

Myocardial wall stress is one of the primary determinants of myocardial oxygen consumption (22). Cardiac decompensation is thought to result when the feedback loop that normalizes wall stress to abnormal loading of the heart dysfunctions. The increased wall stress may act directly or indirectly via cellular mediators such as angiotensin, endothelin, inflammatory cytokines, reactive oxygen species, and matrix metalloproteinase to orchestrate a variety of molecular and cellular remodeling events determining the structural and functional properties of the myocardium and, ultimately, the rate of disease progression (23-27). Therefore, usefulness of plasma BNP levels in predicting morbidity and mortality accurately in patients with chronic HF may be explained by the relationship between the LV EDWS and BNP. Many other factors, such as age, gender, body mass, genetics, etc., are also known to affect plasma BNP levels. However, the demonstration of the link between the hemodynamics (LV EDWS) and neurohormonal factor (BNP) may support the usefulness of BNP-guided treatment of HF. Although more randomized studies are needed, pharmacotherapy guided by BNP levels is intriguing and promising (3).

There are several methods to estimate the wall stress, and we used a formula based on M-mode echocardiographic variables (16). This method may have several limitations. For example, when there is regional asynergy in LV wall motion and variation in local LV wall thickness, the estimate may not reflect the entire non-uniform LV wall stress correctly. To test this possibility, we analyzed the data of the patients without LV asynergy demonstrated by echocardiogram and LV ventriculography. We obtained an even better correlation. Interestingly, a correlation in patients with a local wall motion abnormality was still strong ($r^2 = 0.820$). There are several other limitations to our study. Echocardiography and blood sampling were typically performed the day before cardiac catheterization. This time lag could have influenced the results. A further limitation is that the study population was composed of the patients who were in stable condition and could tolerate LV cardiac catheterization; thus, patients who could not bear cardiac catheterization (e.g., patients with New York Heart Association functional class IV HF) were excluded.

In the present study, we demonstrated that plasma BNP levels strongly reflect EDWS in the LV more than any other parameter previously reported. In addition, EDWS accurately accounts for the increase in plasma BNP levels even in patients with diastolic HF. The relationship of LV EDWS to plasma BNP may give a better understanding to the interindividual heterogeneity of plasma BNP levels and its clinical utility in the diagnosis and management of HF.

Reprint requests and correspondence: Dr. Yoshitaka Iwanaga, Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, 54 Shogoinn-kawaharacho, Kyoto 606-8507, Japan. E-mail: yiwana@kuhp.kyoto-u.ac.jp.

REFERENCES

1. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002;347:161-7.
2. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, et al. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2003;107:1278-83.
3. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000;355:1126-30.
4. Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P, et al. Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation* 2002;105:595-601.
5. Tang WH, Girod JP, Lee MJ, et al. Plasma B-type natriuretic peptide levels in ambulatory patients with established chronic symptomatic systolic heart failure. *Circulation* 2003;108:2964-6.
6. Maeda K, Tsutomoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1998;135:825-32.
7. Troughton RW, Prior DL, Pereira JJ, et al. Plasma B-type natriuretic peptide levels in systolic heart failure: importance of left ventricular diastolic function and right ventricular systolic function. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:416-22.
8. Yamamoto K, Burnett JC Jr., Jougasaki M, et al. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension* 1996; 28:988-94.
9. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994;90:195-203.
10. Liang F, Gardner DG. Mechanical strain activates BNP gene transcription through a p38/NF-kappaB-dependent mechanism. *J Clin Invest* 1999;104:1603-12.
11. Tokola H, Hautala N, Marttila M, et al. Mechanical load-induced alterations in B-type natriuretic peptide gene expression. *Can J Physiol Pharmacol* 2001;79:646-53.
12. Ikeda T, Matsuda K, Itoh H, et al. Plasma levels of brain and atrial natriuretic peptides elevate in proportion to left ventricular end-systolic wall stress in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* 1997;133:307-14.
13. Vanderheyden M, Goethals M, Verstreken S, et al. Wall stress modulates brain natriuretic peptide production in pressure overload cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2349-54.
14. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1989;2:358-67.
15. Irvine T, Li XK, Sahn DJ, Kenny A. Assessment of mitral regurgitation. *Heart* 2002;88 Suppl 4:IV11-9.
16. Douglas PS, Reichel N, Plappert T, Muhammad A, St John Sutton MG. Comparison of echocardiographic methods for assessment of left ventricular shortening and wall stress. *J Am Coll Cardiol* 1987;9:945-51.
17. Kazanegra R, Cheng V, Garcia A, et al. A rapid test for B-type natriuretic peptide correlates with falling wedge pressures in patients treated for decompensated heart failure: a pilot study. *J Card Fail* 2001;7:21-9.
18. O'Neill JO, Bott-Silverman CE, McRae AT 3rd, et al. B-type natriuretic peptide levels are not a surrogate marker for invasive hemodynamics during management of patients with severe heart failure. *Am Heart J* 2005;149:363-9.
19. Wiese S, Breyer T, Dragu A, et al. Gene expression of brain natriuretic peptide in isolated atrial and ventricular human myocardium: influence of angiotensin II and diastolic fiber length. *Circulation* 2000;102: 3074-9.
20. Goetze JP, Gore A, Moller CH, Steinbruechel DA, Rehfeld JF,

- Nielsen LB. Acute myocardial hypoxia increases BNP gene expression. *FASEB J* 2004;18:1928-30.
21. de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, et al. The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001;345:1014-21.
 22. Yin FC. Ventricular wall stress. *Circ Res* 1981;49:829-42.
 23. Colucci WS. Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure. *Am J Cardiol* 1997;80:15L-25L.
 24. Iwanaga Y, Kihara Y, Inagaki K, et al. Differential effects of angiotensin II versus endothelin-1 inhibitions in hypertrophic left ventricular myocardium during transition to heart failure. *Circulation* 2001;104:606-12.
 25. Di Napoli P, Taccardi AA, Grilli A, et al. Left ventricular wall stress as a direct correlate of cardiomyocyte apoptosis in patients with severe dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 2003;146:1105-11.
 26. Wollert KC, Heineke J, Westermann, et al. The cardiac Fas (APO-1/CD95) receptor/Fas ligand system: relation to diastolic wall stress in volume-overload hypertrophy in vivo and activation of the transcription factor AP-1 in cardiac myocytes. *Circulation* 2000;101:1172-8.
 27. Iwanaga Y, Aoyama T, Kihara Y, Onozawa Y, Yoneda T, Sasayama S. Excessive activation of matrix metalloproteinases coincides with left ventricular remodeling during transition from hypertrophy to heart failure in hypertensive rats. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1384-91.

臨床試験の登録公開制度—医学雑誌編集者国際委員会 (ICMJE) の声明を受けて——

臨床試験の登録と公開

—医療機関の視点から—

佐瀬 一洋 土井 香 嘉田 晃子

国立循環器病センター臨床試験開発室

Clinical trial registration and reporting

— A provider's perspective —

Kazuhiro Sase Kaori Doi Akiko Kada

General Clinical Research Center

National Cardiovascular Center

Abstract

“Negative as well as positive results should be published or otherwise publicly available.” This statement from the Declaration of Helsinki clearly describes the ethical obligations of both authors and publishers because medical progress is based in part on human research. Although the idea of registering clinical trials had been proposed more than a decade ago, only half of the trials conducted were considered to have been reported.

A consequence of this lack of publication is a bias in favor of new and expensive treatments to make treatment guidelines and/or critical pathways potentially vulnerable. Another consequence is the proliferation of unnecessary duplicates of meaningless or sometimes harmful trials on volunteered human research participants.

Since healthcare providers maintain accountability and transparency to patients through clinical care, education, and clinical research, everyone should benefit from contributions to the recent activities by publishers and sponsors in establishing clinical trial registries and clinical trial results databases.

In this article, we have reviewed currently available information to understand the why, which, when, what, and how of clinical trial registration, as well as issues on updates, confidentiality, disclosure, conflicts of interest, and compliance.

Registration is just a means, not an end. Clinical researchers, institutional review boards, publishers, scientific societies, industry sponsors, funding agencies, health insurance agencies, and regulatory authorities need to work together to avoid too much bureaucracy and to maintain a healthy competition for better health care quality.

Key words

clinical trial registry, publication bias, Declaration of Helsinki, healthcare provider, clinical research

Rinsho Hyoka (Clinical Evaluation) 2005 ; 32 : 25 - 36.

