

(16) 研究資金の調達方法

本研究に必要な資金は、厚生労働省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」(総括研究代表者 河野雄平)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提供される。

参考文献：

- 1) Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, et al. Genotypes of vitamin K epoxidoreductase, gamma-glutamylcarboxylase, 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.

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
の遺伝子解析における試料等の提供に関する
合意文書 (Material Transfer Agreement)

1. 本文書は〇〇大学（以下、甲）と国立循環器病センター（以下、乙）の間で授受されるワルファリン至適用量に対する遺伝子多型解析研究に係る遺伝子検体の取り扱いについて定めるものである。
2. 本文書が対象とする遺伝子検体は、ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型タイピングの目的で甲が収集し、かつ適切に取得されたものであることを甲が保証したものとする。
3. 甲は匿名化した遺伝子検体を乙に分与する。分与の数、時期、方法については別に定める。
4. 乙は提供された遺伝子検体を用い、2 項に掲げた目的のための遺伝子解析を行うことができる。
5. 乙が定める遺伝子検体管理者は、甲から提供された遺伝子検体及びその解析結果を「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（3省共通指針）及び本文書に基づいて適切に管理するものとする。
6. 乙は、研究終了後の残余の遺伝子検体を廃棄するものとする。

上記の申し合せにつき合意する。

甲：〇〇大学
研究責任者
平成 年 月 日

乙：国立循環器病センター
研究責任者
平成 年 月 日

_____ 印

_____ 印

別紙 2 共同担当者及び施設リスト

共同担当者	研究参加施設（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
鎌倉 史郎	同上	臨床検査部 部長
佐野 道孝	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
矢坂 正弘	独立行政法人国立病院機構九州医療センター	脳血管神経内科 科長
是恒 之宏	独立行政法人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

「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)参加のお願い

【研究への協力の任意性と撤回の自由】

この研究へ参加するかどうかはあなたの自由意思で決めてください。強制はいたしません。参加したくない場合は、遠慮なくお断りください。また、研究に参加しなくても、今後のあなたの治療において不利益になるようなことはありません。

また、一度同意した場合でも、途中でやめたい場合は、いつでも同意を取り消すことができ、その場合はあなたのアンケートや検査結果などは破棄され、診療記録などもそれ以降は研究目的に用いられることはありません。

ただし、同意を取り消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合などのように、調査結果などを廃棄することができない場合があります。



【研究目的及び内容】

《ワルファリンについて》

- ・ 現在内服されているワルファリンは、血液を固まりにくくする働きをするので、血栓が出来やすい病気をお持ちの患者さんの脳梗塞等の予防を目的として広く使用されています。
- ・ しかし、ワルファリンが有効かつ安全である範囲は個人によって異なり、また同じ患者さんが同じ量のワルファリンを服用していても、効き目が変わることがあります。
- ・ ワルファリンは効き目が強すぎると出血を起こしやすくなり、効き目が弱いと脳梗塞や血管閉塞を起こしやすくなります。そのため、定期的な採血と細かな投与量の調節が必要になります。

1. 研究の背景

以前から、ワルファリンは、ビタミンKを多く摂取すると（納豆や緑黄色野菜などに多く含まれています）効き目が弱まることがわかっています。また、最近の研究によって、ワルファリンが標的にする酵素の遺伝子とワルファリンの代謝に関連する遺伝子にいくつかのタイプがあり、その組み合わせによって、ワルファリンの必要量が多い患者さんと少ない患者さんがいらっしゃり、効き目の違いがあることがわかってきました。

しかし、それでも、同じ患者さんが同じ量のワルファリンを飲んでいても効き目が変わることがあり、なぜ変わるのかがわかりません。また、食事の影響を考慮した研究は報告されておりません。

2. 研究の目的

これらの現状をふまえ、この研究では、ワルファリンの代謝に関わる遺伝子を調べるとともに食事内容の調査を行い、ワルファリンの効き目に関係する遺伝子やビタミンKの影響を調べることを目的としています。

