

図1 脾臓摘出歴のない患者のヘモグロビン値の推移 (n=39)
 平均値±標準偏差, () 内は症例数

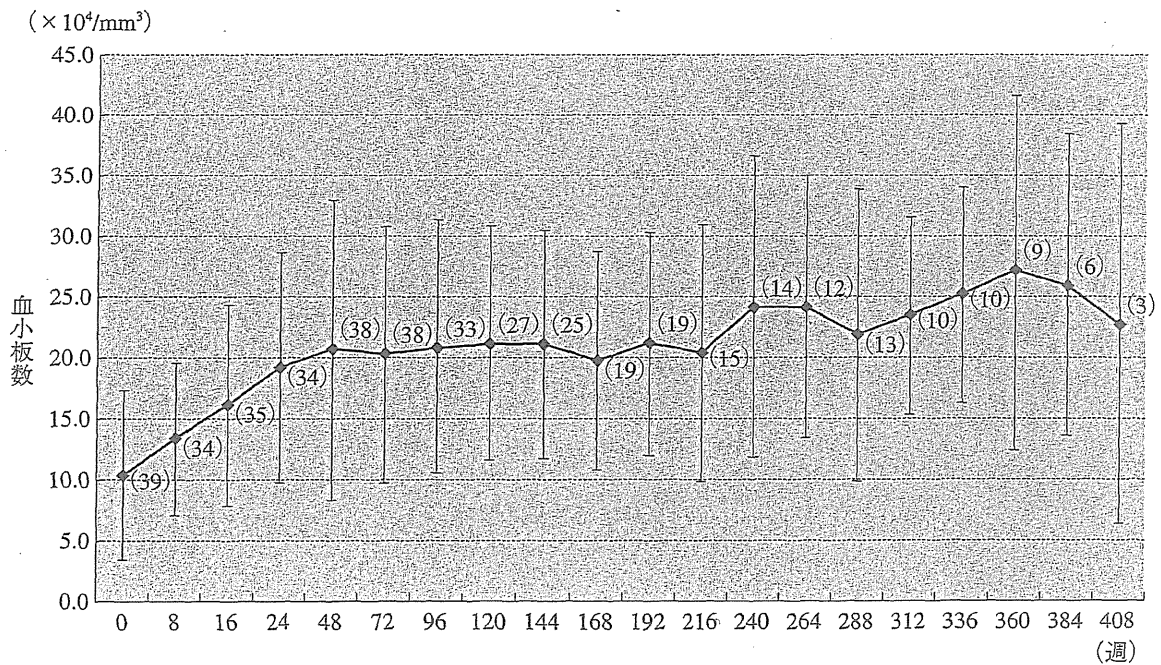


図2 脾臓摘出歴のない患者の血小板数の推移 (n=39)
 平均値±標準偏差, () 内は症例数

5) 酸性ホスファターゼ値 (ACP) (図5)

「日本人小児の臨床検査基準値」⁶⁾をもとに、18歳以上を成人 (基準値: 7.3~13.6 U/L), 18歳未満を小児 (基準値: 2.3~29.5 U/L) として検討し

た。成人では、ベースラインで平均 40.3±18.1 U/L (n=12) であったが、治療開始後低下し、24週後には平均 15.1±3.9 U/L (n=4), 96週後で平均 13.7±6.0 U/L (n=7) となり、その後はほぼ正