1. 医療の中の臨床試験

ゲノム時代を迎え、疾患概念の再定義や創薬ターゲットの開発など、診断や治療にパラダイム・シフトが始まった¹⁻⁵⁾。

新たな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の必要性が高まっている⁶⁾が、心筋梗塞慢性期に対する抗不整脈薬⁷⁾、慢性心不全に対する強心薬⁸⁾や抗炎症薬⁹⁾、更には市販後に心筋梗塞のリスクを増加させることが明らかになった分子標的薬¹⁰⁻¹²⁾などの例にみられるように、検証的試験の実施により意外な結果が得られることも稀ではないことから、医学の進歩は最終的には臨床研究に一部依存せざるを得ない^{13, 14)}。従って、臨床研究を適切に計画・実施・報告して知識ベースを構築する体制を整えることは医療の質向上のために必要不可欠である。

わが国は、基礎研究の成果と比較して臨床研究に対する貢献度が低い^{15, 16)}ことが指摘されており、国際化が進む中¹⁷⁾、文部科学省や厚生労働省は臨床試験のスピード・質・コストを改善するための基盤整備を進めている¹⁸⁾。臨床試験の実施に際しては、被験者の福利に対する配慮が科学的及び社会的利益よりも優先されなければならない¹⁹⁾が、利益相反問題、保険医療との整合性、データの信頼性、そして潜在的な薬害発生の懸念など、世界的に臨床試験に関連した問題点が多く指摘されており、被験者保護体制の強化が提唱されている^{19, 20)}。

臨床研究には、症例報告、後ろ向き調査、前向き追跡、介入試験など種々の方法論が存在する²¹⁾。そのなかで、①偏り(バイアス)の排除、②精度の向上、③得られた結果の一般化可能性などの観点から、ランダム化比較試験に代表される臨床試験の重要性が高まっている。ヒトを対象とした臨床試験の実施にあたっては、疾患の自然史や最善の治療法、試験の必要性和目的、そしてデザインなど、計画段階から臨床疫学家や生物統計家を交えたチームで十分に検討するとともに、実施、報

告の全ての段階でその科学性・倫理性・信頼性を高めるための努力が必要である²²⁾。

2. 出版バイアスと臨床試験登録・公開

いわゆる出版バイアスの存在は以前から知られている^{23, 24)}。臨床試験の適切な実施には多大なる労力を必要とするが、症例数不足や実施計画書違反など、感度不足により評価が困難な報告が多いことが指摘されている²⁵⁾。一方、期待に反した結果が得られた場合、試験の失敗ではなく、ネガティブな結果として公表することが重要である。しかしながら、現実社会では、治療効果がポジティブであるほど投稿あるいは掲載される可能性が高い反面、開始された臨床試験の約半数は未公表であり^{23, 24)}、それを探することも不可能に近い²⁶⁾。

出版バイアスはシステマティック・レビューの検出力を弱め²⁷⁾、無効あるいは有害な治療/試験の繰返しも報告されている²⁸⁾。倫理的には研究結果の公表を義務付けているヘルシンキ宣言¹³⁾からみて問題があるといわれている。わが国でも、「臨床試験の登録と結果の公開」と題したシンポジウム²⁹⁾が臨床薬理学会で開催されるなど、出版バイアス問題への関心が高まっている。

2002年、英国BBCの報道をきっかけに、小児を対象とした抗うつ剤の臨床試験で期待された有効性が示されず自殺企図など安全性の懸念が示されたことが話題になった。その後添付文書が改訂されたものの、臨床試験の結果を隠していた疑いがあるとして、2004年、米国ニューヨーク州当局が製薬企業を告訴した^{30, 31)}。臨床試験の結果をインターネットに公開する仕組みは備えていたが、ネガティブな結果の公表に対して消極的な姿勢を示す社内文書の存在が明らかになり、最終的には全ての臨床試験を登録することを条件に和解が成立した。

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)は、公的な登録システムに登録しておかなければ論文として掲載しない

という、臨床試験の登録に関する共同声明を発表した^{32, 33)}。以前から臨床試験登録の必要性を訴えてきた英国医学会誌 (*BMJ*) も、直ちに基本的支持を表明し³⁴⁾、国際製薬団体連合会 (IFPMA) も共同指針^{31, 35~37)} を発表した。

3. 医療機関からみた臨床試験の登録と公開

3.1 なぜ登録するのか

臨床試験の登録および公開については、その必要性が以前から指摘されてきた^{20, 38~40)}。医療機関のなかでは、いわゆる自主研究として臨床試験を実施している研究者の一部から「ICMJEに参加する主要医学雑誌に投稿する予定がなければ登録の必要は無い」との声も聞かれそうであるが、医療従事者の多くにとっては試験の登録・公開にはメリットが大きいと思われる。

臨床試験の登録・公開の目的を大別すると、出版バイアスの低減、倫理面の配慮、そして適切な被験者募集に分けられる。

出版バイアスの影響を排除することは、試験の科学性を向上させるために重要である。肯定的な結果のみが出版され、ネガティブな結果が隠蔽されれば、診療ガイドラインやクリティカルパス作成の根拠となる知識ベースに対する信頼が損なわれ、結果的に無効または有害な治療が不必要に繰り返される。

倫理面の配慮としては、ヘルシンキ宣言¹³⁾の遵守があげられる。以下に日本医師会訳の一部を抜粋する。

- ・すべての研究計画は一般に公開されていなければならない
- ・研究結果の刊行に際し、研究者は結果の正確さを保つよう義務づけられている
- ・ネガティブな結果もポジティブな結果と同様に、刊行または他の方法で公表利用されなければならない
- ・刊行物中には、資金提供の財源、関連組織との関わり及び可能性のあるすべての利害関係

の衝突が明示されていなければならない

適切な被験者の募集は、臨床試験の信頼性を向上させるため、特に感度向上のために適格基準を満たす症例を必要数確保するために重要である。募集に際しては、各種規制や倫理審査委員会による承認が前提となるが、米国国立医学図書館 (NLM) の ClinicalTrials.gov では、臨床試験の目的、対象、実施施設、連絡先に加え、臨床試験用語に関する解説等を被験者向けに平易な言葉で示している⁴¹⁾。

3.2 どの試験を登録するか

ICMJEは、あらゆる臨床試験にその方針を適用するという。臨床試験の定義は、「医学的介入と健康上のアウトカムとの間の原因・結果関係を研究するための、研究対象者をプロスペクティブ (前向き) に介入群または比較対照群に割り付けるあらゆる研究計画」として、薬物動態や毒性についての研究 (例えば第 I 相試験)、他の目的に対してデザインされた研究は除外している^{32, 33)}。

医療機関では、いわゆる自主研究や医師主導型治験^{42~45)} について検討する際に注意が必要である。未承認の医薬品を用いる場合や、既承認でも適応外で使用する場合、他の国や医療機関で既に試験が実施されていないかどうかを検討し、無益または有害な試験を繰り返さない努力が必要である。

3.3 いつ登録するか

ICMJE や *BMJ* は、臨床試験の登録は、患者の登録の時点あるいはそれに先立ってなされていなければならないとしている^{32~34)}。この方針は、2005年7月1日以降に患者の登録を開始するあらゆる臨床試験に適用され、それ以前に患者の登録を開始した臨床試験については経過措置として2005年9月13日までに登録することが求められている。*JAMA* 編集部は更に一歩踏み込んで、最初に登録されていなければ実施医療機関の倫理審査委員会が試験実施案の承認を拒否することを提案している³¹⁾。登録した内容の全てが同時に公開さ

れる訳ではない。著作権や知的所有権の尊重は重要であり、登録の時期と内容、公開の時期と内容等について、公的なルール作りが必要となろう。

3.4 何を登録するか—登録項目—

臨床試験の登録にあたってまず必要なものは、固有識別番号 (ID) である。ICMJE 声明では、各地域、各領域の要求に応じて種々の登録システムが構築されることを予想しているが、今後、試験の識別番号を統合的に管理する体制として WHO がその役割を果たすことが期待されている⁴⁶⁾。

ICMJE 声明では、最低限必要な項目として、研究的介入と比較群についての記載、研究仮説、主要エンドポイント、副次的エンドポイント、適格基準、試験に関連する主要な日付 (登録日、開始予定日、追跡終了予定日、試験データ固定予定日)、目標症例数、資金源、主任研究者の連絡先の明示を求めている^{32, 33)}。

ClinicalTrials.gov⁴¹⁾ では、試験の目的 (治療/予防/診断/教育など)、相、デザイン (対照の有無、盲検化、割付法) など試験計画に関する情報とともに、被験者のリクルートを意図して試験実施施設に関する情報を登録できるようになっている。

