

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

心不全における遺伝子発現プロファイル作成
およびテーラーメイド医療の確立

平成15年度 総括・分担研究報告書

平成16（2004）年3月

主任研究者 北 風 政 史
(国立循環器病センター)

目 次

I. 総括研究報告

●心不全における遺伝子発現プロファイル作成およびテーラーメイド医療の確立 ……………	1
北風政史	
説明者用資料（第二群・第三群提供者用） ……………	4
遺伝子解析研究への協力の同意文書 ……………	10

II. 分担研究報告

●心不全における遺伝子発現プロファイル作成およびテーラーメイド医療の確立 ……………	17
宮武邦夫	
●心不全における遺伝子発現プロファイル作成およびテーラーメイド医療の確立 ……………	19
堀正二	
●心不全における遺伝子発現プロファイル作成およびテーラーメイド医療の確立 ……………	21
村松正明	
●心不全における遺伝子発現プロファイル作成およびテーラーメイド医療の確立 ……………	23
寄兼良輔	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………	25
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Cardiac hypertrophy is inhibited by antagonism of ADAM12 processing of HB-EGF: metalloproteinase inhibitors as a new therapy.	27
Nat Med. 2002 Jan;8(1):35-40.	
Adenosine-induced cardiac gene expression of ischemic murine hearts revealed by cDNA array hybridization.	33
Circ J. 2002 Jan;66(1):93-6.	
Targeting of both mouse neuropilin-1 and neuropilin-2 genes severely impairs developmental yolk sac and embryonic angiogenesis.	37
Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Mar 19;99(6):3657-62. Epub 2002 Mar 12.	
Cellular mechanisms for the treatment of chronic heart failure:the nitric oxide-and adenosine-dependnt pathways	43
ExpertOpinion Emerging Drugs.2002 ; 7(1):99-110	
Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation.	54
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002 May;282(5):H1703-8.	
Canine DNA array as a potential tool for combining physiology and molecular biology.	60
Circ J. 2003 Sep;67(9):788-92.	
Celiprolol increases coronary blood flow and reduces severity of myocardial ischemia via nitric oxide release.	65
J Cardiovasc Pharmacol. 2003 Apr;41(4):499-505.	
Lamr1 functional retroposon causes right ventricular dysplasia in mice.	72
Nat Genet. 2004 Feb;36(2):123-30. Epub 2004 Jan 18	
Impact on Adenosine for a Novel Therapy of Chronic Heart Failure Innovated by Genome, Transcript and Protein Analyses	80

心不全における遺伝子発現プロファイル作成
およびテーラーメイド医療の確立

主任研究者 北風政史 国立循環器病センター 部長

研究要旨

心血管疾患は日本人の死因第 2 位を占め、その最終終末像である心不全の予後は極めて悪く、その克服は医学的にも社会的にも急務となっている。心不全の予後を著しく改善することは内科的には困難で、心臓移植に頼るほかないのが現状である。心臓移植に内科的立場より携わる我々は、移植待機患者が移植をうけることなく死亡していくことを経験するにつれ、新しい心不全治療の開発の必要性を痛感する。さらに高齢者増加による心不全患者増加が必至な将来、医療費抑制の観点からも、心不全の発症予防および進行予防の開発が最重要課題であることは疑う余地も無い。近年遺伝子解析技術の急速な進歩により、病態解明へのアプローチにおける大転換期にある。そこで、新しい遺伝子解析技術を駆使し、テーラーメイド医療に向けての新しい心不全診断・治療の開発を目指す事を本研究の目的とし、3 段階に分けた研究計画を立てている。【第一段階】心不全関連遺伝子プロファイルの作成(DNA チップを用いた検討)【第二段階】心不全関連遺伝子の機能解明(①遺伝子改変動物、②蛋白機能解明、③遺伝子多型を用いた検討)【第三段階】心不全診断・治療の開発およびテーラーメイド医療の確立申請者は、従来心血管分野における生理・生化学的研究を数多く発表しているが、近年、生理学と分子生物学の融合を目指した研究を精力的に行っており、特に DNA チップに関して数多くの研究を重ねている。医療費抑制に重要なテーラーメイド医療の確立に心不全関連遺伝子プロファイル作成は極めて重要である。特に心不全の病態は不均一性が強いことから、すべての遺伝子が解析可能な遺伝子プロファイルの作成は必要不可欠である。さらに本研究の成果によるわが国発の診断薬、治療薬開発が進むと、医療費抑制においてその重要性が増すことは容易に想像される。そのため既に申請者は、ヒト不全心筋の遺伝子プロファイルの作成に着手しており、従来心不全で上昇すると報告されている遺伝子発現レベルの上昇も確認している。さらに心不全関連の候補遺伝子が明らかになれば、その候補遺伝子の改変動物の作成に加えて、蛋白を実際に精製することにより機能解析を行う。また、テーラーメイド医療の実現に向けて、心不全の遺伝子発現パターンと重症度や予後の臨床データとの組み合わせから、心不全治療の薬剤を詳細に評価可能となる。本研究がなされれば、心不全の診断および治療に関する重要な知見が得られ、わが国の循環器病克服に多大な貢献をするものと考えられる。