3. 研究方法

対象者は研究参加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さんで、全国で400名（うち、国立循環器病センター200名）の患者さんに約1年間参加していただく予定です。

<研究内容>

1. 遺伝子検査について

血液を通常の方法で約5ml採血して、血液から遺伝子（DNA）を取り出すか血液のまま、ワルファリンの代謝に関連する遺伝子CYP2C9とワルファリンが標的にする酵素の遺伝子VKORC1の構造（多型）を調べます。遺伝子の解析については別紙をご覧ください。

2. アンケート（食物摂取頻度調査票）について

ビタミンKの摂取状況の季節による変動やビタミンKとワルファリンの投与量の関連の影響を検討するため、食事の内容を春・夏・秋・冬の季節ごとに4回（1年間）調査します。



3. 血液検査について

ビタミンKの血中濃度の測定も研究期間中に1回行います。また、いつも診療で測っているワルファリンがどれだけ効いているか（PT-INR）やその他の血液検査結果を研究に使用させていただきます。他の病院や診療所でワルファリンを処方されていて、その用量や血液検査の結果がわかる方には、その結果も研究に使用させていただきたいと思います。

<研究スケジュール>

	同意を いただいた日	シーズン 1 ()	シーズン 2 ()	シーズン 3 ()	シーズン 4 ()
参加協力への同意	○				
食事調査		○	○	○	○
内服中のお薬の 確認	○	○	○	○	○
院内血液検査 (PT-INR など)		○	○	○	○
ビタミン K 血中濃度		○			
遺伝子検査採血		○			

*シーズン 1-4 は、春(3-5 月)、夏(6-8 月)、秋(9-11 月)、冬(12-2 月)のうち、直近の季節から開始し、原則として 1 年間調査を継続します。

同意をいただいた日とシーズン 1 の間は、約 2 か月以内とし、同意取得後であれば同日であっても構いません。

お願いしたいこと

- 研究の参加に同意していただいた場合には、できる限り研究の終了まで、担当医師の指示にしたがって、来院していただき、検査を受けてください。また、ご都合が悪くなられた方は、必ず早めに担当医師にご連絡下さい
- この研究においてお願いするアンケートは、食物の摂取頻度や量を詳しく調べるため記入にお時間がかかり、負担と感じられるかもしれませんが、できるだけスムーズに記入できるように十分に説明させていただきます。
アンケートは、この研究にとって重要なデータとなりますので、記入漏れのないように、回答にご協力をお願いします。

【研究計画書等の開示】

あなたが希望される場合、この研究計画の内容を見ることができます。

【予測される危険性及びその対応】

あなたは既にワルファリンを服用していて、この研究に参加いただくことで治療方針は変わりません。したがって、あなたの身体に及ぼす影響は特にないと考えられます。また、採血量は約10mlですので、採血による危険性は極めて小さいと考えられます。採血では、多少の痛みを伴いますが、万全の注意を払い実施いたします。



【研究参加者にもたらされる利益及び不利益】

この研究の結果が、今すぐあなたにもたらす利益は少ないと考えられます。ただし、1年間の食事調査に御参加いただくことで、研究終了後にはなりますが、普段の食事内容の分析結果を知ることができます。研究の成果は今後の医学の発展に寄与します。その結果、将来、あなたと同じような病気に苦しむ方々の診断や予防、治療などがより効果的に行われる可能性があります。不利益としては、あなたの個人情報研究目的に利用されることによる情報漏えいの可能性があります。この点については十分に配慮いたします。

【個人情報の保護】

遺伝子解析結果は、基本的な個人情報の一つですので、厳重に保護されるべきものです。個人情報は検査担当の検査室にまわされる前に匿名化され、個人情報と試料は別になります。試料は保管され、得られた解析結果は厳重に保管され秘密は守られます。この研究で利用される個人情報のすべては、行政機関個人情報保護法に基づき、適正に管理されます。



