

dephosphorylation.

J Cell Biol 2008;6:1133-1147.

3. Yoshikawa T, Akiyoshi Y, Susumu T, Tokado H, Fukuzaki K, Nagata R, Samukawa K, Iwao H, Kito G. Ginsenoside Rb1 reduces neurodegeneration in the peri-infarct area of a thromboembolic stroke model in non-human primates.

J Pharmacol Sci 2008;107:32-40.

4. Shiota M, Kusakabe H, Hikita Y, Nakao T, Izumi Y, Iwao H. Molecular network analysis in pleiotropic effects of statin.

J Pharmacol Sci 2008;107:15-19.

5. Tanaka F, Tominaga K, Shiota M, Ochi M, Kuwamura H, Tanigawa T, Watanabe T, Fujiwara Y, Oshitani N, Higuchi K, Iwao H, Arakawa T. Interleukin-10 gene transfer to peritoneal mesothelial cells suppresses peritoneal dissemination of gastric cancer cells due to a persistently high concentration in the peritoneal cavity.

Cancer Gene Ther 2008;15:51-59.

6. Iwai T, Kitamoto K, Teramoto K, Machida Y, Tamada S, Yukimura T, Iwao H, Nakatani T, Miura K. Cobalt Protoporphyrin Attenuates Rat Obstructive Nephropathy: Role of Cellular Infiltration.

Urology 2008;72:432-438.

7. Teramoto K, Negoro N, Kitamoto K, Iwai T, Iwao H, Okamura M, Miura K. Microarray analysis of glomerular gene expression in murine lupus nephritis.

J Pharmacol Sci 2008;106:56-67.

2. 学会発表

1. 第22回国際高血圧会議 (ISH)

2008年6月14日-19日 ベルリン

HSP70 plays a critical role in angiogenesis

Iwao H, Kusakabe H, Shiota M, Hikita Y, Nakao T, Izumi Y.

2. 第113回日本薬理学会近畿部会

2008年6月20日 岡山

心臓における menage-a-trois 1 の役割

泉 康雄, 塩田 正之, 中尾 隆文,
三浦 克之, Schneider MD, 岩尾 洋

3. 第31回日本高血圧学会総会

2008年10月9-11日 札幌

カニクイザルを用いたタコツボ心筋症モデル作成とメトプロロールの効果

泉 康雄, 塩田 正之, 中尾 隆文,
岩尾 洋

4. 第114回日本薬理学会近畿部会

2008年11月14日 神戸

ブラバスタチンによる内皮細胞遊走とその機序の解析

塩田 正之, 泉 康雄, 川本 由貴子,
中尾 隆文, 岩尾 洋

5. 第18回日本循環薬理学会

2008年11月21日 千葉

Hsc70 (Hsp ファミリー) の内皮機能における役割

塩田 正之, 泉 康雄, 中尾 隆文, 岩尾 洋

6. 第38回日本心脈管作動物質学会

2009年2月6日 岡山

内皮機能における Heat shock cognate protein 70 (Hsc70) の役割

塩田 正之, 泉 康雄, 中尾 隆文,
岩尾 洋

7. 第82回日本薬理学会年会シンポジウム

2009年3月16-18日 横浜

サル心不全モデルにおける薬理ゲノミクス

泉 康雄、塩田 正之、岡谷 秀明、
伊勢 亮太、中尾 隆文、三浦 克之、岩
尾 洋

8. 第 82 回日本薬理学会年会

2009 年 3 月 16-18 日 横浜

Hsc70 は血管内皮細胞における Akt シグナ
ル制御に必須である

塩田 正之、泉 康雄、中尾 隆文、三浦
克之、岩尾 洋

9. 第 83 回日本循環器学会学術集会

2009 年 3 月 20-22 日 大阪

Heat shock cognate protein 70 (Hsc70) is
essential for Akt signaling in endothelial
functions.

Izumi Y, Nakamura Y, Yoshiyama M, Iwao H.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得・出願

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

心不全に対しβ遮断薬療法を安全かつ有効に導入するための統合的ゲノム薬理学研究

分担研究者 岡本 洋 国立病院機構西札幌病院内科系診療部長 循環器内科

研究要旨：心不全患者に対し安全かつ有効にβ遮断薬を導入するために、β遮断薬の反応性と有効性を規定する遺伝的因子をゲノム疫学的アプローチにより検索し、その遺伝的因子の意義を分子薬理学的アプローチにより解明することを目的とした統合的ゲノム薬理学研究の分担研究を行った。

平成20年度は、前向き研究として全国的臨床試験の中間解析を施行し薬剤反応性の検討を行い、かつ遺伝子探索のための予備試験を行った。

A. 研究目的

心不全は心疾患が辿る終末的な状態と考えられる。心不全患者数は年々増加し、中でも高齢者に多く、生命予後が悪いため、その対策が重要となる。β遮断薬は、陰性変力作用のため、当初心不全には使用禁忌と考えられていたが、大規模臨床試験により心機能や QOL だけではなくその生命予後改善効果の大きさが注目されている。しかし、心不全におけるβ遮断薬の作用機序を含め、Efficacy/Safety に配慮した投与方法は確立したとは言いがたい。そこで、本研究は、β遮断薬治療による反応性を予測するために遺伝子多型性解析研究を進める一方で、臨床研究を進め、テーラー・メード医療の展開を模索した。

B. 研究方法

拡張型心筋症患者において、基礎的背景に関し検討を行った。オステオポンチン (OPN) は健常心筋組織では発現しないが、圧・容量負荷などメカニカル・ストレスや

低酸素刺激に対し発現が亢進し、線維化・リモデリングなど組織修復過程に関与することが知られる。一方、心不全患者におけるβ遮断薬の生命予後改善効果が知られるようになったが、β遮断薬への反応性は、心筋がviableであれば高く、線維化が強ければ低いと予測される。そのため、線維化を反映する新たなバイオマーカーが希求されていた。本検討では、OPNが心筋線維化と関わるかどうか、また、OPNがβ遮断薬反応性を規定するかどうかについてG-156Del 多型との関連を明らかにすることを目的とした。文書による同意が得られた拡張型心筋症 (DCM) 患者120名を対象とした。β遮断薬のレスポンドー/ノンレスポンドー判定は、心臓超音波検査より左室内径短縮率 (%FS) を求め、β遮断薬投与による%FS回復が5%以上の被験者をレスポンドーとした。心筋生検を施行したDCM 80例については、OPN、ANPの免疫原性と心筋線維化率を検討した。OPN G-156Delは、PCR-RFLP法により判定した。また、全国的臨床試験を遂行

し、心不全患者登録、中間評価を行った。

C. 研究結果

1) OPN と ANP はいずれも心筋線維化率と正相関した ($p < 0.00001$)。OPN G156 アレルを有する群では、 β 遮断薬反応性と強く相関した (ノンレスポonder%; Del/Del 37%, Del/G + G/G 67%, $p = 0.006$)。

