

Table 4 (continued)

SNP number	Gene	Region	SNP identification	MAF	Total	Male	Female
75		Intron 7	IMS-JST074565	0.0200	0.2305	0.6732	0.1880
76		Intron 9	IMS-JST074567	0.1170	0.8780	0.7848	0.6653
77		Intron 10	IMS-JST003786	0.1554	0.7835	0.9756	0.7279
78		3' region	IMS-JST162236	0.0200	0.8864	0.9709	0.9492
79	NPHS1	5' region	IMS-JST000540	0.3027	0.5011	0.6841	0.4859
80		Exon 17	IMS-JST000542	0.0902	0.8533	0.2534	0.6816
81		Intron 23	IMS-JST033886	0.2098	0.4624	0.8432	0.3298
82		Exon 26	IMS-JST006746	0.3489	0.9327	0.7133	0.8110
83		3' region	IMS-JST006747	0.1336	0.2724	0.0335	0.0859
84	NPHS2	3' region	IMS-JST173815	0.0290	0.9180	0.4439	0.3013
85		Intron 1	IMS-JST119740	0.4057	0.6195	0.7570	0.7107
86		Exon 2	IMS-JST084167	0.1929	0.8459	0.8245	0.9823
87		Intron 6	IMS-JST070550	0.4510	0.3169	0.3703	0.6305
88		Exon 8	IMS-JST070547	0.4635	0.0996	0.7771	0.0713
89		3' region	IMS-JST070542	0.0398	0.5084	0.3005	0.9683
90	P2RX4	5' region	IMS-JST067157	0.3249	0.5864	0.6234	0.9197
91		Exon 2	IMS-JST060855	0.0030	0.8627	0.7347	0.6311
92		Exon 5	IMS-JST103166	0.3270	0.6228	0.8004	0.8445
93		Exon 7(S > G)	IMS-JST060854	0.3404	0.2644	0.1926	0.3774
94		Intron 10	IMS-JST006649	0.3093	0.5522	0.1435	0.9814
95	SGK1	5' region	gcccg[c/t]tccgg	0.4117	0.4923	0.5774	0.7950
96		5' region	rs17439963	0.1349	0.4554	0.6560	0.3670
97		Exon 8	rs1057293	0.1874	0.2368	0.5027	0.4345
98	SLC12A1	5' region	ggaaa[t/c]cactt	0.4153	0.0943	0.1137	0.3442
99		Exon 4b(G > C)	tcatc[c/g]gctta	0.0004	0.7937	0.7859	0.9902
100		Intron 6	tcaac[a/t]gtggc	0.0197	0.4177	0.7791	0.2173
101		Exon 9'	acagg[a/g]gtttg	0.1090	0.1936	0.3161	0.2212
102		Intron 12	IMS-JST027033	0.3959	0.0035	0.1659	0.0062
103		Intron 14	IMS-JST043660	0.4727	0.0016	0.5018	0.0001
104		Exon 17.1(A > V)	catgg[c/t]gaaaa	0.0182	0.9617	0.8512	0.8230
106		Exon 17.2(A > V)	acagg[c/t]ctggc	0.0570	0.4996	0.2428	0.7820
106		Intron 17	rs1484551	0.0339	0.8743	0.9643	0.9351
107		Intron 21	tactc[t/a]ttgtg	0.4356	0.0026	0.6045	0.0004
108		Intron 24	IMS-JST043662	0.4619	0.0017	0.1261	0.0103
109		3' region	ggaga[g/t]gatcc	0.1758	0.0285	0.5875	0.0034
110	PTGES	5' region	atagg[t/a]ctttc	0.0155	0.0304	0.3226	0.0191
111		5' region	gtcca[g/a]gaagt	0.0514	0.8174	0.8930	0.8984
112		5' region	gcgcatt[c]ggcgt	0.1658	0.7751	0.6527	0.9394
113		Exon 2	ggggg[g/a]ccttt	0.2130	0.5208	0.6257	0.3385
114		Exon 3	rs2302821	0.4263	0.3687	0.2954	0.8111
115	SPP1	5' region	rs2853744	0.2317	0.3138	0.3624	0.7890
116		5' region	aagtt[t/c]tctga	0.4199	0.8768	0.3438	0.5640
117		Exon 6	rs1126616	0.3353	0.3424	0.2027	0.6750
118	ALDH2	Exon 12(E > K)	rs671	0.2832	0.0476	0.0160	0.6085

MAF; minor allele frequency. SNP identification was obtained from the JSNP home page (<http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>) for 'IMS-JST xxxxx' or 'ss xxxxx', or from the NCBI home page (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) for 'rs xxxxx'. Polymorphisms not described in these databases are presented in Table 3. *P* values were obtained by logistic analysis with age and body

the present study, and this confirmed our previous observation (the present sample was collected in 2002, and previous samples were collected in 1996–1998).

Three SNPs of *PTGS2* were significantly associated with hypertension in men (Tables 4 and 5). Three SNPs of *GSTM3* were significantly associated with hypertension in women (Tables 4 and 5).

The most striking associations were observed between *SLC12A1* SNPs and blood pressure levels in women. Logistic analysis indicated that the genotype of *SLC12A1*, IMS-JST043660, predicted the presence of hypertension in females ($P = 0.0001$ with age and BMI as covariates, and $P = 0.0002$ with only age as a covariate). Moreover, the genotype of *SLC12A1*, IMS-JST043660, was significantly associated with hypertension in females even after correction by the

Bonferroni method ($P = 0.0001 \times 118$ (SNP number) $\times 2$ (gender) = 0.0236).

The effects of this genotype on other phenotypic variables are presented in Table 6. Since the distortion of pressure recordings by antihypertensive treatment has been suggested to obscure underlying genetic effects [39], we added 10 and 5 mmHg, respectively, to systolic blood pressure and diastolic blood pressure values of treated subjects for correction.

The CC genotype had higher residuals of systolic blood pressure after adjusting for age and BMI ($P = 0.0173$). Multiple logistic analyses, including age and BMI as covariates, indicated that female subjects with the CC genotype had significantly higher prevalence of hypertension ($P < 0.0001$, odds ratio = 1.967, 95% confidence interval = 1.430–2.712) and antihypertensive medica-

Table 5 Candidate single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and frequency of hypertension

SNP number	Gene	Gender	Major	Hetero	Minor	P
4	APM1	Male	195/446 (43.72)	176/342 (51.46)	26/76 (34.21)	0.0010
		Female	197/517 (38.10)	149/410 (36.34)	28/82 (34.15)	0.4333
10	PTGS2	Male	109/262 (41.60)	188/420 (44.76)	97/177 (54.80)	0.0225
		Female	110/312 (35.26)	179/485 (36.91)	81/107 (75.70)	0.1894
11		Male	376/833 (45.14)	18/27 (66.67)		0.0297
		Female	360/975 (36.92)	13/34 (38.24)		0.6340
12		Male	377/832 (45.31)	20/31 (64.52)		0.0250
		Female	359/971 (36.97)	13/34 (38.24)		0.6386
16	CYBA	Male	319/697 (45.77)	71/152 (46.71)	6/7 (85.71)	0.1111
		Female	312/862 (36.19)	52/126 (41.27)	8/14 (57.14)	0.1590
43	GSTMs	Male	190/408 (46.57)	170/372 (45.70)	38/86 (44.19)	0.6336
		Female	199/492 (40.45)	143/420 (34.05)	32/98 (32.65)	0.0425
45		Male	248/522(47.51)	121/279 (43.37)	25/58 (43.10)	0.5206
		Female	237/586 (40.44)	114/353 (32.29)	21/60 (35.0)	0.0094
48		Male	197/417 (47.24)	160/355 (45.07)	35/83 (42.17)	0.3869
		Female	202/493 (40.97)	130/401 (32.42)	33/99 (33.33)	0.0063
67	NOS1	Male	125/269 (46.47)	202/428 (47.20)	67/160 (41.88)	0.6571
		Female	105/293 (35.84)	197/485 (40.62)	105/293 (35.84)	0.0207
70		Male	178/368 (48.37)	167/385 (43.38)	44/98 (44.90)	0.3431
		Female	149/414 (35.99)	183/456 (40.13)	34/120 (28.33)	0.0397
83	NPHS1	Male	280/641 (43.68)	103/203 (50.74)	11/16 (68.75)	0.0335
		Female	284/758 (37.47)	85/227 (37.44)	2/18 (11.11)	0.0859
110	PTGES	Male	376/811 (46.36)	12/34 (35.29)	1/1 (100)	0.3226
		Female	364/966 (37.68)	4/22 (18.18)		0.0191
118	ALDH2	Male	220/443 (49.66)	151/348 (43.39)	22/67 (32.84)	0.0160
		Female	193/520 (37.12)	149/381 (39.11)	29/93 (31.18)	0.6085

The frequencies of hypertensive subjects according to genotypes are described as number of hypertensive subjects/total number of the subjects (percentage of hypertensive subjects). P values were obtained by logistic analyses with age and body mass index as covariates.

