

200/0417

厚生科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

循環器疾患関連遺伝子の解明に関する研究

(H13-ゲノム-002)

平成 13 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山崎 力

平成 14 (2002) 年 3 月

# 目 次

<b>I. 総括研究報告</b>	
循環器疾患関連遺伝子の解明に関する研究 山崎 力	5
<b>II. 分担研究報告</b>	
1. 診断情報及びDNA試料の収集に関する研究 山崎 力	9
2. 臨床情報とゲノム情報との統合的解析に関する研究 永井良三	11
3. 遺伝子プロモーター領域の解析に関する研究 前村浩二	14
4. 疾患・薬効と遺伝子多型性との連関解析に関する研究 森田啓行	16
5. 臨床データファイリングに関する研究 林 同文	18
<b>III. 研究成果の刊行に関する一覧表</b>	21

# 総括研究報告書

循環器疾患関連遺伝子の解明に関する研究

主任研究者 山崎 力 東京大学大学院医学系研究科薬剤疫学講座 助教授

研究要旨

心筋梗塞、高血圧の発症・重症度及びその治療反応性を規定する遺伝子多型、変異を同定することを目的として、多彩な臨床情報収集と包括的遺伝子解析を行った。最初に心不全の重症度指標として知られるナトリウム利尿ホルモン（ANP、BNP）の、糖尿病合併狭心症患者の重症度指標としての役割を明らかにした。また、すでに血管リモデリングに代表される組織修復に寄与するMMP1、MMP3の遺伝子多型およびそのハプロタイプが心筋梗塞発症に関連する有用なマーカーであることを明らかにした。さらに動脈硬化との関連性が示唆される遺伝子の発現調節に直接関与するプロモーター領域の機能解析を行い、組織の虚血・低酸素に関連する因子および心筋梗塞発症に関連するPAI-1遺伝子の制御に関して、前者ではEPAS1、後者ではCLOCK、CLIFという転写因子が重要であることを明らかにした。一方、再狭窄病変などの動脈硬化性病変で発現しその病態を制御すると考えられる転写因子BTEB2/IKLF/KLF5の機能を、培養細胞を用いたアッセイ系と発症工学を駆使した遺伝子欠損マウス作成により明らかにした。

分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名

山崎 力

東京大学大学院医学系研究科薬剤疫学講座、助教授

永井 良三

東京大学大学院医学系研究科循環器内科学、教授

前村 浩二

東京大学大学院医学系研究科循環器内科学、医員

森田 啓行

東京大学大学院医学系研究科循環器内科学、助手

林 同文

東京大学大学院医学系研究科薬剤疫学講座、助手

A. 研究目的

臨床データの体系的なファイリングとゲノムサンプルの収集を平行して行い、以下の点を明らかにする。

(1) 心血管病の発症および重症度と強く関連する遺伝子マーカーを同定する。単独では疾患発症につながらないような軽微な遺伝子異常も、複数が積み重なることにより発症素因を構成する。心血管病の多くは遺伝子上の一塩基の違い、すなわち一塩基多型(SNP)に起因すると考えられる。複数の遺伝子マーカーの解析を組み合わせることにより、原因不明の心血管病の発症機序を遺伝子レベルで明らかにする。血管作動物質関連遺伝子を対象に、冠動脈硬化症、心不全、不整脈の遺伝子マーカーを同定する。遺伝子の発現量を規定するプロモーター領域の多型、受容体の細胞外ドメインや情報伝達カスケードをコードする遺伝子の多型に焦点を絞り解析を行う。

(2) 環境因子に対する感受性を規定する因子を割り出し、早期により強力な生活習慣の是正をおこなうべき症例の峻別を可能にする。喫煙や肥満などの生活習慣が心血管病発症に与える影響と上記遺伝子

の多型性との関係を明らかにする。加えて動脈硬化との関連が注目される活性酸素産生系、酸化ストレス除去系の遺伝子も解析対象とする。

(3) 薬剤に対する応答性とSNPとの関連を解析し、個々の症例に対する薬剤選択の原則を確立する。

(4) 疾患との関連が明らかとなったSNPの機能を明らかにするため、対応する動物モデル作成、変異遺伝子導入による細胞レベルでの検討を行う。これらの系を応用することで薬剤の効果と安全性の予測や新しい治療薬の開発が可能となる。

我々は予備的検討において、欧米と本邦では遺伝的背景に大きな違いがあることを確認しているが、血管特性にも人種差があることが知られ、疾患の発症率にも影響をおよぼしていると推定される。したがって、欧米での検討結果をそのまま本邦での医療に適用することはできず、本邦独自の解析システムを立ち上げる必要がある。循環器疾患は適切な生活指導、薬剤投与により予防することができる。すなわち、環境因子、薬剤に対する反応性が予め検出できれば効果的な予防策が展開可能になる。画一的な生活指導や薬剤処方では患者のQOLを損なうのみならず、医療経済上も大きな損失であり、個々人の遺伝的背景を考慮した最善の処方箋を提供するための基礎情報を提供する。

B. 研究方法

東京大学循環器内科において心臓カテーテルを施行した全症例を対象として臨床データの網羅的なデータベース化を行う。また、同症例を対象に、東京大学医学部倫理委員会において申請、承認を受けたのち、倫理委員会にて承認された承諾書を使用して書面にて患者よりインフォームド・コンセントを得てDNA抽出を行い、冠動脈硬化・高血圧との関連性の示唆される数十の遺伝子のSNPについて解析を直接シーケンス法や日立製作所開発のBAMPER法に代表される新しい遺伝子解析システムを活用しつつ

解析を行う。さらに、臨床情報及び遺伝子情報のデータベースの統合を行い、種々の解析を行うための土台となるデータベースを構築する。

### C. 研究結果

山崎、林は、データベース化した臨床情報を解析した結果、本来心不全患者で血中濃度が上昇するマーカーとして知られるナトリウム利尿ホルモン (ANP, BNP) が、心機能低下のない狭心症患者群において、その病変枝数と正相関し、狭心症の重症度マーカーとなる可能性を見いだした。さらに、心血管疾患の危険因子として、糖尿病を合併している患者群においては特にその有意差は大きく、狭心症患者の非侵襲的検査としての意義を明らかにした。

永井は、PTCA治療の最も大きな障壁である再狭窄の有無に関連した遺伝子多型に関して、PTCA施行部位の性状およびPTCAの使用デバイス等を考慮しつつ検討を行っているが、このような再狭窄の分子メカニズムとして、血管平滑筋の脱分化、活性化が重要であることが以前より指摘されており、これにはZnフィンガー型転写因子BTEB2/IKLF/KLF5が重要であることをこれまでに明らかにしている。そこでこの転写因子について培養細胞系を使用した機能的解析を行い、転写因子BTEB2/IKLF/KLF5が、血管平滑筋の増殖および脱分化に関連したSMembおよびPDGF-A遺伝子のプロモーターを容量依存的に活性化することを明らかにした。

前村は、動脈硬化との関連性が示唆される遺伝子の発現調節に直接関与するプロモーター領域の機能的解析を行い、組織の虚血・低酸素に関連する遺伝子群および心筋梗塞発症に関連するPAI-1遺伝子の制御に関して、前者ではEPAS1、後者ではCLOCK、CLIFという転写因子が重要であることを明らかにした。

