

200825062A

(別添1)

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業

降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じた

テーラーメイド治療確立に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

平成21(2009)年 3月

研究代表者 河野 雄平

(国立循環器病センター)

(別添1)

厚生労働科学研究費補助金
循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業

降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じた
テーラーメイド治療確立に関する研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

平成 21 (2009) 年 3 月

研究代表者 河野 雄平
(国立循環器病センター)

(別添2)

目 次

I. 総括研究報告書

- 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究……………1
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

資 料 :

- Godward Study 単施設研究……………7
・倫理委員会承認書
・研究計画書
・説明文書
・食物摂取頻度調査票
・症例報告書
- Godward Study 多施設共同研究……………45
・倫理委員会承認書
・研究計画書
・説明文書

II. 分担研究報告書

1. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究……………71
国立循環器病センター 内科脳血管部門 医長 長束一行
国立循環器病センター 内科脳血管部門 医師 田中智貴
2. Vitamin K epoxide reductase complex subunit like 1(VKORC1L1)遺伝子多型と
ワルファリン量の個人差に関する研究……………73
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 内科脳血管部門 医長 長束一行
3. 抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド医療確立に関する研究……………75
国立循環器病センター 輸血管理室 医長 宮田茂樹
4. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究
WNK1 遺伝子多型の血圧日内変動に及ぼす影響……………79
大阪大学大学院医学研究科 老年・腎臓内科学 講師 神出 計

5. ワルファリン投与量に影響を与える VKORC1 と CYP2C9 の遺伝子多型のタイピング法の確立……………82	
	国立循環器病センター 心臓血管内科 部長 鎌倉史郎
	国立循環器病センター 臨床検査部遺伝子検査室 技師 太田直孝
	国立循環器病センター 臨床検査部遺伝子検査室 主任 浦 敏郎
	国立循環器病センター 動脈硬化代謝内科 医長 宮本恵宏
	国立循環器病センター 動脈硬化代謝内科 部長 吉政康直
6. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究……………84	
	国立循環器病センター 臨床研究開発部 室長 山本晴子
7. SmartAmp 法によるワルファリン関連遺伝子タイピングに関する研究……………86	
	理化学研究所 上級研究員 レジャバ・アレキサンダー
	理化学研究所 研究員 片山敦子
8. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究……………89	
	国立循環器病センター 内科脳血管部門 医師 古賀政利
9. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究……………91	
	国立病院機構九州医療センター 脳血管内科 科長 矢坂正弘
10. ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型と食事の影響の検討に関する研究……………93	
	国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター長 是恒之宏
11. 臨床亜病型診断における急性期バイオマーカーに関する研究……………96	
	聖マリアンナ医科大学 神経内科 教授 長谷川泰弘
	聖マリアンナ医科大学 神経内科学大学院 医師 加藤文太
	聖マリアンナ医科大学 神経内科学大学院 医師 高石 智
12. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究……………100	
	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
13. 抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド医療確立に関する研究……………103	
	国立循環器病センター研究所 病因部 室員 嘉田晃子
14. 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）……………106	
	大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 教授 楽木宏実

15. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究 ……………	108
日本大学 医学部内科学系総合内科学分野 教授 相馬正義	
16. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究 ……………	112
国立病院機構九州医療センター 高血圧内科 医長 土橋卓也	
17. 高齢者における脳卒中後血圧高値に対する危険因子の解明 ……………	114
金沢医科大学 高齢医学 教授 森本茂人	
18. 降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究 ……………	117
愛媛大学 医学部 教授 三木哲郎	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………	121
IV. 研究成果の刊行物・別刷り ……………	129

(別添3)

I. 総括研究報告書

厚生科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）
総括研究報告書

降圧治療および抗凝固療法の個人の特性に応じたテーラーメイド治療確立に関する研究

研究代表者：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：降圧薬の効果ならびに副作用に関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テーラーメイド診療が可能になる。これを実現するために、我々は降圧薬感受性遺伝子を用いた前向き多施設臨床試験（GEANE2研究）を本厚生科研にて計画している。今年度はGEANE2研究の研究協力体制を確立した。またGEANE2研究を施行する際の遺伝子情報より降圧薬を選択する方法を検討した。
抗凝固薬ワルファリンの患者個人の体質や食習慣に応じたテーラーメイドな使用法の確立も、時に致死出血性合併を引き起こすことを予防するために必要である。本研究では遺伝子情報や患者の食習慣の是正により、患者個人の至適ワルファリン投与量を決める方法を確立することを目指した多施設共同研究を開始した。