Table 6 Phenotype and genotype relationship in SLC12A1

	Male				Female			
	TT	TC	CC	P	TT	TC	CC	P
n	191	426	250		222	525	266	
Age (years)	66.9 (11.0)	66.3 (11.1)	65.8 (11.1)	0.5963	63.2 (11.3)	63.8 (11.2)	62.5 (10.4)	0.2566
Body mass index (kg/m ²)	23.3 (2.9)	23.2 (3.2)	23.2 (2.7)	0.9315	22.3 (3.1)	22.3 (3.2)	22.3 (3.2)	0.9887
Systolic blood pressure (mmHg)	132.2 (18.2)	132.0 (19.7)	131.1 (19.9)	0.8129	126.6 (18.9)	127.9 (18.9)	129.6 (21.8)	0.2274
CSBP (mmHg)	134.5 (19.9)	134.9 (21.8)	133.9 (22.2)	0.8427	128.2 (20.6)	130.3 (20.9)	132.2 (23.7)	0.1341
ResCSBP (mmHg)	-0.5 (18.5)	0.4 (20.1)	-0.3 (20.1)	0.8243	-2.0 (18.6)	-0.5 (17.9)	2.6 (20.2)	0.0173
Diastolic blood pressure (mmHg)	79.5 (11.1)	79.8 (10.7)	79.7 (10.4)	0.829	75.6 (90.8)	76.6 (9.3)	77.4 (10.7)	0.1154
CDBP (mmHg)	80.6 (11.6)	81.2 (11.5)	81.1 (11.0)	0.7409	76.4 (10.3)	77.8 (10.0)	78.7 (11.4)	0.0534
ResCDBP (mmHg)	-0.5 (10.8)	0.2 (11.0)	0.0 (10.6)	0.7539	-1.3 (10.0)	0.0 (9.8)	1.1 (11.0)	0.0296
Prevalence of hypertension (%)	43.5	46.7	46.4	0.7409	30.6	36	45.1	0.0032
Prevalence of antihypertensive treatment (%)	23.6	28.9	27.6	0.3822	17.1	23.4	25.9	0.0521

CSBP; systolic blood pressure values of subjects with antihypertensive treatment were corrected by adding 10 mmHg, CDBP; diastolic blood pressure values of treated subjects were corrected by adding 5 mmHg, ResCSBP; residuals of CSBP after adjusting for age and body mass index; ResCDBP; residuals of CDBP after adjusting for age and body mass index.

tion ($P = 0.0224$, odds ratio = 1.512, 95% confidence interval = 1.058–2.153) than those with the TT + TC genotypes. The sample power of the association between this polymorphism and hypertension was calculated as 86% ($\alpha = 0.05$).

We performed haplotype analyses in *SLC12A1*. However, the most significant association was observed with the single genotype IMS-JSNP043660. This polymorphism is located in the polypyrimidine-rich tract near a splicing acceptor site (not shown).

Discussion

In the present study, we performed a large-scale

association analysis between 118 SNPs of 22 candidate genes and hypertension. We found that several polymorphisms significantly affected the blood pressure level with a classical criterion of $P < 0.05$. However, when we applied the Bonferroni method to correct P values, only the *SLC12A1* polymorphism significantly influenced the blood pressure level in women ($P = 0.0236$, Bonferroni). This genotype did not have a prominent effect on blood pressure values. This may have been due to the influence of antihypertensive treatment, since the genotype associated with hypertension was also significantly associated with a higher prevalence of antihypertensive treatment.

There may be no accurate way to correct treated blood pressure values. Thus, we mainly analyzed the data using a categorical variable (hypertension versus normotension) in the present study. We adopted Cui *et al.*'s proposal by simply adding 10/5 mmHg [39] because their work is the only published paper that deals directly with the problem of how to correct treated blood pressure values in genetic association studies. We included these corrected values in Table 6, but just for reference. We did not highlight these corrected values in the present study.

SLC12A1 is one of the genes responsible for antenatal Bartter syndrome, and its product has Na-K-2Cl cotransporter activity in the thick ascending limb of the loop of Henle [28]. Thus, *SLC12A1* may contribute to hypertension in women. It remains to be determined why this gene does not contribute to hypertension in men. A gender difference has been reported in salt sensitivity. For example, low-renin hypertension has been recently reported to be a significant predictor of systolic sodium sensitivity in females but not in males [40].

Although we screened all of the exons and intron-exon boundaries, we were unable to find strongly convincing variations in linkage disequilibrium with IMS-JST043660. This polymorphism was located in the polypyrimidine-rich tract in an intron, which might affect the mRNA level by influencing the splicing efficiency, and therefore may be functional in itself. Whether this polymorphism is a responsible functional variation or just in linkage disequilibrium with other important variations remains to be clarified. We did not sequence intronic regions because we are currently unable to clarify the biological significance of polymorphisms in these regions. However, it is possible that intronic variation is important: a polymorphism might confer a cryptic exon or a large deletion/insertion might alter the expression level of a transcript.

Although several SNPs with a classical criterion of $P < 0.05$ were excluded by the Bonferroni correction, we cannot conclude that these SNPs had no influence on the blood pressure level. We cannot tell whether these associations ($P < 0.05$ by the classical criteria) are true or false associations. We should perform additional association studies for these polymorphisms in other study populations before we reach final conclusions. Polymorphisms that confer a modest or slight risk of hypertension will be difficult to detect and tremendously large association studies may be necessary to obtain highly significant P values.

One of the striking features of the present study was the difference between men and women. This inconsistency may reflect a lack of statistical power due to

the small sample size (1880 subjects may not be enough) or may reflect physiological gender differences. Again, to solve this problem, we should perform additional association studies in other study populations or identify intermediate phenotypes that explain this gender difference.

Since the Suita Study principally involves general health check-ups, it might be difficult to conduct more specific research-oriented laboratory and physiological tests. This drawback of the present epidemiological study should perhaps be offset by patient-oriented clinical studies that should follow re-confirmation of the validity of the present candidate genes in other study populations.

The mean age of the present study population was 66.3 years in males and 63.3 years in females, which are relatively old ages. Age has been reported to strongly affect the results of association studies. For example, the association of the Trp allele of the alpha-adducin gene and blood pressure was more evident at an older age, possibly due to the reduced efficiency of compensatory mechanisms [41,42]. On the other hand, the influence of beta2-adrenergic receptor polymorphism was more evident in younger individuals, presumably due to an age-related decline in beta2-adrenergic receptor-mediated activity [43]. Thus, association studies in younger populations might identify different sets of susceptibility genes.

In *SLC12A1*, we found by chance the A508T mutation, which has been reported to be one of the mutations responsible for the antenatal Bartter syndrome [44]. TaqMan analysis indicated that this mutation occurred in only one person, who had relatively low blood pressure, among 1880 subjects. In the sequencing analysis of candidate genes, we found several rare SNPs, some of which are missense mutations. Since these rare SNPs occur at a very low frequency, we could not confirm whether these SNPs might influence the blood pressure level due to the sample size in the present study. It is highly likely that we overlooked other rare SNPs with potentially important functions, since we only screened 48–96 subjects. If hypertension cannot be explained by common alleles but rather by rare alleles, we should change our strategy, sequence several hundred or even thousands of subjects, catalogue rare alleles, and perform an association study with a very large sample size.

Acknowledgements

The authors are very grateful to Dr Otosaburo Hishikawa, Dr Katsuyuki Kawanishi, and Mr Shigeru Kobayashi for their continuous support of our population survey in the city of Suita. They are also grateful for

the cooperation and assistance provided by the members of our attendants' society (Satsuki-Jyunyukai). The authors thank Ms Akemi Fukumoto, Ms Junko Nishioka, and Ms Yukari Mino for technical assistance. Finally, they thank Dr Soichiro Kitamura, the President of the National Cardiovascular Center, for supporting their research.