【遺伝子解析結果の開示】

本研究は、多数の人または遺伝情報を相互に比較することにより、ワルファリンの投与量と遺伝子の関連を明らかにしようとする研究であり、この情報があなたの診療に直接役立つことは現在のところ、ないと思われれます。得られた遺伝情報につきましては、ご希望があれば開示します。また、検査を承諾されたあとも、試料等の破棄もしくは取扱の変更は行なえます。試料等の破棄もしくは取扱の変更は別紙をご覧ください。

【研究成果の公表】

遺伝子解析の結果は、学会発表や、雑誌、データベースなどで公表されることがありますが、その際には匿名化により個人の特定はできなくなります。

【知的所有権に関すること】

この研究の結果として特許権等が生じる可能性があります、その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関及び研究遂行者などに属し、あなたには属しません。また、その特許権等に関して経済的利益が生じる可能性があります、あなたはこれらについても権利はありません。

【遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱いについて】

あなたの血液は、この研究にのみ使わせて頂き、検査終了後は廃棄します。

【費用負担に関すること】

この研究で実施される遺伝子解析は、理化学研究所に所属する共同研究者によって提供されるので、費用は発生しません。又、食事調査及びビタミンK血中濃度測定も研究費（厚生労働省科学研究費）より支出されるため無料で実施いたします。その他の臨床情報や血液検査等は、あなたがこれまで受けてこられた通常の診療の中で収集されたデータを使用しますので、特に費用は生じません。研究以外の通常の診療にかかる費用は、これまで通りあなたに負担していただきます。

なお、この研究による交通費、謝金等の支給は行いません。

【遺伝カウンセリングの体制について】

当センターでは遺伝カウンセリングについて、専門のスタッフによる対応を行っています。また、他の施設への紹介も出来ますので、疑問な事や相談の必要がありましたら、お気軽に担当医にご相談ください。



【倫理的配慮】

この研究は、国立循環器病センター倫理委員会などで研究計画書の内容及び実施の適否等について、科学的及び倫理的な側面から審議され承認されており、承認された研究計画書に従って行います。また、研究計画の変更、実施方法の変更が生じる場合には適宜審査を受け、安全性と人権に最大の配慮をいたします。

【同意文書への署名について】

この研究に参加される場合は、必ずご本人が説明をお聞きになった上で同意された場合に限ってご参加いただきます。但し、脳梗塞の後遺症等のため、ご自身で同意文書に署名できない場合に限り、ご本人が同意されたことを確認した上で同席されているご家族（※）に署名の代筆をお願いすることにしていきます。

※ あなたの配偶者、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方で、あなたの最善の利益を図っていただける方

平成 年 月 日

問い合わせ先：国立循環器病センター
吹田市藤白台 5-7-1 TEL(06)6833-5012
脳血管内科 医長 長東 一行 (2304)

(説明者)

所属

氏名 _____

(署名または記名・押印)



「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」
 インフォームドコンセントに係る一連の手続きの説明者

氏名	所属	職種
長束一行	国立循環器病センター	医長
宮田茂樹	国立循環器病センター	医長
山本晴子	国立循環器病センター	室長
宮下光太郎	国立循環器病センター	医長
森脇 博	国立循環器病センター	医長
小仲 邦	国立循環器病センター	医師
宇野久一	国立循環器病センター	医師
梶本勝文	国立循環器病センター	医師
鳥居孝子	国立循環器病センター	修練医
仁木 均	国立循環器病センター	修練医
田所靖啓	国立循環器病センター	修練医
峰松一夫	国立循環器病センター	部長
豊田一則	国立循環器病センター	医長
横田千晶	国立循環器病センター	医長
上原敏志	国立循環器病センター	医師
松岡秀樹	国立循環器病センター	医師
古賀政利	国立循環器病センター	医師
永沼雅基	国立循環器病センター	医師
中島隆宏	国立循環器病センター	修練医
竹信祥子	国立循環器病センター	非常勤職員 (看護師)
大原博美	国立循環器病センター	非常勤職員 (CRC)
古川あけみ	国立循環器病センター	非常勤職員 (CRC)

