

ATGL 遺伝子変異を伴う中性脂肪蓄積心筋血管症 3 症例における
ミオパチー症状

研究分担者 隅 寿恵 大阪大学医学部医学系研究科神経内科学 助教

研究要旨

adipose triglyceride lipase (ATGL) 遺伝子変異を伴う中性脂肪蓄積心筋血管症の 3 症例を経験した。全例において骨格筋線維内の脂肪蓄積を認め、そのミオパチー症状の臨床像の特徴について検討した。

A. 研究目的

ATGL 遺伝子変異を伴う中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovascularopathy, TGCV) のミオパチー臨床像を明らかにする。

B. 症例の臨床像

女性例のみ、同地域出身者に同遺伝子変異 2 例あり、いずれも心不全にて死亡。男性 2 例では家族歴なし。女性例は心筋生検にて脂質蓄積が認められたものの心不全症状なく、男性 2 例は 30 代半ばにて脂質蓄積を伴う高度の拡張型心筋症と診断され、40 歳ごろ LVAD を装着し、その後心移植を施行された。

Case1 (40 歳代前半女性) 幼少時より走るの遅かった。25 歳頃より上肢脱力が出現し、30 歳頃より右肩脱臼を繰り返した。33 歳頃より歩行障害が出現した。37 歳時に血清 CK 値は 654 IU/L と軽度高値で、筋生検(左大腿直筋)にて脂質蓄積を認めた。四肢・体幹の筋力低下は徐々に進行し、2009 年入院時には歩行器がなければ歩行は困難であり、両上肢挙上は不可能。身長 155cm 体重 32.34 kg BMI 13.46 下顔面表情筋、頸部に軽度、上肢近位部と遠位部伸筋、前脛骨筋に高度、上肢遠位部屈筋と体幹、下肢全体に中等度の両側性の筋力低下を認め、骨格筋は全体に萎縮していた。すり足・動揺性歩行であった。大腿 MRI では右優位の骨格筋脂肪変性を認めた。

Case2 (40 歳代後半男性) 幼少時より走るの遅かったが球技は得意であった。30 歳

頃よりつま先立ちがしにくくなった。35 歳頃より右腕を上げにくく、スリッパが脱げやすくなった。41 歳時より階段で手すりを持つようになった。42 歳時に両側眼瞼下垂・複視が出現し眼科にて手術を受けた。血清 CK 値は 104 IU/l と正常で、筋生検(右上腕二頭筋)にて高度の脂質蓄積を認めた。四肢筋力低下は徐々に進行し、43 歳時より杖歩行。身長 180.4cm 体重 58.5kg BMI 17.97 右優位の両側眼瞼下垂あり、ミオパチー顔貌呈する。右上肢近位部と両側前脛骨筋に高度の筋力低下と萎縮、右上肢遠位部と右腓腹筋に軽度の筋力低下を認め、その他の骨格筋も全体に萎縮していた。動揺性歩行であった。下肢 CT ではやや右優位の筋萎縮と変性を認めた。

Case3 (40 歳代前半男性) 元来、運動は得意であった。25 歳にて左聴力低下、28 歳にて急性膵炎の既往あり。24 歳頃より高 CK 血症(500~2,000 IU/l)を指摘された。30 歳時、両側腓腹筋の軽度筋力低下と筋萎縮を指摘され、筋生検にて脂質蓄積を認めた。41 歳時に心原性脳塞栓症を併発し、右不全片麻痺・運動性失語が残存。身長 170.0cm 体重 50.6 kg BMI 17.51 運動性失語あり。顔面含め右不全片麻痺あり、両下腿に筋萎縮と軽度の筋力低下を認めた。下肢 CT ではやや右優位の筋萎縮と変性を認めた。

C. 症例まとめ

3 症例のうち 2 人は走るのは元々遅く、1 人は運動が全般に得意であった。3 例とも四肢の筋力低下と筋萎縮が徐々に進行したが、

その程度や分布、顔面罹患の有無、高CK血症の有無は症例間で異なった。

D. 考察

TGCV では慢性進行性のミオパチー症状を伴い、その程度や罹患部位は症例により異なる。

E. 結論

ATGL) 遺伝子変異を伴う中性脂肪蓄積心筋血管症の3症例のミオパチーについて報告した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

心筋及び冠動脈における脂質局在の可視化

研究分担者 瀬藤 光利 浜松医科大学 分子解剖学研究部門 教授

研究要旨

平成 21 年度に 2 型糖尿病患者の冠動脈における中性脂肪（TG）の局在異常があることを質量顕微鏡法によって見出した。

平成 22 年度は免疫染色と質量顕微鏡法により、冠動脈における TG の局在が血管平滑筋の分布と一致することを見出した。

A. 研究目的

TGCV は平野班長らのグループが発見した新規の疾患単位であり、心筋と冠動脈における中性脂肪の異常蓄積を特徴とする。平野班班員である財満の研究により、2 型糖尿病心不全死症例において TGCV 様のフェノタイプが引き起こされる可能性が示されたため、前年度は冠動脈の脂質局在を質量顕微鏡法によって可視化し、糖尿病患者冠動脈における TG の局在異常を見出した。今年度の目的は TG の局在と一致する細胞を同定することである。

B. 研究方法

クライオスタットで $8\mu\text{m}$ の心筋切片を作成し、ITO (Indium Thin Oxide) コートしたスライドガラス上に接着させ、DHB (2,5-Dihydroxy benzoic acid) 溶液を塗布し、質量顕微鏡分析に供した。質量顕微鏡分析には Nd:YAG レーザー (波長 355nm、周波数 200Hz) を搭載した Ultraflex II TOF/TOF (Bruker Daltonics) を使用した。脂質局在解析は FlexImaging を用いた。脂質の同定には、MALDI-LTQ-XL (Thermo Fisher Scientific) を用いた。冠動脈中の細胞は免疫染色によって可視化した。実験は浜松医科大学の倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

2 型糖尿病患者群の冠動脈はアテローム巣を取り囲むように TG が局在していた。非糖尿病患者の冠動脈では TG の局在は観察されなかった。免疫染色により、血管平滑筋が TG

の局在と一致することがわかった。糖尿病患者と非糖尿病患者で血管平滑筋の分布の違いは観察されなかった。糖尿病患者と非糖尿病患者ともに、コレステロールエステルはアテローム巣で検出され、局在の違いは観察されなかった。

D. 考察

糖尿病患者冠動脈で観察される TGCV 様フェノタイプの原因は血管平滑筋における TG 代謝異常であると推測される。

E. 結論

2 型糖尿病冠動脈において、TG の特徴的な局在が観察される。この局在は、血管平滑筋内の TG 代謝異常に起因する可能性が高い。今後は、2 型糖尿病患者心筋における脂質を可視化する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

XXth. World Congress International Society of Heart Research (Kyoto, 13-16, May, 2010)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