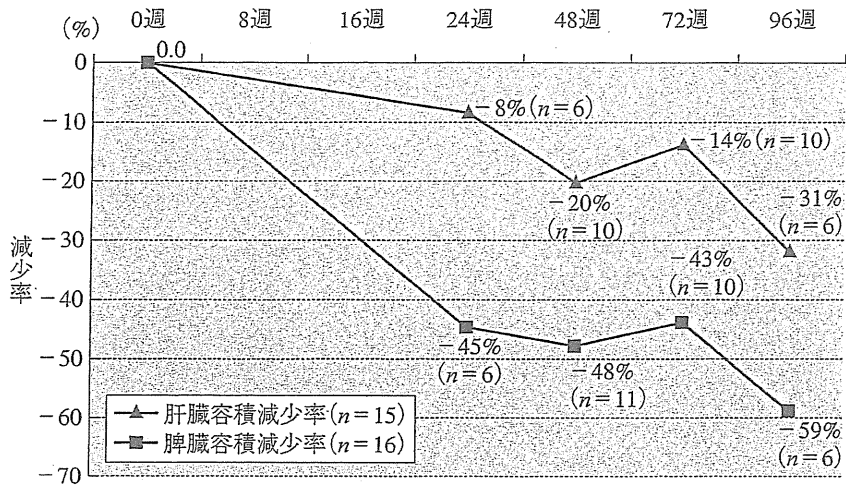


図3 肝・脾臓容積の平均減少率

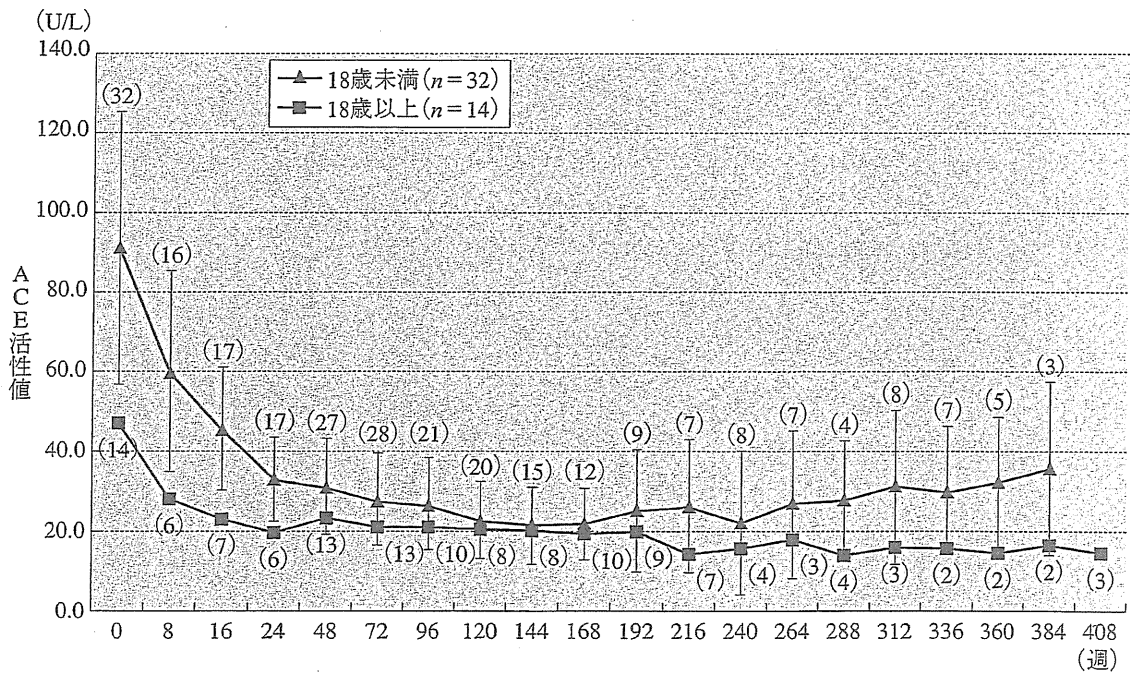


図4 ACE活性値の推移
平均値±標準偏差, () 内は症例数

常範囲内で推移し、288週後は 11.3 ± 1.0 U/L ($n=2$) であった。

一方、小児ではベースラインで平均 138.0 ± 63.0 U/L ($n=31$) と成人に比較して高値であったが、その後低下し、72週後には平均 29.2 ± 10.4 U/L ($n=29$) と正常化し、以降も正常範囲内で推移し、384週後は平均 31.5 ± 28.8 U/L ($n=2$) で

あった。

3. 安全性

イミグルセラゼが投与された全例 (110例) を対象に、副作用およびIgG抗体産生率と過敏症発現について検討した。

1) 副作用の発現状況

副作用は110例中30例に見られ、その発現率は

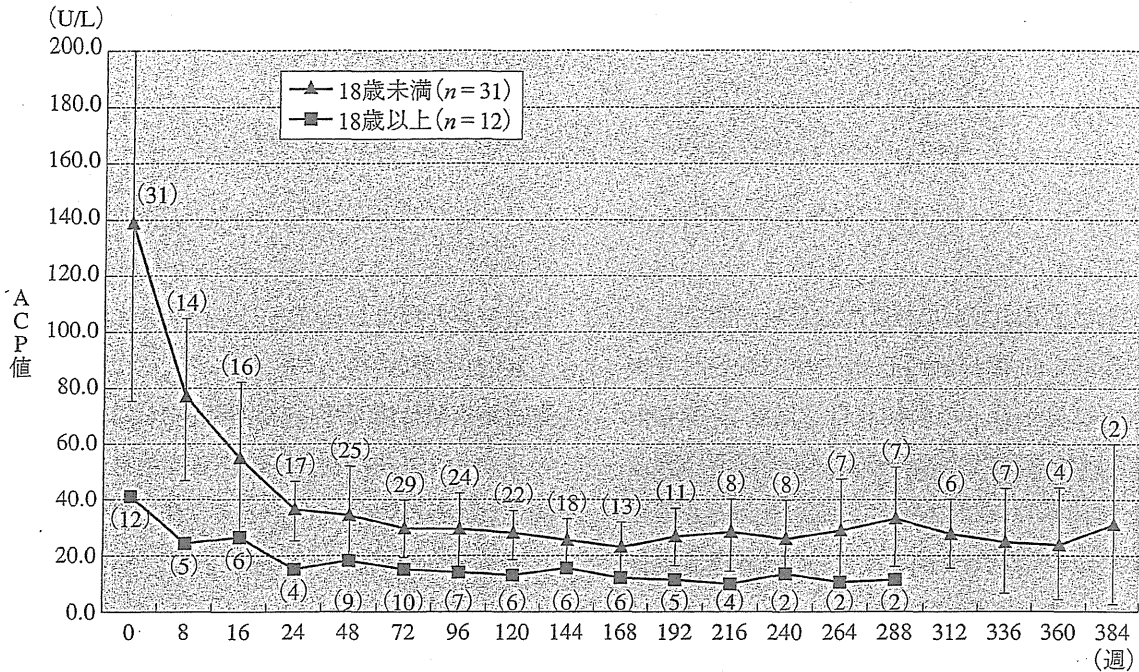


図5 ACP値の推移
 平均値±標準偏差、()内は症例数

27.3%であった。おもな副作用は、じんま疹5例(4.6%)、発熱4例(3.6%)、嘔吐およびACE値増加各3例(2.7%)、ALT (GPT) 上昇、頭痛および湿疹各2例(1.8%)、であった。重篤な副作用として甲状腺機能低下症が1例に見られた。じんま疹を呈した5例のうち1例では点滴速度を遅くする対応、もう1例では投与を一時中止する処置がなされた。他の3例の対処方法は不明であった。発熱を呈した4例のうち2例では点滴速度を遅くする対応、もう1例では副腎皮質ホルモンの投与がなされた。他の1例については対処方法が不明であった。なお、これらじんま疹または発熱を呈したいずれの症例においても、その後は自然に回復または軽快した。

