

アミノ酸配列を基に rabbit polyclonal anti-ATGL(351-369)抗体を作製、Protein A IgG Purification Kitにて精製し、過剰な合成ペプチド添加や国立循環器病研究センター（植田初江臨床病理科医長）より供与頂いた原発性 TGCV 症例を陰性対照とした。ATGL の活性化因子である CGI-58 については市販のモノクローナル抗体(clone 1F3)を用いた。心筋細胞の 5%以上の範囲に明瞭な染色性を呈するものを陽性と判定した。

#### （倫理面の配慮）

本研究は、琉球大学臨床研究倫理審査委員会の認可をうけて行なった。

#### C. 研究結果

新規 ATGL 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と判定された。

#### D. 考察

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再認識され、その機序の解明が必要と考えられた。ATGL に対する免疫染色は、原発性 TGCV の検索には有用であるが、ATGL-CGI-58 axis とは独立して心臓、血管に過剰な中性脂肪が蓄積する病態、すなわち続発性ないし 2 次性 TGCV の診断については、異なるバイオマーカーの探索が望まれる。

#### E. 結論

種々の病態を呈した剖検症例の中には、光

顕的に心筋細胞内に脂肪沈着が認められる例があり、原発性 TGCV 以外に ATGL 発現の多寡には依存しない心血管脂質沈着症の病態の存在が示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

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 100 回日本病理学会総会 (平成 23 年 4 月 28-30 日、横浜市)

仲西貴也、松本裕文、池田善彦、植田初江、平野賢一、加藤誠也. 剖検心組織における ATGL (adipose tissue triglyceride lipase) の発現について. 第 33 回心筋生検研究会 (平成 23 年 11 月 25-26 日、京都市)

Takaya Nakanishi, Hirofumi Matsumoto, Shunmei Chiba, Yoshihiko Ikeda, Hatsue Ishibashi-Ueda, Nobuhiro Zaima, Ken-ichi Hirano, Seiya Kato. Relationship between lipid deposition and ATGL expression in human myocardial tissue: A study with autopsy cases. (The 1st International Symposium on Triglyceride Deposit Cardiomyovascular Pathology and Neutral Lipid Storage Disease.

26th Nov. 2011, Kyoto University)

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

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 **NFκB** 経路の亢進によって **TNFα** による **ICAM-1** の発現を増強させる

研究分担者 小林邦久 福岡大学筑紫病院 内分泌・糖尿病内科 教授  
(共同研究者 井上智彰 九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学 大学院生)

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症においては、糖尿病患者においてよくみられるびまん性・求心性の動脈硬化症が認められる。糖尿病患者においては **adipose triglyceride lipase (ATGL)** の活性が低下していることから、**ATGL** の活性が動脈硬化症の発症・進展に影響をおよぼしている可能性について検討した。ヒト大動脈血管内皮細胞において **siRNA** を用いて **ATGL** の発現を低下させると **TNFα** による **ICAM-1** の発現が増強し、単球の内皮細胞への接着が亢進していた。その機序としては、**CD36** 発現増加による遊離脂肪酸の取り込み増加に伴う **diacylglycerol-protein kinase C** 経路活性化による **NFκB** 経路亢進によることが明らかになった。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症においては、糖尿病患者においてよくみられるびまん性・求心性の動脈硬化症が認められる。糖尿病患者においては **adipose triglyceride lipase (ATGL)** の活性が低下していることから、**ATGL** の活性が動脈硬化症の発症・進展に影響をおよぼしている可能性について検討した。

B. 研究方法

ヒト大血管内皮細胞において **siRNA** をもちいて **ATGL** 遺伝子発現を低下させた状態において、**TNFα** 刺激下の単球細胞株 **U937** の接着およびそれに関わる接着分子 **ICAM-1** の発現の変化、さらにその制御に

関わる各種分子の発現を **realtime RT-PCR** 法・ウェスタンブロット解析にて評価した。  
(倫理面の配慮)

