

研究報告書表紙

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

拡張型心筋症に対する $\beta$ 遮断薬療法の個別化医療実現のための研究

平成15年度 総括研究報告書

主任研究者 吉川 純一

平成16(2004)年 4月

## 研究報告書目次レイアウト

## 目 次

I. 総括研究報告		
拡張型心筋症に対する $\beta$ 遮断薬療法の 個別化医療実現のための研究	-----	1
吉川純一		
II. 分担研究報告		
1. 遺伝子多型解析に関する研究	-----	5
東 純一		
(資料) 判定候補遺伝子一覧		
2. 拡張型心筋症に対する 個別化医療実現のための研究	-----	10
岡本 洋		
3. 拡張型心筋症に対する 個別改良実現のための研究	-----	12
北畠 顕		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	14
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	

厚生労働省科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
総括研究報告書

拡張型心筋症に対するβ遮断薬療法の個別化医療実現のための研究

主任研究者 吉川 純一

大阪市立大学医学部付属病院  
病院長

研究要旨

拡張型心筋症は、心拍出量の低下、それに反応して活性化される神経体液因子による心筋のリモデリング、その結果生じるさらなる心拍出量の低下という悪循環により、進行性に心機能が低下し、心不全が増悪しついには死にいたる疾患である。近年、神経体液因子、中でもカテコラミンが悪循環の増悪因子として患者の予後に関与していることが明らかになり、その受容体であるアドレナリンβ受容体に対する遮断薬が心不全の進行を抑制し、死亡率の低下、心事故頻度の低下、入院回数の減少をもたらすことが示された。しかしながら、β遮断薬療法に関する未解決の問題点として、（１）β遮断薬療法に対しresponder、non-responderが存在し、non-responderへのβ遮断薬の投与は心不全を増悪させる危険性が高いこと、（２）最終投与量が、症例により著しく異なることから投与目標量に指標がないこと、が挙げられる。そこで、（１）アドレナリン受容体遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子の遺伝子多型に基づきβ遮断薬療法に対する反応性を予測し、responder、non-responderの推定を実現すること（２）β遮断薬代謝酵素の多型により血中濃度を予測し最終投与量の目標値を遺伝子多型ごとに設定すること、を目的として、本研究を施行した。遺伝子解析手法はprimer extension法を用い、SNPs解析を行った。アドレナリン受容体遺伝子多型β1Ser49Gly、β1Arg389Gly、β2Arg16Gly、β2Gln27Gluに関しては、日本人においてはいずれの遺伝子多型も健常人と比して拡張型心筋症症例での頻度の増加をみとめなかった。また、アドレナリンα2C受容体の変異は、日本人においては重要性が低かった。β1Ser49Gly、β2Arg16Gly、β2Gln27Glu多型とβ遮断薬に対する反応性に相関を認めた。日本人において、アドレナリン受容体遺伝子多型の頻度や、心不全発症とアドレナリン受容体遺伝子多型の関連性も白人・黒人と異なっており、今後我が国独自の研究が必要であり、日本人独自のデータ蓄積と確立が必要であると考えられる。また、今後さらに症例数の増加を試み、β遮断薬代謝酵素の多型により血中濃度を予測し最終投与量の目標値を遺伝子多型ごとに設定することも大切であると考えられる。

総括研究者 吉川 純一  
大阪市立大学医学部  
付属病院  
病院長

A. 研究目的

社会の高齢化に伴い我が国における疾病構造に大きな変化が認められるようになった。中でも心血管系疾患およびその終末像である慢性心不全の増加は、医学的な問題だけでなく社会的な問題となりつつある。拡張型心筋症は、心拍出量の低下、それに反応して活性化される神経体液因子による心筋のリモデリング、その結果生じるさらなる心拍出量の低下という悪循環により、進行性に心機能が低下し、心不全が増悪しついには死にいたる疾患である。近年、神経体液

因子、中でもカテコラミンが悪循環の増悪因子として患者の予後に関与していることが明らかになり、その受容体であるアドレナリンβ受容体に対する遮断薬が心不全の進行を抑制し、死亡率の低下、心事故頻度の低下、入院回数の減少をもたらすことが示された。しかしながら、β遮断薬療法に関する未解決の問題点として、（１）β遮断薬療法に対しresponder、non-responderが存在し、non-responderへのβ遮断薬の投与は心不全を増悪させる危険性が高いこと、（２）最終投与量が、症例により著しく異なることから投与目標量に指標がないこと、が挙げられる。本研究は（１）アドレナリン受容体遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子の遺伝子多型に基づきβ遮断薬療法に対する反応性を予測し、

responder, non-responder の推定を実現すること (2)  $\beta$ 遮断薬代謝酵素の多型により血中濃度を予測し最終投与量の目標値を遺伝子多型ごとに設定すること、を目的としている。すなわち、本研究の目的は、心不全における $\beta$ 遮断薬療法の個別化適正医療の実現にあり、具体的には薬物標的遺伝子の遺伝子多型判定による responder の選定 (質の適正化) と $\beta$ 遮断薬の代謝酵素の多型判定に基づく投与量設定 (量の適正化) を実現することにある。

## B. 研究方法

(1) 拡張型心筋症の増悪にカテコラミン系が重要であることが知られている。本研究では拡張型心筋症におけるアドレナリン受容体遺伝子多型を検討し、拡張型心筋症における遺伝子多型出現頻度を健常人と比較する。さらに、特発性拡張型心筋症・虚血性心筋症間で同様の比較を行い、特発性拡張型心筋症の発症進展に関与する遺伝子多型を追究する。また、(2) 拡張型心筋症患者を心臓超音波検査から、 $\beta$ 遮断薬投与により心機能が改善する群(responder)と改善しない群(non-responder)に分類し、アドレナリン受容体遺伝子多型と $\beta$ 遮断薬治療の反応性を検討する。また、(3) 多くの $\beta$ 遮断薬は抗酸化作用を有しており、酸化ストレス関連遺伝子の機能的な差異が $\beta$ 遮断薬の有効性を規定している可能性がある。そこで、酸化ストレス関連遺伝子の遺伝子多型に関し、拡張型心筋症における頻度解析、 $\beta$ 遮断薬治療に対する responder, non-responder での頻度解析を行う。遺伝子多型としては、MnSOD (A161Val)、eNOS (Glu298Asp)、ApoE ( $\epsilon$ 2/3/4)、PAF-AH (Val279Phe)、ACE (I/D)、ET受容体 (C1363T)を解析対象としている。さらには、(4)  $\beta$ 遮断薬治療をうけている拡張型心筋症患者におけるCYPs遺伝子多型を解析するとともに血中薬物濃度の測定を行う。両データを参照し、遺伝子多型に基づいた $\beta$ 遮断薬投与量設計を行う。特にnon-responderにおける遺伝子多型および血中濃度から過剰投与症例を抽出し、CYPs遺伝子多型に基づく「量」の個別化適正投与の有用性を検討する。遺伝子解析手法はprimer

