

· 专家论坛 ·

DOI: 10.12449/JCH260303

肝豆状核变性临床诊断的难点与挑战

张 宇, 杨永峰

南京市第二医院(南京中医药大学附属南京医院)感染/肝病科, 南京 210003

通信作者: 杨永峰, yangyongfeng@njucm.edu.cn (ORCID: 0000-0002-3214-0038)

摘要: 肝豆状核变性临床表型异质性强,常与胆汁淤积性肝病、活动性肝炎等肝病及神经精神疾病重叠,易致误诊、漏诊。本文聚焦临床易混淆环节,概述铜转运腺苷三磷酸酶 β (*ATP7B*)基因功能缺陷的病理生理基础,系统阐述铜蓝蛋白、血清总铜/非铜蓝蛋白结合铜、24 h尿铜排泄量及D-青霉胺激发试验、肝铜定量与组织学检查在不同场景中的判读要点和局限,并总结相对可交换铜等新型动态铜指标在诊断、家系筛查与疗效监测中的潜力。同时讨论*ATP7B*基因检测在“灰区”病例中的价值、临床意义未明变异解读难点及我国人群突变谱特点,以及莱比锡评分在复杂肝病背景下可能出现的性能下降。总体而言,肝豆状核变性的诊断不宜依赖单一指标,应采用“表型-生化-动态铜指标-组织/基因-评分体系”的多维整合与分层决策路径,并结合我国真实世界数据优化关键阈值和流程,以提升早期识别与家系管理效率,改善患者长期预后。

关键词: 肝豆状核变性; 诊断; 生物标记

Dilemmas and challenges in the clinical diagnosis of Wilson disease

ZHANG Yu, YANG Yongfeng

*Department of Infectious Diseases and Hepatology, Nanjing Second Hospital (Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine), Nanjing 210003, China**Corresponding author: YANG Yongfeng, yangyongfeng@njucm.edu.cn (ORCID: 0000-0002-3214-0038)*

Abstract: Wilson disease (WD) is characterized by marked heterogeneity in clinical phenotype, and it often overlaps with liver diseases (such as cholestatic liver diseases and active hepatitis) and neuropsychiatric diseases, which may easily lead to misdiagnosis or missed diagnosis. This article focuses on the confusing scenarios in clinical practice, reviews the pathophysiological basis of ATPase copper transporting beta (*ATP7B*) gene dysfunction, and systematically elaborates on the key interpretation points and limitations of ceruloplasmin, total serum copper/non-ceruloplasmin-bound copper, 24-hour urinary copper excretion, D-penicillamine challenge test, hepatic copper quantification, and histopathological assessment across different clinical scenarios. This article also summarizes the potential application of emerging dynamic copper indicators, such as relative exchangeable copper, in diagnosis, family screening, and treatment monitoring. In addition, it discusses the role of *ATP7B* genetic testing in “gray-zone” cases, difficulties in interpreting variants of uncertain significance, and the features of mutation spectrum in Chinese population, as well as the potential decline in diagnostic performance of the Leipzig scoring system in the context of complex liver diseases. Overall, the diagnosis of WD should not rely on a single indicator, and it is recommended to adopt a multidimensional hierarchical decision-making pathway that integrates phenotype, biochemical tests, dynamic copper indices, tissue/genetic evidence, and scoring systems. Furthermore, key thresholds and workflows should be optimized using real-world data from China, so as to enhance the efficiency of early identification and familial management, thereby improving the long-term prognosis of patients.

Key words: Hepatolenticular Degeneration; Diagnosis; Biomarkers

肝豆状核变性(Wilson disease, WD)是由铜转运腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)酶 β (ATPase copper transporting beta, *ATP7B*)基因突变导致的罕见遗传性铜代谢异常疾病^[1]。WD起病隐匿、临床表现缺乏特异性。深入理解其发病机制、临床表型及关键检查的判读要点,有助于提高对WD的诊断与鉴别能力。本文围绕机制、表型与诊断中的常见混淆点进行阐述,以期临床医生提供参考。

1 *ATP7B* 基因缺陷引起的病理生理改变

ATP7B 基因位于13号染色体长臂(13q14.3),其编码的铜转运P型ATP酶主要在肝脏中表达,是维持机体铜稳态的核心蛋白^[2]。生理状态下,ATP7B蛋白主要承担两项功能:(1)将铜转运至反式高尔基网络,完成铜蓝蛋白的铜装载与成熟分泌;(2)将过量铜转运至胆汁,排泄至体外,从而实现“装配入血”和“胆汁排出”的双通路调控^[3]。