森田は、動脈硬化に代表される血管のリモデリングの病態に深く関与するマトリクスメタロプロテナーゼ(MMP)の遺伝子多型に関して心筋梗塞発症との有意相関を見いだした。各々の転写活性に関与するMMP-1プロモーター領域-1607 1G/2G多型、MMP-3プロモーター領域-1171 5A/6A多型には互いに強い連鎖不平衡を認め、MMP3の5AアレルおよびMMP1 1G-MMP3 5Aハプロタイプを保有することが、有意に心筋梗塞発症のリスク因子となることを明らかとした。

### D. 考察

国内外で遺伝子多型の検討が多く施行されているが充実した臨床症例を元にした臨床的検討と、発生工学および遺伝子転写調節機構といった基礎的検討が同一施設内で行える機関は国内外を問わず、非常に稀少であり、これらの一貫した研究方法を推進することにより、心筋梗塞、高血圧の発症および重症度およびその治療に対する反応性および副作用を規定する遺伝子多型の同定とその実地臨床での実用化が可能になると考える。

### E. 結論

臨床情報とゲノム情報の統合的解析により、冠動脈形成術施行後の再狭窄病変形成に関連する遺伝子多型の探索を進めている。平行してその再狭窄病変形成に関わる転写因子BTEB2/IKLF/KLF5がマスター遺伝子の一つとして作用することを細胞工学および発生工学の手法を駆使して明らかにした。また、MMP1、MMP3の遺伝子多型およびそのハプロタイプが心筋梗塞発症に関連する有用なマーカーであることを明らかにした。さらに、心筋梗塞発症に関連するPAI-1遺伝子の制御に、CLOCK、CLIFという転写因子が深く関与していることを示した。今後、本データベース・データマイニングシステムを発展させ、さらに、外来通院の臨床データベースおよび遺伝子解析の結果を統合させ、疾患発症・予後あるいは投薬を含めた診療行為との関連性が示唆される遺伝子多型を解析することで、個々人の遺伝的背景を考慮した最も効果的かつ経済的な治療方法を見いだすことが期待される。

### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

### G. 研究発表

1. 論文発表  
分担報告書参照

2. 学会発表  
分担報告書参照

### 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

# 分 担 研 究 報 告

診療情報及びDNA試料の収集に関する研究

分担研究者 山崎 力 東京大学大学院医学系研究科薬剤疫学講座 助教授

研究要旨

我が国の医療において、外来通院による国民の生活の質 (QOL: Quality of Life) の向上が急務とされ、外来における医療行為は非常に重要な役割を担う。今回実施している外来情報の電子化システムの導入で、今まで手作業に近い人的労力によって行われてきたデータ管理がより正確かつ簡便に行うことができるようになり、我が国の臨床試験の進行を遅々とさせる原因のいくつかを根底から解決させることが可能である。特にQOLを評価項目とした医学研究は、実際の医療においては最も重要な項目であるにもかかわらず、その取得・保持が極めて困難であったが、本研究の推進によって、これらの正確なデータ管理によって大きく前進する可能性を持つ。さらに余分な医療費を削減する根拠を生み出すことから医療経済にも好影響を及ぼすことが期待される。

A. 研究目的

我が国の医療において、外来通院による医療行為は非常に重要な位置を占めている。例えば、高血圧や糖尿病、高脂血症といった、いわゆる生活習慣病の患者は日本だけでも数千万人以上に達し、脳心血管系疾患の発症や予後を規定する危険因子であることが証明され、今後さらに長期観察を必要とする慢性疾患として増加することが予想される。また高齢社会に基づく長期入院患者の増加による医療経済的な問題もあり、外来通院による国民の生活の質 (QOL: Quality of Life) の向上も急務とされ、外来における医療行為は非常に重要な役割を担う。本分担研究として、外来患者の診療情報をデータベース化することにより、新しいデータマネジメントシステムを構築して臨床研究に導入することで、これまで評価が困難であるとされた患者のQOLの向上、安全および利益（有効な治療）へつなげ、さらにゲノム解析結果との統合により、個人単位での医療提供へ貢献することを目的とする。

B/C. 研究方法・研究結果

データマネジメントとは、臨床試験の倫理性、科学性、信頼性を確保するための、データ収集・保管・修正など品質管理・品質保証に関連する一連のシステムおよび作業全体を指す。本分担研究者は既に日々の診療経過を管理する外来患者の診療データベースを構築し、膨大な患者データをリアルタイムに電子化し、さらに月に一二度の診療時のデータだけでなく、毎日のデータを蓄積したデータベース及びデータマイニングシステムの構築を行ってきた。このシステムをさらに発展させ、月一度の外来受診時だけでなく、一般家庭にも浸透している家庭血圧計や血糖測定機器等を利用した毎日の生活記録を管理するデータベース及びデータマイニングシステムを構築する。このシステムの完成によって、様々な点で実施が困難であった大規模臨床研究の代用が可能となり、我が国独自のデータがリアルタイムに蓄積され、時代の流れに左右されることなく、その正

確かつ膨大な臨床データを常時提供することが可能となる。この新しい電子化システムの導入で、今まで手作業に近い人的労力によって行われてきたデータ管理がより正確かつ簡便に行うことができるようになり、我が国の臨床試験の進行を遅々とさせる原因のいくつかを根底から解決させることが可能である。特にQOLを評価項目とした医学研究は、実際の医療においては最も重要な項目であるにもかかわらず、その取得・保持が極めて困難であったが、本研究の推進によって、これらの正確なデータ管理によって大きく前進する可能性を持つ。さらに余分な医療費を削減する根拠を生み出すことから医療経済にも好影響を及ぼすことが期待される。

今後、IT技術を全面的に採用したデータマネジメントシステムの構築は、全国規模で展開される疫学調査の観察研究、ランダム化介入試験において、科学性、信頼性の面から確実に導入されるべきものであり、本研究は、様々な実践への発展性を十分に備えた、将来性の高い研究と考えられる。また、倫理面からも、患者のプライバシーや権利の問題といった個人情報保護基本法に則った基盤整備にも貢献しうるものである。さらに今まで困難であった患者のQOLの把握だけでなく、我が国独自の診療ガイドライン作成に貢献できる臨床試験、つまりEBMの基盤となる情報の提供、最終的には、患者のQOLの向上、安全および利益（すなわち有効な治療）につながる可能性を持つ。

D/E. 考察・結論

世界規模での情報交換が可能となった近年の情報化社会は、Information Technology (IT)を駆使した産業が各分野で席卷している。医学領域においても例に漏れず、基礎医学領域では、国家政策の一貫としてヒトゲノムの解読が終了し、ポストシーケンズのゲノム及び蛋白研究が現在注目されている。また臨床医学領域では、権威者や専門家の個人的意見や経験から行われる医療 (OBM: Option-Based Medicine) から、根拠に基づいた医療 (EBM: Evidence-Based

Medicine) へのパラダイムシフトが唱えられ、臨床研究の重要性が一層増してきた。しかし、本来ならば基礎研究以上に適応可能なはずの臨床データ管理へのIT技術の活用は、臨床研究に付随する個人情報の保護・管理の重要性が他領域以上に重要であることから、その推進に対して過度に慎重となり進展が立ち遅れていることは否定できない。

本研究の最終目標は、外来診療データを効率的に集積し、個々人の診療に反映させる、すなわち、画一的な生活指導や薬剤投与を避け、個人に最良の医療を与えることである。特に国民の多くが罹患する高血圧を含めた循環器疾患、および糖尿病といった生活習慣病に着目し、それらの疾患を有する症例の外来データ管理システムを構築する。まずは東京大学医学部附属病院内で導入し、さらに関連する医療機関に普及させることで、医療情報の共有化とそこから得られるエビデンスをもとに新たな医療指針を構築することも可能となる。すでに入院患者における臨床情報管理システムは構築されており、このシステムとの統合により、臨床情報はさらに豊富な内容が蓄積され、解析対象も大幅に広がる。特に解析や評価が困難とされる患者 QOL の検証に対しては画期的なシステムとなる可能性を持つ。

