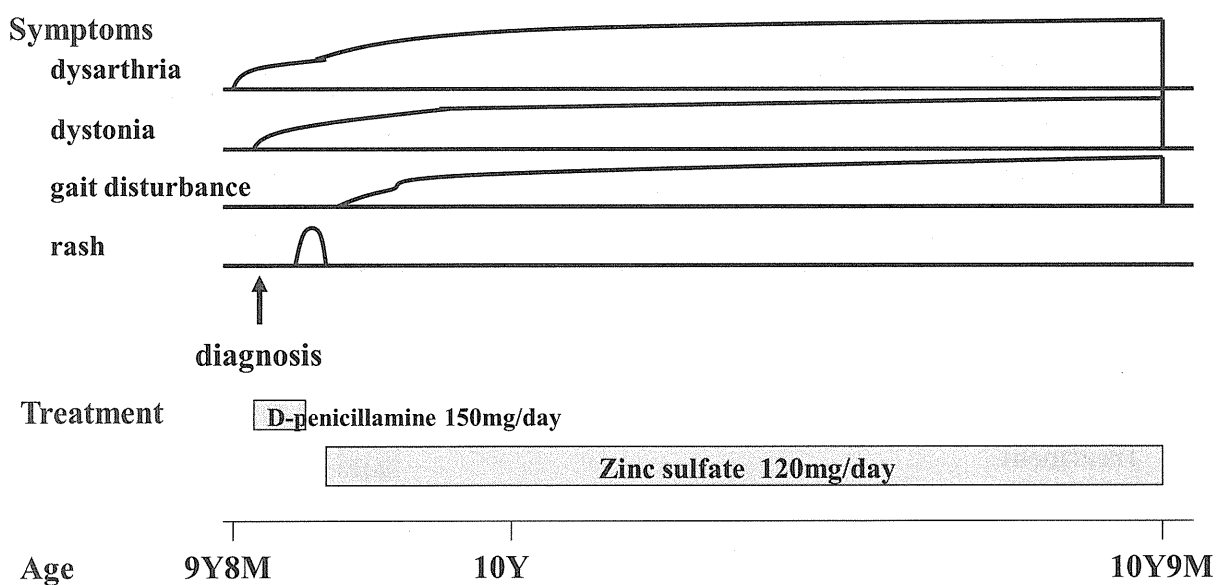
Case 2

- Case: 9-year-old girl
- Clinical course: When she showed dysarthria at 9 years old. She was diagnosed as Wilson disease, about 3 months later from onset. Although D-penicillamine was started soon, it had to be discontinued by rash. Then zinc treatment was launched.

12



Case 2



13



Case 3

Case: 13-year-old girl

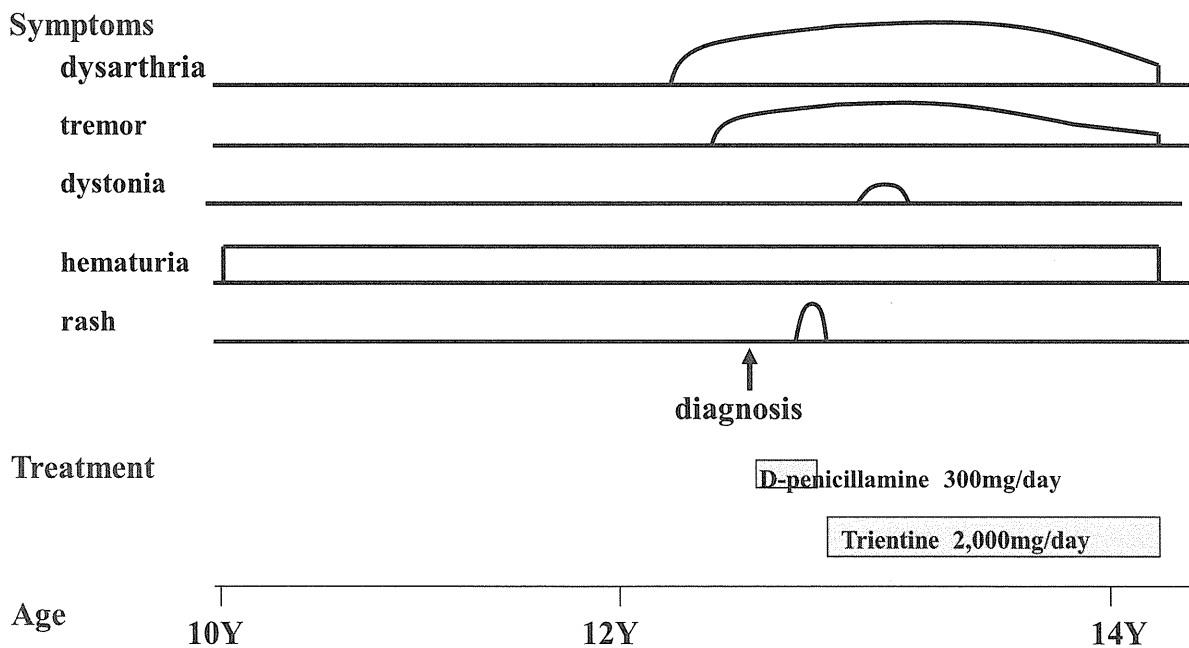
Family history: Her mother is Wilson disease

