

なければならない」こと、および倫理審査委員会の設置と責務についてより深く踏み込んで規定している。この指針により、臨床研究の大部分は審査が必要となり、各医療機関においては、審査体制や重篤な有害事象等の報告の手順等を早急に整備する必要性が生じている。

再評価制度の運用の見直し

医薬品については、審査当局が再評価の根拠となる科学的情報の収集を行うことで、再評価指定品目の選定基準を客観的にし、結論までのプロセスを簡略化する方向で運用が見直された。すなわち、有効性の有無が明白な場合は、承認取り消しあるいは存続の結論を速やかに出し、有効性の根拠が不十分な場合は再評価指定に基づく市販後臨床試験を実施するというものである。

一方、医療機器については、「日本薬局方」に相当する基準を制定し、国際基準のアップデートに合わせて改正する仕組みを整備することとしている。

病院だけでなく、病診連携による治験や医師主導の臨床試験が展開されつつある。もともと日本の薬学教育は、創薬科学を中心としてきたことから、治験や医師主導の臨床試験の管理・支援において、薬剤師の活躍がますます期待されるところである。

この点において、薬の専門家・責任者として、プロトコルの作成や妥当性の判断、インフォームドコンセント同意取得の補助、治験薬の管理、副作用の早期発見・早期対応、治験のモニタリング、データの管理や解析あるいは保管等に積極的に関わっていくべきであり、CRC（治験コーディネーター）的要素を含め、臨床現場のニーズに応じた活躍が期待される。

昨今の臨床研究の環境は急速に変化しており、各医療機関での迅速な対応が望まれる。東大病院では、医師主導の臨床試験に対し指針や手引き等を整備したところであるので、参照されたい。

(<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/gcp/home/index.htm>)

おわりに

《リレープラザ》

臨床試験と薬学・薬剤師

東京大学医学部附属病院臨床試験部 荒川 義弘

1. はじめに

薬学部・薬科大学の教育体制について議論され、その見直しの計画が進んでいる。たしかに医療現場に身を置くものとして、現状の薬学（薬剤師）教育が医療現場（臨床）のニーズに応えきれていないことは否めない。しかし、一方で、薬学出身者の進路先は多様であり、特に創薬科学に従事する者の人材養成に果たしてきた役割は大きい。医療現場においても、チーム医療のリーダーである医師が薬剤師に一目置くとすれば、それは単に薬剤の知識だけではなく、chemistryを中心とした実験科学を学んできたことではないかと思う。それが、薬剤師のアイデンティティの本質であるとするれば、それは捨てがたいものである。

病院においても薬剤師の期待される職能が多様化している。従来の「もの」を中心とした業務から、病棟業務など「知識・情報」と「技術」を主体とした業務に拡大している。また、所属部署も、薬剤部から治験管理センターや臨床試験部などへ拡がりを見せている。東大病院でも臨床試験部に6人の専任薬剤師を擁するに至っている。ここでは、薬剤師としての資質だけでなく、創薬科学を主体とする薬学教育、特に研究マインドが大いに活かされている。また、臨床試験部は製薬企業など創薬科学従事者と臨床とをつなぐ接点にもなっている。

本稿では治験・臨床試験の置かれている環境の急速な変化と、臨床試験部における我々の業務を紹介し、日頃感じていることを述べてみたい。

2. 治験・臨床試験の環境の急速な変化

日米 EU 三極合意による GCP (ICH-GCP) に基づき平成9年に新 GCP が施行され、日本での

治験の質はかなり改善されてきたといわれる。しかし一方、新 GCP は外国での治験データを受入れることを可能にし、日本での治験の空洞化を招いている。その主な原因は、日本での治験の進行が遅いことに尽きるようである。治験の推進体制や承認審査体制の整備の遅れが、今日、海外で標準的な医薬品や革新的な医薬品が日本で開発されない、あるいはかなりの遅れをもって開発されるという事態を招いているといわれる。

このため、厚生労働省では治験活性化政策を策定し、「医師主導の治験」の制度（平成15年7月施行予定）などを盛り込み、推進を図っている。この「医師主導の治験」制度では、治験審査委員会（IRB）に高度な審査能力や品質保証業務を求めている。したがって、事務局としての治験管理センターや臨床試験部もこれに耐えられるよう対応を求められる。また、従来からの「企業主導の治験」においても、ブリッジ試験からマルチナショナル試験の方向に変化してきており、これらへの対応も必要になっている。

一方、Evidence-based medicine (EBM) の重要性和日本での遅れが唱えられて以来、日本でも臨床研究が活発化してきているように思う。東大病院でも臨床研究の審査申請件数は急速に増加している。日本からのエビデンスが少ないということは、日本人あるいは日本の環境にあった医療のエビデンスが少ないということである。現在、治験では高血圧薬や抗コレステロール薬など、surrogate endpoint（代用エンドポイント）を用いて臨床開発がなされることが少なくないが、心臓血管系イベント発生率の抑制など true endpoint との関係が改めて問われている。たとえば虚血性心疾患による死亡率は欧米と日本では大きく異なっており、したがって当然治療方針（基準）も異な

ってくることになる。今後ゲノム情報に基づく個別化医療を実施するうえでも、エビデンス作りは重要である。

また、大学病院ではトランスレーショナルリサーチや既存薬の新規適応の開発など、新しい医療技術を開発することも重要な使命である。

このような医師主導の臨床研究で問題となるのは、臨床研究自身の量もさることながら、科学性・倫理性などの質の確保である。アメリカでは、公費負担臨床試験はGCPに準じて実施されており、日本においても同様なレベルが今後要求されてくるであろう。厚生労働省においても、遺伝子解析や疫学研究の指針など昨年来数々の指針を制定してきており、平成15年7月までには臨床研究全般を対象とする「臨床研究に関する倫理指針」を施行する予定である。後者はヘルシンキ宣言をもとに作成されている。

3. 治験に対する治験管理センター等の支援業務

治験においては、質とスピードの確保が重要であり、治験管理センターや臨床試験部等の組織が、治験審査委員会、依頼者（製薬メーカーなど）、責任医師・分担医師、患者さん、薬剤部、検査部、医事担当や契約担当の事務部等との間を調整し、円滑な推進を図っている。その主な業務を以下に記す。

- 1) 治験審査委員会事務局業務：単に受付・案内や通知書等の発行にとどまらず、依頼者に対しヒアリング等を行い、治験実施計画書（プロトコル）や同意説明文書等の問題点を明らかにし、また書類上の不備を指摘するなど、円滑な審査申請を支援している。
- 2) 治験薬等の受領・管理
- 3) 治験開始前の医師や関係者によるミーティング（打合せ会）の開催。外来掲示板等で募集広告を掲載することもある。
- 4) 被験者への補助的な同意説明
- 5) 被験者登録
- 6) 被験者への治験薬等交付と服薬指導
- 7) 被験者のスケジュール管理と来院日対応。プロトコルによっては、採血や注射をコ

ーディネータが行うことがある。

- 8) 症例報告書の記入。症例報告書は担当医師の確認後依頼者に提出する。
- 9) 重篤な有害事象発生時の被験者対応と報告の支援
- 10) 依頼者からの安全性報告の一次評価。責任医師とは独立に行う。
- 11) 医療費、被験者負担軽減費、有害事象発生時の補償の支払いなどが円滑に行われるよう連絡を行う。
- 12) モニタリング・監査およびGCP調査への対応

これらの業務は、採血や注射以外は、薬剤師が備えている基本的能力により遂行することができるものであり、また、治験薬の管理や安全性情報の評価など、薬剤師がやるべき事項も多い。採血や注射については、薬剤師コーディネータの場合、医師や検査部等に依頼することができる。

4. 医師主導の臨床研究に対する支援の必要性和東大病院での支援体制

医師主導の臨床研究で問題となるのは、科学性・倫理性・信頼性における質の確保と品質保証であり、従来より企業で行ってきたQC/QAの考え方を導入して支援するのが適当であると考えている。また、このために医師やスタッフに対する教育を推進していかなければならない。現在のところ、医師主導の臨床試験にまで支援を業務展開している医療機関はまだ数少ない。

東大病院臨床試験部では、治験審査委員会で審査する薬物治療に関する臨床試験について、その質の向上を図るため、グローバルスタンダードであるICH-GCPを準用することとし、平成14年4月より支援を開始した。質の向上を図るためには単に指針や手順書を整備するだけでは十分ではなく、使いやすい手引きの整備やコンサルテーション体制が必須である。このため、指針、手順書、プロトコル作成の手引きや同意説明文書作成の手引き等の整備を行うとともに、平成14年5月より、部内にコンサルテーション部門を新設し、プロトコル作成、同意説明文書作成やその他試験全般についてコンサルテーション業務を開始し

た。また、試験薬・情報管理部門では、未承認薬等の管理を治験薬に準ずる手順で管理・調剤するとともに、他科へのお知らせ文書や安全性情報報告の作成を支援している。コーディネータ部門では、一部のプロトコルに対してコーディネータ業務を試行している。また、同意書の回収、有害事象報告、逸脱報告、一部変更報告、実施状況報告、終了報告などの実施状況管理を実施している。詳しくは、当院のホームページ (<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/gcp/home/index.htm>) を参照願いたい。