分担研究者

宮武 邦夫
国立循環器病センター
副院長

村松 正明
東京医科歯科大学
教授

堀 正二
大阪大学大学院医学系研究科
教授

寄兼 良輔
三共株式会社
主任研究員

A. 研究目的

日本人死因の第2位を占める心血管疾患の最終終末像の大半が心不全を呈する。しかし、現在の心不全治療において内科的治療では限界があり、心臓移植に頼るほかないのが現状である。心臓移植を内科的立場より携わる一員として、移植を受けられずに死亡する胃移植待機患者を経験する中で、新しい心不全治療開発の必要性を痛感する。さらに高齢者増加による心不全患者の増加は必至であり、厚生行政の最重要課題である医療費抑制の観点からもその適切な治療法の開発は急務である。しかし心不全は原因疾患が多岐にわたり病態が不均一であるという理由から心不全に関する研究は十分進んでいない。近年の遺伝子解析技術の急速な進歩により、病態解明へのアプローチに対する大転換期にある。そこで申請者は、遺伝子解析技術を駆使し新しい心不全治療の展開を目指す。

B. 研究方法

1. ヒト不全心筋の遺伝子発現プロファイルの集積

心不全患者において、パチスタ手術、ドール手術、もしくは左心補助装置挿入時に摘出する心筋の一部(1cm角)から mRNA を抽出する。正常心筋の RNA は現時点において入手困難なため、海外において市販されている mRNA を使用する。心不全より得られた mRNA を用いて affymetrix (現在予定) の DNA チップを用いてヒト不全心筋における遺伝子発現レベルの解析を施行する。100 症例を目標として DNA チップ解析を行い、心不全症例における遺伝子発現プロファイルの作成を行う。まず共通して遺伝子発現レベルが2倍以上変化する遺伝子を心不全関連遺伝子とする。心不全関連候補遺伝子それぞれに対して、まずノーザンブロット法により細胞レベルにおいて再確認すると同時に臓器別分布を検討する。次に、心不全動物モデルから集積した遺伝子発現プロファイル(研究計画 2.参照)と比較検討することにより心不全特異的遺伝子を絞り込む。選ばれた心不全特異的遺伝子は、下記の研究へと展開する。

2. 心不全動物モデルにおける遺伝子発現プロファイルの集積

ヒトにおける心不全関連遺伝子が明らかにされたあと、薬剤に対する遺伝子発現レベルの変化などを検討するには、どうしても動物モデルが必要となる。ダールラット、圧負荷モデルなどの心不全モデルにおける遺伝子発現プロファイルの作成を行う。方法は研究計画 1 と同様にして行い、各群 20 匹を目標に作成する。これらの動物モデルに共通に変化している遺伝子は、ヒトにおいても可能性が十分考えられるために心不全関連遺伝子として下記の研究へと展開する。

3. 心不全特異的遺伝子の機能解析

心不全特異的遺伝子の機能解析は、蛋白からのアプローチと遺伝子改変からのアプローチの2つで行う。①蛋白からのアプローチ同定された心不全特異的遺伝子から蛋白精製を行い、様々な機能解析を行う。

4. 心不全特異的遺伝子の遺伝子多型の検討

診断において有用になりうる遺伝子多型の検討を行う。心不全特異的遺伝子の報告されている遺伝子多型をサーチする。可能性の高い部位を中心に遺伝子多型の解析を行う。これらの遺伝子多型プロファイル遺伝子発現プロファイルとリンクすることにより、極めて質の高いデータプロファイルが作成されることが期待される。

5. 慢性心不全治療薬と心筋遺伝子発現パターンの解析

心不全治療として様々な薬剤が使用されているが、これらの薬剤による効果がある場合とない場合があることが知られている。第一に、これらの薬剤投与による遺伝子発現の変化を DNA チップを用いて解析を行う。第二に、これらの薬剤投与にて効果の有無と遺伝子発現のパターンを解析する。かかる検討により、遺伝子発現パターンの違いに応じて、最適の治療を提案できる可能性が考えられる。第三に、心不全治療薬を複数使用することにより、異なったパターンの効果が出現しないか否かを検討する。かかる検討により、最適の慢性心不全治療メニューを患者個人に応じて提供できることが期待される。

(倫理面への配慮)

厚生省の指針に基づいて、十分な注意を払い本研究を行う。特に得られた情報の管理には、外部に漏洩しないように対策を行う。また、遺伝子発現レベルを検討する研究であることから、患者に対しての十分なインフォームドコンセントを得るように努力する。既に大阪大学倫理委員会に遺伝子解析に関して承認を得ている。また動物実験に関しても、十分な注意を払い動物愛護の観点から必要以外の実験は行わない。

C. 研究結果

本研究事業では、心不全患者においてパチスタ手術、ドール手術、もしくは左心補助装置挿入時に摘出する心筋の一部(1cm角)から mRNA を抽出し DNA チップを用いてヒト不全心筋における遺伝子発現レベルの解析を施行することにより心不全症例における遺伝子発現プロファイルの作成を行うことを一つの目標としている。しかしながら、かかる検体は開胸手術に伴って得られるものであり、手術症例も限られていることから症例確保に多大な労力を要してきた。

しかし最近の技術の進歩により少量の細胞から得られる mRNA でも適切に処理することにより元の mRNA の割合を保ったまま DNA チップによる解析が可能なレベルにまで cDNA に転写・増幅が可能となった。そこで心臓カテーテル検査時に行われる心筋生検標本の一部から mRNA を取り出し遺伝子発現レベルの解析に利用することができるようになり、開胸手術に比べはるかに対象例が多い心筋生検標本を用いた解析方法を開発した。現在は手技上の問題か、心筋標本から mRNA が全く得られないことがあり抽出処理の多重化を行っているために効率が悪いが、将来的には手順の最適化を含む効率化が可能であると考えられる。心筋生検標本からの解析により開胸手術を必要としない軽症から中等症の遺伝子発現レベルの解析データを得ることができればより大きな研究成果を挙げることができると期待できる。

