

201128101A

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 23 年度総括・分担研究報告書

研究代表者 平野賢一

平成 24 年 (2012 年) 3 月

目 次

I.	平成 23 年度研究班名簿	3
II.	総括研究報告	7
	中性脂肪蓄積心筋血管症の発見	7
	ーその疾患概念の確立、診断法、治療法の開発 平野 賢一	
III.	分担研究報告	17
1.	植田 初江 肥大型心筋症における MRI 遅延造影、心筋血流 SPECT、心筋脂肪酸代謝 SPECT に 関する検討	17
2.	加藤 誠也 剖検組織を用いた中性脂肪蓄積心筋血管症の検索 (第 2 報)	19
3.	小林 邦久 ヒト大動脈血管内皮細胞において adipose triglyceride lipase (ATGL) の 発現低下は diacylglycerol-protein kinase C 経路を介した NF・B 経路の亢進に よって TNF・による ICAM-1 の発現を増強させる	22
4.	財満 信宏 TGCV 患者心筋及び冠動脈の蓄積脂質解析	25
5.	長澤 康行 ATGL 欠損マウスにおける腎におけるフェノタイプの予備的検討	27
6.	橋本 守 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	29
7.	廣江 道昭 糖尿病患者心臓の病理組織学的研究	32
IV.	診断基準	35
V.	国際シンポジウム、研究会議報告	45
VI.	研究成果の刊行に関する一覧表	65

〔 I 〕

平成 23 年度研究班名簿

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、治療法の開発研究班

区分	氏名	所属等	職名
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
研究分担者	植田 初江	独立行政法人国立循環器病研究センター 臨床検査部病理	部長
	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	福岡大学筑紫病院 内分泌・糖尿病内科	教授
	財満 信宏	近畿大学農学部 応用生命化学科 応用細胞生物学研究室	講師
	長澤 康行	大阪大学大学院医学系研究科 腎臓内科	助教
	橋本 守	大阪大学大学院基礎工学研究科 基礎工学部生体工学領域	准教授
	廣江 道昭	国立国際医療研究センター病院 循環器内科学	医師
研究協力者	池田 善彦	独立行政法人国立循環器病研究センター 臨床検査部病理	医長
	石田 良雄	関西労災病院 核医学診断部・循環器内科 (兼)	部長
	和泉 徹	北里大学医学部 循環器内科学	教授
	市田 露子	富山大学・医学薬学研究部小児科	准教授
	井田 博幸	東京慈恵会医科大学 小児科学講座	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
	裏出 良博	(財)大阪バイオサイエンス研究所 第2研究部門	研究部長
	大熊 彩	埼玉医科大学 神経内科・脳卒中内科	助教
	大塚 哲生	国保 脇野澤診療所	所長
	奥村 謙	弘前大学 循環器・呼吸器・腎臓内科	教授
	小川 雅也	盛岡友愛病院神経内科	部長
	北風 政史	独立行政法人国立循環器病研究センター	部長
	木原 章雄	北海道大学大学院薬学研究院 生化学研究室	教授
	木村 正	大阪大学大学院医学系研究 産科学婦人科学講座	教授
	小谷 順一	独立行政法人国立循環器病研究センター 心臓血管内科	医長

小室 一成	大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学	教授
齋藤 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
島本 和明	札幌医科大学	学長
鈴木 朗	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	研究員
砂川 賢二	九州大学大学院医学研究院 循環器内科	教授
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	浜松医科大学医学部 解剖学講座 細胞生物学分野	教授
竹中 優	神戸女子大学管理栄養士養成課程	教授
千葉 俊明	琉球大学大学院医学研究科 細胞病理学講座	准教授
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
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
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
朝長 毅	独立行政法人医薬基盤研究所 プロテオームリサーチセンター	プロジェクトリーダー
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
道勇 学	愛知医科大学 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	教授
内藤 博昭	独立行政法人国立循環器病研究センター	病院長
中谷 大作	大阪大学医学部附属病院 ハートセンター	特任助教（常任）
中村 浩士	山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学	准教授
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	市立宝塚病院 小児科	部長
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

