

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

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

平成 19 年度 総括・分担研究報告書

平成 20 (2008) 年 4 月

主任研究者 河野雄平
(国立循環器病センター)

目 次

I. 総括研究年度終了報告

- 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 1
国立循環器病センター 内科部長 河野 雄平

資 料：研究協力施設リスト、登録票、調査票（１）（２）、中止・脱落報告票、
ポスター 5

II. 分担研究報告

1. 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 11
- 高血圧感受性遺伝子としての protein tyrosine kinase 2 β 遺伝子多型の重
要性 -
国立循環器病センター 病院長 友池 仁暢
2. 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 13
- カルシウム拮抗薬の降圧効果関連遺伝子多型の同定：統報 -
国立循環器病センター 内科高血圧腎臓部門 医員
神出 計
3. 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 16
「ゲノム時代の臨床研究とイノベーション支援体制」
- 分子診断技術の進歩と体外診断用医薬品（IVD）の国際統合化（第2報） -
順天堂大学臨床薬理学 教授 佐瀬 一洋
4. 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 19
- 候補遺伝子アプローチによる降圧剤感受性遺伝子同定の戦略 -
国立循環器病センター研究所 病因部 部長 宮田 敏行
国立循環器病センター 内科高血圧腎臓部門 特任研究員
松本 幸子
5. 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 22
- 遺伝子解析、遺伝子診断システムの開発 -
国立循環器病センター研究所 循環分子生理部 室員 花田 裕典

6.	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	26
	- GEANE 研究の解析に関する研究 -	
	国立循環器病センター研究所 病因部 室員	嘉田 晃子
7.	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	28
	- 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) -	
	大阪大学大学院 医学系研究科老年・腎臓内科学 講師	勝谷 友宏
8.	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	30
	日本大学 医学部 内科学系総合内科科学分野 教授	相馬 正義
9.	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	32
	九州大学大学院 医学研究院 臨床薬理学 教授	笹栗 俊之
10.	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	34
	国立病院機構九州医療センター 内科医長	土橋 卓也
11.	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	36
	- 高齢高血圧女性の血中アディポネクチン値に与えるオルメサルタンの作用 -	
	金沢医科大学 高齢医学科 教授	森本 茂人
12.	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	40
	愛媛大学大学院 病態情報内科学講座 教授	檜垣 實男
	愛媛大学大学院 病態情報内科学講座 准教授	大蔵 隆文
12.	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	45
	愛媛大学 医学部 加齢制御内科 教授	三木 哲郎
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	51
IV.	研究成果の刊行物・別刷り	57

I. 総括研究報告

厚生科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
主任研究報告書

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

主任研究者 河野 雄平 国立循環器病センター内科高血圧腎臓部門 部長

研究要旨:降圧薬の降圧効果ならびに副作用に関与する遺伝子多型を同定し、臨床の現場に導入することより遺伝子情報に基づく高血圧個別化診療が可能になる。これを実現するために、降圧薬感受性遺伝子同定を目的とした前向き多施設臨床試験（GEANE 研究:UMIN-CRT-C000000119）を平成 17 年より開始した。高血圧患者を対象に 3 種類の降圧薬（サイアザイド系利尿薬、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬、ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬）投与をクロスオーバーで行い、血圧や副作用などの情報と遺伝子多型をゲノム網羅的ならびに候補遺伝子法にて調べ、主要降圧薬の降圧効果、副作用に関わる一塩基多型（SNP）を明らかにするものである。目標の 150 例を超える症例が登録され、遺伝子解析が終了した。