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
本症の分子遺伝学的解析

研究分担者 戸田 達史 神戸大学神経内科・分子脳科学 教授

研究要旨

adipose triglyceride lipase (ATGL)欠損症疑いの症例について、過去に報告されたATGL遺伝子変異の検出を試みたところ、過去の報告を再現する突然変異c.475_478dupCTCC (p.Gln160ProfsX19)を検出することができた。この変異周辺はCGに富む塩基配列となっており、検出の際に工夫が必要であった。

A. 研究目的

ATGL欠損症疑いの症例のATGL遺伝子変異の検出

D. 考察

この症例は、ATGL欠損症であると確定診断された。

B. 研究方法

ATGL 遺伝子の c.475_478dupCTCC (p.Gln160ProfsX19)変異を、PCR直接塩基配列決定法により検討した。この変異周辺はCGに富む塩基配列となっており、PCRの際に以下の工夫を行った。①denature温度を98℃にする。②DMSOを最終濃度2%になるように加える。③7-deaza dGTPを最終濃度0.05mMになるように加える。

(倫理面への配慮)

本研究は、神戸大学倫理委員会にて承認を得ている遺伝子解析研究である。

E. 結論

ATGL欠損症疑いの1症例について、ATGL 遺伝子の c.475_478dupCTCC (p.Gln160ProfsX19)変異を検出し、過去の報告を再現できた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

C. 研究結果

過去の報告通り、ATGL 遺伝子の c.475_478dupCTCC (p.Gln160ProfsX19)変異を検出した。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

TGCV患者のJordan's anomalyを血球計数装置で検出する方法の検討

研究分担者 千葉 仁志 北海道大学・大学院保健科学研究院・教授

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症（TGCV）の末梢血を用いたスクリーニング法の確立を目的として、血球計数装置による脂肪滴検出の可能性について検討した。BASO-WX、BASO-WYの増大、IPF%の増大、IG%の軽度増大が認められ、患者のスクリーニングに応用できる可能性が示された。

A. 研究目的

平成21年度の分担研究において、TGCV患者の末梢血所見ではJordan's anomalyがスクリーニングのためのターゲットとして適していることが分かった。そこで、平成22年度においては、Jordan's anomalyを血球計数器で検出する方法について検討した。

B. 研究方法

シスメックス社製XE-5000血球計数装置を用いて、各チャンネルで得られる血球スキュタグラムを観察した。TGCV患者2例について健常コントロールと比較した。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪大学大学院医学研究科と北海道大学大学院保健科学院の倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

WBC/BASOスキュタグラム上に、脂肪滴を含む好中球が出現している可能性が示された。BASO-WXとBASO-WYの増大が観察された。

PLT-Oスキュタグラム上、蛍光強度の大きな領域に脂肪滴を含む血小板が出現している可能性が示された。IPF%が増大していた。

DIFFスキュタグラム上、本来の好中球領域よりも蛍光強度の大きな領域において、脂肪滴を含む好中球が出現している可能性が示された。IG%が正常値よりわずかに増大していた。

D. 考察

TGCV患者の血球計数装置から得られるBASO-X、BASO-Y、IPF%、IG%の増大所見はJordan's anomalyの血球計数装置上の所見と考えられる。

E. 結論

血球計数装置のスキュタグラムを観察することにより、TGCV患者をスクリーニングできる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

TGCV診断法の開発－MRIによる心筋脂肪蓄積の診断－

研究分担者 内藤 博昭 国立循環器病センター 病院長

研究要旨 TGCV3例を対象に、MRIによる心筋脂肪蓄積評価の可能性を、CTと対比して検討した。CTでは単純像で全例に左室壁の淡い低濃度を認め、脂肪の存在が強く示唆されたが、T1強調MR撮像での左室壁の高信号描出は明瞭でなく、MRIによる脂肪蓄積の確認には撮像と評価法の工夫が必要と思われた。

A. 研究目的

X線CTでは、単純スキャンにより「脂肪」は低濃度陰影として明瞭に描出される。一方、MRIでは脂肪組織はT1強調撮像で強い高信号を呈することが知られている。そこでMRIによる中性脂肪蓄積心筋血管症（TGVC）例の心筋脂肪蓄積評価の可能性を検証する。

B. 研究方法

対象は本症の3症例（男2/女1）。大阪大学医学部附属病院で実施の心臓CT画像と、同時期に実施のMRI画像（全例の心電図同期T1強調画像、症例3のガドリニウム造影剤を用いた心筋造影画像）を後方視的に対比検討した。

C. 研究結果

3症例のCT/MRI画像を図1～3に示す。CTでは単純像で全例に左室壁の脂肪蓄積を示唆する淡い低濃度域を認め、特に症例2で著明（図2）。これに対し、MRIのT1強調画像での心室心筋の高信号所見は確定が困難であった（図1～2）。症例3では、造影MRIにて肥厚した左室壁の内膜側の広範囲に淡い「遅延造影」が検出され（図3矢印）、心筋傷害の存在が明らかになった。

D. 考察

単純CTでは正常心筋と内腔の血液にコントラストがないことより、心筋脂肪沈着・蓄積が低濃度陰影として容易に確定できるのに対し、MRIのT1強調画像における心筋の「高信号」の判定には、近傍に良い対照がない。また心臓部の撮像では動きのア

ーチファクトによる画像の信号ムラが出やすく、これも「高信号」の判定困難の一因である。対策として、呼吸停止下での高速撮像により十分静止した心臓部T1強調画像を得る、脂肪抑制操作併用のT1強調画像の撮像を併用するなどの撮像法と、骨格筋や心臓周囲脂肪組織との信号対比、「脂肪抑制」の有無による信号比較といった判定法の工夫が必要と考えられる。

MRIの造影後期相における「心筋遅延造影」は、傷害心筋を示す異常所見とされる。ガドリニウム造影剤は、静注投与早期には主に心筋血管床に分布し、後期に組織間質に広がって平衡する（図4）。従って「遅延造影」は細胞外スペースの異常拡大を反映し、間接的に梗塞等を表すと考えられている。TGCV例では造影MRIにより心筋の傷害部位が確定でき、またCTで認められた脂質の細胞内・外蓄積の推定に繋がる可能性がある。

E. 結論

MRIは脂肪組織を高信号にかなり特異的に描出できる能力を持つが、今回の後方視的検討では、TGCV例の脂肪蓄積の確定は困難であった。心筋の脂肪蓄積の臨床判定について、現状ではCTが簡便性・安定性ともに優れると思われるが、MRIでも撮像法と判定法の工夫により確実な評価ができる可能性がある。一方、造影MRIはTGCV例の心筋組織構築に基づく性状と傷害の判定に極めて有用であることが明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし

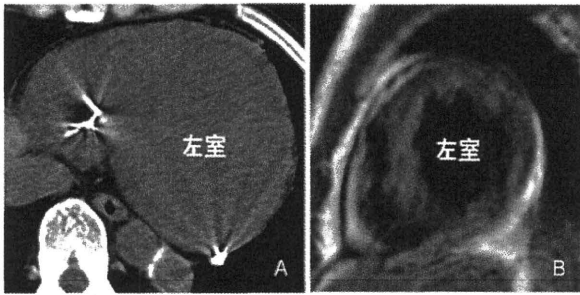


図1 心臓部単純CT/MRI画像(症例1)

A: 単純CT(水平横断像)、B: T1強調MRI(短軸像)

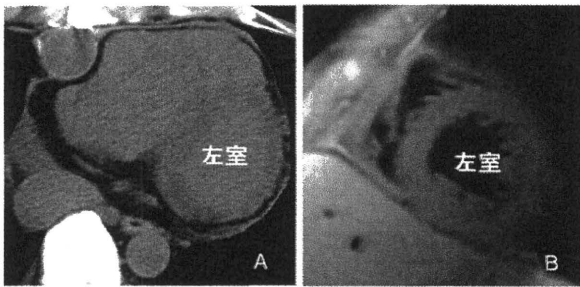


図2 心臓部単純CT/MRI画像(症例2)

A: 単純CT(水平横断像)、B: T1強調MRI(短軸像)

G. 研究発表

I 論文発表

1. 内藤博昭: CTによる心筋組織性状の評価(2010) 心血管 CT パーフェクトガイド/編: 川名正敏, 中山書店(東京) pp124-126
2. 内藤博昭: 心臓の解剖・病理(2010) 心血管 CT パーフェクトガイド/責任編集: 川名正敏、編集協力: 坂井晶子, 中山書店(東京) 142-147

II 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

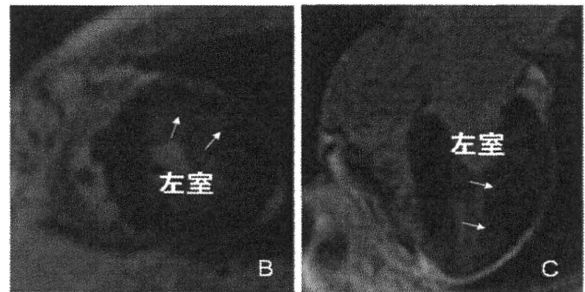
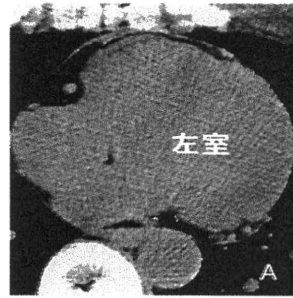


図3 心臓部単純CT/造影MRI画像(症例3)

A: 単純CT(水平横断像)、B: 造影MRI(短軸像)、C: 造影MRI(四腔像)

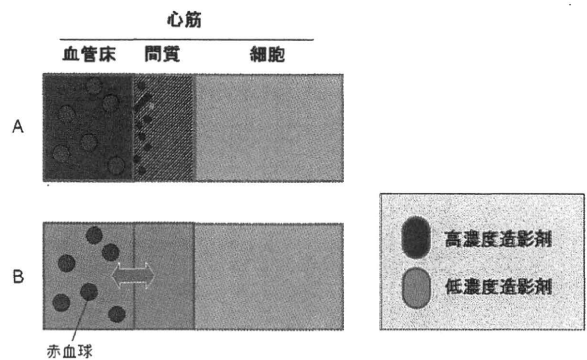


図4 心筋組織構築と造影剤の分布

A: 造影早期(ファーストパス)、B: 造影後期(投与数分後)

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

研究協力者

国立循環器病センター 東 将浩、山田直明
 大阪大学医学部放射線医学 富山憲幸

中性脂肪蓄積心筋血管症に関する調査研究

—マウスウイルス性心筋炎に対する MCT の効果について—

研究分担者：中村 浩士（山口大学医学部地域医療推進学講座准教授）

研究要旨

マウスウイルス性心筋炎モデルを使用して MCT の効果について検証した。5%MCT は死亡率と組織変化を改善した。

A. 研究目的

飽和脂肪酸である MCT はヤシ油等に含まれる C8、C10 などの中鎖脂肪酸で作られる食用油で、無味無臭で、様々な食品に加えることが可能である。MCT は腎臓病の食事療法や術後や高齢者の低栄養状態の改善、難治性てんかんや中性脂肪蓄積心筋血管症（triglyceride deposit cardiomyovascuopathy, TGCV）に対する治療としても注目されている。また、MCT は LCT と異なり、ミトコンドリア内に β -酸化される為に取り込まれる際に、カルニチンを必要としない為、心筋代謝には即効性あることが報告されている。そこで MCT の循環器疾患への応用を目的として、マウスウイルス性心筋炎モデルを使用して MCT の効果についての予備試験を行った。

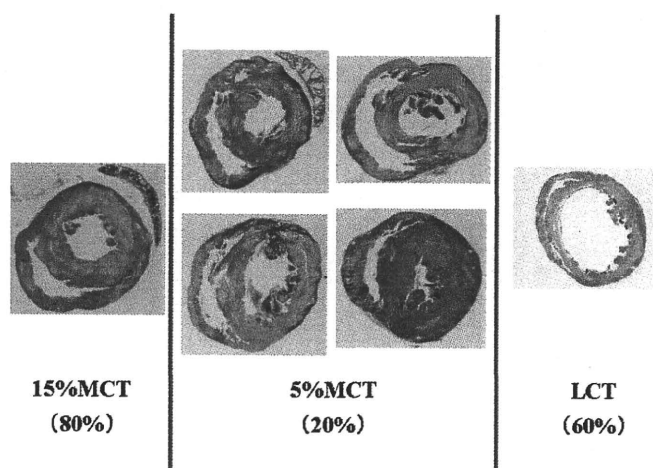
B. 研究方法

3 週令 δ A/J マウスに coxsackievirus B₃(CVB3) 2×10^4 PFU を腹腔内投与し心筋炎を作成した。5, 10, 15%MCT 餌を与え、コントロールは LCT 餌を用いた。ウイルス接種後 2 週間目に死亡率と病理組織を比較検討した。

C. 研究結果

高濃度 MCT 飼料については健常期は通常通り摂取したが、ウイルス性心筋炎罹患期には殆ど摂取量は減少した。5, 10, 15%MCT および LCT 群

の死亡率はそれぞれ、20, 40, 80, および 60%であった。各群の組織変化には有意差は認めなかった。



D. 考察

心筋炎罹患期マウスの MCT 混合餌の摂取の問題はあるが、5%MCT 餌はマウスウイルス性心筋炎モデルにおいて死亡率の減少が認められた。本効果は、コクサッキーウイルスに限定するものではなく、インフルエンザ心筋炎を含む他のウイルス性心筋炎や心不全治療にも応用できる可能性があり、今度は基礎と臨床両面からの検討が必要と思われた。

