

遺伝性銅欠乏疾患の蛍光X線病理組織学的解析による病態解明
Histopathological dissection of an inherited disorder of copper deficiency by microbeam X-ray fluorescence analysis

松浦晃洋^a、杵渕 幸^a、寺田靖子^b

Akihiro Matsuura^a, Miyuki Kinebuchi^a, Yasuko Terada^b

^a 藤田保健衛生大学医学部第2病理、^b 高輝度光科学研究センター

^a Fujita Health University School of Medicine Department of Pathology, ^b JASRI/Spring-8

遺伝性の銅欠乏疾患由来組織について蛍光X線分析を行った。これまで銅の過剰疾患や対照としての解析を多く施行し測定条件が確立している肝における銅の含量・分布を蛍光X線解析した。ヘマトキシリン・エオジン染色による組織観察で著明な脂肪変性と色素顆粒の出現が見られた。疾患の一般的報告から肝の銅含量は低下と予測していたが、正常と同程度、部位によっては正常の肝小葉より高い銅が検出された。銅製剤投与が効果的に銅の肝臓への補充をもたらしたことで、すなわち銅製剤の有効性を検証することができた。

Menkes disease (MNK) is a rare inherited disorder of copper metabolism resulted in generalized copper deficiency. By using the microbeam X-ray fluorescence mapping, we compared the content and distribution of copper in the liver of MNK with those of control subjects with normal copper metabolism. Of particular interest, copper content in MNK liver was not low but almost at normal or relatively high level, suggesting that treatment with Cu-containing drug was quite effective with respect to liver copper level probably reflecting function of high affinity copper up-taker. Furthermore, prominent color pigments in hepatocytes and kupffer cells were found to be iron. It was diagnosed as secondary hemosiderosis due to frequent transfusion. This way of application is useful to evaluate real effect of the Cu-containing drug in MNK.

研究の背景と利用目的：

メンケス病は銅の先天性欠乏を来す極めて稀なX染色体劣性遺伝疾患である。流産・出生時の低体重、キンキーヘア（ちじれ毛）、神経系発達不全が生じる。無事に出生しても、生後数週で成長発育遅延、精神神経症状などを発症し、多くは呼吸器感染や消化管出血などで1-2才で死亡する。ATP7A銅トランスポーターの異常により起こることが明らかにされた。症例の蓄積とモデルマウスの解析から、母胎内においては胎盤絨毛から胎児への微量必須元素である銅の吸収不良により神経系の発達不全、毛髪や結合組織を含め全身の発育不良があること、生後は消化管からの銅吸収がうまくゆかず腸粘膜上皮から体内への移送

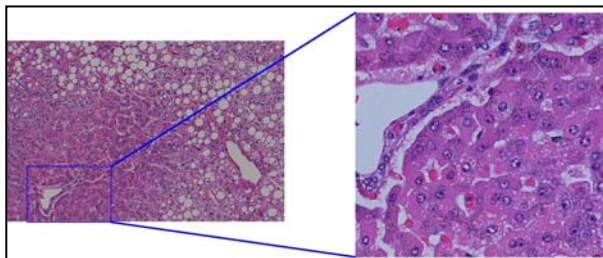
が起きないことが指摘されている。しかしながら、メンケス病症例において、銅の分布や治療の影響を組織学的に検索することは不可能であった。今回、我々は銅製剤投与によりある程度の銅代謝に関わる血清マーカーが改善された症例を経験しその臓器における銅分布と含有量の実態を組織・細胞レベルで観察することを目的に蛍光X線分析実験を行った。利用方法および利用結果：

本研究では、化学分析に実績のあるビームラインBL37XUを利用して、薄切切片試料をマイクロビーム蛍光X線分析を行いX線分散スペクトロメトリーと二次元マッピングにより判読可能なイメージを作成した。連続切片をヘマトキシリン・エオジン染色した標本（H

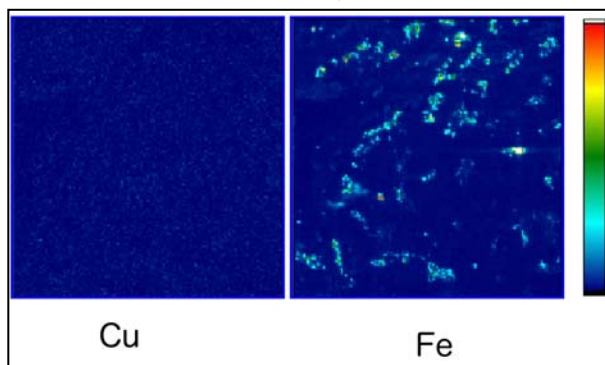
E) と比較し、銅分布のパターンと含量を検索した。銅代謝に異常のない正常組織を対照として含有量を比較した。メンケス病では肝臓の銅が低下していると推測していたが、予想に反し、肝小葉周辺部 (periportal area) に多く、小葉中心部 (centri-lobular area) に正常と同等かやや多く、全体として正常対照より多い銅シグナルが得られた (table.1)。



肝臓には小葉中心性の脂肪沈着と多数の細胞内色素顆粒がHEでみられた (Fig.1)。小葉中心部は脂肪変性のため実質細胞がないので銅含量が低く出ているので、全体としてみると肝実質の銅含量は正常よりも多いと推察される。



細胞内色素顆粒は増加した銅の沈着を疑ったが、銅チャンネルには一致する顆粒状のシグナルは得られず、鉄チャンネルに大量の顆粒シグナルが得られた (Fig. 2)。



考察：

肝臓に脂肪沈着と色素顆粒沈着が著明にみられたことから銅製剤投与による銅の蓄積による肝傷害の可能性を考えたが、銅チャンネルシグナルは過剰ではなく、むしろもともと低下していたものが、正常と同程度からやや多めまで回復・増加したものと考えられる。すなわち、銅製剤投与により速やかな肝細胞内への銅吸収が行われ、銅代謝の一定の回復(血清銅、血清セルロプラスミン上昇)が起こり、いくつかの重要な銅含有酵素が生体内で合成・補充され、生命予後の延長に役立った正の治療効果を示唆する。一方、著明な色素顆粒は肝細胞およびクッパー細胞の鉄沈着であることが判明し、二次性ヘモジデロシスと診断する。長期輸血が行われたことに対する網内系の正常反応でこれ自身はむしろ鉄の傷害から細胞を保護するものである。今回の研究から、銅製剤投与の効果を蛍光X線分析による組織学的観察で初めて明らかにすることができたといえる。

今後の課題：

本症例は肺炎および原因不明の腎不全で亡くなっており、逆に、肺や腎臓で銅による傷害が生じた可能性が高い。今後、検索して確定する。メンケス病治療においても、生体内における銅の組織含量・パターンを蛍光X線分析により的確に把握することにより、薬剤投与方法(量、時期、頻度)の改善と副作用を起こしにくいような創薬の開発に繋がると期待される。

参考文献：

- (1) Kitazawa J et al. *Pediatr Int.* 46:726-729, 2004