5. おわりに

治験・臨床試験は試験であり、計画作成においては研究のセンスと修練が必要である。残念ながら、現状の医学教育では臨床試験についての知識

や経験は不十分な状態である。我々が医師主導の臨床試験でコンサルテーションを行う際、科学性・倫理性・実行可能性・信頼性などをチェックしているが、科学性が確保されなければ何を論じても始まらないので、まずは科学性を重視している。申請者のレベルには大きな差があり、臨床試験に不慣れなせいも否めないが、目的と方法の整合がとれた試験計画がきちんとたてられない申請者が少なくないのが現状である。幸い、創薬科学に重点を置き、実験を主体とした実習を積んできた薬学出身者にとっては、能力を活かせる場となっていると思われる。また、治験や臨床試験の審査や実施においても、試験薬のより深い理解のもとに業務を遂行できることは、薬学出身者の大きな強みであると考えられる。

支援組織としての東大病院臨床試験部 —世界に通用する高質・迅速な臨床試験を目指して—

荒川 義弘 小俣 政男
東京大学医学部附属病院臨床試験部

Clinical Research Center of University of Tokyo Hospital for the advancement of clinical trials — Towards the highest quality and speedy conduct of clinical trials —

Yoshihiro Arakawa Masao Omata
Clinical Research Center, University of Tokyo Hospital

Abstract

The quality and reliability of clinical trials for approval (or registration trials) in Japan have improved after the introduction of ICH-GCP, while the slow progress is still a critical issue, and becoming a hindrance in the conduct of multi-national clinical trials. On the other hand, quality is the most pivotal issue in investigator-initiated clinical trials (or independent trials) in Japan. Therefore, we set about reforming the system that supports clinical trials. For registration trials, we introduce the 'peer review system' before application to IRB. A peer review meeting is held for every one or two applications by the attendance of the specialists in the relevant research and clinical fields and the staff of Clinical Research Center to advise the applicants on the unclear points of the applications, and submits a report on the meeting to IRB. This system facilitates substantial discussion and prompt approval by IRB, thereby shortening the time submission and approval timeframe to about 35 days. The conduct of trials is also facilitated by 17 staff members of the Clinical Research Center. The overall rate of patient enrollment is now about 70% and planned to be further improved by many approaches. For independent trials, we established the ICH-GCP-based guidelines in our hospital and manuals for the preparation of protocols and informed consent documents. The Center provides assistance in the preparation of protocols and other application documents and also in the conduct of the independent trials, while IRB monitors the progress of all independent trials. Thus, an efficient system for the conduct of high quality clinical trials is now available at the University of Tokyo Hospital.

Key words

clinical trials, approval, investigator-initiated, quality, speed

Rinsho Hyoka (Clinical Evaluation) 2003 ; 30 : 303-9.

はじめに

「医師主導の治験」や「臨床研究に関する倫理指針」を始めとする各種指針など、国内の臨床研究を取り巻く環境は急速に変化している。従来からの企業主導の治験については、ブリッジング試験から多国間治験への変革の動きが見られ、一方、地域ネットワーク/SMOを活用した治験が展開されるようになった。また、日本で開発されない世界の標準薬の開発を推進するための「医師主導の治験」制度が開始されることとなった。かつて「遅い、高い、質が悪い」といわれた日本の治験は、新GCPの導入や医療機関における治験支援組織の整備、および関係者の意識改革により、少なくとも「質」についてはかなり改善されたと言われている。しかし、「遅い」という問題については日本の医療環境を鑑みると解決は容易ではなく、国際治験を実施するうえで致命的問題となっている。また、「医師主導の治験」では、企業主導の治験と同レベルの治験の「質」が要求され、医療機関の「治験審査委員会」の機能の充実や、実施状況管理体制の整備が必要となっている。

一方、「研究者主導の臨床試験」（東大病院では自主臨床試験と称している）も急速にその高まりを見せている。具体的には、トランスレーショナルリサーチの推進、既存薬等の新規適応の開発、市販薬の新規指標による比較評価、併用療法の開発、日本の医療環境や患者個々に最適な医療を提供するためのエビデンス作り等々が盛んに研究されるようになってきている。ここでも世界に通用する質の高いエビデンスが当然要求されている。

本稿では、このような背景を基に質の高い治験や自主臨床試験を推進するため、東大病院が取組んでいることを紹介したい。

1. 東大病院の治験・自主臨床試験の支援体制の目指すところ

東大病院臨床試験部は、平成13年4月、従来か

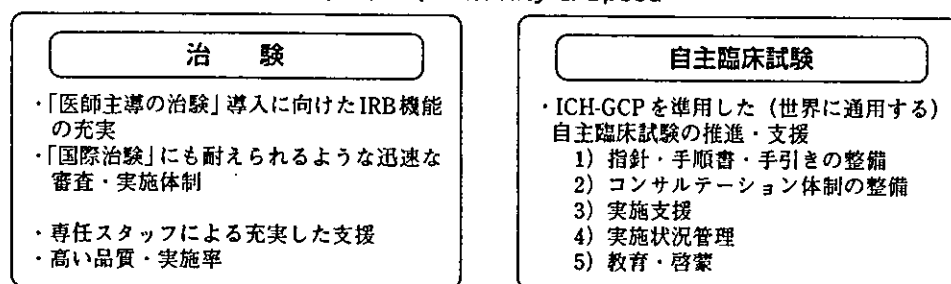
らの治験に加えて、自主臨床試験をも支援する組織として、群馬大学とともに全国に先駆けて文部科学省から正式に認可された。臨床試験部は上部の会議体として「臨床試験部運営委員会」と「治験審査委員会」(Institutional Review Board: IRB)を有し、これらと一体となって新たな臨床試験部に脱皮すべく改革を進めてきた。まず自主臨床試験の支援の導入の前に、足固めの意味で治験の支援体制を原点から見直した。すなわち、臨床試験部は審査組織ではなく支援組織であるという認識をより明確にする必要があり、また、「遅い」という問題を少しでも解決するため、申請から承認までのプロセスを高い質を保持しつつ迅速に遂行する必要があった。一方、自主臨床試験は、規制や院内の指針もなく、その質は研究者個々人の資質にすべて依存する状態であった。そこで、自主臨床試験に対しては欧米並の質を目指してICH-GCPを準用し、支援体制の整備を図ることとした。実際にこれらの改革や支援を開始したのは、平成14年4月からである。折しも国内で多国間の治験や研究者主導臨床試験が一部ではあるが開始されたことや、また、厚生省による「医師主導の治験制度」の導入や各種の臨床研究の指針等の告示の動きは、我々の目指すところと一致しており、積極的に取り入れることとなった。

これらをもとに現時点での「東大病院の治験・自主臨床試験の支援体制の目指すところ」をFig. 1に示した。キーワードは、「Quality & Speed」であり、世界に通用する治験や自主臨床試験の遂行を意識したものである。治験では、「国際治験」にも支障のないようなSpeedを確保するために、迅速な審査体制と実施体制を目指している。このため、次に紹介するピアレビューシステムの導入や専任スタッフの増員を行っている。これにより、資料提出からIRB承認までの期間を約35日にまで短縮している。また、契約症例数に対する実施率はここ数年約70%で推移しており、以前よりは向上しているが、さらに向上させるための試行を開始している。

また、「医師主導の治験」では各医療機関のIRB

Fig. 1 Goal of the supporting system by Clinical Research Center of University of Tokyo Hospital

キーワード: Quality & Speed



に課せられた役割は大きく、「治験実施計画書」の科学性・倫理性・実施可能性の評価能力が従来以上に問われている。また、新たにモニタリングを始めとした実施状況管理や信頼性保証の機能を果たさなければならないことになっている。前者には、ピアレビュー機能の一層の充実を図ることが必要であり、後者に対しても、新たな試行を開始している。

一方、自主臨床試験においては、「Quality」の確保（Quality Control: QC）が最重要課題であり、ICH-GCPを準用した指針を策定し、各種支援や実施状況管理を開始している。QCには、指針や手順書の策定だけではなく、教育や指導体制が必須である。我々は指針、手順書、各種手引きの整備だけではなく、コンサルテーション部門を新設して実施計画書や同意説明文書等の作成支援を行うなど、指導体制を整備した。実施支援についても薬剤や安全性情報の管理体制を整備し、コーディネーター業務も試行しているところである。また、臨床試験の適正な実施のため、各種実施状況管理も開始している。さらに、教育・啓蒙についても順次整備しているところである。

2. 審査・申請支援体制

臨床試験部はIRBの事務局として事前のヒアリングを行い問題点を明らかにするという審査支援の立場にある一方、申請者に対しては、迅速な承認を得るために必要なアドバイスをを行うという申請支援の立場にもある。そこでは、IRBの従来の

審査基準や実施上の諸問題を理解していることが求められる。治験と自主臨床試験では、必要とされる支援の内容やレベルが現時点では異なることから、Fig. 2に示すようなそれぞれのIRB申請までの流れを設けている。「医師主導の治験」では、両者を併用する必要があるのではないと思われる。