	橋本千佳子	彩都友誼会病院 健診センター	看護師長
	布田 伸一	東京女子医科大学東医療センター 内科	准教授
	花田 裕典	独立行政法人 国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター	研究員
	濱田 星紀	仁泉会 MI クリニック	院長
	早坂 光司	北海道大学病院検査・輸血部	主任
	東 将浩	独立行政法人国立循環器病研究センター 放射線診療部	医長
	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
	堀 正二	大阪府立成人病センター	総長
	前村 浩二	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 循環病態制御内科学	教授
	間賀田泰寛	浜松医科大学 光量子医学研究センター	教授
	松野 一彦	北海道大学病院検査・輸血部	部長
	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
	宮田 茂樹	独立行政法人国立循環器病研究センター 輸血部	医長
	村上 千恵	青森県立中央病院 神経内科	副部長
	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
	山口 知是	大阪大学大学院医学系研究科 内科学講座 循環器内科学	研究員
	山田 直明	独立行政法人国立循環器病研究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
	渡辺 達夫	静岡県立大学 食品栄養科学部	教授
	和田 孝男	大阪大学医学部附属病院 栄養管理室	料理長
事務局	野村 千秋	大阪大学バイオ関連多目的研究施設 平野研究室 〒565-0874 大阪府吹田市古江台6-2-3 TEL 06-6872-8215 FAX 06-6872-8219 e-mail office@cnt-osaka.com	秘書

〔Ⅱ〕

総括研究報告

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（Hirano K, et al. N Engl J Med. 2008）。2009年からのTGCV研究班の活動の結果、本症は、原発性と続発性に分類される。今のところ明らかな原発性TGCVの原因は、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。続発性TGCVは、既存の治療法に抵抗性で心臓死した非肥満の2型糖尿病症例の一群から同定し得た。本研究では、TGCVの診断法を開発し、診断基準を作成、本症に関する第1回の国際シンポジウムを開催し、国内外からの情報を収集した。さらに、既知の遺伝子変異を持たないTGCV疑い例の家系も見出したので、次年度その原因を明らかにしたいと考えている。

研究分担者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

植田 初江	国立循環器病研究センター	病理部	部長
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	福岡大学筑紫病院	内分泌・糖尿病内科	教授
財満 信宏	近畿大学	農学部応用生命科学科	講師
長澤 康行	大阪大学大学院医学系研究科	腎臓内科	助教
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
廣江 道昭	国立国際医療研究センター病院	循環器内科学	医師

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症（Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV）は、申請者らが我が国の心臓移植症例より見出した

新規疾患単位であり、中性脂肪が心筋、冠状動脈硬化巣などに蓄積する結果、重症心不全、不整脈、虚血性心疾患などを来す難病である（Hirano K, et al. N Engl J Med. 2008）。

2009年からの本研究班の活動により、本症は、原発性と続発性に分類される。本研究は、その診断法の開発、診断基準作成をその目的とする。

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（平野、福嶋、池田、植田、加藤、隅、財満、中村）

H22年度、心臓移植例が、数例、剖検心サンプルが100例、筋生検は、10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が存在するのではないかとという仮説を構築して、重点的に検討した。また、原発性TGCVに認められる冠状動脈硬化について、その病理学的特徴について検討した。

2) 動物モデルにおけるTGCVの探索（小林）

糖尿病症例において、心筋の中性脂肪含量が増加していることが報告されていることから、糖尿病モデル動物を用いて、ATGL発現について検討した。

2. TGCVの診断法の開発

1) 質量顕微鏡

瀬藤らの開発した質量顕微鏡において、心血管におけるTGの蓄積の同定及び空間分布について検討する。

2) ラマン散乱顕微鏡（橋本）

ラマン散乱分光は、全ての分子が持つ分子振動により分子種を見分けることが可能な分析手法である。TGCVが診断し得るか否かを検討した。

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) 拡張型心筋症とTGCVの鑑別診断法の開発（植田）

1.5テスラMRIを用いて、病理組織学鉄器に確定診断のついた拡張型心筋症の遅延造影を撮像してその画像診断上の特徴を明らかにした。

3. 続発性TGCVの原因、病態の解明

剖検心を分担研究者各々が持つ技術で詳細に解析、病態の解明、診断法の開発を行う。

4. 原発性、続発性TGCVの診断基準の作成

作成する診断基準をもとに、循環器内科、心臓血管外科、内分泌代謝内科、神経内科、腎臓内科などの分担研究者（奨励研究分野、重点研究分野の分担研究者）がそれぞれの立場から症例を探索する。

5. DM-TGCV治療法の開発

原発性TGCVのため開発したMedium chain triglyceride (MCT)を用いた食事療法を、DM-TGCVに応用するため、診断しえた症例を対象とした自主研究を行う。