extension法を用い、SNPs解析を行う。

## (倫理面への配慮)

遺伝子解析は、大阪大学大学院薬学研究科にて大阪大学倫理委員会の承認のもと実施する。各医療機関で匿名化した血液サンプルからDNAを精製し多型判定を行う。精製したDNAは大阪大学大学院薬学研究科にて管理保存する。

血液検体の採取は、大阪市立大学および北海道大学倫理委員会の承認のもと実施する。北海道大学および大阪市立大学循環器内科受診中の患者から承諾書を得たのち採血を行う。承諾書は倫理委員会の同意に基づき作成する。採取した血液サンプルは、両医療機関にて匿名化したのち大阪大学に発送する。

## C. 研究結果

健常人と特発性拡張型心筋症患者において、アドレナリン受容体遺伝子多型 $\beta$ 1Ser49Gly、 $\beta$ 1Arg389Gly、 $\beta$ 2Arg16Gly、 $\beta$ 2Gln27Gluに関しそれぞれの遺伝子多型頻度を検討し、その結果、黒人・白人の場合と異なり、日本人においてはいずれの遺伝子多型も健常人と比して拡張型心筋症症例での頻度の増加をみとめなかった。また、白人・黒人において心不全発症に重要と報告されているアドレナリン $\alpha$ 2C受容体の変異は、日本人においては重要性が低かった。また、 $\beta$ 遮断薬に対する反応性を心臓超音波検査により検討し、 $\beta$ 1Ser49Gly、 $\beta$ 2Arg16Gly、 $\beta$ 2Gln27Glu多型と $\beta$ 遮断薬に対する反応性に相関を認めた。

## D. 考察

日本人においては、アドレナリン受容体遺伝子多型の頻度が欧米人と異なっており、今後もひきつづき我が国独自の研究が必要である。またアドレナリン受容体遺伝子多型に関する報告の多くは、多型とアドレナリン反応性との相関もしくは、多型と疾患頻度との相関にとどまっており、治療との関連性を論ずるには至っていない。本研究では、治療との関連性への追求も行っており、ひきつづき症例数の増加を試み、日本人独自のデータを蓄積し、確立する必要があると考えられる。

## E. 結論

アドレナリン受容体遺伝子多型  $\beta$ 1Ser49Gly、 $\beta$ 1Arg389Gly、 $\beta$ 2Arg16Gly、 $\beta$ 2Gln27Gluに関しては、日本人においてはいずれの遺伝子多型も健常人と比して拡張型心筋症症例での頻度の増加をみとめなかった。また、アドレナリン  $\alpha$ 2C受容体の変異は、日本人においては重要性が低かった。 $\beta$ 1Ser49Gly、 $\beta$ 2Arg16Gly、 $\beta$ 2Gln27Glu多型と $\beta$ 遮断薬に対する反応性に相関を認めた。日本人において、アドレナリン受容体遺伝子多型の頻度や、心不全発症とアドレナリン受容体遺伝子多型の関連性も白人・黒人と異なっており、今後我が国独自の研究が必要であり、日本人独自のデータ蓄積と確立が必要であると考えられる。また、今後さらに症例数の増加を試み、 $\beta$ 遮断薬代謝酵素の多型により血中濃度を予測し最終投与量の目標値を遺伝子多型ごとに設定することも大切であると考えられる。これらの結果、個別化適正医療により迅速且つ安全に $\beta$ 遮断薬を導入することが可能になれば、心不全患者の予後および生活の質の改善、入院期間の短縮に寄与するものと考えられる。さらに、医療経済学的にも多大な貢献をするものと考えられる。

## F. 健康危険情報

特に認めていない。

## G. 研究発表

1. Sumita, C., Maeda, M., Fujio, Y., Kim, J., Fujitsu, J., Kasayama, S., Yamamoto, I., Azuma, J. (2004) Pioglitazone Induces Plasma Platelet Activating Factor-Acetylhydrolase and Inhibits Platelet Activating Factor-mediated Cytoskeletal Reorganization in Macrophage. *Biochim. Biophys. Acta.* in press
2. Takatani, T., Takahashi, K., Uozumi, Y., Matsuda, T., Ito, T., Schaffer, S. W., Fujio, Y., Azuma, J. (2004) Taurine prevents the ischemia-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes through Akt/caspase-9 pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 316, 484-489

3. Fukuda T, Onishi S, Fukuen S, Ikenaga Y, Ohno M, Hoshino K, Matsumoto K, Maihara A, Momiyama K, Ito T, Fujio Y and Azuma J (2004) CYP3A5 genotype did not impact on nifedipine disposition in healthy volunteers. *Pharmacogenomics J* 4,34-36
4. Yamamoto I, Fujitsu J, Nohnen S, Igarashi T, Motomura T, Inaba M, Tsubakimori S, Azuma J (2003) Association of plasma PAF acetylhydrolase gene polymorphism with IMT of carotid arteries in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 59, 219-224
5. Hanatani T, Fukuda T, Onishi S, Funae Y, Azuma J (2003) No major difference in inhibitory susceptibility between CYP2C9.1 and CYP2C9.3. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 59, 233-5
6. Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Nishida M, Fujitsu J, Nonen S, Igarashi T, Motomura T, Inaba M, Fujio Y, Azuma J (2003) MTHFR gene polymorphism as a risk factor for diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients without serum creatinine elevation. *Diabetes Care*, 26, 547-8
7. Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Nishida M, Fujitsu J, Nonen S, Igarashi T, Motomura T, Fujio Y, Azuma J (2003) Diabetic Retinopathy Possibly Results From Poor Blood Sugar Control Associated With MTHFR Gene Polymorphism in Type 2 Diabetic Patients: Response to yoshioka et al. *Diabetes Care*, 26, 1948
8. Maeda M, Yamamoto I, Fujio Y, Azuma J (2003) Homocysteine induces vascular endothelial growth factor expression in differentiated THP-1 macrophages. *Biochem. Biophys. Acta*, 1623, 41-46
9. Takatani T, Takahashi K, Itoh T, Takahashi K, Hirata M, Yamamoto Y, Ohmoto M, Schaffer SW, Azuma J (2003) Cellular characterization of taurine transporter in cultured cardiac myocytes and nonmyocytes. *Adv Exp Med Biol*, 526, 25-31
10. Takahashi K, Yamada T, Azuma M, Ouyabu Y, Takahashi K, Schaffer S.W., Azuma J (2003) Taurine transporter in primary cultured neonatal rat heart cells: A comparison between myocytes and nonmyocytes. *Biochemical Pharmacol*, 65, 1181-1187
11. Takahashi K, Ohyabu Y, Takahashi K, Solodushko V, Itho T, Schaffer S.W. Azuma J (2003) Taurine renders the cell resistant to ischemia-induced injury in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *J Cardio Pharmacol*, 41, 726-733