1) 治験の審査・申請支援体制

高質かつ迅速な審査を支援するために我々が導入したのは「ピアレビューシステム」と呼んでいる審査・申請支援体制である。以前より月度の事前審査委員会やIRBによる事前の書類審査を行い、密度の高い審査に努めてきた。ピアレビューシステムではそれらの良いところを維持しつつ、ピアレビュー会議とIRBの位置づけを見直し、両者の機能分担を明確にすると同時に、迅速なプロセスと、再審査とならないような改善を図った。すなわち、ピアレビュー会議は、専門的な立場からの問題点や実施上の問題点を明らかにしアドバイスを行うと同時に、残された問題点をIRBに提議するという位置づけにした。一方、IRBは、医学・薬学以外の領域の委員の参画により、患者さん側の立場に立った意見を取り入れ、また、広範な専門領域の常任の委員の参画により一貫した審査基準に基づくより高度な倫理的判断を行う場とした。「Speed」という観点からは、プロセスの短縮を図り、再審査にならないように、IRBの委員による事前の書類審査で指摘された事項はIRBの前に治験責任医師に伝え、IRBの席上で回答する

Fig. 2 Support for the application to the Institutional Review Board by Clinical Research Center

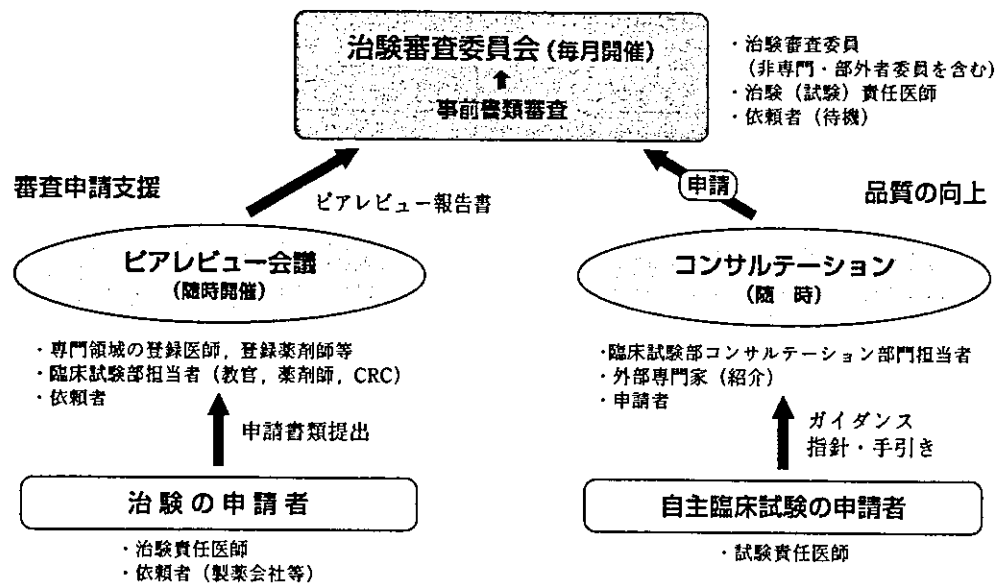
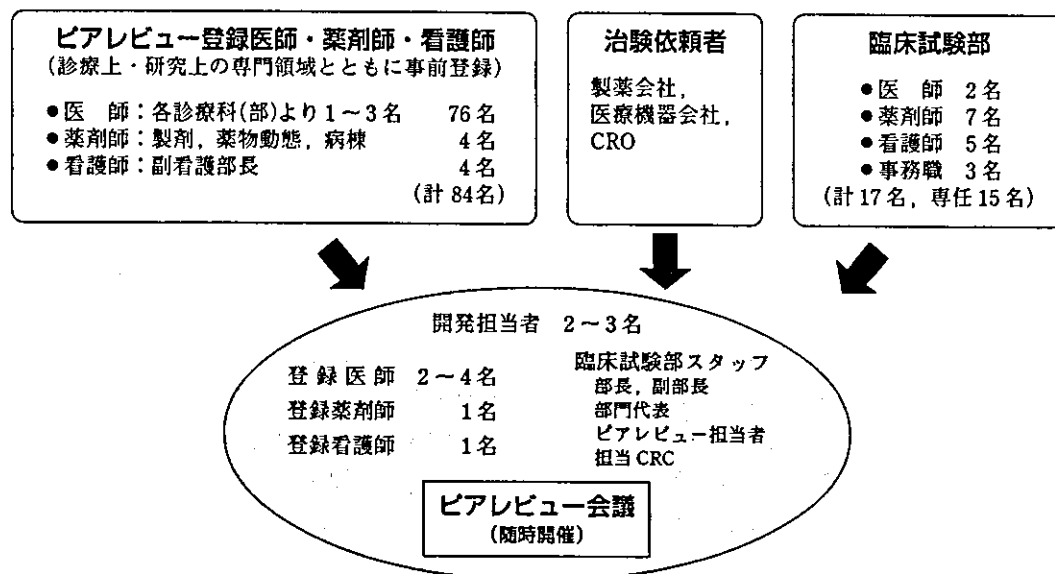


Fig. 3 Members for Peer Review Meeting



こととした。

Fig. 3にピアレビュー会議の構成を示す。ピアレビュー登録医師の数は、よりフレキシブルな会議の開催と専門性を確保するため、平成14年度倍増し、現在76名の医師に登録いただいている。具体的には、各診療科(部)より1から3名の枠で

推薦を受け、診療上の専門領域と研究上の専門領域とともに登録し、毎年更新している。職位は、登録薬剤師4名、登録看護師4名を含めると、教授2名、助教授19名、講師31名、助手28名、副看護部長4名となっている。ピアレビュー会議の開催にあたっては、申請者とは異なる診療科(部)か

ら、専門領域と出席依頼回数を考慮して、申請ごとに登録医師2から4名、登録薬剤師1名、登録看護師1名に臨床試験部から出席を依頼している。

ピアレビュー会議では、依頼者側の開発担当者から10分ほどで治験の概要の説明を受け、その後、まず臨床試験部内の事前の検討会で作成したメモをもとに数件質問を行い、続いて各出席者からの質疑を行っている。会議は1件あたり45分とし、効率的な進行に努めている。

ピアレビュー後、会議で質疑した事項をメモに追加し、依頼者にQ&Aを作成して頂いている。臨床試験部では、このQ&Aをもとに、主な質疑事項と、残された問題点をピアレビュー報告書として作成し、Q&AとともにIRBに上程している。この

Q&Aやピアレビュー報告書は、IRB委員による事前審査に参考として頂いているだけでなく、実施上の問題点を予め解決することや、治験薬概要書や実施計画書の疑問点を補うものとして、実施上にも役立っている。

ピアレビュー資料提出からIRB承認を経て、契約に至るまでの流れと標準的な所要日数をFig. 4に示した。現在のところ資料提出からIRB承認まで、再審査とならなければ約35日となっている。当院の以前の所要日数からは大幅に改善が図られ

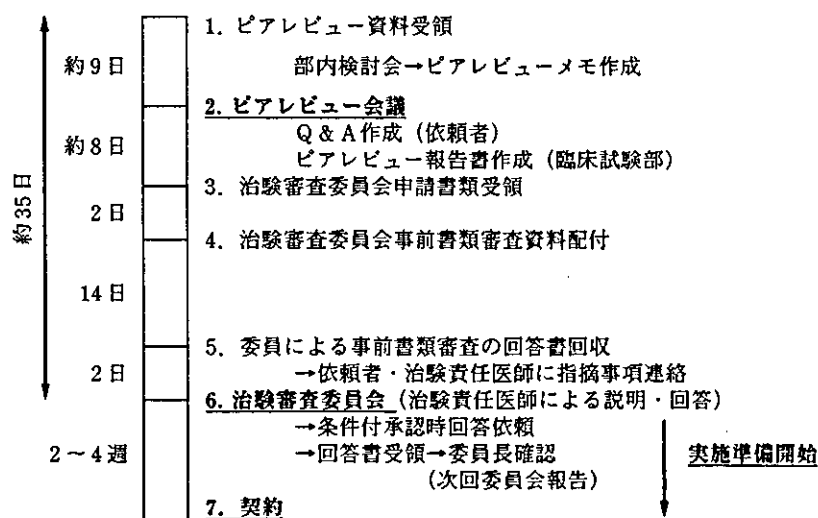
ている。臨床試験部では再審査とならないように支援に努めているが、ピアレビューシステム導入初年度の平成14年度は7件に1件の割合で再審査となった。平成15年度は、6月の審査までに再審査となった申請はなく、順調に推移している。条件付承認となった場合は申請者に回答の提出を求め、回答書をIRB委員長により確認することで承認扱いとしている。契約は、IRB承認前から打合せをすることが可能であり、IRB後2週間での契約（納入告知書の発行）が可能となっている。また、治験実施の準備もIRB承認後開始している。

2) 自主臨床試験のコンサルテーション・審査支援体制

自主臨床試験では「Quality」の確保のため、ICH-GCPを準用した以下の指針、手順書、手引きを整備した。

- ①自主臨床試験および未承認薬等の臨床使用の指針
- ②自主臨床試験および未承認薬等の臨床使用の手順書
- ③自主臨床試験および未承認薬等の臨床使用に関する様式
- ④自主臨床試験の実施計画書作成の手引き