References

- Brookes AJ. The essence of SNPs. *Gene* 1999; 234:177-186.
- Kruglyak L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease gene. *Nat Genet* 1999; 22:139-144.
- Province MA, Kardia SLR, Ranade K, Rao DC, Tiel BA, Cooper RS, et al. A meta-analysis of genome-wide linkage scans for hypertension: The National Heart, Lung and Blood Institute Family Blood Pressure Program. *Am J Hypertens* 2003; 16:144-147.
- Caulfield M, Munroe P, Pembroke J, Samani N, Dominiczak A, Brown M, et al., for the MRC British Genetics of Hypertension Study. Genome-wide mapping of human loci for essential hypertension. *Lancet* 2003; 361:2118-2123.
- Chakravarti A. Population genetics—making sense out of sequence. *Nat Genet* 1999; 21:56-60.
- Prichard JK. Are rare variants responsible for susceptibility to complex diseases? *Am J Hum Genet* 2001; 69:124-137.
- Harrap SB. Where are all the blood-pressure genes? *Lancet* 2003; 361:2149-2151.
- Takagi S, Baba S, Iwai N, Fukuda M, Katsuya T, Higaki J, et al. The aldehyde dehydrogenase 2 gene is a risk factor for hypertension in Japanese but does not alter the sensitivity to pressor effects of alcohol: the Suita Study. *Hypertens Res* 2001; 24:365-370.
- Lomuefeller KE, Pearce CL, Pike M, Lander ES, Hirschhorn JN. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* 2003; 33:177-182.
- Mannami T, Konishi M, Baba S, Nishi N, Terao A. Prevalence of asymptomatic carotid atherosclerotic lesions detected by high-resolution ultrasonography and its relation to cardiovascular risk factors in the general population of a Japanese city: the Suita Study. *Stroke* 1997; 28:518-525.
- Iwai N, Baba S, Mannami T, Ogihara T, Ogata J. Association of a sodium channel alpha subunit promoter variant with blood pressure. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:80-85.
- Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose-specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221:286-289.
- Miyacka K, Kuwasako T, Hirano K, Nozaki S, Yamashita S, Matsuzawa Y. CD36 deficiency associated with insulin resistance. *Lancet* 2001; 357:686-687.
- Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science* 2001; 294:2166-2170.
- Moreno MU, San Jose G, Orbe J, Paramo JA, Beloqui O, Diez J, Zalba G. Preliminary characterization of the promoter of the human p22^{phox} gene: identification of a new polymorphism associated with hypertension. *FEBS Lett* 2003; 542:27-31.
- Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys* 2001; 389:84-93.
- Moscow JA, Morrow CS, He R, Mullenbach GT, Cowan KH. Structure and function of the 5'-flanking sequence of the human cytosolic selenium-dependent glutathione peroxidase gene (hgp1). *J Biol Chem* 1992; 267:5949-5958.
- Okuda T, Sumiya T, Mizutani K, Tago N, Miyata T, Tanabe T, et al. Analyses of differential gene expression in genetic hypertensive rats by microarray. *Hypertens Res* 2002; 25:249-255.
- Okura T, Koda M, Ando F, Niino N, Ohta S, Shimokata H. Association of polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene with body fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27:1020-1027.
- Zhu Y, Bian Z, Lu P, Karas RH, Bao L, Cox D, et al. Abnormal vascular function and hypertension in mice deficient in estrogen receptor beta. *Science* 2002; 295:505-508.
- Ogawa S, Emi M, Shiraki M, Hosoi T, Ouchi Y, Inoue S. Association of estrogen receptor beta(ESR2) gene polymorphism with blood pressure. *J Hum Genet* 2000; 45:327-330.
- Mune T, Rogerson FM, Nikkila H, Agarwal AK, White PC. Human hypertension caused by mutations in the kidney isozyme of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Nat Genet* 1995; 10:394-399.
- Dinchuk JE, Car BD, Focht RJ, Johnston JJ, Jaffee BD, Covington MB, et al. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. *Nature* 1995; 378:406-409.
- Yu H, Song Q, Freedman BI, Chao L, Rich SS, Bowden DW. Association of the tissue kallikrein gene promoter with ESRD and hypertension. *Kidney Int* 2002; 61:1030-1039.
- Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCterdy P, Putaala H, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein—nephrin—is mutated in congenital nephritic syndrome. *Mol Cell* 1998; 4:575-582.
- Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benessy F, Lee H, Fuchshuber A, et al. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2000; 24:349-354.
- Busjahn A, Aydin A, Uhlmann R, Krasko C, Bähring S, Szlestei T, et al. Serum- and glucocorticoid-regulated kinase (SGK1) gene and blood pressure. *Hypertension* 2002; 40:256-260.
- Simon DB, Karet FE, Hamdan JM, Dipietro A, Sanjad SA, Lifton RP. Bartter's syndrome, hypokalaemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the Na-K-2Cl cotransporter NKCC2. *Nat Genet* 1996; 13:183-188.
- Breyer MD, Jacobson HR, Breyer RM. Functional and molecular aspects of renal prostaglandin receptors. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7:8-17.
- Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, Takatsu F, Ishihara H, Hirayama H, et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002; 347:1916-1923.
- Simon AM, McWhorter AR. Vascular abnormalities in mice lacking the endothelial gap junction proteins connexin37 and connexin40. *Dev Biol* 2002; 251:206-220.
- Barouch LA, Harrison RW, Skaf MW, Rosas GO, Cappola TP, Kobeissi ZA, et al. Nitric oxide regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthase isoforms. *Nature* 2002; 416:337-339.
- Zhang SH, Rush RA. Neurotrophin 3 is increased in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens* 2001; 19:2251-2256.
- Yamamoto K, Korenaga R, Kamiya A, Ando J. Fluid shear stress activates Ca(2+) influx into human endothelial cells via P2X4 purinoceptors. *Circ Res* 2000; 87:385-391.
- Isoda K, Kamezawa Y, Ayaori M, Kusuhara M, Tada N, Ohsuzu F. Osteopontin transgenic mice fed a high-cholesterol diet develop early fatty-streak lesions. *Circulation* 2003; 107:679-681.
- Takemoto M, Yokote K, Nishimura M, Shigematsu T, Hasegawa T, Kon S, et al. Enhanced expression of osteopontin in human diabetic artery and analysis of its functional role in accelerated atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:624-628.
- Takagi S, Baba S, Iwai N, Fukuda M, Katsuya T, Higaki J, et al. The aldehyde dehydrogenase 2 gene is a risk factor for hypertension in Japanese but does not alter the sensitivity to pressor effects of alcohol: the Suita Study. *Hypertens Res* 2001; 24:365-370.
- Hirakawa M, Tanaka T, Hashimoto Y, Kuroda M, Takagi T, Nakamura Y. JSNP: a database of common gene variations in the Japanese population. *Nucl Acids Res* 2002; 30:158-162.
- Cui JS, Hopper JL, Harrap SB. Antihypertensive treatments obscure familial contributions to blood pressure variation. *Hypertension* 2003; 41:207-210.
- Hurwitz S, Fisher NDL, Ferri C, Hopkins PN, Williams GH, Hollenberg NK. Controlled analysis of blood pressure sensitivity to sodium intake: interactions with hypertension type. *J Hypertens* 2003; 21:951-959.
- Province MA, Arnett DK, Hunt SC, Leinender-Foster C, Eckfeldt JH, Oberman A, et al., for the HyperGEN Group. Association between the alpha-adducin gene and hypertension in the HyperGEN Study. *Am J Hypertens* 2000; 13:710-718.
- Castellano M, Barlassina C, Rossi F, Giacche M, Perani C, Rivadossi F, et al. Age-dependency of alpha-adducin polymorphism modulation of blood pressure [Abstract]. *Hypertension* 2002; 40:585.
- Castellano M, Rossi F, Giacche M, Perani C, Rivadossi F, Muesan ML, et al. Beta2 adrenergic receptor gene polymorphism, age, and cardiovascular phenotypes. *Hypertension* 2003; 41:361-367.
- Vargas-Poussou R, Feldmann D, Vollmer M, Konrad M, Kelly L, van den Heuvel LPWJ, et al. Novel molecular variants of the Na-K-2Cl cotransporter gene are responsible for antenatal Bartter syndrome. *Am J Hum Genet* 1998; 62:1332-1340.

医師主導型治験を支える医療機関のサポート体制

佐瀬 一洋
SASE Kazuhiro

国立循環器病センター専門外来部第七循環器科医長

はじめに

平成15年度は、改正薬事法施行および臨床研究倫理指針告示という臨床試験の実施体制に関する大きな変革の年であった。臨床試験研究は医療の質向上のために必要不可欠であるが、選択肢の1つとして医師主導の治験が新たに加わった。その実施は容易ではなさそうであるが、医療機関では被験者保護を念頭に、スピード・質・コストを改善するための簡素で標準的なサポート体制をつくるのが重要である。

背景

ゲノム時代を迎え、診断や治療のパラダイム・シフトが始まった¹¹⁻⁶⁾。バイアスや利益相反は永遠の課題であり、基礎実験や探索的研究の結果から導かれた仮説が検証的試験により、ときには覆る⁷⁻⁹⁾ことから、患者にとっての真の利益を評価するために、臨床試験研究の重要性はますます高まっている¹⁰⁻¹²⁾。

わが国でも、バイオテクノロジー戦略会議の最終答申¹³⁾や、文部科学省、厚生労働省の全国治験活性化3カ年計画¹⁴⁾などで、諸外国との比較で問題視されている臨床研究のスピード・質・コス

トを改善するための基盤整備がうたわれている。

平成15年度には改正薬事法施行および臨床研究指針告示という大きな変化があった。世界的な被験者保護の流れと合わせ、医療機関における臨床試験のサポート体制の強化が急務となっている。

臨床研究と治験および医師主導型治験

「治験」とは薬事法第2条により定義されている言葉で、厚生労働大臣に治験届を提出した上で、新しい医薬品・医療機器の承認を得るため、科学的見地からの審査に必要な実証データの収集を目的として、ヒトを対象に実施される臨床試験のことである(図1)。

わが国においては、治験にまつわる金銭面の疑惑やデータの信頼性などが問題とされ、主として保険診療に従事する医療機関にとってのインセンティブや、基礎研究と比較して学術論文などの成果につながりにくいなどの理由から、医師の治験への関心は高いとは言えなかった。

しかしながら、エビデンスに基づく医療(EBM)という考え方が普及するにつれ、患者、医療従事者の双方で臨床疫学的な情報の共有が進みつつある。疾患の頻度、自然歴、現在ある最善の治療についての検討がなされれば、必然的に諸外国で標準的とされる医薬品・医療機器が承認あるいは

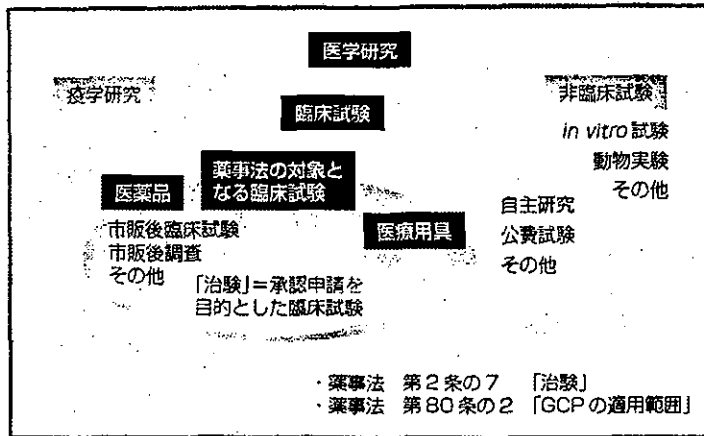


図1 臨床研究と治験

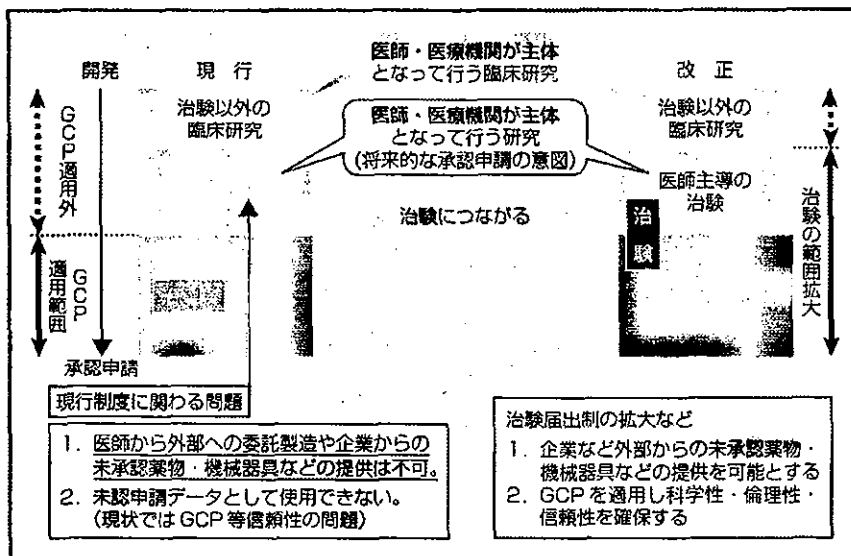


図2 改正薬事法と医師主導型治験

適応外使用されているという現実に直面せざるを得ない。したがって、医療現場においても、承認・許可（薬事法）と保険適用（健康保険法）の両面について、より深い理解が必要となっている。

平成15年7月30日に改正薬事法が施行され、「自ら治験を実施しようとする者による治験届制度」としていわゆる「医師主導型治験」が新たに定義づけられた（図2）。厚生労働大臣に対する

治験届の提出とGCPの適用を条件に、未承認薬剤・機械器具の提供や特定療養費制度による治験期間中の保険適用に道を開くものといわれる¹⁵⁾。

ICH-GCPにおける“sponsor-investigator”に似た概念も受け取れ、今後の関連諸通知や諸規程、標準的業務手順書などの整備の必要性とともに、被験者保護の具体的方策や費用の負担などについて注目されている。

