

open-label, dose-escalation studies.
58th annual scientific meeting of the
American College of Cardiology,
March 29-31, 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

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

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
（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）

研究分担者 長谷川泰弘 聖マリアンナ医科大学神経内科 教授

研究協力者 加藤文太 聖マリアンナ医科大学神経内科大学院 医師

研究協力者 高石 智 聖マリアンナ医科大学神経内科大学院 医師

研究要旨：テーラーメイド医療のためには、個々の脳卒中患者の個人の特性を早期に確認する必要がある。我々は共同研究の症例登録作業を進めるとともに、脳梗塞臨床亜病型診断における発症早期のバイオマーカーに関する研究を並行して進めた。発症 24 時間以内に入院した脳梗塞患者連続 133 例（平均年齢 72.8±10.9 歳）を前向きに登録し、発症 24 時間以内の脳梗塞患者血清中 Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) 及び MMP-9 と脳梗塞臨床亜病型との関連を検討した。133 例の臨床亜病型は、large-artery atherosclerosis (LAA) 12 例、cardioembolism (CE) 39 例、small-artery occlusion (SAO) 36 例、Others 46 例であった。CE 群の入院時血清 MMP-2 は、他の病型よりも有意に高値を示し (p=0.003, ANOVA)、ロジスティック回帰分析により、LAA 群と SAO 群を合わせた非心原性塞栓症群において、入院後の症候増悪と入院時血清 MMP-2 値との間に有意な関連が認められた (オッズ比 0.994、95%信頼区間、0.988~0.999)。MMP-9 と脳梗塞病型、増悪の有無とは有意な関連を認めなかった。共同研究で得られた成果を考察する上で、CE 発症 24 時間以内の血清 MMP-2 値は、有用なバイオマーカーとなる可能性があると思われる。

A. 研究目的

Matrix metalloproteinase (MMP)-2 と MMP-9 は、MMP ファミリーの中で IV 型コラゲナーゼに属し、粥腫の形成や不安定化に重要な役割を果たしている。脳梗塞患者の急性期血清 MMP-2、-9 値が臨床亜病型により異なる可能性があるが詳細な検討は行われていない。本研究の目的は、発症 24 時間以内に入院した脳梗塞患者の血清 MMP-2 および -9 と脳梗塞臨床病型との関連を明らかにすることにある。

B. 研究方法

発症 24 時間以内に入院した脳梗塞患者を前向きに登録した。入院直後に末梢静脈血採血を行い、一般生化学検査、血算、PT、APTT、fibrinogen、高感度 CRP を測定した。MMP-2、-9 は、ELISA-kit (GE Healthcare UK Ltd.) を用いて測定した。脳梗塞の臨床亜病型は、TOAST (Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment) 分類に従った。

2 群間の平均値の比較には Student's

t-test, 3群以上の平均値の比較には, analysis of variance (ANOVA) および Bonferroni 法による検定を用いた。各臨床亜病型と MMP との関連を明らかにするために, LAA かそれ以外の病型か, CE かそれ以外の病型か, SAO かそれ以外の病型かの3つの従属変数について, MMP-2, -9 を含む入院時の諸因子との関連をロジスティック回帰分析によって検討した。統計解析には SPSS ver. 14 for Windows を使用し, p 値が 0.05 未満を有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認を得て行われた。個人情報管理者を定め, 承認された説明と同意を行い, データが施設外に出る場合は, 平均値などに加工した形でのみ公表することで, 倫理性ならびに個人情報の保護を厳重に図って行われた。

C. 研究結果

LAA12人(8.5%), CE39人(27.5%), SAO36人(25.4%), Others46人(32.4%)の, 計133例(平均年齢72.8±10.9歳)が登録された。CE群の入院時血清MMP-2値は, 他の病型に比べて, 有意に高値を示した(Figure 1)。入院時MMP-9値は, 脳梗塞臨床亜病型間に差は見られなかった。ロジスティック回帰分析によって, LAAおよびSAO患者の発症24時間以内の血清MMP-2と急性期増悪が有意に関連することが示された(Table 1, $p=0.017$) が, MMP-9には有意な関連は見られなかった($p=0.094$)。

D. 考察

脳梗塞の直接原因となる血栓形成や粥腫破綻に炎症性メディエーターが深く関与している。その中で細胞外マトリックス分解酵素であるMMP-2, 9は直接にプラークの不安定化に関与し, 更に脳梗塞後の病巣拡大にも影響を与える因子と推定されている。一方, 心原性脳塞栓症後の出血性梗塞やその原因となる心房細動などの心疾患でもMMPsが変動することが報告されている。

われわれは, 急性冠症候群と同様にアテローム血栓症の機序で発症するLAAにおいて, これらマーカーが高値をとることを予測したが, 予想に反してCE群で有意に高値を示した。これには心房細動の関与を考える必要がある。心房組織のMMP-2は, 心房細動を有するだけで高値を示すとされており, 血中MMP-2値は心房細動のみでは高値とならないものの, 心筋炎や心不全を伴う心房細動の患者では有意に高く, 毛細血管のリモデリングと関連するとの報告がある。心原性脳塞栓症の場合, 基礎疾患に心房細動や心血管イベントの危険因子を持ち, 発症前のMMP-2値が高いことがCE群でMMP-2高値を示したことの要因と推測される。そこで非心原性脳塞栓症であるLAAとSAOを合わせた群で検討を行ったところ, 入院後症候の増悪を示したものでは入院時MMP-2が低値であった。Luciveroらの検討ではラクナ梗塞患者においてMMP-2は脳梗塞発症早期により多く産生され, 入院時にMMP-2高値を示した群は症状が安定もしくは回復を呈したと報告している。中膜平滑筋細胞が豊富に存在する安定したプラークではMMP-2の高い活性が見られ, MMP-2の発現は安定化プラークと関連していることを示唆している。MMP-2は入院時神経所見