Fig. 4 Flow chart for the application of clinical trials for approval



⑤自主臨床試験等の同意説明文書作成の手引き

特に、実施計画書作成の手引きは、他に同様のものがなかったためにオリジナルに作成したものであり¹⁾、コメント、注意、例示を多用し、テンプレートとして経験の浅い申請者でも一定の品質のものができるようにした。これらは、当院臨床試験部のホームページ (<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/gcp/home/index.htm>) に掲載されているので、参照願いたい。なお、未承認薬等の臨床使用とは、研究ではなく、特定の患者さんに緊急避難的に未承認薬等を臨床使用することで、倫理的検討を要するものである。この場合、実施計画書の作成は不要としている。

Fig. 2 に示したように、臨床試験部のコンサルテーション部門では、自主臨床試験等の申請者に対し、まずガイダンス (30分から1時間) を行い、申請に必要な書類の説明と簡単な相談を行っている。その後、申請に必要な書類が申請者により作成されたら、予め日時を決め、事前に書類を受領しておいてから、コンサルテーションに臨んでいる。コンサルテーションには通常1～1.5時間をかけ、指摘事項をフィードバックしている。また、コンサルテーションは修正の程度に応じて1～3回行っている。まれに、特殊な試験デザインを計画する場合があります。生物統計家の事前のアドバイスが必要と判断した場合は、学内の生物統計家を紹介している。また、被験者の登録割付については、UMIN (大学医療情報ネットワーク) のINDICEの利用を推奨している。ただし、二重盲検試験で薬剤のマスク化を臨床試験部コンサルテーション部門で行っている臨床試験では、被験者の登録割付も臨床試験部にて行っている。自主臨床試験の場合は、このコンサルテーションの後にIRBへの申請書類を提出することとしている。現在のところ、自主臨床試験では、ピアレビューは実施していない。しかし、「医師主導の治験」など、必要に応じて実施することは可能と考えている。

平成14年度、臨床試験部では薬物治療に関する臨床試験22件、未承認薬等の臨床使用11件の申請の支援を行った。臨床試験については、リピー

ターもいる一方、申請料も徐々に減りを見せている。少しでも経験者が増えれば、コンサルテーション業務も軽減されるものと期待している。

教育・啓蒙についても、臨床試験部主催で毎年「臨床試験セミナー」を開催しているが、これとは別に、倫理的な事項や手続きに関する講習会「倫理セミナー」を、IRBや倫理委員会等との共催で年4回開催することを始めている。また、治験や自主臨床試験を含めたすべての臨床研究の新規申請においては、平成16年度分より申請時に分担医師や共同研究者も含めて講習会を受講していることを条件としている。さらに、既申請者についても平成15年度中に受講することを義務化している。一方、東京大学大学院医学系研究科では、新設されたクリニカルバイオインフォマティクス研究ユニットにより、平成15年度より学内外を対象に臨床研究に関する講義を開始しており、学内からも多くの人が受講している。

3. 実施支援体制

1) 治験の実施支援体制

当院臨床試験部では医師、薬剤師、看護師、事務職員からなる15名の専任スタッフと2名の兼任スタッフが、関連部署と連携して、治験の適正かつ円滑な実施を支援している。臨床試験部は4部門からなり、自主臨床試験を含めたそれぞれの業務の概略は以下のようになっている。

①事務部門：治験審査委員会およびピアレビュー会議開催準備、各種申請の案内・受付、通知文書の作成・発送、必須文書の保管、被験者負担軽減費の取りまとめ、モニタリング・監査の日程調整と準備、その他連絡調整等の事務業務

②治験薬・情報管理部門：治験薬 (試験薬) の管理・調剤、併用薬の確認・服薬指導、治験薬 (試験薬) 処方せんの発行、安全性情報の一次評価・管理、ホームページ・データベースの管理、実施率等進捗管理

③コーディネータ部門：スタートアップミー

ティングの開催、他部門との調整、同意説明補助、被験者スケジュール管理、症例報告書作成支援、モニタリング・監査対応、被験者ケア・治験相談窓口

- ④コンサルテーション部門：自主臨床試験のプロトコル等の作成支援、未承認薬等の臨床使用における申請支援、試験薬のマスク化（コード化）、セミナー・講習会の企画、その他のコンサルテーション業務

なお、審査については、部全体で支援することとしている。また、現在、治験コーディネータ（Clinical Research Coordinator：CRC）は、医薬品および医療機器の治験の全てに配置するようにしている。

2) 自主臨床試験の実施支援体制

未承認薬や適応外の薬剤を臨床試験で使用する場合は、試験薬の管理・調剤は臨床試験部で行うようにしている。また、まだ1試験ではあるが、二重盲検比較試験における薬剤を、臨床試験部でマスク化（コード化）し、被験者割付を行っている。IRBによる実施状況管理の側面からは、全ての自主臨床試験および未承認薬等の臨床使用を対象に行っており、臨床試験部用の同意書の回収、一部変更申請、重篤な有害事象報告、実施状況報告（年1回）、終了・中止報告などの提出を求めている。また、安全性情報についても、緊急安全性情報や安全性等に係る添付文書改訂などの情報を試験責任医師に提供し、「新たな安全性情報の報告」の病院長への提出や、実施計画書や同意説明文書の改訂について検討してもらうようにしている。

コーディネータ業務については、現在4試験を対象に試行している。その内容は、スタートアップミーティングの開催、同意説明補助、被験者来院日対応となっており、被験者に対する倫理性確保に重点を置いている。

さらに、「医師主導の治験」では医療機関が品質

保証を行うことになっていることから、その導入の問題点を探るため、1試験を対象に臨床試験部がモニタリングを試行する予定である。

おわりに

治験や自主臨床試験のグローバル化や「医師主導の治験」の導入にも対応できるように、「Quality & Speed」をキーワードに支援体制の構築を図ってきた。まだ試行段階の部分も多いが、かなりの対応が可能になったと考えている。治験のみならず、自主臨床試験にも企業との連携により行うものが増えてきており、明らかに企業が主体となって行う「自主臨床試験」は受託研究契約を締結して実施している。今後、産学連携のあり方については、経費の負担や「利益の衝突」などの点についてさらに検討が必要と思われる。

一方、患者さんに対する治験・臨床試験の啓蒙や治験情報の提供の拡大、実施率をさらに向上させるための進捗管理、臨床試験の計画・実施者に対する教育研修について順次計画を進めている所である。当院では、治験の導入についてもコンサルテーションを実施しているので、当院へ申請を考慮される場合はご利用いただきたい。

なお、本稿に記載した内容は当院臨床試験部、臨床試験部運営委員会、治験審査委員会が主体となり、医学部倫理委員会等と連携して改革を進めてきたものである。また、医師主導の臨床試験の指針や手引き等の策定にあたっては、学内外の多くの方からの貴重な意見をいただいた。ここに謝辞を申し上げる。

文 献

- 1) 金井文彦, 荒川義弘, 小俣政男. 自主臨床試験の実施計画書作成の手引き（東京大学医学部附属病院版）について. 臨床薬理 2003 ; 34 : 101-2.

A common Ile 823 Met variant of ATP-binding cassette transporter A1 gene (*ABCA1*) alters high density lipoprotein cholesterol level in Japanese population

Tomohiro Harada^a, Yasushi Imai^{a,b}, Takefumi Nojiri^a, Hiroyuki Morita^a,
Doubun Hayashi^c, Koji Maemura^a, Keiko Fukino^a, Daiji Kawanami^a,
Go Nishimura^a, Kensuke Tsushima^a, Koshiro Monzen^{a,b}, Tadashi Yamazaki^{a,b},
Satoshi Mitsuyama^d, Takahiko Shintani^d, Narimasa Watanabe^d, Kumiko Seto^d,
Takao Sugiyama^e, Fumitaka Nakamura^a, Minoru Ohno^a, Yasunobu Hirata^a,
Tsutomu Yamazaki^{b,c}, Ryoza Nagai^{a,*}

^a Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

^b Department of Clinical Bioinformatics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

^c Department of Pharmacoepidemiology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

^d Hitachi Ltd., Tokyo, Japan

^e Institute for Adult Diseases, Asahi Life Foundation, Tokyo, Japan

Received 18 November 2002; received in revised form 13 March 2003; accepted 24 March 2003

Abstract

Recently, variants in ATP-binding cassette transporter A1 (*ABCA1*) were demonstrated to be associated with increased level of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and decreased risk of coronary artery disease (CAD) in Caucasians. However, this is not universally applicable due to the ethnic or environmental differences. In this context, to clarify the effect of *ABCA1* in Japanese, we evaluated the phenotypic effects of I/M 823 and R/K 219 variants on the plasma level of HDL-C in 410 patients recruited in our hospital. Subjects with M 823 allele had significantly higher level of HDL-C than those without M823 allele (49.0 ± 15.1 vs. 44.9 ± 11.5 mg/dl, respectively, $P < 0.05$). This statistical significance did not change even after multiple regression analysis. In contrast, there was no difference in HDL-C level among the genotypes in R/K 219 polymorphism. Further, in our study population an inverse relationship was shown to exist between HDL-C level and incidence of CAD. However, no positive association was observed between those variants and susceptibility to CAD. In this study, we provide evidence that I/M 823 variant, not R/K 219 variant, in *ABCA1* is one of the determinants of HDL-C level, suggesting the importance of this gene on lipid metabolism in Japanese.

