

ウイルソン病とその薬物治療

林 久男,* 鈴木理恵, 涌澤伸哉

Wilson's Disease and Its Pharmacological Treatment

Hisao HAYASHI,* Rie SUZUKI, and Shinya WAKUSAWA

*Department of Medicine, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Hokuriku University,
Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan*

(Received June 18, 2004)

Wilson's disease is an inherited copper toxicosis caused by defective putative copper transporting ATPase in the liver. Because of impaired biliary secretion, copper remains in the liver, resulting in chronic hepatic lesions including fatty metamorphosis, chronic hepatitis and cirrhosis. In the latter stage, extrapyramidal syndromes may develop with and without symptomatic hepatic lesions. Acute liver damage associated with hemolysis and deep jaundice may be the first manifestation. The majority of patients show hypoceruloplasminemia, which has been used as a screening test for the disease. A large number of mutations in the ATP7B gene have been reported. Thus, genetic diagnosis might be limitedly used to presymptomatic diagnosis of siblings when mutations are identified in an index patient. Introduction of penicillamine caused a revolution in the treatment of patients. Another chelater, trientine, is now available for those intolerant of penicillamine. Tetrathiomolibdate and zinc acetate are additional alternatives currently being tested. Hypoceruloplasminemia and further reduction after chelation therapy may be associated with iron overload. This complication is closely related with impaired transport of ferrous ion due to ferroxidase deficiency. Noncompliance and teratogenicity are other major concerns because any treatment with the agents listed above is a life long regimen. Despite various side effects of penicillamine, its teratogenicity is negligible. These data indicate that penicillamine is the first choice of drug for this disease.

Key words—ATP7B; copper chelation; iron accumulation

はじめに

ウイルソン病では銅が肝臓に蓄積するため肝硬変に進展するのが主病変であり、合併症の錐体外路障害では、ふるえ・不随意運動に始まり末期には寝たきりとなるので、いずれにせよ予後の悪い疾患であった。¹⁾ 低セルロプラスミン血症を利用した簡易診断法²⁾と銅の内服キレート剤であるペニシラミン(D-penicillamine)の導入は、^{3,4)} 本症の診断・治療に新しい道を開いた。本症は若年性肝硬変の成因の1つであるが、肝炎ウイルスなどによる病態と著しく異なる点は、薬物治療がほぼ確立しており、肝硬変に至った症例でも社会復帰が可能になることである。^{5,6)} しかしながら、臨床症状が多彩であるために

診断が遅れ、重度の錐体外路障害を発現した患者では、薬物治療にも限界がある。したがって、まず正確な診断をして、⁷⁾ 有効性の確認された薬物による除銅治療を早期に開始し、これを継続することに尽きる。新しい薬剤については科学的な評価に基づく適切な選択が必要である。⁸⁾ 1993年、メンケス病⁹⁾の疾患起因性遺伝子ATP7Aのクローニングに引き続き、¹⁰⁻¹²⁾ ウイルソン病の病因は肝細胞の銅輸送蛋白ATP7Bの異常であることが確認され、¹³⁻¹⁵⁾ 遺伝子診断も導入された。^{16,17)} 本症は遺伝性疾患であるので、薬剤によるQOLの向上、維持に留まらず、結婚、出産に対する適切な指導も必要である。自験例について薬物治療の実態と、結婚観、出産経緯、子供の健康度に関する調査をした。その結果を基に、薬物治療とその問題点及び対策について論ずる。

1. 銅代謝とその異常による病態

1-1. 銅は必須元素である 銅は鉄とともに重

北陸大学薬学部薬物治療学教室 (〒920-1181 金沢市金川町ホ-3)

(*現, 〒491-0871 一宮市浅野堀金 45-3)

e-mail: h-hayashi@hokuriku-u.ac.jp

*本総説は、平成15年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

要な必須微量元素である。したがってその適量は生体の機能維持に必要であるが、その過不足は病的状態を誘発する。銅の体内含有量は体重の 1.4×10^{-4} % であり、機能のよく知られた銅蛋白にはセルロプラスミン、チトクローム C オキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) などがある。肝臓で合成され血液中に分泌されるセルロプラスミンはフェロキシダーゼの別名を持ち、腸上皮細胞血管極に同定されたヘファエスチン (hephaestin) とともに、¹⁸⁾ トランスフェリンの持つ鉄の輸送能に深く関与している。チトクローム C オキシダーゼはミトコンドリアでの好気性呼吸機能に欠くことができない酵素である。SOD はラジカル消去酵素としてミトコンドリアを出たラジカルによる細胞内小器官の障害を防ぐ。

1-2. 銅の腸吸収・胆汁排泄とその異常 成人の銅必要量は 1.6—1.8 mg/day であり、食物として摂取された銅は、腸管上皮で吸収され、門脈から肝臓に達する。そこでは多くの銅蛋白合成に利用され、主な銅蛋白であるセルロプラスミンは循環血液中に分泌される。血清銅の 90% 以上はセルロプラスミンと結合しておりセルロプラスミンに強いフェロキシダーゼ活性を与えている。^{19,20)} 正常人では余剰な銅は肝細胞から胆汁中に排泄される。メンケス病の銅輸送 ATPase (ATP7A) のクローニングを契機¹⁰⁻¹²⁾ に銅の細胞内動態の詳細が明らかになった (Fig. 1)。肝臓では細胞膜銅輸送蛋白 (hCtr1)²¹⁾ により取り込まれ、細胞質に入った銅は種々のシャペロン蛋白の介添えを受ける。その 1 つである Atox1 と一緒になり細胞内を移動し、銅輸送 ATPase (ATP7B) により Golgi 膜系に入る。ここで銅を受領したセルロプラスミンは血液中に、過剰な銅は毛細胆管側に向かう。ATP7B 蛋白に機能障害のあるウイルソン病ではこの分泌系への銅輸送が障害される。銅を胆汁中に排泄させる銅輸送シャペロン Murr1 の欠損症がイヌで報告されている。²²⁾ この Murr1 遺伝子がヒトの非ウイルソン型の銅過剰症で検討されたがその変異は確認されなかった。²³⁾ 最近、この遺伝子変異がウイルソン病の若年発症と関連する可能性が示唆された。²⁴⁾ 二次性の銅代謝異常として、食事の銅不足や腸炎などによる吸収障害は銅の欠乏症となる。また、胆汁の流出障害は銅蓄積を引き起こす。従来は、総胆管結石による良性の

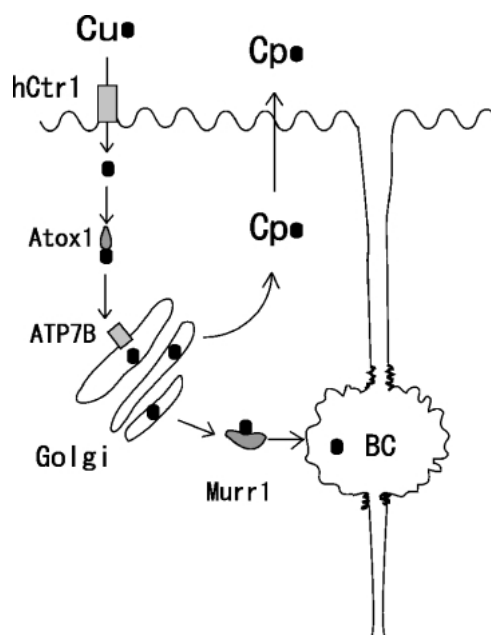


Fig. 1. Schematic Illustration of Copper Homeostasis in the Hepato-Biliary System

A plasma membrane protein hCtr1 has a high affinity with Cu (1) uptake. Copper delivery to the secretory pathway of the Golgi system is transferred by Atox1 copper chaperone. ATP7B play an essential role in the copper transport of the Golgi system. Excess copper is transported to Murr1 and secreted into BC, while copper incorporated into ceruloplasmin protein is secreted into blood stream. In Wilson's disease, ATP7B is genetically defective, resulting in copper accumulation in the liver. Murr1 dysfunctions in copper toxicosis of Bedlington terria.²²⁾ BC: bile canaliculus, Cp: ceruloplasmin.

