

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

中性脂肪蓄積心筋血管症の発見

—その疾患概念の確立、診断法、治療法の開発—

平成21年度総括・分担研究報告書

平成22年（2010年）3月

研究代表者

平野賢一

目次

I. 総括研究報告

中性脂肪蓄積心筋血管症の発見

—その疾患概念の確立、診断法、治療法の開発—

平野賢一

資料

1) 班名簿

2) 中性脂肪蓄積心筋血管症の疾患概念及びその診断基準 (案)

3) Hirano K, et al. Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy. N Engl J Med. 359: 2396-2398, 2008.

4) Hirano K. A novel clinical entity: Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy. –Implications and perspectives from “Obesity of the Heart”. J Atheroscler Thromb. 16: 702-705, 2009.

II. 分担研究報告

1. 中性脂肪蓄積心筋血管症 4 例の形態学的特徴に関する研究

植田初江

2. 病理組織検体を用いた中性脂肪蓄積心筋血管症の検索

加藤誠也

3. 中性脂肪蓄積心筋血管症症例における adipose triglyceride lipase (ATGL) 遺伝子異常の発見とその局在・機能変化に及ぼす影響に関する研究

小林邦久

4. 中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV)に関する研究

笹栗靖之

5. TGCV の生化学的スクリーニング

財満信宏

6. ATGL 欠損症患者に対する中鎖脂肪酸食事療法に関する研究

隅 寿恵

7. 冠動脈の質量顕微鏡による解析

瀬藤光利

8. TGCV の末梢血の脂質解析および血球 CD36 発現の検討

千葉仁志

9. 中性脂肪蓄積心筋血管症の発見

—本症の分子遺伝学的解析—

戸田達史

10. TGCV 診断法の開発 —X線CTによる心筋脂肪蓄積の診断—

内藤博昭

11. 移植心における中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV)の関与に関する研究

福嶋教偉

12. 本邦で同定された Adipose triglyceride lipase (ATGL)欠損症の責任変異の日本人一般住民を対象とした研究

宮田敏行

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

中性脂肪蓄積心筋血管症の発見 —その疾患概念の確立、診断法、治療法の開発—

研究代表者 平野 賢一 大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学 助教

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症 (Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV) は、2008 年、我が国の心臓移植待機症例から見出された新規疾患単位であり、心筋及び冠状動脈に中性脂肪が蓄積することによって、重度の心不全、不整脈、虚血性心疾患などを呈する難病である。心臓外症状として骨格筋ミオパチーを来す症例もある。正常心ではエネルギー源である長鎖脂肪酸が、本症においては中性脂肪として蓄積され、臓器障害が生じる、いわば“心臓の肥満 (Obesity of the Heart)”である。原発性 TGCV の原因の一つは、細胞内中性脂肪分解の必須分子である Adipose triglyceride lipase (ATGL) の遺伝的欠損である。ATGL 欠損症は、国内では、7 例が確認できたが、4 例はすでに心臓死、2 例が心臓移植を受けていた。症例に対して、直ちに適応できる治療法として、中鎖脂肪酸を用いた食事療法を開発して、2 症例に対して行った。一方、進行糖尿病剖検心臓の解析から、糖尿病が二次的に本症を生じる可能性を見出した。平成 21 年度は、ATGL 欠損に伴う原発性 TGCV の診断基準 (案) 作成をおこなったので、平成 22 年度は、広く情報を公開し、症例の情報収集を全国規模で行うとともに、簡易スクリーング法、治療法の改良、開発を行う予定である。

研究分担者 植田 初江 国立循環器病研究センター 臨床病理科 医長
加藤 誠也 琉球大学大学院医学研究科 細胞病理学講座 教授
小林 邦久 九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科 助教
笹栗 靖之 産業医科大学 第二病理学 教授
財満 信宏 浜松医科大学 分子解剖学 特任助教
隅 寿恵 大阪大学大学院医学系研究科 情報統合医学講座神経内科学 助教
瀬藤 光利 浜松医科大学 分子解剖学 教授
千葉 仁志 北海道大学 大学院保健科学研究院・教授
戸田 達史 神戸大学 神経内科・分子脳科学 教授
内藤 博昭 国立循環器病研究センター 放射線診療部 部長
福嶋 教偉 大阪大学大学院医学系研究科 薬理学分子医薬学 准教授
宮田 敏行 国立循環器病研究センター 研究所 部長

A. 研究目的

未曾有の高齢化社会を迎えている我が国において、重症心不全に悩む患者は増えている。ベータ遮断剤など内科的治療法によりその予後は改善したものの最終的に心臓移植に頼らざるを得ない患者も多い。従って、深刻な心臓移植ドナー不足に悩む我が国では、原因が多様である重症心不全の成因を解明し、それに基づき内科的治療法開発を行う必要性は極めて高い。本研究は、研究班長らが発見した新規疾患単位である中性脂肪蓄積心筋血管症 (Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV) (Hirano K, et al. N Engl J Med. 359: 2396-2398, 2008) の疾患概念の確立、診断法、治療法を開発することをその目的とする。

B. 研究方法

1. TGCV症例の探索、集積

1) 心臓移植の摘出心、剖検心、心筋生検、筋生検サンプルからTGCVを探索した

(平野、福嶋、植田、笹栗、加藤、隅、財満)。
H21年度、心臓移植例が、10数例、剖検心サンプルが200例、筋生検は、20例をオイルレッドO染色などの脂質染色、電子顕微鏡による解析、組織からの抽出脂質を用いたTGの生化学的定量を行った。

特に、進行糖尿病例にTGCVが存在するのではという仮説を構築して、重点的に検討した。

2) 原発性TGCVの原因遺伝子として明らかであるATGL欠損について、文献的に症例を探索した (平野)。

3) 分子遺伝学的探索 (戸田)

大阪大学医学部附属病院に通院する2例に存在するATGL変異について、健常者95名の遺伝子を直接シーケンスすることによって、その有無

を解析した。

本症の特徴の一つである組織における中性脂肪の蓄積の証明は、これまで組織片から脂質抽出し生化学的に同定することでなされている。TGCVの実態把握には、簡易スクリーニング法の開発は必須であると考えられ、以下のアプローチを用いた。