当*ATP7B* 基因发生致病性变异时,上述两条通路同时受损:一方面,铜装载不足导致铜蓝蛋白水平降低;另一方面,胆汁排铜障碍致使铜在肝内异常蓄积,并产生细胞毒性。过量铜可引发线粒体功能障碍与氧化应激,造成脂质、蛋白与核酸损伤,进而出现肝细胞变性、坏死及脂肪变等病理改变;同时可激活炎症反应与肝星状细胞,促进肝纤维化直至肝硬化形成^[4]。随着肝储铜能力逐渐饱和,循环中铜比例增加,并在脑(以基底节为主,亦可累及其他区域)、角膜、肾、骨关节及心肌等组织沉积,导致多系统受累。

2 铜代谢标志物在WD诊断中的应用与局限

2.1 铜蓝蛋白水平降低的机制及其诊断价值 铜蓝蛋白主要由肝脏合成,是血清中的主要载铜蛋白,约95%的血清铜以全铜蓝蛋白形式存在^[5]。*ATP7B* 基因并非铜蓝蛋白的编码基因,但其功能是介导铜进入分泌通路并完成铜蓝蛋白的“铜装配及成熟”;当*ATP7B* 基因功能缺陷时,功能性全铜蓝蛋白生成减少,而前铜蓝蛋白不稳定且易被降解,若合并肝合成功能受损,铜蓝蛋白水平可进一步下降。

在临床诊断中,铜蓝蛋白水平的判读存在明显的“阈值-灰区”特征。铜蓝蛋白显著降低(如 <0.10 g/L)对WD的诊断支持度较高,而 $0.10 \sim 0.20$ g/L常处于灰区,需要结合其他证据链进一步评估。值得注意的是,约20%的WD患者铜蓝蛋白水平可处于正常范围,因此铜蓝蛋白正常不能作为排除WD的依据^[6-7]。同时,需考虑年龄相关差异:婴幼儿期铜蓝蛋白生理波动更显著,故

在低龄尤其是 <1 岁时,不宜仅凭铜蓝蛋白作出肯定或排除结论,需结合其他指标联合判断^[8]。

此外,铜蓝蛋白水平易受伴随状态与方法学影响:肝衰竭、蛋白丢失/营养不良等可致铜蓝蛋白水平降低,而炎症、妊娠及雌激素状态可使铜蓝蛋白水平升高。方法学上,免疫学/散射比浊法可能同时测到生物学上不活跃的前铜蓝蛋白而造成“假性偏高”,氧化酶活性测定更能反映功能性铜蓝蛋白,但常规应用的可行性有限^[6]。

2.2 血清总铜与“毒性铜负荷”的评估 在铜蓝蛋白提示风险后,进一步评估“毒性铜负荷”更有助于解释病理生理并支持诊断。血清总铜由铜蓝蛋白结合铜与非铜蓝蛋白结合铜(non-ceruloplasmin-bound copper, NCC)共同构成^[9]。尽管WD属于铜过载性疾病,但在多数慢性/稳定阶段患者中,血清总铜常随铜蓝蛋白降低而呈相对下降,即总铜降低主要反映铜蓝蛋白结合铜减少。

在严重肝损伤时,血清总铜可能处于正常范围;而在WD相关急性肝衰竭情境下,血清总铜甚至可显著升高,可能与肝组织铜突然释放有关。临床上可用公式估算NCC: $NCC(\mu\text{g/L}) = \text{血清总铜}(\mu\text{g/L}) - 3.15 \times \text{铜蓝蛋白}(\text{mg/L})$ 。当铜蓝蛋白水平降低而总铜水平正常/升高时,提示血液中未与铜蓝蛋白结合的铜比例增加;在多数未经治疗的患者中,估算的NCC水平常升高,并可 $>200 \mu\text{g/L}$,而正常人群一般 $<150 \mu\text{g/L}$ ^[10-11]。与血清总铜相比,NCC更接近“毒性铜负荷”,对疗效评估及警惕药物过量具有参考价值。然而,其准确性受检测方法差异、单位换算及铜蓝蛋白测定误差的影响,且估算NCC基于固定的“铜蓝蛋白-铜”比例假设,可能出现生物学上不合理的负值。此外,其结果高度依赖总铜与铜蓝蛋白的检测方法和准确性,标准化不足。因此,NCC通常更适用于治疗监测(评估螯合剂/锌剂治疗是否充分、警惕过度治疗导致铜缺乏),而不宜作为单一的诊断依据^[12]。

2.3 24 h 尿铜排泄量及D-青霉胺激发试验:基础尿铜的“支持性证据”与灰区处理 与静态血液指标相比,24 h尿铜排泄量可更直接反映体内可动员铜负荷经肾脏途径的排出水平,是WD诊断筛查与随访监测的基础指标之一。建议对疑似WD患者常规检测血清铜蓝蛋白与基础24 h尿铜排泄量作为初筛,并在条件允许时联合相对可交换铜以提高诊断稳定性。