表 1 医師主導の治験に関連する法令・諸通知の例

- (1) 薬事法及び採血及び供血あつせん業取締法の一部を改正する法律
(平成14年法律第96号)
- (2) 薬事法及び採血及び供血あつせん業取締法の一部を改正する法律の一部の施行について
(平成15年5月15日医薬発第0515017号厚生労働省医薬局長通知)
- (3) 医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令
(平成15年厚生労働省令第106号) ICH-E6 いわゆるGCP
- (4) 医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令の施行について
(平成15年6月12日医薬発第0612001号厚生労働省医薬局長通知)
- (5) 医薬品の臨床試験の実施の基準の運用について
(平成9年5月29日薬審第445号, 薬安第68号: 現在改訂作業中)
- (6) 自ら実施する薬物に係る治験の計画の届出等に関する取扱いについて
(平成15年6月12日医薬審発第0612001号厚生労働省医薬局審査管理課長通知)
- (7) 「薬物に係る治験の計画の届出等に関する取扱いについて」の一部改正について
(平成15年6月12日医薬審発第0612004号厚生労働省医薬局審査管理課長通知)
- (8) 薬事法施行規則の一部を改正する省令
(平成15年5月15日厚生労働省令第89号)
- (9) 治験中に得られる安全性情報の取り扱いについて
(平成7年3月20日薬審第227号) ICH-E2A
- (10) 自ら治験を実施する者に係る治験薬の副作用等報告に関する取扱いについて
(平成15年8月5日薬食審発第0805007号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- (11) 治験の総括報告書の構成と内容に関するガイドライン
(平成8年5月1日薬審第335号) ICH-E3
- (12) 臨床試験の一般指針
(平成10年4月21日医薬審第380号) ICH-E8
- (13) 「臨床試験のための統計的原則」について
(平成10年11月30日医薬審第1047号) ICH-E9
- (14) 「臨床試験における対照群の選択とそれに関連する諸問題」について
(平成13年2月27日医薬審発第136号) ICH-E10

医師主導型治験と改正GCP

1) 被験者の保護とCommon Rules

わが国におけるヒトを対象とした臨床試験の実施における被験者保護の枠組みは、GCP (Good Clinical Practice) やIRB (Institutional Review Board) というICH (日米EU医薬品規制調和国際会議)¹⁶⁾の流れの中で、薬事法の関連規程としての整備が先行した(表1)。米国では、国家研究法(1974)や45CFR46(1991, いわゆるCommon Rules)として、FDA(連邦食品医薬品局)やNIH(米国公衆衛生研究所)をはじめとする政府

機関に共通のルールとされている。平成15年7月に臨床研究の倫理指針が告示されたが、医師主導の治験を支える医療機関のサポート体制は、治験に限らず広く臨床研究を実施するという流れの中で確立されるべきであろう。

2) 改正GCP

改正GCPの基本原則として、①企業が主体となって行う治験と同様に、現行のGCPと同様の水準と内容を網羅し、国際標準(ICH-GCP)との整合性にも配慮すること、②現行GCPにおける治験依頼者の責務に関して、原則として、「自ら治験を実施しようとする者」または「自ら治験を実

表2 用語の定義(改正GCP第2条)

治験の計画を届け出ようとする者
企業主導:「治験を依頼しようとする者」
医師主導:「自ら治験を実施しようとする者」
治験の計画を届け出た者
企業主導:「治験依頼者」
医師主導:「自ら治験を実施する者」
治験責任医師
企業主導:「治験責任医師」
医師主導:「治験責任医師/自ら治験を実施する者」
治験薬を提供する者
企業主導:「治験依頼者」
医師主導:「治験薬提供者」

施する者」(医師、歯科医師)が「治験依頼者」と同等の責務を負うものとすることが示されている(厚生労働科学特別研究班「医師主導の治験の実施の基準のあり方に関する研究」,主任研究者・上田慶二, www.mhlw.go.jp/shingi/kousei.html)。

改正GCP第2条では、「自ら治験を実施しようとする者」(治験の計画を届け出ようとする者,企業主導型では「治験を依頼しようとする者」),「自ら治験を実施する者」(治験の計画を届け出た者。企業主導型では「治験依頼者」と「治験責任医師」に分かれている),「治験薬提供者」の3者が新たに定義された(表2)。

改正前のGCPと比較すると,言葉の定義に加え,①治験届提出に先立って医療機関の長による治験実施の承認が必要であること,②モニタリング・監査の実施について医療機関の長と治験審査委員会がチェックを行うこと,③治験施設支援機関(SMO)に係る規定,④被験者のプライバシーと秘密の保全に関する規定がそれぞれ追加された。

とくに,「自ら治験を実施する者」が「治験依頼者」と同一主体であることから,品質管理・品質保証(モニタリング・監査),副作用被害に対する補償,治験実施計画書の作成,治験薬概要書

表3 医師主導の治験を実施するにあたって

治験とは
医薬品や医療機器の承認申請資料の収集を目的とする臨床試験(薬事法第2条)
自ら治験を実施しようとする者の責務
(1) 治験実施計画書作成
(2) 治験薬概要書作成
(3) 実施医療機関の長の承諾を得る(治験審査委員会の審議が必要)
(4) 厚生労働大臣に治験届を提出
(5) GCPを遵守(被験者保護,データの信頼性確保)

の作成,重篤な有害事象報告,治験薬管理,治験薬提供,総括報告書作成,治験審査委員会(IRB)の審査機能の確保,「自ら治験を実施する者」と医療機関の長および治験責任医師の関係,その他(治験届の範囲・内容,治験の妥当性の確保,治験データの所有権および譲渡,多施設で行う場合の留意点など)についての修正がなされている。

医師主導型治験の実際

医師主導型治験は,医薬品の候補となる化合物といった技術的ニーズから出発することが多い企業主導型の治験とは反対に,罹患率,自然歴,最善の治療法といった臨床的ニーズから出発することが特徴である。したがって,企業主導型では治験の実施が期待できない領域,すなわち医薬品の適応外使用や個人輸入の問題についても十分に議論を重ねた上で,必要があれば実施されうると予想されている。

しかしながら,いわゆる自主研究との大きな違いは,本制度は薬事法に基づき医薬品の承認申請の資料とする目的で行うものであり,厚生労働大臣に対する治験計画の届出が必要になることである(表3)。さらに,治験届の提出に先立ち,治験審査委員会の承認を踏まえた実施医療機関の長の

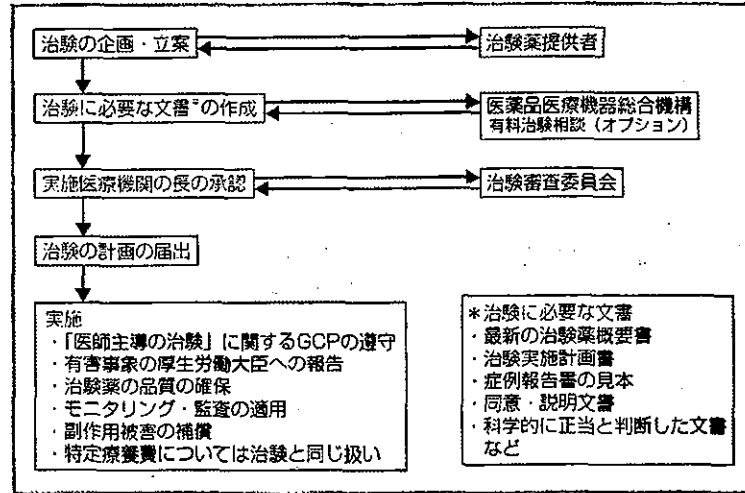


図3 医師主導の治験の流れ

承認が必要とされている（改正GCP第15条の7）。

したがって、医師主導型治験の流れとしては、治験薬概要書の作成、治験実施計画書などの作成、施設における治験審査委員会の承認を踏まえた実施医療機関の長の承認、その後の厚生労働省への治験計画届提出の順となる（図3）。

医師主導型治験の実際については、企業主導型の治験との類似点や相違点に注目しつつ、治験の流れに沿って検討することが重要である。

本稿では、医師主導型治験の実際について、以下の3部分に分けてまとめた。

- ①治験の計画に関する研究：予算の申請、治験実施計画書（案）作成、実施予定医療機関の選定など
- ②治験の実施に関する研究：いわゆる施設支援機関（SMO：Site Management Organization）的業務
- ③治験の調整に関する研究：いわゆる受託開発機関（CRO：Contract Research Organization）的業務

1) 治験の計画に関する研究

治験届を提出する前に、治験実施計画書、治験薬概要書の作成、治験相談の実施（必要があれば）、実施医療機関の長への申し込み、施設の治験審査委員会に諮問、実施医療機関の長による承認というプロセスが必要である。

治験実施計画書（Protocol）は、「自ら治験を実施する者」が、必要な情報を契約などにより企業から入手して作成する（改正GCP第7条、第15条の4）。計画段階では試験の外的妥当性、内的妥当性について検討し、独立した治験審査委員会による審査を受ける。

治験薬概要書（Investigator's Brochure）は、いわゆる非臨床試験や臨床試験の結果をまとめたもので、被験薬の物理的、化学的および製剤学的性質、薬理、毒性、薬物動態、薬物代謝に関連する理化学試験、動物試験、他の臨床試験などの結果が含まれる。「自ら治験を実施する者」は、予定されている臨床試験が十分安全であることを示すために治験薬概要書を作成する（第8条）。治験薬提供者は、必要な資料または情報を提供する（第15条）。

治験薬提供者との協議も重要である。医師主導型治験における治験薬の品質確保（治験薬GMP関連）については、治験薬提供者とあらかじめ文書などによる明確な取り決めが義務付けられた（局長通知第26条の3関係）。さらに、治験外の患者に対する利用防止策、特に薬事法違反回避のため治験薬の提供を治験計画届受理後に限ることが明記されている（第16条）。