12. Takahashi K., Uejima E., Morisaki T., Takahashi K., Kurokawa Nobuo., Azuma J. (2003) In vitro inhibition studies of kampo medicines on metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes. J Clinical Pharmacy Therapeu, 28, 319-327
13. Takahashi K, Matsuda H, Kinoshita K, Matsunaga N, Sumita A, Matsuda T, Takahashi K, Azuma J (2003) Modulation of taurine on CYP3A4 induction by rifampicin in HepG2 cell line. Adv Exp Med Biol, 526, 237-244.
14. Schaffer SW, Azuma J, Takahashi K, Mozaffari M (2003) Why is taurine cytoprotective? Adv Exp Med Biol, 526, 307-321
15. Toshihiro Shimizu, Hiroshi Okamoto, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Jia Nan, Hisao Onozuka, Taisei Mikami, and Akira Kitabatake. Altered Microvasculature is Involved in Remodeling Process in cardiomyopathic Hamsters. Jpn Heart J 44:111-126, 2003
16. Shimizu T, Okamoto H, Chiba S, Matsui Y, Sugawara T, Akino M, J, Kumamoto H, Onozuka H, Mikami T, Kitabatake A. VEGF-mediated angiogenesis is impaired by angiotensin type 1 receptor blockade in cardiomyopathic hamster hearts. Cardiovasc Res 58(1):203-212, 2003
17. Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Toshihiro Shimizu, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Akira Kitabatake. A Newly Developed Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist, CS866, Regress Cardiac Hypertrophy Through Reduction in Beta-1 Integrin Expression. Hypertens Res 26:737-742, 2003
18. Yutaka Matsui, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Katsunari Tezuka, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, Tadaaki Miyazaki, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede. Adenovirus-mediated gene transfer of ICOSlg fusion protein ameliorates ongoing experimental autoimmune myocarditis Human Gene Therapy 14:521-532, 2003
19. Yutaka Matsui, Susan Rittling, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, David Denhardt, Akira Kitabatake, Toshimitsu Uede. Osteopontin Deficiency Attenuates Atherosclerosis in Female Apolipoprotein E-Deficient Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 23:1029-1034, 2003
20. Yutaka Matsui, Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Shigeyuki Kon, Hisao Onozuka, Masatoshi Akino, Lizhi Liu, Junko Morimoto, Susan R. Fitting, David Dephardt, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede. Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. Hypertension, in press.
21. Hozumi T, Eisenverg M, Sugioka K, Kokkirala AR, Watanabe H, Teragaki M, Yoshikawa J. Changes in coronary flow reserve on transthoracic Doppler echocardiography after a single high-fat meal in young healthy men. Ann Intern Med 2002 136:523-528.
22. Otuka R, Watanabe H, Hirata K, Tokai K, Muro T, Yoshiyama M, Takeuchi K, Yoshikawa J. Acute effects of passive smoking on the coronary circulation in healthy young adults. JAMA 2001 286(4):436-441.
23. Daimon M, Watanabe H, Yamagishi H, Muro T, Akioka K, Hirata K, Takeuchi K, Yoshikawa J. Physiologic assessment of coronary artery stenosis by coronary flow reserve measurements with transthoracic Doppler echocardiography: Comparison with exercise thallium-201 single-photon emission computed tomography. J Am Coll Cardiol 2001 37(5):1310-1315.

H. 知的財産権の出願・登録状況

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。

厚生労働省科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
分担研究報告書

拡張型心筋症に対するβ遮断薬療法の個別化医療実現のための研究  
分担研究者 東 純一  
大阪大学大学院薬学研究科

研究要旨

**背景・目的** β遮断薬は、ACE阻害剤とともに、心不全治療における第一選択薬となりつつある。β遮断薬は、心不全の生命予後を改善するのみならず、約半数の症例において、心機能を改善し心不全患者の運動耐用能を著しく改善することを特徴とする。本研究は、遺伝子多型に基づき、心機能の改善例を予測、抽出することにより、心不全におけるβ遮断薬の個別化適正医療実現のための基盤を確立することを目的とする。計画 分担研究者は、本研究のうち遺伝子解析を担当している。北海道大学および大阪市立大学附属病院受診中の拡張型心筋症患者を対象とし、β遮断薬投与による心機能改善例を responder、非改善例あるいは悪化例を non-responder とする。本研究では、以下の2点に関し重点的に研究を遂行しつつある：

β遮断薬関連遺伝子多型の日本人健常者、および拡張型心筋症患者における頻度解析：当該分野は、海外においても急速な進歩を示している領域であり、将来、海外データの国内へのブリッジングに備えることが重要である。β遮断薬関連遺伝子の遺伝子多型頻度を健常人および心筋症患者に関し、日本人において検討する。

β遮断薬反応性に関与する遺伝子多型の解析：responder および non-responder の2群間でのβ遮断薬関連遺伝子の多型頻度を比較する。

**成果** これまで、α2C受容体遺伝子多型が、白人黒人において心不全発症に重要とされてきたが、今回、われわれの研究から、日本人拡張型心筋症患者においては、その寄与度は低いことが明らかになった (submitted)。また、β2受容体遺伝子多型が、β遮断薬に対する反応性を規定する重要な因子のひとつであることを明らかにしつつある (manuscript in preparation)。また、当初、遺伝子多型は、PCR-RFLP法により解析を行ってきたが、対象とする遺伝子多型を増やす過程で、質量分析をもちいた primer extension 法に方法を変更しつつある。この方法により、解析の迅速性、正確性が著しく向上することが期待される。