分担研究者名

三木哲郎 愛媛大学医学部 教授

友池仁暢 国立循環器病センター
病院長

神出 計 国立循環器病センター
医員

佐瀬一洋 順天堂大学 教授

宮田敏行 国立循環器病センター
研究所 部長

花田裕典 国立循環器病センター
研究所 室員

嘉田晃子 国立循環器病センター
室員

荻原俊男 大阪大学大学院 教授

相馬正義 日本大学医学部 教授

笹栗俊之 九州大学大学院 教授

土橋卓也 国立病院機構九州医療センター
医長

森本茂人 金沢医科大学医学部 教授

檜垣實男 愛媛大学医学部 教授

A. 研究目的

高血圧とくにその大部分を占める本態性高血圧の成因や病態に、種々の遺伝子が関与することが明らかにされつつある。遺伝的要因はまた、高血圧の非薬物および薬物治療においても影響していると考えられる。薬物治療が高血圧患者の予後を改善することは証明されているが、降圧薬の効果や副作用には個人差が大きく、それぞれの症例に適した個別的治療の確立は重要な課題であると考えられる。

降圧薬の効果ならびに副作用に関与する遺伝子の多型を同定し、これを迅速に調べるシステムを臨床の現場に導入することにより、遺伝子情報に基づく高血圧個別化診療を実現することが本研究の最終目標である。最終年度にあたる平成 19 年度は GEANE 研究

の症例登録を完了し、特に全遺伝子網羅的解析(DNA マイクロアレイ)ならびに降圧薬関連遺伝子(CYP, トランスポーターなど)を候補遺伝子法にて解析をし、臨床情報との突合せから臨床的に大変重要な3種の降圧薬(サイアザイド系利尿薬、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬、カルシウム拮抗薬)に関連する遺伝子多型を同定を進めることである。

B. 研究方法

対象は国立循環器病センター高血圧腎臓内科ならびに共同研究施設に受診中の本態性高血圧患者のうち血圧が収縮期血圧140mmHg以上180mmHg未満、拡張期血圧90mmHg以上110mmHg未満の軽症から中等症までの症例を対象とする。エントリー時に降圧薬の効果ならびに副作用に関する遺伝子多型の同定を目的とした研究であることを説明し、インフォームド・コンセント取得後1-2カ月は観察期とし、この間に血圧測定、遺伝子ならびに副作用評価のための血清カリウムや血糖、脂質、尿酸などを含む採血を施行する。その後、無作為交叉法により、サイアザイド系利尿薬(インダパミド1-2mg)、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬(バルサルタン40-80mg)、カルシウム拮抗薬(アムロジピン2.5-5mg)を用いての単剤治療を各3カ月行う。各薬剤は、はじめの1カ月間は少量を、次の2カ月間は通常用量を内服させる。各治療期の終了時に生化学検査採血を施行し、血圧測定は外来と家庭の両方を用い、増量後の2カ月の平均値で評価する。観察期を含め計10-11カ月で試験を終了する。遺伝子解析はDNA マイクロアレイ法による全染色体領域にわたる

50万 SNP ならびに3種降圧薬の薬理作用に関わりの深いと考えられるレニン・アンジオテンシン関連遺伝子や水・電解質代謝関連遺伝子などや薬物代謝酵素(CYP)やトランスポーター関連遺伝子を含む、120の候補遺伝子多型である。候補遺伝子の多型の決定はTaqMan PCR法を用いる。解析は匿名化された遺伝情報ならびに臨床情報を合わせて、国立循環器病センターならびに各共同研究施設、さらにゲノム統計の専門に行っている統計数理研究所で分担して行う予定である。症例登録は平成18年度末(平成20年3月31日)までで目標症例数は150例であった。

(倫理面への配慮)

倫理委員会で審議を受け平成17年8月日承認されている。また研究分担施設ならびに研究協力施設も各施設の倫理審査委員会ならびに倫理委員会を有さない施設においては国立循環器病センター倫理委員会での承認を受けて試験を開始している。遺伝子採血後に検体はすべて匿名化し、連結可能匿名化方式にて臨床情報と合わせて解析を行う。共同研究施設の検体もすべて匿名化後に国立循環器病センターに集め、遺伝子解析を行ってきた。また降圧薬投与中には患者の体調に配慮し、副作用を疑う臨床的兆候を認めた場合は試験を中止する。