(別紙5)

「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)
への協力に関する同意書

国立循環器病センター 病院長 殿

私は、当該研究の目的、内容、安全性及び危険性等について、説明文書に基づき説明しました。
平成 年 月 日

(説明者) 所 属

氏 名 _____

(署名または記名・押印)

私 () は、「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」(主任研究者 長束一行) に関して、その目的、内容、利益及び不利益を含む下記の事項について担当者から説明文書を用いて説明を受け、理解しました。また、同意した後であっても、いつでも同意を撤回できること、そのことによって何ら不利益を生じないこと、疑問があればいつでも質問できることについても説明を受け納得しました。

つきましては、私自身の自由意思により研究への協力に同意します。

- ・ 研究協力の任意性と撤回の自由
- ・ 研究目的及び内容
- ・ 研究計画書等の開示
- ・ 予測される危険性及びその対応
- ・ 研究協力者にもたらされる利益及び不利益
- ・ 個人情報の保護
- ・ 遺伝子解析結果の開示
- ・ 研究成果の公表
- ・ 知的所有権に関すること
- ・ 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱いについて
- ・ 費用負担に関すること
- ・ 遺伝子カウンセリングの体制について

平成 年 月 日

研究参加者

氏 名 _____

(署名または記名・押印)

(代筆者の場合)

氏 名 _____

(研究参加者との関係)

(署名または記名・押印)

住 所 _____

電話番号 () - _____

遺伝子解析について

国立循環器病センターでは従来からの検査(病理・血液・生化学検査など)とともに遺伝子解析(分子遺伝学的検査)を実施し、より正確な診断、新しい治療法の開発のために遺伝子の研究(分子遺伝学的研究)を行っています。近年の研究の進歩により、こうした新しい検査法は簡便で確実に診断できる方法として一般的になってきたものも少なくありません。

一方で、こうした遺伝子解析研究はこれまでの通常の検査とは異なり、検査対象者個人はもとより家族についての情報や将来の病気の可能性まで分かることもあります。つまり、検査に際して、検査対象者やご家族のプライバシーを最大限に保護する必要があります。

遺伝子解析では他の検査法では分からないことが分かって、より良い治療法の選択につながる場合もあり、また、いまや病気の研究には遺伝子の研究がなくてはならないのも事実です。さらに、遺伝子解析は特殊な遺伝性疾患だけに役立つものではなく、健康な人でも他の人と遺伝子が違う(多型といいます:こうした違いの多くは個々の顔や指紋が違うのと変わりありません)場合に病気の罹りやすさ、あるいは罹りにくさに関係する遺伝子もあることがわかってきました。

遺伝子とは

遺伝子とは人間の身体をつくる設計図に相当するもので、ヒトには約2万数千個の遺伝子があると考えられています。人間の身体は細胞と呼ばれる基本単位からなり、この細胞の中の核と呼ばれる部分に染色体があります。染色体の中でDNAが遺伝子として働いており、この遺伝子の指令に基づいて人間の身体は維持されています。

病気と遺伝子

ほとんど全ての病気はその人自身の持つ因子(遺伝素因)と病原体、環境などの外からの影響(環境因子)の両者が合わさって起こります。これらの片方の原因が強く影響しているもの(狭い意味での遺伝病や結核などの感染症)もありますが、がんや動脈硬化など多くの成人病では両者が複雑に絡み合って生ずると考えられています。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあれば病気になるわけではなく、環境素因との組み合わせが重要であるのは先に述べた通りです。

