

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患等総合研究事業

脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースの
プラットフォーム化と分子疫学を基軸とした
発症機序の解明に関する研究

平成16年度 総括分担研究報告書

平成17（2005）年3月

主幹研究者 友池 仁 暢
(国立循環器病センター)

目 次

I. 総括研究報告

- 脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースのプラットフォーム
化と分子疫学を基軸とした発症機序の解明に関する研究 ----- 1
友池 仁暢
(資料-1) 生活習慣アンケート調査用紙
(資料-2) 生活習慣結果報告書

II. 分担研究報告

1. 脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースのプラットフォーム
化と分子疫学を機軸とした発症機序の解明に関する研究 ----- 9
峰松 一夫
2. 脳卒中の発症に関与する遺伝学的要因の解明に関する研究(その2) ---- 11
成富 博章
3. 虚血製心疾患の遺伝的要因に関する研究 ----- 15
野々木 宏
4. 虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースのプラットフォーム化と分子
疫学を基軸とした発症機序の解明に関する研究 ----- 17
北風 正史
5. 脳卒中および心筋梗塞感受性遺伝子に関する研究 ----- 19
宮田敏行
6. 心筋梗塞素因遺伝子に関する研究 ----- 22
岩井直温
7. 吹田市基本健診での質問票による既往歴調査 ----- 24
小谷 泰
8. 吹田市基本健診年齢と生活習慣に関する研究 ----- 30
川西克幸

9. 吹田市基本健診での生活習慣とメタボリック・シンドロームの関連に関する研究	32
岡山 明	
10. 循環器疾患の食事要因との関係に関する研究	40
小久保 喜弘	
11. 食生活簡易質問票の再現性と妥当性に関する研究	46
伊達 ちぐさ	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	55
IV. 研究成果の刊行物・別刷	61

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等総合研究事業）

総括研究報告書

脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースのプラットフォーム化と
分子疫学を基軸とした発症機序の解明に関する研究

主任研究者 友池仁暢 国立循環器病センター病院長

研究要旨：脳卒中と虚血性心疾患の発症機序に関連する生活習慣、健診・臨床情報、ゲノム多型情報をデータベース化しテラーメイド医療の基礎を作ることを目的としている。15年度に引き続き16年度も生活習慣の実態調査を都市住民対象に延べ7万2千名実施した。すべての年齢層で男女ともメタボリック・シンドロームと有意な関連を認めた項目は、「食べる量が多い」「早食い」「不規則な睡眠」であった。「立位・歩行状態1日3時間未満」は男性ではすべての年齢層で、女性では50-69歳、70-89歳で有意な関連を認め、メタボリック・シンドローム予防のための有効な生活習慣改善指導につながり得る。本研究で行った生活習慣アンケートが吹田市の基本健康診査の受診票に平成17年度から取り入れられるので、プラットフォームの役割が公的にも永続できることになった。また、循環器疾患の関連遺伝子検索として、頸部エコー検査と遺伝子多型との関連を検討した。合計117 SNPsで頸動脈エコーと関連が見られ、候補遺伝子多型とした。ホスホジエステラーゼ4D、血管系に作用する一酸化窒素合成酵素、酸化ストレスに関与するパラオキソネースやNADPH酸化酵素p22phox、高血圧関連の α -アデューシンやG蛋白 β 3サブユニットなど計16遺伝子、48多型のタイピングを施行した。Heme-oxygenase 1遺伝子のプロモーター領域のT(-413)A変異は機能変異であり、AA型で活性が高い。AA型を持つことが心筋梗塞の発症に対して防御的であることが観察された。ABCA1遺伝子のプロモーター領域の変異とHDLコレステロールレベルに相関があることが確認されるも、その寄与率は低く心筋梗塞の発症に影響を与える程のものではなかった。ApoA1領域に存在する変異8種類とHDLコレステロール値との関係を解析し、T84C変異とHDLコレステロールレベルの間に極めて強い関連性が認められた。またこの遺伝型の出現頻度は、都市住民と心筋梗塞患者群で異なっており、心筋梗塞の素因であると考えられた。

分担研究者：峰松一夫（国立循環器病センター・部長）、成富博章（国立循環器病センター・部長）、宮本亨（国立循環器病センター・部長）、野々木宏（国立循環器病センター・部長）、北風政史（国立循環器病センター・部長）、森崎隆幸（国立循環器病センター研究所・部長）、宮田敏行（国立循環器病センター研究所・部長）、花井荘太郎（国立循環器病センター・研究室長）、岩井直温（国立循環器病センター研究所・部長）、岡

山明（国立循環器病センター・部長）、小久保喜弘（国立循環器病センター・医師）、小谷泰（吹田市医師会・医師会長）、川西克幸（吹田市医師会・医師会理事）、伊達ちぐさ（武庫川女子大学・教授）

A. 研究目的

脳血管障害と虚血性心疾患を主病とする循環器病の外来患者数、入院患者数は共にながの倍以上であり、わが国の医療の最重要課題

となっている。近年、少子化とともに超高齢化が加速しており、循環器疾患に抜本的施策の立案は焦眉の問題である。健康日本 21 に示されていることであるが、今確立されるべき処方是一次予防である。具体的な生活習慣の改善指導が第一歩であることは世界的にも共通の認識である。近代化とともに各個人の生活習慣は多様化しており、予防においては医療以上に個人の特性に留意した指導が肝要である。本研究では、脳卒中と虚血性心疾患の発症機序の解明を目的とするが、その理由は両疾患が加齢と関係する動脈硬化性疾患でありながら発症の病態生理が著しく異なる背景は不明であること、成因に差があるとする各疾患に対する一次予防の具体的事項は当然差があるべきだと考えられるが、それらを明確に示したガイドラインは存在しない等である。両疾患の成立の差を知ることが予防法の確立に必要条件と考え、さらに、指導内容をより定量的かつ個別化できるように調査研究におけるデータベースのプラットフォーム化とデータマイニング法、バイオインフォーマティクス、システム・アナリシス等による系統的分析の二点を研究手法の要と位置づけた。また、本研究の個々のデータは個人情報と深く係わるので個人情報保護の立場からのセキュリティの確保と三省の倫理指針の遵守をインフォームド・コンセントの重要性と同列に扱った。