E. 結論

マウスウイルス性心筋炎モデルにおいて MCT は有効である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1) 論文発表

- Ono H, Nakamura H, Matsuzaki M: A NADH dehydrogenase ubiquinone favoprotein is decreased in patients with dilated cardiomyopathy. *Internal Medicine*. 49: 2039-2042, 2010.
- 中村浩士、松崎益徳：ウイルス性心筋炎から拡張型心筋症への進展機序. *循環器内科* 2011. (*in press*)

2) 学会発表

- 中村浩士、松崎益徳、加藤智啓. 拡張型心筋症の発症と進展機序に関する抗心筋抗体の検討. 第53回リウマチ学会総会・学術集会 (東京 / 2010年4月25日)
- XXth. World Congress International Society of Heart Research (Kyoto, 13-16, May, 2010)
- 中村浩士、小野ひとみ、松崎益徳：マウスウイルス性心筋炎に対する dexamethasone の効果. 第1回 Molecular Cardiovascular Conference II (北海道 / 2010年9月4日)
- 中村浩士、松崎益徳：ウイルス性心筋炎に対するグルココルチコイドの心筋保護作用の検討. 第58回日本心臓病学会学術集会 (東京 / 2010年9月17日)

H. 知的財産権の出願・登録状況

①広範囲心筋梗塞病態モデル動物及びその作成方法並びにそのモデル動物を用いて行う薬物のスクリーニング方法. 中村浩士、松崎益徳、吉田勉、山口 TLO (特開：2002-209473)。

②An extensive myocardial infarction model animal, method for preparation thereof, and

application for drug screening and regenerative medicine.

Hiroshi Nakamura, Masunori Matsuzaki, Tsutomu Yoshida.

(米国特許 . 10/141608)

③分離心筋梗塞モデルを応用した心筋再生方法
中村浩士、松崎益徳、山口 TLO (特開
2005-229927)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

ラマン散乱顕微鏡による中性脂肪蓄積心筋血管症診断の検討

研究分担者 橋本 守 大阪大学大学院基礎工学研究科 機能創成専攻 准教授

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症の心筋組織と虚血性心筋症の冠動脈を用いて、ラマン散乱顕微鏡を用いて中性脂肪蓄積心筋血管症（TGCV）を診断できるか検討を行った。Oil-Red-O 染色画像と、ラマン散乱スペクトル画像ならびにその主成分分析を行い、コレステロールエステルと中性脂肪を分離することが可能であることが分かった。

A. 研究目的

Oil-Red-O 等を用いた染色手法では、中性脂肪とコレステロールエステルを見分けることは難しいため、中性脂肪蓄積心筋血管症を染色によって診断することは容易ではない。そこで、ラマン散乱顕微鏡を用いて、組織中の中性脂肪とコレステロールエステルの分離イメージングを行い中性脂肪蓄積心筋血管症（triglyceride deposit cardiomyovascuopathy, TGCV）の診断が可能か検討する。

B. 研究方法

ホルマリン固定された TGCV 心筋組織と、虚血性心筋症（ICM）の冠動脈組織を、OCT コンパウンドで包埋後、凍結マイクロトームを用いて厚さ $8 \cdot \mu\text{m}$ の凍結切片とした。切片を CaF_2 プレートで挟むことにより切片標本作製し、ラマン散乱顕微鏡（Tokyo Instruments, Nanofinder）で観測したのち、Oil-Red-O 染色を行い、同一視野観測を行った。得られたラマンスペクトル画像を、自作の多変量解析プログラムによってデータ解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究では、遺伝子解析は施行していない。試料については研究実施前に実施計画に関して大阪大学の倫理委員会から文書による承認を得ている。

C. 研究結果

Oil-Red-O 染色による画像と、 2852 cm^{-1} ならびに、 1440 cm^{-1} の画像は同様なイメージを与えることが示された。また、TGCV ならびに ICM 試料を同時多変量解析による第 6 主成分スペクトルには、コレステロールエステルに特有な 699 cm^{-1} と 1666 cm^{-1} にバンドが見られた。ICM 試料の第 6 主成分画像は 2852 cm^{-1} ならびに 1440 cm^{-1} の画像と同様なイメージが得られたが、TGCV 試料では ICM 試料にくらべ非常に小さい値を示した。

D. 考察

2852 cm^{-1} と 1440 cm^{-1} のラマンバンドは、脂質アルキル鎖の CH_2 伸縮振動、 CH_2 挟み振動にそれぞれ帰属されるため、中性脂肪およびコレステロールエステルが分離されずにイメージングされている。これに対し、第 6 主成分は、コレステロールエステル特有のバンドを示したことから、コレステロールエステルが中性脂肪と分離されて示されたと考えられる。したがって、 2852 cm^{-1} あるいは 1440 cm^{-1} のイメージと、第 6 主成分の信号を用いることで、コレステロールエステルおよび中性脂肪の分布を分別してイメージングが可能であることが分かった。

E. 結論

ラマンスペクトル画像とその主成分分析により中性脂肪とコレステロールエステルを分別が可能であることが分かった。この結果、

ラマン散乱顕微鏡による中性脂肪蓄積心筋血管症診断の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

公的データベースを利用した TGCV 関連遺伝子の検索

研究分担者 花田裕典 国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター
バイオバンクデータセンター 研究員

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症(TGCV)に関連する遺伝子群を検索するための起点として、原因となる候補遺伝子群の検索を行った。TGCVがadipose triacylglycerol lipase(ATGL)の活性喪失と関連することを手掛かりにして、このATGL遺伝子と同様の反応様式、発現の場、また、相溶性などを考慮し、公共のデータベースを利用した。データベース上の情報から、TGCVと関連する可能性が高い遺伝子は、ATGL活性と同様に細胞内油滴で発現するhormon sensitive lipase(HSL)に関連することが考えられた。この情報を重視した検索の結果、TGCVの原因となる候補遺伝子群として、LIPE遺伝子、ATGL(PNPLA)ファミリーの3遺伝子、ABHDファミリーの1遺伝子、PPP1ファミリーの3遺伝子、PLINファミリーの4遺伝子、PRKAファミリーの3遺伝子、CAVファミリーの3遺伝子、FABPファミリーの5遺伝子を選択した。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症(triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV)の原因遺伝子として、adipose triglyceride lipase、ATGL(PNPLA2, patatin-like phospho lipase domain-containing protein)、abhydrolase-containing protein、ABHD5の2遺伝子が有力な候補として知られている。本年は、TGCVの病因の決定、病態の理解のための起点となる情報を、公共データベースを利用して検索し、新たな原因遺伝子の候補をリストアップした。

