札幌市衛研年報 **31**, 35-40（2004）

ウィルソン病の臨床像・病型と遺伝子変異型

野町 祥介　中澤 恵実理　田上 泰子　水嶋 好清
福士 勝　藤田 晃三　窪田 満[*1]　山口 昭弘[*2]

要　旨

全国的に進められているウィルソン病マス･スクリーニングのパイロットスタディと並行して、臨床症状に乏しい本症の確定診断法の一つとして、私たちは責任遺伝子の病因変異を同定する方法を検討してきた。これまで 70 例以上の確定診断を行ない、今回、そのうち 41 例について臨床像・病型と遺伝子変異型の比較検を試みた。その結果、臨床像・病型と遺伝子型の関連付けは困難であったが、発症年齢と発症時 GOT 値の間には有意な負の相関を認めた他、成人発症例において神経症状を伴う例が多い傾向があった。また 2，3 才で発症する例も存在することから、スクリーニング開始時期としては遅くても 2〜3 才ごろまでが適当であると考えられた。

1. 緒　言

ウィルソン病は肝・大脳基底部・角膜あるいは腎などの諸臓器に摂取銅が過剰に蓄積することにより、臓器障害をきたす常染色体劣性遺伝の先天性代謝異常症である。発症前に診断することにより、効果的な治療が可能であり、かつ日本においては、その発症頻度がフェニルケトン尿症の 3 倍強であることから、様々なマス･スクリーニングのパイロットスタディが実施されてきた [1,2]。しかし、その病型は一様ではなく、発症年齢や臨床像も多様であるため、適切なスクリーニング時期や方法についても、多くの検討の余地を残している。

一方、札幌市では同病スクリーニングにおける侵襲性の低い確定診断法の一つとして、ろ紙血検体を用いた同病責任遺伝子 ATP7B の病因変異同定法について検討してきた [3]。今回、この検討を通じて、各症例の臨床像・病型をアンケート調査し、臨床像･病型と遺伝子型との関連性について検討を加えた。

2. 対象と方法

調査は、2000 年（平成 12 年）以降に全国の医療機関から遺伝子解析を依頼されたウィルソン病患者のうち、病型調査に関するインフォームド・コンセントが得られた例を対象として、当所で作成した「ウィルソン病・病型調査表」（図 1）により実施した。なお、記載は主治医依頼した。これにより得られた発症形態、臨床症状、検査所見等と当所における遺伝子解析結果を比較検討した。なお、セルロプラスミン濃度は、遺伝子解析を依頼されたろ紙血検体を用い、ネフェロメトリー法 [4]により測定した。

＊1　北海道大学病院小児科
＊2　(財)日本食品分析センター 千歳研究所



ウィルソン病　病型調査書

札幌市衛生研究所 保健科学係　行き

病院名　：　　医師名：

患者氏名　：　　性別：M・F　　生年月日　：

■ 発症形態

（ 肝型 ・ 神経型 ・ 肝神経併発型 ）
（ 劇症型 ・ その他 ）
（ 重症型 ・ 中間型 ・ 軽症型 ）
発症年齢 （　　才） □ 発症前診断

■ 臨床経過

■ 臨床症状

		発症時	現在
肝機能異常	:	＋ － 未検	＋ － 未検
Kayser-Fleischer-ring	:	＋ － 未検	＋ － 未検
痙攣	:	＋ － 未検	＋ － 未検
意識障害	:	＋ － 未検	＋ － 未検
構音障害	:	＋ － 未検	＋ － 未検
硬直・麻痺	:	＋ － 未検	＋ － 未検
運動発達遅滞	:	＋ － 未検	＋ － 未検
精神発達遅滞	:	＋ － 未検	＋ － 未検
尿中銅上昇	:	＋ － 未検	＋ － 未検
腎臓障害	:	＋ － 未検	＋ － 未検
錐体外路症状	:	＋ － 未検	＋ － 未検
特有顔貌（fixed - smiling）	:	＋ － 未検	＋ － 未検