の重症度との関連はなく、入院時に最大値を取るものの健常対照群の範囲内の変動であると報告されている。

我々の研究では、MMP-9は病型間や入院後の神経症候増悪との間に関連は見られなかった。また、出血性梗塞に関しても、入院時MMP-9が5-7日後の出血性梗塞と関連するとの報告があるが、われわれの研究はこれを否定する結果であった。

E. 結論

発症24時間以内の心原性脳塞栓症患者の、血清MMP-2値は、他の病型よりも有意に高値を示し、心房細動との関連が示唆された。今後、抗凝固療法との関連を検討する価値があると思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato B, Takaishi S, Isahaya K, Sakurai K, Yamada K, Hirayama T, Hasegawa Y.

Serum Levels of Matrix

Metalloproteinase-2 and -9 within 24 hours of onset in relation to ischemic stroke subtypes. (abstract)

Internat J Stroke 2008;3:133.

- 2) 小林俊成, 白石眞, 加茂力, 大宮一人, 渡邊裕文, 長谷川泰弘. 運動時低血圧を呈した汎自律神経障害例の運動トレーニング効果. 聖マリアンナ医科大学神経内科, 日本臨床生理学会雑誌, 2008;38(5), 50.
- 3) 清水高弘, 高田達郎, 下出淳子, 藤田雄一, 大谷及理子, 加藤文太, 高石智, 平山俊和, 榛沢和彦, 長谷川泰弘. 急性期脳梗塞における発作性心房細動の左心耳収縮能 左心耳面積変化率および左心耳血流速度による検討. 脳卒中 2008;30:357.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1. Multivariate logistic regression analyses in LAA and SA

	Odds ratio	95%CI	P-value
Age	1.14	1.102-1.286	0.032
Sex	7.529	1.029-55.096	0.047
NIHSS score	0.842	0.659-1.077	0.17
Vascular Occlusion	0.081	0.009-0.744	0.026
MMP-2	0.994	0.988-0.999	0.017
MMP-9	0.756	0.544-1.049	0.094

Dependent variable: progressing stroke

Independent variable: age, sex, NIHSS score at admission, vascular occlusion, MMP-2 and MMP-9

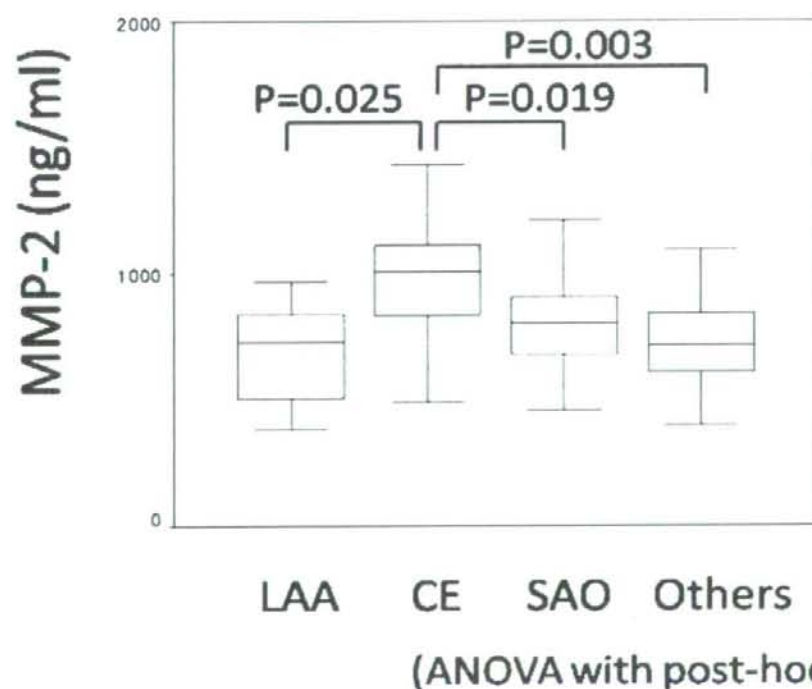


Figure1. Serum levels of MMP-2 in different ischemic stroke subtypes

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 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

研究要旨：本研究では、個人の SNP 遺伝子型のデータをもとに、投薬前に最適な降圧薬を予測し、その効果を評価することを目標としている。そのためには、高血圧治療の前に降圧薬を選択する必要がある。最適な降圧薬を予測するために、平成 17-19 年にわたって行われた GEANE 研究（厚生労働科学研究費補助金創薬基盤推進事業「遺伝子多型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）で収集された臨床及び SNP 遺伝子型データをもとに、（1）投薬前血圧の影響が小さい降圧効果の指標の探索（2）降圧薬の有効性の判定と、最適薬の選択などについて、収縮期血圧を中心にして、検討を行った。投薬前血圧の影響が小さい降圧の指標である GEO を指標にして相関解析を行い、その結果から、一薬剤について、150-180 SNP サイトの遺伝子型データを抽出して、有効性を判定できるモデルを開発した。