国際ランダム化試験登録 (ISRCTN⁴⁷⁾) は、申請者情報、スポンサー情報、主任研究者情報、試験の詳細を登録する。対象となる試験はランダム化比較対照試験のみである。

国際製薬団体連合会 (IFPMA)^{35~37)} は、治験の登録と結果公開に関する指針を公表している。治験登録簿は、治験に関心を持つ被験者および担当医療従事者に対する基本情報として、簡潔な表題、非専門用語による治験の説明、治験のフェーズ、治験の種類 (介入研究など)、治験の目的 (治療/診断/予防など)、介入の種類 (薬剤、ワクチンなど)、治験条件、主要な適格条件 (性別、年齢など)、治験実施施設の所在地および窓口を公開する。治験結果データベースは、完了した治験結果の保管庫として、ピア・レビュー医学雑誌へのリンクや、販売促進を意図しない標準的なフォー

マット (ICH E-3 の要約フォーマットなど) を用いた結果要約を提供する。主要および副次的評価項目の結果ならびに安全性結果が記載される。

東京大学医学部附属病院医療情報ネットワーク (UMIN) センターは、全ての臨床試験を対象とした臨床試験登録システム⁴⁸⁾ を準備している。わが国における臨床試験の計画を充実させるために、日本語による入力や試験のデザインに関する詳細な登録項目を用意し、生物統計家による登録支援体制も用意する予定という⁴⁹⁾。

3.5 いつ更新するか

臨床試験の実施計画書は、最新の安全性情報や進捗状況に合わせて常に見直しが行われるものであり、従って臨床試験の登録システムについてもその更新時期が重要である。実施計画書の改訂や重篤な有害事象など、被験者の意思に影響を与える重要な情報が得られたときには倫理審査委員会への報告等が必要となる。臨床試験登録システムについても、少なくとも公開されている情報について、更新の必要性が生じる可能性があることから、ICMJE では更新の時期や方法についても手順を明確にしてそれに従うべきとしている。また、米国厚生省は登録された情報を倫理審査委員会が定期的にチェックすることを求めている⁵⁰⁾。医療機関では倫理審査委員会を支援する事務局の充実が必要となろう。

3.6 何を公開するか、いつ公開するか

試験の登録・公開の目的が出版バイアスの改善、倫理面の対応、被験者登録の補助であるならば、実効性を持たせるために、登録の時期と内容、公開の時期と内容について、十分な注意が必要である。具体的には、研究費獲得日、倫理審査委員会承認日、被験者登録開始日、試験終了日、データ固定日など、試験には重要なマイルストーンが存在する。また、学会発表日、論文出版日、治験であれば承認取得日など、情報公開に際しては知的所有権問題やインサイダー取引問題も念頭に置いた明確な手順が必要である。

欧州では、2004年5月1日以降に開始された医薬品の全ての介入治験に関する情報がEudraCTに登録されている。データ提出時点（治験開始時点）では欧州の規制当局のみがアクセス可能となり、一般に対して一部のデータが開示されるのは承認後のことである⁵¹⁾。

国際製薬団体連合会（IFPMA）が発表した治験情報の登録と開示に関する共同指針^{36, 37)}では、治験登録簿は患者登録開始後21日以内に、治験結果データベースはピア・レビュー誌の発表に支障を来たす場合等を除き、承認・販売後1年以内に、それぞれ一般から自由にアクセスできるように公開すべきとしている。

3.7 だれが登録システムを運営するか

言語、対象範囲、登録項目、公開時期など、登録システムの性格は、その運営法により規定される。

ClinicalTrials.govは、米国の厚生省（DHHS）の下にある国立医学図書館（NLM）が運営している。主として重篤な疾患に対する薬物治療の有用性を評価する試験を対象としている。

ISRCTN⁴¹⁾は、営利企業であるCCT（Current Controlled Trial社）が運営管理しているが、ICMJEと異なりBMJ誌³⁴⁾は運営の主体が営利企業かどうかを最大の基準にはしていない。

EudraCTは欧州医薬品庁（EMA）が運営するデータベースで、全ての医薬品の介入治験に関する情報に対して統一試験番号（EudraCT番号）が発行される。有害事象データベースであるEudravigilanceと合わせて、当局間の臨床試験関連情報共有化を目指すという⁵¹⁾。

多くの製薬企業も個別に試験の登録・公開の準備を進めている。米国研究製薬工業協会（PhRMA）は2004年10月に臨床試験結果を公開するWebsite（ClinicalStudyResults.org）を開設し^{31, 35)}、国際製薬団体連合会（IFPMA）も2005年1月に共同指針^{36, 37)}を発表した。

わが国でも、東京大学医学部附属病院医療情報ネットワーク（UMIN）センターが2005年4月に

臨床試験登録システム（UMIN-CTR）の運用を開始すると表明している⁴⁸⁾。UMINは文部科学省の予算で運営されている全国42の国立大学病院のネットワーク組織で、東大病院内にセンターが設置されており、当初は専用回線で接続されていたが、現在ではインターネットを介してすべての医学・医療関係者が利用できるという⁴⁹⁾。

WHOは、今後、各地域で多様な登録システムが設立されることが予想されるなかで、2004年11月にメキシコで開催された世界厚生大臣サミットにおいて、国際的な臨床試験登録の連携システムを設立することを求められた⁴⁶⁾。今後、統一的な識別番号の発行、検索可能なポータルサイトの設立、そして技術的、資金的援助等について、重要な役割を果たすことが期待されている。

3.8 どのようにコンプライアンスを確保するか

医療機関の視点からは、最終的には患者の福祉向上および被験者保護が目的であるとしても、研究者のプライオリティ、研究費、人事面等で競争が存在する場合に、いわゆる「囚人のジレンマ」という状態に陥って登録や公開に対して積極的とは言えない状況が発生し得る。ICMJEは、その声明が実効性を発揮するためには全ての専門誌の協力のみでは不十分であり、倫理審査委員会や個々の研究実施者の支持³¹⁾や、行政・立法レベルでの対応が必要⁵²⁾との考えを示している。強制的登録としては、研究費の助成にあたり登録を義務付けることや、登録の法制化などの方法が考えられるが、米国ではまず民主党が2004年10月に「臨床試験への正当なアクセス法案」を連邦議会に提案し、更に共和党から同様の提案がなされていることから、注目の必要である⁵²⁻⁵⁵⁾。

また、登録内容のバリデーションも重要である。ICMJEでは、国際的な登録システムの運営にあたっては各国または国際的な保健福祉機関により臨床試験が確実に存在することを確認する必要性を示している。

4. 医療機関・医療従事者からみた各関係者との連携

4.1 患者と被験者

臨床試験の登録・公開を考えると、被験者、患者、一般市民を対象として、わかり易い説明がまず必要であるが、そのためには生命予後、生活の質、費用対効果など、医療の質についてリスクとベネフィットを常に検討することが重要である。

「試験を実施することのリスク」は、被験者が対象となる。あらかじめ研究実施計画書を作成し、倫理審査委員会の承認を得ることや、インフォームド・コンセント、被験者保護の徹底¹²⁾など、目に見える形で説明がなされるようになりつつある。

「試験を実施しないことのリスク」は、患者が対象となる。国内未承認の薬剤をどんどん使いたいというニーズがある一方、試験を実施すべきとの声があれば埋もれてしまうリスクが存在する^{10~12)}ことから、疫学調査や臨床試験の重要性を説明する必要がある。

「試験を登録・公開しないことのリスク」は、被験者、患者、一般市民の全てが対象となる。ネガティブデータの取扱い^{30,31)}や出版バイアスの問題から医学的知識全体に対する信頼が問われているが、現時点では説明責任が果たされているとはいえない。

4.2 医療従事者

医療従事者は、医療の観点からは情報を検索・利用する立場、臨床研究の観点からは被験者に適切な情報提供を行ったりネガティブデータを発表したりする立場にあり、登録・公開システムに対して積極的な貢献が期待される。

しかしながら、現実社会においては、医療を提供するにあたり、エビデンスを知る(教育)、エビデンスを使う(診療)、そしてエビデンスを作る(臨床研究)ことのバランスは大変難しく、診療に忙殺される、研究のプライオリティや研究費をめ

ぐる競争、人事面での競合、企業の営業活動との兼ね合いなど、利益相反が存在しない人間はいない⁵⁶⁾ため、医療従事者の自発的な対応のみに期待することは難しい。

登録制度の実効性を高めるためには、研究助成や倫理審査委員会、更に医学雑誌投稿規程などがある程度強制力を持った指針の提示が期待され、医療や臨床研究を支援するための体制整備も必要と思われる。