■ 発症時脳ＭＲＩ所見

□ レンズ核に軟化・嚢胞形成・グリオーシスなどが認められた。
□ レンズ核への銅、鉄の沈着が認められた。
その他特記事項：

■ 発症時肝エコー・肝ＣＴ所見

□ 肝細胞の繊維化が認められた。
その他特記事項：

■ 検査所見

	発症時	現在
血清中セルロプラスミン濃度	（　　mg/dl）	（　　mg/dl）
血清トランスアミナーゼ		
GOT（AST）	（　　IU/l）	（　　IU/l）
GPT（ALT）	（　　IU/l）	（　　IU/l）
血清銅濃度	（　　ug/dl）	（　　ug/dl）
尿中銅濃度	（　　ug/day）	（　　ug/day）

■ 治療

□ Ｄ－ペニシラミン投与
□ 塩酸トリエンチン投与
□ 硫酸亜鉛投与
□ 肝移植
□ その他：

ご協力ありがとうございました。

図１　ウィルソン病病型調査のためのアンケート・フォーム（患者名は記載なしでも可）

3. 結　果

これまで、日本人ウィルソン病患者について 13 の未報告変異を含む 35 種の変異を同定した。35 種の変異のうち 13 種は塩基挿入(insertion)や塩基欠損(deletion)などにより不完全なタンパク（truncate protein）を生成するもので、責任遺伝子のタンパク産物である ATP7Base の酵素活性は、ほぼ完全に喪失していると考えられる。その他は残存酵素活性があると考えられる点突然変異(point mutation)であった。

病型調査アンケートは、43 件の回答を得たが、このうち十分な記載内容のあった 41 件の結果を表 1 にまとめた。その結果、臨床像・病型と遺伝子型との間には関連性を見出せなかった。また、早期発症例は 2 才 1 例、3 才 2 例であった。