A. 研究目的

GEANE 研究の結果から、降圧量は投薬前の血圧値と強く相関する、言い換えると、投薬前血圧が高いほど、投薬後の降圧量は大きくなるので、投薬前後の血圧値の差や、比をそのまま降圧効果の指標として用いると、薬剤の効果ではなく、血圧の高いことと、SNP 遺伝子型の関連性を解析してしまうことになる。そのため、投薬前血圧の影響が小さい降圧効果の指標の探索を行う必要がある。また、相関解析の p 値が小さい SNP サイトほど、変異の頻度が小さい、言い換えると、一 SNP サイトで降圧効果を説明する人数が少ないことから、有効性判定の方法として適していない。そのため、複数の SNP サイトを考慮した判定モデルを開発する必要がある。

B. 研究方法

GEANE 研究は、一人の患者に対して、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬（バルサルタン）、カルシウムチャネル拮抗薬（アムロジピン）、サイアザイド類利尿薬（インダパミド）の 3 種類の降圧薬の順序をランダム化して投薬する、クロスオーバー試験だった。同時に、この試験では、基礎的な臨床データのほかに、ゲノム網羅的な 50 万 SNP サイトの遺伝子型データも収集された。そのため、他の試験と異なり、薬剤ごとの集団の遺伝的特性の差の影響は小さいと考え、薬剤ごとに降圧効果と SNP 遺伝子型との相関解析を行い、有意な SNP を抽出した。

（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。

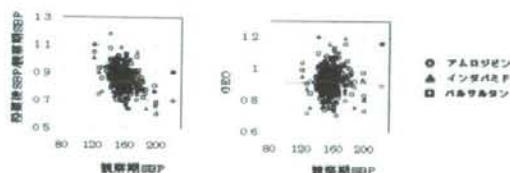
C. 研究結果

(1) 降圧効果の指標の導入

投薬前の血圧が高いほど、投薬後の降圧量が大きくなることはよく知られた事実であり、投薬前後の血圧の差や比の値そのもので、解析を行えば降圧薬の効果ではなく、血圧が高いことで有意になる SNP を選択する可能性が大きい。そこで、投薬前の血圧の影響が小さい降圧効果の指標 GEO

$$[GEO] = \frac{[\text{投薬後 SBP}]^2}{[\text{観察期 SBP}]}$$

を新たに導入した。下図は SBP では、観察期 SBP と投薬後 SBP は右肩下がりの関連性があるが、GEO ではほとんど関連性が非常に小さく、初期血圧の影響を受けないで、降圧効果を見積もることが可能になった。

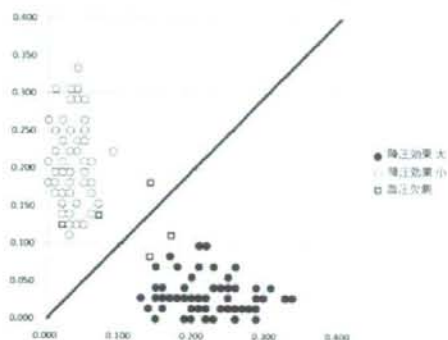


(2) 降圧薬の有効性の判定

本研究の代表研究者は、最終的に、各薬剤ごとに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。

例として、アンジオテンシン受容体拮抗薬の有効性を判定したプロットを示す。



白丸はGEOが平均値より大きいサンプルで、降圧効果は小さく、黒丸はGEOが平均値以下の降圧効果が大きいサンプルを示した。四角は血圧値が欠測でGEOが計算できなかったサンプルである。図でも明らかのように、2群は対角線をはさんで、完全に分割され、使用したモデルが有効に機能していることを示している。

D. 考察

現状での降圧薬の効果の判定法は、(1) 3種類の薬剤を判定するためには約500SNPサイトの遺伝子型の決定が必要であること、(2) 降圧効果の判定を行うことはできるが、降圧効果の量、すなわち、降圧量を予測できない、言い換えると、薬剤間の有効性の比較までは行えないこと、(3) 再現性や安定性にも問題があることなどの欠点がある。今後、降圧量を予測することができる降圧効果の指標の探索、判定に使用するSNPサイト数の低減等、

改良が必要である。

E. 結論

SNP 遺伝子型から、降圧薬の有効性の判定を行うモデルのプロトタイプが作成できた。今後の研究の進捗に合わせて修正を行い、必要な SNP サイト数の低減、再現性、正確性の向上を図る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 H, Sawada J, Miyata T. Genetic variations of CYP2C9 in 724 Japanese individuals and their impact on the antihypertensive effects of losartan. *Hypertens Res.* 2008; 31(8):1549-1557.

2. 学会発表

- 1) 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、片渕律子、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

- 2) 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. ニューオリンズ、アメリカ

H. 知的財産権の出願・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

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

研究分担者 嘉田晃子 国立循環器病センター研究所 病因部 室員

研究要旨： CYP2C9 ならびに VKORC1 の遺伝子多型、食事調査票によるビタミン K を主とした栄養摂取状況などがワルファリンの投与量に与える影響を検討するために、単施設前向き研究の実施と解析、および、季節変動等の検討を加えた多施設共同研究の計画と実施が進められた。それらの各段階で統計的な観点から検討を行った。

単施設前向き研究では、データ固定された後に解析を行った。解析対象は 183 名となり、男性 130 名、女性 53 名（平均 71.9 歳）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。今後、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について検討していく。また、ワルファリン維持投与量の予測モデルについては 2 つの研究で妥当性を確認していく予定である。