甲状腺機能低下症の1例は1歳女児でGaucher病Ⅱ型の患者であった。本剤投与開始約1年2か月後に甲状腺機能低下症の症状(徐脈、低体温)が認められ、甲状腺刺激ホルモン(thyroid stimulating hormone, 以下TSHと略す): 733.1 μ IU/mL、遊離トリヨードサイロニン(free triiodothyronine,

以下fT₃と略す): 0.6 pg/mL、遊離サイロキシン(free thyroxine, 以下fT₄と略す): 0.2 ng/dLであった。イミグルセラゼの投与は継続され、ヨードおよびレボチロキシンナトリウムによる治療により約2か月後に検査値は、TSH: 21.4 μ IU/mL、fT₃: 1.1 pg/mL、fT₄: 1.8 ng/dLと改善傾向を示し、また徐脈、低体温の甲状腺機能低下症状は軽快した。担当医師の見解では、イミグルセラゼとの因果関係は不明であった。

2) 抗体産生率と過敏症発現

IgG抗体産生率と過敏症発症の関係について検討した。過敏症は「アナフィラキシー様反応、掻痒感、じんま疹、血管浮腫、胸部不快感、呼吸困難、喘鳴、血圧低下、チアノーゼ、発疹および潮紅」と定義した。110例中、過敏症を呈した患者は22例(20.0%)であったが、アナフィラキシー様反応の発症はなかった。IgG抗体検査を実施した患者数は110例中97例で、このうちIgG抗体産生が認められた患者数は12例(12.4%)であった(表2)。そのうち4例が6か月以内、5例が1年以

表2 抗イミグルセラゼIgG抗体産生と過敏症発現との関係

抗イミグルセラゼIgG抗体	症例数	過敏症発現症例数	発現率 (%)
陰性	85	15	17.6
陽性	12	2	16.7

内、残りの3例は2年以内に抗体産生が認められた。過敏症は抗体産生の認められた12例中2例(16.7%)に見られ、その症状は「潮紅」「発疹」各1例1件であった。IgG抗体産生が認められなかった85例中15例(17.6%)に過敏症が見られており、過敏症発現率に関して、IgG抗体産生が認められた症例との間に有意差は認められなかった。

考 察

Gaucher病I型における貧血、血小板数減少、肝脾腫、骨症状に対する酵素補充療法の効果に関して、これまで欧米人Gaucher病患者での研究で明らかにされている^{4)7)~9)}。今回われわれは、わが国におけるイミグルセラゼの製造販売後調査の結果をもとに、日本人Gaucher病のI型のみならず、II、III型を含む全病型患者のデータについて、有効性および安全性の検討を行った。

1. ヘモグロビン値

ヘモグロビン値に関しては、イミグルセラゼによる治療開始後から上昇し、24週で平均値が正常値に達し、その後も長期にわたり正常な状態が維持された。海外のGaucher Registry登録患者の1,028例について検討したWeinrebら⁸⁾の報告においては、脾臓摘出歴がなく、ベースラインでヘモグロビン値が10~12 g/dLであった患者群でのヘモグロビン値は、イミグルセラゼによる治療開始後6か月で急速に増加、正常値に達し、その後6~12か月の間はやや増加が緩やかになり、12~24か月の間は安定して経過した。われわれの今回の調査でも治療開始後のヘモグロビンの増加速度、長期間にわたる効果の維持について同様

の結果であった。

2. 血小板数

血小板数に関しては、本調査ではベースラインの平均 $10.3 \pm 7.0 \times 10^4/\text{mm}^3$ から、治療16週後に平均値 $16.1 \pm 8.3 \times 10^4/\text{mm}^3$ と正常値に達しているのに対し、Weinrebら⁸⁾の報告では、脾臓摘出歴がなく、ベースラインの血小板数が $6 \sim 12 \times 10^4/\text{mm}^3$ であった患者群で、治療開始後徐々に増加を続け、12か月後に正常値に達していた。Weinrebら⁸⁾の報告では、ヘモグロビン値に比べ、血小板数の改善に時間を要しているのに対して、われわれの調査では血小板数は速やかに改善していた。その理由としては、Weinrebらの報告の対象患者において、その約半数(43.8%)で治療初期のイミグルセラゼの投与量が15~45単位/kg/隔週であるのに対し、われわれの調査対象患者での平均投与量は 68.9 ± 20.5 単位/kg/隔週であることから、投与量の違いが影響していることが考えられた。