B. 研究方法

老健法に基づく健康診査実施時に受診案内とともに、プラットフォームの基礎データの 1 つである生活習慣アンケートを送付した。基本健診時に生活習慣アンケートを回収し、OCRによりデータ化して、受診者に結果報

告書を結果指導時に渡して個別指導の参考資料とした。さらに、アンケートの結果と健診との関係についての解析を行い、生活習慣項目の中で、どの項目が健診結果と関連があるのかを解析した。アンケート項目には、食事、身体活動、喫煙、飲酒等が含まれている。一方、循環器病センターを受診する急性期の脳卒中、心筋梗塞患者に対して、入院時と検査・治療時にインフォームド・コンセントを実施し、同意の得られた患者に対して生活習慣アンケート調査を実施した。患者本人からインフォームド・コンセントをとることが困難な場合、親族に説明し代諾者としての同意を求めた。国立循環器病センターに入院した急性期の脳卒中、心筋梗塞患者について、インフォームド・コンセントを得たのち、同意の得られた患者に生活習慣アンケート調査と遺伝子解析用の採血を行った。採血は 5 ml の EDTA 採血管を用い、遺伝子を抽出し、TaqMan 法を用いて遺伝子多型の解析を順次行った。

C. 研究結果

平成 16 年度は、以下のデータの収集と調査研究が行われた。

(1) 都市住民の生活習慣と疾患についての調査：吹田市の健診受診者全員に生活習慣アンケートを行った。健診案内と一緒に調査用紙を送付し、かかりつけ医受診時に回収した。総受診者 61,879 名のうち、33,297 名からアンケートの同意と回答を得ることが出来た。

心筋梗塞に対する脳梗塞の既往を有する頻度の比は 60 歳以降ではほぼ一定であり、男性で約 1.5 倍、女性で約 2 倍であった。高血圧の既往を有する者の割合は年齢層が高いほど

高かったが、高脂血症では、男性では50歳代、女性では60歳代をピークに高齢になると低下した。糖尿病では、男性では60歳代ピークに高齢では低下したが、女性では年齢層が高いほど高かった。更に、これらの情報はデータベース化し、基本健診データと合わせて市民全体の生活習慣（食事、身体活動、喫煙、飲酒、ストレス）と生活習慣病の関連について解析した。すべての年齢層で男女ともメタボリック・シンドロームと有意な関連を認めた項目は、「食べる量が多い」「早食い」「不規則な睡眠」であった。「立位・歩行状態1日3時間未満」は男性ではすべての年齢層で有意に関連していた。女性では50-69歳、70-89歳で有意な関連を認め、30-49歳ではその関連は傾向に止まった。

(2) 住民コホートの健診と遺伝子多型の調査：国立循環器病センターの定期的検診受診者を対象にインフォームド・コンセントを得たのち、頸部エコー検査所見と遺伝子多型との関係を調査した。頸部エコー検査所見は、平均IMT値、最大IMT値が1.1mm以上をプラーク有と定義し、25%以上狭窄を狭窄有と定義した。合計117SNPsで、頸動脈エコー所見と関連が見られ、循環器疾患の候補遺伝子多型とした。

心血管系疾患を持たない522名を対象に頸動脈肥厚度（IMT）と凝固系との関係を調べ、男性で血中の遊離型外因系凝固インヒビター（free TFPI）量とPAI-1量が独立してIMTに正の相関を示し、free TFPI量とPAI-1量は男性で初期の動脈硬化の指標になると考えられた。

(3) 脳卒中、心筋梗塞患者の生活習慣と遺伝子多型の調査：アイスランドの研究で脳梗塞との関連が指摘されているホスホジェス

テラーゼ4D、血管系に作用する一酸化窒素合成酵素、酸化ストレスに関与するパラオキソネースやNADPH酸化酵素p22phox、高血圧関連のα-アデューシンやG蛋白β3サブユニットなど計16遺伝子、48多型のタイピングを施行した。Heme-oxygenase 1遺伝子のプロモーター領域のT(-419)A変異は機能変異であり、AA型で活性が高い。AA型を持つことが心筋梗塞の発症に対して防御的であることが観察された。ABCA1遺伝子のプロモーター領域の変異とHDLコレステロールレベルに相関があることが確認されるも、その寄与率は低く心筋梗塞の発症に影響を与える程のものではなかった。ApoA1領域に存在する変異8種類とHDLコレステロール値との関係を解析し、T84C変異とHDLコレステロールレベルの間に極めて強い関連性が認められた。またこの遺伝型の出現頻度は、都市住民と心筋梗塞患者群で異なっており、心筋梗塞の素因であると考えられた。

D. 考察

本研究の特徴は脳血管障害と虚血性心疾患の病因差に着目したきめ細かな発症予防の確立にある。超高齢化社会においてこれらの疾患の予防法として、生活習慣の改善が一次予防としてクローズアップされている。有効な指導法の実現に個人の特性の考慮はこれから不可欠なものになると思われる。また、危険因子の数や種類は研究対象の母集団に依存するので、断面調査は今まで以上に定量的、かつ時代を反映したものにする必要がある。従って、調査研究におけるデータベースのプラットフォーム化は必須の課題である。

今回、本研究で行った生活習慣アンケートが吹田市の基本健康診査の受診票に取り込ま

れ、本研究のテーマであるプラットフォームの役割を公的にも果たせるようになったといえる。

本研究の後の発展性として、虚血性心疾患と脳血管障害について患者のデータベースと地域住民の検診・調査データベースを同じプラットフォームの上で作成したので臨床と地域疫学の知見を直接に対比させることが出来るようになった。それにより、地域住民に対応する断面研究と脳血管障害や虚血性心疾患患者に対応する症例対照研究を、臨床情報、生活習慣、遺伝子・分子情報について対比検討できるようになって今後の研究が更に発展性のあるものとなった。