分担研究者 東 純一  
大阪大学大学院薬学研究科

A. 研究目的

Pharmacogenomics の進歩に伴い、薬物の有効性が、薬物関連遺伝子の遺伝子多型により影響を受けるといふ仮説が、臨床的に強く支持されるようになりつつある。このことは、薬物関連遺伝子の遺伝子多型を解析することで疾患の治療法を選択するという、個別化適正医療実現の可能性を意味するが、その実現が医学的、社会的に意味をもつためには、

(1) 個別化適正医療を導入することにより、患者の生命予後、生活の質・活動性の改善が期待される疾患を対象とすること、(2) 対象とする疾患に対する有効性が大規模臨床試験により、

科学的根拠 (Evidence Based Medicine) を得ている治療薬を対象とすること、という2つの条件を満たす必要があると考えられる。

拡張型心筋症は、著しい心機能の低下の結果、不良な予後を示すとともに、患者の活動性に制限を課する難病である。最近、β遮断薬が、心不全の生命予後を改善するのみならず、心機能の改善をもたらすことが大規模臨床試験により示されている。一方、β遮断薬は、心不全治療薬であると同時に、陰性変力作用を有し、心機能を低下させるあるいは無効である症例が存在することが知られている。本研究は、遺伝子多型の解析から有効例、無効例を投与前に予測するための科学的基盤を形成することを目的とする。

## B. 研究方法

### B-1) 研究概要

$\beta$  遮断薬関連遺伝子多型の日本人健常人、および拡張型心筋症患者における頻度解析: 拡張型心筋症における  $\beta$  遮断薬関連遺伝子多型を検討し、拡張型心筋症における遺伝子多型出現頻度を健常人と比較する。同時に、海外で報告されている当該遺伝子の頻度と比較検討し、人種間のブリッジングのための基礎データを得る。

$\beta$  遮断薬反応性に寄与する遺伝子多型の解析: 心臓超音波検査により、 $\beta$  遮断薬投与により心機能が改善する群 (responder) と改善しない群 (non-responder) に分類し、 $\beta$  遮断薬関連遺伝子多型と  $\beta$  遮断薬治療の反応性を検討する。

### B-2) 解析対象遺伝子多型の抽出と解析

方法の確立: 解析対象とする SNPs は、文献およびインターネット上 SNP サイトを検索し、多型が生物学的変異を伴っていることを条件に 1 遺伝子あたり 2 個以上抽出することを原則とした。

(1)  $\beta$  遮断薬代謝酵素:  $\beta$  遮断薬は、CYPs により代謝される。 $\beta$  遮断薬の代謝に関与する CYPs の遺伝子多型とその生体内での意義 (薬物血中濃度、有効性など) を検討した (後述)。

(2) アドレナリン受容体:  $\alpha$  受容体、 $\beta$  受容体の遺伝子多型は、心不全発症に関与しているとの報告もあり、健常人と拡張型心筋症患者間での多型頻度、responder、non-responder 間での多型頻度の解析を行った (後述)。

(3) その他: 多くの  $\beta$  遮断薬は抗酸化作用を有しており、酸化ストレス関連遺伝子の機能的な差異が  $\beta$  遮断薬の有効性を規定している可能性がある。そこで、酸化ストレス関連遺伝子の遺伝子多型に関し、拡張型心筋症における頻度解析、 $\beta$  遮断薬治療に対する responder、non-responder での頻度解析を行いつつある。

総数約 200SNPs を解析する予定にしており、解析の正確性と迅速性の向上のため primer extension 法を採用しアッセイ条件を確立しつつある (後述)。

### (倫理面への配慮)

遺伝子解析は、大阪大学大学院薬学研究科にて大阪大学倫理委員会の承認のもと実施する。各医療機関で匿名化した血液サンプルから DNA を精製し多型判定を行う。精製した DNA は大阪大学大学院薬学研究科にて管理保存する。

血液検体の採取は、大阪市立大学および北海道大学倫理委員会の承認のもと実施する。北海道大学および大阪市立大学循環器内科受診中の患者から承諾書を得たのち採血を行う。承諾書は倫理委員会の同意に基づき作成する。採取した血液サンプルは、両医療機関にて匿名化したのち大阪大学に発送する。

## C. 研究結果・進行状況

解析結果、進行状況を遺伝子ごとに述べる。

### (1) $\beta$ 遮断薬代謝酵素

1-1) CYP2D6:  $\beta$  遮断薬の多くは、CYP2D6 により代謝される。CYP2D6 の機能に関わる遺伝子型の抽出とその検証を行った。今回、responder と non-responder において、 $\beta$  遮断薬薬物血中濃度と CYP2D6 遺伝子多型の関連を検討した。現時点においては、遺伝子多型と反応性、血中濃度に関する明確な相関は得ていないが、血中濃度が、症例ごとに大きく異なっており、症例の蓄積と共に動態に影響を及ぼす他の因子の詳細な検討が今後必須と考えられた。

1-2) CYP3A:  $\beta$  遮断薬のなかでも心不全治療にカルベジロールが多く使用される。カルベジロールは CYP2D6 に加え、CYP3A 活性により一部代謝されることが知られている。最近、CYP3A 活性の個体差に CYP3A5 の多型が関与している可能性が示唆された。本研究で、CYP3A5 遺伝子多型を解析対象とするかどうかを決定するため、生体内における CYP3A5 遺伝子多型の寄与度を、より CYP3A 特異性の高い薬剤を用いて検討した。その結果、CYP3A5 遺伝子多型が、CYP3A 活性に及ぼす影響は、当初の予想よりも小さいことが明らかになった (Pharmacogenomics J.)。その結果、カルベジロール代謝においても、CYP3A5 遺伝子多型がカルベジロールの血中濃度を決定する可能性は低いものと考えられた。



1-3) UGT1A1:カルベジロールの抱合代謝にUGT1A1が関与している可能性が指摘されている。これらの遺伝子多型の検出方法を確立し、生体内物質との関連性を通して精度の検証を行った。また、当該患者を対象に検討を開始した。