6. 2009年から3年間の成果をまとめた国際シンポジウムの開催

希少難病であるTGCVの国内外の状況を把握するとともに、国際的コンソーシアムを形成する。

（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、大阪大学動物実験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 の国内外の情報収集

原発性 TGCV を文献的考察および H21 年度の研究班の活動、開催した国際シンポジウムにより、国内外で 25 例を把握した。男性は、11 例、全例で重症心血管疾患を有しており、若年で突然死する症例が多い。女性は、約 3 割で心病変が把握されており、本症の心血管病変の発症、進展には性差が存在することが示唆された。

2) 新たに見出した長崎県在住の 1 家系

発端者は、心不全と腎不全をもつ 50 才台女性。

兄は、20 才台で、心臓死している。末梢血の多核白血球に空胞化を認めた。しかしながら、ATGL 遺伝子、その補酵素である CGI-58 をコードする遺伝子の全エクソン、エクソン・イントロン境界には、明らかな変異を見出せなかった。新たな TGCV である可能性が示唆される。

3) 続発性 TGCV の発見

財満、池田らは国立循環器病研究センターにおいて、明らかな腎症を持つ 2 型糖尿病患者で、既存の治療法に抵抗性で、心臓死した症例の剖検心の解析からこの病態を見出した。2 型糖尿病の発症から 3—数十年で、心筋障害、冠動脈硬化に起因する症状を呈する。心筋は、肥大し (心筋梗塞を伴う症例では壊死、線維化が認められる)、冠動脈は多枝にわたり、起始部から末梢にかけて求心性の狭窄病変を認める。一部、偏心性の狭窄病変を伴うことも多い。瀬藤らが開発した質量顕微鏡による解析の結果、心筋細胞と血管平滑筋細胞に中性脂肪が蓄積している (投稿中)。

また、加藤らは、琉球大学の剖検例 連続 53 例の心筋の脂肪蓄積を検討し、3 例において心筋及び冠動脈に中性脂肪が蓄積している症例を見出したがいずれも糖尿病例であった (投稿準備中)。廣江らも同様な症例を検討中である。

3. 診断法の開発

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。

また、原発性 TGCV に認められる冠動脈硬化症において、内膜に存在する泡沫細胞の起源は主として血管平滑筋細胞であることが明らかとなった。

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得た。また、TGCV における TG 蓄積は、心筋細胞及び冠状動脈血管平滑筋細胞に主として生じることが明らかとなった。特に、続発性 TGCV では、TG とコレステロールの空間分布の違いが明瞭に可視化でき、本法の有用性が示唆された。

3) ラマン散乱顕微鏡を用いた TGCV の診断
オイルレッドO染色を用いた病理像とラマン散乱スペクトル画像並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明らかになった。

4) 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 3 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はなく、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。

5) 拡張型心筋症の二次性心筋症鑑別法の開発
1.5 テスラ臨床汎用 MRI 装置を用いて検討したところ遅延造影 MRI にて、拡張型心筋症例に特徴的なパターンを得た。本法は、TGCV との鑑別に有用な可能性がある。

6) ゲノム DNA を用いた簡易診断法
ATGL 欠損症疑い例について、ATGL 遺伝子の c. 475_478dupCTCC (p. Gln160ProfsX19) 変異を検出した。この変異の周辺は、CG に富む塩基配列となっており、PCR の際には
①denature 温度を 98 度にする。②DMSO を添加する③7-deaza dGTP を添加するなど 工夫が必要であることが明らかとなった。

7) 公的データベースを利用して、TGCV の原因となる候補遺伝子群として、ATGL ファミリーの 3 遺伝子、ABHD ファミリーの 1 遺伝子などを選択し得た。

4. 診断基準の作成と診断フローチャートの作成

上記、研究結果を受けて昨年度作成した診断基準(案)を改訂した。

5. 続発性 TGCV 治療法の開発

続発性 TGCV では、ATGL が存在していることから(池田ら)、安井、平野らは、本症に対しては、1 日 6-7.5g の MCT 投与で十分であると考え、MCT 2.5g を含むクッキーを開発した(市販品は、0.2g 含有)。食品分析も行い含量なども確認した。これを活用して、臨床試験を実施したいと考えている。一方、小林らが、糖尿病モデル動物である db/db マウスが本症のモデ

