

Table A2. (Continued)

| Gene name | Allele 1/Allele 2 | | Amino acid change | Region | Allele 1 | | Allele 2 | Total | Allele frequency | | Flanking sequence | dbSNP ID |
|-----------|-----------------------|--|-------------------|----------|----------|--------|----------|-------|------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------|
| | SNPs | | | | Homo | Hetero | | | Homo | Allele 1 | | |
| MLR | C39240T ^d | | | intron25 | 43 | 4 | 0 | 47 | 0.957 | 0.043 | gtaagtagtgcc[c/t]ggctgtgggag | rs2289115 |
| | C39375T ^e | | | intron25 | 23 | 20 | 4 | 47 | 0.702 | 0.298 | acatagccctgg[c/t]gattcttagcat | rs2289114 |
| | C48128T | | Ile1008Ile | exon26 | 38 | 9 | 0 | 47 | 0.904 | 0.096 | agtcatcctgat[c/t]cgaggaaaccag | rs2289113 |
| | A48195G | | 3'UTR | exon26 | 46 | 1 | 0 | 47 | 0.989 | 0.011 | acatccctgtcc[a/g]cagcctctgagtg | |
| | C-2G | | | exon2 | 0 | 20 | 27 | 47 | 0.213 | 0.787 | tttattttag[c/g]gatggagaccaa | rs2070951 |
| | G218A | | Cys73Tyr | exon2 | 30 | 1 | 0 | 31 | 0.984 | 0.016 | aactactccctt[g/a]ccttcagcaaga | rs5522 |
| | G449A | | Arg150His | exon2 | 45 | 3 | 0 | 48 | 0.969 | 0.031 | gaaatggccatc[g/a]tcttccactct | |
| | G538A ^a | | Val180Ile | exon2 | 0 | 14 | 34 | 48 | 0.146 | 0.854 | gtcatgcgcgc[g/a]ttgttaaaagcc | |
| | T1497C ^a | | Asp499Asp | exon2 | 0 | 14 | 34 | 48 | 0.146 | 0.854 | agaaccagatga[t/c]gggagctattac | rs5525 |
| | A1661G | | Asn554Ser | exon2 | 43 | 5 | 0 | 48 | 0.948 | 0.052 | ttctcctgtca[a/g]tacttttagtga | rs5527 |
| WNK1 | G1872A | | | intron2 | 45 | 3 | 0 | 48 | 0.969 | 0.031 | gttttaaggatg[g/a]tcatatgttct | |
| | G421A | | Ala141Thr | exon1 | 89 | 5 | 0 | 94 | 0.973 | 0.027 | cctccagccctc[g/a]ccgccctgggg | |
| | C446T | | Ala149Val | exon1 | 90 | 4 | 0 | 94 | 0.979 | 0.021 | aacagccctgc[c/t]gggccctgcccc | |
| | C511T | | Leu171Phe | exon1 | 93 | 1 | 0 | 94 | 0.995 | 0.005 | tcccagcctagc[c/t]ttgtgggagca | |
| | G786A ^f | | | intron1 | 0 | 15 | 80 | 95 | 0.079 | 0.921 | actttatttgac[g/a]gtcctttggaic | rs3858703 |
| | A59884G | | | intron1 | 88 | 1 | 0 | 89 | 0.994 | 0.006 | tctgagtacac[a/g]ttaacagtaaag | |
| | C73737G ^f | | | intron3 | 0 | 16 | 79 | 95 | 0.084 | 0.916 | gactgctttct[c/g]acattccttta | rs2158502 |
| | A76571G ^f | | Ala429Ala | exon4 | 0 | 16 | 78 | 94 | 0.085 | 0.915 | ccaaaatgctgc[a/g]cagatctaccgt | |
| | C105668A ^g | | | intron5 | 91 | 4 | 0 | 95 | 0.979 | 0.021 | tttctttccct(c/a)gtttggaagat | |
| | T105758C ^a | | Asp493Asp | exon6 | 91 | 4 | 0 | 95 | 0.979 | 0.021 | agcagaagaaga[t/c]gatggagaaaa | rs2286006 |
| WNK4 | G105987A | | | intron6 | 93 | 1 | 0 | 94 | 0.995 | 0.005 | tgatgaagtgc[g/a]tgtgtgcatat | |
| | A107419G | | | intron6 | 75 | 13 | 0 | 88 | 0.926 | 0.074 | tttcaataact[a/g]ctgcttaattta | |
| | C108560T | | Thr665Ile | exon8 | 85 | 10 | 0 | 95 | 0.947 | 0.053 | cctctgtctca[c/t]agaatctcagat | rs2286007 |
| | G124751A ^h | | Gln776Gln | exon10 | 4 | 26 | 56 | 86 | 0.198 | 0.802 | gccagtgatca[g/a]cctcaagctcca | rs1012729 |
| | T125972A | | | intron10 | 92 | 1 | 0 | 93 | 0.995 | 0.005 | tttttttttt[t/a]aagcctgtctgt | |
| | G126163A ⁱ | | Gln843Gln | exon11 | 75 | 20 | 1 | 96 | 0.885 | 0.115 | ccctgtctctca[g/a]attcccatatca | |
| | A128177C ^j | | Thr1056Pro | exon13 | 3 | 19 | 71 | 93 | 0.134 | 0.866 | gcagtagcacag[a/c]cccagactacc | rs956868 |
| | C128274T ^h | | | intron13 | 60 | 28 | 5 | 93 | 0.796 | 0.204 | gacggatgaaa[c/t]gccaaactgtca | |
| | C129494T ⁱ | | | intron16 | 74 | 20 | 1 | 95 | 0.884 | 0.116 | acaattatgta[c/t]gtctgcatgttg | |
| | A129852G | | Ile1172Met | exon16 | 88 | 4 | 0 | 92 | 0.978 | 0.022 | tattctagcaat[a/g]gagagagatcg | |
| WNK4 | C130104T | | | intron16 | 90 | 2 | 0 | 92 | 0.989 | 0.011 | gacacctagac[c/t]gacaacaaact | |
| | T130917C ^k | | | intron18 | 44 | 39 | 12 | 95 | 0.668 | 0.332 | gatattgtagta[t/g]gtgtttattct | |
| | C131195T | | Asn1320Asn | exon19 | 20 | 47 | 28 | 95 | 0.458 | 0.542 | agaaggaccaca[c/t]acagcactcca | |
| | C131279T ^j | | Thr1348Thr | exon19 | 72 | 19 | 3 | 94 | 0.867 | 0.133 | tggagtccaac[c/t]acagcagcagcc | |
| | C132236T | | Ser1667Ser | exon19 | 87 | 2 | 0 | 89 | 0.989 | 0.011 | cagtgaacacag[c/t]tcatctggagct | |
| | C132444G | | Pro1737Ala | exon19 | 88 | 1 | 0 | 89 | 0.994 | 0.006 | caagtttctacc[c/g]cagtcagcacta | |
| | T132576 ^{-l} | | | intron19 | 68 | 17 | 3 | 88 | 0.869 | 0.131 | atcagtttttt[t/-]ctccctaatgag | |
| | A132655G | | | intron19 | 20 | 36 | 15 | 71 | 0.535 | 0.465 | cttatagattt[a/g]ttaaattgacag | |
| | C133634T ⁱ | | | intron19 | 72 | 19 | 0 | 91 | 0.896 | 0.104 | tttagcgtctca[c/t]ggacttgatttt | |
| | G135642T ^k | | Met1808Ile | exon21 | 42 | 42 | 9 | 93 | 0.677 | 0.323 | tagtccagagat[g/t]atcacagtgact | |
| WNK4 | T135771G | | | intron21 | 92 | 1 | 0 | 93 | 0.995 | 0.005 | tttaacatgat[t/g]cagagttctctgc | |
| | G136943A | | Gln1832Gln | exon22 | 93 | 1 | 0 | 94 | 0.995 | 0.005 | agcaggaacaca[g/a]cctcagaagggt | |
| | A141069T | | Gly1858Gly | exon23 | 86 | 3 | 0 | 89 | 0.983 | 0.017 | tttaagatggg[a/t]cgatttcaggta | |
| | C141114T ^h | | | intron23 | 58 | 27 | 4 | 89 | 0.803 | 0.197 | cttgattcctc[c/t]ttggaggagtt | rs2301880 |
| | T142439C ⁱ | | | intron23 | 70 | 19 | 1 | 90 | 0.883 | 0.117 | tgattcttttt[t/c]cctttttaa | |
| | C142763T | | Arg1945Cys | exon24 | 87 | 6 | 0 | 93 | 0.968 | 0.032 | accaaggttgga[c/t]gttttcagggtga | |
| | C163T | | Arg55Cys | exon1 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | gagccccggccg[c/t]gtctctctctgc | |
| | G288A | | Arg96Arg | exon1 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | tggccccggcag[g/a]agccccaccct | |
| | C383T | | Pro128Leu | exon1 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | gtccccagctcc[c/t]ggactctcagat | |
| | T2074C | | Ser211Ser | exon2 | 93 | 1 | 0 | 94 | 0.995 | 0.005 | tggaaactgtc[t/c]agagctgagcgg | |
| C2285T | | | intron2 | 87 | 7 | 0 | 94 | 0.963 | 0.037 | gatgtgtccca[c/t]tgcttctgac | | |