研究分担者名

長束一行 国立循環器病センター 内科脳血管部門 医長
宮田敏行 国立循環器病センター研究所 病因部 部長
宮田茂樹 国立循環器病センター 輸血管理室 医長
神出 計 国立循環器病センター 内科高血圧腎臓部門 医長（平成20年12月31日まで）
大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 講師（平成21年1月1日～現在）
鎌倉史郎 国立循環器病センター 心臓血管内科 部長
山本晴子 国立循環器病センター 臨床研究開発部 室長
レジャバ・アレキサンダー・ 理化学研究所 上級研究員
古賀政利 国立循環器病センター 内科脳血管部門 医師
矢坂正弘 国立病院機構九州医療センター 脳血管内科 科長
是恒之宏 国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター長
長谷川泰弘 聖マリアンナ医科大学 神経内科 教授
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
嘉田晃子 国立循環器病センター研究所 病因部 室員
楽木宏実 大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 教授
相馬正義 日本大学 日本大学 医学部内科学系総合内科学分野 教授
土橋卓也 国立病院機構九州医療センター 高血圧内科 医長
森本茂人 金沢医科大学 高齢医学 教授
三木哲郎 愛媛大学 医学部加齢制御内科学 教授

A. 研究目的

高血圧治療において、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬(ARB),カルシウム拮抗薬(CCB),サイアザイド系利尿薬(TD)は広く用いられており、ガイドラインでも使用が推奨されているが、降圧薬の効果には個人差が存在するため、実臨床の現場ではしばしばその選択に苦慮する。我々はこれまで、ARB, CCB, TDの降圧効果に関連する一塩基多型(SNP)を候補遺伝子アプローチで見出し、またそれらの効果や副作用に関連するSNPをGEANE研究(厚生労働科学研究H17-19年度:H17ファーマコー003)でゲノム網羅的に明らかにした。次の段階としてこれらの降圧薬関連SNPを実臨床現場でタイピングすることにより降圧薬を選択することの有用性の証明が必要となる。そのために全国の約20の高血圧専門施設の参加のもと前向きに降圧薬関連SNPによる降圧薬選択の有用性を証明するGEANE2研究を計画した。GEANE2によりSNP情報からの降圧薬選択の有用性が確認されれば、直ちに世界中で今だに行われていない高血圧テーラーメイド医療を実現することが可能になる。

心原性脳塞栓症の一次予防、二次予防にはワルファリンが現在のところ唯一有効性が確認された薬剤である。しかし、至適投与量に大きな個人差があり、かつ初期投与量が決定した後も効果が変動し投与量の微調整が必要で、

投与量が過剰となった場合の出血などの副作用も多い。最近ワルファリン投与量の個人差に遺伝子多型が大きく関与し、遺伝子多型の寄与により、大きく低用量、中用量、高用量群に層化できることが報告されている。我々の予備的研究において、本邦での遺伝子多型とワルファリンの維持投与量の関連を検討した結果、欧米と比して中等量のワルファリン投与群が多くその中でのはらつきが大きいことが分かっている。さらに維持量が決まった後も効果の変動、季節変動を示す症例もあり、欧米人に比べて野菜の摂取量が多く、かつ季節によって摂取する野菜の種類が大きく変わるという日本人の食習慣を考えると、食事によるビタミンK摂取量の寄与が推測される。これまで遺伝子多型と身長体重、性別などで至適投与量の推測が行われているが、ビタミンK摂取量の因子を加えた研究はなく、本研究によりさらに正確に至適投与量を推測でき、維持期の効果変動に対する影響を突き止めることができる。また、遺伝子多型検出型超高速等温増幅法を用いて短時間(15分以内に)にチップ化することによりベッドサイドで測定可能なCYP2C9ならびにVKORC1の遺伝子多型を正確に測定しうるシステムを開発し、これらを用いることで、より簡便にワルファリン投与量に影響する因子を明確にでき、それらを含んだ予測値を基に個人の至適投与量を推定する方法の開発が可能となると考えられる。