2. TGCVの簡易スクリーニング法の開発

1) 免疫組織学的、脂質染色による中性脂肪蓄積の検出法 (平野、植田、笹栗、福嶋、加藤)
心筋生検標本や病理標本を各種、脂質染色法、原発性TGCVの責任分子であるATGLの抗体を用いて、免疫組織学的に検討した。

2) 組織イメージング法による心臓および血管組織における中性脂肪蓄積の検出法 (瀬藤、財満)

血管内蓄積脂質はイメージングマススペクトロメトリー (IMS) によって同定する。IMSは、組織上で直接質量分析を二次元に行うことにより、代謝物の可視化を可能とする方法である。血管切片を作成した後、マトリックスを塗布し、レーザーを照射することにより組織上の脂質の局在を明らかにした。

3) 統合的アプローチによる心筋・血管壁脂質沈着疾患の画像診断法の開発 (内藤)

CT (マルチスライス)、MRI法などを用いて心筋、冠動脈における中性脂肪蓄積を検討した。

4) 血漿における脂肪酸、酸化脂質などの網羅的解析 (千葉)

遊離脂肪酸：血清から全遊離脂肪酸を抽出し、トリプル四重極型質量分析装置にて各脂肪酸濃度を定量した。

5) 末梢血白血球における中性脂肪蓄積の検出法 (千葉)

脂肪滴の存在を強調する血球前処理法を開発し、簡便に患者および保因者を日常診療の中でスクリーニングする方法の開発を試みた。

6) 既知の遺伝子変異のスクリーニング法 (宮田)

既知の遺伝子変異のタックマン解析を行った。

3. 栄養療法の開発 (平野)

できるだけ早期に原発性 TGCV に適応できる治療法として、大阪大学医学部附属病院において、研究協力者である安井洋子管理栄養士とともに中鎖脂肪酸 (MCT) を用いた栄養療法を開発し、効果を検討した。

具体的には、食材からの脂肪 (ほとんどが長鎖脂肪酸) を 1 日 10 グラム程度まで制限し、それを MCT 10-30 グラムに置換したものである。MCT は、発煙点が低いなど調理上の工夫が必要なたため、専属の調理師を置くなどした。

(倫理面の配慮)

本研究は、大阪大学ヒトゲノム委員会、大阪大学医学部附属病院倫理委員会はじめ各分担研究者所属機関の倫理委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

1. 中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV) の疾患概念と分類

本症は、2008 年、我が国の心臓移植待機症例から見出した新規疾患単位であり、心筋、冠状動脈に中性脂肪が蓄積することによって、重度の心不全、不整脈、虚血性心疾患などを呈する難病である。心臓外症状として骨格筋ミオパチーを来す症例もある。

本症においては、正常心ではエネルギー源であるべき長鎖脂肪酸が利用できずに中性脂肪として蓄積され、臓器障害が生じる、いわば“心臓の肥満 (Obesity of the Heart)”である (Hirano K. J Atheroscler Thromb. 2009)。原発性 TGCV の原因の一つは、細胞内中性脂肪分解の必須分子である Adipose triglyceride lipase (ATGL) の遺伝的欠損である。ATGL 欠損症では、組織における中性脂肪蓄積にもかかわらず、血清 TG 値は上昇していない。

2. TGCV 症例の探索と集積

病理標本の探索、ゲノム解析から以下のごとく TGCV 症例の情報を集積した。

1) 原発性 TGCV (ATGL 欠損症) の国内外の情報収集

ATGL 欠損症を文献的考察および H21 年度の研究班の活動により、我が国では 7 例、5 家系、4 変異の存在が明らかとなった。ATGL 欠損症は、全例で心臓に中性脂肪が蓄積。3 例は、すでに中年以前に心臓死、1 例は 60 才台で H21 年度に心臓死亡した。いずれの例も心臓死の原因は、心不全或いは不整脈によると思われる突然死である。2 例は、大阪大学医学部附属病院において、心臓移植を受けていた。残り 1 例は、心筋及び冠動脈に脂肪蓄積は確認したが、心機能自体は現時点では正常であった。しかしながら重症のミオパチーに悩み、自力歩行不能、両上肢挙上が困難であった。

2) 原発性 TGCV 集積可能地域の発見

ATGL 欠損症が青森県、福岡県の一部に集積している可能性を見出した。

3) 二次性 TGCV の発見

ATGL 欠損によらない二次性 TGCV を進行糖尿病剖検例から見出した (投稿中)。進行糖尿病以

外の代謝疾患に続発した TGCV が存在しないかどうか、検討する。

3. 簡易スクリーニング法の開発

1) 病理学的探索

剖検心、心筋生検標本をオイルレッドO染色、ナイルブルー染色、中性脂肪染色、電子顕微鏡による解析、抗 ATGL 抗体を用いた免疫組織学的解析などを行った。

原発性 TGCV の形態学的特徴は、部分的に不整脈源性右室心筋症 (Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, ARVC) や肥大型心筋症 (Hypertrophic cardiomyopathy, HCM) と類似しており、鑑別すべき疾患として挙げられる。

ATGL 染色は、ATGL 欠損症の検索しえた全例において、心筋細胞及び間質のすべての細胞で陰性であった。

2) 質量顕微鏡を用いた組織イメージング

剖検心、心筋生検標本を用いて、心筋、冠状動脈における中性脂肪蓄積が確認しえた。また、本アプローチは、標本内の TG 分布の評価にも極めて有用であった。

3) 血漿脂肪酸分析

血漿脂肪酸分析法を Gas-Chromatography (GC)、LC-MS を用いて測定し、中鎖脂肪酸療法中の中鎖脂肪酸 (MCFA) 及び長鎖脂肪酸 (LCFA) の定量を行った。

4) 末梢血の脂質解析

把握した原発性 TGCV (ATGL 欠損症) の全例において、末梢血多核白血球に特徴的空胞を認め (Jordans' anomaly)、診断価値が高いと考えられる。

また、1980 年代、我が国の研究者から心筋症と Jordans' anomaly の合併が neutral lipid

storage disease として報告されており、これら症例と TGCV の異同について検討する必要がある。

Jordans' anomaly を来す疾患としては、これまで Dorfman-Chanarin syndrome、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症、サラセミア、くる病 (rickets) などの報告があり、鑑別が必要である。