4.3 医療機関

医療機関には、その理念として国民の健康と幸福のために疾患の究明と制圧に挑むこと、そして透明性と説明責任と高い倫理観を持つことが求められている。医療機関の長あるいは倫理審査委員会が、臨床試験の登録・公開を義務付けることには意義があると思われる。

実施医療機関の長は、臨床試験の実施や継続の可否を判断するにあたり、倫理審査委員会の意見を聴く必要がある。倫理審査委員会では、試験実施計画書、説明同意文書、被験者募集のための文書、利益相反に関連した資料、重篤な有害事象報告等を審査するが、最近ではWebサイトの妥当性をチェックすることも提言されている⁵⁰⁾。情報量が加速的に増加している一方で、審議の形骸化も指摘されており、米国科学アカデミーは被験者保護の観点から臨床試験の登録制度を提案している²⁰⁾。

今後、従来からの臨床試験受託支援体制(コーディネーター配備等)に加え、臨床研究を計画・運営するための支援体制(臨床疫学、生物統計学、データマネジメント、コアラボ、財政的支援など)を、医療機関の内部あるいは外部と協調して整備する必要がある⁴⁵⁾。

4.4 医学雑誌

医療機関は生涯教育の場でもあるが、医療従事者がその限られた時間で最新の医学知識を取得するために、医学雑誌の存在は必要不可欠である。

出版された論文の中には、非倫理的あるいは灰

色のものが存在することは以前より指摘されている⁵⁷⁾ものの、主要な医学雑誌が投稿規程として倫理指針遵守や被験者保護徹底を要求するようになったことは評価されており⁵⁸⁾、臨床試験の登録が実効性を高めるためにも同様の措置が期待されている³¹⁾。

ただし、出版バイアスの問題を根本的に解決するためには、量的および質的な問題についての検討が必要である。

量的な問題としては、主要な医学雑誌は高いインパクトファクター^{59, 60)}を維持するために、分子を大きく(=引用されそうな興味深い論文を優先)、分母を小さく(=掲載論文数を限定)する傾向があることから、掲載論文の絶対数が大幅に増えることは考えにくい。従って、Webによる試験結果公開など、情報通信技術の活用が期待される。

質的な問題としては、単なる登録・公開ではコンプライアンスやバリデーションといった問題が懸念されている。ピア・レビューのプロセスは重要であり、公開の時期、内容、著作権など、質の向上のために今後解決されるべき問題は多い。

4.5 学会・公的研究機関

医療従事者から見たとき、学会や公的研究機関には学術集会や教育セッションの開催とともに、診療ガイドライン作成や重点研究領域指定など、エビデンス作りやその普及において、重要な役割が期待されている。

米国医師会(AMA)は、米国医師会雑誌(JAMA)において臨床試験登録制度を推進するとともに、2004年6月には米国厚生省(DHHS)に対して臨床試験の包括的登録制度の設立とIRBによる登録を要請した³¹⁾。

米国心臓病協会(AHA)や米国心臓病学会議(ACC)では、各領域のリーダーによるコンセンサス会議を重ね、ピア・レビューを経て作成した診療ガイドライン⁶¹⁻⁶³⁾や臨床試験結果をWebサイトで公開している。

米国国立衛生研究所(NIH)では、NLMが

ClinicalTrials.govを運営しており、心肺血液研究所(NHLBI)では、外部委託研究費で運営されている臨床試験の情報を検索可能なWebサイトで公開している⁶⁴⁾。

わが国においても、医師会、各学会、そして公的研究機関等が、出版バイアスの解決に向けて協調することが期待される。

4.6 研究資金提供者

臨床研究を支えるものは人である。情報の流れやモノの流れを整理しつつ、試験の科学性、倫理性、信頼性を保つために、研究資金を確保し、適切に活用することが医療機関にとって大変重要である。

逆に、研究資金の提供者側から見た場合、どの領域に研究費をつけるべきか、どの程度必要か、どのように配分すべきか、そしてどのように評価するか、説明責任と透明性が重要な要素となる。

研究資金の提供者は、政府系・企業系・その他(財団等)の3つに大別され、それぞれ納税者・株主・各設立母体に対して説明責任を負う。最終的には生命予後・生活の質・費用対効果などどれだけ医療の質向上に貢献したかという評価が重要⁶⁵⁾だが、臨床試験結果の約半数は公開されていないという報告^{23, 24)}は、良いニュースとは言えない。

政府系(厚生労働科学研究費や日本医師会治験推進研究事業など)の研究助成制度は、全ての領域で企業による治験が実施されているわけではないことから、税金を投入することが妥当とされる研究領域にとっては大変重要なものである。臨床試験の登録と公開は、研究計画、進捗状況、結果の全過程を把握するために有用である。米国厚生省(DHHS)直轄のNIHでも、総予算約3兆円のほぼ9割を占める外部委託研究について、重点研究領域の決定、研究課題の公募、研究進捗状況、研究結果など、外部評価委員会を設けるとともにWebでも公開されている⁶⁵⁻⁶⁷⁾。

企業がスポンサーとなる臨床試験として、日本では企業主導型治験と市販後臨床試験が薬事法により定義されている。医薬品や医療機器の開発は

国際化が進み¹⁷⁾、いわゆる「治験の空洞化」¹⁸⁾も指摘されているが、医療機関では臨床試験の登録や公開を活用して世界の動向を知ることが必要となろう。実際に参加した場合、試験の結果得られる情報は「依頼者の同意なくしてこれを公表することは出来ない」旨契約に明記されていることがある。知的所有権保護、公共の福祉、守秘義務など種々の問題を内在するが⁶⁸⁾、治験依頼者による登録・公開が実現すれば、問題の多くが解決されると期待される。

その他(財団等)の助成は注目が必要である。欧米では多くの財団が学会や患者団体と協力しつつ臨床試験を支援している。英国医学研究協議会(MRC, <http://www.mec.ac.uk/>)は、がん、心臓病、エイズなどを中心に年間約30億円相当の出資をしているが、長期にわたる投資を正しく行うことを目的として、助成した比較臨床試験が全て登録されている⁶⁹⁾。現時点では、助成財団センター(<http://www.jfc.or.jp/>)の集計によると、わが国の財団の資産合計や助成事業費について、海外との差は大きい。しかしながら、平成15年に改正薬事法が施行され、臨床研究倫理指針も告示されたことにより、医師主導型治験や自主研究と呼ばれる臨床試験の定義がより明確になった⁴²⁻⁴⁵⁾ことや、いわゆる混合診療問題にともなう特定療養費制度の見直し等が行われつつあり、この形での臨床研究が実施可能になりつつある。医療機関としては、薬事法が市販後臨床試験と営業の明確な分離を求めていることを踏まえ、臨床試験と販売促進のけじめをつけるために試験の登録・公開制度の活用が期待される。

4.7 医療保険

わが国は国民皆保険制度の下にあり、医療機関において保険医療との関係を抜きに臨床試験を実施することは難しい。

健康保険法第44条で「高度先進医療又は選定療養に該当しない診療については保険給付の対象とならない」と定義され、療養担当規則第18条で保険医療機関及び保険医に対する「特殊診療の禁

止」が明記されている。有効かつ安全でない治療にはお金を無駄遣いしない、という観点からは、大変有意義な制度である。では、有効かつ安全であることを立証するにはどうしたら良いだろうか。

薬事法上の治験については、平成8年に医薬品が、平成14年には医療機器⁷⁰⁾が特定療養費制度の対象となり、医療保険(特定療養費)、患者自己負担、企業からの研究費(特定療養費支給対象外経費)の分担が明確に規定された。

現在、いわゆる「混合診療」問題が話題になっているが、未承認薬や適応外で使用されている薬剤の有効性・安全性を担保することが課題となっている。米国科学アカデミーの医学研究所では、臨床試験の被験者に対する通常のケアを医療保険で給付することの必要性に関する報告⁷¹⁾をまとめているが、その中で臨床試験登録の有用性を指摘している。

4.8 規制当局

医療機関から見た規制当局は、承認前には治験の円滑な実施と被験者保護を、申請中は有効性・安全性の適切な判断と公正な競争の促進を、そして市販後には安全性調査や市販後臨床試験の実施等による継続的な評価と添付文書等による安全性情報の提供など、大きな期待を担っている^{12, 72)}。

逆に、厚生労働省やFDAなど、各国の規制当局が国際整合化¹⁷⁾を進める過程で、日本の臨床研究を取り巻く環境にも『黒船』が訪れた形となり、科学性・倫理性・信頼性の向上が進みつつある。