Clinical course: When she was 10 years old, micro hematuria was found. Dysarthria and finger tremor appeared at 12 years 9 months old. Then she was diagnosed as Wilson disease.

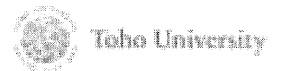
14



Case 3



15

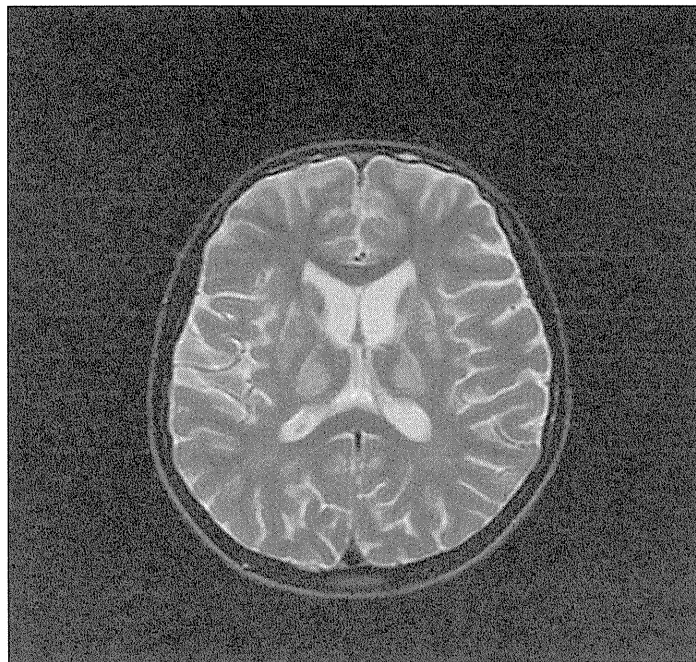


Case 4

- **Patient: 10-year-old girl**
- **Familial history: elder brother is Wilson disease**
- **Present illness:**

When she was 9 years old, hematuria was detected. A few months later, dysarthria, tremor and clumsiness were appeared and progressed. She was diagnosed as Wilson disease and treatment by D-penicillamine and trientine. However, her symptoms were progressed in spite of treatment. Then she was bed-ridden before admitted to our hospital.

