

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等実用化研究事業）
分担研究報告書

中性脂肪蓄積心筋血管症のスクリーニングに有用な検査法の開発

研究分担者 稲葉 亨 京都府立医科大学 感染制御・検査医学 講師

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovasculopathy: TGCV)では、末梢血白血球に中性脂肪が蓄積し、粗大な空胞を形成するのが特徴的であり、Jordan異常として知られている。(株)堀場製作所が製作販売する自動血球計数器 Pentra シリーズは白血球細胞質の脂肪含量に応じて白血球自動分類を行うため、Jordan異常を有する好中球を数分以内に簡便にスクリーニング可能なことが判明した。さらに、その変化を定量評価するために、Pentra MS CRP で得られた白血球分布パターンの数値化を行った。

A. 研究目的

TGCV では末梢血白血球に中性脂肪が蓄積し、粗大な空胞を形成するのが特徴的であり、Jordan異常として知られている。Jordan異常は一般的には末梢血塗抹標本を顕微鏡下で目視分類する際に同定されるが、日常診療では必ずしも末梢血目視分類は実施されない。従って、より汎用性のある末梢血白血球自動分類でJordan異常を同定出来れば、無症候例も含めて短時間で簡便にTGCVのスクリーニングが可能である。この目的に適した自動血球計数器を検討し、さらにTGCVスクリーニングの為に客観的基準を確立することを、平成26年度の目的とする。

B. 研究方法

当院では2012年から各種の自動血球計数器の基礎的性能を比較評価してきた。その一環として堀場製作所製Pentra MS

CRPを用いて某患者の末梢血白血球自動分類を実施した際、極めて特徴的な好中球分布パターンの異常を認めた。そこで、末梢血目視分類を実施したところ、典型的なJordan異常を認めた。当該患者は心症状や筋症状を認めておらず、原発性TGCVに特徴的なATGL遺伝子変異の有無も確認出来ていない。しかし、典型的Jordan異常を呈することから、上記のPentra MS CRPにおける好中球分布パターンの異常がJordan異常の特徴的所見であるか、さらにこの分布異常を定量的に評価するため、Pentra MS CRPの白血球自動分類用パラメーターを内部コンピューターにより数値化する。

(倫理面の配慮)

本症例は典型的なJordan異常を認めるが、TGCVに合致する症状は全く認めておらず、原発性TGCVの可能性は低いが、患者およびその家族にはATGL遺伝

子検査についても文書で同意を得ている。

一方、血球計数器の検討には通常診療時に採取された血液の残余分を使用するため、検討に際して新たな身体的危害が生じる可能性は考えられない。また、残余血は連結可能匿名化後に検討に使用する。

C. 研究結果

Pentra MS CRP は他メーカーの主な血球計数器とは異なって Chlorazol black E (CBE) 染色時の吸光度の違いにより白血球自動分類を行っており、当該患者における好中球分布パターンの異常は、好中球細胞質における脂肪含量増加を意味した。また、当該患者の好中球空胞は oil red 陽性であり、中性脂肪を含有することが判明した。

そこで、Pentra MS CRP の基礎的性能評価時の好中球分布パターンを見直して、健常人結果をもとに CBE 染色時の吸光度の定量化を行い、健常人パターンの閾値を設定した。

D. 考察

Pentra MS CRP の有する独特の白血球自動分類原理を利用することにより、TGCV 患者に特徴的な Jordan 異常を 50 μ L 以下の微量血液を用いて 5 分以内に同定可能であり、同機種は今後、多数の臨床検体を用いたスクリーニングに有用な検査機器と思われた。

E. 結論

Pentra MS CRP は Jordan 異常の迅速スクリーニングに有用な自動血球計数器

と思われた。

F. 健康危険情報
該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表
今年度はなし

2. 学会発表
今年度はなし

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（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

中性脂肪蓄積心筋血管症における CD36 の発現に関する検討

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

研究要旨

正常な心筋細胞では、CD36 などのトランスポーターを介して長鎖脂肪酸 (LCFA) を取り込む。細胞内中性脂肪分解系に異常が存在する原発性中性脂肪蓄積心筋血管症 (Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy) における CD36 の発現について解析し、2 型糖尿病を伴う特発性 TGCV 例との病理組織学的な比較検討を行った結果、原発性 TGCV では、特発性 TGCV 例と異なり心筋細胞膜における CD36 の過剰発現が認められた。