ルとなることを見出したので、今年度末までに、本モデルを用いた Proof of concept のための動物実験を行う（現在、飼料作成中。平野ら）

6. 2009年から3年間の成果をまとめた国際シンポジウムの開催

本症に関する第1回の国際シンポジウムを開催した（50名参加）。

TGCV研究会を立ち上げ、TGCV研究班と共催の形で実施した。今年度のテーマは、「希少難病としてのTGCVの克服」。ATGL欠損症の報告をしている国内外の5研究者、ATGLを発見した Zimmermann 教授らを招聘した。平野、加藤、小林、池田、橋本、千葉俊、川崎（朝長）、財満、井上（小林）、安井、鈴木、中村らが発表した。本症の制圧のための国際協力体制、国際的登録システム構築の必要性に関してコンセンサスを得た。（震災、原発の風評被害で1名（Judith Fischer 先生）、来日せず）第2回を、H24.12.1-2 大阪で開催する予定。

D. 考察

1. 新たに見出したTGCV疑い例について

長崎県在住の症例は、ATGL 遺伝子に変異を認め得なかった。兄が20才台で心臓死しており、本症の病態、原因の解明は極めて重要である。

2. 続発性TGCVについて

本症を持つ患者は、わが国で推定2-3万人存在し、それらの多くは臓器移植、透析など高額な医療の対象となっていると考えられ、病態の解明、原因遺伝子を探索するとともに、原発性TGCV同様、簡易スクリーニング法、バイオマーカーの探索に努めていく。また、原発性TGCVの治療法として開発したMCFAを用いた治療法

を改良していく。

E. 結論

原発性、続発性TGCVの診断基準を作成した。また、既存の遺伝子変異を持たない新たら原発性TGCVの家系も見出した。TGCVの一日でも早い克服のため、本症の病態解明、診断法、治療法の開発に努めていく。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

平野賢一 長坂博範
脂質異常症と脂質蓄積症
SURGERY FRONTIER 2012, 19(1);23-28

平野賢一
中性脂肪蓄積心筋血管症
呼吸と循環 2011, 59 (11);1115-1119

平野賢一
中性脂肪蓄積心筋血管症
Current Therapy 2011, 29(10) ;78

平野 賢一
Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy.
The Lipid. 22; 94-97, 2011

平野賢一
中性脂肪蓄積心筋血管症
病理と臨床 2011, 29: 254-256

平野賢一

中性脂肪蓄積心筋血管症

総合臨床 2010, 59: 1729-1732.

Naganuma, T., Sato, Y., Sassa, T., Ohno, Y.,
and Kihara, A.

Biochemical characterization of the very
long-chain fatty acid elongase ELOVL7.

FEBS Lett., 585; 3337-41, 2011

Yamagata, M., Obara, K., and Kihara, A.

Sphingolipid synthesis is involved in
autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*.

Biochem. Biophys.

Res. Commun. 410; 786-91, 2011

大野祐介, 木原章雄

極長鎖脂肪酸伸長とセラミド合成「ここまで
きたセラミド研究最前線 セラミド -基礎と
応用-

(セラミド研究会編, 食品化学新聞社) 43-49,
2011

2. 学会発表

第 32 回心筋生検研究会 2010. 11

平野賢一

中性脂肪蓄積心筋血管症の発見とその病態

仲西貴也, 松本裕文, 千葉俊明, 平野賢一,
池田善彦, 植田初江, 加藤誠也:

重症糖尿病を呈し心筋細胞質内に著明な中性
脂肪の沈着を認めた高齢女性の一剖検例

第 58 回日本心臓病学会 心筋生検研究会ジョ
イントシンポジウム 2010. 9

平野賢一

中性脂肪蓄積心筋血管症の発見とその病態

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"