C. 研究結果

研究参加施設は全部で24施設に増えた。平成19年3月31日までに全体で目標症例数を超える154名の症例がエントリーされた。うち19例は中止・脱落例を含んでいる。そのほとんどが患者の転居や同意の撤回などによるものであったが、1例のみインダ

パミド内服により動悸などの症状を訴え試験が中止になった例があった。薬剤の中止により症状は軽快した。その他の登録例の経過は特に臨床的に問題なく順調に経過した。146例のDNA提供があり、遺伝子解析はDNAマイクロアレイ法(Affymetrix社製)を用いた50万SNPのゲノム網羅的解析を中心に行い、97%以上のコールレートを維持できるプロトコルを確立し、全症例でタイピングを終了した。またTaqMan法で行った120の候補遺伝子多型による解析も全例で終了した。平成20年3月に最終登録患者の観察が終了し、臨床データベースも完成した。現在は遺伝子情報データベースと臨床情報データベースを連結し、ゲノム情報解析の統計家も交え得最終の解析を施行している。

D. 考察

GEANE研究は、降圧薬の効果ならびに副作用に関連する遺伝子多型を同定するための世界的にみても類をみないクロスオーバー法を用いた初めての前向き多施設共同研究である。本研究において用いられる降圧薬は、いずれも高血圧治療ガイドラインにおいて推奨されている主要降圧薬であるが、それらの薬効や副作用にはかなりの個人差が認められている。しかも本研究ではゲノム網羅的に50万SNPsを調べる方法を施行しており、それぞれの降圧薬に特異的な感受性遺伝子や副作用関連遺伝子多型が同定されることが期待される。また、これらの多型を簡便にかつ迅速にタイピングできる遺伝子多型診断キットを独自に開発し、さらにこの検査システムを用いて降圧薬の選択を行い、従来からのガイドラインに従っ

て降圧薬を選択した場合と比較する前向き臨床試験(GEANE2研究)を施行することを計画している。本研究の成果は、遺伝子情報を基にした高血圧の個別化治療(テーラーメイド治療)の確立に寄与すると考えられる。

E. 結論

降圧薬感受性遺伝子同定のための前向き多施設臨床試験(GEANE研究)を施行した。本研究の成果が遺伝子情報を基にした高血圧の個別化治療の確立に寄与することが期待される。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yasuda H, Kamide K, Takiuchi S, Matayoshi T, Hanada H, Kada A, Yang J, Miwa Y, Yoshii M, Horio T, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Tei C, Miyata T, Kawano Y. Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens* 21:883-892, 2007.
- 2) Banno M, Hanada H, Kamide K, Kokubo Y, Kada A, Yang J, Tanaka C, Takiuchi S, Horio T, Matayoshi T, Yasuda H, Nagura J, Tomoike H, Kawano Y, Miyata T. Association of genetic polymorphisms of endothelin converting enzyme-1 gene with

hypertension in a Japanese population and rare missense mutation in preproendothelin-1 in Japanese hypertensives. *Hypertens Res* 30:513-520, 2007.

- 3) 神出 計, 河野雄平: オーダーメイド医療(SNPを含む) 高血圧ナビゲーター 第2版 熊谷裕生, 小室一成, 堀内正嗣, 森下竜一 編 メディカルレビュー社 74-75, 2007.