在未经治疗且有明显症状的成人患者中,基础24 h尿铜排泄量 $>100 \mu\text{g}/24 \text{ h}$ ($>1.6 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$)为常见支持性证据之一,但其敏感度不足,不能据此作为排除依据^[13-15]。同时需强调,莱比锡(Leipzig)评分体系对尿铜的计分通常以无急性肝炎背景为前提,因为急性肝细胞

损伤可导致尿铜非特异性升高,增加假阳性风险。

儿童人群的诊断阈值不宜直接套用成人标准。指南指出,成人阈值用于儿童一线筛查的敏感度偏低;在轻度/无症状肝病表现(转氨酶升高、脂肪肝伴或不伴肝肿大)的儿童中,以 $>40\text{ }\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($>0.65\text{ }\mu\text{mol}/24\text{ h}$)作为界值具有更好的诊断准确性^[8]。但该界值在不同年龄层与不同队列中的稳定性仍需进一步验证及本土化评估。

当基础24 h尿铜排泄量处于灰区且临床高度怀疑时,既往可考虑进行D-青霉胺激发试验作为补充(24 h收集期间起始及12 h后各口服500 mg),若激发后24 h尿铜排泄量 $>1\text{ }600\text{ }\mu\text{g}$,则对WD具有较强支持^[16-17]。但该试验用于无症状同胞/家系筛查时排除价值有限,且成人研究方案差异较大,不推荐其作为成人的常规诊断手段。

此外,临床应用24 h尿铜排泄量时需重视分析前误差与干扰因素:应关注24 h尿量及24 h肌酐排泄以判断收集的完整性,并避免容器污染;肾功能不全时该指标的解读受限。同时,自身免疫性肝炎、胆汁淤积性肝病、各类活动性肝炎/肝细胞坏死及任何病因引起的急性肝衰竭均可能出现尿铜水平升高,杂合子携带者亦可出现轻度升高^[17-20]。

2.4 新型动态铜指标:可交换铜与相对可交换铜 在传统指标存在灰区与方法学限制的背景下,能够直接反映“可交换/可动员毒性铜池”的指标受到关注。可交换铜及其派生指标相对可交换铜,通过更直接的方式评估血浆中可交换铜的比例^[21-22]。2009年,El Balkhi等^[23]基于超滤结合原子吸收光谱法测定血浆可交换铜并建立健康参考范围,为后续相对可交换铜研究奠定了基础。

现有研究提示,与铜蓝蛋白、24 h尿铜排泄量及估算的NCC相比,相对可交换铜在区分WD与非WD肝病方面具有更优的诊断性能^[24]。当相对可交换铜 $>18.5\%$ 时,部分研究报道其诊断敏感度与特异度均可接近100%,并可较好地区分WD患者与杂合子携带者^[25];另有研究提示,以相对可交换铜 $>15\%$ 作为界值可用于区分携带者、正常个体及WD患者^[26-27]。总体而言,相对可交换铜受急性期反应、铜蓝蛋白合成波动等因素影响相对较小,被视为传统铜代谢指标和ATP7B基因检测的重要补充,具有提高诊断稳定性的潜力^[22]。然而,该指标在我国尚未广泛普及,仍需开展多中心、大样本研究,在不同年龄层、不同表型及多病因肝病背景下验证其最佳阈值与解读策略,为常规临床应用提供循证依据。

2.5 肝铜定量与肝脏组织学检查

在血清铜、尿铜指标处于灰区、临床表型不典型或需与胆汁淤积性肝病、自身免疫性肝炎等鉴别时,肝脏

活组织检查所提供的肝铜定量与组织学信息仍是重要的确证与补充证据^[28-29]。

2.5.1 肝铜定量 肝铜定量是评估体内铜负荷的“金标准”之一。正常肝铜含量为 $15\sim 55\text{ }\mu\text{g/g}$ 干重^[30];多数WD患者肝铜含量显著升高,通常 $>250\text{ }\mu\text{g/g}$ 干重($4\text{ }\mu\text{mol/g}$),具有较高诊断价值^[31]。我国一项前瞻性研究提示,209 $\mu\text{g/g}$ 干重($3.3\text{ }\mu\text{mol/g}$)可能为更优截断值^[32]。

需注意肝铜定量存在多种影响因素,例如肝铜分布不均、取材部位差异以及肝纤维化/肝硬化均可能导致测定结果波动^[33];部分早期WD(尤其是神经型)患者的肝铜含量可能处于“灰区”,从而导致假阴性或假阳性结果。此外,研究显示约23%的非WD患者亦可出现肝铜水平升高,且近50%的原发性胆汁性胆管炎/原发性硬化性胆管炎患者肝铜可能超过250 $\mu\text{g/g}$ 干重^[32]。因此,肝铜结果应结合临床表型与其他证据链综合解读;在合适临床背景下,肝铜 $>250\text{ }\mu\text{g/g}$ 干重仍被认为是支持WD的强化证据之一。