E. 結論

都市住民の大規模アンケート調査を実施することにより、生活習慣病と関連が把握できる。これらの成績は、生活習慣病に対する生活指導を個人に具体的に示すことが可能である。生活習慣病に対する危険因子は時代と共に刻々と変化しているので、断面調査のみでは疾病発症の予知力としては限界がある。今回の大規模調査と従来の成績を連結することによって、今まで以上のテーラーメイド化が得られる。調査研究におけるデータベースのプラットフォーム化は疾病の発生と生活習慣とをつなぐ上で、必須の課題で欠かせぬものである。脳血管障害と虚血性心疾患の病因差に着目した発症予防の解明が、これまで行われていないのが現状であるので、このプラットフォーム化された土俵の上で、多数の脳卒中・虚血性心疾患の遺伝要因と生活習慣要因との関係を解析することにより、発症機序を分子レベルでも解明することが出来る。これらの成果は新しい解析法、予防法、有効な薬

剤等の開発に貢献できる。遺伝子要因と疾患との関連をシステム解析することにより、ゲノムデータによる疾病予測を定量化することが可能となる。

F. 健康危険情報

健康を害することは本研究ではないと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表：別紙参照
2. 学会発表：別紙参照

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

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

生活習慣アンケートご協力のお願い

国立循環器病センターでは、厚生労働省科学研究として、脳血管障害・虚血性心疾患の予防のために、生活習慣についての調査、解析を行うことになりました。つきましては以下のご同意いただければ、右側の同意書にご署名いただき、生活習慣に関する裏面のアンケート用紙をご持参いただきます。基本健康診査を受診されるときに、このアンケートにお答えください。

なお、基本健康診査を受診されるときに、このアンケートにお答えいただく必要はありません。ご同意いただけない方はこのアンケートに答える必要はありません。

1. 基本健康診査受診時に、生活習慣アンケートの調査に協力する

あなたが、日常している生活習慣についてお答えいただき、基本健康診査受診時にお持ちください。このアンケートにお答えくださったデータは、直ちに集計され、その結果を結果説明時にお返しいたします。今後の生活習慣改善のご参考にしてください。

※なお、このアンケートは、基本健診とセットとなっておりますので、後でご提出されたも、基本健診データとあわせて結果をお返しできなくなるとを予めご了承ください。

2. 個人情報(プライバシー)を保護するための取扱い

お答えいただいたアンケートの情報は個人情報ですので、他人に漏れないように、取り扱いを慎重に行います。アンケートの内容は、この研究を実施するにあたり個人を識別できないようにしたうえで(匿名化)、独立したコンピューターステムにより厳重に管理します。

3. 生活習慣アンケートと基本健康診査のデータをあわせた解析を行うこと

この生活習慣アンケートの結果は、今回受診いただきます基本健康診査のデータとあわせて解析し、結果をお返しいたします。皆様のアンケートと基本健康診査の結果は匿名化された形で、脳血管障害・虚血性心疾患の予防に役立てさせていただきます。

なお、本アンケートは、吹田市・吹田市医師会のご協力を得て実施します。

生活習慣アンケートに関する同意書

吹田市 善雄 様
吹田市医師会 長 阪口 善雄 様
国立循環器病センター病院 長 小谷 泰 様
友池 仁 暢 様

私は、生活習慣アンケートについて、以下の項目について理解いたしました。

1. 基本健康診査受診時に、生活習慣アンケートの調査に協力する。
2. 個人情報(プライバシー)を保護するための取扱い。
3. 生活習慣アンケートと基本健康診査のデータをあわせた解析を行うこと。
4. 調査結果全体の要約は公的媒体(学術雑誌を含む)を通じて公表する。

ついては、私は生活習慣アンケートの協力に関して

同意します。 同意しません。

(どちらかの□内に丸印(○)を入れてください)

平成 年 月 日

受診者名:

住 所: 吹田市

電話番号: ()

アンケートのご記入方法

良い例 悪い例

はみ出し うすい 取り消し

裏面に生活習慣のアンケートがあります。右側の記入方法に従ってアンケートにお答えください。受診当日このアンケート用紙も忘れずにご持参くださいますようお願いいたします。

生活習慣アンケート

記入方法:機械で読み取りますので、よくハッキリとわかくからはみ出さないように該当箇所にお鉛筆で○印をご記入ください。訂正の際には、消しゴムできれいに消してからご記入ください。

姓(カタカナ) _____ 名(カタカナ) _____ 性別 男性 女性 年齢 _____ 歳

(補足)「他の人より食べる量が多い」と思われる場合には□の中に○印をつけてください。当てはまらない場合には何も印をつけなくても構いません。

以下の質問で当てはまる場合そのワク内に○をご記入ください。

- 他の人より食べる量が多い
- 間食を日に3回以上する
- めん類の汁を飲む
- 味のついたおかずや漬物にしょうゆやソースをかける
- 牛乳は濃厚なものをよく飲む
- 外食(社食堂は除く、出前は含む)は月に1回以上する
- 出来合いのお惣菜、ご飯もの、弁当などを週1回以上食べる
- 揚げもの、炒めものを日に1回以上食べる
- 漬物や佃煮を週3回以上食べる
- 果物を日に1回以上食べる
- ばら肉、しもふり肉、ミンチ肉(ハンバーグを含む)を日に1回以上食べる
- ハム、ソーセージ、ベーコンを週に1回以上食べる
- 洋菓子(ケーキ、シュークリーム、クッキーなど)を月1回以上食べる
- 甘い飲料(砂糖を入れたコーヒー、紅茶を含む)を日に3回以上飲む
- 卵をほぼ毎日1個以上上たべる

- 夕食はいつ頃とりますか 午後7時以前 午後7~8時 午後8~9時 午後9時以降
- 欠食(食事をぬく)することがありますか はい とぎどき いいえ
- 食事をとるのがはやい(早食い)ですか はい いいえ どちらでもない
- ビタミン剤を利用していますか はい とぎどき いいえ
- 健康補助食品を利用していますか(サプリメント) はい とぎどき いいえ
- タバコを吸いますか 吸う 吸わない 禁煙した
- お酒を飲みますか 飲む 飲まない 禁酒した