5) 統合的アプローチによる心筋・血管壁脂質沈着疾患の画像診断法

原発性 TGCV 4 例を対象に、CT による本症の心筋への脂肪蓄積評価の可能性を検証した。CT では全例で左室壁内の広範囲に淡い低濃度陰影を認め、同部に脂肪の存在が推定された。低濃度陰影分布はびまん性・貫壁性で、心筋梗塞の局所性・内膜側、ARVC の外膜側～心筋内貫入とは異なる第 3 のパターンを呈した。CT は本症の心筋異常の有無の診断に極めて有用であった。

6) ゲノム DNA を用いた簡易診断法

既知の 2 種の ATGL 遺伝子変異について、タックマン解析を行った。都市部の一般住民約 3400 名中、ヘテロ接合体、ホモ接合体は見出されなかった。

4. 中鎖脂肪酸療法の経験 (原発性 TGCV 症例に対して)

ATGL 欠損症 2 例に対して、開発した食事療法の効果を検討した。本食事療法は、十分に摂取可能であり、患者の協力を十分に得ることができた。長鎖脂肪酸 (LCFA) の欠乏症状も認めなかった。2-3 ヶ月間の入院期間中、本療法を既存の治療法と併用することにより、心筋における中性脂肪含量の減少、関連遺伝子発現の改善、骨格筋ミオパチーの部分的改善を認めた。また、

開発した脂肪酸定量法を用いて、食事療法中の血清脂肪酸分画をモニターした。摂取した中鎖脂肪酸 (MCFA) の血清中の優位な上昇を確認するとともに、血中の LCFA 各分画の欠乏がないことも確認した。

退院後も継続できるよう外来用のメニューを開発するとともに、遠隔地に居住する症例に対して研究協力者の管理栄養士とともにサポートを行った。

5. 診断基準 (案) の作成

上記、研究結果を受けて診断基準 (案) を作成した。前述したように、本症は、2008 年に見出された新規疾患単位であり、その研究の歴史は浅い。未だ病理診断が中心であり、症例数が少ないが、診断基準 (案) として公表し、広く情報を収集したいと考えている。

6. 全国規模の研究班の構築

事前評価で、幅広く我が国の実態を調査するような御助言を頂いたので、添付の如く研究協力者を広く全国から御参画頂いた。

D. 考察

H21 年度の研究結果から以下の点が重要であると考えている。

1、生存 3 例の綿密な観察と治療の継続

2 例は、大阪大学医学部附属病院にて心臓移植を受けて約 2 年が経過している。いずれも現時点では、移植心に TGCV を思わせる所見は、認めず、外来通院中である。

現時点では、ATGL 欠損症に基づく心症状の治療法として心臓移植は有効であると考えている。しかしながら、移植心にレシピエント由来の

ATGL 欠損細胞が生着する可能性もあり、引き続き慎重な観察が必要である。また、ミオパチーの進行にも注意が必要である。

残り 1 例は、心臓病変は軽度である一方で、重症ミオパチーに悩んでいる。ADL の低下により、外来レベルの治療が困難になってきており、行政のサポートを得るとともに、必要に応じて基幹病院において入院治療をする必要があると考える。

2、診断基準 (案) を広く公開し、さらに情報を集積すること

原発性 TGCV は、4 例がすでに心臓突然死している。また、開発した食事療法は、完全に廃絶した筋組織を再生することは難しいと考えており、早期診断の重要性はいうまでもない。作成した診断基準 (案) を広く全国に公開し、本症の存在を知らしめることが必要である。遺伝的疾患である ATGL 欠損症では、特に、遠隔地、過疎地、孤立地域などに情報を伝達するため医療機関、行政への働きかけが重要であると考えている。

3、ATGL 欠損症集積可能地域における住民調査

早期診断のためには、本症のキャリアーを見出す必要があり、本アプローチは重要である。

4、簡易診断法の開発

これまでのアプローチを継続、発展させるとともに、心筋生検サンプルを本症の診断により有効に利用すること、新たなアプローチとして、ラマン散乱顕微鏡による組織イメージングや冠カテーテル法を用いた冠状動脈の脂質蓄積評価法の開発なども行っていく。

5、診断基準のバージョンアップ、診断フローチャート、鑑別診断表の作成

次年度の活動によって、上記作成を行いたいと考えている。

6、MCT療法の改良と科学的検証

MCT療法は、大阪大学医学附属病院入院中の症例には、無理なく実施できるようになってきた一方で、発煙点が低いなど調理上の注意点がいくつ也存在する。他医療機関や外来レベル（家庭）で、本治療法を確実に実施するためには、さらなる研究開発が必要である。

また、原発性TGCV（ATGL欠損症）は、希少疾患と考えられ、本症に対して、MCT療法が有効であることを科学的に早期に検証、実証することは、臨床研究のみでは困難であると考えられる。動物実験の併用が必要であろうと思われ、遺伝子改変動物などを用いて検証していく。

E. 結論

TGCVは、心筋、冠状動脈、骨格筋などに中性脂肪が蓄積することにより、重症心不全、不整脈、虚血性心疾患、重症ミオパチーなどを来す難病である。特に、原発性TGCV（ATGL欠損症）は、心不全、ミオパチーで成人早期から患者のQOLを著しく障害し、放置すれば最終的に心臓死に至らしめる予後不良な疾患である。現時点での情報を広く公開するとともに、診断基準作成、簡易診断法開発、治療法、予防法の開発に努め、1日でも早くこの難病を克服する必要がある。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

Hirano K

A Novel Clinical Entity: Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy- Implications and Perspectives from “obesity

of the heart”

J Antheroscler Thromb. 2009; 16:702-705.

2. 学会発表

4th Annual Frontiers of Clinical Investigation Symposium 2009.10

Ken-ichi Hirano, et al.

