

を義務付けているヘルシンキ宣言の精神に沿うようにしなければならない。

2004年(平成16年)に米国で製薬企業が臨床試験結果を隠していた疑いで告訴された。この一件をきっかけに臨床試験の登録制度に関する注目が高まり、2004年9月、New England Journal of Medicine誌、Lancet誌、JAMA誌などからなる国際医学雑誌編集者委員会(ICMJE)が、論文掲載の条件として臨床試験の登録を求める共同声明を発表し、2005年7月に実施された。

分担研究者は、「臨床試験の登録と公開—医療機関の視点から—」と題した論文を臨床評価誌に発表し、院内・院外で研究会を開催するとともに、JAPIC(日本医薬情報センター)による登録システムの構築に際して、準備委員として貢献した。

研究者は、なぜ登録するのか、どの試験を登録するか、いつ登録するか、何を登録するか、いつ更新するか、何をいつ公開するか、誰が登録システムを運営するか、どのようにコンプライアンスを確保するかを確認し、患者、被験者、医療従事者、医学雑誌、学会・公的研究機関、研究資金提供者、医療保険、規制当局、そして登録システム等の各関係者と連携することが重要である。

・ (2)ARO (Academic Research Organization) の整備

臨床試験の実施にあたっては、科学性・倫理性・信頼性を向上しつつスピード・質・コストを改善するために、計画、実施、解析の各段階を支援するシステム作りが重要である。

我が国では治験空洞化への対応として医療機関におけるSMO(Site Management Organization)的業務、すなわち治験事務局・治験審査委員会事務局の整備に重点がおかれてきた。それにより、諸規程・手順書整備や記録保存、IRBの事務局機能が強化されつつある。しかしながら、治験責任医師業務の責務であるインフォームド・コンセント、プロトコル遵守、症例報告書作成等を支援する治験協力者としての治験コーディネーター(CRC)の絶

対数は不足しており、薬事法上治験として扱われないもの(いわゆる自主研究)についてはその支援体制はまだまだ不備が多く、結果的に必要症例数が満たせない場合が多く、データの欠測や転記ミス等も後を絶たない。

分担研究者は、CRCや治験責任医師、治験事務局を対象としたセミナー、ワークショップを通じて、臨床研究の支援体制構築に向けた活動を続けている。

治験とは薬事法で定義された「医薬品および医療機器の承認申請を目的として実施される臨床試験の一部」に過ぎない。近年、我が国でも医師主導型の治験や自主臨床試験、疫学研究や外科治療、放射線療法、生活習慣改善も視野に入れた一次予防、二次予防試験など、承認申請を目的としない臨床試験(GEANE研究もこれに該当する)の必要性に関心が高まりつつある。今後、利益相反に配慮しつつ、公的研究費、企業主導型治験、あるいは財団やNPO法人などの中立的機関による支援のバランスを取ることが重要と考えられる。

海外では、臨床研究の計画・調整管理を支援する組織として、ARO(Academic Research Organization)が急成長しつつある。GEANE研究はクロスオーバー試験としてデザインされているが、試験の計画段階や解析段階から、バイアスの軽減、精度向上や一般可能性の検討のため、生物統計家の関与が重要である。また、ランダム化比較試験の場合には、独立データ安全性評価委員会(DSMB)を設置するとともに試験中あるいは国内外からの安全性情報(有害事象報告、研究報告、規制当局の措置など)の収集・検討に努め、被験者保護のための組織や業務手順書(SOP)が必要となる。多施設共同試験では、症例登録を促進し、プロトコル遵守やデータの品質保証のために、施設訪問や電話紹介、医師・CRCのミーティングが必要であり、AROのデータ・マネージャーが重要な役割を果たす。

分担研究者は、AROとして質・量ともに世界有数の実績を誇るDuke大学の臨床研

究センターと連携し、国際共同同時試験の計画・実施を視野に入れた「Harmonization by Doing」という活動を開始した。平成17年度は、各学会の学術集会の機会を利用して、日米で厚生労働省や米国 FDA を交えた産学官のタウンホール・ミーティングを開催した。

D. 考察

ゲノム時代を迎え、診断や治療にパラダイム・シフトが始まった。技術のシーズを臨床のニーズと結びつけるためのトランスレーショナル研究が注目されているが、医師主導型の治験あるいは臨床試験は、逆に臨床のニーズからアプローチすることに価値があり、高血圧、糖尿病等の生活習慣病について、臨床家からの貢献が期待されている。

一方、ゲノム時代の幕開けは、個人や社会に対して新たな問題を提起している。倫理面では、診断が先行し、予防・治療の開発が遅れた場合、健康保険、生命保険、就職、結婚などで遺伝的素因による差別を受ける懸念が指摘されている。

GEANE 研究の対象である高血圧症は一般人口の15~20%が罹患し、臓器合併症や生命予後の改善が急務とされている。双生児研究や家系解析の結果、血圧、食塩感受性、ストレス応答などについて、遺伝素因の存在が示唆されている。多因子疾患の病態解明は困難であるが期待も高い。

レニン-アンジオテンシン系や交感神経系などの生理的機序に基づく解析、SHR、Dahl 食塩感受性ラット、Milan 高血圧ラットなどのモデル動物のゲノム研究、そして全ゲノムスキャン・プロジェクトなどが進みつつあるが、本態性高血圧症としてひとくくりにされている疾患概念や、薬剤感受性に個人差が示唆されている場合を検討し、オーダーメイド医療の実現へつなげることが期待されている。