表１　各ウィルソン病患者における遺伝子型および病型

	遺伝子型	発症形態		発症時臨床症状					その他特徴的症状																セルロプラスミン濃度(mg/dl)(ろ紙血，ネフェロメトリー)	治療剤	
		肝型・神経型・併発型 劇症型 重症型・中間型・軽症型	発症年齢	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	血清中CP濃度 (mg/dl)	血清中銅濃度（μg/dl)	尿中銅濃度	肝機能異常	Kayser-Fleischer-ring	痙攣	意識障害	構音障害	硬直・麻痺	運動発達遅滞	精神発達遅滞	尿中銅上昇	腎臓障害	錐体外路症状	特有顔貌						硫酸亜鉛 塩酸トリエンチン Dペニシラミン	
1	A874V / A874V	併 他 中	11	54	117	2.6	40	132.2μg/day	+		+		+	+	+	+	+		+	+					1.9		○	
2	A874V / 2781delC	肝 他 軽	9	123	284	7	18	66μg/dl	+								+								1.7			○
3	Int4-5T/G / G1186S		25	62	27	7.4																			7.4			
4	N696K / R969Q	肝 軽	19	119	265	4.6	30	33μg/dl	+								+								2.3			○
5	1496insT / R778L	肝 他 軽	20	11	9	2.7	60	538μg/day	+	+							+								0.3			○
6	R778L / ?	神	25	22	17	5.4	35		+	+			+				?	+	+	+					*	○	○	○
7	G1035V / N1270S	肝	9	128	220	2.5			+	+			+	+			?		+	+					*			○
8	2004del3 / G1035V	神	18	10	4	2.1	37	178μg/day	+	+			+	+			+		+	+					*	○		○
9	G1035V / P1052L	併	20			4.7		840μg/day	+	+			+	+			+	+	+	+					*			○
10	R778L / R778L	肝 中	7	300	500	7↓	15	20μg/dl	+							+	+								1.5			○
11	L549P / A874V	併	33	29	29	4.0	14	338μg/day	+	+							+								*			○
12	2299insC / R778L	肝	3	79	129	4	48	208μg/dl	+								+								0.9		○	
13	N1270S / 4097del2	肝	5	53	46	5	18	2700μg/day	+	+							+								0.6		○	
14	A1063V / N1270S	肝 中	2	193	330	0.8			+								+								0.8		○	
15	L1083F / D1296N	肝 軽	14	42	85	7.8	22		+								┼								*			○
16	2871delC / ?	劇	12	96	27	7	138	499μg/dl	+	+		+					+	+							8.6		○	
17	2299insC / ?	肝 他 軽	19	34	89	7.7	27	2μg/dl	+																5			○
18	R778L / A874V	肝 他 軽	40	23	33	1.8	58	190μg/day	+								+								1.6			○
19	R778L / A874V	肝 他 軽	36			1.8			+								?								0.9			○
20	R919G / G1186S	肝	14						+								+								5		○	
21	R778L / D1267A	神	13						+					+	+		+		+						0.5		○	
22	Int3+4A/G / N1270S	併	16	27	30	1.4	36	250μg/day		+			+				+			+					*			○
23	2871delC / G1186S	神	12	29	12	0.26				+			+	+			?	?	+	+					*			○
24	G1035V / D1296N	神 軽	32	46	23	2.6	26	384μg/day	+	+							+	+	+						*			○
25	2004del3 / ?	神		43	37	6	47	420μg/day	+	+			+	+			+		+						*			○
26	D1267A / ?	肝	6	424	467	2.7	37	451μg/day	+								+								*			○
27	R778L / R778L	肝	7						+	+							+								0.4			○
28	R778L / N1270S	肝	4	145	167	1.4	8	53.6μg/day	+								+								*			○
29	G1186S / N1270S	肝	9	136	185	2.2	22		+																0.5			
30	N1270S / N1270S	肝 他 軽	10	231	407	4	19	116.5μg/day	+								+								0.3		○	
31	R919G / N1270S			354	568	9	42	478.6μg/day	+								+								10.6			○
32	R778L / R778L	肝 他 中	25						+	+							+								3.2		○	
33	R778L / R778L	肝 中	3	66	87	2			+								+								*			○
34	R778L / G1186S	肝	5	258	490	9	31	114μg/day	+								+								4.5		○	
35	2871delC / ?	肝 中	4	368	508	4	26	134-180μg/day	+								+								3.5		○	
36	2511delA / N1270S	肝	4	53	50	8	6	35μgday	+								+								0		○	
37	Int4-5T/G / R778L	肝 他 軽	16	102	99	13	134	7876μg/day	+	+							+								12			○
38	Int4-5T/G / R778L	劇	11	248	142	18	74	1225μg/day	+	+							+	+							18.1			
39	R778L / G1186S	併	20	39	27	2	27	162μg/day	+	+			+	+	+	+	+	+	+						*	○		○
40	2648delTG / ?	肝 他 軽	34	36	29	3.6	27	84μg/day	+								+								4			○
41	K1010T / L1083F			239	261	5.4	50	208.8μg/day	+								+								*			○

*正常範囲 GOT：11-35IU/l　GPT：6-39IU/l 血清中CP濃度：18-30mg/dl　血清中銅濃度：90-130μg/dl　尿中銅排泄量：10-60μg/day

表１に示した各症例の、発症年齢と発症時の神経症状の有無について表 2 にまとめた。13 歳以上で発症する例において神経症状を伴うことが多くなる傾向があった。

発症年齢と発症時 GOT 値の関連を図 2 に、発症年齢と発症時血清銅濃度との関連を図 3 に示した。発症年齢が低い症例は発症時 GOT の高値を認める肝機能不全等を契機に見出されることが多く、発症年齢と発症時 GOT 値は、相関係数 $r = -0.524$（ $p < 0.01$ ）と有意に負の相関を示した。また、血清銅濃度は、3 例をのぞいて、正常値（90～130μg/dl ～図 3 で網掛けにより示す）より低値を示した。