16

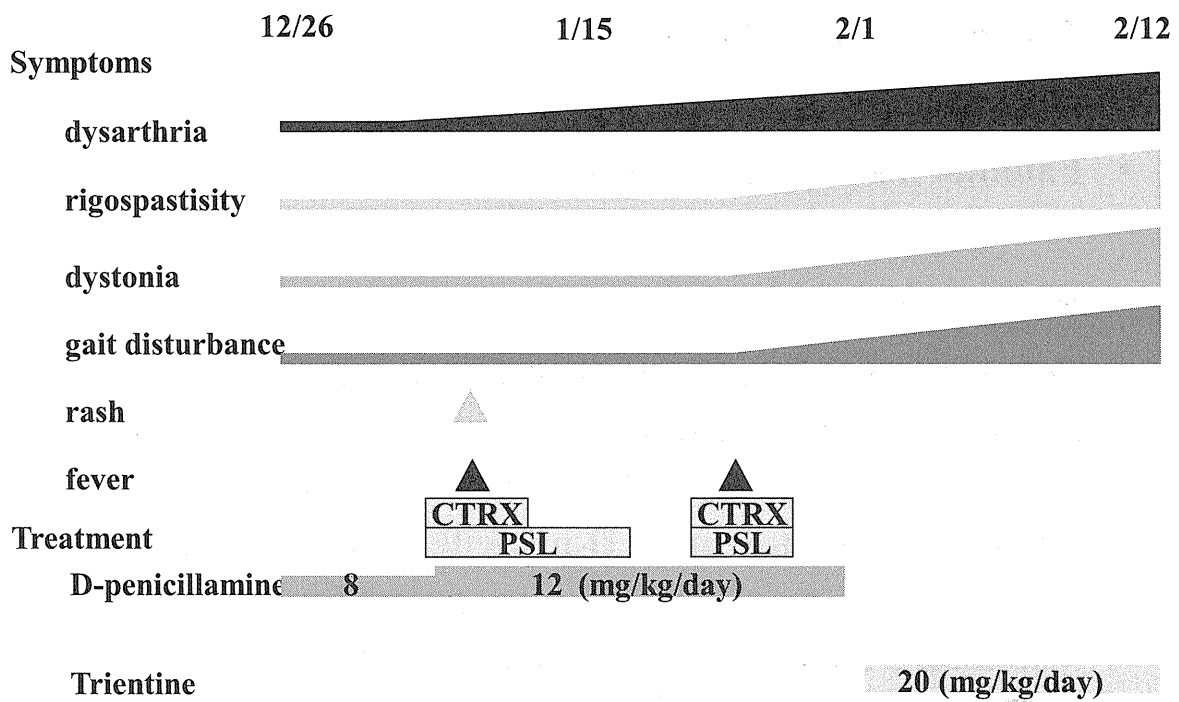


Brain MRI (T2WI)

17



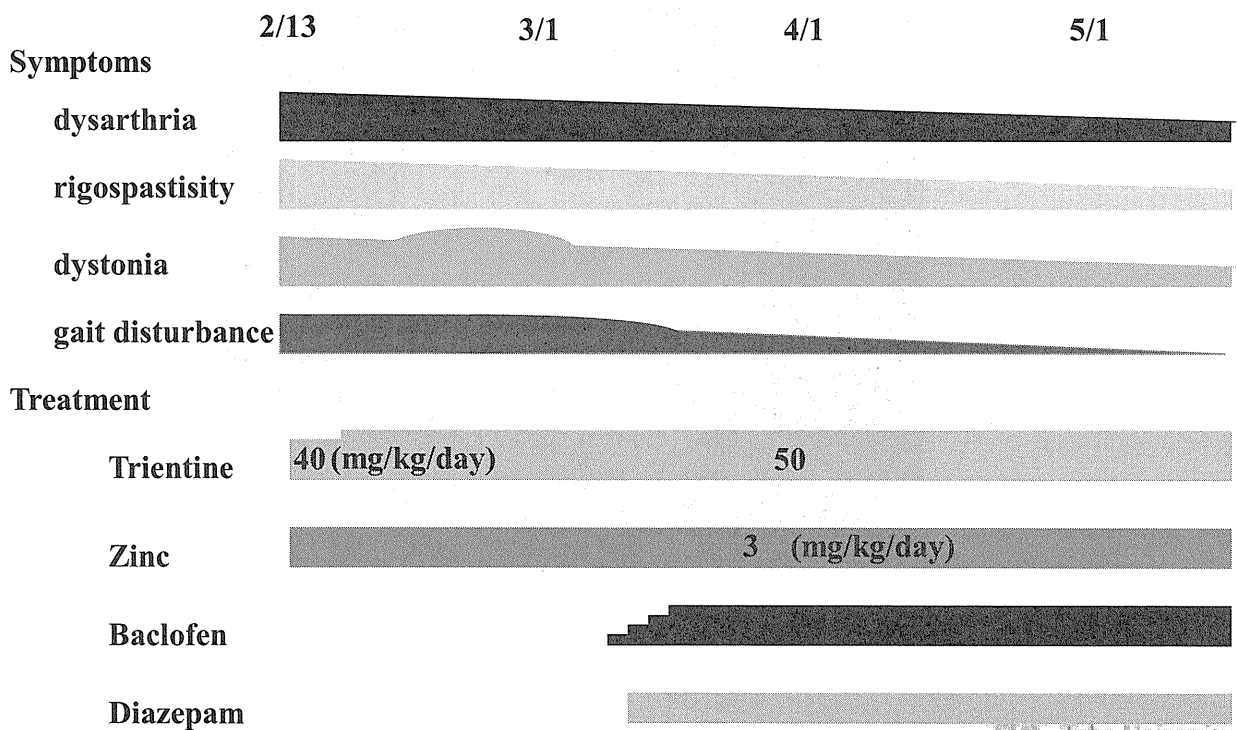
Clinical course before admission



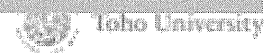
18



Hospital course



19



Discussion

- **Sometimes neurologic worsening by D-penicillamine is irreversible**
- **Sever neurologic impairment may not be recovered by zinc mono-therapy**
- **Neurologic worsening by trientine was relatively mild and reversible**
- **The combination therapy with trientine and zinc may be effective for sever neurologic impairment of Wilson disease**