閉塞性黄疸は銅のほかビリルビンや胆汁酸の毒性も加わり、数年で肝硬変になることが知られていたが、治療法の発達によりこの種の胆汁性肝硬変は死語となった。内科的な原発性胆汁性肝硬変には、ウルソデオキシコール酸が著効を示すことから、²⁵⁾ 銅の毒性が論じられることはない。

1-3. 銅の細胞毒性 ウイルソン病の多くは血清の主な銅蛋白であるセルロプラスミン濃度が低いいため、血清銅の総濃度は低い。しかし、肝細胞内では大量の銅が溜まっており、血清中でもセルロプラスミン非結合型の自由銅は多く、大脳基底核など脳内にも沈着し易く、また腎臓から尿中にも大量に出る。銅は、鉄とともに生体内に存在する遷移元素で、特に自由銅は Fenton 反応を介して強いラジカル産生能を発揮する。²⁶⁾ 肝細胞の Golgi-endosome 系への輸送障害のため²⁷⁾ 蓄積した銅はミトコンドリア、核など細胞小器官を障害する。エネルギー代謝を阻害した結果は小脂肪滴の集団から核を圧迫する大型の脂肪球まで混在する多彩な脂肪変性となり、

核では糖原を持つ巨核を出現させ、さらに細胞壊死、アポトーシスを引き起こす。^{28,29)} また、肝細胞の自衛能としてメタロチオネインを誘導してカプロチオネインとしてライソゾームに取り込み銅の毒性を緩和する。³⁰⁾ 肝外病変の発生は食物からの銅吸収が肝臓での銅貯蔵能を凌駕した結果である。この時点で、肝臓を出た銅は中枢神経、特に錐体外路系の神経細胞に沈着し細胞を破壊するため、ウイルソンの記載した本症の病態が完成する。治療により銅の酸化ストレスが排除されない限り、肝臓や錐体外路系の障害は進行する。また、大量の肝細胞壊死などで、銅が血液中に流出すると溶血毒として作用する。³¹⁾ ヘモグロビンから遊離したビリルビンと鉄は肝臓の負荷となり、第2の肝細胞壊死を引き起こす。この悪循環がウイルソン病にみられる予後不良な劇症肝炎の背景と考えられる。^{32,33)}

2. ウイルソン病

2-1. ウイルソン病とは 病名の由来は、1912年、SAK Wilson が *progressive lenticular degeneration* として、家族性の予後不良な肝硬変を伴う錐体外路障害を示す疾患を報告したことによる。¹⁾ その原因は、幾多の議論を経て、銅の中毒症であることに落ちつく。³⁴⁾ 銅は肝臓に蓄積し、初期には強い脂肪変性、ついで組織学的にはウイルス性とは区別できない慢性肝炎を呈し、³⁵⁾ 最後に肝硬変が完成する。^{36,37)} 現在でも多くは診断が遅れ進行した肝病変で発見される。その間、肝臓に蓄積した銅が何らかの契機で血液中に逸脱すると溶血を引き起こし、多くは劇症肝炎に進展する。非肝臓型の慢性発症としては、振戦に始まる錐体外路障害が有名である。不随意的振戦と筋硬直が主症状で、適切な治療をしなければ運動障害は進行性であり、臥床を余儀なくされ、摂食も不能となる。就学児では神経型の発症により学業成績が急速に低下することがある。これは書字能力の低下だけでは説明できない側面を持つ。³⁸⁾ 少数の患者は精神障害を持ち、病院に収容されていることがある。角膜輪として有名な *Kayser Fleischer ring* (KF 輪) は³⁹⁻⁴¹⁾ 銅蛋白の蓄積像であり、視力障害はない。いずれの病型も基礎疾患として肝病変を持つ。肝硬変まで進展すると一般の血液検査がほぼ正常となるので注意が必要である。

2-2. ウイルソン病の診断 診断の理論的支柱は肝組織の銅を測定しその蓄積を証明することであ

るが、^{42,43)} 組織採取にはリスクを伴うこと、針生検で得た組織は小さいので場所むらのあることが問題である。本症の簡便なスクリーニング法は低セルロプラスミン血症の確認である。²⁾ 24時間蓄尿による銅の尿排泄も高く評価されている。⁴⁴⁾ 近年、末梢血からの *ATP7B* 遺伝子解析も導入された。^{16,17)} 2003年に公表された国際的な診断基準は臨床病型により必要な検査項目を明記している。⁷⁾ 発病し治療に必要な患者は侵襲の強い肝生検とコストのかかる遺伝子診断をしなくても確定診断できる。錐体外路症状を呈するもの、KF 輪の確認できるものは進行例であり、診断基準も簡単明瞭である。早期の肝型ではスコアで判定する。臨床症状の完成しない早期にスコアで確実に診断し、治療を開始することが強く望まれる。未発病者の診断には遺伝子解析が必要であるが、発病してから治療しても生命予後はよい。

症候性を神経型と肝型に分類し、診断する。

1) 神経型とは初診時に神経症状ないし精神病症状を呈するもの。

N1: Associated with asymptomatic liver disease ; 通常、肝硬変を示す。

N2: Not associated with asymptomatic liver disease ; 肝生検により進行した肝病変のないことが証明されたもの(線維化ないし脂肪変性はあってもよい)。

NX ; 肝病変の有無について検索のないもの。

上記3つの神経型の診断：錐体外路症状のほか、KF 輪と臨床検査(低セルロプラスミン血症、尿中銅排泄の増加 $100 \mu\text{g}/24 \text{ hrs}$ 以上)が揃えば診断は確定的。診断にこれ以上の検査は不要。

2) 肝型では初診時に神経症状のないことを臨床症状と神経学的検査で除外する。

H1: Acute hepatic Wilson disease ; 健康であったヒトが、肝炎ないし溶血、あるいは両方の症状で、黄疸を呈する。予後が悪いので、急性肝不全の管理とできれば肝移植を考慮する。

H2: Chronic hepatic Wilson disease ; 慢性肝障害として発病するもの。肝疾患の症状はなくてもよい。肝型の診断：KF 輪(専門家による細隙灯検査が必須)があれば、低セルロプラスミン血症と尿中銅排泄の増加で診断確定。これら以外の検査結果は参考にしないでよい。診断に肝生検は必要でないが、あれば肝病変の評価に役立つ。その時には銅含有量も測定する。肝型でKF 輪のない時、ないし神経型で

も上述の基準を満たさない非典型例では下記のスコアにより診断する。

3) 家族調査で無症候性の同胞を診断するには、a) 症状があれば、スコアを適応する、b) 症状のない時には変異遺伝子検索以外にヘテロとホモを区別することは難しい。

ウイルソン病の診断スコア：KF 輪 (2, 0)，神経精神症状 (2, 0)，クームス試験陰性の溶血 (1, 0)，尿中銅 (2, 1, 0)，肝銅含有 (-1, 1, 2)，銅染色 (1, 0)，血清セルロプラスミン濃度 (2, 1, 0)，遺伝子解析 (4, 1, 0) から合計する。4 点以上は高い可能性。2—3 点は可能性あり、さらに検討。0—1 可能性なし。

2-3. ウイルソン病の診断検査 病態に則した検査指標は肝組織中の銅含有量測定である。^{42,43)} 原子吸光法で 250 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量以上あれば 2 点が与えられる。正常値はマイナス 1 点。原発性胆汁性肝硬変でも銅蓄積がみられるがこの基準値を上回することは稀である。銅の組織化学的検索は感度が悪く、場所むらも多いため信頼できない。陽性は 1 点、陰性でも減点にはならない。肝生検は侵襲が強く、時には禁忌であるため実施できないことがあるため、以下に述べる他の診断基準だけでも確定診断できるように工夫されている。

最も簡便な方法である低セルロプラスミン血症の確認には²⁾ 2 点が与えられている。原因不明の肝疾患、ふるえを示す神経障害、溶血をみた患者には血清セルロプラスミンを測定すべきである。その測定には一般に蛋白を測る方法が普及しているが、本症では銅を持つホロ蛋白量が減少するのでそれを反映したフェロキシングゼ活性を求める方法が推奨される。その差異はわずかであり、いずれの測定法でもウイルソン病のスクリーニングに使用できる。低セルロプラスミン血症を見逃したため、原因不明の慢性肝疾患として肝庇護薬を長期に投与され、銅キレート治療の開始の遅れる症例が多い。この蛋白の欠損した病態は無セルロプラスミン血症と言われる鉄過剰症をきたす全く異なる遺伝性疾患である。^{45,46)} ふるえを示す共通点があり血清セルロプラスミンの測定は両疾患のスクリーニングとしても役立つ。また、セルロプラスミンは、アルブミンと同様に、肝臓で合成され血流中に分泌される蛋白であり、低栄養でも低下する。一部の患者、特に活動性

肝炎を持つ患者では血清セルロプラスミンが正常値を示す時があるので注意する。⁴⁷⁾

尿中の銅排泄量は、診断の有力な指標である。^{44,48)} 排泄量が 100 $\mu\text{g}/24 \text{ hrs}$ 以上に増加していれば 2 点となる。また、キレート剤内服後に著明に増加するし、治療中の薬剤減量の判定（銅の貯蔵がなくなればキレート剤による排泄効果が低減するので、投与量を減じ維持治療に移行する）にも使用できる。尿中に排泄される微量なセルロプラスミンは血清濃度を反映し、多くの患児ではその排泄量が低値となるので、わが国では幼児のスクリーニングに検討されている。⁴⁹⁾