#### F.健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

Yamazaki T., Suzuki T, Yamamoto K. Correspondence  
Vaccinating Japanese Schoolchildren Against Influenza  
New Engl J Med 2001; 344; 1947

Zou Y., Nagai R., Yamazaki T. Urotensin II induces  
hypertrophic responses in cultured cardiomyocytes from  
neonatal rats FEBS Lett. 2001; 508; 57-60

Suzuki T., Yamazaki T. Clinical trials report Current  
Cardiology Reports 2002; January; 11-12

#### 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



### 研究要旨

心筋梗塞、高血圧の発症・重症度およびその治療反応性を規定する遺伝子多型、変異を同定することを目的とし包括的な遺伝子解析と臨床情報収集を行った。特に動脈硬化性病変の治療反応性の検討課題として冠動脈形成術後の再狭窄に着目し、再狭窄のリスクとなる遺伝子多型・変異の検討を現在施行している。それと平行し、再狭窄病変などの動脈硬化性病変で発現しその病態を制御すると考えられる転写因子BTEB2/IKLF/KLF5の機能を培養細胞を用いたアッセイ系と発生工学を駆使した遺伝子欠損マウス作成により明らかにした。今後、再狭窄を規定する遺伝子群の解析を進め、治療効果の予知とそれら遺伝子を標的とした治療学の推進が期待される。

### A.研究目的

本研究において、我々は生活習慣病のひとつである心筋梗塞、高血圧の発症および重症度およびその治療に対する反応性および副作用を規定する遺伝子多型、変異、発現を同定し、その実地臨床における実用化を企図している。背景として我々はすでに失神発作や致死的不整脈を引き起こす家族性QT延長症候群の遺伝子解析を全国の家系調査とDNA収集をもとに施行し、これまでに30種類の遺伝子変異を同定している。また遺伝子変異による薬剤反応性の相違として、KVLQT1遺伝子異常では $\beta$ 遮断薬が有効（レスポンド）であるのに対し、HERG遺伝子異常では無効（ノンレスポンド）であることを明らかにした。またこのような遺伝子多型・変異解析と平行して、血管細胞、とくに血管平滑筋細胞が物理的・化学的ストレスを受けた際に活性化される機序を転写因子レベルで解明してきた。特に血管病変で発現する転写因子BTEB2/IKLF/KLF5が重要であることをin vitro 及びin vivoにおけるアッセイ系を使用して明らかにしてきた。本研究においては、東京大学医学部附属病院循環器内科において包括的な臨床情報収集を行うとともにゲノムの遺伝子変異・多型解析を行い、その間の相関性について検討する。平行して培養細胞系を使用した各遺伝子の機能的解析、および発生工学の手法を駆使した遺伝子改変マウスの作成による遺伝子機能の解析を行うことを目的とした。

### B.研究方法

東京大学循環器内科において心臓カテーテルを施行した全症例を対象として臨床データを網羅的にデータベース化を行った。遺伝子解析に関しては、共同研究者である森田らが冠動脈硬化・高血圧との関連性の示唆される遺伝子のSNPについて解析を施行しており、それらを臨床データベースと統合的に相関性を検討し、単に冠動脈疾患発症との関連性を検討するのみならず、予後および治療反応性を規定する遺伝子マーカーの同定を試みる。また平行して、培養細胞系、および発生工学の手法を駆使して作成した遺伝子改変マウスを使用し、その遺伝子機能の解析を施行することにした。

### C.研究結果

冠動脈疾患の治療としては、経皮的経管的冠動脈形成術(PTCA)が本邦においてはもう一つの治療手段である心臓バイパス手術の5-7倍を占め、最も汎用的な治療手段となっている。しかしながら本治療では長足の技術革新にも関わらず依然として再狭窄という問題が3割以上の症例に認められ、未解決のまま残されている。本研究のデータベースに登録された症例のうちPTCA施行症例が約400例近くに達し、この治療の最も大きな障壁である再狭窄の有無に関連した遺伝子多型に関して、PTCA施行部位の性状およびPTCAの使用デバイス等を考慮しつつ検討を行っている。またこのような再狭窄の分子メカニズムとして、血管平滑筋の脱分化、活性化が重要であることが以前より指摘されており、これにはZnフィンガー型転写因子BTEB2/IKLF/KLF5が重要である。そこで我々はこの転写因子について培養細胞系を使用した機能的解析を行い、転写因子BTEB2/IKLF/KLF5が血管平滑筋の増殖および脱分化に関連したSMembおよびPDGF-A遺伝子のプロモーターを容量依存的に活性化することが明らかとなった。実際の冠動脈形成術後の再狭窄病変について検討しても、この転写因子およびこの転写因子により発現が上昇するSMemb, PDGF-Aが強く発現が認められることから、この遺伝子の機能解析を進めることにより、血管再狭窄に対する新たな治療戦略の構築および予後予測が可能になることが期待される。またこの遺伝子ノックアウトマウスの樹立に最近成功し、このマウスがホモ致死であること、また種々の心血管障害モデルに対して、ヘテロマウスでは野生型マウスに比較して組織修復反応が微弱であることが確認された。一例として血管障害モデルにおける新生内膜形成は明らかに遺伝子発現が抑制されたヘテロマウスで野生型と比較して強く、このことは細胞レベルでの検討結果に対応するものであった。

### D.考察

国内外で遺伝子多型の検討が多く施行されているが充実した臨床症例を元にした臨床的検討と、発生工学および遺伝子転写調節機構といった基礎的検討が同一施設内で行える機関は国内外を問わず、非常に稀少であり、これらの一貫した研究方法を推進す

ることにより、心筋梗塞、高血圧の発症および重症度およびその治療に対する反応性および副作用を規定する遺伝子多型の同定とその実地臨床での実用化が可能になると考える。

#### E. 結論

我々が行っている臨床事象とゲノム情報の統合的解析により、現在冠動脈形成術施行後の再狭窄病変形成に関連する遺伝子多型の探索を進めている。平行してその再狭窄病変形成に関わる転写因子 BTEB2/IKLF/KLF5がマスター遺伝子の一つとして作用することを細胞工学および発生工学の手法を駆使して明らかにしており、遺伝子多型と関連づけを行いながら実地臨床への応用を今後検討する必要がある。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kanai H, Tanaka T, Aihara Y, Takeda S, Kawabata M, Miyazono K, Nagai R, Kurabayashi M. Transforming growth factor- $\beta$ /Smads signaling induces transcription of the cell type-restricted ankyrin repeat protein CARP gene through CAGA motif in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2001; 88: 30-36

Sekiguchi K, Kurabayashi M, Oyama Y, Aihara Y, Tanaka T, Sakamoto H, Hoshino Y, Kanda T, Yokoyama T, Shimomura Y, Iijima H, Ohyama Y, Nagai R.