A. 研究目的

正常な心筋細胞では、CD36 などのトランスポーターなどで長鎖脂肪酸 (LCFA) を取り込み、主要なエネルギー源として利用している。今回、adipose triglyceride lipase (ATGL) 欠損を伴う原発性 TGCV 例における、心筋細胞の CD36 の発現について病理組織学的に解析し、2 型糖尿病を伴う特発性 TGCV 例と比較検討を行った。

B. 研究方法

ATGL 欠損を伴う原発性 TGCV2 例の心臓移植時摘出心と 2 型糖尿病を伴う特発性 TGCV2 例の剖検心について、10% 中性緩衝ホルマリンにて固定された組織から心筋を採取し、それらのパラフィン切片標本作製し、CD36 に対する免疫染色及び、蛍光抗体法を用いて施行した。

(倫理面への配慮)

本研究は病理組織学的解析であり、遺伝子解析は施行していない。摘出心につ

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。また、剖検症例についての研究協力の同意は、遺族の自由意思で決めていただいた、臓器の一部の医学研究目的使用について承諾され、既に署名をいただいている剖検承諾書をもって同意とすることについて当センター倫理委員会から文書による承認を得ている。

C. 研究結果

特発性 TGCV2 例の剖検心では、間質の血管内皮細胞において CD36 の発現が認められ、心筋細胞においては陰性であったのに対し、原発性 TGCV2 例の摘出心では、血管内皮細胞に加えて心筋細胞において過剰発現が認められた。

D. 考察

CD36 などのトランスポーターを介して細胞内へ取り込まれた長鎖脂肪酸 (LCFA) は、ミトコンドリアに輸送され

てβ酸化を受けて ATP を産生する系と、一旦、トリグリセリドとなり速やかに ATGL など加水分解を受け、ミトコンドリアに輸送されてβ酸化を受ける系が存在する。原発性 TGCV では、ATGL などの細胞内中性脂肪分解系に異常が存在し、細胞内の脂肪滴として TG が蓄積する。細胞内の TG 含量が増加すると、細胞内 TG 増加を誘発する重要な転写因子である peroxisome proliferated activated receptor- γ (PPAR γ) が活性化されることが、既に証明されているが、今回、その下流の分子である CD36 が心筋細胞において過剰発現していたことから、LCFA がさらに細胞内に流入し細胞内に TG が増強していく positive feed back 機構 (LCFA の悪性サイクル) が、TGCV の病態の首座を占めると考えられた。

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

共同研究者
池田善彦 国立循環器病研究センター
臨床病理科

E. 結論

ATGL 欠損を伴う原発性 TGCV においては、2 型糖尿病を伴う特発性 TGCV と異なり、心筋細胞においても CD36 の過剰発現が認められた。

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
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

診断基準の策定～好中球空胞による評価～

研究分担者 江副幸子 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 講師

研究要旨

原発性中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovasculopathy: TGCV)では、末梢血多核顆粒球に中性脂肪が蓄積し、Jordans'奇形と呼ばれる空胞を形成する。Adipocyte Triglyceride Lipase(ATGL)遺伝子に明らかな遺伝子異常を持たない特発性 ATGL と診断する症例においても、末梢血白血球細胞質内の空胞の存在について検討を行い、病態との関連において診断の手がかりになりうるか、また、診断基準としての妥当性について検討した。

A. 研究目的

本研究は、TGCV の診断基準を策定することをそのテーマの中を含む。

診断基準の一つとして好中球細胞質内空胞の評価の有用性について検討する。

中性脂質蓄積症 (NLSD) においては末梢血顆粒球に脂肪の蓄積を認め、塗抹標本で多くの空胞を有することが知られており、これを Jordans'奇形と呼んでいる。

本研究においては、明らかな ATGL 遺伝子異常を有する中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV)と明らかな遺伝子異常を持たない特発性 ATGL と診断する症例も含め、本疾患患者の末梢血白血球細胞質内の空胞について検討を行い、病態との関連において診断の手がかりになりうるかと考え、診断基準としての妥当性について検討した。