2) 治験の実施に関する研究（SMO的業務）

本稿では、企業主導型の治験における実施医療機関の責務に相当する部分や、いわゆるSMOに委託可能な部分（第39条の2）を治験の実施に関する研究としてまとめた。

各施設の「自ら治験を実施しようとする者」は、厚生労働省への治験届の提出に先立ち、実施医療機関の長の承認を受ける必要がある。実施医療機関の長は、承認に当たって治験実施計画書や標準的業務手順書（SOP）など、必要な資料について治験審査委員会の意見を聞く（第15条の7）。同一プロトコルで実施される多施設共同試験については、治験調整医師がまとめて連名で治験届を提出することができる。

治験届が受理された後は、基本的には企業主導型の治験を受託する場合と類似した業務の流れとなる。

実施医療機関の長は、わが国では治験の実施に当たり、承認の決定や契約の主体となっている（第10条および第13条）。医師主導の治験でも契約書に代わって実施医療機関の長による承認書が必須文書となる。また、治験開始後は、副作用報告（第31条関係）、治験薬管理（第39条）、モニタリング・監査（第36条の3、第37条）、治験の中止（第40条）など、緊急回避のための逸脱（第46条）などに関連し、治験を中止させることを含め、実施医療機関の長は必要な措置を講ずることが求め

られている（第32条第3項）。また、直接閲覧に際して被験者の個人情報を守るため、実施医療機関の長は必要な措置を講じなければならない（第36条関係）。

治験審査委員会（IRB）は、医師主導の治験において、より重要な役割を担う（第32条）。新たに厚生労働大臣への治験届提出に先立つ審査、モニタリング・監査報告の審査（第31条第3項）などの規定が追加され、治験責任医師からの独立性をさらに担保するため、モニタリング・監査に関する計画書、業務手順書の作成（第10条第5号および第6号）、モニタリング・監査の実施（第23条第1項、第22条第2項）も規定された。厚生科学特別研究班ではIRBの審査機能確保のため、IRBを指導・監督することが必要であるとして、治験計画届の受理の際に、IRBの審査体制やIRB委員の教育体制などを審査すること、IRBのレベル向上のため、IRBに係るガイドラインの策定およびその周知、IRB委員の教育および研修の実施を行うことを提言している¹⁴⁾。

治験責任医師の要件と責務は、分担医師・協力者の一覧表作成（第43条）、被験者のスクリーニング（第44条）、被験者に対する説明や措置（第45条）、プロトコル遵守（第46条）、症例報告書作成（第47条）、副作用報告（第48条）、治験の中止（第49条）、ならびにインフォームドコンセント（第50条～第55条）と多岐にわたる。

3) 治験の調整に関する研究（CRO的業務）

本稿では、企業主導型の治験における治験依頼者の責務に相当する部分について、治験調整委員会への委託（第26条の4）や、CROに委託可能な部分（第12条、第15条の8）を、治験の調整に関する研究としてまとめた。

多施設共同試験の場合の特例として、治験届の提出に際して、各施設の治験責任医師が連名で一

つの治験の計画を提出しても差し支えないとされている。その場合、各治験責任医師が「自ら治験を実施する者」となるが、治験計画の届出、厚生労働大臣や各実施医療機関への副作用報告に関する調整業務を、治験調整医師または治験調整委員会に委嘱できる（第26条の4）。

医師主導型治験においては、従来型の治験における治験依頼者の責務として、治験薬の管理、副作用情報の収集・検討、モニタリング・監査の実施と報告、治験中止の判断など（第26条の1～12）多くの業務が発生する。したがって、治験の準備として標準的業務手順書の作成（第15条の2関係）が求められている。

効果安全性評価委員会は、治験の継続の適否または治験実施計画書の変更について審議するための委員会であり、治験の進行、安全性データおよび重要な有効性エンドポイントを適切な間隔で評価する（第26条の5関係）。

治験薬提供者との関係も明確にする必要がある。知的所有権は製薬企業の生命線ともいえることから、秘密保持契約の締結・遵守などは重要である。一方、有害事象や期待に反する試験解析結果の取り扱いでは利益相反問題が生じる可能性がある。当該治験により収集された臨床試験成績に関する資料が承認申請書に添付されないことを知り得た場合、その旨およびその理由を実施医療機関の長に文書により通知することが求められる（第26条の10関係）。

総括報告書の作成（第25条）は、ICH-E3（表3）に基づき、「自ら治験を実施する者」が作成すべきとされている。その内容については、承認申請に必要な最低限の情報を網羅する必要がある。

医師主導型治験を支える医療機関の支援体制

新GCP施行後の治験推進策は、医療機関における試験の実施、すなわちSMO的機能に重点が置かれてきた。今後、試験の計画や調整、すなわち、CRO的機能に焦点を当てた臨床研究支援体制整備も必要である。

1) 治験の実施の支援

新GCPでは、科学性・倫理性・信頼性の向上を目的に、治験依頼者、治験審査委員会、治験実施医療機関の長、治験責任医師の各実施主体の要件と責務が明示された（図4）。現在、多くの医療機関では治験管理室や臨床試験センターなどの名称で、試験コーディネーター（CRC）の配備に代表される、治験を受託して実施するSMO的機能を中心に整備が進んでいる。

実施医療機関でもっとも重要なことは、治験責任医師を中心としたチームを確立することである。スタートアップミーティングとして、治験分担医師、治験協力者を集め、GCPの遵守、プロトコル遵守を確認する。原資料の定義や必須文書管理、治験薬管理の重要性を徹底しなければならない。また、緊急時の対応や、放射線、検査、看護、事務など院内各部門との連携も被験者保護のために重要である。

治験協力者としてのCRCは、治験責任医師を補助する支援業務として導入され、被験者の募集、選択・除外基準の確認、インフォームドコンセント、プロトコル遵守、スケジュール管理、安全性情報の共有、有害事象への対応、および品質管理、品質保証活動（モニタリング、監査）は、その上に成り立っている。医師主導の治験においては、いわゆる治験依頼者の存在がないことから、施設CRCの量的確保と質の向上が急務である。

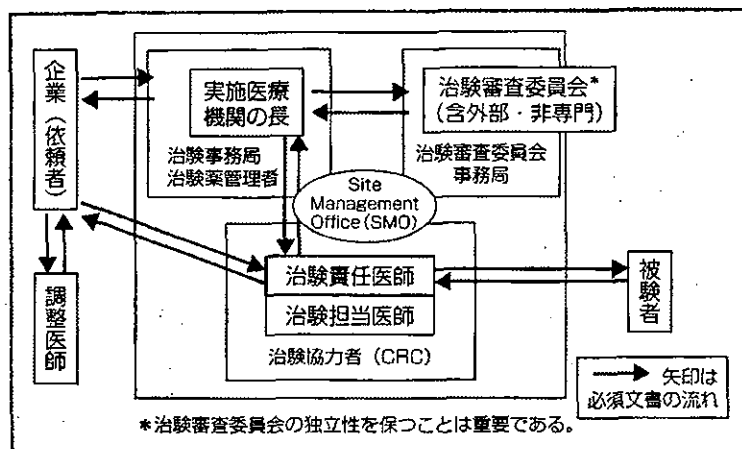


図4 実施医療機関と責任医師

さらに、治験審査委員会（IRB：Institutional Review Board）の審査機能の確保が課題である。医師主導の治験においては、被験者保護として、IRBが非常に重要な役割を担うことから、治験計画届の受理の際に、IRBの審査体制やIRB委員の教育体制などの審査や、IRBに係るガイドラインの策定およびその周知、IRB委員の教育および研修の実施を行うことが検討されている。

なお、業務の一部を、医療機関外部（SMO）に委託することができる（第39条の2関係）。

2) 治験の計画・調整の支援

医師主導の治験の計画・調整に当たっては、医療機関におけるCRO的機能の支援体制強化が急務である。医師・生物統計家、データマネジャー、リサーチナース、臨床薬理専門家、生命倫理専門家、規制担当、法律顧問などの人材育成や業務委託により、治験実施計画書や治験薬概要書の作成、データマネジメント、薬剤管理など、質の高い臨床試験の計画・運営ができる臨床研究センターを整備することが必要である（図5）。

臨床疫学、臨床薬理学などの専門家は、医師主導型の治験の計画においてもっとも重要な部分と

もいえる治験実施計画書の外的妥当性の検討に重要な役割を果たす。①有病率、罹患率、自然歴といった臨床疫学的側面、②外科治療や放射線治療、生活習慣改善など、最善の治療についての医学的側面、③提案する治療法に関する非臨床・臨床を総合的に判断し、予測されるリスクとベネフィットを明らかにする。

生物統計家やデータマネジャーの参画は、内的妥当性の検討に不可欠である。臨床試験の目的、デザイン、治験薬の用法・用量、評価項目とスケジュール、解析計画などについて、試験の相や目的に応じて、各種ガイドライン（表1）も参考に、治験実施計画書に明確に記述する。

治験薬概要書の作成に当たり、医薬品医療機器総合機構²¹⁾を含む行政や企業と十分に議論することが必要である。既承認薬の場合は添付文書などの公開された情報が利用できることとされているものの、開発中止届けや有害事象報告などの非公開情報が存在する可能性があることに注意が必要である。

