

平成 21 年 4 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007 - 2008

課題番号：19390215

研究課題名（和文） 遺伝子多型を用いた心筋梗塞治療の個別化法の開発

研究課題名（英文） Development of Single Nucleotide Polymorphism Based Tailor Made Therapy in Patients with Acute Myocardial Infarction

研究代表者 佐藤 洋(SATO HIROSHI)  
 大阪大学・医学系研究科・講師  
 研究者番号：10294092

研究成果の概要：遺伝子解析の承諾を得た2441例において既知の心筋梗塞関連73遺伝子89単塩基多型の解析を行った。レニン・アンジオテンシン系阻害薬、遮断薬、HMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）処方・非処方例における心血管事故発生率と遺伝子多型との関連を検討した結果、これら心筋梗塞二次予防薬の予後改善効果に影響を及ぼす遺伝子多型の存在が示唆され、遺伝子多型に基づいた個別医療の可能性が示された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,600,000円	2,880,000円	12,480,000円
2008年度	3,800,000円	1,140,000円	4,940,000円
年度			
年度			
年度			
総計	13,400,000円	4,020,000円	17,420,000円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心筋梗塞・遺伝子多型・疫学調査

## 1. 研究開始当初の背景

心臓死は日本人の死因の第2位であり、その中でも急性心筋梗塞が主要な死因となっている。近年の EBM(Evidence-based medicine)の浸透に伴い多数の大規模臨床試験が国内外で行われるようになり、心筋梗塞発症後の予後を改善する薬剤として HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）・遮断薬・アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬の重要性が確立され、またアンジオテンシン II 受容体拮抗薬（ARB）についてもその予後改善効果が強く期待されている。

一方で、従来の古典的冠危険因子に加

えて新たな危険因子の探索が行われており、その中で遺伝的素因が注目されている。遺伝的素因が心筋梗塞発症後の予後に影響する機序として、動脈硬化そのものの進展のみならず治療薬に対する感受性を変化させる可能性がある。したがって、薬剤の効果修飾する遺伝子多型を同定し、これに基づいた薬剤選択を行うことで EBM の個人への適応、いわゆるテーラーメイド医療の現実化が期待されている。

さて遺伝情報を基にした個々人に適切な治療を可能とする医療（テーラーメイド医療）を実現するためには、遺伝子多型な

どの遺伝情報と疾患との関連を明らかにしたエビデンスの蓄積が必要である。また遺伝情報には人種的差異の存在が自明であることから、本邦独自の遺伝子多型情報の蓄積が重要である。研究代表者らは1998年より遺伝子情報を含めた心筋梗塞患者のレジストリーである大阪急性冠症候群研究会（OACIS. ; Osaka Acute Coronary Insufficient Study）を設立、運営し、研究開始時点において約8000例の症例および約4000例のDNAサンプルを集積していた。

## 2. 研究の目的

本研究では、OACIS データベースに基づき、動脈硬化および心筋梗塞関連遺伝子多型の心筋梗塞発症後の予後への影響を検討し、さらにこれらの多型が 遮断薬および ACE 阻害薬・ARB・スタチンの生命予後改善効果に及ぼす影響を検討した。すなわちすでに心筋梗塞二次予防の標準的治療として確立された薬剤（遮断薬・ACE 阻害薬・ARB・スタチン）について、その生命予後改善効果を遺伝子多型毎に層別解析し、各治療における有効層・無効層を遺伝子多型により選別すること、またその差異を生じる機序を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 心筋梗塞症例において遺伝子多型が予後および薬剤効果に及ぼす影響の検討

OACIS データベースおよび遺伝子バンクを用い、既知の心筋梗塞関連73遺伝子における89単塩基多型と予後、およびそれに対する薬剤の影響に関する解析を行った。平成19年3月における登録症例約8000例のうち遺伝子解析の承諾を得た2441例において候補遺伝子多型の解析を行い、レニン・アンジオテンシン（RA）系阻害薬（ACE阻害薬またはARB）、遮断薬、HMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）処方例・非処方例における心血管事故発生率と遺伝子多型との関連を検討した。

### (2) 遺伝子多型が細胞接着に及ぼす効果の検討

次に各薬剤の有効性への関与が示唆された遺伝子多型に基づく変異蛋白を作成してその効果を検討した。すなわち

心筋梗塞をはじめとする冠動脈疾患には動脈硬化が関与するが、その初期段階において血管内皮細胞と単球細胞の接着という段階を経る。そこで今回、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）とヒト単球細胞（THP1細胞）を用いて血管内皮と単球の接着効果に及ぼす遺伝子多型の影響を薬剤効果も含めて検討した。