臨床試験の登録について、米国ではFDA近代化法(1997年)をきっかけに、特に癌のランダム化比較試験に対する情報を求める消費者や医療関係者の要求に応える形で、データベース(ClinicalTrials.gov)が設立された。現在NLMが運用しており、癌、エイズ、その他の難病など、重要な臨床試験が、政府、民間のものを問わずに登録されている⁶⁹⁾。

わが国では、米国における国家研究法や被験者保護局(OHRP)に相当するものが存在せず、ま

ず薬事法により治験または市販後臨床試験に分類された試験については特定療養費制度の適用、活性化支援策、治験審査委員会整備などが充実してきた。今後、改正薬事法施行や臨床研究の倫理指針の告示をきっかけに、医師主導型治験やいわゆる自主研究と呼ばれる臨床試験についても実施体制の整備が期待されており⁴²⁻⁴⁵⁾、臨床試験の登録・公開や出版バイアス対策も、臨床研究全般を視野に入れた行政・立法レベルの対応を期待したい⁵²⁻⁵⁵⁾。

4.9 各登録システム

今後、種々の臨床試験登録システムが設立された場合、医療機関から見ると登録、検索、運営の3つの問題点がある。

まず、登録については、臨床研究を計画・運営する場合に必要なものであり、アクセスの頻度は多くないが、登録項目、更新時期、公開内容、コンプライアンスの確認、そして登録料など、本来の目的に沿って必要最小限に止め、登録者に負担がかからないシステムを期待したい。また、知的所有権や守秘義務などへの配慮も必要である。

検索については、臨床研究に限らず医療においても実施されるものであり、より幅広いユーザーを想定して使いやすいものが設立されることを期待したい。また、本来の目的である出版バイアスの軽減、倫理面の問題、そして被験者への適切な広報が達成できたかどうかを検証する仕組みも必要である。言語やキーワード、病名コードなど、今後解決すべき問題点も残されているものの、WHO等による固有識別番号の発行や統合的ポータルサイトの設立が実現すれば、少しでも改善の方向に進むことが期待される。

運営については、情報通信技術や業務手順書作成、バリデーションの実施など、設立や維持管理などで技術的支援や財政的支援が必要となろう。ICMJEでは、運営の最低条件として、コストが登録の障害とならないこと、経済的に立ち行かなくなっても勝手に消滅しないこと、運営は公開し、説明責任を果たすことを求めている。

5. 結語

生命予後、生活の質、費用対効果など、医療の質を向上させるためのエビデンス作りとして、質の高い臨床研究を実施することへの期待が高まっている。

臨床試験の登録・公開が話題になっているが、出版バイアスを軽減し、被験者への倫理的責任を果たし、適切な被験者募集を行うためには、情報通信技術の活用や産学官の連携、そして臨床研究支援体制の充実が必要である。

医療機関および医療従事者も、患者、被験者、一般市民へのわかり易い説明を含め、臨床試験の登録・公開に積極的に貢献すべきであると考えられる。

文 献

- 1) Gutmacher AE, Collins FS. Welcome to the Genomic Era. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 996-8.
- 2) Collins FS, et al. A vision for the future of genomics research. *Nature* 2003 ; 42 : 835-47.
- 3) Ommen GJB, et al. The human genome project and the future of diagnostics, treatment, and prevention. *Lancet* 1999 ; 354 (suppl) : SI 5-11.
- 4) Drews J. Drug Discovery : A Historical perspective. *Science* 2000 ; 287 : 1960-4.
- 5) 佐瀬一洋. Common Disease の遺伝子診断. *JIM* 2004 ; 14 : 118-23.
- 6) 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* 2002 ; 200 : 544-8.
- 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* 1989 ; 321 : 406-12.
- 8) Cohn JN, et al. A dose-dependent increase in mortality with vesnarinone among patients with severe heart failure. Vesnarinone Trial Investigators. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 1810-6.

- 9) Chung ES, et al. 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* 2003 ; 107 : 3133-40.
- 10) Drazen JM. COX-2 Inhibitors - A Lesson in Unexpected Problems. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : e058038 [cited 2005 Feb 15]. Available from : URL : <http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/NEJMe058038>
- 11) Psaty BM, et al. COX-2 Inhibitors - Lessons in Drug Safety. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : e058042 [cited 2005 Feb 15]. Available from : URL : <http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/NEJMe058042>
- 12) Topol E. Failing the Public Health - Rofecoxib, Merck, and the FDA. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 1707-9.
- 13) 世界医師会, 日本医師会, 訳. ヘルシンキ宣言 2002 年 10 月ワシントン注釈 [cited 2005 Feb 15]. Available from : URL : http://www.med.or.jp/wma/helsinki02_j.html
- 14) Buring JE. Contributions of Basic Research, Observational Studies, and Randomized Trials. In : Manson JE, et al, editors. *Clinical Trials in Heart Disease. A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd Ed.* USA : Elsevier ; 2004.
- 15) Fukui T. Contribution of Research in basic and Clinical Science in Japan. *Intern Med* 2002 ; 41 : 626-8.
- 16) Hashino Y, et al. Japan's Contribution to Research on Cardiovascular Disease. *Circ J* 2003 ; 67 : 103-6.
- 17) Normile D. U.S., Europe, Japan Look to Speed Up Drug Reviews. *Science* 2000 ; 287 : 1958-9.
- 18) 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. Available from : URL : <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/isei/chiken/kasseika.html>
- 19) Steinbrook R. Protecting research subjects-the crisis at Johns Hopkins. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 716-20.
- 20) Federman DD, et al, editors. Committee on Assessing the System for Protecting Human Research Participants. *Responsible Research : A Systems Approach to Protecting Research Participants.* National Academy Press ; 2002.
- 21) Gallin JI, 編. 井村裕夫, 監修. 竹内正弘, 他, 監訳. NIH臨床研究の基本と実際. 丸善 ; 2004. [Gallin JI, editors. *Principles and Practice of Clinical Research.* USA : Academic Press ; 2002.]
- 22) Freedman LS. Methodology of Randomized Trials. In : Manson JE, et al, editors. *Clinical Trials in Heart Disease. A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd Ed.* USA : Elsevier ; 2004.
- 23) Easterbrook PJ, et al. Publication bias in clinical research. *Lancet* 1991 ; 337 : 867-72.
- 24) Egger M, Smith GD. Bias in location and selection of studies. *BMJ* 1998 ; 316 : 61-6.
- 25) Freiman JL, et al. The importance of beta, the type II error, and sample size in the design and interpretation of the randomized control trial ; Survey of 71 "negative" trials. *N Engl J Med* 1978 ; 299 : 690-4.
- 26) Hetherington J, et al. Retrospective and prospective identification of unpublished controlled trials. Lessons from a survey of controlled trials. *Pediatrics* 1989 ; 84 : 374-80.
- 27) Egger M, Davey Smith G. Misleading meta-analysis. *BMJ* 1995 ; 310 : 752-4.
- 28) Antman EM, et al. A Comparison of Results of Meta-analyses of Randomized Control Trials and Recommendations of Clinical Experts : Treatments for Myocardial Infarction. *JAMA* 1992 ; 268 : 240-7.
- 29) 第 25 回日本臨床薬理学会年会シンポジウム 12. 臨床試験の登録と結果の公開 (ポジティブ, ネガティブを含めて). *臨床薬理* 2004 ; 35 (Suppl) : S100-S103.
- 30) 北沢京子. 臨床試験は事前に概要公開—有名医学雑誌が登録を掲載の要件に—, *日経メディカル* 2005 Jan ; 33.
- 31) 篠崎 規, 島崎由美, 訳. 臨床試験の公開登録制度—“無視されていたこと” から “すべて発表せざるを得ないこと” への大きな概念転換. *JAMA* <日本語版> 2004 Oct ; 54-8. [Rennie D. Trial Registration. A Great Idea Switches From Ignored to Irresistible.