3. 肝・脾臓容積

肝・脾臓容積については治療開始6か月後に容積の減少が認められ、2年後の肝臓および脾臓容積の平均減少率はそれぞれ31%、59%であった。Weinrebら⁸⁾は、治療開始2年後、脾臓摘出歴のない患者群での肝臓容積の平均減少率は29%、脾臓容積では49%と報告している。われわれの調査結果はWeinrebらの結果とほぼ同様であった。以上のように、欧米人同様、日本人においてもイミグルセラゼによる継続的な酵素補充療法を実施することによって、長期にわたる効果が期待できることが明らかとなった。

- 7) Pastores GM et al.:Semin Hematol 41 (Suppl. 5): 4-14, 2004
- 8) Weinreb NJ et al.:Am J Med 113:112-119, 2002
- 9) Weinreb NJ et al.:Am J Hematol 83:890-895, 2008
- 10) Wilcox WR et al. Am J Hum Genet 75:65-74, 2004
- 11) Kishnani PS et al.:Neurology 68:99-109, 2007
- 12) van der Ploeg Ans T et al.:Mol Genet Metab 107: 456-461, 2012

●—————● 著者連絡先 ●—————●

〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8
東京慈恵会医科大学小児科学講座
井田博幸

第29回日本小児外科学会秋季シンポジウムのご案内

会 期 平成25年10月26日(土)
会 場 一橋大学一橋講堂(学術総合センター内)
〒101-0003 東京都千代田区一ツ橋2-1-2
TEL:03-4212-3900

会 長 荻澤融司(杏林大学医学部小児外科)
テ - マ 「小児救急医療-外傷・虐待-」
<http://www.procomu.jp/psjm2013/>

事 務 局 杏林大学医学部小児外科 浮山越史
〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2
TEL:0422-47-5511 FAX:0422-44-0265
E-mail:uki@ks.kyorin-u.ac.jp

※Pediatric Surgery Joint Meeting 2013 (PSJM2013) と同時開催

Wilson 病

Wilson 病 Wilson(ウィルソン)病(Wilson disease)は、常染色体劣性遺伝形式をとる先天性銅代謝異常症の代表的疾患である。肝臓をはじめ、大脳基底部、角膜および腎臓などに過剰な銅の沈着を認め、種々の臓器障害を呈する。先天性代謝異常症のなかでは比較的頻度の高い疾患であり、小児期の慢性肝障害としては最も頻度が高い¹⁾。その自然歴の予後は不良であるが、薬物療法が確立されている数少ない遺伝病の一つである。本症患者を的確に診断し、適切な治療を行うことにより、その予後を良好なものとするができる。ここでは、Wilson 病の成因、病態生理、臨床症状、ならびに特徴的検査結果を示し、本症をいかに診断し、そして治療するかについて解説する。

Wilson 病の原因遺伝子 ATP7B は、13 番染色体の長腕 14.3 に位置している。この遺伝子は、肝臓、腎臓、脳、あるいは胎盤などにて発現しているが、肝臓において最も強く発現している。産生される蛋白質は、P-type ATPase の一種であり、6 個の銅結合部位を持つ膜蛋白と考えられている。この ATP7B 蛋白質の機能は、余剰な銅の肝臓から胆汁中への排泄と、肝細胞内での活性型(ホロ型)セルロプラスミンの合成である¹⁾。Wilson 病の病態の中心は、この遺伝子・蛋白質の異常による肝臓から胆汁中への銅の排泄障害である。

Wilson 病のその発症頻度は 3 万 5,000~4 万人に 1 人と推定されている²⁾。発症年齢は、3 歳~50 歳代とさまざまに幅広く分布している。日本での発症のピークは 10~11 歳頃である²⁾。男女比は 55:45 であり、明らかな性差は認められない²⁾。

銅の吸収 食物ならびに飲料中の銅は、小腸や十二指腸から 1 日約 2 mg が吸収される³⁾。吸収された銅は門脈から肝臓へ運ばれ、約 5% は全血中に流入し、約 10% はセルロプラスミン結合銅として血液中に再度出現する³⁾。本症では、銅の主たる排泄機構が障害されるため、肝細胞内に取り込まれた銅はそのまま蓄積していく。銅ははじめメタロチオネインと結合(MT-Cu)して、無毒化され貯蔵される。しかし、貯蔵閾値を超えたとき、銅イオンとヒドロキシラジカルなどのフリーラジカルが出現する。それらがスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)などの活性酸素消去能を超えると肝細胞障害が生じる。さらに肝臓中より血中に放出された非セルロプラスミン銅は、全身諸臓器、特に大脳基底部、角膜および腎臓などに蓄積し、それらの臓器障害を引き起こす。また、尿中への銅の排泄量が増加する。その他に、活性型セルロプラスミンの合成も障害され、血清セルロプラスミン値の低下という特徴的な生化学的所見を生じる。

Wilson 病の臨床症状は、主に肝障害と神経症状である。また、角膜周囲の銅沈着による Kayser-Fleischer(カイザー-フライシャー)角膜輪は、本症に

きわめて特徴的な所見である。その他に、精神症状や腎障害などにて発症する症例もみられる。本症は臨床症状と経過により、肝型、神経型、肝神経型および発症前型に病型が分類される。その詳細は以下のとおりである。

肝型：肝機能障害に基づく症状(易疲労性や黄疸など)にて発症した症例である。さらに細分類される。

一過性肝障害型 急性あるいは亜急性肝炎様症状を呈するが、一過性であり消失してしまうもの。

慢性肝障害型 慢性肝炎様症状あるいは肝硬変の病像を呈するもの。

肝不全あるいは劇症肝炎型 全症例の 4~7% に存在する最重症型である。意識障害と溶血を伴い急速に進行する肝不全あるいは劇症肝炎の状態を呈する。早期に診断し治療を開始しないと死亡する危険が高い。