Homeobox protein hex induces SMemb/Nonmuscle myosin heavy chain-B gene expression through the cAMP-responsive element. *Circ Res* 2001; 88: 52-58

Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Saubermann LJ, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsushashi N. Endogenous PPAR $\gamma$  Mediates Anti-inflammatory Activity in Murine Ischemia-Reperfusion Injury. *Gastroenterology* 2001; 120: 460-469

Aizawa T, Ishizaka N, Kurokawa K, Nagai R, Nakajima H, Taguchi JI, Ohno M. Different effects of angiotensin II and catecholamine on renal cell apoptosis and proliferation in rats. *Kidney Int* 2001; 59: 645-653

Itoh T, Kikuchi K, Odagawa Y, Takata S, Yano K, Okada S, Haneda N, Ogawa S, Nakano O, Kawahara Y, Kasai H, Nakayama T, Fukutomi T, Sakurada H, Shimizu A, Yazaki Y, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T. Correlation of genetic etiology with response to  $\beta$ -adrenergic blockade among symptomatic patients with familial long-QT syndrome. *J Hum Genet* 2001; 46: 38-40

Ogata T, Nagai R, Kurabayashi M, Hoshino Y, Sekiguchi K, Kowase K, Akuzawa A, Ishikawa S, Takeyoshi I, Morishita Y. Inducible expression of basic transcription factor binding protein 2 plays a potential role in the development of the allograft vascular disease. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 228

Miki H, Yamauchi T, Suzuki R, Komeda K, Tsuchida A, Kubota N, Terauchi Y, Kamon J, Kaburagi Y, Matsui J, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Tobe K, Kadowaki T. Essential Role of Insulin Receptor Substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 in Adipocyte Differentiation. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2521-2532

Uozumi H, Hiroi Y, Zou Y, Takimoto E, Toko H, Niu P, Shimoyama M, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I. gp130 Plays a Critical Role in Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophy. *J Biol Chem* 2001; 276: 23115-23119

Saiura A, Sata M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M. Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis. *Nat Med* 2001; 7: 382-383

Itoh T, Kikuchi K, Odagawa Y, Takata S, Yano K, Okada S, Haneda N, Ogawa S, Nakano O, Kawahara Y, Kasai H, Nakayama T, Fukutomi T, Sakurada H, Shimizu A, Yazaki Y, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T. Correlation of genetic etiology with response to  $\beta$ -adrenergic blockade among symptomatic patients with familial long-QT syndrome. *J Hum Genet* 2001; 46: 38-40

Iwasa H, Kurabayashi M, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T. Multiple single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the Japanese population in six candidate genes for long QT syndrome. *J Hum Genet* 2001; 46: 158-162

Monzen K, Hiroi Y, Kudoh S, Akazawa H, Oka T, Takimoto E, Hayashi D, Hosoda T, Kawabata M, Miyazono K, Ishii S, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I. Smads, TAK1, and their common target ATF-2 play a critical role in cardiomyocyte differentiation. *J Cell Biol* 2001; 153: 687-698

Iwasa H, Kurabayashi M, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T. Genetic variations in five genes involved in the excitement of cardiomyocytes. *J Hum Genet* 2001; 46: 549-552

Hiori Y, Kudoh S, Monzen K, Ikeda Y, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I. Tbx5 associates with Nkx2-5 and synergistically promotes cardiomyocyte differentiation. *Nature Genetics* 2001; 28: 276-280

Watanabe A, Kurabayashi M, Arai M, Sekiguchi K, Nagai R. Combined effect of retinoic acid basic FGF on PAI-1 gene expression in vascular smooth muscle cells. *Cardiovascular Research* 2001; 51: 151-159

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature Medicine* 2001; 7: 941-946

Yamagishi T, Saito Y, Nakamura T, Takeda S, Kanai H, Suminò H, Kuro-o M, Nabeshima Y, Kurabayashi M, Nagai R. Troglitazone Improves Endothelial Function and Augments Renal klotho mRNA Expression in Otsuka

Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats with Multiple Atherogenic Risk Factors. *Hyperteinsion Research* 2001; 24: 705-709

Sata M, Sugiura S, Yoshizumi M, Ouchi Y, Hirata Y, Nagai R. Acute and Chronic Smooth Muscle Cell Apoptosis After Mechanical Vascular Injury Can Occur Independently of the Fas-Death Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1733-1737:585-591

Oyama Y, Akuzawa N, Nagai R, Kurabayashi M. PPARgamma ligand inhibits osteopontin gene expression through interference with binding of nuclear factors to A/T-rich sequence in THP-1 cells. *Circ Res.* 2002;90:348-55.

Nagai R, Suzuki T, Aizawa K, Miyamoto S, Amaki T, Kawai-Kowase K, Sekiguchi KI, Kurabayashi M. Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells: dissection of transcriptional regulatory mechanisms. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;947:56-66.

Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Kimura S, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes.* 2002;51:536-40.

Watanabe A, Kanai H, Arai M, Sekiguchi K, Uchiyama T, Nagai R, Kurabayashi M. Retinoids Induce the PAI-1 Gene Expression Through Tyrosine Kinase-Dependent Pathways in Vascular Smooth Muscle Cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2002;39:503-12.

Yamauchi T, Oike Y, Kamon J, Waki H, Komeda K, Tsuchida A, Date Y, Li MX, Miki H, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Saheki T, Nakazato M, Naitoh T, Yamamura K, Kadowaki T. Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in Crebbp heterozygous mice. *Nat Genet.* 2002 ;30:221-6.

## 2.学会発表

10th International Congress on Cardiovascular Pharmacotherapy

(第10回心臓血管薬物療法国際会議)

(Kyoto:) 2001.3.30

Nagai R. Smooth muscle cell activation: Dissection of molecular and cellular mechanisms.

The 6th Saratoga International Conference on Atherosclerosis

(第6回サラトガ国際動脈硬化カンファレンス)

(Tokyo:) 2001.4.4

Nagai R. Smooth muscle phenotypic modulation; dissection of transcriptional regulatory mechanisms.

Japan

XVII ISHR World Congress of the International Society for Heart Research

(Canada: 2001/7/6-11)

Nagai R. Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cell: Dissection of transcriptional regulatory mechanism]

9th Australian Vascular Biology Society (AVBS) Meeting,

(Australia 2001/8/30-9/2)

Nagai R. Role of IKLF/BTEB2 in transcriptional regulation of smooth muscle phenotypic modulation.

Nagai R. Contribution of bone-marrow derived cells to neointimal formation of coronary artery in transplanted heart.

22th Fall Scientific Conference

(Korea: 2001/9/14~15)

Nagai R. Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cell: Dissection of transcriptional regulatory mechanisms

Genomics and Phenomics of Vasculitis and Atherosclerosis

(Urayasu :2001/12/3-5)

Nagai R. BTEB2/IKLF, a transcription factor involved in phenotypic modulation of vascular smooth muscle cell, mediates both cardiac and vascular remodeling.