遺伝性の病気

遺伝性疾患とは、これまでに説明したような遺伝子の変異によっておこる病気をいいます。これには、「親が遺伝子の変異を持っていて、その変異が子に伝わる場合」と、「親の遺伝子には全く変異はないが、精子や卵子の遺伝子に突然変異が生じて病気になる場合」とがあります。また、「身体を構成する細胞の一部に遺伝子の変異が生じて、がんやその他の病気の原因となる場合」もあります。

しかしながら、遺伝子の変異があれば必ず病気になるとは限りません。人間には染色体が2本(1対)ずつあり、1本の染色体の遺伝子に変異がある場合でも、正常なもう一方の遺伝子が機能を補って病気にならないこともあるからです。また、遺伝子の変異(変化)が身体機能の変異に全くつながらない場合もあります。なお、環境(外的因子)への反応の違いが遺伝子の性質によって決まることも多いので、一見遺伝しないように見える多くの病気が遺伝子の違いに起因することもわかってきました。

情報等の取扱い(破棄・変更)依頼書

国立循環器病センター 病院長 殿

私は、貴センターの「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」(主任研究者 長束一行)に関して協力することに同意しておりましたが、この度、前回の同意に関して下記のとおり一部変更しますので、対象となる私の情報を適切に処理して頂きますようお願いいたします。

記

当該研究中の情報を全て破棄、削除してください。

当該研究終了後の情報を全て破棄、削除してください。

平成 年 月 日

研究参加者

氏 名 _____
(署名または記名・押印)

(代筆者の場合)

氏 名 _____ (研究参加者との関係 _____)
(署名または記名・押印)

住 所 _____

電話番号 () _____

.....
(以下は国立循環器病センターが記入します。試料等の廃棄が完了後、本用紙の写しをお送り致します。)
上記のごとく、_____様 (ID番号 _____) から申し出がありましたので、当該研究のために収集した全ての情報の削除等の手続きをお願いします。

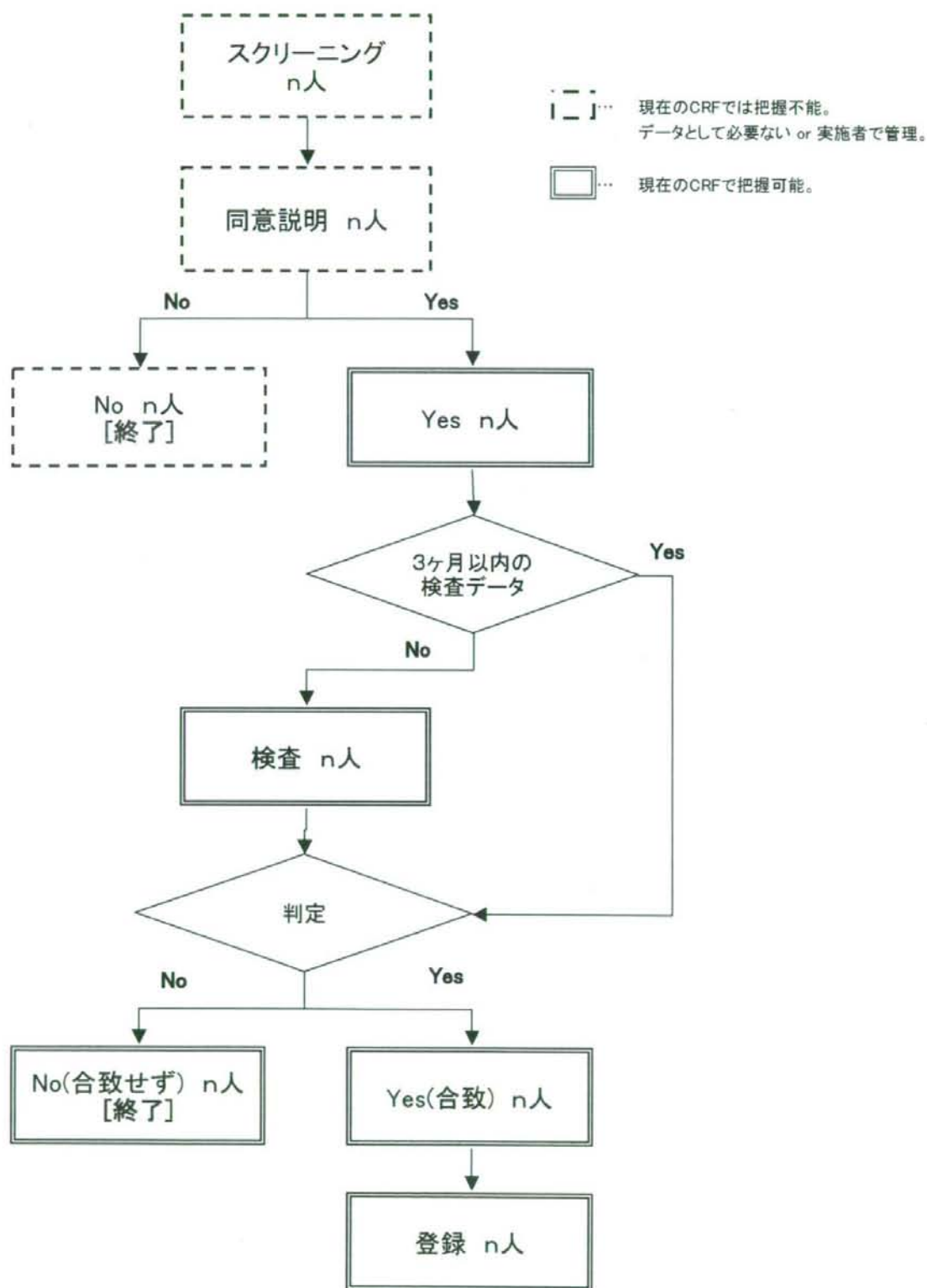
研究計画責任者： _____ (署名または記名・押印)