20



Proposal

- **Mild cases**
→ **Trientine mono-therapy**
- **Moderate and severe cases**
→ **The combination therapy with trientine and zinc**

21



第 53 回日本先天代謝異常学会総会
(併催第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム)

平成 23 年 11 月 24 日(木)～26 日(土)

B-36 若手優秀演題賞

microPET imaging によるメンケス病モデルマウスをもちいたヒスチジン銅、 ジスルフィラム併用療法の効果検討

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

○武田 泰輔^{1,2}、藤岡 弘季¹、野村 志保¹、二宮 英一¹、野崎 聡²、和田 康弘²、渡辺 恭良²、
新宅 治夫¹

【背景・目的】メンケス病は銅輸送蛋白である ATP7A の異常により生じる銅欠乏性の神経変性疾患である。ヒスチジン銅の皮下注による治療が行われてきたが、blood-brain barrier により銅がトラップされるため、中枢神経症状へ効果は乏しかった。銅のキレート剤であるジスルフィラムは脳への銅輸送を改善することが期待されている。当科で経験した 1 臨床例においても併用により臨床症状の改善を認めている。今回われわれは、ヒスチジン銅、ジスルフィラム併用療法の効果を画像的に確認するため、マウスを用いて小動物用 PET 研究を行った。【方法】C3H/He マウスおよびメンケス病モデルマウスの 4 週齢、雄マウスを使用した。64Cu のみを尾静脈から静注し、その後 microPET 装置にて撮像したマウスをコントロール群とした。一方の治療群にはジスルフィラムを 100mg/kg を前処置として腹腔内投与し、その後 64Cu を同様に静注して撮像を行った。【結果】コントロール群ではほとんどの 64Cu が肝臓に集積し、胆道系から消化管へ一部排泄が認められた。治療群では脳実質内に著明な 64Cu の集積が確認できた。これは C3H マウスでもマクラマウスでも同様の結果であった。【考察】ジスルフィラムによる中枢神経銅集積作用は ATP7A の機能とは無関係に生じており、メンケスにおける併用療法の効果を裏付ける結果であった。Menkes 病は生命予後不良な疾患であるが、近年、早期発見、早期治療により予後の改善が得られるという報告がある。今後さらなる検討が必要であるが、その治療としてヒスチジン銅、ジスルフィラム併用療法はヒスチジン銅単独療法よりも有効な治療法と考えられた。

B-37

Menkes 病患者皮膚線維芽細胞の Lysyl Oxidase 活性に対する Diethyldithiocarbamate(DEDTC) の効果の検討

帝京大学医学部 小児科

○廣木 伴子、藤澤 千恵、宮澤 未緒、小川 英伸、児玉 浩子

【目的】 Menkes 病は銅輸送 ATPase (ATP7A) 遺伝子異常による先天性銅代謝異常疾患である。ATP7A は細胞内で銅のサイトソルからゴルジ体への輸送を司っている。ゴルジ体の銅は分泌銅酵素として、細胞外に分泌される。ATP7A が欠損している Menkes 病細胞では、銅の細胞外への分泌および Lysyl Oxidase (LOX) などの銅酵素活性の低下が生じ、銅欠乏による重篤な神経症状・結合織異常を呈する。Menkes 病患者では非経口銅投与を行っても、ゴルジ体への銅輸送は改善しないため、これらの症状に対して全く効果がない。従って、Menkes 病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。我々は以前に Menkes 病モデルマウスで、銅と脂溶性キレート剤 Diethyldithiocarbamate (DEDTC) の併用投与が血液脳関門での銅の輸送に有効であることを示した。今回、Menkes 病患者皮膚線維芽細胞を用いて DEDTC の有効性について検討した。【方法】 帝京大学で採取、培養した後保存しているヒト皮膚線維芽細胞を使用した。Menkes 病患者 4 例および正常ヒト皮膚線維芽細胞（対照）を通常培地で培養したのち、DEDTC 0.2 μ M 添加、又は無添加で 48 時間培養した。その後、培養上清を回収し上清中の LOX 活性を測定した。また、細胞内銅濃度を測定した。【結果】 DEDTC 無添加の場合、Menkes 病患者線維芽細胞の培養上清中の LOX 活性は対照と比べて著明に低かった。しかし、DEDTC の添加により LOX 活性は上昇し、対照と差は認められなくなった。一方、対照線維芽細胞においては DEDTC 添加による LOX 活性の上昇は認められなかった。細胞内銅濃度の結果は従来報告と同様に Menkes 病患者線維芽細胞では対照と比べて有意に高値を示した。DEDTC 添加培地の Menkes 病細胞銅濃度は DEDTC 無添加の Menke 病細胞銅濃度に比べて減少する傾向が認められたが有意な差ではなかった。【考察】 培地に DEDTC を添加して Menkes 病患者線維芽細胞を培養した結果、LOX 活性の改善が認められた。すなわち細胞のサイトソルに蓄積している銅が DEDTC と結合して、ゴルジ体内に輸送され、分泌銅酵素である LOX と結合し、LOX 活性を改善させたと考えられた。