本研究は、九州大学動物実験委員会の認可を受けて行なった。

C. 研究結果

ヒト大動脈血管内皮細胞において **siRNA** をもちいて **ATGL** 発現を低下させると **TNFα** 存在下での単球の接着が有意に亢進し、**ICAM-1** の発現が **mRNA** および蛋白レベルで有意に増加していた。**ICAM-1** を含む細胞接着分子の誘導は **TNFα** による **NFκB** 経路の活性化が関与することが知られていることから、**NFκB** 関連分子の発現をウェスタンブロットティングで評価した。

ATGL を knockdown した内皮細胞で TNF $\alpha$  による I $\kappa$ B $\alpha$  の degradation は著明に亢進していた。次に I $\kappa$ B $\alpha$  の degradation に関与する JNK・p38 MAP kinase・Akt・PKC の TNF $\alpha$  によるリン酸化の変化をウェスタンブロッティングにて評価した。

ATGL の knockdown は TNF $\alpha$  による Akt と JNK のリン酸化に影響をおよぼさなかった。p38MAP kinase のリン酸化は ATGL の knockdown により減少したが、一方で PKC のリン酸化は ATGL の knockdown で増加していた。内皮細胞を PKC 阻害薬で前処置をすると ATGL を knockdown による ICAM-1 の増加は生じなかった。これらのデータより TNF $\alpha$  による ICAM-1 の増加は PKC 依存的であると考えられた。遊離脂肪酸は diacylglycerol の合成を増加させ PKC を活性化するので、遊離脂肪酸の膜輸送蛋白である CD36 の発現を検討した。ATGL を knockdown した内皮細胞では mRNA および蛋白レベルで CD36 発現が有意に上昇しており、また CD36 の遺伝子発現を調節している PPAR $\gamma$  の発現も増加していた。

#### D. 考察

糖尿病患者においては中性脂肪蓄積心筋血管症と同様のびまん性・中心性の動脈硬化症が認められる。糖尿病においてはインスリン抵抗性を介して ATGL 発現が低下していることから、動脈硬化症の初期病変形成に ATGL 活性低下が関与している可能性を検討した。今回の検討で糖尿病における動脈硬化症発症・進展においては中性脂肪蓄積心筋血管症と共通の ATGL 発現低下という基盤をもつことが明らかになった。前

年度の検討において我々が示したように、糖尿病状態における心筋がやはり中性脂肪蓄積心筋血管症と類似した遺伝子・蛋白発現パターンを示していることをあわせて、糖尿病における心筋症・動脈硬化症が「二次性」中性脂肪蓄積心筋血管症である可能性を支持する結果と考えられた。

#### E. 結論

糖尿病における動脈硬化症の発症・進展に ATGL の発現低下が関与している可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Reduced expression of adipose triglyceride lipase enhances tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced intercellular adhesion molecule-1 expression in human aortic endothelial cells via protein kinase C-dependent activation of nuclear factor- $\kappa$ B.

Inoue T, Kobayashi K, Inoguchi T, Sonoda N, Fujii M, Maeda Y, Fujimura Y, Miura D, Hirano K, Takayanagi R.

J Biol Chem. 286(37):32045-32053, 2011

##### 2. 学会発表

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

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

第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 (札幌 : 2011.5.19-21)

2) RNA interference-directed Knockdown of Adipose Triglyceride Lipase Enhanced TNF $\alpha$ -induced ICAM-1 Expression in Human Aortic Endothelial Cells via PKC-dependent activation of NF $\kappa$ B

Kunihisa Kobayashi, Tomoaki Inoue

The First International Symposium on TGCV and NLSD (Kyoto: 11.26, 2011)

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

Tomoaki Inoue, Kunihisa Kobayashi, Toyoshi Inoguchi, Ryoichi Takayanagi

The First International Symposium on TGCV and NLSD (Kyoto: 11.26, 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

TGCV 患者心筋及び冠動脈の蓄積脂質解析

研究分担者 財満信宏 近畿大学 農学部 応用細胞生物学研究室 講師  
(前浜松医科大学 分子解剖学研究部門 特任助教)

研究要旨

原発性TGCV患者と心不全で亡くなった患者の冠動脈を質量顕微鏡によって解析し、TGの局在を比較した。原発性TGCV患者においては、TGは冠動脈において全体的に検出され、心不全死症例の冠動脈では、TGの局在は症例によって異なっていた。