Table A2. (Continued)

| Gene name | Allele 1/Allele 2 SNPs | | Amino acid change | Region | Allele 1 Homo | Hetero | Allele 2 Homo | Total | Allele frequency | | Flanking sequence | dbSNP ID |
|-----------|------------------------|----------|-------------------|----------|---------------|--------|---------------|-------|------------------|----------|--------------------------------|-----------|
| | Allele 1 | Allele 2 | | | | | | | Allele 1 | Allele 2 | | |
| | A4732G | | Ile474Val | exon6 | 94 | 1 | 0 | 95 | 0.995 | 0.005 | gacaaccaggcc[a/g]tcgagtctctgt | |
| | A6744G | | Met546Val | exon7 | 277 | 1 | 0 | 278 | 0.998 | 0.002 | gcaactgtgcc[a/g]tgccccccggtc | |
| | C6749T ¹ | | Ala567Ala | exon7 | 87 | 5 | 1 | 93 | 0.962 | 0.038 | tgtgccatggc[c/t]cccgtcccccc | |
| | G7144T | | Ala601Ser | exon8 | 89 | 6 | 1 | 96 | 0.958 | 0.042 | gcctcagaccct[g/t]cccttcagcccc | |
| | A7235 | | | intron8 | 83 | 12 | 1 | 96 | 0.927 | 0.073 | tgggggctccc[a/del]gccattccaagc | |
| | G8119A | | | intron11 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | gagggggagaga[g/a]atgaggacagag | |
| | G12806C ¹ | | | intron12 | 89 | 6 | 1 | 96 | 0.958 | 0.042 | cgcgccagcct[g/c]atgttttaagat | |
| | T12948C | | Ile740Thr | exon12 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | ggattcgggaga[t/c]tatccagcgagt | |
| | G14139C | | Gly808Ala | exon14 | 90 | 1 | 0 | 91 | 0.995 | 0.005 | catcttctctc[g/c]aacctcttctc | |
| | G14440A ¹ | | Pro908Pro | exon14 | 89 | 6 | 1 | 96 | 0.958 | 0.042 | ttcttctctc[g/a]tgccccccact | rs2290042 |
| | C14597T ¹ | | Pro961Ser | exon14 | 88 | 6 | 1 | 95 | 0.958 | 0.042 | cctagtcctc[c/t]ctagcctgcccc | rs2290041 |
| | C14717T | | | intron14 | 75 | 19 | 0 | 94 | 0.899 | 0.101 | aggggagactcca[c/t]ctcactctc | rs2290040 |
| | C15503A | | Pro1173Thr | exon17 | 278 | 1 | 0 | 279 | 0.998 | 0.002 | aagcagccccca[c/a]cgggtattgtgg | |
| | T15677C | | | intron17 | 275 | 2 | 0 | 277 | 0.996 | 0.004 | ctgtcactgt[t/c]ttccaggccc | |
| | C15703T | | | intron17 | 277 | 1 | 0 | 278 | 0.998 | 0.002 | gggggtctgcc[c/t]gggggaatagac | |
| | C15738A | | | intron17 | 272 | 4 | 0 | 276 | 0.993 | 0.007 | cacctccccctt[c/a]ctcacttagtc | |
| NCX1 | A-23846C | | | intron1d | 94 | 1 | 0 | 95 | 0.995 | 0.005 | tcacactgcctt[a/c]aattcaggact | |
| | T-23690C | | | intron1d | 62 | 31 | 2 | 95 | 0.816 | 0.184 | aaatttaactta[t/c]agcaaggaaaga | |
| | C-23449A | | | intron1d | 85 | 9 | 1 | 95 | 0.942 | 0.058 | catactcacatt[c/a]atgtttgaggag | |
| | T-23200C ^m | | | intron1d | 0 | 9 | 86 | 95 | 0.047 | 0.953 | atccgccccct[t/c]ttgttcggag | rs2301340 |
| | G-23186C ^m | | | intron1d | 0 | 9 | 86 | 95 | 0.047 | 0.953 | ttgttcggagg[g/c]aaactgaggctc | rs2301341 |
| | T-23181C | | | intron1d | 18 | 57 | 20 | 95 | 0.489 | 0.511 | gaggaggcaaac[t/c]gaggtcctgga | rs2301342 |
| | A-22729C | | | intron1c | 71 | 23 | 1 | 95 | 0.868 | 0.132 | taattatgagga[a/c]agtgattattg | rs2301343 |
| | A-22660— | | | intron1c | 94 | 1 | 0 | 95 | 0.995 | 0.005 | gattgtgcatt[a/-]jggtttttccca | |
| | A-22387C | | 5'UTR | exon1b | 93 | 3 | 0 | 96 | 0.984 | 0.016 | attaaaaaaaa[a/c]tcattgatata | |
| | C-22144G | | | intron1b | 84 | 9 | 2 | 95 | 0.932 | 0.068 | gcgcggccacaa[c/g]gcactcggggc | |
| | G14A | | Arg5Gln | exon2 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | gtacaacatgc[g/a]gcgtaagtct | |
| | C303T | | Ser101Ser | exon2 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | tcggtcatgtc[c/t]tctatagaagtc | |
| | G252581A | | | intron4 | 45 | 40 | 11 | 96 | 0.677 | 0.323 | tcttctctcc[g/a]tgctccctact | rs433572 |
| | —255090A | | | intron5 | 94 | 1 | 0 | 95 | 0.995 | 0.005 | tcaggtgataca[-/a]gtagctctgtga | |
| | C265364T | | Arg703Cys | exon9 | 95 | 1 | 0 | 96 | 0.995 | 0.005 | gcagaaatgggg[c/t]gcccatcctgg | |

dbSNP ID was searched by using SNPper, a CHIP Bioinformatics Tool (Riva and Kohane 2001: <http://snpper.chip.org/bio/snpper-enter>, as of May 1 of 2003, that was constructed by dbSNP build 112). ^mThe apparent linkage disequilibrium was indicated in the Gene name column. * Triallelic polymorphism.

- 151-183.
3. The ALLHAT Officers and Coordinators for ALLHAT Collaborative Research Group: Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomised to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic. *JAMA* 2002; **288**: 2981-2997.
4. Kaplan NM: Clinical Hypertension. Treatment of Hypertension: Drug Therapy, 8th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2002.
5. Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E: C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension* 2001; **37**: 739-743.
6. Glorioso N, Manunta P, Filigheddu F, et al: The role of alpha-adducin polymorphism in blood pressure and sodium handling regulation may not be excluded by a negative association study. *Hypertension* 1999; **34**: 649-654.
7. Sugimoto K, Hozawa A, Katsuya T, et al: Alpha-adducin Gly460Trp polymorphism is associated with low renin hypertension in younger subjects in the ohasama study. *J Hypertens* 2002; **20**: 1779-1784.
8. Gitelman HJ, Graham JB, Welt LG: A new familial disorder characterized by hypokalemia and hypomagnesemia. *Trans Assoc Am Physicians* 1966; **79**: 221-235.
9. Simon DB, Nelson WC, Bia MJ, et al: Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 1996; **12**: 24-30.
10. Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, et al: Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science* 2001; **293**: 1107-1112.
11. Geller DS, Rodriguez-Soriano J, Vallo Boado A, et al: Mu-