2) 試験開始(2003年7月)から2008年10月末までに割付された症例364症例から2008年10月末までに、追跡中止(追跡不能、同意撤回、施設の参加辞退)の報告または誤登録、割付未登録の症例[□]を除いた351症例について中間解析を行った。調査対象351症例中確認症例数344症例について(1) イベント発生状況および最終生存確認、(2) 登録データおよびBNP検査入力・確認、(3) 有害事象発生状況、(4) プロトコル遵守状況を確認した。その結果、死亡24症例を含み全死亡または全心血管系の原因による入院78症例について、イベントの発生を確認した。

D. 考察

1) OPN は心筋リモデリング過程、ことに線維化を反映し、 β 遮断薬反応性を強く規定すると考えられた。OPN G-156Del 遺伝子多型は β 遮断薬反応性の予測因子であり、心筋線維化関連バイオマーカーとして効率的個別化医療に有用と考えられた。

2) 全国的な臨床試験ではイベント評価を確認し、今後、遺伝子多型性、ことに OPN など関連遺伝子の解析を行い、薬剤反応性について検討を進めることにより、臨床的にも効率的個別化医療を進めることが可能になると考えられる。

E. 結論

平成 20 年度、後ろ向き臨床研究の結果として、OPN 遺伝子多型が、 β 遮断薬の薬効と相関を示すことが明らかになった。今後、前向き研究においても検証を加える必要性が示され、現在進めている全国的な臨床試験の中で検討を進める科学的根拠を確認できたと考えられる。

F. 健康危険情報

特に認めていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nonen S, Okamoto H, Fujio Y, Takemoto Y, Yoshiyama M, Hamaguchi T, Matsui Y, Yoshikawa J, Kitabatake A, Azuma J. Polymorphisms of norepinephrine transporter and adrenergic receptor $\alpha 1D$ are associated with the response to beta-blockers in dilated cardiomyopathy.

Pharmacogenomics J 2008;8:78-84.

2) Xu Z, Okamoto H, Akino M, Onozuka H, Matsui Y, Tsutsui H. Pravastatin Attenuates Left Ventricular Remodeling and Diastolic Dysfunction in Angiotensin II-Induced Hypertensive Mice.

J Cardiovasc Pharmacol 2008;51:62-70.

3) Arimura T, Martijn Bos J., Sato A, Toru Kubo, Okamoto H, Doi Y, Michael J, Ackerman, Kimura A. Cardiac ankyrin repeat protein mutations in hypertrophic cardiomyopathy.

J Am Coll Cardiol (In press).

(和文)

著書

1. 北畠 顕, 岡本 洋 V. うっ血性心不全: 新臨床内科学 コンパクト版

第3版 150頁-154頁 監修: 高久史麿, 尾形悦郎 コンパクト版編集: 和田 攻, 橋本信也 編集: 大藤正雄, 沖田 極, 柏崎 禎夫, 春日雅人, 木村 健, 吉良枝郎, 黒川清, 西元寺克禮, 齋藤 厚, 篠原幸人, 貫和敏博, 細田 瑛一, 溝口秀昭, 矢崎義雄 医学書院, 東京, 2008

2. 北畠 顕, 岡本 洋 「うっ血性心不全」, 406頁-418頁 (高久史麿, 尾形 悦郎: 『新臨床内科学』第8版 (株) 医学書院, 東京), 2008

3. 岡本 洋 重症肺疾患を伴う虚血性心筋症に β -blockerを導入し得た一例: 西岡論文に対する Editorial Comment 心臓 40;9: 780, 2008

3. 抗結核薬とステロイドの併用が著効した結核性心膜炎の1症例

渡辺武史, 神垣光徳, 伊藤直史, 横田美紀, 渡辺安寿香, 池田大輔, 坂上慎二, 辻野一三, 徳原教, 岡本 洋, 筒井裕之, 西村正治

心臓 40巻 983-988, 2008

総説

1. 岡本 洋 拡張型心筋症の生命予後

治療学 「suggestion」 121-126, 2008

2. 岡本 洋 日本人の高血圧治療に新たな可能性を拓く選択的アルドステロンブロッカー (SAB) Medical Tribune 1-3, 2008年10月2日号

3. 岡本 洋 「BNPガイド下での循環器疾患の診断・治療」 BNPガイド下での循環器疾患の診断・治療 1-6, 2008年

研究会

1. 岡本 洋

「心不全に対し β 遮断薬療法を安全かつ有効に導入するための統合的ゲノム薬理学研究」

厚生労働科学研究第3回班会議 2008年1月12日 北海道大学学術交流会館, 札幌

2. 岡本 洋

「慢性心不全における β 遮断薬による治療法確立のための大規模臨床試験 (J-CHF)」

2008年3月29日 福岡国際会議場

3. 岡本 洋, 堀 正二, J-CHF Investigators

β 遮断薬反応性解析のための探索的研究 (J-CHF研究より)

Daiichi-Sankyo 循環器フォーラム 2008 「心不全を探る～成因から治療まで」

2008年5月24日 (東京)

学会・研究会

国内学会

岡本 洋 「BNPガイド下での循環器疾患の診断・治療」

日本臨床検査学会

シンポジウム

1. Hiroshi Okamoto, Masatsugu Hori, J-CHF Investigators 「J-CHF Trial」

第12回日本心不全学会 2008年10月16日, 東京

2. Hiroshi Okamoto, Shinpei Nonen, Yasushi Fujio, Yasuhiko Takemoto, Minoru Yoshiyama, Junichi Teranishi, Tetsuo Betsuyaku, Minoru Sato, Atsushi Tamada, Junichi Yoshikawa, Akira Kitabatake and Junichi Azuma The Association of Osteopontin with Cardiac

Fibrosis and the Responsiveness to Beta-blockers in Patients with Heart Failure

第30回心筋生検研究会 11月29日, 2008, 三重

3. 東 純一、岡本洋、北畠顕

我が国で実施された循環器用薬による大規模臨床試験成績の意義について

慢性心不全における β 遮断薬による治療法確立のための大規模臨床試験(J-CHF)

第29回日本臨床薬理学会 2008年11月 東京

4. 心不全 β 遮断薬 β 遮断薬の本邦におけるRCT/JCHF研究とゲノム薬理学の可能性
東 純一、岡本 洋、南畝晋平、藤尾 慈、北畠 顕

第2回「薬理学・臨床薬理学共催シンポジウム」 2008年11月 東京

一般演題

1. 岡本 洋、松井 裕、南畝 晋平、藤尾 慈、東 純一、竹本 恭彦、葭山 稔、吉川純一、北畠顕心不全における β 遮断薬反応性関連バイオマーカーとしてのオステオポンチン遺伝子多型の意義 第10回日本オステオポンチン研究会、2008

2. 南畝晋平、岡本洋、藤尾慈、竹本恭彦、葭山稔、濱口智幸、吉川純一、北畠顕、東純一 α 2Cアドレナリン受容体 Del322-325、ノルエピネフリントランスポーター

T-182C 遺伝子多型と心不全治療における β 遮断薬反応性個人差との関連

第29回日本臨床薬理学会 2008年11月 東京

3. Combined genotype of norepinephrine transporter T-182C and α 2c adrenergic receptor deletion polymorphisms is associated

with the response to beta-blockers in dilated cardiomyopathy.

