

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））
分担研究報告書

質量顕微鏡法を用いた TGCV 診断にむけた基礎的検討

研究分担者 財満信宏 近畿大学農学部 講師

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovasculopathy: TGCV) の特徴は、心筋及び冠状動脈への中性脂肪 (TG) の蓄積である。そのため、本疾患の診断には、病理検体において TG を検出することが重要である。一般的な病理染色では、コレステロールと TG の識別が困難である。本研究では、TG とコレステロールを区別して可視化することが可能な質量顕微鏡法を用い、TGCV 診断に向けた TG 検出のための基礎的な検討を行った。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV) の特徴は、心筋及び冠状動脈への中性脂肪 (TG) の蓄積である。TGCV の診断のためには、組織上の TG を高感度かつ半定量的に測定することが重要である。質量顕微鏡法による TG の高感度測定法の検討例はないため、本研究では高感度 TG 検出を実現するための前処理方法を検討した。

B. 研究方法

安楽死させた ddY マウスから脂肪組織を採取し、液体窒素で速やかに凍結した。その後、クライオスタットによって 10 μ m の凍結切片を作成した。作成した凍結切片を A 液（未発表のデータのため、非公開とする）、B 液、もしくは C 液で洗浄した後、質量顕微鏡法によって脂肪組織を解析し、TG を検出した。

（倫理面の配慮）

本研究は、近畿大学動物実験委員会の認可を受けて行った。

C. 研究結果

A 液、B 液で処理した切片で検出される TG はコントロール切片と比較し、感度が低下する傾向にあった。一方、C 液で洗浄した切片から検出される TG は 1.5 倍程度検出強度が増加した。

D. 考察

C 液による処理によって、TG 検出の感度が向上することが示された。C 液によって、TG のイオン化を阻害する組織上の分子が除去されたことが原因であると考えられるが、詳細な機構については今後のさらなる検討が必要である。

E. 結論

脂肪組織のTG検出の高感度化に成功した。今後は、この手法によって、筋組織などに存在する微量のTGを高感度に検出できるかどうかを検討する必要がある。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

Genetic Mutations in Adipose Triglyceride Lipase and Myocardial Up-regulation of Peroxisome Proliferated Activated Receptor- γ in Patients with Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy.
Ken-ichi Hirano, Tatsuya Tanaka, Yoshihiko Ikeda, Satoshi Yamaguchi, Nobuhiro Zaima, Kazuhiro Kobayashi, Akira Suzuki, Yasuhiko Sakata, Yasushi Sakata, Tatsushi Toda, Norihide Fukushima, Hatsue Ishibashi-Ueda, Daniela Tavian, Hironori Nagasaka, Shu-Ping Hui, Hitoshi Chiba, Yoshiki Sawa, Masatsugu Hori
Biochem. Biophys. Res. Commun. In press.

2. 学会発表

Screening for triglyceride deposit cardiomyovasculopathy in type 2 diabetes mellitus patients.
Nobuhiro Zaima, Yoshihiko Ikeda, Hatsue Ishibashi-Ueda, Mitsutoshi Setou, Ken-ichi Hirano
The 2nd International Symposium on Triglyceride Deposit Cardiomyovasculopathy and Neutral Lipid Storage Disease
(Osaka, JAPAN : 2013.4.19-20)

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