H.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

- 1.特許取得 特になし
- 2.実用新案登録 特になし
- 3.その他 特になし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書  
遺伝子プロモーター領域の解析に関する研究

分担研究者 前村 浩二 東京大学大学院医学系研究科循環器内科学 助手

研究要旨

動脈硬化との関連性が示唆される遺伝子の特にその発現調節に直接関与するプロモーター領域の機能解析を行った。特に組織の虚血・低酸素に関連する遺伝子群および心筋梗塞発症に関連するPAI-1遺伝子の制御に関して、前者ではEPAS1、後者ではCLOCK, CLIFという転写因子が重要であることを明らかにした。今後これらの遺伝子のプロモーター領域の遺伝子多型解析を平行して行うことで、疾患感受性遺伝子マーカーの同定と病態メカニズムの解明に大いに寄与することが期待される。

A.研究目的

本研究において、我々は生活習慣病のひとつである心筋梗塞、高血圧などに関連する遺伝子多型、変異、発現をプローブによって検出する遺伝子診断法の開発・実用化を目指し包括的な臨床情報のファイリングシステムの構築と平行し、遺伝子多型解析および遺伝子機能解析を施行している。遺伝子の多型性については特に遺伝子そのものをコードしているエクソン領域と遺伝子発現を制御するプロモーター多型が特に疾患との関連性を議論する上で重要であると考えられており、後者のプロモーター領域の機能解析およびその制御を行う転写因子について検討し、病態形成のメカニズム解明とそのプロモーター機能に関連した遺伝子マーカーの検出を目標とした。

B.研究方法

特に動脈硬化との関連性が示唆される因子の遺伝子プロモーター、すなわち増殖因子受容体（PDGF $\alpha$ 受容体、PDGF $\beta$ 受容体、FGF受容体、VEGF受容体であるFlt-1ならびにKDRなど）、凝固系因子（tissue factor）、接着因子（ICAM、VCAMなど）、増殖因子を活性化される転写因子（Egr-1、BTEB2/IKLF/KLF5など）のプロモーター領域に着目し、その転写活性の機能解析とそれを制御する転写因子について同定、解析を行なう。またそれらの領域の遺伝子多型をあらたに同定し、先述の転写調節機構との関連性についても併せて検討を行うこととした。

C.結果

動脈硬化の進展に伴って組織の灌流不全が生じる結果、虚血・低酸素という病態が生じる。そのような虚血・低酸素状態において、VEGF、エリスロポエチンや解糖系酵素などの発現を誘導しマスター遺伝子となることが知られている転写因子HIF-1およびEPAS1が着目される。特にこの後者のEPAS1は内皮細胞に比較的限局し発現する転写因子であり、VEGF、エリスロポエチンなどの転写制御に寄与し、低酸素下でVEGFおよびそれらの受容体の遺伝子発現を活性化すること、また活性化ドメインを欠失させたtruncated EPAS1がdominant negativeに作用し

てEPAS1およびHIF1の血管新生促進作用を抑制することを明らかにした。また、心筋梗塞発症のメカニズムの一つとして血栓形成が重要であり、それに寄与する因子の一つとしてPAI-1が知られるが、この遺伝子発現には日内変動があり、明け方においてヒトでは発現が上昇する。このことはヒトでは心筋梗塞の発症率が明け方に多いことに関連すると考えられる。このPAI-1の遺伝子発現制御に、時計遺伝子でありかつ転写因子であるCLOCKとCLIF/BMAL2が関与していることを明らかにした。現在、血管新生因子であるVEGFおよびその受容体、およびPAI-1などの遺伝子のプロモーターに特に着目し新しい遺伝子多型の同定とその領域の機能解析を平行して進めている。

D.考察

包括的な臨床情報・遺伝子情報の統合的解析と平行して、プロモーターの機能解析を行うことにより、遺伝子としての多型性の有する機能的側面が明らかになるとともに、動脈硬化に代表される心血管疾患の病態解明と新しい治療への応用へ発展する可能性があると考えられる。

E.結論

動脈硬化との関連性が示唆される因子の遺伝子プロモーターで特に組織の虚血・低酸素に関連する因子および心筋梗塞発症に関連するPAI-1遺伝子の制御に関わる転写因子についての機能解析を行った。今後、これらの遺伝子に新規の遺伝子多型を明らかにし、疾患の発症との関連性について分子メカニズムを交えながら解析することにより、機能的な疾患感受性遺伝子が同定され、平行して病態発症のメカニズムの解明がもたらされることが期待される。

F.健康危険情報

特記すべきことなし

G.研究発表

1.論文発表

1. Layne MD, Yet SF, Maemura K, Hsieh CM, Ith B, Lee ME, Perrella MA. Transcriptional regulation of the mouse gene encoding aortic carboxypeptidase-like protein

in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* In press.

2. Shindo T, Kurihara H, Maemura K, Kurihara Y, Ueda O, Suzuki H, Kuwaki T, Ju K-H, Wang Y, Ebihara A, Nishimatsu H, Moriyama N, Fukuda M, Akimoto Y, Hirano H, Morita H, Kumada M, Yazaki Y, Nagai R, Kimura K. Renal damage and salt-dependent hypertension in aged transgenic mice overexpressing endothelin-1. *J. Mol. Med.* In press.

3. Imai Y, Shindo T, Maemura K, Kurihara Y, Nagai R, Kurihara H. Evidence for the physiological and pathological roles of adrenomedullin from genetic engineering in mice. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 947:26-33.

4. Maemura K, Layne MD, Watanabe M, Perrella MA, Nagai R, Lee ME. Molecular Mechanisms of Morning Onset of Myocardial Infarction. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 947:398-402.

5. Yet SF, Tian R, Layne MD, Wang ZY, Maemura K, Solovyeva M, Ith B, Melo LG, Zhang L, Ingwall JS, Dzau VJ, Lee ME, Perrella MA. Cardiac-Specific Expression of Heme Oxygenase-1 Protects Against Ischemia and Reperfusion Injury in Transgenic Mice. *Circ Res.* 2001;89:168-173.

6. Layne MD, Yet SF, Maemura K, Hsieh CM, Bernfield M, Perrella MA, Lee ME. Impaired abdominal wall development and deficient wound healing in mice lacking aortic carboxypeptidase-like protein. *Mol Cell Biol.* 2001;21:5256-5261.

7. Wiesel P, Patel AP, Carvajal IM, Wang ZY, Pellacani A, Maemura K, DiFonzo N, Rennke HG, Layne MD, Yet SF, Lee ME, Perrella MA. Exacerbation of chronic renovascular hypertension and acute renal failure in heme oxygenase-1-deficient mice. *Circ Res.* 2001;88:1088-1094.

8. Fukumoto S, Hsieh CM, Maemura K, Layne MD, Yet SF, Lee KH, Matsui T, Rosenzweig A, Taylor WG, Rubin JS, Perrella MA, Lee ME. Akt Participation in the Wnt Signaling Pathway through Dishevelled. *J Biol Chem.* 2001;276:17479-17483.

## 2.学会発表

Scientific Sessions 2001 of the American Heart Association (Anaheim, 2001/11/11-14)

Koji Maemura, Hiroyuki Morita, Masafumi Watanabe, Matthew D. Layne, Mark A. Perrella, Mu-En Lee. Peripheral clock regulates circadian gene expression in vascular endothelial cells.

The 6th Saratoga International Conference on Atherosclerosis (Tokyo: 2001/4/3-6)

Koji Maemura, Matthew D. Layne, Masafumi Watanabe, Mark A. Perrella, Ryozo Nagai. Molecular mechanisms of morning onset of myocardial infarction.

第65回日本循環器学会 (京都、2001/3/25-27)

1. Koji Maemura, Masafumi Watanabe, Yasushi Imai, Hiroyuki Morita, Ryozo Nagai. Molecular mechanisms of morning onset of myocardial infarction.

2. Koji Maemura, Masafumi Watanabe, Yasushi Imai, Hiroyuki Morita, Takayuki Shindo, Ryozo Nagai. Novel approaches to therapeutic angiogenesis and inhibition of pathological angiogenesis.

3. Koji Maemura, Masafumi Watanabe, Yasushi Imai, Hiroyuki Morita, Ryozo Nagai. CLIF, a novel basic helix-loop-helix/PAS protein plays an important role in hypoxic response and regulation of circadian rhythm.