TRIGLYCERIDE DEPOSIT CARDIOMYOVASCULOPATHY AND A NOVEL NON-INVASIVE, AND NUTRITIONAL THERAPEUTICS

第31回心筋生検研究会 2009.11

平野賢一ら

重症心不全症例に対する栄養療法の試み—中性脂肪蓄積心筋血管症をモデルとして—

第7回日本機能性食品医用学会総会 2009.12

平野賢一ら

中性脂肪蓄積心筋血管症の発見と中鎖脂肪酸を用いた食事療法の試み

第74回日本循環器学会総会・学術集会 2010.3

平野賢一ら

Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy in Autopsied Diabetics

平野賢一ら

Dietary Therapy with Medium-Chain Triglyceride for Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy

XXth World Congress of the International Society for Heart Research 2010 Kyoto 2010.5

Yoshihiko Ikeda, et al.

Morphological characteristics in the working myocardium in TGCV mimicking HCM and

ARVC

Ken-ichi Hirano, et al.

A mechanism of lipotoxicity in triglyceride
deposit cardiomyovasculopathy

Yoko Yasui, et al.

A dietary therapy with medium chain
triglyceride(MCT) for triglyceride deposit
cardiomyovasculopathy

Yoshihiko Ikeda, et al.

A novel type of atherosclerosis in
triglyceride deposit cardiomyovasculopathy

Nobuhiro Zaima, et al.

Imaging of human vascular diseases by
matrix-assisted laser desorption-
ionization imaging mass spectrometry

Ken-ichi Hirano, et al.

A novel clinical entity; triglyceride
deposit cardiomyovasculopathy, "obesity of
the heart"

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

難治性疾患克服研究事業 中性脂肪蓄積心筋血管症研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主 任 研 究 者	平野 賢一	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	助教
研 究 分 担 者	植田 初江	国立循環器病センター 臨床検査部 病理	病理検査室医長
	加藤 誠也	琉球大学医学部病態解析医科学講座細胞病理学分野 病理学	教授
	小林 邦久	九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学	助教
	笹栗 靖之	産業医科大学 第二病理学講座	教授
	財満 信宏	浜松医科大学 分子解剖学	助教
	隅 寿恵	大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学講座神経内科学	助教
	瀬藤 光利	浜松医科大学 分子解剖学	教授
	千葉 仁志	北海道大学大学院保健科学研究院 病態解析学講座	教授
	戸田 達史	神戸大学大学院 医学研究科 神経内科学/分子脳科学	教授
	内藤 博昭	国立循環器病センター 放射線医学	部長
	福嶋 教偉	大阪大学大学院医学系研究科 心臓血管外科学	准教授
宮田 敏行	国立循環器病センター 病因部	部長	
研 究 協 力 者	東 将浩	国立循環器病センター放射線診療部	医長
	池田 善彦	国立循環器病センター 臨床検査部 病理	医員
	和泉 徹	北里大学医学部 循環器内科学	教授
	井田 博幸	東京慈恵会医科大学 小児科学講座	主任教授
	市田 藤子	富山大学・医学薬学研究部小児科	准教授
	今泉 勉	久留米大学医学部 内科学講座心臓血管内科部門	主任教授
	今中 恭子	三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学	准教授
	大熊 彩	埼玉医科大学 神経内科・脳卒中内科	助教
	小川 雅也	盛岡友愛病院神経内科	部長
	小室 一成	千葉大学大学院医学研究院 循環病態医科学	教授
	(同上)	大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学	教授
	斎藤 能彦	奈良県立医科大学 第一内科	教授
	澤 芳樹	大阪大学大学院医学系研究科 心臓血管外科学	教授
	澤井 高志	岩手医科大学 医学部 病理学 先進機能病理学分野	教授
	砂川 賢二	九州大学大学院医学研究院 循環器内科	教授
	竹中 優	神戸女子大学管理栄養士養成課程	教授
	筒井 裕之	北海道大学大学院医学系研究科 循環病態内科学	教授
	寺崎 文生	大阪医科大学医学部 内科学III	診療准教授
	土井 健史	大阪大学大学院薬学系研究科	教授
	土居 義典	高知大学教育研究部医療学系医学部門 老年病・循環器・神経内科学	教授
	富山 憲幸	大阪大学大学院医学系研究科 放射線医学	准教授
	友池 仁暢	国立循環器病センター	院長
	永井 良三	東京大学大学院医学系研究科 内科学専攻 循環器内科	教授
	長坂 博範	千葉県こども病院 内分泌代謝内科	医長
	西野 一三	国立精神・神経センター神経研究所、疾病研究第一部	部長
	布田 伸一	東京女子医科大学東医療センター 内科	准教授
	堀 正二	大阪府立成人病センター	総長
	松崎 益徳	山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学	教授
	富田 茂樹	国立循環器病センター 輸血部	医長
	室原 豊明	名古屋大学大学院医学系研究科 循環器内科学	教授
	安井 洋子	大阪大学医学部附属病院 栄養管理室	室長
	山岸 正和	金沢大学医薬保健研究域医学系循環医科学専攻・臓器機能制御学	教授
	山田 直明	国立循環器病センター放射線診療部	医長
	善積 透	川崎病院 診療部 循環器科	技師長

中性脂肪蓄積心筋血管症の疾患概念およびその診断基準（案）

(Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV)

【基本病態】

2008年、我が国の心臓移植待機症例から見出された新規疾患単位であり、心筋、冠状動脈に中性脂肪が蓄積することによって、重度の心不全、不整脈、虚血性心疾患などを呈する難病である。

心臓外症状として骨格筋ミオパチーを来す症例もある。

【原因とその解明状況】

1、原発性 TGCV

現時点で唯一明らかな原因は、細胞内中性脂肪分解の必須酵素である Adipose triglyceride lipase (ATGL) の遺伝的欠損であり、ホモ接合体は、TGCV を発症する。ヘテロ接合体の表現型は不明である（研究班で検討中）。

2、続発性 TGCV

研究班による剖検心の解析から ATGL 欠損を伴わない TGCV も多く見出されており、他の代謝性疾患に続発するものと考えて、研究を継続している。

【診断基準（案）】

前述したように、TGCV は、2008年に見出された新規疾患単位であり、その研究の歴史は浅い。この診断基準（案）は、広く情報を開示し、さらに情報を収集、本症の実態を把握、この難病の克服をできるだけ早期に実現するために公表するものである。