Shinpei Nonen, Hiroshi Okamoto, Yasushi Fujio, Yasuhiko Takemoto, Minoru Yoshiyama, Tomoyuki Hamaguchi, Fumio Terasaki, Junichi Yoshikawa, Akira Kitabatake and Junichi Azuma

第2回「薬理学・臨床薬理学共催シンポジウム」 2008年11月 東京

4. 心不全における β 遮断薬反応性関連バイオマーカーとしてのオステオポンチン遺伝子多型の意義

岡本 洋、松井 裕、上出 利光、南畝 晋平、藤尾 慈、東 純一、竹本 恭彦、葭山 稔、吉川純一、北畠顕

第8回オステオポンチン研究会、2008年9月27日札幌

5. 南畝晋平、岡本洋、藤尾慈、竹本恭彦、葭山稔、寺崎文生、吉川純一、北畠顕、東純一ノルエピネフリントランスポーター T-182C と α 2C アドレナリン受容体 Del322-325 遺伝子多型の組み合わせが、心不全 β 遮断薬治療における心収縮機能改善と関連する 医薬薬学フォーラム2008

6. 松本恭尚、南畝晋平、岡本洋、藤尾慈、竹本恭彦、葭山稔、寺崎文生、大塚薫、岩尾洋、東純一「Complement component 4 遺伝子コピー数多型と拡張型心筋症による心不全治療における β 遮断薬反応性個人差との関連」 29th日本臨床薬理学会、2008

7. 松本恭尚、南畝晋平、岡本洋、藤尾慈、竹本恭彦、葭山稔、寺崎文生、大塚薫、岩尾洋、東純一「Complement component 4 遺伝子コピー数多型と拡張型心筋症による心不全治療における β 遮断薬反応性個人差との関連」 第29回日本臨床薬理学会 2008

年 11 月 東京

8. 上野由香子, 南畝晋平, 岡本洋, 藤尾慈, 竹本恭彦, 葭山稔, 寺崎文生, 大塚薫, 岩尾洋, 東純一 「心不全治療における β 遮断薬反応性の個人差と Thrombospondin1 遺伝子多型との関連」 第 29 回 日本臨床薬理学会

2008 年 11 月 東京

国際学会

The Association of Osteopontin with Cardiac Fibrosis and the Responsiveness to Beta-blockers in Patients with Heart Failure

Hiroshi Okamoto, Shinpei Nonen, Yasushi Fujio, Yasuhiko Takemoto, Minoru Yoshiyama, Junichi Teranishi, Tetsuo Betsuyaku, Minoru Sato, Atsushi Tamada, Junichi Yoshikawa, Akira Kitabatake and Junichi Azuma

AHA Scientific Session 2008, 11/11, 2008, New Orleans

講演 (国内)

1. 岡本 洋 心筋保護-アルドステロン抑制の意義- 深川市医師会学術講演会
2. 岡本 洋 心筋保護-アルドステロン抑制の意義-美幌医師会学術講演会

3. 岡本 洋 心臓からみた血压管理について

札幌市西区・手稲区心腎地域連携懇話会

4. 岡本 洋 冠動脈疾患と臨床検査

国立病院臨床検査技師協会北海道支部学会

5. 岡本 洋 心筋保護におけるアルドステロン抑制の意義石狩市医師会 学術講演会

6. 岡本 洋 高血圧：最近のトピックス 第 36 回西札幌心臓勉強会

7. 岡本 洋 心不全：最近のトピックス -BNP と β 遮断薬を中心に-西札幌病院内科合同勉強会

8. 岡本 洋 日常診療で抗アルドステロン薬を如何に活用するか

札幌市医師会四支部合同学術講演会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得・出願

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

動物モデルの心機能の超音波学的および生物学的解析と
ヒト臨床データに基づく心不全関連遺伝子の抽出

分担研究者 葭山 稔 大阪市立大学大学院 医学研究科

研究要旨：生活習慣の欧米化、人口高齢化に伴う心血管系疾患の増加により、その終末像である慢性心不全も増加の一途をたどっており、今後ますます増加することが予測されている。この慢性心不全に対し、禁忌とされてきた β 遮断薬が有用であることが明らかとなり、現在では心不全治療の第一選択薬となっているが、 β 遮断薬療法の有効性に個体差があることが大きな問題である。そこで、個々の患者における β 遮断薬有効性予測パラメーターとなりうる遺伝子情報、臨床因子を検索することを、本研究の目的とした。遺伝子情報としては、NETT-182C、alpha2c adrenergic receptor Del322-325、SOD2 Val16Ala、lymphotoxin alpha G-380T、TSP1 Thr523Ala、が、臨床因子としては、左室重量、左室流入波形拡張早期波 (E) /左室僧帽弁輪拡張早期運動速度 (e')、QRS 幅、が、 β 遮断薬に対する反応性と有意な相関があるとの結果を得た。これらの結果を組み合わせることにより、従来より正確な β 遮断薬療法に対する有効性予測アルゴリズムを作成することができ、さらには、このアルゴリズムが、 β 遮断薬療法に対する有効性予測判定機器作製の基盤となる。

A. 研究目的

生活習慣の欧米化、人口高齢化に伴う心血管系疾患の増加により、その終末像である慢性心不全も増加の一途をたどっており、今後ますます増加することが予測されている。慢性心不全患者の増加は医療コストの増加にもつながるため、医療経済的にも社会的にも大きな問題である。このような重大な問題である慢性心不全に対する日常臨床現場における治療の中心は、両心室ペーシング法等の進歩や細胞治療が現実のものとなりつつある現況ではあるが、薬物治療

である。慢性心不全に対する薬物治療は、心不全の概念の変遷に伴い標準治療薬の概念も変遷している。すなわち、ナトリウム貯留と浮腫、うっ血が心不全の主たる病態と考えられた時代には利尿薬が、心機能低下と血管抵抗増大といった血行動態異常が主たる病態と考えられた時代には強心薬、血管拡張薬が、主たる治療薬であった。近年は、神経・体液性因子であるレニン・アンジオテンシン系、交感神経系の異常が主たる病態と考えられ、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシン II 受容体

拮抗薬、そしてβ遮断薬が主たる標準治療薬となっている。中でも、近年カテコラミンが悪循環の増悪因子として患者の予後に関与し、その受容体であるアドレナリンβ受容体に対する遮断薬が心不全の進行を抑制することが明らかとなったことから、β遮断薬療法は心不全に対する最も重要な、かつ第一選択薬となっている。