© 2003 Elsevier Science Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Polymorphism; Genetics; Hyperlipidemia; ABC transporters; Atherosclerosis; Association studies

1. Introduction

Previous epidemiological studies have shown an inverse relationship between plasma high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and the development or progression of atherosclerosis. The protective effect of HDL-C against the development of atherosclerosis is

thought to be caused by the two principal actions: (1) reverse cholesterol transportation removing excessive cholesterol from the peripheral tissues [1,2], and (2) suppression of low-density lipoprotein oxidation by HDL associating enzymes such as platelet-activating factor-acetylhydrolase (PAF-AH) [3] and paraoxonase [4].

In 1999, genetic mutations in ATP-binding cassette transporter A1 gene (*ABCA1*) were identified as a cause of Tangier disease (TD) [5–7], and familial HDL deficiency (FHD) [8]. Patients with TD or FHD

* Corresponding author. Tel.: +81-3-5800-6519; fax: +81-3-3815-2087.

E-mail address: nagai-ky@umin.ac.jp (R. Nagai).

exhibited a unique characteristic in the complete absence of, or a significant reduction in HDL-C level, increased triglyceride (TG) level, and excessive accumulation of cholesterol esters in a variety of tissues, resulting in frequent onsets of precocious cardiovascular disease [9]. Positional cloning showed that mutations in *ABCA1* within chromosome 9q31 were responsible for TD and FHD [5–8]. Thereafter, several studies have established that *ABCA1* regulates cellular cholesterol efflux and facilitates lipid binding to apolipoprotein A that is the core protein in HDL particles. Studies in genetically engineered mice demonstrated the effects of *ABCA1* on lipid profile and atherosclerosis [10–12], these being relevant to the pathophysiological role of *ABCA1* in humans.

On the basis of the hypothesis of common variants-common diseases (CV-CD), a search for the single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the whole gene was conducted and over 10 SNPs have been already reported in *ABCA1* in Caucasians and Mongoloids [13–17]. Recent epidemiological studies have revealed that in the general population, genetic variations within the coding region of *ABCA1* govern susceptibility to coronary artery disease (CAD) by modifying the plasma HDL-C level. In Inuits the I/M 823 variant in exon 17 is associated with a significant increase in the level of HDL-C [16]. In French-Canadians the R/K 219 variant in exon 7 correlates with a trend toward increase in HDL-C, and decreased severity of CAD [17]. In this context, to clarify the role of *ABCA1* variants in the Japanese population, we investigated the association between each of the two variants, the I/M 823 and the R/K 219, and the plasma level of HDL-C in patients consecutively enrolled in our hospital. The genetic homogeneity in the Japanese provides an advantage in research related to polymorphisms that confer disease susceptibility.

2. Methods

2.1. Study population

This study included 410 Japanese subjects (344 men and 66 women) aged 33–90 years old, with mean age of 65.4 ± 9.9 years, who were enrolled in the department of cardiovascular medicine at the University of Tokyo Hospital and underwent coronary angiography from October 1999 to March 2001. Written informed consent was obtained from every subject after a full explanation of the study, which was approved by the Ethics Committee of the University of Tokyo. Hypertension and diabetes mellitus were diagnosed according to the respective World Health Organization criteria for each disease. For biochemical and genetic analyzes fasting venous blood samples were collected immediately before

the angiographic procedure prior to heparin administration. Coronary arteriograms were interpreted by two or more independent, experienced cardiologists, and over 50% stenosis in at least one major vessel was diagnosed as CAD according to the criteria of American Heart Association. The multi-vessel disease was designated when at least two major coronary arteries were affected in angiography. All subjects were of Japanese ancestry and were not first- or second-degree relatives. All women participants were postmenopausal.

2.2. Plasma lipids measurements

Hypercholesterolemia was diagnosed when plasma total cholesterol (T-chol) level were >220 mg/dl or when subjects were already being treated with lipid-lowering medication. Plasma level of HDL-C, T-chol and TG were measured by standard enzymatic methods described elsewhere. A value of TG is taken log-transformed to assess because there was a significant departure from Gaussian distribution in the TG level. Plasma level of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was estimated by Friedewald's equation. Lipid values are presented as mg/dl. The 145 patients of the 410 subjects (35.4%) were already taking lipid-lowering agents at the time of this study. In analyzing the association between lipid profile and the distribution of genotypes, those 145 subjects were excluded.

2.3. Genetic analyzes

Venous blood samples were collected in tubes containing Na_2EDTA and applied to genomic DNA extracting columns (Genomix kit, Talent) according to the manufacturer's protocol. Genotyping was accomplished using PCR followed by melting curve analysis with specific fluorescent hybridization probes in a Light Cycler TM System (Roche). For detection of *ABCA1* the I/M 823 (A2583G) genotype, the sense and antisense primers for PCR were 5'-GGAAACCTCAGAA-TACT-3' and 5'-TTTAGAAAGGCAGGAGAC-3', respectively. Following 40-cycle amplification step (95 °C for 15 s, 60 °C for 10 s, 72 °C for 10 s), melting curve analysis was performed using a FITC-labeled anchor probe (5'-CCTACTGGTTTGGCGAGGAAAGT-GATGAGAAGAGCCACCCTGGTTCCA-3') and a Light Cycler Red 640-labeled mutation probe (5'-CCAGAAGAGAATGTCAGAAAGTAAG-3'). For detection of *ABCA1* the R/K 219 (G1051A) genotype, the sense and antisense primers for PCR were 5'-ATGCTTCCAGGTATTTTTGC-3' and 5'-GAAAAGCCTCACATTCCGAA-3', respectively. Following amplification step with forty cycles (95 °C for 15 s, 55 °C for 10 s, 72 °C for 10 s), melting curve analysis was performed using a FITC-labeled anchor probe (5'-GCCTACCAAAGGAGAAACTG-3') and a Light Cy-

cler Red 640-labeled mutation probe (5'-CTGCAGCA-GAGCGAGTACTTCGTTCCAACATGGA-CATCCTGAAGC-3').

2.4. Statistical analyzes

Quantitative data were compared by univariate analysis with the Mann–Whitney test or Kruskal–Wallis rank-sum test, while dichotomous (or qualitative) data were compared by χ^2 -test. Comparisons of the genotype distribution and allele frequencies were assessed with by χ^2 -statistics with 2 and 1 degree(s) of freedom, respectively. Values were expressed in mean \pm S.D. Linkage disequilibrium coefficients between the gene polymorphisms were calculated from the maximum likelihood estimate [18]. To eliminate confounding influences, HDL-C level was also analyzed with multiple linear regression analysis, in which we adjusted for the variables of genotypes, sex, body mass index, smoking status, hypertension and diabetes mellitus. Some of independent variables were coded with dummy score; for instance, 0 (absence) and 1 (presence) were assigned for male sex, smoking status, hypertension and diabetes mellitus. For the bi-allelic polymorphic markers of *ABCA1*, the I/M 823 and the R/K 219, the three inheritance models were evaluated by assigning dummy scores to the individual genotypes; for instance, I/I = 0, I/M = 1, M/M = 2 for the I/M 823 polymorphism in the additive inheritance model. Statistical analysis was done with SAS (statistical analysis system). A two-tailed value of $P < 0.05$ was considered significant unless otherwise was indicated. Statistical significance in multiple testing was adjusted with the Bonferoni's correction.

3. Results

3.1. Baseline characteristics and allele frequencies

Characteristics and allele frequencies of subjects were shown in Tables 1 and 2. Concerning the genotype distribution of the I/M 823 variant, there was a significant departure from Hardy–Weinberg equilibrium.

Table 1
Baseline characteristics of subjects, $n = 410$

	Subjects
Men, n (%)	344 (83.9)
Age (years)	65.4 \pm 9.9
Body mass index (kg/m ²)	23.8 \pm 3.4
Smoker (ex- or current), n (%)	223 (54.4)
Hypertension, n (%)	295 (72.0)
Diabetes mellitus, n (%)	139 (33.9)
Hyperlipidemia, n (%)	297 (72.4)
Subjects without hypolipidemic agents, n (%)	265 (64.6)

Table 2

Baseline genotype distributions of the I/M 823 and the R/K 219 variants, $n = 410$

Variants	Subjects
I/I, n (%)	142 (34.6)
I/M, n (%)	120 (29.3)
M/M, n (%)	148 (36.1)
I/M allele frequencies	0.492/0.508
R/R, n (%)	104 (25.4)
R/K, n (%)	212 (51.7)
K/K, n (%)	94 (22.9)
R/K allele frequencies	0.512/0.488

This departure was consistent with other prior reports about other ethnic populations [17]. The R/K 219 variant was sufficient with Hardy–Weinberg equilibrium.

3.2. Relationship between the I/M 823 variants and clinical profile

Relationship between the distribution of the I/M 823 variants and clinical profile was shown in Table 3. The subjects who had already been treated with lipid-lowering agents were excluded for the subcategorized study concerning relationship between lipid profile and genetic variants in order to eliminate the effect of medication.