2.5.2 肝脏组织学检查 WD的肝脏组织学改变总体缺乏特异性,且随病程进展呈动态演变。早期多为轻度肝细胞损伤,主要表现为局灶性坏死、肝细胞气球样变、脂肪变以及糖原化细胞核/空泡样核等,小叶及汇管区炎症通常较轻,活动性界面性肝炎不明显,易与脂肪性肝病谱系混淆^[29,34]。随着疾病进展,小叶及汇管区炎症坏死可加重,部分病例可出现自身免疫性肝炎样改变,并逐步发展为肝纤维化甚至肝硬化。在以肝病为主要表现的就诊人群中,相当比例患者在确诊时已存在肝硬化^[35-36];少数病例可见桥接/融合性坏死,呈急性或慢加急性肝衰竭样病理特征^[37]。

组织学检查可辅以肝铜相关染色以提示铜沉积或铜相关蛋白沉积,包括罗丹宁、鲁贝酸、Timm法以及地衣红等。然而,铜沉积常呈灶性分布且随病理阶段波动,胆汁淤积等情况下亦可出现铜或铜相关蛋白染色阳性^[38-40],因此,相关染色敏感度与特异度均有限,存在假阴性或假阳性风险,更适合作为综合证据链中的支持性依据,而不宜作为单项定论指标。

3 基因检测在WD诊断中的应用与挑战

基因检测是确诊WD的重要病因学证据之一,尤其对Leipzig评分符合WD诊断但临床不能排除其他疾病,以及临床表现不典型的患者具有重要意义。基因检测不仅可为明确诊断提供直接依据,还可用于家系筛查、遗传咨询及携带者识别^[41]。

常用检测方法包括桑格测序,主要覆盖ATP7B基因

21个编码外显子及其侧翼剪接区,可用于识别点突变及小片段缺失/插入等变异类型^[42-44]。针对特定人群的高频/热点变异,可采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)相关的靶向检测策略以提高检测效率,例如针对单个位点的快速PCR检测,或采用多重扩增阻遏突变体系PCR同时检测多种常见突变^[45-47]。我国WD患者的 $ATP7B$ 基因变异谱具有明显人群与区域差异,多项大样本研究提示, p. Arg778Leu、p. Pro992Leu 和 p. Thr935Met 等为反复报道的常见/热点致病变异^[48-49]。对于常规测序阴性的病例,可进一步采用多重连接依赖探针扩增技术识别外显子水平拷贝数变异;全外显子组测序或全基因组测序则适用于排查少见变异,并有助于鉴别与WD表型相近的遗传性疾病,如糖基化先天缺陷、MEDNIK(智力发育迟缓-肠病-耳聋-神经病变-鱼鳞病-角皮病)综合征或胆汁淤积相关疾病。

尽管基因检测显著提升了WD的病因学诊断能力,但临床实践仍面临多重挑战:(1) $ATP7B$ 变异谱高度复杂且随公共数据库与文献更新持续扩展,不同数据库因收录范围、去重规则与证据整合策略不同,变异统计存在口径差异。公共临床变异库(如ClinVar)与疾病专库(如WilsonGen)均提示 $ATP7B$ 基因已报道变异达数千条记录,其中与WD相关、经去重后的独立变异达千余种^[50]。大量变异为罕见变异,患者常呈复合杂合状态,使得变异规范化命名、证据整合与致病性分级成为诊断关键环节,尤其临床意义未明变异(variant of uncertain significance, VUS)会增加临床决策与随访管理难度^[51-52]。(2)多数罕见变异的功能学证据仍相对不足,现有数据难以准确预测特定变异对蛋白表达、铜转运功能及临床表型的影响,限制了基因-表型关联的可解释性^[53-54]。(3)尽管全外显子组测序/全基因组测序在覆盖范围上具有优势,但受测序覆盖质量、变异检出算法及非编码/结构变异解释证据限制,临床中仍可能出现仅检出单一变异或未检出明确致病变异的情况。相关原因包括:深内含子或调控区变异的证据不足、复杂结构变异/拷贝数变异的识别与解释困难,以及复合杂合个体的相位判定受限等,从而使遗传学诊断仍存在一定不确定性。

未来,随着分子诊断技术的发展与成本下降,基因检测在WD诊疗中的临床价值将进一步凸显。下一步应着力完善我国人群适用的分子诊断体系,结合 $ATP7B$ 热点变异谱及区域差异优化检测流程,并在常规测序基础上规范拷贝数变异与结构变异的补充检测和验证。与此同时,需建立VUS的标准化解读与随访复评机制,强化罕见变异功能学研究及数据共享,以持续提升遗传