A. 研究目的

CYP2C9 ならびに VKORC1 の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がワルファリンの投与量に与える影響について検討することは、患者個人に適した抗凝固療法（個別化医療）の確立のために重要である。そのために、単施設前向き調査研究、および多施設共同研究を進めていく中で、統計的な観点から検討を行い、解析方法の詳細を明確にし、それに基づき解析を実施する。

B. 研究方法

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]: 前向き研究)

ワルファリン維持投与量と要因の関係を明確にするために、ワルファリン維持投与量に対し、VKORC1、CYP2C9、ビタミン K、体表面積、その他を含めた回帰モデルにより要因の影響を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は、倫理委員会の承認を受けた上で実施した。データを解析する際には個人情報の取り扱いに留意する。

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 (Godward-Multi Study) : 多施設共同研究)

多施設共同研究では、食事調査票を用いたビタミン K を含む各種栄養摂取量の推定において、季節変動の影響を検討するため、患者 1 名につき、原則として、春 (3-5 月)、夏 (6-8 月)、秋 (9-11 月)、冬 (12-2 月) の 4 回食事調査を実施する。

加えて、食事調査実施時期に合わせ、ビタミンK血中濃度を測定する。

(倫理面への配慮)

本研究について、すでに倫理委員会の承認を受けている。データを解析する際には個人情報への取り扱いに留意する。

C. 研究結果

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 (Godward Study: 単施設前向き研究)

本研究のデータは国立循環器病センター臨床研究センターデータマネジメント部門で管理された。データが固定された後、解析を実施した。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。今後ビタミン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。

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 (Godward-Multi Study): 多施設共同研究)

研究計画において、評価項目は、ワルファリン維持投与量 (PT-INRが1.6~2.5の時のワルファリン投与量をワルファリン維持投与量とする) とした。また、解析方法は以下を計画した。

- ・ワルファリン投与量に対するCYP2C9、VKORC1、ビタミンK摂取量、季節要因等の影響を多変量回帰モデルにより分析し、ワルファリン維持投与量の予測式を推定する
- ・先行研究におけるワルファリン維持投与量の予測式による値と、本研究の観測値の関連

を相関係数等により検討する

- ・食事調査票によるビタミンK摂取量とビタミンK血中濃度の関連を相関係数等により検討する
- ・イベント発生に対するCYP2C9、VKORC1等の影響を検討する

D. 考察

遺伝子多型を含めたワルファリン維持投与量の予測モデルについて、いくつかの報告がある。CYP2C9、VKORC1、年齢、身長を説明変数とするモデル (Blood 2005; 106: 2329-2333) や、CYP2C9、VKORC1、初期のワルファリン投与量、推定血液消失量、喫煙、ターゲット INR および3ヵ月後の INR を説明変数としたモデル (Blood 2007; 110: 1511-1515) が提案されている。また、The International warfarin pharmacogenetics consortium は年齢、身長、体重、人種、CYP2C9、VKORC1、Enzyme Inducer、Amiodarone 服用を説明変数としたモデルを提示している (NEJM 2009; 360: 753-764)。しかし、ビタミンKの影響を含めた検討はされていない。

今回、我々はビタミンKや季節変動も考慮した検討を行っていくとともに、これらのモデルとの整合性も評価していく。また、ワルファリンの動態メカニズムを考慮し、複数のモデルの組みあわせの検討や、単施設研究と多施設研究でモデルの妥当性の確認をしていく予定である。

E. 結論

CYP2C9、VKORC1の遺伝子多型、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。単施設前向き研究では、データ固定された後に解析を行った。今後、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について検討していく。また、ワルファリン維持投与量の予測モデルについては2つの研究で妥当性を確認していく予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 関連する研究発表

1. 論文発表

- 1) 宮田茂樹、宮田敏行、嘉田晃子、山本晴子、長東一行. 抗血栓薬の抵抗性と遺伝子. 分子脳血管病. 2008 ; 7 : 408-417.
- 2) 宮田茂樹、宮田敏行、嘉田晃子、長東一行. アスピリンレジスタンス. BRAIN and NERVE. 2008;60:1357-1364.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

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）

研究分担者 桑木宏実 大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 教授

研究要旨：高血圧感受性遺伝子の意義を検証するためには、降圧薬による治療反応性やコホート研究における経時的な臨床指標の変化との関連検証が重要である。今回、端野・壮警研究において、CYP4A11 遺伝子のプロモータ部位の-845A/G 多型が、転写抑制を介して高血圧罹患リスクを 1.42 倍高めることを明らかにした。またレプチン受容体遺伝子多型が、レプチンを介する交換神経活性調節を介して、白人男性の肥満リスクを高めることも示した。また脱ユビキチン化酵素の一つである CYLD が血管において動脈硬化抑制にはたらくことも初めて示した。また HOMED-BP-GENE 研究では 300 を超えるサンプル収集が完了し、初回投与効果に対するゲノム網羅的 SNPs 解析の結果が得られつつある。

A. 研究目的

循環器疾患発症予防のためには、個人の体質にあった個別の施策を勘案することが厚生労働行政において重要である。降圧薬は重篤な心血管病予防に一定の効果をあげているが、その投与方法は血圧のみを指標に手探りで行われているのが現状である。本研究では高血圧の発症や進展、降圧薬の反応性や副作用発現と関連する遺伝子の解析を行った。