溶血を伴う型 溶血をきたしながらも肝不全・劇症型とならない症例も存在する。

神経型：既往および経過中にまったく肝症状の出現や肝機能障害もなく、神経症状のみの症例である。神経症状の出現は比較的遅く、10 歳以降に多くみられる²⁾。構音障害、歩行障害、羽ばたき振戦などが初発症状となる症例が多い⁴⁾。他にジストニア、仮性硬化症なども呈する。精神症状が出現することもある。

肝神経型：神経症状と肝症状・肝機能障害が同時に、あるいは時間差をもって、ともにみられる症例をさす。

発症前型：家族内検索や他疾患の検索中偶然に、あるいは Wilson 病スクリーニングにて症状の出現前に診断された症例をいう。

検査 Wilson 病における特徴的生化学検査所見は、血清セルロプラスミン値の低下と尿中銅排泄量の増加である。血清銅値は多くの場合低下するが、溶血を伴う症例では正常値から高値を示すことがある。血清尿酸値は一般的に発症後症例で低く、発症前症例は低くならないことが多い。なお、本症患者の約 5% に血清セルロプラスミン値正常例が存在することと、4~5 歳以下の幼児では尿中銅排泄量がさほど増加しない点は注意が必要である。本症での最も特異的な検査所見は、肝銅含量の増加である。200 μg/g wet tissue 以上あるいは 250 μg/g dry tissue 以上という著明な高値を示す。

診断 前述した臨床症状から Wilson 病を疑い、血清セルロプラスミン値、血清銅値ならびに尿中銅排泄量の測定を行う。本症は発症年齢が幅広く、またさまざまな臨床症状を呈するために診断に苦慮する症例も多い。幼児期以降の急性・慢性の肝障害、および学童期以降の神経あるいは精神症状をみたときは、本症の可能性を考え診断を進めるべきである。血清セルロプラスミン値、血清銅値および尿中銅排泄量の測定を行う。Kayser-Fleischer 角膜輪検索のため、眼科的検索も必要である。時に眼科にて(眼鏡やコンタクトをつくる際など)偶然 Kayser-Fleischer 角膜輪が発見さ

神症状や
症は臨床
および発
のとり

黄疸など
る。
様症状を
の。
F硬変の病

〜7%に存
に伴い急速
状態を呈す
する危険

下全・劇症

犬の出現や
ある。神経
まられる²⁾
切発症状と
変化症など

が同時に
症例をさす
然に、ある
出現前に診

査検査所見
銅排泄量の
るが、溶
がある。自
症前症例
の約5%
ることと
ど増加し
異的な検査
wet tissue
いう著明

を疑い、血
尿中銅排
、また診
する症例
および学
は、本症
血清セルロ
上の測定を
眼科的検査
タクトを
輪が発見

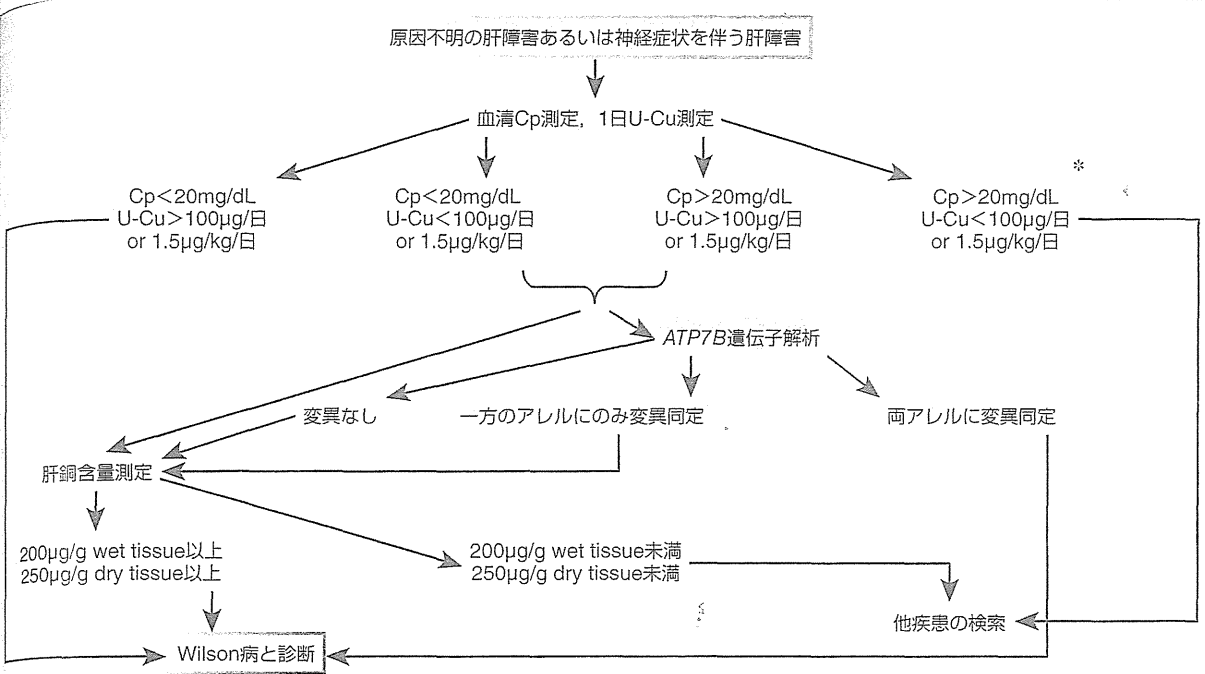


図1 肝障害を有する症例における Wilson 病の診断フローチャート
Cp: セルロプラスミン, U-Cu: 尿中銅排泄量
ただし、Kayser-Fleischer 角膜輪の存在など、Wilson 病を強く疑う所見を認める場合は、肝銅含量測定あるいは ATP7B 遺伝子解析を行う