### (3) 薬剤の血管内皮機能改善効果に及ぼす遺伝子多型の影響の検討

次に各薬剤の有効性に関与することが示唆された遺伝子多型が生体において実際どのような影響を及ぼすかを検討するために薬剤の血管内皮機能改善効果に及ぼす遺伝子多型の影響について検討した。血管内皮機能はItimar社製のENDO-PAT装置を使用し、上肢の5分間阻血後の反応性充血作用を指尖部で測定して計算し、非阻血側の値で補正した反応性充血比をその指標として用いた。

尚、全ての検討における統計解析にはSPSS統計解析ソフトウェアを用い、二乗検定、t検定、Cox回帰分析、Logistic回帰分析を施行した。

## 4. 研究成果

### (1) 心筋梗塞症例において遺伝子多型が予後および薬剤効果に及ぼす影響の検討

OACIS データおよび遺伝子バンクを用いた検討の結果、ACE 阻害薬またはARB といったRA系阻害薬処方例における 1 受容体遺伝子多型(1165G C)、遮断薬処方例におけるアンジオテンシン 1 型受容体 (AT1R) 遺伝子多型(1166A C)、スタチン処方例におけるリンホトキシン (LTA) の遺伝子多型(804C A)など複数の遺伝子多型が心筋梗塞症例における二次予防薬の心血管事故予防効果に影響を及ぼすことが示唆された。すなわち 1 受容体遺伝子多型(1165G C)のホモ接合体症例においてはRA系阻害薬投与のない群では投与群に比較して心筋梗塞生存退院後の生存率が低い一方で、1 受容体遺伝子多型(1165G C)ヘテロ接合体症例、あるいは 1 受容体遺伝子多型(1165G C)を有さない症例ではRA系阻害薬投与群、非投与群で生存率に差は認めなかった(図1)。また同様に遮断薬投与例においてもAT1R 遺伝子多型

(1166A C)を有する症例では心不全再入院が高率であることも明らかとなった。一方、抗炎症作用が期待されるスタチンにおいても、代表的な炎症性サイトカインの一つであるLTAの遺伝子多型(804C A)を有する症例では有さない症例に比較して、スタチン非処方例では生存率は低かったがスタチン処方例ではその差は認めなかった。すなわちスタチンはLTAの遺伝子多型(804C A)を有する症例において特に有用であることが示された(図2)。またこれらの結果は死亡をエンドポイントとした多変量解析を施行しても同様であった。これらの結果はすべて遺伝子多型間でRA系阻害薬、遮断薬、スタチンといった心筋梗塞二次予防薬の効果に差が生じることを示しており、今後遺伝子多型に基づく薬剤選択が重要となる可能性を示した(投稿準備中)。

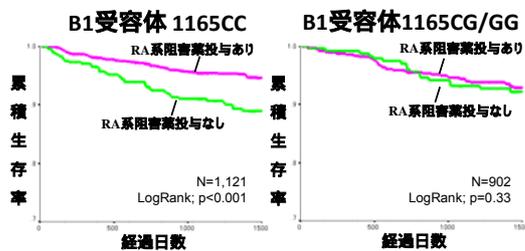


図1:  $\beta 1$  受容体遺伝子多型別にみたRA系阻害薬投与の有無と生存率の関係:  $\beta 1$  受容体遺伝子多型(1165CC)症例ではRA系阻害薬投与の有無により累積生存率に差を認めた。

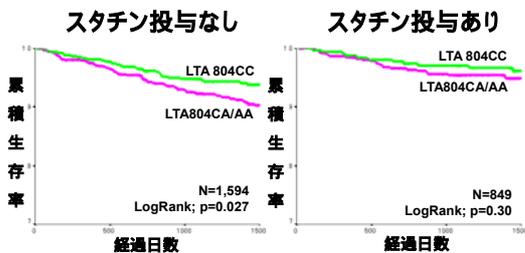


図2: スタチン投与・非投与群におけるリノトキシナルファ(LTA)遺伝子多型と生存率の関係: スタチン非投与群ではLTA遺伝子多型(804C→A)の有無により生存率に差を認めたが、投与群ではその差は認めなかった。

## (2) 遺伝子多型が細胞接着に及ぼす効果の検討

次にこれら遺伝子多型の中でもLTA遺伝子多型(804C A)に着目して薬剤効果への影響に関する基礎的検討を行った。上記LTAの遺伝子多型はアミノ酸変異を伴い、この遺伝子多型が存在すると26座位のアミノ酸がスレオニン(Thr)からアスパラギン酸(Asn)に変換された変異蛋白LTA26Asnを産生する。そこで人工的にLTA26Asnを作成し、その細胞

接着に対する効果を検討した。その結果このLTA26Asnは通常のLTA蛋白26Thrに比較して単球と血管内皮細胞との接着を増強し、その増強効果はスタチンで消失することを確認した(図3、投稿準備中)。これはLTA遺伝子多型(804C A)の存在により総死亡が増大し、その差がスタチン処方例では消失した前述の結果(図1)を説明する興味深い結果となった。