B. 研究方法

遺伝子の機能等の解析結果をまとめた知識ベース、いわゆるシステムバイオロジー的な公共のデータベースは、数多くある。その中で、ある程度評価が定まったデータベースを見極めるためには、時間を要する。しかし、NCBI(National Center for Biological Information、米国NIH)を利用することで、このステップを省力化することができる。NCBIはGeneBankをはじめ、PubMed、OMIMなどを一次データベースとして運用し、さらに、遺伝病のOMIM、遺伝子変異のdbSNPなど、他組織のデータベースとも連携している。これらの知識ベースのデータベースのうち、BioSystems群からは、Wikipathways、REACTOME、BioCyc、KEGGなど、システムバイオロジーの研究サイ

トへのリンクを機械的に推測できる。これらのサイトを利用して、ATGL、triacylglycerol hydrolysis等のキーワードに関連する酵素活性、遺伝子、オルガネラ等のデータを取得し、TGCVに関連する遺伝子を検索した。なお、知識ベースの公共データベースを利用したので、倫理的な問題は生じない。

C. 研究結果

ATGL活性は、hormon sensitive lipaseと同じ細胞内油滴で発現することが報告されていることから、A群に分類される遺伝子はTGCVと関連する可能性が最も高い。B群のDietary lipid degradationに分類される遺伝子群はtriacylglycerol hydrolase活性はあるものの、その活性発現の場が消化管であることから、TGCVとの関連性は高くないと考えられる。公共データベースでの情報が十分でなかったC群の遺伝子については、個別の文献を読み下すなどの詳細な検証が必要と考えられる。(より詳細な結果は、別添1を参照)

D. 考察

利用した公的データベースは、発表論文などの文献情報をもとに、機械的あるいは人的な手法で、データが整理されている。そのため、実験の再現性など、情報の価値が適切に判断されていることは保証されていない。結果として、

得られた情報、TGCV 関連遺伝子は候補であり、実験的あるいは臨床的に検証する必要がある。

E. 結論

公共データベースを利用して TGCV に関連する可能性が考えられる遺伝子群を、公共データベースを利用して、検索することができた。(遺伝子群については別添 2 を参照)

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

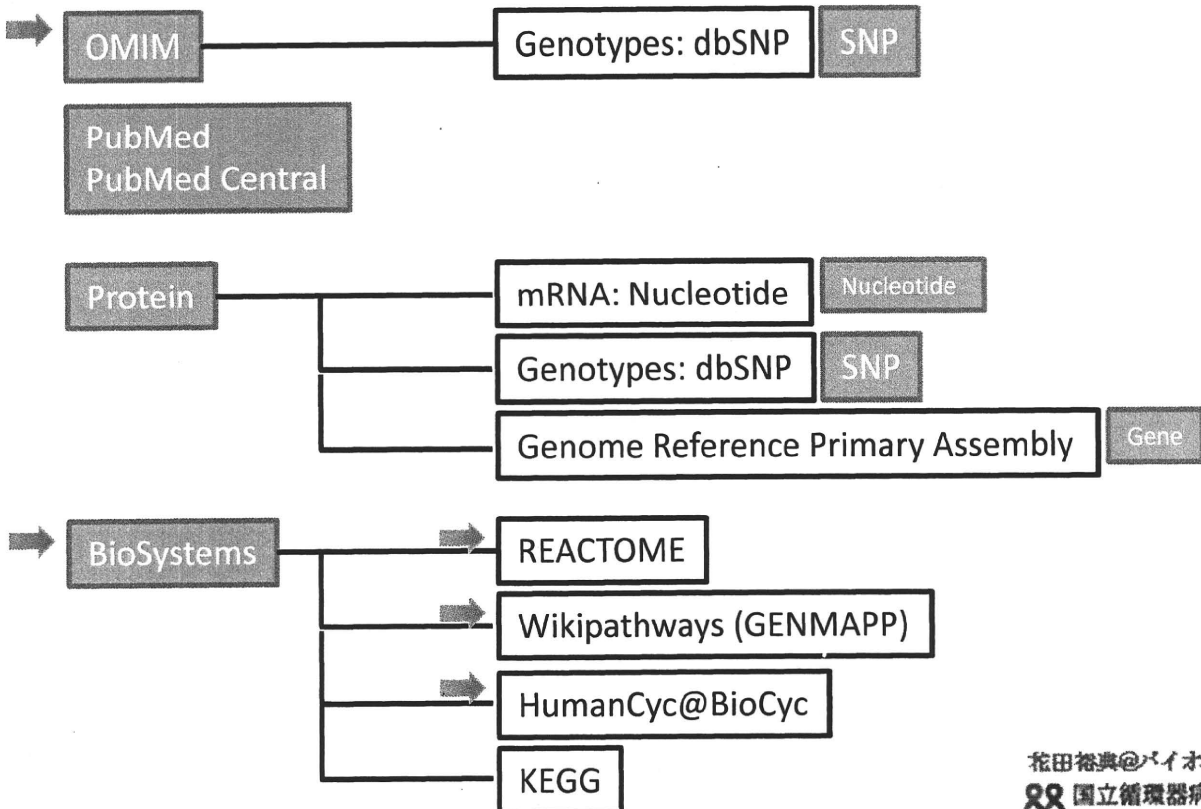
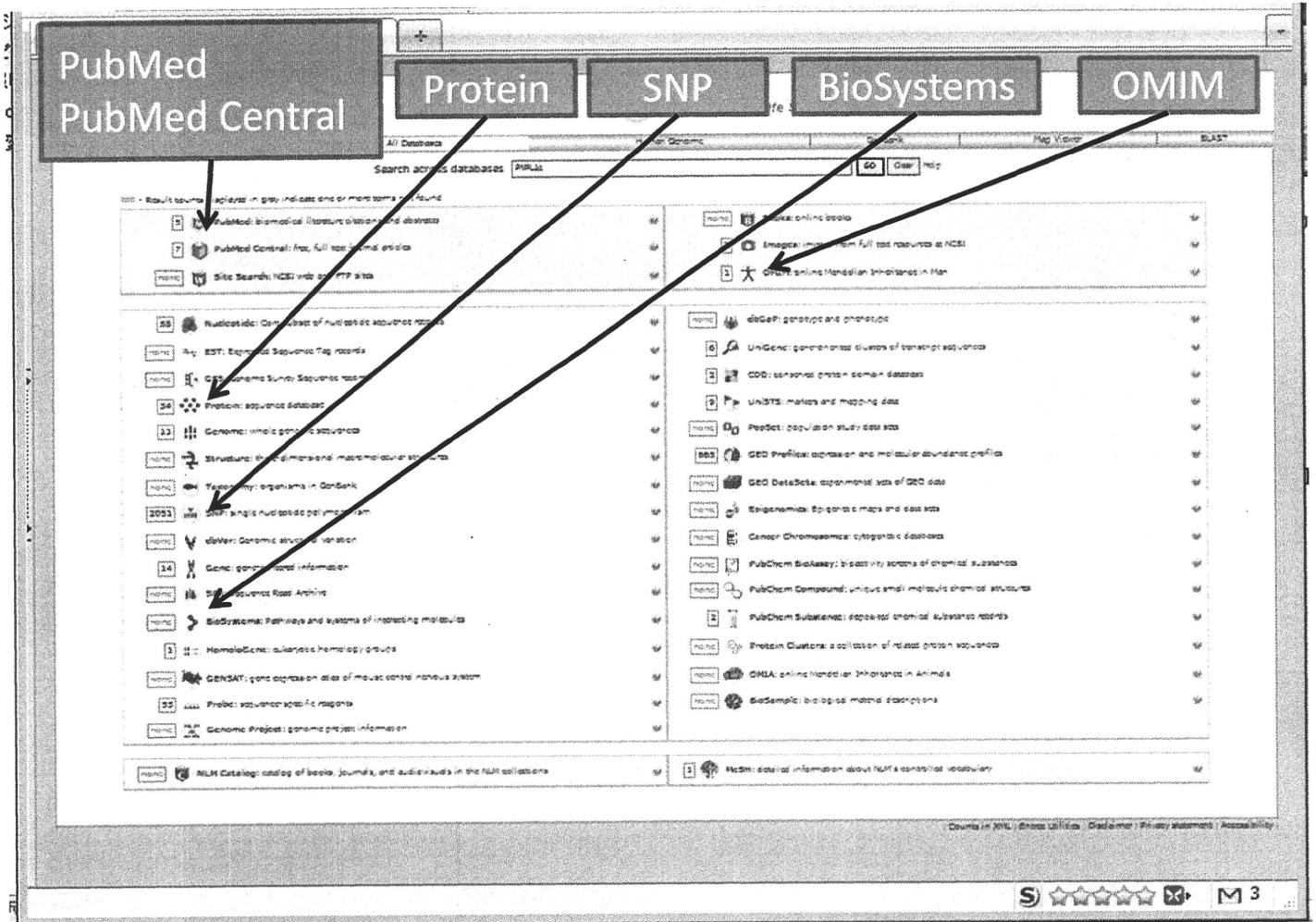
特になし