- 1、 診断は、病歴、理学的所見に加え、心筋と冠状動脈を含む血管壁における中性脂肪の蓄積を証明することによってなされる。
- 2、 中性脂肪の蓄積は、心筋生検標本、心移植術摘出心ないし剖検心の病理組織学的解析、生化学的解析によってなされる。
- 3、 遺伝子解析によって、ATGL の欠損を証明しえた場合は、確定診断できる。

(注) 現時点では、組織中における中性脂肪の蓄積を日常診療で診断することが困難なため、研究班にて簡易診断法の開発に努めている。

次ページに、ATGL 欠損症についての情報をまとめる。

Adipose triglyceride lipase (ATGL)欠損症

ATGL は、504 アミノ酸からなる分子量56キロダルトンの蛋白で、ヒトにおいては、心筋細胞、骨格筋細胞、脂肪細胞などに発現する。細胞内中性脂肪分解の必須酵素の一つであると考えられている。ATGL 欠損症は、これまで、国外で6症例（5家系、5変異）、国内で7症例（5家系、4変異。1例は遺伝子変異の解析中）の情報が得られており、以下にその特徴を記す。

1、 臨床症状

生来健康で、20代以降、中年までに心症状あるいは骨格筋ミオパチーで発症する。心症状としては、動悸、息切れ、呼吸困難、失神など生じ、不整脈、心不全などによる症状がみられる。

ミオパチー合併例では、四肢、体幹の筋力低下および萎縮を来す。

これまでの症例の情報及び文献的検索から、ATGL 欠損症では、心症状とミオパチーは、症例により重症度に違いはあるものの、必発であると考えられる。

2、 検査所見

(1) 末梢血：

塗抹標本にて、多核白血球、単球に空胞変性 (Jordans' anomaly) を認める。この空胞は、オイルレッドO染色などの脂肪染色で陽性となる。

(2) 生化学的検査

心不全に伴い、BNP値の上昇。また、ミオパチー合併例でもCPK (MM型)値は、正常範囲から高値とさまざまな値を示す。

組織内中性脂肪蓄積にも関わらず、血清トリグリセリド値は高値を示さないのが特徴である。

(3) 心電図：

非特異的ST、T変化、左室肥大所見などを認める。

上室性、心室性期外収縮はじめ多彩な不整脈を伴い、心室頻拍、心室細動など重症不整脈から心肺停止や突然死に至る症例がある。

(4) 心臓超音波：

病初期では、求心性肥大所見を呈する例もあるが、進行例では、拡張型心筋症様の両心腔の拡張や壁運動低下を示す。

(5) 心臓CT

心筋に低吸収領域を認める。冠状動脈には、脂質プラークを認める。

(6) 冠動脈造影

造影所見において、狭窄を呈さない症例もあり

脂質プラークの証明には、血管内超音波 (IVUS)などが、有用である。

(7) 組織学的所見

心筋生検組織、心移植術摘出心ないし剖検心において以下の所見を認める。

肉眼的所見：

進行例では、両心腔の拡張と壁の菲薄化。心筋内は、黄白色調を呈する。冠状動脈は、求心性の狭窄を伴うことがある(初期は内膜肥厚のみ)。

光顕所見：

肥大した心筋の細胞質内には空胞変性を伴い、典型例では多数の泡沫状の小空胞を生じ、脂肪染色陽性である。進行例では、心筋が変性脱落、間質性ないし置換性の線維脂肪化を生じる。

冠状動脈は、内膜、中膜から外膜にいたる血管壁全層に脂質蓄積を示す泡沫化した細胞を認める。

電顕所見：脂肪滴を心筋細胞内に認める。

組織内脂肪の検出には、オイルレッドO染色などの脂肪染色が有用であるが、凍結切片の利用やオスミウム処理で脂質の溶出を防止するなど特別な検体処理が必要である。また、現時点では、組織標本中の中性脂肪(トリグリセリド)蓄積の特異的証明は、組織から脂質抽出をしたのち、生化学的手法を用いて行っている。研究班では、質量顕微鏡など先端技術の応用も含め、診断法を開発中である。

(8) 骨格筋CT、MRI

筋力低下が明らかでなくとも、画像上、骨格筋の変性像を認めることがあり、診断に有用である。

(9) 筋生検

タイプI型線維を中心に脂質蓄積が認められる。

縁取り空胞が認められる症例も存在する(参考所見)

3、鑑別診断

高血圧性心疾患、肥大型心筋症、拡張型心筋症、拡張相肥大型心筋症、不整脈源性右室心筋症との鑑別が重要である。

さらに、以下の特定心筋症(二次性心筋疾患)、特に蓄積性代謝疾患との鑑別が必要である。

- ① アルコール性心疾患、産褥性心筋症、②心筋炎、③神経・筋疾患に伴う心筋疾患、④膠原病に伴う心筋疾患、⑤栄養性心疾患、⑥代謝性疾患に伴う心筋疾患(カルニチン回路欠損、Chanarin-Dorfman 症候群、Fabry 病、ヘモクロマトーシス、Pompe 病など)、⑦アミロイドーシス、サルコイドーシスなど。

4、 臨床経過および予後

一般に予後不良であり、発症から数年から10数年で心不全、ミオパチーの悪化によるQOLの低下、死に至る症例が多い。我が国の7症例中、4例はすでに死亡（2例は20才代、1例は50才代、1例は60才代）、2例は、心臓移植を受けている。

尚、研究班では中鎖脂肪酸 (Medium chain triglyceride, MCT)による食事療法を開発し、その効果を検討中である。

portable cautery device, which may not be available in a primary care office. Instead, the time-honored approach is to heat the end of an unfolded paper clip in a flame and to use that metal to burn through the nail into the hematoma.

Jeffrey L. Kaufman, M.D.