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。今年度はTGCVの病理像を脂質代謝の観点から把握するために、ATGLの先天性変異によって発症する原発性TGCV患者冠動脈のTGを質量顕微鏡法によって可視化し、心不全死症例患者冠動脈のTG局在と比較した。

B. 研究方法

クライオスタットで8 $\mu$ mの組織切片を作成し、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MALDI-LTQ-XL (Thermo Fisher Scientific) を用いた。

(倫理面の配慮)

本研究は、近畿大学の生命倫理委員会の認可をうけて行なった。

C. 研究結果

原発性TGCV患者冠動脈においてTGは全体的に存在していることが明らかになった。また、心不全死症例の冠動脈のTGの分布は症例によって異なっていた。

D. 考察

糖尿病性TGCV患者冠動脈においては、TGの分布は血管平滑筋の分布と一致していたが、原発性TGCV患者冠動脈のTGは全体的に分布していた。このことから、原発性TGCV患者においては、TGは血管平滑筋以外の細胞においてもTGが蓄積している、もしくは、血管平滑筋が遊走し、冠動脈全体に分布している可能性が考えられる。

E. 結論

今後は、病理解析により、原発性TGCV患者におけるTG分布の原因を明らかにする必要がある。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Triglyceride Deposit Cardiomyovascuopathy

Associated with Type 2 Diabetes Mellitus

Nobuhiro Zaima, Yoshihiko Ikeda, Masayuki Mano,

Hatsue Ishibashi-Ueda, Mitsutoshi Setou,

Ken-ichi Hirano

The 1st International Symposium on Triglyceride

Deposit Cardiomyovascuopathy and Neutral

Lipid Storage Disease

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

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

研究分担者 長澤康行 大阪大学大学院医学系研究科老年・腎臓内科 長澤康行

研究要旨

ATGL欠損症患者において腎不全例が報告されている。ATGL欠損が腎臓にフェノタイプを持つ可能性を検証するために、ATGL欠損マウスにおいて、腎臓でのフェノタイプの組織学的な予備解析を行った。その結果、腎臓の糸球体・間質ともに特徴的な変化が認められた。これらの変化は、ATGL欠損症患者においても生じている可能性が示された。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症の患者において、腎不全症例が報告されている。中性脂肪蓄積心筋血管症が腎臓のフェノタイプを含んでいる可能性がある。この可能性を検討するために、ATGL欠損マウスにおける、腎臓の糸球体・間質病変を検討した。

B. 研究方法

3週齢のATGL欠損マウスにおける、腎臓の糸球体・間質病変をHE染色・PAS選書を用いて組織学的に検討を行った。（倫理面の配慮）

本研究は、大阪大学動物実験委員会の認可を受けて行なった。

C. 研究結果

ATGL欠損マウスにおいて、腎糸球体では、糖尿病性腎症におけるヒアリン・ドロップに類似した独特の沈着病変を観察した全例において認められた。また、間質の尿細管においては、空砲変性に似た病変が

全体に著明に認められた。

D. 考察

ATGL欠損マウスにおいて腎糸球体・間質において著明な病変が認められた。糖尿病性腎症においても、ヒアリン・ドロップや間質の病変が知られており、類似の病変は糖尿病性腎症の発症進展にATGL欠損が関与している可能性を示唆している。すなわち、腎臓の尿細管は非常にエネルギー消費が多い部位であり、ATGL欠損によって十分なエネルギー供給が出来ないことが、糖尿病においてブドウ糖の取り込みが十分に行えずエネルギー供給が不十分になることと類似している可能性が示された。

E. 結論

ATGL欠損マウスにおいて、腎・糸球体に糖尿病性腎症に類似した著明な病変が認められた。このことは、糖尿病性腎症の発症・進展にATGL欠損あるいは低下が関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

なし

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（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