我が国ではいわゆる治験の空洞化が懸念されているが、薬事法上の治験にのみ限ることなく、疫学研究、症例報告、後ろ向き調査、前向き登録、そして介入試

験等の種々の方法論をバランスよく推進しなければ意味がない。

今後、多施設共同試験の実施という観点から、公的臨床研究費に加えて企業による治験および市販後臨床試験や、財団・NPO 等による研究費が増加するとともに、医療機関側でもそれを受けるためのSMO 的組織や ARO 的組織を整備することが重要である。その際、治験届の数のみを指標にすることなく、臨床試験研究の成果である日本発のエビデンスがどれだけ世界に発信されたかを指標することが重要である。

現在、GEANE 研究で培った臨床研究の科学性、倫理性、信頼性を高めるシステムを活かし、ゲノム時代に対応した質の高い臨床試験を引き続き実施するための準備を進めている。

E. 結論

循環器領域における生活習慣病や Common Disease に対して、質の高い大規模臨床試験実施体制の確立が求められている。

分担研究者らは、高血圧の至適治療に関する大規模臨床研究 (GEANE 研究) の一環として、研究組織構築および研究実施計画書作成の補助、2年目に各医療機関への支援 (SMO 的業務) を進め、更に国際共同試験の実施やゲノム情報を含めたトランスレーショナル研究の実施を通じ、日本から世界にエビデンスを発信すべく研究を続けたい。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, Noguchi T, Sase K, Kihara Y, Goto Y, Nonogi H. B-Type Natriuretic Peptide Strongly Reflects Diastolic Wall Stress in Patients with Chronic Heart Failure. J Am Coll Cardiol 2006;47:742-748.

- 2) Otsuka Y, Nakamura M, Yasuda S, Kozuma K, Hara H, Morii I, Kawamura A, Sase K, Miyazaki S. Comparison of Pharmacokinetics of the Sirolimus-Eluting Stent in Japanese Patients with Those in American Patients. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 468-473.
- 3) 佐瀬一洋 Common Disease の遺伝子診断. *JIM*. 14; 118-123: 2004
- 4) 佐瀬一洋、土井香、嘉田晃子. 臨床試験の登録と公開－医療機関の視点から－臨床評価. 2005; 32: 25-36.
- 5) 佐瀬一洋、米本直裕、戸高浩司. 予測予防対応型の医薬品安全監視計画－国際化時代の市販後安全性対策と臨床医の役割－. *薬理と治療*. 2005;33:(in press).
- 6) 佐瀬一洋、角地祐幸、野々木宏. 心原性心停止への挑戦－救急システムの改善・ITの利用－. *Heart View*. 2005;9: (in press).
- 7) 佐瀬一洋. わが国における次世代医療機器開発の問題と対策. *分子心血管病*. 2006;7: 49-56.
- 8) 佐瀬一洋. 副作用を疑う手がかりと診断. *JIM*. 2006;16: (in press)
- 9) 佐瀬一洋. 医療の質向上と臨床試験. 国際化時代における医療機器治験の重要性－*Clinical Engineering*. 2006;17:215-224.
2. 学会・シンポジウム
- 1) Iwanaga, Y, Nishi, I, Kihara, Y, Sase K et al. B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: Comparison between systolic and diastolic heart failure *CIRCULATION* 112 (17): U817-U817 3511 Suppl. 2 OCT 25 2005 (Scientific Sessions 2005, American Heart Association. November 13-16, Dallas, USA)
- 2) Kajino, K, Iwami, T, Shimizu, K, Sase K et al. The effect of bystander initiated chest compression-only CPR on cardiac arrest of non-cardiac etiology *CIRCULATION* 112 (17): U1183-U1184 22 Suppl. 2 OCT 25 2005 (Resuscitation Science Symposium 2005, American Heart Association. November 11-12, Dallas, USA)
- 3) Iwami, T, Sase, K, Kakuchi, H, et al. Efficacy of bystander initiated chest compression-only cardiopulmonary resuscitation on ventricular fibrillation as initial rhythm in patients with out-of-hospital cardiac arrest; A large-scale population-based cohort study in Osaka, Japan *CIRCULATION* 112 (17): U1189-U1189 50 Suppl. 2 OCT 25 2005 (Resuscitation Science Symposium 2005, American Heart Association. November 11-12, Dallas, USA)
- 4) Iwami, T, Sase, K, Kakuchi, H, et al. Outcome of out-of-hospital cardiac arrest in a large metropolitan area in Japan: A 6-year emergency medical services perspective *CIRCULATION* 112 (17): U1198-U1198 93 Suppl. 2 OCT 25 2005 (Resuscitation Science Symposium 2005, American Heart Association. November 11-12, Dallas, USA)
- 5) 佐瀬一洋. Harmonization By Doing. 臨床研究のインフラストラクチャーと医師の役割. ワークショップ2: タウンホールミーティング (新しいデバイスをいち早く日本へ). 第14回日本心血管インターベンション学会 (東京). 平成17年6月16日.
- 6) 佐瀬一洋. メイド・イン・ジャパン. 日本における臨床研究のインフラストラクチャー. シンポジウム7: 創薬の現状と展望. 第37回日本動脈硬化学会総会 (東京). 平成17年7月14日.
- 7) Sase K. Harmonization By Doing. Research Infrastructure for Clinical Investigators. Town Hall Meeting. 5th Annual Meeting of the Japanese Association of Cardiovascular Catheter Therapeutics. (Gifu). August 25, 2005.