B. 研究方法

単球は本来健常人においても多数の空

胞を有することが多く、疾患としての評価が困難であることから、健常人の末梢血ではほとんど空胞を持たない多核顆粒球を評価対象とした。

対象は、ATGL 欠損症例 2 例、ATGL 異常を持たない特発性 TGCV 症例 6 例、健常人 1 例、他の脂質異常、糖尿病等症例 13 例であり、それぞれ末梢血塗抹メイ・ギムザ(MG)染色標本の顕鏡において好中球 100～200 個をカウントし、そのうち空胞を持つ好中球の比率を算出した。

(倫理面の配慮)

所属機関附属病院臨床研究倫理委員会において承認を得た。

C. 研究結果

ATGL 欠損症例では全例において 100%の顆粒球で著明な空胞を認めた。一方、健常人及び他の脂質異常症等においては空胞を有する顆粒球が 10%未満であ

るのに対し、ATGL 欠損を持たないが病態として特発性 TGCV と診断しうる症例においては 10%～60%の好中球において空胞を認めたことから、これらの症例では ATGL 欠損症と同様に多臓器に中性脂肪を蓄積し、臓器の障害をきたす病態が有することが示唆された。

なし
3. その他
なし

D. 考察

これらの結果により、多核顆粒球における空胞（Jordans'奇形）は原発性および特発性 TGCV の診断に有用なツールであると考えられる。なお、採血の日により空胞の比率に大きな差があり、その原因については現在のところ不明である。採血前の諸条件をそろえるなど、さらに再現性のある方法の確立が必要であると考える。

本研究においては、さらに多数の症例での解析を行い、原発性および特発性診断基準としての有用性を明らかにする。

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

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発

研究分担者 加藤良仁 興和創薬株式会社 学術部大阪学術課 課長

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症に対する治療薬の開発を進めていく過程において、医師主導治験実施に向けて全体スケジュールを研究代表者および関連する分担研究者、研究協力者等と打ち合わせを行い、プロジェクトを推進した。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症に対する治療薬の開発を進めていく過程において、全体スケジュールへの助言と医薬品医療機器総合機構(PMDA)への薬事相談に同席し、プロジェクトを推進する。

B. 研究方法

研究機関、製造機関等との研究会議において、情報の共有を行い、医師主導治験実施のための体制を整えた。

（倫理面の配慮）

審査委員会の承認をうけ、規定に従い研究を実施した。

C. 研究結果

2月24日に大阪大学のIRB委員会に諮問することができた。

D. 考察

次年度に治験を開始するための準備が終了した。今後は医師主導治験の実施を推進する必要がある。

E. 結論

医師主導治験を開始するためにプロジェクトを推進し、次年度に開始する準備が整った。

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

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（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

毒性試験に備えたカプリン酸定量法の技術移転及び健常人における
カプリン酸濃度の検討

研究分担者 恵 淑萍 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 (triglyceride deposit cardiomyovascularopathy: TGCV)を1日でも早く克服するため、治療薬の有効成分であるカプリン酸定量法の技術移転及び正常人におけるカプリン酸の濃度検討を目的とする。カプリン酸定量法の技術を移転するために、まず分析に必要なカプリン酸及び内標準物質の誘導体化物と共に、確定した測定法のパラメーターを委託業者に渡した。また、血清中カプリン酸値に影響を与える背景因子を探索するために、健常者血清カプリン酸濃度測定を行った。

A. 研究目的

TGCV 治療薬の有効成分であるカプリン酸定量法の技術移転及び正常人におけるカプリン酸(FFA10:0)の濃度を測定することで、TGCV を1日でも早く克服することを最終目的とする。本目的を実現するために、まず化学合成したカプリン酸及び内標準物質の誘導体化物と共に、確立した測定法のパラメーターを委託業者に渡した。また、血清中カプリン酸値に影響を与える背景因子を探索するために、健常者血清カプリン酸濃度の測定を行った。

B. 研究方法

FFA10:0 をニトロフェニルヒドラジン(NPH)によるラベル化法でFFA10-NPHを標準物質として得た。また、ウンデカン酸(FFA11:0)もNPHと反応させ、FFA11-

NPH を内部標準物質(IS)として合成した。合成した標品及び内標準物質の構造の確認はLTQ XL (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA)を用いる質量分析により行った。

(倫理面への配慮)

大分大学と北海道大学でそれぞれ倫理審査の承認を得た。(大分大学承認番号: 715 ; 北海道大学認定番号: 14-17)