Kunihisa Kobayashi, Tomoaki Inoue, Toyoshi
Inoguchi, Ryoichi Takayanagi

Endocrinological Features of Triglyceride
Deposit Cardiomyovasculopathy

第 108 回日本内科学会講演会 2011. 4

東京国際フォーラム

平野賢一

「中性脂肪蓄積心筋血管症の臨床的特徴」

第 15 回日本心不全学会 2011. 10

かごしま県民交流センター

平野賢一

シンポジウム 10「二次性心筋症による心不全」

第 20 回日本小児心筋疾患学会 2011. 11

笹川記念会館（東京都）

平野賢一

「中性脂肪蓄積心筋血管症調査：日本小児心筋
疾患学会の先生方へのお願い」

第 33 回心筋生検研究会 2011. 11

京都大学百周年時計台記念館

仲西貴也、松本裕文、池田善彦、植田初江、平
野賢一、○加藤誠也

ワークショップ「剖検心組織における ATGL
(adipose tissue triglyceride lipase)の発現
について」

○小出優史、河野浩章、阿部邦子、津田暢夫、
前村浩二、平野賢一

ワークショップ「心筋細胞内脂肪蓄積の家族内
発症例」

平野賢一

特別講演 (Keynote Lecture) 「History of Human
Heart and Triglycerides」

The first international symposium on
triglyceride deposit cardiomyovasculopathy
and neutral lipid storage disease
2011. 11

京都大学百周年時計台記念館

Ken-ichi Hirano 「Triglyceride deposit
cardiomyovasculopathy-A novel clinical
entity-」

K. Kobayashi, T. Inoue, T. Inoguchi, K. Hirano,
R. Takayanagi

「RNA Interference-directed Knockdown of
Adipose Triglyceride Lipase Enhanced TNF-
 α induced ICAM-1 Expression in Human
Aortic Endothelial Cells via PKC-dependent
activation of NF- κ B」

Y. Koide, H. Kawano, M. Takeno, K. Abe, N. Tsuda,
K. Hirano, K. Maemura

「Siblings with Lipid Deposition in
Cardiomyocytes」

Y. Ikeda, K. Hirano, N. Zaima, N. Imai,
T. Matsuyama, M. Setou, I. Komuro, Y. Sawa,
Japan TGCV Study Group, H. Ueda

「Characteristic feature with infiltration
of less intimal macrophage foam cells of
arterio-sclerotic lesions in triglyceride
deposit cardiomyovasculopathy (TGCV)」

S. Chiba, K. Hirano, S. Kato

「Establishment of the Induction of
Vascular Smooth Muscle Cells from the
Patient-specific iPS Cells and the

fibroblasts]

N. Kawasaki, K. Hirano, Y. Hara, J. Adachi,
T. Shiromizu, T. Tomonaga

「Biomarker Discovery for Triglyceride
Deposit Cardiomyovascularopathy using
Proteome and Transcriptome analysis」

N. Zaima, Y. Ikeda, M. mano, H. Ueda, M. Setou,
K. Hirano

「Triglyceride Deposit
Cardiomyovascularopathy Associated with Type
2 Diabetes Mellitus」

T. Nakanishi, H. Matsumoto, S. Chiba, Y. Ikeda,
H. Ueda, N. Zaima, K. Hirano, S. Kato

「Relationship between lipid deposition and
ATGL expression in human myocardial tissue:
A study with autopsy cases」

Tomoaki Inoue, Kunihisa Kobayashi, Toyoshi
Inoguchi, Ryoichi Takayanagi

Adipose triglyceride lipase and comparative
gene identification-58 are downregulated
in the heart of diabetic fatty db/db mice

Y. Yasui, K. Hirano, Y. Ikeda, N. Zaima,
Y. Konishi, I. Komuro, N. Fukushima, M. Setou,
M. Hori

「A Dietary Therapy with Medium Chain
Triglyceride for Triglyceride Deposit
Cardiomyo-vascularopathy」

A. Suzuki, S. Yamaguchi, Y. Ikeda, H. Nakamura,
N. Zaima, T. Kimura, U. Urade, K. Hirano

「Effect of Medium Chain Triglyceride on
Adipose Triglyceride Lipase Knockout Mice」

第9回日本機能性食品医用学会 2011.12

大阪大学コンベンションセンター

平野賢一、財満信宏、池田善彦、眞能正幸、
瀬藤光利

「糖尿病性心血管病の新たな病態-中性脂肪蓄
積心筋血管症 (Triglyceride deposit
cardiomyovascularopathy)」

International Society for Heart Research
2010.5

Zaima, N., Ken-ichi, H., Ikeda, Y.,
Ishibashi-Ueda, H., Setou, M

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

第100回日本病理学会総会 2011.4

仲西貴也、松本裕文、千葉俊明、池田善彦、植
田初江、平野賢一、加藤誠也:

剖検症例における中性脂肪蓄積心筋血管症の
検索と培養心筋細胞における ATGL の機能解
析.