### (2) アドレナリン受容体

2-1) アドレナリン受容体遺伝子多型の日本人健常者、および拡張型心筋症患者における頻度解析:白人・黒人において、 $\alpha 2C$ 受容体の変異が、心不全発症に関与している可能性が報告されている。そこで他のアドレナリン受容体遺伝子多型 ( $\beta 1$  Ser49Gly、 $\beta 1$  Arg389Gly、 $\beta 2$  Arg16Gly、 $\beta 2$  Gln27Glu) も含め、日本人においてアドレナリン受容体遺伝子多型頻度を検討した。その結果、黒人・白人心不全症例と異なり、日本人においてはいずれの遺伝子多型も健常人と比して拡張型心筋症症例での頻度の増加を認めなかった。日本人においては、アドレナリン受容体遺伝子多型の頻度が欧米人と異なっており、しかも、心不全発症への寄与度が欧米人と異なる可能性が示された。この結果は、日本人を対象とした我が国独自の薬剤反応性に関するエビデンスが必要であることを示している (submitted)。

2-2)  $\beta$ 遮断薬反応性に寄与する遺伝子多型の解析: $\beta$ 遮断薬に対する反応性を心臓超音波検査により検討し、上記遺伝子多型と $\beta$ 遮断薬に対する反応性の相関を認検討した。その結果、 $\beta 2$ 受容体のダウンレギュレーションに関与する遺伝子多型である $\beta 2$ Arg16Gly、 $\beta 2$ Gln27Gluが、 $\beta$ 遮断薬の有効性に関与する可能性が示唆された。現在、症例のさらなる追加を試みている (manuscript in preparation)。

### (3) その他

先述のように、生物学的意義が確認されている SNP を中心に、解析対象とする遺伝子を抽出した。対象遺伝子を参考資料に添付する。これらのうち、約半数に関しては、primer extension 法によるアッセイ系を確立している。

これらのうちで、ACE、eNOS に関しては、 $\beta$ 遮断薬の有効性との相関が期待されるデータを得つつあり、症例の蓄積を試みている。

### D. 考察、E. 結論

1) 日本人を対象とした遺伝子解析の重要性:今回の研究結果から、アドレナリン受容体等、 $\beta$ 遮断薬関連遺伝子の遺伝子多型頻度が、日本人と白人・黒人と大きく異なることが明らかになった。また、それらの遺伝子多型の心不全発症に対する寄与度も、白人・黒人と日本人では異なる可能性が示唆された。このことは、今後我が国独自の研究が必要であり、日本人独自のデータ蓄積とそれに基づいたガイドラインの確立が必要であることを示している。また、海外のデータを導入する際には、遺伝的差異を考慮に入れることが、適切なブリッジングを行うために重要であると考えられる。

2) 個別化医療実現に関する可能性:今回の結果から、 $\beta 2$ 受容体遺伝子およびACE遺伝子、eNOS遺伝子の遺伝子多型が、 $\beta$ 遮断薬に対する反応性を予知する因子となりうる可能性が示唆された。今後症例数の増加を試み、有意性の確認を行いたい。さらに臨床現場で遺伝子判定を可能にするためのDNAチップの解析対象遺伝子多型の絞り込みをはかりたい。

### F. 健康危険情報

特に認めていない。

### G. 研究発表

1. Sumita, C., Maeda, M., Fujio, Y., Kim, J., Fujitsu, J., Kasayama, S., Yamamoto, I., Azuma, J. (2004) Pioglitazone Induces Plasma Platelet Activating Factor-Acetylhydrolase and Inhibits Platelet Activating Factor-mediated Cytoskeletal Reorganization in Macrophage. *Biochim. Biophys. Acta.* in press
2. Takatani, T., Takahashi, K., Uozumi, Y., Matsuda, T., Ito, T., Schaffer, S. W., Fujio, Y., Azuma, J. (2004) Taurine prevents the ischemia-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes through Akt/caspase-9 pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 316, 484-489
3. Fukuda T, Onishi S, Fukuen S, Ikenaga Y, Ohno M, Hoshino K, Matsumoto K, Maihara A, Momiyama K, Ito T, Fujio Y and Azuma J (2004) CYP3A5 genotype did not impact on nifedipine disposition in healthy volunteers. *Pharmacogenomics J* 4,34-36

4. Yamamoto I, Fujitsu J, Nohnen S, Igarashi T, Motomura T, Inaba M, Tsubakimori S, Azuma J(2003) Association of plasma PAF acetylhydrolase gene polymorphism with IMT of carotid arteries in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.*,59, 219-224
5. Hanatani T, Fukuda T, Onishi S, Funae Y, Azuma J(2003) No major difference in inhibitory susceptibility between CYP2C9.1 and CYP2C9.3 *Eur. J. Clin. Pharmacol.*,59, 233-5
6. Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Nishida M, Fujitsu J, Nonen S, Igarashi T, Motomura T, Inaba M, Fujio Y, Azuma J(2003)MTHFR gene polymorphism as a risk factor for diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients without serum creatinine elevation. *Diabetes Care*, 26, 547-8
7. Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Nishida M, Fujitsu J, Nonen S, Igarashi T, Motomura T, Fujio Y, Azuma J(2003) Diabetic Retinopathy Possibly Results From Poor Blood Sugar Control Associated With MTHFR Gene Polymorphism in Type 2 Diabetic Patients: Response to yoshioka et al. *Diabetes Care*, 26, 1948
8. Maeda M, Yamamoto I, Fujio Y, Azuma J(2003) Homocysteine induces vascular endothelial growth factor expression in differentiated THP-1 macrophages *Biochem. Biophys. Acta*, 1623, 41-46
9. Takatani T, Takahashi K, Itoh T, Takahashi K, Hirata M, Yamamoto Y, Ohmoto M, Schaffer SW, Azuma J(2003) Cellular characterization of taurine transporter in cultured cardiac myocytes and nonmyocytes. *Adv Exp Med Biol*, 526, 25-31
10. Takahashi K., Yamada T., Azuma M., Ouyabu Y., Takahashi K., Schaffer S.W., Azuma J(2003)Taurine transporter in primary cultured neonatal rat heart cells: A comparison between myocytes and nonmyocytes. *BiochemicalPharmacol*,65,1181-1187
11. Takahashi K., Ohyabu Y., Takahashi K., Solodushko V., Itho T., Schaffer S.W. Azuma J(2003)Taurine renders the cell resistant to ischemia-induced injury in cultured neonatal rat cardiomyocytes *J Cardio Pharmacol*,41,726-733
12. Takahashi K., Uejima E., Morisaki T., Takahashi K., Kurokawa Nobuo., Azuma J. (2003)In vitro inhibition studies of kampo medicines on metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes. *J Clinical Pharmacy Therapeu*,28,319-327
13. Takahashi K, Matsuda H, Kinoshita K, Matsunaga N, Sumita A, Matsuda T, Takahashi K, Azuma J(2003)Modulation of taurine on CYP3A4 induction by rifampicin in HepG2 cell line. *Adv Exp Med Biol*,526,237-244.
14. Schaffer SW, Azuma J, Takahashi K, Mozaffari M(2003) Why is taurine cytoprotective? *Adv Exp Med Biol*,526,307-321