- tations in the mineralocorticoid receptor gene cause autosomal dominant pseudohypoaldosteronism type I. *Nat Genet* 1998; **19**: 279–281.
12. Hwang EF, Williams I, Kovacs G, *et al*: Impaired ability of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger from the Dahl/Rapp salt sensitive rat to regulate cytosolic calcium. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; **284**: F1023–F1031.
 13. Okuda T, Fujioka Y, Kamide K, *et al*: Verification of 525 coding SNPs in 179 hypertension candidate genes in the Japanese population: identification of 159 SNPs in 93 genes. *J Hum Genet* 2002; **47**: 387–394.
 14. Siffert W, Roskopf D, Siffert G, *et al*: Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 1998; **18**: 45–48.
 15. Nakajima T, Jorde LB, Ishigami T, *et al*: Nucleotide diversity and haplotype structure of the human angiotensinogen gene in two populations. *Am J Hum Genet* 2002; **70**: 108–123.
 16. Hilger KF, Delles C, Veelken R, Schmieder RE: Angiotensinogen gene core promoter variants and non-modulating hypertension. *Hypertension* 2001; **38**: 1250–1254.
 17. Tanaka C, Kamide K, Takiuchi S, *et al*: An alternative fast and convenient genotyping method for the screening of angiotensin converting enzyme gene polymorphisms. *Hypertens Res* 2003; **26**: 301–306.
 18. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, *et al*: Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; **24**: 63–69.
 19. Lajemi M, Labat C, Gautier S, *et al*: Angiotensin II type 1 receptor –153A/G and 1166A/C gene polymorphisms and increase in aortic stiffness with age in hypertensive subjects. *J Hypertens* 2001; **19**: 407–413.
 20. Kupari M, Hautanen A, Lankinen L, *et al*: Association between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function. *Circulation* 1998; **97**: 569–575.
 21. Bengtsson K, Melander O, Orho-Melander M, *et al*: Polymorphism in β 1-adrenergic receptor gene and hypertension. *Circulation* 2001; **104**: 187–190.
 22. Bengtsson K, Orho-Melander M, Melander O, *et al*: β 2-Adrenergic receptor gene variation and hypertension in subjects with type 2 diabetes. *Hypertension* 2001; **37**: 1303–1308.
 23. Ranade K, Jorgenson E, Sheu W H-H, *et al*: A polymorphism in β 1 adrenergic receptor is associated with resting heart rate. *Am J Hum Genet* 2002; **70**: 935–942.
 24. Tonolo G, Melis MG, Secchi G, *et al*: Association of Trp64Arg beta 3-adrenergic-receptor gene polymorphism with essential hypertension in the Sardinian population. *J Hypertens* 1999; **17**: 33–38.
 25. Shibata K, Hirasawa A, Moriyama N, Kawabe K, Ogawa S, Tsujimoto G: α 1a-Adrenoceptor polymorphism: pharmacological characterization and association with benign prostatic hypertrophy. *Br J Pharmacol* 1996; **118**: 1403–1408.
 26. Buscher R, Herrmann V, Ring KM, *et al*: Variability in phenylephrine response and essential hypertension: a search for human α 1B-adrenergic receptor polymorphisms. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; **291**: 793–798.
 27. Michel MC, Plogmann C, Philipp T, Brodde O-E: Functional correlates of α 2a-adrenoceptor gene polymorphism in the HANE study. *Nephrol Dial Transplant* 1999; **14**: 2657–2663.
 28. Ardlie KG, Kruglyak L, Seielstad M: Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev* 2002; **3**: 299–309.
 29. Cruz DN, Simon DB, Nelson-Williams C, *et al*: Mutations in the Na-Cl cotransporter reduce blood pressure in humans. *Hypertension* 2001; **37**: 1458–1464.
 30. Melander O, Orho-Melander M, Bengtsson K, *et al*: Genetic variants of thiazide-sensitive NaCl-cotransporter in Gitelman's syndrome and primary hypertension. *Hypertension* 2000; **36**: 389–394.
 31. Wilson FH, Kahle KT, Sabath E, *et al*: Molecular pathogenesis of inherited hypertension with hyperkalemia: the Na-Cl cotransporter is inhibited by wild-type but not mutant WNK4. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 680–684.
 32. Yang CL, Angell J, Mitchell R, Ellison DH: WNK kinases regulate thiazide-sensitive Na-Cl cotransport. *J Clin Invest* 2003; **111**: 1039–1045.
 33. Garbers DL, Dubois SK: The molecular basis of hypertension. *Annu Rev Biochem* 1999; **68**: 127–155.
 34. Sciarrone MT, Stella P, Barlassina C, *et al*: ACE and alpha-adducin polymorphism as markers of individual response to diuretic therapy. *Hypertension* 2003; **41**: 398–403.
 35. Intersalt Cooperative Research Group: Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure: results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. *Br Med J* 1988; **297**: 319–328.
 36. Clement K, Vaisse C, Manning BSJ, *et al*: Genetic variation in the beta-3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *New Engl J Med* 1995; **333**: 352–354.
 37. Urhammer SA, Hansen T, Borch-Johnsen K, Pedersen O: Studies of the synergistic effect of the trp/arg64 polymorphism of the beta-3-adrenergic receptor gene and the –3826 A-G variant of the uncoupling protein-1 gene on features of obesity and insulin resistance in a population-based sample of 379 young Danish subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**: 3151–3154.
 38. Elbein SC, Hoffman M, Barrett K, *et al*: Role of the beta-3-adrenergic receptor locus in obesity and noninsulin-dependent diabetes among members of Caucasian families with a diabetic sibling pair. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; **81**: 4422–4427.
 39. Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E, *et al*: Trp64Arg mutation of 3-adrenergic receptor in essential hypertension; insulin resistance and the adrenergic system. *Am J Hypertens* 1997; **10**: 101–105.
 40. Rissanen J, Kuopusjari J, Pihlajamaki J, *et al*: The Trp64Arg polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene: lack of association with NIDDM and features of insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 1997; **20**: 1319–1323.
 41. Shihara N, Yasuda K, Moritani T, *et al*: The association between Trp64Arg polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor and autonomic nervous system activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; **84**: 1623–1627.

7 高血圧の薬剤ゲノム学研究

かみで けい かわの ゆうへい
■神出 計¹⁾・河野 雄平¹⁾
 みやた としゆき
宮田 敏行²⁾

1) 国立循環器病センター 内科高血圧腎臓部門
 2) 国立循環器病センター 研究所



神出 計
 1990年高知医科大学卒業，同年大阪大学医学部老年病医学（現加齢医学）入局，96～99年 米国UCLA留学，2001年国立循環器病センター高血圧腎臓内科医員，現在に至る。研究テーマは高血圧の遺伝子解析，インスリン抵抗性。趣味は音楽鑑賞，テニス，ゴルフ，ドライブ。

Key words : 個別化医療，降圧薬，薬理遺伝学

はじめに

薬剤の効果や副作用の発現には個人差が存在する。この原因にはもちろん年齢，性差，基礎疾患，薬剤の相互作用など種々の要因が関連すると考えられるが，主原因は体質，すなわち遺伝素因に起因すると考えられてきた¹⁾。古くから薬理遺伝学(Pharmacogenetics)とは「薬剤の反応性における遺伝素因の関与を明らかにする学問」と定義され，その根本は生まれつき個体に発現されている蛋白の構造，配置，濃度といった遺伝的素因がさまざまな部位での薬剤の効果に影響を及ぼしているといった概念に基づいている²⁾。

これまでにPharmacogenetics的手法により明らかにされた成果の多くは薬剤代謝に関する代謝酵素遺伝子変異と薬剤の効果や副作用に関するものであった(Pharmacokinetics)。しかしながら降圧薬における遺伝子変異と降圧効果に関する報告は，そのほとんどが降圧薬の薬理作用部位に関連する遺伝子の多型に関するPharmacodynamicsへの関与を検討したも

のである(図1)。

ヒトゲノム・シーケンスの完了を受けて，これまでわからなかった薬剤の作用部位や詳細な分子構造が明らかにされていくにつれ，それらを標的とした薬理ゲノミクス(Pharmacogenomics)が急速に進歩して来ている。本項では期待が高まる遺伝的素因に基づく個別化医療の実現に向けて，高血圧診療においては非常に重要であると考えられる降圧薬のPharmacogenetics/Pharmacogenomicsにつき，我々の取り組みの紹介を含め概説する。

薬剤反応性の個人差の成り立ち

薬剤反応性の個人差には人種差のような集団として影響を及ぼす因子と各個人の遺伝素因がもたらす因子により20-95%は規定され，これに年齢や薬物代謝に関わる臓器の機能，併用薬剤や治療，病気の程度など非遺伝因子が加わると考えられている³⁾。いくつかの薬剤では単一遺伝子変異が薬物動態や反応性を変えてしまう。その典型例として抗癌剤メルカプトプリンや免疫抑制薬

Pharmacogenetics for antihypertension drugs : Kei Kamide, Yuhei Kawano, Toshiyuki Miyata, 1) Division of Hypertension and Nephrology, National Cardiovascular Center, 2) Research Institute, National Cardiovascular Center.