Baystate Vascular Services
Springfield, MA 01107

THE AUTHORS REPLY: Although we recognize, as Trautinger points out, that the pathobiology of sunburns may not be typical of most thermal burns, one of the most common causes of first-degree burns is sunburn. Thus, topical diclofenac sodium may be of use for many patients with first-degree burns. There is also evidence that other topical nonsteroidal antiinflammatory agents may be of benefit for thermal injuries. For example, a study of second-degree burns in adult sheep showed that topically applied ibuprofen decreased both local edema and prostanoid production in the burn tissue.¹

We agree that all efforts should be made to reduce the risk of bacterial cross-contamination between patients and wounds. Previous studies have shown that white-coat sleeves often contain patho-

genic bacteria such as *Staphylococcus aureus*.^{2,3} In these studies, a significant proportion of subjects laundered their coats only at monthly intervals. No study has shown contamination of white coats that were properly washed and changed on a daily basis. However, we agree with Guyot et al. that the use of clean short sleeves, as well as proper hand washing and gloves, should be encouraged.

Finally, as noted by Kaufman, in the absence of a portable cautery device, the end of an unfolded paper clip, heated in a flame, may be used to drain a subungual hematoma. Although we too have used this method in the past, in our experience it is now often difficult to find an alcohol lamp, let alone a match to light it.

Adam J. Singer, M.D.

Alexander B. Dagum, M.D.

Stony Brook University
Stony Brook, NY 11794
adam.singer@stonybrook.edu

1. Demling RH, Lalonde C. Topical ibuprofen decreases early postburn edema. *Surgery* 1987;102:857-61.
2. Wong D, Nye K, Hollis P. Microbial flora on doctors' white coats. *BMJ* 1991;303:1602-4.
3. Loh W, Ng VV, Holton J. Bacterial flora on the white coats of medical students. *J Hosp Infect* 2000;45:65-8.

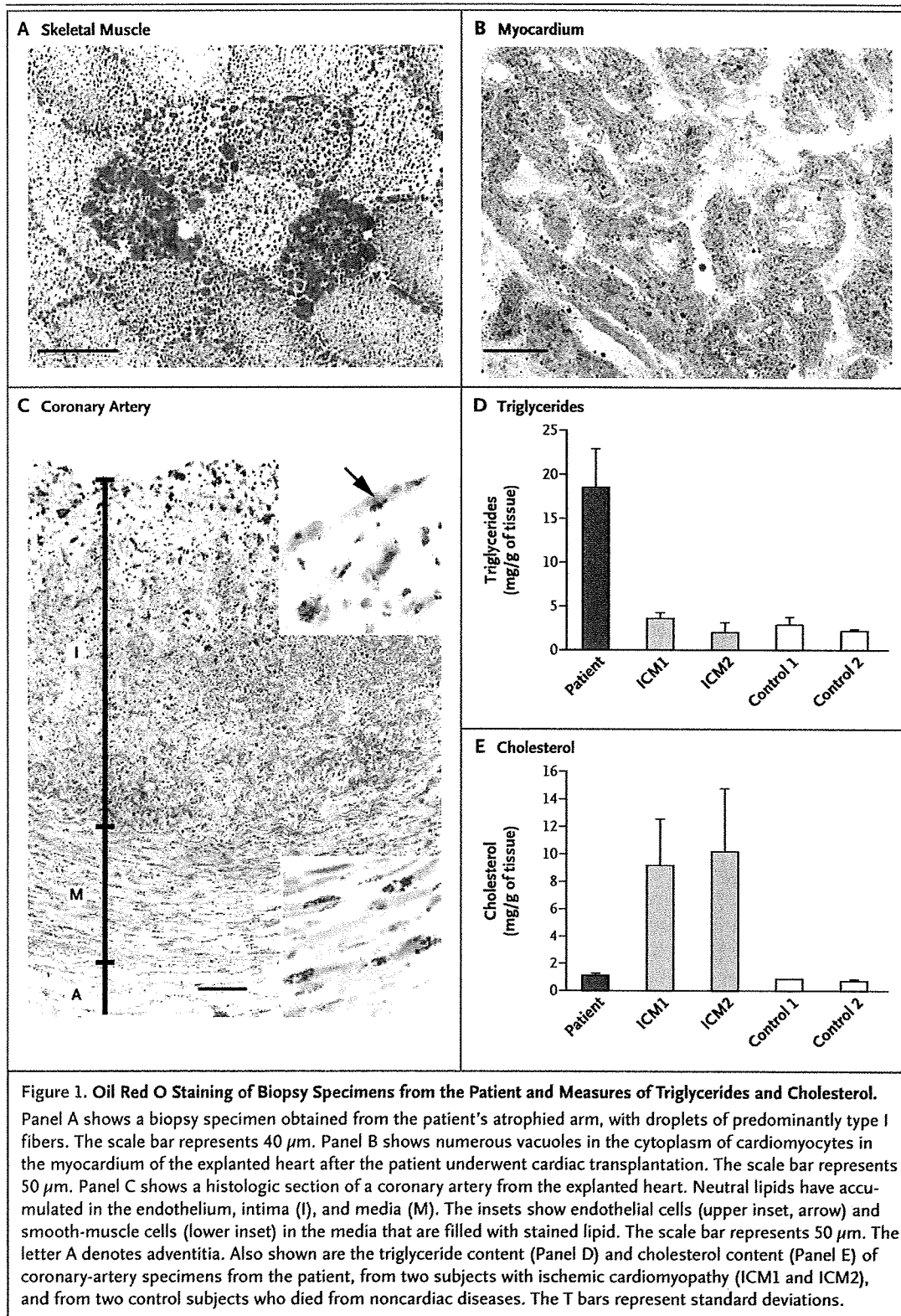
Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy

TO THE EDITOR: A 41-year-old man was admitted to our hospital with ventricular tachycardia in 2003. Biopsy specimens obtained from the right ventricle showed neutral lipid deposition in cardiomyocytes. In 2004, the patient had catecholamine-dependent congestive heart failure, and a left ventricular assist system was implanted. Skeletal-muscle atrophy in the arms became evident, and staining of biopsy specimens with oil red O showed droplets of predominantly type I fibers (Fig. 1A). Levels of plasma lipids and carnitine were normal.