また、事務局機能としては、安全性情報の迅速なハンドリングと、各種委員会の開催による調整機能の発揮が重要である。治験調整委員会は、治

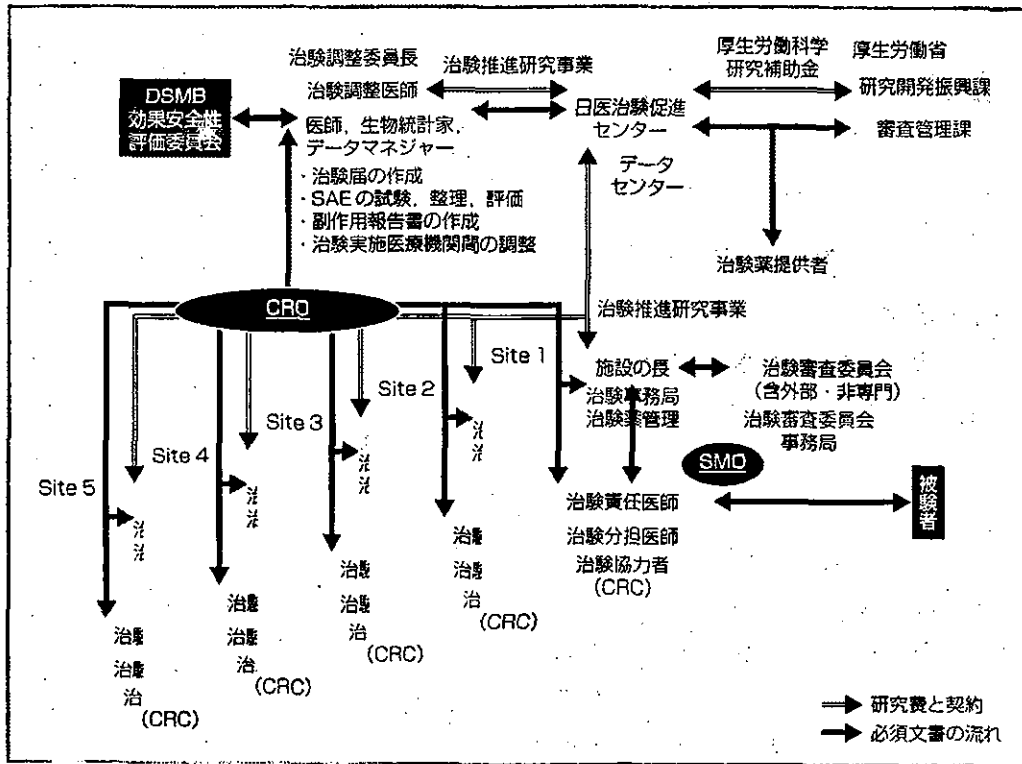


図5 治験調整委員会の役割 (案)

験の計画に当たり、各施設の自ら治験を実施しようとする者（治験責任医師）のコンセンサス醸成に、実施段階では安全性情報などへの対応に必要な不可欠の存在である。また効果安全性評価委員会は、統計学を含む適切な学識を持った臨床試験の専門家から構成されるべきである（ICH-E6）。独立性を保つため、自ら治験を実施する者、治験責任医師など、治験調整医師、治験審査委員会の委員、治験薬提供者および実施医療機関の長は、効果安全性評価委員会の委員になることはできない。

被験者保護の観点から、治験中に内外から得られる安全性情報に対しては迅速かつ適切に対応しなければならない（第20条、第48条）。用語の定義（有害事象、副作用、予測できない副作用など）、取り扱い（報告すべきもの、報告期限（7日報告、15日報告など）、報告方法など）に注意が必要で

ある（表1）。外部からの重篤な有害事象の報告、とくに海外副作用情報の把握方法や治験薬提供者との連携が課題として残されている。

モニタリングおよび監査は治験の品質管理・品質保証活動である。医師主導の治験では「自ら治験を実施する者」の責任となるが、実施主体はノウハウを有する第三者（実施医療機関、IRB（実施医療機関のIRB、他のIRB）、製薬企業、CROなど）が行ってもよいとされており、公正性確保と守秘義務に留意して計画すべきである（第21条、第22条、第23条）。

なお、治験の実施の準備及び管理に係る業務の一部を医療機関外部（CRO）に委託することができる（第15条の8関係）。契約の主体や費用負担等、実際の運用に当たっては関係各方面の調整が必要となろう。

3) 支援体制整備とコスト

医師主導型の治験の支援体制については、医療機関が保険診療と医業収入の範囲のみから負担することは困難と考えられる。

文部科学省、厚生労働省による「全国治験活性化3カ年計画」では、①治験のネットワーク化の推進として、大規模治験ネットワークの構築、オフアンドラッグなどの治験の推進、地域ネットワークなどへの支援を進める、②医療機関の治験実施体制の充実などとして、治験コーディネーター（CRC）の養成確保（2005年までに5,000人）、実施研究者などのインセンティブの向上、医療機関における治験実施施設などの整備、医療関係者への治験に関する理解の促進、国立病院などにおける治験実施体制の充実、SMOやCROの養成を進める、③患者の治験参加支援として、国民に対する普及啓発、被験者に対する治験実施状況の情報提供、医療機器治験の充実、企業の治験負担軽減、そして臨床研究全体の推進が示されている。

利益相反問題が解決すれば、企業との契約についても見直しが必要である。治験データの所有権および譲渡について、薬事法上、承認申請を行う者は企業であることから、医師主導の治験で得られたデータの提供などについては、「自ら治験を実施する者」と企業が契約を締結することが妥当であろう。TLO（Technology Licensing Organization）の整備は試験実施医療機関へのインセン

ティブを通じて医療の質向上に役立つと思われる。

平成15年10月、厚生労働省の治験推進事業を受けて、日本医師会に治験促進センターが設立された（www.jmacct.med.or.jp）。初年度はがん、循環器、小児の3疾患領域で医師主導型の治験などの実施を通じたネットワークづくりを開始し、最終的に10疾患領域をカバーすることを目指すという。公的補助金を受けた事業として、説明責任と透明性を確保しつつ、臨床研究のインフラづくりが進むことを期待したい。

おわりに

薬事法が改正され、医師主導型治験が可能となった。その本質は、技術的シーズから出発するのではなく、臨床的ニーズから出発することであり、適切に実施されれば、医薬品の個人輸入や適応外使用の問題に対する一つの選択肢になり得る。

しかしながら、これまで治験依頼者としての企業の責務が、自ら治験を実施する者として医師にかかることで解決すべき問題は多い。医療機関では、治験・臨床試験の科学性、倫理性、信頼性を担保し、スピード、質、コスト、被験者保護の問題を改善するために、企業主導型治験や自主研究との類似点・相違点を踏まえて、簡素で標準的な支援体制を構築することが重要である。

【参考文献】

- 1) Gutmacher A.E., Collins F.S.: Welcome to the Genomic Era. *N. Engl. J. Med.*, 349: 996-998. 2003.
- 2) Collins F.S., et al.: A vision for the future of genomics research. *Nature*, 42: 835-847. 2003.
- 3) Ommen G.J.B. et al.: The human genome project and the future of diagnostics, treatment, and prevention. *Lancet*, 354(suppl): SI 5-11. 1999.
- 4) King R.A., Rotter J.L., Motulsky A.G. Eds.: *Genetic Basis of Common Diseases*. (2nd Ed.), Oxford Press, New York. 2002.
- 5) Drews J.: Drug Discovery: A Historical perspective. *Science*, 287: 1960-1964. 2000.
- 6) Evans W.E. et al.: Pharmacogenomics-Drug Disposition, Drug Targets, and Side Effects. *N. Engl. J. Med.*

- 348 : 538-549, 2003.
- 7) The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators. Preliminary report : effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 321 : 406-412, 1989.
- 8) Cohn J.N., Goldstein S.O., Greenberg B.H., Lorell B.H., Bourge R.C., Jaski B.E., Gottlieb S.O., McGrew F. 3rd., DeMets D.L., White B.G. : A dose-dependent increase in mortality with vesnarinone among patients with severe heart failure. Vesnarinone Trial Investigators. *N. Engl. J. Med.*, 339 : 1810-1816, 1998.
- 9) Chung E.S., Packer M., Lo K.H., Fasanmade A.A., Willerson J.T. : Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure : results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation*, 107 : 3133-3140, 2003.
- 10) Fukui T. : Contribution of Research in basic and Clinical Science in Japan. *Intern. Med.*, 41 : 626-628, 2002.
- 11) Hashino Y, et al. : Japan's Contribution to Research on Cardiovascular Disease. *Circ. J.*, 67 : 103-106, 2003.
- 12) 藤原康弘 : トランスレーショナルリサーチを成功させる秘訣-臨床研究のインフラストラクチャー整備. *医学のあゆみ*, 200 : 544-548, 2002.
- 13) BT戦略会議 : バイオテクノロジー戦略大綱. BT戦略会議最終答申 (平成14年12月6日), <http://www.kantei.go.jp/jp/koizumiphoto/2002/12/06bt.html>.
- 14) 文部科学省・厚生労働省 : 全国治験活性化3カ年計画, 平成15年4月30日, <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/isei/chiken/kasseika.html>.
- 15) 山田雅信 : 医師主導の治験の制度の導入について. *日医雑誌*, 第130巻第7号 : 平成15年10月1日
- 16) Normile D. U.S. : Europe, Japan Look to Speed Up Drug Reviews. *Science*, 287 : 1958-1959, 2000.
- 17) 藤原康弘 : 医師主導型治験に関する情報の集約とその倫理的背景 (改正GCP) を中心に, 日本癌治療学会シンポジウム, 平成15年10月24日, 札幌.
- 18) 佐瀬一洋 : 薬事法改正と臨床研究の指針策定の経過および試案へのコメント. *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 34 : 533S-534S, 2003.
- 19) 佐瀬一洋 : 薬事法改正と臨床研究の指針. *臨床医薬*, 19 : 1054-1065, 2003.
- 20) 佐瀬一洋 : 医師主導の治験及び臨床試験. *Pharm Stage 3* ; 42-51 : 2003.
- 21) 佐瀬一洋 : 独立行政法人医薬品医療機器総合機構. *Cancer Frontier*, 5 : 126-130, 2003.
- 22) Steinbrook R. : Protecting research subjects—the crisis at Johns Hopkins. *N. Engl. J. Med.*, 346 : 716-720, 2002.
- 23) Federman D.D., Hanna K.E. and Rodriguez L.L. : Responsible Research : A Systems Approach to Protecting Research Participants. Eds. Committee on Assessing the System for Protecting Human Research Participants. National Academy Press, 2002.