8) 佐瀬一洋. 医療機関からみた医薬品開発と今後の展望. 市販後の安全性確保とファーマコビジランス. 日本病院薬剤師学会関東ブロック第35回学術大会(幕張). 平成17年8月28日.

9) Sase K. Harmonization By Doing. Research Infrastructure for Clinical Investigators. Government Approval Process for International Devices in China, Japan, and USA. CCT2005 (Kobe). September 28, 2005.

10) 佐瀬一洋、角地祐幸、野々木宏. 救急医療とモバイル・テレメディシン. From Bench to Bedside. 第33回日本救急医学会総会・学術集会. (大宮). 平成17年10月28日.

11) Sase K. Roles of principal investigators, coordinators, and professional societies. Symposium on International Harmonization of Clinical Research for Medical Devices. The 19th Annual Meeting of Japanese Coronary Association (Osaka, Japan), December 10, 2005.

12) 長く生きたい・良く生きたい-実践と調和. 鎌倉ライブ市民公開講座. NPO International TRI Network. (横浜) December 15, 2005

13) 石見拓、角地祐幸、佐瀬一洋、野々木宏ほか. Outcomes of Witnessed Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Osaka: A 6-year Emergency Medical Services Perspective (J-PULSE Study) Emergency care-2, OJ-277. 第70回日本循環器学会(名古屋). 平成18年3月26日.

14) 佐瀬一洋. Harmonization By Doing. - Harmonization of Clinical Investigation and Research Infrastructure in Japan -第70回日本循環器学会(名古屋). 平成18年3月25日.

15) 佐瀬一洋. 医療機器治験と医師主導治験. 利益相反問題と適切な産学官連携. 第4回臨床研究セミナー. 第107回日本外科学会(東京). 平成18年3月31日.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特許取得・実用新案登録 なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

遺伝子多型検索による高血圧個別化診療の確立に関する研究
—アンジオテンシン受容体拮抗薬の効果と遺伝子多型—

分担研究者 宮田 敏行 国立循環器病センター研究所 病因部 部長

研究要旨:アンジオテンシン受容体拮抗薬 ARB は、CYP2C9 により分解される。ARB の降圧効果に関連する遺伝子多型を明らかにする目的で、日本人 380 名の CYP2C9 をシーケンスし、変異を同定した。

A. 研究目的

アンジオテンシン受容体拮抗薬 ARB は、高血圧患者に広く用いられる降圧薬である。本研究では ARB の代謝にかかわる CYP2C9 (cytochrome P450, family 2 subfamily C, polypeptide 9, 染色領域 10q24) の遺伝子多型の収集を行った。

B. 研究方法

国立循環器病センター腎・高血圧部門が収集した主に高血圧を呈する患者の染色体 DNA を用いて、CYP2C9 遺伝子のプロモーター領域及び全エクソンの塩基配列の決定を行った。即ち、染色体 DNA の CYP2C9 の各領域を PCR にて増幅し、アプライドバイオシステムズ社 3730 型 DNA シークエンサーにて、塩基配列の決定を行った。変異の有無は Sequencher (GeneCode 社) で解析した。

(倫理面への配慮)

本研究を実施するにあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」にしたがう。

C. 研究結果

主に高血圧患者を含む日本人、380 名、の CYP2C9 のプロモーター領域と 9 つのエクソンの蛋白質をコードしている領域の塩基配列を決定した。その結果、23 個の変異を同定した (表 1)。この中には、6 個のミスセンス変異、6 個のアミノ酸が変化しない変異、1 個の 2 塩基欠失が存在した。23 個のうち 9 個は、NCBI のデータベースに保管されている変異と同一であった。マイナーアレル頻度 (MAF) が、0.10 を超えるものはなかった。イントロンにある 9032G>C(rs9332127)の MAF は 0.08、エクソン 7 の 42614A>C(rs1057910)の MAF は 0.03、エクソン 9 の 50298A>T(rs1057911)の MAF は 0.03 であった。42614A>C と 50298A>T は連鎖不平衡を示した。50742T>A(rs9332245)の MAF は 0.02 であった。これら以外の多型の MAF は、0.01 以下であり、稀な多型であった。

40614A>Cはコドン ATT が CTT に変化し、Ile359 が Leu に変化するミスセンス変異

(I359L)である。このミスセンス変異は、 CYP2C9*3として知られているものである。

表1. 日本人380名を用いて同定されたCYP2C9遺伝子多型

Cytochrome P450, family 2, subfamily C polypeptide 9 chromosome: 10; Location: 10q24