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、ラマン散乱顕微鏡により中性脂肪蓄積心筋血管症を診断できるか検討を行った。コレステロールエステルと中性脂肪のモデル物質のラマン散乱スペクトルから鍵となるラマンバンドを選定し、Oil-Red-O 染色画像とそれらキーバンドでのラマン画像との対比、ラマン画像の主成分分析から、コレステロールエステルと中性脂肪を高い確率（98%）で分離でき、ラマン散乱顕微鏡による中性脂肪蓄積心筋血管症の診断が可能であることが分かった。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症(TGCV: triglyceride deposit cardiomyovascularopathy)では、中性脂肪が心筋や冠動脈に蓄積することが知られているが、典型的な心疾患である虚血性心筋症（ICM）ではコレステロールエステルが蓄積する。したがって、TGCVの診断のためには、組織中の中性脂肪とコレステロールエステルの識別が重要となる。しかしながら、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共に染色してしまい、両者を見分けることは難しい。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の診断が可能か検討する。

B. 研究方法

典型的なコレステロールエステルと、中

性脂肪のラマンスペクトルを観測し、ラマン測定において両者を識別する際に鍵となるラマンバンドを取得した。また、ホルマリン固定されたTGCV心筋組織と、虚血性心筋症患者の冠動脈組織を、OCTコンパウンドで包埋後、凍結マイクロームを用いて厚さ8 μmの凍結切片とした。切片をCaF<sub>2</sub>プレートで挟むことにより切片標本を作製し、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、自作の主成分分析プログラムによってデータ解析を行った。

（倫理面の配慮）

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

典型的なコレステロールエステル、中性脂肪のラマンスペクトルから、 $2852\text{ cm}^{-1}$ 、 $1440\text{ cm}^{-1}$ にコレステロールエステルならびに中性脂肪両方で観測されるラマンバンドが、 $1670\text{ cm}^{-1}$ ならびに $700\text{ cm}^{-1}$ にコレステロールエステルのみを観測されるラマンバンドが得られることを確認した。

Oil-Red-O 染色による画像と、 $2852\text{ cm}^{-1}$ ならびに、 $1440\text{ cm}^{-1}$ の TGCV および ICM のラマン画像は同様なイメージを与えることが示された。また、 $700\text{ cm}^{-1}$ のラマン画像においては、ICM では $1440\text{ cm}^{-1}$ のラマン画像と同様なイメージを示すが、TGCV ではその信号強度が非常に低いことが示された。

また、TGCV ならびに ICM 試料の同時主成分分析の結果、第一主成分は $1440\text{ cm}^{-1}$ のラマン強度と非常に相関が高く、第三主成分のスペクトルにはコレステロールエステルに特有な $700\text{ cm}^{-1}$ と $1670\text{ cm}^{-1}$ にバンドが現れ、このイメージは TGCV では負に ICM では正の信号を示した。

第一、二、三主成分スペクトルを  $x, y, z$  軸にとり、画像の各点をプロットすると TGCV と ICM が明白に分離された。また、適切な領域でそれらを分別すると、中性脂肪、コレステロールエステル、その他に分離できることが分かった。先の主成分で得られた領域分割を用いて、他の試料を解析すると、98%の確率で中性脂肪とコレステロールエステルを分離することができた。

### D. 考察

脂質アルキル鎖の  $\text{CH}_2$  挟み振動に帰属される $1440\text{ cm}^{-1}$ のラマンバンドと、コレス

テロールに帰属される $700\text{ cm}^{-1}$ のラマンバンドを中性脂肪とコレステロールエステルに分別可視化できることが示された。また、得られたラマンスペクトル画像を主成分分析し、適切なクラスターを用いて分別することで、高い確率で中性脂肪とコレステロールエステルを識別できることが分かった。

### E. 結論

糖尿病状態の心筋において、脂質関連遺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

該当せず

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

Diagnosis of triglycerides deposit cardiomyovascularopathy using Raman microscopy

N. MATSUMURA, H. NIIOKA, Y. IKEDA, K. HIRANO, T. ARAKI, and M. HASHIMOTO,  
日本分光学会平成 23 年度年会 (横浜 : 2011. 11. 30-12. 2)

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

松村直和, 新岡宏彦, 池田善彦, 平野賢一, 荒木勉, 橋本 守,

第 72 回応用物理学学会学術講演会 (山形 :

2011. 8. 29-9. 2)

ラマン顕微鏡と多変量解析 を用いた中性  
脂肪蓄積心筋血管 症と虚血性心筋症の識  
別

松村直和, 新岡宏彦, 平野賢一, 池田善  
彦, 荒木勉, 橋本守

日本機械学会第 24 回バイオエンジニアリ  
ング講演会 (大阪: 2012. 1. 7-8)