学诊断的准确性和临床可推广性。

4 Leipzig评分在WD诊断中的价值与局限

Leipzig评分是目前国际上应用较广的WD综合诊断体系之一,其通过整合眼科体征、铜代谢相关生化指标、肝铜定量、神经系统表现、溶血性贫血以及遗传学证据等信息,为临床诊断提供相对标准化的框架。然而,在我国真实世界诊疗环境中,由于肝病谱复杂、表型异质性强及检测条件差异,部分早期、隐匿性或非典型病例仍可能出现评分处于灰区或证据链不完整的情况,从而影响诊断效率与一致性。

4.1 核心生化指标的特异性不足 Leipzig评分中常用的血清铜蓝蛋白及24 h尿铜排泄量,在胆汁淤积性肝病、自身免疫性肝病、急/慢性重症肝炎及肝衰竭等非WD背景下亦可出现异常(铜蓝蛋白降低或尿铜升高),从而增加假阳性风险并降低与非WD肝病的鉴别能力。因此,上述指标的解读需结合炎症与胆汁淤积状态、临床背景及其他支持性证据综合判断。

4.2 肝铜定量在临床应用中的局限 肝铜定量是Leipzig评分的重要依据,但其结果受铜分布不均、取材部位差异以及肝纤维化/肝硬化等因素影响,存在一定波动;同时,慢性胆汁淤积等非WD疾病亦可出现肝铜水平升高,而部分早期WD患者肝铜水平可处于临界范围,均可能影响单项指标的判定稳定性。临床应用中应充分考虑取材误差及胆汁淤积等干扰因素,必要时可采用多点取材或双标本策略以降低误差,并与其他证据链整合判读。

4.3 遗传学证据在评分应用中的现实局限 在Leipzig评分中,遗传学证据在检出双等位基因明确致病变异时可提供较强支持。然而,在临床实践中,受 $ATP7B$ 变异谱高度异质、VUS比例较高、检测策略对深内含子区/调控区及结构变异覆盖有限,以及复合杂合个体相位判定证据不足等影响,部分患者可能出现仅检出单一变异或遗传学证据不足的情况,导致评分长期停留于“疑似/待排”区间,从而造成诊断延迟与随访管理滞后。

综上所述,Leipzig评分仍是WD诊断的重要工具,但在我国复杂肝病背景与资源分布不均的现实条件下,其对边界病例的敏感度与特异度仍有提升空间。对于评分处于灰区或证据不一致者,建议在传统证据链基础上引入相对可交换铜等新型铜代谢指标作为补充,并推动多中心数据共享与本土化验证。目前,代谢组学等新技术仍处于研究探索阶段,可作为潜在辅助工具加以关注,以期促进Leipzig评分体系的优化与精准化应用。

5 WD肝衰竭的诊断

WD相关肝衰竭多见于儿童及青少年,可首发表现为不明原因的急性肝衰竭或慢加急性肝衰竭,早期鉴别诊断应优先考虑并快速排查。除黄疸、凝血障碍和肝性脑病外,Coombs阴性溶血、维生素K无效的凝血异常及肾功能迅速恶化的提示性均较强。在生化指标方面,血清碱性磷酸酶(U/L)/总胆红素(mg/dL)<4,且天冬氨酸氨基转移酶/丙氨酸氨基转移酶>2.2为支持性线索;若总胆红素以 $\mu\text{mol/L}$ 报告,建议先换算为mg/dL后再计算该比值。但需注意,该结果应结合其他临床信息综合判读。急性期肝内铜释放可致血清总铜升高,铜蓝蛋白亦可正常,均不能排除WD。建议并行裂隙灯查凯泽-弗莱舍尔环、24 h尿铜排泄量(肾衰竭时慎解读)、NCC或相对可交换铜等指标,并结合Leipzig评分综合评估。对于疑难者,应尽快行肝铜定量或ATP7B基因检测,并尽早启动肝移植评估^[8]。

6 总结与展望

尽管近年来WD的发病机制与诊断研究取得了显著进展,基因检测等现代技术也已在临床逐步推广应用,但现有的诊断体系在早期识别、分型评估及变异解读等方面仍存在不足。具体而言,传统铜代谢指标在复杂肝病背景下的特异性下降,相对可交换铜等动态铜指标尚未广泛开展,基因检测的可及性与时效性和VUS解读困难仍是限制因素,现有评分体系在部分人群与临床场景中的适用性亦有待提高。

未来,针对WD的诊断工作应聚焦于以下几个方面:

(1)规范并标准化铜代谢指标检测流程,建立符合我国人群特征的参考范围和分层阈值;(2)提升基因检测的普及率与效率,完善快速检测与VUS功能注释体系,并依托多中心、大样本队列加强证据积累;(3)整合相对可交换铜等新型铜指标与基因组学/转录组学/代谢组学等多组学信息,构建面向早期、非典型及合并肝病患者的精准诊断模型;(4)探索人工智能与机器学习在风险预测和临床决策支持中的应用,以促进诊断路径的个体化与标准化。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 张宇负责文献检索,资料分析,撰写及修改论文;杨永峰负责拟定写作思路,指导撰写文章并最后定稿。