C. 研究結果

化学合成した標準物質の合成したFFA10-NPH、内標準物質 FFA11-NPH、及びそれらのNMR データーを委託業者に提供した。また、上記合成品を用いて、確立したカプリン酸のHPLC 定量法のパラメーターも委託業者に渡した。更に、血清中カプリン酸値に影響を与える背景因子を探索するために、大分大学の収集した健常者 (n=106) 血清カプリン酸濃

度を測定した。カプリン酸の濃度は 0.3 ± 0.4 (Mean \pm SD) $\mu\text{mol/L}$ であった。また、106人中50人からカプリン酸が検出されなかった。今後はトリカプリンの治療を受ける TGCV 患者の血中濃度を測定する予定である。

D. 考察

GLP 基準下毒性試験に備えたカプリン酸定量法の技術移転を完成したことで、TGCV 治療薬であるカプリン酸の臨床試験に大変有用であると考えられる。また、前年度で確立した HPLC 法にて分析することにより高精度かつ高感度に FFA10:0 を定量することができた。この方法を用いて今年度は、健常者の血液中のカプリン酸濃度を決定した。大阪大学、大分大学との共同研究で、日本人の健常者の中鎖脂肪酸濃度を初めて報告した。明らかになったことは、日本人では中鎖脂肪酸であるカプリン酸濃度は非常に低い、半分の人には検出できないということである。中鎖脂肪酸は乳製品や最近話題のココナツオイルに多いため、これらを摂取すると血中濃度は大きく増加し、脂肪代謝への影響が現れると期待される。

E. 結論

今年度はカプリン酸定量法の技術移転を完成した。また、初めて健常者血液中のカプリン酸濃度を決定した。今後は、カプリン酸を主成分とする治療薬の服用前後の TGCV 患者血中総 FFA10:0 濃度を測定するに本法を応用する予定である。

F. 健康危険情報
該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Nishimukai M, Maeba R, Yamazaki Y, Nezu T, Sakurai T, Takahashi Y, Hui SP, Chiba H, Okazaki T, Hara H. Serum choline plasmalogens, particularly those with oleic acid in sn-2, are associated with proatherogenic state. *J Lipid Res.* 55(5) 956-965. 2014.
- ② Shrestha R, Hui SP*, Imai H, Hashimoto S, Uemura N, Takeda S, Fuda H, Suzuki A, Yamaguchi S, Hirano K, Chiba H. (*CA) Plasma capric acid concentrations in healthy subjects determined by high-performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem.* In press, 2015.(*CA)

2. 学会発表

- ①中鎖脂肪酸の HPLC 法による定量分析。惠 淑萍, シュレスト ロジート, 平野賢一, 鈴木 朗, 千葉仁志 (第 61 回臨床検査医学会学術集会、福岡), 2014. 11.
- ②中性脂肪蓄積心筋血管症における Jordans' anomaly を自動血球分析装置で検出する。鈴木 朗, 和田 淳, 長坂博範, 越智康浩, 千葉仁志, 惠 淑萍, 平野賢一 (第 61 回臨床検査医学会学術集会、福岡), 2014. 11.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許出願

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（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

症例探索－2型糖尿病患者における TGCV 合併例－

研究分担者 小澤純二 大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学 助教

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovascularopathy:TGCV)を合併する 2 型糖尿病症例を探索する。TGCV 合併 2 型糖尿病の臨床的特徴を明らかにして、早期発見・早期治療につなげられるようにすることを目的とする。

当院外来通院 2 型糖尿病患者において治療抵抗性の心疾患を有する患者を中心に探索を行った結果、新たに候補として見つかった一例を報告する。

A. 研究目的

2 型糖尿病における TGCV 合併例の臨床的特徴を明らかにして、TGCV の早期発見、早期治療につなげられるようにすることを目的とする。

B. 研究方法

大阪大学医学部附属病院内分泌・代謝内科において本研究分担者の外来を通院加療中の 2 型糖尿病患者約 300 名を対象とする。同対象者の中で TGCV の臨床的特徴とされる成人発症で治療抵抗性の心不全、狭心症、不整脈の経過を有する患者を検索する。