さらに、SNPs 解析においては文書による同意を得た上で、遺伝子検体を100症例分蓄積し終わっている。今後はかかる検体と比較するための正常者の SNPs 情報を得て、心不全で多く認められる SNPs について解析し、新しい心不全関連遺伝子候補を十数個見付けた。

D. 考察

①DNA チップの結果より正常の 3 倍以上に上昇した遺伝子が約 500 個、3 分の 1 以下に低下した遺伝子が 200 個程度であり、大多数の遺伝子については発現レベルの大きな変動はなかった。また、変動した遺伝子群についてクラスター解析を行ったが、従来の臨床的特長による分類とは必ずしも一致しなかった。しかし従来から心不全で変動することが知られている BNP 遺伝子と同様の変化をする遺伝子が 100 個程度見つかりその中に心不全関連遺伝子と考えられるものが含まれていた。

②心不全はさまざまな病態を基盤に発症するが、心不全による遺伝子発現の変化は基盤となる疾患による影響はほとんど認められず、既知の臨床的指標とは必ずしも一致しなかった。本研究においては、新しい遺伝子解析技術である DNA アレイと SNPs 解析を組み合わせることにより各々単独の解析以上のより詳細な解析が可能であることを示した。

E. 結論

以上の心不全関連遺伝子の検討から、新しい遺伝子解析技術である DNA アレイ・SNPs 解析は不全心不全に対する新しい診断・治療に有用であると考えられた。

F. 健康危機情報……………なし

G. 研究発表

1. 論文発表
別紙参照

2. 学会発表

第66回日本循環器病学会学術集会
プレナリーセッション(平成 14 年 4 月)

DNAarray for the discovery of genes related to cardiovascular disease and SNP for its application to the large-scale clinical trials (演者:北風政史)

第68回日本循環器学会学術集会
シンポジウム(平成 16 年 3 月)

インフォマティクスを利用した心血管ゲノム医学
Genome Informatics of Cardiovascular System
(演者:北風政史)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得……………なし
2. 実用新案登録……………なし
3. その他……………なし

《説明事項》

(1) 研究協力の任意性と撤回の自由

被験者に対し、試料等の提供は任意であっていつでも同意は撤回できることを伝える。

さらに、被験者が試料提供に同意しない場合、あるいは同意を撤回した場合においても、疾病等の診療において不利益な扱いを受けないことを説明する(4-1-4-1、2 および 3)。同意を撤回した場合、その撤回に係わる試料および研究結果は廃棄されるが、既に研究結果が公表されている場合、あるいは廃棄しないことにより被験者の個人識別情報を含む情報が明らかになるおそれが小さく、かつ廃棄作業が極めて過大である場合等やむを得ない場合には、試料や研究結果の廃棄はできないことがあることを説明する(4-1-4-4-2)。

(2) 研究協力を要請する理由

被験者がいかなる理由で、本研究の対象者と判断されたかを説明する(4-1-4-5)。その上で、被験者の遺伝素因に関連すると推測される遺伝子、あるいは具体的な遺伝子が特定できない場合には様々な遺伝子について調べることを方法も含め説明する(4-1-4-6-1)。さらに、将来、解析対象となる疾病などに関連する遺伝子を探索するために試料が保存、利用される可能性があること、また研究の目的や方法の変更があり得ることを説明する(4-1-4-6-2)。

(3) 研究責任者の氏名および職名

研究責任者の氏名および職名を告げる(4-1-4-7)。

(4) 予測される研究結果と被験者の危険・不利益

遺伝子解析研究の成果が被験者に直接利益を与えないが、将来、解析対象となる疾病の克服に寄与する可能性について伝える。また、研究によって、被験者が遺伝的素因を有することが確定されることがまれには存在すること、その場合、倫理的・法的・社会的問題が生じうることも告げる。また試料採取において、身体的な危険が及ぼされる可能性は低いことを説明する。

(5) 研究計画、方法の開示

希望により、他の試料等提供者の個人情報保護や遺伝子解析研究の独創性の確保に支障が生じない範囲で、その試料等を用いた遺伝子解析研究の研究計画、遺伝子解析の詳しい方法等の資料を入手または閲覧することができることを告げる(4-1-4-9)。

(6) 試料および診療情報の匿名化

匿名化(氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報を取り除き、代わりに新たな番号をつけることなどによって、試料や情報の由来する個人を特定できなくすること)を行うこと、提供者と新たに付ける番号との対応表は厳重に管理され、解析を行う研究者は誰のものかわからない状態で研究を行うことなどを説明する(4-1-4-10)。

(7) 試料、診療情報、遺伝情報の他の研究機関への提供

試料、診療情報、またはそれから得られた遺伝情報を他の機関へ提供する場合は倫理審査委員会により、個人識別情報を含む情報の取扱い、提供先の機関名、提供先における利用目的が妥当であることについて、審査されていることを説明する(4-1-4-11)。

(8) 研究結果の開示

この遺伝子解析研究は、多くの被験者の協力を得て、疾患にかかっている集団とそうでない集団の間に遺伝子の違いがあるかどうかを比べるものであること、その結果、なんらかの違いが見いだされたとしても、その違いと病気との関係などを明らかにするには、まだまだ多くの研究が必要であることなどから、倫理審査委員会の審議の結果、認められた場合には、誰にも研究結果は開示しないことについて説明する(4-1-3-1-2)。ただし、被験者の遺伝子解析の結果が被験者等の生命に重大な影響を与えることが判明し、かつ、有効な治療方法があるときは、倫理審査委員会の意見を聞いた上で、被験者やその血縁者に対し、その情報の開示につき照会がなされることもあることを説明する(4-1-3-1-4)。研究の進み具合やその成果、学術的な意義は定期的に分かりやすい形で広く公表されること、また、提供者の求めがあればそれに応じて説明することを告げる(3-2-8)。