- 一日のうちで、以下の状態は合計して平均どのくらいの時間ありますか。それぞれ1つずつ○印をつけてください。
- ・睡眠時間(昼寝を含む) 4時間未満 4時間台 5時間台 6時間台
 - 7時間台 8時間台 9時間台 10時間以上
 - ・立位・歩行状態 なし 1時間未満 1時間台 2時間台
 - 3時間台 4時間台 5時間台 6時間台 7時間以上
 - ・重い(10kg以上)肉体作業または持続できないような激しい作業状態 なし 数分程度 10分台 20分台 30分台
 - 40分台 50分台 60分台 70分台 80分以上

短い距離(徒歩10分)でも車を利用しますか。

- 利用する とぎどき利用する あまり利用しない 利用しない
- もしも、階段とエレベータの両方があり、3階程度の建物を昇るとしたら、階段を利用する割合はどのくらいですか。 8割以上 6-8割 4-6割 2-4割 2割未満
- 仕事以外で定期的に運動をしていますか。 している とぎどきしている あまりしていない していない
- 睡眠時間は規則正しいですか。 規則正しい だいたい規則正しい あまり規則正しくない 不規則
- 現在ストレスを感じていますか。 感じている とぎどき感じている あまり感じない 感じない

診断されたことがある、または治療中の病気をすべてに○印をつけてください。

- 高血圧 高脂血症 糖尿病 高尿酸血症・痛風
- 脳梗塞 脳出血・くも膜下出血 心筋梗塞 狭心症
- 不整脈 心不全 肝臓病 腎臓病
- 腫瘍

アンケートは以上です。お疲れ様でした。

以下の欄は健診の結果を医療機関の先生に記入していただきますので空欄のままにしておいてください。

収縮期血圧 _____ mmHg 拡張期血圧 _____ mmHg 身長 _____ cm 体重 _____ kg

食生活について

今回、食生活のアンケートに答えていただくことにより、食事からのエネルギー、脂質、食塩において過剰摂取であるかどうかの判定ができるようになっていきます。

身体活動について

日常生活の中で便利なものが増え、身体を動かす機会が少なくなってきました。運動不足になりがちな日ごろの生活の中で、健康を維持させるためには、意識して身体を動かすことが重要です。適切な運動が多くの生活習慣病の予防と治療に有効なことは、これまでの多くの疫学研究により明らかになってきています。また、適度な運動はストレスの発散にもなります。

今回、身体をどの程度動かしているか、その強さと時間とを掛け合わせたものの合計が総身体活動量として計算されます。これより、1日どれだけ身体を動かしているか定量的に評価しております。

食生活について

今回、食生活のアンケートに答えていただくことにより、食事からのエネルギー、脂質、食塩において過剰摂取であるかどうかの判定ができるようになっていきます。

身体活動について

日常生活の中で便利なものが増え、身体を動かす機会が少なくなってきました。運動不足になりがちな日ごろの生活の中で、健康を維持させるためには、意識して身体を動かすことが重要です。適切な運動が多くの生活習慣病の予防と治療に有効なことは、これまでの多くの疫学研究により明らかになってきています。また、適度な運動はストレスの発散にもなります。

今回、身体をどの程度動かしているか、その強さと時間とを掛け合わせたものの合計が総身体活動量として計算されます。これより、1日どれだけ身体を動かしているか定量的に評価しております。

生活習慣アンケート結果報告書

今回、提出されたアンケートに基づいて解析された結果報告書です。検査結果とあわせて、今後の生活習慣の改善に役立ててください。

国立循環器病センター

この報告書は2つ折にし、健康手帳にはさんでご利用ください。
お問い合わせは、受診された医療機関でお聞きください。

生活習慣アンケート結果報告書

今回、提出されたアンケートに基づいて解析された結果報告書です。検査結果とあわせて、今後の生活習慣の改善に役立ててください。

国立循環器病センター

この報告書は2つ折にし、健康手帳にはさんでご利用ください。
お問い合わせは、受診された医療機関でお聞きください。

受診日 平成 年 月 日

お名前 様 性別 年齢 歳

食事について

エネルギー摂取量

脂質摂取量

食塩摂取量

その他

身体活動について

睡眠について

運動について

1日の身体活動量の合計

| | | | |

座りがち 普通 活動的

ストレスについて

喫煙について

飲酒について

受診日 平成 年 月 日

お名前 様 性別 年齢 歳

食事について

エネルギー摂取量

脂質摂取量

食塩摂取量

その他

医療機関控え

身体活動について

睡眠について

運動について

1日の身体活動量の合計

| | | | |

座りがち 普通 活動的

ストレスについて

喫煙について

飲酒について

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等総合研究事業）

分担研究報告書

脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースのプラットフォーム化と分子疫学を
機軸とした発症機序の解明に関する研究

分担研究者 峰松 一夫 国立循環器病センター内科脳血管部門部長

研究要旨

発症 1 週間以内の脳血管障害患者を対象として、生活習慣アンケート調査と遺伝子解析のための血液採取を行った。2005 年 1 月までの登録症例は 115 例（一過性脳虚血発作 26 例，脳梗塞 73 例，脳出血 16 例）であった。過去の登録研究の報告に比べ，本研究の登録症例は軽症例が多いと考えられた。他の共同研究者と合わせて 500 例を越える脳卒中患者の登録が見込まれる。共同研究者により収集された地域住民および虚血性心疾患患者のデータを用いて，心血管疾患危険因子の関連遺伝子，および若年者脳卒中関連遺伝子などについて，生活習慣要因と合わせて解析を行う予定である。

A. 研究目的

脳卒中の発症機序を解明するため，生活習慣および遺伝子多型について，健常者や他疾患患者との比較研究を行う。

B. 研究方法

対象は，2003 年 11 月以降に国立循環器病センター内科脳血管部門に入院した，発症 1 週間以内の脳血管障害患者である。インフォームド・コンセントの得られた患者に対して，生活習慣アンケート調査と遺伝子解析のための血液採取を実施した。患者本人からインフォームド・コンセントを得ることが困難な場合，親族から取得した。来年度には共同研究者により収集された地域住民および虚血性心疾患患者のデータと合わせて，脳血管障害の遺伝的要因と生活習慣要因，およびその交互作用に関する症例対象研究を実施する予定である。2005 年 1 月時点における途中経過を報告する。

（倫理面への配慮）

説明を十分に行い，文書により同意を得た。遺伝情報と個人識別情報とを匿名化し，連結は情報管理者のみが可能となるように管理した。本研究は平成 14 年度に国立循環器病センター倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究成果

登録症例は 115 例であった。その内訳は，一過性脳虚血発作 26 例，脳梗塞 73 例，脳出血 16 例であった。このうち，現時点で脳卒中臨床病型が確定し，詳細な臨床データが得られている 93 例（年齢 68 ± 11 [41—91] 歳，男性 71%）についてみると，臨床病型別頻度は一過性脳虚血発作 19%，アテローム血栓性脳梗塞 14%，ラクナ梗塞 19%，心原性脳塞栓症 13%，その他の脳梗塞 18%，脳出血 16% であった。脳卒中家族歴のあるものは 32% であり，再発例は 27% であった。危険因子では高血圧が 84%，糖尿病 34%，心房細動 18%，高脂血症 38% であった。入院時 NIH Stroke Scale スコアの中央値は，一過性脳虚血発作が 1（0—17），脳梗塞が 3（0—26），脳出血が 5（0—19）であった。退院時 modified Rankin Scale スコアの中央値は，一過性脳虚血発作が 0（0—1），脳梗塞が 1（0—5），脳出血が 1（0—4）であり，3 以上の転帰不良例の割合はそれぞれ 0%，22%，27% であった。

D. 考察

本研究の登録症例を，これまでの当施設および本邦における急性期脳血管障害患者登録調査の報告と比較すると，本研究では一過性脳虚血発作の比率が多かった（Yokota C et al:

Cerebrovasc Dis 18: 111-116; 2004. Kimura K et al: Cerebrovasc Dis 18: 47-56; 2004). 脳梗塞の臨床病型別の頻度は、これまでの報告とほぼ同様と思われた。また、入院時 NIH Stroke Scale, 退院時 modified Rankin Scale とともに過去の報告よりスコアが低値であった。これらのことは、本研究の登録症例に軽症例が多いことを示しており、重症度により同意取得率が異なることが原因となっていると推定された。

共同研究者と合わせて 500 例を越える脳卒中患者の登録が見込まれ、心血管疾患危険因子の関連遺伝子、および若年者脳卒中関連遺伝子などについて、生活習慣要因と合わせて本格的な解析を行う予定である。

本研究により、脳卒中の発症機序を分子レベルで解明することができれば、新しい解析法、予防法、有効な薬剤等の開発に貢献できるものと期待される。

E. 結論

本研究は、脳卒中におけるテーラーメイド医療に貢献するものと思われた。今後の症例集積が必要である。

F. 健康危険情報：なし。

G. 研究発表

【英語論文】

1. Yokota C, Minematsu K, Hasegawa Y, Yamaguchi T: Long-term prognosis, by stroke Subtypes, after a first-ever stroke: A hospital-based study over a 20-year period. Cerebrovasc Dis 18: 111-116, 2004
2. Yasaka M, Ikeno K, Otsubo R, Oe H, Nagano K, Minematsu K: Right to left shunt evaluated at the aortic arch by contrast transesophageal echocardiography. J Ultrasound Med (in press)
3. Yasaka M, Otsubo R, Oe H, Minematsu K: Is stroke a paradoxical embolism in patients with patent foramen ovale? Intern Med in press

【日本語論文】

1. 峰松一夫：心原性脳塞栓症の診断と治療. 脳卒中 25: 413-417, 2004
 2. 大槻俊輔：基礎疾患からみた不整脈の病態と治療の実際. 脳血管障害. Medical Practice 21:1535-1544, 2004
 3. 大坪亮一、峰松一夫：虚血性脳卒中中の急性期治療. medicina 41: 961-963, 2004
- H. 知的財産権の出願・登録状況：なし

厚生労働科学研究費（循環器疾患等総合研究事業）
脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースの
プラットフォーム化と分子疫学を基軸とした発症機序の解明に関する研究

脳卒中の発症に関与する遺伝学的要因の解明に関する研究、その2

分担研究者 成富 博章 国立循環器病センター
研究協力者 宮下 光太郎 国立循環器病センター

研究要旨：平成15年11月～平成17年2月、国立循環器病センター脳内科A、Bの2部門に脳血管障害で入院しICのための説明を行った患者で同意を得たのは各々176、183名、合計359名であり、目標数の4割数弱であった。しかも匿名化作業に要する期間の数ヶ月分がそれより少なくなると見込まれ、検体数がさらに小さくなると予想されるため、本年度中の遺伝子解析を断念した。その際の解析シミュレーションの一環として、NOS遺伝子多型と頸動脈エコー検査所見による動脈硬化病変の関連について当センター予防検診部を受信した吹田市一般住民三千名余を対象に検討した。3種類のNOS関連遺伝子のうち検索しえた11箇所の中で男性ではnNOS(JST138578-AG)、nNOS(RS293044-GT)、iNOS(JST052092-CA)、eNOS(T-786C)の4箇所、女性ではnNOS(RS293044-GT)、iNOS2(RS2297518-GA)、eNOS(Glu298Asp)の3箇所が、頸部エコー上のなんらかの測定指標と関連性を有することが示され、NOS遺伝子変異は重要な脳卒中関連候補遺伝子と考えられた。

A.研究目的

欧米にくらべ我が国に多い脳卒中の外的および内的（遺伝的）要因を明らかにすべく発足した本研究であるが、H14年度は脳卒中入院患者の臨床病型（脳出血、脳梗塞（ラクナ、心原性塞栓症、アテローム血栓性梗塞など）、一過性脳虚血発作など）、危険因子（高血圧、糖尿病、高コレステロール血症など）、嗜好（喫煙、飲酒）などについてのデータベースの構築について報告した。H15年度には、遺伝的素因を明らかにするための血液検体採取の方法の確立と検索すべき遺伝子の種類について報告した。本年度は検体採取を引き続き施行し1000件程度になった時点で候補遺伝子の多型解析を行い、脳卒中に関連する遺伝子とそれらの交互作用を明らかにすることを年度当初には目標と考えた。

B.研究方法

H15年11月に開始された検体採取を引き続き行った。その概要は昨年報告書に述べたが、概容は以下の通りである。脳卒中急性期の入院患者を対象とし、リサーチナースによるinformed consent (IC)のもと文書による同意を患者（患者本人から得られない場合には家族）より取得して遺伝子検索のための採血を行った。採血された検体は匿名化の後、国立循環器病センター研究所病因部（宮田部長）において遺伝子解析する方式とした。なお、経費と解析効率を最大とするため約1000検体

集まった時点で処理する方針とした。

（倫理面への配慮）

患者血液の遺伝子検索に関しては当院の倫理審査委員会で承認を受けており、その手順を遵守する限りにおいては特段の問題はないと考える。

C.研究結果

平成15年11月下旬より平成17年2月までの間、国立循環器病センター脳内科A、Bの2部門に脳血管障害で入院しICのための説明を行った患者は各々191、196名で、同意を得たのは各々176、183名、合計359名であり、目標数の半数弱であった。病型の内訳では、脳梗塞211名、脳出血47名、一過性脳虚血発作37名であり、ここで遺伝子解析を行っても統計学的に十分意義ある結果を得ることは困難と判断し、今年度中の解析を断念した。

そこで、予防検診部 小久保喜弘医師と協議し、当センター予防検診部で既に実施している遺伝子診断・治療臨床研究の一環である症例対照研究のデータ解析を試みた。具体的には、吹田市一般住民の遺伝子多型解析結果および健診で得られた頸動脈エコー結果の一部よりNO合成酵素(NOS)多型と頸動脈硬化病変の関連について解析したので、その結果を述べる。なお、NOSには代表的な3種類が知られており、これまでも脳卒中と関連する候補遺伝子とされているが必ずしも詳細は明らかでないため、今回

検討を行った。具体的には、当センター集団検診部を受診した吹田市住民を性年齢階層別に無作為に抽出し、倫理委員会で承認された研究計画書に基づいて行われた説明に同意の得られた3655名を対象とした。頸動脈エコーで内頸動脈の最大および平均IMT(Intimal-Medial wall Thickness: 肉膜中膜複合体)、プラークスコア、50%以上狭窄の有無、プラーク($\geq 1.1\text{mm}$)の有無を評価した。遺伝子は血液サンプルより抽出しTagMan法で多型を同定した。その結果、neuronal NOS (nNOS), inducible NOS (iNOS), endothelial NOS (eNOS)のうち同定された一塩基多型は、それぞれ3、3、5箇所、計11箇所であった。具体的にはnNOSがJST138578-AG, RS2293044-GT, RS3741475-GA、iNOSがJST052092-CA, RS1137933-GA, RS2297518-GA、eNOSがJST005511-AG, JST117269-TG, JST117271-CT, Glu298Asp, T-786Cである。nNOS(JST138578-AG)において、平均IMT、プラークスコアはAA型がAG+GG型に比べいづれも男性で各々0.03mm、0.94mm有意に低かった($P=0.0011, 0.001$)。nNOS(RS293044-GT)では、最大IMTはGG型がGT+TT型に比べ女性で0.07mm低値であった($P=0.0359$)。また、50%以上狭窄を有する頻度はGG+GT型がTT型より男性で有意に高かった(OR 8.11(95%CI:1.68-39.25), $P=0.0092$)。iNOS(JST052092-CA)では、プラークを有する頻度はCC+CA型がAA型に比べ男性で有意に低かった(OR 0.51(95%CI: 0.26-1.00, $P=0.0492$)。iNOS2(RS2297518-GA)では、平均IMTはAA型がGG+GA型に比べ女性で0.12mm有意に低値であった($P=0.02$)。またeNOS(Glu298Asp)では、平均IMT、プラークスコアがGG+GA型はAA型に比べいづれも女性で各々0.02mm、0.5mm有意に高かった($P=0.0086, 0.0243$)。eNOS(T-786C)においては、最大IMT、平均IMTがTT+TC型はCC型に比べいづれも男性で各々0.07mm、0.01mm有意に高かった($P=0.0411, 0.0386$)。以上をまとめると、NOS多型11箇所のうち6箇所が頸動脈硬化病変と有意な相関を示し、しかも性差を認めた。

D. 考案

平成15年下旬に開始された脳卒中患者からの検体採取は開始後月に20数名平均で施行されたが、平成16年度末の2月下旬までに目標数の4割弱に留まった。しかも匿名化作業に要する期間が通常数ヶ月を要しその期間の検体数が減るため、目標数をさらに下回る結果とな

ることが予想された。以上のことから今年度中の患者を対象とした遺伝子解析は断念した。しかしながら、今後も引き続き検体採取を継続し、平成18年中には目標の約一千例に達することを目論んでいる。その上で、各種候補遺伝子の多型解析をいっしょに行うことが解析の時間的、経済的効率を最大にする手段と考えられ、それにより大きな成果が得られるものと期待される。

その際の解析シミュレーションの一環として、NOS遺伝子多型と頸動脈エコー検査所見による動脈硬化病変の関連について当センター予防検診部を受診した吹田市一般住民を対象に検討した。結果から明らかなように、3種類のNOS関連遺伝子の中の検索しえた11箇所の中で男性ではnNOS(JST138578-AG)、nNOS(RS293044-GT)、iNOS(JST052092-CA)、eNOS(T-786C)の4箇所、女性ではnNOS(RS293044-GT)、iNOS2(RS2297518-GA)、eNOS(Glu298Asp)の3箇所が、頸部エコー上のなんらかの測定指標と関連性を有することが示された。従来、eNOS(Glu298Asp)の多型が頸動脈の動脈硬化との関連性が指摘されてきた。Glu298AspはeNOS遺伝子exon7の点変異であり、頸動脈IMT肥厚を有する群でAsp298をhomozygoteとして持つ例が多く、carotid plaqueを有する危険性が、Asp298をheterozygoteとして持つ群に比べ約3倍であり、他の危険因子とは独立した因子とみなされたとの報告がみられる(Stroke 2001;32:735-740)。今回の我々の検討では、女性においてAsp298 heterozygoteではそれ以外の型に比べ平均IMTおよびプラークスコアの値が低く、動脈硬化に対してはやや抑制的な作用を有することが示唆され、この報告とは異なっていた。また、この部位の変異は脳梗塞との関連性を示唆する報告(Stroke 2000;31:1634-1639)と否定的な報告(Neurology 1999;53:418-420)のいずれも見られ未だ結論は見出せない。さらに、これ以外のNOS関連遺伝子多型についてはあまり報告がなく今後の検討課題である。

白人種を対象とした虚血性脳卒中における遺伝解析のmeta-analysisによると、報告例数が十分で統計的に有意な関連のある遺伝子変異としては、factor V Leiden Arg506Gln, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, prothrombin G20210A, angiotensin-converting enzyme insertion/deletionであるが、いずれも単独で脳卒中発症に関連するとは言えず、外的要因ないし複数の候補遺伝子変異の交互作用が

関与すると結論されている (Arch Neurol 2004;61:1652-1662)。多数例で検討されてきたが関連性が見出せなかったものとしては、factor XIII, apolipoprotein E, human platelet antigen type 1 があり、eNOS, plasminogen activator inhibitor 1 など他の多くの変異は十分な検討例数に達せず関連性に関しては未解決である。さらに、日本人を含めた黄色人種での多数例での検討は未だなく、今後目標数まで継続して検体を確保集積し検索をおこなって、脳卒中関連遺伝子変異を明らかとし、男女差や人種差についても検討していきたいと考えている。

E. 結論

平成 15 年 11 月～平成 16 年 2 月の間の集積検体数は約 350 例で目標数の 4 割弱に留まり、今年度中の患者を対象とした遺伝子解析は断念した。今後も引き続き検体採取を継続し平成 18 年中に目標の約一千例に達した上で、各種候補遺伝子の多型解析を行い脳卒中関連遺伝子変異を明らかにしたい。

その際の解析シミュレーションの一環として、NOS 遺伝子多型と頸動脈エコー検査所見による動脈硬化病変の関連について当センター予防検診部を受信した吹田市一般住民を対象に検討した。

NOS 多型 11 箇所のうち 6 箇所が頸動脈硬化病変と有意な相関を示し、しかも性差を認めたことから、NOS 遺伝子変異は重要な脳卒中関連候補遺伝子と考えられた。

F. 健康危険情報

特に無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

【英語論文】 11 編

- 1) Todo K, Moriwaki H, Higashi M, Kimura K, Naritomi H: A small pulmonary arteriovenous malformation as a cause of recurrent brain embolism. *AJNR* 25:428-430, 2004
- 2) Moriwaki H, Uno H, Nagakane Y, Hayashida K, Miyashita K, Naritomi H: Losartan, an angiotensin II (AT1) receptor antagonist, preserves the cerebral blood flow in hypertensive patients with a history of stroke. *J Human Hypert* 18:693-699, 2004.
- 3) Saito K, Kimura K, Nagatsuka K, Nagano K, Minematsu K, Naritomi H: Vertebral artery occlusion in carotid duplex color-coded ultrasonography. *Stroke* 35:1068-1072, 2004
- 4) Taguchi A, Soma T, Tanaka H, Kanda T, Nishimura H, Yoshikawa H, Tsukamoto Y, Iso H, Stern DM, Naritomi H, Matsuyama T: Administration of CD34+ cells post-stroke enhances angiogenesis and neurogenesis in a murine model. *J Clin Invest* 114:330-338, 2004
- 5) Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, Hayashi T, Hayashida K, Nagatsuka K, Todo K, Mori K, Stern D, Soma T, Naritomi H: Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* 109:2972-2975, 2004
- 6) Oe H, Kandori A, Miyashita T, Ogata K, Yamada N, Tsukada K, Miyashita K, Sakoda S, Naritomi H: Prolonged interhemispheric neural conduction time evaluated by auditory-evoked magnetic signal and cognitive deterioration in elderly subjects with unstable gait and dizzy sensation. *Intern Congr Ser* 1270:177-180, 2004
- 7) Kandori A, Yokoe M, Sakoda S, Abe K, Miyashita T, Oe H, Naritomi H, Ogata K, Tsukada K: Quantitative magnetic detection of finger movements in patients with Parkinson's disease. *Neurosci Res* 49:253-260, 2004.
- 8) Takada T, Yasaka M, Minematsu K, Naritomi H, Yamaguchi T: Predictors of clinical outcome in patients receiving local intra-arterial thrombolysis without subsequent symptomatic intracranial hemorrhage against acute middle cerebral artery occlusion. *AJNR* 25:1796-1801, 2004
- 9) Ogata T, Kimura K, Nakajima M, Ikeno K, Naritomi H, Minematsu K: Transcranial color-coded real-time sonographic criteria for occlusion of the middle cerebral artery in acute ischemic stroke. *AJNR* 25:1680-1684, 2004
- 10) Hiroki M, Miyashita K, Oe H, Takaya S, Hirai S, Fukuyama H: Link between linear hyperintensity objects in cerebral white matter and hypertensive intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis* 18:166-173, 2004
- 11) Kakuda W, Shimizu T, Naritomi H: Hypothermia therapy: Future directions in research and clinical practice. In Maier CM, Steinberg GK (eds) *Hypothermia and Cerebral Ischemia, Mechanisms and Clinical*