4. 考　察

点突然変異の場合、その変異該当箇所のアミノ酸がタンパク中でつかさどる機能により酵素活性低下の度合いが異なり、病型に影響を与えると推測されてきた [5]。特に日本人ウィルソン病患者において頻繁に見出される 4 つの点突然変異 R778L（第 4 膜透過部位に存在）、A874V（第 5 膜透過部位）、G1186S（ATP 結合位置の近傍）、N1270S（連絡部位）は、それぞれがコードするタンパク質中の位置に違いがあるため、各変異によるタンパク産物の酵素活性低下の程度が異なり、ひいては病型に違いをおよぼすことが予想された [6]。しかし、今回の結果は、責任遺伝子変異の遺伝子型と臨床像が、単純には結びつか

表２　発症年齢別の例数と発症時の神経症状の有無

発症年齢	1～6	7～12	13～18	19～24	25 以上
主に肝障害で発症した例数	8	6	3	3	4
神経症状を伴って発症した例数		1	3	2	2
総数 (%)	8 (25%)	7 (22%)	6 (19%)	5 (16%)	6 (19%)

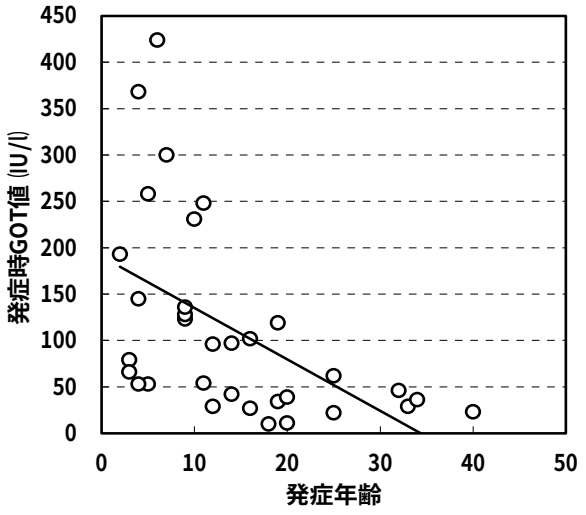


図２　発症年齢と発症時 GOT 値の比較

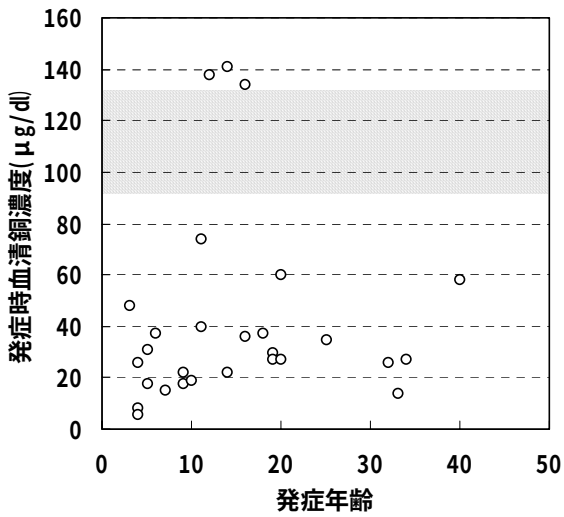


図３　発症年齢と発症時血清銅濃度の比較
（正常値を網掛けで示す）

ないことを示した。特に、遺伝子型がまったく同じ症例に限ってみても、例えば表 1 における患者 10、27、32、33 はいずれも R778L の Homozygote という共通の遺伝子型を持ちながら、発症年齢は 3 例において 3〜7 歳であったが、他の 1 例は 25 歳と大きく離れていた。遺伝子型の多様さに比較して、収集されたデータが少ない面を考慮しても、変異により生じるタンパク産物の活性の予測に基づいた病型の分類は、困難と考えられた。