遺伝子診断については次章で詳しく述べる。本症は常染色体劣性遺伝である。責任遺伝子変異のホモないしヘテロ 2 つの同定には 4 点、ヘテロ 1 つの同定には 1 点を与える。前者であれば未発症でも診断確定する。しかし、世界的にも遺伝子診断を臨床導入するには解決すべき問題が山積している。前述の肝組織採取の回避とともに、他の検査だけで診断できるよう工夫されている。例えば、低セルロプラスミン血症 (2 点) と尿中銅の排泄増加 (2 点) で診断確定する。

3. ウイルソン病の遺伝子診断

3-1. ATP7B 遺伝子と変異 ウイルソン病遺伝子は 1993 年、3 つのグループによりクローニングされ ATP7B と名付けられた。¹³⁻¹⁵⁾ 続いて ATP7B の変異は多種多様であることが分かり、それが臨床発現の多彩さを反映するのではと期待されたが、^{16,17)} その後の報告では phenotype と genotype の相関を支持するものはない。わが国の調査も含め⁵⁰⁻⁵⁴⁾ 各国から 300 種前後の責任遺伝子変異の報告がある。東海・北陸地方を中心としたわれわれの調査では 2871delC (15.9%)、1708-5T>G (11.0%)、2333G>T (Arg778Leu) (13.4%) の 3 つが主な変異であった。⁵⁷⁾ 2871delC (15.9%) と 1708-5T>G (11.0%) は当地域に多いものである。41 家系中 11 家系がホモ接合体保有で (Fig. 2)、大半は異なる変異を 2 つ持つ混合ヘテロ接合体保有で発症していた。この様に多彩な変異遺伝子が 21 のエクソンに散在しているので本症の遺伝子診断は容易でない。もう 1 つの問題は臨床的にウイルソン病と診断された患者の一部に ATP7B 変異の同定されないことで

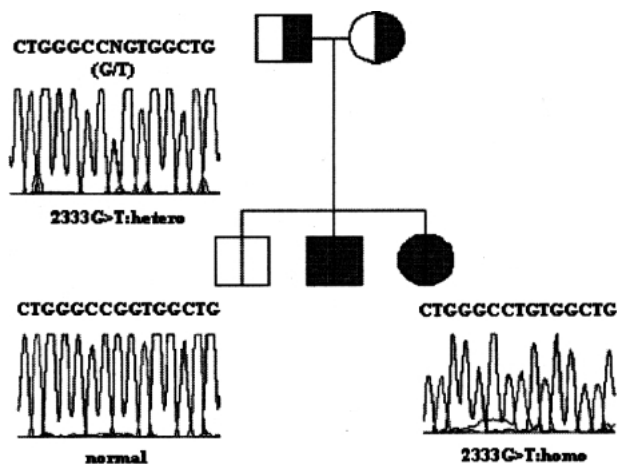


Fig. 2. A Homozygote of ATP7B Mutation in Non-Consanguineous Family

A pedigree of a patient with Wilson's disease who is homozygous for 1871delC mutation. The homozygosity in non-consanguineous family might not be infrequent because the mutation is highly prevalent in the central area of Japan.

ある。これは技術的な問題であるのか、ヘモクロマトーシスで明らかになったように、⁵⁵⁾ 遺伝子レベルで異なった第2、第3の銅過剰症があるのか、今後の研究課題であろう。²³⁾

3-2. 遺伝子診断の利用価値 責任遺伝子変異の検出が診断的価値の高いことは既に述べた。また、発端者の変異が判明すれば、家族調査に利用できる。これにより無症候性の同胞が同定され、治療開始が早まったとの報告もある。^{52,56)} しかし、血液検査（一般肝機能検査とセルロプラスミン測定）による家族検診に対しどの程度、診断精度と経済効果を改善したのかとなると、利点はないと言える。患者のスクリーニングとしても血清セルロプラスミンの測定が優れている。少し旧いがわれわれの成績では責任変異の同定できない症例が20%あった。⁵⁷⁾ 血清セルロプラスミンは20人に1名が正常値を示すと言われる。すなわち患者を見逃す危険率は5%である。⁴⁷⁾ また、責任遺伝子変異の同定された患者ないしその親族であっても、その人たちの結婚相談には不向きである。異なる変異との組合せである複合ヘテロ接合体保有でも発病することから、婚約者についてはすべてのエクソンの変異が検討対象となる。現在の技術では結婚相手がATP7Bのヘテロ変異保有者であるかどうか100%の確信を持って答えることは不可能である。

4. ウイルソン病の治療

4-1. 治療法と薬剤 慢性型のウイルソン病で

は銅の毒性を排除することが治療の基本である。わが国では、従来から使用されていたジメルカプロール (BAL)^{57,58)}のほか、銅に特異性の高いキレート剤として、ペニシラミン^{3,4)}とトリエンチン (trientine hydrochloride)^{59,60)}が広く使用されている。酢酸亜鉛 (zinc acetate)^{61,62)}はアメリカのBrewer一派で使用されている。テトラチオモリブデン (tetrathiomolybdate: TTM)⁶³⁾は亜鉛治療の欠点を補うものとして検討されている。銅含有の高い食物とそれらを避けることの意義を教えることは無駄ではない。⁶⁴⁾ ちなみに主な食品の銅含有量は、肝臓 (20—50 mg/kg 湿重量、以下同じ)、貝類 (20—30)、ナッツ類 (10—30)、キノコ (10—20)、豆類 (7—10)、米・小麦 (5—8)、海老 (4—8)、食肉・魚肉・鶏卵 (1—5) である。しかし、体内に蓄積した銅が排除された時点、すなわち初期治療から維持治療に移行して銅の再蓄積を防ぐ過程でも低銅食単独の治療は不十分である。それは主食や主な副食に銅が広く含まれているため、銅の摂取制限には限界がある。嚴重な食事治療をしても、キレート剤ないし酢酸亜鉛の空腹時内服を続ける必要がある。

劇症肝炎では救命が治療目的となる。この病態は、従来亜急性肝炎と呼ばれたように進行が比較的緩徐でかつ極めて予後不良であるので肝移植の準備がしやすい。そのため肝移植の黎明期からよい成績が得られた。^{65,66)} ウイルソン病の劇症肝炎は現在でも肝移植以外では救命しえない。したがって、わが国では家族を提供者とした生体肝移植が実施される。ヘテロ接合体の保有者 (両親、同胞の半数) の肝臓でも銅排泄能は十分あり、銅代謝は改善される。⁶⁷⁾ 移植を受ければ銅のキレート剤は不要となるが、免疫抑制剤などによる移植後の管理は終生必要となる。

4-2. ペニシラミン (D-penicillamine) 本剤2分子は銅1分子と可溶性キレートを作り、尿中に排泄される。空腹時に経口投与する。抗ピリドキシン作用があるので、^{68,69)} ビタミンB₆を併用する。免疫抑制作用、⁷⁰⁾ コラーゲン合成阻害作用⁷¹⁾もある。この薬剤がウイルソン病に導入されて約50年の治療経験が得られた。^{3,4)} この薬物は発病初期、肝病変で言えば脂肪肝や慢性肝炎期から使用すれば、患者は健常人と同じ生命予後が期待できるほど予後を改善する。^{5,6)} 肝機能の改善は特に顕著で、黄疸や腹水の出現した肝不全状態からでも劇的に脱却できる。

原則として 300 mg/日より始め、1—2 週毎に増量するが、開始後数日—数週間に起こる副作用に発疹と高熱発作がある。^{72,73)} これらの副作用のないことを確認しながら、初期治療に必要な量まで増やす(成人で 1200 mg/日)。発疹や高熱(典型的な場合、悪寒戦慄を伴い 39°C 以上になる)をみた時にはいったん中止する。発疹が消退した時点から、1) 50 mg/日の少量単独、ないし 2) ペニシラミン 300 mg/日とプレドニゾロン 30 mg/日との併用で、再開する。^{5,64)} 前者の少量再投与だけでも副作用をみることなく目的量まで増加できる。再び副作用をみた時には、2)ないしその変法であるペニシラミン 50 mg/日とプレドニゾロン 30 mg/日で 3 度目の挑戦をする。ステロイド併用ではペニシラミンが目的量まで到達したら、ステロイドを漸減する。多くの患者はステロイドを切っても副作用を再発しない。ステロイドの 1—2 ヶ月の使用で重篤な副作用をみることは少ないが十分に注意する。これはトリエンチンの発売される前の対処法であるが、ペニシラミンが患者の予後を革命的に改善することを考慮すれば、この副作用克服法は実績もあり、ほぼすべての薬剤性肝障害に対しチャレンジテストが禁忌となっている現在でも、例外的に試みるべき薬物治療導入法である。