β遮断薬は、陰性変力作用を示し、心筋収縮力を低下させるため、心筋収縮力が低下した心不全患者への投与は、従来禁忌と考えられてきた。しかしながら、近年の大規模臨床試験により、β遮断薬が心不全患者の生命予後を改善し、心筋の収縮力も改善することが明らかになった。

このように臨床上の有用性が明らかとなったβ遮断薬療法ではあるが、心不全患者の約30-40%においてβ遮断薬無効例が存在することが最大の問題点である。β遮断薬無効例においては、β遮断薬有効性確認のため、6ヶ月程度心不全悪化の可能性にさらされながらβ遮断薬治療が継続されているという現状がある。しかしながら、β遮断薬治療の有効性の有無を投与開始前に予測することができれば、より安全で有効なβ遮断薬療法を行える。

そこで、本研究では、β遮断薬療法に対する有効性の有無を予測する遺伝子多型を検索し、その判定機器を作製することを本研究全体の目的とする。この目的を達成するために、β遮断薬治療反応性に関連する臨床因子評価と遺伝子多型解析を分担研究達成目標とした。

B. 研究方法

遺伝子多型は、心筋梗塞モデルマウスや

ドキシソルピシン心不全モデルマウスにおいて発現変動した遺伝子や心不全との関連性が過去に報告されてきた遺伝子を検索し、解析を行った。遺伝子解析手法としては、PCR-RFLP法、Allele specific PCR法、primer extension法、direct sequence法を組み合わせて行い、SNPs解析のバリデーションを十分に行った。

慢性心不全患者を、β遮断薬治療の結果、心臓超音波検査上、左室内径短縮率(FS)が3%以上改善した患者をレスポンドー(responder)、3%未満の患者をノンレスポンドー(nonresponder)とし、これら遺伝子多型との相関を検討した。レスポンドー、ノンレスポンドーの判定は、β遮断薬投与後6ヶ月以上経過した症例について行った。臨床的因子として、左室拡張末期径、収縮末期径、左室駆出率といった、左室形態、左室収縮に関連した因子を従来より検討していたが、今回はさらに左室拡張機能に関連する因子、左房形態に関連する因子、さらには心電図上での電気生理学的因子を含め、多面的な検討を施行した。

(倫理面への配慮)

ゲノムDNAの収集:大阪市立大学の承認のもと実施した。受診中の患者から文書にて承諾書を得たのち採血を行った。承諾書は倫理委員会の同意に基づき作成した。採取した患者検体は、大阪市立大学で匿名化したのち大阪大学に発送した。

遺伝子解析:大阪大学ゲノム倫理委員会の承認のもと実施した。匿名化した血液サンプルからDNAを精製し多型判定を行った。精製したDNAは大阪大学大学院薬学研究

科で管理保存している。

C. 研究結果

以下の遺伝子多型を対象に解析を行った。

アドレナリン関連系遺伝子

Adrenaline alpha receptor:6 遺伝子多型

Adrenaline beta receptor:5 遺伝子多型

NET:2 遺伝子多型

b arrestin:2 遺伝子多型

レニン・アンジオテンシン系遺伝子

ACE:1 遺伝子多型

AGTR:2 遺伝子多型

サイトカイン系遺伝子

TNF:1 遺伝子多型

IL10:1 遺伝子多型

Lymphotoxin alpha:1 遺伝子多型

C4 遺伝子:1 遺伝子多型

酸化ストレス関連系遺伝子

SOD:1 遺伝子多型

血管関連因子

TSP1:1 遺伝子多型

その他の遺伝子

Alpha adducin:1 遺伝子多型

PAF-AH:2 遺伝子多型

MMP:4 遺伝子多型

GRK:1 遺伝子多型

BNP:1 遺伝子多型

ANP:1 遺伝子多型

Pleckstrin:1 遺伝子多型

Heat shock protein:1 遺伝子多型

Osteopontin:1 遺伝子多型

CTGF:1 遺伝子多型

ICAM:1 遺伝子多型

これらの遺伝子多型と β 遮断薬に対する反応性との相関につき検討を行った。その結果 $p<0.05$ を有意差ありとすると、

NETT-182C、alpha2c adrenergic receptor

Del322-325、SOD2 Val16Ala、lymphotoxin

alpha G-380T、TSP1 Thr523Ala、において、

その多型が β 遮断薬に対する反応性と有意な相関があるとの結果を得た。これらの遺伝子多型は、ファーストポピュレーション、セカンドポピュレーションともに、同様の結果を示していた。

臨床的因子として、左室形態、左室収縮に関連した因子、左室拡張機能に関連する因子、左房形態に関連する因子、心電図上での電気生理学的因子においては、左室重量、左室流入波形拡張早期波 (E) / 左室僧帽弁輪拡張早期運動速度 (e')、QRS 幅、 q_s 、 β 遮断薬に対する反応性と有意な相関があるとの結果を得た。これらの遺伝子多型は、ファーストポピュレーション、セカンドポピュレーションともに、同様の結果を示していた。

D. 考察

従来の報告では、アドレナリン受容体に関する遺伝子多型を中心に、慢性心不全患者における β 遮断薬の反応性に関わる検討が行われてきているが、本研究では、レニン・アンジオテンシン関連遺伝子、サイトカイン関連遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子、血管関連遺伝子、その他の解析、検討も行った。その結果、NETT-182C、alpha2c adrenergic receptor Del322-325、SOD2 Val16Ala、lymphotoxin alpha G-380T、TSP1 Thr523Ala において、その多型が β 遮断薬に対する反応性と有意な相関があるとの結果を得た。また従来の左室形態、左室収縮に関連した臨床因子に加え、左室拡張機能に関連する因子、左房形態に関連する因子、

心電図上での電気生理学的因子の検討も行い、左室重量、左室流入波形拡張早期波 (E) /左室僧帽弁輪拡張早期運動速度 (e')、QRS幅、のβ遮断薬に対する反応性と有意な相関があるとの結果を得た。これらの遺伝子多型因子や臨床因子を組み合わせることにより、慢性心不全におけるβ遮断薬反応性判定のための従来より正確なアルゴリズム作成を行えるものと考えられる。

E. 結論

アドレナリン関連、レニン・アンジオテンシン遺伝子、サイトカイン関連、酸化ストレス関連、血管関連の遺伝子多型と左室形態、左室収縮に関連した因子、左室拡張機能に関連する因子、左房形態に関連する因子、心電図上での電気生理学的因子等の臨床因子を組み合わせることで、従来より正確なβ遮断薬療法に対する有効性予測アルゴリズムを作成することができるものと考えられる。さらには、このアルゴリズムが、β遮断薬療法に対する有効性予測判定機器作製のための基盤となるものと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ehara S, Naruko T, Shirai N, Itoh A, Hai E, Sugama Y, Ikura Y, Ohsawa M, Okuyama T, Shirai N, Yamashita H, Itabe H, Haze K, Yoshiyama M, Ueda M. Small coronary calcium deposits and elevated plasma levels of oxidized low density lipoprotein are characteristic of acute myocardial infarction.