第33回日本動脈硬化学会 (東京、2001/6/7-8)

前村浩二、永井良三：心筋梗塞発症日内変動の分子メカニズム

H.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1.特許取得 特になし

2.実用新案登録 特になし

3.そのほか 特になし

疾患・薬効と遺伝子多型性との関連解析に関する研究  
分担研究者 森田啓行 東京大学大学院医学系研究科循環器内科学 助手

#### 研究要旨

心筋梗塞、高血圧の発症・重症度およびその治療反応性を規定する遺伝子多型、変異を同定することを目的とし数十の動脈硬化関連遺伝子群の多型解析をハイスループットなアッセイ系を活用しつつ施行している。すでに血管リモデリングに代表される組織修復に寄与するMMP1、MMP3の遺伝子多型およびそのハプロタイプが心筋梗塞発症に関連する有用なマーカーであることを明らかにした。今後、この研究を推進することによりさらに有用な疾患感受性、治療反応性を規定する遺伝子マーカーの同定が可能となると考えられる。

#### A.研究目的

本研究において、我々は生活習慣病のひとつである心筋梗塞、高血圧の発症および重症度およびその治療に対する反応性および副作用を規定する遺伝子多型、変異、発現を同定し、その実地臨床における実用化を企図している。我々はすでに本邦症例を対象にホモシステイン代謝関連酵素MTHFRの遺伝子多型解析を行い、ホモシステインと動脈硬化性疾患との関連性および補酵素である葉酸に対する感受性の相違について解明した実績があるが、とくに多因子疾患である冠動脈疾患の環境因子感受性を規定する遺伝要因の同定という観点から遺伝子解析を行い、有用な遺伝子多型性を同定するとともに、循環器疾患に使用される薬剤に対する治療感受性に関しても合わせて関連性を明らかにすることを目的とした。

#### B.研究方法

東京大学循環器内科において心臓カテーテルを施行した症例を対象に、東京大学医学部倫理委員会において申請、承認を受けたのち、倫理委員会にて承認された承諾書を使用して書面にて患者よりインフォームドコンセントを得てDNA抽出を行い、冠動脈硬化・高血圧との関連性の示唆される数十の遺伝子のSNPについて解析を直接シーケンス法や日立製作所開発のBAMPER法に代表される新しい遺伝子解析システムを活用しつつ解析を行った。また共同研究者らが作成した臨床データベースを匿名化したのちに遺伝子解析情報と照合し、冠動脈疾患発症および予後、治療反応性を規定する遺伝子マーカーの検出を試みた。

#### C.研究結果

2002年3月の段階で遺伝子検体数は約700例に達し、この遺伝子検体を用いて動脈硬化の発症、進展に寄与する遺伝子マーカーの検出を進めた。我々は既知の動脈硬化関連因子に着目し、その遺伝子に存在する遺伝子多型の解析を行った。一例として動脈硬化に代表される血管のリモデリングの病態に深く関与するマトリクスメタロプロテナーゼ(MMP)の遺伝子多型に関して心筋梗塞発症との有意相関を見い

だした。各々の転写活性に関与するMMP-1プロモーター領域-1607 1G/2G多型、MMP-3プロモーター領域-1171 5A/6A多型には互いに強い連鎖不平衡を認め、MMP3の5AアレルおよびMMP1 1G-MMP3 5Aハプロタイプを保有することは有意に心筋梗塞発症のリスク因子となることを明らかとした。この遺伝子型は心筋梗塞を伴わない冠動脈硬化症（狭心症、無痛性心筋虚血）とは関連性が乏しいことから、粥腫崩壊に関連した病態に関連した遺伝的マーカーである可能性が示唆された。現在、新しい遺伝子多型タイプピングシステム（BAMPER法（日立製作所））を利用しつつ数十の遺伝子のSNPについて解析を行い、すでに半数程度の解析が終了しており、今後臨床事象との関連性の検討を行う予定である。また薬剤治療歴およびそれに対する反応性について、臨床データが蓄積されつつあり、今後それを活用して薬効を規定する遺伝子マーカーの検出が可能と考えられる。

#### D.考察

国内外で遺伝子多型の検討が多く施行されているが、包括的な臨床情報と遺伝子情報を統合的に解析し、かつ臨床事象を前向きに観察してその予後、治療反応性、薬剤副作用などの関連性を検討を試みている研究は稀少であり非常に有用である。本研究の問題点としては、健常対照群が必ずしも冠動脈疾患保有患者と年齢、性別などの点で合致しない点が挙げられるが、今後関連医療機関および健康診断などからの高齢男性健常者のサンプリングを検討する必要であり、現在関連施設を含めたサンプリングを行う準備を進めつつある。

#### E.結論

我々が行っている複数の動脈硬化関連遺伝子多型の臨床情報との統合的解析により、すでにMMP1、MMP3の遺伝子多型およびそのハプロタイプが心筋梗塞発症に関連する有用なマーカーであることが確認された。今後、この研究を推進することによりさらに有用な疾患感受性、治療反応性を規定する遺伝子マーカーの同定が可能となると考えられる。

## F.健康危険情報

特記すべきことなし

## G.研究発表

### 1.論文発表

Morita H, Kurihara H, Imai Y, Sugiyama T, Hamada C, Sakai E, Mori M, Nagai R. Lack of association between the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism and myocardial infarction in Japanese. An approach entailing melting curve analysis with specific fluorescent hybridization probes. *Thromb Haemost.* 2001;85:226-30.

Oh-hashii Y, Shindo T, Kurihara Y, Imai T, Wang Y, Morita H, Imai Y, Kayaba Y, Nishimatsu H, Suematsu Y, Hirata Y, Yazaki Y, Nagai R, Kuwaki T, Kurihara H. Elevated sympathetic nervous activity in mice deficient in alpha CGRP. *Circ Res.* 2001;89:983-90.

Shindo T, Kurihara Y, Nishimatsu H, Moriyama N, Kakoki M, Wang Y, Imai Y, Ebihara A, Kuwaki T, Ju KH, Minamino N, Kangawa K, Ishikawa T, Fukuda M, Akimoto Y, Kawakami H, Imai T, Morita H, Yazaki Y, Nagai R, Hirata Y, Kurihara H. Vascular abnormalities and elevated blood pressure in mice lacking adrenomedullin gene. *Circulation.* 2001;104:1964-71.

Morita H, Saito Y, Kurabayashi M, Nagai R. Diet-induced mild hyperhomocysteinemia and increased salt intake diminish vascular endothelial function in a synergistic manner. *J Hypertens.* 2002;20:55-62.

### 2.学会発表

2001.3.25-27 (京都)第65回日本循環器学会総会学術集会

森田啓行、永井良三

The Human Genome Project in Cardiovascular Diseases

Genetic Polymorphism in Homocysteine Metabolism  
野尻剛史,森田啓行,林同文,藤田英雄,今井靖,吹野恵子,山崎憲,深山源太,碓井伸一,原田智浩,池田祐一,山崎力,杉山卓郎,鈴木亨,小室一成,中村文隆,杉浦清了,大野実,平田恭信,永井良三

Reduced susceptibility to Coronary Heart Disease by Matrix Metalloproteinase-1 promoter 1G

allelehomoogeneity

吹野恵子,森田啓行,今井靖,野尻剛史,中村文隆,大野実,杉浦清了,平田恭信,武藤真祐,浅川雅子,飯田陽子,永井良三,林同文,山崎力,深山源太,藤田英雄,小室一成,杉山卓郎

ACE and AT1R polymorphism are genetic risk factors for coronary artery disease

2001.5.29. (大阪) 5th International Conference on Preventive Cardiology

森田啓行、永井良三

Practical implication of "new" risk factors for prevention in the genetic polymorphism Homocysteine and cardiovascular disease