2. 学会発表

- 1) Kawano Y: Bio-molecular and genetic markers for vascular disease. 4th Korean Vascular Research Symposium (Special lecture), 2008年3月, Seoul, Korea
- 2) Kamide K, Miyata T, Tomoike H, Kawano Y: Pharmacogenomic approaches targeted on the tailor-made medicine for hypertension. 第72回日本循環器学会総会(プレナリーセッション), 2008年3月, 福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

(GEANE 研究資料)

研究協力施設リスト

登録票

調査票(1)(2)

中止・脱落報告票

ポスター

研究協力施設一覧表

	研究協力施設名	協力者氏名
1	札幌医科大学第2内科	島本和明、宮崎義則
2	獨協医科大学循環器内科	石光俊彦
3	国立病院機構静岡医療センター内科	小嶋俊一
4	京都工場保険会診療所	武田和夫
5	川崎医科大学腎臓内科	富田奈留也、駒井則夫
6	済生会呉病院内科	松浦秀夫
7	宮崎大学医学部第1内科	加藤丈司
8	国立病院機構長崎神経医療センター内科	品川達夫、吉田和朗
9	北九州市立若松病院内科	阿部 功
10	国立病院機構福岡東医療センター内科	上野道雄、片淵律子
11	香川大学医学部第2内科	細見直永
12	東京大学医学部腎臓内分泌内科	下澤達雄
13	医療法人 文杏堂 杉病院 内科	杉 東明
14	和光堂 一本松病院 内科	林田 隆晴
15	東宝塚さとう病院	佐藤尚司 滝内 伸
16	勝谷医院	勝谷積治
17	統計数理研究所	藤田利治、江口真透
18	日赤長崎原爆病院	品川達夫

GEANE 研究：登録票

送付先： 国立循環器病センター 臨床研究センター内 GEANE 研究事務局
大阪府吹田市藤白台5-7-1(〒565-8565)

FAX: 06-6872-6371

送付日： 年 月 日

施設名： FAX:

担当医氏名：

施設内認識番号： 年齢： 歳 男 ・ 女

同意取得日： 年 月 日

投薬開始予定日： 年 月 日

選択・除外基準

- | | | |
|------------------------------------|-----|-----|
| 1. 利尿薬、AII 受容体拮抗薬、Ca 拮抗薬を使用できる。 | はい | いいえ |
| 2. 遺伝子解析に同意している。 | はい | いいえ |
| 3. 血圧値が 180/110mmHg 以上を示す重症高血圧である。 | いいえ | はい |
| 4. 妊娠、出産の可能性がある。 | いいえ | はい |
| 5. その他担当医が不相当と判断した。 | いいえ | はい |

GEANE 研究:調査票(1)

送付先	GEANE 研究事務局	FAX	06-6872-6371
登録番号		登録日	年 月 日
調査日	年 月 日		
施設名		担当医名	

◆対象者情報

年齢	才	性別	M	F	身長: cm	体重: kg
高血圧治療歴		<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり				
合併症	高脂血症	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり				
	糖尿病	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり				
	高尿酸血症	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり				
	心血管疾患	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり				
	腎障害	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (血清 Cre mg/dl)				
その他	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり					
生活習慣	飲酒	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 時々 <input type="checkbox"/> ほぼ毎日(30ml/日まで) <input type="checkbox"/> ほぼ毎日(30ml/日超)				
	喫煙	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 以前にあり				
使用薬剤	抗高脂血症薬	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 薬剤名()				
	抗糖尿病薬	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 薬剤名()				
	抗高尿酸血症薬	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 薬剤名()				
	抗血小板・抗凝固薬	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 薬剤名()				
	他の循環器系作用薬	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 薬剤名()				

◆高血圧家族歴

	父	母	兄弟 (人)	父方 祖父	父方 祖母	母方 祖父	母方 祖母	父兄弟 (人)	母兄弟 (人)	子 (人)
高血圧										
心臓病										
脳卒中										
糖尿病										

◆終了後薬剤

アムロジピン バルサルタン インダパミド その他() 併用薬()

GEANE 研究:調査票(2)