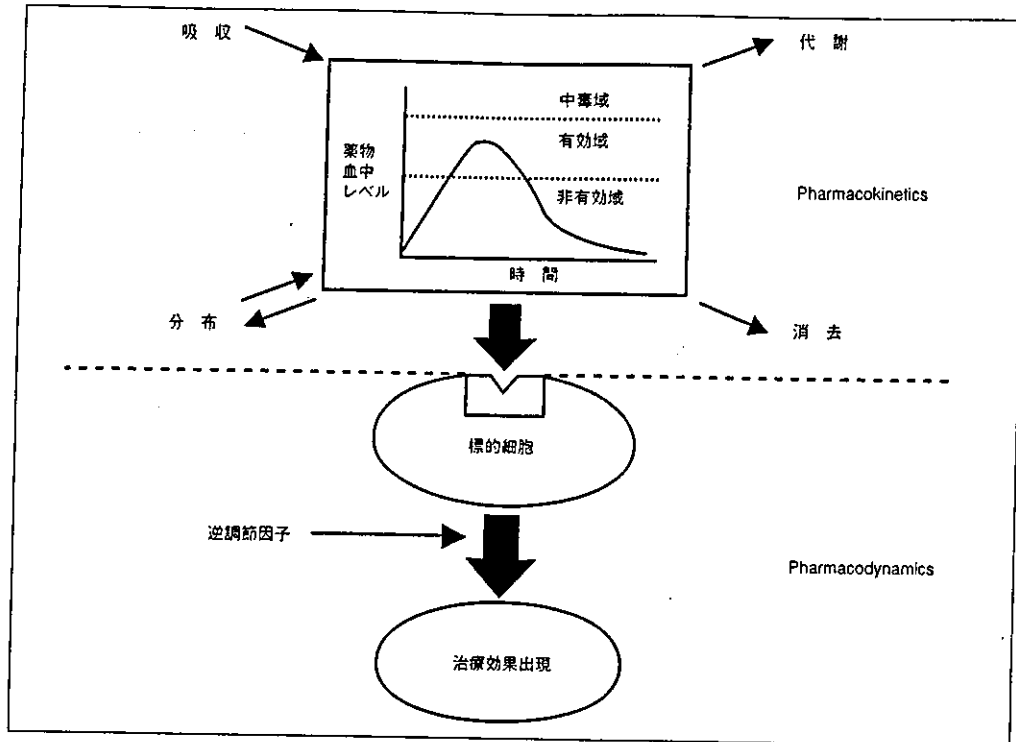


図1 Pharmacokinetics Pharmacodynamics-
降圧薬の遺伝子解析はPharmacodynamicsに集中している

アザチオプリンなどのチオプリン系薬剤の造血組織での不活化酵素である TPMT (thiopurine S-methyltransferase) の遺伝子異常があげられる⁴⁾。この遺伝子 non-function 型のアレルを持つ患者にこれらの薬剤を投与すると重篤で致死的な造血障害が起こることが知られている。しかしながら、一般に降圧薬を含む多くの薬剤では遺伝因子を含め種々の因子の薬剤効果への影響は、それぞれが小さいが累積することにより薬効に影響が及ぶ正規分布型の反応を示すため影響を及ぼす遺伝子変異や多型を同定するのは容易ではないとされる²⁾。

遺伝子以外の臨床情報による 降圧薬の効果予測

遺伝子変異・多型と降圧薬の効果の研究が行われる以前より、降圧薬の効果には人種差

が存在することが知られていた。一般に食塩感受性の強いアフリカ系アメリカ人は利尿薬やカルシウム拮抗薬に感受性が強く、 β 遮断薬やアンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACE I)などのレニン・アンジオテンシン(RA)系の阻害薬はコーカソイドに比し効きにくい。このように人種差を検討することによりある程度降圧薬の選択が可能であるが、レニン活性(PRA)は降圧薬の効果の予測に大変有用である。つまり低レニン性本態性高血圧(PRA: 1.0ng/ml/hr未満)では食塩感受性、水・Na貯留型と考えられ、利尿薬が奏功する可能性が高い。正レニン(PRA: 1.0-2.5ng/ml/hr)もしくは高レニン(PRA: 2.5ng/ml/hr以上)性本態性高血圧ではACE阻害やアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)ならびに β 遮断薬などのRA系阻害薬が奏功することが多い。

このようなPRAをもちいた降圧薬の効果予測は単一民族がほとんどを占める我が国では

有用であろう。他に年齢や体格などは降圧薬の予測因子としては強くない。また残念ながらこれまでの遺伝子多型解析による降圧薬の効果予測もそれほど良好ではない。したがって個別化医療の実現には従来から用いられていた人種やレニン活性などに加えて、遺伝子変異・多型解析を組み合わせることにより効果予測のsensitivityが上昇すると考えられる。

これまでの降圧薬に対する
Pharmacogeneticsの研究成果

これまでに報告された降圧薬の効果に関連する遺伝子多型の多くはPharmacodynamicsの観点より検討されてきた。その理由としてTurnerは自身の総説の中で以下のように推察している²⁾。現在、多型により多様性のある薬物代謝酵素で代謝される降圧薬（ヒドララジン、メチルドーパ、β遮断薬など）は多用されなくなっている。また効果や副作用の発現

に個人差が大きい降圧薬は市場に生き残れない。さらに実験的にヒトの薬物代謝を評価する方法の確立に伴い、一つの遺伝子多型により多様性を示す酵素でもっばら代謝される降圧薬の出現の可能性は非常に低い、などの理由により、Pharmacodynamicsな機序が今現在広く使用されている降圧薬ではその効果の個人差に強く関与しているであろうと考えられているからである。またそのアプローチ法はほとんどが候補遺伝子アプローチである。(表1)

サイアザイド利尿薬一

サイアザイド利尿薬の効果に関与する遺伝子変異は現在までのところG蛋白β3サブユニット遺伝子(GNB3)のC825T多型⁵⁾とα-Adducin遺伝子(ADD1)のGly460Trp多型⁶⁾の2つである。また最近、アフリカ系アメリカ人の女性ではアンジオテンシンII 1型受容体遺伝子(AT1R)のA1166Cやアンジオテンシノーゲン遺伝子G-6A多型もサイアザイド利尿薬の降

表1 主な降圧薬のPharmacogenetics研究

| 降圧薬 | 遺伝子 | 多型 | 結果 | 対象 | 文献 |
|------------------|----------------------------------|--------------------|----------|--|--------------------------------|
| サイアザイド利尿薬 | Adducin | Gly460Trp | Positive | 本態性高血圧 | Hypertension34:649-,1999 |
| | G protein β ₃ subunit | C825T | Positive | N=143 コーカソイド 本態性高血圧 N=190 コーカソイド | Hypertension37:739-, 2001 |
| β遮断薬 | Gs protein α subunit | FokI (+/-) | Positive | N=197 黒人 本態性高血圧 | Hypertension 34:8-, 1999 |
| | β ₁ adrenoreceptor | Gly389Arg | Negative | N=66 コーカソイド 本態性高血圧 | Clinical Science 99:233-, 2000 |
| ACEI | Angiotensinogen | Met235Thr | Negative | N=92,55 コーカソイド 本態性高血圧 | J Hypertens 14:259-, 1996 |
| | ACE | Insertion/Deletion | Negative | N=63-91 コーカソイド 本態性高血圧 | J Hypertens 14:259-, 1996 |
| | | | Negative | N=63-91 コーカソイド 本態性高血圧 | J.Hypertens13:1602-, 1995 |
| | | | Negative | N=125 コーカソイド 本態性高血圧 | J.Hypertens14:1403-, 1996 |
| ARB | Angiotensinogen | Met235Thr | Positive | N=60 日本人 本態性高血圧 | J.Hypertens13:1602-, 1995 |
| | | | Negative | N=125 コーカソイド 本態性高血圧 | J Hypertens 14:259-, 1996 |
| | Angiotensin II type 1 receptor | A1166C | Negative | N=63-91 コーカソイド 本態性高血圧 | J.Hypertens13:1602-, 1995 |
| ジヒドロピリジン系 CCB | ACE | Insertion/Deletion | Positive | N=125 コーカソイド 本態性高血圧 | J.Hypertens 19:1783-, 2001 |
| | Angiotensinogen | Met235Thr | Negative | N=86 コーカソイド 本態性高血圧 | J Hypertens 14:259-, 1996 |
| | | | Negative | N=63-91 コーカソイド 本態性高血圧 | J Hypertens 14:259-, 1996 |