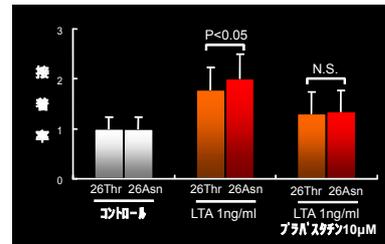


図3: リノトキシナルファ(LTA)変異蛋白による細胞接着増強効果とスタチンによる抑制: ヒト血管内皮細胞(HUVEC)とヒト単球(THP1)細胞の接着はLTA26Thrにより増強したがLTA26Asnではさらに増強された、しかしながらこの増強効果の差異はプラバスタチンにより消失した。

## (3) 薬剤の血管内皮機能改善効果に及ぼす遺伝子多型の影響の検討

冠動脈疾患症例において指尖部脈波における5分間阻血後の反応性充血比を用いて心血管事故の代替エンドポイントとしての血管内皮機能を評価した結果、反応性充血比は各薬剤の服用の有無により遺伝子多型間で差が生じることが明らかとなった。31例のスタチン投与症例、22例のスタチン非投与症例で検討した結果、2受容体遺伝子多型(-47CT)を有する症例(-47CT)と有しない症例(-47CC)において反応性充血比を比較すると、スタチン非投与例では両群で差を認めなかったが、スタチン投与群では-47CT群(N=4)で $1.9 \pm 0.64$ 、-47CC群(N=27)で $1.53 \pm 0.28$ と反応性充血比に差を認めた( $P=0.045$ )。LTA遺伝子多型(804C A)に関しては両群で差を認めなかった。また、12例ではスタチン投与開始あるいは増量前後に2回内皮機能評価を行ったが、反応性充血比の改善を認める症例(図4)と認めない症例が存在した。遺伝子多型別に検討を行った結果、1受容体遺伝子多型を有しない症例では全例で改善を認めたが、有する症例では4例に1例しか改善を認めなかった( $P=0.018$ )。また、LTA遺伝子多型(804C A)を有しない症例においては全例で改善を認めたが、有する症例ではその改善頻度は50%であった( $p=0.087$ )。これらの結果より症例数は少ないものの、遺伝子多型が薬剤効果に影響を与えることが確認された。



図4: プラバスタチン増量による血管内皮改善効果: 69歳男性においてプラバスタチン投与量を10mg/日(左図)から20mg/日(右図)へと増量した結果、反応性充血は著明に改善した(矢印)。

#### (4) 研究成果の総括

大阪急性冠症候群研究会登録症例において、心筋梗塞二次予防薬の予後改善効果に影響を及ぼす遺伝子多型の存在を確認した。特にリンホトキシン(LTA)の遺伝子多型(804C A)の存在は生存退院後の死亡に関連しており、スタチン服用による生命予後改善効果にも同遺伝子多型が関与していることが基礎的・臨床的両側面からの検討で示された。これらの結果は遺伝子多型に基づいた個別医療の実現へ結びつくと考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計10件)

1) SNPs in BRAP associated with risk of myocardial infarction in Asian populations. Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, Lin TH, Miyamoto Y, Aoki A, Onouchi Y, Sheu SH, Ikegawa S, Odashiro K, Nobuyoshi M, Juo SH, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Nat Genet. 2009;41(3):329-33. Epub 2009 Feb 8. 査読有

2) Lipid profile, plasma apolipoproteins, and risk of a first myocardial infarction among Asians: an analysis from the INTERHEART Study. Karthikeyan G, Teo KK, Islam S, McQueen MJ, Pais P, Wang X, Sato H, Lang CC, Sitthi-Amorn C, Pandey MR, Kazmi K, Sanderson JE, Yusuf S. J Am Coll Cardiol. 2009 Jan 20;53(3):244-53. 査読有

3) Impact of Diabetes Mellitus on Rehospitalization for Heart Failure Among Survivors of Acute Myocardial Infarction in the Percutaneous Coronary Intervention

Era. Nakatani D, Sakata Y, Mizuno H, Shimizu M, Suna S, Usami M, Ito H, Yasumura Y, Hirayama A, Takeda H, Hori M, Sato H; the Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Group. Circ J. 2009 Mar 25;73(4):662-666. Epub 2009 Feb 19. 査読有

4) Lymphotoxin-alpha3 mediates monocyte-endothelial interaction by TNFR1/NF-kappaB signaling. Suna S, Sakata Y, Shimizu M, Nakatani D, Usami M, Matsumoto S, Mizuno H, Ozaki K, Takashima S, Takeda H, Tanaka T, Hori M, Sato H. Biochem Biophys Res Commun. 2009 Feb 6;379(2):374-8. Epub 2008 Dec 25. 査読有