（倫理面への配慮）

所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守し研究を遂行した。

C. 研究結果

スクリーニングの結果、現在 24 年間の糖尿病罹病期間を有する 50 歳男性が候補として挙げられた。同患者は 26 歳時に

2 型糖尿病の診断、内服治療を受けるも血糖管理不良であった。36 歳時に急性心筋梗塞を発症（#3;100%、#4;90%）、同時期から心室頻拍を中心とする不整脈を呈し、抗不整脈薬で治療されたが治療抵抗性であった。36 歳時にインスリン治療が開始となり、一日所要インスリン量は当初 28 単位であったが増加し、49 歳時には 320 単位に至った。インスリン負荷試験による K 値は 0.25%/min（正常約 5%/min、当科入院 2 型糖尿病患者 163 名の中央値 1.56%/min）と著明なインスリン抵抗性を示した。本例は冠動脈狭窄を繰り返し認め、47 歳時（#1;75%）、48 歳時（#7;75%）にインターベンションを施行されている。

本患者は糖尿病による細小血管合併症も進展しており、41 歳時に網膜症により左眼失明、43 歳時に末期腎症により血液透析導入となっている。さらに 40 歳時には肝障害を呈し、肝生検を施行、non-alcoholic steatohepatitis の診断をされている。

現在本患者は本研究分担者外来、循環器内科、消化器内科に通院加療中、近医にて維持透析を継続している。

D. 考察

本例は難知性冠動脈疾患および不整脈を有する点で TGCV の合併を疑う。特発性 TGCV 症例で糖尿病合併はみられるが、本例のような著明なインスリン抵抗性の存在はこれまで報告されていない。本例の診断・解析を進めることで TGCV における脂肪蓄積と糖尿病発症に関わる病態との関連が明らかとなり、両者に対する包括的アプローチへの展開も期待される。

・今後の予定

上記患者に対し、説明と同意取得の上、Jordans' 奇形の有無、BMIPP シンチにおける心筋での脂肪酸 wash out rate の低下の有無などを検討し、診断を進める。

E. 結論

TGCV 合併の 2 型糖尿病症例を探索、一例の候補を見出し、今後検査・診断予定である。

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

The 3rd international symposium
on triglyceride deposit
cardiomyovascularopathy and neutral lipid

storage disease

(Tokyo, Japan:2015.3.14)

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（難治性疾患等実用化研究事業）
分担研究報告書

中性脂肪蓄積心筋血管症における形態学的異常の評価法の確立
-とくに冠動脈疾患の進展について-

研究分担者 小谷順一 大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学 特任講師

研究要旨：中性脂肪蓄積心筋血管症 (triglyceride deposit cardiomyovasculopathy: TGCV)の心機能低下には冠動脈の変性のみならず内腔狭小に伴う虚血の担う部分が多い。一般的な心筋虚血の評価は心筋における局所の虚血の証明をもって行われるが、心筋変性の存在、また介入療法の早期導入を考慮して内腔狭小に至らない状態での直接的な冠動脈の早期のスクリーニング法・病期進展の評価法を確立する事が肝要である。本研究では疾患特異的な構造的特徴の把握のために直達的に光干渉断層法(optical coherence tomography: OCT)を用いて冠動脈を観察し、汎発性に存在する肥厚した内膜+中膜という特異的所見を得た。これは診断基準を考えるうえできわめて重要な所見と考えられる。

A. 研究目的

TGCV は、中性脂肪の代謝異常により惹起される疾患である。冠状動脈においては、汎発性に変化が見られることが特徴である（びまん性変化）。一方、食事や薬品による介入による臓器および身体機能改善が期待されていることから（早期介入の重要性）、疾患が進行し、血管内腔の狭小化が顕著となる虚血状態に陥る以前に血管の構造変化を捉えることが臨床重要である。以上より直達的に光干渉断層法 (optical coherence tomography: OCT)を用いてその疾患特異的な構造的特徴を検討した。

B. 研究方法

イメージングシステム及び解析：臨床応用を念頭に、現在臨床で使用されてい

る OCT のカテーテルシステム (St. Jude Medical 社製 ILUMIEN OPTIS™ imaging system) を使用した。取得画像はハードディスクにデジタル保存し、解析は off-line review work station (LightLab imaging/St. Jude Medical)にて行った。

撮像手技：冠状動脈にガイドワイヤーを先行させて冠状動脈の走行を確認した。血管壁の評価を十分に行うために、内腔の虚脱に対してはホルマリン液による加圧灌流を行った。この際に空気・血流停止後に形成された血栓を除去し、十分な視野を確保した。