		観察期	3ヶ月後	6ヶ月後	9ヶ月後
調査日		年 月 日	年 月 日	年 月 日	年 月 日
副作用		<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()
中止・脱落		<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり()
使用薬剤		降圧薬以外 ()	A アムロジピン B バルサルタン C インダパミド	A アムロジピン B バルサルタン C インダパミド	A アムロジピン B バルサルタン C インダパミド
血 圧	初期量外来血圧 収縮期/拡張期/脈拍	/ / /	/ / /	/ / /	/ / /
	○外来血圧 収縮期/拡張期/脈拍	/ / /	/ / /	/ / /	/ / /
	家庭血圧(3日平均朝)	/ / /	/ / /	/ / /	/ / /
	(夜)	/ / /	/ / /	/ / /	/ / /
心電図	SV1+RV5=	mm	mm	mm	mm
	ST-T 低下	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	不整脈	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり() 他()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり() 他()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり() 他()	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり() 他()
○尿 蛋白		<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
○血液	Cholesterol	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	Triglyceride	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	HDL-C	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	Glucose	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	BUN	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	Creatinine	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	Uric acid	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	K	mEq/l	mEq/l	mEq/l	mEq/l
	※PRA	ng/ml/h	ng/ml/h	ng/ml/h	ng/ml/h
	※PAC	ng/dl	ng/dl	ng/dl	ng/dl
	HbA1c	%	%	%	%
	IRI	μU/ml	μU/ml	μU/ml	μU/ml
心エコー	LVDD	mm	mm	mm	mm
	LVSD	mm	mm	mm	mm
	IVS	mm	mm	mm	mm
	PW	mm	mm	mm	mm
尿アルブミン(随時尿)		mg / gCr	mg / gCr	mg / gCr	mg / gCr
脈波速度(baPWV)		右 cm / s 左 cm / s	右 cm / s 左 cm / s	右 cm / s 左 cm / s	右 cm / s 左 cm / s
症状	頭痛・頭重	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	めまい・ふらつき	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	倦怠・脱力	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	動悸・息切れ	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	腹痛・腹部不快	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	便秘	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	下肢浮腫	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
	その他				

○印は必須項目

※PRA、PAC はバルサルタン、インダパミド投与後は測定

GEANE 研究:中止・脱落報告票

送付先	国立循環器病センター 臨床研究センター 内 GEANE 研究事務局 〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1 FAX:06-6872-6371
-----	---

送付日	年 月 日
-----	---

施設名		FAX	
担当医 氏名			
登録番号			
中止・脱落日	年 月 日		
〔 理 由 〕			

GEANE研究

Gene Evaluation for ANtihypertensive drug Effect Study

高血圧の予防・治療のための前向き多施設臨床試験
 当院は、降圧薬の効果・副作用に関わる遺伝子を探索するGEANE研究に参加しています

降圧薬の効き目にはひとりひとりで差があり、遺伝的な要因も関係していると考えられます。本研究では3種類の降圧薬を順番に内服して頂いて、その効果と遺伝子の関係を調査します。軽症～中等症の高血圧の方にご参加をお願いしています。

ご関心のある方は担当医にご相談ください

高血圧における遺伝因子の影響



研究責任者
 国立循環器病センター内科高血圧腎臓部門 部長 河野雄平
 医師 神出 計

GEANE研究は遺伝子研究「ミレニアム・ゲノム・プロジェクト」の一環として始まり、現在厚生労働科学研究として行われている。降圧薬の効果・副作用に影響を与える遺伝子を発見する事を目的とした研究です。本研究は国立循環器病センターの倫理委員会で承認されています。

高血圧は最も多い生活習慣病で、循環器病の重要な危険因子です。高血圧治療が脳卒中や心筋梗塞等の予防に有効である事も確かめられています。降圧薬の効き目や副作用を事前に予測できるようになれば、現在よりも効率的な高血圧診療が可能になります。