B. 研究方法

遺伝子解析へのインフォームドコンセントの得られた対象者より、DNA 採血を実施し、TaqMan PCR 法による多型解析ならびに臨床情報収集、関連解析の実施を行った。（倫理面への配慮）「高血圧および関連合併症の遺伝子解析」「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）」および「電子血圧計を用いた客観的な高血圧治療に関する多施設前向き無作為オープン研究（HOMED-BP 研究）における高血圧関連遺伝子解析」の研究計画は大阪大学ヒトゲノム研究倫理委員会による承認を受けている。

C. 研究結果

20 年以上の疫学研究データが集積された端野・壮警研究において、腎・尿細管において血管収縮や食塩再吸収を調節する 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) 合成に関わる CYP4A11 遺伝子の多型を詳細に検討した結果、プロモータ部位の-845A/G 多型の G アレルキャリアにおいて、高血圧罹患リスクが 1.42 倍高まることが明らかになった¹。さらにプロモータ部位における機能解析の結果、-845GG 型は同 AA 型に比し、転写活性が 30% 減弱すること

も示した。

一方、交換神経活性調節を介して肥満に関わるレプチンの受容体遺伝子解析を、幅広いBMIを示す正常白人男性(n=129)において実施した結果、肥満リスクを高める多型や、レプチン抵抗性、交感神経活性鈍麻との関連が明らかになった²。

最後に、家庭血圧を指標とする降圧薬反応性を検証するコホート研究のHOMED-BP-GENE研究では、300人を超える検体収集に成功し、アフィメトリクスの500Kアレイを用いた網羅的解析の結果、早朝家庭血圧や就寝前家庭血圧における降圧薬反応性と関連するSNPsが複数明らかになった。

D. 考察

20-HETEは高血圧リスクに深く関わる因子として以前より知られていたが、その機序の主たるものが腎における血管収縮によるものか、食塩再吸収調節によるものかが不明であった。今回の結果より、-845Gアレル保有が尿細管における食塩再吸収を促進し、高血圧感受性を高めることが明らかになった。

一方、アディポサイトカインとしても知られるレプチンは、肥満リスクの候補であると共に、交感神経調節においても重要な役割を担っている。本解析結果より、レプチン受容体遺伝子多型が、正常血圧者の肥満発症に関わることが示され、メタボリックシンドロームの病態解明の一助を担うものと考えられた。

HOMED-BP-GENE研究では、300名の降圧薬介入試験参加者のゲノム網羅的解析が完了し、一次選択薬における最初の降圧効果に

対する検証が行われた。その結果、早朝と就寝前の降圧に共通する因子は少なく、時間薬理的解析を加味する必要性が示された。

E. 結論

降圧薬反応性を検証する上で、食塩感受性、交換神経活性調節、アディポサイトカイン、時間薬理的解析などの視点からも解析することの重要性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugimoto K, Akasaka H, Katsuya T, Node K, Fujisawa T, Shimaoka I, Yasuda O, Ohishi M, Ogihara T, Shimamoto K, Rakugi H. A Polymorphism Regulates CYP4A11 transcriptional activity and is associated with hypertension in a Japanese population. *Hypertension*. 2008;52:1142-8.
- 2) Masuo K, Straznicki NE, Lambert GW, Katsuya T, Sugimoto K, Rakugi H, Socratous F, Hastings J, Lambert EA, Ogihara T, Esler MD. Leptin-receptor polymorphisms relate to obesity through blunted leptin-mediated sympathetic nerve activation in a Caucasian male population. *Hypertens Res* 2008;31:1093-1100.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきものなし。

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

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 相馬正義 日本大学医学部内科学系総合内科学分野 教授

研究要旨：本態性高血圧症(EH)に対し、候補遺伝子多型を用いて、関連研究を行った。GUCA2B (Uroguanylin, guanylate cyclase activator 2B)、CYP19A1 (Aromatase)、FABP3 (Fatty acid binding protein 3)、EC-SOD (Extracellular superoxide dismutase)、CYP4A11 遺伝子が高血圧症と関連することが判明した。

A. 研究目的

EH、脳梗塞 (CI) の疾患候補遺伝子または候補遺伝子領域の遺伝子多型を用いて関連研究を行い、本研究の基盤となるデータを集積する。

B. 研究方法：

(1) EH および CI 患者と正常血圧者 (NT) を対象とし末梢血からゲノム DNA を抽出した。尚、採血に当たってはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に準拠し、日本大学医学部倫理委員会で承認された方法に則って書面での同意を得た。

(2) 公共データベースから GUCA2B, CYP19A1, FABP3, EC-SOD, CYP4A11 遺伝子領域の遺伝子多型を選出し、TaqMan 法およびダイレクトシーケンス法にてゲノタイプを決定し、関連研究をおこなった。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針（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

①GUCA2B 遺伝子領域の4つのSNPs (rs883062, rs1047047, rs2297566, rs885846) について関連研究を行った。いずれのSNPもEHとの関連を認めなかったが、ハプロタイプ C-A (rs883062-rs1047047) およびハプロタイプ C-A-G (rs883062-rs1047047-rs2297566) の頻度は、EH群で有意 ($p < 0.0001$) に高かった。

②CYP19A1 遺伝子領域の5つのSNPsについて、関連研究を行った。rs700518 と rs10046 および rs1870049-rs10046 の A-T ハプロタイプがEHと有意に相関した。

③ラット血圧のQTLと相同するヒト遺伝子領域から選ばれたFABP3遺伝子について、2つのSNPs (rs2279885, rs2271072) を抽出して、EHとの関連を検討した。EH群とNT群でアレル頻度に有意な差が認められた。