2001.9.6-7 (東京) 第8回日本遺伝子診療学会大会

森田啓行、永井良三

シンポジウム 新しいゲノム技術とその臨床応用  
ホモシステイン代謝関連酵素遺伝子多型と動脈硬化

今井 靖、前村浩二、鈴木亨、石井雅巳、林同文、森田啓行、山崎力、油谷浩幸、永井良三  
心臓リモデリングの際、心臓線維芽細胞において発現する遺伝子プロファイルのDNA chipによる解析

## H.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

- 1.特許取得 特になし
- 2.実用新案登録 特になし
- 3.そのほか 特になし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

臨床データのファイリングに関する研究

分担研究者 林 同文 東京大学大学院医学系研究科薬剤疫学講座 寄付講座教員

研究要旨

医療資源の非効率的な分配を撤廃し、最も安全かつ効果的、経済的な医療の実現には広範囲な医療情報の統括および管理解析システムの構築とデータマイニング技術を利用したデータベース構築が必要である。本研究ではIT技術を駆使した医療情報管理・解析システムを利用した、血管形成術による再狭窄とそのデバイス、服用薬剤との関係や、海外で有用性が唱えられている薬剤による日本人での同様な疾患に対する有効性の検証の他、心不全の重症度指標として知られるナトリウム利尿ホルモン (ANP, BNP) による、特に糖尿病を合併した狭心症患者の重症度指標としての役割を明らかにした。

A. 研究目的

近年、Information Technology (IT) の著しい発展により、世界規模での情報交換が可能となり、医学領域においても急速にIT化が進行している。またこうした技術を最大限に利用することでヒトゲノム解読が完了し、今後はゲノムの個人差、すなわち遺伝子の多型性、とくに一塩基置換からなるSNP(single nucleotide polymorphism)の機能的側面を含めた遺伝子多型解析が世界的規模で進行しつつあり、我が国でも遅滞なく研究を遂行する必要性に迫られている。一方で、日本の医療を取り巻く環境は大きな変革をきたした。すなわち、人口構成は高齢者層へシフトし、疾病構造も生活習慣病を中心とした慢性疾患の比重が増加することで公的医療費は破綻寸前の状態にある。また、病院-診療所間の連携を含めた医療機関の機能分化が進まず、診療判断の根幹をなす患者情報は担当医・担当科、あるいはせいぜい医療機関単位で管理され、その有効的な活用がなされずに重複検査・診療といった無駄が生じている。さらに大規模な臨床試験を根拠としたEvidence-Based Medicine (EBM) に基づく医療行為を行っても、それに対する感受性には大きな個人差が存在するが、そのような治療感受性を規定する遺伝子多型の関連性は殆ど解明されていない。その結果、無効例あるいは副作用が出る症例にも画一化された治療が行われ、患者に利益がないばかりか、医療経済的にも大きな損失が生じているのが現状である。こうした問題点をふまえて、最も安全かつ効果的、経済的な医療の実現には、臨床情報、ゲノム情報といった医療資源の非効率的な分配を撤廃し、広範囲な医療情報の統括および管理解析システムの構築とデータマイニング技術といった、医学的および工学的「知」の体系化システムの導入が要求され、特に分担研究として、入院患者の臨床情報データベース及びデータマイニングシステムの構築を行い、臨床現場に有用なデータのフィードバックを目的とする。

B/C. 研究方法・研究結果

我々は既にコンピュータシステムを用いて、東京

大学医学部循環器内科の入院患者における臨床情報を経時的・体系的に管理する独自のデータベースを構築し、すでに約1400例の症例の入力が終了している。このシステムはリアルタイムに治療成績を含めた医療統計が算出できる構造となっており、それ自体が当科の診療を行う上での指針を提供し、患者への情報開示を行う上でも有力なツールとなっている。しかし、さらに多数の情報を処理し、診療に有用なデータベースにするためには外来診療情報とのリンク、画像情報の取り込みなどシステムの大幅な拡充の必要性があり、現在システムを改築し、完了しようとしている。新しい臨床データベースにはあらゆる病歴や薬歴(一月あたりの薬価も含む)がファイリングされている。外来診療情報とのリンク、画像情報の拡充、予後調査との併用により各患者の病態を経時的にとらえることが可能になる。治療法別予後(レスポnderあるいはノンレスポnder)や危険因子コントロールによる症状改善効果をリアルタイムで把握し、診療に活用することが可能になる。

これまでに本データベースシステムを利用して、臨床情報を解析した結果、本来心不全患者で血中濃度が上昇するマーカーとして知られるナトリウム利尿ホルモン (ANP, BNP) が、心機能低下のない狭心症患者群において、その病変枝数と正相関し、狭心症の重症度マーカーとなる可能性を見いだした。さらに、心血管疾患の危険因子として、糖尿病を合併している患者群においては特にその有意差は高く、狭心症患者の非侵襲的検査としての意義を明らかにした。また、血管形成術による再狭窄とそのデバイス、服用薬剤との関係や、海外で有用性が唱えられている薬剤による日本人での同様な疾患に対する有効性の検証などを現在解析中である。

D/E. 考察・結論

脳心血管系疾患の診療の質を向上させるには、1) 危険因子、2) 治療に対する反応性、3) 発作後の臨床イベントの頻度、重症度、4) 活動度や生命予後を正



確に把握することが重要である。そもそも心筋梗塞、脳卒中は多因子性疾患であり、その発症進展には複数の危険因子が関与している。コレステロール、高血圧、喫煙、肥満、糖尿病などが危険因子とされ、それらの是正が発症進展を抑制することも示されつつある。ただし、危険因子が発症に関わる程度は個人によって大きな差がある。また、是正により受けるメリットも千差万別である。データベースシステム構築により、危険因子と疾患発症との関わりを明らかにするとともに、治療反応性を有する症例を絞り込むことが可能になる。今回の結果では、解析が終了している狭心症患者における非侵襲的検査による重症度予測マーカーの同定は、日常診療においては簡便かつ臨床的有用性の高いものと判断できる。今後、本データベース・データマイニングシステムを発展させ、他の分担研究者が行っている外来通院の臨床データベース、遺伝子解析の結果を統合させ、疾患発症・予後あるいは投薬を含めた治療行為との関連性が示唆される遺伝子多型との検証により、個々人の遺伝的背景を考慮した最も効果的かつ経済的な治療方法を見いだす可能性が期待される。

#### F.健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

Monzen K, Hiroi Y, Kudoh S, Akazawa H, Oka T, Takimoto E, Hyashi D, Hosoda T, Kawabata M, Miyazono K, Ishii S, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I : Smads, TAK1, and Their Common Target ATF-2 Play a Critical Role in Cardiomyocyte Differentiation. *J Cell Biol.* 153(4) : 687-698. 2001.

Imai Y and Suzuki T and Miyamoto S and Aizawa K and Amaki T and Fukino K and Mizuno Y and Nagai R and Hayashi D and Yamazaki T and Kurabayashi M : Microarray-analysis of cardiac fibroblasts stimulated by angiotensin II reveals increased expression of TGF beta and structural proteins. *J Circ J.* 65Suppl.I : 509. 2001.

Hayashi D, Miyama G, Yamazaki T, Fujita H, Morita H, Nakamura F, Imai Y, Fukino K, Asakawa M, Ikeda Y, Nojiri T, Mutoh S, Yamazaki T, Sugiura S, Ohno M, Hirata Y, Nagai R, Komuro I : The levels of ANP and BNP are positively correlated with the severity of CHD irrespective of left ventricular function. *J Circ J.* 65 Suppl.I : 251. 2001.