B. 研究方法

降圧薬関連研究については、本研究で施行予定の GEANE2 研究を行うために、先行研究である GEANE 研究で明らかになった 3 薬剤の効果関連 SNP から至適降圧薬を選別する方法を模索した。詳細は分担研究者 花田の報告書にあるが、投薬前の血圧値を考慮した降圧効果の評価法、 $GEO: (投薬後収縮期血圧)^2 / (観察期血圧)$ を用いて降圧度の評価を行った。この指標を用い、各薬剤の降圧効果関連 SNP を絞り込んだ。

ワルファリン関連研究は主に、ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型と食事の影響の検討 (The Study on the Contribution of Genetic Factors or Dietary Vitamin K Intake to Individual Warfarin Dosage [Godward Study]: 前向き横断研究) で外来患者を対象に横断的に VKORC1 および CYP2C9 の遺伝子多型と、食事調査票を用いてビタミン K を含む各種栄養摂取量を推定するとともに、3 ヶ月間のワルファリン投与量と PT-INR の推移等について調査した。

さらに症例数を増やした前向き研究を行うために多施設共同研究の体制を構築し、研究を進めた。(ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型と食事の影響の検討: 多施設共同研究 Godward-Multi Study)

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚

生労働省・経済産業省告示第 1 号) を遵守する。

C. 研究結果

降圧薬の選択に関して、各薬剤で 150-180SNP サイトを抽出し、個人ごとの遺伝子型から降圧薬の有効性を 99%以上の正確性で判定するモデルを作成した。このモデルでは、降圧効果の指標として、前述の GEO を使用し、有効性の判定を、GEO の平均値以下またはそれ以外の 2 群に分割して、2 群間で頻度の差が大きい SNP サイトを抽出し、患者一人が持つ SNP 遺伝子型のうち、降圧効果が大きいリスクアレルと効果が小さいリスクアレルの頻度を利用して、有効性の判定を行った。降圧薬ごとに異なる 150-180SNP サイトから構成される SNP セットの遺伝子型データを使用しているが、患者あたりに用いている SNP サイト数は 10-36 だった。これらの SNP をタイピングすることにより有効な薬剤が SNP より選別できる可能性が示された。

Godward Study: 前向き横断研究 ; 最終的な解析対象は 183 名であり、男性 130 名、女性 53 名 (平均 71.9 歳) でであった。ワルファリン 1 日投与量の平均は 75 歳未満で 3.5mg、75 歳以上で 2.9mg、ビタミン K 摂取量は平均 131.9 μ g であった。遺伝子多型の組み合わせでは 6 群に分類され、ワルファリン効果が発揮されやすい群が 3.2%、されにくい群が 1.6% 存在することが判明した。これらの結果は preliminary な解析の結果であり、今後さらに、ビタミン K 摂取量、遺伝子多型、併用薬、体重等とのワルファリン投与量の関

連を検討していく予定である。

Godward-Multi Study: 多施設共同研究; 倫理委員会の承認を得て、患者登録を開始した。今後、目標症例数 400 症例を目指して患者登録を進め、食事の季節変動を含め、詳細に検討を行っていく予定である。

D. 考察

降圧薬は大変処方数の多い薬剤であり、本研究により SNP より、ARB, CCB, TD といった主要降圧薬の選択が遺伝子情報により出来る可能性が示された。今後は本方法を GEANE2 研究に用いて、SNP による薬剤選択の有用性を前向きに証明することが必要である。

ワルファリンの効果に関しては、遺伝子多型のみでワルファリンの投与量が規定できるわけではなく、残る 45% は未だ説明のつかない部分として残されている。その主因として、食事の影響(ビタミン K 摂取量)が示唆されるが、それを詳細に検討した報告は少ない。今回、季節変動や、食事調査票を用いたビタミン K 摂取量の推定、その季節変動、ビタミン K 血中濃度の測定による、詳細な検討は、遺伝子多型情報を合わせて、ワルファリンの至適投与量の推定に重要な情報をもたらすものと期待できる。今後さらに、患者登録を進め、詳細な検討を行うことにより、患者個人に最適なワルファリン投与量を事前に推測し、より有効な抗凝固効果を示し、出血の副作用の最小化