B-38

ヒスチジン銅治療前後に古典型 Menkes 病の患者における血清乳酸とピルビン酸値の変化

¹ (独) 国立成育医療研究センター研究所 成育政策科学研究部、² 帝京平成大学 健康栄養学科

○ 顧 艶紅¹、児玉 浩子²、加藤 忠明¹

【はじめに】 Menkes 病 (OMIM # 309400) は X 連鎖劣性遺伝による先天性銅代謝異常症で、様々な銅含有酵素の活性が低下しており、特徴的な毛髪、進行性中枢神経障害や結合織異常などを呈する。対症療法以外にヒスチジン銅の非経口投与が現行の治療法であり、銅含有酵素の種類によって、response が異なる。【目的】 ヒスチジン銅治療前後に Menkes 病の患者における血清乳酸とピルビン酸値の変化を検討する。【方法】 研究対象は古典型 Menkes 病であると臨床的に診断されてから、遺伝子検査、培養皮膚繊維芽細胞あるいは経口銅負荷試験で確診された 29 人の患者であった。患者の検査データは匿名でカルテあるいはサマリーから後ろ向きのに収集した。統計分析は PASW Statistics 17.0 を用いて、Wilcoxon 検定を行った。【結果】 診断時あるいは治療直前の血清乳酸の平均値±標準偏差値は 34.6 ± 15.5 mg/dl、最小値は 7.2、最大値は 65.0 mg/dl (n=28) であった。治療後の乳酸平均値±標準偏差値は 16.8 ± 9.0 mg/dl、最小値は 8.4、最大値は 41.2 mg/dl (n=11) であった。9 ペアのデータで Wilcoxon 検定を行ったところ、治療後に血清乳酸値が有意に下がった (P=0.008)。診断時あるいは治療直前の血清ピルビン酸の平均値±標準偏差は 1.4 ± 0.5 mg/dl、最小値は 0.5、最大値は 2.8 mg/dl (n=26) であった。治療後のピルビン酸の平均値±標準偏差値は 0.7 ± 0.2 mg/dl、最小値は 0.5、最大値は 0.9 mg/dl (n=10) であった。10 ペアのデータで Wilcoxon 検定を行ったところ、治療後に血清ピルビン酸値が有意に下がった (P=0.005)。2 人の患者では血清乳酸とピルビン酸の値が治療後に下がった後に、ふたたび上昇した。また、1 人の患者では治療前後に血清乳酸値の変化が見られなかったため、本分析から取り除いた。【まとめ】 ヒスチジン銅の治療後に血清乳酸とピルビン酸の値が有意に下がった。これはミトコンドリアにある銅含有酵素である複合体 IV—シトクロム C オキシダーゼの活性がヒスチジン銅の投与によって回復されたからと考えられる。しかし、けいれんを治療するためのバルプロン酸は脂肪酸代謝を障害し、血清乳酸とピルビン酸の値を上昇させる副作用があるために、治療後に血清乳酸とピルビン酸の値の変化が見られない症例や下がった後に再び上昇する症例もみられる。髄液中の乳酸値は解析中である。