〈抄録〉第25回 日本臨床薬理学会年会 2004年9月17~18日 静岡
シンポジウム7 (臨床試験分野) : 医師主導の治療実施の現状と問題点

2. 循環器領域における医師主導の治験の現状

佐瀬 一 洋*

臨床研究は、技術のシーズを臨床のニーズと結びつけるトランスレーショナル・リサーチの最終段階として、益々重要性が高まっている。バイアスや利益相反は永遠の課題であるが、わが国では、諸外国と比べて臨床研究のスピード・質・コストの改善が必要とされている。

いわゆる医師主導型治験とは、平成15年7月30日に施行された改正薬事法により、「自ら治験を実施しようとする者による治験届制度」として新たに定義されたものである⁽¹⁾⁻⁽⁶⁾。厚生労働大臣に対する治験届の提出とGCPの適用を条件に、未承認薬剤・機械器具の提供や特定療養費制度による治験期間中の保険適用に道を開くものといわれる。いわゆる自主研究との大きな違いは、本制度は薬事法に基づき医薬品の承認申請の資料とする目的で行うものであり、厚生労働大臣に対する治験計画の届出が必要になることである。更に、治験届の提出に先立ち、治験審査委員会の承認を踏まえた実施医療機関の長の承認が必要とされている。

平成15年10月、厚生労働科学研究補助金による治験推進事業の一環として日本医師会に治験促進センターが設立された(<http://www.jmacct.med.or.jp/>)。初年度は、がん、小児、循環器の3領域における医師主導型の治験を実施することとして、循環器領域では日本医師会治験促進センターによりアルガトロバンのヘパリン起因性血小板減少症(HIT: Heparin-induced Thrombocytopenia)を対象とした臨床試験(主任研究者: 友池仁暢)の実施が決定され⁽⁶⁾、3月に治験相談実施、6月にCRO業務の受託者公募(日本医事新報第4182号)、7月には実施医療機関選定が行われた。

HITは、免疫学的機序による血小板減少を特徴とする症候群である⁽⁷⁻¹⁰⁾。致死性の血栓症を高率に合併することから、診断・治療の対策が急務とされている。急性期HIT患者に対しては、(a)ヘパリンを全て中止する、(b)必要に応じ代替抗凝固療

法を開始する、(c)ワルファリン単独治療は行わず、血小板数が回復したら切り替える、(d)HIT抗体検査をオーダーする、(e)下肢深部静脈血栓症等の精査を開始する、(f)血小板の予防的輸注をしない。

代替抗凝固療法としては、米国では既に直接抗トロンビン薬(腎排泄型のヒルジンと肝代謝型のアルガトロバン)がFDAにより承認されているが、日本ではヒルジンは未発売、アルガトロバンも適応外となっている。HIT情報センター(<http://homepage3.nifty.com/Kessen-projects/>)による情報提供などがきっかけとなり、症例報告が増加しつつあり、急性冠症候群患者を対象に実施された前向き調査研究でも、欧米と同程度の発症頻度がある可能性が示唆された⁽¹¹⁾。最近、心臓外科手術後患者を対象とした同様の研究も開始された⁽¹²⁾。更に、ガイドラインの作成など、診断・治療の確立に向けた動きが活発化している⁽¹³⁾。

Argatroban (アルガトロバン) は日本で合成された肝代謝型の選択的・可逆的抗トロンビン剤である。予測可能な用量・反応作用を持ち、抗凝固作用の発現・回復が速やかで、HIT抗体と交叉反応せず、薬物特異抗体の誘導がない等の、HITに対する理論的有用性を検証するために、米国において臨床試験が実施され⁽¹⁴⁻¹⁵⁾、2000年にHIT治療薬として承認された⁽¹⁶⁾。わが国でも希少疾病用医薬品(オーファンドラッグ)に指定されたが、海外データを活用したいわゆるブリッジング試験的な治験が必要と考えられる。

米国承認用量は、aPTTを基準値の1.5~3.0倍に調整することとなっている。PT-INRへの影響が知られているため、経口抗トロンビン剤(ワルファリン)への切り替えに際しては注意が必要である。肝機能低下症例では、薬物クリアランス低下により半減期が延長するため、開始量を1/4に調節することが推奨されている⁽¹⁶⁾。なお、外科手術後については集中治療室での副作用出現例が報告されており、今後有効性と安全性の評価が必要である^(17,18)。

医師主導型治験の実施体制の例として、日本医師会治験促進センター治験推進研究事業の実施要

* 国立循環器病センター臨床試験開発室
〒565-8565 吹田市藤白台 5-7-1

領・事務取扱基準では、大きく治験の計画、調整管理、実施の3部門に分けている。また、改正GCPでは治験届提出の前後で「自ら治験を実施しようとする者」、「自ら治験を実施する者」として企業主導型治験における「治験依頼者」と同等の責務を医師主導型治験でも定義している。従って、治験の計画に関する研究および調整管理に関する研究では、いわゆる受託開発機関（CRO: Contract Research Organization) 的支援業務が、治験の実施に関する研究ではいわゆる施設支援機関（SMO: Site Management Organization) 的支援業務が重要となる⁴⁾。

実際の業務にあたっては、「自ら治験を実施する者」が「治験依頼者」と同一主体であることから、品質管理・品質保証（モニタリング・監査）、副作用被害に対する補償、治験実施計画書の作成、治験薬概要書の作成、重篤な有害事象報告、治験薬管理、治験薬提供、総括報告書作成、治験審査委員会（IRB）の審査機能の確保、「自ら治験を実施する者」と医療機関の長及び治験責任医師の関係、その他（治験届の範囲・内容、治験の妥当性の確保、治験データの所有権及び譲渡、多施設で行う場合の留意点等）について、十分な準備が必要である。治験薬提供者との関係も明確にする必要がある。知的所有権は製薬企業生命線ともいえることから、秘密保持契約の締結・遵守等は重要である。一方、有害事象や期待に反する試験解析結果の取扱いでは利益相反問題が生じる可能性がある。総括報告書の作成は、ICH-E3に基づき、「自ら治験を実施する者」が作成すべきとされている。その内容については、承認申請に必要な最低限の情報を網羅する必要がある。また、多施設共同試験の実施にあたっては、治験調整医師や調整委員会の位置づけ、副作用情報の取扱等について、各施設のSOPを調整する必要がある。

薬事法が改正され、医師主導型の治験が可能となった。その本質は、技術的シーズから出発するのではなく、臨床的ニーズから出発することであり、適切に実施されれば、医薬品の個人輸入や適応外使用の問題に対する一つの選択肢になり得る。しかしながら、これまで治験依頼者としての企業の責務が、自ら治験を実施する者として医師にかかることで解決すべき問題は多い。世界的な被験者保護の流れと合わせ、医療機関では被験者保護を念頭にスピード・質・コストを改善するための簡素で標準的なサポート体制を創ることが重要である。

1. 佐瀬一洋 薬事法改正と臨床研究の指針策定の経過 および試案へのコメント. *Jpn J Clin Pharmacol Ther* 2003; 34: 533S-534S
2. 佐瀬一洋 薬事法改正と臨床研究の指針. *臨床医薬* 2003; 19: 1054-1065.
3. 佐瀬一洋 医師主導の治験及び臨床試験. *PharmStage* 2003; 3: 42-51-2003.

4. 佐瀬一洋 医師主導型治験を支える医療機関のサポート体制. *月刊薬事*. 2004; 46: 877-887.
5. 竹内正弘ほか監訳. NIH 臨床研究の基本と実際. Gallin JI eds. 井村裕夫監修、丸善株式会社. 2004.
6. 医師主導治験の研究課題. 日本医師会治験促進センター.
<http://www.jmacct.med.or.jp/topic10.html>
7. Warkentin TE. Heparin-Induced Thrombocytopenia: Diagnosis and Management. *Circulation*. 2004; 110: e454-e458.
8. Warkentin TE, Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1286-1292.
9. Hirsh J, et al. Guide to Anticoagulant Therapy: Heparin. A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation*. 2001; 103: 2994-3018.
10. Greinacher A., Warkentin TE. Treatment of Heparin-Induced Thrombocytopenia: an overview. In: Warkentin TE, Greinacher A. eds. *Heparin-Induced Thrombocytopenia*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker. Inc; 2004: 335-370.
11. Tomaru T, et al. Multicenter epidemiological study on the incidence of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Circul J* 2003; 67(Suppl): 364.
12. 峰松一夫. 循環器疾患における抗血栓療法の問題点と対策. 循環器病委託研究 15 公-1. http://www.ncvc.go.jp/kenkyu/itaku/h15itaku/hi_keka.html
13. 循環器疾患における抗凝固・抗血小板療法に関するガイドライン(2002-2003年度合同研究班報告). *Circul J* 2004; 68(Suppl IV): 1153-1219.
14. Lewis BE et al. Argatroban anticoagulant therapy in patients with heparin-induced thrombocytopenia. (ARG-911 Study). *Circulation*. 2001; 103: 1838-43
15. Lewis BE et al. Argatroban anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia. (Argatroban-915 Study). *Arch Intern Med*. 2003; 163: 1849-1856.
16. Argatroban Injection. Physician's Desk Reference. 2004.
17. Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2003; 76: 2121-2131.
18. Reichert MG et al. Excessive argatroban anticoagulation for heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Pharmacother* 2003; 37: 652-654

Original Article

Comparison between Cilnidipine and Amlodipine Besilate with Respect to Proteinuria in Hypertensive Patients with Renal Diseases

Shunichi KOJIMA, Mikio SHIDA, and Hiroyuki YOKOYAMA*

Unlike other dihydropyridine calcium channel blockers (CCBs), cilnidipine has been reported to exert an N-type calcium-channel-blocking activity and to reduce sympathetic hyperactivity. This study compared cilnidipine and amlodipine with respect to their effects on renal function and proteinuria. Twenty-eight proteinuric hypertensive outpatients (13 men and 15 women, aged 62 ± 2 years) who had been maintained on CCBs for more than 3 months were randomly assigned to a group receiving amlodipine besilate (14 patients) or a group receiving cilnidipine (14 patients). CCBs were increased in dosage or other drugs were added until blood pressure decreased below 140/90 mmHg, but no inhibitors of the renin-angiotensin (RA) system were added or changed in dosage. Before and at 6 and 12 months after randomization, the concentrations of urine protein, urine albumin, serum and urine creatinine (Cr), and serum β_2 -microglobulin were determined. The amlodipine group showed a significant increase in proteinuria, while the increase was suppressed in the cilnidipine group. The rate of increase in proteinuria at 12 months was 87% (95% confidence interval (CI) -10 to 184) of the baseline value with amlodipine and 4% (95% CI -69 to 77) of baseline with cilnidipine, a significant intergroup difference ($p < 0.05$). The mean blood pressure remained in the 96–99 mmHg range until 12 months after randomization, showing no significant difference between the two groups. The cilnidipine group showed an increase in serum Cr levels (baseline vs. 12 months, 1.36 ± 0.20 vs. 1.50 ± 0.23 mg/dl, $p < 0.01$). Overall, an inverse correlation existed between the changes in Cr and proteinuria ($r = -0.477$, $p < 0.01$). These results suggest that cilnidipine results in a greater suppression of the increase in proteinuria and greater reduction in glomerular filtration rate than amlodipine, and that these effects are similar between cilnidipine and RA inhibitors. However, additional large-cohort and longer-term studies will be needed to clarify whether cilnidipine is superior to other CCBs in maintaining renal function.