3. その他

特になし

NCBI as Portal Site

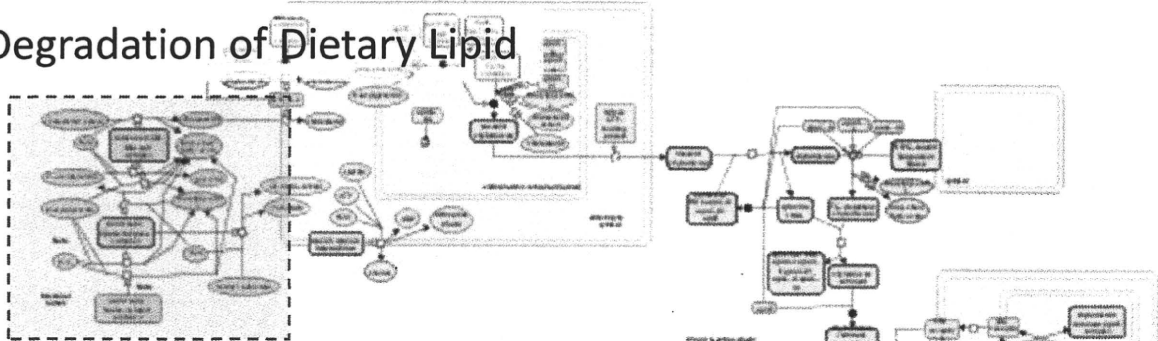
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/gquery



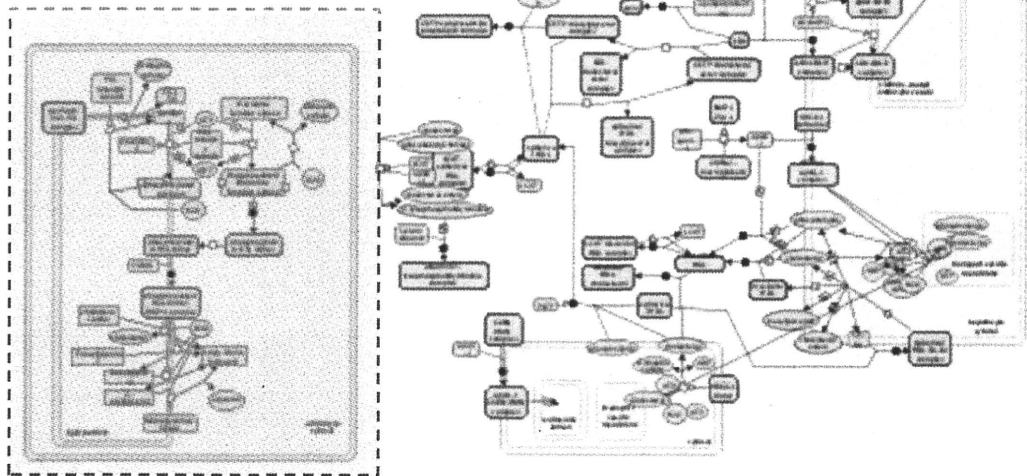
BioSystems: REACTOME

http://www.reactome.org/entitylevelview/PathwayBrowser.html#DB=gk_current&FOCUS_SPECIES_ID=48887&FOCUS_PATHWAY_ID=73923&ID=73923

Degradation of Dietary Lipid

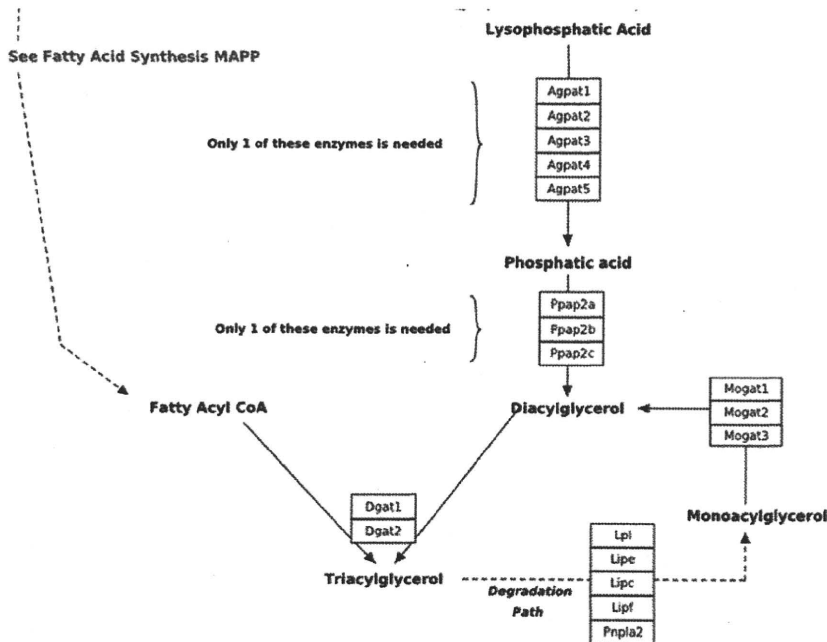


Hormon Sensitive Lipase



BioSystems: Wikipathways (GENMAPP)