allele1/2 SNPs	region	amino acid nt		LD	dbSNP ID	allele1		allele2		allele frequency	
		information	information			homo	hetero	homo	total	allele1	allele2
251 T>C	intron1				rs9332104	375	4	1	380	0.9921	0.0079
3136 T>C	intron1					379	1	0	380	0.9987	0.0013
3235 G>A	exon2	Val76	GTG>GTA		rs17847036	373	7	0	380	0.9908	0.0092
3276 T>C	exon2	Leu90Pro	CTT>CCT			379	1	0	380	0.9987	0.0013
3411 T>C	intron2				rs9332120	375	4	1	380	0.9921	0.0079
3451 G>A	intron2					379	1	0	380	0.9987	0.0013
3488 G>T	intron2					379	1	0	380	0.9987	0.0013
3514 T>C	exon3	Ile112	ATT>ATC			377	3	0	380	0.9961	0.0039
3544 G>A	exon3	Glu122	GAG>GAA			379	1	0	380	0.9987	0.0013
3552 G>A	exon3	Arg125His	CGT>CAT			379	1	0	380	0.9987	0.0013
3627 G>T	exon3	Arg150Leu	CGC>GTC			378	2	0	380	0.9974	0.0026
9032 G>C	intron3				rs9332127	319	59	2	380	0.9171	0.0829
10411 A>G	intron4					379	1	0	380	0.9987	0.0013
33553 A>G	exon6	Pro317	CCA>CCG			379	1	0	380	0.9987	0.0013
42543 G>A	exon7	Arg335Gln	CGG>CAG			379	1	0	380	0.9987	0.0013
42614 A>C	exon7	Ile359Leu	ATT>CTT	LD1	rs1057910 rs17847042	357	23	0	380	0.9697	0.0303
42676 T>C	exon7	Tyr379	TAT>TAC			377	3	0	380	0.9961	0.0039
50298 A>T	exon9	Gly475	GGA>GGT	LD1	rs1057911 rs17847030	358	22	0	380	0.9711	0.0289
50302 G>A	exon9	Ala477Thr	GCC>ACC			378	2	0	380	0.9974	0.0026
50456 C>T	3'UTR					379	1	0	380	0.9987	0.0013
50613 T>C	3'UTR					379	1	0	380	0.9987	0.0013
50614 AT>--	3'UTR					377	3	0	380	0.9961	0.0039
50742 T>A	3'flanking			LD1	rs9332245	364	16	0	380	0.9789	0.0211

allele1= reference allele, allele2= minor allele

D. 考察

国立循環器病センター腎・高血圧部門で収集された日本人試料、380検体、のCYP2C9のDNAシーケンスを解析した。薬物代謝酵素として、CYP2C9の遺伝子多型はよく研究されている。CYP2C9*2はR144C変異、CYP2C9*3はI359L変異、CYP2C9*4はI359T変異、CYP2C9*5はD360E変異をもつ(表2)。これまで、日本人218名を対象にした研究では、4.1%にあたる9名がCYP2C9*3のヘテロ接合体(アレル頻度=0.021)であり、CYP2C9*2、*4、*5といった変異は同定されなかった(表3)。また、日本人140名を対象にした研究では、3.6%にあたる5名がCYP2C9*3のヘテロ接合体(アレル頻度=0.018)であり、他の変異は同定されなかった(表3)。これら2つの報告は、変異の

同定にSSCP法とRFLP法を用いている。したがって、ここで調べられた以外の変異の有無に関しては明らかではなかった。私達はシーケンスにより網羅的変異同定を行い、6個のミスセンス変異を同定した。なかでもCYP2C9*3のヘテロ接合体は、350人中23名(6.1%)に存在した(MAF=0.03)。これ以外の5つのミスセンス変異(L90P, R125H, R150L, R335Q, A477T)は、350人中1人もしくは2人にしか同定されず、稀な変異であったが、これらを合わせると7名(1.8%)となる。CYP2C9*3(I359L)変異をもつCYP2C9は、tolbutamideとphenytoinの代謝活性が低下すると報告されている。他の稀な変異が活性に影響するかは不明であり、今後の課題である。

表2. CYP2C9 遺伝子のハプロタイプ

amino acid #	144	359	360
CYP2C9*1	Arg	Ile	Asp
CYP2C9*2	Cys	Ile	Asp
CYP2C9*3	Arg	Leu	Asp
CYP2C9*4	Arg	Thr	Asp
CYP2C9*5	Arg	Ile	Glu

表3. 民族による CYP2C9 遺伝子多型の分布

民 族	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3	*1/*5	n
アジア人							
日本人	0	6.1	0	0	0	0	380
日本人	0	3.6	0	0	0	-	140
日本人	0	4.1	0	0	0	-	218
台湾人	0	8.2	0	0	0	-	98
中国人	0	3.5	0	0	0	-	115
韓国人	0	2.3	0	0	0	-	574
白人種							
アメリカ人	22.1	8.6	2.1	0	0	0	140
英国人	19.1	9.4	0.5	1.1	0	-	561
	19.0	15.0	3.0	0	1	-	100
イスラエル人	17.9	12.8	0	1.3	0	-	156
イタリア人	15.3	14.0	2.5	1.9	1.3	-	157
スペイン人	15.9	23.5	1.9	8.9	0	-	157
スウェーデン人	18.6	11.6	0.5	1.9	0.7	-	430
トルコ人	18.0	17.2	1.0	1.1	0.8	-	499
アフリカ人							
777カ-777カ人	5.0	2.5	0	0	0	3.3	120
	2.0	1.0	0	0	0	-	100
エチオピア人	8.7	4.6	0	0	0	-	150

Schwarz U. I. *European Journal of Clinical Investigation* (2003)33(Suppl.2), 23-30 に加筆した

E. 結論

降圧剤の代謝に関与する CYP2C9 を、日本人 380 名を対象にシーケンスを行い、変異を同定した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 発表論文

1) 宮田敏行, ほか: SNP による網羅的解析 - ミレニアム・ゲノム・プロジェクト -

血圧 12:819-823, 2005.