ペニシラミンの中期・長期投与中に出現する副作用のなかで注目されているのは神経症状の増悪である。^{74—76)} これは銅代謝の急激な変動のため銅が脳組織に沈着するためではないかとの仮説がある。そのほか骨髄抑制による無顆粒球症、⁷⁷⁾ 再生不良性貧血、⁷⁸⁾ ネフローゼ症候群、^{79,80)} SLE、⁸¹⁾ Goodpasture 症候群、⁸²⁾ 閉塞性気管支炎、⁸³⁾ 筋無力症、⁸⁴⁾ 蛇行状穿孔性弾力線維症⁸⁵⁾ などがある。炎症や感染症では、創傷治癒が遅れるのでペニシラミンを中断する。⁸⁶⁾ 本症にみられる鉄過剰及びペニシラミン治療後の鉄代謝については後述する。

4-3. トリエンチン (Trientine Hydrochloride)

トリエンチンは銅イオンと 1 対 1 で錯体を形成し、銅の尿中排泄を促す。空腹時に経口投与する。ペニシラミンに不耐性な患者に対する薬剤として開発された。^{59,60)} ペニシラミンにより強い副作用が出た時は、本剤に切り替える。前者の副作用の諸症状は速やかに改善する。⁸⁷⁾ わが国での使用経験でも本剤の副作用は比較的少ないとされる。^{88,89)} 治療中止に至

った鉄芽球性貧血が報告されている。^{90,91)} また、前述したようにペニシラミンは錐体外路症状を増悪させる可能性の高いことから、神経病型には本剤を第 1 選択とする考えがある。本剤はペニシラミンと比べ、キレート力が弱く、長期投与の実績もないので、その使用はペニシラミンがどうしても使用できない症例に限定すべきである。このキレート治療による鉄代謝もまとめて後述する。

4-4. その他の薬剤 BAL はペニシラミンの登場するまで汎用された重金属解毒剤である。^{57,58)} 現在ではペニシラミンないしトリエンチンによっても神経症状の改善しない症例に使用する。筋肉内注射の場所を変えて繰り返す。これにより神経症状の改善をみることがある。効果が出るのに 5 回/週×4 週を 6 クールは必要。

酢酸亜鉛が再評価されている。空腹時に投与された亜鉛は腸管上皮でメタロチオネインを誘導する。⁹²⁾ 食物より吸収された銅はメタロチオネインと結合して腸上皮細胞に留まり、細胞の剥離脱落により糞便排泄を促す。その結果として、腸管での吸収を阻害する。この薬剤は銅の吸収を抑制するが、体内銅を積極的に排泄させる能力はない。したがって、体内に蓄積した銅が排除されたのち、すなわち維持治療期の治療薬の 1 つである。外国では無症候性の患者の初期治療など、⁶²⁾ 新しい適応を支持する論文が公表されているがわが国での成績はない。酢酸亜鉛はペニシラミンないしトリエンチンとも結合するので同時服用を避ける必要がある。副作用に胃腸障害があり怠業の原因となる。

TTM が銅中毒に有効であるとする Suzuki らの一連の基礎研究がある。^{93,94)} 経皮的に投与された TTM は肝臓の銅と急速に結合しその毒性を抑制するとともに徐々に糞便中に排泄される。除銅治療における亜鉛治療の理論的欠陥を補う方法として、TTM を使用した後に亜鉛内服を始める臨床研究が試みられている。^{95,96)}

4-5. 選択薬剤とわが国の保険適応 ペニシラミンの導入によりウイルソン病が不治の病から治療できる疾病になったことには異論がない。⁸⁾ 強い神経障害にはペニシラミンと BAL の併用が推奨される。BAL は特異的に低い重金属中毒解毒剤で現在も保険認可されている。ペニシラミンの副作用が強い時には、トリエンチン、酢酸亜鉛が選択肢とな

る。トリエンチンは、ペニシラミンの開発者である Walshe が、ペニシラミンに不耐性の患者を治療するため開発した銅キレート剤であり、^{59,60)} わが国でもこのような症例に限りその使用が認可されている。この不耐性をどの程度まで我慢して判断するかは難しい問題であるが、医師の経験、患者の希望などで適切な答えは出る。わが国の保険適応を逸脱するが、トリエンチンの初期治療には神経症状の増悪が少ないとの経験から、この薬剤を神経型の第1選択とする認識が神経内科医を中心に浸透している。アメリカでは銅キレート薬による初期治療の終了した患者の維持治療に酢酸亜鉛が認可されている。わが国では亜鉛剤、TTM とともに保険適応はない。

4-6. 維持治療 キレート剤による初期治療により貯蔵銅がなくなった時点で維持治療に入ることになる。症例毎に肝組織を採取して銅含有量を測定するのは困難であるので、臨床症状の改善、尿中銅の正常化、KF 輪の消失などを参考にしてその時期を決める。⁸⁾ キレート剤の初期治療により肝機能は著明に改善され、腹水・黄疸の消失、活動性肝炎の鎮静化がみられる。神経症状の改善が期待できるのは2ないし3年以内であり、効果の不十分な症例に遭遇する。これは神経細胞死により機能が脱落しているためとされる。精神科的病像や性格の変化に対する改善は期待できない。錐体外路症状があるからといって初期投与量を延々と続けることは避ける。アメリカでは酢酸亜鉛が維持治療の1つとして認められている。今後、遺伝子診断の普及、血清ないし尿セルロプラスミン測定の実用化への取り組みにより未発病患者の診断が可能になる。発症してから治療すればよいが、その予防には維持治療と同じ方法、すなわちキレート剤の維持量投与ないし酢酸亜鉛によるバランス治療が適応となる。

4-7. 怠薬ないし休薬 生涯の治療が求められる本症の治療では常に怠薬が問題となる。1) 空腹時投与が嫌われる、2) そのため胃腸障害も発生し易い、3) 他の薬剤、特にビタミン B₆ とパーキンソン治療薬は、食後に服用する、4) 治療効果が目に見えない、などが患者を怠薬に追いやる。多くの患者が怠薬を経験するので、その期間の安全性を見込むことも重要であろう。後述するが、ペニシラミン治療には催奇形性はないとの見方が多い。^{97,98)} 妊娠判明後に健児を望んで薬剤を減量ないし休薬するこ

とがある。キレート剤で体内銅を排除しておけば妊娠中の休薬に耐える。亜鉛治療で過剰な体内銅を残すのは怠薬した時、その潜在的毒性が早期に発現する可能性を意味する。ペニシラミンが唯一の治療薬であった時代には、その副作用のため必要量が投与できず、慢性肝不全に陥る症例では肝移植が適応であった。現在でも、怠薬すれば慢性肝不全になるのは当然である。また、怠薬、特に亜鉛治療の中断では急性肝不全の危険も高まる。脳死移植が普及しないわが国の現状では怠薬による肝移植待機者を少なくする努力も必要である。

4-8. 薬物治療と低銅食 銅は植物性、動物性食物に幅広く含まれているので無銅食を作成するのは困難である。努力して低銅食を作ることになるが、その努力に対する効果の利益は極めて悪い。遺伝的な責任の一端を担う母親が食事の世話をする学童期に低銅食を摂るのは可能であっても、患者が社会人となり自立した環境でこれ続けるのは難しい。維持治療期に低銅食を摂取できるとしてもキレート剤（あるいは亜鉛）は必要であるので、選択肢として「低銅食+キレート剤1錠」と「食事制限なしのキレート剤2錠」の2つを示せば、多くの患者とその家族は後者を選ぶであろう。一生涯、空腹時に薬剤を服用することと強い食事治療を課すことは、机上の空論であり、怠薬の遠因になること、患者や家族の近代医学への失望につながり、民間治療に向かわせることを銘記すべきである。したがって、キレート剤の服用がその副作用のため制限される場合を除き低銅食を推奨すべきではない。

5. ウイルソン病と鉄蓄積

5-1. セルロプラスミンと鉄代謝 血清中のセルロプラスミンはその主なフェロキシダーゼ（酵素学的には同義語として使用されている）である。ウイルソン病では血液中のセルロプラスミン、特に銅の結合したフェロキシダーゼ活性の高いホロセルロプラスミンが低下している。そのため鉄の輸送が低下し鉄沈着が起こり易い。特に、鉄の生理的排泄経路のない男性患者では注意すべきである (Fig. 3)。われわれは20年前、ウイルソン病の成人男性患者の肝細胞ライゾゾームには銅のほかに、硫黄と鉄の蓄積していることに気付いた。³⁰⁾ 硫黄は銅と3対1の比率で存在することからメタロチオネインであろうと推論した。本症に鉄蓄積の発生し易いことが認