In June 2007, the patient underwent cardiac transplantation. Microscopical examination of the explanted heart revealed numerous vacuoles that stained positive for oil red O in the cytoplasm of cardiomyocytes (Fig. 1B). The triglyceride content in the left ventricles was markedly increased, as compared with that in three control subjects without heart disease (data not shown). The patient's

coronary arteries showed diffuse intimal thickening and fibroatheromatous lesions. Vacuoles were observed in the cytoplasm of endothelial cells, in the smooth-muscle cells in the media of the coronary arteries (Fig. 1C), and in the foam cells in the intima. Cells that were positive for oil red O staining were seen in the endothelium, intima (Fig. 1C, upper inset), and media (Fig. 1C, lower inset). Surprisingly, the triglyceride content (Fig. 1D), but not the cholesterol content (Fig. 1E), in the patient's atherosclerotic coronary arteries was much higher than that in two control subjects and in two patients with ischemic cardiomyopathy.

To determine the molecular mechanism for this triglyceride deposition, we sequenced the adipose triglyceride lipase gene (*ATGL*, also known as *PNPLA2*), which encodes an essential intracellular triglyceride lipase.¹ The patient was homozygous for a point mutation in exon 7 of *ATGL* (c.865C→T; p.Gln289X), which is identical to a mutation re-



ported by Fischer et al.² in a patient with mild myopathy.

The atherosclerotic lesion that we observed in this patient was unusual³ because the accumulated lipid was triglyceride rather than cholesterol, lipid-laden cells were distributed through all layers of the arterial wall, and the patient had normal plasma triglyceride levels. These phenotypes may result from the mutation in *ATGL*.⁴

Ken-ichi Hirano, M.D., Ph.D.

Osaka University
Osaka 565-0871, Japan
khirano@imed2.med.osaka-u.ac.jp

Yoshihiko Ikeda, M.D.

National Cardiovascular Center
Osaka 565-8565, Japan

Nobuhiro Zaima, Ph.D.

Hamamatsu University School of Medicine
Hamamatsu 431-3192, Japan

Yasuhiko Sakata, M.D., Ph.D.

Goro Matsumiya, M.D., Ph.D.

Osaka University
Osaka 565-0871, Japan

1. Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R, et al. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science* 2006;312:734-7.

2. Fischer J, Lefèvre C, Morava E, et al. The gene encoding adipose triglyceride lipase (*PNPLA2*) is mutated in neutral lipid storage disease with myopathy. *Nat Genet* 2007;39:28-30.

3. Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.

4. Schweiger M, Schoiswohl G, Lass A, et al. The C-terminal region of human adipose triglyceride lipase affects enzyme activity and lipid droplet binding. *J Biol Chem* 2008;283:17211-20.

Emergence of Extensive Drug Resistance during Treatment for Multidrug-Resistant Tuberculosis

TO THE EDITOR: We report the development of fluoroquinolone-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis during second-line treatment for multidrug-resistant tuberculosis in Karakalpakstan, Uzbekistan. Eighty-seven patients were treated with a regimen containing at least five drugs to which the infecting strain was presumed to be susceptible, according to recommendations from the World Health Organization.^{1,2} We performed drug-susceptibility testing and DNA fingerprinting on *Mycobacterium tuberculosis* isolates collected at baseline and during treatment.

None of the 87 patients had ofloxacin resistance at baseline, yet ofloxacin resistance developed during treatment in 18 patients (21%), and 10 patients (11%) were classified as having extensively drug-resistant tuberculosis.³ Only 5 (28%) of the 18 patients with ofloxacin resistance were successfully treated. Isolates from 13 patients had identical DNA fingerprints throughout treatment, probably reflecting the induction and amplification of ofloxacin resistance. A mixed infection, with two strains at baseline, was found in one patient, whereas the isolates obtained from four patients during treatment had DNA fingerprints that differed from those of the baseline isolates, indicating potential reinfection (Fig. 1).

Among the 13 patients with identical strains at baseline and during treatment, second-line resistance and a severe clinical condition at baseline were significantly associated with the development of ofloxacin resistance on univariate analysis ($P=0.002$ and $P=0.03$, respectively) (see the Supplementary Appendix, available with the full text of this letter at www.nejm.org). Both factors remained significantly associated with fluoroquinolone resistance in a multivariate model ($P=0.007$ and $P=0.03$, respectively). Interestingly, 9 of the 13 patients were infected with a multidrug-resistant tuberculosis clone that is highly prevalent in this region, suggesting a higher propensity of particular strains to acquire resistance. A reduction in population diversity caused by clonal expansion of particular multidrug-resistant strains also renders strain differentiation based on IS6110 fingerprints more difficult. Thus, some of the presumed amplification might represent reinfection with a fluoroquinolone-resistant variant of the same strain.

This study shows that exogenous reinfection with extensively drug-resistant *M. tuberculosis* strains may occur during second-line treatment of multidrug-resistant tuberculosis. The reinfecting strains from three patients showed DNA fingerprint patterns and resistance profiles that were identical to

Communication

A Novel Clinical Entity: Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy — Implications and Perspectives from “Obesity of the Heart”

Ken-ichi Hirano

Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka, Japan

Heart diseases, including atherosclerotic cardiovascular disease and congestive heart failure, are major life-threatening disorders in most countries. Cholesterol is a vital causal factor and focus of research into heart diseases, but the involvement of triglycerides remains unclear. We recently reported a unique patient suffering from severe congestive heart failure and needing cardiac transplantation. Massive accumulation of triglycerides was observed in coronary atherosclerotic lesions as well as in the myocardium, while plasma triglyceride levels were normal. We suggested that this phenotype was a novel clinical entity and named it “Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy”, or simply “Obesity of the heart”. The patient was identified as homozygous for a genetic mutation in the adipose triglyceride lipase, an essential molecule for hydrolysis of intracellular triglycerides. The present paper deals with what we can learn from this single case and discusses its implications for research and clinical medicine related to heart diseases.

J Atheroscler Thromb, 2009; 16:702-705.