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1.特許取得

特にない。

##### 2.実用新案登録

特にない。

##### 3.その他

特にない。

資料 判定候補遺伝子一覧

- Adrenergic  $\alpha$ 1A receptor
- Adrenergic  $\alpha$ 1B receptor
- Adrenergic  $\alpha$ 1D receptor
- Adrenergic  $\alpha$ 2A receptor
- Adrenergic  $\alpha$  2B receptor
- Adrenergic  $\alpha$  2C receptor
- Adrenergic  $\beta$ 1 receptor
- Adrenergic  $\beta$ 2 receptor
- Adrenergic  $\beta$ 3 receptor
- Noradrenaline transporter
- Tyrosine hydroxylase
- Dopa decarboxylase
- Dopamine beta-hydroxylase
- MAO<sub>A</sub>
- COMT
- MnSOD
- ecSOD
- eNOS
- ApoE
- PAF-ah
- GCLC (Glutamate-cysteine  
ligase,catalytic subunit)
- GCLM (Glutamate-cysteine  
ligase,modifier subunit)
- Paraoxonase 1
- Paraoxonase 2
- CYP11B2 (aldosterone synthase)
- ACE
- Angiotensinogen
- Angiotensin II type 1 receptor
- Angiotensin II type 2 receptor
  
- Mineralocorticoid receptor
- Renin
- Endothelin receptor type A
- Endothelin receptor type B
- Endothelin 1
- Endothelin 2
- IGF-I
- GATA4
- MMPs
- GATA6
- SERCA
- Ryanodine receptor
- SULTs
- UGTs
- Adenylyl cyclase
- G protein  $\beta$  subunit
  
- CYP8A1 (prostacyclin synthase)
- TNF $\alpha$
- TGF  $\beta$
- AMPD1 (adenosine monophosphate  
Deaminase)
- IL-10

厚生労働省科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
分担研究報告書

拡張型心筋症に対するβ遮断薬療法の個別化医療実現のための研究

分担研究者 岡本 洋

北海道大学病院循環器内科

研究要旨

拡張型心筋症におけるβ遮断薬による薬物治療を取り上げ、日本人の特性に配慮したβ遮断薬至適用量を確認し、さらに、至適用量におけるレスポンド、ノンレスポンド解析を行い、EBMに基づいた効率的、個別的な「テーラー・メイド」治療方法を確立する。登録症例・データベースに基づき各患者に説明を行い、遺伝子用採血をし、遺伝子解析を分担して行う。

分担研究者 岡本 洋

北海道大学病院循環器内科

A. 研究目的

拡張型心筋症におけるβ遮断薬による薬物治療を取り上げ、日本人の特性に配慮したβ遮断薬至適用量を確認し、さらに、至適用量におけるレスポンド、ノンレスポンド解析を行い、EBMに基づいた効率的、個別的な「テーラー・メイド」治療方法を確立することを目的とした。心不全におけるβ遮断薬の生命予後改善効果が確認され、最も効果的な治療法の一つとして期待されている。しかし、心不全の疾患背景、重症度、死亡率などにおいて、我が国と欧米とは大きく異なり、かつ、β遮断薬に対する反応性には著しい人種差が存在することが知られている。また、β遮断薬の心不全における処方率は今なお低く、用法・用量は施設毎に異なり、定まった投与方法は確立していない。薬剤を効率的・安全にしかも個別的「テーラー・メイド」の治療展開を可能にするためには、日本人におけるβ遮断薬の至適用量を知り、治療効果判定に関する基準を確立すること、すなわち、我が国独自のEBMを展開することが医療上も、厚生労働行政の上でも重要と理解される。

B. 研究方法

北海道大学病院およびその関連病院において拡張型心筋症患者の中で、β遮断薬が投与されている症例に対し、本試験の意義、方法、予想される効果および不利益、また、試験参加への同意と撤回の自由、試験に参加しなくても不利益は

受けないこと、他の治療法について、副作用や健康被害が起きた際の処置および補償について、試験および試験薬について新たな情報が得られた場合、すぐに連絡すること、プライバシーは保護されること、試験中の医療費について、患者が守る要件などについて説明し、書面にてインフォームド・コンセントを得る。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析では倫理面に配慮し、「ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則」の精神に基づき、かつ、文部科学省・厚生労働省のヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等のガイドラインを遵守のうえ実施する。事前に所属施設内の倫理委員会の倫理面からの審査を受け実施した。

C. 研究結果

拡張型心筋症患者 136 例でβ遮断薬投与群 84 例（導入率 62%）とβ遮断薬投与例について、平均 2461 日観察した。β遮断薬投与群では改善 36.3%、不変 55.8%、悪化 7.8%と有意にレスポンドが多く、効果は臨床症状の改善、血漿 ANP、BNP 値の低下と相関したが、投与前の心機能、心拍数、血漿 ANP、BNP 値とは相関せず、長期的にレスポンドを予測することは困難であった。

D. 考察

（総括）

拡張型心筋症患者においてβ遮断薬は臨床症状の改善に有効で、生命予後を改善するが、その効果には個人差があり、臨床所見から長期的にレスポンドを予測することは困難であったが、

ACEI/D、NOS3、 $\beta 2$  受容体など遺伝子多型性解析がレスポンドーの同定に有用な手法と考えられた。

#### E. 結論

拡張型心筋症における $\beta$ 遮断薬は有効であるが、効果には個人差があり、遺伝子多型性解析により効果を予測することが可能であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特に認めていない。

#### G. 研究発表

1. Toshihiro Shimizu, Hiroshi Okamoto, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Jia Nan, Hisao Onozuka, Taisei Mikami, and Akira Kitabatake. Altered Microvasculature is Involved in Remodeling Process in cardiomyopathic Hamsters. *Jpn Heart J* 44:111-126, 2003

2 Shimizu T, Okamoto H, Chiba S, Matsui Y, Sugawara T, Akino M, J, Kumamoto H, Onozuka H, Mikami T, Kitabatake A.

VEGF-mediated angiogenesis is impaired by angiotensin type 1 receptor blockade in cardiomyopathic hamster hearts. *Cardiovasc Res*58(1):203-212, 2003

3. Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Toshihiro Shimizu, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Akira Kitabatake. A Newly Developed Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist, CS866, Regress Cardiac Hypertrophy Through Reduction in Beta-1 Integrin Expression.

