

高解像度蛍光 X 線分析によるウィルソン病肝炎の治療効果判定 Evaluation of therapeutic effect of Wilson disease 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

^aFujita Health University School of Medicine Department of Pathology, ^bJASRI/Spring-8

ウィルソン病は肝の銅トランスポーター異常を示す遺伝性疾患であり、早期発見して薬物療法を行うとほぼ正常と変わらない日常生活が可能である。私たちは高解像度蛍光X線分析による肝臓の銅蓄積を測定することによりこれまで診断が困難であった発症前や軽症・早期症例を確実に診断できるシステムを構築した。しかしながら、実際に治療を開始した後、臨床徴候や検査所見から効果を判定し薬剤の投与量を加減することは経験豊富な臨床医にとっても極めて難しい。治療がほぼ一生という長期間にわたることから、治療効果を的確に把握する方法を確立し、薬剤の選択や服薬コンプライアンスの改善などの対策が大切である。今回、治療奏効例の治療開始前と治療後肝機能好転時の肝組織を比較観察する機会を得た。高解像度蛍光X線分析は治療効果を定量的客観的に評価する指標として有用である。

We have previously established that application of microbeam X-ray fluorescence analysis (μ XRF) on pathological tissue sections is useful to diagnose early phase of Wilson disease. We experienced a case of Wilson disease who responded very well to administration of the drug. After one year treatment neither clinical symptoms nor abnormal laboratory data was detected. Tissue copper of this case before and after treatment were examined. Copper content in the affected tissue was dramatically decreased after treatment along with histopathological recovery. Thus, the μ XRF combined with pathological observation is very helpful to objectively evaluate therapeutic effect of drug treatment..

研究目的：ウィルソン病（WD）は数少ない治療可能な遺伝性疾患であるが、診断は必ずしも容易ではない。最近になって、責任遺伝子変異解析が早期あるいは発症前の診断に有効であることを示すことができてきている¹⁾。しかしながら、経過観察して治療効果を的確に判定し薬剤の投与量を加減することは経験豊富な臨床医にとっても極めて難しい。一般的には、症状や理学所見とともに肝傷害のマーカーであるアミノトランスフェラーゼ（AST、ALT）値の減少（正常化）に加え、血清銅・血清セロプラスミンの増加（正常化）を目安としているが、薬剤が奏効しているかどうかを客観的に評価することは不可能

であった。これは、初期の確定診断のためには、原子吸光を行いかつ病理組織学的観察のために必要な量の組織片を開腹生検（ないしは腹腔鏡）で採取することは納得すべき検査処置という理解があるが、その後、経過観察して機能回復がみられた時には原子吸光で定量するほどの多くの組織を採取する同意をえることは難しく、特に、あまり回復が見られないあるいは憎悪傾向の症例については、臨床医も罹患者も侵襲的な組織生検を回避する傾向が強い。このように病理検査に消極的な理由の一端は、たとえ生検を行っても直接的に治療が効いているかどうかを病理組織学的に診断できなかったからである。

特に、軽症早期例で銅の組織化学染色が陽性になることはほぼないという事実は、「治療により蓄積銅が減少して陰性化する」という論理的な治療効果判定が期待できないことを意味する。私たちは重点ナノ課題施行によりヒト病理固定組織標本から組織切片を作成し重金属を夾雑物による阻害を受けずに検出する試料作成方法を樹立した。さらに解像度をあげることで組織細胞診断の精度を格段に改良することができつつある。今回、原因不明の軽症肝機能障害を契機にウィルソン病を疑い生検し、キレート剤投与を行い肝機能の回復をみた例について、再度、肝生検を行い組織所見を評価する機会を得た。本課題では WND の治療効果が肝臓の銅蓄積量や分布パターンと相関するか否かについて検討することを目的とする。

利用方法と結果：本研究では、化学分析に実績豊富なビームライン BL37XU を利用した。肝機能障害時と治療後軽快時の標本は、銅および銅結合蛋白の組織化学染色はいずれも陰性で組織学的にウィルソン病と診断することはできなかった。肝組織の微量元素を高感度・高解像度の元素特異的にマッピングを行った。治療前と治療後の肝組織での銅含有量を比較し、発症時と比べ寛解時では、約 4 分の 1 に減少していた (Fig 1)。臨床的寛解が肝組織内の銅の減少（除銅効果）と組織学的寛解の現れであることを示唆する結果を得た。

考察：ウィルソン病の病変の主座である肝臓組織切片を高解像度蛍光 X 線分析し、病理組織所見と照合することで、薬剤による除銅効果を客観的に評価することが可能となった。経過観察・治療方針の決定に極めて有用である。今後、より長期の経過観察および難治症例の原因究明を行う所存です。神経系での銅の蓄積についても解明してゆきたい²⁾。

文献：

- 1) Ohya K, Abo W, Matsuura A et al. Presymptomatic diagnosis of Wilson disease. *Eur J Pediatr* **161**:124-126, 2002
- 2) Baudouin SJ, Matsuura A et al.: The signaling adaptor protein CD3zeta is a negative regulator of dendrite development in young neurons. *Mol Biol Cell* **19**:2444-2456, 2008
- 3) Matsuura A, Kinebuchi M, Terada Y et al.: Element-specific in situ detection of copper by synchrotron radiation X-ray fluorescence microscopy for diagnosis of Wilson disease. in preparation

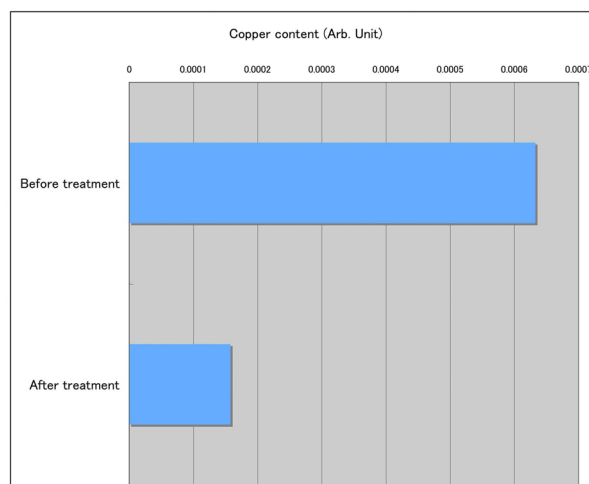


Fig.1 Copper content in the liver tissues of a patient with WD before and after treatment.