を可能とするワルファリン療法の個別化医療の確立を目指す。

E. 結論

SNP より主要降圧薬を選択できる方法を開発した。遺伝子情報より降圧薬を選択する方法の有用性の証明を前向きにおこなう GEANE2 研究にてこの方法を用いる予定である。遺伝子情報による高血圧テーラーメイド医療の確立を実現するため、これから GEANE2 研究を開始する予定である。

ワルファリン関連研究は、遺伝子多型、食事調査票によるビタミン K を主とした栄養摂取状況等がワルファリン必要投与量に与える影響について前向き横断研究を実施し、さらに、季節変動等の検討を加えた多施設共同研究を開始した。今後は、患者個人に最適なワルファリン投与量を事前に推測し、より有効な抗凝固効果を示し、出血の副作用の最小化を可能とするワルファリン療法の個別化医療の確立を目指す。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kamide K, Yang J, Matayoshi T, Takiuchi S, Horio T, Yoshii Y, Miwa Y, Yasuda H, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Miyata T, Kawano Y. Genetic polymorphisms of L-type calcium channel α_{1c} and α_{1d} subunit genes are associated with sensitivity to the

antihypertensive effects of L-type dihydropyridine calcium-channel blockers. *Circ J* (in press)

- 2) Yin T, Maekawa K, Kamide K, Saito Y, Hanada H, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Horio T, Takiuchi S, Kawano Y, Minematsu K, Naritomi H, Tomoike T, Sawada J, Miyata T. Genetic variations of *CYP2C9* in 724 Japanese individuals and their impacts on the antihypertensive effects of losartan. *Hypertens Res* 2008;31:1549-1557.
- 3) Yang J, Kamide K, Kokubo Y, Takiuchi S, Horio T, Matayoshi T, Yasuda H, Miwa Y, Yoshii M, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Tomoike H, Miyata T, Kawano Y. Association of hypertension and its complications with variations of the xanthine dehydrogenase gene. *Hypertens Res* 2008;31:931-940.
- 4) Kawano Y, Horio T, Matayoshi T, Kamide K. Masked hypertension: subtypes and target organ damage. *Clin Exp Hypertens* 2008; 30: 289-296.

2. 学会発表

- 1) Kawano Y: Biomolecular and genetic markers for vascular disease. 4th Korean Vascular Research Symposium, Seoul, Korea, 2008:Mar.

(Special lecture)

- 2) 神出 計、花田裕典、宮田敏行、嘉田晃子、森本茂人、中橋 毅、滝内 伸、石光俊彦、土橋卓也、相馬正義、荻原俊男、勝谷友宏、檜垣實男、大蔵隆文、松浦秀夫、品川達夫、笹栗俊之、三輪宜一、三木哲郎、伊賀瀬道也、武田和夫、島本和明、東浦勝浩、上野道雄、片淵律子、細見直永、加藤丈司、富田奈留也、駒井則夫、小嶋俊一、江口真透、藤田利治、佐瀬一洋、友池仁暢、河野雄平。： 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研究) 第31回日本高血圧学会、2008年10月、札幌
- 3) Kamide K, Hanada H, Miyata T, Kada A, Eguchi S, Fujita T, Sase K, Tomoike H, Kawano Y GEANE study group. Gene Evaluation for Antihypertensive Effect of drugs- A Multicenter Trial - the 81st American Heart Association 2008 Scientific Sessions. 2008:Nov. 8-12. New Orleans, USA
- 4) 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- Genomic approaches to cardiovascular diseases- Present and future-平成20年3月29日福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

資 料：

Godward Study 単施設研究

- 倫理委員会承認書
- 研究計画書
- 説明文書
- 食物摂取頻度調査票
- 症例報告書

Godward Study 多施設共同研究

- 倫理委員会承認書
- 研究計画書
- 説明文書

Godward Study

単施設研究

- 倫理委員会承認書
- 研究計画書
- 説明文書
- 食物摂取頻度調査票
- 症例報告書

(様式2)