Hayashi D, Miyama G, Yamazaki T, Fujita H, Morita H, Suzuki T, Nakamura F, Imai Y, Fukino K, Amaki T, Nojiri T, Yamazaki T, Mizuno Y, Sugiura S, Ohno M, Hirata Y, Nagai R, Komuro I : Elevated levels of malondialdehydemodified(MDA)-LDL levels in patients with coronary artery disease. *J Circ*

*J.* 65 Suppl.I : 251. 2001.

Nojiri T, Morita H, Imai Y, Fukino K, Yamazaki T, Usui S, Harada T, Ikeda Y, Suzuki T, Miyazawa Y, Sugiura S, Ohno M, Hirata Y, Nagai R, Fujita H, Hayashi D, Miyama G, Yamazaki T, Sugiyama T, Komuro I : Reduced susceptibility to Coronary Heart Disease by Matrix Metalloproteinase-1 promoter 1G allele homogeneity. *J Circ J.* 65 Suppl.I : 239. 2001.

Fukino K, Motira H, Imai Y, Nojiri T, Nakamura F, Ohno M, Sugiura S, Hirata Y, Mutoh S, Asakawa M, Lida H, Nagai R, Hayashi D, Yamazaki T, Miyama G, Fujita H, Komuro I, Sugiyama T : ACE and AT1R polymorphism are genetic risk factor for coronary artery disease. *J Circ J.* 65 Suppl.I : 82 . 2001.

#### H.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

- 1.特許取得 特になし
- 2.実用新案登録 特になし
- 3.そのほか 特になし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
<b>山崎力</b>					
Yamazaki T., Suzuki T, Yamamoto K.	Correspondence Vaccinating Japanese Schoolchildren Against Influenza	New Engl J Med	344	1947	2001
Zou Y., Nagai R., Yamazaki T.	Urotensin II induces hypertrophic responses in cultured cardiomyocytes from neonatal	FEBS Lett	508	57-60	2001
Suzuki T., Yamazaki T.	Clinical trials report	Current Cardiology Reports	January	11月12日	2002
<b>永井良三</b>					
Kanai H, Tanaka T, Aihara Y, Takeda Si, Kawabata M, Miyazono K, Nagai R, Kurabayashi M.	Transforming growth factor-b/Smads signaling induces transcription of the cell type-restricted ankyrin repeat protein CARP gene through CAGA motif in vascular smooth muscle cells.	Circ Res	88	30-36	2001
Sekiguchi K, Kurabayashi M, Oyama Y, Aihara Y, Tanaka T, Sakamoto H, Hoshino Y, Kanda T, Yokoyama T, Shimomura Y, Iijima H, Ohyama Y, Nagai R.	Homeobox protein hex induces SMemb/Nonmuscle myosin heavy chain-B gene expression through the cAMP-responsive element.	Circ Res	88	52-58	2001
Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Saubermann LJ, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsuhashi N.	Endogenous PPARg Mediates Anti-inflammatory Activity in Murine Ischemia-Reperfusion Injury.	Gastroenterology	120	460-469	2001
Aizawa T, Ishizaka N, Kurokawa K, Nagai R, Nakajima H, Taguchi JI, Ohno M.	Different effects of angiotensin II and catecholamine on renal cell apoptosis and proliferation in rats.	Kidney Int	59	645-653	2001
Itoh T, Kikuchi K, Odagawa Y, Takata S, Yano K, Okada S, Haneda N, Ogawa S, Nakano O, Kawahara Y, Kasai H, Nakayama T, Fukutomi T, Sakurada H, Shimizu A, Yazaki Y, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T.	Correlation of genetic etiology with response to b-adrenergic blockade among symptomatic patients with familial long-QT syndrome.	J Hum Genet	46	38-40	2001
Ogata T, Nagai R, Kurabayashi M, Hoshino Y, Sekiguchi K, Kowase K, Akuzawa A, Ishikawa S, Takeyoshi I, Morishita Y.	Inducible expression of basic transcription factor binding protein 2 plays a potential role in the development of the allograft vascular disease.	J Heart Lung Transplant	20	228	2001
Miki H, Yamauchi T, Suzuki R, Komeda K, Tsuchida A, Kubota N, Terauchi Y, Kamon J, Kaburagi Y, Matsui J, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Tobe K, Kadowaki T.	Essential Role of Insulin Receptor Substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 in Adipocyte Differentiation.	Mol Cell Biol	21	2521-2532	2001
Uozumi H, Hiroi Y, Zou Y, Takimoto E, Toko H, Niu P, Shimoyama M, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I.	gp130 Plays a Critical Role in Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophy.	J Biol Chem	276	23115-23119	2001
Saiura A, Sata M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M.	Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis.	Nat Med	7	382-383	2001

Itoh T, Kikuchi K, Odagawa Y, Takata S, Yano K, Okada S, Haneda N, Ogawa S, Nakano O, Kawahara Y, Kasai H, Nakayama T, Fukutomi T, Sakurada H, Shimizu A, Yazaki Y, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T.	Correlation of genetic etiology with response to b-adrenergic blockade among symptomatic patients with familial long-QT syndrome.	J Hum Genet	46	38-40	2001
Iwasa H, Kurabayashi M, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T.	Multiple single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the Japanese population in six candidate genes for long QT syndrome.	J Hum Genet	46:00:00	158-162	2001
Monzen K, Hiroi Y, Kudoh S, Akazawa H, Oka T, Takimoto E, Hayashi D, Hosoda T, Kawabata M, Miyazono K, Ishii S, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I.	Smads, TAK1, and their common target ATF-2 play a critical role in cardiomyocyte differentiation.	J Cell Biol	153	687-698	2001
Iwasa H, Kurabayashi M, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T.	Genetic variations in five genes involved in the excitement of cardiomyocytes.	J Hum Genet	46	549-552	2001
Hiori Y, Kudoh S, Monzen K, Ikeda Y, Yazaki Y, Nagai R, Komuro I.	Tbx5 associates with Nkx2-5 and synergistically promotes cardiomyocyte differentiation.	Nature Genetics	28	276-280	2001
Watanabe A, Kurabayashi M, Arai M, Sekiguchi K, Nagai R.	Combined effect of retinoic acid basic FGF on PAI-1 gene expression in vascular smooth muscle cells.	Cardiovascular Research	51	151-159	2001
Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T.	The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity.	Nature Medicine	7	941-946	2001
Yamagishi T, Saito Y, Nakamura T, Takeda S, Kanai H, Sumino H, Kuro-o M, Nabeshima Y, Kurabayashi M, Nagai R.	Troglitazone Improves Endothelial Function and Augments Renal klotho mRNA Expression in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats with Multiple Atherogenic Risk Factors.	Hypertension Research	24	705-709	2001
Sata M, Sugiura S, Yoshizumi M, Ouchi Y, Hirata Y, Nagai R.	Acute and Chronic Smooth Muscle Cell Apoptosis After Mechanical Vascular Injury Can Occur Independently of the Fas-Death Pathway.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	21	1733-1737	2001
Oyama Y, Akuzawa N, Nagai R, Kurabayashi M.	PPARgamma ligand inhibits osteopontin gene expression through interference with binding of nuclear factors to A/T-rich sequence in THP-1 cells.	Circ Res.	90	348-55	2002
Nagai R, Suzuki T, Aizawa K, Miyamoto S, Amaki T, Kawai-Kowase K, Sekiguchi KI, Kurabayashi M.	Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells: dissection of transcriptional regulatory mechanisms.	Ann N Y Acad Sci.	947	56-66	2001