- 国立循環器病センター
 共同研究施設・機関
- 国立病院機構九州医療センター 腎・高血圧内科
 - 大阪大学 老年・腎臓内科
 - 日本大学 腎臓内分泌内科
 - 九州大学大学院 臨床薬理学
 - 金沢医科大学 高齢医学
 - 愛媛大学医学部 老年医学
 - 愛媛大学医学部 第二内科
 - 札幌医科大学 第二内科
 - 獨協医科大学 循環器内科
 - 国立病院機構静岡医療センター
 - 京都工場保健会診療所
 - 川崎医科大学 腎臓内科
 - 一本松病院(福岡県)
 - 杉病院(福岡県)
 - 済生会呉病院
 - 宮崎大学 第一内科
 - 国立病院機構長崎神経医療センター
 - 若松病院
 - 国立病院機構福岡東医療センター
 - 東京大学 腎臓・内分泌内科
 - 香川大学 循環器・腎臓・脳卒中内科
 - 東宝塚さとう病院(兵庫県)
 - 勝谷医院(兵庫県)

II. 分 担 研 究 報 告

厚生科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業） 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 -高血圧感受性遺伝子としてのprotein tyrosine kinase 2 β 遺伝子多型の重要性

分担研究者 友池仁暢 国立循環器病センター病院長

研究要旨:降圧薬の効果ならびに副作用に関与する遺伝子多型を同定し、臨床の現場に導入することより遺伝子情報に基づく高血圧個別化診療が可能になる。降圧薬の効果に関連する遺伝子多型は血圧調節に関わることが予測されるため、高血圧の原因遺伝子である可能性がある。我々はアンジオテンシンIIなど血圧調節において非常に重要となる血管作動性ペプチドの情報伝達分子に注目し、その遺伝子多型と高血圧の関連を調べて来た。本年度はprotein tyrosine kinase 2 β 遺伝子(*PTK2B*)多型の一般住民における高血圧への関連を調べた。*PTK2B*をダイレクト・シーケンスし、一塩基多型(SNP)を同定した。同定された62SNPsのうち頻度・連鎖不平衡を考慮し、最終的に6SNPsを3655名の地域住民コホートで遺伝子型のタイピングを行った。この結果1つのハプロタイプで高血圧の頻度ならびに多型間の血圧値にも有意な差を認めた。したがって*PTK2B* 遺伝子多型は高血圧関連多型であり、この遺伝子多型は降圧薬感受性にも関与する可能性があるため、本研究にても候補遺伝子多型として検討する必要があると考えられる。

A. 研究目的

高血圧診療の個別化医療を確立するために、最も実現化が近いと考えられる降圧薬感受性遺伝子多型の同定が本研究の主目的である。このため我々は前向き研究(GEANE 研究)を推進しているが、高血圧感受性遺伝子多型は降圧薬の効果に関与する可能性が高い。そのため我々はミレニアム遺伝子研究以後、継続して高血圧感受性遺伝子多型の同定を続けている。今回は高血圧に関連することが予測されるアンジオテンシンIIの情報伝達分子の一つであるprotein tyrosine kinase 2 β 遺伝子(*PTK2B*)の多型に注目し高血圧感受性遺伝子多型の同定を試みた。

B. 研究方法

対象は国立循環器病センター循環器病予防検診部門にて行われている地域住民コホート研究に参加中の検診者でインフォームド・コンセンートの得られた3655名(男性1709名、女性1946名)。検診では血圧、身長、体重、喫煙歴、血清脂質、糖代謝などの一般的な項目を調べている。検討対象とした*PTK2B* 遺伝子は強力な昇圧ペプチドであるアンジオテンシンIIの情報伝達に関わるリン酸化蛋白である。48人の高血圧患者で*PTK2B* をプロモーター領域から全エクソンならびにその近傍イントロンをダイレクト・シーケスし、一塩基多型(SNP)を同定した。この中でマイナー・アレル頻度が5%以上、連鎖不平衡を考慮して6SNPsを選びTaqMan法にて全対象者の遺伝子型を決定した。

(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。検体はすべて連結可能匿名化方式にて臨床情報と合わせて解析を行った。