国立循環器病センター倫理委員会審査判定通知書

平成19年10月25日

(申請者)

脳血管内科医長 長束 一行 殿

国立循環器病センター

倫理委員会委員長 武 部



受付番号 M19-35

課題名 ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型と食事の影響の検討 The Study on the Contribution of Genetic Factors or Dietary Vitamin K Intake to Individual Warfarin Dosage (Godward Study)

代表者名 脳血管内科医長 長束 一行

上記課題を、平成19年10月25日の委員会で審議し、下記のとおり判定したので通知する。

記

判定	<input checked="" type="checkbox"/> 承認 <input type="checkbox"/> 条件付承認 <input type="checkbox"/> 不承認 <input type="checkbox"/> 非該当 <input type="checkbox"/> 継続審議
理由	・慎重に検討されており、倫理的な問題はない。

The Study on the Contribution of Genetic Factors or Dietary Vitamin K
Intake to Individual Warfarin Dosage (Godward Study)
ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型と食事の影響の検討
研究計画書

(1) 本研究の位置づけ

本研究は、独立行政法人理化学研究所との共同研究である。具体的には、ワルファリンの至適用量の個人差に CYP2C9 と VKORC1 の遺伝子多型が影響を及ぼすことが近年知られているが、食事から摂取されるビタミン K の影響を加味して検討を加えることにより、ワルファリンの投与量に対する遺伝子、生理学的要因、さらに環境要因の与える影響を明らかにし、至適用量のより正確な推測方法の検索を目的とする。

(2) 提供者を選ぶ方針

当施設に定期的に通院してワルファリンによる抗凝固療法を受けている患者

選択基準

- ① 非弁膜性心房細動等の塞栓源となる心疾患もしくは血栓塞栓症を有しワルファリンを内服している
- ② 当施設に定期的に通院し、概ね 2 ヶ月に 1 回以上の頻度で PT-INR のデータが存在する
- ③ 少なくとも屋内自立の状態 (mRS<3) で、経口で普通食を食べている
- ④ 本人が本研究への参加に同意する意思を有することが確認でき、かつ本人 (本人が失語や麻痺のために書字不能の際は家族 (※) の代筆を可とする) より文書同意が得られる

※「家族」とは、研究参加者の配偶者、成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族またはそれらの近親者に準ずると考えられる者で、研究参加者の最善の利益を図りうる者とする。

除外基準

- ① 持続的な炎症徴候がある
- ② 重篤な消化器疾患を有する
- ③ 治癒が確認されていない悪性腫瘍に罹患している
- ④ 重篤な肝疾患に罹患している (GOT、GPT の正常値の 3 倍を超える値を判断の参考とする)
- ⑤ 先天性血液凝固異常が疑われる
- ⑥ 病的な血小板減少がある (血小板数で 10 万以下を判断の参考とする)
- ⑦ 過去 2 ヶ月以内にワルファリンを連続 3 日以上服薬中断したことがある
- ⑧ 以上には該当しないが、担当医が本研究への組み入れが不適当と考える

(3) 研究の意義、目的、方法、期間、予測される結果及び危険、個人情報保護の方法
【研究の意義】

ワルファリンによる抗凝固療法は、心原性塞栓の予防法としてエビデンスが確立しており、循環器領域で広く使用されている。しかし、従来からワルファリンの投与量や出血のリスクに個人差が大きいことが知られている。また、臨床現場では、同一患者で特に明瞭

な理由なしに抗凝固作用が過剰になったり過少になったりすることが稀ではなく、有効性と安全性を一定に保つためには定期的な採血と細かな投与量調節が必要とされている。

近年、ワルファリンの個人差と遺伝子多型の関連性について2つの大きな発見があった。ひとつはワルファリンの主な代謝酵素であるチトクローム P450 (CYP) 2C9 の SNPs が発見され、野生型とのクリアランスの違いが明らかになったことである。もうひとつは、ワルファリンの標的分子であるビタミン K エポキシド還元酵素 (VKORC1) の種々の SNPs の発見である。最近の報告では、CYP2C9、VKORC1 の遺伝子多型、年齢、性別、体表面積、体重等の要因でワルファリンの1日投与量の個人差の約60%が説明可能とされた。しかし、残る40%は説明のつかない部分として残されている。