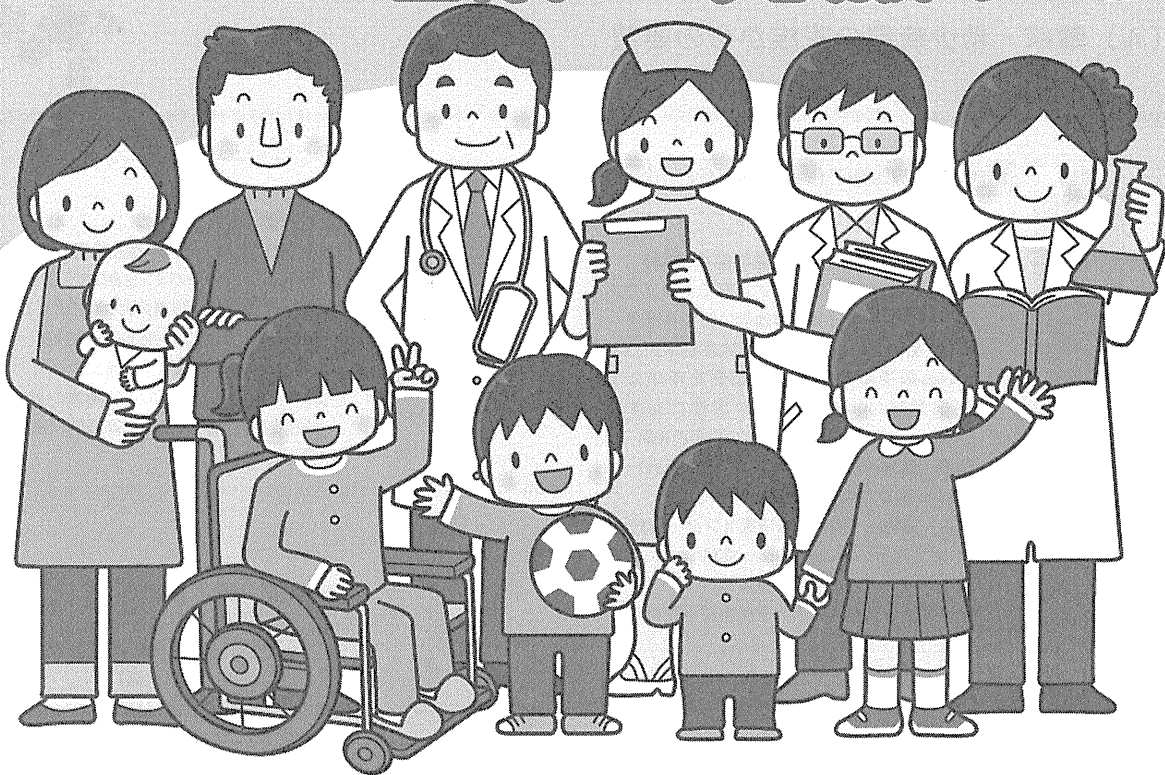
平成23年度「厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業」

テーマ 3班合同公開シンポジウム

「難病・希少疾患を 理解し克服する」

2月 平成24年

19日(日)
午前11時～午後4時



【会場】 帝京大学講堂

本部棟4階・第1会議室

住所: 東京都板橋区加賀2丁目11-1

電話: 03-3964-1211 (代表)

内線651494 (小児科遺伝代謝研究室)

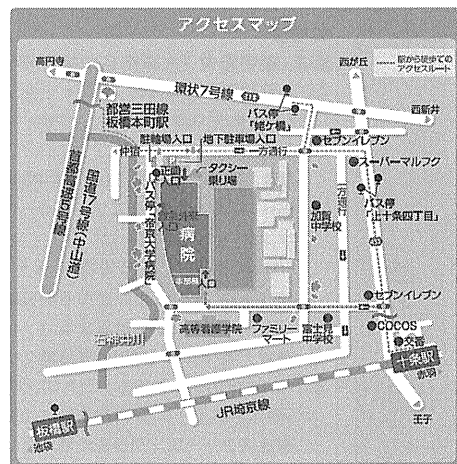
【定員】 100名

事前申込が必要です

下記宛てにメールでお申し込みください。

アドレス: yuu1220@med.teikyo-u.ac.jp

【参加費】 無料



地図 (<http://www.teikyo-u.ac.jp/hospital/guidance/map/index.html>)

【主催】

- ・Menkes病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確率、治療法開発 (研究代表 帝京大学 客員教授 児玉浩子)
- ・小児神経伝達物質病の診断基準の作成と新しい治療法の開発に関する研究 (研究代表 大阪市立大学 教授 新宅治夫)
- ・エカルディーグティエール症候群等のビオプテリン代謝異常を伴う疾患の診断方法確率および治療法開発のための横断的研究 (研究代表 東京工業大学 教授 一瀬 宏)