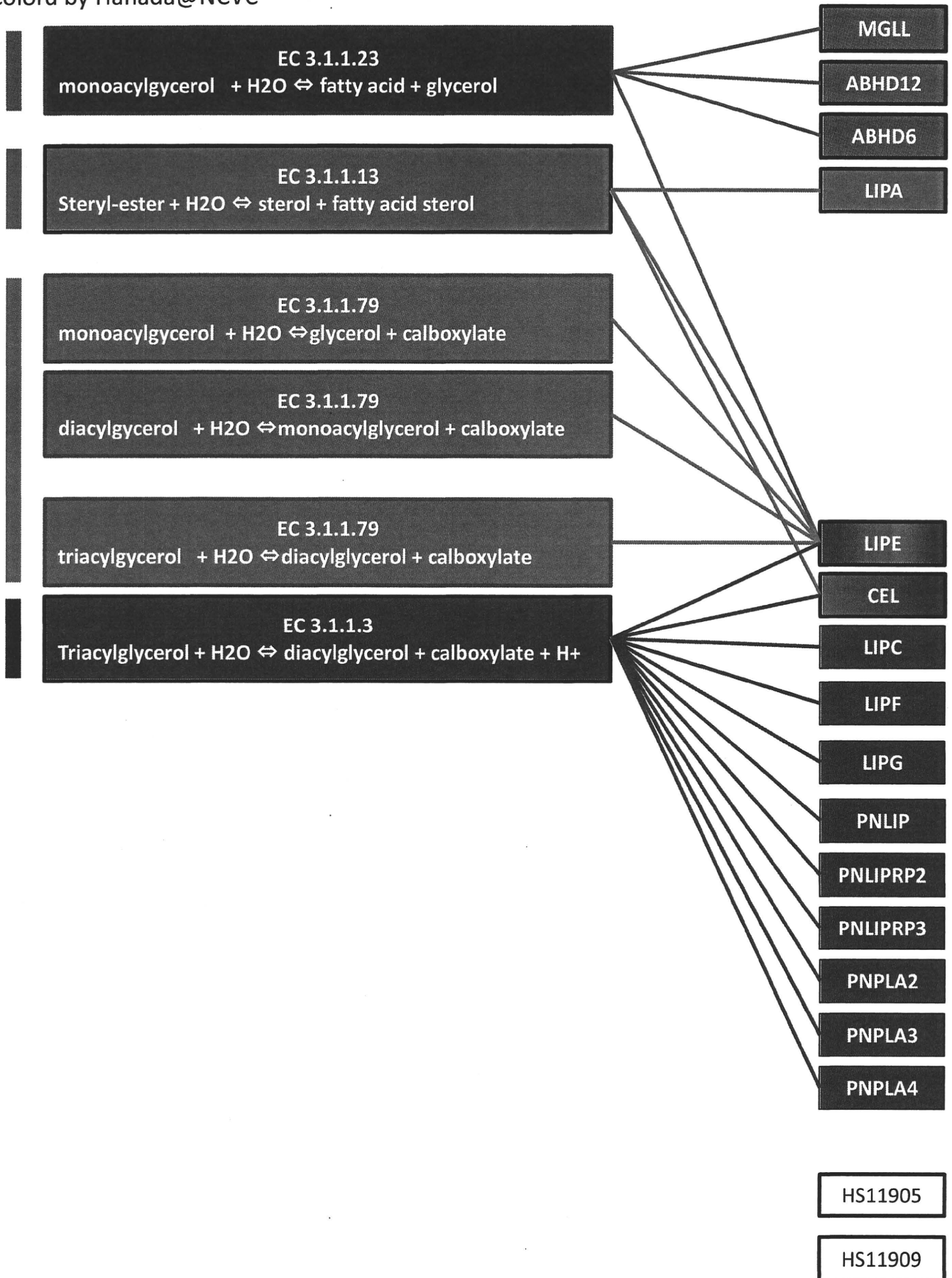
<http://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP325>からの抜粋



BioSystems: HumanCyc

<http://biocyc.org/HUMAN/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&object=LIPAS-PWY>