(9) 知的財産権、研究成果の公表

将来、遺伝子解析研究の成果が知的財産権を生み出す可能性があり、その場合、当該知的財産権は国や研究者などに属し、被験者には帰属しないことを説明する(4-1-4-13)。また、試料から得られた遺伝情報などの研究成果は、匿名化により試料等提供者を特定できなくした上で、学会発表やデータベースとして公表される場合があることを告げる(4-1-4-14)。

(10) 試料、診療情報の保管と廃棄

被験者の生体試料や診療情報は、研究計画書に明記され、倫理審査委員会の承認を得たうえで、インフォームド・コンセントの範囲内で、将来の研究のための資源として保管されることがあること、この場合、被験者に対し、その必要性、保管の方法、期間、場所、および匿名化の方法を告げる。廃棄に当たっては、その方法と匿名化の方法を説明する(4-1-4-15)。

(11) 細胞・遺伝子・組織バンクへの寄託

今回の研究では、組織バンクなどへの寄託は検討されていない旨を告げる。

(12) 試料提供の対価

試料提供に当たっての対価はないこと、また、研究結果によって、診療が必要になった場合、被験者の医療費負担が生じうることを告げる(4-1-4-18)。

(13) 遺伝カウンセリングの実施

第二群生体試料等提供者について遺伝カウンセリングが必要となる状況は多くはないが、倫理審査委員会がその必要性を指摘した場合、あるいは被験者の希望がある場合には、それを援助・支援するための遺伝カウンセリングの体制が整備され、あるいは紹介できることを説明する(3-2-3-14 および 4-1-4-17-2)。

《説明事項》

(1) 研究協力の任意性と撤回の自由

被験者に対し、試料等の提供は任意であっていつでも同意は撤回できることを伝える。

さらに、被験者が試料提供に同意しない場合、あるいは同意を撤回した場合においても、疾病等の診療において不利益な扱いを受けないことを説明する(4-1-4-1、2 および 3)。同意を撤回した場合、その撤回に係わる試料および研究結果は廃棄されるが、既に研究結果が公表されている場合、あるいは廃棄しないことにより被験者の個人識別情報を含む情報が明らかになるおそれが小さく、かつ廃棄作業が極めて過大である場合等やむを得ない場合には、試料や研究結果の廃棄はできないことがあることを説明する(4-1-4-4-2)。

(2) 研究協力を要請する理由

第三群試料提供者は、遺伝子解析研究に自発的に協力する意思を持ち、年齢、性、検診結果など一定の条件を満たす者、あるいはランダムに選ばれた者であることを説明する(4-1-4-5)。その上で、この研究の目的が、第三群試料等提供者を健康対照群として遺伝子解析を行い、ある病気の患者における分析結果などを解釈するために重要な役割を果たすこと、さらに、遺伝子解析による疾病検診技術の開発などを目指すものであることを説明する。このため、いろいろな病気や薬剤反応についても遺伝子を調べる可能性があることを説明する(4-1-4-6-1)。また、将来、他の病気の原因遺伝子探索における対照群あるいは検診のための技術開発のため、試料が保存、利用される可能性があることと、研究の目的や方法の変更がありえることを説明する(4-1-4-6-2)。

(3) 研究責任者の氏名および職名

研究責任者の氏名および職名を告げる(4-1-4-7)。

(4) 予測される研究結果と被験者の危険・不利益

第三群試料等提供者は、遺伝子解析を用いた疾病検診技術の開発に協力し、さらに、第一群および第二群の生体試料等提供者を対象とした研究において患者の対照群として重要な役割を果たす。また、本研究においては、遺伝子解析研究の成果が集団で解析されるため、被験者にとっての直接的な利益は期待できないこと、また、被験者にとって不利益な事象としては、検査時の注射針を刺す痛みがあるが、これは一般の検査時の痛みと同じであること、さらに、遺伝子検査の結果が外部に漏れた場合、

生命保険加入の際の障害になるなどの不利益を被る可能性が考えられることなどを告げる(4-1-4-8)。なお、研究成果を公表する際には、個人が特定される形では公表しないことなども説明する。

(5) 研究計画、方法の開示

希望により、他の試料等提供者の個人情報保護や遺伝子解析研究の独創性の確保に支障が生じない範囲で、その試料等を用いた遺伝子解析研究の研究計画、遺伝子解析の詳しい方法等の資料を入手または閲覧することができることを告げる(4-1-4-9)。

(6) 試料および診療情報の匿名化

匿名化(氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報を取り除き、代わりに新たな符号をつけることなどによって、試料や情報の由来する個人を特定できなくすること)を行うこと、提供者と新たにつける符号との対応表は厳重に管理され、解析を行う研究者は誰のものかわからない状態で研究を行うことなどを説明する(4-1-4-10)。

(7) 試料、診療情報、遺伝情報の他の研究機関への提供

試料、診療情報、またはそれから得られた遺伝情報を他の機関へ提供する場合は倫理審査委員会により、個人識別情報を含む情報の取扱い、提供先の機関名、提供先における利用目的が妥当であることについて、審査されていることを説明する(4-1-4-11)。

(8) 研究結果の開示

第三群試料等提供者を対象として得られた遺伝子解析結果は、疾病検診技術の開発あるいは疾病群などに対する対照群として、多くの人の解析結果をまとめて集団として解析されるために、個々の試料等提供者についての遺伝情報は、試料等提供者または代諾者を含め誰にも開示できないことを説明する(4-1-3-1-2)。ただし、被験者の遺伝子解析の結果が被験者等の生命に重大な影響を与えることが判明し、かつ、有効な治療方法があるときは、倫理審査委員会の意見を聞いた上で、被験者やその血縁者に対し、その情報の開示につき照会がなされることもあることを説明する(4-1-3-1-4)。研究の進み具合やその成果、学術的な意義は定期的に分かりやすい形で広く公表されること、また、提供者の求めがあればそれに応じて説明することを告げる(4-2-8)。