第72回応用物理学会学術講演会 2011.8

松村直和、新岡宏彦、池田善彦、平野賢一、荒
木勉、橋本守

“ラマン散乱顕微鏡による中性脂肪蓄積心筋血
管症診断の試み”

Optics & Photonics Japan 2011 2011.11

松村直和、新岡宏彦、池田善彦、平野賢
一、荒木勉、橋本守

“中性脂肪蓄積心筋血管症組織のラマン散乱顕微鏡観察と多変量解析”

平成 23 年度日本分光学会年次講演会 2011. 11
松村 直和, 新岡 宏彦, 池田 善彦, 平野 賢一, 荒木 勉, 橋本 守

ラマン顕微鏡による中性脂肪蓄積心筋血管症診断への応用

第 2 回福岡県医学会総会 2010. 1

小林邦久

全身性中性脂肪蓄積症における脂肪滴関連リパーゼ Adipose triglyceride lipase 遺伝子異常の発見とその機能解析

第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 2010. 5

小林邦久, 井口登與志, 井上智彰, 前田泰孝, 井手 誠, 佐藤美紀子, 横溝 久, 平田英一, 鄭 静, Hari Hendarto, 池田紀子, 武井涼子, 藤井雅一, 中島直樹, 高柳涼一

当科における全身性中性脂肪蓄積症の ATGL 変異が各局在を惹起する機序の検討

第 42 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2010. 7

KUNIHISA KOBAYASHI, TOMOAKI INOUE, TOYOSHI INOGUCHI, RYOICHI TAKAYANAGI

The Nuclear Localization Signal Caused by a Frameshift in Mutation of Adipose Triglyceride Lipase Gene in an Individual with Neutral Lipid Storage Disease with Myopathy

第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 2011. 8

井上智彰, 小林邦久, 園田紀之, 藤井雅一, 前

田泰孝, 平田英一, 井手 誠, 横溝 久, 井口登與志, 高柳涼一

ヒト大動脈血管内皮細胞において ATGL の Knockdown は TNF α による ICAM-1 の発現を増強させる

第 49 回日本糖尿病学会九州地方会 2011. 10

井上智彰, 小林邦久, 園田紀之, 藤井雅一, 前田泰孝, 平田英一, 井手 誠, 横溝 久, 佐藤美紀子, 井口登與志, 高柳涼一

ヒト大動脈血管内皮細胞において ATGL の knockdown は TNF α による ICAM-1 の発現を増強させる

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得:

H23/8.26 以下、出願した。

発明の名称: 糖尿病性心血管合併症の予防・治療剤 (特願 2011-184318)

出願人: 大阪大学、国立循環器病研究センター、浜松医科大学

〔Ⅲ〕

分担研究報告

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

肥大型心筋症における MRI 遅延造影、心筋血流 SPECT、心筋脂肪酸代謝 SPECT に関する検討

研究分担者 植田 初江 国立循環器病研究センター 病理部 部長
(前 臨床検査部臨床病理科 医長)

研究協力者 橋村 宏美 国立循環器病研究センター 臨床検査部 臨床病理科

研究要旨：肥大型心筋症（HCM）において心臓 MRI 遅延造影（LGE）は間質の拡大を反映する。一方、^{99m}Tc-MIBI/tetrofosmin SPECT（PI）の集積低下は組織障害を、¹²³I-BMIPP SPECT（BM）の集積低下は代謝障害を表すとされる。今回それらの関係について検討した。LGE による線維化の程度は、PI の示す還流障害よりも BM による心筋脂肪酸代謝障害と関連していた。また、SPECT 上、正常と診断された部位にも LGE から線維化の存在が示唆された。

A. 研究目的

HCM 症例における心筋の線維化は、心機能障害や心臓死の重要な要因と考えられており、現在さまざまなモダリティを用いて評価されている。LGE は一般に間質の拡大を反映し、HCM では心筋の線維化に相当することがこれまでの我々の検討から明らかである。一方、^{99m}Tc-MIBI/tetrofosmin SPECT（PI）の集積低下は組織障害を、¹²³I-BMIPP SPECT（BM）の集積低下は代謝障害を表すとされる。そこでこれらの関係を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象は臨床的に HCM と診断された 20 例（男性 7 例、平均年齢 54.3 歳）。LGE の評価には造影剤投与後 10 分の画像における心筋内腔比（myocardium to lumen ratio: M/L）を使用した（inversion time=300msec 固定）。PI, BM, LGE の各画像を AHA の 17 segments に分割し、全 323 segments を評価した。PI および BM は、視覚的に 0 点（集積低下なし）～4 点（集積欠損）の 5 段階で評価した。