2) Yang J, et al. Genetic variations of regulator of G-protein signaling 2 in hypertensive patients and in the general population. *J Hypertens* 2005;23:1497-1505

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

分担研究報告書

遺伝子多型検索による高血圧個別化診療の確立に関する研究

—遺伝子解析、遺伝子診断システムの開発—

分担研究者 花田 裕典 国立循環器病センター研究所 循環分子生理部 室員

研究要旨：検体毎に多数の SNP 遺伝子型を効率よく決定するために DNA チップを利用した。90%以上の遺伝子型決定率を得るために、解析方法を改良した。また、薬剤応答と SNP 遺伝子型との関連性を解析するために、オブジェクト指向データベースエンジンを利用して、データベースを作成した。

A. 研究目的

降圧剤に対する応答に関連する遺伝子型をゲノム網羅的に決定し、治療に最適な薬剤を選択するアルゴリズムを開発する。

現在、30 検体分の遺伝子型を決定し、データベースに格納した。これらのデータは、オブジェクト指向データベースでもリレーショナル型のデータベースエンジンと同様にデータの追加、抽出等に問題が無いことを確認した。

B. 研究方法

Affymetrix 社製 GeneChip を利用して、ゲノム網羅的に 50 万 SNP 遺伝子型を迅速に、効率よく決定した。さらに、複雑に絡み合う遺伝子型、臨床データ等の要因を考慮して、薬剤に対する応答性に関連する遺伝子型を選択するために、オブジェクト指向データベースエンジンにデータを格納した。

D. 考察

遺伝子型決定については、50 万 SNP 遺伝子型を 90%以上の決定率で、専従者 1.5 人で 15-20 検体/月のスループットで解析を行う方法が確立できた。今後は、臨床データを参照して、薬剤応答に関与する遺伝子型を検索する統計的手法や、データ量の増加に伴うデータベースの速度低下をさけるためのデータ構造の開発に重点を移す。

C. 研究結果

遺伝子型決定については、50 万 SNP 遺伝子型を 90%以上の決定率で、専従者 1.5 人で 15-20 検体/月のスループットで解析を行う方法を確立した。平成 18 年 3 月末

E. 結論

平成 18 年度内に 200 人以上の 50 万 SNP 遺伝子型を決定し、データベースに格納

することが可能になった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kamide et al. Hypertension susceptibility genes on chromosome 2p24-p25 in a general Japanese population. J Hypertens. 2005 May;23(5):955-60.

2) 友池仁暢 他 9 名 「ミレニアム・ゲノム・プロジェクト」 循環器病の進歩 (通巻 45 号) Vol. XXVI No. 1 (2005. 11) p. 2-23

3) 宮田敏行、花田裕典 「SNP による網羅的解析」

血压 Vol. 12 No. 8 p27-31

2. 学会発表

神出 計、他 12 名 「降圧薬感受性遺伝子同定のための多施設前向き臨床試験

GEANE (Gene Evaluation for ANtihypertensive Effect of drugs) - 施行目的と研究デザイン -」 第 28 回高血圧学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

分担研究報告書

遺伝子多型検索による高血圧個別化診療の確立に関する研究
—降圧薬感受性遺伝子同定のための多施設前向き臨床試験（臨床試験の推進）—

分担研究者 荻原 俊男 大阪大学大学院医学系研究科老年・腎臓内科学教授

研究要旨：高血圧感受性遺伝子の意義を検証するためには、降圧薬による治療反応性やコホート研究における経時的な臨床指標の変化との関連検証が重要である。今回、交感神経活性と密接な関係を有するβアドレナリン受容体の各種多型が、肥満に伴う血圧上昇（*ADRB2*/Gly16）や尿酸値上昇（*ADRA2*/Asn418）に関連することを新たに同定した。*ADRB2*/Gly16の影響はノルエピネフリンやレプチン上昇とも密接に関連しており、メタボリックシンドロームにおける交感神経調節の重要性を示唆したほか、喫煙が低アディポネクチンを惹起することも明らかになった。今後、これら環境・遺伝相互作用を、GEANE 研究を中心に降圧薬反応性等において検証する必要があると考えられた。

A. 研究目的

循環器疾患発症予防のためには、個人の体質にあった個別の施策を勧告することが厚生労働行政において重要である。降圧薬は重篤な心血管病予防に一定の効果をあげているが、その投与方法は血圧のみを指標に手探りで行われているのが現状である。本研究では高血圧の発症や進展、降圧薬の反応性や副作用発現と関連する遺伝子の解析を行った。

B. 研究方法

対象者として遺伝子解析へのインフォームドコンセントの得られた大阪大学医学部附属病院老年・高血圧内科および関

連病院受診者を対象として、β2アドレナリン受容体遺伝子(*ADRB2*)のArg16Gly、Gln27Glu多型、β3アドレナリン受容体遺伝子(*ADRB3*)のTrp64Arg多型、α2アドレナリン受容体(*ADRA2*)のLys418Asn多型を検討した。統計学的解析はJMP5.1.1(SAS Inc.)を用いて行った。国立循環器病センターでは、同様に解析同意の得られた吹田研究参加者においてインターロイキン6(IL6)の詳細な遺伝子多型解析を行った。