Key words; Adipose triglyceride lipase, Atherosclerosis, Cardiac transplantation, Congestive heart failure, Triglycerides, Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy

Cholesterol has been a principal focus of heart disease research during the last 50 years. The Framingham heart study, which started in 1960, reported that plasma cholesterol levels were a strong predictor for coronary heart disease¹⁾. In the 1970s, Brown and Goldstein clarified the molecular mechanism for familial hypercholesterolemia (FH) and identified the low density lipoprotein (LDL) receptor as the molecule responsible for FH²⁾. In the same decade, Endo *et al.* discovered fungal metabolites with hypocholesterolemic activities³⁾, which were the prototype of what are currently called “statins”. Recently, clinical studies with “power statins” showed that almost half of all cardiac vascular events and deaths can be prevented with these kinds of drugs⁴⁾. Recent reports seem to indicate that statins may be effective for non-ischemic as well as ischemic congestive heart failure⁵⁾.

In contrast to cholesterol, the involvement of tri-

glycerides (TG) in heart diseases has remained ambiguous. In spite of their best efforts, it has been difficult for researchers to obtain direct proof of an association between plasma TG levels and coronary heart disease^{6, 7)}. Before the Framingham heart study and the aforementioned two major discoveries of LDL receptors and statins, pathologists had reported that the human aorta and coronary arteries contained substantial amounts of TG, comparable to cholesterol^{8, 9)}; however, it seems that the big cholesterol “wave” swept TG away from the heart to the adipose tissue.

TG is synthesized from glycerol and fatty acids and hydrolyzed by intracellular lipases (i.e., adipose triglyceride lipases (ATGL)) and extracellular lipases (i.e., lipoprotein lipases)¹⁰⁾. Adipocytes take up long-chain fatty acid (LCFA), synthesize TG, and store them in cytoplasmic lipid droplets as a major energy source for the whole body. When required, TG is hydrolyzed by lipases and LCFA is delivered through the bloodstream to oxidative tissues, such as the heart and some skeletal muscles. The heart, which must beat approximately one hundred thousand times a day, prefers LCFA to produce adenosine triphosphate (ATP) via mitochondrial β -oxidation in order to achieve maxi-

Address for correspondence: Ken-ichi Hirano, Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University, 2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan
E-mail: khirano@imed2.med.osaka-u.ac.jp

Received: February 13, 2009

Accepted for publication: March 4, 2009

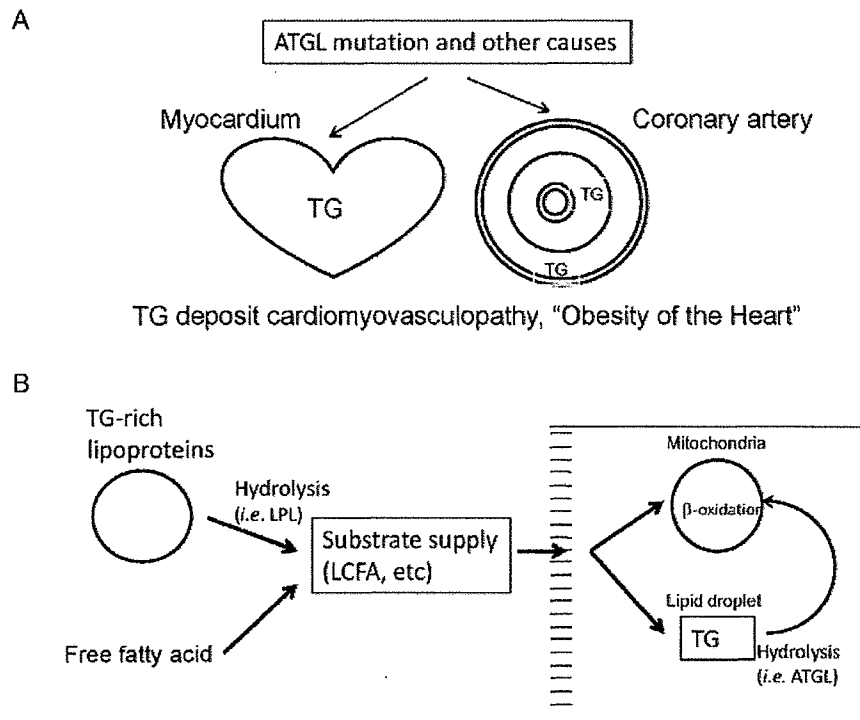


Fig. 1. (A) A schematic presentation of triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, showing primary and secondary causes which induce TG accumulation in both myocardium and coronary arteries. (B) Regulatory factors of intracellular TG content.

TG is stored in cytoplasmic lipid droplets. Cellular TG contents may be regulated by catabolism or hydrolysis of intracellular TG as well as by substrate supply, such as LCFA of TG from the bloodstream. LPL: lipoprotein lipase; ATGL: adipose triglyceride lipase; LCFA: long-chain fatty acid.

mum contractility¹¹). Under normal conditions, lipid droplets containing TG are therefore hardly observed in the heart.

We recently reported a unique patient suffering from congestive heart failure and eventually needing cardiac transplantation. This patient's coronary arteries and myocardium showed massive TG accumulation even though plasma TG levels were normal. Cardiomyocytes and all layers in the coronary arteries were filled with TG-containing lipid droplets. The patient was identified as homozygous for a genetic mutation in the adipose triglyceride lipase (ATGL), which is an essential molecule for hydrolysis of intracellular TG¹². We suggested that this phenotype was a novel clinical entity and named it "Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy (TGCV)" or simply "Obesity of the Heart" (Fig. 1A). It is interesting that the phenotype of TGCV is very similar to that of ATGL knockout mice generated by Zechner *et al.*¹³.

What can we learn from this single case of "Obe-

sity of the Heart"?

1. We need to be aware of the presence of a substantial amount of TG in human arteries.

2. It is difficult to differentiate TG from cholesteryl ester by using conventional Oil red O or Sudan IV staining methods. For example, Oil red O-positive lipids in arteries may not always be cholesteryl esters, but rather TG.

3. As mentioned earlier, it seems difficult to prove a direct association between plasma TG levels and coronary heart disease. We need to consider that tissue TG content may depend on intracellular catabolism (hydrolysis) of TG mediated by lipases (ATGL etc) rather than on a supply from substrates such as LCFA from plasma (Fig. 1B).

4. The frequency of TGCV phenotype occurrence may be higher in Japan. Since the 1980s, cases of Jordan's anomaly have been reported in Japan in which patients suffered from cardiomyopathy associated with neutral lipid deposition, although their