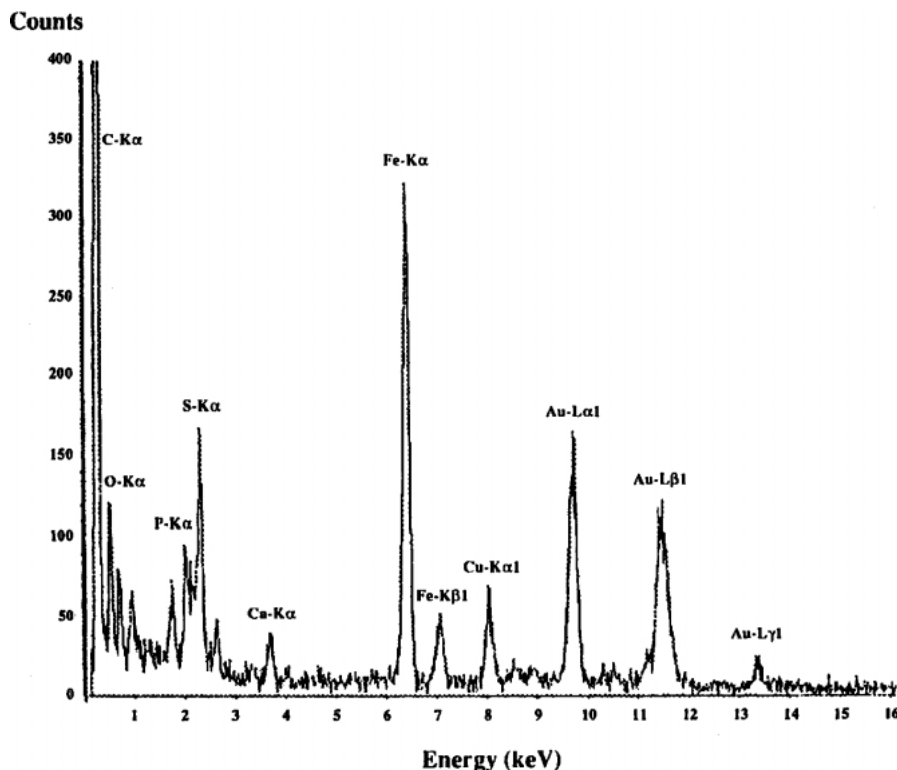


Fig. 3. X Ray Microanalysis of Hepatocellular Lysosome Obtained from a Male Patient with Wilson's Disease

The spectrum yielded from a hepatocellular lysosome after electron beam exposure showed that its matrix contained phosphorus, sulfur, calcium, iron and copper. Gold spikes are noise from the mesh used. Reproduced with the permission of publisher.¹⁰⁰⁾

知されるには 20 年の歳月を要した。^{99,100)} ウイルソン病、特にキレート治療後に鉄蓄積の危険性が高まることを理解するには患者の持つ疾患がウイルソン病¹³⁻¹⁵⁾であることとヘモクロマトーシス¹⁰¹⁾ではないとの遺伝子診断の裏付けが必要であり、また中枢神経系の鉄蓄積症として発病する無セルロプラスミン血症の存在^{45,46)}が世界的に認知されるまで待つ必要があった。

5-2. キレート治療によるセルロプラスミンの合成低下と鉄蓄積 ウイルソン病では治療前から低セルロプラスミン血症があり、キレート剤による治療中では利用できる銅はさらに減少するため、この銅蛋白の合成・分泌は極端に低下する。^{99,100)}したがって本症における鉄蓄積は、適切な治療と宿命的な関連があり、その背景を冷静に理解し、適切に対応すべきである。患者に対してはキレート治療に不安感をいだかせないことが必要である。鉄蓄積は患者の年齢、性により著しく異なる。成長期には鉄の需要が高いため、過剰になることは極めて稀である。また、成人女性では生理と出産から鉄平衡は負になり易い。ウイルソン病でも鉄過剰は成人男性患者に

目立つ。¹⁰²⁾ 女性も閉経後には問題になるはずである。鉄蓄積はキレート剤で治療中の肝機能障害の再来として観察されることもある。⁹⁹⁾ この時には薬剤の過剰投与のチェック（あれば適切な維持量への減量）と瀉血による除鉄を行う。必要なキレート剤の投与の中止や他の薬剤への変更は不要である。

「鉄蓄積はペニシラミンに特有な副作用であり、トリエンチンは鉄の平衡を負にする。したがって、ヘモクロマトーシスの遺伝子保有者（C282Y のホモ接合体保有者）には後者を推奨する」との意見がある。¹⁰³⁾ われわれは少数の経験ではあるがトリエンチンが鉄平衡を負にした症例はない。¹⁰⁰⁾ 2名の成人男性患者ではトリエンチンを投与しても、ペニシラミンと同様に、血清セルロプラスミン値はさらに低下した。いずれの症例も鉄蓄積が持続ないし増悪したので瀉血による除鉄を施行した。キレート剤による鉄蓄積自体は重篤な副作用ではない。

5-3. 銅欠乏性貧血と造血能の低下 銅欠乏では銅蛋白や銅含有酵素の合成も低下する。銅蛋白であるセルロプラスミン、チトクローム C オキシダーゼ、SOD の機能低下は鉄代謝を直接ないし間

接的に阻害し、貧血になる。この鉄欠乏に類似した貧血の特徴は鉄ではなく銅の補充投与に反応し速やかに改善することである。銅欠乏症のメンケス病は貧血を伴う。また、銅蛋白の欠損症は銅欠乏性貧血の成因の理解に役立つ。¹⁰⁴⁾ 鉄の輸送に必須なフェロキシダーゼ^{19,20)}を欠く遺伝的な無セルロプラスミン血症では貯蔵された鉄が動かないため軽い貧血を伴う肝臓や中枢神経の鉄過剰症となる。^{45,46)} また、腸管上皮細胞血管側にある銅蛋白が鉄の利用障害、貧血の発生に深く関与している。Sex-linked anemia (sla) として注目されていたマウスの X 染色体性貧血¹⁰⁵⁾は吸収された鉄が腸上皮から出て血流に入る時に必要なフェロキシダーゼであるヘファエスチンの欠損症であった。¹⁸⁾ 銅欠乏性貧血では血清鉄、すなわち血液中のトランスフェリンに結合した 3 価鉄は低下するが、肝臓などのフェリチンに取り込まれた鉄とその重合体であるヘモジデリンに貯蔵された鉄は十分あるので血清フェリチンの高いのが特徴である。血清鉄とトランスフェリンの結合鉄（通常飽和率で表す）が低下するので、肝臓など鉄貯蔵臓器には鉄が十分あるにもかかわらず、腸管では鉄の吸収が亢進する。一方骨髄への鉄の供給は低下しているので造血の予備能は低く、貧血になり易い。

セルロプラスミンやヘファエスチンの持つフェロキシダーゼ活性の低下した状態では鉄の輸送が障害される結果として造血能が低下しているので瀉血による除鉄も困難となる。無セルロプラスミン血症では軽い貧血のあるほか、一般的な除鉄手段である瀉血に耐えられないことが報告されている。^{106,107)} 血清セルロプラスミンの低下した治療中のウイルソン病患者も瀉血に対して抵抗性が低い。⁹⁹⁾ このようにキレート剤で治療中のウイルソン病では銅蓄積はあるが利用できる銅は不足しているため、血管内など局所的には銅蛋白の機能も低下している。男性患者では治療前から鉄過剰になっているし、治療により増悪することからも、本症の鉄過剰は薬剤の過剰投与の結果ではなく、生来ホロセルロプラスミンが低下していることと、キレート治療を開始すると直ちに銅の体内利用が阻害されセルロプラスミン値もさらに低下することから、治療法自体と表裏一体の現象であると考えられる。この鉄蓄積による二次的肝障害が危惧される時には瀉血による除鉄をするが、貧血が早期に現れるので 1 回の瀉血量を減ずるか実

施間隔を延ばし鉄除去に時間をかける。

6. 女性患者の妊娠・出産

6-1. 薬物治療と妊娠・出産の文献的考察

ペニシラミンについては過去 50 年の歴史の中で幾多の貴重な報告がある。妊娠した患者は、そのままペニシラミンを継続しても、胎児に対する影響を考慮して出産まで内服治療を中断しても、母児に過度な危険はないとするものが多い。^{97,98)} 治療中に生れた奇形児の報告例も散見されるが、¹⁰⁸⁻¹¹¹⁾ 一般妊婦を対照として比較することが大切である。Sternlieb らの調査では新生児の奇形は 2% で、いずれも軽微であり、健常人と変わらないと報告している。¹¹²⁾ これは酢酸亜鉛が妊婦によいと報告¹¹³⁾ に対する反論であるが、今後トリエンチンなど新しい薬剤や肝移植後の妊娠・出産についても、科学的な検証をすることが大切である。

6-2. 女性患者の臨床像

われわれが診断、治療に関与した 9 例の女性患者について臨床経過と結婚・出産に関するアンケート調査の結果を述べる。Table 1 のように、初診年齢は 8 歳から 22 歳。臨床病型では H2 が多い。H1 と分類された 1 名の溶血は軽微で、肝不全には進行しなかった。N1 の 1 名は手のふるえ、1 名は舞踊様不随意運動が主訴で、いずれも腹部画像で慢性肝疾患が疑われたが肝生検はしていない。6 名の H2 のうち 4 名は急性ないし慢性肝炎として発見された。残る 2 名は肝硬変で、1 名は腹水、黄疸を呈する代償不全期に診断され、もう 1 名は原因不明の慢性肝炎として 10 年間の非特異的治療を受けていた。初診時の血液検査の

Table 1. Clinical Features and Laboratory Data at Entry

Patient	Age at entry	Clinical classification	Laboratory data		
			Albumin (4.0-5.0 g/dl)	ALT (5-40 IU/L)	Cp (21-37 mg/dl)
1	22	H2	3.0	17	2.0*
2	14	N1	4.9	17	2
3	8	H2	2.4	36	6.0*
4	9	H2	4.0	23	3.0*
5	18	H2	3.8	95	5.0
6	12	H2	4.2	31	1.8*
7	21	H2	3.6	36	3.5
8	16	H1	3.4	44	8.0
9	13	N1	4.4	32	2.6

* post-treatment.