- JAMA* 2004 ; 292 : 1359-62.]
- 32) 医学雑誌編集者国際委員会, *JAMA*日本語版編集部, 訳, 臨床試験の登録, *JAMA* <日本語版> 2004 Oct : 58-60. [International Committee of Medical Journal Editors. Clinical Trial Registration, *JAMA* 2004 ; 292 : 1363-4.]
 - 33) 斉尾武郎, 光石忠敬, 福島雅典, 訳, 臨床試験登録 : 医学雑誌編集者国際委員会の声明, 臨床評価 2005 ; 32 (1) : 145-7.
 - 34) Abbasi K. Compulsory registration of clinical trials. Will be a requirement before submission to the *BMJ* from July 2005 [Editorial]. *BMJ* 2004 ; 329 : 637-8.
 - 35) 中野真汎, 臨床試験結果を公開するWebsiteの開設, 臨床薬理 2004 ; 35 : 311-2.
 - 36) 日本製薬工業協会, 世界の製薬産業, 治験情報の登録と開示に関する共同指針に合意 (プレスリリース), 2005年1月12日 [cited 2005 Feb 1], Available from : URL : <http://www.jpma.or.jp/release/050113.html>
 - 37) 国際製薬団体連合会 (IFPMA), 治験情報の登録と開示に関する共同指針, 2005年1月6日, Available from : URL : <http://www.jpma.or.jp/release/pdf/050113j.pdf>
 - 38) Chalmers TC. Randomize the first patient. *N Engl J Med* 1977 ; 296 : 107.
 - 39) Savulescu J, Chalmers I, Blunt J. Are research ethics committees behaving unethically? Some suggestions for improving performance and accountability. *BMJ* 1996 ; 313 : 1390-3.
 - 40) 柳川敏彦, Ian Roberts, 津谷喜一郎, METAとは何か—未公表臨床試験を探す「アムネスティ」の試み—, 臨床評価 2000 ; 27 (3) : 503-8.
 - 41) National Library of Medicine, National Institute of Health. ClinicalTrials.gov [cited 2005 Feb 1]. Available from : URL : <http://www.clinicaltrials.gov/>
 - 42) 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.
 - 43) 佐瀬一洋, 薬事法改正と臨床研究の指針, 臨床医薬 2003 ; 19 : 1054-65.
 - 44) 佐瀬一洋, 医師主導の治験及び臨床試験, *Pharm Stage* 2003 ; 3 : 42-51.
 - 45) 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 : 877-87.
 - 46) Abbasi K. Mexico Summit calls for greater commitment to health research. *BMJ* 2004 ; 329 : 1258.
 - 47) International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN) [cited 2005 Feb 1]. Available from : URL : <http://www.controlled-trials.com/>
 - 48) 木内貴弘, 津谷喜一郎, 世界の中の日本の臨床試験登録公開システム設立へ, 臨床薬理 2004 ; 35 : 313-4.
 - 49) UMIN 臨床試験登録システム [cited 2005 Feb 15]. Available from : URL : <http://www.umin.ac.jp/ctr/index-jhtm>
 - 50) Office of Inspector General. U.S. Department of Health and Human Services. Clinical Trial Websites : A Promising Tool to Foster Informed Consent. Report No. OEI-01-97-00198, Washington, DC ; 2002.
 - 51) 栗原千絵子, EU臨床試験指令とイギリス臨床試験規則, 臨床評価 2004 ; 31 (2) : 351-422.
 - 52) Steinbrook R. Registration of Clinical Trials - Voluntary or Mandatory? *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 1820-2.
 - 53) Couzin J. Drug research. Legislators propose a registry to track clinical trials from start to finish. *Science* 2004 ; 305 : 1695.
 - 54) Meier B. A Top Republican to Offer Drug Data Bill. *The New York Times* 2004 Dec 10 ; Late Edition - Final ; Sect. C : 3 (col. 3).
 - 55) Meier B. Bill Aims to Force Drug Makers To Register Trials of Products. *The New York Times* 2004 Oct 8 ; Late Edition - Final ; Sect. C : 2 (col. 3).
 - 56) Berger VW, Ioannidis JPA. The Decameron of poor research. *BMJ* 2004 ; 329 : 1436-40.
 - 57) Beecher HK. Ethics and Clinical Research. *N Engl J Med* 1966 ; 274 : 1354-60.
 - 58) Altman D. Poor-Quality Medical Research : What Can Journals Do? *JAMA* 2002 ; 287 : 2765-7.
 - 59) Garfield E. How can impact factors be improved? *BMJ* 1996 ; 313 : 411-3.
 - 60) Garfield E. Impact factors, and why they won't go away. *Nature* 2001 ; 411 : 522.
 - 61) Field MJ, Lohr KN, editors. *Guidelines for Clinical Practice : From Development to Use*. Washington,

- DC : National Academy Press ; 1992.
- 62) Gibbons R, Smith S, Antman E. American College of Cardiology/American Heart Association clinical practice guidelines, part 1 : where do they come from? *Circulation* 2003 ; 107 : 2979-86.
- 63) Gibbons R, Smith SC Jr, Antman E. American College of Cardiology/American Heart Association clinical practice guidelines, part II : evolutionary changes in a continuous quality improvement project. *Circulation* 2003 ; 107 : 3101.
- 64) NHLBI. Clinical Trials/Studies Seeking Patients [cited 2005 Feb 15]. Available from : URL : <http://www.nhlbi.nih.gov/studies/index.htm>
- 65) McClellan MB, et al. Medicare Coverage of ICDs. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 222-4.
- 66) National Institute of Health. Overview of Research Activities. In : NIH The Nation's Medical Research Agency. NIH Publication Number : 04-5488. NIH Office of Communications and Public Liaison;2004.
- 67) NHLBI: Factbook, Fiscal Year 2003 [cited 2005 Jan 15]. Available from : URL : <http://www.nhlbi.nih.gov/about/factpdf.htm>
- 68) 光石忠敬. 臨床試験結果公表制限特約と試験者の法的責任. *臨床評価* 1973 ; 1 (2・3) : 137-8.
- 69) 金子善博, 津谷喜一郎. ランダム化比較試験の登録に関するロンドン会議報告. *臨床評価* 2000;27 (3) : 491-501.
- 70) 保険局医療課長通知. 「療担規則及び薬担規則並びに療担基準に基づき厚生労働大臣が定める揭示事項等」及び「選定療養及び特定療養費に係る厚生労働大臣が定める医薬品等」の制定に伴う実施上の留意事項について. 平成 14 年. 保医発第 0318001 号.
- 71) Aaron HJ, et al, editors. Committee on Routine Patient Care Costs in Clinical Trials for Medicare Beneficiaries, Institute of Medicine. *Extending Medicare Reimbursement in Clinical Trials*. Washington, DC : National Academy Press ; 2000.
- 72) 佐瀬一洋. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構. *Cancer Frontier* 2003 ; 5 : 126-30.

* * *

血 圧

別 刷

発行：株式会社 先端医学社
〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町2-17-8 浜町花長ビル

SNPによる網羅的解析

宮田敏行* 花田裕典**

* 国立循環器病センター研究所病因部, ** 同循環分子生理部

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子チームの高血圧サブグループ(リーダー:愛媛大学, 三木哲郎教授)は, 全国の14施設からなるオールジャパンの体制を整備し, ゲノム網羅的2段階SNPタイピングアプローチを用いて, 高血圧関連遺伝子の探索研究をおこなった。現在三次タイピングまで進んだ。遺伝子領域に特化した約10万カ所のSNPのゲノム網羅的タイピングによる高血圧遺伝子を同定する戦略は, 世界に類をみない規模であり, 新規の遺伝子を同定できるものと期待される。

はじめに

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトは, 2000(平成12)年から開始された5年間の省庁横断的なトップダウン型の超大型プロジェクトであり, 疾患関連遺伝子・薬剤反応性遺伝子を合わせて30以上発見するというような明確な実現目標が設定されたプロジェクトである。本プロジェクトは, ヒトの全ゲノム配列という莫大な情報を背景として, ヒトの病気の発生原因や発症メカニズムを根本から解明し, 高血圧, 糖尿病, 痴呆, がんといった従来の手法では解決することが困難であった疾患を克服することを目標として開始された。

本稿では, ミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子チーム・高血圧サブグループがおこなった高血圧のゲノム網羅的一塩基多型(SNP)解析の戦略を紹介する。本解析ははまだ道半ばなので, 結果をお示しできないことをあらかじめお断り申し上げる。

KEY WORD

一塩基多型(SNP), ゲノム網羅的解析

1. ゲノム網羅的SNP解析の背景

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトは, 「疾患遺伝子チーム」, 「ヒトゲノム多様性チーム」, 「バイオ・インフォマティクスチーム」, 「発生・分化・再生チーム」, 「イネゲノムチーム」の5チームから構成され, この研究を評価・助言会議が監督する構成をとっている。本プロジェクトはいくつかの省庁が関与しているが, 厚生省(当時)は, 「疾患遺伝子チーム」がおこなう高血圧, 糖尿病, 痴呆, がん, 喘息に関する疾患関連遺伝子研究に加え, 薬剤反応性遺伝子に関する解析研究を厚生省管轄下の国立がんセンターなどの高度先進医療センターに分担し研究する体制をとった。各研究実施施設では, 疾患の臨床情報を収集するとともに, 遺伝子多型のタイピングをおこない, 両者の相関を調べることを通して, 画期的新薬の開発や薬剤反応性遺伝子の解明にもとづくテーラーメイド医療の実現をめざす研究を開始した。