参考文献:

- [1] ALKHOURI N, GONZALEZ-PERALTA RP, MEDICI V. Wilson disease: A summary of the updated AASLD Practice Guidance[J]. Hepatol Commun, 2023, 7(6): e0150. DOI: 10.1097/HCG.00000000000000150.
- [2] LALIOTI V, SANDOVAL I, CASSIO D, et al. Molecular pathology of Wilson's disease: A brief[J]. J Hepatol, 2010, 53(6): 1151-1153. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.008.
- [3] LA FONTAINE S, MERCER JFB. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: Role in copper homeostasis[J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 463(2): 149-167. DOI: 10.1016/j.abb.2007.04.021.
- [4] GEROSA C, FANNI D, CONGIU T, et al. Liver pathology in Wilson's disease: From copper overload to cirrhosis[J]. J Inorg Biochem, 2019, 193: 106-111. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2019.01.008.
- [5] FRIEDEN E, HSIEH HS. Ceruloplasmin: The copper transport protein with essential oxidase activity[J]. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol, 1976, 44: 187-236. DOI: 10.1002/9780470122891.ch6.
- [6] RYAN A, NEVITT SJ, TUOHY O, et al. Biomarkers for diagnosis of Wilson's disease[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2019, 2019(11): CD012267. DOI: 10.1002/14651858.CD012267.pub2.
- [7] MERLE U, EISENBACH C, WEISS KH, et al. Serum ceruloplasmin oxidase activity is a sensitive and highly specific diagnostic marker for Wilson's disease[J]. J Hepatol, 2009, 51(5): 925-930. DOI: 10.1016/j.jhep.2009.06.022.
- [8] European Association for the Study of the Liver. EASL-ERN clinical practice guidelines on Wilson's disease[J]. J Hepatol, 2025, 82(4): 690-728. DOI: 10.1016/j.jhep.2024.11.007.
- [9] HARRINGTON CF, CARPENTER G, COVERDALE JPC, et al. Accurate non-ceruloplasmin bound copper: A new biomarker for the assessment and monitoring of Wilson disease patients using HPLC coupled to ICP-MS/MS[J]. Clin Chem Lab Med, 2025, 63(2): 320-328. DOI: 10.1515/cclm-2024-0213.
- [10] ROBERTS EA, SCHILSKY ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update[J]. Hepatology, 2008, 47(6): 2089-2111. DOI: 10.1002/hep.22261.
- [11] LU Y, WEI X, CHEN ML, et al. Non-ceruloplasmin-bound copper and copper speciation in serum with extraction using functionalized dendritic silica spheres followed by ICP-MS detection[J]. Anal Chim Acta, 2023, 1251: 340993. DOI: 10.1016/j.aca.2023.340993.
- [12] CATALANI S, PAGANELLI M, GILBERTI ME, et al. Free copper in serum: An analytical challenge and its possible applications[J]. J Trace Elem Med Biol, 2018, 45: 176-180. DOI: 10.1016/j.jtemb.2017.11.006.
- [13] FERENCI P, CZŁONKOWSKA A, MERLE U, et al. Late-onset Wilson's disease[J]. Gastroenterology, 2007, 132(4): 1294-1298. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.02.057.
- [14] YANG X, XU Y, LUO HY, et al. Significance of urinary copper in diagnosis of hepatolenticular degeneration[J]. Chin J Intern Med, 2006, 45(9): 758-759. DOI: 10.3760/j.issn:0578-1426.2006.09.018. 杨旭, 许允, 罗虹雨, 等. 尿铜在肝豆状核变性诊断中的意义[J]. 中华内科杂志, 2006, 45(9): 758-759. DOI: 10.3760/j.issn:0578-1426.2006.09.018.
- [15] GIACCHINO R, MARAZZI MG, BARABINO A, et al. Syndromic variability of Wilson's disease in children. Clinical study of 44 cases[J]. Ital J Gastroenterol Hepatol, 1997, 29(2): 155-161.
- [16] NICASTRO E, RANUCCI G, VAJRO P, et al. Re-evaluation of the diagnostic criteria for Wilson disease in children with mild liver disease[J]. Hepatology, 2010, 52(6): 1948-1956. DOI: 10.1002/hep.23910.
- [17] MARTINS DA COSTA C, BALDWIN D, PORTMANN B, et al. Value of urinary copper excretion after penicillamine challenge in the diagnosis of Wilson's disease[J]. Hepatology, 1992, 15(4): 609-615. DOI: 10.1002/hep.1840150410.
- [18] VIERLING JM. Copper metabolism in primary biliary cirrhosis[J]. Semin Liver Dis, 1981, 1(4): 293-308. DOI: 10.1055/s-2008-1040733.
- [19] RITLAND S, STEINNES E, SKREDE S. Hepatic copper content, urinary copper excretion, and serum ceruloplasmin in liver disease[J]. Scand J Gastroenterol, 1977, 12(1): 81-88.