れ、そこから診断に至る例も存在する。
図1に、肝障害を認めた症例での Wilson 病診断までの道筋を示す。血清セルロプラスミン値低下と尿中銅排泄量増加を認めれば本症と診断し、治療を開始すべきであると考えられる。血清セルロプラスミン値は一般の値を示す症例が多いが、20 mg/dL 以下は有意ととるべきであろう。尿中銅排泄量増加の基準は 100µg/日以上であるが、小児の場合は 1.5µg/kg/日以上がもう一つの基準である⁵⁾。1日蓄尿による検査が困難な症例については、1回尿を用いて 0.2µg/mg Cr(クレアチニン)以上を目安とする方法もある⁵⁾。なお、血清セルロプラスミン値、尿中銅排泄量ともに複数回(通常3回かそれ以上)測定し、評価する必要がある。本症の確定診断法としては、肝細胞中の銅含量測定が最も信頼性が高い。また ATP7B 遺伝子の構造解析による遺伝子診断法も確定診断法として有用ではあるが⁶⁾、Wilson 病であっても遺伝子変異が同定されない症例が 10~15%みられるため、結果の評価には注意を要する。尿中銅排泄量が増加していない年少例や、血液・尿の生化学的検査にて診断が確定しないが Wilson 病が疑われる症例は、肝銅含量測定や遺伝子解析の適応となる(図1)。
Wilson 病の早期(特に発症前)発見と早期治療開始のため、家族内検索はきわめて重要である。本症と診断された症例に同胞がいる場合は、患児(者)より年長児(者)であったとしても、必ず検索を行うべきである。このときも、上記した診断のための検査を行う。
注意点は、本症が常染色体劣性遺伝性疾患であるた

め、両親が保因者であれば、同胞には Wilson 病の保因者である可能性が50%あることである。本症では保因者は発症しないが、血清セルロプラスミン値などの特殊検査所見は中間値をとる可能性がある。家族内検索において最も信頼性が高いのは遺伝子診断である。この場合発端者の遺伝子変異が同定されていることという条件はつくが、それが満たされていれば、同胞が本症患者か、健常者か、あるいは保因者であるかを正確に判定することができる⁷⁾。
治療 Wilson 病の薬物療法には、銅排泄を促進する銅キレート薬と、銅の吸収阻害を行う亜鉛薬がある。これらを単独あるいは併用にて用いる。また、薬物療法に加え、銅の摂取を制限する低銅食療法も行う。さらに、急性あるいは慢性に肝不全に陥った症例は、肝移植の適応となりうる。銅キレート薬は D-ペニシラミン(メタルカプターゼ[®])と塩酸トリエンチン(メタライト 250[®])の2種類があり、亜鉛薬は酢酸亜鉛(ノバルジン[®])が市販されている。それぞれの薬剤の使用方法を表1に示す。
D-ペニシラミン(メタルカプターゼ[®]): 日本では、本薬剤が一次選択薬となる。優れた除銅効果を有し、本症治療薬のなかで最も長い歴史を持つ。投与方法は、15~25 mg/kg/日を食間空腹時に2~3回に分けて内服する。重要なのは、必ず空腹時(食前1時間もしくは食後2時間以上あけて)に内服することである。食事の直前や直後では、食事の金属と結合して血液中に吸収されなくなる。実際、比較的早期に診断され治療が行われたにもかかわらず、食直後の内服を続けてい

表1 Wilson病治療薬

薬剤	薬理作用	服用量		服用法
		治療初期	維持期	
D-ペニシラミン	銅キレート	20~25 mg/kg/日	10~15 mg/kg/日	食間空腹時
塩酸トリエンチン	銅キレート	40~50 mg/kg/日	20~25 mg/kg/日	食間空腹時
酢酸亜鉛	銅吸収阻害	成人：75~150 mg/日 小児：3~5 mg/kg/日		食前1時間または食後2時間

たため、症状が進行して不可逆的な障害を残した例が存在する。治療を開始するときは、維持量の1/2程度の少量から開始し、数週間かけて維持量まで増量する。本薬剤の最大の問題点は副作用の出現頻度が20~25%と高いことである⁸⁾。また、神経症状を有する症例では、一過性に症状を増悪させる可能性があるため、注意が必要である。なお、治療により症状が安定し、Wilson病治療薬を服用しない状態での尿中銅排泄量(基礎銅排泄量)が50~70 μ g/日以下となった治療維持期の症例では、投与量を10~15 mg/kg/日に減量することができる(表1)。