日本人の遺伝子背景については既に報告があり、日本人は中等量のワルファリン投与群が多く、その中でも投与量のばらつきが大きいことがわかっている。また、実際の臨床現場においても、同じ患者においてワルファリンのときによって投与量が1mg程度変動する場合もあり、経験的に食事がなんらかの影響を及ぼしていると考えられている。

今までのところ、食事の影響を加味して検討した研究は報告されていない。しかし、同一個人における説明不可能な投与量の変動等を考え合わせると、食事からのビタミン K 摂取等の影響は無視できない可能性が高い。また、日本と海外の食習慣の違いを考えると、わが国において、今までに知られている遺伝子多型とその他の生理学的要因に加えて、食事調査票の導入によってビタミン K を主とした栄養摂取状況を説明要因に加えて検討する意義は非常に大きいと考える。本研究により、ワルファリンの投与量に対する遺伝子、生理学的要因、さらに環境要因の与える影響を明らかにし、個別化医療への糸口としたい。

【研究の目的】

ワルファリン投与量がおおむね安定している患者において、遺伝子型、臨床的要因、食事内容等の種々の要因がワルファリン維持投与量に与える影響を調査し、維持投与量の予測可能性について検討する。

【方法】

当施設に定期的に通院してワルファリンによる抗凝固療法を受けている患者を対象に、

- ・ 患者本人の文書同意取得後、体重等の背景情報を調査するとともに VKORC1 および CYP2C9 の遺伝子多型検査を実施する
- ・ 食事調査票記載時期の前後約2ヶ月間の PT-INR 検査値を含む血液検査データを収集する
- ・ 食事調査票を用いてビタミン K を含む各種栄養摂取量（推測値）を収集する
- ・ 当院においてワルファリンを開始された患者については、開始当時のワルファリン投与量と PT-INR の推移を収集する

目標症例数：

国立循環器病センター脳血管内科外来通院患者 200 例
(症例数設定の根拠)

本研究は探索的な研究であるため、統計的な症例数の設定は行わない。

200 例集まると、過去に行われた研究（参考文献1）から CYP2C9 変異ヘテロ接合体の保有者は20名、VKORC1 変異ヘテロ接合体の保有者は30名程度含まれることが予想される。

【期間】

2007年11月～2008年12月

【予測される結果】

ワルファリンの効果に対する遺伝子多型や食事の影響を明らかにすることで、個別の患者に対するワルファリンの至適用量の予測が可能となり、出血や血栓塞栓症を起こすことなく、より安全なワルファリン治療を行う助けとなる。

【予測される危険】

試料採取は約5mlの血液であり、試料等の提供者およびその家族等に危険や不利益が及ぶ可能性は極めて小さい。

【個人情報の保護の方法】

本研究が対象とする試料等に付随する個人情報は、国立循環器病センター内の個人情報管理者（副病院長）において管理され、保護される。全ての試料は連結可能匿名化する。臨床データは、添付書類の Godward Study Data Sheet にあるような項目である。データの保管は、パスワードで守られたコンピュータで管理する。コンピュータは鍵のかかる場所に保管するか、ワイヤーなどで固定する。匿名化のタイミングは採取した後であり遺伝子多型タイピングの前である。匿名化は国立循環器病センターで行われる手順を踏む。利用目的が変更された場合は、個人情報の取得に明示された利用目的の変更が合理的な範囲を超えると判断できる場合には、再同意を取得する。

(4) 試料等の種類、量

当該研究に関して同意を得た患者から血液を通常の方法で約5mlを採血する。

(5) 共同研究機関の名称

独立行政法人理化学研究所。

(6) 研究責任者等の氏名

【研究責任者】国立循環器病センター病院脳血管内科 医長 長束一行

【共同担当者】別紙2に記載

(7) インフォームドコンセントのための手続き及び方法

《患者さん用説明文書（別紙3）》を用いて、説明者（別紙4）が説明を行い、別紙5の書面にて同意を得る。

(8) 提供者本人からインフォームドコンセントを受けることが困難な場合、その研究の重要性及び本人から試料等の提供を受けなければ研究が成り立たない理由並びに代諾者等を選定する考え方