[1] ALKHOURI N, GONZALEZ-PERALTA RP, MEDICI V. Wilson dis-

- [20] GÜNGÖR Ş, SELIMOĞLU MA, BAÇ HGG, et al. Is it possible to diagnose fulminant Wilson's disease with simple laboratory tests? [J]. *Liver Int*, 2020, 40(1): 155-162. DOI: 10.1111/liv.14263.
- [21] LORENZEN C, DONS K, GARCÍA-SOLÀ C, et al. Relative exchangeable copper, exchangeable copper and total copper in the diagnosis of Wilson disease[J]. *Liver Int*, 2025, 45(5): e70089. DOI: 10.1111/liv.70089.
- [22] DJEBRANI-OUSSÉDIK N, DESJARDINS C, OBADIA MA, et al. Relative exchangeable copper: A highly specific and sensitive biomarker for Wilson disease diagnosis[J]. *JHEP Rep*, 2025, 7(10): 101537. DOI: 10.1016/j.jhepr.2025.101537.
- [23] EL BALKHI S, POUPON J, TROCELLO JM, et al. Determination of ultrafiltrable and exchangeable copper in plasma: Stability and reference values in healthy subjects[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394(5): 1477-1484. DOI: 10.1007/s00216-009-2809-6.
- [24] GUILLAUD O, BRUNET AS, MALLET I, et al. Relative exchangeable copper: A valuable tool for the diagnosis of Wilson disease[J]. *Liver Int*, 2018, 38(2): 350-357. DOI: 10.1111/liv.13520.
- [25] EL BALKHI S, TROCELLO JM, POUPON J, et al. Relative exchangeable copper: A new highly sensitive and highly specific biomarker for Wilson's disease diagnosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(23-24): 2254-2260. DOI: 10.1016/j.cca.2011.08.019.
- [26] TROCELLO JM, EL BALKHI S, WOIMANT F, et al. Relative exchangeable copper: A promising tool for family screening in Wilson disease [J]. *Mov Disord*, 2014, 29(4): 558-562. DOI: 10.1002/mds.25763.
- [27] SCHILSKY ML, ROBERTS EA, BRONSTEIN JM, et al. A multidisciplinary approach to the diagnosis and management of Wilson disease: Executive summary of the 2022 Practice Guidance on Wilson disease from the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1428-1455. DOI: 10.1002/hep.32805.
- [28] COPE-YOKOYAMA S, FINEGOLD MJ, STURNIOLO GC, et al. Wilson disease: Histopathological correlations with treatment on follow-up liver biopsies[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(12): 1487-1494. DOI: 10.3748/wjg.v16.i12.1487.
- [29] LUDWIG J, MOYER TP, RAKELA J. The liver biopsy diagnosis of Wilson's disease. Methods in pathology[J]. *Am J Clin Pathol*, 1994, 102(4): 443-446. DOI: 10.1093/ajcp/102.4.443.
- [30] SMALLWOOD RA, WILLIAMS HA, ROSENBER VM, et al. Liver-copper levels in liver disease: Studies using neutron activation analysis[J]. *Lancet*, 1968, 2(7582): 1310-1313. DOI: 10.1016/S0140-6736(68)91814-x.
- [31] GROMADZKA G, BENDYKOWSKA M, PRZYBYŁKOWSKI A. Wilson's disease-genetic puzzles with diagnostic implications[J]. *Diagnostics*, 2023, 13(7): 1287. DOI: 10.3390/diagnostics13071287.
- [32] YANG X, TANG XP, ZHANG YH, et al. Prospective evaluation of the diagnostic accuracy of hepatic copper content, as determined using the entire core of a liver biopsy sample[J]. *Hepatology*, 2015, 62(6): 1731-1741. DOI: 10.1002/hep.27932.
- [33] CHI H, HANSEN BE, TANG WY, et al. Multiple biopsy passes and the risk of complications of percutaneous liver biopsy[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 29(1): 36-41. DOI: 10.1097/MEG.0000000000000731.
- [34] STROMEYER FW, ISHAK KG. Histology of the liver in Wilson's disease: A study of 34 cases[J]. *Am J Clin Pathol*, 1980, 73(1): 12-24. DOI: 10.1093/ajcp/73.1.12.
- [35] STEINDL P, FERENCI P, DIENES HP, et al. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: A diagnostic challenge[J]. *Gastroenterology*, 1997, 113(1): 212-218. DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70097-0.
- [36] FERENCI P, STEINDL-MUNDA P, VOGEL W, et al. Diagnostic value of quantitative hepatic copper determination in patients with Wilson's Disease[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2005, 3(8): 811-818. DOI: 10.1016/S1542-3565(05)00181-3.