(9) 知的財産権、研究成果の公表

将来、遺伝子解析研究の成果が知的財産権を生み出す可能性があり、その場合、当該知的財産権は国や研究者などに属し、被験者には帰属しないことを説明する(4-1-4-13)。また、試料から得られた遺伝情報などの研究成果は、匿名化により試料等提供者を特定できなくした上で、学会発表やデータ

ベースとして公表される場合があることを告げる(4-1-4-14)。

(10) 試料、診療情報の保管と廃棄

被験者の生体試料や診療情報は、研究計画書に明記され、倫理審査委員会の承認を得たうえで、インフォームド・コンセントの範囲内で、将来の研究のための資源として保管されることがあること、この場合、被験者に対し、その必要性、保管の方法、期間、場所、および匿名化の方法を告げる。廃棄に当たっては、その方法と匿名化の方法を説明する(4-1-4-15)。

(11) 細胞・遺伝子・組織バンクへの寄託

今回の研究では、組織バンクなどへの寄託は検討されていない旨を告げる。

(12) 試料提供の対価

試料提供に当たっての対価はないこと、また、研究結果によって、診療が必要になった場合、被験者の医療費負担が生じうることを告げる(4-1-4-18)。

(13) 遺伝カウンセリングの実施

第三群生体試料等提供者について遺伝カウンセリングが必要となる状況はまれなことと考えられるが、倫理審査委員会がその必要性を指摘した場合、あるいは被験者の希望がある場合には、それを援助・支援するための遺伝カウンセリングの体制が整備され、あるいは紹介できることを説明する(3-2-3-14 および 4-1-4-17-2)。

遺伝子解析研究への協力の同意文書

研究責任者 国立循環器病センター 生理機能検査部長 北風 政史 殿

私は遺伝子解析研究（心筋疾患における SNP と DNA アレイを用いた遺伝子解析）について、医師より説明文書を用いて説明を受け、その方法、危険性、分析結果のお知らせの方法等について「試料の連結可能匿名化」も含めて、十分理解しました。ついでには、次の条件で研究協力に同意いたします。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分でレを付けて下さい。）

- 遺伝子の分析を行うこと。
 - 研究協力の任意性と撤回の自由
 - 研究目的
 - 研究方法
 - 研究計画書等の開示
 - 試料提供者にもたらされる利益および不利益
 - 個人情報の保護
 - 遺伝子解析結果の開示
 - 研究成果の公表
 - 研究から生じる知的財産権の帰属
 - 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱の方針
 - 費用負担に関する事項
 - 遺伝カウンセリングの体制
- 提供してもよい試料
- 血液（SNP 用）
 - 心筋組織（DNA アレイ用）

研究終了後の保存と使用に関すること

以下のどちらかにレを付けて下さい。

- 本研究が終了した時、速やかに試料を廃棄してください。
- 提供する試料が、本遺伝子解析研究に使用されるとともに、長期間保存され、将来、新たに計画・実施される高血圧等循環器疾患にかかわる遺伝子の分析を含む医学研究に使用されることに同意します。

平成____年____月____日

患者名（患者本人が承諾に関して判断ができないときは 代理人）

氏名_____自署 _____印（代理人の場合：患者との関係_____）

住所_____

電話_____

説明者所属および職名_____

説明者の署名または記名・捺印_____

心筋疾患における SNP と DNA アレイを用いた遺伝子解析の説明用文章

《遺伝子とは》

「遺伝」という言葉は、「親の体質が子に伝わること」を言います。ここでいう「体質」の中には、顔かたち、体つきのほか、性格や病気にかかりやすいことなども含まれます。ある人の体の状態は、遺伝とともに、生まれ育った環境によって決まっていますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」という言葉に「子」という字が付き「遺伝子」となりますと、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。人間の場合、3万数千個といわれる遺伝子が働いていますが、その本体は「DNA」という物質です。「DNA」は、A、T、G、Cという四つの印（塩基）の連続した鎖です。印は、一つの細胞の中で約30億個あり、その印がいくつかがつながって遺伝子を司っています。このつながりが遺伝子です。

一つの細胞の中には3万数千個といわれる遺伝子が散らばって存在しています。この遺伝情報を総称して「ゲノム」という言葉で表現することもあります。人間の体は、60兆個の細胞から成り立っていますが、細胞の一つ一つにすべての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、遺伝子が精密な「人体の設計図」であるという点です。受精した一つの細胞は、分裂を繰り返してふえ、一個一個の細胞が、「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には60兆個まで増えて人体を形作りますが、その設計図はすべて遺伝子に含まれています。第2の重要な役割は「種の保存」です。両親から子供が生まれるのもやはり遺伝子の働きです。人類の先祖ができてから現在まで「人間」という種が保存されてきたのは、遺伝子の働きによっています。

《遺伝子と病気》

ほとんどすべての病気は、その人の生まれながらの体質（遺伝素因）と病原体、生活習慣などの影響（環境因子）の両者が合わさって起こります。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや動脈硬化などのように両者が複雑に絡み合って生じるものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せが重要であるのは先に述べたとおりです。