Table 3

The I/M 823 variants and clinical profile in subjects without hypolipidemic agents, $n = 265$

	I/I	I/M	M/M	I/M+M/M
n	96	82	87	169
Men, n (%)	80 (83.3)	75 (91.5)	74 (85.1)	149 (88.2)
Age (years)	64.3 \pm 10.8	65.9 \pm 10.6	65.1 \pm 9.98	65.5 \pm 10.3
Body mass index (kg/m ²)	23.5 \pm 3.69	23.2 \pm 2.99	23.1 \pm 3.54	23.1 \pm 3.28
HDL-C (mg/dl)	44.9 \pm 11.5	48.7 \pm 16.1	49.2 \pm 14.3 ^a	49.0 \pm 15.1 ^b
T-chol (mg/dl)	180.9 \pm 31.8	181.6 \pm 36.3	185.3 \pm 36.6	183.5 \pm 36.4
TG (mg/dl)	125.7 \pm 65.1	129.1 \pm 95.8	129.5 \pm 80.5	129.4 \pm 87.9
LDL-C (mg/dl)	115.1 \pm 32.7	113.1 \pm 41.4	116.7 \pm 34.4	114.9 \pm 37.9
Smoker, n (%)	59 (61.5)	58 (70.7)	57 (65.5)	115 (68.0)
Hypertension, n (%)	65 (67.7)	59 (72.0)	61 (70.1)	120 (71.0)
Diabetes mellitus, n (%)	20 (20.8)	22 (26.8)	24 (27.6)	46 (27.2)

Values are mean \pm S.D., HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; T-chol, total cholesterol; TG, triglyceride; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol.

^a I/I vs. M/M, $P = 0.048$ (unadjusted), $P = 0.003$ (adjusted for the R/K 219, sex, body mass index, smoking status, hypertension and diabetes mellitus).

^b I/I vs. I/M + M/M, $P = 0.046$ (unadjusted), $P = 0.003$ (adjusted).

Table 4
 β -Coefficient and S.E.M. of HDL-C level from multiple linear regression analysis

	β -Coefficient	S.E.M.	P
Intercept	54.706	6.438	<0.0001
I/M 823, M variant	0.180	1.014	0.0040
R/K 219, K variant	0.017	1.230	0.7839
Sex, men	0.001	0.001	0.9912
Body mass index	-0.098	0.247	0.1186
Smoking	-0.028	1.980	0.6827
Hypertension	-0.007	1.874	0.9068
Diabetes mellitus	-0.082	1.769	0.1898

The carriers of the M 823 allele had significantly higher level of HDL-C than non-carriers of the M 823 allele. On the otherhand, there were no differences between the I/M 823 variants and other plasma lipids.

Multiple linear regression analysis was used to estimate the independent effects of the I/M 823 variants and other factors on HDL-C level. There was still a significant association of the M 823 allele with increased level of HDL-C, which was presented as adjusted *P*-value. Further as shown in Table 4, the M 823 variant was independent factor significantly associated with plasma HDL-C level.

3.3. Relationship between the R/K 219 variants and clinical profile

Relationship between the distribution of the R/K 219 variants and clinical profile was shown in Table 5. There is no relationship between the R/K 219 variants and plasma HDL-C level. The carriers of the K 219 allele had a trend higher level of TG than non-carriers of the

K 219 allele. The log-transformed TG values of the R/K 219 variant (R/R, R/K and K/K) were 1.99 ± 0.22 , 2.06 ± 0.22 and 2.03 ± 0.10 , respectively (R/R vs. R/K; *P* = 0.027, R/R vs. K/K; *P* = 0.200 and R/R vs. R/K + K/K; *P* = 0.038). However, most parts of these differences are not statistically significant after multiple linear regression analysis. The carriers of the K 219 allele had a trend toward increased level of T-chol, although statistical significance was not achieved.

3.4. Relationship between lipid profile and incidence of CAD

The lipid profile in subjects with or without CAD was shown in Table 6.

Subjects with CAD had significantly lower level of HDL-C in their plasma than subjects without CAD. In contrast, there were no differences between other lipids and incidence of CAD.

3.5. Lack of association between the I/M 823 and the R/K 219 variants and susceptibility to CAD

Next, we evaluated whether these genetic variants are associated with susceptibility to or severity of CAD (Table 7). The distribution of the I/M 823 variants (I/I, I/M and M/M) was 34.8, 31.5 and 33.7% in subjects with CAD and 34.3, 24.8 and 40.9% in subjects without CAD, respectively. The allele frequencies of the I 823 and the M 823 were 0.505 and 0.495 in subjects with CAD, and 0.467 and 0.533 in subjects without CAD, respectively. Carriers of the M823 allele were more prevalent in subjects without CAD than in those with CAD, although there was no statistical significance in this comparison (*P* = 0.30). In the context of severity of

Table 5
 The R/K 219 variants and clinical profile in subjects without hypolipidemic agents, *n* = 265

	R/R	R/K	K/K	R/K + K/K
<i>n</i>	68	140	57	197
Men, <i>n</i> (%)	58(85.3)	126(90.0)	46(80.7)	172(87.3)
Age (years)	65.6 \pm 10.8	64.7 \pm 9.90	65.4 \pm 13.4	64.9 \pm 10.4
Body mass index (kg/m ²)	23.4 \pm 3.06	23.2 \pm 3.30	23.2 \pm 4.13	23.2 \pm 3.56
HDL-C (mg/dl)	48.6 \pm 15.9	48.2 \pm 15.6	48.1 \pm 13.4	48.1 \pm 15.0
T-chol (mg/dl)	175.7 \pm 35.2	184.0 \pm 35.3	187.4 \pm 32.3	185.0 \pm 34.4
TG (mg/dl)	106.5 \pm 50.9	129.4 \pm 65.7 ^a	123.8 \pm 77.2 ^b	127.7 \pm 69.2 ^c
LDL-C (mg/dl)	113.6 \pm 35.9	114.1 \pm 39.3	119.0 \pm 27.4	115.5 \pm 36.2
Smoker, <i>n</i> (%)	55 (80.9)	86 (61.4)	34 (59.6)	120 (60.9)
Hypertension, <i>n</i> (%)	47 (78.3)	101 (72.1)	37 (64.9)	138 (70.1)
Diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	19 (27.9)	32 (22.9)	15 (26.3)	47 (23.9)

Values are mean \pm S.D., HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; T-chol, total cholesterol; TG, triglyceride; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol.

^a R/R vs. R/K, *P* = 0.015 (unadjusted), *P* = 0.003 (adjusted for the I/M 823, sex, body mass index, smoking status, hypertension and diabetes mellitus).

^b R/R vs. K/K, *P* = 0.015 (unadjusted), *P* = 0.104 (adjusted).

^c R/R vs. R/K + K/K, *P* = 0.025(unadjusted), *P* = 0.055(adjusted).

Table 6

CAD and lipid profile in subjects without hypolipidemic agents, $n = 265$

	CAD +	CAD –	P
<i>n</i>	157	108	
HDL-C (mg/dl)	45.9 ± 12.8	52.7 ± 18.7	0.001
T-chol (mg/dl)	182.4 ± 35.4	183.5 ± 34.9	0.57
TG (mg/dl)	134.0 ± 85.9	120.8 ± 73.1	0.20
LDL-C (mg/dl)	114.9 ± 38.3	111.6 ± 34.3	0.57

Values are mean ± S.D., HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; T-chol, total cholesterol; TG, triglyceride; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol.

CAD as numbers of affected vessels, the allele frequencies of the I 823 and the M 823 were 0.481 and 0.519 in the single vessel disease, and 0.514 and 0.486 in the multi-vessel disease, respectively. There was also no difference in the severity of CAD ($P = 0.65$).

The distribution of the R/K 219 variants (R/R, R/K and K/K) was 26.8, 50.9 and 22.3% in subjects with CAD and 22.6, 53.3 and 24.1% in subjects without CAD, respectively. The R/K 219 allele frequencies of the R 219 and the K 219 were 0.518 and 0.482 in subjects with CAD, and 0.493 and 0.507 in subjects without CAD, respectively ($P = 0.44$). In the severity of CAD, the allele frequencies of the R 219 and the K 219 were 0.522 and 0.448 in the single vessel disease, and 0.493 and 0.507 in the multi-vessel disease, respectively. Also no positive association was observed between the R/K 219 variants and susceptibility to or severity of CAD ($P = 0.65$).

3.6. Lack of the linkage equilibrium between the I/M 823 and the R/K 219

We evaluated whether there was significant linkage disequilibrium between these two genetic variants by the method previously described [18]. No significant linkage disequilibrium was shown between the I/M 823 and the R/K 219.

Table 7

Negative association of the I/M 823 (A) and the R/K 219 (B) variants with incidence of CAD, $n = 410$

	I/I	I/M	M/M	Total	M allele
<i>(A) I/M 823 variants</i>					
CAD –	47	34	56	137	0.533 (N.S.)
CAD +	95	86	92	273	0.495
Total	142	120	148	410	
	R/R	R/K	K/K	Total	K allele
<i>(B) R/K 219 variants</i>					
CAD –	31	73	33	137	0.507 (N.S.)
CAD +	73	139	61	273	0.482
Total	104	212	94	410	

N.S.; no statistical significance.

4. Discussion

We found a significant association between the I/M 823 variant of *ABCA1* and plasma HDL-C level, and also a trend in the association of the R/K 219 variant with plasma TG level in Japanese population. However, we could not find any association of these variants with incidents of CAD.