J Atheroscler Thromb 2008;15:75-81.

2. Hirata K, Pulerwitz T, Sciacca R, Otsuka R,

Oe Y, Fujikura K, Oe H, Hozumi T, Yoshiyama M, Yoshikawa J, Di Tullio M, Homma S. Clinical utility of new real time three-dimensional transthoracic echocardiography in assessment of mitral valve prolapse.

Echocardiography 2008;25:482-488.

3. Hyodo E, Hirata K, Hirose M, Kamimori K, Kawarabayashi T, Shimada K, Yoshikawa J, Yoshiyama M. Clinical use of Doppler echocardiography and Doppler tissue imaging in the estimation of myocardial ischemia during dobutamine stress echocardiography.

J Am Soc Echocardiogr 2008;21:331-336.

4. Ito T, Kimura Y, Uozumi Y, Takai M, Muraoka S, Matsuda T, Ueki K, Yoshiyama M, Ikawa M, Okabe M, Schaffer SW, Fujio Y, Azuma J. Taurine depletion caused by knocking out the taurine transporter gene leads to cardiomyopathy with cardiac atrophy.

J Mol Cell Cardiol 2008;44:927-937.

5. Maeda K, Takagi M, Tatsumi H, Nakagawa E, Yoshiyama M. The effects of nifekalant hydrochloride on the QT dispersion after direct-current defibrillation.

Osaka City Med J 2008;54:11-19.

6. Matsumura Y, Saracino G, Sugioka K, Tran H, Greenberg NL, Wada N, Toyono M, Fukuda S, Hozumi T, Thomas JD, Yoshikawa J, Yoshiyama M, Shiota T. Determination of regurgitant orifice area with the use of a new three-dimensional flow convergence geometric assumption in functional mitral regurgitation.

J Am Soc Echocardiogr 2008;21:1251-1256.

7. Nakagawa E, Takagi M, Tatsumi H, Yoshiyama M. Successful radiofrequency catheter ablation for electrical storm of

ventricular fibrillation in a patient with Brugada syndrome.

Circ J 2008;72:1025-1029.

8. Nakata S, Yokoi Y, Matsumoto R, Shirai N, Otsuka R, Sugioka K, Yoshitani H, Ehara S, Kataoka T, Yoshiyama M. Long-term cardiovascular outcomes following ischemic heart disease in patients with and without peripheral vascular disease.

Osaka City Med J 2008;54:21-30.

9. Nonen S, Okamoto H, Fujio Y, Takemoto Y, Yoshiyama M, Hamaguchi T, Matsui Y, Yoshikawa J, Kitabatake A, Azuma J. Polymorphisms of norepinephrine transporter and adrenergic receptor alpha1D are associated with the response to beta-blockers in dilated cardiomyopathy.

Pharmacogenomics J 2008; 8:78-84.

10. Oe H, Hozumi T, Murata E, Matsuura H, Negishi K, Matsumura Y, Iwata S, Ogawa K, Sugioka K, Takemoto Y, Shimada K, Yoshiyama M, Ishikura Y, Kiso Y, Yoshikawa J. Arachidonic acid and docosahexaenoic acid supplementation increases coronary flow velocity reserve in Japanese elderly individuals.

Heart 2008;94:316-321.

11. Ogawa K, Hozumi T, Sugioka K, Iwata S, Otsuka R, Takagi Y, Yoshitani H, Yoshiyama M, Yoshikawa J. Automated assessment of left atrial function from time-left atrial volume curves using a novel speckle tracking imaging method.

J Am Soc Echocardiogr 2009;22:63-69.

12. Okura H, Kubo T, Asawa K, Toda I, Yoshiyama M, Yoshikawa J, Yoshida K. Elevated E/E' predicts prognosis in congestive

heart failure patients with preserved systolic function.

Circ J 2009;73:86-91.

13. Okura H, Takada Y, Kubo T, Asawa K, Taguchi H, Toda I, Yoshiyama M, Yoshikawa J, Yoshida K. Functional mitral regurgitation predicts prognosis independent of left ventricular systolic and diastolic indices in patients with ischemic heart disease.

J Am Soc Echocardiogr 2008;21:355-360.

14. Okuyama T, Ehara S, Shirai N, Sugioka K, Ogawa K, Oe H, Kitamura H, Itoh T, Otani K, Matsuoka T, Inoue Y, Ueda M, Hozumi T, Yoshiyama M. Usefulness of three-dimensional automated quantification of left ventricular mass, volume, and function by 64-slice computed tomography.

J Cardiol 2008;52:276-284.

15. Okuyama T, Ehara S, Shirai N, Sugioka K, Yamashita H, Kataoka T, Naruko T, Itoh T, Otani K, Matsuoka T, Inoue Y, Ueda M, Yoshikawa J, Hozumi T, Yoshiyama M. Assessment of aortic atheromatous plaque and stiffness by 64-slice computed tomography is useful for identifying patients with coronary artery disease.

Circ J 2008;72:2021-2027.

16. Sugioka K, Hozumi T, Iwata S, Oe H, Okuyama T, Shirai N, Yamashita H, Ehara S, Kataoka T, Yoshikawa J, Ueda M, Yoshiyama M. Morphological but not functional changes of the carotid artery are associated with the extent of coronary artery disease in patients with preserved left ventricular function.

Stroke 2008;39:1597-1599.

17. Takeshita H, Shimada Y, Kobayashi Y,

Nishioka H, Ehara S, Kataoka T, Yoshiyama M. Impact of body mass index and Framingham risk score on coronary artery plaque.

Osaka City Med J 2008;54:31-39.

18. Wake R, Muro T, Hozumi T, Matsumoto R, Kataoka T, Nakamura Y, Takemoto Y, Takagi M, Suehiro S, Yoshiyama M. Multiple cardiac thrombi and thromboembolism in a heparin-induced thrombocytopenia antibody-positive patient with heart failure.

Am J Emerg Med 2008;26:1066 e1065-1067.

19. Yoshida K, Shimada K, Tanaka A, Jissho S, Tanaka H, Yoshiyama M, Yoshikawa J. Quantitative analysis of myocardial contrast enhancement by first-pass 64-multidetector computed tomography in patients with coronary heart disease.

Circ J 2009;73:116- 124.