塩酸トリエンチン(メタライト250[®]): 本症における二次選択薬であり、D-ペニシラミンが副作用などにより使用できない例や効果が乏しい例に用いる。また、神経症状に対する治療効果が高いとの報告があるため、神経症状がみられる症例に対してははじめから使用することもある。本薬剤は副作用がほとんどみられない。銅へのキレート効果はD-ペニシラミンより劣るが、大量に使用できるため、その生物学的効果はほぼ同等と考えられる。用量としては、40~50 mg/kg/日を分2~3にて内服する。治療維持期では20~25 mg/kg/日まで減量できる(表1)。服薬のポイントは、D-ペニシラミンと同様食間空腹時に服用することである。

酢酸亜鉛(ノベルジン[®]): 最も新しいWilson病治療薬である。亜鉛として75~150 mg/日(成人量)あるいは3~5 mg/kg/日(小児の場合)を分3として食前1時間もしくは食後2時間に内服する。単剤での治療のみならず、銅キレート薬との併用も可能である。この場合は、銅キレート薬と亜鉛が消化管内にて結合してしまうのを防ぐため、服薬時間を最低でも1時間以上ずらす必要がある。米国などでは亜鉛薬が一次選択薬として用いられている⁹⁾。なお、本薬剤は初期治療と治療維持期において投与量は変化しない(表1)。

低銅食療法: 銅の摂取量は、治療開始時には1.0 mg/日(乳幼児は0.5 mg/日)以下に制限する。治療により症状や検査値が改善し安定すれば、やや制限をゆるめて1.5 mg/日まで摂取可能とする。なお、亜鉛製剤を内服しているときは、銅キレート薬のみにて治療を行っているときほど厳密な銅の摂取制限は必要ないと考えられている。

肝移植: 劇症肝炎型Wilson病、進行性・持続性肝不全、キレート薬などのコンプライアンスが悪く肝不全に陥った例、門脈圧亢進による再発性の消化管出血および難治性の神経合併症が肝移植の適応となると考え

られている¹⁰⁾。日本では生体肝移植が大多数を占めている。

Wilson病の予後は、発症から診断までの時間と服薬コンプライアンスの良否によって大きく左右される。発症から診断・治療開始までに長い期間を要すると、肝臓や中枢神経に不可逆的変化が生じ、治療が行われても十分な改善がみられないことがある。逆に、家族内検索などにより発症前に診断されて治療が行われれば、発症の予防が可能である。もう一つ重要な点は、Wilson病に対する薬物療法は本症の銅代謝を改善させ、その状態を維持するが、決して治癒させるものではないということである。そのため、薬の服用は生涯にわたって継続されねばならない。当然、治療期間はきわめて長くなる。本症患者のなかには、治療により普通の日常生活を送っていたにもかかわらず、怠業のため症状が再燃し、重篤な症状を抱えながら生活することになったり、最悪の場合は死亡したりする例がみられる。本症の予後をよくするには良好な服薬コンプライアンスを保つことがきわめて重要である。

【清水 教一】

参考文献

- 1) Culotta VC, Gitlin JD: Disorder of copper transport. The Metabolic Basis of Inherited Disease, vol 2, 8th edition, edited by Scriver CR, Beaudet AL et al, p3105-3126, McGraw-Hill, 2001
- 2) Aoki T, Suzuki M et al: Nationwide survey of clinical feature of Wilson's disease in Japan. Neonatal and Perinatal Screening: The Asian Pacific Perspectives, edited by Lam STS, Pang CCP, The Chinese University Press, 1996
- 3) 青木継稔: 遺伝性銅代謝異常症の臨床とその分子病態. Biomed Res Trace Elements 15:307-315, 2004
- 4) 清水教一, 鈴木真理子ほか: 全国調査からみた神経型・肝神経型Wilson病の臨床像および肝銅含量に関する検討. 脳と発達 28:391-397, 1996
- 5) 藤井秀樹: 発症前型Wilson病のセルロプラスミン及び銅代謝に関する研究, 診断基準作成の試み. Biomed Res Trace Elements 8:75-83, 1997
- 6) Nakamura H, Hemmi H et al: Molecular diagnosis of Wilson disease in Japanese patients. 東邦医学会雑誌 56:65-70, 2009
- 7) Shimizu N, Takeshita Y et al: Molecular diagnosis for presymptomatic patients with Wilson disease. Biomed Res Trace Elements 16:315-317, 2005
- 8) Shimizu N, Yamaguchi Y et al: Treatment and management of Wilson's disease. Pediatr Intr 41:419-422, 1999
- 9) Brewer GJ: Wilson Disease. Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th edition, edited by Kasper DL, Braunwald E et al, p2313-2315, McGraw-Hill professional, 2005
- 10) 藤澤知雄: わが国におけるWilson病の肝移植. 適応と移植成績. 医学のあゆみ 216:823-827, 2006

High Expression of Atp7b mRNA in the Peripheral Blood Mononuclear Cells of the Long-Evans Cinnamon Rats: an Animal Model of Wilson's Disease

Kenji Nakayama^{1*}, Yoshinobu Katoh², Norikazu Shimizu³, Toyo Okui⁴, Koza Matsumoto⁵, Yukiharu Sawada⁶, Tsugutoshi Aoki⁷

¹Department of Cancer Omics Research, World-Leading Drug Discovery Research Center, Kyoto University, Japan

²Department of Biological Science, Hokkaido Institute of Public Health, Japan

³Second Department of Pediatrics Toho University School of Medicine, Japan

⁴Department of Basic Radiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Japan

⁵Department of Laboratory Animal Science, Kyoto Sangyo University, Japan

⁶First Department of Pathology, Sapporo Medical University School of Medicine, Japan

⁷Toho University, Tokyo, Japan.