*Hypertens Res* 26:737-742, 2003

4. Yutaka Matsui, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Katsunari Tezuka, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, Tadaaki Miyazaki, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede

Adenovirus-mediated gene transfer of ICOSIg fusion protein ameliorates ongoing experimental autoimmune myocarditis *Human Gene Therapy* 14:521-532, 2003

5. Yutaka Matsui, Susan Rittling, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, David Denhardt, Akira Kitabatake, Toshimitsu Uede

Osteopontin Deficiency Attenuates Atherosclerosis in Female Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23:1029-1034, 2003

6. Yutaka Matsui, Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Shigeyuki Kon, Hisao Onozuka, Masatoshi Akino, Lizhi Liu, Junko Morimoto, Susan R. Fitting, David Dephardt, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede. Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy.

*Hypertension*, in press.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

特にない。

##### 2. 実用新案登録

特にない。

##### 3. その他

特にない。

厚生労働省科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)  
分担研究報告書

拡張型心筋症に対する $\beta$ 遮断薬療法の個別化医療実現のための研究

分担研究者 北島 顕

北海道大学大学院循環病態内科学

#### 研究要旨

拡張型心筋症における $\beta$ 遮断薬による薬物治療を取り上げ、日本人の特性に配慮した $\beta$ 遮断薬至適用量を確認し、さらに、至適用量におけるレスポンド、ノンレスポンド解析を行い、EBM に基づいた効率的、個別的な「テーラー・メイド」治療方法を確立する。そのための循環器疾患症例の収集・登録・データベース構築を行った。

分担研究者 北島 顕

北海道大学大学院循環病態内科学

#### A.研究目的

心不全の疾患背景、重症度、死亡率などにおいて、我が国と欧米とは大きく異なり、かつ、 $\beta$ 遮断薬に対する反応性には著しい人種差が存在することが知られている。また、 $\beta$ 遮断薬の心不全における処方率は今なお低く、用法・用量は施設毎に異なり、定まった投与方法は確立していない。薬剤を効率的・安全にしかも個別的「テーラー・メイド」の治療展開を可能にするためには、日本人における $\beta$ 遮断薬の至適用量を知り、治療効果判定に関する基準を確立すること、すなわち、我が国独自のEBMを展開することが医療上も、厚生労働行政の上でも重要と理解される。

#### B.研究方法

北海道大学病院およびその関連病院において拡張型心筋症患者を登録し、 $\beta$ 遮断薬投与群における心エコー図解析を行う。 $\%FS$  値により $\beta$ 遮断薬投与後1年、3年、5年各期間におけるレスポンド解析を行う。さらに、血漿 BNP 濃度など臨床各指標との関連を検討する。

#### (倫理面への配慮)

遺伝子解析では倫理面に配慮し、「ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則」の精神に基づき、かつ、文部科学省・厚生労働省のヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等のガイドラインを遵守のうえ実施する。事前に申請者の所属施設内の倫理委員会の倫理面からの審査を受け実施した。

#### C.研究結果

拡張型心筋症患者 136 例から $\beta$ 遮断薬投与群 84 例 を抽出した(導入率 62%)。 $\beta$ 遮断薬投与群について、平均 2461 日観察した。 $\beta$ 遮断薬投与群では改善 36.3%、不変 55.8%、悪化 7.8%と有意にレスポンドが多く、効果は臨床症状の改善、血漿 ANP、BNP 値の低下と相関したが、投与前の心機能、心拍数、血漿 ANP、BNP 値とは相関せず、長期的にレスポンドを予測することは困難であった。

#### D.考察

(総括)

拡張型心筋症患者において $\beta$ 遮断薬は臨床症状の改善に有効で、生命予後を改善するが、その効果には個人差があり、臨床所見から長期的にレスポンドを予測することは困難であったが、ACEI/D、NOS3、 $\beta 2$  受容体など遺伝子多型性解析がレスポンドの同定に有用な手法と考えられた。

#### E.結論

拡張型心筋症における $\beta$ 遮断薬は有効であるが、効果には個人差があり、遺伝子多型性解析により効果を予測することが可能であると考えられた。

#### F.健康危険情報

特に認めていない。

#### G. 研究発表

1. Toshihiro Shimizu, Hiroshi Okamoto, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Jia Nan, Hisao Onozuka, Taisei Mikami, and Akira Kitabatake. Altered Microvasculature is Involved in Remodeling Process in cardiomyopathic Hamsters. *Jpn Heart J* 44:111-126, 2003

2 Shimizu T, Okamoto H, Chiba S, Matsui Y, Sugawara T, Akino M, J, Kumamoto H, Onozuka H, Mikami T, Kitabatake A.

VEGF-mediated angiogenesis is impaired by angiotensin type 1 receptor blockade in cardiomyopathic hamster hearts. *Cardiovasc Res*58(1):203-212, 2003

3. Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Toshihiro Shimizu, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Akira Kitabatake. A Newly Developed Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist, CS866, Regress Cardiac Hypertrophy Through Reduction in Beta-1 Integrin Expression.

*Hypertens Res* 26:737-742, 2003

4. Yutaka Matsui, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Katsunari Tezuka, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, Tadaaki Miyazaki, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede

Adenovirus-mediated gene transfer of ICOSlg fusion protein ameliorates ongoing experimental autoimmune myocarditis *Human Gene Therapy* 14:521-532, 2003

5. Yutaka Matsui, Susan Rittling, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, David Denhardt, Akira Kitabatake, Toshimitsu Uede

Osteopontin Deficiency Attenuates Atherosclerosis in Female Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23:1029-1034, 2003

6. Yutaka Matsui, Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Shigeyuki Kon, Hisao Onozuka, Masatoshi Akino, Lizhi Liu, Junko Morimoto, Susan R. Fitting, David Dephardt, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede. Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy.

