

遺伝性銅代謝疾患の分子病理学的基盤の確立 Molecular pathologic basis of inherited metabolic disorders

松浦晃洋、杵渕 幸

Akihiro Matsuura, Miyuki Kinebuchi

藤田保健衛生大学医学部第2病理

Fujita Health University School of Medicine Department of Pathology

アブストラクト

遺伝性銅代謝疾患にはメンケス病とウィルソン病という2種類の代表的疾患が知られている。銅沈着の程度と組織内領域を BL37XU のビームラインを用いて解析した。銅を含め重金属代謝異常の組織学的解析に蛍光 X 線マッピングがきわめて有用であることを明らかにした。

Abstract

Menkes disease (MNK) and Wilson disease (WD) are two well-known inherited disorders of copper metabolism. The content and pattern of copper deposition in the affected tissues were examined by BL37XU. We found that microbeam X-ray fluorescent analysis (mbXRF) is very useful to detect copper as well as other heavy metals which have potential cytotoxicity to accumulated cells. Two dimensional mapping with mbXRF will be a powerful method to clarify the mechanism of cell injury and tissue destruction.

背景と研究目的：メンケス病とウィルソン病は極めて異なる臨床病態を示す疾患である。銅代謝に異常があり、原因遺伝子が類似した銅の移送蛋白(それぞれ ATP7A, ATP7B と命名)をコードする。両蛋白の発現組織の違いが病変臓器の特異性を規定すると推定される。しかしながら、両者とも病型と遺伝子変異型の相関が明白でなく、病態の原因の端緒となる細胞傷害、臓器病変がどのような病理過程で生じるかは明らかになっていない。そこで、病変組織と罹患患者由来の細胞株を樹立し、傷害と蓄積金属量とパターン関係について比較検討をし、病態解明の端緒とすることを目的とし本研究を行った。

実験：組織はパラフィン包埋ブロックとし、厚さ2ミクロンの薄切切片を作成し、試料ホルダーに固定した。照射観察部位を連続切片のHE染色標本と合わせつつ、観察に適した位置を選んだ。測定は単色化された放射光を2枚のKirkpatrick-Baez (KB) mirrorで集光し、pixel sizeは 2 (V) x 1 (H) μm^2 とし、原則として300ミクロン四方の領域を、exposure time 0.5sec/pixelで照射し、試料から放射される蛍光 X 線をSDD検出器にて検出した。正常初代組織培養細胞を不死化したものを用いて銅の負荷試験を行った。これらの実験は藤田保健衛生大学疫学・臨床研究倫理委員会の承認を得て実験に供した。

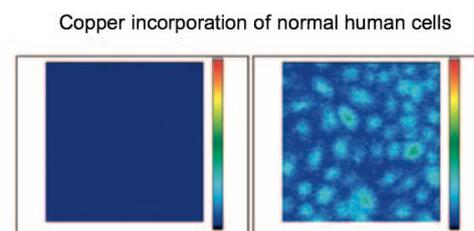
結果および考察：組織の初代培養細胞は増殖速度が遅く、また様々なストレスに弱いため、試験管内で銅の負荷試験をして培養するとす

ぐに剥離するため、細胞内への銅の取り込みや排出を検出に困難を極める。そこで、特にメンケス病を解析する予備実験として、正常対照者由来の皮膚初代培養細胞を不死化とそれを用いた銅の負荷試験を行った。その結果、不死化細胞株を樹立に成功し、銅の負荷試験により細胞内に良好な状態で細胞内に銅を検出することができた(図1)。現在樹立中のメンケス病由来細胞を用い、鉄の影響が少ない状態で銅の細胞蓄積と細胞傷害の関連を直接検討することが可能になった。

参考文献

1 Ohya K, Abo W, Tamaki H, Sugawara C, Endo T, Nomachi S, Fukushi M, Kinebuchi M, Matsuura A. Eur J Pediatr 161:124-126, 2002

図 1



Copper load 0 micromole (left) and 2 micromole for 40min. Vertical color bars show counts of copper in pixels. Upper thresholds are adjusted to the same counts, 200.