2. 学会発表

1. Kitabayashi C, Ehara S, Ikura Y, Nakagawa M, Arimoto J, Shirai N, Sugioka K, Hozumi T, Naruko T, Yoshiyama M, Ueda M. Plaque Instability of Human Carotid Atherosclerotic Lesions: Significance of Platelet Thrombus, Neutrophil Infiltration, and Early Neointimal Proliferation.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

2. Maeda K, Takagi M, Tatsumi H, Ishii H, Shimeno K, Doi A, Yamashita H, Nakagawa E, Yoshiyama M. Risk Assessment by 12-lead Holter ECG and SAECG: Circadian Variation of 12-lead ECG and SAECG Parameters in Brugada Syndrome.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

3. Doi A, Takagi M, Maeda K, Tatsumi H,

Shimeno K, Yamashita H, Nakagawa E, Yoshiyama M. Comparison of Daily Fluctuations in 12-lead and Signal-Averaged Electrocardiogram between Spontaneous and Drug Induced Type 1 ECG in Brugada Syndrome.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

4. Ehara S, Naruko T, Nakagawa M, Kitabayashi C, Shirai N, Sugioka K, Oe H, Okuyama T, Hozumi T, Haze K, Itabe H, Yoshiyama M, Ueda M. Myeloperoxidase are Associated with Low Density Lipoprotein Oxidation and Unstable Coronary Syndrome in Human.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

5. Izumi Y, Sano M, Yoshiyama M, Iwao H. Loss of Menage-a-Trois 1 in Cardiomyocytes Causes Mitochondrial Dysfunction.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

6. Ehara S, Kataoka T, Shirai N, Yamasita H, Takeshita H, Tsumori T, Okuyama T, Sugioka K, Nakata S, Hozumi T, Ueda M, Yoshiyama M. Obesity, Dyslipidemia and Constrictive Remodeling are Characteristic of Young Patients with Acute Myocardial Infarction.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

7. Yoshikawa J, Hyodo E, Hirata K, Kita R, Okajima K, Hirose M, Sakanoue Y, Nishida Y, Kawarabayashi T, Yoshiyama M. Efficacy of Multi-detector Computed Tomography in Combination with Coronary Flow Reserve Measurements by Transthoracic Doppler Echocardiography for Detecting Coronary Stenosis.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

8. Ogawa K, Hozumi T, Fukuda S, Oe H,

Kohno Y, Sugioka K, Otsuka R, Yoshiyama M. Assessment of Left Ventricular Wall Motion in Apical Cross-sections Using Velocity Vector Imaging: Which Is Better, Longitudinal or Radial Strain?

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

9. Oe H, Hozumi T, Fukuda S, Ogawa K, Matsui M, Abo K, Fujioka K, Sugioka K, Otsuka R, Yoshiyama M. Full-volume Data-set in Real-time 3D Echocardiography can Be Used for the Routine Echocardiography in Patients with Ischemic Heart Disease.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

10. Nakanishi K, Ehara S, Okuyama T, Shirai N, Yamashita H, Takagi Y, Kitamura H, Sugioka K, Oe H, Takagi M, Hozumi T, Yoshiyama M. Relationship between Left Ventricular Mass Assessed by 64-slice Computed Tomography and Left Ventricular Hypertrophy Detected by Electrocardiogram.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

11. Hozumi T, Fukuda S, Oe H, Sugioka K, Otsuka R, Ehara S, Ueda M, Yoshikawa J,

Yoshiyama M. New Echocardiographic Approach Using Real-time Three Dimensional Echocardiography in the Clinical Practice.

2007 Japanese Circulation Society, Fukuoka.

12. 河野靖、竹本恭彦、松本亮、中村泰浩、杉岡憲一、大塚亮、麻植浩樹、室生卓、葭山稔、「心不全における β 受容体遮断薬反応性個体差の究明：良好反応性関連因子の検討」：

第56回日本心臓病学会、2008年、東京

13. Kouno Y, Takemoto Y, Matsumoto R, Nakamura Y, Muro T, Yoshiyama M. Predictors of early and late restoration of left ventricular function by beta-blocker therapy among patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.

第12回日本心不全学会、2008年、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得・出願
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし

心不全の発症と病態変化における炎症関連タンパク質に関する研究

分担研究者 寺崎文生 大阪医科大学 診療准教授 内科学 III

研究要旨：慢性心不全は進行性で予後不良の症候群であり、その成因や病態に心筋の慢性炎症や心室リモデリングが重要な役割を果たしている。これまで、ラットの実験的自己免疫性心筋炎モデルを用いて、心不全における炎症関連タンパク質の発現や動態を検索した。その結果、急性期においてその発症に炎症性サイトカイン（IL-1 β 、IL-6、および TNF- α ）、および S100A8/A9 蛋白が強く関与していることが明らかとなった。また、慢性期には心拡大と心室収縮力低下が認められ拡張型心筋症および慢性心不全の病態を呈した。本モデルは心不全における病態とメカニズムの解明あるいは治療法の検討に有用と考えられた。前回、本モデルを用いて心不全治療および抗炎症治療の検討を行った。その結果、S100A8/A9 蛋白が炎症抑制作用を有することが示唆された。今回はさらに同蛋白の炎症抑制作用のメカニズムについて検索した。

A. 研究目的

近年、大規模臨床試験により、 β 遮断薬の心不全患者に対する有効性が明らかとなった。その一方、投与された心不全患者の一部に、十分な効果が得られない症例、あるいは、心不全が悪化する症例（ノンレスポonder）が存在する。従って、このような期待したアウトカムが得られないノンレスポonder症例を β 遮断薬投与前に予測し、慎重な投与を行なうことで、安全な薬物治療が可能になると考えられる。

拡張型心筋症は慢性進行性の疾患であり、その成因や病態に慢性炎症や組織リモデリングが重要な役割を果たしている。また、 β 遮断薬などの治療に抵抗性のノンレスポonder症例では炎症の関与が大きく（炎症性心筋症あるいは慢性心筋炎）、心室リモデリ

ングが進行し予後が悪いとする報告もある。したがって、拡張型心筋症の心室リモデリングの病態とメカニズムを炎症の観点から解明することで、ノンレスポonder症例を β 遮断薬投与前に予測できる可能性がある。本研究は、心不全の発症と病態変化における炎症関連タンパク質の発現や動態を検索することを目的とする。

S100A8/A9 complex (S100A8/A9 蛋白)は従来の myeloid-related protein (MRP) 8/14 complex と同じ蛋白で好中球や単球など骨髄起源の細胞に高濃度に存在する炎症関連タンパク質である。これまで、ラットの実験的自己免疫性心筋炎心不全モデルを用いて、炎症性サイトカインおよび S100A8/A9 蛋白の発現や動態を検索した。S100A8/A9 蛋白は炎症に関与する重要な蛋白であるが、

その機能については明らかにされていない。前回、本モデルに S100A8/A9 蛋白を投与して、in vivo における同蛋白の役割を検討した。その結果、同蛋白が炎症抑制作用を有することが示唆された。今回はさらに同蛋白の炎症抑制作用のメカニズムについて検索した。