同意の説明を行った医師：
.....

_____様の情報の削除・無効化の手続きが全て完了したことを確認しました。

平成 年 月 日
研究責任者：

(署名または記名・押印)



(別添4)

II. 分担研究報告書

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）
分担研究報告書

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

研究分担者 長束一行 国立循環器病センター 内科脳血管部門 医長
研究協力者 田中智貴 国立循環器病センター 内科脳血管部門 医師

研究要旨：先行研究で得られたワルファリンの投与量と遺伝子多型、ビタミンK摂取量に関する解析を行いながら、ビタミンK摂取量における季節の影響についての研究を進めている。先行研究では183名の症例においてCYP2C9とVKORC1の遺伝子多型、背景因子、食事調査が終了し、データ固定が行われた。その後臨床データと遺伝子情報の突合を行い、データ解析を行ってゆく。多施設共同研究に関しては、4施設中3施設が倫理委員会の承諾を得て、登録が開始されている。

A. 研究目的

ワルファリンは至適投与量に大きな個人差があり遺伝子多型との関連が確認されている。しかしそれ以外に、食事（ビタミンK摂取量）との関連等の関与が推測される。本研究では遺伝子多型やビタミンK摂取量などワルファリン投与量に影響する因子を明確にするとともに、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を開発し、ワルファリン治療による有害事象の減少を目的とする。

B. 研究方法

血栓症の予防目的でワルファリンを服用している外来通院患者を対象に、ワルファリンの作用に大きな影響を与えるCYP2C9とVKORC1の遺伝子多型の決定と四季のビタミンK摂取量の変動を食事調査票で調査する。それぞれの季節の調査期間は1ヶ月で、最初の季節は同時にビタミンKの血中濃度を測定する。背景因子としてはこれま