- [37] GUINDI M. Wilson disease[J]. *Semin Diagn Pathol*, 2019, 36(6): 415-422. DOI: 10.1053/j.semmp.2019.07.008.
- [38] LIGGI M, MAIS C, DEMURTAS M, et al. Uneven distribution of hepatic copper concentration and diagnostic value of double-sample biopsy in Wilson's disease[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2013, 48(12): 1452-1458. DOI: 10.3109/00365521.2013.845904.
- [39] GOLDFISCHER S, STERNLIEB I. Changes in the distribution of hepatic copper in relation to the progression of Wilson's disease (hepatolenticular degeneration) [J]. *Am J Pathol*, 1968, 53(6): 883-901.
- [40] SCHROEDER SM, MATSUKUMA KE, MEDICI V. Wilson disease and the differential diagnosis of its hepatic manifestations: A narrative review of clinical, laboratory, and liver histological features[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(17): 1394. DOI: 10.21037/atm-21-2264.
- [41] ESPINÓS C, FERENCI P. Are the new genetic tools for diagnosis of Wilson disease helpful in clinical practice? [J]. *JHEP Rep*, 2020, 2(4): 100114. DOI: 10.1016/j.jhepr.2020.100114.
- [42] BENNETT J, HAHN SH. Clinical molecular diagnosis of Wilson disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2011, 31(3): 233-238. DOI: 10.1055/s-0031-1286054.
- [43] FERENCI P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: Impact on genetic testing[J]. *Hum Genet*, 2006, 120(2): 151-159. DOI: 10.1007/s00439-006-0202-5.
- [44] GOMES A, DEDOUSSIS GV. Geographic distribution of ATP7B mutations in Wilson disease[J]. *Ann Hum Biol*, 2016, 43(1): 1-8. DOI: 10.3109/03014460.2015.1051492.
- [45] MAIER-DOBERSBERGER T, FERENCI P, POLLI C, et al. Detection of the His1069Gln mutation in Wilson disease by rapid polymerase chain reaction[J]. *Ann Intern Med*, 1997, 127(1): 21-26. DOI: 10.7326/0003-4819-127-1-199707010-00004.
- [46] DASTSOOZ H, IMANIEH MH, DEHGHANI SM, et al. Multiplex ARMS PCR to detect 8 common mutations of ATP7B gene in patients with Wilson disease[J]. *Hepat Mon*, 2013, 13(5): e8375. DOI: 10.5812/hepatmon.8375.
- [47] CHENG N, WANG H, WU W, et al. Spectrum of ATP7B mutations and genotype-phenotype correlation in large-scale Chinese patients with Wilson Disease[J]. *Clin Genet*, 2017, 92(1): 69-79. DOI: 10.1111/cge.12951.
- [48] LI MM, MA J, WANG WL, et al. Mutation analysis of the ATP7B gene and genotype-phenotype correlation in Chinese patients with Wilson disease[J]. *BMC Gastroenterol*, 2021, 21(1): 339. DOI: 10.1186/s12876-021-01911-5.
- [49] LI XH, LU Y, LING Y, et al. Clinical and molecular characterization of Wilson's disease in China: Identification of 14 novel mutations[J]. *BMC Med Genet*, 2011, 12: 6. DOI: 10.1186/1471-2350-12-6.
- [50] KUMAR M, GAHARWAR U, PAUL S, et al. WilsonGen a comprehensive clinically annotated genomic variant resource for Wilson's Disease [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 9037. DOI: 10.1038/s41598-020-66099-2.
- [51] VILARINHO S, MISTRY PK. Exome sequencing in clinical hepatology [J]. *Hepatology*, 2019, 70(6): 2185-2192. DOI: 10.1002/hep.30826.
- [52] STÄTTERMAYER AF, ENTENMANN A, GSCHWANTLER M, et al. The dilemma to diagnose Wilson disease by genetic testing alone[J]. *Eur J Clin Invest*, 2019, 49(8): e13147. DOI: 10.1111/eci.13147.
- [53] SQUITTI R, SIOTTO M, BUCOSSA S, et al. In silico investigation of the ATP7B gene: Insights from functional prediction of non-synonymous substitution to protein structure[J]. *Biometals*, 2014, 27(1): 53-64. DOI: 10.1007/s10534-013-9686-3.
- [54] HUSTER D, KÜHNE A, BHATTACHARJEE A, et al. Diverse functional properties of Wilson disease ATP7B variants[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 947-956. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.048.

收稿日期: 2026-01-09; 录用日期: 2026-02-09

本文编辑: 葛俊

引证本文: ZHANG Y, YANG YF. Dilemmas and challenges in the clinical diagnosis of Wilson disease[J]. *J Clin Hepatol*, 2026, 42(3): 509-514.

张宇, 杨永峰. 肝豆状核变性临床诊断的难点与挑战[J]. *临床肝胆病杂志*, 2026, 42(3): 509-514.