Previous studies in other ethnic groups have shown that variations in the coding region of *ABCA1* affect plasma lipid level. Wang et al. [16] noted a wide range of allelic frequencies in the I/M 823 genotype across six ethnic groups (Caucasian, South Asians, Inuit, Africans, Oji-Cree and Chinese), each group comprising a small number of subjects. They demonstrated that the I/M 823 variant contributes to increased level of HDL-C only in Canadian Inuits probably due to social or ethnic difference. Clee et al. [17] showed that the R/K 219 variant was associated with increased level of HDL-C and decreased level of TG, and had a tendency of age decline of cholesterol efflux in French-Canadians. These genotypes were also associated with a decrease in progression of coronary atherosclerosis and decreased coronary events. Our data, derived from Japanese population, showed consistent alterations in lipid profile associated with the I/M 823 variant, however, this did not relate to the R/K 219 variant previously noted in Caucasians. Moreover, we noted that the R/K 219 variant might have a tendency to be associated with increased level of plasma TG. We used the log-transformed values of TG to assess the association between genotypes and lipid profile because it has been argued that there is a significant departure from Gaussian distribution relative to TG values. This result contradicts previous findings in the French-Canadian and European populations that showed a decrease in TG level associated with the R/K 219 variant [17]. There are several explanations for the discrepancies noted above. Firstly, some discrepancies may be at least partially attributed to social, environmental or racial differences. There appears to be a large difference in the distribution of different SNP genotypes among ethnic groups. Concerning *ABCA1* variants, the M 823 allele has been shown to be common in Japanese (allele frequency = 0.507). In comparison the M 823 allele frequency was shown to vary widely among other ethnic groups as follows; Caucasian, 0.079; South Asians, 0.145; Inuit, 0.294; Africans, 0.419; Oji-Cree 0.690 and Chinese, 0.737, respectively [16]. Moreover, the frequency of the K 219 allele was shown to be 0.488 in Japanese, in contrast to French-Canadians with a frequency of 0.254 [17]. Moreover, influence of diet and environmental factors on lipid profile differs widely among study groups. It should be pointed out that in our study group, patients treated with lipid-lowering agents were excluded from the study of lipid profile; this

may have a bearing on the results relative to genotype-specific changes of lipid profile.

In order to explain the mechanism by which these genetic variations alter HDL-C level, Tanaka et al. [19] have proposed the topological model of ABCA1. ABCA1 consists of two separate 6-helix transmembrane domains and two nucleotide-binding sites, with extracellular loops that bridge the subdomains. Several glycosylation sites have been proposed to be present on the subdomains and the extracellular loops, these being consistent with the known highly glycosylated state of the ABC transporters. Previous functional analysis has revealed that the presence of variations around the putative glycosylation sites affect glycosylation of the ABC transporter, modifying cholesterol efflux and plasma HDL-C level [19]. The codon 823 is located proximal to the sixth subdomain within the first group of transmembranous domains, adjacent to the putative glycosylation site of ABCA1. Amino acids substitution at codon 823 may cause conformational changes around this portion, resulting in altering the state of glycosylation of the transporter and enhancing cholesterol efflux. In contrast codon 219 is located at the long extra-cellular loop of ABCA1. Various putative glycosylation sites have been documented on this loop, and many potential loss of function-induced variants have been proposed [5–7,20], although no such variants has been reported [21]. Alternatively, there is a possibility that these genetic polymorphisms are merely genetic markers that exhibit significant linkage disequilibrium with other nearby genetic variations that functionally determine HDL-C level.

In this study neither the I/M 823 nor the R/K 219 variants were found to be associated with susceptibility to CAD, although an inverse relationship between plasma HDL-C level and incidence of CAD was shown. Previous studies suggested that both the I/M 823 and the R/K 219 variants might be associated with susceptibility to CAD. These discrepancies may be at least partially attributed to environmental or social factors, or racial differences. In the light of previous reports by us [18,22] and others [16] showing the existence of large interracial differences in the frequency of genetic variations and disease susceptibilities, it is possible that the discrepancy may be caused, at least partially, by methodological factors such as sampling schemes or trial size. In our study scheme, patients with angiographic evidence of CAD were compared with control subjects in whom CAD was excluded on the basis of irrefutable angiographic evidence. Because recruitment of subjects into the study was according to a hospital-based scheme, the control group may not have been representative of the general Japanese population of healthy individuals.

Multiple components have been proposed to regulate HDL-C, including ABC transporters, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer protein (CETP) [23], phospho-

lipid transfer protein (PLTP) [24], hepatic lipase (HL) [25], lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) [26], scavenger receptor class B type I (SR-BI) [27], endothelial lipase (EL) [28], cubilin [29] and several transcriptional factors. Our results suggest that *ABCA1* variants are not the only genetic determinants of HDL-C level, and many other factors are likely to be involved. Therefore, further studies may be required to define the role of *ABCA1* variants in regulation of HDL-C. Of special interest would be a prospective study in a healthy population to establish the contribution of *ABCA1* variants on HDL-C level and cardiovascular risk.

While we were preparing this manuscript, Takagi et al. [30] demonstrated no association of the R/K 219 and-477 C/T polymorphisms with HDL-C level in a Japanese population. In contrast, we demonstrated the I/M 823 variant, not the R/K 219 variant, is associated with HDL-C level. Moreover, there is no linkage disequilibrium between these variants. Totally, it is likely that the I/M 823 variant or near-by variant around this portion is a functional mutation to alter HDL-C level.

In summary, here we presented the report examining the relationship between *ABCA1* variants and lipid profile in a sample of the Japanese population, and provided evidence that the I/M 823 variant in the coding region of *ABCA1* independently affect the plasma level of HDL-C in the Japanese.

Acknowledgements

We wish to appreciate all the doctors in charge in the inpatient ward and in the cardiovascular catheter laboratory in the Department of Cardiovascular Medicine, the University of Tokyo Hospital for their recruitment and DNA sampling. And we also wish to thank Chie Fujinami, Akiko Oeda, Yukari Nakajima, Chika Masuo, Kazuko Itosawa and Kaoru Abe for their excellent technical assistance. This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas (C): Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (Tsutome Yamazaki, H. Morita); a Grant-in-Aid for University and Society Collaboration: Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (R. Nagai, Tsutome Yamazaki, H. Morita); The National Research and Development Program for Medical and Welfare Apparatus: New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO): (R. Nagai, H. Morita); and Health Science Research Grants, Ministry of Health, Labour and Welfare (Tsutome Yamazaki, R. Nagai, K. Maemura, H. Morita, D. Hayashi) and Research Grant of Tokyo Hypertension Conference (Y. Imai).