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

糖尿病患者心臓の病理組織学的研究

分担研究者 廣江 道昭 国立国際医療研究センター循環器内科

研究要旨

糖尿病の心筋障害として、心筋代謝障害と心筋内小・微小血管循環障害が示唆されている。今回、所謂、糖尿病性心筋症の実態を把握するために剖検心臓を病理組織学的に検討し、さらに中性脂肪蓄積心筋血管症類似の病態が存在する可能性についても検討した。

糖尿病心筋障害には、心筋内小・微小血管異常の他に二次性中性脂肪蓄積心筋血管症類似の病態が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

糖尿病の臓器障害として、心臓では1)心筋代謝障害、2)心筋内小・微小血管循環障害が示唆されている。前者では心筋細胞内脂質沈着による障害が、後者では心筋内の小線維化巣、心筋肥大、小血管のムコ多糖の沈着・壁肥厚などが挙げられる。本研究では、剖検症例で心臓病理学的見地から糖尿病性心筋障害の実態について検討した。

B. 研究方法

【対象】国立国際医療センター戸山病院での近年の連続剖検症例の中から対象を選んだ。症例は3群に分け①糖尿病症例、②動脈硬化、大動脈硬化に伴う血管病変を有する症例(以下、血管症例)、③、①②以外の疾患とした。いずれの症例も冠動脈硬化による狭窄は、心筋への負荷を考慮して50%未満の症例にした。また心臓そのものに限局的変化があるもの、たとえば心臓の腫瘍、弁膜疾患、心筋内血栓

症、末期を除く心筋梗塞例、その他癒着性心外膜炎は除いた。過去5年間で、上記内容を満たす症例は①17症例(年齢51歳～91歳、BMI、15.2～29.4、心重量推定：心重量g/身長cm=1.5～3.6)、②8症例(年齢69歳～83歳、BMI、15.3～23.5、心重量推定2.4～3.4)、および過去2年間の③27症例(年齢52歳～89歳、BMI、15.2～30.5、心重量推定1.5～2.9)で検索対象とした。

【組織学的研究】心筋標本はHE染色とMT(マッソン・トリクロム)染色標本を準備した。更にホルマリン固定保存臓器から1部検体を採取し、オイル赤Oによる脂肪染色を行い、心筋細胞内脂肪沈着の有無を検討した。

(倫理面の配慮)

本研究は、国立国際医療研究センター倫理委員会の認可をうけて行なった。

C. 研究結果

HE染色、MT染色の組織標本からは直

径 200  $\mu$  以下の中・小血管の硬化像、内膜肥厚による血管内腔の狭窄所見、血管周囲心筋細胞を取り囲むように広がる細い線維化を観察した。脂肪染色では、①糖尿病全症 15 例、②非糖尿病 10 例、③対照疾患 4 例を検討したが、いずれもリポフスチン顆粒のみで、脂肪沈着は認めなかった。しかし東京大学医学部病理学教室の剖検症例（心組織標本）であるが（深山教授の許可を得て症例提示）、糖尿病と動脈硬化症の合併症例で、陳急性心筋梗塞を呈していた。心筋細胞の胞体は HE 染色で密に小空胞状を呈し、オイル赤 O で中性脂肪の存在が証明された。

#### D. 考察

糖尿病症例では、各臓器での細動脈硬化症といわれるが、心臓でも細動脈の硬化性変化が見られた。脂質代謝異常、特に中性脂肪による lipotoxicity cardiomyopathy が提唱されているが、実際には稀に見る所見と考える。今後、質量顕微鏡などの新しい方法での検討が必要である。

#### E. 結論

糖尿病心筋障害には、心筋内小・微小血管異常の他に二次性中性脂肪蓄積心筋血管症類似の病態が存在する可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

遠藤久子、廣江道昭. メタボリックシンドロームと心筋病変—特に糖尿病性心筋症を中心に—. 病理と臨床 2011 ; 29 : 249-253

##### 2. 学会発表

なし

#### 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

[IV]