④EC-SOD 遺伝子領域の6つのSNPsについて関連解析を行った。いずれのSNPもアレル頻度、ゲノタイプ頻度ともにEH群とNT群で差がなかった。rs13306703-rs2536512のT-Aハプロタイプ頻度はEH群とNT群で有意

($p < 0.003$)に異なった。また、同じ SNPs を用いて、CI について検討したところ、rs13306703-rs699473-rs1799895 の C-C-C ハプロタイプが女性の脳梗塞と関連することが判明した。

⑤CYP4A11 遺伝子領域の 3 つの SNPs について関連解析を行った。rs1126742 のゲノタイプおよび rs2269231-rs1126742-rs9333025 の A-T-G ハプロタイプが EH と関連した。

D. 考察

今回我々は、ノックアウトマウスにおいて血圧上昇来した遺伝子を中心に関連解析を行った。それぞれの SNPs のアレルおよびゲノタイプ頻度に差がなくても、複数の SNPs で構成したハプロタイプの頻度は有意に異なることがあり、本方法が EH 関連遺伝子を検出する鋭敏な方法であると考えられた。また、ラットで同定された QTL のヒト相同領域の検索も、ヒト疾患の関連遺伝子を見出すのに有効な方法と考えられた。

E. 結論

GUCA2B, CYP19A1, FABP3, EC-SOD および CYP4A11 遺伝子領域の多型が高血圧発症に関与している可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G 研究発表

1. 論文発表:

1) Fu Z, Nakayama T, Sato N, Izumi Y, Kasamaki Y, Shindo A, Ohta M, Soma M, Aoi N, Sato M, Ozawa Y, Ma Y. A haplotype of the CYP4A11 gene associated with

essential hypertension in Japanese men. *J Hypertens.* 2008;26(3):453-61.

- 2) Fu Z, Nakayama T, Sato N, Izumi Y, Kasamaki Y, Shindo A, Ohta M, Soma M, Aoi N, Sato M, Matsumoto K, Ozawa Y, Ma Y. Haplotype-based case study of human CYP4A11 gene and cerebral infarction in Japanese subject. *Endocrine.* 2008;33(2):215-22.
- 3) Mashimo Y, Suzuki Y, Hatori K, Tabara Y, Miki T, Tokunaga K, Katsuya T, Ogihara T, Yamada M, Takahashi N, Maikita Y, Nakayama T, Soma M, Hirawa N, Umemura S, Ohkubo T, Imai Y and Hata A. Association of TNFRSF4 gene polymorphisms with essential hypertension. *Journal of Hypertension.* 2008;26(5):902-13.
- 4) Aoi N, Soma M, Nakayama T, Kosuge K, Haketa A, Sato M, Sato N. Case-control study of the role of the Gitelman's syndrome gene in essential hypertension. *Endocrine Journal.* 2008;55(2):305-10.
- 5) Ueno T, Soma M, Tabara Y, Tokunaga K, Tahira K, Fukuda N, Matsumoto K, Nakayama T, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T. Association between fatty acid binding protein 3 gene variants and essential hypertension in humans. *Am J Hypertens.* 2008;21(6):691-5.
- 6) Naganuma T, Nakayama T, Sato N, Fu Z, Soma M, Aoi N, Usami R. A haplotype-based case-control study examining human extracellular superoxide dismutase gene and essential hypertension. *Hypertens*

Res. 2008:31(8):1533-40.

- 7) Fu Z, Nakayama T, Sato N, Izumi Y, Kasamaki Y, Shindo A, Ohta M, Soma M, Aoi N, Sato M, Matsumoto K, Ozawa Y, Ma Y. Haplotype-based case-control study of the human CYP4F2 gene and essential hypertension in Japanese subjects. *Hypertens Res.* 2008:31(9):1719-26.
 - 8) Fu Z, Nakayama T, Sato N, Izumi Y, Kasamaki Y, Shindo A, Ohta M, Soma M, Aoi N, Sato M, Matsumoto K, Ozawa Y, Ma Y. A haplotype of the CYP4F2 gene is associated with cerebral infarction in Japanese men. *Am J Hypertens.* 2008: 21(11):1216-23.
 - 9) Kotoko Kosuge, Masayoshi Soma, Tomohiro Nakayama, Noriko Aoi, Mikano Sato, Akira Haketa, Jiro Uwabo, Yoichi Izumi, Koichi Matsumoto: Human Uncoupling Protein 2 and 3 Genes Are Associated with Obesity in Japanese. *Endocrine.* 2008:34(1-3):87-95.
 - 10) Fu Z, Nakayama T, Sato N, Izumi Y, Kasamaki Y, Shindo A, Ohta M, Soma M, Aoi N, Sato M, Ozawa Y, Ma Y, Matsumoto K, Doba N, Hinohara S. A haplotype of the CYP4F2 gene associated with myocardial infarction in Japanese men. *Mol Genet Metab.* 2008:96(3):145-147.
2. 学会発表
- 1) 中山智祥、付真彦、佐藤直之、泉洋一、相馬正義、青井則子、佐藤三佳乃、松本紘一、小沢友紀雄、マーイートン ハプロタイプを用いた CYP4F2 遺伝子と脳梗塞との関連解析 第 81 回日本内分泌学会学術総会 青森、2008. 5. 16
 - 2) 羽田公、相馬正義、中山智祥、佐藤三佳乃、青井則子、小菅琴子、道場信孝、日野原重明、松本紘一 健康高齢者における SIRT2 遺伝子多型の検討 第 15 回日本遺伝子心療学会大会 仙台、2008. 8. 2
 - 3) 中山智祥、付真彦、佐藤直之、青井則子、佐藤三佳乃、泉洋一、笠巻祐二、進藤敦史、太田昌克、相馬正義、松本紘一、小沢友紀雄、マーイートン ハプロタイプを用いた CYP4A11 遺伝子と脳梗塞の関連解析。第 15 回日本遺伝子心療学会大会。仙台、2008. 8. 2
 - 4) 永沼高廣、中山智祥、佐藤直之、付真彦、相馬正義、青井則子、山口舞、宇佐美論。細胞外スーパーオキシドジウムスターゼ (EC-SOD) 遺伝子と本態性高血圧症との関連解析 第 15 回日本遺伝子心療学会大会 仙台、2008. 8. 2
 - 5) 中山智祥、付真彦、佐藤直之、青井則子、佐藤三佳乃、泉洋一、笠巻祐二、進藤敦史、太田昌克、相馬正義、松本紘一、小沢友紀雄、マーイートン CYP4A11 遺伝子と脳梗塞との関連解析 第 31 回日本高血圧学会総会。札幌、2008. 10. 9
 - 6) 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、勝也友宏、檜垣實男、大蔵隆文、松浦秀夫、品川達也、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、片渕律子、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 (GEAN 研究) 第 31 回日