（倫理面への配慮）

本研究は国立循環器病研究センターの倫理審査委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

20 症例中 19 例（95%）、340 segment 中 153 segment に遅延造影を認めた。PI0/BM0, PI0/BM1-4, PI1-4/BM1-4 の各グループの M/L は 0.42 ± 0.16 , 0.55 ± 0.17 , 0.65 ± 0.24 であった。

各グループの M/L は正常 (0.34 ± 0.07) と比して有意に高値を示した ($p < 0.001$)。

D. 考察

本研究において SPECT 上、心筋還流障害および心筋脂肪酸代謝障害のない部位にも線維化の存在が示唆された。これは SPECT が視覚的および定性的評価であることも原因の一つと考えられる。心筋脂肪酸代謝障害という機能障害のみならず、形態異常も示唆された。

E. 結論

HCM において、LGE の上昇（すなわち間質腔の拡大や線維化）は PI よりも BM の集積低下（代謝障害）と関連した。

G. 研究発表

学会発表

Hashimura H, Yamada N, Kiso K, Morita Y, Kanzaki S, Fukushima K, Higashi M, Noguchi T, Ishibashi-Ueda H, Naito H.

Late gadolinium enhancement in hypertrophic cardiomyopathy: Comparison with ^{99m}Tc -MIBI/tetrofosmin SPECT and ^{123}I -BMIPP SPECT. 5th Congress of Asian Society of Cardiovascular Imaging (Hong Kong, 17th-19th June 2011)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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

剖検組織を用いた中性脂肪蓄積心筋血管症の検索（第2報）

研究分担者 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
研究協力者 松本 裕文 琉球大学医学部附属病院 病理部 助教
研究協力者 仲西 貴也 琉球大学医学部附属病院 病理部 医員

研究要旨

原発性の中性脂肪蓄積心筋血管症(triglyceride deposit cardiovascular pathology;TGCV)では、中性脂肪分解の律速酵素であるATGL(adipose triglyceride lipase)の遺伝的欠損により、心筋細胞や冠動脈の平滑筋細胞に高度の中性脂肪の蓄積が観察される。我々は昨年度の実験研究において、54例の連続剖検症例を用いて、心臓組織の脂肪染色を施行、高度の糖尿病状態を合併した3症例において心筋組織に光顕レベルで確認しうるレベルの脂肪沈着を認め、今回、脂肪沈着と組織のATGL発現レベルについて検証するために、ATGLに対するポリクローナル抗体を新規に作製し、免疫組織染色を施行したところ、新規抗体では上記54例の心筋組織は全て陽性を示し、特徴的な染色態度の差異も明らかではなかった。また市販の抗体によるCGI-58(ATGLの活性化因子)の染色結果も同様に全例陽性であった。原発性のTGCV以外にATGL-CGI-58 axisとは独立して心筋組織に過剰な中性脂肪の沈着をきたす病態の存在が認識され、その機序の解明が望まれる。

A. 研究目的

原発性 TGCV は ATGL 遺伝子の欠損により重篤な心筋血管症を呈し、その端的な組織病理学的 phenotype は、心筋細胞と冠動脈血管平滑筋細胞への中性脂質の蓄積である。昨年度の実験研究において、我々は所属施設の 54 例の連続剖検症例を用いて、心臓組織の脂肪染色を施行、高度の糖尿病状態を合併した 3 症例において心筋組織に光顕レベルで確認しうるレベルの脂肪沈着を認めた。この際、市販の抗体による ATGL に対する免疫組織染色を併用し、脂肪沈着症例において ATGL 発現様式が変化する可能性が想定されたが、この段階ではエピトープ

の異なる抗体による検証は出来ず、また脂肪沈着を認めない症例においても ATGL の染色が减弱している症例があるなど検索結果を結論づけるには余地を残す状況であった。したがって、本年度は ATGL 蛋白のアミノ酸配列に基づいて作製した合成ペプチドよりポリクローナル抗体を作製し、心筋組織における ATGL 発現様式を再検討した。

B. 研究方法

所属施設の 54 例の連続剖検症例の心筋組織よりホルマリン固定パラフィン切片を作製し、Envision 法(DAKO)により免疫組織染色を行った。ATGL 抗体は、公開されている