Applications, Humana Press, Totowa, New Jersey, pp161-177, 2004

【日本語論文】 7編

- 1) 永野恵子、大坪亮一、矢坂正弘、梶本勝文、大江洋史、長束一行、成富博章：卵円孔開存を有する脳塞栓症患者の再発に関する研究—超音波診断による深部静脈血栓との関連から—。臨床神経 44: 7-13, 2004
- 2) 玄富翰、森脇博、来真希子、林田孝平、成富博章：三次元的表面投射法(3D-SSP)を用いたSPECT が病巣部位の検出に有用であった急性期脳梗塞の一例。臨床神経 44:626-629, 2004
- 3) 来真希子、宮下光太郎、大江洋史、西上和宏、成富博章：Buerger 病に合併した若年性脳梗塞の一例。臨床神経 44:522-526, 2004
- 4) 宮下光太郎：脳卒中合併症のある高血圧の治療。循環制御 25: 114-123, 2004.6
- 5) 宮下光太郎、成富博章：1章、総論 病型とストロークスケール。脳神経外科学体系 9: 18-31, 閉塞性脳血管障害：橋本信夫編、中山書店、東京、2004.
- 6) 石橋靖宏、成富博章：脳静脈洞血栓症の病態と治療。血栓と循環 12: 98-102, 2004.
- 7) 成富博章：脳血管障害を合併した高血圧における All 受容体拮抗薬の治療戦略の根拠は何か。AII 受容体拮抗薬のすべて第3版、先端医学社、萩原俊男、菊池健次郎、猿田亨男、島本和明、日和田邦夫、宮崎瑞男編集：193-198, 2004.3月

2.学発表会

- 1) Oe H, Kandori A, Miyashita T, Ogata K, Yamada N, Tsukada K, Miyashita K, Sakoda S, Naritomi H: Prolonged interhemispheric neural conduction time evaluated by auditory-evoked magnetic signal and cognitive deterioration in elderly subjects with unstable gait and dizzy sensation. 15th Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography. April 11-14, 2004(Chiba, Japan)
- 2) Moriwaki H, Kajimoto K, Yamada N, Hyashida K, Miyashita K, Naritomi H: Follow-up study of perfusion-weighted MRI in chronic carotid artery occlusion: comparison with PET values. 29th International Stroke Conference, February

5-7, 2004 (San Diego, USA)

- 3) Todo K, Moriwaki H, Naritomi H: Early CT changes in patients who notice stroke on awakening. 29th International Stroke Conference, February 5-7, 2004 (San Diego, USA)
- 4) Yamada K, Moriwaki H, Oe H, Yamawaki T, Nagatsuka K, Oomura M, Todo K, Miyashita K, Naritomi H: The feasibility and safety of mild brain hypothermia with local surface cooling in acute stroke. 29th International Stroke Conference, February 5-7, 2004 (San Diego, USA)

H.知的財産権の出願・登録状況
特に無い。

厚生労働科学研究費（循環器疾患等総合研究事業）
脳卒中・虚血性心疾患臨床と地域疫学のデータベースのプラットフォーム化
と分子疫学を基軸とした発症機序の解明に関する研究
分担研究報告書

虚血製心疾患の遺伝要因に関する研究

分担研究者 野々木 宏 国立循環器病センター心臓血管内科
研究協力者 野口 輝夫 国立循環器病センター心臓血管内科

研究要旨：虚血性心疾患の発症機序の解明に系統的に解析し、疾患発症の高リスク者に対する生活習慣改善の具体的な指導のための基本原理を見だし、より効果的かつ定量的な予防のための質の高いテーラーメイド医療を目指すことを目的とする。質の高い臨床情報と遺伝型との解析により循環器疾患の素因遺伝子の同定を試みた。

A. 研究目的

虚血性心疾患の発症機序の解明を、データマイニング法、バイオインフォマティクス、システム・アナリシスの多次元から系統的に行い、

B. 研究方法

虚血性心疾患の患者に説明と同意を行い、質の高い臨床情報(生活習慣情報を含む)の収集とデータベース化を行った。これらと遺伝型の分散分析をすることにより循環器疾患の素因遺伝子の同定も行った。虚血性心疾患合併患者の臨床情報として以下の項目との関連を調査した。(項目総数:130)冠動脈危険因子(高血圧、糖尿病、喫煙、肥満、高脂血症)合併の有無、虚血性心疾患との関係(PTCA,ステント、CABG など)、運動耐容能との関係(CPX の諸データ)、予後との関係(入院歴など)、リモデリングとの関係(心カテ、UCG)、生理活性物質との関係(BNP, CNP, angiotensinII など)、再狭窄との関係(投薬、QCA 関連項目)、心エコーによる心室径(超音波診断装置を随用する)、安静時代謝量(呼吸ガス代謝モニターを使用する)、冠動脈造影像(画像表示装置を使用する)、呼吸中枢機能(携

用パルスオキシメーターを使用する)

C. 研究結果

我々はこれまで以下に示す研究成果を発表してきた。1) 日本人の心筋梗塞の発症に有意に関与する遺伝子多型として、Aldehyde dehydrogenase 2およびGP VIが新たに同定された。一方、欧米で報告されているAngiotensin converting enzymeおよびEndothelial nitric oxideの遺伝子多型は日本人の心筋梗塞の発症には関与せず、またABCA1の遺伝子多型は血中HDL cholesterol値とは関連せず、欧米人と日本人では疾患の発症に関わる遺伝子多型が異なることが示唆された。また、2) 日本人の心筋梗塞の発症に lymphotoxin-alfa (LTA) 遺伝子の遺伝子多型が有意に関与していること。第2にconnexin37の遺伝型が心筋梗塞の発症に影響を与えていることが確認された。本年度は、臨床症状のデータベースから、冠攣縮性狭心症と血管の炎症反応(高感度GRP、IL-6)の関連を示唆する結果を得た。

D. 考察および結論

今後もさらに冠攣縮性狭心症と炎症反応との