疾患の表現形が全身にびまん性の変化をもたらすことからすべての冠動脈に汎発性の変化が見られる (homogeneous) との仮説から対象血管内における長軸の

観察と、その中の任意の 3 カ所の短軸像比較、さらに空間的に独立した 3 本の冠動脈の相同性を同様の方法で比較検討する。対照として同性の検体にて同じ観察を行った(Ctl.)。

(倫理面の配慮)

所属機関附属病院臨床研究倫理委員会において承認を得た。

C. 研究結果

主要冠動脈 3 枝にすべてに対し OCT を施行する事ができた。但し、剖検心の保存の状態(冠状断による保存)から大動脈分岐部から近位部の病変の観察が主体であった。回旋枝の 12mm の観察以外は中間部迄の観察が可能であった。右冠動脈は遠位側の後下降枝(#4PD)分岐部の確認が可能であった。

動脈硬化性変化：右冠動脈入口部にかけて右冠尖に石灰化の沈着を認めた。その他いずれの冠動脈内にも斑状の動脈硬化性変化は認められなかった。一方、Ctl. 症例では、いずれの部分も動脈硬化性変化を認めた。

対象血管内における heterogeneity: TGCV においては側枝を含む冠動脈の長軸像と、任意の 3 カ所におけるそれぞれの短軸像は、いずれも homogeneous に肥厚した内膜+中膜を認めた。これは側枝にも連続した変化であった。これは通常の動脈硬化性変化とは明らかに異なっている。

病変の空間的 heterogeneity: 3 本の冠動脈の構造的な相同性を比較したところ、TGCV においてはすべての血管の任意の短軸像が同様の変化を示した。すなわち、

非常に均一な変化が冠動脈全体に認められていた。

TGCV 症例における断層像の特徴：輝度の高い外膜・明瞭な弾性板(+中膜)と肥厚した内膜を認める。

D. 考察

代謝異常・蓄積疾患の特徴はその好発臓器はあるものの、全身臓器・組織に未分解物質の蓄積がみられる。今回我々は冠動脈のみを観察部位としたが、その仮説である空間的に homogeneous な変化を OCT 所見として捉える事が出来た。また全体的に肥厚した内膜を認めるものの巣状の動脈硬化性変化に乏しい冠動脈であり、対照症例との違いは著明であった。しかしこれはただ単に、年齢的な違いであった可能性は否定できない(検体は 30 歳代であり対照は 70 歳代)。一方、右冠動脈入口部に見られた石灰化はその場所から大動脈石灰化であるとの評価もできるが若年にしては早い変化であるとも考えられる。

OCT による断層像の評価では、輝度の高い外膜と全体的に肥厚した(内膜・中膜・弾性板)が特徴的であった。斑状の動脈硬化性変化を伴わない内膜+中膜肥厚を呈する冠動脈はこの疾患特異的であると言える。今後は、組織性状評価などの情報による変性平滑筋の輝度解析が今後望まれる。このような断層像の生体組織診断に加えて冠動脈全体に広がる同様の変化は、TGCV の診断基準を考えるうえできわめて重要である。また OCT を用いた診断法の確立は疾患スクリーニングのみならず、生体内において繰り返し施

行する事が可能であることから治療介入の効果判定を客観的に評価することが可能であり、今後の臨床応用が期待される。

E. 結論

OCT を用いた TGCV の特異的な形態学的所見を明らかにすることができた。その特徴は、斑状に形成される通常の動脈硬化性変化に拠らない内膜+中膜の肥厚で、これは空間的偏在を認めず汎発性に存在する。

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

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（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

糖尿病患者の心臓拡張機能に影響を与える因子の検討

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

研究要旨

インスリン抵抗性状態による高インスリン血症が、ATGL の発現低下・PKC 活性化を介して糖尿病心筋症の発症・進展に関与している可能性を検討するため、糖尿病患者の心臓拡張機能に影響を与える因子の検討をおこなった。教育入院患者にドプラ心エコーを施行し、拡張早期の僧房弁口血流速波高 (E)、僧帽弁輪運動速波高 (e') の比 (E/e') を計測し各因子との関連を分析した。E/e' は年齢・空腹時インスリン (IRI) と有意な正の相関を示した。目的変数を E/e'、説明変数を年齢・BMI・空腹時 IRI・HbA1c とした重回帰分析でも、年齢・空腹時 IRI と有意な関連を示した。以上の結果から、糖尿病患者において、高インスリン血症が心臓拡張機能障害の増悪因子である可能性が示唆された。