(*Hypertens Res* 2004; 27: 379–385)

Key Words: calcium channel blocker, proteinuria, N-type calcium channel, renal function

Introduction

Many large-scale studies have shown that renin-angiotensin (RA) inhibitors such as angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) and angiotensin type 1 receptor blockers (ARBs) have renoprotective effects (1–6). However, in many cases, adequate antihypertensive effects are not achieved

with RA inhibitors alone, and many large-scale studies have reported that a combination of two to three antihypertensive drugs is needed to achieve the desired blood pressure goal (7). Combination therapy options, when adequate antihypertensive effects are not achieved with RA inhibitors alone, include calcium channel blockers (CCBs).

CCBs are divided structurally into the dihydropyridine-type and the nondihydropyridine-type. Moreover, various

From the Division of Internal Medicine and *Division of Cardiology, National Hospital Organization Shizuoka Medical Center, Shizuoka, Japan. This study was supported in part by a Research Grant for Cardiovascular Diseases (13C-5) from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. Address for Reprints: Shunichi Kojima, M.D., Division of Internal Medicine, National Hospital Organization Shizuoka Medical Center, Nagasawa 762-1, Shimizu-cho, Sunto-gun, Shizuoka 411-8611, Japan. E-mail: skojima@jun.ncvc.go.jp
Received October 29, 2003; Accepted in revised form March 10, 2004.

subtypes of Ca^{2+} channels exist, such as L, N, T, P/Q, and R (8, 9). The calcium channel specificity and pharmacological effect have been reported to vary with the CCB class (10). For example, nondihydropyridine CCBs have the same anti-proteinuric effect as the ACE inhibitor lisinopril (11). Among dihydropyridine CCBs, amlodipine has a weaker anti-proteinuric effect than an ACEI, ramipril (2), or an ARB, irbesartan (5), whereas efonidipine has an anti-proteinuric effect similar to that of ACEIs (12).

Cilnidipine has attracted attention as a CCB that blocks N-type calcium channels distributed in sympathetic nerve endings as well as L-type calcium channels (13, 14). In spontaneously hypertensive rats (SHR) treated with *N*- ω -nitro-L-arginine methylester (L-NAME), cilnidipine dilates afferent and efferent arterioles in the kidney and decreases glomerular capillary pressure, thereby reducing proteinuria and improving glomerulosclerosis and arteriolar lesions (15). In addition, a comparative study of cilnidipine and an ACEI, benazepril, has shown that both regimens similarly reduced urine albumin (16).

To date, there have been few or no studies clinically comparing the effects of dihydropyridine CCBs. In this study, we compared the effects on renal function between cilnidipine and amlodipine in hypertensive patients with proteinuria, and found that amlodipine increased proteinuria, whereas cilnidipine suppressed the increase in proteinuria.

Methods

Patients and Protocol

This trial enrolled hypertensive patients whose casual urine specimens collected at an outpatient visit contained 30 mg/dl protein or more and who had been maintained on CCBs other than cilnidipine for more than 3 months. Participant enrollment was undertaken in Tohsei National Hospital between September 1999 and December 1999. The patients with moderate renal dysfunction (serum creatinine >3.0 mg/dl) or severe hypertension (baseline blood pressure >180/100 mmHg) were excluded from the study. The final study group thus consisted of 28 patients (13 men and 15 women, aged 62 ± 2 years old), who were randomly assigned to the cilnidipine or amlodipine group. In this open-labeled trial, the prior CCBs were replaced with cilnidipine (10 mg/day) or amlodipine (5 mg/day) without a washout period. Office blood pressure and heart rate were measured every month, and the dosage was adjusted so that blood pressure was maintained below 140/90 mmHg. In the patients of the amlodipine group who had already been treated with 10 mg/day of amlodipine, the same dose was continued after a run-in period. If blood pressure was not reduced to the desired goal, other antihypertensive drugs were added. RA inhibitors had already been given in nine patients (imidapril hydrochloride, 5 to 10 mg/day, five patients; enalapril maleate, 5 to 10 mg/day, two patients;trandolapril, 1 mg/day, one patient; de-

lapril hydrochloride, 15 mg/day, one patient) in the cilnidipine group and 12 patients (imidapril hydrochloride, 2.5 to 10 mg/day, seven patients; enalapril maleate, 5 mg/day, two patients;trandolapril, 1 mg/day, one patient; losartan potassium, 25 mg/day, two patients) in the amlodipine group more than 3 months before randomization, but addition or change of RA inhibitors after the run-in period was avoided. In five patients whose serum Cr levels were over 2 mg/dl before randomization, the patients had already been instructed to restrict their dietary protein intake to 0.6 g/kg/day and to maintain it throughout the trial. In other patients, no special instructions were given in regard to protein intake.

At the time of randomization and at 6 and 12 months later, the concentrations of urine protein, urine albumin, urine creatinine (Cr), serum Cr, and serum β_2 -microglobulin were determined. The urinary protein content and the urinary excretion of albumin were standardized for a urinary excretion of 1 g creatinine. Values represent the mean of two measurements at each time point during the observation period and 12 months later. The study protocol was approved by the Ethical Committee at Tohsei National Hospital. Informed consent was obtained from the each patient.

Statistical Analysis

All data are expressed as the mean \pm SEM. Test data for the groups were analyzed by repeated measures ANOVA. In the case of a significant interaction effect, a post hoc, Fisher's PLSD test was performed to identify significant differences among mean values. With changes (decrease or increase) in proteinuria as the dependent variable, and other factors as independent variables, logistic regression analysis was also performed. The unpaired Student's *t*-test was used to determine the significance of differences between the cilnidipine and amlodipine group. χ^2 analysis was used for discrete data. Values of $p < 0.05$ were considered to indicate statistical significance.

Results

Table 1 shows the patient characteristics. There were no differences in background factors between the cilnidipine and amlodipine groups. The most common CCB before randomization was amlodipine besilate (18 patients), followed by manidipine hydrochloride (4 patients), efonidipine hydrochloride (3 patients), and slow-release nifedipine (3 patients). There were no differences in the concomitant use of other drugs. Except for one patient of the amlodipine group, for whom doxazosin mesilate 4 mg/day was added, antihypertensive drugs were not added or changed in either patient group during the follow-up period. There was no significance difference in the number of antihypertensive drugs at 12 months (cilnidipine vs. amlodipine, $4.0 \pm 0.7/\text{day}$ vs. $2.9 \pm 0.3/\text{day}$). The primary diseases causing proteinuria in the cilnidipine group were diabetes mellitus in 6 patients

Table 1. Baseline Characteristics

	Cilnidipine (n=14)	Amlodipine (n=14)	p value
Age (year)	63±3	61±3	0.58
Sex (man/woman)	8/6	5/9	0.45
Number with diabetes	6	10	0.12
Calcium channel blockers before randomization			
Amlodipine	8	10	0.90
Efonidipine	2	1	
Manidipine	2	2	
Nifedipine	2	1	
Combined drugs			
Diuretics	6	2	0.09
β-Blocker	7	5	0.44
ACEI or ARB	9	12	0.19
α-Blocker	2	1	0.54
Body length (cm)	156.5±1.8	159.9±2.5	0.27
Body weight (kg)	61.0±3.0	61.6±1.9	0.88
SBP (mmHg)	135±5	141±4	0.36
DBP (mmHg)	78±3	77±2	0.84
MBP (mmHg)	97±3	99±2	0.64
Serum creatinine (mg/dl)	1.36±0.20	1.11±0.16	0.35
Proteinuria (g/g Cr)	0.93±0.23	0.86±0.21	0.82
Albuminuria (mg/g Cr)	523±136	611±164	0.86
BUN (mg/dl)	24.1±2.72	19.0±2.52	0.18
β ₂ -Microglobulin (mg/dl)	3.03±0.48	2.64±0.35	0.52

ACEI, angiotensin converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin receptor blocker; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure; Cr, creatinine; BUN, blood urea nitrogen.

Table 2. Comparison of Clinical Parameters between Cilnidipine and Amlodipine Groups

		Baseline	6 month	12 month
SBP (mmHg)	Cilnidipine	135±5	133±5	136±5
	Amlodipine	141±4	139±4	138±5
DBP (mmHg)	Cilnidipine	78±3	76±3	76±3
	Amlodipine	77±2	76±3	73±3
MBP (mmHg)	Cilnidipine	97±3	95±3	96±3
	Amlodipine	99±2	97±2	95±3
HR (beats/min)	Cilnidipine	75.6±1.1	71.0±1.4 [#]	72.7±2.1
	Amlodipine	76.9±1.7	74.6±2.0	75.0±1.9
Proteinuria (g/g Cr)	Cilnidipine	0.93±0.23	0.84±0.18	0.82±0.20
	Amlodipine	0.86±0.21	1.18±0.27	1.47±0.44 [*]
Albuminuria (mg/g Cr)	Cilnidipine	523±136	508±117	589±154
	Amlodipine	611±164	795±180	879±251
Serum creatinine (mg/dl)	Cilnidipine	1.36±0.20	1.47±0.21 [#]	1.50±0.23 ^{##}
	Amlodipine	1.11±0.16	1.11±0.18	1.14±0.18
BUN (mg/dl)	Cilnidipine	24.1±2.7	26.5±3.5	27.1±2.9
	Amlodipine	19.0±2.5	18.7±2.8	20.4±3.4
β ₂ -Microglobulin (mg/dl)	Cilnidipine	3.03±0.48	3.34±0.50	3.48±0.52
	Amlodipine	2.64±0.35	2.67±0.32	2.87±0.38

SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MBP, mean blood pressure; HR, heart rate; Cr, creatinine; BUN, blood urea nitrogen. [#] *p*<0.05, ^{##} *p*<0.01 (vs. baseline value of cilnidipine group), ^{*} *p*<0.05 (vs. baseline value of amlodipine group).