3班合同公開シンポジウム「難病・希少疾患を理解し克服する」

【テーマ】難病・希少疾患の理解と克服

- (1) Menkes 病・occipital horn 症候群の調査、診断と治療
- (2) 小児神経伝達物質病の診断と治療
- (3) 遺伝性ジストニアなどピオプテリン代謝異常を伴う疾患の診断と治療
- (4) 難病・希少疾患の家族からの要望



11:00	第1部	開場 開会の辞：児玉浩子(帝京大学医学部小児科) 児玉班 座長：児玉浩子(帝京大学医学部小児科) ① micro PET を用いたメンケス病モデルマウスにおける銅キレート剤の効果に関する研究 演者：野村志保 (大阪市立大学医学部小児科) ② Menkes 病患者皮膚線維芽細胞を用いた分泌銅酵素 Lysyl Oxidase (LOX) 活性に対する Diethyldithiocarbamate (DEDTC) の効果の検討 演者：廣木伴子 (帝京大学医学部小児科) ③ Menkes 病患者の早期発見に関する研究 演者：顧艶紅 (成育医療研究センター研究所) ④ メンケス病・Occipital Horn 症候群におけるジスルフィラムの治療効果について 演者：小川英伸 (帝京大学医学部小児科)	14:05	第3部	一瀬班 座長：一瀬 宏 (東京工業大学大学院生命理工学研究所) ① 線条体におけるドーパミン生成調節機構について 演者：徳岡宏文 (東京工業大学大学院生命理工学研究所) ② 本邦における Aicardi-Goutières 症候群・familial chilblain lupus の遺伝子異常について 演者：阿部純也、西小森隆太、井澤和司、河合朋樹、八角高裕、平家俊男 (京都大学小児科)
11:05		12:05	昼食		14:35
13:05	第2部	新宅班 座長：新宅治夫(大阪市立大学医学部小児科) ① 小児神経伝達物質病の現状と今後の展望 「疾患概念の周知と新しい診断・治療法の開発を目指して」 演者：新宅治夫 (大阪市立大学医学部小児科) ② ドーパ反応性ジストニア (DRD) とパーキンソン病 (PD) の違い 「DRD に関する黒質線条体ドーパミンニューロンは PD にかかわる黒質線条体ドーパミンニューロンとは異なる。」 演者：瀬川昌也 (瀬川小児神経クリニック) ③ AADC 欠損症におけるメラトニン代謝 「唾液中メラトニン濃度測定による AADC 欠損症スクリーニング検査の可能性について」 演者：井手秀平 (東京都立東部療育センター小児科) ④ SSADH 欠損症の臨床像と病態生理 「SSADH 欠損症の病態と診断について－自験2症例を中心に－」 演者：梶田光春 (豊田厚生病院小児科)	14:50	第4部	患者家族会の要望 座長：山田章子 (小児神経伝達物質病家族会 代表) メンケス病：田中智次 (大阪) AADC 欠損症：山田章子 (東京) SSADH 欠損症：久保田正代 (千葉)
14:05		15:20	第5部		総合討論 司会 新宅治夫 (大阪市立大学医学部小児科)
14:05			15:50	閉会	閉会の辞：一瀬 宏 (東京工業大学大学院生命理工学研究所)
14:05			16:00		