うち、血清アルブミン、ALT、セルロプラスミンについてみると、前2者の結果はまちまちであるが、セルロプラスミン値は一様に低い。一部は治療中のデータであり、未治療期より低下しているはずであるが、初診時には正常値を示し、診断に苦慮したとの記録はない。この3つのデータでも分かるように、本症の診断にはウイルソン病を疑い血清セルロプラスミンを測定することがいかに大切であることを如実に示している。

6-3. 治療経過と結婚・出産 Table 2に、治療薬、治療期間、妊娠・出産を含めた経過をまとめた。N1で発病した1名にはペニシラミンにより発熱と発疹をみたので早々とトリエンに変更された。もう1名はわが国でペニシラミンの治療を受けたが、渡米した機会に亜鉛治療に切り替えた。帰国後、子供が欲しくなり亜鉛内服を中断して不妊治療を受けた。初回治療により肝機能障害が発現したため中止するも本人の強い希望で再開したところ、再び肝機能障害とともに強い黄疸が出現し、肝移植も検討されたがその機会なく、死の転帰となった。結婚歴の長い2名には明暗がある。22歳で肝硬変代償不全に陥った患者は薬物治療により肝機能が改善したので結婚したが子宝には恵まれていない。一方、14歳の時、手のふるえでウイルソン病と診断された患者は治療により自覚症状も消失し、結婚後には2名の健康児に恵まれた。他の2名は26歳と33歳で健康児を出産した。社会人となった2名のうち、

1名には恋人はあるものの結婚には至っていない。1名は恋愛そのものに慎重と答えている。

6-4. 健康だから妊娠する 妊娠から出産まで健康であることが必須条件である。それはウイルソン病を持つ女性でも同じで、この健康には正常な肝機能も含まれる。⁸⁾ すなわち、妊娠（排卵、着床）から出産に必要なホルモンも含め、多くのホルモンは肝臓で適切に調節されて初めて妊娠・出産が可能となる。逆に、不妊・早期流産の原因には肝臓の機能障害もある。ウイルソン病の診断が遅れ、肝臓の機能や形態に著しい変化の生じた女性では子宝に恵まれないのも事実らしい。肝硬変では門脈圧が亢進し、脾臓から食道にかけて静脈瘤が発達する。妊娠すれば静脈瘤破裂の危険も高まるので、これを避ける不妊症は母体を保護する神の恵みでもある。

6-5. 子供は健康である 子供は発病しない。本症は常染色体劣性遺伝であるため、子供はすべてヘテロ接合体保有者になるが、発病の心配はない。稀に配偶者がヘテロ接合体保有者であると2人に1人の子供が発病する。患者同士が結婚した時には全員が発病する。この疾患では診断法はもとより治療法もほぼ確立しているので、ホモ接合体保有者（発病者）が出生したら学童期までに診断し治療を始める。自らの変異保有を知らないヘテロ保有者は多数に及ぶので、一部の患者と家族が子供の発病に悩んで結婚相談に行き本症を減少させる努力をしても、それは統計的には無駄である。わが国でもペニシラミン治療中の正常な出産報告があるし、¹¹⁴⁾ われわれの患者も複数の健康児に恵まれている。

7. 今後の課題

本症はウイルソンの記述から約1世紀の歳月をかけて病態が解明され、診断法、治療法ともほぼ確立した。しかし、診断の遅れは患者に重大な身体障害を残すことになる。重度の錐体外路障害は、認可された薬剤の選択肢だけでは治療に限界があり後遺症となる。これは患者のQOLを著しく低下させるので、新しい薬剤とそれらの組合せの効果を科学的に立証し普及させることが必要であろう。わが国で確立された生体肝部分移植はウイルソン病の致命的な劇症肝炎の救命にも有効であることが示されている。しかし、劇症肝炎や診断の遅れによる重度の神経障害を未然に防ぐことにもなる就学期の血清セルロプラスミンの測定を制度化すべきであろう。感染

Table 2. Treatment and Social Activity

Patient	Age at survey	Period of treatment	Treatment	Social activity
1	43	21	Penicillamine	No baby as yet
2	37	23	Penicillamine	2 healthy children
3	36	28	Penicillamine to zinc acetate	Died during infertile treatment
4	33	24	Penicillamine	A healthy baby
5	31	13	Penicillamine	Active socially, but hesitate to formal marriage
6	26	14	Penicillamine	A healthy baby
7	23	2	Penicillamine	Active socially, but hesitate to marriage
8	20	4	Penicillamine	Subjects-free student
9	16	3	Penicillamine to trientine	Subjects-free student

予防の確立した B 型, C 型肝炎の新規発生は急速に減少している。したがって今後は遺伝性の肝疾患が相対的にも重要になる。現状の遺伝子解析法ではその臨床的利用は限られている。将来 DNA チップなど新しい技術の導入により多彩な遺伝子変異解析も比較的簡単に実施可能になるであろう。しかし, そのような技術により出生前診断が可能になるとはいえ, 治療可能な遺伝性疾患では, 変異遺伝子保有者の出生を抑制することより, 生を得た患児の健康を保証することを医学的にも社会的にも正当化すべきであろう。これは, ウイルソン病に限らず, 遺伝性疾患を持つ患者とその家族の精神的救済の一助にもなる。治療法として, 薬剤の開発, 肝移植の普及のほか, Terada らによる遺伝子治療の臨床応用にも期待したい。^{115,116)}

まとめ

ウイルソン病は肝臓の銅トランスポーター, ATP7B の機能異常である。過剰な銅の胆汁排泄が障害されるため, まず肝臓に銅が蓄積し, さらに全身性の銅蓄積症となる。血清セルロプラスミン測定による簡易診断法の導入, 革命的と評価された銅のキレート剤であるペニシラミンに始まる薬物治療の進歩, 責任遺伝子のクローニングと遺伝子診断法が確立され, 医学的な懸案事項は解決された。しかし, 診断の遅れにより予後が不良となる症例はまだ多い。多彩な臨床像を示す患者を早期に診断し, 適切な治療をするために導入された新しい国際診断基準を紹介した。ペニシラミンは実績のある第 1 選択薬であるが副作用も多い。キレート作用は低いが高安全性の高いトリエンチンがペニシラミン不耐性に認可され, 患者の管理も容易になった。これらキレート剤による鉄過剰についても述べた。これは適切な治療の結果であり, 薬物治療の注意事項である。わが国で酢酸亜鉛と TTM は検討中の薬剤である。いずれの治療も一生継続する必要がある。忌薬が問題となる。よい治療法とは継続し易いこと, 忌薬した時にも安全であることが含まれる。遺伝子変異が多彩であるため遺伝子解析の臨床的価値は限られている。早期に診断され, 適切な治療を受けた患者からは健康児が出生している。

REFERENCES

1) Wilson S. A. K., *Brain*, **34**, 295-507 (1912).