圧効果に関与することが報告されている⁷⁾。

*GNB3*のC825T多型は β 3-shortを生じ、高血圧の原因遺伝子変異の一つとも考えられている。*GNB3*は12p13領域に位置し、その第10エクソン上にC825Tは存在する。C825Tはサイレントな変異であるが、スプライシングの異常を生じその結果、第8,9エクソンの一部に対応する41残基を欠失する β 3-shortを産生する確率を上げると推定されている。 β 3-shortで欠失する部分はG蛋白 α サブユニット($G\alpha$)との相互作用に重要な場所に位置しているため、受容体による $G\alpha$ の活性化を促進すると考えられている。この*GNB3*のC825T多型が低レニン活性と関連することが報告されたため、サイアザイド利尿薬の効果にも影響することが予測され197人のアフリカ系アメリカ人と190人のコーカソイドで検討された結果、CC,CT,TTの順に有意にサイアザイド利尿薬による降圧効果が良好であった⁹⁾。

Adducinは細胞膜骨格蛋白で $\alpha\beta$ のヘテロ二量体を形成する。Milan高血圧ラットの解析で α と β adducin遺伝子のミスセンス変異が腎臓でのNa再吸収亢進に関与し、高血圧を呈することから、ヒトにおいても*ADD1*の遺伝子多型と高血圧との関連が検討され、Gly460Trp多型で有意な関係が認められた。日本人でも低レニン性高血圧には有意な関連を示すため、食塩感受性に影響を及ぼしているものと考えられるが、高血圧・低レニンの多いTrp460アレルの保有者ではサイアザイド利尿薬への反応性が良好であった⁶⁾。

これらの成績はすべて欧米からのもので日本人である程度大規模なサイアザイド利尿薬の効果に関連する遺伝子変異・多型の報告はなされていなかった。我々は、レトロスペクティブな手法ではあるが76人の新規サイザイ

ド利尿薬服用患者の降圧効果から感受性遺伝子多型の同定を試みた⁸⁾。平均血圧で5mmHg以上の降圧を認めた群を反応群と定義し、遺伝子多型は*GNB3* C825T, *ADD1* Gly460Trpに加え、サイアザイド感受性Na-Cl共輸送体遺伝子(*TSC*), サイアザイド利尿薬感受性のゴードン症候群の原因遺伝子である*WNK1*, *WNK4*, ミネラルコルチコイド受容体遺伝子(*MLR*)などをダイレクト・シーケンスにより1塩基多型(SNP)を同定し、両アレル頻度が5%以上のもの合計36多型をタイピングした。その結果、*TSC* C1784Tが有意な関連性を示した。(図2)しかしながら前述した*GNB3* C825T, *ADD1* Gly460Trpでは有意な相関を認めなかった。

レニン・アンジオテンシン系阻害薬 (ACEI, ARB) —

表1に示したようにACEI, ARBの降圧効果に関連する遺伝子多型の報告の多くはRA系遺伝子の解析に集中しているが、その結果は非常にばらついている。ACE遺伝子(*ACE*)のI/D多型はACE活性を規定しているとされ、DアレルでACE活性がI型に比し高い。したがってDD型の保有者はACEIの反応が良好であることが予想されるが、DD型の頻度がモンゴロイドに比し多いコーカソイドを対象にした解析でさえむしろnegativeな報告が多い。ごく最近の報告でKurlandらは一度positiveと報告していたARBの効果に対する*ACE* I/D多型のpositiveな関与を、のちの追試で否定している⁹⁾。我々も98人の新規ACEI内服開始患者においてその降圧効果に関与する多型をRA系遺伝子(アンジオテンシノーゲン, *ACE*, *AT1*受容体, アルドステロン合成酵素, ミネラルコルチコイド受容体), カリクレイン・

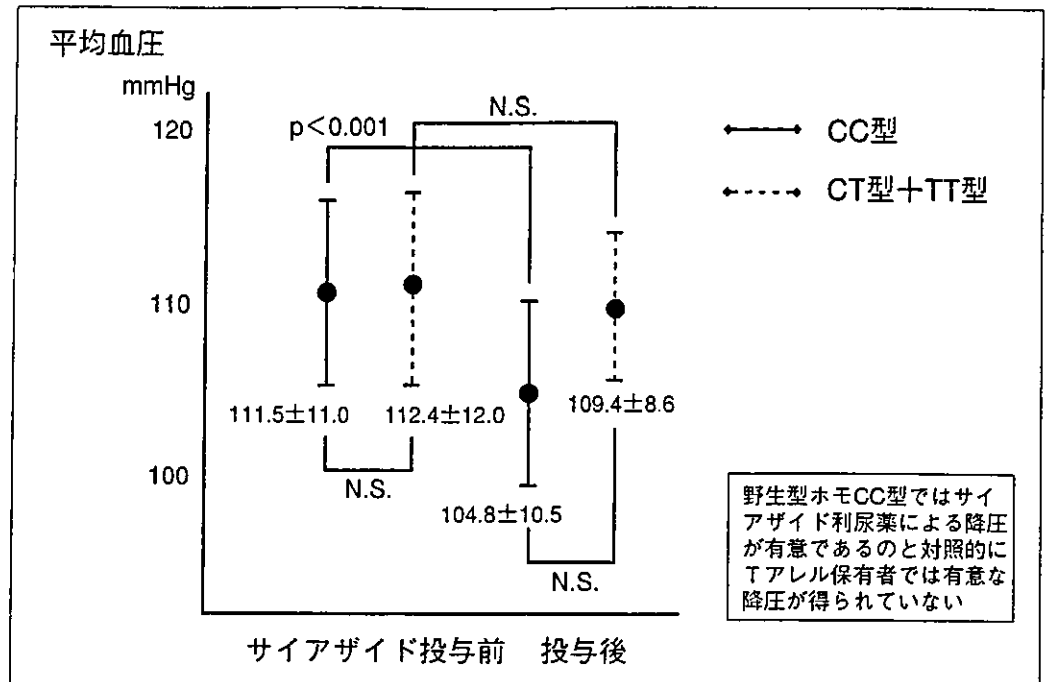


図2 サイアザイド利尿薬による降圧
- TSC C1784T 遺伝子型による差 -

キニン系 (カリクレイン, ブラジキニン受容体), RA系関連の血管作動物質 (エンドセリン1, NO, ADMA), α -adducin, G蛋白 β 3サブユニットなどの遺伝子合計19多型を調べた結果, RA系遺伝子にはいずれも有意な相関は認められず, 女性でのみエンドセリン1:Lys198Asnとカリクレイン1:Lys186Glu多型に有意な関連を認めた。現在これらの多型について詳細な機能解析をすすめている。

β 遮断薬一

JiaらはGs α 遺伝子第5エクソンの制限酵素Fok Iで認識されるコドン131の同義置換多型が高血圧と関連し, β 遮断薬の降圧効果の大きい群でFok I認識遺伝子型が多いことを見出した¹⁰⁾。Gs α 遺伝子は高血圧候補遺伝子であり, Gs α サブユニットは β 受容体のcAMP生成に重要で血管拡張反応の刺激を担うとされるため興味深い。

カルシウム拮抗薬一

カルシウムチャンネル遺伝子(CCB)のとの関連は興味深いところであるが, これまでのところヒトで明らかに遺伝子との関連を示した報告はない。ラットのQTL解析で染色体2番にジヒドロピリジン系L型CCBのとの相関を示したとの報告がある。この部分は細胞内カルシウム代謝に関わるcalmodulin依存性protein kinase II 遺伝子(Camk)が存在しており, このような遺伝子の多型とCCBとの関連性の検討が待たれる。