《遺伝子解析研究への協力について》

あなた（注）は慢性心不全を発症しましたが、血液又は心筋組織を診療記録とともに、この研究に利用させていただきたいのです。

具体的には、まず、あなたにこの研究への協力をお願いするため、研究の内容を含め、あなたが同意するための手続きについて説明を行います。あなたがこの説明をよく理解でき、あなたが研究に協力して血液又は心筋組織を提供することに同意しても良いと考える場合には、「遺伝子解析研究への協力の同意書」に署名することにより同意の表明をお願いいたします。

（注）あなたが提供者の代わりに説明を受けている場合には、その提供者のことで

《同意の表明の前提》

（1）研究協力の任意性と撤回の自由

この研究への協力の同意はあなたの自由意志で決めてください。強制いたしません。また、同意しなくても、あなたの不利益になるようなことはありません。

一旦同意した場合でも、あなたが不利益を受けることなく、いつでも同意を取り消すことができ、その場合は採取した血液や遺伝子を調べた結果などは廃棄され、診療記録などもそれ以降は研究目的に用いられることはありません。ただし、同意を取り

消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合などのように、遺伝子を調べた結果などを廃棄することができない場合があります。

(2) 研究計画

研究題目：心筋疾患における SNP と DNA アレイを用いた遺伝子解析

研究機関名および研究責任者氏名：

この研究が行われる研究機関と責任者は下に示すとおりです。

研究機関名	研究責任者名	職名
国立循環器病センター	北風政史	生理機能検査部長

共同研究施設：

葉山ハートセンター	磯村 正	院長
-----------	------	----

ただし、この他に共同研究を行う研究機関の追加や研究責任者が変更される可能性があります。

研究目的：

この研究は心筋疾患における遺伝子多型を調べることで、心不全の原因疾患および関連疾患遺伝子の同定や心不全に投与された薬の効き目の違いや心不全の発症が、生まれながらの体質と関係するかどうかを、血液などから取り出した遺伝子を調べることによって、より有効な治療ができるようにしようとするものです。ただし、この研究のために使われるあなたの病気や体の様子、生活の様子についての情報や血液などは、医学の発展にともなって将来計画される別の研究にとっても貴重なものになる可能性があるため、今回の試料提供について、あなたの同意がいただけるならば、将来、別の循環器疾患や薬剤の反応性に関する遺伝子の研究のためにもできましたら使わせていただけるようお願いいたします。

この点につきご同意頂けない場合は、本研究終了後、試料を廃棄させていただきます。

研究方法：

血液を通常の方法で約10ml採血します。採血にともなう身体の危険性はほとんどありません。調べる対象となる遺伝子は、現在明らかではありません。そこで、関係する可能性のある遺伝子など数多くの遺伝子を調べることとなります。必要があれば一般的な臨床血液検査も行います。また臨床的に必要な検査・手術によって得られた心筋細胞の一部をいただき、病態評価のため、細胞の基礎となる蛋白質の発現を詳しく解析させていただきます。場合によっては、御家族が今までにかかった病気について詳しい説明をお願いすることもあります。

いただいた検体の解析は、国立循環器病センターが中心となりヒュービット、三共研究所で行われ解析結果は国立循環器病センターにおいて安全に保管されます。

研究計画等の開示：

希望があれば、この研究の研究計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合も用意します。

(3) 試料提供者にもたらされる利益および不利益

本遺伝子解析研究の結果があなたに有益な情報をもたらす可能性は非常に低いと考えられます。まれに、遺伝子の分析研究の結果、偶然に重大な病気との関係が見つかることがあります。この時は、あなたあるいはあなたの家族や血縁者がその結果を知ることが有益であると判断される場合に限って、診療を担当する医師に、その結果の説明につき照会されることがあります。この場合でもあなたの承諾なしに結果が開示されることはありません。研究の成果は今後の医学の発展に寄与します。その結果、将来、あなたと同じような病気に苦しむ方々の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになるかもしれません。

本研究では、遺伝子の研究結果があなたに提供していただいた試料によるものであることが特定されないように種々の歯止めを設けます。当センターでは、個人情報識別管理者による厳重な個人情報の管理により、被検者に不利益が起こらないような責任体制を組織しています。

(4) 個人情報の保護

遺伝子の研究結果は、様々な問題を引き起こす可能性があるため、他の人に漏れないように、取扱いを慎重に行う必要があります。あなたの住所、氏名、生年月日などの個人情報と診療情報は専用のコンピュータに入力後、検体には匿名化された番号がつけられ、本研究に関係しない第三者により安全に管理されます。あなたの個人情報とこの番号を結びつける対応表は、個人情報識別管理者（研究所副所長）が厳重に保管します。このようにすることによって、あなたの遺伝子の分析結果は、分析を行う研究者にも、あなたのものであると分からなくなります。ただし、遺伝子解析の結果についてあなたに説明する場合など、必要な場合には、符号を元の氏名などに戻す操作を行い、結果をあなたにお知らせすることが可能になります。このような個人情報の保護の方法を連結可能匿名化といいます。

(5) 遺伝子解析結果の開示

本研究は、多くの方々の協力を得て、循環器病にかかっている患者さんに対して、その治療に用いている薬の効果や副作用がでる集団とそうでない集団など、それぞれの集団の間に遺伝子の違いがあるかどうかを比べるものです。この結果、なんらかの違いが見いだされたとしても、その違いと病気との関係などを明らかにするには、まだまだ多くの研究が必要となります。したがって、あなた個人の病気の治療などに有益な結果が出る可能性は極めて低く、あなたを含め、だれにも解析結果を開示することはありません。研究の結果、重大な病気との関係が見つかり、あなたやあなたの血縁者がその結果を知ることが有益であると判断される場合に限り、診療を担当する医師からあなたに、その結果の説明を受けるか否か問い合わせることがあります。