Colord by Hanada@NCVC



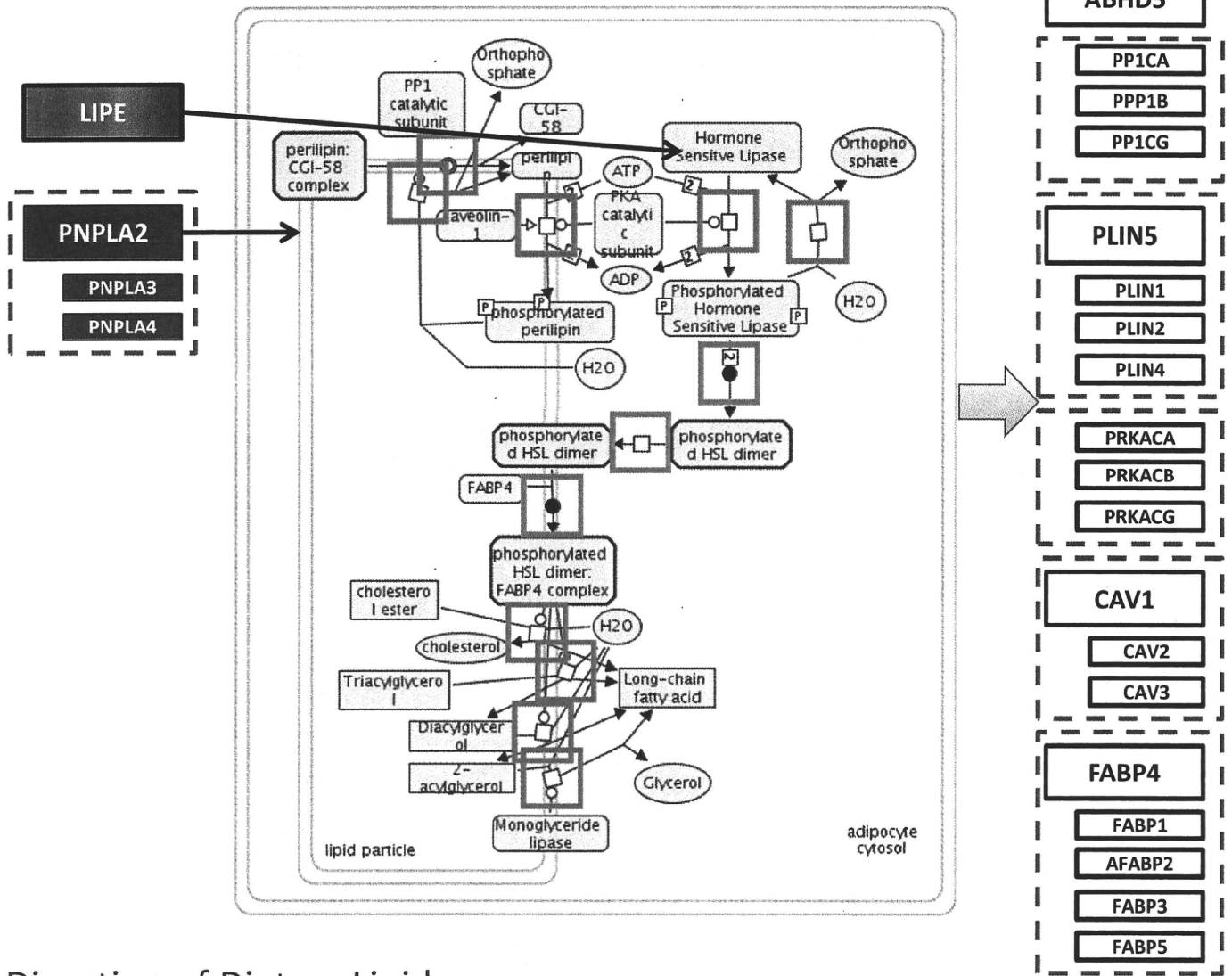
w/o direct TAG hydrolysis activity

MGLL	monoglyceride lipase
ABHD12	abhydrolase domain containing 12
ABHD6	abhydrolase domain containing 6
LIPA	Lipase A, lysosomal acid

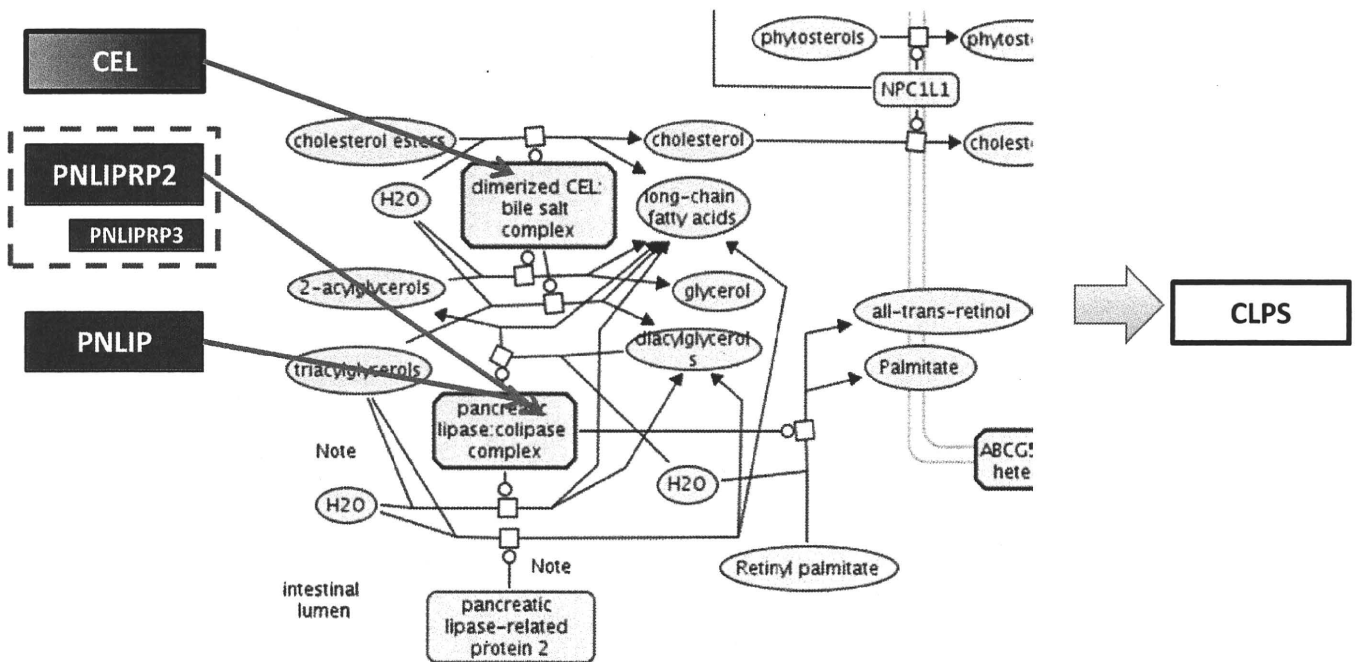
With triacylglycerol hydrolysis activity

LIPE	Lipase, Hormon sensitive (HSL)
CEL	Carboxy-ester lipase (CEL)
LIPC	Lipase, hepatic
LIPF	Lipase, gastric
LIPG	Lipase, endothelial (EDL)
PNLIP	Pancreatic lipase (PTL)
PNLIPRP2	pancreatic lipase related protein 2
PNLIPRP3	pancreatic lipase related protein 3
PNPLA2	patatin-like phospholipase domain containing 2 (ATGL)
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain containing 3
PNPLA4	patatin-like phospholipase domain containing 4
HS11905	Not determined
HS11909	

Hormon-sensitive Lipase mediated



Digestion of Dietary Lipid



Not determined

- LIPC
- LIPF
- LIPG

A群 Hormaon Sensitive Lipase (lipid partikel, lipid droplet)

LIPE	lipase, hormon
ABHD5	adhydrolase-domain containing 5
PPP1CA	protein phosphatase 1, catalytic subunit, alpha
PPP1CB	protein phosphatase 1, catalytic subunit, beta
PPP1CG	protein phosphatase 1, catalytic subunit, gamma
PLIN5	perilipin 5
PLIN1	perilipin 1
PLIN2	perilipin 2
PLIN4	perilipin 4
PRKACA	protein kinase cAMP-dependent, catalytic, alpha
PRKACB	protein kinase cAMP-dependent, catalytic, beta
PRKACB	protein kinase cAMP-dependent, catalytic, gamma
CAV1	caveolin 1
CAV2	caveolin 2
CAV3	caveolin 3
FABP4	fatty acid-binding protein 4
FABP1	fatty acid-binding protein 1
FABP2	fatty acid-binding protein 2
FABP3	fatty acid-binding protein 3
FABP5	fatty acid-binding protein 5
FABP7	fatty acid-binding protein 7

B群 Dietary Lipid Degradation

CEL	carboxy-ester lipase
PNLIP	pancreatic lipase
PNPLIPRP2	pancreatic lipase-related protein 2
PNPLIPRP3	pancreatic lipase-related protein 3
CLPS	colipase, pancreatic

C群 triacylglycerol hydrolases in other pathways

MGLL	monoglyceride lipase
ABHD12	abhydrolase-domain containing 12
ABHD6	adhydrolase-domain containing 6
LIPA	lipase A, lysosomal acid
LIPC	lipase, hepatic
LIPF	lipase, gastric
LIPG	lipase, endothelial