今後の展望

降圧薬には抗癌剤のような重篤な副作用ほとんど認められないため, Pharmacogeneticsは降圧薬の効果, つまり薬剤応答性の予測のために応用される必要がある。残念ながら

降圧薬でその効果にはっきりと関連性をもった遺伝子変異・多型の報告は少なく、まだまだ研究の成果が待たれるところである。明らかな薬剤応答性・感受性遺伝子同定このためには、無治療の状態から多数例の患者に前向きに薬剤を投与し、正確に降圧の程度を把握し、また多くの遺伝子多型との相関を検討する必要がある。これまで我が国にこのような研究はなかったが、現在、国立循環器病センターでは全国の大学・医療センター計8施設とともに降圧薬感受性遺伝子多型同定のための多施設共同研究 (GEANE研究 -Gene Evaluation for ANtihypertensive drug Effect) を開始した。基礎情報を蓄積し将来の個別化医療に応用をすすめることが急務である。

謝 辞

本項中の我々の研究成果は独立行政法人医薬品医療機器総合機構の「保健医療分野における基礎研究推進事業」より助成金を得たミレニアムゲノムプロジェクト (高血圧等循環器疾患における遺伝子解析, 創薬推進事業: 研究代表者 - 国立循環器病センター病院長: 友池仁暢) によるものである。また本研究に協力をいただいたすべての内科高血圧腎臓部門の医師ならびにミレニアム実験室の関係者の方に深謝いたします。

参考文献

- 1) Weinsilboum R: Inheritance and drug response N Engl J Med 348:529-537, 2003.
- 2) Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Hall WD, Boerwinkle E: Antihypertensive pharmacogenetics: getting the right drug into the right patient. J Hypertens 19:1-11, 2001.
- 3) Evans WE, McLeod HL: Pharmacogenomics- drug disposition, drug targets, and side effects. N Engl J Med 348:538-549, 2003.
- 4) Evans WE, Relling MV: Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. Nature 429:464-468, 2004.
- 5) Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E: C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. Hypertension 37(Part 2):739-43. 2001.
- 6) Glorioso N, Manunta P, Filigheddu F, Troffa C, Stella P, Barlassina C, Lombardi C, Soro A, Dettori F, Parpaglia PP, Alibrandi MT, Cusi D, Bianchi G: The role of alpha-adducin polymorphism in blood pressure and sodium handling regulation may not be excluded by a negative association study. Hypertension 34:649-54. 1999.
- 7) Frazier L, Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E: Multilocus effects of the renin-angiotensin-aldosterone system genes on blood pressure response to a thiazide diuretic. Pharmacogenomics J 4:17-23, 2004.
- 8) Matayoshi T, Kamide K, Takiuchi S, et al.: Thiazide-sensitive Na⁺-Cl⁻ cotransporter gene, C1784T, and adrenergic receptor-B3 gene, T727C, may be gene polymorphisms susceptible to the antihypertensive effect of thiazide diuretics. Hypertens Res (in press).
- 9) Kurland L, Liljedahl U, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Melhus H, Syvanen AC, Lind L. Angiotensinogen gene polymorphisms: relationship to blood pressure response to antihypertensive treatment. Results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial. Am J Hypertens 17:8-13. 2004.
- 10) Jia H, Hingorani AD, Sharma P, Hopper R, Dickerson C, Trutwein D, Lloyd DD, Brown MJ: Association of the Gsa gene with essential hypertension and response to beta-blockade. Hypertension 34:8-14, 1999.

研究成果の刊行に関する一覧表

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 |
|--|--|-------------------|--------|---------|------|
| Kosuge M, Kimura K, Ishikawa T, Shimizu T, Hibi K, Toda N, Tahara Y, Kanna M, Tsukahara K, Okuda J, Nozawa N, Umemura S. | Persistent hyperglycemia is associated with left ventricular dysfunction in patients with acute myocardial infarction. | Circ J | 69(1) | 23-8 | 2005 |
| Hashimoto T, Kihara M, Sato K, Imai N, Tanaka Y, Sakai M, Tamura K, Hirawa N, Toya Y, Kitamura H, Umemura S. | Heparin recovers AT1 receptor and its intracellular signal transduction in cultured vascular smooth muscle cells. | FEBS Lett | 579(1) | 281-4 | 2005 |
| Nakatogawa T, Hibi K, Furukawa E, Sugano T, Kosuge M, Takamura T, Toda N, Tsukahara K, Okuda J, Kimura K, Umemura S. | Impact of persistent remodeling on in-stent neointimal proliferation in acute myocardial infarction. | Am J Cardiol. | 94(6) | 769-71 | 2004 |
| Yasuda G, Kuji T, Hasegawa K, Ogawa N, Shimura G, Ando D, Umemura S. | Safety and efficacy of fluvastatin in hyperlipidemic patients with chronic renal disease. | Ren Fail | 26(4) | 411-8 | 2004 |
| Sato K, Kihara M, Hashimoto T, Matsushita K, Koide Y, Tamura K, Hirawa N, Toya Y, Fukamizu A, Umemura S. | Alterations in renal endothelial nitric oxide synthase expression by salt diet in angiotensin type-1a receptor gene knockout mice. | J Am Soc Nephrol. | 15(7) | 1756-63 | 2004 |

| | | | | | |
|---|--|-----------------|-------|-------|------|
| Iino Y, Hayashi M, Kawamura T, Shiigai T, Tomino Y, Yamada K, Kitajima T, Ideura T, Koyama A, Sugisaki T, Suzuki H, Umemura S, Kawaguchii Y, Uchida S, Kuwahara M, Yamazaki T | Japanese Losartan Therapy Intended for the Global Renal Protection in Hypertensive Patients (JLIGHT) Study Investigators. Renoprotective effect of losartan in comparison to amlodipine in patients with chronic kidney disease and hypertension--a report of the Japanese Losartan Therapy Intended for the Global Renal Protection in Hypertensive Patients (JLIGHT) study. | Hypertens Res. | 27(1) | 21-30 | 2004 |
| Yasuda G, Hasegawa K, Kuji T, Ogawa N, Shimura G, Umemura S, Tochikubo O. | Perindopril effects on ambulatory blood pressure: relation to sympathetic nervous activity in subjects with diabetic nephropathy. | Am J Hypertens. | 17(1) | 14-20 | 2004 |

200400277 A

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者高血圧における降圧利尿薬の適正使用のための無作為化臨床試験

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 植田 真一郎

平成17(2005)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 高齢者高血圧における降圧利尿薬の適正使用のための
無作為化臨床試験に関する研究 1
植田 真一郎

II. 分担研究報告

1. 高齢者高血圧における降圧利尿薬の適正使用のための
無作為化臨床試験に関する研究 9
楽木 宏実
2. 「神奈川臨床試験ネットワークの構築とリサーチナース教育」
..... 11
宮川 政昭
3. 利尿薬使用に関する問題点抽出のための観察研究 13
瀧下 修一
4. 日本人における利尿降圧薬の安全性降圧効果医療経済学的評価
に関する前向き無作為化臨床試験 15
島袋 充生
5. 高齢者高血圧における降圧利尿薬の適正使用のための
無作為化臨床試験に関する研究 16
檜垣 實男
6. 重症抹消動脈閉塞症患者に対する自家骨髄細胞移植の有用性：
新生血管での血管内皮機能評価に関する研究 19
東 幸仁
7. 「アディポネクチンと加齢、インスリン抵抗性、高血圧、
脂質代謝及び動脈硬化との関連」 21
島本 和明
8. 高齢者高血圧における降圧利尿薬の適正使用のための
無作為化臨床試験に関する研究 25
森本 剛
福井 次矢
9. 高齢者高血圧における降圧利尿薬の適正使用のための
無作為化臨床試験に関する研究 34
安成 憲一
10. 利尿薬の降圧感受性に関する臨床研究 35
河野 雄平
11. 1999年から2002年にかけての高血圧に対する
医療費と薬剤費の変化 39
津谷 喜一郎