研究の進み具合やその成果、学術的な意義については、定期的に、また、あなたの求めに応じ、分かりやすい形で、公表あるいは説明がされます。

(6) 研究成果の公表

あなたの協力によって得られた研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名などが明らかにならないようにした上で、学会発表や学術雑誌およびデータベース上で公に発表されることがあります。

(7) 研究から生じる知的財産権の帰属

遺伝子解析研究の結果として特許権などが生じる可能性があります、その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関および研究遂行者などに属し、あなたには属しません。また、その特許権などをもととして経済的利益が生じる可能性があります、あなたはこれについても権利があるとは言えません。

(8) 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱の方針

あなたの血液などの試料は、原則として本研究のために用いさせていただきます。しかし、もし、あなたが同意してくだされば、将来の研究のための貴重な資源として、研究終了後も保管させていただきます。この場合も、(4)で説明した方法により、分析を行う研究者にはどこの誰の試料かが分からないようにした上で、試料が使い切られるまで保管します。なお、将来、試料を研究に用いる場合は、改めてその研究計画書を倫理審査委員会において承認を受けた上で利用します。

あなたの試料について、本研究計画の終了後も、保管させていただけるか、廃棄を希望されるか、そのどちらかを同意書に署名お願い致します。

(9) 費用負担に関する事項

ここで行われる遺伝子解析研究に必要な費用は、厚生労働省の研究費から出され、あなたが負担することはありません。また、交通費などの支給は行いません。遺伝子解析以外の一般診療に要する費用のうち自己負担分については、従前とおりにあなたに負担していただきます。

(10) 遺伝カウンセリングの体制

あなたが、病気のことや遺伝子解析研究に関して、不安に思うことがあったり、相談したいことがある場合に備えて、遺伝カウンセリングを行っています。ここでは、遺伝カウンセリング担当者があなたの相談を受けることが可能です。主治医、インフォームド・コンセント担当者にその旨申し出てください。

平成 年 月 日

研究実施機関名および責任者

国立循環器病センター

北風 政史

お問い合わせ先

吹田市藤白台 5-7-1

国立循環器病センター

TEL(06)6833-5012

心不全の発症・進展に関係すると想定される遺伝子

以下に挙げる遺伝子は、動物心不全モデルや少数臨床例で心不全の発症・進展に関係する可能性があると考えられる遺伝子です。実際にどの遺伝子が重要であるかは解析を進めなければわかりませんので、各々の遺伝子について詳しく遺伝子解析する可能性があります。

ANP、BNP、tissue inhibitor of metalloproteinases、CSF-1、bone small proteoglycan I (biglycan)、calcium dependent protease (small subunit)、thrombospondin-4、thyroid hormone binding protein (p55)、Fibronectin、Alt. Splice 1、immunoglobulin kappa constant、SNC73 protein (SNC73)、collagen alpha-2 type I、COL 1、Ig rearranged lambda-chain、pro-alpha-1 type 3 collagen、COL 3、rearranged immunoglobulin lambda light cha、immunoglobulin lambda heavy chain、filamin A、alpha (actin-binding protein-28、microfibril-associated glycoprotein 4、H factor-1 (complement)、electron transfer flavoprotein beta subunit、BCL2-associated X protein、ubiquitin-conjugating enzyme E2M、trinucleotide repeat containing 3、lumican、connective tissue growth factor、prolargin (PRELP)、cellular fibronectin、osteoblast specific factor 2 (OSF-2os)、latent transforming growth factor-beta bin、insulin-like growth factor binding protein、HRIHFB2007、SNC73 protein (SNC73)、collagen、type I、alpha 2、nuclear receptor subfamily 1、group I、mem、Shank postsynaptic density protein 3a、KIAA1599 protein、nuclear LIM interactor-interacting factor、FLJ21310、divalent cation tolerant protein CUTA、anaphase promoting complex subunit 11、hepatocellular carcinoma-associated antigen、LOC51693、DKFZP586G1122 protein highly similar to Mu、secreted modular calcium-binding protein 2、FLJ22428、contains similarity to cell wall-plasma membrane、fatty acid desaturase 3、protein x 0001、vacuolar sorting protein 4、(repeat) hypothetical protein 1e-25 CAB43、NY-REN-18 antigen、KIAA1599 protein、NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 beta subunit、protein tyrosine phosphatase、receptor、NPD007 protein、connective tissue growth factor、immunoglobulin lambda locus、collagen、type I、alpha 2、lymphoid blast crisis oncogene、IG GAMMA-1 CHAIN C REGION、clusterin、(repeat) granulocyte-macrophage colony-stimulating factor、(repeat) molybdenum cofactor synthase sulfurylas、NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha、solute carrier family 17、KIAA1078 protein、glioma tumor suppressor candidate region g、tubulin、alpha、ubiquitous、hypothetical protein MGC2616、(repeat) mRNA for SYT、NEU1 protein、annexin A2、Human X (inactive)-specific transcript、FLJ21756 fis、clone COLF6691、secreted protein of unknown function、leukemia-associated phosphoprotein p18、Human mRNA for steroid hormone receptor X、neural proliferation、carboxy terminus of Hsp70-interacting protein、GT212 mRNA、SNC73 protein (SNC73)、hypothetical protein FLJ13660 similar to C、hypothetical