C. 研究結果

血圧への影響が考えられる交絡因子を補正した多重ロジスティック回帰分析で5' UTRに存在する-22A>G(rs2241649)が男性において高血圧と有意な相関を示した(AA vs. AG+GG: odds ratio=1.27; 95% confidence interval: 1.02-1.57; p=0.030)。このSNPと連鎖不平衡にある113kb離れたエクソン31に存在するミスセンス変異53484A>C(K838T: rs751019)も男性で高血圧と有意な関連を示す傾向を認めた(p=0.059)。このK838Tではアレル間の拡張期血圧に1.6mmHgの有意な差が認められた(p=0.003)。このミスセンス変異はPTK2Bの機能変化に関与する可能性があるため、PTK2B蛋白の細胞内での局在についてワイルドタイプと変異型T838でAng II刺激前後で調べたが明らかな差を認めなかった。

D. 考察

日本人一般住民においてPTK2B遺伝子多型のハプロタイプは本態性高血圧の病態に関連していると考えられた。さらに詳細な機能解析が必要となるが、PTK2BはアンジオテンシンIIの細胞内情報伝達に関与する分子であるため新しい降圧治療薬のターゲットになる可能性も示唆される。

E. 結論

日本人一般住民においてPTK2B遺伝子多型のハプロタイプは本態性高血圧の原因遺伝素因の一つである可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kamide K, Kokubo Y, Fukuhara S, Hanada H, Yang J, Kada A, Nagura J, Takiuchi S, Horio T, Kawano Y, Okayama A, Tomoike H, Miyata T. Protein tyrosine kinase 2 β as a candidate gene for hypertension. *Pharmacogenetics and Genomics* 2007;17:931-939.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業） 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 —カルシウム拮抗薬の降圧効果関連遺伝子多型の同定・続報—

分担研究者 神出 計 国立循環器病センター内科高血圧腎臓部門 医員

研究要旨：降圧薬の効果ならびに副作用に関与する遺伝子多型を同定し、臨床の現場に導入することより遺伝子情報に基づく高血圧個別化診療が可能になる。これを実現するために、我々は降圧薬感受性遺伝子同定のための前向き多施設臨床試験（GEANE 研究）を進めている。昨年度より GEANE 研究に関連した解析として GEANE でも使用されているジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬の降圧効果に関与する遺伝子多型をカルシウムチャンネル遺伝子に注目し、候補遺伝子アプローチにて同定を試みており、本年は遺伝子多型の相加効果の検討を加えた。

A. 研究目的

高血圧診療の個別化医療を確立するために、最も実現化が近いと考えられる降圧薬感受性遺伝子多型の同定が本研究の主目的である。このための我々は前向き研究（GEANE 研究）を推進しているが、後ろ向き研究で GEANE にも使用されているジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬（CCB）の降圧効果に関わる遺伝子多型の同定を試みた。さらに関連多型を複数有する場合の検討を行った。

B. 研究方法

対象は CCB を処方された本態性高血圧患者 161 人（男性 85 人、女性 76 人）で、内服前、内服後 3 カ月の血圧を平均し降圧効果を検討した。遺伝子多型はカルシウムチャンネルで特に CCB の降圧に関与する可能性の高いサブユニット α_1C （CACNA1C）と α_1D （CACNA1D）遺伝子を検討した。CACNA1C はプロモーター領域から全コーディング領域をダイレクト・シークエンスすることに

より一塩基多型（SNP）を同定し、それぞれ両アレル頻度 5%以上の SNP に対して TaqMan PCR 法でタイピングを施行した。また CACNA1D は両アレル頻度が 5%以上の SNP を公開データベース（dbSNP）より選別し、同様に TaqMan PCR 法でタイピングを施行した。さらに関連を認めた複数の SNP を同時に有する場合の CCB の効果に関する検討を行った。（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。検体はすべて連結可能匿名化方式にて臨床情報と合わせて解析を行った。

