

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

非 RI 基質を用いた脂肪組織リパーゼ（ATGL）活性測定系の確立に関する研究

研究分担者 吉田 博 学校法人慈恵大学東京慈恵会医科大学 医学部 教授  
（研究協力者 村野 武義 東邦大学 理学部 教授）

研究要旨

TGCV は我が国で見いだされた新規疾患概念であり、2009 年から厚生労働省難治性疾患関連事業として病態解析、診断法の開発が行われてきた。本研究班では、2020 年に TGCV 診断基準 2020、同重症度分類を策定して、全国レベルの診断体制の構築を行ってきた。本年度は、本疾患の指定難病化に向けて関係学会との協議を行った。その結果、一般社団法人 日本核医学会から学会承認が得られた。また分担者は協力者との共同で、脂肪組織リパーゼ（ATGL）の測定法について検討を進めているとともに、TGCV について 2001 年以降の過去の臨床研究の論文成績について精査を行なっている。

A. 研究目的

脂肪組織リパーゼ（ATGL）は、近年同定された新たなリパーゼであり、中性脂肪蓄積心筋血管症（TGCV）症例において ATGL 遺伝子異常を認めることが知られているが、ATGL の評価法については未だ確立されていない。今回は、既存のリポ蛋白リパーゼ（LPL）および肝性リパーゼ（HL）の非 RI 基質を用いた活性測定法を利用した ATGL 活性測定系の確立を目的とした。

B. 研究方法

材料としてレコンビナント ATGL 蛋白（Abnova 社）およびヒト白血球を用いた。ヒト白血球は EDTA-2Na 入り採血 10ml より、Polymorphprep（コスモバイオ）を用いて分画し、超音波処理したものを用いた。ATGL 活性測定は TritonX-100 で乳化した

Triolein を基質とし、一定時間反応後の反応液中遊離脂肪酸（FFA）濃度より算出する既存の LPL 活性測定系を元に、蛋白量、反応時間、添加物質などについて条件検討を行った。

（倫理面への配慮）

東邦大学医学部倫理委員会承認（A21070：中性脂肪蓄積心筋血管症の原因遺伝子解明に関する研究）

C. 研究結果

レコンビナント ATGL 蛋白を材料として、既存の LPL 活性測定系で反応させた場合では反応液中 FFA 濃度増加は認めなかったが、ATGL の補因子である CGI58 の添加により反応液中 FFA 濃度増加を認めた。この FFA 増加はレコンビナント ATGL とヒト白血球のいずれでも CGI58 の添加下で認められ、ATGL 濃度依存性に増加を認め、反応時間 1

～3 時間で反応時間依存性に増加を認めたことから、ATGL によるトリグリセリド (TG) 水解と考えられた。また本反応は LPL と同様に BSA 濃度 0～4% で濃度依存性に TG 水解が増加を認めた。

1. 特許取得  
該当せず
2. 実用新案登録  
該当せず
3. その他  
該当せず

#### D. 考察

今回の結果より、既存の LPL 活性測定系におけるアポ C II の代わりに CGI58 を添加することにより ATGL の TG 水解活性を検出できると考えられた。

ただし今回の測定系での ATGL の TG 水解は LPL と比べて低値傾向であり、基質条件も含めて最適な反応条件はなお検討の余地があると考えられた。

#### E. 結論

既存の LPL 活性測定系を改変することにより ATGL 活性測定系を構築できた。今後、血中での検出を目指して検討を進めていく。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

該当せず

##### 2. 学会発表

非RI基質を用いた脂肪組織リパーゼ (ATGL) 活性測定系の検討. 村野 武義, 立川 樹璃, 石原 典子, 石井 貴寛, 栗原 伊織, 鈴木 淳. 第69回日本臨床検査医学会学術集会, 2022/11/19, 国内, 口頭

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)