Abstract

The Long-Evans Cinnamon (LEC) rat is an animal model of Wilson's disease. The rat has a mutation in the copper (Cu)-transporting P-type ATPase (Atp7b) gene that is homologous to the human Wilson's disease gene, ATP7B. The LEC rat shows all of the biochemical features of the disease. In this study, we focused on the expression levels of mutant Atp7b mRNAs in the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of the LEC rats. Using quantitative real-time polymerase chain reaction (quantitative RT-PCR), we analyzed the expression levels of Atp7b mRNAs in the PBMCs cells of both the LEC rats and Long-Evans Agouti (LEA) rats, the latter being utilized as a control for the LEC rat. At the ages of 5 and 8 weeks, the inductions of Atp7b mRNA were manifested in the PBMCs of both male and female LEC rats, while their levels in the livers were significantly lower than those of the LEA rats. These results suggest the diversity of cell-physiological and endocrinological Cu metabolisms between the PBMCs and the livers of the LEC rats. Our findings indicate the possibility of a novel Cu metabolism in the cardiovascular network that is concerned with Atp7b of the PBMCs.

Keywords: Wilson's disease (WND); Long-Evans Cinnamon (LEC) Rat; Copper (Cu); Cu-transporting P-type ATPase (ATP7B); Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs); Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction (Quantitative RT-PCR)

Introduction

Wilson's disease (WND, OMIM 277900) is an autosomal recessive disorder of copper (Cu) transport characterized by impaired incorporation of Cu into ceruloplasmin (Cp) and by impaired excretion of Cu via the bile. The disease phenotype includes progressive hepatic degeneration and/or neurological impairment as a result of the toxic effects of accumulated Cu in several tissues, principally the liver and brain. WND is observed with a prevalence of approximately 1:30,000 with a gene frequency of 0.56% and a carrier frequency of 1 in 90 [1-5]. Recently, it was reported that the prevalence for Japan, China, and Sardinia (Italy) is higher than the general population [5,6]. The high prevalence (1:10,000) of WND in Japan strongly supports our previous report [7]: one WND patient at the presymptomatic stage was detected through the analyses of 11,362 child subjects using the automated urinary Cp assay at the mandatory medical health care examination for 3-year-old children. Our attempt was to succeed for the first time in early and presymptomatic diagnosis of WND in conjunction with the mandatory medical health care program at the age of 3 years.

The gene responsible for WND was assigned to chromosome 13q14.3-q21.1 [3,5]. It has been cloned and shown to encode a putative Cu-transporting P-type ATPase [4,8-11], officially designated as ATP7B. The ATP7B is a large molecule with many functional domains required for heavy metal binding, energy transduction from ATP hydrolysis to cation transport, cation channel formation, phosphorylation and ATP binding. Recent studies have shown that the characteristic observation of excessive Cu accumulation in the livers of WND patients can be explained by the functional abnormality of ATP7B. However, there is a wide spectrum of mutations in the ATP7B gene responsible for WND: more than 350 disease-causing mutations have been identified to date [12,13].

The Long-Evans Cinnamon (LEC) rat is an animal model of WND

[14,15]. The rat has a mutation in the Atp7b gene that is homologous to the human WND gene [16-18]. It shows all of the biochemical features of the disease, such as elevated hepatic Cu levels, reduced biliary Cu excretion, hemolysis, deficiency of both ceruloplasmin and Cu in the serum and increased hepatic iron (Fe) levels [14,15,19-25]. The LEC rat spontaneously develops acute hepatitis at about 4 months of age and develops hepatoma about 1 year after birth. It has been demonstrated that excess hepatic Cu and/or Fe contributes to the development of liver injury in the LEC rat [14,21,26,27]. In this study, we focused on the expression level of mutant Atp7b mRNA in the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of the LEC rats at the ages of 5 and 8 weeks. These ages are presymptomatic stages of acute hepatic dysfunction. Using quantitative real-time polymerase chain reaction (quantitative RT-PCR), we analyzed the expression levels of Atp7b mRNAs in the PBMCs and the livers of both the LEC rats and the Long-Evans Agouti (LEA) rats, the latter being utilized as a control for the LEC rat. We compared the data between the LEC and the LEA rats and discussed our findings.

Materials and Methods

Animals

Five- and eight-week-old male and female LEC rats were utilized.

*Corresponding author: Kenji NAKAYAMA, Department of Cancer Omics Research, World-Leading Drug Discovery Research Center, Kyoto University, Japan, Tel. +81-75-753-4586; Fax: +81-75-753-9255; E-mail: knakayam@pharm.kyoto-u.ac.jp

Received April 10, 2012; Accepted August 10, 2012; Published August 16, 2012

Citation: Nakayama K, Katoh Y, Shimizu N, Okui T, Matsumoto K (2012) High Expression of Atp7b mRNA in the Peripheral Blood Mononuclear Cells of the Long-Evans Cinnamon Rats: an Animal Model of Wilson's Disease. Hereditary Genet 2: 115. doi:10.4172/2161-1041.1000115

Copyright: © 2012 Nakayama K, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.