- 2) Scheinberg I. H., Gitlin D., *Science*, **116**, 484-485 (1952).
- 3) Walshe J. M., *Lancet*, **1**, 25-26 (1956).
- 4) Walshe J. M., *Lancet*, **1**, 188-192 (1960).
- 5) Walshe J. M., *Q. J. Med.*, **42**, 441-452 (1973).
- 6) Sternlieb I., *Gastroenterology*, **78**, 1615-1628, (1980).
- 7) Ferenci P., Caca K., Loudianos G., Mieli-Vergani G., Tanner S., Sternlieb I., Schilsky M., Cox D., Berr F., *Liver Int.*, **23**, 139-142 (2003).
- 8) Roberts E. A., Schilsky M. L., *Hepatology*, **37**, 1475-1492 (2003).
- 9) Menkes J. H., *Pediatrics*, **50**, 181-183 (1972).
- 10) Vulpe C., Levinson B., Whitney S., Packman S., Gitschier J., *Nat. Genet.*, **3**, 7-13 (1993).
- 11) Chelly J., Tumer Z., Tonnesen T., Petterson A., Ishikawa-Brush Y., Tommerup N., Horn N., Monaco A. P., *Nat. Genet.*, **3**, 14-19 (1993).
- 12) Mercer J. F., Livingston J., Hall B., Paynter A. J., Begy C., Chandrasekharappa S., Lockhart P., Grimes A., Bhavne M., Siemieniak D., Glover T. W., *Nat. Genet.*, **3**, 20-25 (1993).
- 13) Tanzi R. E., Petrukhin K., Chernov I., Pellequer J. L., Wasco W., Ross B., Romano D. M., Parano E., Pavone L., Brzustowicz L. M., Devoto M., Peppercorn J., Bush A. I., Sternlieb I., Pirastu M., Gusella J. F., Evgrafov O., Penchaszadeh G. K., Honig B., Edelman I. S., Soares M. B., Scheinberg I. H., Gilliam T. C., *Nat. Genet.*, **5**, 344-350 (1993).
- 14) Bull P. C., Thomas G. R., Rommens J. M., Forbes J. R., Cox D. W., *Nat. Genet.*, **5**, 327-337 (1993).
- 15) Yamaguchi Y., Heiny M. E., Gitlin J. D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **197**, 271-277 (1993).
- 16) Thomas G. R., Roberts E. A., Walshe J. M., Cox D. W., *Am. J. Hum. Genet.*, **56**, 1315-1319 (1995).
- 17) Thomas G. R., Forbes J. R., Roberts E. A., Walshe J. M., Cox D. W., *Nat. Genet.*, **9**, 210-217 (1995).
- 18) Vulpe C. D., Kuo Y. M., Murphy T. L., Cowley L., Askwith C., Libina N., Gitschier J., Anderson G. J., *Nat. Genet.*, **21**, 195-199 (1999).

- 19) Osaki S., Johnson D. A., Frieden E., *J. Biol. Chem.*, **241**, 2746–2751 (1966).
- 20) Frieden E., Hsieh H. S., *Adv. Enzymol.*, **44**, 187–236 (1976).
- 21) Dhou B., Gitschier J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **94**, 7481–7486 (1997).
- 22) van De Sluis B., Rothuizen J., Pearson P. L., van Oost B. A., Wijmenga C., *Hum. Mol. Genet.*, **11**, 165–173 (2002).
- 23) Muller T., van de Sluis B., Zhernakova A., van Binsbergen E., Janecke A. R., Bavdekar A., Pandit A., Weirich-Schwaiger H., Witt H., Ellemunter H., Deutsch J., Denk H., Muller W., Sternlieb I., Tanner M. S., Wijmenga C., *J. Hepatol.*, **38**, 164–168 (2003).
- 24) Stuehler B., Reichert J., Stremmel W., Schaefer M., *J. Mol. Med.*, (2004) (pub. ahead of print).
- 25) Poupon R., Chretien Y., Poupon R. E., Ballet F., Calmus Y., Darnis F., *Lancet*, **1**, 834–836 (1987).
- 26) Koizumi M., Fujii J., Suzuki K., Inoue T., Inoue T., Gutteridge J. M., Taniguchi N., *Free Radic. Res.*, **28**, 441–450 (1998).
- 27) Harada M., Kumemura H., Sakisaka S., Shishido S., Taniguchi E., Kawaguchi T., Hanada S., Koga H., Kumashiro R., Ueno T., Suganuma T., Furuta K., Namba M., Sugiyama T., Sata M., *Int. J. Mol. Med.*, **11**, 293–298 (2003).
- 28) Alt E. R., Sternlieb I., Goldfischer S., *Int. Rev. Exp. Pathol.*, **31**, 165–188 (1990).
- 29) Ludwig J., Moyer T. P., Rakela J., *Am. J. Clin. Pathol.*, **102**, 443–446 (1994).
- 30) Hanaichi T., Kidokoro R., Hayashi H., Sakamoto N., *Lab. Invest.*, **51**, 592–597 (1984).
- 31) McIntyre N., Clink H. M., Levi A. J., Cummings J. N., Sherlock S., *N. Engl. J. Med.*, **276**, 439–444 (1967).
- 32) Roche-Sicot J., Benhamou J. P., *Ann. Intern. Med.*, **86**, 301–303 (1977).
- 33) Hamlyn A. N., Gollan J. L., Douglas A. P., Sherlock S., *Br. Med. J.*, **2**, 660–662 (1977).
- 34) Cumings J. N., *Brain*, **71**, 410–417 (1948).
- 35) Sternlieb I., Scheinberg I. H., *Ann. Intern. Med.*, **76**, 59–64 (1972).
- 36) Scheinberg I. H., Sternlieb I., *Gastroenterology*, **37**, 550–564 (1959).
- 37) Stromeyer F. W., Ishak K. G., *Am. J. Clin. Pathol.*, **73**, 12–24 (1980).
- 38) Lang C., Muller D., Claus D., Druschky K. F., *Acta Neurol. Scand.*, **81**, 75–81 (1980).
- 39) Kayser B., *Klin. Monatsb. Augenheilk.*, **40**, 22–25 (1902).
- 40) Fleischer B., *Munch. Med. Wochenschr.*, **56**, 1120–1123 (1909).
- 41) Fleischer B., *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, **44**, 179–201 (1912).
- 42) Sternlieb I., Scheinberg I. H., *N. Engl. J. Med.*, **278**, 352–359 (1968).
- 43) Ferenci P., Jessner W., Munda-Steindl P., Wrba F., *Hepatology*, **36**, 338 (2002).
- 44) Steindl P., Ferenci P., Dienes H. P., Grimm G., Pabinger I., Madl C., Maier-Dobersberger T., Herneth A., Dragosics B., Meryn S., Knoflach P., Granditsch G., Gangl A., *Gastroenterology*, **113**, 212–218 (1997).
- 45) Miyajima H., Nishimura Y., Mizoguchi K., Sakamoto M., Shimizu T., Honda N., *Neurology*, **37**, 761–767 (1987).
- 46) Yoshida K., Furihata K., Takeda S., Nakamura A., Yamamoto K., Morita H., Hiyamuta S., Ikeda S., Shimizu N., Yanagisawa N., *Nat. Genet.*, **9**, 267–272 (1995).
- 47) Scheinberg I. H., Sternlieb I., *Lancet*, **1**, 1420–1421 (1963).
- 48) Da Costa C. M., Baldwin D., Portmann B., Lolin Y., Mowat A. P., Mieli-Vergani G., *Hepatology*, **15**, 609–615 (1992).
- 49) Owada M., Suzuki K., Fukushi M., Yamauchi K., Kitagawa T., *J. Pediatr.*, **140**, 614–616 (2002).
- 50) Nanji M. S., Nguyen V. T., Kawasoe J. H., Inui K., Endo F., Nakajima T., Anezaki T., Cox D. W., *Am. J. Hum. Genet.*, **60**, 1423–1429 (1997).
- 51) Yamaguchi A., Matsuura A., Arashima S., Kikuchi Y., Kikuchi K., *Hum. Mutat.*, Suppl. **1**, S320–S322 (1998).
- 52) Shimizu N., Nakazono H., Takeshita Y., Ikeda C., Fujii H., Watanabe A., Yamaguchi Y., Hemmi H., Shimatake H., Aoki T., *Pediatr. Int.*, **41**, 409–413 (1999).
- 53) Okada T., Shiono Y., Hayashi H., Satoh H., Sawada T., Suzuki A., Takeda Y., Yano M., Michitaka K., Onji M., Mabuchi H., *Hum. Mutat.*, **15**, 454–462 (2000).