References

- [1] Nofer JR, Kehrel B, Fobker M, Levkau B, Assmann G, von Eckardstein A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 2002;161:1–16.
- [2] Oram JF. The cholesterol mobilizing transport ABCA1 as a new therapeutic target for cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 2002;12:170–5.
- [3] Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Miltiados G, Goudevenos JA, Cariolou MA, Chapman MJ, Tselepis AD, Elisaf M. Altered distribution of platelet-activating factor-acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2002;43:256–63.
- [4] Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low density lipoprotein against oxidative modification by high density lipoprotein associated with paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129–35.
- [5] Brook-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, Yu K, Brewer C, Collins JA, Molhuizen HO, Loubster O, Ouellette BF, Fichter K, Ashbourne-Excoffon KJ, Sensen CW, Scherer S, Mott S, Denis M, Martindale D, Frohlich J, Morgan K, Koop B, Pimstone S, Kastelein JJ, Hayden MR. Mutations in ABCA1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet* 1999;22:336–45.
- [6] Bodzioch M, Orso E, Klucken J, Langmann T, Bottcher A, Diederich W, Drobnik W, Barlage S, Buchler C, Porsh-Ozcurum M, Kaminski WE, Hahmann HW, Oette K, Roche G, Aslanidis C, Lackner KJ, Schmitz G. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nat Genet* 1999;22:347–51.
- [7] Rust S, Rosier M, Funke H, Real J, Amoura Z, Pietter JC, Deleuze JF, Brewer HB, Duverger N, Deneffe P, Assaman G. Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nat Genet* 1999;22:352–5.
- [8] Marcil M, Brooks-Wilson A, Clee S, Roomp K, Zhang LH, Yu L, Collins JA, van Dam M, Molhuizen HO, Loubster O, Ouellette BF, Sensen CW, Fichter K, Mott S, Denis M, Boucher B, Pimstone S, Genest J, Jr, Kastelein JJ, Hayden MR. Mutations in the ABCA1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux. *Lancet* 1999;354:1341–6.
- [9] Clifton-Bligh P, Nestel PJ, Whyte HM. Tangier disease. Report of a case and studies of lipid metabolism. *New Engl J Med* 1972;286:567–71.
- [10] McNeish J, Aiello RJ, Guyot D, Turi T, Gabel C, Aldinger C, Hoppe KL, Roach ML, Royer LJ, de Wet J, Broccardo C, Chimini G, Francone OL. High density lipoprotein deficiency and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:4245–50.
- [11] Orso E, Broccardo C, Kaminski WE, Bottcher A, Liebisch G, Drobnik W, Gotz A, Chambenoit O, Diederich W, Langmann T, Spruss T, Luciani MF, Rothe G, Lackner KJ, Chimini G, Schmitz G. Transport of lipids from golgi to plasma membrane is defective in Tangier disease patients and Abcl-deficient mice. *Nat Genet* 2000;24:192–6.
- [12] Cavelier LB, Qiu Y, Bielicki JK, Afzal V, Cheng JF, Rubin EM. Regulation and activity of the human ABCA1 gene in transgenic mice. *J Biol Chem* 2001;276:18046–51.
- [13] Iida A, Saito S, Sekine A, Kitamura Y, Kondo K, Mishima C, Osawa S, Harigae S, Nakamura Y. High-density single-nucleotide polymorphism (SNP) map of the 150-kb region corresponding to the human ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) gene. *J Hum Genet* 2001;46:522–8.
- [14] Lutucuta S, Ballantyne CM, Elghannam H, Gotto AM, Jr, Marian AJ. Novel polymorphism in promoter region of ATP binding cassette transporter gene and plasma lipids, severity, progression, and regression of coronary atherosclerosis and response to therapy. *Circ Res* 2001;88:969–73.
- [15] Brousseau ME, Bodzioch M, Schaefer EJ, Goldkamp AL, Kielar D, Probst M, Ordovas JM, Aslanidis C, Lackner KJ, Rubins HB, Collins D, Robins SJ, Wilson PWF, Schmitz G. Common variants in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 in men with low LDL cholesterol levels and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2001;154:607–11.
- [16] Wang J, Burnett JR, Near S, Young K, Zinman B, Hanley AJG, Connelly PW, Harris SB, Hegele RA. Common and rare ABCA1 variants affecting plasma HDL cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1983–9.
- [17] Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, Zwarts KY, Molhuizen HOF, Roomp K, Jukema W, van Wijland M, van Dam M, Hudson TJ, Brooks-Wilson A, Genest J, Jr, Kastelein JJP, Hayden MR. Common genetic variation in ABCA1 is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease. *Circulation* 2001;103:1198–205.
- [18] Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Yazaki Y. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis* 2000;49:435–42.
- [19] Tanaka AR, Ikeda Y, Abe-Dohmae S, Arakawa R, Sadanami K, Kidera A, Nakagawa S, Nagase T, Aoki R, Kioka N, Amachi T, Yokoyama S, Ueda K. Human ABCA1 contains a large amino-terminal extracellular domain homologous to an epitope of Sjogren's syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;283:1019–25.
- [20] Huang W, Moriyama K, Koga T, Hua H, Ageta M, Kawabata M, Teramoto T, Sasaki J. Novel mutations in ABCA1 gene in Japanese patients with Tangier disease and familial high density lipoprotein deficiency with coronary heart disease. *Biochem Biophys Acta* 2001;1537:71–8.
- [21] Nishida Y, Hirano K, Tsukamoto K, Nagano M, Ikegami C, Roomp K, Ishihara M, Sakane N, Zhang Z, Tsujii Ki K, Matsuyama A, Ohama T, Matsuura F, Ishigami M, Sakai N, Hiraoka H, Hattori H, Wellington C, Yoshida Y, Misugi S, Hayden MR, Egashira T, Yamashita S, Matsuzawa Y. Expression and functional analyses of novel mutations of ATP-binding cassette transporter-1 in Japanese patients with high-density lipoprotein deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:713–21.
- [22] 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. *Thromb Haemost* 2001;85:226–30.
- [23] Francone OL, Royer L, Haghpassand M. Increased pre- β -HDL levels, cholesterol efflux, and LCAT mediated esterification in mice expressing the human cholesteryl ester transfer protein (CETP) and human apolipoprotein A-I (apo A-I) transgene. *J Lipid Res* 1996;37:1268–77.
- [24] von Eckardstein A, Jauhainen M, Huang Y, Metso J, Langer C, Pussinen P, Wu S, Ehnholm C, Assmann G. Phospholipid transfer protein mediated conversion of high density lipoprotein (HDL) generates generation of pre- β 1-HDL. *Biochem Biophys Acta* 1996;1301:255–61.
- [25] Barrans A, Collet X, Barbaras R, Jaspard B, Manent J, Vieu C, Chap H, Perret B. Hepatic lipase induces the formation of pre- β 1-high density lipoprotein (HDL) from triacylglycerol-rich-HDL. *J Biol Chem* 1994;269:11572–7.
- [26] Miida T, Kawano M, Fielding CJ, Fielding PE. Regulation of the concentration of pre high density lipoprotein in normal plasma by cell membranes and lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochemistry* 1992;31:11112–20.

- [27] Acton S, Rigotti A, Landchulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science* 1996;271:518–20.
- [28] Rader D, Jaye M. Endothelial lipase: a new member of the triglyceride lipase gene family. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:141–8.
- [29] Moestrup SK, Kozyraki R. Cubilin, a high density lipoprotein receptor. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:133–40.
- [30] Takagi S, Iwai N, Miyazaki S, Nonogi H, Goto Y. Relationship between ABCA1 genetic variation and HDL cholesterol level in subjects with ischemic heart disease in Japanese. *Thromb Haemost* 2002;88:369–70.

Investigation of the Optimal Treatment Strategy for Atrial Fibrillation in Japan — The J-RHYTHM (Japanese Rhythm Management Trial for Atrial Fibrillation) Study Design —

Takeshi Yamashita, MD; Satoshi Ogawa, MD; Yoshifusa Aizawa, MD; Hirotsugu Atarashi, MD; Hiroshi Inoue, MD; Tohru Ohe, MD; Ken Okumura, MD; Takao Kato, MD; Shiro Kamakura, MD; Koichiro Kumagai, MD; Yoshihisa Kurachi, MD; Itsuo Kodama, MD; Yukihiro Koretsune, MD; Tetsunori Saikawa, MD; Masayuki Sakurai, MD; Kaoru Sugi, MD; Haruaki Nakaya, MD; Toshio Nakayama, MD; Makoto Hirai, MD; Masahiko Fukatani, MD; Hideo Mitamura, MD; Tsutomu Yamazaki, MD on behalf of the J-RHYTHM Investigators

The Japanese Rhythm Management Trial for Atrial Fibrillation (J-RHYTHM study) is a randomized comparative evaluation of rate control and rhythm control, both combined with antithrombotic therapy, as therapeutic strategies for the treatment of atrial fibrillation (AF). This study differs from the earlier AFFIRM and RACE studies in that it has a composite primary end-point representing mortality and also physical/psychological disablement (total mortality, symptomatic cerebral infarction, systemic embolism, major bleeding, hospitalization for heart failure requiring intravenous administration of diuretics, and patient disablement). Patients' will to change the therapeutic strategy to the other is also considered as an end-point representing disablement under the assigned strategy. The secondary end-point includes quality of life scores and the efficacy and safety of drugs used in treating AF. The J-RHYTHM study emphasizes patient-reported experience and perception of AF-specific disablement, and the safety of antiarrhythmics available in Japan; it will follow 2,600 patients treated at more than 150 sites in Japan for a 3-year period. (Circ J 2003; 67: 738–741)

Key Words: Antiarrhythmic drugs; Atrial fibrillation; Quality of life

As the Japanese population ages and the number of patients with atrial fibrillation (AF) increases, the management of this arrhythmia gains importance; however, it is unclear what is the most effective therapeutic strategy. For the present study, we selected for investigation 2 strategies that are based on totally distinct concepts: (1) rhythm control that pursues the maintenance of sinus rhythm and (2) rate control that accepts the AF, but controls the ventricular response. Two previous multicenter studies, the AFFIRM study in the United States and Canada^{1–4} and the RACE study in the Netherlands^{5,6} investigated these strategies with patient mortality as the primary end-point and neither found a significant difference in mortality between the 2 strategies; both studies recommended the use of anticoagulation with any treatment strategy. Although these important trials produced the first clinical evidence concerning treatment for AF, the results cannot be applied directly to AF patients in Japan for several reasons:^{7,8} the studies did not differentiate between paroxysmal and persistent AF;^{1,4} a distinction that should inform any treatment decision; the studies did not assess AF-specific quality of life (QOL).^{1,4–6}

another important factor in the treatment decision; the antiarrhythmic drugs used in those studies were quite different from those available in Japan;^{4,5,7,8} and antithrombotic therapy was discontinued in some cases assigned to the rhythm control group but not to the rate control group, possibly distorting the interpretation of the results.

The Japanese Rhythm Management Trial for Atrial Fibrillation (J-RHYTHM study) is designed to determine the optimal strategic approach to AF for patients in Japan, as measured by not only mortality, but also the physical/psychological disablement of AF. The study design differs from that of the 2 previous trials in its emphasis on the patients' AF-specific QOL,⁷ the safety of antiarrhythmics available in Japan, and the identical use of antithrombotic therapy with both strategies.

Objectives, Implementation, and Design of the J-RHYTHM Study

Primary Objectives

The J-RHYTHM study will investigate and compare the usefulness of rhythm control therapy and rate control therapy in patients with paroxysmal or persistent AF with a composite primary end-point of total mortality, symptomatic cerebral infarction, systemic embolism, major bleeding, hospitalization for heart failure requiring intravenous administration of diuretics, or physical/psychological disablement requiring discontinuation of the assigned therapeutic

(Received May 6, 2003; revised manuscript received June 19, 2003; accepted June 24, 2003)

J-RHYTHM Clinical Trial Center, The Cardiovascular Institute, Tokyo, Japan

Mailing address: Takeshi Yamashita, MD, J-RHYTHM Clinical Trial Center, The Cardiovascular Institute, 7-3-10 Roppongi, Minatoku, Tokyo 106-0032, Japan