C. 研究結果

CACNA1C 11 個、CACNA1D 5 個の SNP をタイピングした。2 遺伝子の SNP と CCB 内服による降圧効果との関係を調べたところ、収縮期血圧（SBP）で 20mmHg 以上ならびに拡張期血圧（DBP）で 10mmHg 以上の降圧を認めた場合をレスポonder（R）、それ以外をノンレスポonder（NR）と定義して各 SNP のアレル頻度に占める R、NR の割合の比較にて、

CACNA1C 527974G>A, *CACNA1D*

rs312481G>A, rs129863C>T が有意な関連性を示した。

さらに降圧効果の比較においても、*CACNA1C* 527974G>A の A アレル保因者 (AA+GA) では CCB 投与後 SBP:13.4±20.6, DBP:9.0±9.5mmHg (いずれも $p<0.0001$) と有意な降圧を認めたが GG アレル保因者では有意な降圧を認めなかった。同様に *CACNA1D* rs312481G>A でも GG アレル保因者では SBP:13.4±21.8, DBP:9.6±10.1mmHg の有意な降圧があったが、A アレルでは認められなかった。さらに表に示すような SNP の相加効果を検討したところ *CACNA1C* 527974 G>A A アレルと *CACNA1D* rs312481G>A GG アレル保因者ではこの組み合わせ以外の患者の CCB 投与後と比較して、SBP: 15.2±21.1, DBP:9.9±9.9mmHg, $p=0.0109$ (SBP), 0.0007 (DBP) と降圧効果は増していた。

D. 考察

今回の検討から *CACNA1C* 527974G>A ならびに *CACNA1D* rs312481G>A は CCB の降圧効果に関連すると考えられさらに *CACNA1C* 527974G>A A アレルと *CACNA1D* rs312481G>A GG 型の両方を有する患者では CCB が非常に有効であることが示された。多型関連の検討の場合、再現性が非常に重要となるため、本研究の結果は *CACNA1C*、*CACNA1D* の遺伝子多型を他の対象集団で再現性を検討することが必要と考えられる。

E. 結論

後ろ向き研究で CCB の降圧効果に関与する多型 *CACNA1C* 527974G>A ならびに *CACNA1D* rs312481G>A を同定した。これらのうちで CCB に感受性の高いアレルを併せて有する場合 CCB の効果がさらに得られやすい可能性があり、今後のテーラーメイド医療に応用できる可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kamide K, Kokubo Y, Fukuhara S, Hanada H, Yang J, Kada A, Nagura J, Takiuchi S, Horio T, Kawano Y, Okayama A, Tomoike H, Miyata T. Protein tyrosine kinase 2 β as a candidate gene for hypertension. *Pharmacogenet Genom* 2007;17:931-939.
- 2) Yasuda H, Kamide K, Takiuchi S, Matayoshi T, Hanada H, Kada A, Yang J, Miwa Y, Yoshii M, Horio T, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Tei C, Miyata T, Kawano Y. Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2007;21:883-892.
- 3) Banno M, Hanada H, Kamide K, Kokubo Y, Kada A, Yang J, Tanaka C, Takiuchi S, Horio T, Matayoshi T, Yasuda H, Nagura J, Tomoike H, Kawano Y, Miyata T. Association of genetic polymorphisms of endothelin converting enzyme-1 gene with hypertension in a Japanese population and rare missense mutation in preproendothelin-1 in Japanese hypertensives. *Hypertens Res* 2007;30:513-520.

2. 学会発表

- 1) 神出 計, 他: L型カルシウムチャンネル・ 1_c ならびに・ 1_d サブユニット遺伝子多型はジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬の降圧効果に関与する 第30回日本高血圧学会総会 平成19年10月25日 那覇
- 2) Kamide K, et al. Genetic polymorphisms of L-type calcium channel $\alpha 1_c$ and $\alpha 1_d$ subunit