本高血圧学会総会 札幌、2008.10.9

- 7) 菅間薫、中山智祥、羽毛田公、小菅琴子、青井則子、佐藤三佳乃、道場信孝、日野原重明、相馬正義。健康高齢者の身体的健康評価と17 α 水酸化酵素遺伝子(CYP17A1)多型の関連 第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会 合同大会 BMB2008 神戸、2008.12.9
- 8) Nakayama T, Fu Z, Sato N, Izumi Y, Kasamaki Y, Shindo A, Ohta M, Soma M, Aoi N, Sato M, Ozawa Y, Ma Y. Association study between the human CYP4F2 gene and myocardial infarction. 第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会 合同大会 BMB2008 神戸、2008.12.12
- 9) 永沼高廣、中山智祥、佐藤直之、付真彦、相馬正義、青井則子、山口舞、宇佐美論 細胞外スーパーオキシドディスムターゼ(EC-SOD) 遺伝子と脳梗塞との関連解析 第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会 合同大会 BMB2008 神戸、2008.12.12

H. 知的財産権の出願・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

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 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

研究要旨：低用量および超低用量降圧利尿薬の有用性と安全性についての検討

A. 研究目的

高血圧治療ガイドラインでは、降圧利尿薬の開始用量として常用量の 1/4 から 1/2 量の投与を推奨しているが、各々の利尿薬の至適投与量について比較検討した報告は少ない。そこで、本研究ではアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) もしくは ACE 阻害薬内服中の高血圧患者における降圧利尿薬の低用量(常用量の 1/2 量)と超低用量(常用量の 1/4 量)投与における降圧効果と安全性、特に代謝系への影響について比較検討を行った。

B. 研究方法

対象は国立病院機構九州医療センターに通院中の高血圧患者 38 例 (男性 14 例, 女性 24 例, 平均年齢 67 ± 12 歳)。いずれも ARB もしくは ACE 阻害薬を含む降圧薬を服用中にもかかわらず、降圧目標が未達成であった。対象患者をインダパミド(ナトリックス錠TM) 0.5 mg の超低用量投与群と 1 mg の低用量投与群の 2 群に無作為に割り付け、投与前および平均 7 ヶ月後の外来血圧の変化を検討した。また、投与前および平均 2.4 ヶ月後に血液生化学検査を行った。さらに、対象をロサルタン使用群と非使用群に分け

て血清尿酸値の変化を比較した。

(倫理面への配慮)

臨床研究に関する倫理指針 (平成 16 年厚生労働省告示) を遵守する。

C. 研究結果

ARB もしくは ACE 阻害薬の単独投与が 7 例 (18%)、併用薬として Ca 拮抗薬 29 例 (76%)、 α 遮断薬 13 例 (34%)、 β 遮断薬 9 例 (24%) が使用されていた。性、年齢、BMI、インダパミド投与前の血圧など 0.5mg 群と 1mg 群の背景因子に有意差を認めなかった。インダパミド 0.5 mg 群では収縮期血圧が 162 ± 11 mmHg から 146 ± 14 mmHg へと有意に低下し ($p < 0.01$)、拡張期血圧も 77 ± 10 mmHg から 71 ± 11 mmHg へと低下した ($p = 0.05$)。同様に 1 mg 群においても、収縮期血圧が 160 ± 14 mmHg から 134 ± 18 mmHg へ ($p < 0.01$)、拡張期血圧も 78 ± 11 mmHg から 72 ± 10 mmHg へと有意に低下した ($p < 0.05$)。収縮期血圧の変化は 0.5 mg 群の -16 ± 15 mmHg に比し、1 mg 群では -25 ± 18 mmHg とより大きい傾向を示した ($p = 0.09$)。インダパミド投与により両群ともに有意な血清尿酸値の上昇を認め、1 mg 群では 1.40 ± 0.85 mg/dl と 0.5 mg 群の 0.75 ± 0.93 mg/dl より大きい傾向