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトでは, 疾患遺伝子同定の戦略として, SNPを用い, 相関解析の手法を用いることが想定された。この戦略は, 候補遺伝子アプローチとゲノム網羅的アプローチという2つの補完する手法

表 1. 疾患遺伝子チームの genome scan の power 試算 (752 人で二次タイピング)

■前提:			
解析する SNP の数=100,000			
真に関連がある SNP の割合=0.001, 優性遺伝モデル			
SNP のアレル頻度=0.2			
有意水準=0.01 (第2段階では 0.05 で, かつ Bonferroni correction を適用)			
第1段階 症例=188, 対照=188×4=752			
第2段階 症例=752, 対照=752			
■試算:			
想定する SNP のオッズ比	2.0	1.7	1.5
第1段階 (本研究) の検出力	0.95	0.73	0.44
第1段階で有意になる SNP の期待数	1,094	1,073	1,043
第1段階で見逃す疾患関連 SNP の期待数	5	27	56
第1段階で残った真の疾患関連 SNP の期待数	95	73	44
第2段階 (より検証的な相関解析) の検出力	0.99	0.84	0.41
第2段階で同定される疾患関連 SNP の期待数	94	61	18

(Yoshida T *et al.*, 2003³⁾より改変引用)

を用いて進められた。ミレニアム・ゲノム・プロジェクトでは、「ヒトゲノム多様性チーム(中村祐輔チームリーダー・東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター)」が、2000~2001年の2年間で約20万のSNPを同定することを目標に研究が進行していた。このSNPをJSNPとよぶ。そこで、ミレニアム・ゲノム・プロジェクト評価・助言会議は、「ヒトゲノム多様性チーム」が同定したSNPを用いて、「疾患遺伝子チーム」が収集した疾患の試料を対象に、ゲノム網羅的なSNPタイピングによる相関解析をおこなうように指導・助言をおこない、多因子性疾患である5疾患(高血圧, 糖尿病, 痴呆, がん, 喘息)のゲノム網羅的SNP解析がスタートした。

2. ゲノム網羅的SNP解析のタイピング法

タイピングは、「ヒトゲノム多様性チーム」が開発した微量 Invader 法による高速タイピング法を用いた¹⁾。理化学研究所では Multiplex PCR 法や 384-microwell card, バーコードを用いる LIMS (実験管理システム) などの開発にもとづき、この高速タイピングを確立した。そして、その技術を国立がんセンターに移転し、両施設でタイピングの任にあたった。本法では 96 SNPs を 10 ng DNA でタイピングできるので、1 SNP あたり 0.1 ng DNA で遺伝子型を決定できる。対象となるタイピングされる SNP は、「ヒトゲノム多様性チーム」が遺伝子領域を 6 人の日本人の試料を用いてシークエンスすること

により同定した SNP (JSNP) である²⁾。この JSNP は遺伝子領域に存在する SNP であり、遺伝子の機能に影響を与える可能性が高いものと考えられる。JSNP の詳細は、http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/index_ja.html を参照していただきたい。

3. 高血圧サブチームによる一次および二次タイピング

疾患遺伝子チームの研究デザインは、高血圧患者と正常血圧者の患者対照研究とし、2段階のスクリーニングで候補となるSNPを絞る戦略が採用され、高血圧サブチームもこれに従った。この2段階からなるゲノム網羅的解析の予想検出力を表1に示す³⁾。

高血圧サブチームは全国の14施設からなる(愛媛大学・三木哲郎, 国立循環器病センター・友池仁暢, 千葉大学・羽田明, 国立国際医療センター・加藤規弘, 慶應義塾大学・猿田享男, 京都大学・中尾一和, 日本大学・相馬正義, 横浜市立大学・梅村敏, 名古屋大学・横田充弘, 滋賀医科大学・上島弘嗣, 大阪大学・荻原俊男, 自治医科大学・間野博行, 東京大学・山崎力, 東京医科歯科大学・木村彰方)。このサブチームで図1に示す基準で一次タイピングの高血圧患者試料, および二次タイピングの高血圧患者とコントロールに供する試料を収集した。一次タイピングの高血圧患者試料は, 家系内に高血圧患者がいる男性で, 肥満を除外 (BMI ≤ 25) するという高血圧発症に遺伝子の関与が高いと考えられる厳しい

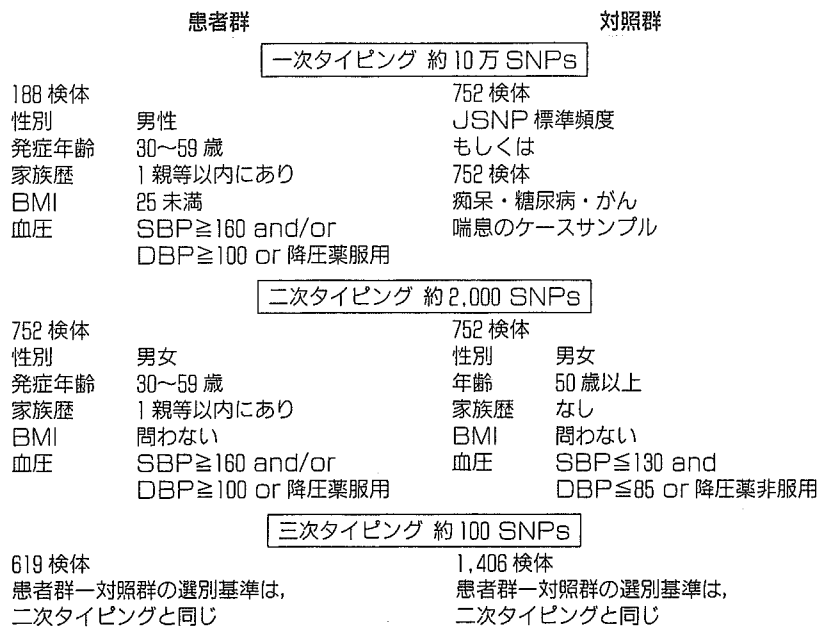


図 1. JSNP による網羅的解析の戦略
SBP：収縮期血圧，DBP：拡張期血圧

基準で収集した。二次タイピングの高血圧群も家系内に高血圧がみられる患者を対象とした。

一次タイピングは、高血圧・がん・痴呆・糖尿病・喘息という 5 疾患の各 188 人の患者（総計 940 人）を対象に、約 10 万ヶ所の SNP を横浜にある理化学研究所遺伝子多型研究センターにて 2002~2003 年におこなわれた。タイピングされた SNP を NCBI（米国立生物工学情報センター）から公開されているヒトゲノム完全配列の最新データ（Build 35.1）の情報にもとづいて再度染色体上にマップしたものを図 2 に示す。セントロメア領域（黒で表示）と非セントロメアヘテロクロマチン領域（点網かけで表示）以外のゲノム領域全体にわたってタイピングされていることが理解される。タイピングした SNP を染色体ごとに集計した（表 2）。解析した SNP サイトの分布は、翻訳領域および、その周辺に分布する JSNP サイトから選定していることを反映して、サイト間距離の分布の特性は染色体ごとに異なり、セントロメア領域を除いて、その平均値は 134~706 kb，中間値は 1.7~5.2 kb，平均値/中間値比は平均 12 で，平均値と中間値の差が大きく，狭い範囲に集中して分布していた。ちなみに，SNP サイトの分布に比較的偏りがない Affymetrix 100 K Mapping System では，サイト間距離の平均値 22 kb，

中間値 8.5 kb で，平均値/中間値比は 2.6 である。SNP サイトが 1 個以上解析された遺伝子数は約 14,000 個で，データベース上に登録されている遺伝子 32,746 個の 42.7%にあたる。Affymetrix 100 K Mapping System で解析できる SNP サイトは 11 万個以上であるが，それらに含まれる遺伝子数は 8,459，総登録遺伝子数の 25.8% であることとくらべて，本研究ではより多くの遺伝子が網羅的に解析できていることが判明した。

一次タイピングの結果は，国立がんセンターに送られ，基本的統計データ（対多疾患および対 JSNP で計算された対立遺伝子頻度，遺伝子型頻度，優性/劣性モデルの各オッズ比，連鎖不平衡度，ハーディワインベルグ平衡度など）が計算された。それらは国立循環器病センターに戻され，ついで「高血圧コンソーシアム（高血圧サブチーム）」に戻された。基本的統計データは国立循環器病センターでも検証した（表 3）。一次タイピングの SNP サイトのなかから，より高血圧に関連する SNP サイトを確定するために，二次タイピングをおこなう 2,378 SNP サイトが選定された。おもな基準は，①2 疾患以上で 90% 以上の検体で遺伝子型が決定できること，②対多疾患および対 JSNP の各オッズ比の向きが同じで，有意（オッズ比が 1.5 以上かつ p 値が 0.05 未満）であること，③ハー