- III. 研究成果に関する一覧表 43

総括研究報告書（長寿科学研究事業）
高齢者高血圧患者における降圧利尿薬の安全性に関するランダム化臨床試験

主任研究者 植田 真一郎 琉球大学大学院医学研究科薬物作用制御学 教授
分担研究者 島本和明（札幌医科大学 教授）瀧下修一（琉球大学教授）河野雄平（国立循環器病センター 腎臓高血圧部門部長）福井次矢（聖路加国際病院副院長）津谷喜一郎（東京大学教授）森本剛（京都大学助手）楽木宏美（大阪大学助教授）檜垣実男（愛媛大学教授）宮川政昭（宮川内科小児科医院院長）梅村敏（横浜市立大学教授）東幸仁（広島大学講師）安成憲一（大阪市立大学講師）松岡秀洋（久留米大学助教授）

研究要旨：降圧利尿薬はこれまで多くの臨床試験から特に高齢者高血圧において脳卒中予防に優れた降圧薬であることが示唆されるが、安全性、すなわち代謝面での副作用への懸念のためその使用は減少している。高齢者高血圧における脳卒中リスク軽減のためにも降圧利尿薬使用した降圧療法の妥当性（安全性、降圧効果、費用対効果）を本臨床試験により確認し、その結果を広く啓蒙しなければならない。本年度はこのような純粋な医師主導型臨床試験実施のための基盤整備を更に進めその後 CRC の派遣を行い、症例登録をすすめている。同時に利尿薬および糖代謝に関連する遺伝子多型の研究、糖尿病発症予測因子や心血管リスク推定因子になりうるさまざまな血管機能やアディポサイトカインの研究も同時にサブスタディとして進行している。本研究および実施のための基盤整備、評価項目の検討、得られた結果からさらに個人差を重んじた治療へ発展させるための遺伝子研究は今後本邦において適切な降圧利尿薬療法を確立するために必須である。

A 研究目的

A.1 降圧利尿薬研究の背景

A.1.1. 降圧利尿薬は高齢者高血圧の主要降圧薬として妥当であり厳格な降圧が必要とされる場合むしろ必須である

降圧利尿薬はこれまでの高血圧大規模臨床試験において1) プラセボと比較して特に高齢者収縮期高血圧において脳卒中および虚血性心疾患のリスクを減少させること2) 新たな降圧薬と比較しても心血管リスクの減少においてほぼ同等であること3) 新しい降圧薬と併用することにより心血管リスクの減少、特に脳卒中リスクを減少させること4) 逆にレニン-アンジオテンシン系抑制薬は降圧利尿薬を併用しなければ目標血圧を達成できず心血管リスクの減少が期待できないことなどが明らかにされてきた。

A.1.2. それではなぜ利尿薬の使用は少ないのか？

もっとも大きな理由は代謝面の副作用に対する懸念であろう。事実高用量の降圧利尿薬の使用は高率に耐糖能の低下やカリウム低下を引き起こし、これらが心血管リスクを増すため、従来のβ遮断薬と降圧利尿薬を中心とした治療が虚血性心疾患のリスク減少において疫学データか

らの予想を下回った原因とまで言われた。また降圧利尿薬は安価であるが、これまで医療費の自己負担が少なくメリットとして使用の増加にはつながらなかった。逆に安価であるが故に宣伝費をかけることができず、他の薬剤に比べて一般医に浸透していない。ここ数年の大掛かりなアンジオテンシン受容体拮抗薬の宣伝にしても、単剤として、またはCa拮抗薬と比較する形でなされ、利尿薬との併用を推進するような宣伝は行われていない。これはこれまでの臨床試験の結果を正確に伝えていないことになる。近い将来アンジオテンシンII受容体拮抗薬と降圧利尿薬の合剤が日本にも登場する可能性が高いので今後は併用薬としての利尿薬がすこしずつ宣伝され、浸透することが期待できるが、その日本人における安全性は本試験によってはじめて確認できる。

A.1.3. 降圧利尿薬は糖尿病発生のリスクになるか？これまでの研究の問題点とわれわれの研究計画への反映

たしかにこれまでの降圧薬臨床試験においては利尿薬投与群には糖尿病の発生が多い傾向にある。しかしこれまでの研究には併用薬が多くはβ遮断薬でありレニンアンジオテンシン系抑制薬やCa拮抗薬との併用での検討はなされていないこと、かならずしも低用量の使用ではない

こと、CAPPP, LIFE 研究以外では糖尿病の発生をエンドポイントにあらかじめ設定していないことなどの問題点があり「降圧利尿薬の使用は糖尿病の発生リスクを高める」とは結論付けられない。本研究ではこの点を解決するために下記のように研究計画を作成した。

降圧利尿薬の糖、電解質、尿酸代謝への影響はほぼ用量依存性で低用量では有害反応は出現しにくいとされている。したがって降圧利尿薬の投与量をトリクロロサイアザイド 1mg/day 以下、インダパミド 1mg/day 以下で減量も可能である。

併用薬は主治医の裁量で決めることができる。したがって試行錯誤を繰り返しつつ最良の併用薬を個々に決定できる。LIFE 研究の結果は利尿薬治療に伴う糖尿病リスクは併用薬に依存する可能性があることを示唆している。この仮説の検証もわれわれの研究の結果の後解析で可能である。

われわれは新規糖尿病の発生を一次エンドポイントとし研究計画を作成した。糖尿病の発生をエンドポイントとしてプロトコル論文の段階で設定してある研究は最近のものでは LIFE 研究だけである。エンドポイントとして事前に設定することにより、必要症例数、症例登録に際しての選択、除外基準、登録、経過観察時の検査項目、解析計画を適切に設定することができ、研究の精確さが保証される。

A.1.4. なぜこの研究を日本で行う必要があるか？

たしかに低用量降圧利尿薬治療は欧米の臨床試験の結果を見る限り安全である。しかし以下の点でこの試験を日本において行う必要があると考える。

日本人は塩分摂取量が多く降圧利尿薬の併用は欧米人 (Caucasian) に比較してより有効である可能性が存在する。

近年本邦で糖尿病発生が増加しているが日本人は Caucasian と比較していわゆる儉約遺伝子仮説などで謳われているように糖尿病を発生しやすい遺伝子を有する可能性がある。したがって Caucasian と比較して降圧利尿薬によりむしろ糖尿病を発生しやすい可能性も否定できない。

高血圧に関連する薬剤費は年間約 6800 億円にものぼる。わが国の医療経済は危機に瀕しており、安価な利尿薬を適切に使用すれば薬剤費の抑制と心血管イベントの抑制による医療費削減の両面から貢献できる。共同研究者の津谷によればわれわれの研究仮説が正しく、利尿薬が適切に使用できれば年間約 2000 億円の削減が可能であり、これはジェネリック医薬品の導入(企業の臨床試験への意欲をそぐ)よりもむしろ理にかなっている。この点を証明するためにわれわれは本研究において費用対効果の解析を行う。

脳卒中による死亡は減少しているものの罹病率は減少しておらずむしろ増加している。低用量の降圧利尿薬併用が安全かつ安価であることを広く啓蒙することができれば、脳卒中減少に貢献できるはずである。

A.2. 臨床試験の基盤整備の必要性

純粋な医師主導型臨床試験を実施する上で基盤整備はまだ不十分である。残念ながら登録センターや CRC など基盤は業者よりあくまで臨床試験にとっては不当に高い治験価格として提供される。妥当な医療行為を国民に提供するための臨床試験からそもそもそのような金銭的利益を生じさせようとする自体が不適切であろう。目の前の患者の臨床的疑問を解決しようとする動機は我々臨床医(あるいは医療従事者)しか持ち得ず、これを解決することの喜びを患者と共有できることは所謂治験業者にとっては不可能なことであり(従って金銭的欲求が高い)、我々の手で必要な臨床試験を実施できるような体制が絶対必要である。あざとい業者は、われわれは医師主導型臨床試験を支援するため云々とパンフレット等に謳うが、それはいわば免罪符であり科学的背景は乏しい。今回我々は他の臨床試験にも充分活用できる基盤の整備を計画し、実施した。

A.3. 本試験に関連する評価項目の代替エンドポイントとしての検討の必要性

本研究の目的の一つは「降圧利尿薬の使用は高齢者高血圧患者において必ずしも糖尿病の発生を促進しない」という仮説を証明することである。従ってエンドポイントは「新規糖尿病の発生」になるが、臨床試験の期間は限定されており、期間中の糖尿病発生のみでは将来の発生予