Hypertension, in press.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特にない。

2. 実用新案登録

特にない。

3. その他

特にない。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

特になし。

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sumita, C., Maeda, M., Fujio, Y., Kim, J., Fujitsu, J., Kasayama, S., Yamamoto, I., Azuma, J.	Pioglitazone Induces Plasma Platelet Activating Factor-Acetylhydrolase and Inhibits Platelet Activating Factor-mediated Cytoskeletal Reorganization in Macrophage.	Biochim. Biophys. Acta. In press			
Takatani, T., Takahashi, K., Uozumi, Y., Matsuda, T., Ito, T., Schaffer, S. W., Fujio, Y., Azuma, J.	Taurine prevents the ischemia-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes through Akt/ caspase-9 pathway.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	316	484-489	2004
Fukuda T, Onishi S, Fukuen S, Ikenaga Y, Ohno M, Hoshino K, Matsumoto K, Maihara A, Momiyama K, Ito T, Fujio Y and Azuma J	CYP3A5 genotype did not impact on nifedipine disposition in healthy volunteers.	Pharmacogen omics J	4	34-36	2004
Yamamoto I, Fujitsu J, Nohnen S, Igarashi T, Motomura T, Inaba M, Tsubakimori S, Azuma J	Association of plasma PAF acetylhydrolase gene polymorphism with IMT of carotid arteries in Japanese type 2 diabetic patients.	Diabetes Res. Clin. Pract	59	219-224	2003



Hanatani T, Fukuda T, Onishi S, Funae Y, Azuma J	No major difference in inhibitory susceptibility between CYP2C9.1 and CYP2C9.3	Eur. J. Clin. Pharmacol.	59	233-5	2003
Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Nishida M, Fujitsu J, Nonen S, Igarashi T, Motomura T, Inaba M, Fujio Y, Azuma J	MTHFR gene polymorphism as a risk factor for diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients without serum creatinine elevation.	Diabetes Care	26	547-8	2003
Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Nishida M, Fujitsu J, Nonen S, Igarashi T, Motomura T, Fujio Y, Azuma J	Diabetic Retinopathy Possibly Results From Poor Blood Sugar Control Associated With MTHFR Gene Polymorphism in Type 2 Diabetic Patients: Response to yoshioka et al.	Diabetes Care	26	1948	2003
Maeda M, Yamamoto I, Fujio Y, Azuma J	Homocysteine induces vascular endothelial growth factor expression in differentiated THP-1 macrophages	Biochem. Biophys.Acta	1623	41-46	2003
Takatani T, Takahashi K, Itoh T, Takahashi K, Hirata M, Yamamoto Y, Ohmoto M, Schaffer SW, Azuma J	Cellular characterization of taurine transporter in cultured cardiac myocytes and nonmyocytes.	Adv Exp Med Biol	526	25-31	2003

Takahashi K., Yamada T., Azuma M., Ouyabu Y., Takahashi K., Schaffer S.W., Azuma J	Taurine transporter in primary cultured neonatal rat heart cells: A comparison between myocytes and nonmyocytes.	Biochemical Pharmacol	65	1181-1187	2003
Takahashi K., Ohyabu Y., Takahashi K., Solodushko V., Itho T., Schaffer S.W. Azuma J	Taurine renders the cell resistant to ischemia-induced injury in cultured neonatal rat cardiomyocytes	J Cardiovascular Pharmacol	41	726-733	2003
Takahashi K., Uejima E., Morisaki T., Takahashi K., Kurokawa Nobuo., Azuma J.	In vitro inhibition studies of kampo medicines on metabolic reactions catalyzed by human liver microsomes.	J Clinical Pharmacy Therapeu	28	319-327	2003
Takahashi K, Matsuda H, Kinoshita K, Matsunaga N, Sumita A, Matsuda T, Takahashi K, Azuma J	Modulation of taurine on CYP3A4 induction by rifampicin in HepG2 cell line.	Adv Exp Med Biol.	526	237-244	2003
Schaffer SW, Azuma J, Takahashi K, Mozaffari M	Why is taurine cytoprotective?	Adv Exp Med Biol	526	307-321	2003

Toshihiro Shimizu, Hiroshi Okamoto, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Jia Nan, Hisao Onozuka, Taisei Mikami, and Akira Kitabatake.	Altered Microvasculature is Involved in Remodeling Process in cardiomyopathic Hamsters.	Jpn Heart J	44	111-126	2003
Shimizu T, Okamoto H, Chiba S, Matsui Y, Sugawara T, Akino M, J, Kumamoto H, Onozuka H, Mikami T, Kitabatake A.	VEGF-mediated angiogenesis is impaired by angiotensin type 1 receptor blockade in cardiomyopathic hamster hearts.	Cardiovasc Res	58	203-212	2003
Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Toshihiro Shimizu, Satoru Chiba, Yutaka Matsui, Takeshi Sugawara, Masatoshi Akino, Akira Kitabatake.	A Newly Developed Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist, CS866, Regress Cardiac Hypertrophy Through Reduction in Beta-1 Integrin Expression.	Hypertens Res	26	737-742	2003

Yutaka Matsui, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Katsunari Tezuka, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, Tadaaki Miyazaki, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede	Adenovirus-mediated gene transfer of ICOSlg fusion protein ameliorates ongoing experimental autoimmune myocarditis	Human Gene Therapy	14	521-532	2003
Yutaka Matsui, Susan Rittling, Hiroshi Okamoto, Manabu Inobe, Nan Jia, Toshihiro Shimizu, Masatoshi Akino, Takeshi Sugawara, Junko Morimoto, Chiemi Kimura, Shigeyuki Kon, David Denhardt, Akira Kitabatake, Toshimitsu Uede	Osteopontin Deficiency Attenuates Atherosclerosis in Female Apolipoprotein E-Deficient Mice.	Arterioscler Thromb Vasc Biol.	23	1029-1034	2003
Yutaka Matsui, Nan Jia, Hiroshi Okamoto, Shigeyuki Kon, Hisao Onozuka, Masatoshi Akino, Lizhi Liu, Junko Morimoto, Susan R. Fitting, David Dephardt, Akira Kitabatake, and Toshimitsu Uede.	Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy.	Hypertension in press.			