B. 研究方法

8 週齢 Lewis ラットをエーテル麻酔し、精製ブタミオシンと Freund のアジュバンド混合液を後肢掌および背部に皮下投与して初回感作した。1 週間後に第 2 回目の感作を行った。初回感作後、2 週間後、3 週間後、および 8 週間後に、心臓エコー検査、血清サイトカイン (interleukin (IL) -1 β , IL-6, および tumor necrosis factor (TNF)- α) 濃度測定、血清 S100A8/A9 蛋白濃度測定、心重量/体重比の検討、心臓の組織学および免疫組織学的検索、心筋組織における血清サイトカイン mRNA 発現の検索を行った (V 群)。S100A8/A9 蛋白投与群 (S 群) は初回感作後第 8-13 日目 (第 2 回目の感作後第 1-6 日目) に自家製リコンビナント S100A8/A9 蛋白 (R-S100A8/A9) を腹腔内に投与した。V 群では生理食塩水を腹腔内に投与した。また今回は、S100A8/A9 蛋白の炎症抑制作用のメカニズムについて検索するため、心筋ホモジネートの遠心分離上清について、1 次抗体に抗 S100A8/A9 抗体、2 次抗体に抗炎症性サイトカイン抗体を使用した。さらに、ELISA 法により R-S100A8/A9 と炎症性サイトカイン結合複合体の濃度を測定した。(倫理面への配慮)

動物実験は、大阪医科大学動物実験規則に基づき、動物実験委員会の承認のもと行

われた。

C. 研究結果

V 群では、初回感作後、2 週間後には心エコー検査で心膜液貯留、心筋浮腫、心室収縮力低下が出現し 3 週間後にも継続して認められた。組織学的検索では、初回感作後 2 週間後で心筋炎が認められ、3 週間後で最も高度であった。急性期を生き延びたラットの 8 週間後の心エコー検査では心拡大と心室収縮力低下が認められ拡張型心筋症様の病態を呈した。8 週間後の組織学的検索では心筋細胞の脱落と置換性線維化が認められた。心筋炎は完全には消失しておらず、散在性に炎症性細胞浸潤が認められた。血清サイトカイン (IL-1 β , IL-6, および TNF- α) 濃度は初回感作後 2 週間後で既上昇しており 3 週間後においても持続したが、8 週間後では低下した。心筋組織における血清サイトカイン mRNA 発現は 2 週間後で最も高度であった。

S 群 (S100A8/A9 蛋白投与群) においては V 群に比較して、初回感作 2 週間後および 3 週間後において、組織学的心筋炎の程度が有意に軽度であり、心エコー検査における心機能が有意に改善した。また、初回感作 2 週間後における心筋組織における血清サイトカイン (IL-1 β , IL-6, および TNF- α) mRNA の発現亢進が有意に抑制された。また、抗 nuclear factor kappa-B (NF- κ B) p65 抗体を用いて免疫組織学検索を行ったところ心筋組織における NF- κ B の発現は S 群で V 群に比較して抑制がみられた。さらに興味あることに S 群において心筋ホモジネート上清に R-S100A8/A9 と IL-1 β , IL-6, TNF- α の各サイトカインとの結合複

合体が認められた。

D. 考察

本研究を通じて、ラットの実験的自己免疫性心筋炎モデルの急性期において、その発症にサイトカイン (IL-1 β 、IL-6、および TNF- α)、および S100A8/A9 蛋白が強く関与していることが明らかとなった。

S100A8/A9 蛋白は臨床的に関節リウマチ、炎症性腸疾患、移植拒絶反応、サルコイドーシスなどに係わっていることが報告されているが、心筋炎や心不全における動態は解明されていない。本事業における一連の研究で、S100A8/A9 蛋白投与が急性期の自己免疫性心筋炎を改善したことは興味深い結果である。従来 S100A8/A9 蛋白は炎症促進的に働くとの報告が多いが、炎症における時期や量によっては炎症抑制的に働く可能性がある。今回、S100A8/A9 蛋白の炎症抑制作用のメカニズムを検討した結果、S100A8/A9 蛋白投与群において心筋ホモジネート上清に S100A8/A9 蛋白と IL-1 β 、IL-6、TNF- α の各炎症促進性サイトカインとの結合複合体が証明された。従って、ラット実験的自己免疫性心筋炎に対する S100A8/A9 蛋白投与は、本蛋白が炎症促進性サイトカインと結合し、トラップすることによりサイトカインネットワークを修飾し、炎症促進性サイトカイン mRNA 発現抑制および血清濃度低下をきたし、炎症を抑制した可能性が示唆される。最近、ラットの lipopolysaccharide を用いた肝炎により肝障害を来すモデルにおいても、本蛋白が炎症促進性サイトカインと複合体を形成することが *in vitro* で証明されている。今後、さらに本蛋白投与の炎症抑制機序について

の詳細な検討が必要と考えられ、それが新たな心不全治療に繋がる可能性がある。また、 β 遮断薬の効果の一つとされる抗炎症作用との関連についても今後の検討課題と考えられる。

8 週間後の組織学的検索では心筋細胞の脱落と置換性線維化が認められたが、心筋炎は完全には消失しておらず、散在性に炎症性細胞浸潤が認められた。臨床的に β 遮断薬などの治療に抵抗性であることが示唆されている炎症の関与した拡張型心筋症 (炎症性心筋症あるいは慢性心筋炎) のモデルになると考えられる。したがって、今後、慢性期についてさらに詳細な検討を加えることが、拡張型心筋症の心室リモデリングの病態とメカニズムを炎症の観点から解明すること、すなわち本研究の目的達成に繋がると考えられる。また、慢性期の心不全モデルを用いて抗炎症療法などの治療効果の検討も可能と考えられる。

さらに、今後の検討課題の 1 つとして、慢性心不全における β 遮断薬の反応性を決定する候補遺伝子を検索することが挙げられる。本研究に用いたラットの実験的自己免疫性心筋炎モデルにおいて、8 週間後の慢性期では拡張型心筋症様の病態と慢性心不全を呈した。本モデルの慢性期において発現変動する遺伝子を DNA アレイを用いて検索することにより、多型解析を行う遺伝子を選出することに寄与できると考えられる。その際には、他の分担研究者である大阪大学薬学研究科藤尾慈らが既に見出している候補遺伝子を優先して検討する。

E. 結論

本研究を通じて、ラットの実験的自己免

疫性心筋炎モデルにおいて炎症関連タンパク質の発現や動態を検索した。今回はとくに S100A8/A9 蛋白の炎症抑制作用のメカニズムを検討した結果、本蛋白が炎症促進性サイトカインと結合し、トラップすることによりサイトカインネットワークを修飾し、炎症を抑制した可能性が示唆された。今後、さらに本蛋白投与の炎症抑制機序についての詳細な検討が必要と考えられ、それが新たな心不全治療に繋がる可能性がある。

本モデルは拡張型心筋症（炎症性心筋症）の病態を呈し、慢性心不全における心室リモデリングの病態とメカニズム、さらに治療法について、とくに炎症の関与という観点から検討するうえで有用と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Otsuka K, Terasaki F, Ikemoto M, Fujita S, Tsukada B, Katashima T, Kanzaki Y, Sohmiya K, Kono T, Toko H, Fujita M, Kitaura Y. Suppression of inflammation in rat autoimmune myocarditis by S100A8/A9 through modulation of the proinflammatory cytokine network. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 229-237.