protein FLJ22386, Ig lambda heavy chain, SNC73 protein (SNC73), complement component 4A, profilin 1, biglycan, transferrin receptor (TFRC) gene AF187320, CGI-06 protein, EST, skeletal muscle alpha-actin gene, insulin-like growth factor-binding protein, interleukin 11 receptor, alpha, KIAA0614, immunoglobulin lambda locus, latent transforming growth factor-beta binding protein, SPARC/osteonectin, testican-1, biglycan, alpha-5 collagen type IV (COL4A5), insulin receptor, precursor, hypothetical protein FLJ12895 XM_016508.1, Similar to gp25L2 protein, dihydropyrimidinase-like 3 (DPYSL3), EST AL359062, placental taurine transporter, myosin, light polypeptide 6, alkali, smoot, FLJ12392 fish, clone MAMMA1002699, highly similar, KIAA1297 protein, FLJ22957 highly similar to HSU20285 Human, gelsolin, FLJ23019, 14 kd lectin, nuclear calmodulin-binding protein, FLJ20648, NJAC protein (NJAC), EST, hypothetical protein FLJ20401, heat-shock protein 30, Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 2 protein, EST, Ambystoma macrodactylum internal transcribed RNA recognition motif, myosin light chain 2a, heat shock transcription factor 4, Mucin 3, Intestinal, KIAA0841 protein, lipopolysaccharide binding protein, prostate specific antigen, embryonic myosin alkaline light chain, RNA polymerase II elongation factor ELL2, menin (MEN1), D15F37 pseudogene, FLJ21880, hypothetical protein FLJ10890, TP53TG3a, hypothetical protein FLJ11142, ESTs, Weakly similar to ORF11 [H. sapiens], hypothetical protein FLJ23445, secretory carrier membrane protein 2, DKFZp56400122, FLJ23447, peroxisomal membrane protein-1-like protein, hypothetical protein FLJ22362, EST genomic DNA, chromosome 21q, MEN1 region clone epsilon/beta, mariner2 transposable element, FLJ22493, myosin light chain 2a

心不全における遺伝子発現プロファイル作成
およびテーラーメイド医療の確立

分担研究者 宮武邦夫 国立循環器病センター 副院長

研究要旨

心血管疾患は日本人の死因第 2 位を占め、その最終終末像である心不全の予後は極めて悪く、その克服は医学的にも社会的にも急務となっている。心不全の予後を著しく改善することは内科的には困難で、心臓移植に頼るほかないのが現状である。心臓移植に内科的立場より携わる我々は、移植待機患者が移植をうけることなく死亡していくことを経験するにつれ、新しい心不全治療の開発の必要性を痛感する。さらに高齢者増加による心不全患者増加が必至な将来、医療費抑制の観点からも、心不全の発症予防および進行予防の開発が最重要課題であることは疑う余地も無い。近年遺伝子解析技術の急速な進歩により、病態解明へのアプローチにおける大転換期にある。そこで、新しい遺伝子解析技術を駆使し、テーラーメイド医療に向けての新しい心不全診断・治療の開発を目指す事を本研究の目的とし、3 段階に分けた研究計画を立てている。

【第一段階】心不全関連遺伝子プロファイルの作成(DNA チップを用いた検討)

【第二段階】心不全関連遺伝子の機能解明(①遺伝子改変動物、②蛋白機能解明、③遺伝子多型を用いた検討)

【第三段階】心不全診断・治療の開発およびテーラーメイド医療の確立

医療費抑制に重要なテーラーメイド医療の確立に心不全関連遺伝子プロファイル作成は極めて重要である。特に心不全の病態は不均一性が強いことから、すべての遺伝子が解析可能な遺伝子プロファイルの作成は必要不可欠である。さらに本研究の成果によるわが国発の診断薬、治療薬開発が進むと、医療費抑制においてその重要性が増すことは容易に想像される。テーラーメイド医療の実現に向けて、心不全の遺伝子発現パターンと重症度や予後の臨床データとの組み合わせから、心不全治療の薬剤を詳細に評価可能となる。本研究がなされれば、心不全の診断および治療に関する重要な知見が得られ、わが国の循環器病克服に多大な貢献をするものと考えられる。

A. 研究目的

日本人死因の第 2 位を占める心血管疾患の最終終末像の大半が心不全を呈する。しかし、現在の心不全治療において内科的治療では限界があり、心臓移植に頼るほかないのが現状である。心臓移植を内科的立場より携わる一員として、移植を受けられずに死亡する胃移植待機患者を経験する中で、新しい心不全治療開発の必要性を痛感する。さらに高齢者増加による心不全患者の増加は必至であり、厚生行政の最重要課題である医療費抑制の観点からもその適切な治療法の開発は急務である。しかし心不全は原因疾患が多岐にわたり病態が不均一であるという理由から心不全に関する研究は十分進んでいない。近年の遺伝子解析技術の急速な進歩により、病態解明へのアプローチに対する大転換期にある。そこで申請者は、遺伝子解析技術を駆使し新しい心不全治療の展開を目指す。

B. 研究方法

1. 心不全特異的遺伝子の遺伝子多型の検討

診断・治療において有用になりうる遺伝子多型の検討を行う。心不全特異的遺伝子の報告がなされている遺伝子多型をサーチする。可能性の高い遺伝子を中心に遺伝子多型の解析を行う。

(倫理面への配慮)

厚生省の指針に基づいて、十分な注意を払い本研究を行う。特に得られた情報の管理には、外部に漏洩しないように対策を行う。また、遺伝子発現レベルを検討する研究であることから、患者に対しての十分なインフォームドコンセントを得るよう努力する。

C. 研究結果

ヒト遺伝子多型の解析について、倫理委員会の承認を得て国立循環器病センターで約 100 例の採血・検体処理を終了した。

現在、遺伝子多型解析を目的に、拡張型心筋症患者を中心にインフォームドコンセントを得るため倫理委員会の申請を行い、承認をえた。現在、実際に拡