提供者本人が神経疾患等を合併し、遺伝子解析に署名できない場合は、本人が本研究への参加に同意する意思を有することが確認できた場合に限り、家族（※）の代筆を可とする。

※「家族」とは、研究参加者の配偶者、成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族またはそれらの近親者に準ずると考えられる者で、研究参加者の最善の利益を図りうる者とする。

(9) 遺伝情報の開示に関する考え方

本研究は、ワルファリンの至適投与量に遺伝子多型及び食事の与える影響に関する研究である。患者は、遺伝子変異により通常は疾患に罹患するものではない。また、本研究の対象は既にワルファリン治療を数年にわたり維持できている場合が多い。したがって、個人の遺伝子解析の結果はその人の健康状態などを評価するための情報としては不十分であり、また現時点において個人に利益を与えるものでもない。しかし、患者本人の要請があれば、遺伝子情報は開示する。

(10) 研究実施前提供試料等を使用する場合の同意の有無、内容、提供時期、三省指針への適合性

研究実施前提供試料は使用しない。研究実施前の臨床情報の一部を使用するため、説明文書内に使用する臨床情報を明示し、患者の同意を得る。

(11) 他の研究機関から試料または遺伝情報の提供を受ける場合のインフォームドコンセントの内容

共同研究機関からは試料と情報の提供を受けない。

(12) 試料等または遺伝情報を外部の機関に提供する場合や研究の一部を委託する場合の匿名化の方法等の事項（契約の内容を含む）

該当しない

(13) 試料等の保存方法およびその必要性（他の研究への利用の可能性と予測される研究内容）

試料は検査終了後に破棄する。解析のデータは、研究期間終了後も個人を特定できない形で保管する。

(14) 試料等の廃棄方法およびその際の匿名化の方法

試料等の匿名化番号などをコンピューター上から完全に削除し、試料は分解して流すなどの方法により廃棄する。

(15) 遺伝カウンセリングの必要性及びその体制

本研究では、患者本人の要請があれば遺伝子情報を開示するが、ワルファリン代謝に関わる遺伝子多型の情報であり、現時点において特定の疾患との関連性等は知られていない。しかし、患者によっては遺伝カウンセリングを必要とする場合が生じる可能性があるため、遺伝カウンセリングの体制を整えている。

(16) 研究資金の調達方法

本研究に必要な資金は、独立行政法人医薬基盤研究所 保健医療分野における基礎研究推進事業 平成17-21年度「高血圧等循環器疾患のゲノム情報多元的意義付けと画

期的診断・治療法の開発」(総括研究代表者 森崎隆幸)等より支出される。なお、遺伝子多型検査に必要な資材は、共同研究者である理化学研究所林崎良英主任研究員より無償提供される。

参考文献：

- 1) Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, et al. Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients. *Thrombosis Research* 2007; 120: 181 -186.
- 2) Millican EA, Lenzini PA, Milligan PE, et al. Genetic -based dosing in orthopedic patients beginning warfarin therapy. *Blood* 2007; 110: 1511 -1515.
- 3) FDA News "FDA Approves Updated Warfarin (Coumadin) Prescribing Information. <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2007/NEW01684.html>
- 4) Mitani Y, Lezhava A, Kawai Y, et al. Rapid SNP diagnostics using asymmetric isothermal amplification and a new mismatch-suppression technology. *Nature Methods* 2007; 4: 257-262.

別紙 2 共同担当者・所属・職名

共同担当者	所 属	職 名
友池 仁暢	国立循環器病センター	病院長
宮田 敏行	同 上	病因部 部長
峰松 一夫	同 上	脳血管内科 部長
成富 博章	同 上	脳血管内科 部長
森崎 隆幸	同 上	バイオサイエンス部 部長
鎌倉 史郎	同 上	臨床検査部 部長
佐藤 清	同 上	臨床検査部 技師長
宮田 茂樹	同 上	輸血管理室 医長
山本 晴子	同 上	臨床研究開発部 室長
嘉田 晃子	同 上	臨床研究開発部 研究員
林崎 良英	独立行政法人理化学研究所	主任研究員