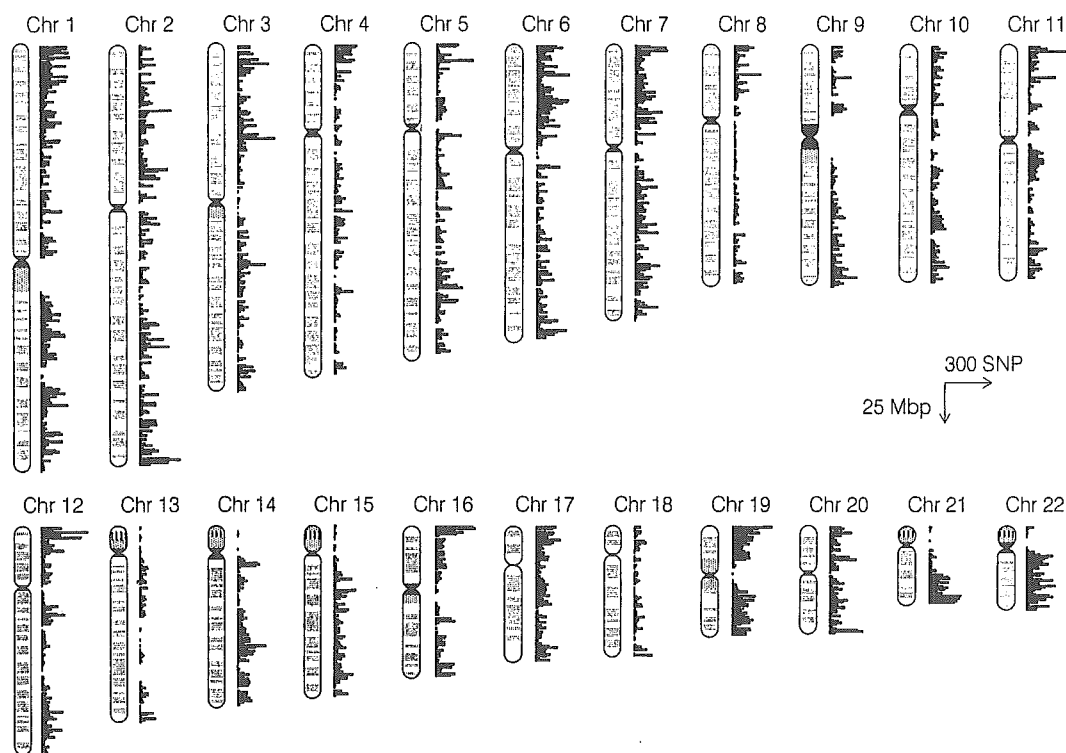


図 2. 一次タイピングの約 10 万 SNP 部位のヒストグラム

ヒストグラムの縦軸のバーの幅は 1 Mbp, 横軸はそのなかに含まれる SNP サイト数. イデオグラムの灰色は G バンド, 黒はセントロメア, 点網かけは非セントロメアヘテロクロマチン, 縦棒はリボゾーマル DNA.

ディワインベルグ平衡が p 値 0.01 で棄却されないこと, ④同じ遺伝子内で複数の有意な SNP サイトがあるときはオッズ比の高いほうを優先すること, などである.

二次タイピングは, 一次タイピングの結果から候補として絞り込まれた約 2,000 の SNP を, 752 人の高血圧患者と正常血圧者を対象に施行した. 高血圧患者と正常血圧対照者の基準は図 1 に示した. 二次タイピングの SNP の染色体上での分布は表 2 に示す. このタイピングは国立がんセンターでおこなわれた.

表 2. ゲノム網羅的にタイピングした SNP 数

染色体	一次タイピング		二次タイピング	
	解析数	遺伝子上の数	解析数	遺伝子上の数
1	9,931	1,396	231	129
2	8,656	956	215	107
3	6,041	789	200	104
4	3,935	522	75	48
5	5,283	659	116	101
6	7,454	841	178	87
7	7,033	714	128	61
8	2,870	437	48	33
9	3,339	534	92	53
10	3,768	551	77	47
11	4,243	791	133	85
12	4,480	721	131	68
13	1,569	244	37	21
14	3,456	502	81	49
15	2,789	440	82	45
16	3,314	575	100	63
17	3,916	770	96	61
18	2,498	209	54	31
19	4,259	948	110	75
20	3,020	405	63	38
21	2,083	162	43	22
22	3,116	394	86	49
X	1,859	414		
Y	44	14		

4. SNPを用いたゲノム網羅的解析の成果

これまでに, ゲノム網羅的 SNP 解析法で同定された代表的な疾患遺伝子を表 4 にまとめた. これらの多くは理化学研究所のグループがおこなった研究の成果である^{4)~7)}. 高血圧に用いた解析手法は, 基本的にはこれらに用いられた手法と同じである. 表 4 にあるように, ゲノム網羅的 SNP 解析法は, これまで疾患に関連するとは

表 3. 高血圧 188 人と他疾患患者 940 人を用いたスクリーニングの p 値の分布

p 値	allele 1 vs 2	dominant 22 vs 11+12	recessive 11 vs 22+12
≥0.1	70,346	65,912	64,332
<0.1	7,603	6,894	6,692
<0.01	843	685	646
<0.001	94	66	107
<0.0001	28	33	35
<0.00001	22	28	33
<0.000001	19	20	16
<0.0000001	208	130	91
Total	79,163	73,788	71,952

計算は n を考慮していないので、きわめて小さい p 値をもつものがある。

考えられていなかった遺伝子を同定できる方法であることが実証された。また、ごく最近 Affymetrix 社製のチップを用いたゲノム網羅的 SNP 解析による遺伝子の単離が発表された⁸⁾。この研究では、Affymetrix GeneChip Mapping 100 K Set が用いられた。これを用いて 105,980 SNPs がタイピングされ、病因遺伝子が同定された。今後、ゲノム網羅的 SNP 解析法が広く用いられるようになるであろう。

おわりに

高血圧に関わる遺伝子をゲノム網羅的 SNP タイピング法を用いて同定する戦略を紹介した。成果を得るには今しばらくの時間が必要であるが、本プロジェクトを推進するにあたり、オールジャパンの研究推進体制が整備されたことは、今後の研究にとって大きな収穫の一つである。ミレニアム・ゲノム・プロジェクトは 2005 (平成 17) 年 3 月末をもって終了したが、高血圧サブグループ

表 4. ゲノム網羅的 SNP 解析で同定された代表的な疾患遺伝子

疾患名	遺伝子
心筋梗塞 ¹⁾	lymphotoxin- α (<i>LTA</i>)
関節リウマチ ⁵⁾	peptidylarginine deiminase type 4 (<i>PADI4</i>)
	solute carrier family 22 member 4 (<i>SLC22A4</i>)
糖尿病性腎症 ⁶⁾	solute carrier family 12 member 3 (<i>SLC12A3</i>)
変形性関節症 ⁷⁾	calmodulin 1 (<i>CALM1</i>)
IgA 腎症	polymeric immunoglobulin receptor (<i>PIGR</i>)
	immunoglobulin micro-binding protein 2 (<i>IGHMBP2</i>)
加齢黄斑変性 ^{*,8)}	complement factor H (<i>CFH</i>)

* age-related macular degeneration

は活動を続けるということである。また、本プロジェクトを進めるにあたり、タイピング試料を提供して下さった施設の先生方に心より感謝いたします。また、膨大な量のタイピングをして下さった理化学研究所および国立がんセンターに感謝いたします。

※※※※

文献

- 1) Ohnishi Y *et al* : *J Hum Genet* **46** : 471, 2001
- 2) Hirakawa M *et al* : *Nucleic Acids Res* **30** : 158, 2002
- 3) Yoshida T *et al* : *Proc Japan Acad* **79 B** : 34, 2003
- 4) Ozaki K *et al* : *Nat Genet* **32** : 650, 2002
- 5) Suzuki A *et al* : *Nat Genet* **34** : 395, 2003
- 6) Tanaka N *et al* : *Diabetes* **52** : 2848, 2003
- 7) Mototani H *et al* : *Hum Mol Genet* **14** : 1009, 2005
- 8) Klein RJ *et al* : *Science* **308** : 385, 2005