一方、早期発症例において発症時 GOT 高値例が多いことは、これらの例に劇症例が多いことを示しており、加えて年齢が高くなって発症する例ほど神経症状を伴う傾向が認められた。これはウィルソン病が進行性の疾患であることを裏付けるものであり、早期発見の重要性とともに、マス・スクリーニング実施時期が遅くとも学童期前までが適当である根拠となるものと考えられる。

こうしたことは、ウィルソン病が概して幼若なほど治療成績がよく、特に 12〜13 歳を境に、発症後の治療が困難である神経型発症例が増加するという報告[2]と矛盾しない結果である。しかし、遺伝子型によって発症年齢を予測することは困難である。

いずれの発症年齢でも、血清銅が低値を示したことから、血清銅を指標とした方法も有用と考えられた[7,8]。

なお、尿中排泄銅値については、症例によっては、すでに治療を開始していることで、キレートによる強制排出の影響が含まれることが考えられるため、今回の臨床像評価では検討対象としなかった。

5. 結　語

遺伝子型が確定した症例のアンケート調査で、遺伝子型と病像や病型との間に明確な関連は認められなかった。一方、肝障害などにより発症する症例は幼年期発症例が多く、中には 2、3 歳で発症する例もあったことから、スクリーニング時期は遅くても 3 歳ごろが適当と考えられる。

6. 謝　辞

本研究をすすめるにあたり、その主旨を、ご理解いただき、アンケート調査にご協力いただいた諸先生に深謝いたします。

7. 文　献

1) 清水教一，青木継稔，三笠洋明，他：Wilson 病スクリーニング導入に求められる条件の検討，平成 8 年度厚生省心身障害研究 「効果的なマス・スクリーニングの施策に関する研究」，114-11，1997
2) 青木継稔，清水教一，山口之利：Wilson 病の長期治療と問題点，小児内科，33(7)，921-928，2001
3) 野町祥介，田上泰子，水嶋好清，他： ウィルソン病確定診断法としての責任遺伝子 ATP7B の直接塩基配列解析法，日本マス・スクリーニング学会誌，11，41-46，2001.
4) 野町祥介，三浦友未佳，田上泰子，他：ネフェロメトリーによるウィルソン病マス・スクリーニング，札幌市衛生研究所年報，26，43-46，1999.
5) Nakazono H，Shimizu N：Mutation in ATP7B of Japanese patients with Wilson Disease. Biomed Res Trace Elements 8：37-43，1997
6) John R. Forbes, Gloria His, Diane W Cox：Role of the Copper-Domain in the Copper Transport Function of ATP7B, the P-type ATPase Defective in Wilson Disease. J Biol Chem 274, Issue 18, 12408-12413，1999.
7) 越 和子：ウィルソン病における銅代謝に関する研究Ⅰ．診断および長期治療における銅代謝の指標，北海道医誌 79，(3) 285-296，2004.
8) 越 和子：ウィルソン病における銅代謝に関する研究Ⅱ．尿中銅測定法の検討とマス･スクリーニングの試み, 北海道医誌 79, (3) 297-306, 2004.

Analysis of Phenotype and Genotype in Patients with Wilson Disease

Shosuke Nomachi, Emiri Nakazawa, Yasuko Tagami, Yoshikiyo Midzushima, Masaru Fukushi, Kozo Fujita, Mitsuru Kubota[*1] and Akihiro Yamaguchi[*2]

We have been investigating the method of direct sequencing for diagnosis of patients with Wilson disease while the pilot study of mass screening for this disease has been done nationwide. Until now we have determined the genotype in more than 70 patients with Wilson disease. We obtained the clinical information on those patients and analyzed the genotype and phenotype in 41 patients. We could not find out any relationship between the genotype and phenotype of patients, but there was the negative correlation between patient ages and values of the initial serum glutamic oxaloacetic transaminase. Three patients became ill at the ages of three or less and older patients tended to have neurological complications. Therefore, mass screening for this disease should be done at the ages of less than three.

＊1 Department of Pediatrics, Hokkaido University School of Medicine
＊2 Chitose Institute of Japan Food Research Laboratories