2. Miyamoto S, Ueda M, Ikemoto M, Naruko T,

Itoh A, Tamaki S, Nohara R, Terasaki F, Sasayama S, Fujita M. Increased serum levels and expression of S100A8/A9 complex in infiltrated neutrophils in atherosclerotic plaque of unstable angina.

Heart 2008; 94: 1002-1007.

2. 学会発表

1. 大塚 薫 他. Anti-inflammatory effects of S100A8/A9 (MRP8/14) on experimental autoimmune myocarditis by modulating proinflammatory cytokine network, European Society of Cardiology Congress 2008, 2008 年 8 月 30 日～9 月 3 日, Munich, Germany.

2. 大塚 薫 他. Suppression of inflammation in rat autoimmune myocarditis by S100A8/A9 through modulation of the proinflammatory cytokine network. 第 12 回日本心不全学会学術集会, 2008 年 10 月 16 日～18 日, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得・出願

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

心不全に対し β 遮断薬療法を安全かつ有効に導入するための統合的ゲノム薬理研究

分担研究者 藤尾 慈 大阪大学大学院准教授 薬学研究科

研究要旨： β 遮断薬が心不全患者の予後、生活活動性を改善することが大規模臨床試験で証明され、 β 遮断薬はアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬と並んで心不全治療の第一選択薬と位置づけられるに至っている。しかし、同時に、 β 遮断薬が本来有する陰性変力作用により、投与された心不全患者の一部に、心不全の悪化をきたす症例（ノンレスポンド）が存在する。本研究は、遺伝情報に基づいて、投与前に β 遮断薬への反応性を予測し、心不全に対する β 遮断薬療法を個別適正化することを目的とする。

平成 18、19 年度、心不全に関連する 91 遺伝子 210 遺伝子多型と β 遮断薬に対する反応性との相関を検討した。平成 20 年度は、さらなるサンプル収集および詳細な臨床データの収集を行い、長期予後の観点から、投与後 1.5 年以上経過観察を終えた症例 100 例を対象に検討を加え、 β 遮断薬の薬効予測に有用な遺伝子多型を絞り込んだ。さらに、当該遺伝子多型に関して、臨床現場で使用可能な遺伝子多型判定機器を作製するために、等温増幅の条件設定を行った。

また、本年度期間中、心不全に対する β 遮断薬療法に関する大規模臨床試験 J-CHF の遺伝子多型に関するサブスタディーに参加した症例 123 例に関して、心不全に関連する 91 遺伝子 210 遺伝子多型の多型解析を行った。

A. 研究目的

心不全は、さまざまな心疾患の終末像であり、その患者数は、世界中で増加している。わが国においても、過度のカロリー摂取がなされるようになり、社会の高齢化とあいまって、今後、心不全患者の数は増加するものと予想される。心不全に対する薬物治療において、近年の重大な進歩のひとつは、 β 遮断薬療法にある。数々の大規模臨床試験により、 β 遮

断薬の心不全患者に対する有効性が明らかとなり、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤とならんで、心不全治療の第一選択薬となりつつある。その一方、 β 遮断薬療法の問題点として、 β 遮断薬が元来もつ陰性変力作用のために、心不全が悪化する症例（ノンレスポンド）が存在することが認識されるに至っている。従って、このような期待されたアウトカムが得られないノンレスポンド一症

例をβ遮断薬投与前に予測し、慎重な投与を行なう、あるいは、他剤、すなわちACE阻害薬を第一選択薬として治療を行うことは、心不全の薬物治療をより安全に行うという点で、極めて重要な課題である。このような背景から、本研究は、心不全に対するβ遮断薬療法において、遺伝子多型に基づいて薬効の予測を行なうための基盤技術の確立を目標としている。

本研究の最終年度である平成20年度は、研究成果の実用化に向け、ベッドサイドで使用可能な遺伝子多型判定機器を作製するための基盤構築を目標とした。すなわち、

① β遮断薬の薬効を予測することを目的とした遺伝子多型判定機器の作製を具体化するため、判定対象遺伝子多型を絞り込み、機器作製のための基礎技術である等温増幅法の条件設定を行うこと

② 絞り込んだ遺伝子多型の中で、生物学的機能が不明な遺伝子多型については機能解析を行うこと

③ これまでの研究結果の外部妥当性を検証するため、独立した患者集団として、大規模臨床試験J-CHFの遺伝子多型に関するサブスタディに参加した症例を対象に、91遺伝子210遺伝子多型の判定を行うこと

を具体的な目標とした。

B&C. 研究方法と結果

1) β遮断薬の長期効果を決定する遺伝子多型の絞り込み

【方法】平成18、19年度、144例を対象に92遺伝子210遺伝子多型とβ遮断薬への反応性との相関を検討した。これまで、β遮

断薬への反応性は、投与前6ヶ月以降の心臓超音波検査によるFractional Shortening (FS)の改善度でレスポナー、ノンレスポナーの判定を行ってきた。本年度、症例の追加により、1.5年以上経過観察を行っている症例が100例に達したことから、長期効果の観点から、β遮断薬療法反応性を予測するのに有用な遺伝子多型を絞り込んだ。

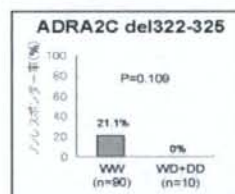
本研究は、投与前のFSが25%以下である症例を対象とした。1.5年以上経過観察し、FSが絶対値として3%以上改善した症例をレスポナー、それ以外をノンレスポナーとした。

【結果】多型判定機器で判定対象とする遺伝子多型は、その遺伝子型により薬物反応性を明確に分類可能な遺伝子型である必要がある。また、判定機器で行う反応数には限界があるため、対象とする遺伝子多型数を限定する必要がある。以上のような要件から、以下の三つの遺伝子多型を判定対象として絞り込んだ。

i) ADRα2C

del322-325 遺伝子多型

(アドレナリン受容体 α2C



del322-325 遺伝子多型)：この受容体は、presynaptic に存在し、遺伝子多型が存在すると交感神経終末からのノルエピネフリン(NE)の放出が亢進することが知られている。β刺激が過剰な症例においてβ遮断薬のレスポナーが増加するという点で機序の面からも reasonable である。

ii) TSP1 Thr523Ala 遺伝子多型 (トロンボスポンジン 1 Thr523Ala 遺伝子多型)；トロ