- 54) Kusuda Y., Hamaguchi K., Mori T., Shin R., Seike M., Sakata T., *J. Hum. Genet.*, **45**, 86–91 (2000).
- 55) Papanikolaou G., Politou M., Roetto A., Bosio S., Sakelaropoulos N., Camaschella C., Loukopoulos D., *Blood Cells Mol. Dis.*, **27**, 744–749 (2001).
- 56) Wu Z. Y., Lin M. T., Murong S. X., Wang N., *Arch. Neurol.*, **60**, 737–741 (2003).
- 57) Cumings J. N., *Brain*, **74**, 10–22 (1951).
- 58) Denny-Brown D., Porter H., *N. Eng. J. Med.*, **245**, 917–925 (1951).
- 59) Walshe J. M., *Lancet*, **2**, 1401–1402 (1969).
- 60) Walshe J. M., *Lancet*, **1**, 643–647 (1982).
- 61) Hoogenraad T. U., Van Hattum J., Van den Hamer C. J., *J. Neurol. Sci.*, **77**, 137–146 (1987).
- 62) Brewer G. J., Dick R. D., Yuzbasiyan-Gurkan V., Johnson V., Wang Y., *J. Lab. Clin. Med.*, **123**, 849–858 (1994).
- 63) Brewer G. J., Dick R. D., Johnson V., Wang Y., Yuzbasiyan-Gurkan V., Kluin K., Fink J. K., Aisen A., *Arch. Neurol.*, **51**, 545–554 (1994).
- 64) Sass-Kortsak A., *Pediatr. Clin. North Am.*, **22**, 963–984 (1975).
- 65) Groth C. G., Dubois R. S., Corman J., Halgrimson C., Rodgerson D. O., Starzl T. E., *Birth Defects Orig. Artic. Ser.*, **9**, 106–108 (1973).
- 66) Schilsky M. L., Scheinberg I. H., Sternlieb I., *Hepatology*, **19**, 583–587 (1994).
- 67) Asonuma K., Inomata Y., Kasahara M., Uemoto S., Egawa H., Fujita S., Kiuchi T., Hayashi M., Tanaka K., *Pediatr. Transplant*, **3**, 201–205 (1999).
- 68) Jaffe I. A., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **166**, 57–60 (1969).
- 69) Tomono I., Abe M., Matsuda M., *J. Biochem. (Tokyo)*, **74**, 587–592 (1973).
- 70) Lipsky P. E., Ziff M., *J. Immunol.*, **120**, 1006–1013 (1978).
- 71) Siegel R. C., *J. Biol. Chem.*, **252**, 254–259 (1977).
- 72) Metz G., Pevny I., Metz J., *Munch. Med. Wochenschr.*, **29**, 1341–1348 (1970).
- 73) Strickland G. T., *Arch. Neurol.*, **26**, 474 (1972).
- 74) Strickland G. T., Blackwell R. Q., Watten R. H., *Am. J. Med.*, **51**, 31–41 (1971).
- 75) Brewer G. J., Terry C. A., Aisen A. M., Hill G. M., *Arch. Neurol.*, **44**, 490–493 (1987).
- 76) Brewer G. J., Turkay A., Yuzbasiyan-Gurkan V., *Arch. Neurol.*, **51**, 304–305 (1994).
- 77) Corcos M. M., Soler-Bechara J., Mayer K., Freyberg R. H., Goldstein R., Jaffe I., *J. Am. Med. Assoc.*, **189**, 265–268 (1964).
- 78) Bird E. D., *Postgrad. Med. J.*, **50**, Suppl. 2, 73 (1974).
- 79) Adams D. A., Goldman R., Maxwell M. H., Latta H., *Am. J. Med.*, **36**, 330–336 (1964).
- 80) Haas P., Wendt H., *Wien Med. Wochenschr.*, **124**, 333–334 (1974).
- 81) Harpey J. P., Caille B., Moulias R., Goust J. M., *Lancet*, **1**, 292 (1971).
- 82) Sternlieb I., Bennett B., Scheinberg I. H., *Ann. Intern. Med.*, **82**, 673–676 (1975).
- 83) Lyle W. H., *Br. Med. J.*, **1**, 105 (1977).
- 84) Bucknall R. C., Dixon A. St. J., Glick E. N., Woodland J., Zutshi D. W., *Br. Med. J.*, **1**, 600–602 (1975).
- 85) Pass F., Goldfischer S., Sternlieb I., Scheinberg I. H., *Arch. Dermatol.*, **108**, 713–715 (1973).
- 86) Schorn D., Mowat A. G., *Rheumatol. Rehabil.*, **16**, 223–230 (1977).
- 87) Dubois R. S., Rodgerson D. O., Hambidge K. M., *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, **10**, 77–81 (1990).
- 88) Saito H., Watanabe K., Sahara M., Mochizuki R., Edo K., Ohyama Y., *Tohoku J. Exp. Med.*, **164**, 29–35 (1991).
- 89) Morita J., Yoshino M., Watari H., Yoshida I., Motohiro T., Yamashita F., Okano Y., Hashimoto T., *Dev. Pharmacol. Ther.*, **19**, 6–9 (1992).
- 90) Condamine L., Hermine O., Alvin P., Levine M., Rey C., Courtecuisse V., *Br. J. Haematol.*, **83**, 166–168 (1993).
- 91) Perry A. R., Pagliuca A., Fitzsimons E. J., Mufti G. J., Williams R., *Int. J. Hematol.*, **64**, 69–72 (1996).
- 92) Brewer G. J., *Am. J. Gastroenterol.*, **94**, 301–302 (1999).
- 93) Suzuki K. T., Ogura Y., Ohmichi M., *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **9**, 170–175 (1995).
- 94) Suzuki K. T., Ogura Y., *Yakugaku Zasshi*, **120**, 899–908 (2000).

- 95) Brewer G. J., Johnson V., Dick R. D., Kluin K. J., Fink J. K., Brunberg J. A., *Arch. Neurol.*, **53**, 1017–1025 (1996).
- 96) Brewer G. J., Hedera P., Kluin K. J., Carlson M., Askari F., Dick R. B., Sitterly J., Fink J. K., *Arch. Neurol.*, **60**, 379–385 (2003).
- 97) Scheinberg I. H., Sternlieb I., *N. Engl. J. Med.*, **293**, 1300–1302 (1975).
- 98) Walshe J. M., *Q. J. Med.*, **181**, 73–83 (1977).
- 99) Shiono Y., Wakusawa S., Hayashi H., Takikawa T., Yano M., Okada T., Mabuchi H., Kono S., Miyajima H., *Am. J. Gastroenterol.*, **96**, 3147–3151 (2001).
- 100) Shiono Y., Hayashi H., Wakusawa S., Yano M., *Med. Electron Microsc.*, **34**, 54–60 (2001).
- 101) Feder J. N., Gnirke A., Thomas W., Tsuchihashi Z., Ruddy D. A., Basava A., Dormishian F., Domingo Jr. R., Ellis M. C., Fullan A., Hinton L. M., Jones N. L., Kimmel B. E., Kronmal G. S., Lauer P., Lee V. K., Loeb D. B., Mapa F. A., McClelland E., Meyer N. C., Mintier G. A., Moeller N., Moore T., Morikang E., Prass C. E., Quintana L., Starnes S. M., Schatzman R. C., Brunke K. J., Drayna D. T., Risch N. J., Bacon B. R., Wolff R. K., *Nat. Genet.*, **13**, 399–408 (1996).
- 102) Harashima A., Hattori A., Hayashi H., Wakusawa S., Kusakabe A., Fujita Y., Tanaka M., Yano M., Yoshioka K., *J. Trace Elem. Exp.*, **17**, 65–73 (2004).
- 103) Walshe J. M., Cox D. W., *Lancet*, **352**, 112–113 (1998).
- 104) Harris Z. L., Durley A. P., Man T. K., Gitlin J. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 10812–10817 (1999).
- 105) Bannerman R. M., Bannerman C. E., Kingston P. J., *Br. J. Haematol.*, **25**, 280 (1973).
- 106) Hellman N. E., Schaefer M., Gehrke S., Stegen P., Hoffman W. J., Gitlin J. D., Stremmel W., *Gut*, **47**, 858–860 (2000).
- 107) Mariani R., Arosio C., Pelucchi S., Grisoli M., Piga A., Trombini P., Piperno A., *Gut*, **53**, 756–758 (2004).
- 108) Mjølnerod O. K., Dommerud S. A., Rasmussen K., Gjeruldsen S. T., *Lancet*, **1**, 673–675 (1971).
- 109) Piussan C., Mathieu M. J., *Genet. Hum.*, **33**, 357–362 (1985).
- 110) Miehle W., *Z. Rheumatol.*, **47**, Suppl. 1, 20–23 (1988).
- 111) Messner U., Gunter H. H., Niesert S., *Z. Geburtshilfe Neonatol.*, **202**, 77–79 (1998).
- 112) Sternlieb I., *Hepatology*, **31**, 531–532 (2003).
- 113) Brewer G. J., Johnson V. D., Dick R. D., Hedera P., Fink J. K., Kluin K. J., *Hepatology*, **31**, 364–370 (2000).
- 114) Fukuda K., Ishii A., Matsue Y., Funaki K., Hoshiai H., Maeda S., *Tohoku J. Exp. Med.*, **123**, 279–285 (1977).
- 115) Terada K., Nakako T., Yang X. L., Iida M., Aiba N., Minamiya Y., Nakai M., Sakaki T., Miura N., Sugiyama T., *J. Biol. Chem.*, **273**, 1815–1820 (1998).
- 116) Terada K., Aiba N., Yang X. L., Iida M., Nakai M., Miura N., Sugiyama T., *FEBS Lett.*, **448**, 53–56 (1999).