で関連が認められている、身長、体重、性別、肝機能、腎機能、併用薬の調査を行う。

（倫理面への配慮）

（1）医学研究及び医療行為の対象となる個人の人權の擁護

説明を十分に行い、同意を得た患者のみを対象とする。また、匿名化を行うので遺伝情報が外部に漏れない。個人を特定できる情報は連結可能匿名化を用いて管理する。

（2）医学研究及び医療行為の対象となる個人への利益と不利益

対象となる患者は、すでにワルファリンを服用しているため、本研究への参加により治療方針が変わることはない。食事調査に御参加いただくことで、普段の食事内容の分析結果を提供することが可能であり利益となる可能性がある。前向き介入試験についてはワルファリン服用が必要な症例が対象であるため、治療方針は変わらない。入院期間の短縮につながれば利益となる。初期投与量が高容量となる場合には、慎重

に止血検査を繰り返し、過剰投与にならないように注意を払う。

C. 研究成果

国立循環器病センターでは2008年10月23日、九州医療センターでは2008年11月28日、大阪医療センターでは2008年12月19日にそれぞれの施設の倫理委員会で承認が得られた。国立循環器病センターではすでに80例以上で同意が得られ、食事調査、ビタミンK血中濃度の測定も始まっている。九州医療センターと大阪医療センターでは、それぞれ倫理委員会承認後に研究実施計画の説明会を開催し、対象症例のスクリーニング、同意説明文書の配布が開始されている。

D. 考察

先行研究での経験から、食事調査票の回収が最もキーポイントとなることが分かったので、CRCと定期的にmeetingを行い、チェック漏れがないように十分な事前説明を行っている。これまで回収できた食事調査票は、前回に比しチェック漏れが少なく、次回来院日に正確に回収できている。このノウハウは多施設の説明会でも強調して説明し、間違いやすい部分の説明書、鉛筆、食事調査票をセットにして封筒に入れて、送付している。これまでの研究の進行は予定通りで、間もなくweb入力システムも稼働するので、データベースの電子化を開始する予定である。

E. 結論

ワーファリンの至適投与量に対する遺伝子多型と食事の季節変動が与える影響につ

いて、多施設共同研究が予定通り進行中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 長束一行: ワルファリン用量と遺伝子型。脳と循環 2008;13:162-163.
- 2) Yin T, Hanada H, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Osubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Tomoike H, Miyata T: No association between vitamin K epoxide reductase complex subunit 1-like 1 (VKORC1L1) and the variability of warfarin dose requirement in a Japanese patient population. *Thrombosis Research* 2008;122:179-184.
- 3) Taguchi A, Matsuyama T, Nakagomi T, Shimizu Y, Fukunaga R, Tatsumi Y, Yoshikawa H, Kikuchi-Taura A, Soma T, Moriwaki H, Nagatsuka K, D.M. Stern, Naritomi H: Circulating CD34-positive cells provide a marker of vascular risk associated with cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008;28:445-449.

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

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）
分担研究報告書

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

研究分担者 宮田敏行 国立循環器病センター 研究所 病因部 部長
研究分担者 長束一行 国立循環器病センター 内科脳血管部門 医長

研究要旨：ワルファリンは投与量の個人差が大きい薬剤であり、その個人差の一部はワルファリンの標的酵素ビタミンKエポキシド還元酵素（vitamin K epoxide reductase complex, VKORC1）遺伝子の遺伝子多型とワルファリンの分解酵素 CYP2C9 の遺伝子多型で説明される。ヒトゲノム上には、VKORC1 と約 50% のアミノ酸配列が同一である vitamin K epoxide reductase complex subunit 1-like 1(VKORC1L1) 遺伝子が存在する。そこで、VKORC1L1 遺伝子多型とワルファリン投与量の関連を、日本人 87 名を対象に調べた。その結果、VKORC1L1 遺伝子多型はワルファリン量に関連しないことが明らかとなった。