(倫理面への配慮)「高血圧および関連合併症の遺伝子解析」についての研究計画は大阪大学ヒトゲノム研究倫理委員会による承認を受けている。GEANE 研究の

研究計画書は現在審議中である。

C. 研究結果

大阪大では、5年間にわたる血圧、体重の変動を詳細に検討した集団において、*ADRB2*/Gly16 アレル保有者は、体重増加を伴う血圧上昇を示す一方、*ADRB2*/Gln27、*ADRB3*/Trp64 アレルは血圧上昇のみと関連を示した¹⁾。Gly16 アレルは、インスリン抵抗性の増悪(HOMA-IRによる評価)や脂肪蓄積(total body fat massで評価)、ノルエピネフリン増加とも関連し²⁾、減量後のリバウンドも大きいことが示された³⁾。また内臓肥満との関連が指摘されるアディポネクチンの血中濃度減少に、喫煙も影響を及ぼすことが明らかになった⁴⁾。また*ADRA2*/Lys418Asn 多型は、肥満や高血圧と別にウェスト/ヒップ比や尿酸値上昇と関連を示した⁵⁾。一方、吹田研究では、IL6 遺伝子多型の SNPs 検索と高血圧との関連解析を行い、SNP 単独では有意な相関を認めないが、ハプロタイプ解析で-636G/1691G 型保有の場合に高血圧罹患リスクが高まることが示された⁶⁾。

D. 考察

メタボリックシンドロームのガイドラインが発表され、アディポサイトカインと高血圧、環境因子との相互作用も少しずつ明らかになっている。本年度解析では、その一翼を担う交感神経系調節に関連する α 、 β アドレナリン受容体や IL6 の多型が、高血圧や肥満の発症に対して、弱いながらも確かな影響を及ぼしていることが示された。これら遺伝子多型は β

遮断薬だけでなく、各種降圧薬反応性にも関連する可能性が高く、今後の GEANE 研究参加者における検討が必要と考えられる。また食事や運動に対する反応性と相互作用も今後の検討課題である。

E. 結論

疾患感受性遺伝子多型を活用し、個人の体質に応じた予防的介入の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1) Masuo K, et al. Beta2-and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation*. 2005;111(25):3429-3434.

2) Masuo K, et al. Beta2-adrenoceptor polymorphisms relate to insulin resistance and sympathetic overactivity as early markers of metabolic disease in nonobese, normotensive individuals. *Am J Hypertens*. 2005;18(7):1009-1014.

3) Masuo K, et al. Rebound weight gain as associated with high plasma norepinephrine levels that are mediated through polymorphisms in the beta2-adrenoceptor. *Am J Hypertens*. 2005;18(11):1508-1516.

4) Iwashima Y, et al. Association of hypo adiponectinemia with smoking habit in men. *Hypertension*.

2005;45(6):1094-1100.

5) Masuo K, et al. Lys418Asn polymorphism of the alpha2-adrenoceptor gene relates to serum uric acid levels but not to insulin sensitivity.

Hypertension. 2005;46(1):144-150.

6) Tanaka C, et al. Single nucleotide polymorphisms in the interleukin-6 gene associated with blood pressure and atherosclerosis in a Japanese general population. *Hypertens Res*. 2005;28(1):35-41.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきものなし。

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

遺伝子多型検索による高血圧個別化診療の確立に関する研究

分担研究者 相馬 正義 日本大学医学部 内科学講座腎臓内分泌内科部門
専任講師

研究要旨:高血圧症および脳梗塞に対し、候補遺伝子多型を用いて関連研究を行い、Calcitonin-Receptor-like Receptor (CRLR)遺伝子が女性の高血圧と、またAdrenomedullin (AM) 遺伝子のハプロタイプが高血圧症患者の蛋白尿と相関することが判明した。脳梗塞ではSTRK1領域内で、PDE4D遺伝子の他にもうひとつの領域が強く相関することが見出された。

A. 研究目的

高血圧症および脳梗塞の疾患候補遺伝子または候補遺伝子領域の遺伝子多型を用いて関連研究を行い、本研究の基盤となるデータを集積する。

B. 研究方法

(1)高血圧患者と正常血圧者、脳梗塞患者と非脳梗塞患者を対象とし末梢血からゲノムDNAを抽出した。尚、採血に当たってはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に準拠し、日本大学医学部倫理委員会で承認された方法に則って書面での同意を得た。

(2) 公共データベースからCRLR遺伝子、AM遺伝子およびSTRK1遺伝子領域の遺伝子多型を選出し、TaqMan法およびダイレクトシーケンス法にてゲノタイプを決定した。

C. 研究結果

①CRLR遺伝子のイントロン6に存在するSNP (rs696574)が女性の本態性高血圧症と有意に関連した。

②AM遺伝子は高血圧症との関連を認めなかったが、AM遺伝子周辺の2つのSNPと1つのマイクロサテライトで構築したハプロタイプで高血圧症患者の尿蛋白と有意な ($p=0.009$)相関が認められた。

③脳卒中関連領域 (STRK1)において31個のSNP、3箇所のマイクロサテライト多型および一箇所のVNTRのゲノタイプを決定し、ハプロタイプを構築し、PDE4D遺伝子領域およびもう一箇所の脳卒中関連遺伝子領域を同定した。

D. 考察

今回検討した2つの遺伝子は高血圧症または腎障害と、また1つの遺伝子領域は脳梗塞と強い関連が認められたことよ

り、これらの遺伝子多型が高血圧症の治療とどのように関連するか今後検討する必要がある。

E. 結論

CRLR遺伝子、AM遺伝子およびSTRK1遺伝子領域が高血圧症および高血圧関連疾患と関連する事が明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sano M, et al. Association study of calcitonin-receptor-like receptor gene in essential hypertension. Am J Hypertens. 2005 Mar;18(3):403-8.