測は困難である。このような視点からその代替エンドポイントとして降圧利尿薬のインスリン感受性あるいは耐糖能への影響を評価することが必要となる。インスリン感受性は正式にはグルコースクランプ法で測定されるが対象者の多い研究では全員に実施することは不可能である。代替マーカーとして HOMA 指数の妥当性を検討すべきである。

また本研究の臨床的妥当性は糖尿病の発生ないしは耐糖能低下、インスリン感受性低下が心血管リスクを増加させるという推定に基づいている。本研究の対象者はかならずしも高リスクではなく、実際のイベントにより評価することは困難である。したがって血管内皮機能、脈派伝導速度といった代替エンドポイントと糖代謝の関連を検討する必要がある。血管内皮機能に関しては主任研究者らが以前インスリン感受性との相関を報告している。脈派伝導速度は従来より動脈伸展性を評価する方法として認知され、動脈硬化進展の非侵襲的な評価方法として報告されている。最近 PWV の簡便な測定法として ABI-form (BP-203RPE ; 日本コーリン社) が用いられ急速に普及、汎用されるようになった。また近年脂肪組織由来生理活性物質の研究がすすみ、アディポネクチン、レプチン、PAI-1、TNF- α 、CRP などが知られている。アディポネクチンは BMI と負の相関を示し、内臓脂肪蓄積者にて低値であり、体重減量により増加すること、また血管内皮細胞や平滑筋細胞においてさまざまな抗動脈硬化作用を有すると考えられている。またインスリン抵抗性との関連も示唆されている。しかし高齢者において Adipo が高値であるとの報告はみられるがその詳細は不明で、また、Adipo とインスリン抵抗性、血圧、脂質代謝、動脈硬化との関係を総合的に評価した報告は少ない。

A.4. 個別治療へ向けて一降圧利尿薬の降圧効果、有害反応に影響する遺伝的因子

ランダム化臨床試験の限界はそれがいかにバイアスから自由であり、厳格に実施されていたとしても、結局個々の情報を提供するものではないということである。したがって患者群全体では降圧利尿薬により糖尿病の発生は促進されないと結論が得られたとしても、糖尿病発生は皆無と言う訳ではない。より重要なことはどの

ような患者さんが降圧利尿薬投与に伴って糖尿病発生のリスクが高い、あるいは低いか、つまり危険因子を同定することである。きおのような視点から降圧利尿薬あるいは糖代謝に関する遺伝子多型と結果の関連を検討することは重要である。この検討により将来のテーラーメイド医療も可能となる。

B 研究方法

B.1. 高齢者高血圧患者における降圧利尿薬の安全性に関するランダム化臨床試験

B.1.1. 研究仮説

低用量の降圧利尿薬を用いた降圧治療と用いない降圧治療は新規糖尿病の発生および降圧効果に関して同等であり、しかも安価である。

B.1.2. エンドポイント

一次エンドポイントは新たな糖尿病の発生、二次エンドポイントは痛風、治療抵抗性の低カリウム血症、心血管系イベント、全死亡

降圧効果、耐糖能、脂質代謝、インスリン感受性 (HOMA 指数) 脈波伝導速度 (PWV) の臨床評価。費用対効果の検討

B.1.3. 研究デザイン

降圧利尿薬使用群、降圧利尿薬非使用群の非盲検無作為化群間比較試験。ランダム化は行なうがプラセボは用いず、イベントの判定は割付治療をマスクして独立した委員会が行なう (PROBE 法)。割付は、BMI、糖尿病家族歴、空腹時血糖値および地域を層とした層化割付とする。

B.1.4. 対象患者

選択基準を満たし、除外基準に抵触しない 65 歳以上の通院中の本態性高血圧患者。選択基準として、未治療の場合、登録票記載時から 4 週以内の 2 回の診察時のいずれにおいても座位の収縮期血圧 150mmHg 以上または拡張期血圧 90mmHg 以上。降圧薬服用中の場合、登録票記載時から 4 週以内の 2 回の診察時のいずれにおいても座位の収縮期血圧 140mmHg 以上または拡張期血圧 90mmHg 以上で治療期間、使用

降圧薬などが明らかな患者。

除外基準として。座位の収縮期血圧 200 mmHg 以上または拡張期血圧 120 mmHg 以上、降圧薬服用中で治療期間、使用降圧薬などが不明瞭、降圧利尿薬服用中、糖尿病、痛風、高尿酸血症、低カリウム血症、勃起障害、肝、腎機能障害の合併、降圧利尿薬の重篤な副作用歴、同意日前 6 ヶ月以内の脳卒中、心筋梗塞、冠動脈インターベンションや CABG、心不全または左室駆出率 40% 以下、利尿薬の投与が必須、同意日前 5 年以内の悪性腫瘍の既往またはその疑い、妊娠中または妊娠の可能性、授乳中、担当医師が不適切と判断した場合である。

B.1.5. プロトコル治療（介入内容）

降圧利尿薬使用群は降圧利尿薬（トリクロルメサイアザイドまたはインダパミドで 1 mg/日に相当）から開始し、降圧不十分な場合、他の降圧薬を併用。降圧利尿薬は担当医師の判断で減量も可能。降圧利尿薬非使用群は降圧利尿薬（カリウム保持性利尿薬を含む）以外いかなる降圧薬も使用可能。

降圧目標は年齢に関わらず、収縮期血圧 140mmHg 未満かつ拡張期血圧 90mmHg 未満とする。

B.1.6. 薬剤経済学的評価（分担研究者 津谷）

経済評価としては、降圧利尿薬使用群と降圧利尿薬非使用群とを比較する費用効果分析 (cost-effectiveness analysis) を行なう。立場は原則として社会の立場とする。費用は、薬物費用を主とし、医療にかかる直接費用を患者負担を含めて算出する。Primary endpoint、Secondary endpoint として設定された、糖尿病やその他の有害事象に係る費用も含まれる。

本研究では 2 群の糖尿病発症率が同等であることが立証された後、費用最小化分析 (cost minimization analysis: CMA) を行なう。経済評価でのコストデータ収集には、1) 解析に算入されるコストデータの同定、2) 単価 (unit price) の算定、3) 資源消費量の算定という 3 つのプロセスが必要になる。わが国の場合、薬剤費や種類の検査料の単価は診療報酬点数表から容易に得られる。しかし資源消費量の算定（すなわち、「ある薬剤を何錠使用したか」「特定の検査を何回行ったか」「通院回数は何回か」など）、特に有害事象の治療コストを算定する際には、実際の診療データへのアクセスが不可

欠である。

しかし、本研究に登録された全ての患者のレセプトを入手することは困難であり、現実的でない。よって、基本的に調査票に記載された情報を基にコストデータを算出する。一方、協力の得られる参加施設からはイベント発生の有無に関わらずレセプトのコピーを入手し、経済評価小委員会にて診療モデルを作成し解析に用いる。レセプト収集率は約 20% を目標とし、全症例 2200 例を考慮して 500 症例の回収を目指すとともに、イベント発生症例に関しては全例収集を図る。現在イベントの発生率は約 10% と見込まれているため、症例数は $2400 \text{ 例} \times 0.1 = \text{約 } 240 \text{ 症例}$ となる。この 240 症例に関しては発生前および発生後それぞれのレセプト（発生当月を含めて最低 3 ヶ月、可能な限り外来および入院両方）を収集する。これに加えてイベント非発生症例に関しても $500 - 240 = \text{約 } 260 \text{ 症例}$ に関してレセプトを収集する。レセプト収集の承認が得られない医療機関に関しては、イベント発生症例のカルテへのアクセスも考慮する。よって、インフォームドコンセントと各施設の IRB においてレセプトの使用についての承認を得る。

なお、本研究においては QOL は全面的には測定されないことから、費用効用分析 (cost-utility analysis: CUA) は行わない。

また、降圧利尿薬使用群と降圧利尿薬非使用群の糖尿病発症率が同等であるという仮説が棄却された場合には、CMA を実施せず、費用効果分析 (cost-effectiveness analysis: CEA) によって増分費用効果比 (incremental cost-effectiveness ratio: ICER) の算出を行なう。

解析の詳細については別途、薬剤経済学解析計画書を作成し定める。

B.1.7. 予定症例数と研究期間

予定症例数 各群 1200 症例、合計 2400 症例。

研究期間 登録期間：2004 年 2 月～2006 年 3 月、観察期間：5 年間

B.2. 医師主導型臨床試験における基盤整備の実施

本年度は CRC 派遣による臨床試験支援システ