A. 研究目的

インスリン抵抗性状態における高インスリン血症が ATGL 発現低下・PKC 活性化を介して特発性中性脂肪蓄積心筋血管症の病因となっている可能性を検討するために、糖尿病患者において心臓拡張機能に影響を与える因子を検討した。

B. 研究方法

糖尿病教育入院患者にドプラ心エコーを施行し、拡張早期の僧房弁口血流速波高 (E)、僧帽弁輪運動速波高 (e') の比 (E/e') を計測し、性別・BMI・HbA1c・空腹時血糖・空腹時 IRI・総コレステロール・LDL・HDL・中性脂肪・クレアチニンクリアランス・尿中アルブミンとの関連を分散分析およびステップワイズ法を用いた重回帰分析をおこない検討した。

(倫理面の配慮)

本研究は、個人情報情報を完全に除いた検査データを二次利用するものであるため、倫理面の問題はないと判断した。

C. 研究結果

E/e' は年齢および空腹時 IRI と有意な正の相関を示した。目的変数を E/e'、説明変数を年齢・BMI・空腹時 IRI・HbA1c とした重回帰分析でも、年齢および空腹時 IRI と有意な関連を示した。

D. 考察

ATGL に異常を認めない特発性中性脂肪蓄積心筋血管症は糖尿病の長期罹患症例において認められることが知られている。我々はインスリン抵抗性モデル動物の高インスリン血症状態において ATGL

活性が低下しており心筋内の中性脂肪含量が増加していることを報告した。このことがさらに心機能低下と関連しているかについて今回検討をおこなった。心臓の拡張機能がインスリン濃度と正相関を示したことから、糖尿病心筋症が特発性中性脂肪蓄積心筋血管症と関連している可能性が示唆された。今後さらに詳細な検討をおこなっていく。

2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

E. 結論

相関係数分析・重回帰分析において、糖尿病患者の E/e'は、年齢・空腹時 IRI との有意な正の相関が示された。糖尿病患者における高インスリン血症が心臓拡張機能障害の増悪因子であ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

なし

2. 学会発表

糖尿病患者の心臓拡張機能に影響を与える因子の検討

井上智彰, 井口登與志, 小林邦久, 園田紀之, 前野彩香, 佐々木修二, 高柳涼一
第 52 回日本糖尿病学会九州地方会 (熊本 : 2014.10.31-11.1)

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患実用化研究事業）
分担研究報告書

剖検組織を用いた続発性 TGCV の探索

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。原発性 TGCV は ATGL の変異によって生じることが平野班長らによって明らかにされた。しかしながら、これまでの研究によって、ATGL が正常でありながらも TGCV 様のフェノタイプを呈する患者群も存在する可能性が示されている。冠動脈における TGCV を解析するためには、コレステロールと TG を区別して可視化することが必須であるが、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。そこで本研究では、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、ATGL 正常群の冠動脈を解析した。その結果、ATGL 正常群の一部で、血管平滑筋に TG が蓄積している群がいることを見出した。

A. 研究目的

TGCV の特徴は、心筋及び冠状動脈への TG の蓄積である。原発性 TGCV は ATGL の変異によって生じることが平野班長らによって明らかにされた。しかしながら、これまでの研究によって、ATGL が正常でありながらも TGCV 様のフェノタイプを呈する患者群も存在する可能性が示されている。本研究は質量顕微鏡法を用いて、ATGL 正常群の冠動脈における TGCV 様フェノタイプの病理像を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

冠動脈は国立循環器病センターから提供された。冠動脈の切片を作成した後、マトリックスとして

2,5-Dihydroxybenzoic acid を塗布し、LTQ-XL mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific) に供した。画像解析は ImageQuest software (Thermo Fisher Scientific) を用いた。

(倫理面の配慮)

本研究は、近畿大学農学部、国立循環器病センター、大阪大学医学部の倫理委員会の承認を受けた後に行った。

C. 研究結果

冠動脈中の TG とコレステロールエステルの分布が可視化された。コレステロールエステルは病変の中心部に存在しているのに対し、TG は辺縁部に存在していた。免疫染色によって TG の分布と一致