2) Kobayashi Y, et al. Haplotype-based case-control study revealing an association between the adrenomedullin gene and proteinuria in subjects with essential hypertension. Hypertens Res. 2005 Mar;28(3):229-36

3) Nakayama T, et al. Genotype and Haplotype Association Study of the STRK1 Region on 5q12 Among Japanese. A Case-Control Study. Stroke 2006 Jan;37(1):69-76

4) Sato N, et al. A haplotype in the human Sur2 gene is associated with essential hypertension. J Human Hypertension 2006, 20(1):87-90

2. 学会発表

1) 中山智祥 ほか：アドレノメデュリン遺伝子多型は本態性高血圧症患者の蛋白尿の危険予知マーカーとなりうる。第102回 日本内科学会講演会、大阪、2005.4.7

2) 佐藤直之 ほかハプロタイプを用いたヒトSUR2遺伝子と本態性高血圧症の関連解析。第28回 日本分子生物学会年会、福岡、2005.12.7

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

未出願

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

遺伝子多型検索による高血圧個別化診療の確立に関する研究
—アドレナリン受容体関連蛋白質の遺伝子多型とβ遮断薬の薬効に
関する薬理遺伝学的研究—

分担研究者 笹栗 俊之 九州大学大学院 医学研究院 臨床薬理学・教授

研究要旨：アドレナリン受容体関連蛋白質の遺伝子多型とβ遮断薬の薬効に関する薬理遺伝学的研究を行った。

A. 研究目的

βアドレナリン受容体遮断薬（以下β遮断薬）は、高血圧症・虚血性心臓病・頻脈性不整脈・心不全などの治療薬として広く用いられているが、その薬効には個人差があることが知られている。その原因のひとつとして、アドレナリン受容体関連蛋白質の遺伝子多型が関与が示唆されているが、日本人においては、確立されたエビデンスはない。そこで本研究では健常人を対象にβ₁受容体に特異性の高い遮断薬を投与し、アドレナリン受容体関連蛋白質の遺伝子多型との関連を検討した。

B. 研究方法

書面にてインフォームドコンセントを得られた健常人67名を対象とした。気管支喘息、50回/分未満の徐脈、不整脈を有する者は除外した。4時間以上空腹の後、二重盲検法にてアテノロールドライシロップ（50mg）およびプラセボを服薬

してもらい、薬効は服薬前と服薬3時間後に自動血圧計（HEM-7471C, オムロン社）で脈拍数と血圧を測定することにより評価した。また同時に採血を施行し、血球成分よりDNAを抽出し、PCR-RFLP法により既知のβ₁アドレナリン受容体遺伝子多型（S49G, A59S, R389 G, R399C）解析をおこない薬効との相関を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は九州大学医学研究院の倫理委員会およびヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会に承認されており、対象に対して十分な説明を行った後、書面にて同意を得ている。

C. 結果

脈拍数、血圧はともに、服薬後30分後よりアテノロール服薬群（44名）でプラセボ群（23名）に比べ有意に低下していた。アテノロール服薬群において遺伝子多型解析を行ったところ、S49G、R389Gの変異アレル頻度はそれぞれ0.155、0.279

でこれまでの日本人での報告とほぼ同等であった。一方、A59 S、R399Cの両多型は本集団では認めなかった。S49GおよびR389Gとアテノロール投与による脈拍、血圧の変化（感受性）との関係を検討したが、今回は有意な相関を見出すことはできなかった。ハプロタイプ解析ではSS/RGとSG/RGの間にのみ血圧の変化に差がみられたが、他については有意な差を認めなかった。

D. 考察

海外でのこれまでの報告では細胞レベルで389Rが他の遺伝子多型と比べ、 β_1 受容体に対して高い親和性を有しているという報告(Sandilands et al. Pharmacogenetics)があり、人でもSG/RRが他のハプロタイプに比べ β_1 受容体遮断薬が効きやすいと報告されている。今回の我々の結果はSG/RGが最も効果が高く、むしろ既存の報告と相反するものであった。

E. 結論

今回の結果では、389G保因者において β_1 受容体遮断薬がより有効である可能性が示唆されたが、結論づけるには被験者数が不十分であり、今後被験者数を増やすことにより、さらに関連性を明らかにしていきたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) Tadano N et al. SCH00013, a novel Ca^{2+} sensitizer with positive inotropic and no chronotropic action in heart failure. *J. Pharmacol. Sci* 97: 53-60, 2005

2) Miyagi M, et al Activator protein-1 mediates shear stress-induced prostaglandin d synthase gene expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*: 25(5):970-5, 2005

3) Miwa Y, et al. Insertion/deletion polymorphism in clusterin gene influences serum lipid levels and carotid intima-media thickness in hypertensive Japanese females. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331:1587-1593, 2005

4) Yang, J et al. Genetic variations of regulator of G-protein signaling 2 in hypertensive patients and in the general population. *J. Hypertens.* 23: 1497-1505, 2005

5) Mori J, et al. Differentiation-inducing factor-1 induces cyclin D1 degradation through the phosphorylation of Thr286 in squamous cell carcinoma. *Exp. Cell. Res*310: 426-433, 2005

6) Yasmin T et al. Differentiation-inducing factor-1 suppresses gene expression of cyclin D1 in tumor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338: 903-909, 2005

7) Yumoto F et al. Drastic Ca^{2+} sensitization of myofilament associated with a small structural change in troponin I in inherited restrictive cardiomyo

pathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*
338: 1519-1526, 2005

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端技術推進研究事業）
分担研究報告書

遺伝子多型検索による高血圧個別化診療の確立に関する研究

分担研究者 土橋 卓也 国立病院機構九州医療センター 内科医長

研究要旨：レニン・アンジオテンシン系抑制薬を使用中の本態性高血圧患者において少量の利尿薬の併用は十分な降圧効果を示すが、尿酸値の上昇に注意を要する。

A. 研究目的

レニン・アンジオテンシン系抑制薬を服用中の本態性高血圧における少量の利尿薬の有用性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

ACE阻害薬またはアンジオテンシンII受容体拮抗薬（ARB）を服用中の本態性高血圧患者に対し、少量の利尿薬を併用し、血圧と代謝への影響を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究の詳細について対象者に説明し、インフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

49例（平均65歳）に対してインダパミド平均0.92mgを投与した結果、血圧は167/90mmHgから3ヵ月後には145/83mmHgと有意な降圧を認めた。血清K値には変化を認めなかったが、尿酸値は5.76から6.36mg/dlと上昇した。ロサルタン併用者では、尿酸の上昇は軽度であった。

D. 考察

ACE阻害薬とARBとの併用は、降圧効果の増強、副作用の軽減の観点から有用と考えられる。特に利尿薬の使用で問題となる血清K値の低下がACE阻害薬/ARBの存在下で見られないことは、両者の併用のメリットと考えられる。ただ、ロサルタン以外の薬剤と併用する場合には、尿酸値の上昇に注意を要する。

E. 結論

降圧薬の併用療法においてレニン・アンジオテンシン系抑制薬使用下での利尿薬の併用は、降圧効果の増強と副作用の軽減が得られ、医療経済的にもメリットが大きい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 土橋卓也 他：本態性高血圧患者に対するレニン・アンジオテンシン系抑制薬

使用下での利尿薬投与の有用性 Ther Res 26:723-729, 2005.

2) Tsuchihashi T, et al Antiproteinuric effect of an N-type calcium channel blocker, cilnidipine. Clin Exper Hypertens 8: 583-591, 2005

3) Ohta Y, Tsuchihashi T, et al Long-term compliance with salt restriction in Japanese hypertensive patients. Hypertens Res 28: 953-957, 2005

4) 大田祐子、江藤仁香、土橋卓也 ニルバジピンの早朝高血圧抑制作用—アムロジピンからの切替え症例での検討— Ther Res 26: 2319-2326, 2005

2. 学会発表

Tsuchihashi T, et al. Losartan prevents the diuretics-induced hypokalemia and hyperuricemia in the patients with essential hypertension. 20th ASH Meeting, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

アンジオテンシン変換酵素（ACE）遺伝子多型別の ACE 阻害薬高齢者肺炎抑制効果

分担研究者 森本茂人 金沢医科大学高齢医学教授

研究要旨：長期療養型老人病院入院中の高齢者において、肺炎は多発し、加齢に伴う嚥下機能の低下が関与すると考えられ、我々は以前アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬が肺炎発症予防に有用であることを報告した。この ACE 阻害薬の肺炎抑制効果は、ACE 遺伝子欠失（D）、挿入（I）多型別では ID+II 型で有意で、DD 型での有意抑制は認められなかった。高齢者高血圧例における降圧薬選択において、ACE 遺伝子多型測定は ACE 阻害薬の肺炎抑制効果を期待する場合のテーラーメイド医療の一端となりうる。

A. 研究目的

高齢者肺炎の特徴は誤嚥性肺炎が極めて多く重篤化し易いことから高齢者、特に要介護老人における最重要治療対象疾患の 1 つである。予防医学の観点からこれまでの疫学調査によりさまざまな肺炎発症危険因子が報告されてきた。今回、我々は高齢者肺炎の易発症性へのアンジオテンシン変換酵素（以下 ACE と略す）遺伝子多型の関与につき疫学調査を行い ACE 遺伝子多型のうち下述する DD 型が肺炎発症のリスクファクターであることを世界に先駆けて明らかにした¹⁾。

高齢者肺炎発症に対する ACE 遺伝子多型のうち下述する DD 型の関与の機序については、高齢者肺炎の発症に加齢に伴う咳・嚥下反射の低下による顕性・不顕性の誤嚥が要因となっていることが考えられる。われわれはすでにアンジオテンシ

ン-I 変換酵素阻害薬（以下 ACE 阻害薬）が高齢者における肺炎発症を抑制することを報告した²⁾。ACE はアンジオテンシン I からアンジオテンシン II への生成を促進させる以外に、咳反射・嚥下反射に重要なブラジキニン、サブスタンス P の分解をも司ることから、ACE 阻害薬はおそらく気道におけるこれらの反射に関与する両ペプチドの量を増加させ、高齢者における肺炎発症を抑制すると考えられる³⁻⁵⁾。一方、ACE 遺伝子 I/D 多型は咳反射に関与することが知られており^{6,7)}、ACE 遺伝子 D アレルが血中および組織中の ACE 活性亢進を介しておそらく局所でのブラジキニンおよびサブスタンス P 濃度を低下させ、その結果咳反射が低下し ACE I/D 多型が高齢者肺炎の易発症性に対する独立有意危険因子となっているものと考えられた。