診断基準

## 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 (Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy, TGCV)

H23. 12. 7 改訂

### 【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

生活習慣改善、内服薬、インスリン治療など既存の治療法に抵抗性で心臓死した腎症を持つ非肥満、2型糖尿病の剖検心の解析から見出された病態。原発性と同様、心筋及び冠動脈に中性脂肪が蓄積しているが、原発性とは異なり、ATGL は欠損していない。現在のところ遺伝的原因は不明である。

#### 3、その他

上記、以外にも類縁疾患と思われる病態があり、班で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、種々の画像診断によってなされる。
- 3、 原発性 TGCV の場合は、ATGL 遺伝子検査により、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容易でないため、研究班にて簡易診断法の開発、バイオマーカーの探索に努めている。

## 原発性中性脂肪蓄積心筋血管症

### 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、骨格筋、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、これまで国内外で27例の情報を得た。以下にその特徴を記す。国内の7症例は、5家系、4変異。1例は、30年前の症例のためホルマリン固定標本からの遺伝子解析は不可能であった。

#### 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。寒冷に弱く、四肢がこわばりやすいなどの症状を来す場合がある。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。Jordans' 奇形のスクリーニング法として、シスメックス社製 XE-5000 血球計数装置によるBASO-WX、BASO-WYの測定が有用と考えられる。

##### (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：

これまでの情報では、男性は拡張型心筋症様、女性は、肥大型心筋症様を呈している。いずれも進行例の情報であり、病初期や小児期の表現型は、不明である。

##### (5) 心臓CT、MRI

CT では、心筋にびまん性、貫壁性の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。MRI の所見は今後の検討  
課題である。

(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。

質量顕微鏡：

ホルマリン固定標本、凍結標本を用いて、TG の同定を行うことが、  
可能であり、診断的価値が高い。

注1) 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)蓄積の定量は、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。

注2) ARVC などその他の心筋細胞内外に脂質蓄積を来す疾患との鑑別  
が困難な場合は、抗 ATGL 抗体を用いた免疫染色が有用である。

(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（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。現在までに把握している我が国の7症例中、4例はすでに死亡（3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、自主臨床研究を2例に実施するとともに、モデル動物にてその効果を検証した。

簡易診断法の開発も行い、実用化に向けて準備中である。

## 続発性中性脂肪蓄積心筋血管症 (Secondary TGCV)

既存の治療法（内服、ライフスタイル改善など）を受けながらコントロール不良で、心臓死した腎症を持つ非肥満、2型糖尿病の剖検心の解析から見出された病態。2型糖尿病の発症から3～数十年で、重症の心筋障害、冠動脈硬化症を来す。心筋は、肥大（心筋梗塞を伴う症例では心筋壊死、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びまん性、求心性の狭窄病変を認める。

本症における遺伝的原因は、現在のところ不明である。

### 1、臨床症状

2型糖尿病の発症後、数年から10数年で、心症状を呈すると考えられる。動悸、息切れ、呼吸困難、労作時または安静時胸痛ないし胸部絞扼感、失神など生じ、虚血性心疾患、不整脈、心不全などによる症状がみられる。

### 2、検査所見

#### (1) 末梢血：

原発性 TGCV とは異なり、明らかな多核白血球、単球に空胞変性 (Jordans' anomaly) は、認めない。研究班で詳細に検討中である。

#### (2) 生化学的検査

血糖、ヘモグロビン A1c 高値。血清脂質（総コレステロール、トリグリセリド、遊離脂肪酸）の増加、HDL-コレステロールの低値を見る場合が多い。心不全に伴い、BNP 値の上昇。急性冠症候群例では、心筋逸脱酵素 (CPK, LDH, GOT, CPK-MB、トロポニン T) を伴う。

#### (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：

肥大心、左室壁運動異常などが認められる。

#### (5) 心臓 CT、MRI

CT では、心筋内の低吸収領域を認める。虚血部では、心内膜側に低吸収領域を見る。冠状動脈は、びまん性の狭窄性病変を認める。

偏心性の病変を伴う場合には、脂質プラークを認める。

MRI の所見は今後の検討課題である。

#### (6) 冠動脈造影

造影所見において、多枝にわたり、起始部から末梢にかけて、びまん性求心性の狭窄を呈する。一部、偏心性の病変を伴う場合が多い。