する細胞種を探索した結果、血管平滑筋の分布とよく一致することが分かった。

D. 考察

ATGL 正常群の冠動脈で観察された TG の分布は血管平滑筋の分布と一致していたことから、血管平滑筋内での TG 代謝に何らかの変動が起きていることが示唆された。TG 代謝変動が血管にどのような影響を与えるのかは不明であり、今後の研究が必要である。

E. 結論

ATGL 正常群の冠動脈における TG とコレステロールエステルの分布の違いを明らかにした。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

Ikeda, Y., Zaima, N., Hirano, K., Mano, M., Kobayashi, K., Yamada, S., Yamaguchi, S., Suzuki, A., Kanzaki, H., Hamasaki, T., Kotani, J., Kato, S., Nagasaka, H., Setou, M., Ishibashi-Ueda, H: Coronary triglyceride deposition in contemporary advanced diabetics.

Pathol Int. 64, 325-335, 2014

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

中性脂肪蓄積心筋血管症に対する中鎖脂肪酸を含有する医薬品の開発（診断機器：冠動脈）の研究

研究分担者 杉村宏一郎 東北大学大学院 助教

研究要旨

重症心不全を合併した中性脂肪蓄積心筋血管症（TGCV）に対し、従来の心不全治療に加え、中鎖脂肪酸含有オイルによる食事療法を行い、臨床経過を検討した。BNP1141pg/dl、LVEF22%と重症心不全を認め、右上肢にMMT4点、下肢にMMT4点の筋力の低下を認めたが、約2年の治療経過でBNP137pg/dlへ改善し、右上肢、下肢筋力もMMT5点へ改善を認め右上肢にMMT4点、下肢にMMT4点の筋力の低下を認めた。

A. 研究目的

Triglyceride deposit cardiomyovasculopathy (TGCV)は心筋障害を合併する稀な代謝性筋疾患である。極めて希少疾患であるがゆえに、診断法だけでなく治療法においても、確立されたものはない。しかし、心筋障害は極めて重症であり、予後の大きく関係していることから、その治療方法に確立が必要であることは明白である。以上から、実際の診療からTGCV症例の特徴、診断方法、治療方法の確立を目指した。

B. 研究方法

当院では2011年2月にTGCVと診断した60歳の男性の一例を、経過観察している。通常的心不全治療に加え、市販の中鎖脂肪酸含有オイルを使用した食事療法を加えることで、その効果を検討した。

（倫理面への配慮）

所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守し研究を遂行した。

C. 研究結果

症例は60歳の男性。2002年1月より拡張型心筋症と診断され、外来で加療を行っていた。クレアチンキナーゼの高値が持続するため、2010年11月に神経内科へ紹介したが、本人が精査を希望せず、経過を見ることとなった。その後は近医へ通院していたが、2011年より心不全急

性増悪を繰り返すようになった。本人の上肢筋力低下に対する精査の希望があり、2012年2月20日当院神経内科に入院したが、息切れの増悪と食欲低下があり、BNPも1411pg/dlと上昇したため、23日に心不全の急性増悪の診断で当科に転科となった。NYHA IV度、Swan-Ganzカテーテルでは肺動脈楔入圧27mmHgと上昇、心係数は1.6L/min/m²と著しい低下を認めた。また、左室駆出率（LVEF）は心臓超音波検査で22%と著しく低下していた。強心薬、利尿剤で開始を開始し、内服治療を加え、症状は軽快した。筋生検と心筋生検では、筋細胞内に脂肪滴の蓄積を認め、遺伝子検査ではATGL/triglyceride lipase酵素の遺伝子PNPLA2遺伝子に変異を認めたため、中性脂肪蓄積心筋血管症と診断した。現在はACE阻害薬、抗アルドステロン薬、β遮断薬の心不全治療に加え、中鎖脂肪酸含有オイルによる食事療法を開始、経過を診ている。LVEFは25%といまだに低値であるが、BNP137pg/dlと心不全は軽快傾向を示している。右上肢にMMT4点、下肢にMMT4点の筋力の低下は、いずれもMMT5点へ改善している。

D. 考察

TGCVは細胞内中性脂肪(TG)を加水分解する酵素：ATGLの欠損により、心筋細胞内に中性脂肪が蓄積すること、また、エネルギーとして利用できないことから心筋障害を来すことが知られ