5) Up-regulation of cell adhesion molecule genes in human endothelial cells stimulated by lymphotoxin alpha: DNA microarray analysis. Suna S, Sakata Y, Sato H, Mizuno H, Nakatani D, Shimizu M, Usami M, Takashima S, Takeda H, Hori M. J Atheroscler Thromb. 2008 Jun;15(3):160-5. 査読有

6) Effect of early use of low-dose pravastatin on major adverse cardiac events in patients with acute myocardial infarction: the OACIS-LIPID Study. Sato H, Kinjo K, Ito H, Hirayama A, Nanto S, Fukunami M, Nishino M, Lim YJ, Kijima Y, Koretsune Y, Nakatani D, Mizuno H, Shimizu M, Hori M; Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS)-LIPID Study Investigators. Circ J. 2008 Jan;72(1):17-22. 査読有

7) Effect on outcome of an increase of serum cardiac troponin T in patients with healing or healed ST-elevation myocardial infarction. Shimizu M, Sato H, Sakata Y, Nakatani D, Mizuno H, Suna S, Fujii K, Ueda Y, Nanto S, Hori M; Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Group. Am J Cardiol. 2007 Dec 15;100(12):1723-6. Epub 2007 Oct 24. 査読有

8) Effect of intracoronary thrombectomy on 30-day mortality in patients with acute myocardial infarction. Nakatani D, Sato H, Sakata Y, Mizuno H, Shimizu M, Suna S,

Nanto S, Hirayama A, Ito H, Fujii K, Hori M. Am J Cardiol. 2007 Oct 15;100(8):1212-7. Epub 2007 Aug 2. 査読有

9) Clinical impact of metabolic syndrome and its additive effect with smoking on subsequent cardiac events after acute myocardial infarction. Nakatani D, Sakata Y, Sato H, Mizuno H, Shimizu M, Suna S, Ito H, Koretsune Y, Hirayama A, Hori M; Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Group. Am J Cardiol. 2007 Apr 1;99(7):885-9. Epub 2007 Feb 12. 査読有

10) A functional SNP in ITIH3 is associated with susceptibility to myocardial infarction. Ebana Y, Ozaki K, Inoue K, Sato H, Iida A, Lwin H, Saito S, Mizuno H, Takahashi A, Nakamura T, Miyamoto Y, Ikegawa S, Odashiro K, Nobuyoshi M, Kamatani N, Hori M, Isobe M, Nakamura Y, Tanaka T. J Hum Genet. 2007;52(3):220-9. Epub 2007 Jan 9. 査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

1) 佐藤洋. The Management of Vulnerable Patients After Acute Myocardial Infarction. 第73回日本循環器学会学術集会 シンポジウム16. 平成21年3月22日. 大阪リーガロイヤルホテル.

2) 佐藤洋. Impact of Single Nucleotide Polymorphisms on Cardiovascular Risk in Patients with Acute Myocardial Infarction. 第73回日本循環器学会学術集会 トピック 1. 平成21年3月20日. 大阪リーガロイヤルホテル.

3) 坂田泰彦, 佐藤洋. Biomarkers, Single Nucleotide Polymorphisms and Cardiovascular Risk After Acute Myocardial Infarction: Observations from the Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS). 第73回日本循環器学会学術集会 シンポジウム 1. 平成21年3月20日. 大阪国際会議場.

4) 佐藤洋. 急性冠症候群の治療法の進歩. 第56回日本心臓病学会学術集会 パネルディスカッション. 平成20年9月9日. 東京国際フォーラム.

5) 坂田泰彦, 佐藤洋. 心筋梗塞後の心不全進展予防における 遮断薬に対する反応性と遺伝子多型. 第56回日本心臓病学会学術集会 シンポジウム. 平成20年9月8日. 東京国際フォーラム.

6) 佐藤洋. 遺伝子多型による心筋梗塞二次予防治療の個別化の試み. 日本内科学会総会. 平成19年4月4日. 大阪国際会議場.

〔図書〕(計1件)

堀正二: 循環器疾患最新の治療. 南江堂 2008年 総561頁.

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

〔特許、特願 2009-026315〕

産業財産権の名称: 遺伝子多型による心筋梗塞発症後の心不全発症リスクの診断法

発明者: 佐藤洋, 坂田泰彦

権利者: 大阪大学

出願日: 平成21年2月6日

国内・国外の別: 国内

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(2007年度)

(1) 研究代表者

堀正二 (HORI MASATSUGU)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号 20124779

(2) 研究分担者

佐藤洋 (SATO HIROSHI)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号 10294092

(3) 連携研究者

なし

(2008年度)

(1) 研究代表者

佐藤洋 (SATO HIROSHI)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号 10294092

(2) 研究分担者

坂田泰彦 (SAKATA YASUHIKO)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号 90379206

(3)連携研究者  
なし