を認めた(p=0.07)。両群ともにロサルタン使用者では尿酸値の上昇が軽度にとどまった。1mg 群においては血清クレアチニン、総コレステロール、LDL コレステロール、血糖値も有意に上昇した。

D. 考察

降圧利尿薬は多くの大規模臨床試験においてその有効性が報告されていることから、高血圧治療ガイドラインでは併用療法における適切な使用を推奨している。しかし、電解質、尿酸、糖・脂質代謝などへの悪影響の懸念から、本邦ではその使用頻度はまだ少ない。今回の検討ではARBもしくはACE阻害薬内服中の患者において超低用量のインダパミドの併用でも収縮期血圧で平均16 mmHgの降圧がみられた。代謝面に関しては1 mg 群において血清クレアチニン、尿酸、脂質、随時血糖の有意な上昇を認めただのに対し、0.5 mg 群では尿酸値以外に有意な変動は認めず、尿酸値の上昇についても0.5 mg 群では軽度にとどまった。すなわち、RA系抑制薬使用下ではインダパミド1 mgにより大きな降圧が得られる反面、腎機能の悪化や尿酸値の上昇、糖・脂質代謝への悪影響を及ぼす可能性が示唆されたことから、代謝への影響をより少なくするためには0.5 mgの使用が望ましいと考えられる。一方、本研究においては利尿薬投与で問題となる血清K値の低下は両群ともに認められなかった。その要因として、RA系抑制薬が基礎薬として投与されていたため、利尿薬による作用が相殺された可能性が考えられる。ARBのロサルタンには尿酸排泄促進作用があり、利尿薬による血清尿酸値上昇を緩和することが報告されている。今回、

ロサルタン使用群において尿酸値の上昇がより軽度であったことから利尿薬併用時の尿酸管理においてロサルタンは他剤に優る可能性がある。

E. 結論

RA系抑制薬内服中の高血圧患者に超低用量のインダパミドを併用することによって、良好な降圧効果を保ちつつ、代謝系への影響をより少なくすることができることが明らかとなった。さらに、ロサルタンとの併用ではその他のRA系抑制薬と比較して血清尿酸値に対する影響を軽度にとどめることができることも明らかとした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 守永友希、土橋卓也、大田祐子、尾中宇蘭、低用量および超低用量降圧利尿薬の有用性と安全性についての検討. 血圧. 2008年; 15 (11): 997-1000.

2. 学会発表

- 1) Yuki Morinaga, Yuko Ohta, Uran Onaka, Takuya Tsuchihashi: Comparison between low and very low dose diuretics in the combination antihypertensive therapy. 22nd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 2008. Berlin, Germany.

H. 知的財産権の出願・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

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ード治療確立に関する研究
高齢者における脳卒中後高血圧高値に対する危険因子の解明

研究分担者 森本茂人 金沢医科大学 高齢医学 教授

研究要旨：当科を救急受診した高齢者脳卒中急性期例 166 例の急性期血圧上昇に関与する因子につき解析した。Stepwise 重回帰分析により急性期血圧上昇に独立有意関与を示す因子は死亡退院、高コレステロール血症、退院時認知症、入院前高血圧既往であった。また多重ロジスティック回帰分析により死亡退院に対して、急性期高血圧緊急症 (>200/120 mmHg) は、入院時 Japan coma scale 高段階、男性、入院前寝たきり、両側脳病変と並んで、独立有意関与因子となっていた。

A. 研究目的

脳卒中は高齢者において多発するが、脳卒中急性期においてしばしば遭遇する血圧高値の背景危険因子の解明はなされていない。今回、高齢者脳卒中例における脳卒中後急性期血圧高値に対する関与因子につき検討した。

B. 研究方法

金沢医科大学高齢医学科を救急受診した脳卒中例 166 例（男 80 例、女 86 例、71-97 歳、平均年齢 ± 標準偏差：85 ± 5 歳）につき、脳卒中原因 [脳出血 (26 例)、アテローム性脳血栓 (89 例)、ラクナ梗塞 (18 例)、脳塞栓 (33 例)]、脳卒中発症部位 [MRI または CT 画像診断にて、左右、脳内出血部位 (皮質下、視床、比較、淡蒼球、橋、小脳)、アテローム性脳血栓および脳塞栓部位 (前、中、後大脳動脈領域、脳幹、小脳)、ラクナ梗塞部位 (被殻、淡蒼球、尾状核、

内包)]、臨床背景 (卒中前高血圧、糖尿病、高脂血症、心房細動、心疾患、脳卒中既往)、入院時血液検査値 (血算、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、血糖、総コレステロール、トリグリセリド、HDL コレステロール、HbA1c)、退院時帰結 (死亡退院、退院時認知症) につき調査した。脳卒中急性期血圧分類は入院 3 日目までの最高血圧を用い、高血圧緊急症

(>200/120 mmHg)、重症高血圧 (≥180/110 mmHg)、中等症高血圧 (≥160/100 mmHg)、軽症高血圧 (≥140/90 mmHg)、正常血圧 (<140/90 mmHg) とした。

血圧高値に対する独立有意関与因子の検定は、ANOVA 検定により $p < 0.2$ を得る全ての因子を交絡因子とした重回帰分析 (Stepwise 法) を、また死亡退院に対する独立有意関与因子の関与は、Mann-Whitney U 検定 (連続数値因子) または χ^2 テスト (カテゴリー変数) により $p < 0.2$ を得る全ての