memo

Menkes病患者の早期発見に関する研究

顧 艶紅,^{1,2} 加藤 忠明,¹ 児玉 浩子²

1国立成育医療研究センター研究所 成育政策科学研究部

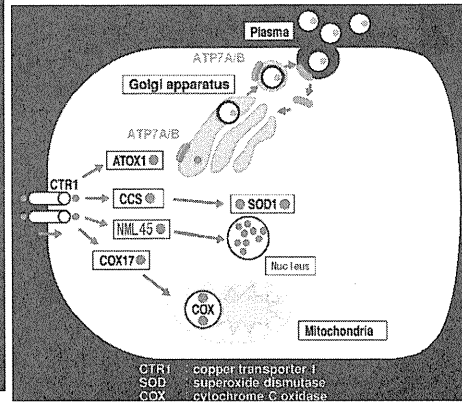
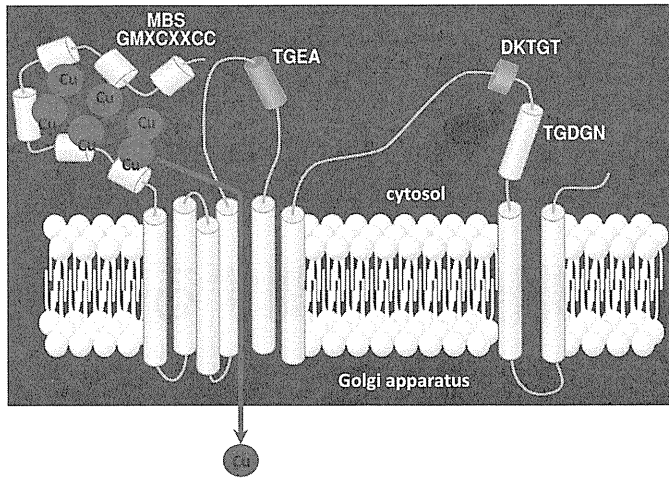
2帝京大学医学部

Menkes病

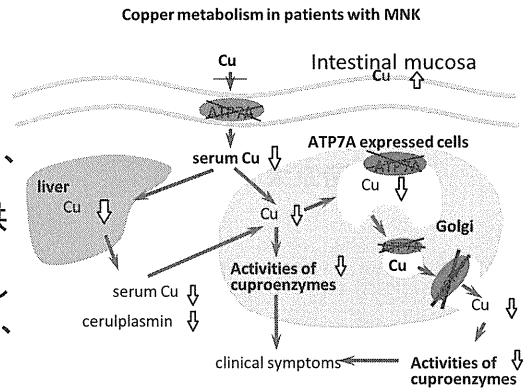
Menkes病 (OMIM#309400, MNK) は伴性劣性遺伝の形式をとる銅代謝異常症である。

われわれの先行研究では日本での発症率は出生100万人に2.8人で、男児出生100万人に4.9人である。

Gu et al. J Inherit Dis 2005

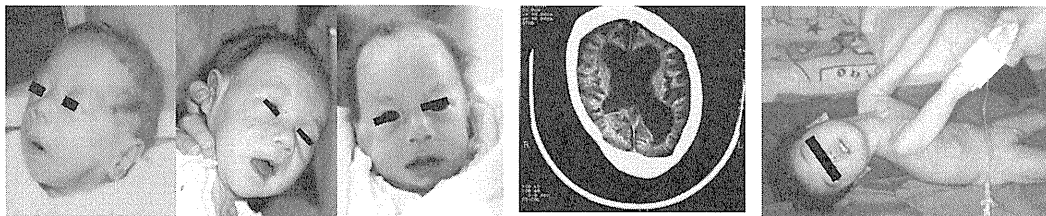


Menkes病の責任遺伝子はATP7Aで、この遺伝子によってATP7Aタンパク質が翻訳される。
 このタンパク質は肝臓以外の組織で発現し、細胞内では銅イオンをトランスゴルジネットワークに入れて、各種の銅含有酵素に提供する。
 ATP7A遺伝子の変異によって、栄養素としての銅イオンが小腸から吸収できないので、銅含有酵素の活性がないか低下する。



Menkes病

- 銅含有酵素の活性の低下によって、毛髪異常、結合織の異常や神経変性などの臨床症状を呈する。
- 適切な治療をしないと、3歳までに死亡する例が多い。



Menkes病

- 生後直後の早期ヒスチジン銅の補充は本症現行の治療法である。
- これまでに、銅の補充療法によって30歳以上生存した例が報告された。
- 従って、本症の早期発見と早期診断はとても重要である。

研究の目的

本研究の目的はMenkes病患者を早期発見するためのエビデンスを見出すことである。

方法 1

観察の対象者は1986年から2010年までに生まれた64人の古典型のメンケス病患者である。これらの患者は臨床症状や臨床検査で診断されてから、さらに培養皮膚繊維芽細胞内の銅濃度あるいは遺伝子検査による確定診断を受けた。

Gu et al. Am J Med Genet. 2001;99:217-22.

Gu et al. Brain Dev. 2002;24:715-8.

Gu et al. Brain Dev. 2007;29:105-8.

臨床データは匿名でカルテやカルテのサマリーから収集した。

方法 2

- PAWSという統計ソフトを使って、統計解析を行いました。

PASW : PASW Statistics 17.0; SPSS Inc.,
an IBM Company, Chicago, IL, USA。

Mann-Whitney U test for age

the chi-square test for percentages

- また、本研究は帝京大学医学部倫理委員会の審査を受けた。