A. 研究目的

ワルファリンの至適投与量には個人差があり、日本人は欧米人より少ないワルファリン量でコントロールされることから、遺伝子の寄与が考えられていた。ワルファリンの代謝酵素 CYP2C9 の遺伝子多型の解析では、欧米人の CYP2C9 遺伝子の変異保有者は日本人より多いにもかかわらず、高用量ワルファリンでコントロールされており、ワルファリン投与量の民族間の違いは CYP2C9 遺伝子ではうまく説明されなかった。2004 年にワルファリンの標的酵素である VKORC1 がクローニングされ、その後の研究から本酵素の遺伝子多型とワルファリン量との関連が世界中で確認された。私達を含めた多くの研究から、ワルファリン量の個人差の 40%程度が、CYP2C9 と VKORC1 の遺伝子多型で説明されることが明らかとなっ

た。VKORC1 はチオレドキシンの Cys132-X-X-Cys135 が活性中心残基として同定されている。ヒトゲノムには、VKORC1 と約 50% のアミノ酸配列同一性を示す VKORC1L1 遺伝子が存在する。この VKORC1L1 も Cys-X-X Cys 配列を持つ。このようにアミノ酸配列の類似性から、VKORC1L1 もワルファリン量の個人差に関与する可能性を考え、本仮説を検証するため、ワルファリン服用者 87 名を対象に VKORC1L1 遺伝子多型とワルファリン量との関連を調べた。

B. 研究方法

VKORC1L1 遺伝子はヒト染色体の 7q11.21 に位置する。この遺伝子の多型情報を NCBI の HapMap データから集め、頻度情報と連鎖不平衡の情報から、8 SNP を選び、遺伝子タイピングを行った。患者群は国立

循環器病センター脳内科の患者 87 名であり、これらの患者は脳梗塞再発予防を目的にワルファリンを服薬しており、その INR は 1.6-2.6 でコントロールされている。この患者群は、以前の研究で VKORC1 と CYP2C9 の遺伝子多型と関連を示すことが明らかとなっている。

(倫理面への配慮)

全ての被験者は、研究の内容について説明を受けた後、研究に協力する旨の同意書を書面で残している。遺伝子研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 16 年 12 月 28 日全部改正）」を遵守して行う。

C. 研究結果

VKORC1L1 の遺伝子多型 41 SNPs を Phase II HapMap データから収集した。これは 3 つのハプロタイプブロックから構成されていた。これらブロックからタグ SNP となる計 8 個の SNP を選別し、87 名の患者で遺伝型のタイピングを行った。これらの遺伝型とワルファリン投与量の関連を調べたところ、いずれも関連を示さなかった。また、これらの SNP から 5 つのハプロタイプを構築し、ハプロタイプとワルファリン量の関連を調べたが、関連を見出さなかった。

D. 考察

VKORC1 はビタミン K エポキシドをビタミン K に変換し、かつビタミン K₂ にまで還元する酵素である。ビタミン K₂ は、ビタミン K 依存性血液凝固因子の γ -グルタミルカルボキシル化に必須の因子である。VKORC1 はワルファリンの標的酵素であり、その遺伝子多型はワルファリン投与量の個

人差に影響を与える。VKORC1L1 は VKORC1 のパラログ遺伝子である。両者は約 50% のアミノ酸配列の同一性を示し、VKORC1 の活性中心残基はよく保存されている。そこで、VKORC1L1 の遺伝子多型がワルファリン投与量の個人差に影響を与える可能性を考え、本研究を行ったが、VKORC1L1 遺伝子の遺伝子多型は、ワルファリン投与量の個人差に影響を与えないことが明らかとなった。本研究はアレル頻度が 5% 以上の SNP を対象に研究を行ったので、より頻度の低い SNP がワルファリン投与量に影響を与える可能性は残されている。

E. 結論

VKORC1L1 遺伝子の遺伝子多型は、日本人のワルファリン投与量の個人差に関連を示さないと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

Yin T, Hanada H, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Tomoike H, Miyata T. No association between vitamin K epoxide reductase complex subunit 1-like 1 (VKORC1L1) and the variability of warfarin dose requirement in a Japanese patient population. *Thrombosis Research* 2008;122: 179-184.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし