資料1－4

平成２４年度業務実績に係る評価シート説明資料（別添資料）

独立行政法人国立循環器病研究センター

目次

資料１　・・・　Ｐ．１
資料２　・・・　Ｐ．７
資料３　・・・　Ｐ．１３
資料４　・・・　Ｐ．１８
資料５　・・・　Ｐ．２３
資料６　・・・　Ｐ．２６
資料７　・・・　Ｐ．２８
資料８　・・・　Ｐ．２９
資料９　・・・　Ｐ．３５
資料１０　・・・　Ｐ．３６
資料１１　・・・　Ｐ．４２
資料１２　・・・　Ｐ．４６
資料１３　・・・　Ｐ．４７
資料１４　・・・　Ｐ．５０
資料１５　・・・　Ｐ．６２
資料１６　・・・　Ｐ．８１
資料１７　・・・　Ｐ．８５
資料１８　・・・　Ｐ．９９
資料１９　・・・　Ｐ．１０３
資料２０　・・・　Ｐ．１１２
資料２１　・・・　Ｐ．１３８
資料２２　・・・　Ｐ．１４１
資料２３　・・・　Ｐ．１５２
資料２４　・・・　Ｐ．１５７
資料２５　・・・　Ｐ．１６１
資料２６　・・・　Ｐ．１６７
資料２７　・・・　Ｐ．１７８
資料２８　・・・　Ｐ．１９１
資料２９　・・・　Ｐ．２０７
資料３０　・・・　Ｐ．２１３
資料３１　・・・　Ｐ．２１９
資料３２　・・・　Ｐ．２２４

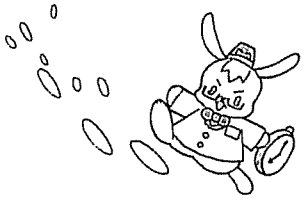
参考資料







はじめに



脳卒中という病気を知っていますか？

脳卒中とは、脳の中にある、脳に栄養分を運んでくれている
血管がつまったり、やぶれたりして、脳がやられてしまう病気です。
日本人が亡くなる原因の第４位で
寝たきりになる原因の第１位の病気です。
自分や、自分の大切な家族が脳卒中でつらい思いをしないためには
脳卒中にならないようにすること、脳卒中になったときに
正しく行動することが大事です。

では、脳卒中になるとどうなるか、知っていますか?
大切な家族が、「言葉がうまくしゃべれなくなっている」ことに
気がついたら、どうしますか?
「気のせいでしょ」と放っておくのは絶対にいけません。
なぜならそれは、脳卒中の前ぶれかもしれないからです。

家族が脳卒中かもしれないと思ったら、どうしますか?
しばらくおうちで様子をみますか?
病院に連れて行ってあげますか?

このマンガには、脳卒中の予防のしかたや、脳卒中かもしれないと
思った時にどうしたらよいかを書いてあります。
大切な家族を脳卒中から守るのは
このマンガを手に取ったあなたです。
マンガを読んで脳卒中を「知っている」ことだけで
家族を助けることができるのです。


いただきまーす
私の家族は
お父さん
お母さん
おばあちゃん
よろしくたのむぞ
そして おじいちゃんの 5人家族です
ぷはー
あーうまいっ
おじいちゃん お酒とたばこ好きだよねー
でもごはんのときは、たばこはやめてー
おっとごめんごめん
いや〜〜
酒とタバコは おじいちゃんの元気の素なんだよ
そうなの？
きずそっちなのにな〜

4


んっ？
すぅ〜
カシャーン!!
たいへん！
まあ おじいさんたら
ありせっさわらぢめ!!
ガタッ
もうっ 飲みすぎじゃありませんか？
あ？ いや
ろえん ろえん（ごめん ごめん）
おケガはありませんか
らいじょーぶ（大丈夫）
おじいちゃん、ちょっとしゃべり方がへんだ
パタ
パタ
！

5


ねぇおじいちゃん しゃべり方がおかしいよ どこか悪いんじゃないのかな？
らいじょーぶ（大丈夫）
ちょっと飲みすぎたらけらろ
たいしたころないさ
ちょっと
てても
昨日もお酒飲んだ後フラフラしてたよ！
ははは
オヤジもトシだからなぁ酒に弱くなったんだろ
気をつけてくれよまったく！
そうなのかなぁ
急がなきゃ
えっ
急がなきゃ
？
なに？
急がなきゃ

6


急いで病院にいかなくちゃ!!
誰——!?
ぴょーん!
ぼくはファストくん！
おじいちゃんの様子がおかしいのは「脳卒中」という病気かも!!
？
？
？
のーそっ
ちゅー？
ビシッ
FAST

7


脳卒中とは！
脳の中で急におこる病気のことなんだ！
脳卒中には主にふたつのタイプがあるんだよ
血管が破れるタイプ
血管が詰まるタイプ
血のかたまり
○脳出血
○くも膜下出血 など
○脳梗塞
○前ぶれ発作など
脳にはたくさんの血が必要なんだ！
だからちょっとでも血が届かないと大変なことになってしまうんだよ……！
ええ!!!

8


とつぜん
けしきの半分が見えなくなる
とつぜん
がまんできないくらい尿がしたくなる
例えば!!
こんな症状が出たら脳卒中かもしれない!!
あっ、さっきおじいちゃんがなったのがあるよ!!
むーっ
ろえん
とつぜん
うまく
しゃべれなくなる
とつぜん
顔や体の半分に力がはいりにくくなったり
しびれたりする
ほかの4つの症状と
いっしょに
自の前がぐるぐる
まわりだす

9

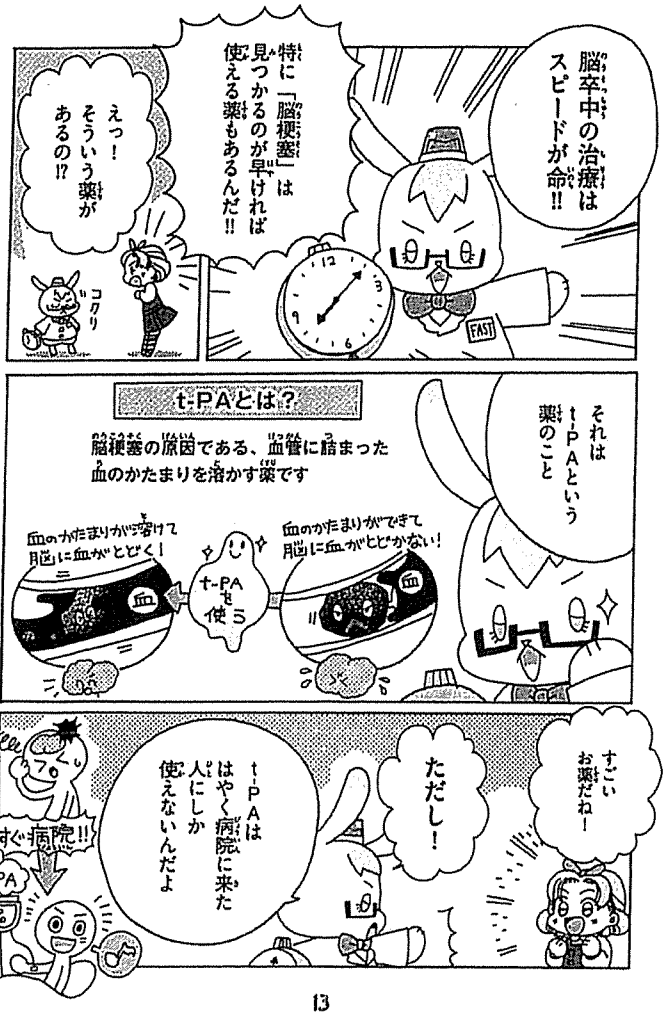

いや〜
脳卒中だなんてオヤジもすっかりいつもどおりだし大げさだよ！
そういえば…
まって!!
それは「前ぶれ発作」かもしれない！
「まえぶれほっさ」？
「まえぶれ発作」がおこると
すぐに詰まった血のかたまりが流れて元にもどるんだ
脳の血管がつまって様子がおかしくなってしまうけれど
すぐ治るならいいんじゃないのかい？
とんでもない!!

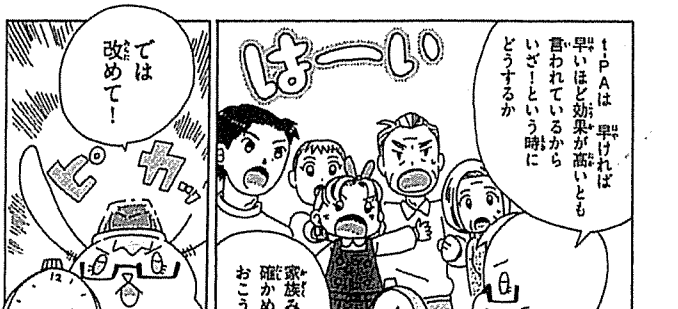
10

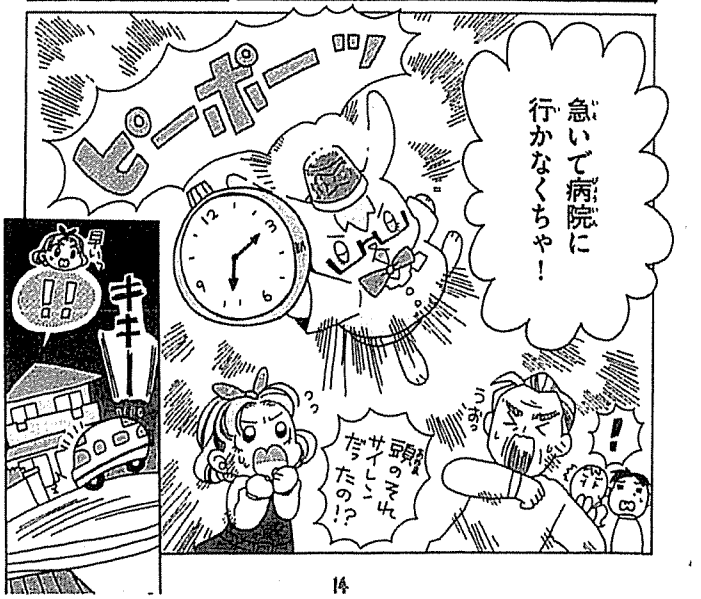

実さい「前ぶれ発作」がおこっていたとしたらその後すぐにホンモノの脳梗塞も起こしてしまう危険が高くなるんだ！
そっ
それはあぶないね！
怖いわ…
前ぶれ発作がおきるということはそれだけ血管がつまりやすいってことだからね！
…ということはいつ本物の発作がおきても…
そう！おかしくない状態なんだ！
命にかかわる発作が起こってしまうかもしれないよ!!
それを「酔ってるせい」とか「年のせい」と思い込んでしまっていると
ギクッ
おじいちゃん
じゃっ じゃあどうしたらいいの!?
心当たり!!

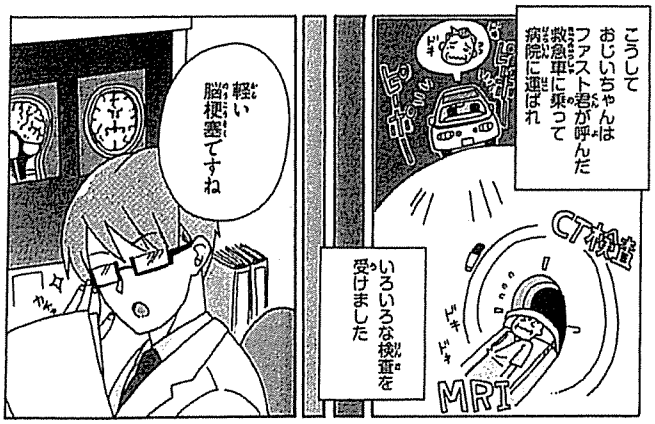
11

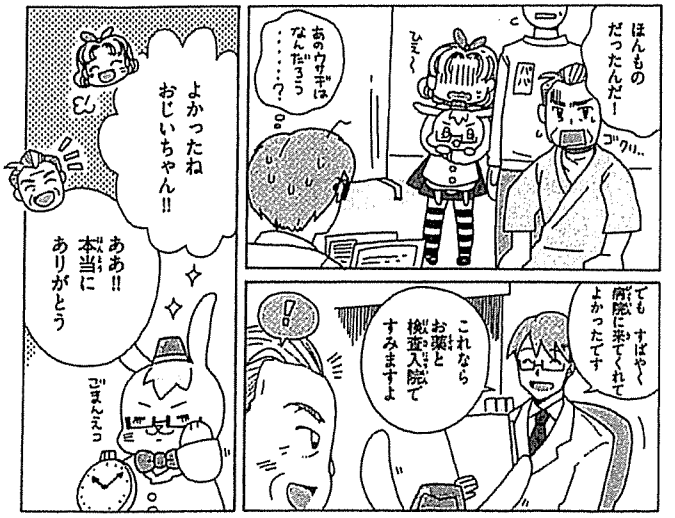

そこで!
何かへん…おかしいな…と思ったら!
顔・うで・言葉ですぐ病院へ行こうチェック!
どれかひとつでも当てはまったら脳卒中の可能性大!!だよ
急がなきゃ!
顔
顔の麻痺
顔の片側がさがる
ゆがみがある
うまく笑顔が作れているかな?
うで
うでの麻痺
片脳に力が入らない
両腕を上げておけるかな?
言葉
ことばの障害
ことばが出ない
ろれつがまわらない
いつもどおりおしゃべりできているかな?
らいじょうぶ(大丈夫)
えっ…とあれ…あれが…でね
なるほど!
これなら私にもわかりやすい!
すぐ病院へ行こう!
8時!
119
症状に気づいたら、時刻を確認してすぐに119番を!!


脳卒中の治療はスピードが命!!
特に「脳梗塞」は見つかるのが早ければ使える薬もあるんだ!!
FAST
えっ!そういう薬があるの!?
コクリ
t-PAとは?
脳梗塞の原因である、血管に詰まった血のかたまりを溶かす薬です
血のかたまりが溶けて脳に血がとどく!
t-PAを使う
血のかたまりができて脳に血がとどかない!
それはt-PAという薬のこと
すごいお薬だね!
ただし!
t-PAははやく病院に来た人にしか使えないんだよ
すぐ病院!!
t-PA


t-PAは早ければ早いほど効果が高いとも言われているからいざ!という時にどうするか
家族みんなで確かめておこう!
ピーポー
では改めて!
FAST


ピーポー
急いで病院に行かなくちゃ!
キキー
頭のそんサイレンだったの!?


こうしておじいちゃんはファースト君が呼んだ救急車に乗って病院に運ばれ
ピーポー
軽い脳梗塞ですね
いろいろな検査を受けました
CT検査
MRI


ほんものだったんだ!
あのウサギはなんだろう……?
ひぇ~
ゴクリ
でも病院に来てくれてよかったです
すばやく
これならお薬と検査入院ですみますよ
よかったねおじいちゃん!!
ああ!!本当にありがとう
ごほんごほっ



脳卒中危険度チェック！







脳卒中って、どんな病気？



■脳卒中って何？

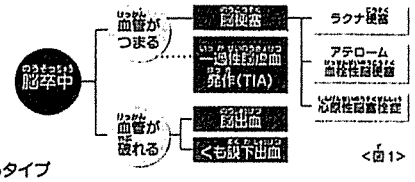
「脳卒中」「脳梗塞」「脳出血」「脳溢血」…脳に関するいろいろな病名を聞きますが、それぞれの違いや原因を知っていますか？

「卒中」とは、「突然悪い風にあたって倒れる」という意味で、脳の血管が破れたりつまったりして、脳に血液が行き届かなくなり、脳がダメージを受け症状をおこす病気をさします。

私たちの脳の重さは体重の2%程度にすぎませんが、そこで使われる血液の量は、心臓から送られる血液の量の約40%にもなります。ですから、少しでも脳の血管に問題が起きると、ダメージが大きいのです。

■脳卒中の主な分類

脳卒中には、主に2つのタイプがあります。
(※図1)



<図1>

[1] 脳の血管がつまるタイプ

- **脳梗塞(虚血性脳卒中)**
  血管がつまることで、その先の脳組織に血液が行きとどかなくなり、酸素や栄養を送ることが出来ず、脳に障害が生じる病気のこと。
- **一過性脳虚血発作(TIA)**
  「前ぶれ発作」とも呼ばれる。脳梗塞と同じ症状が起こるが、24時間以内に症状が完全に治る病気。



[2] 血管が破れるタイプ

- **脳出血**
  高血圧などの影響で脳の中の血管がもろくなり、脳の中に出血する。
- **くも膜下出血**
  脳の周を走る動脈のコブ(動脈瘤)が破れて、脳とくも膜(脳を包んでいる膜)のすきまに出血する。バットで殴られたようなこれまで経験したことがない激しい頭の痛みがおこることが多い。



■適切な対処のために

適切な対処のためには、脳卒中を疑うべき症状を知っていることが大切です。

以下の5つの症状のうちどれか一つでもあれば、すぐに病院へ行きましょう。

脳にはたくさんの血が必要なので、血管がつまって血がとどかなくなると、時間がたつにつれてどんどん脳はやられてしまって、先に戻らなくなるのです。

脳卒中は時間との戦いなのです。

どれか1つでもあてはまれば、すぐに病院へ！



t-PAってどんなおくすり？

ファストくんの説明に出てきた「早く見つかれば使える薬――t-PA」、この「t-PA」とはどんな薬なのでしょうか？この薬でどのような治療ができるのでしょうか？

■t-PAってどんな薬？



t-PAは、血栓＝血のかたまりを溶かす薬（血栓溶解薬）です。
脳梗塞は、多かれ少なかれ血栓（血のかたまり）が原因となって起こります。ケガをすると血が出ますが、しばらくすると固まります（＝血栓ができる）。このように、血栓ができるのはもともと人間が持っている、出血を止める体のしくみなのです。**t-PAは、脳の血管や心臓などでできてしまった血栓を溶かす薬で、脳への血液の流れを早く回復させ、脳を障害から救います。**
この薬が使えるようになり、後遺症（脳卒中がおこった後にのこる症状）が軽くなり身のまわりのことを自分でできる脳梗塞の患者さんがふえた一方で、**t-PAの使用には大きな危険性もあります。最も心配されるのは出血です。**特に、頭の中に出血して症状が悪くなる割合は、使用しない場合の3～10倍になるといわれています。
t-PAは大きな効果が期待できる一方、脳出血という危険性もある「諸刃の剣」であり、十分に注意して使わなければいけない薬なのです。

■t-PA治療の条件

大前提となる条件

1. **発症から4時間30分以内**
   ※病院での診断時間も考えると、発症から3時間30分以内に受診しなければならない
2. **t-PA治療ができる病院を受診すること**

t-PAは大変よくきく薬ですが、脳梗塞を起こした全ての人に使えるわけではありません。使用にはさまざまな条件にあっていることが必要です。
一番大切なことは、4時間30分以内に治療が開始されなければならないことです。
早ければ早いほどきき目があるといわれています。t-PA治療ができる病院もふえてきました。「いざ！」というときに、t-PA治療が必要になるかもしれません。もしもの時にどのように行動するか、家族など身近な人たちと話かめておきましょう。

前ぶれ発作（TIA）のこと

前ぶれ発作（TIA）を「見逃さないことの重要さ」「見逃してしまう怖さ」を、このマンガでわかっていただけたでしょうか？
「知っていること」と「知らないこと」、そしてどう対処するかが、あなたと家族の命をこんなに大きく左右することになるのです。

■前ぶれ発作（TIA）



TIAは一見、大した病気ではないように思えます。**症状はたいてい、5～15分以内、長くても24時間以内と短かい時間でなくなってしまうので、つい見すごされがちです。**しかし、TIAも脳梗塞も、体の中で起こっていることは同じです。血のかたまりがすぐに流れたり、自然に溶けたりして血液の流れが完にもどれば、TIAになるのです。
このような人はいつでも血管がつまりやすい状態です。いつ脳梗塞を起こしてもおかしくないのです。実際に、TIAを起こした人のうち、約20%が数年以内に脳梗塞を起こしています。TIAが「前ぶれ発作」と呼ばれるのもそのためです。

TIAは短時間で症状がおさまるので、見過ごしやすく注意が必要です



では、TIAに気づいたら、どうすればよいのでしょうか？
「ちょっと疲れているかな…」「悪酔いしてしまった」「もう歳だから…」などと、「気のせい」にせず、少しでも思いあたったらすぐ病院へ行きましょう。
その時にTIAが疑われ、正しい治療を受けることができれば、脳梗塞が起きる前に手を打つことができるのです。

脳卒中予防十か条

― 脳卒中を予防するために ―

現在、日本で「寝たきり」となってしまう最大の原因が「脳卒中」です。
脳卒中を起こす主な原因は、**高血圧、糖尿病、脂質異常症、喫煙など**ですが、そのほかにもいろいろな生活習慣が脳卒中を引きおこします。
公益社団法人 日本脳卒中協会では、脳卒中に対する知識を広めるため、わかりやすい**「脳卒中予防十か条」**を作っています。
四つの原因のほかにも、体重や飲酒習慣、塩分のとりすぎなど、病気になりやすい生活習慣についてもう一度見直してみましょう。

脳卒中予防十か条

一つ	手始めに　高血圧から　治しましょう
二に	糖尿病　放っておいたら　悔い残る
三え	不整脈　見つかり次第　すぐ受診
四し	予防には　タバコを止める　意志を持て
五ご	アルコール　控えめは薬　過ぎれば毒
六ろく	高すぎる　コレステロールも　見逃すな
七なな	お食事の　塩分・脂肪　控えめに
八はち	体力に　合った運動　続けよう
九きゅう	万病の　引き金になる　太りすぎ
十じゅう	脳卒中　起きたらすぐに　病院へ

出典：公益社団法人 日本脳卒中協会ホームページ　http://www.jsa-web.org/

※日本脳卒中協会は脳卒中の予防と患者・家族の支援を目的として平成9年から活動を始めました。平成14年には脳卒中に関する知識を広めることを目的に、毎年5月25日から31日を「脳卒中週間」と定め、活動を進めています。





知ってることで救われる!?
脳卒中って？

2013年3月　第1版発行

発　行　国立循環器病研究センター
企画制作　独立行政法人 国立循環器病研究センター
循環器病研究開発費22-4-1
「新しい脳卒中医療の開拓と均てん化のためのシステム構築に関する研究班」
主任研究者　峰松一夫
編　集　京都精華大学 事業推進室
作　画　石田 紫月（京都精華大学　マンガ学科卒）

©国立循環器病研究センター
新しい脳卒中医療の開拓と均てん化のためのシステム構築に関する研究班

Citation: Molecular Therapy–Nucleic Acids (2012) 1, e22; doi:10.1038/mtna.2012.16
© 2012 American Society of Gene & Cell Therapy All rights reserved 2158-3188/11
www.nature.com/mtna

Cholesterol-lowering Action of BNA-based Antisense Oligonucleotides Targeting PCSK9 in Atherogenic Diet-induced Hypercholesterolemic Mice

Tsuyoshi Yamamoto[1,2], Mariko Harada-Shiba[2], Moeka Nakatani[1,2], Shunsuke Wada[2,3], Hidenori Yasuhara[1,2], Keisuke Narukawa[1], Kiyomi Sasaki[3], Masa-Aki Shibata[4], Hidetaka Torigoe[3], Tetsuji Yamaoka[5], Takeshi Imanishi[6] and Satoshi Obika[1]

Recent findings in molecular biology implicate the involvement of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in low-density lipoprotein receptor (LDLR) protein regulation. The cholesterol-lowering potential of anti-PCSK9 antisense oligonucleotides (AONs) modified with bridged nucleic acids (BNA-AONs) including 2′,4′-BNA (also called as locked nucleic acid (LNA)) and 2′,4′-BNA^{NC} chemistries were demonstrated both *in vitro* and *in vivo*. An *in vitro* transfection study revealed that all of the BNA-AONs induce dose-dependent reductions in PCSK9 messenger RNA (mRNA) levels concomitantly with increases in LDLR protein levels. BNA-AONs were administered to atherogenic diet-fed C57BL/6J mice twice weekly for 6 weeks; 2′,4′-BNA-AON that targeted murine PCSK9 induced a dose-dependent reduction in hepatic PCSK9 mRNA and LDL cholesterol (LDL-C); the 43% reduction of serum LDL-C was achieved at a dose of 20 mg/kg/injection with only moderate increases in toxicological indicators. In addition, the serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels increased. These results support antisense inhibition of PCSK9 as a potential therapeutic approach. When compared with 2′,4′-BNA-AON, 2′,4′-BNA^{NC}-AON showed an earlier LDL-C–lowering effect and was more tolerable in mice. Our results validate the optimization of 2′,4′-BNA^{NC}-based anti-PCSK9 antisense molecules to produce a promising therapeutic agent for the treatment of hypercholesterolemia.

Molecular Therapy–Nucleic Acids (2012) 1, e22; doi:10.1038/mtna.2012.16; published online 15 May 2012

Introduction

Statins are lipid-lowering drugs that achieve a strong reduction of serum low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) mainly *via* the indirect activation of LDL receptor (LDLR)-mediated hepatic uptake of LDL from the blood.[1,2] The development of drugs that directly regulate the expression of hepatic LDLR would thus be a compelling strategy to obtain the efficacy of statin-induced LDL-C reduction while compensating for potential weaknesses of statin therapy, such as severe adverse effects (e.g., myopathy). The molecular basis of LDLR regulation as well as cholesterol maintenance has been enthusiastically elucidated,[3–7] and several causative molecules of hypercholesterolemia relevant to the direct regulation of LDLR function have recently been identified.[8–11] Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), which was recently identified as the third gene relevant to autosomal dominant hypercholesterolemia,[10] is involved in the maintenance of cholesterol balance. A number of human mutations in PCSK9 have been reported. Gain-of-function mutations are associated with autosomal dominant hypercholesterolemia, whereas loss-of-function mutations are relevant to low blood levels of LDL-C.[12] Recent findings have suggested the involvement of PCSK9 in LDLR regulation. PCSK9 is synthesized mainly in the liver, small intestine, and kidney as a 72-kDa soluble zymogen that subsequently undergoes autocatalytic cleavage into an active form. The active 63-kDa enzyme in complex with the cleaved prodomain is secreted into the bloodstream. Secreted PCSK9 directly binds to an extracellular part of the LDLR. The LDLR–PCSK9 complex is transported from the cell surface to the endosomal system for digestion. PCSK9 forms a stable complex with LDLR in lysosomes, which disturbs the recycling of LDLR to reduce LDL uptake.[4,13,14] PCSK9 would be a pivotal regulator of LDLR and an attractive target for lipid-lowering therapy, although some molecular functions of PCSK9 remain unknown.

To achieve PCSK9 inhibition, several "molecular-targeted" approaches have been attempted. To our knowledge, berberine, an isoquinoline plant alkaloid, is the sole small molecule that achieves suppression of PCSK9 expression at the transcriptional level.[15–17] An antibody against secreted PCSK9 efficiently reduced the serum LDL-C levels of mice and monkeys.[18] Small interfering RNA formulated in a lipidoid nanoparticle can induce liver-specific reduction of PCSK9 messenger RNA (mRNA) and serum total cholesterol levels in wild-type mice.[19] These proof-of-concept studies demonstrate the therapeutic promise of PCSK9-targeted therapies. Antisense inhibition of PCSK9 is superior to the aforementioned strategies because antisense oligonucleotide (AON) molecules can deactivate intrahepatic mRNA as well as proteins in the blood; in addition, they target the liver *via* a simple delivery methodology. Graham *et al.* showed that 2′-*O*-methoxyethyl-modified phosphorothioate oligonucleotide (MOE) (100 mg/kg/week) administered for a 6-week period to mice fed a high-fat diet reduced hepatic PCSK9 mRNA and serum LDL-C. However, a large dose of MOE is necessary to obtain sufficient efficacy. More recently, Gupta *et al.* demonstrated that a reduced amount of 2′,4′-bridged nucleic acid (BNA) (also called as locked nucleic acid (LNA))-modified gapmer efficiently suppresses PCSK9 mRNA and induces an increase in LDLR protein levels both *in vitro* and *in vivo*.[20] Due to the high-affinity binding of 2′,4′-BNA–modified AON molecules, in many cases, 2′,4′-BNA–modified gapmer shows improved antisense potency *in vivo* as compared to MOE-based gapmer. However, in some cases, the repeated administration of 2′,4′-BNA–modified gapmer causes hepatotoxicity.[21] The development of more potent and less toxic antisense molecules is necessary for clinical usage.[22] We have developed a series of 2′,4′-BNAs such as 2′,4′-BNA and 2′,4′-BNA^{NC}, which have chemical bridges between the 2′ and 4′ positions of the ribose rings; 2′,4′-BNA^{NC}–modified oligonucleotides retain high-affinity binding to RNA and higher nuclease stability than 2′,4′-BNA–modified oligonucleotides.[23–25] Therefore, 2′,4′-BNA^{NC}–modified anti-PCSK9 AONs would be expected to possess distinct cholesterol-lowering potency and toxicological risks *in vivo*. Actually, 2′,4′-BNA^{NC}–modified phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome ten (PTEN) inhibitor showed high potency without the onset of hepatotoxicity.[25] In this study, we present the effective gene silencing and cholesterol-lowering effects of both 2′,4′-BNA– and 2′,4′-BNA^{NC}–based anti-PCSK9 AON. In addition, we showed the toxicological characteristics of 2′,4′-BNA– and 2′,4′-BNA^{NC}–based AONs.

[1]Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Suita, Japan; [2]Department of Molecular Innovation in Lipidology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Suita, Japan; [3]Faculty of Science, Tokyo University of Science, Shinjuku-ku, Japan; [4]Faculty of Health Science, Osaka Health Science University, Osaka, Japan; [5]Department of Biomedical Engineering, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Suita, Japan; [6]BNA Inc., Ibaraki, Japan
Correspondence: Satoshi Obika, 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan. E-mail: obika@phs.osaka-u.ac.jpor Mariko Harada-Shiba, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan. E-mail: shiba.mariko.n@mail.ncvc.go.jp

Received 6 November 2011; revised 10 April 2012; accepted 10 April 2012
Keywords: antisense; BNA; hypercholesterolemia; LNA; PCSK9

Results

Physicochemical properties of a 2′,4′-BNA–modified anti-PCSK9 AON *in vitro*

The 2′,4′-BNA–modified phosphorothioate oligonucleotides (P900SL) and a conventional phosphorothioate AON (P900S) were designed based on the previously identified potential sequence.[27] The control sequence was CR01S, which has the same conventional phosphorothioate backbone as P900S, but does not target any specific genes in mice (**Table 1**). Upper and lower case letters in the sequences represent 2′,4′-BNA and DNA, respectively. We additionally selected another sequence, a consensus sequence between the mouse and human sequences to dispense with the sequence translation to adapt to human clinical trials. P901SL and P901SNC both possess five gaps, and nine of 20 nucleotides are substituted by 2′,4′-BNA and 2′,4′-BNA^{NC} (**Table 1**, **Figure 1**). Note that the sequence, length, and composition of AONs have not been fully optimized yet here. The melting temperature (T_m) values of P900S, P900SL, P901S, P901SL, and P901SNC with their target RNA were determined by UV-melting experiments. AONs modified with 2′,4′-BNA and 2′,4′-BNA^{NC} showed an excellent target affinity compared to conventional phosphorothioate AONs (**Table 1**).

In vitro gene silencing properties

We next evaluated *in vitro* gene silencing properties of AONs by using mice hepatic NMuLi cells (**Figure 2a–c**) treated with 1–50 nmol/l of P900SL by means of lipofection. Real-time reverse transcription-PCR revealed a dose-dependent reduction of the PCSK9 mRNA level as compared to the GAPDH mRNA level (half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) = 3.0 nmol/l) (**Figure 2a**). By contrast, no such effective reduction of the mRNA level occurred in P900S-treated cells (IC_{50} = 41.2 nmol/l) (**Figure 2a**), and treatment with CR01S and CR01SL did not yield any silencing (**Figure 2b**). To investigate whether suppression of PCSK9 mRNA by P900SL affects the PCSK9 protein level, we performed western blotting experiments. A dose-dependent reduction of the PCSK9 protein level occurred in P900SL-treated NMuLi cells (**Figure 2a**). On the other hand, the protein levels of LDLR in P900SL-treated cells were increased in a dose-dependent manner, showing the inverse relationship between PCSK9 and LDLR protein levels. PCSK9 protein was thoroughly inhibited by P900SL at a concentration of ~10 nmol/l. The increase in LDLR protein simultaneously reached a plateau at this concentration. Gene silencing properties of P901S, P901SL, and P901SNC were demonstrated both in murine and human hepatic cell lines. P901SL and P901SNC showed a similar silencing efficacy as P900SL in NMuLi cells (**Figure 2a**). Both P901SL and P901SNC showed far more efficient mRNA inhibitory activity than P901S in HepG2 cells (**Figure 2d**). The reduction rate of PCSK9 protein levels also supported this trend (**Figure 2e**).

The level of intrahepatic AONs in normal chow-fed mice after a single treatment with BNA-modified AONs

Next, we examined whether BNA-modified AONs can also be good inhibitors of PCSK9 in mice. A naked AON (P900SL) was intravenously (i.v.), subcutaneously (s.c.), and

Table 1 Properties of modified oligonucleotides used in this study

Sequence ID	Sequence[a]	T_m	IC_{50} (nmol/l) NMuLi	IC_{50} (nmol/l) HepG2
CR01S	5′-cctlccctgaaggttcctcc-3′	–	N.D.	–
CR01SL	5′-cctTCCctgaagGTTCcTCc-3′	–	N.D.	–
P900S	5′-gggctcatagcacattatcc-3′	37.0	23	–
P900SL	5′-GggCTCatagcaCaTTaTCc-3′	72.1	1.8	–
P901S	5′-ccaggcctatgagggtgccg-3′	49.6	–	100
P901SL	5′-CCaggCCTaTgagggTgCCg-3′	83.2	1.0	1.8
P901SNC	5′-CCaggCCTaTgagggTgCCg-3′	86.0	3.0	11.6

Abbreviations: BNA, bridged nucleic acid; IC_{50}, half-maximal inhibitory concentration.
[a]Oligonucleotides with 2′,4′-BNA (upper case), 2′,4′-BNA^{NC} (capital italic), and DNA (lower case letters). All internucleotide linkages are phosphorothioated. Melting temperature (T_m) of CR01S and CR01SL were not measured because no target site on transcripts, marked "–". Non-detectable IC_{50} values, due to low potency, marked N.D. IC_{50} values were partly not determined, marked "–".

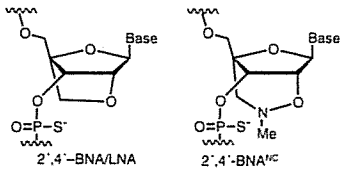


Figure 1 Structure of bridged nucleic acids (BNA) used in this study. LNA, locked nucleic acid.

intraperitoneally (i.p.) injected into normal chow-fed C57BL/6J mice (**Figure 3**). After 72 hours, the hepatic PCSK9 mRNA levels were measured, and the half-maximal effective dose (ED_{50}) values were determined. Intravenous administration showed the most efficient hepatic reduction of PCSK9 mRNA (ED_{50} = 7.5 mg/kg) (**Figure 3a**). Subcutaneous and intraperitoneal injections resulted in ED_{50} values of 8.8 and 12.1 mg/kg, respectively (**Figure 3c,d**). Next, we measured the amount of intact P900SL that accumulated in the liver after i.v. administration by using a previously described ELISA method.[28] The intrahepatic content of P900SL was directly proportional to the applied doses, and the saturation of accumulation was not observed even at the highest dose of 70 mg/kg, which is consistent with a previous report[29] (**Figure 3b**).

Repeated administration of BNA-modified AONs to atherogenic diet-fed mice

To determine the pharmacological effects of BNA-modified AONs, we monitored the serum cholesterol change upon repeated administration of AONs. Naked AONs (P900S and P900SL) were i.p. injected into atherogenic diet (cholesterol content, 1.25%)-fed C57BL/6J mice twice during 5 days at a dosage of 10 mg/kg per administration. Injections were performed on days 1 and 4. On day 5, livers were harvested to measure gene expression, and blood was collected for the lipid component analysis and toxicity evaluation. As shown in **Figure 4a**, a significant silencing effect of the hepatic PCSK9 mRNA level was only observed in the P900SL-treated arm. The increase in hepatic LDLR protein was shown by western blotting analysis (**Figure 4c**). The average serum LDL-C levels were concomitantly reduced by ~30%, although no statistically significant differences were observed (**Figure 4b**). Collectively, P900SL showed a mild cholesterol-lowering effect in this short-term experiment with the lack of serum elevation of liver transaminases, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase (ALT) (**Figure 4d**).

To obtain cholesterol-lowering efficacy profiles and toxicological information, we next performed longer-term and multiple-dose experiments in mice. P900SL was i.p. injected twice weekly at a dosage of 2–40 mg/kg/week for 6 weeks into high-cholesterol–loaded mice. After 4 weeks of treatment, blood samples were collected from tail veins, and the precise cholesterol profiles in serum lipoproteins were analyzed by the high-performance liquid chromatography method. **Supplementary Table S1** shows the raw serum total cholesterol levels and the cholesterol levels of fractionated lipoprotein components. **Figure 5a,b** show raw data plots of the high-performance liquid chromatography analysis of serum and the serum LDL-C ratio. Total cholesterol levels did not show a cholesterol-lowering effect or any other specific trends with an increase of doses. However, a precise lipoprotein component analysis revealed that P900SL had induced a dose-dependent LDL-C reduction, and the serum LDL-C reduction of 43% was achieved at a dose of 40 mg/kg/week, whereas serum HDL-C levels increased inversely with LDL-C levels. After a 6-week dosing regimen, livers and blood were harvested to analyze gene and protein expression and toxicities. A dose-dependent decrease of LDL-C, as seen at week 4, was continuously observed. Intrahepatic cholesterol content showed no significant difference between arms (**Supplementary Figure S1 and Supplementary Materials and Methods**). Hepatic gene expression levels were analyzed by the real-time reverse transcription-PCR method. Hepatic PCSK9 mRNA was efficiently reduced in a dose-dependent manner (**Figure 5c**). And, the reduction of PCSK9 mRNA did not affect LDLR mRNA expression levels (**Figure 5e**). However, LDLR protein levels increased concomitantly with decreased LDL-C levels (**Figure 5d**). Hepatic LDLR protein levels were significantly increased by ~1.5-fold in a dose-dependent manner. Note that we here collected sera and analyzed lipid profiles 2 weeks ahead of sacrifice in order to distribute the stressors associated with treatments, which strongly disturbs serum cholesterol levels.

Related gene expression associated with repeated dosing

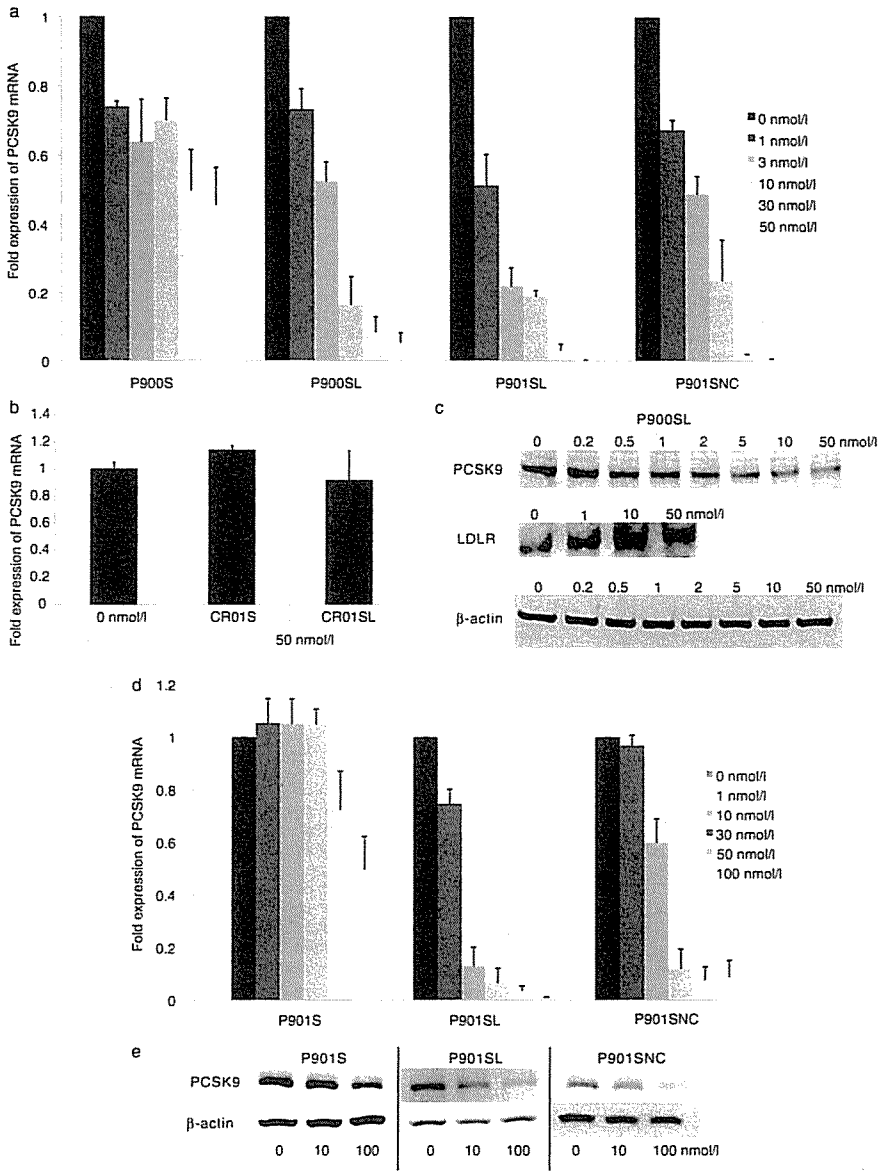
We further investigated the effect of BNA-modified AONs on molecules related to the cholesterol metabolism (**Figure 5e**). Knockdown of PCSK9 mRNA induced a reduction in the gene expression of sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2), a transcriptional factor controlling sterol synthesis; hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) synthase, an enzyme in the cholesterol synthesis pathway; hepatic triglyceride lipase (LIPC); and ATP-binding cassette transporter (ABCA1), a key enzyme for HDL production. On the other hand, scavenger receptor class B type 1 (SR-B1), a receptor for HDL particles, and cholesterol acyltransferase (ACAT1) showed no significant change, and the expression level of cholesterol 7α-hydroxylase (CYP7A1), the first and rate-limiting enzyme in bile acid synthesis, dose-dependently increased.

Toxicological characteristics of BNA-AONs associated with repeated dosing

Toxicological characteristics of P900SL upon subchronic dosing were estimated by an analysis of blood biochemistry and a histopathological analysis (**Figure 6**). Because phosphorothioate AONs accumulate mainly in the kidney and liver,[30–32] hepatotoxicity and renal toxicity are the most likely types of toxicity; 2′,4′-BNA–based AONs have the potential to induce hepatotoxicity.[21] However, our experiments showed only moderate increases in liver transaminases (even at higher doses of P900SL) and a dose-dependent mild increase in serum blood urea nitrogen levels (**Figure 6a**). Histopathologically, no treatment-related changes were seen in the liver or kidneys. As shown in **Figure 6b**, although the majority of mice treated with saline or therapeutic regimes showed cloudy swelling of hepatocytes, no cellular damage was found in the centrilobular and perilobular hepatocytes, which frequently experience toxicological insults. In addition, granulomas or inflammation were sporadically observed in the saline group and treated groups (**Supplementary Table S2**).

Repeated administration of 2′,4′-BNA^{NC}–modified AONs to atherogenic diet-fed mice with the least toxicity

To examine the effect of 2′,4′-BNA^{NC}–modified AONs, P901SNC as well as P901SL were applied to atherogenic diet-fed mice to investigate their potencies and toxicity profiles. P901SL and P901SNC were i.p. administered twice weekly for 6 weeks at a dose of 1–20 and 1–10 mg/kg/injection, respectively. On week 4, peripheral blood was collected from tail veins, and



the cholesterol content of each lipoprotein fraction was measured. P901SL showed no significant reduction of LDL-C levels, whereas P901SNC reduced serum LDL-C levels by ~30% at the highest dose (10 mg/kg/injection), and the reduction occurred in a dose-dependent manner (**Figure 7a**). We observed a slower onset of the reduction of LDL-C of P901SL 6 weeks after the first treatment (**Supplementary Figure S2**). Meanwhile, hepatic PCSK9 mRNA expression was suppressed and the hepatic LDLR protein was increased accompanied by AON treatment with relatively large deviations (**Figure 7b,c**). PCSK9 mRNA was inhibited by P901SL and P901SNC as efficiently as P900SL. LDLR protein responded maximally to 20 mg/kg/injection of P901SL and 10 mg/kg/injection of P901SNC. The increasing rates of these two arms were nearly the same (~1.5-fold increase). The lack of severe hepatotoxicities or kidney toxicities was confirmed by serum chemistry in both the P901SL- and P901SNC-treated arms (**Supplementary Table S3**). Collectively, 2′,4′-BNA^{NC}–based AON, P901SNC, was as safe as the 2′,4′-BNA–based counterpart, P901SL.

Discussion

We demonstrated in this article that BNA-based antisense therapeutics successfully inhibited hepatic PCSK9 expression, resulting in a strong reduction of the serum LDL-C levels of mice. Our findings support the hypothesis that PCSK9 is a potential therapeutic target for hypercholesterolemia. To the best of our knowledge, this is the first time that we were able to show that BNA-based AONs induced cholesterol-lowering action in hypercholesterolemic mice. P900SL yielded high inhibitory activity *in vivo* as well as *in vitro*, and i.v. administration gave the highest peak inhibitory activity of the three representative routes. Nevertheless, i.p. and s.c. injections are alternative routes to i.v. injection, because they yielded adequate dose-responsive suppression of PCSK9 mRNA. In fact, Mipomersen for the treatment of hypercholesterolemia is given s.c. rather than i.p. due to practicality.[33,34] The rationality of s.c. injection is also supported by the pharmacokinetic nature and disposition properties of 2′-*O*-methyl phosphorothioate AON.[35] The peak tissue levels of 2′-*O*-methyl phosphorothioate AON after i.v. injection were higher than after s.c. and i.p. administration, and i.v. injection gives the peak of exon skipping efficiency. However, the bioavailability of 2′-*O*-methyl phosphorothioate AON was similar among all routes, and durable effects were observed after s.c. administration; therefore, the investigators selected s.c. administration for a preclinical study in mice. On the other hand, the hepatic accumulation of P900SL associated with a single i.v. injection increased directly with dose. This result was totally consistent with a 2′,4′-BNA gapmer targeting apolipoprotein B.[20] Further research to elucidate the pharmacokinetics of BNA-AONs is now underway.

The *in vivo* silencing properties of 2′,4′-BNA–based AON that targets PCSK9 mRNA were previously reported by Gupta *et al.*[20] They achieved the silencing of PCSK9 concomitantly with the upregulation of hepatic LDLR in female mice. However, they did not mention the cholesterol-lowering effect of the 2′,4′-BNA–based AON. We observed a dose-dependent decrease of LDL-C levels and a dose-dependent increase of HDL-C levels (**Figure 5**). There seems to be no trend in the net changes of serum total cholesterol levels (**Supplementary Table S1**). The increase in LDLR protein levels reported by Gupta *et al.*[20] were a little higher than those in **Figure 5d**. The likely explanation is the difference of experimental conditions in which they have used female NMRI mice with standard maintenance diet, whereas we used male C57BL/6J mice with atherogenic diet which contains 1.25% of cholesterol, 0.5% of cholic acid, and so on. Hepatic influx of these ingredients in the diet are known to strongly induce the downregulation of LDLR and cholesterol biosynthetic enzymes such as HMG-CoA reductase by downregulating SREBPs, important transcriptional factors, which results in LDLR reduction.[13,36,37] We also observed dose-dependent moderate increases of aspartate aminotransferase, ALT, and blood urea nitrogen levels, whereas histopathological analysis revealed no severe hepatic toxicities (**Figure 6**, **Supplementary Table S2**). Collectively, a continuous dosing of P900SL showed potent LDL-C reduction in mice without severe side effects, and this report provides the experimental proof of the cholesterol-lowering effects of BNA-based AONs.

We also achieved a dose-dependent decrease in serum LDL-C levels by using a 2′,4′-BNA^{NC}–based AON (P901SNC) (**Figure 7a**). In this case, serum HDL-C levels and the levels of liver and kidney toxicity indicators were not elevated (**Supplementary Table S3**). When compared with P901SNC, a delayed decrease of LDL-C levels was observed in the P901SL-treated arm (**Supplementary Figure S2**). We also showed here that a 2′,4′-BNA^{NC}–based AON (P901SNC) has greater potential to inhibit PCSK9 and to reduce serum cholesterol levels with no toxicity than a conventional 2′,4′-BNA–based AON. The high-potency and low-toxicity characteristics of a 2′,4′-BNA^{NC}–based AON were previously reported to effectively inhibit PTEN mRNA without elevation of the serum ALT level, whereas elevated serum ALT was observed in the 2′,4′-BNA counterpart-treated arm.[26] Thus, we conclude that 2′,4′-BNA^{NC}–based AONs can be a promising therapeutic agent for antisense therapy. However, the structure-activity relationship of BNA-based AONs still remains to be elucidated.

As previously reported, LDLR mRNA expression was independent of PCSK9 inhibition.[20,37] The coordinate repression of SREBP2, HMG-CoA synthase, and ABCA1 is in agreement with a response to a transient massive influx of cholesterol in the liver (**Figure 5e**). HMG-CoA synthase and ABCA1 are both known to be regulated by SREBP2, whereas SR-B1 and ACAT1 are atypical factors regulated by SREBP2.[3,4] The mRNA expression levels of the latter two factors were unchanged by P900SL, while an increased expression level of CYP7A1 was induced by P900SL. CYP7A1 is the first and

Figure 2 *In vitro* silencing properties of AONs (CR01S, CR01SL, P900S, P900SL, P901SL, and P901SNC). AONs were transfected into NMuLi cells. (**a,b**) After a 24-hour incubation, cells were collected and the expression levels of PCSK9 mRNA were determined. Data represent means ± SD. (**c**) PCSK9 and LDLR proteins were also detected by western blotting. AONs (P901S, P901SL, and P901SNC) were transfected into HepG2 cells. (**d**) After a 24-hour incubation, HepG2 cells were collected and the expression levels of PCSK9 mRNA were determined. Data represent mean values ± SD. (**e**) PCSK9 and β-actin proteins were detected by western blotting. AON, antisense oligonucleotide; LDLR, low-density lipoprotein receptor; mRNA, messenger RNA.

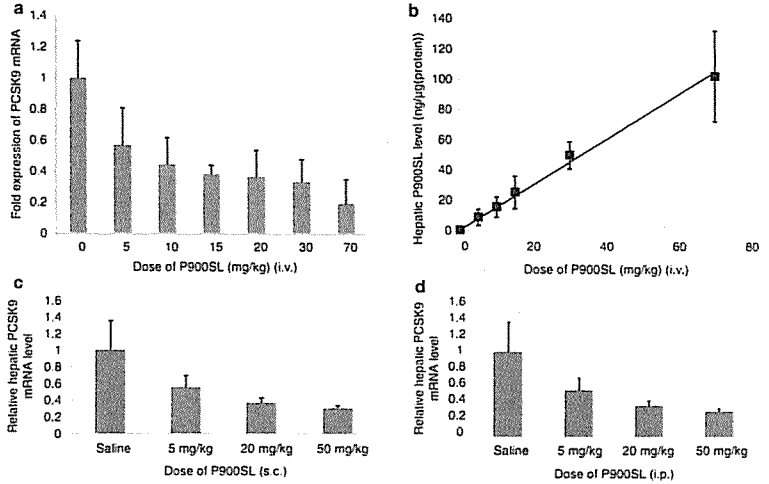


Figure 3 Single administration of P900SL to normal-chow fed C57BL/6J mice. (**a,b**) Hepatic PCSK9 messenger RNA (mRNA) level and P900SL content 72 hours after a single intravenous (i.v.) administration were expressed as a function of dose level. (**c,d**) Liver PCSK9 mRNA expression level was measured and presented for each dose 72 hours after subcutaneous (s.c.) and intraperitoneal (i.p.) injection, respectively. Data represent mean values ± SD. $n = 4–7$.

rate-limiting enzyme in bile acid synthesis; bile acids are versatile signaling molecules that play critical roles in maintaining the homeostasis of cholesterol, lipid, glucose, and energy.[38,39] CYP7A1 deficiency in humans is associated with dyslipidemia, the formation of gallstones, and atherosclerosis.[40] A previous report showed that C57BL/6J mice overexpressing CYP7A1 are less susceptible to atherogenic diet-induced elevations of very low-density lipoprotein, intermediate-density lipoprotein, and LDL-C and to reductions of HDL-C and triglyceride and less susceptible to the formation of gallstones and atherosclerosis than their nontransgenic littermates.[41,42] Similarly, under atherogenic conditions, we observed a reduction in the serum LDL-C level and induction of HDL-C in P900SL-treated mice; these effects may be partly due to the induction of CYP7A1 to maintain intrahepatic cholesterol homeostasis. Collectively, we observed the strong induction of CYP7A1 mRNA associated with the strong suppression of PCSK9. Further investigation of underlying mechanisms of PCSK9 inhibition in atherogenic diet-fed mice are necessary to extrapolate the cholesterol-lowering efficacy of PCSK9 inhibitors in humans.

In conclusion, we found that the strong inhibition of PCSK9 by BNA-based AONs can greatly reduce serum LDL-C levels in atherogenic diet-fed mice *via* a novel mechanism of CYP7A1 upregulation. These results indicate that PCSK9 is an excellent drug target for the treatment of hypercholesterolemia. Although a structure of AON has not been fully optimized yet here, the 2′,4′-BNA^{NC}–based AON shows higher potency than its 2′,4′-BNA counterpart and like 2′,4′-BNA shows no toxicity under the conditions tested. Meanwhile, a recent report from Gupta *et al.* demonstrated the superiority of a shorter AON with a smaller number of 2′,4′-BNA modifications over a conventional 20-mer 2′,4′-BNA-gapmer in an antisense potency. They have used a 13-mer AON with five 2′,4′-BNAs and eight gaps that efficiently inhibit the expression of PCSK9 mRNA and protein. We suppose that 2′,4′-BNA^{NC}–based AON also has its own unique optimal structure and a further optimization of sequence, length, and composition of 2′,4′-BNA^{NC}–based AONs would provide a more reliable 2′,4′-BNA^{NC}–based PCSK9 inhibitor.

Materials And Methods

AONs. Two types of modified nucleic acids, 2′,4′-BNA and 2′,4′-BNA^{NC}, were partially incorporated into 20-mer phosphorothioated oligodeoxyribonucleotides with various sequences. CR01S and CR01SL were 20-mer phosphorothioate DNA and 2′,4′-BNA–modified AON, respectively, designed not to target any gene in mice. P900S and P900SL were designed to target murine PCSK9 mRNA, and their sequences have been reported previously. P901S, P901SL, and P901SNC target an identical consensus sequence on mice and human PCSK9 mRNA but have different chemistries. The exact sequences of molecules used in this study are presented in **Table 1**. A large-scale synthesis of 2′,4′-BNA^{NC} units was conducted by BNA (Osaka, Japan). All 2′,4′-BNA^{NC} monomer units were obtained from BNA. All modified oligonucleotides were provided by Gene Design (http://www.genedesign.co.jp/). The syntheses were conducted by standard phosphoramidite procedures, and products were carefully processed under aseptic conditions and purified. All

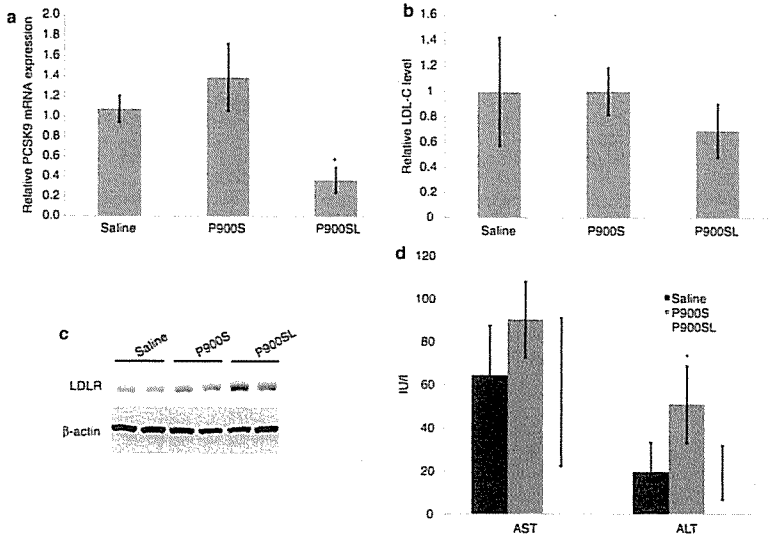


Figure 4 Short-term effects of P900S and P900SL. Atherogenic diet-fed mice received intraperitoneal administration of P900S or P900SL at a dose of 10 mg/kg twice during 4 days. **(a)** Liver PCSK9 mRNA levels 4 days after the first injection. **(b)** Relative serum LDL-C levels 4 days after the first injection. **(c)** Hepatic LDLR protein expression levels were estimated by western blotting. **(d)** Serum liver transaminases (AST, ALT) were analyzed. Data represent mean values (± SD). $^*P < 0.05$. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; LDLR, low-density lipoprotein receptor; mRNA, messenger RNA.

products were endotoxin-free and contained low levels of residual salts for *in vivo* usage.

In vitro transfection procedures. For AON transfection experiments, NMuLi cells or HepG2 cells were seeded at 5.0×10^5 cells per well in 6-well plates. AONs were transfected by using Lipofectamine 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA) according to the manufacturer's procedures. After a 4-hour transfection, cells were continuously incubated for an additional 20 hours at 37 °C. After incubation, cells were collected and subjected to subsequent analyses.

In vivo pharmacological experiments. All animal procedures were performed in accordance with the guidelines of the Animal Care Ethics Committee of the National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute (Osaka, Japan). All animal studies were approved by an institutional review board. C57BL/6J mice were obtained from CLEA Japan (Tokyo, Japan). All mice were male, and studies were initiated when animals were 6–8 weeks of age. Mice were maintained on a 12-hour light/dark cycle and fed *ad libitum*. Mice were fed a normal chow (CE-2; CLEA Japan) or an artery-hardening food, F2HFD1 (Oriental Yeast, Tokyo, Japan) for 2 weeks before the first treatment and during treatment. Mice received single or multiple treatments of AONs administered i.v, i.p. or s.c. in the dose range of 1–70 mg/kg/injection. Peripheral blood was collected from a tail vein in BD Microtainers (BD, Franklin Lakes, NJ) for separation of serum. Lipid component analysis of serum was performed by Skylight Biotech (http://www.skylight-biotech.com/). At the time of sacrifice, mice were anesthetized with diethyl ether (Wako, Osaka, Japan). Livers were harvested and snap-frozen until subsequent analysis. Whole blood was collected and subjected to serum separation for subsequent analysis.

mRNA quantification. Total RNA was isolated from cultured cells or mouse liver tissues by using TRIzol Reagent (Invitrogen) according to the manufacturer's procedure. Gene expression was evaluated by a two-step quantitative reverse transcription-PCR method. Reverse-transcription of RNA samples was performed by using a High Capacity cDNA Reverse-Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA), and quantitative PCR was performed by a Fast SYBR Green System or TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems). The mRNA levels of target genes were normalized to the GAPDH mRNA level. The following primer sets were used for quantitative PCRs. For murine PCSK9; forward: 5′-TCAGTTCTGCACACCTCCAG-3′, reverse: 5′-GGGTAAGGTGCGGTAAGTCC-3′ and forward: 5′-GCTCAACTGTCAAGGGAAGG-3′, reverse: 5′-CGTTGAGGATGCGGCTATAC-3′. For human PCSK9; forward: 5′-AAGGGAAGGGCACGGTTAG-3′, reverse: 5′-GAGTAGAGGCAGGCATCGTC-3′. For murine GAPDH; forward: 5′-GTGTGAACGGATTTGGCCGT-3′, reverse: 5′-GACAAGCTTCCCATTCTCGG-3′ and for human GAPDH; forward: 5′-GAGTCAACGGATTTGGTCGT-3′, reverse: 5′-GACAAGCTTCCCGTTCTCAG-3′. For murine LDLR, SREBP2, SR-BI, LIPC, HMGCS2, CYP7A1, ABCA1, and ACAT1, TaqMan Gene Expression Assays were used; assay IDs: Mm00440169_m1,Mm01306297_g1,Mm00450236_m1,Mm01147313_m1, Mm00550050_m1, Mm00484152_m1, Mm01350760_m1, Mm00507463_m1, respectively.

Western blotting analysis. Cultured cells and frozen liver tissues were suspended in lysis buffer (150 mmol/l NaCl, 1.0% IGEPAL CA-630, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 50 mmol/l Tris, pH 8.0, 20 × Complete Mini protease inhibitor cocktail 1:20 (Roche, Indianapolis, IN)) and homogenized with TissueLyser II (Qiagen, Valencia, CA). Total protein concentrations were measured with a detergent compatible assay kit (Bio-Rad, Hercules, CA). Solutions were subjected

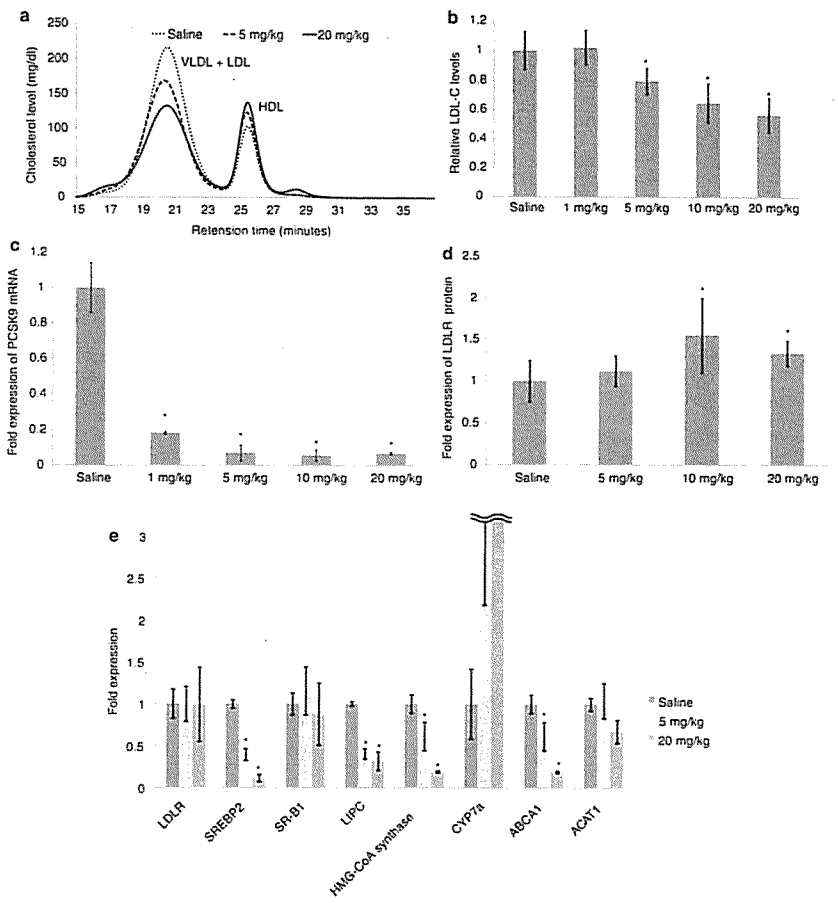


Figure 5 Dose-dependent responses of physiological parameters to P900SL dosing. **(a)** Changes in cholesterol fractions upon administration of P900SL analyzed by HPLC. **(b)** Ratio of serum LDL-C levels after 4 weeks of treatment to before treatment were arranged in order of doses. **(c)** Liver PCSK9 mRNA levels were measured at all dose levels after 6 weeks of treatment. **(d)** Hepatic LDLR protein levels were determined 6 weeks after treatment started. **(e)** The expression levels of genes regulating lipid homeostasis in liver were analyzed. Data represent mean values ± SD. $^*P < 0.05$. $n = 5$. HDL, high-density lipoprotein; HPLC, high performance liquid chromatography; LDL, low-density lipoprotein; LDL-C, LDL cholesterol; LDLR, LDL receptor; mRNA, messenger RNA; VLDL, very LDL.

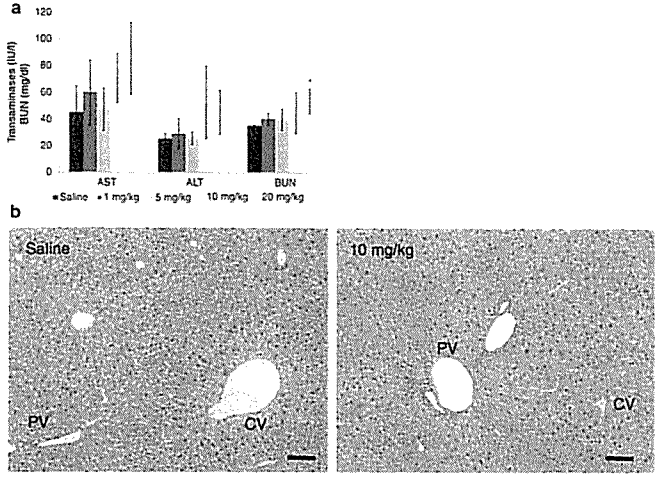


Figure 6 Changes in toxicological parameters upon P900SL dosing. (a) Serum liver transaminases (AST and ALT) and BUN levels were measured. Data represent mean values ± SD. $^{*}P < 0.05$. (b) Representative H&E stain images of liver of saline- and P900SL-treated mice. Bar indicates 100 µm. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; BUN, blood urea nitrogen; CV, central vein; H&E, hematoxylin and eosin; PV, portal vein.

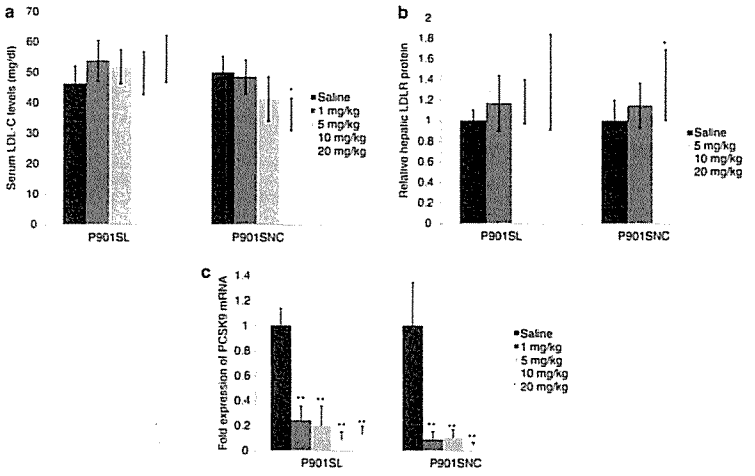


Figure 7 Dose-dependent and chemistry-dependent differences in serum LDL-C levels, hepatic LDLR protein, and PCSK9 mRNA levels after treatment of P901SL and P901SL. (a) Raw values of serum LDL-C were obtained at 4th week of schedule. (b) Hepatic LDLR protein expression levels were measured after the end of the schedule. (c) Liver PCSK9 mRNA levels were measured at all dose levels after 6 weeks of treatment. Data represent mean values ± SD. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.001$ (versus a saline-treated control arm). $n = 5$. LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; LDLR, low-density lipoprotein receptor; mRNA, messenger RNA.

to electrophoresis on 16 or 6% Tris-glycine gels (Invitrogen) and transferred to a polyvinylidene difluoride membrane (Bio-Rad). PCSK9 western blotting was performed at room temperature for 1 hour with a primary anti-rabbit PCSK9 antibody (1:200; Abcam, Cambridge, UK). Additional analyses were performed by using anti-LDLR antibody (R&D Systems, Minneapolis, MN) and anti-β actin antibody (Cell Signaling Technology, Danvers, MA). Membranes were washed three times with phosphate-buffered saline containing 0.3% Tween 20. Blots were labeled by using horseradish peroxidase-conjugated secondary antibodies, either goat anti-rabbit or donkey anti-goat antibodies (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). Chemiluminescent detection was performed by using an ECL plus Western blot detection kit (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK), and bands were visualized by using an LAS-4000mini image analyzer (Fuji Film, Tokyo, Japan). β-Actin expression levels were used as an internal standard.

The determination of P900SL content in liver

Materials and reagents. The template DNA was a 29-mer DNA (5′-gaatagcgaggataatgtgctatgagccc-3′), which is complementary to P900SL, with biotin at the 3′-end. The ligation probe DNA was a 9-mer DNA (5′-tcgctattc-3′) with phosphate at the 5′-end and digoxigenin at the 3′-end. The template DNA and the ligation probe DNA were purchased from Japan Bio Services (Saitama, Japan). Reacti-Bind NeutrAvidin-coated polystyrene strip plates were purchased from Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA) (nunc immobilizer streptavdin F96 white, 436015). The template DNA solution (100 nmol/l) was prepared in hybridization buffer containing 60 mmol/l Na_2HPO_4 (pH 7.4), 0.9 mol/l NaCl, and 0.24% Tween 20. The ligation probe DNA solution (200 nmol/l) was prepared in 1.5 units/well of T4 DNA ligase (TaKaRa, Shiga, Japan) with 66 mmol/l Tris-HCl (pH 7.6), 6.6 mmol/l $MgCl_2$, 10 mmol/l DTT, and 0.1 mmol/l ATP.

The washing buffer used throughout the assay contained 25 mmol/l Tris-HCl (pH 7.2), 0.15 mol/l NaCl, and 0.1% Tween 20. Anti-digoxigenin-AP antibody (Fab fragments conjugated with alkaline phosphatase) was obtained from Roche Diagnostics. A 1:2,000 dilution of the antibody with 1:10 super block buffer in TBS (Pierce, Rockford, IL) was used in the assay. The alkaline phosphatase luminous substrate was prepared in 250 µmol/l CDP-Star (Roche) with 100 mmol/l Tris-HCl (pH 7.6) and 100 mmol/l NaCl.

Sample preparation. Frozen liver tissue was collected in a 2-ml tube with 1 ml of phosphate-buffered saline and a zirconia ball (o 5 mm; Irie, Tokyo, Japan) and mechanically homogenized for 2 minutes at 30 oscillations per second by a TissueLyser II apparatus (Qiagen). Total protein concentrations were measured with a detergent compatible assay kit (Bio-Rad) and adjusted to 8 mg/l with phosphate-buffered saline. The assay was performed at the concentration range of 128 pmol/l–400 nmol/l in duplicate. For the standard curve, 10 standard solutions were prepared. To AON-untreated mice, liver homogenates were added to P900SL solutions to prepare 10 standard samples at a range of 128 pmol/l–400 nmol/l.

Assay procedures. The template DNA solution (100 µl) and standard solution (10 µl) or liver homogenates (10 µl) containing the P900SL were added to Reacti-Bind Neutr Avidin-coated polystyrene strip 96-well plates and incubated at 37 °C for 1 hour to allow the binding of biotin to streptavidin-coated wells and hybridization. After hybridization, the plate was washed three times with 200 µl of washing buffer. Then, ligation probe DNA solution (100 µl) was added, and the plate was incubated at room temperature (15 °C) for 3 hours. The plate was then washed three times with the washing buffer. Subsequently, 200 µl of a 1:2,000 dilution of anti-digoxigenin-AP was added, and the plate was incubated at 37 °C for 1 hour. After washing three times with the washing buffer, CDP-Star solution was added to the plate, and finally the luminescence intensity was determined by using a Centro XS³ luminometer (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Germany) one second after the addition of CDP-Star. The linear range of 128 pmol/l–400 nmol/l in this ELISA system was determined as $r > 0.99$.

Serum chemistry and hematoxylin and eosin staining. Serum from blood collected from the inferior vena cava upon sacrifice was subjected to serum chemistry. Assay kits (WAKO) were used to measure serum levels of aspartate aminotransferase, ALT, blood urea nitrogen, and creatinine, which are biomarkers for hepatic and kidney toxicities. Formalin-fixed liver samples (20% formalin; WAKO) were sliced by microtome (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), embedded in Histsec (Merck, Darmstadt, Germany) and stained with Carrazzi's hematoxylin and Tissue-Tek eosin solutions.

Statistical analysis. Pharmacological studies were performed with 5–7 mice per treatment group. A Student's *t*-test was performed for comparison of two arms. $P < 0.05$ or $P < 0.01$ was considered to be of statistical significance.

Supplementary Material

Figure S1. Comparison of intrahepatic cholesterol levels between control and 20 mg/kg/injection of P900SL-treated arms.
Figure S2. Relation between given dose and serum LDL-C levels of P901SL 6 weeks after treatment started.
Table S1. Serum raw cholesterol levels in atherogenic diet-fed mice after 4 weeks of P900SL treatment.
Table S2. Summary of histopathological findings.
Table S3. Toxicological parameters.
Materials and Methods.

Acknowledgments. We thank Eiko Shibata, Mai Inoue, Megumu Morimoto, and Manami Sone for their technical support, who are affiliated with National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute. A part of this work was supported by the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO) and a research grant from the Ministry of Health, Labor, and Welfare (H23-seisakutansaku-ippan-004). T.Y. thanks the Research Fellowship from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) for Young Scientists. T.I. is a CEO of BNA Inc., the company that produces 2′,4′-BNA^{NC} monomers. The other authors declared no conflict of interest.

1. Jones, P, Kafonek, S, Laurora, I and Hunninghake, D (1998). Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol* **81**: 582–587.

2. Goldstein, JL and Brown, MS (2009). The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **29**: 431–438.
3. Horton, JD, Goldstein, JL and Brown, MS (2002). SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* **109**: 1125–1131.
4. Horton, JD, Shah, NA, Warrington, JA, Anderson, NN, Park, SW, Brown, MS *et al.* (2003). Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**: 12027–12032.
5. Kong, WJ, Liu, J and Jiang, JD (2005). Human low-density lipoprotein receptor gene and its regulation. *J Mol Med* **84**: 29–36.
6. Issandou, M (2006). Pharmacological regulation of low density lipoprotein receptor expression: current status and future developments. *Pharmacol Ther* **111**: 424–433.
7. Zelcer, N and Tontonoz, P (2006). Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest* **116**: 607–614.
8. Garcia, CK, Wilund, K, Arca, M, Zuliani, G, Fellin, R, Maioli, M *et al.* (2001). Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* **292**: 1394–1398.
9. Harada-Shiba, M, Takagi, A, Miyamoto, Y, Tsushima, M, Ikeda, Y, Yokoyama, S *et al.* (2003). Clinical features and genetic analysis of autosomal recessive hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metab* **88**: 2541–2547.
10. Abifadel, M, Varret, M, Rabes, JP, Allard, D, Ouguerram, K, Devillers, M *et al.* (2003). Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* **34**: 154–156.
11. Zelcer, N, Hong, C, Boyadjian, R and Tontonoz, P (2009). LXR regulates cholesterol uptake through Idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science* **325**: 100–104.
12. Lambert, G, Charlton, F, Rye, KA and Piper, DE (2009). Molecular basis of PCSK9 function. *Atherosclerosis* **203**: 1–7.
13. Maxwell, KN, Soccio, RE, Duncan, EM, Sehayek, E and Breslow, JL (2003). Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J Lipid Res* **44**: 2109–2119.
14. Attie, AD and Seidah, NG (2005). Dual regulation of the LDL receptor–some clarity and new questions. *Cell Metab* **1**: 290–292.
15. Cameron, J, Ranheim, T, Kulseth, MA, Leren, TP and Berge, KE (2008). Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells. *Atherosclerosis* **201**: 266–273.
16. Kong, W, Wei, J, Abidi, P, Lin, M, Inaba, S, Li, C *et al.* (2004). Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med* **10**: 1344–1351.
17. Kong, WJ, Wei, J, Zuo, ZY, Wang, YM, Song, DD, You, XF *et al.* (2008). Combination of simvastatin with berberine improves the lipid-lowering efficacy. *Metab Clin Exp* **57**: 1029–1037.
18. Chan, JC, Piper, DE, Cao, Q, Liu, D, King, C, Wang, W *et al.* (2009). A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 9820–9825.
19. Frank-Kamenetsky, M, Grefhorst, A, Anderson, NN, Race, TS, Bramlage, B, Akinc, A *et al.* (2008). Therapeutic RNAi targeting PCSK9 acutely lowers plasma cholesterol in rodents and LDL cholesterol in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**: 11915–11920.
20. Gupta, N, Fisker, N, Asselin, MC, Lindholm, M, Rosenbohm, C, Orum, H *et al.* (2010). A locked nucleic acid antisense oligonucleotide (LNA) silences PCSK9 and enhances LDLR expression *in vitro* and in vivo. *PLoS ONE* **5**: e10682.
21. Swayze, EE, Siwkowski, AM, Wancewicz, EV, Migawa, MT, Wyrzykiewicz, TK, Hung, G *et al.* (2007). Antisense oligonucleotides containing locked nucleic acid improve potency but cause significant hepatotoxicity in animals. *Nucleic Acids Res* **35**: 687–700.
22. Yamamoto, T, Nakatani, M, Narukawa, K and Obika, S (2011). Antisense drug discovery and development. *Future Med Chem* **3**: 339–365.
23. Rahman, SM, Seki, S, Obika, S, Yoshikawa, H, Miyashita, K and Imanishi, T (2008). Design, synthesis, and properties of 2',4'-BNA(NC): a bridged nucleic acid analogue. *J Am Chem Soc* **130**: 4886–4896.
24. Obika, S, Rahman, SMA, Fujisaka, A, Kawada, Y, Baba, T and Imanishi, T (2010). Bridged nucleic acids: development, synthesis, and properties. *Heterocycles* **81**: 1347–1392.
25. Miyashita, K, Rahman, SMA, Seki, S, Obika, S and Imanishi, T (2007). N-Methyl substituted 2',4'-BNA(NC): a highly nuclease-resistant nucleic acid analogue with high-affinity RNA selective hybridization. *Chem Commun*: 3765–3767.
26. Prakash, TP, Siwkowski, A, Allerson, CR, Migawa, MT, Lee, S, Gaus, HJ *et al.* (2010). Antisense oligonucleotides containing conformationally constrained 2',4'-(N-methoxy) aminomethylene and 2',4'-aminooxymethylene and 2'-O,4'-C-aminomethylene bridged nucleoside analogues show improved potency in animal models. *J Med Chem* **53**: 1636–1650.
27. Graham, MJ, Lemonidis, KM, Whipple, CP, Subramaniam, A, Monia, BP, Crooke, ST *et al.* (2007). Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice. *J Lipid Res* **48**: 763–767.
28. Yu, RZ, Baker, B, Chappell, A, Geary, RS, Cheung, E and Levin, AA (2002). Development of an ultrasensitive noncompetitive hybridization-ligation enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of phosphorothioate oligodeoxynucleotide in plasma. *Anal Biochem* **304**: 19–25.
29. Straarup, EM, Fisker, N, Hedtjärn, M, Lindholm, MW, Rosenbohm, C, Aarup, V *et al.* (2010). Short locked nucleic acid antisense oligonucleotides potently reduce apolipoprotein B mRNA and serum cholesterol in mice and non-human primates. *Nucleic Acids Res* **38**: 7100–7111.
30. Agrawal, S, Temsamani, J and Tang, JY (1991). Pharmacokinetics, biodistribution, and stability of oligodeoxynucleotide phosphorothioates in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**: 7595–7599.
31. Phillips, JA, Craig, SJ, Bayley, D, Christian, RA, Geary, R and Nicklin, PL (1997). Pharmacokinetics, metabolism, and elimination of a 20-mer phosphorothioate oligodeoxynucleotide (CGP 69846A) after intravenous and subcutaneous administration. *Biochem Pharmacol* **54**: 657–668.
32. Lendvai, G, Velikyan, I, Bergström, M, Estrada, S, Laryea, D, Välilä, M *et al.* (2005). Biodistribution of 68Ga-labelled phosphodiester, phosphorothioate, and 2'-O-methyl phosphodiester oligonucleotides in normal rats. *Eur J Pharm Sci* **26**: 26–38.
33. Akdim, F, Visser, ME, Tribble, DL, Baker, BF, Stroes, ES, Yu, R *et al.* (2010). Effect of mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, on low-density lipoprotein cholesterol in patients with familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* **105**: 1413–1419.
34. Akdim, F, Stroes, ES, Sijbrands, EJ, Tribble, DL, Trip, MD, Jukema, JW *et al.* (2010). Efficacy and safety of mipomersen, an antisense inhibitor of apolipoprotein B, in hypercholesterolemic subjects receiving stable statin therapy. *J Am Coll Cardiol* **55**: 1611–1618.
35. Heemskerk, H, de Winter, C, van Kuik, P, Heuvelmans, N, Sabatelli, P, Rimessi, P *et al.* (2010). Preclinical PK and PD studies on 2'-O-methyl-phosphorothioate RNA antisense oligonucleotides in the mdx mouse model. *Mol Ther* **18**: 1210–1217.
36. Rudling, M (1992). Hepatic mRNA levels for the LDL receptor and HMG-CoA reductase show coordinate regulation in vivo. *J Lipid Res* **33**: 493–501.
37. Dueland, S, Drisko, J, Graf, L, Machleder, D, Lusis, AJ and Davis, RA (1993). Effect of dietary cholesterol and taurocholate on cholesterol 7 alpha-hydroxylase and hepatic LDL receptors in inbred mice. *J Lipid Res* **34**: 923–931.
38. Thomas, C, Pellicciari, R, Pruzanski, M, Auwerx, J and Schoonjans, K (2008). Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases. *Nat Rev Drug Discov* **7**: 678–693.
39. Chiang, JY (2009). Bile acids: regulation of synthesis. *J Lipid Res* **50**: 1955–1966.
40. Pullinger, CR, Eng, C, Salen, G, Shefer, S, Batta, AK, Erickson, SK *et al.* (2002). Human cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. *J Clin Invest* **110**: 109–117.
41. Machleder, D, Ivandic, B, Welch, C, Castellani, L, Reue, K and Lusis, AJ (1997). Complex genetic control of HDL levels in mice in response to an atherogenic diet. Coordinate regulation of HDL levels and bile acid metabolism. *J Clin Invest* **99**: 1406–1419.
42. Miyake, JH, Duong-Polk, XT, Taylor, JM, Du, EZ, Castellani, LW, Lusis, AJ *et al.* (2002). Transgenic expression of cholesterol-7-alpha-hydroxylase prevents atherosclerosis in C57BL/6J mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **22**: 121–126.

Molecular Therapy–Nucleic Acids **is an open-access journal published by *Nature Publishing Group*. This work is licensed under the Creative Commons Attribution-Noncommercial-No Derivative Works 3.0 Unported License.To view a copy of this license, visit http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/**

Supplementary Information accompanies this paper on the Molecular Therapy-Nucleic Acids website (http://www.nature.com/mtna)

原　著

わが国における Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage（ATACH）-II 試験の開始：デザインと国内研究体制の構築

佐藤祥一郎[1]　山本　晴子[2]　Adnan I. Qureshi[3]
Yuko Y. Palesch[4]　豊田　一則[1]*
ATACH-II 国内研究グループ

要旨：ATACH-II は，米国 NIH の助成による脳出血急性期の適切な降圧目標確立のための第 III 相国際共同試験で，国内からも約 400 例の登録（全体で 1,280 例）を目指す．対象は収縮期血圧が 180mmHg を超えるテント上脳出血患者である．積極降圧療法群（収縮期血圧 110～140mmHg）または標準降圧療法群（140～180mmHg）のいずれかに無作為に割り付け，ニカルジピン静注を発症から 4.5 時間以内に開始し，24 時間継続する．主要評価項目は 90 日後の modified Rankin scale スコア 4～6 の割合である．研究者主導国際共同試験を今後国内で継続的に遂行するための試金石と考えている．

（臨床神経 2012;52:642-650）
Key words：脳出血，臨床試験，高血圧，降圧療法，ニカルジピン

はじめに

わが国において，脳出血は脳卒中の 17%～30% を占め，その発症率は欧米諸国の数倍である[1][2]．脳出血による死亡および機能障害の発生率は高く，脳出血にともなう経済的負担も大きい．

急性期脳出血患者の 46～75% に血圧上昇をみとめる[3]．脳出血にともなう急性高血圧に対して，国内外の指針では降圧療法を推奨しているが，具体的な降圧目標値は明らかでない[4]～[6]．

脳出血発症後 24 時間以内に受診した患者の 1 割から 3 割に血腫拡大がおこる[7]～[10]．血腫拡大は転帰を悪化させる重要な原因であり，血圧上昇は血腫拡大に関連する[7][8][11]．したがって，血圧を低下させることにより血腫拡大を抑制し，その後の死亡および機能障害を減少させることができる可能性がある．実験的研究および小規模な非対照臨床試験から，脳出血急性期の血圧上昇に対する降圧療法は，忍容性があり実行可能であることが示されている[12]～[14]．

脳出血急性期における降圧の具体的目標値を明らかにするため，わが国も参加する国際共同試験 Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage（ATACH）-II（ClinicalTrials. gov number．NCT 01176565；UMIN 000006526）が開始され，その試験デザインも報告されている[15]．この試験は米国 National Institutes of Health（NIH）の助成により，ミネソタ大学の Adnan Qureshi が主任研究者を務める．わが国においては，これまで医師主導型大規模国際共同試験への参加は少なく，それを可能にする体制も未だ整っていない．今後，わが国からの国際共同試験への参加を促進するため，本稿では，わが国における試験デザインを紹介するとともに，国内での試験開始にいたる経緯と研究体制について述べる．

目　的

本研究の主目的は，発症後 4.5 時間以内で治療が開始された脳出血患者における 90 日後の死亡および重度機能障害の割合を積極降圧療法群［収縮期血圧（systolic blood pressure：SBP）140mmHg 以下］と標準降圧療法群（SBP 180 mmHg 以下）で比較検討することである．作業仮説は，「脳出血発症後 4.5 時間以内にニカルジピン静注を開始してその後 24 時間にわたって静注を継続する積極降圧療法をおこなえば，標準降圧療法と比較して，90 日後に死亡および機能障害にいたる割合が絶対値で 10% 以上，あるいは相対値で 17% 以上低下する」である．

副次目的は，① EuroQOL[16]で評価される 90 日後の被験者の生活の質，② 24 時間以内の血腫拡大（CT での 33% 以上の体積増加），③ 72 時間以内に治療との因果関係を否定できない重篤な有害事象が発現した被験者の割合を，上述の 2 群で比較検討することである．

対象と方法

本試験は，第 III 相，多施設共同，無作為化，同時対照比較，並行群間試験である．登録基準を満たし，除外基準に該当せず，本人または代諾者から文書で試験参加への同意がえられた脳出血患者を最大 1,280 例無作為化する．わが国からは，Table 1 に示した 17 施設が参加し，400 例の登録を目指す．米国，日本以外にも，台湾，中国，韓国，ドイツが参加予定である．試験に関するすべてのデータは，サウスカロライナ医科大学の生物統計部門が開発した web ベースの臨床試験データ管理システムである WebDCU™（https://dcu.musc.edu/atach2/）をもちいて管理する．試験参加にあたっては，各施設での倫理審査・承認が必須である．日本国内をふくめたすべての研究資金を NIH が提供しており，製薬企業など他機関からの資金提供は受けない．

選択基準と除外基準を Table 2 に，試験のフローチャートを Fig. 1 に示す[15]．主な選択基準は，①年齢 18 歳以上，②発症から 4.5 時間以内に無作為化を終了し，ニカルジピン投与を開始できる，③ Glasgow coma scale（GCS）の合計点が 5 点以上，④ CT における血腫量［(長径×短径×スライス厚)/2］が 60cc 未満，⑤治療前の SBP が 180mmHg を超えることである．主な除外基準は，①脳腫瘍，脳動静脈奇形または動脈瘤による脳出血，②外傷による脳出血，③テント下の脳出血，④脳実質内出血をともなう脳室内出血で，血液が一側側脳室に充満しているか，または両側側脳室の半分以上を満たしている，⑤緊急の脳外科手術の対象となる患者である．なお，本研究デザインは，文献 15 で紹介された ATACH-II 研究デザイン（Version 2.3）とは，選択・除外基準などにことなる点をふくんでいる．これは，試験開始後に研究計画書の改訂がおこなわれたためである．本報告は，2012 年 3 月 23 日に公開された最新の研究計画書（Version 5.0）に基づいている．この研究計画書は，研究者が ID とパスワードを取得し，WebDCU™ へログインすることで確認できる．

試験スケジュールと評価項目を Table 3 に示す[15]．治療の割付けは，WebDCU™ 上の ATACH-II 試験ウェブサイト

Table 1　List of Japanese institutions participating in the ATACH-II trial.

Institution	Department	Location	Responsible Investigator
Clinical sites			
National Cerebral and Cardiovascular Center (NCVC)	Cerebrovascular Medicine	Suita, Osaka	Kazunori Toyoda (Clinical PI)
	Neurology		Kazuyuki Nagatsuka
Nakamura Memorial Hospital	Neurosurgery and Stroke Center	Sapporo, Hokkaido	Jyoji Nakagawara
Kohnan Hospital	Stroke Neurology	Sendai, Miyagi	Eisuke Furui
Kyorin University Hospital	Neurosurgery and Stroke Center	Mitaka, Tokyo	Yoshiaki Shiokawa
St. Marianna University Hospital	Neurology	Kawasaki, Kanagawa	Yasuhiro Hasegawa
National Hospital Organization (NHO) Nagoya Medical Center	Neurology	Nagoya, Aichi	Satoshi Okuda
Kobe City Medical Center General Hospital	Stroke Center	Kobe, Hyogo	Nobuyuki Sakai
Kawasaki Medical School Hospital	Stroke Medicine	Kurashiki, Okayama	Kazumi Kimura
NHO Kyushu Medical Center	Cerebrovascular Medicine	Fukuoka, Fukuoka	Yasushi Okada
Gifu University Hospital	Neurosurgery	Gifu, Gifu	Shin-ichi Yoshimura
Tokyo Saiseikai Central Hospital	Neurology	Minato-ku, Tokyo	Haruhiko Hoshino
Toranomon Hospital	Neurology	Minato-ku, Tokyo	Yoshikazu Uesaka
NHO Kagoshima Medical Center	Neurology	Kagoshima, Kagoshima	Takahiro Nakashima
Keio University Hospital	Neurology	Shinjuku-ku, Tokyo	Yoshiaki Itoh
St. Marianna University Toyoko Hospital	Strokology	Kawasaki, Kanagawa	Toshihiro Ueda
Saiseikai Kumamoto Hospital	Neurosurgery	Kumamoto, Kumamoto	Tohru Nishi
Saiseikai Yokohamashi Tobu Hospital	Strokology and Neurology	Yokohama, Kanagawa	Jun Gotoh
Data Coordination Unit (DCU)			
NCVC	Advanced Medical Technology Development, Research and Development Initiative Center	Suita, Osaka	Haruko Yamamoto (DCU PI)
Management of Contract			
Japan Cardiovascular Research Foundation		Suita, Osaka	Takenori Yamaguchi
Supervisory Adviser			
NCVC		Suita, Osaka	Kazuo Minematsu

ATACH-II, Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage-II

*Corresponding author: 国立循環器病研究センター脳血管内科［〒565-8565　大阪府吹田市藤白台 5—7—1］
[1]国立循環器病研究センター脳血管内科
[2]同　先進医療・治験推進部
[3]ミネソタ大学神経内科
[4]サウスカロライナ医科大学生物統計部門
（受付日：2012 年 3 月 3 日）

資料 3

Table 2　The inclusion and exclusion criteria of the ATACH-II trial*.

Inclusion criteria
1. Age 18 years or older.
2. Intravenous nicardipine can be initiated within 4.5 hours of symptom onset.
3. Patient can be randomized within 4.5 hours of symptom onset.
4. Clinical signs consistent with the diagnosis of stroke, including impairment of language, motor function, cognition, and/or gaze, vision, or neglect.
5. Total GCS score (aggregate of verbal, eye, & motor response scores) of 5 or greater at emergency department arrival.
6. INR value<1.5
7. CT scan demonstrates intraparenchymal hematoma with manual hematoma volume measurement <60 cc.
8. For subjects randomized prior to intravenous antihypertensive administration: SBP greater than 180 mmHg † prior to intravenous antihypertensive treatment (this includes pre-hospital treatment) AND WITHOUT spontaneous SBP reduction to below 180 mmHg at the time of randomization.
   OR
   For subjects randomized after intravenous antihypertensive administration: SBP greater than 180 mmHg prior to intravenous antihypertensive treatment (this includes pre-hospital treatment) AND WITHOUT SBP reduction to below 140 mmHg at the time of randomization.
9. Informed consent obtained by subject, legally authorized representative, or next of kin.

Exclusion criteria
1. ICH is due to previously known neoplasms, arteriovenous malformation, or aneurysms.
2. Intracerebral hematoma considered to be related to trauma.
3. ICH located in infratentorial regions such as pons or cerebellum.
4. Intraventricular hemorrhage associated with intraparenchymal hemorrhage and blood completely fills one lateral ventricle or more than half of both ventricles.
5. Patient to receive immediate surgical evacuation.
6. Current pregnancy, parturition within previous 30 days or active lactation.
7. Use of dabigatran within the last 48 hours.
8. A platelet count less than 50,000/mm^3.
9. Known sensitivity to nicardipine.
10. Pre-morbid disability requiring assistance in ambulation or activities of daily living.
11. Subject's living will precludes aggressive intensive care unit management.
12. Subject is currently participating in another interventional clinical trial.

*Based on clinical study protocol of the ATACH-II Trial, Version 5.0 (March 23, 2012)
† Patients with SBP<180 mmHg should be monitored for 4.5 hours from symptom onset as their SBP may rise to eligible levels before the eligibility window closes.
ATACH-II, Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage-II; ICH, intracerebral hemorrhage; NIHSS, National Institutes of Health stroke scale; INR, international normalized ratio; GCS, Glasgow coma scale; SBP, systolic blood pressure

(Fig. 2) から中央無作為化方式でおこなう．積極降圧療法群（SBP 140mmHg 以下）と標準降圧療法群（SBP 180mmHg 以下）とに1：1の割合で割付ける．携帯端末（iOS®，Android™ や BlackBerry®）向けの ATACH-II アプリケーションを無償で利用でき，これらをもちいて試験計画の確認や割付けをおこなうことも可能である（Fig. 2）．

無作為化後はすみやかに（発症から 4.5 時間以内に）ニカルジピン静脈内投与を開始し，24 時間にわたって継続する．ニカルジピン静脈内投与は 5mg/h の速度から開始する．SBP が目標の範囲内（積極降圧療法群で 110〜140mmHg，標準降圧療法群で 140〜180mmHg）に達するまで，15 分ごとに 2.5 mg/h ずつの増量（ニカルジピン最大量 15mg/h）をくりかえす．目標の範囲内に達した後は，注入速度を 1〜2.5mg/h ずつ調節して SBP を目標の範囲内に維持する．積極降圧療法群で SBP が 110mmHg 未満に低下したばあいには，ニカルジピンを中止し，15 分後にも 110mmHg 未満であるばあいには適宜輸液をおこない昇圧する．標準降圧療法群で 140mmHg 未満に SBP が低下したばあいは，持続静注しているニカルジピンを 15 分ごとに 2.5mg/h ずつ減量し，最後にはニカルジピンを中止する．ニカルジピンを中止したばあい，標準降圧療法群で 180mmHg，積極降圧療法群で 140mmHg を超えないかぎり，投与を再開しない．なお，ニカルジピンが無作為化前に投与開始されている症例も登録できる．そのばあいは，来院時の SBP が 180mmHg を超えており，無作為化の時点で SBP 140 mmHg 未満に下がっていないことが必要である．

血圧をふくめた 24 時間以降の管理は主治医の判断に委ねる．Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure の第 7 次報告[17]の推奨と一致させる形で，中間範囲（約 160/110 mmHg）に維持する．経口降圧剤は 24 時間以降であれば開始してもよい．

30 日後（±7 日）には電話で，90 日後（±14 日）に診察による追跡調査をおこなう．90 日後の追跡調査の主な内容は，血圧の測定，modified Rankin scale (mRS) による機能障害の評価，Euro QOL による QOL の評価である．追跡検査はすべて，NIH stroke scale (NIHSS) および mRS スコアの評価に関する認定を受け，被験者に割り当てられた治療について知らされていない評価者がおこなう．

重篤な有害事象，死亡および臨床的に重大な臨床検査値異常をふくめ，登録から第 7 病日または退院（いずれか早い時点）までに発現したすべての有害事象は，WebDCU™ 上の報告書に記録する．第 7 病日または退院の後に情報を収集し追跡するのは重篤な有害事象のみとする．試験中に被験者が死亡したばあいには，できるかぎり死亡の原因を明らかにする．解析の対象とする安全性の評価項目は，すべての死亡，無作為化後 72 時間の因果関係を否定できない重篤な有害事象の発現率とする．無作為化後 24 時間以内に診断された神経学的悪化は，重篤な有害事象となる．神経学的悪化は，ベースラインと比較して GCS スコアの 2 点以上の低下，または NIHSS スコアの 4 点以上の上昇が，少なくとも 8 時間以上持続することと定義する．

対照群で転帰不良にいたる割合を 60%，第一種過誤率を 0.05，第二種過誤率を 0.10 と仮定し，明らかな有効性と同時に無益性に関する中間解析を 2 回実施するばあい，10% の効果量（転帰不良にいたる被験者の割合の絶対的な治療群間差）をえるために必要な総症例数は，1,042 例である．主要解析には Intention-To-Treat の原則を適用するため，2 治療群での約 10% の減少/脱落率および欠測データの発生に対する対策と

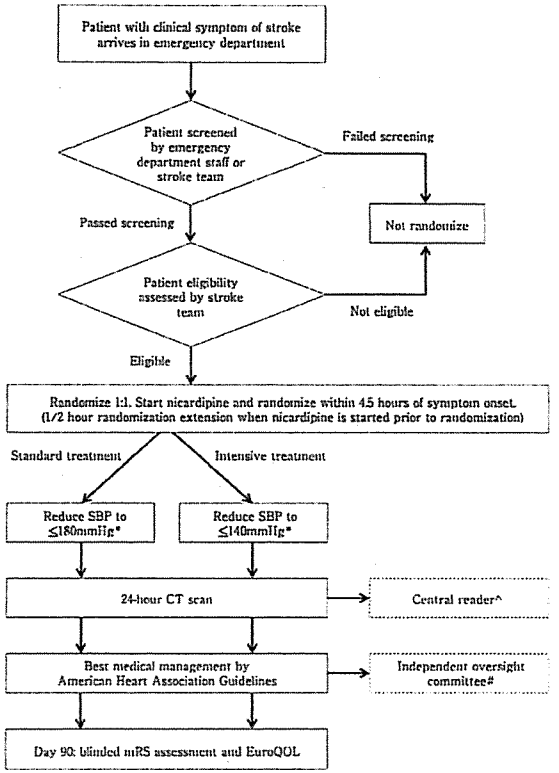


Fig. 1　The ATACH-II trial flow chart.
*Using nicardipine
^Both baseline and 24-hour CT scans must be submitted to the central reader at University of Minnesota
#Intensity of care (including adverse events) during hospitalization and all serious adverse events reviewed by the Independent oversight committee
ATACH-II, antihypertensive treatment of acute cerebral hemorrhage-II

Table 3　Summary of required evaluation according time points of ascertainment*.

	Baseline	24h	48h	72h	Day 7 or discharge (whichever first)	Day 30 (phone)	Day 90
Screening/eligibility	X						
Consent and randomization	X						
Demographics/baseline information	X						
Medical history	X						
Electrocardiography	X						
Prior medications	X						
Blood pressure	X	X	X	X	X		X
GCS score	X	X					
NIHSS score	X	X					
Laboratory tests	X	X	X	X			
CT	X	X					
Nicardipine administration	X	X					
Hospital discharge summary					X		
Concomitant medications		X	X		X		
Concomitant procedures		X	X		X		
Assess for recurrent stroke					X	X	X
Adverse events		X	X	X	X		
Serious adverse events		X	X	X	X	X	X
mRS						X	X
Blindedness questionnaires						X	X
EuroQOL							X
End of study							X

*Based on clinical study protocol of the ATACH-II Trial, Version 5.0 (March 23, 2012)
GCS, Glasgow coma scale; NIHSS, National Institutes of Health stroke scale; mRS, modified Rankin scale

して，係数1.23[1/(1－R)²から算出される係数で，Rは脱落率]を乗じることで症例数を増やす．したがって，本試験の最大症例数は1,280例とする．本試験の主要解析は，Intention-To-Treatの原則にしたがい，適格な脳出血患者を対象として，脳卒中の重症度（GCS＝5～8，9～12および13～15に三分），年齢，ベースラインのGCSスコア，血腫量（30cc以下と30cc超に二分），脳室内出血（有無）の影響を調整しながら，標準的降圧療法に対する積極的降圧療法の優越性の仮説を検証することである．有効性の主要評価項目の解析は，オッズ比を求めるロジット関数でなく，相対リスクを求める対数関数を使用する一般化線形モデルである．このモデルを両側有意水準0.05で検定する．さらに，相対リスクとその95％信頼区間を算出する．

日本人登録患者のみをもちいたサブ解析については，現在米国側と検討，交渉中である．患者の背景要因や主要評価項目，ニカルジピン治療への血圧反応性，有害事象などを日本人患者群と米国人患者群とで比較することを，企画している．

考　察

高血圧は脳出血のもっとも重要な原因であり，発症時の血圧高値は血腫拡大，症候増悪，転帰不良，死亡の重要な決定因子である[10)～21)]．したがって，米国心臓協会・米国脳卒中協会のガイドラインでは，SBP 180mmHgもしくは平均血圧130mmHgを超えるばあいに降圧を考慮することが推奨されているが（Class IIb，Level of Evidence C），どの程度まで降圧すべきかの具体的目標値は確立されておらず[5]，国内の脳卒中治療ガイドライン2009でも同様の記載に留まっている[4]．海外でのIntensive Blood Pressure Reduction in Acute Cerebral Haemorrhage Trial（INTERACT）パイロット試験では，SBP 140mmHgを目標とした積極的な降圧療法が，血腫拡大を抑制することが報告され[22]，この試験結果に基づいて米国心臓協会・米国脳卒中協会のガイドラインも，「SBP 140mmHgへの急性期降圧はおそらく安全であろう」との記載を加えた（Class IIb，Level of Evidence B）[5]．また本試験の前段階として米国でおこなわれた多施設共同非盲検パイロット試験であるATACH試験では，ニカルジピン静注によりSBPの目標値を200～170，170～140，140～110mmHgの3群に設定し，積極的な降圧の実行可能性と安全性が示された[11)23)]．脳出血急性期では，24時間後までに血腫が1mLずつ拡大する毎に，転帰不良の割合は絶対値で3.2～7％ずつ増加すると報告されている[24)25)]．したがって，絶対値で10％以上のリスク減少をえるためには，3mLを超える血腫拡大の抑制が必要である．INTERACTでは，積極降圧療法群と標準降圧療法群の間の血腫量の差は1.7mLであり，両群の臨床転帰に差はなかった[22]．しかし，対象患者のうち，発症から4時間以内の症例に限定したばあいには，2群の血腫量の差は3.4mLとなった．これが，ATACH-IIにおける作業仮説を裏付ける主な理論的根拠である．

わが国の脳卒中診療施設を対象として，2008年におこなわれた全国アンケート調査では，82％の施設がSBP 140～160mmHgないしそれ以下を降圧目標値に定め，降圧薬としてニカルジピン静注が第一選択の57％，第二選択までふくめると84％を占めた[26]．アンケートで多数意見として示された急性期脳出血への降圧目標や降圧薬の妥当性を証明することを目的に，厚生労働科学研究費補助金による「わが国における脳卒中再発予防のための急性期内科治療戦略の確立に関する研究」（Stroke Acute Management with Urgent Risk-factor Assessment and Improvement［SAMURAI］研究）班で多施設共同前向き観察研究（「急性期脳出血症例に対する降圧療法の安全性と有効性に関する多施設共同研究：SAMURAI-ICH研究」）をおこなった．降圧目標をSBP 120～160mmHgに設定したニカルジピンの24時間持続静注によって，主要評価項目である「治療開始から72時間後の症状進行」や「24時間以内のニカルジピン投与中断を要する副作用」の出現が既報から推測した予測値よりかなり少ないことが明らかになった（Koga M，et al：submitted）．

アンケートで多数意見として示された降圧目標や降圧薬の日本人への妥当性は，既報でも確認できる[27)28)]．わが国のニカルジピンの添付文書では，「頭蓋内出血で止血が完成していないと推定される患者」や「脳卒中急性期で頭蓋内圧が亢進している患者」への使用は禁忌であった．日本脳卒中学会，日本脳神経外科学会，日本高血圧学会が厚生労働省へ本項目の見直しを要望し，2011年6月に本項目は慎重投与項目へ変更になった．なお，脳出血急性期の患者および脳卒中急性期で頭蓋内圧が亢進している患者に投与するばあいには，緊急対応が可能な医療施設において，最新の関連ガイドラインを参照しつつ，血圧などの患者の状態を十分にモニタリングしながら投与するように追記された．

前述したINTERACTやATACHは，急性期脳出血患者への積極的降圧の有効性と安全性を確認するため，多数例を登録するINTERACT 2とATACH-IIが開始された[29)30)]．これらのうちATACH-IIを主宰するQureshi，Palesch より，日本側の主任研究者（登田）に対し，わが国からの複数施設の参加を求められた．すでにSAMURAI研究班などで急性期脳出血の至適降圧法を探求しており，国内脳出血患者への適切な治療法を確立するために必要と判断し，国内17施設がATACH-IIへ参加することとなった．参加にあたって，試験実施施設とデータ管理部門，財務契約業務の独立性を保つために，国立循環器病研究センター脳血管内科（登田），同先進医療・治験推進部（山本），循環器病研究振興財団（山口）が各々を統括する三頭体制を敷いた．わが国では，研究支援組織基盤の整備が不十分のため，公的資金による研究者主導型国際臨床試験への国内多施設参加は困難をともなうことが多い[30]．大規模臨床試験結果をわが国の患者へ還元し，国内の医療全体を健全に発展させるためには，本試験をふくめ，今後研究者主導型国際臨床試験への積極的な国内施設の参加をうながす必要がある．著者らは，循環器病研究開発費事業「脳血管領域における国際共同臨床試験の企画・運営のための基盤整備」研究や厚生労働科学研究費補助金「革新的医療機器・医療技術創生にかかる国際的臨床研究支援のための基盤整備」研究に基づいて，本試験参加を可能にする研究体制の基盤整備に努めた．ATACH-II試験は，わが国の国民病である脳出血の急性期治療法確立に向けての試験に加えて，研究者主導国

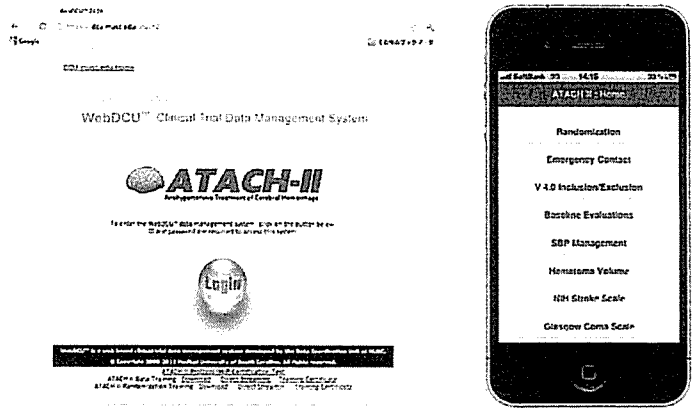


Fig. 2　Top page of webDCU™ for the ATACH-II trial (Left). Main menu screen of the ATACH-II mobile application (Right).
ATACH-II, antihypertensive treatment of acute cerebral hemorrhage-II

際共同試験を今後国内で継続的に遂行するための試金石と位置づけられる．2012年3月1日に，国内での1例目が登録された．

ATACH-II国内研究グループ：中村記念病院脳神経外科（中川原譲二），広南病院脳血管内科（古井英介），杏林大学脳神経外科（塩川芳昭），聖マリアンナ医科大学神経内科（長谷川泰弘），国立病院機構名古屋医療センター神経内科（奥田聡），神戸市立医療センター中央市民病院脳神経外科（坂井信幸），川崎医科大学脳卒中医学（木村和美），国立病院機構九州医療センター脳血管内科（岡田靖），岐阜大学脳神経外科（吉村紳一），東京都済生会中央病院神経内科（星野晴彦），虎の門病院神経内科（上坂義和），国立病院機構鹿児島医療センター神経内科（中島隆宏），慶應義塾大学神経内科（伊藤義彰），聖マリアンナ医科大学東横病院脳卒中科（植田敏浩），済生会熊本病院脳神経外科（西徹），済生会横浜市東部病院脳血管・神経内科（後藤淳），国立循環器病研究センター脳卒中集中治療科（古賀政利，右廣昇司），同脳神経内科（長束一行），同脳血管内科（豊田一則，佐藤祥一郎，峰松一夫），同先進医療・治験推進部（山本晴子），循環器病研究振興財団（山口武典），以上敬称略，順不同．

※本論文に関連し，開示すべきCOI状態にある企業，組織，団体はいずれも有りません．

文　献

1) 鈴木一夫，坂本哲也．インターベンション時代の脳卒中学（改訂第2版）超急性期から再発予防まで　脳血管障害各論　脳内出血　脳内出血（高血圧性脳出血）総論　脳内出血の臨床疫学的研究．日本臨床 2006;64:315-319.
2) 小林祥泰，編著．脳卒中データバンク 2009．東京：中山書店；2009.
3) Qureshi AI, Ezzeddine MA, Nasar A, et al. Prevalence of elevated blood pressure in 563,704 adult patients with stroke presenting to the ED in the United States. Am J Emerg Med 2007;25:32-38.
4) 篠原幸人，小川　彰，鈴木則宏ら，編．脳卒中治療ガイドライン 2009．東京：協和企画；2009.
5) Morgenstern LB, Hemphill JC 3rd, Anderson C, et al. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke 2010;41:2108-2129.
6) Steiner T, Kaste M, Forsting M, et al. Recommendations for the management of intracranial haemorrhage-part I: spontaneous intracerebral haemorrhage. The European Stroke Initiative Writing Committee and the Writing Committee for the EUSI Executive Committee. Cerebrovasc Dis 2006;22:294-316.
7) Brott T, Broderick J, Kothari R, et al. Early hemorrhage growth in patients with intracerebral hemorrhage. Stroke 1997;28:1-5.
8) Kazui S, Naritomi H, Yamamoto H, et al. Enlargement of spontaneous intracerebral hemorrhage. Incidence and time course. Stroke 1996;27:1783-1787.
9) Toyoda K, Yasaka M, Nagata K, et al. Antithrombotic therapy influences location, enlargement, and mortality from intracerebral hemorrhage. The Bleeding with Antithrombotic Therapy (BAT) Retrospective Study. Cerebrovasc Dis 2009;27:151-159.
10) Toyoda K, Okada Y, Minematsu K, et al. Antiplatelet therapy contributes to acute deterioration of intracerebral hemorrhage. Neurology 2005;65:1000-1004.
11) Maruishi M, Shima T, Okada Y, et al. Involvement of fluctuating high blood pressure in the enlargement of spontaneous intracerebral hematoma. Neurol Med Chir (Tokyo) 2001;41:300-304;discussion 304-305.
12) Powers WJ, Zazulia AR, Videen TO, et al. Autoregulation of cerebral blood flow surrounding acute (6 to 22 hours) intracerebral hemorrhage. Neurology 2001;57:18-24.
13) Qureshi AI, Wilson DA, Hanley DF, et al. Pharmacologic reduction of mean arterial pressure does not adversely affect regional cerebral blood flow and intracranial pressure in experimental intracerebral hemorrhage. Crit Care Med 1999;27:965-971.
14) Qureshi AI. Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage (ATACH): rationale and design. Neurocrit Care 2007;6:56-66.
15) Qureshi AI, Palesch YY. Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage (ATACH) II: design, methods, and rationale. Neurocrit Care 2011;15:559-576.
16) EuroQol—a new facility for the measurement of health-related quality of life. The EuroQol Group. Health Policy 1990;16:199-208.
17) Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. JAMA 2003;289:2560-2572.
18) Qureshi AI, Tuhrim S, Broderick JP, et al. Spontaneous intracerebral hemorrhage. N Engl J Med 2001;344:1450-1460.
19) Carlberg B, Asplund K, Hagg E. The prognostic value of admission blood pressure in patients with acute stroke. Stroke 1993;24:1372-1375.
20) Willmot M, Leonardi-Bee J, Bath PM. High blood pressure in acute stroke and subsequent outcome: a systematic review. Hypertension 2004;43:18-24.
21) Terayama Y, Tanahashi N, Fukuuchi Y, et al. Prognostic value of admission blood pressure in patients with intracerebral hemorrhage. Keio Cooperative Stroke Study. Stroke 1997;28:1185-1188.
22) Anderson CS, Huang Y, Wang JG, et al. Intensive blood pressure reduction in acute cerebral haemorrhage trial (INTERACT): a randomised pilot trial. Lancet Neurol 2008;7:391-399.
23) Qureshi AI, Palesch YY, Martin R, et al. Effect of systolic blood pressure reduction on hematoma expansion, perihematomal edema, and 3-month outcome among patients with intracerebral hemorrhage: results from the antihypertensive treatment of acute cerebral hemorrhage study. Arch Neurol 2010;67:570-576.
24) Davis SM, Broderick J, Hennerici M, et al. Hematoma growth is a determinant of mortality and poor outcome after intracerebral hemorrhage. Neurology 2006;66:1175-1181.
25) Mayer SA, Brun NC, Begtrup K, et al. Recombinant activated factor VII for acute intracerebral hemorrhage. N Engl J Med 2005;352:777-785.
26) Koga M, Toyoda K, Naganuma M, et al. Nationwide survey of antihypertensive treatment for acute intracerebral hemorrhage in Japan. Hypertens Res 2009;32:759-764.
27) Ohwaki K, Yano E, Nagashima H, et al. Blood pressure management in acute intracerebral hemorrhage: relationship between elevated blood pressure and hematoma enlargement. Stroke 2004;35:1364-1367.
28) Itabashi R, Toyoda K, Yasaka M, et al. The impact of hyperacute blood pressure lowering on the early clinical outcome following intracerebral hemorrhage. J Hypertens 2008;26:2016-2021.
29) Delcourt C, Huang Y, Wang J, et al. The second (main) phase of an open, randomised, multicentre study to investigate the effectiveness of an intensive blood pressure reduction in acute cerebral haemorrhage trial (INTERACT 2). Int J Stroke 2010;5:110-116.
30) 山本晴子，峰松一夫．神経疾患における公的研究費による大規模多施設共同試験実施システム構築の必要性：米国のcooperative groupの仕組みより．臨床神経 2011;51:612-616.

Abstract

Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage (ATACH)-II at Japan site: Study design and advance construction of domestic research network

Shoichiro Sato, M.D.[1], Haruko Yamamoto, M.D.[2], Adnan I. Qureshi, M.D.[3], Yuko Y. Palesch, Ph.D.[4], Kazunori Toyoda, M.D.[1] and ATACH-II study group
[1]Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center
[2]Department of Advanced Medical Technology Development, Research and Development Initiative Center, National Cerebral and Cardiovascular Center
[3]Department of Neurology, University of Minnesota
[4]Department of Biostatistics, Medical University of South Carolina

The Antihypertensive Treatment for Acute Cerebral Hemorrhage (ATACH)-II Trial (ClinicalTrials.gov no. NCT01176565; (UMIN 000006526) is an international, multicenter, randomized, concurrently-controlled, parallel arm, Phase III trial to determine the therapeutic benefit of early intensive systolic blood pressure (SBP) lowering compared with standard SBP lowering for acute hypertension in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage (ICH). The Trial is funded by the National Institutes of Health in the United States and led by Dr. Adnan Qureshi at the University of Minnesota. Seventeen Japanese institutions will participate in this Trial. This article describes the latest version of the study design and our endeavors to develop the Japanese research network for stroke clinical research. The ATACH-II Trial plans to randomize a maximum of 1,280 (approximately 400 from Japan) subjects who have supratentorial ICH (hematoma volume <60 cc) with Glasgow Coma Scale ≥5 and SBP of > 180 mmHg. Subjects undergo a follow-up assessment for functional and quality of life assessment at 90 days post-randomization. The primary research hypothesis of the trial is that intensive SBP reduction (to ≤140 mmHg) using intravenous nicardipine infusion for 24 hours post-randomization reduces the proportion of death and disability at 90 days by ≥10% (absolute) compared to the standard SBP reduction (to 140-180 mmHg range) among subjects with ICH whose treatment is initiated within 4.5 hours of symptom onset. The ATACH-II Trial could be the seminal research project for stroke researchers in Japan to demonstrate themselves as effective contributing members of investigator-initiated international clinical trials.

ATACH-II Japanese Investigators: J Nakagawara, M.D. (Nakamura Memorial Hospital), E Furui, M.D. (Kohnan Hospital), Y Shiokawa, M.D. (Kyorin University School of Medicine), Y Hasegawa, M.D. (St. Marianna University School of Medicine), S Okuda, M.D. (National Hospital Organization Nagoya Medical Center), N Sakai, M.D. (Kobe City Medical Center General Hospital), K Kimura, M.D. (Kawasaki Medical School), Y Okada, M.D. (National Hospital Organization Kyushu Medical Center), S Yoshimura, M.D. (Gifu University School of Medicine), H Hoshino, M.D. (Tokyo Saiseikai Central Hospital), Y Uesaka, M.D. (Toranomon Hospital), T Nakashima, M.D. (National Hospital Organization Kagoshima Medical Center), Y Itoh, M.D. (Keio University School of Medicine), T Ueda, M.D. (St. Marianna University School of Medicine Toyoko Hospital), T Nishi, M.D. (Saiseikai Kumamoto Hospital), J Gotoh, M.D. (Saiseikai Yokohamashi Tobu Hospital), K Toyoda, M.D., H Yamamoto, M.D., K Minematsu, M.D., K Nagatsuka, M.D., M Koga, M.D., S Arihiro, M.D., S Sato, M.D. (National Cerebral and Cardiovascular Center), T Yamaguchi, M.D. (Japan Cardiovascular Research Foundation).

(Clin Neurol 2012;52:642-650)

Key words: intracerebral hemorrhage, clinical trial, hypertension, antihypertensive treatment, nicardipine

<原　著>

わが国における「脳卒中急性期インディケーター案」の検証：ウェブ登録研究報告

井上　泰輝[1)]　横田　千晶[1)]　上原　敏志[1)]　冨井　康宏[2)]　矢坂　正弘[3)]
平野　照之[4)]　長谷川泰弘[5)]　鈴木　明文[6)]　峰松　一夫[1)]

要旨：普遍的かつ正確な統合型脳卒中地域医療評価システムの構築を目的とし，科学的根拠に基づく「脳卒中急性期インディケーター案」が策定された．2010年7～9月の任意の2カ月間，発症3日以内に入院した脳卒中1686例を前向きに登録した．全協力施設を人口密度で2群，登録患者数，病床数，脳卒中従事医師数で3群に分け，施設毎の各インディケーター実施率を調査した．インディケーター実施率と人口密度，病床数，脳卒中従事医師数との関連は認めず，頭部CT/MRI，脳血管評価，抗血栓療法，脂質/血糖検査の施行率は90%以上の高い施行率であった．登録患者数の最多群において，理学療法評価の施行率が高値であり(p=0.026)，最少群において，抗血栓療法施行率が高値であった(p=0.0046)．今後，全国規模でインディケーター実施率を評価し，施設へフィードバックを行うシステムの構築が必要と考える．

Key words: evidence, stroke, clinical indicators, audit, diagnosis procedure combination
(脳卒中 34: 289–297, 2012)

はじめに

脳卒中医療では，救命救急・急性期治療から回復期リハビリテーション，さらには在宅介護にいたるまで，継ぎ目のない医療・介護(シームレスケア)が提供されることが望まれる．そのためには，行政の支援に加え，脳卒中医療の質を全体的かつ客観的に評価する体制を構築する必要がある．その手段として，脳卒中医療の全体像が反映されるようなインディケーターの開発が求められる．インディケーターは，科学的裏づけ(エビデンス)とclinical audit(臨床監査)によって，地域差を超越した普遍性とデータの信頼性担保とがなければならない．すでに，英国では12項目，デンマークでは8項目のインディケーターを選定し，国家規模で監査を行っている[1,2]．しかし，わが国には，これまで脳卒中治療成績を客観的かつ総合的に評価，監視するシステムは存在しなかった．

普遍的かつ正確な統合型脳卒中地域医療評価システムを構築することを目的として，厚生労働科学研究費補助金による「脳卒中地域医療におけるインディケーターの選定と監査システム開発に関する研究」班(主任研究者：峰松一夫)が結成された[3]．同研究班は，文献レビュー等による科学的根拠に基づいたわが国の医療事情に即した「脳卒中急性期インディケーター案」を策定した(Table 1)[4,5]．今回われわれは，循環器病研究開発費22-4-1「新しい脳卒中医療の開拓と均てん化のためのシステム構築に関する研究」班(主任研究者：峰松一夫)を組織し，この「脳卒中急性期インディケーター案」の検証を行った．

[1)]国立循環器病研究センター脳血管内科
[2)]京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学
[3)]国立病院機構九州医療センター脳血管内科
[4)]熊本大学大学院神経内科学分野
[5)]聖マリアンナ医科大学神経内科
[6)]秋田県立脳血管研究センター脳卒中診療部・脳神経外科学研究部
(2012年2月1日受付．2012年3月7日受理)

Table 1　脳卒中急性期インディケーター案[4]

I. Process
1. 初診医が脳卒中診療担当医であった率
2. Stroke unit 治療率
3. 入院後 24 時間以内に頭部 CT もしくは MRI 施行を施行した率
4. 入院期間中に頸動脈エコー，MR angiography，もしくは CT angiography による脳血管（頸動脈）病変を評価した率
5. rt-PA 静注療法を施行した率
6. 来院から rt-PA 静注療法開始までが 1 時間以内であった率
7. 入院後 48 時間以内に抗血栓療法を施行した率
8. 退院時にワルファリンを使用した率
9. 入院後 24 時間以内に嚥下機能評価を施行した率
10. 入院後 3 日以内に理学療法の評価を施行した率
11. 入院後 7 日以内に多職種でカンファレンスを施行した率
12. 入院期間中に脂質（T-chol，LDL-chol，HDL-chol，TG）・血糖検査を施行した率
13. 入院中に深部静脈血栓症の予防を行った率
II. Outcome
1. 入院患者数（発症後 3 日以内入院例）
2. 入院期間
3. 入院時 National Institutes of Health Stroke Scale（NIHSS）
4. 退院時 modified Rankin Scale（mRS）
5. rt-PA 静注療法施行患者の退院時（または 30 日目）mRS

・初診医が脳卒中診療担当医であった率，頭部 CT/MRI 施行率，脂質・血糖検査施行率：分母は発症後 3 日以内に入院した脳梗塞，脳出血，くも膜下出血および TIA 患者
・脳血管（頸動脈）病変評価施行率，抗血栓療法施行率：分母は発症後 3 日以内に入院した脳梗塞，および TIA 患者
・rt-PA 静注療法施行率：分母は発症後 3 時間以内に来院した脳梗塞患者
・来院から rt-PA 静注療法開始までが 1 時間以内であった率：分母は rt-PA 静注療法を施行した脳梗塞患者
・退院時ワルファリン使用率：分母は発症後 3 日以内に入院した Af を有する脳梗塞，および TIA 患者
・Stroke unit 治療率，嚥下機能評価施行率，理学療法評価施行率，多職種によるカンファレンス施行率，深部静脈血栓症の予防施行率：分母は発症後 3 日以内に入院した脳梗塞，脳出血，くも膜下出血患者

対象と方法

本研究遂行にあたり，分担研究者の所属する 6 施設において，倫理委員会の承認を得た．対象は，分担研究者の所属する 6 施設と，選定された各地域の協力施設である．調査地域として分担研究者所属施設所在地の 6 府県（秋田県，神奈川県，京都府，大阪府，福岡県，熊本県）と研究協力者所属施設所在地の鹿児島県の計 7 府県を選定した．これら 7 府県の平成 21 年 10 月現在の推計人口は計 3003.7 万人，日本総人口の 23.6% に相当した．調査対象施設は，平成 19 年度第 5 次医療法改正により各都道府県が公表した脳卒中急性期診療を担う医療機関の中から，各医療機関の所在する二次医療圏の人口密度に基づき選定した．人口密度は，厚生労働統計資料の二次医療圏別人口から抽出し[6]，府県のホームページに記載されている二次医療圏の面積から算出した．対象施設選定にあたり，各対象府県の二次医療圏を人口密度の高い順に並べ，最上位と最下位の人口密度を有する二次医療圏内の施設に同時に研究協力を依頼した．各二次医療圏内から 5 施設の協力が得られた場合，その時点で施設選定を終了した．5 施設未満であった場合は，その次に上位（または下位）の人口密度を有する二次医療圏の施設に研究協力を依頼した．内諾の得られた各施設に対して研究資料提供契約を締結し，正式な協力施設とした．対象例は，2010 年 7 月より同年 9 月までの 3 カ月のうち，任意の 2 カ月間に発症 3 日以内に入院した急性期脳卒中患者（脳梗塞，脳出血，くも膜下出血，一過性脳虚血発作）である．当該施設で，対象例を連続的にウェブ登録した．人口密度は，当該施設における二次医療圏の人口密度数とした．病床数は，インターネット上に公表された総病床数とし，脳卒中従事医についても同様に，インターネット上に公表された各施設の脳神経外科，脳血管内科，神経内科のいずれかに所属する医師の総数とした．

インディケーター案の各項目の定義に関して，「脳卒中診療担当医」とは，脳卒中診療経験 3 年以上（初期研修は含まない）の神経内科，脳血管内科，脳神経外科医など，脳卒中診療を主たる業務としている医師とした．また，入院直後は救急医が対応し，脳卒中診療担当医と連絡をとって診療が始まる場合を勘案し，入院時刻から 3 時間以内に脳卒中診療担当医が診療を開始したとき，初診医が脳卒中診療担当医であったと定義した．「Stroke unit」とは，他職種からなる専属の脳卒中チームが配属され，他疾患と明確に区別された脳卒中専用の病棟（病床）とした．脳卒中ケアユニット入院医療管理料算定のための施設基準を概ね満たす場合には，管理料算定がなくとも，Stroke unit とした．「抗血栓療法」には，アスピリン，チクロピジン，クロピドグレル，シロスタゾール，ワルファリン，ヘパリン，アルガトロバン，オザグレルナトリウム投与が含まれる．「嚥下機能評価」とは，医師，言語聴覚士または看護師が，反復唾液嚥下や水飲みテストなどによって評価を行った記録がカルテに記載されていること，「理学療法の評価」は，理学療法士が保険点数を請求して行ったこととした．「多職種カンファレンス」に関しては，カルテにカンファレンスを実施した日付の記載があること，会議には最低限，医師，看護師と最低 1 人のリハビリスタッフまたは medical social worker（MSW）が参加し，参加者の名前と職種の記載があること，医師により患者の診断，治療方針，予後予測が述べられること，と定義した．「深部静脈血栓症の予防」は，弾性ストッキング，あるいは，間欠的空気圧迫装置を用いて計画的な医療管理を行い，肺血栓塞栓症予防管理量を算定した場合とした．

協力施設の二次医療圏の人口密度，登録患者数，病床数，脳卒中従事医師数，入院時 NIHSS スコア（National Institutes of Health Stroke Scale）の分布を調べた．人口密度は，高密度群（high 群）と低密度群（low 群）の 2 群に分けた．登録患者数，病床数，脳卒中従事医師数は 3 分位に分け，各々 small 群（S 群），medium 群（M 群），large 群（L 群）とした．脳梗塞，脳出血，くも膜下出血において，重症例を NIHSS スコア 25 点以上と定義した．各インディケーター案の実施率を施設毎に算出し，人口密度，登録患者数，病床数，脳卒中従事医師数，重症度との関連を調べた．3 群の同時比較には Kruskal-Wallis 検定を，2 群間の比較として Mann-Whitney の U 検定を用いた．$p<0.05$ を有意差ありとした．

結　果

秋田県 3 施設，神奈川県 6 施設，京都府 5 施設，大阪府 12 施設，福岡県 12 施設，熊本県 8 施設，鹿児島県 9 施設の計 55 施設（分担研究 6 施設を含む）の協力を得た．このうち有効回答の得られた 44 施設（80%，1686 例）を対象とした（Table 2）．地域別の登録患者数は，秋田県 72 人（2 施設），神奈川県 185 人（4 施設），京都府 117 人（4 施設），大阪府 428 人（8 施設），福岡県 377 人（12 施設），熊本県 259 人（7 施設），鹿児島県 248 人（7 施設）であった．病型別では，脳梗塞 1182 例（70.1%），脳出血 305 例（18.2%），くも膜下出血 73 例（4.3%），一過性脳虚血発作 126 例（7.4%）であった．Stroke unit 治療率が 0% であった施設は，11 施設（25%）あり，いずれも本調査で定義した「Stroke unit」を有していない施設であった．理学療法士は，全施設に配置されていた．登録期間中の rt-PA 静注療法施行率が 0% であった施設は 18 施設（40.9%）あり，うち 4 施設では，発症 3 時間以内の対象患者の来院がなかった．入院後 24 時間以内の頭部 CT/MRI，入院期間中の脳血管評価（頸動脈エコー，MR angiography，CT angiography），入院後 48 時間以内の抗血栓療法，入院期間中の脂質・血糖検査の施行率は，いずれも 90% 以上であった（Fig. 1，Table 3）．

施設の分布は，人口密度別では low 群（65.4–4000 人 /km^2）34 施設，high 群（4001–11330 人 /km^2）10 施設（中央値 2000：4 分位 657–3407 人 /km^2），登録患者数別では，S 群（1–26 人）14 施設，M 群（27–43 人）15 施設，L 群（44–123 人）15 施設（中央値 35 人），病床数別では，S 群（60–329 人）14 施設，M 群（330–550 人）16 施設，L 群（551–1354 人）14 施設（中央値 403 人），

Table 2　本研究の研究協力施設一覧

秋田県	山本組合総合病院，秋田県立脳血管研究センター
神奈川県	済生会横浜市東部病院，独立行政法人労働者健康福祉機構横浜労災病院，聖マリアンナ医科大学病院，聖マリアンナ医科大学東横病院
京都府	京都第二赤十字病院，京都府立医科大学附属病院，京都第一赤十字病院，公立南丹病院
大阪府	国立循環器病研究センター，りんくう総合医療センター市立泉佐野病院，医療法人医誠会 医誠会病院，独立行政法人国立病院機構大阪医療センター，国家公務員等共済組合連合会大手前病院，医療法人寿会 富永病院，大阪鉄道病院，弘善会 矢木脳神経外科病院
福岡県	九州大学病院，独立行政法人国立病院機構九州医療センター，福岡県済生会福岡総合病院，福岡赤十字病院，公立学校共済組合九州中央病院，独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター，福岡大学筑紫病院，社会医療法人 雪の聖母会 聖マリア病院，医療法人天神会 新古賀病院，大牟田市立総合病院，新日鉄八幡記念病院，医療法人社団陽明会 小波瀬病院
熊本県	熊本大学医学部附属病院，独立行政法人国立病院機構熊本医療センター，熊本市立熊本市民病院，熊本赤十字病院，済生会熊本病院，健康保険人吉総合病院，社団法人天草郡市医師会立天草地域医療センター
鹿児島県	医療法人慈風会 厚地脳神経外科病院，公益財団法人慈愛会 今村病院分院，独立行政法人国立病院機構鹿児島医療センター，鹿児島市立病院，いちき串木野市医師会立脳神経外科センター，県民健康プラザ鹿屋医療センター，鹿児島県立大島病院

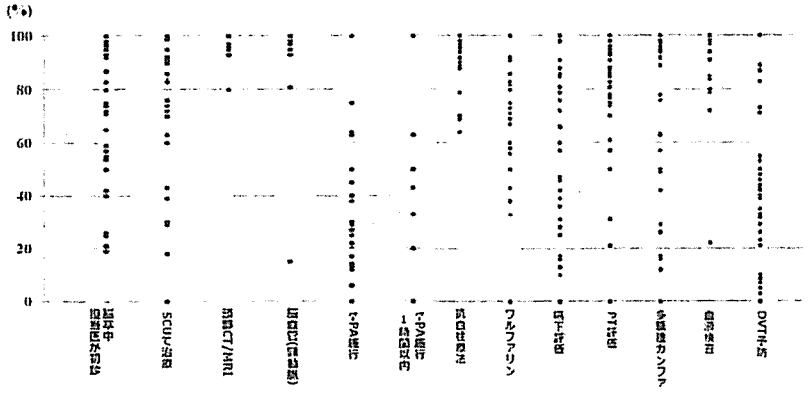


Fig. 1　脳卒中急性期インディケーター実施率の分布
ドットは，各協力施設のインディケーターの実施率を示す．

脳卒中従事医師数別では，S群(1–3人)12施設，M群(4–7人)18施設，L群(8–39人)14施設(中央値5人)であった(Fig. 2)．

人口密度，病床数，脳卒中従事医師数の多寡と各インディケーター案の実施率に関連はなかった．また，登録患者数の最多群(L群)において，入院後3日以内の理学療法評価の施行率が高値であり(S群：70.1±26.5%，M群：81.3±19.4%，L群：88.4±11.0%，p=0.026)，最少群(S群)では，入院後48時間以内の抗血栓療法の施行率が高値であった(S群：98.5±2.4%，M群：90.5±11.0%，L群：93.1±7.6%，p=0.0046)(Fig. 3)．リハビリテーション関連のインディケーター案では，重症例で入院後24時間以内の嚥下機能評価(0–24：65.4% vs 25–42：36.3%，p<0.0001)，入院後3日以内の理学療法評価(0–24：86.4% vs 25–42：62.8%，p<0.0001)の施行率が低く，入院中の深部静脈血栓症予防の施行率が高かった(0–24：30.5% vs 25–42：56.4%，p<0.0001)．重症例の割合は，人口密度，登録患者数，病床数，脳卒中従事医師数の群間比較において，いずれも有意差はなかった．

Table 3　脳卒中急性期インディケーター案の項目別の実施率

	全国平均
初診医が脳卒中診療担当医であった率（%）	80.3（78.3–82.1）
Stroke unit治療率（%）	67.1（64.7–69.4）
頭部CT/MRI施行率（%）	98.7（98.0–99.1）
脳血管（頸動脈）病変評価率（%）	97.9（96.9–98.5）
rt-PA静注療法施行率（%）	20.4（16.3–25.2）
rt-PA静注療法までが1時間以内の率（%）	40.6（29.5–52.9）
抗血栓療法施行率（%）	92.7（91.2–94.0）
退院時ワルファリン使用率（%）	77.8（72.8–82.1）
嚥下機能評価施行率（%）	60.0（57.5–62.3）
理学療法評価施行率（%）	83.8（81.9–85.5）
多職種によるカンファレンス施行率（%）	75.3（73.1–77.4）
脂質・血糖検査施行率（%）	95.1（94.0–96.1）
深部静脈血栓症の予防施行率（%）	36.8（34.4–39.2）
在院日数	17（10–29）
入院時NIHSS	4（2–12）
退院時mRS	2（1–4）
rt-PA静注療法施行患者の退院時（または30日目）mRS	3（1–4）

入院時NIHSS，退院時mRS，在院日数は中央値(IQR)，その他は平均値(95% CI)を示す．

考　察

本調査では，人口密度，病床数，脳卒中従事医師数の多寡と各インディケーター案の実施率に関連はなかった．入院後24時間以内の頭部CT/MRI，入院期間中の脳血管評価(頸部エコー，CTA，MRA)，入院期間中の脂質/血糖検査の施行率のばらつきは小さく，いずれも90%以上の高い施行率であった．CT/MRI施行率は，英国では70.5%（95%CI 58.6–79.7%）[7]，デンマークで71.2%（95%CI 68.4–73.9%）[2]であり，いずれも今回のわれわれの調査に比べて低値であった．嚥下機能評価の施行率は，英国において84.1%（95% CI 75.5–94.2%）であり[7]，本調査と比較して高い水準であった(Table 3)．今回の協力施設が，脳卒中急性期診療を担う医療機関の中から選定されたことから，CT/MRI施行率は高値であったが，一方で，嚥下機能に関する評価が不十分であるというわが国の現状が示された結果であった．

登録患者数の最多群(L群)において，3日以内の理学療法評価の施行率が高値であった．これは多くの症例を診療する施設では，リハビリテーションの診療スタッフや実施体制が充実しているためと推察される．今後，リハビリテーション関連のスタッフ数，休日のリハビリテーション実施の有無についての検討が必要であろう．また，登録患者の最少群(S群)において，48時間以内の抗血栓療法の施行率が高値であった．抗血栓療法の施行率が最も低値であったM群は，他の2群に比して施行率のばらつきが大きかった．急性期における抗血栓療法は，重症例では出血性梗塞を懸念し，控える場合があるが，本調査では重症脳梗塞患者の割合は，3群間の比較で有意差はなかった．

脳梗塞，脳出血，くも膜下出血患者において，重症例の嚥下機能評価，理学療法評価の施行率が低かったのは，重症度が高い急性期では症状が安定するまでの間，リハビリテーションを見合わせた患者

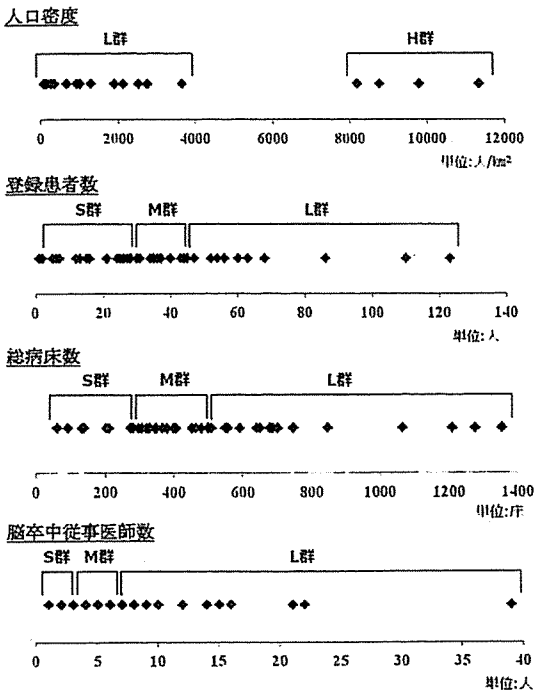


Fig. 2　各施設の地域人口密度，登録患者数，総病床数，脳卒中従事医師数の分布
ドットは，対象施設を示す．人口密度を2群，登録患者数，総病床数，脳卒中従事医師数は3分位に分けた．

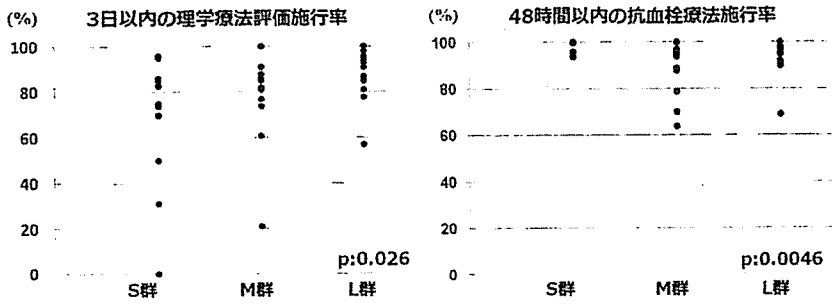


Fig. 3　登録患者数とインディケーター実施率の関係
理学療法評価率は登録患者数の最多群(L群)で高値であり，抗血栓療法施行率は最少群(S群)で高値であった．

が含まれているためと推察した．深部静脈血栓症予防に関しては，重症例では，離床困難な場合が多く施行率が高かったものと思われる．

今回の調査は，協力施設の自己申告によりインディケーターの実施率が入力されている．今後，インディケーターを用いた医療の質の評価を客観的かつ継続的に行うためには，DPC(diagnosis procedure combination)やレセプトからのデータの抽出と，これを利用した監査などを検討すべきであろう．DPC対象病院は，全一般病院の18.0%であり[8]，必ずしも全ての病院を網羅するものではないが，インディケーターの実施率を自動的に算出し，経時的な評価を実施することが可能になると考える．一方で，DPCのデータは，日単位の情報であり，厳密な時間単位の情報が得られない．このため，入院後の時間を設定したインディケーター測定の際には，抽出の精度を見直す必要がある．加えて，週末入院患者における脳卒中の重症度，死亡率が上昇するとの報告があり[9]，入院曜日，あるいは入院時間帯によるインディケーターの解析も重要な点と考えられる．

本インディケーター案の中で，現行のDPC，レセプトからは得られない情報として，「初診医が脳卒中担当医である率」，「来院からrt-PA投与までが1時間以内であった率」，「入院後24時間以内の嚥下機能評価施行率」，「入院後7日以内の多職種カンファレンス施行率」，「入院時NIHSSスコア」が含まれている．今後，これらのデータ抽出を可能とするために，定義を明確にし，円滑なデータ抽出システムを構築することが求められる．測定施設数が少なく，かつ施行頻度にも大きなばらつきがみられた「来院からrt-PA投与までが1時間以内であった率」に関しては，American Heart Associationのガイドラインに基づいている．すなわち，同ガイドラインでは病院到着後10分以内に臨床評価を行い，45分以内にCTの読影を完了させ治療の適応を判断，1時間以内にrt-PA静注療法を開始するよう推奨されている[10]．また，rt-PA静注療法を病院到着から60分以内で施行した患者群において，院内死亡率，症候性頭蓋内出血の頻度が低かったとする報告もある[11]．その一方で，わが国におけるrt-PA承認後3年目の調査より，rt-PA静注療法の実施状況には，一定の地域格差が存在することが示された．すなわち，全国358の二次医療圏においてrt-PA使用が10例未満の医療圏が119カ所(33%)．うち1例も使用経験がない医療圏は67カ所あったという[12]．到着後1時間以内のrt-PA静注療法の施行率の向上は，患者転帰の改善につながりうることから，「来院からrt-PA投与までが1時間以内であった率」は「rt-PA静注療法の施行率」とともに，達成目標とすべきである．「入院時NIHSSスコア」は，退院時転帰へ最も寄与する因子であり，退院時転帰を評価する際の調整因子として，データ抽出が必須となろう．

既に諸外国では，脳卒中医療の質の評価および改善を図る取り組みの周知と活用によって，rt-PA静注療法施行率の上昇[13]，院内肺炎発症率の減少など[14]，脳卒中医療のレベルアップにつながることが明らかにされている．今後，わが国においても脳卒中急性期インディケーターの積極的な運用に向けて，DPCやレセプトデータの検証，円滑な自動データ抽出システムの構築，インディケーター実施率の評価と各医療機関へのフィードバックシステムの構築が不可欠である．

結　語

脳卒中急性期インディケーター案の各項目の実施率と，人口密度，病院の規模，脳卒中従事医師数には関連がなかった．画像診断や血液検査に関する施行率は高い水準であった一方で，海外のインディケーターと比較して，嚥下機能評価の施行率は低値であった．登録患者数の最多群(L群)において，理学療法評価の施行率が高値であったこと，最少群(S群)での抗血栓療法施行率が高値であったことについては，その原因を明らかにしていく必要がある．今後，脳卒中急性期インディケーターの積極的な運用とともに，その実施率を高めるための脳卒中診療体制の整備を含めた取り組みが重要である．

謝　辞

本研究は，循環器病研究委託費21指-4「脳卒中診療の均てん化のためのシステム構築研究」，循環器病研究開発費22-4-1「新しい脳卒中医療の開拓と均てん化のためのシステム構築に関する研究(いずれも主任研究者：峰松一夫)」の助成によってなされた．本研究に貴重なご助言を頂いた今中雄一先生(京都大学大学院医学研究科 社会健康医学系専攻医療経済学分野)，中山博文先生(日本脳卒中協会)，患者登録にご協力頂いた研究協力施設(Table 2)の責任者ならびに研究協力者の松岡秀樹先生(鹿児島大学医学部付属病院 救急部)，中央研究事務局(国立循環器病研究センター脳血管内

科）の宮下史生，荻原隆朗，天野達雄，重畠裕也，徳永梓秘書の各氏に深謝する．

参考文献

1) Rudd AG, Hoffman A, Irwin P, et al: Stroke unit care and outcome: results from the 2001 National Sentinel Audit of Stroke (England, Wales, and Northern Ireland). Stroke 36: 103–106, 2005
2) Mainz J, Krog BR, Bjørnshave B, et al: Nationwide continuous quality improvement using clinical indicators: the Danish National Indicator Project. Int J Qual Health Care 16: i45–i50, 2004
3) Sato S, Uehara T, Toyoda K, et al: Impact of the approval of intravenous recombinant tissue plasminogen activator therapy on the processes of acute stroke management in Japan: the Stroke Unit Multicenter Observational (SUMO) Study. Stroke Unit Multicenter Observational (SUMO) Study Group. Stroke 40: 30–34, 2009
4) 厚生労働科学研究費補助金による循環器疾患など生活習慣病対策総合研究事業：脳卒中地域医療におけるインディケーターの選定と監査システム開発に関する研究．報告書．平成 18–20 年度総合研究報告書（主任研究者：峰松一夫）
5) 循環器病研究委託費 21 指 -4「脳卒中診療の均てん化のためのシステム構築研究」による脳卒中急性期インディケーター案の検証 研究概要（主任研究者：峰松一夫）http://kintenka.stroke-ncvc.jp/verify.pdf
6) 厚生労働省「2 次医療圏別人口」（平成 20 年）www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/hoken/kiso/dl/21d.pdf
7) Royal College of Physicians: Clinical National Sentinel Stroke Audit Report 2010. Public Report for England, Wales and Northern Ireland http://www.rcplondon.ac.uk/sites/default/files/national-sentinel-stroke-audit-2010-public-report-and-appendices_0.pdf
8) 厚生労働省「第 3 回診療報酬調査専門組織・DPC 評価分科会」（平成 22 年）http://www.mhlw.go.jp/shingi/2010/06/dl/s0360-7k.pdf
9) Hasegawa Y, Yoneda Y, Ibayashi S, et al Acute Stroke Rehabilitation Study Group: The effect of weekends and holidays on stroke outcome in acute stroke units. Cerebrovasc Dis 20: 325–331, 2005
10) Guidelines 2000 for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. Part 7: the era of reperfusion: section 2: acute stroke. The American Heart Association in collaboration with the International Liaison Committee on Resuscitation. Circulation 102: 204–216, 2000
11) Fonarow GC, Smith EE, Saver JL, et al: Timeliness of tissue-type plasminogen activator therapy in acute ischemic stroke: patient characteristics, hospital factors, and outcomes associated with door-to-needle times within 60 minutes. Circulation 123: 750–758, 2011
12) 靖　和夫，児玉南海雄，福内靖男ら：我が国における脳梗塞 rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法の普及－日本脳卒中学会脳卒中医療向上・社会保険委員会適正使用部会の取り組みと成果－．脳卒中 32: 1–11, 2010
13) Katzan IL, Hammer MD, Furlan AJ, et al: Quality improvement and tissue-type plasminogen activator for acute ischemic stroke: a Cleveland update. Stroke 34: 799–800, 2003
14) Hinchey JA, Shephard T, Furie K, et al: Formal dysphagia screening protocols prevent pneumonia. Stroke 36: 1972–1976, 2005

Abstract

Clinical indicators for acute stroke in Japan: for spread of the advanced stroke management and care strategy

Yasuteru Inoue, M.D.,[1] Chiaki Yokota, M.D.,[1] Toshiyuki Uehara, M.D.,[1] Yasuhiro Tomii, M.D.,[2] Masahiro Yasaka, M.D.,[3] Teruyuki Hirano, M.D.,[4] Yasuhiro Hasegawa, M.D.,[5] Akifumi Suzuki, M.D.,[6] and Kazuo Minematsu, M.D.[1]

[1] Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center
[2] Department of Neurology, Kyoto Prefectural University of Medicine
[3] Department of Cerebrovascular Medicine, National Hospital Organization Kyushu Medical Center
[4] Department of Neurology, Kumamoto University
[5] Department of Neurology, St. Marianna University School of Medicine
[6] Department of Stroke Science, Research Institute for Brain and Blood Vessels, Akita

Stroke is a major leading cause of disability in Japan. In order to improve stroke outcome, national and international quality initiatives should be indispensable. We developed evidence-based clinical indicators including 13 items for acute stroke care. In this study, we investigated the actual conditions of acute stroke care by use of the clinical indicators. We enrolled 1686 stroke patients in 44 hospitals with diagnoses of brain infarction, intracerebral hemorrhage, subarachnoid hemorrhage, and transient ischemic attack admitted within 3 days after the onset from July 2010 to September 2010. All hospitals were divided into bipartite by the number of population density and tertile by the number of registered patients, hospital beds, and physicians in charge of stroke. We compared states of achievement of clinical indicators. The states of achievement of brain CT/MRI, evaluation of cerebral arteries by carotid ultrasonography, MR angiography or CT angiography, prescription of antithrombotic agents, and measurements of blood sugar and lipid profiles were over 90%. The state of achievement of physical therapy was highest in the group of hospitals which registered a large number of patients ($p=0.026$) and the percentage of patients prescribed antithrombotic agents was highest in the group of hospitals which registered a small number of patients ($p=0.0046$). There was no relationship between states of achievement of clinical indicators and number of population density, hospital beds and physicians in charge of stroke, respectively. We showed the present conditions of acute stroke care in Japan by use of the clinical indicators. The next step is to organize a nationwide monitoring using clinical indicators.

Key words: evidence, stroke, clinical indicators, audit, diagnosis procedure combination

(Jpn J Stroke 34: 289–297, 2012)

急性期脳卒中
無輸血治療希望事例対応マニュアル

脳卒中　第33巻　第5号　別刷

急性期脳卒中　無輸血治療希望事例対応マニュアル

「重症脳卒中における生命倫理に関する研究」研究班

前文

近年，人生観や価値観は多様化にともない宗教的無輸血治療の希望や延命治療の拒否など治療行為に関するさまざまな希望・意思表示も増加してきた．これらに対応すべくさまざまなガイドラインが作成されているが，基本的には患者本人の治療に関する意思の表示に基づいて対応することが求められる．しかしながら，重症脳卒中急性期においては意識障害のため本人の発病前の意思確認をすることが困難で，ガイドラインに則った対応が困難な状況が少なからず発生する．このような場合に，投入できる人材や判断に許容される時間に限りのある脳卒中救急現場では法的・生命倫理的な判断に苦慮することになる．

これらに対応すべく厚生労働省循環器病研究委託費20指2および循環器病研究開発費22-4-1による「重症脳卒中における生命倫理に関する研究(主任研究者　宮本　享)」では急性期脳卒中臨床現場における不要な混乱を防ぎ臨床医がわかりやすく判断できるような対応策を検討してきた．

本マニュアルはその研究結果の一部をまとめ，宗教的無輸血治療の希望に対して法的・生命倫理的な考察を加え，急性期脳卒中臨床現場での判断の一助なるような対応マニュアルとした．使用にあたって，当該事例に対する対応や判断は各施設の裁量に委ねられるので，必要に応じてこのマニュアルを参考にして頂きたい．

なお，本マニュアルの内容は社団法人日本脳神経外科学会および一般社団法人日本脳卒中学会の理事会で承認されており，他学会誌にも掲載予定であることを付記する．

2011年6月

I. はじめに

意識障害や神経症状を呈する急性期脳卒中においては治療方針に対する本人の意思を確認することがしばしば困難である．また，救急救命現場においては治療開始までに許される時間的猶予にも医療施設が投入できる人的資源にもおのずから限界がある．本マニュアルはこのような急性期脳卒中救急医療において，宗教的理由による無輸血治療の希望が示された場合に，救急医療を担う医療スタッフが，できる限り患者の希望に沿った医療を提供できるためには，どのように対応するのがよいかを，救急現場の実情に即して示したマニュアルである．

まず，いずれの医療施設においても，宗教的理由により通常の治療を拒否することがあってはならない．

なお，このマニュアルは，エホバの証人(ものみの塔協会)信者による宗教的理由に基づく無輸血治療希望の事例に限った対応方法を示すものであり，その他の理由および場合については対応していない．

II. 無輸血治療とは

「無輸血治療」とは，輸血をできる限り最小限度に抑え，安易な輸血を避ける治療をいう．無輸血治療は，絶対的無輸血治療と相対的無輸血治療の2つに分類される．宗教的理由に基づく無輸血治療希望とは，絶対的無輸血治療のみを指し，相対的無輸血治療とは截然と区別される．

(1)絶対的無輸血治療

宗教的理由により，同種血輸血を受け入れず，輸血が必要で生命に関わるような状態においても代替療法をつらぬく立場である．なお，血液分画の使用はそれぞれの宗教上の理解により，認める場合もある．すなわち，絶対的無輸血治療とは，いかなる場合にも輸血は行わない．その結果患者が死亡に至ることが予測される場合であっても，輸血は実施しない．

(2)相対的無輸血治療

できる限り輸血を避ける方針で治療に臨むが，救命手段としては輸血を認める立場であり，救命するため

に必要であれば，輸血を行う．

III. 医療施設の対応の原則

重症脳卒中の緊急入院をとりあつかう医療施設があらかじめ準備すべきことおよび対応の原則は以下のとおりである．

(1)救急症例における生命倫理問題に対応できる方針と体制をあらかじめ策定しておくことが望ましい．患者の無輸血治療希望への事前の意思表示【アドバンスディレクティブ[i]】(以下「事前指示」)への対応指針が作成され，必要な体制が設けられていること，およびそれらが院内に周知されていることが必要である．

(2)患者本人又は家族もしくは代諾者に対して，本人の症状と可能な治療法および病院の無輸血治療に対する方針を，入院時および治療開始前に十分に説明すること．治療開始前には治療方針について同意を得ることが必要である．

(3)無輸血治療の実施・不実施を含め，治療方針決定にいたる過程の透明性を担保するため，患者本人(家族など代諾者を含む)への説明内容確認は，担当医師単独ではなく，他の医師や看護師等を含む多職種複数名の医療従事者で行う事が望ましい．また，治療方針決定のプロセスは診療録へ詳細に記載し，臨席し得た者複数名が当該診療録に署名する．時間的に可能であれば，倫理委員会または倫理委員会委員長の承認を得ることが望ましく，それが可能でないときには，とった判断および措置は事後に倫理委員会に報告することが望ましい．

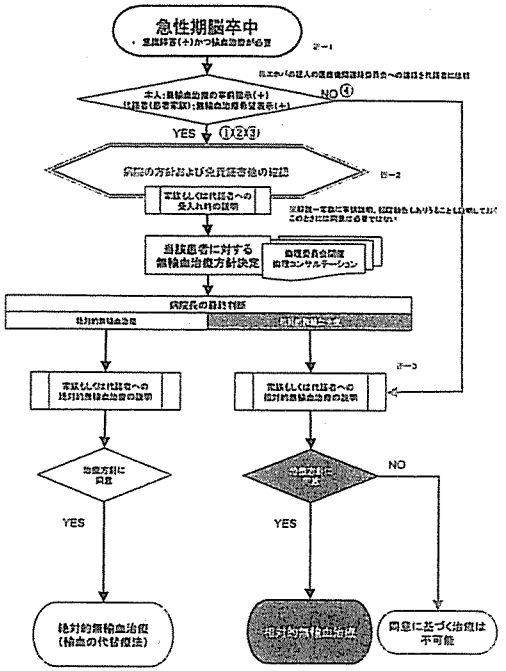
IV. 対応のプロセス(フローチャート)

1. 急性期脳卒中で意識障害を伴いかつ輸血治療が必要と判断される事例において，エホバの証人信者であることの申し出があった場合，主に下記のケースに分けられる
   - 1.1 本人の事前指示があり，かつ代諾者もそれを認めている場合
     →フローチャート①へ
   - 1.2 本人の事前指示はあるが，代諾者はそれを認めていない場合
     →フローチャート②へ
   - 1.3 本人の事前指示はなく，代諾者が信者で無輸血治療を希望する場合
     →フローチャート③へ
   - 1.4 本人も，代諾者も無輸血治療を希望しない場合
     →輸血の説明と同意を得る　フローチャート④へ
2. 病院の方針および免責証書[ii]，他の確認を行う
   - 2.1 病院の方針の確認
     - 2.1.1 無輸血治療に対する医療施設としての方針をあらかじめ決定し，開示しておくことが望ましい．この方針は，倫理委員会の審議を経て，病院長が定める．
     - 2.1.2 無輸血治療に対する当該医療施設としての対応が既決，明文化されている場合は，その方針に従い，適合しているかどうかを病院長に確認する．
     - 2.1.3 無輸血治療に対する当該病院としての対応が既決していない場合には，当該事例について生命倫理的な検討を加えて治療方針を決定する．治療方針は，最終的に病院長が判断する．
       この場合，従前に同様の事例があれば，それらとの一貫性に配慮する．なお，できる限り倫理委員会や外部の専門家へのコンサルテーション等を介して，当該患者に対する無輸血治療希望に対する方針を決定する．

---

i) アドバンスディレクティブ　advance directive　現在権能を持っている人が，将来自らの判断能力が失われた事態を想定して，その際自分に行われる医療行為への意向について事前に意思表示をすることを言う．

ii) 免責証書　治療における医師の責任を問わないと示した証書．エホバの証人が呈示する書類では「医療に関する補完的委任状」のことをさす．



図表　急性期脳卒中無輸血治療希望事例対応マニュアルフローチャート

2.2 免責証書の有無およびその記載内容を確認

2.2.1 免責証書の本人携帯，もしくは家族等第三者からの呈示がある場合，記載されているべき必要事項を確認する
- 本人自署の原本であること
- 記載日時(現在の意思をも表現していることを示している根拠となりうる日時であること)

2.2.2 免責証書がコピーである場合，本人または代諾者に患者の自署であることと書類の記載時期を確認することとし，確認が取れない場合には，本人の事前指示はないものとして扱う．この場合，本人又は家族もしくは代諾者にその旨説明して理解を得る．

ただし，エホバの証人の医療機関連絡委員会に連絡を取ることを通じて真正な免責証書であることが確認できる場合には，有効な免責証書として取り扱う．

2.2.3 免責証書不携帯の場合，免責証書の記載内容に不備がある場合，または免責証書の存在がその場では確認ができない場合

患者本人の意思は不確実であるので，本人の事前指示がないものとして取り扱う．この場合，本人又は家族もしくは代諾者にその旨説明して理解を得る．ただし，エホバの証人の医療機関連

結委員会に連絡を取ることを通じて免責証書があること，または内容が明確であることが確認できる場合には，有効な免責証書があるものとして取り扱う．

3. 最終的な治療方針は下記の3つに分けられる

3.1 絶対的無輸血治療

いかなる場合にも輸血は行わない．輸血を行わないことにより，患者が死亡に至ることが予測される場合であっても，輸血は実施しない．患者の事前指示を尊重して絶対的無輸血治療を行った結果，当該患者が死亡に至った場合には，24時間以内に異状死として届け出る必要があるかどうかをあらかじめ当該地域の警察署へ照会しておき，必要な場合は事態発生後遅滞なく届け出る．

3.2 家族もしくは代諾者の同意に基づく相対的無輸血治療

原則として輸血を避ける方針で治療に臨むが，患者を救命するために必要な場合には，輸血を行う．相対的無輸血の方針で手術等の治療に臨み，救命のために結果的に輸血を行った場合には，宗教的理由に基づく当該患者の輸血を拒否する権利を侵害する可能性がある．

3.3 絶対的無輸血治療ないし同意に基づく相対的無輸血治療が不可能

この場合に，とり得る対応は下記の3つとなる．

3.3.1 【転院の勧告】

転院を勧告する．エホバの証人の医療機関連絡委員会[iii]へも連絡し協力を要請する．転院先が見つからない場合にはやむを得ず下記の対応を選択する．

3.3.2 【保存的・対症療法的治療】

輸血が必要となるような根治的積極的治療は断念し，保存的治療または対症療法的治療にとどめる．

3.3.3 【その他】

輸血に関する同意がないにも拘わらず，救命の目的で，患者の事前意思に反して輸血を行なった場合，宗教的理由に基づく当該患者の輸血を拒否する権利を侵害する可能性がある．

厚生労働省循環器病研究委託費　20指2
循環器病研究開発費　22-4-1
「重症脳卒中における生命倫理に関する研究(主任研究者　宮本　享)」研究班

主任研究者　宮本　享(京都大学大学院医学研究科　脳神経外科教授)
分担研究者　位田隆一(京都大学大学院法学研究科　教授)
峰松一夫(国立循環器病研究センター病院　副院長)
鈴木倫保(山口大学医学部　脳神経外科教授)
塩川芳昭(杏林大学医学部　脳神経外科教授)
飯原弘二(国立循環器病研究センター　脳神経外科部長)
研究協力者　橋本洋一郎(熊本市民病院　神経内科部長)
中島　弘(大阪府立成人病センター　特別研究員)
事務局　森　久恵(国立循環器病研究センター　脳神経外科医長)

iii) エホバの証人の医療機関連絡委員会
〒243-0429 神奈川県海老名市中新田4-7-1
電話(046)233-0005　FAX(046)233-0009　E-mail hidoffice@jp.jw.org
エホバの証人の医療機関情報デスク24時間サービス(090)3089-2469

平成24年7月7日

脳卒中学会医療向上・社会保険委員会
rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法指針部会
部会長　峰松一夫　殿

～代諾者不在時のrt-PA静脈内投与に関する答申～

医学的な治療を行うにあたり、一般に患者本人との間でインフォームド・コンセントが必要であるが、本人に同意能力のない場合には、配偶者・家族等が本人に代わって同意する「代諾」が必要とされる。脳卒中急性期においては意識・見当識の問題から必ずしも患者本人に十分な同意能力がない、いいかえれば本人においてインフォームド・コンセントが不可能な状態のことがあり、そのような場合には家族など代諾者に対して行ったインフォームド・コンセントに基づいて治療が実施されているのが現状である。しかしながら、もし代諾者が患者近くに不在であるか連絡がつかないために代諾によるインフォームド・コンセントも不可能な場合には、患者は治療可能な時間内に適切な治療を受けられない可能性がある。循環器病研究委託費20指2・循環器病研究開発費22-4-1分担研究「重症脳卒中における生命倫理に関する研究」班では、発症後治療開始までに時間的な制限のある急性期脳梗塞に対する遺伝子組み換え組織型プラスミノゲン・アクティベータ（recombinant tissue-type plasminogen activator, rt-PA）アルテプラーゼの静脈内投与に際して、本人に同意能力がなく、かつ代諾者が不在である場合の対応について、脳卒中学会医療向上・社会保険委員会rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法指針部会から、指針策定のための生命倫理問題について諮問を受けたので、調査・検討した結果、以下のように答申する。

米国National Institute of Neurological Disorders and Stroke（NINDS）によって行われた臨床試験（以下NINDS研究）の成績に基づき，1996年に米国食品医薬局により急性期脳梗塞の治療法として認可されたrt-PA静脈内投与は，本邦独自の臨床試験であるJapan Alteplase Clinical Trial（J-ACT）の結果を踏まえて、2005年10月に本邦でも認可された。日本脳卒中学会により作成された「rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法適正治療指針（2005年10月）」に準拠して、本治療法は今日本邦において安全かつ広く実施され、認可から約7年を過ぎた現在ではすでに急性期脳梗塞に対する有益な治療として認識され、脳卒中ガイドライン2009においても「発症から3時間以内に治療可能な虚血性脳血管障害で慎重に適応判断された患者に対して強く推奨される（グレードA）」と標準的治療として推奨されている。

「rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法適正治療指針（2005年10月）」においては虚血性脳血管障害に対する本治療法の適応を適応例，慎重投与例，非適応（禁忌）例に分けて記載している。慎重投与項目としては、1）既往歴に関する4項目　（①10日以内の生検・外傷　②10日以内の分娩・流早産　③3ヶ月以上経過した脳梗塞　④蛋白製剤アレルギー）および、2）臨床所見に関する11項目（　①年齢75歳以上　②NIHSSスコア23以上　③JCS100以上　④消化管潰瘍・憩室炎，大腸炎　⑤活動性結核　⑥糖尿病性出血性網膜症・出血性眼症　⑦血栓溶解薬，抗血栓薬投与中　⑧月経期間中　⑨重篤な腎障害　⑩コントロール不良の糖尿病　⑪感染性心内膜炎）の合計15項目が挙げられている。この慎重投与に関する15項目でひとつでも該当すれば，「慎重投与例」としてその適応の可否を慎重に検討し，治療を実施する場合でもその利益・不利益を患者本人・家族に正確に説明し同意を得る必要がある、としている。

一般に脳卒中急性期においては必ずしも患者本人が十分なインフォームド・コンセントをできる状態であるとは限らず、そのような場合には家族など代諾者によるインフォームド・コンセントに基づいて治療は行われている。しかしながら発症から治療開始までの猶予時間がきわめて短いrt-PA静脈内投与においては、代諾者を治療開始前に見つけられない状況も少なからず発生しているとされているが、その実情は明らかではなかった。本研究班では、2011年に三鷹、北摂、山口、熊本の4医療圏において、rt-PA治療を施行する脳卒中診療施設に対して、「代諾者不在によりrt-PA治療適応の判断に苦慮した経験の有無」について、アンケートにより実態を調査した。この調査では19施設より回答を得た（回収率59.3%）。その結果、7施設から25例の代諾者不在事例が報告された。25例中9例においてはrt-PA治療が施行されず、反対に5例においては医師の裁量権により代諾なしにrt-PA治療が行われ、その他11例においては親族による電話代諾（6例）や親族以外の代諾（5例）によりrt-PA治療が行われていた。また、代諾者不在時に対する施設の方針が決まっていたのは19施設中わずか4施設（21%）に留まり、その方針も、内3施設においては「代諾者不在時にはrt-PA治療を行わない」、残る1施設においては「治療適応があれば代諾者不在であってもrt-PA治療を行う」という正反対の内容であった。すなわち、代諾者不在に対する対応は臨床現場任せになっている現状が判明した。

すなわち、代諾者不在という状況においては、インフォームド・コンセントの要件が満たされないため、限られた治療可能時間内に標準的治療として行うことがつよく推奨されているrt-PA治療を受けることができないということになると、治療を受けていれば快復できたかもしれない機会を失うという不利益を患者本人が被る可能性が存在しているのである。

このような問題を解決するための指針を作成するためには、代諾がないために標準的治療を受けることができないことにより患者本人が被る不利益と、治療を行った場合に副作用が生じ患者本人が被る不利益の可能性を比較検討することが必要になる。

本邦におけるアルテプラーゼ市販後調査であるJ-MARS研究（Nakagawara J, Minematsu K, et al. Stroke 2010;41:1984-1989）では有効性と安全性が明らかにされている。有効性については適応例（慎重投与項目の該当なし）の転帰良好(modified Rankin Scale (mRS) 0-1)の割合が45.1%であり、これは米国NINDS研究の39%、本邦のJapan Alteplase Clinical Trial（J-ACT）の37%を上回る良好な成績である。一方、J-MARS研究では慎重投与例（慎重投与項目該当あり）のそれは26.9%であり、NINDS研究の偽薬群26%とほぼ同様の値となっている。

一方、安全性については、J-MARS研究によれば、適応例（慎重投与項目該当なし）の死亡率は5.7%であり、慎重投与例（慎重投与項目該当あり）のそれは16.5%であった。過去の研究における死亡率はJ-ACT研究では10%、NINDS研究のアルテプラーゼ治療群では17%、偽薬群では21%であった。また、

症候性頭蓋内出血についてはJ-MARS研究によれば、適応例(慎重投与項目該当なし)では2.5%であり、NINDS研究のアルテプラーゼ治療群の6.4%、J-ACT研究の5.8%を下回る。ちなみにJ-MARS研究では慎重投与例(慎重投与項目該当あり)のそれは5.2%であった。

すなわち市販後調査であるJ-MARS研究では、適応例(慎重投与項目該当なし)に対するrt-PA静注療法の成績は、本治療法の有効性と安全性を証明しその施行をつよく推奨する理論的根拠となった過去の国内外の研究に比しても、有効性・安全性の双方においてさらにそれらを優る結果であったことが明らかにされた。このため、適応例(慎重投与項目該当なし)においては、もし代諾がないためにrt-PA静注療法を受けることができないことにより患者本人が被る不利益は、治療を行った場合に副作用が生じ患者本人が被る不利益のリスクを大きく上回ると考えられる。

故に、本研究班は、適応例(慎重投与項目該当なし)に対するrt-PA静注療法については、その利益・不利益について患者本人ないし家族に十分説明し、可能な限り同意を得ることが望ましいが、それは必ずしも必須条項ではなく、もし代諾者不在であるがゆえに患者が本治療法を受けられないような事態は避けるべきであると結論する。

ちなみに、海外においても、米国AHA/ASA guideline 2007 (Stroke 2007; 38: 1655-1711)では、「Although written consent is not necessary before administration of rtPA for treatment of stroke, a full discussion of the potential risks and benefits of treatment with rtPA with the family and the patient if possible is recommended.」と記載されており、欧州ESO guidelines 2008 (Cerebrovasc Dis 2008; 25: 457-507)では「Whenever possible, the risks and benefits of rt-PA should be discussed with the patient and family before treatment is initiated.」と記載され、利益・不利益について可能な限り説明するという努力目標は示されているが、文書同意は不要としている。

なお、慎重投与例(慎重投与項目該当あり)に対する代諾者不在時のrt-PA静注療法については、その前提として最近の治療成績に基づいた本治療法の可否に関する病院の方針が確定しており、かつ治療実施担当医単独の判断を避けて合理的な決定を行うため診療チームによる合議のうえで、「当該症例において本治療を行うことが、行わない場合よりも患者利益の観点で明らかに勝っている」と判断された場合に限り、治療し得るものと結論する。

循環器病研究委託費20指2・循環器病研究開発費22-4-1分担研究
「重症脳卒中における生命倫理に関する研究」 主任研究者
京都大学大学院医学研究科脳神経外科
宮本 享

記

「重症脳卒中における生命倫理に関する研究(主任研究者 宮本 享)」研究班

主任研究者 宮本 享(京都大学大学院医学研究科 脳神経外科教授)
分担研究者 位田隆一(同志社大学大学院グローバル・スタディーズ研究科 特別客員教授・京都大学名誉教授(前 京都大学大学院法学研究科教授))
峰松一夫(国立循環器病研究センター病院 副院長)
鈴木倫保(山口大学医学部 脳神経外科教授)
塩川芳昭(杏林大学医学部 脳神経外科教授)
飯原弘二(国立循環器病研究センター 脳神経外科部長)
研究協力者 橋本洋一郎(熊本市民病院 神経内科部長)
中島 弘(大阪府立成人病センター 特別研究員)
事務局 森 久恵(国立循環器病研究センター 脳神経外科医長)

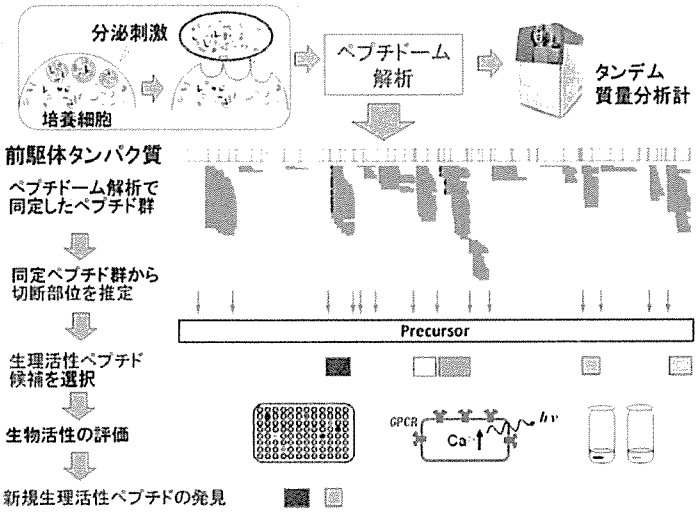
１．新規物質の探索・機能解明

１）VGF 由来ペプチド、NERP-2、NERP-3 の新しい作用の発見　　分子薬理部

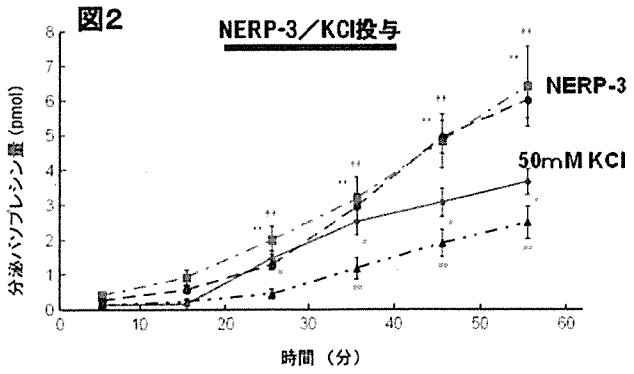
恒常性維持のために生体は精巧な情報伝達・制御系を構築しており、その破綻は循環器疾患をはじめとした疾患発症に繋がる。情報伝達・制御系を構成する物質の中でも、生理活性ペプチドは循環器系や内分泌代謝系等で重要な働きをしている。生理活性ペプチドは当センター職員をはじめとする我が国の研究者により数多く発見され、医薬品や診断法に実用化されている。そのため、新しいペプチドの発見は創薬や診断法開発の端緒となる可能性が高いが、探索は非常に困難である。分子薬理部では、生理活性ペプチドを発見する新たな探索方法を22年度に開発した。(**図1**)

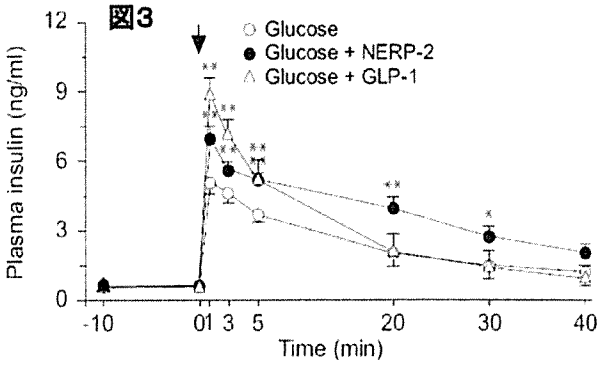
分泌するペプチドを収集し、ペプチドーム解析法により網羅的に同定し、ペプチドカタログを作成する。前駆体タンパク質毎に同定されたペプチドと整列させると、前駆体タンパク質の切断部位(↓)や生成するペプチドが予測できる。これらのペプチド合成し、生物活性を評価し、生理活性ペプチドを見出す。この手法により、一連の NeuroEndocrine Regulatory Peptide (NERP)を発見した。

図1



平成24年度は、NERP-3 が視床下部-下垂体系に高濃度存在し、水電解質バランスの変動により発現量が変動すると共に、下垂体後葉に作用してバソプレシン分泌を抑制することを明らかにした(**図 2**)。また、NERP-2 は、MIN6 やマウス・ランゲルゲルハンス島でグルコース誘導性インスリン分泌を促進すると共に、ラット、マウスでグルコースの共投与により GLP-1 と同様にインスリン分泌を促進することを見出した(**図 3**)。





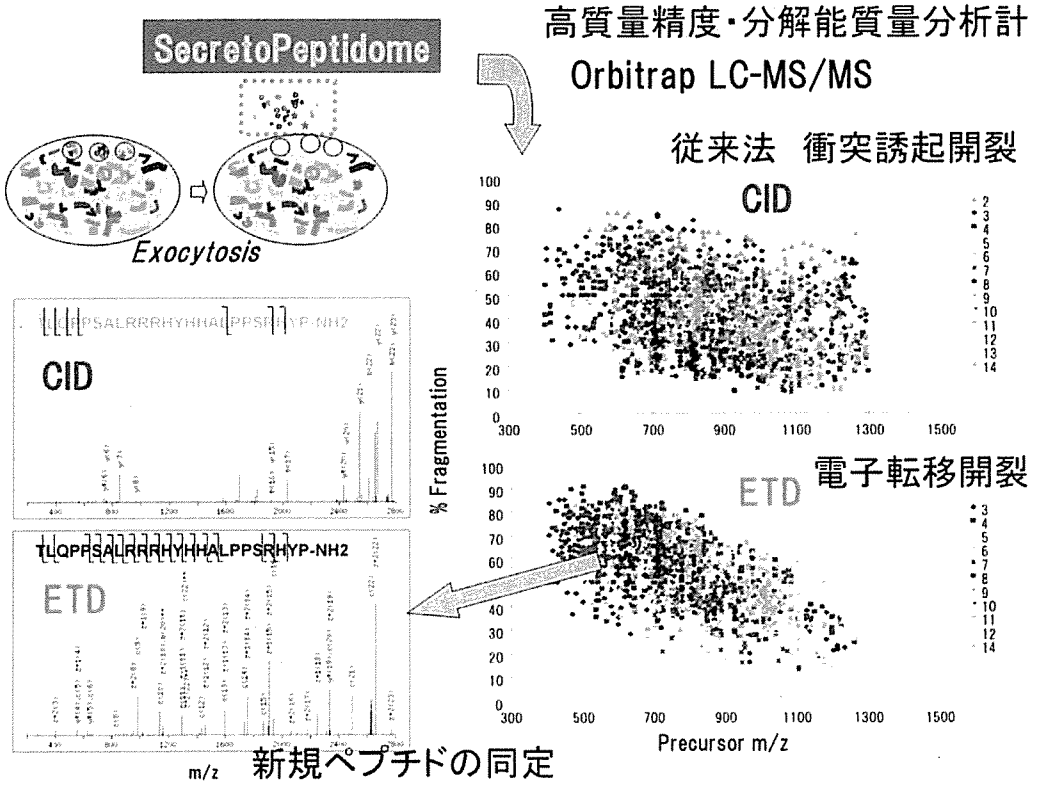
分子薬理部では、体内物質であるこれらのペプチドを用いて、循環器疾患や生活習慣病に対する効果的で副作用のない創薬や治療法、診断法、予防法などの開発を目指している。

（１）疾病に着目した研究　　①循環器病の本態解明

1．新規物質の探索・機能解明

2）VGF タンパク質由来のアミド化ペプチド VGF[554-577]-NH_2 の発見

当センターでは、生理活性ペプチドの探索を長年にわたり実施している。研究所の職員が発見した生理活性ペプチドANP、BNP は臨床応用されており、循環器病の診断や治療に貢献している。分子薬理部では、生理活性ペプチド探索のための独自の新しいアプローチを考案し、細胞が分泌するペプチド総体を質量分析法で解析（ペプチドーム解析）したデータの中から、外部施設との共同研究で、NERP-1, NERP-2, AMP-IBP5 と命名した新しい生理活性ペプチドを同定してきた。しかし、従来の質量分析法は生理活性ペプチドの構造情報の取得に技術的な限界があるため、近年新しく開発された電子転移開裂法(ETD 法)をペプチドーム解析に世界に先駆けて応用し、大規模解析データからETD 法の特性を明らかにした。その過程で、神経・内分泌細胞に発現し、ETD 法によってのみ同定される C 末端アミド化ペプチドを新たに発見し、抗菌作用があることを明らかにした。現在、心筋細胞・神経細胞における機能解析を進めている。また、分泌ペプチドーム解析を心臓由来の初代培養細胞に応用し、新たなペプチドの探索を推進している。



論文（次ページ添付）

Sasaki K, Osaki T, Minamino N. Large-scale identification of endogenous secretory peptides using electron transfer dissociation mass spectrometry. Molecular and Cellular Proteomics 12: 700-709, 2013.

© 2013 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.
This paper is available on line at http://www.mcponline.org

Large-scale Identification of Endogenous Secretory Peptides Using Electron Transfer Dissociation Mass Spectrometry*[S]

Kazuki Sasaki‡§, Tsukasa Osaki‡¶, and Naoto Minamino‡

Mass spectrometry-based unbiased analysis of the full complement of secretory peptides is expected to facilitate the identification of unknown biologically active peptides. However, tandem MS sequencing of endogenous peptides in their native form has proven difficult because they show size heterogeneity and contain multiple internal basic residues, the characteristics not found in peptide fragments produced by *in vitro* digestion. Endogenous peptides remain largely unexplored by electron transfer dissociation (ETD), despite its widespread use in bottom-up proteomics. We used ETD, in comparison to collision induced dissociation (CID), to identify endogenous peptides derived from secretory granules of a human endocrine cell line. For mass accuracy, both MS and tandem MS were analyzed on an Orbitrap. CID and ETD, performed in different LC-MS runs, resulted in the identification of 795 and 569 unique peptides (ranging from 1000 to 15000 Da), respectively, with an overlap of 397. Peptides larger than 3000 Da accounted for 54% in CID and 46% in ETD identifications. Although numerically outperformed by CID, ETD provided more extensive fragmentation, leading to the identification of peptides that are not reached by CID. This advantage was demonstrated in identifying a new antimicrobial peptide from neurosecretory protein VGF (non-acronymic), VGF[554–577]-NH_2, or in differentiating nearly isobaric peptides (mass difference less than 2 ppm) that arise from alternatively spliced exons of the gastrin-releasing peptide gene. CID and ETD complemented each other to add to our knowledge of the proteolytic processing sites of proteins implicated in the regulated secretory pathway. An advantage of the use of both fragmentation methods was also noted in localization of phosphorylation sites. These findings point to the utility of ETD mass spectrometry in the global study of endogenous peptides, or peptidomics. *Molecular & Cellular Proteomics 12: 10.1074/mcp.M112.017400, 700–709, 2013.*

Biologically active peptides, commonly known as peptide hormones and antimicrobial peptides, belong to a defined set of endogenous peptides that gain specialized functions not ascribed to original precursor proteins. For a precursor protein to generate such peptides, it must undergo specific cleavages and in some cases needs to be modified at specific sites (1). This limited cleavage, or proteolytic processing, represents an important cellular mechanism by which molecular diversity of proteins is increased at the post-translational level. In the postgenome era, it is being recognized that localization of processing sites in secretory proteins facilitates the identification of biologically active peptides. A standard approach to determining such sites is to use a panel of antibodies directed against different regions of a target protein (2). However, it is practically impossible to prepare antibodies that can thoroughly cover potential processing products arising from the precursor. Alternatively, mass spectrometry-assisted unbiased analysis of endogenous peptides may be a major step toward elucidating proteolytic processing (3).

In neurons and endocrine cells, a majority of biologically active peptides are released via the regulated secretory pathway. They are stored in secretory granules and await secretion until the cells receive an exocytotic stimulus. Owing to their compartmentalization, secretory peptides can be noninvasively recovered in culture supernatant. We have shown that a data set of endogenous peptide sequences that are collected by this procedure is applicable to infer processing sites, as well as to identify bona fide processing products (4). Rather than being digested, every endogenous peptide should be analyzed in its native form to understand how the peptide is generated and subsequently degraded. However, it remains a challenge to identify endogenous peptides because of size heterogeneity (ranging from 3 aa to 100 aa). For example, thyrotropin-releasing hormone is a small 3-aa peptide, human adrenomedullin occurs as a 52-aa peptide, and a 98-aa N-terminal propeptide from the atrial natriuretic peptide precursor is found in the circulation. Unlike digested protein fragments used in bottom-up proteomics, C termini of these endogenous peptides are not restricted to specific residues. Furthermore, proteolytic processing leads to the production of peptides containing multiple internal basic residues, for which collision induced dissociation (CID)[1] shows limited performance (5).

From the ‡Department of Molecular Pharmacology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Suita, Osaka 565-8565, Japan

Received January 24, 2012, and in revised form, October 10, 2012
Published, MCP Papers in Press, December 18, 2012, DOI 10.1074/mcp.M112.017400

[1] The abbreviations used are: CID, collision induced dissociation; CgB, chromogranin B; ETD, electron transfer dissociation; GRP, gastrin-releasing peptide; PC, prohormone convertase.

A solution to address this issue in endogenous peptide sequencing might be the use of electron transfer dissociation (ETD) tandem mass spectrometry, which has been shown to provide a more complete series of fragment ions and hence a more confident sequence identification, along with the ability to leave labile post-translational modifications intact (6–10). The benefit of ETD in bottom-up proteomics has been increasingly documented, whereas endogenous peptides remain largely unexplored by ETD, despite the expectation that ETD would improve sequencing for larger peptides. In the few studies on endogenous peptides (11, 12), ETD did not cover large peptides exceeding 5000 Da. Because we have used CID to facilitate the discovery of previously unknown biologically active peptides (3, 13, 14), we were interested to see if ETD would be helpful to identify endogenous peptides that have escaped identification by CID. Here we conducted a large-scale identification of endogenous secretory peptides, ranging from 1000 to 15000 Da, using CID and ETD. We describe the merits of using ETD, in connection with CID, in peptidomics studies. The most significant finding is the identification of a previously unknown peptide, VGF[554–577]-NH_2, which was sequenced solely by ETD. This peptide was found to have antimicrobial activity.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Sample Preparation—The human islet cell line QGP-1 (~1 × 10^7 cells) (15) was stimulated with 10 μM carbachol plus 50 mM potassium chloride in serum-free Hank's balanced solution. Five minutes after stimulation, the medium was harvested to recover released peptides. The supernatant was quickly subjected to solid extraction as previously described (4). The eluate was separated by gel filtration high-performance liquid chromatography (HPLC) to five fractions containing peptides in the approximate *M*, range 1000 to 15000.

Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry—All data were acquired on an LTQ Orbitrap XL instrument equipped with ETD (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA). A nanoFrontier HPLC system (Hitachi, Japan) was connected to the mass spectrometer for liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). About 300 to 500 ng of the peptide mixture was loaded onto a trap column (C18, 75 μm × 100 mm) and separated on a MonoSpray C18 tip (GL Sciences) using a 60-min gradient from 10 to 50% acetonitrile in 0.1% formic acid at a flow rate of 200 nl/min. A protonated ion of polycyclodimethylsiloxane with *m/z* 445.120025 was used for internal calibration throughout. The mass spectrometer alternated between a full FT-MS scan (*m/z* 400–1500) and subsequent MS/MS scans. Scans were all recorded in the Orbitrap with a resolution of 100,000 at *m/z* 400. CID and ETD were performed on separate LC-MS runs. Cations were isolated with an isolation window of 5 *m/z* units and provided on a dynamic exclusion list for 2400 s after selected for at least two MS/MS scans. Singly charged precursors were excluded. Monoisotopic selection was disabled with an exclusion window setting to 1 Da. The four most intense ions were chosen for CID fragmentation. Automatic gain control was used to accumulate sufficient fragment ions (MS/MS target value, 2E5; maximum injection time, 1000 ms). For ETD, the two most intense precursor ions were subjected to MS/MS with an ETD activation time of 90 ms for doubly charged ions. Charge state-dependent activation time was applied. The ETD activation time was optimized for enhancing peptide identification by testing four different periods of time (70, 90, 150, and 200 ms) and also consistent with a previous report conducted on endogenous peptides using an ETD-enabled LTQ-XL (10). Supplemental activation was used for all MS/MS scans (16). ETD spectra were acquired using one microscan per spectrum. Automatic gain control was also used (MS/MS target value, 5E5; fluoranthene, 1E6; maximum fill time, 1500 ms). Samples were not subjected to reductive alkylation. However, an aliquot of the sample was reductive alkylated using dithiothreitol and iodoacetamide to identify peptides derived from chromogranin B (CgB), whose N-terminal region contains two cysteine residues forming a disulfide bond.

Data Analysis and Peptide Identification—Peak picking, deisotoping, and deconvolution of MS/MS spectra were conducted using Mascot Distiller (version 2.2.3) with the default parameters for Orbitrap. Peak lists were searched against NCBI nr human (14,987,464 sequences; 5,132,678,026 residues, as of August 13, 2011) using Mascot (version 2.2.3) with no enzyme specification. Pyroglutamination, C-terminal amidation, N-terminal acetylation, and methionine oxidation were simultaneously allowed as variable modifications. Data were searched with a precursor mass tolerance of 5 ppm and product ion mass tolerance of 50 mmu. Peptides were considered identified with a Mascot expect value of less than 0.05. The false discovery rate for peptide matches above Mascot identity threshold using a decoy database search was 0% in all cases. The highest scored MS/MS spectrum was used to report the score of the unique peptide in supplemental Table S2. The percent fragmentation was calculated as reported (8), with N-terminal proline cleavage also included as a possible fragmentation channel. In Mascot notation, the even-electron c ion corresponds to the b ion plus NH_3. Mascot does not try to match radical c-1 ions, which are usually much weaker. The charged radical z+1 ion is the y ion minus NH_2. Hence, the most abundant z-type ions observed in ETD are radical z+1 and even-electron z+2. For calculating percent fragmentation, z-type ions were counted only once if both z+1 and z+2 ions were assigned by Mascot for a given N-Cα bond.

Peptide Synthesis—Peptides were synthesized by the solid phase method (Sigma Genosys, Japan) using Fmoc (N-(9-fluorenyl) methoxycarbonyl) strategy, purified by reverse phase HPLC, and verified for correct synthesis by MS and amino acid analysis. Peptide purity was confirmed on separate HPLC systems.

Antibody Preparation and Mass Spectrometric Characterization of Immunoreactivity—Cysteinyl C-terminal 13-residue peptide of human VGF[554–577]-NH_2 (CHYHHALPPSRHYP-NH_2) was conjugated with maleimide-activated keyhole limpet hemocyanin (Thermo Fisher Scientific). Rabbits were immunized every 3 weeks with the conjugate emulsified with Freund's complete adjuvant. Antiserum (#529–6) was characterized in a radioimmunoassay system (dilution 1/900,000, IC50 = 8 fmol/tube), which completely crossreacted with VGF[554–577]-NH_2 but showed no crossreactivity with VGF[554–578] or VGF[554–583]. Furthermore, ten C-terminally amidated peptides (human calcitonin gene-related peptide[23–37]-NH_2, pig neuromedin U-8, neurokinin A, vasopressin, human adrenomedullin[22–52]-NH_2, human calcitonin, pig peptide histidine isoleucine, ovine corticotropin-releasing factor, proadrenomedullin N-terminal 20-amino acid peptide, calcitonin receptor stimulating peptide-1[24–28]-NH_2) showed less than 0.01% cross reactivity up to 100 pmol/tube. Cell culture supernatant was immunorecipitated with the antibody and analyzed on a surface-enhanced laser desorption and ionization mass spectrometer as described (17).

Antibacterial and Antifungal Activity Assay—Each test peptide (up to 10 μM) was assessed with the target microbes *Enterococcus hirae* (*E. hirae*), *Micrococcus luteus* (*M. luteus*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 209P, *S. saprophyticus* KD, *Escherichia coli* (*E. coli*) B, *E. coli* K12, *E. coli* kp, and *Pichia pastoris* (*P. pastoris*) GS115 using Alamar-Blue™ (BioSource International, Camarillo, CA) (14, 18). The optimal growth temperature was 30 °C for *M. luteus*, *S. saprophyticus* KD and

-30-

P. pastoris GS115 and 37 °C for the other microbes. After growth in 3% tryptosoy broth (Eiken Chemical, Tokyo, Japan) for 16 h with shaking at each optimal temperature, cells were washed twice with 10 mM phosphate buffer, pH 7.0, and diluted to 8×10^5 colony-forming units/ml in the same buffer. Twenty-five microliters of bacterial suspension were mixed with an equal volume of sample in the absence or presence of peptides, and incubated for 1 h. After incubation, 200 μl of 3% tryptosoy broth containing 10% alamarBlue™ was added to the reaction mixture and further incubated for the period of time shown in parentheses: *E. hirae*, *S. aureus* 209P and *E. coli* B (4 h), *E. coli* K12 and *E. coli* kp (6 h), *M. luteus* (7 h), *S. saprophyticus* KD (7.5 h), and *P. pastoris* GS115 (20 h). Aliquots containing all assay reagents without microbes were used as blank. After incubation, the reactions were monitored by absorbance at 569 and 600 nm. Molar extinction coefficients of OD_{569} and OD_{600} in the oxidative condition are 80586 and 117216. Viability (%) was expressed using the following formula: viability (%) = (117216 × OD_{569} − 80586 × OD_{600} with peptide/117216 × OD_{569} − 80586 × OD_{600} without peptide) × 100. The classical colony formation assay was performed on *M. luteus*, *E. coli* K12 and *P. pastoris* GS115 as described (18). Cathelicidin and β-defensin-2 (Peptide Institute, Osaka, Japan) were used as control.

RESULTS

We studied a complex mixture of peptides secreted by cultured human endocrine cells that received an exocytotic stimulus. The culture supernatant was harvested 5 mins after stimulation and separated by gel filtration HPLC to five fractions containing peptides in the approximate M_r range 1000 to 15000. LC-MS/MS was performed in duplicate for each fraction on an LTQ-Orbitrap equipped with ETD. For comparison, the same sample was independently analyzed by CID in duplicate runs. Both MS and MS/MS scans were recorded with Orbitrap to ensure sequencing of highly charged peptide ions ($z>4$). The high mass accuracy and resolution enabled by Orbitrap allowed searching the human NCBI nr database with no enzyme specification and acquire significant data, and despite this broad search space the false discovery rate for peptide matches above the identity threshold using a Mascot automatic decoy database search was 0%.

In a total of 20 runs, 2311 and 1733 peptides (including redundant identifications) were identified by CID and ETD, respectively. In Table I, these peptides were sorted according to precursor charge states and fragmentation methods. No peptide was identified using ETD of doubly charged ions although supplemental activation was applied. Aside from this, there was no apparent difference in charge distribution between CID and ETD. More than two-thirds of the peptides were quadruply or more highly charged (69% for CID and 76% for ETD). This charge distribution is skewed, relative to that commonly observed with digested peptides used in bottom-up proteomics, most of which are doubly or triply charged ions. To assess the degree of peptide dissociation, we calculated the percent fragmentation values, defined by Coon *et al.* (8) as the number of observed fragment ions (b- and y-type ions for CID and c- and z-type ions for ETD), for a peptide sequence, divided by the total theoretically possible number of fragment ions. The percent fragmentation was

TABLE I
Total peptide identifications sorted by fragmentation method and precursor charge state

Precursor charge state	CID	ETD
+2	252	0
+3	454	417
+4	451	449
+5	431	300
+6	398	299
+7	220	146
+8	77	60
+9	14	16
+10	6	15
+11	4	23
+12	3	7
+13	1	0
+14	0	1
Total	2311	1733

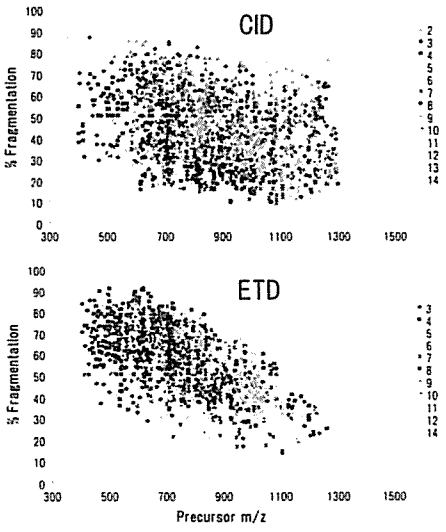


FIG. 1. **Percent fragmentation, defined as the number of observed fragment ions divided by the theoretical number of fragment ions, plotted against precursor *m/z*.** Plotted data are from 2311 CID-identified and 1733 ETD-identified peptides.

plotted as a function of *m/z* values of the identified precursors (Fig. 1, supplemental Table S1). In CID, charge states and precursor *m/z* values showed little influence on percent fragmentation. Consistent with the previous study (8, 10), ETD percent fragmentation was decreased as precursor ion *m/z* increases regardless of charge state. Although surpassed by CID in the overall number of identification, ETD provided more extensive fragmentation; nearly 12% of the ETD-identified

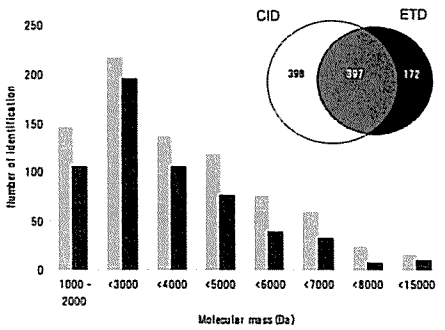


FIG. 2. **Mass distribution of CID- and ETD-identified peptides.** Only unique peptides were counted. (Inset) Venn diagram illustrating the number of unique peptides identified by CID and ETD.

peptides have percent fragmentation values greater than 75, as compared with 2% of the CID-identified peptides.

After removing redundant identifications caused by either peptide overlaps between two adjacent gel filtration fractions or ionization of the same peptide into different charge states, we concluded that CID and ETD elucidated 795 and 569 unique peptides, respectively, with the overlap being 397 (Fig. 2, supplemental Table S2). Peptides larger than 3000 Da accounted for 54 and 46% in CID and ETD identifications, respectively. Notably, nearly 96% of the peptides arose from secretory precursor proteins. Judged by the number of peptides, our analyte appeared to contain relatively large amounts of VGF and chromogranin B (CgB) (supplemental Table S2). They contain multiple pairs of basic residues, some of which have been described as cleavage sites for processing to biologically active peptides (2, 19).

The identified peptides derived from VGF and CgB were aligned to each precursor sequence and illustrated in Fig. 3. They are shown by gray (CID) and black (ETD) lines and stacked to highlight potential processing sites. Multiple lines of the same length indicate redundant identifications. By inspecting the cleavage sites revealed by these lines, we inferred primary processing sites that involve at least one basic residue (dotted lines, Fig. 3). The VGF sequence was almost completely covered by clusters of peptides sharing N termini or C termini, whereas CgB showed less coverage. No peptide was ascribed to the signal sequence. Previously, a limited number of VGF-derived peptides were reported in peptidomics work on human cerebrospinal fluid using CID (20–22). We conducted a more detailed study by analyzing the culture supernatant from a human endocrine cell line and tissue extracts in normal rat brain and gut (3, 4, 23). In earlier work, several CgB-derived peptides have been isolated from extracts of human pheochromocytoma and neuroendocrine tumors (24–26). The specific processing sites that have been proposed by those studies are indicated in Fig. 3. Although differences in species and tissue sources should be taken into account, these sites extensively overlap the potential processing sites revealed by the present study.

On close inspection some peptides were identified solely by ETD, an example of which is VGF[554–577]-NH_2 (Fig. 3, supplemental Table S2). This C-terminally amidated peptide underwent extensive fragmentation at every possible N-Cα bond except the Pro-Ser (positions 572–573), whereas CID showed poor fragmentation (Fig. 4). The lack of ETD cleavage N-terminal to proline is consistent with the previous work on proline-containing synthetic peptides (7). In triplicate analyses, this peptide, detected as quadruply and pentuply charged ions, had a percent fragmentation of 54 to 61% and 56 to 63%, respectively. It might be noteworthy that N-terminally truncated 13- and 14-residue peptides sharing the C-terminal amide structure were solely identified by CID. Antibody specifically recognizing the amide structure was generated to characterize major peptide forms. Major peptides immunoprecipitated with the antibody from the culture supernatant had the molecular masses corresponding to the theoretical masses of VGF[554–577]-NH_2 and [565–577]-NH_2 (supplemental Fig. S1). Similar results were obtained with the supernatant from the human medullary thyroid carcinoma cell line TT (data not shown). We thus concluded that these two peptides represent major processing products.

The three consecutive arginine residues in VGF[554–577]-NH_2 prompted us to test antimicrobial activity, along with the related peptides (Table II). VGF[554–583], identified in the present study, was tested because it was C-terminally flanked by the dibasic residues that correspond to the N-terminal processing site of VGF[586–615]/AQEE-30 (Fig. 3a). VGF[554–577]-NH_2 showed antimicrobial activity against *M. luteus* and *P. pastoris*, comparable to the established antimicrobial peptides β-defensin-2 and cathelicidin, whereas C-terminally extended VGF[554–578] and [554–583] were less potent. Up to the concentrations tested, VGF[565–577]-NH_2 was not active against any of the test microbes (Table II and Fig. 5). To examine whether VGF[554–577]-NH_2 is bactericidal or just bacteriostatic, we performed a classical colony formation assay. It has been established that the bactericidal peptide concentration revealed by classical colony formation assays and the alamarBlue™ assay shows a good agreement (17). The peptide showed strong antimicrobial activity in the colony assay with IC_{50} of 1.9 and 1.4 μM against *M. luteus* and *P. pastoris*, respectively (data not shown), indicating that it is bactericidal.

It remains a challenge to pinpoint a post-translationally modified site among multiple candidate sites in a sequence, because informative fragment ions for unequivocal localization are not always observed in MS/MS spectra. A total of 13 phosphopeptides were identified using CID and ETD without any phosphopeptide enrichment procedure (Table III). As a consequence, five unique modified sites were identified from six peptides, of which Ser130 of CgB identified in 4684.98-Da

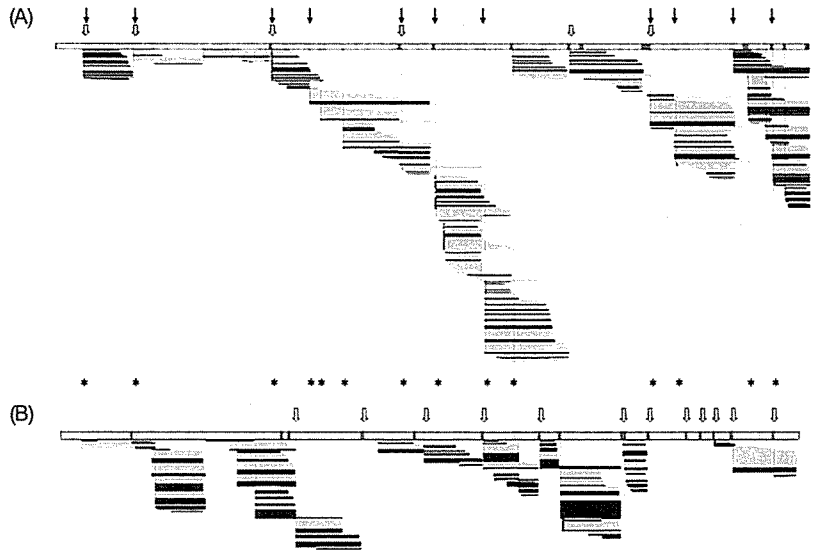


FIG. 3. **Identified peptides derived from VGF (GI: 17136078) (*A*) and CgB/secretogranin-1 (GI: 36439) (*B*).** Gray lines, CID-identified peptides; black lines, ETD-identified peptides. Red boxes, pyroglutamination; yellow boxes, C-terminal amidation. Note that the maps include redundant identifications, excluding oxidized methionine-containing peptides. Processing sites proposed by previous studies in human VGF (20–22) and human CgB (2, 24–26) are indicated by open arrows above the precursor sequence. In (*A*), arrows indicate processing sites identified in rat brain studies (13, 23). Asterisks indicate processing sites proposed in our previous peptidomics study of a different human endocrine cell line (3). Processing sites inferred from the present study are shown in vertical dotted lines. Magenta bars, consecutive basic residues. Pale magenta bars, single basic residues.

and 5067.25-Da peptides and Ser64 of the calcitonin precursor identified in 6297.01-Da peptide have not previously been described. Two phosphorylation sites in CgB, Ser335 of 6109.65-Da and Ser617 of 7049.27-Da peptides, were previously described (27), but represent fortuitous cases where CID, rather than ETD, allowed successful identification. Ser405 of the CgB 3730.65-Da peptide, previously determined as a phosphorylation site through conventional techniques (26), was confidently reconfirmed by ETD (supplemental Fig. S2). We got evidence that the VGF- and secretogranin II-derived peptides are phosphorylated, but failed to localize modified sites.

Except for phosphopeptides, the unique peptide sequences listed in supplemental Table S2 excluded any peptide for which the second-ranked sequence also has a Mascot expectation value of 0.05 or lower. However, we encountered one exceptional case; CID of a positively charged ion (+6) with *m/z* 808.24 resulted in the identification of the amidated peptide from gastrin-releasing peptide (GRP) isoform 1 preproprotein[95–139]-NH_2 (calculated monoisotopic mass 4843.377), with a Mascot score of 120 (expt. 3.5E-08). Ranked second was the peptide from GRP isoform 2 preproprotein[95–138] (calculated monoisotopic mass 4843.369), with a score of 96 close to the top (expt. 9.1E-06). The two peptides share N-terminal 27 residues but have alternatively spliced C-terminal halves (Fig. 6). The fragment ions produced by CID were preferentially observed the N-terminal region so that distinguishing these two possibilities was difficult. In ETD, the first rank was the peptide from GRP isoform 1 (score 289, expt. 4.5E-25) and the second was from GRP isoform 2 (score 82, expt. 0.00022). Although both hits still exceed a stringent threshold (expectation < 0.001, rather than a default value of 0.05), we concluded that this peptide arises from the isoform 1 because of the extensive matching to theoretical ions (Fig. 6). It might be worth mentioning that GRP isoform 1 preproprotein[54–139]-NH_2 (calculated monoisotopic mass 9514.789), which is N-terminally adjacent to the amidation motif of neuromedin C, was also identified by CID (supplemental Fig. S2).

DISCUSSION

We have shown that mass spectrometric analysis of endogenous secretory peptides provides a basis for identifying biologically active peptides (3, 13, 14). In the present study, our immediate interest is to uncover endogenous peptides that escape identification by CID. Endogenous peptides remain largely unexplored by ETD or electron capture dissociation, whose performance for such peptides has not been thoroughly characterized. ETD was used on a low-end ion trap mass spectrometer to characterize venom peptides extracted from a marine snail (28), resulting in a fraction of small peptides (less than 3000 Da) being sequenced. Shen *et al.* recently used the same instrumentation as ours to improve endogenous peptide identification, but identified peptides came from doubly to quadruply charged ions in most cases (12). Thus little is known at present about the ability of ETD to dissociate endogenous peptides with higher charge states, despite the occurrence of large endogenous peptides (>5000 Da) in larger amounts than previously thought.

It has been generally accepted that ETD is more effective than CID for sequencing highly charged precursors or larger peptides in bottom-up proteomics (6–9). However, our pep-

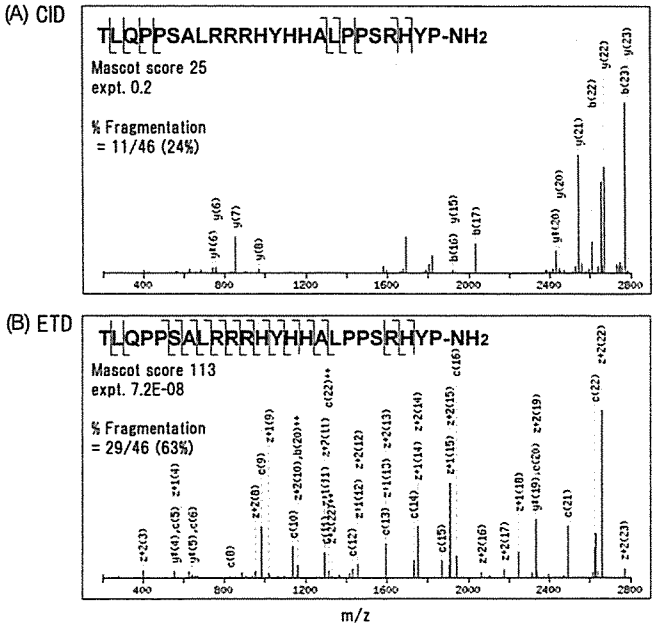


FIG. 4. **Deconvoluted CID (*A*) and ETD (*B*) MS/MS spectra of pentuply charged VGF[554–577]-NH_2.**

TABLE II
Antimicrobial activity assayed by the alamarBlue method. NI, no inhibition up to 10 μM

Peptide	*M. luteus*	*E. coli* K12	*P. pastoris* GS115
VGF[554–577]-NH_2	1.8	NI	4.5
VGF[554–578]	5.6	NI	NI
VGF[554–583]	5.8	NI	NI
VGF[565–577]-NH_2	NI	NI	NI
β-Defensin-2	0.7	5.6	2.6
Cathelicidin	1.3	0.6	3.1

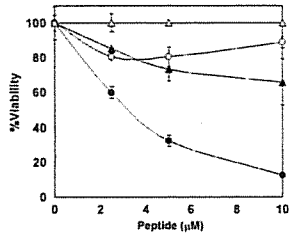


FIG. 5. **Antimicrobial activity of VGF[554–577]-NH_2 and related peptides against *P. pastoris* GS115.** VGF[554–577]-NH_2 (closed circle), [554–583] (closed triangle), [565–577]-NH_2 (open circle) and [554–578] (open triangle) were assayed using alamarBlue.

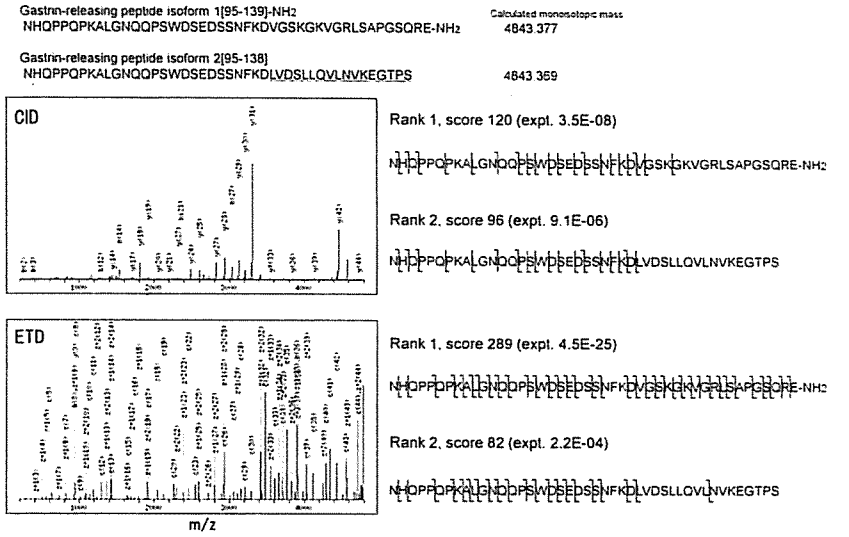


FIG. 6. **Deconvoluted CID and ETD MS/MS spectra of sextuply charged m/z 808.24.** Alternatively spliced exons of the GRP gene produce two nearly isobaric peptides. Residues different from the top peptide are underlined in the lower peptide. Note that the second best matches for both fragmentations are below a Mascot expect value of 0.05, but that ETD showed a wider difference between the best and second best matches because of extensive fragmentations across the sequence.

tidomic data indicate that CID was as potent as ETD in sequencing precursors having charges greater than three, with their proportions being 69% for CID and 76% for ETD. Furthermore, CID appears to be superior to ETD in total identification; 795 peptides for CID *versus* 569 peptides for ETD. For peptides larger than 7000 Da, CID uncovered a larger number of peptides than ETD (39 for CID and 15 for ETD). Good *et al.* reported that a linear decrease in percent fragmentation as a function of increasing precursor *m/z* was noted for ETD, with few peptides having precursor *m/z* values exceeding 850 identified (8). We also observed a similar but less remarkable decline; in our study peptides identified with precursors greater than *m/z* 850 still accounted for 30% (507 of 1733) in the total ETD identification. This difference in ETD performance may be partly explained by the fact that most of our secretopeptidome components have more internal basic residues than *in vitro*-digested proteins. The current limitation in ETD was particularly noted with precursors having higher *m/z* values (*m/z* >1300). Supplemental Fig. S3 shows CID and ETD of two pentuply charged precursors with *m/z* 1324.6 and 1411.7. They were unequivocally identified by CID as 6618.0-Da VGF-derived peptide and 7053.5-Da N-terminal propeptide of the somatostatin precursor, whereas the corresponding ETD spectra were so dominated by charge reduced species that no significant match was obtained.

We provided the most comprehensive data about VGF and CgB processing. Both fragmentation methods complemented each other to highlight potential cleavage sites more clearly than that provided by either alone. Because they represent major components in neuronal secretory vesicles and several peptides identified here have also been described as neuropeptides (2, 19, 29), our findings will contribute to neuropeptide profiling in neuropeptidomics. The VGF processing sites predicted here are consistent with the antibody-assisted biochemical characterization of major processing products in rat brain (23). For instance, the 7400 Da peptide (also known as TLQP-62 (29)) in the rat study corresponds to human VGF[554–615] (calculated monoisotopic mass 7498.98), and rat 15166 Da and 7047 Da peptides recognized by NERP-2 antibody correspond to human VGF[208–347]-NH_2 and VGF[281–347]-NH_2 (calculated monoisotopic mass 14832.74 and 7108.77), respectively.

CgB-derived peptides have been isolated from human pituitary and pheochromocytoma tissues without reference to biological activity or immunoreactivity (2, 24–26), including CgB[217–275], [293–323], [326–385], [334–385], [388–437], [440–513](GAWK), [518–537], [575–585](PE-11), [588–597],

TABLE III
Endogenous phosphopeptide identification

Mascot scores of first to third hits (columns 6 to 8) are accompanied by expectation values shown in parentheses. N-term, N-terminal flanking amino acid ("Signal" indicates that the peptide is flanked by signal sequence); C-term, C-terminal flanking amino acid. Identified phosphorylation sites are marked in bold and underlined. In the last column, the asterisk indicates that either of the two N-terminal serine residues is phosphorylated but not uniquely determined. CT, calcitonin; SgII, secretogranin II.

Method	Precursor m/z (obsd.)	z	M_r (calc.) (Da)	1st Hit	2nd Hit	3rd Hit	N-term	Sequence	C-term	Reference
Unequivocal localization										
CID CgB	1175.887	6	7049.271	94 (1.9E-05)	49 (0.6)	28 (77)	K	SAEPFDPDYDSEEPVSTHDEAENEKDRADQTVLTEDEK	G	(27)
								KELENLAAMDLEQKDAEKFSQR-NH_2		
CID CgB	1222.937	5	6109.646	60 (3.6E-02)	9 (4.5E+03)	6 (8.0E+03)	R	ASEEEPEYGEEIKGYPGVQAPEDLEWERYRGRGS	D	(27)
								EEYRAPRPQSEESWDEE		
CID CgB	845.549	6	5067.250	82 (2.2E-04)	45 (1)	35 (10)	R	LLRDPADASEAHESSSRGEAGAPGEEDIGGPTKA	R	
								DTEKWAEGGGHSRE		
ETD CgB	938.004	5	4684.981	109 (2.9E-07)	60 (0.023)	39 (3.1)	R	DPADASEAHESSSRGEAGAPGEEDIGGPTKADTEK	R	
								WAEGGGHSRE		
ETD CgB	747.137	5	3730.647	136 (6.5E-10)	12 (1.6E+03)	4 (8.7E+03)	R	NYPSLELDKMAHGYGEESEERGLEPGKGRHH	R	(26)
ETD CT	1260.409	5	6297.006	65 (0.016)	42 (3.1)	41 (3.8)	Signal	APFRSALESSPADPATLSEDEARLLLAALVDDYVQM	K	
								KASELEQEQERERGSSLDSPRS		
Ambiguous localization										
ETD CgB	845.006	5	4219.991	139 (4.3E-10)	138 (4.4E-10)	67 (0.0063)	R	GEDSSEEKHLEEPGETQNAFLNERKQASAIKKEELVA	R	(27)*
CID SgII	1138.077	7	7950.485	78 (0.0007/5)	71 (0.003)	71 (0.003)	R	ERMDEEQKLYTDDEDDIYKANNIAYEDVVGGEDWNP	K	
								VEEKQESQTQEEVRDSKENEKKNEQINDEM		
CID SgII	1280.066	6	7674.341	103 (2.5E-06)	95 (1.5E-05)	95 (1.5E-05)	R	MDEEQKLYTDDEDDIYKANNIAYEDVVGGEDWNPV	K	
								EEKIESQTQEEVRDSKENEKKNEQINDEM		
ETD SgII	1030.079	5	5145.363	70 (0.0038)	70 (0.0038)	63 (0.018)	R	ALEVIENLRDQAIKEESSPDYNPYQGVSVPLDQKE	R	
								NGDESHLPE		
CID VGF	1117.343	6	6698.003	108 (7.8E-13)	108 (7.8E-13)	108 (7.8E-13)	R	SQEETPGHRRKEAEGTEEGGEEEDDEEMDPQTIDSL	K	
								IELSTKLHLPADDVSIIEEVEE		
ETD VGF	807.197	5	4030.954	115 (9.2E-08)	105 (8.1E-07)	0.5 (2.5E+04)	Signal	APQGRPEAQPPPLSSEHIKEPVAGDAVPGPKDGS	R	
								APEVRGA		
ETD VGF	937.707	4	3746.794	91 (2.3E-05)	77 (0.0005)	6 (7.0E+03)	Signal	APQGRPEAQPPPLSSEHIKEPVAGDAVPGPKDGSAPEV	R	

[600–613](BAM-1745), and [617–676](CCB). All the peptides but CgB[326–385] were identified in the present study. Flanked by either pairs or groups of basic amino acids, they are considered specific processing products. Despite the presence of potential cleavage sites across the sequence, no peptide has been described in the literature for the N-terminal 216-amino acid region. Our data revealed that the precursor undergoes extensive processing across the entire sequence, including previously reported processing sites (Fig. 3*B*). The reason for the lack of peptide identification for positions 540–572 remains to be elucidated.

Some peptides were solely identified by ETD, including CgB-derived GAWK of 8788.13 Da (24) and VGF[554–577]-NH_2. This C-terminally amidated peptide had escaped MS/MS identification because of poor CID fragmentation in our previous peptidomic survey (3). In the present study, ETD was able to provide an almost complete series of ions to ensure confident identification; it has five proline residues, where cleavage N-terminal to proline is missing in ETD (7). Considering this proline effect, the peptide has 18 theoretically cleavable bonds rather than 23. As shown in Fig. 4, 17 of the 18 bonds were cleaved. Of note, related N-terminally truncated peptides were not revealed by ETD, demonstrating the advantage of using different dissociation techniques. The ability of ETD to cleave peptide backbone across the entire sequence was also demonstrated in distinguishing between the peptides derived from two different isoforms of the neuropeptide GRP gene, again reflecting the merits of ETD in peptidomics. The high mass accuracy and resolution attained by Orbitrap enables discrimination between z+1 and z+2 ions, ensuring in some cases that z+2 matches in Mascot are not 13C isotope peaks of z+1 matches.

In rat brain, TLQP-62/rat VGF[556–617] was originally described as a major peptide recognized by antibody against the protein C terminus (29). The N-terminal 556Thr is 554Thr in human VGF. An appreciable number of the peptides starting with 554Thr were revealed by ETD, including VGF[554–577]-NH_2, [554–583] and [554–615] (Fig. 3*A*). Given the sequence identity between human and rat, the cleavage site (PR ↓ TLQP) may represent a major processing site also in human. These peptides have not been described in peptidomic reports of VGF-derived peptides (3, 20–22). On the other hand, the C-terminal cleavage site has recently been described through MS/MS identification of VGF[565–577]-NH_2 (3). Because 574RHYPGR579 agrees with the consensus motif for prohormone convertase (PC) 1/3 or 2 ((K/R)-(X)$_n$ -(K/R) ↓ , where n = 0, 2, 4, or 6 and X is any amino acid other than Cys) (30) and is nested by a canonical amidation signal of 578GR579, generation of the amidated peptides can be explained by the general rule of proteolytic processing in the regulated secretory pathway (30). This is also supported by the fact that the complete set of enzymes involved in C-terminal amidation, PC1/3 or 2, carboxypeptidase E, and peptidylglycine α-amidating monooxygenase were expressed by the cell line used (not shown).

VGF[554–577]-NH_2 showed antimicrobial activity against *M. luteus* and *P. pastoris*, comparable to major antimicrobial peptides β-defensin-2 and cathelicidin. The N-terminal 11 residues are considered essential for activity, because N-terminally truncated VGF[565–577]-NH_2 was inactive. In addition, the decreased activity observed with the two C-terminally extended peptides suggests that the C-terminal amide structure is important as well. It is known that amidated C termini, rather than common carboxyl termini, help to enhance electrostatic interactions between the peptide and a target bacterial membrane (31). This may also be the case with this peptide. The amidation motif is not found in rodent VGF sequences, but shared by primates (supplemental Fig. S1C), suggesting that the peptide is assigned some biological role unique to primates.

We were able to identify phosphopeptides of intermediate size (3500 to 8000 Da). Two phosphorylation sites, not described in the literature, were unequivocally localized. Of note, all but one (6109.65-Da peptide) of the 13 peptides were both N-terminally and C-terminally flanked by previously reported signal sequence cleavage sites or PC1/3 or PC2 consensus sites, strongly suggesting that they are bona fide secretory phosphopeptides. Although not explored, phosphorylated peptides quickly released via exocytosis may have some functional roles in the nervous and endocrine systems. Because larger peptides lead to less confident identification of modification sites than smaller peptides, ETD parameters should be further optimized. We conclude that CID and ETD complement each other to advance our understanding of endogenous peptides, which has received limited attention in the proteomics community.

Acknowledgments—We thank Professor Toshifumi Takao (Osaka University, Japan) for his advice on peptide identification by LC-MS/MS. We also thank Junko Kimata, Makoto Takahata, and Morihiko Yoshida (Thermo Fisher Scientific, Japan) for their technical assistance in ETD studies, Itaru Usami and John Cottrell (Matrix Science, United Kingdom) for their help with Mascot, and Masako Matsubara (National Cerebral and Cardiovascular Center) for data analysis.

* This study was supported in part by the Intramural Research Fund of the National Cerebral and Cardiovascular Center, a Health Labor Sciences Research Grant from The Ministry of Health Labor and Welfare, and a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science.

S This article contains supplemental Tables S1 and S2 and Figs. S1 to S3.

¶ Present address, Department of Molecular Patho-Biochemistry and Patho-Biology of Hematology and Circulation, Yamagata University School of Medicine, 2-2-2 Iida-Nishi, Yamagata, Yamagata 990-9585, Japan.

§ To whom correspondence should be addressed: Department of Molecular Pharmacology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan. Tel.: +81 6 6833 5004; Fax: +81 6 6835 5349; E-mail: ksasaki@ri.ncvc.go.jp.

REFERENCES

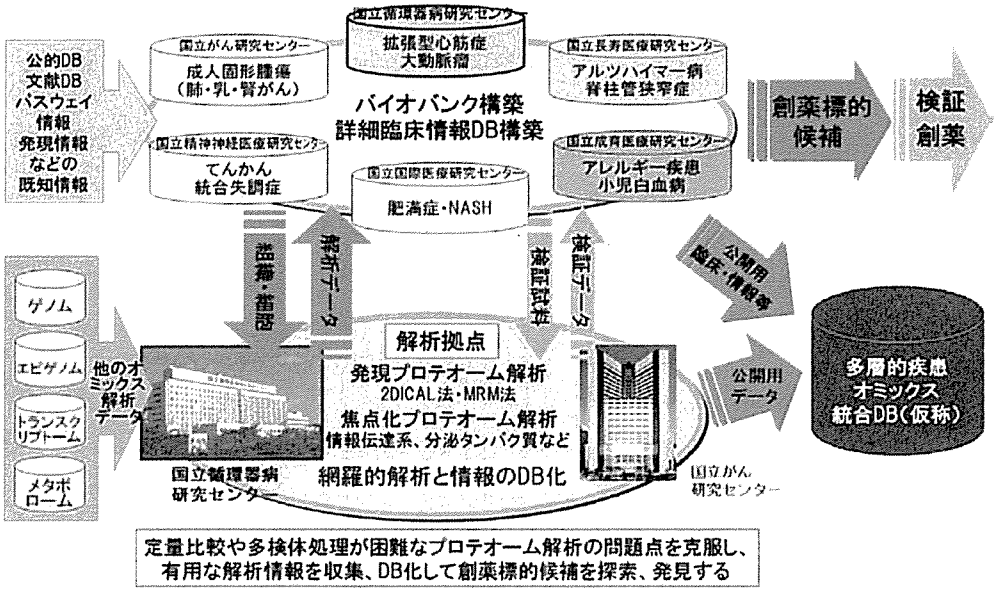
1. Fricker, L. D. (2005) Neuropeptide-processing enzymes: applications for drug discovery. *AAPS J.* **7,** E449–455
2. Stridsberg, M., Eriksson, B., Oberg, K., and Janson, E. T. (2005) A panel of 13 region-specific radioimmunoassays for measurements of human chromogranin B. *Regul. Pept.* **125,** 193–199
3. Sasaki, K., Takahashi, N., Satoh, M., Yamasaki, M., and Minamino, N. (2010) A peptidomics strategy for discovering endogenous bioactive peptides. *J. Proteome Res.* **9,** 5047–5052
4. Sasaki, K., Satomi, Y., Takao, T., and Minamino, N. (2009) Snapshot peptidomics of the regulated secretory pathway. *Mol. Cell. Proteomics* **8,** 1638–1647
5. Tabb, D. L., Huang, Y., Wysocki, V. H., and Yates, J. R., 3rd (2004) Influence of basic residue content on fragmentation ion peak intensities in low-energy collision-induced dissociation spectra of peptides. *Anal. Chem.* **76,** 1243–1248
6. Syka, J. E., Coon, J. J., Schroeder, M. J., Shabanowitz, J., and Hunt, D. F. (2004) Peptide and protein sequence analysis by electron transfer dissociation mass spectrometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101,** 9528–9533
7. Mikesh, L. M., Ueberheide, B., Chi, A., Coon, J. J., Syka, J. E., Shabanowitz, J., and Hunt, D. F. (2006) The utility of ETD mass spectrometry in proteomic analysis. *Biochim Biophys Acta.* **1764,** 1811–1822
8. Good, D. M., Wirtala, M., McAlister, G. C., and Coon, J. J. (2007) Performance characteristic of electron transfer dissociation mass spectrometry. *Mol. Cell. Proteomics* **24,** 517–533
9. Molina, H., Horn, D. M., Tang, N., Mathivanan, S., and Pandey, A. (2007) Global proteomic profiling of phosphopeptides using electron transfer dissociation tandem mass spectrometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104,** 2199–2204
10. Good, D. M., and Coon, J. J. (2009) Mass spectrometric analysis of body fluids for biomarker discovery. *Methods Mol. Biol.* **566,** 277–291
11. Hui, L., Cunningham, R., Zhang, Z., Cao, W., Jia, C., and Li, L. (2011) Discovery and characterization of the Crustacean hyperglycemic hormone precursor related peptides (CPRP) and orcokinin neuropeptides in the sinus glands of the blue crab *Callinectes sapidus* using multiple tandem mass spectrometry techniques. *J. Proteome Res.* **10,** 4219–4229
12. Shen, Y., Tolić, N., Purvine, S. O., and Smith, R. D. (2012) Improving collision induced dissociation (CID), high energy collision dissociation (HCD), and electron transfer dissociation (ETD) Fourier transform MS/MS degradome-peptidome identifications using high accuracy mass information. *J Proteome Res.* **11,** 668–677
13. Yamaguchi, H., Sasaki, K., Satomi, Y., Shimbara, T., Kageyama, H., Mondal, M. S., Toshinai, K., Date, Y., González, L. J., Shioda, S., Takao, T., Nakazato, M., and Minamino N. (2007) Peptidomic identification and biological validation of neuroendocrine regulatory peptide-1 and -2. *J. Biol. Chem.* **282,** 26354–26360
14. Osaki, T., Sasaki, K., and Minamino, N. (2011) Peptidomics-based discovery of an antimicrobial peptide derived from insulin-like growth factor-binding protein 5. *J. Proteome Res.* **10,** 1870–1880
15. Iguchi, H., Hayashi, I., and Kono, A. (1990) A somatostatin-secreting cell line established from a human pancreatic islet cell carcinoma (somatostatinoma): release experiment and immunohistochemical study. *Cancer Res.* **50,** 3691–3693
16. Swaney, D. L., McAlister, G. C., Wirtala, M., Schwartz, J. C., Syka, J. E., and Coon, J. J. (2007) Supplemental activation method for high-efficiency electron-transfer dissociation of doubly protonated peptide precursors. *Anal. Chem.* **79,** 477–485
17. Sasaki, K., Sato, K., Akiyama, Y., Yanagihara, K., Oka, M., and Yamaguchi, K. (2002) Peptidomics-based approach reveals the secretion of the 29-residue COOH-terminal fragment of the putative tumor suppressor protein DMBT1 from pancreatic adenocarcinoma cell lines. *Cancer Res.* **62,** 4894–4898
18. Osaki, T., Omotezako, M., Nagayama, R., Hirata, M., Iwanaga, S., Kasahara, J., Hattori, J., Ito, I., Sugiyama, H., and Kawabata, S. (1999) Horseshoe crab hemocyte-derived antimicrobial polypeptides, tachystatins, with sequence similarity to spider neurotoxins. *J. Biol. Chem.* **274,** 26172–26178
19. Levi, A., Ferri, G. L., Watson, E., Possenti, R., and Salton, S. R. (2004) Processing, distribution, and function of VGF, a neuronal and endocrine peptide precursor. *Cell Mol. Neurobiol.* **24,** 517–533
20. Selle, H., Lamerz, J., Buerger, K., Dessauer, A., Hager, K., Hampel, H., Karl, J., Kellmann, M., Lannfelt, L., Louhija, J., Riepe, M., Rollinger, W., Tumani, H., Schrader, M., and Zucht, H. D. (2005) Identification of novel biomarker candidates by differential peptidomics analysis of cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **8,** 801–806
21. Huang, J. T., Leweke, F. M., Oxley, D., Wang, L., Harris, N., Koethe, D., Gerth, C. W., Nolden, B. M., Gross, S., Schreiber, D., Reed, B., and Bahn, S. (2006) Disease biomarkers in cerebrospinal fluid of patients with first-onset psychosis. *PLoS Med.* **3,** e428
22. Zougman, A., Pilch, B., Podtelejnikov, A., Kiehntopf, M., Schnabel, C., Kumar, C., and Mann, M. (2008) Integrated analysis of the cerebrospinal fluid peptidome and proteome. *J. Proteome Res.* **7,** 386–399
23. Mishiro-Sato, E., Sasaki, K., Matsuo, T., Kageyama, H., Yamaguchi, H., Date, Y., Matsubara, M., Ishizu, T., Yoshizawa-Kumagaye, K., Satomi, Y., Takao, T., Shioda, S., Nakazato, M., Minamino, N. (2010) Distribution of neuroendocrine regulatory peptide-1 and -2, and proteolytic processing of their precursor VGF protein in the rat. *J. Neurochem.* **114,** 1097–1106
24. Benjannet, S., Leduc, R., Lazure, C., Seidah, N. G., Marcinkiewicz, M., and Chrétien, M. (1985) GAWK, a novel human pituitary polypeptide: isolation, immunocytochemical localization and complete amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **126,** 602–609
25. Conlon, J.M., Hamberger, B., and Grimelius, L. (1992) Isolation of peptides arising from the specific posttranslational processing of chromogranin A and chromogranin B from human pheochromocytoma tissue. *Peptides* **13,** 639–644
26. Dahma, H., Gouriet, P., Vandermeers, A., Vandermeers-Piret, M. C., and Robberecht, P. (2001) Evidence that the chromogranin B fragment 368–418 extracted from a pheochromocytoma is phosphorylated. *Peptides* **22,** 1491–1499
27. Beranova-Giorgianni, S., Zhao, Y., Desiderio, D. M., and Giorgianni, F. (2006) Phosphoproteomic analysis of the human pituitary. *Pituitary* **9,** 109–120
28. Ueberheide, B. M., Fenyö, D., Alewood, P. F., and Chait, B. T. (2009) Rapid sensitive analysis of cysteine rich peptide venom components. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106,** 6910–6915
29. Bartolomucci, A., Possenti, R., Mahata, S. K., Fischer-Colbrie, R., Loh, Y. P., and Salton, S. R. (2011) The Extended Granin Family: Structure, Function, and Biomedical Implications. *Endocr. Rev.* **32,** 755–797
30. Cameron, A., Apletalina, E. V., and Lindberg, I. (2002) The enzymology of PC1 and PC2, in *The Enzymes* (Dalby, R. E., and Sigman, D. S., eds) pp. 291–328, Academic Press, New York, NY
31. Dos Santos Cabrera, M. P., Arcisio-Miranda, M., Broggio Costa, S. T., Konno, K., Ruggiero, J. R., Procopio, J., and Ruggiero Neto, J. (2008) Study of the mechanism of action of anoplin, a helical antimicrobial decapeptide with ion channel-like activity, and the role of the amidated C-terminus. *J. Pept. Sci.* **14,** 661–669

多層的疾患オミックス解析研究：拡張型心筋症、大動脈瘤

当センターは、拡張型心筋症と大動脈瘤を対象疾患とし、プロテオーム解析拠点として研究に参加。分子薬理部と研究所、病院、基盤センターの多部門が研究に参加。

健康長寿社会の実現は国民の最大の願いである。その障害となる心血管疾患、がん、アレルギー疾患、認知症、肥満症、アルツハイマー病等を対象に、ゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム・エピゲノム・メタボロームのオミックス解析技術を駆使して革新的な創薬標的候補分子の発見を目指す。本研究では、国立高度専門医療研究センターとオミックス解析研究者とが同一試料を用いて解析を行い、疾患発症や病態形成の機序に基づく新しい創薬標的候補分子を探索する。得られた情報はデータベースに収録、公開し、創薬研究の推進に活用される予定である。

当センターでは拡張型心筋症と大動脈瘤を対象疾患に、組織試料や臨床情報を収集すると共に、プロテオーム解析研究の代表解析拠点として解析を実施している。研究所分子薬理部では、収集された組織試料について、2DICAL 法を用いた発現プロテオーム解析、リン酸化プロテオーム解析を実施し、治療法や診断法の開発に利用できる創薬標的候補タンパク質の発見を目指す（図参照）。他のオミックス解析は、試料を各解析拠点に提出し、解析データの返還を受ける。当センター研究所、病院、基盤センターでは、プロテオーム解析や他の4種のオミックス解析データと臨床情報、病理情報との比較解析を行い、創薬標的候補となる遺伝子やタンパク質、分子経路を発見し、その機能や疾患発症との関係、創薬標的としての意義などを明らかにする。



プロテオーム解析を中心とした多層的疾患オミックス解析研究の概要

23 年度から研究所、病院が一体となり、本格的な試料や情報の収集を開始し、24 年度末までに拡張型心筋症 25 症例、大動脈瘤症 98 例の収集を行った。24 年度からは解析のデータが出始め、オミックス解析データの統合解析により、複数の解析で相関する新たな変動タンパク質、遺伝子が数多く見出されると共に、エピゲノム変異によるタンパク質・遺伝子の発現変動の可能性も示唆された。また、拡張型心筋症においては、解糖系をはじめとするエネルギー産生系の著しい機能低下がプロテオーム、メタボローム解析結果より相補的に示され、これらが治療標的となる可能性も示唆された。プロテオーム解析拠点として他機関から提供された肥満症の脂肪組織、アレルギー疾患検体の解析も推進している。

The sphingosine-1-phosphate transporter Spns2 expressed on endothelial cells regulates lymphocyte trafficking in mice

Shigetomo Fukuhara,[1] Szandor Simmons,[2,3] Shunsuke Kawamura,[2,3] Asuka Inoue,[4] Yasuko Orba,[5] Takeshi Tokudome,[6] Yuji Sunden,[7] Yuji Arai,[8] Kazumasa Moriwaki,[9] Junji Ishida,[10] Akiyoshi Uemura,[9] Hiroshi Kiyonari,[11] Takaya Abe,[11] Akiyoshi Fukamizu,[10] Masanori Hirashima,[9] Hirofumi Sawa,[5] Junken Aoki,[4] Masaru Ishii,[2,3] and Naoki Mochizuki[1]

[1]Department of Cell Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan. [2]Laboratory of Cellular Dynamics, World Premier International Research Center–Immunology Frontier Research Center, Osaka University, Osaka, Japan. [3]Japan Science and Technology, Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Tokyo, Japan. [4]Laboratory of Molecular and Cellular Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Miyagi, Japan. [5]Department of Molecular Pathobiology, Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control, Sapporo, Japan. [6]Department of Biochemistry, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan. [7]Laboratory of Comparative Pathology, Hokkaido University School of Veterinary Medicine, Sapporo, Japan. [8]Department of Molecular Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan. [9]Division of Vascular Biology, Department of Physiology and Cell Biology, Kobe University Graduate School of Medicine, Hyogo, Japan. [10]Life Science Center, Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan, and Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan. [11]Laboratory for Animal Resources and Genetic Engineering, RIKEN Center for Developmental Biology, Hyogo, Japan.

The bioactive lysophospholipid mediator sphingosine-1-phosphate (S1P) promotes the egress of newly formed T cells from the thymus and the release of immature B cells from the bone marrow. It has remained unclear, however, where and how S1P is released. Here, we show that in mice, the S1P transporter spinster homolog 2 (Spns2) is responsible for the egress of mature T cells and immature B cells from the thymus and bone marrow, respectively. Global *Spns2*-KO mice exhibited marked accumulation of mature T cells in thymi and decreased numbers of peripheral T cells in blood and secondary lymphoid organs. Mature recirculating B cells were reduced in frequency in the bone marrow as well as in blood and secondary lymphoid organs. Bone marrow reconstitution studies revealed that Spns2 was not involved in S1P release from blood cells and suggested a role for Spns2 in other cells. Consistent with these data, endothelia-specific deletion of *Spns2* resulted in defects of lymphocyte egress similar to those observed in the global *Spns2*-KO mice. These data suggest that Spns2 functions in ECs to establish the S1P gradient required for T and B cells to egress from their respective primary lymphoid organs. Furthermore, Spns2 could be a therapeutic target for a broad array of inflammatory and autoimmune diseases.

Introduction

Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a bioactive lysophospholipid mediator that plays a crucial role in diverse physiological functions, such as lymphocyte trafficking, vascular development, and inflammation (1–5). S1P exerts biological functions mostly through activating cell-surface G protein–coupled receptors S1P1–S1P5, while intracellular S1P is also known to act as a second messenger to regulate inflammation (6). It remains unclear how intracellular S1P is transported to the outside of the cells to activate S1P receptors expressed on the cells.

The activation of S1P1 signaling in lymphocytes by S1P has been shown to promote the egress of newly formed T cells from the thymus and that of mature T and B cells from secondary lymphoid organs such as spleen and lymph nodes (7–10). An immunosuppressive molecule, FTY720, produces peripheral lymphopenia by blocking the lymphocyte egress from the thymus and lymph nodes. Interestingly, FTY720 was found to elicit the immunosuppressive effect by functionally antagonizing the S1P/S1P1 signaling pathway (8, 11–13). In fact, this compound has been recently approved by the United States Food and Drug Administration for treatment of autoimmune diseases (14). In addition, S1P/S1P1 receptor signals direct the release of immature B cells from the bone marrow to the peripheral blood (15, 16).

The concentration of S1P is abundant in circulatory fluids, such as blood and lymph (~μM), whereas it is normally kept low in the lymphoid tissues (~nM) by S1P-degrading enzymes that include lipid phosphate phosphatase 3 (17, 18). However, it has been suggested that this concentration difference of S1P is required but not sufficient for lymphocyte egress from lymphoid tissues into the circulation (9), implying the significance of S1P gradient made in lymphoid tissues. Consistently, S1P produced by neural crest–derived perivascular cells is required for efficient T cell egress (19). Moreover, lymphatic ECs release S1P, which is necessary for lymphocyte egress from lymph nodes into lymph (20). However, it is still unclear how B and T cell egress from the primary lymphoid organs and which cells release S1P that promotes the egress of these cells.

S1P is generated inside of the cell by phosphorylation of sphingosine in a reaction catalyzed by sphingosine kinase 1 and 2, 2 closely related isozymes, and is exported toward the outside of the cell to stimulate its cell-surface receptors (21, 22). Release of S1P is observed in a variety of cells, such as platelets, erythrocytes, mononuclear cells, neutrophils, mast cells, and ECs (3, 21–28). In vitro analyses have revealed that ABC transporters mediate S1P release in several types of cells, such as mast cells, erythrocytes, platelets, breast cancer cells, and

Conflict of interest: The authors have declared that no conflict of interest exists.
Citation for this article: *J Clin Invest.* 2012;122(4):1416–1426. doi:10.1172/JCI60746.

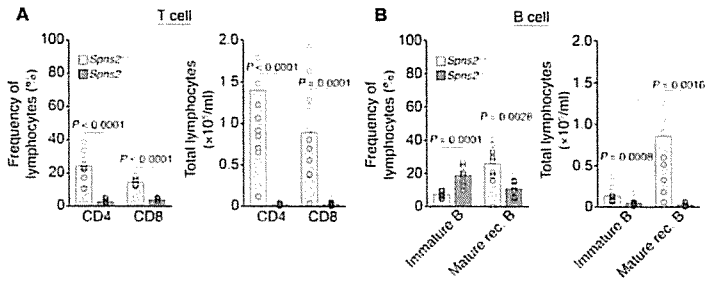


Figure 1
Mature T and recirculating mature B lymphocytes are remarkably reduced in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A** and **B**) Flow cytometric analyses of control (*Spns2*$^{+/+}$) and global *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A**) Frequencies (left) and total numbers (right) of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in peripheral blood are shown ($n = 11$). (**B**) Frequencies (left) and total numbers (right) of immature B cells (CD19$^+$CD23$^-$IgD$^-$IgM$^+$, immature B) and mature recirculating B cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$, Mature rec. B) in peripheral blood are shown ($n = 11$). In **A** and **B**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

astrocytes (24, 29–32). We and others have identified the S1P transporter spinster homolog 2 (Spns2) as an S1P transporter in zebra fish (33, 34). However, the physiological functions of Spns2 in mammals remain totally unknown. Furthermore, S1P transporters responsible for S1P-mediated lymphocyte trafficking have not been identified.

In the present study, we investigated the importance of Spns2 in lymphocyte trafficking by analyzing the *Spns2*-deficient mice and found that Spns2 is responsible for egress of mature T cells and immature B cells from thymus and bone marrow, respectively. We further revealed, by performing bone marrow reconstitution studies and by analyzing mice with conditional deletion of Spns2 in ECs, that ECs release S1P through Spns2, thereby promoting lymphocyte egress from both thymus and bone marrow.

Results

Spns2 is essential for trafficking of both T and B cells. To address the physiological functions of Spns2 in mammals, we generated global *Spns2*-KO (*Spns2*$^{-/-}$) mice by crossing *Spns2*$^{f/f}$ mice, in which exon 2 of the *Spns2* gene is flanked with loxP sites, with mice expressing Cre recombinase under the control of cytomegalovirus promoter (Supplemental Figure 1; supplemental material available online with this article; doi:10.1172/JCI60746DS1). RT-PCR analyses of the RNA extracted from the lungs of WT and *Spns2*$^{-/-}$ mice revealed that *Spns2*$^{-/-}$ mice express a mutant mRNA transcript lacking exon 2–derived sequence encoding aa 124–145 of WT Spns2 (Supplemental Figure 2, A and B). This Spns2 mutant protein failed to localize at the plasma membrane and lost the ability to export S1P (Supplemental Figure 2, C and D). Thus, we conclude that *Spns2*$^{-/-}$ mice are indeed functionally disrupted for Spns2.

Spns2$^{-/-}$ mice develop normally, survive to adulthood, and are fertile, although they exhibited symblepharon to a greater or lesser extent (Supplemental Figure 3). In addition, blood biochemical examination revealed no significant differences between WT and *Spns2*$^{-/-}$ mice (Supplemental Figure 4). Notably, hematological analysis showed a significant decrease in white blood cell count in *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with control mice, although there were no differences in the other hematological parameters, such as red blood cells, platelets, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration (Supplemental Figure 5), implying the role of Spns2 in lymphocyte trafficking.

It should be noted that the number and proportion of mature CD4 and CD8 single-positive (SP) T cells was dramatically reduced in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 1A and Supplemental Figure 6A). In addition, immature B cells (CD19$^+$CD23$^-$IgD$^-$IgM$^+$) and mature recirculating B cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$) were decreased in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with WT mice (Figure 1B and Supplemental Figure 6B). These findings suggest that Spns2 is involved in trafficking of both T and B lymphocytes.

Spns2 regulates T cell egress from the thymus into blood. To study the cause of the decrease in mature T lymphocytes in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice, we examined the thymus where T lymphocytes develop and from which they egress into blood. *Spns2*$^{-/-}$ mice exhibited normal thymus structures (Supplemental Figure 7). The numbers and proportions of mature CD4 and CD8 SP T cells in the thymi of *Spns2*$^{-/-}$ mice were increased compared with those of WT mice, although there was no significant change in the number of immature CD4/CD8 double-positive (DP) T cells and CD4/CD8 double-negative (DN) progenitor thymocytes (Figure 2, A and B). These data suggest a significant role for Spns2 in modulating the egress of mature T cells from the thymus into the blood.

During final maturation of CD4 and CD8 SP T cells in the medulla of the thymus, they downregulate CD69, upregulate S1P1 and CD62L, and consequently migrate out of the thymus in response to S1P (35–38). Thus, we examined the semi-mature (CD69$^+$CD62L^{hi}) and fully mature (CD69^{lo} CD62L$^+$) SP T cells in the thymi of *Spns2*$^{-/-}$ mice. The proportion of fully mature SP T cells was increased in comparison with that of WT mice, while the relative amount of semi-mature SP T cells was decreased (Supplemental Figure 8, A and B). In addition, the cell-surface expression of CD69 on the fully mature SP T cells was slightly higher in *Spns2*$^{-/-}$ mice than in WT mice (Supplemental Figure 8C). Since S1P is suggested to be required for full CD69 downregulation during final maturation of SP thymocytes (8, 36, 39), this may be due to a decreased release of S1P in thymus of *Spns2*$^{-/-}$ mice. These results indicate that Spns2 is involved in the release of S1P required for T cell egress from the thymus into the blood.

-36-
資料10

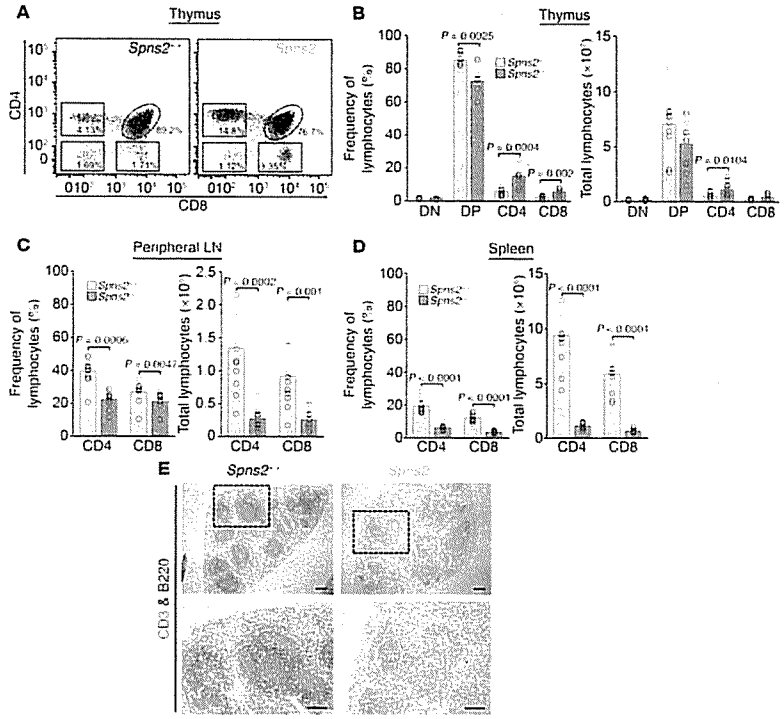


Figure 2
Egress of mature T cells from the thymus is impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A–D**) Flow cytometric analyses of control (*Spns2*$^{+/+}$) and global *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A**) A representative flow cytometric analysis of T cells in the thymus. The numbers represent the percentages of CD4 SP, CD8 SP, CD4/CD8 DP T cells, and CD4/CD8 DN thymocytes. (**B**) Frequencies (left) and total numbers (right) of CD4/CD8 DN (DN), CD4/CD8 DP (DP), CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) thymocytes and T cells are shown (n = 11). (**C**) Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in peripheral lymph nodes are shown (n = 11). (**D**) Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in spleens are shown (n = 11). In **B–D**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively. (**E**) Spleen sections from control (*Spns2*$^{+/+}$) or *Spns2*$^{-/-}$ mice, stained to detect CD3$^+$ T cells (blue) and B220$^+$ B cells (red). The boxed areas of upper panels are enlarged in lower panels. Scale bars: 200 μm (top row); 50 μm (bottom row).

To assess the possibility that lack of mature T cells in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice is related to their accumulation in other secondary lymphoid tissues, we further examined mature SP T lymphocytes in peripheral lymph nodes and in the spleen. In contrast with the accumulation of mature T cells in the thymus, the numbers and proportions of mature CD4 and CD8 SP T cells were dramatically reduced in peripheral lymph nodes and in the spleen of *Spns2*$^{-/-}$ mice, although their structures were normal (Figure 2, C–E, and Supplemental Figure 7). These results show that a decrease in the number of mature T cells in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice is a consequence of impaired T cell egress from the thymus, but not due to the accumulation in the secondary lymphoid organs.

Spns2 regulates egress of immature B cells from the bone marrow into the blood. In the late stage of B cell development in the bone marrow, newly generated immature B cells are exported into the peripheral blood in an S1P/S1P1 signal-dependent manner (15, 16). The immature B cells subsequently undergo maturation in the secondary lymphoid tissues and migrate back to the bone marrow through the blood (recirculating mature B cells). To explore the cause of remarkable reduction of recirculating mature B lymphocytes in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice, we examined the number and proportion of the lymphocytes at different developmental stages. The numbers and frequencies of mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$ or CD19$^+$IgM$^+$IgD$^+$) were significantly reduced in the bone marrow of *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with that of control mice (Figure 3, A and B, and Supplemental Figure 9). However, the number of pro-/pre-B cells (B220$^+$IgM$^-$) and immature B cells (B220^{lo}IgM$^+$ or CD19$^+$IgM$^+$IgD$^-$) was normal in the bone marrow of *Spns2*$^{-/-}$ mice, although their frequencies were slightly

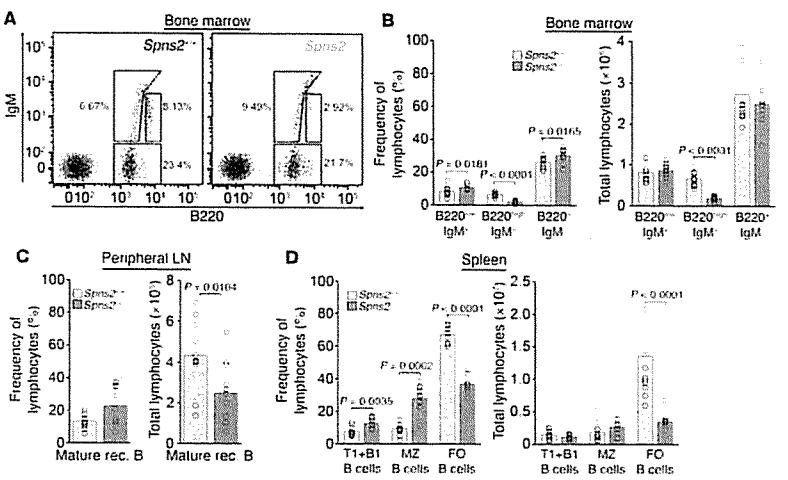


Figure 3
Immature B cell egress from bone marrow is impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A–D**) Flow cytometric analysis of B cells in control (*Spns2*$^{+/+}$) and *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A**) A representative flow cytometric analysis of progenitor B (B220$^+$IgM$^-$), immature B (B220^{lo}IgM$^+$) and mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$) in the bone marrow cavity. Numbers indicate the percentages of IgM- and B220-expressing cells of total lymphocytes. (**B**) Frequencies (left) and total numbers of pro–/pre–B cells (B220$^+$IgM$^-$), immature B cells (B220^{lo}IgM$^+$), and mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$) defined as in A are shown (n = 11). (**C**) Frequencies (left) and numbers (right) of mature recirculating B (mature rec. B) cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$) in peripheral lymph nodes are shown (n = 11). (**D**) Frequencies (left) and numbers (right) of T1 B cells (CD19$^+$CD21$^-$CD23$^-$), MZ (CD19$^+$CD21$^+$CD23^{lo}), and follicular B cells (FO) CD19$^+$CD21^{lo}CD23$^+$) in spleens are shown (n = 11). In **B–D**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

higher than those in control mice, probably due to the reduction of mature recirculating B cell count (Figure 3, A and B, and Supplemental Figure 9). Together with the evidence for the decreased number of immature B cells in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 1B), these results suggest that the egress of immature B cells from the bone marrow is impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice.

To further confirm this conclusion, we examined the number and proportion of B lymphocytes in the secondary lymphoid organs. In the peripheral lymph nodes, the number of mature B cells was reduced in *Spns2*$^{-/-}$ mice, although the frequency of mature B cells was not different from that in control mice (Figure 3C). In the spleen, the numbers and proportions of follicular B cells were significantly decreased in *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with those of control mice, although there was no difference in the number of marginal zone (MZ) and transitional type 1 (T1) and B1 B cells between control and *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 3D). These results reveal that the decrease in mature recirculating B cells in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice is not due to their accumulation in the secondary lymphoid organs, although it remains unclear whether Spns2 is involved in the egress of B lymphocytes from the secondary lymphoid organs. Therefore, we conclude that Spns2 is required for the egress of immature B cells from the bone marrow into the blood.

Spns2 is not involved in S1P release from blood cells. Which cells expressing Spns2 are responsible for releasing S1P necessary for lymphocyte trafficking? Blood cells, especially erythrocytes, are known to produce S1P, thereby contributing to high plasma S1P concentration (9, 23–26). Thus, we first investigated whether Spns2 is involved in S1P release from blood cells. In *Spns2*$^{-/-}$ mice, plasma S1P levels were reduced to 54% of those in control mice (0.39 ± 0.03 μM in control mice; 0.21 ± 0.01 μM in *Spns2*$^{-/-}$ mice), although plasma sphingosine and glycerolysophospholipids of *Spns2*$^{-/-}$ mice were comparable to those in control mice (Figure 4, A–H). Most of the plasma S1P is known to be associated with HDL and albumin (40–42). Consistent with the reduced concentration of plasma S1P in *Spns2*$^{-/-}$ mice, the amount of S1P associated with HDL and albumin was lower in *Spns2*$^{-/-}$ mice than in WT mice (Supplemental Figure 10).

To further clarify whether the reduction of plasma S1P concentration in *Spns2*$^{-/-}$ mice is attributed to the decreased S1P release from blood cells, we examined the secretion of S1P from blood cells isolated from either control or *Spns2*$^{-/-}$ mice. S1P release from blood cells occurred in *Spns2*$^{-/-}$ mice to an extent similar to that in control mice (Figure 5A). This S1P release was not caused by membrane damage, since no release was observed when the cells were incubated at 4°C (Figure 5A), as previously reported (27). These results suggest that Spns2 is not involved in the release of S1P from blood cells. To further confirm this conclusion, we performed bone marrow reconstitution studies (Supplemental Figure 11). Reconstitution of irradiated *Spns2*$^{-/-}$ mice with WT bone marrow did not restore the reduced concentration of plasma S1P (Figure 5B). Furthermore, *Spns2*$^{-/-}$ mice reconstituted with WT bone marrow still exhibited accumulation of mature SP T lymphocytes in the thymus and reduction of mature recirculating B cells in the bone marrow in comparison with WT mice (Figure 5,

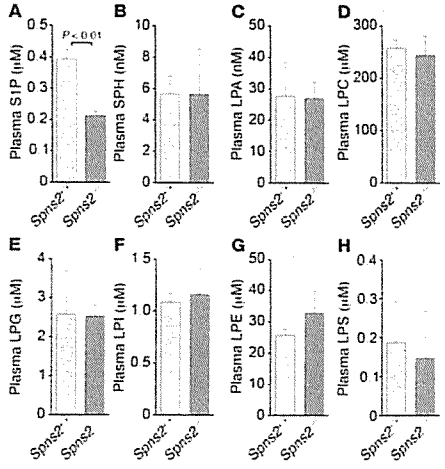


Figure 4
Plasma S1P concentration is reduced in *Spns2*$^{-/-}$ mice. (A–H) Plasma concentrations of S1P (A), sphingosine (SPH) (B), LPA (C), LPC (D), LPG (E), LPI (F), LPE (G), and LPS (H) in control (*Spns2*$^{+/+}$) or *Spns2*$^{-/-}$ mice. Data are shown as mean ± SD (n = 3–5).

C and D). These findings indicate that cells other than blood cells expressing Spns2 secrete S1P to control lymphocyte trafficking.

Spns2 mediates S1P release from ECs. Cultured vascular ECs produce S1P in vitro (43, 44), although S1P release from vascular ECs has not been confirmed in vivo. Another type of EC, lymphatic ECs, secrete S1P into lymph, thereby regulating lymphocyte egress from lymph nodes (20). Thus, we next investigated whether Spns2 is involved in the release of S1P from ECs. RT-PCR analyses revealed that Spns2 is expressed not only in lymphatic ECs, but also in several types of vascular ECs (Figure 6A). In addition, depletion of Spns2 by siRNA resulted in the inhibition of S1P release from ECs (Figure 6, B and C). Furthermore, we investigated whether Spns2 is expressed in ECs in vivo by performing in situ hybridization analyses. *Spns2* mRNA was clearly expressed on the ECs in the thymus (Figure 6D). Although it has been reported that pericytes covering thymic ECs release S1P to promote T cell egress from thymus (19), we could not detect expression of *Spns2* mRNA on the pericytes in the thymus (Figure 6D). Besides the thymus, expression of *Spns2* mRNA was also observed in the ECs of other tissues, such as heart, lung, and hypothalamus, but not in those of kidney and olfactory bulb (Supplemental Figure 12). These results suggest that ECs secrete S1P through Spns2. Hence, we hypothesized that S1P released from ECs via Spns2 is required for lymphocyte egress from primary lymphoid organs.

ECs regulate thymic egress by releasing S1P through Spns2. To address whether Spns2 functions in ECs to regulate lymphocyte trafficking, we tried to generate mice lacking Spns2 in ECs (Spns2-ECKO: *Spns2*$^{fl/fl}$;*Tie2Cre*) by crossing the *Spns2*$^{fl/fl}$ mice with the mice expressing Cre recombinase under the Tie2 promoter (Supplemental Figure 1). In Spns2-ECKO mice, plasma S1P concentration was decreased to the level observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice (Supplemental Figure 13), indicating that ECs release S1P into plasma in an Spns2-dependent manner. Spns2-ECKO mice develop normally without symblepharon formation that is observed in global *Spns2*$^{-/-}$ mice, suggesting that Spns2 acts as an S1P transporter not only in ECs but also in other types of cells.

We further investigated whether Spns2 functions in ECs to promote T cell egress from the thymus by S1P. Compared with control mice, the proportion of mature CD4 and CD8 SP T cells was increased in the thymus of Spns2-ECKO mice, but to a lesser extent than that in *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 2A and Figure 7A). In addition, the number and proportion of CD4 and CD8 SP T cells in Spns2-ECKO mice were dramatically decreased in the peripheral blood, spleen, and peripheral lymph nodes (Figure 7, B and C, and Supplemental Figure 14), suggesting an impaired thymic egress of mature T lymphocytes in Spns2-ECKO mice into the peripheral lymphoid organs. The Tie2 promoter is active not only in ECs, but also in hematopoietic cells (45–47). To further confirm that the phenotype of Spns2-ECKO mice is attributed to the impaired function of Spns2 in ECs, we performed bone marrow reconstitution experiments. Spns2-ECKO mice reconstituted with control bone marrow exhibited accumulation of mature CD4 and CD8 SP T cells in the thymus, and their deficiency in the peripheral blood compared with control mice reconstituted with control bone marrow (Supplemental Figure 15). These findings apparently reveal that S1P released from ECs through Spns2 is involved in the egress of mature T cells from the thymus into the blood.

ECs promote the egress of immature B cells from the bone marrow by releasing S1P through Spns2. We further investigated the role of ECs in immature B cell egress from the bone marrow. As observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice, the numbers and proportions of mature recirculating B cells, but not pro-/pre-B cells and immature B cells, were remarkably decreased in the bone marrow of Spns2-ECKO mice in comparison with control mice (Figure 8A and Supplemental Figure 16). Mature recirculating B cells in the blood and peripheral lymph nodes of Spns2-ECKO mice were decreased (Figure 8B and Supplemental Figure 17). Furthermore, the numbers and frequencies of follicular B cells were significantly reduced in the spleen of Spns2-ECKO mice compared with control mice (Figure 8C), although the number of MZ B cells in the spleen was comparable between WT and Spns2-ECKO mice. Unexpectedly, the spleens of Spns2-ECKO mice have increased numbers of T1 and B1 B cells compared with those of control mice. This result may imply a more complex role of Spns2 in B cell trafficking that has to be tested in more detail in further experiments. Moreover, reconstitution of irradiated Spns2-ECKO mice with control bone marrow did not restore reduction of mature recirculating B cells in the bone marrow and peripheral blood (Supplemental Figure 18). These results demonstrate that S1P released by ECs through Spns2 promotes the egress of immature B cells from the bone marrow into the blood.

Discussion

In the present study, we show for what we believe is the first time that Spns2 expressed on ECs is essential for lymphocyte egress from the primary lymphoid organs. By analyzing the *Spns2*-deficient mice, we found that Spns2 is an S1P transporter required for the egress of mature T cells and immature B cells from the thymus and the bone marrow, respectively, into the peripheral blood. In addition, by deleting Spns2 in ECs and performing bone marrow reconstitution studies, we showed that Spns2 regulates S1P secretion in ECs, but not in blood cells, to promote lymphocyte egress from primary lymphoid organs. Therefore, the present study on Spns2 largely contributes to the understanding of S1P signaling, which is used in the egress of lymphocytes from primary lymphoid organs (1, 2, 4, 5).

Spns2 is the first S1P transporter functioning in mammals. Intracellularly generated S1P has to be transported out of the cell to stimulate its cell-surface receptors. Several lines of evidence obtained from in vitro studies have suggested the involvement of the ABC family of transporters in S1P release from several types of cells (22, 24, 29–32). However, their biological significance in vivo has remained unclear. In this study, we demonstrate Spns2 as a key S1P transporter that regulates lymphocyte trafficking in mammals. Although Spns2 regulates lymphocyte trafficking by inducing the release of S1P from ECs, this transporter may also function in other cells, since symblepharon was observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice, but not in Spns2-ECKO mice. On the other hand, Spns2 appears not to be the only transporter of S1P in mammals because plasma S1P levels were partially but not completely decreased in *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with control mice. Although blood cells, especially erythrocytes, are thought to be the major cellular source of S1P in plasma (9, 23, 27), blood cells from *Spns2*$^{-/-}$ mice still retained the ability to release S1P (Figure 5A). Thus, S1P release from blood cells appears to be mediated by S1P transporters other than Spns2. In addition, S1P transporters other than Spns2 might also be involved in the release of S1P required for vascular development, since *Spns2*$^{-/-}$ mice did not show the defects in vascular development that can be observed in *S1p1*-deficient mice (48).

This study clearly reveals that Spns2-dependent S1P release from ECs is important for egress of mature T cells from the thymus into the peripheral blood. Thymic egress is strictly controlled by the S1P/S1P1 signaling pathway (1, 2, 4, 5). In the thymus, thymocytes differentiate into mature T cells, and subsequently express S1P1 through upregulation of Krüppel-like factor 2 (5, 49). S1P1-expressing mature T cells acquire responsiveness to S1P, thereby exiting from the thymus into the peripheral blood. Until recently, it has been assumed that the S1P gradient between the thymus and the blood is required for egress of mature T cells. However, recent evidence has suggested that plasma S1P is insufficient to promote thymic egress (9, 19). Importantly, egress of mature T cells from the thymus was impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice even though the plasma contains enough concentration of S1P to stimulate lymphocyte S1P1 in vitro (10). Similarly, Zachariah and Cyster have recently reported that neural crest–derived pericytes covering the ECs release S1P responsible for thymic egress without influencing plasma S1P concentration (19). Therefore, mature T cells might be recruited to the abluminal side of blood vessels by S1P locally released from both ECs and pericytes, and possibly exit into the peripheral blood in response to high concentrations of plasma S1P. However, further studies are needed to confirm this hypothesis.

Spns2 expressed on ECs of the blood vessels is also essential for B cell egress from the bone marrow. Although recent reports reveal the role of S1P/S1P1 signaling in the egress of immature B cells from the bone marrow (15, 16), a cellular source of S1P involved in this process has not been identified. In *Spns2*$^{-/-}$ mice, the number of mature recirculating B cells was significantly decreased not only in the bone marrow but also in the blood, spleen, and peripheral lymph nodes, indicating a block in the egress of immature B cells from the bone marrow. Importantly, reconstitution of irradiated *Spns2*$^{-/-}$ mice with WT bone marrow did not rescue the deficiency of mature recirculating B cells in the bone marrow. Furthermore, Spns2-ECKO mice also exhibited reduced numbers of mature recirculating B cells in the bone marrow, peripheral blood, spleen, and peripheral lymph nodes, as observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice. This phenotype was not rescued by reconstitution with control bone marrow. Thus, these results reveal for what we believe is the first time that ECs are the major cellular source of S1P necessary for the egress of immature B cells from the bone marrow. In the late stage of B cell development in the bone marrow, newly generated immature B cells placed in the parenchyma are first recruited into the sinusoidal compartment and subsequently

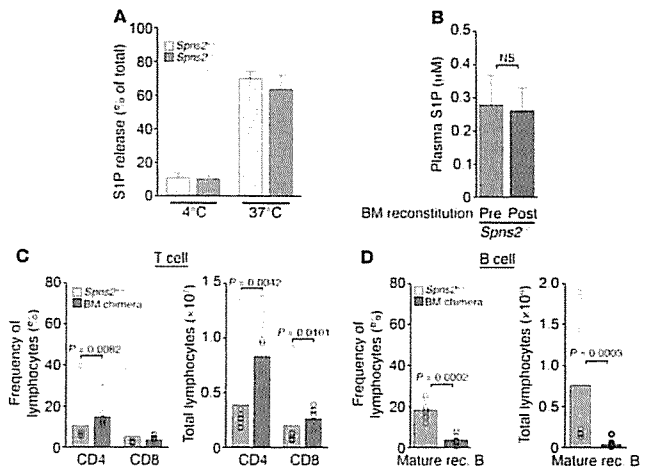


Figure 5
Spns2 is not involved in S1P release from blood cells. (A) Release of S1P by the blood cells isolated from control (*Spns2*$^{+/+}$) and *Spns2*$^{-/-}$ mice. Cells were incubated at either 4°C or at 37°C for 90 minutes as indicated at the bottom. Data are expressed as a percentage of the total amount of S1P in the cells without incubation and shown as mean ± SD (n = 4). (B–D) *Spns2*$^{-/-}$ mice were lethally irradiated and reconstituted with bone marrow from littermate control mice. (B) Plasma S1P concentrations of either *Spns2*$^{-/-}$ mice (Pre) or of those reconstituted with WT bone marrow (Post) (n = 13). (C and D) Flow cytometric analyses of control (*Spns2*$^{+/+}$) and *Spns2*$^{-/-}$ mice reconstituted with littermate control bone marrow (BM chimera). (C) Frequencies (left) and total numbers (right) of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in the thymus are shown (*Spns2*$^{+/+}$, n = 8; BM chimera, n = 13). (D) Frequencies (left) and total numbers of mature recirculating B cells (CD19^{+}IgM^{+}IgD^{+}) in the bone marrow are shown (*Spns2*$^{+/+}$, n = 8; BM chimera, n = 13).

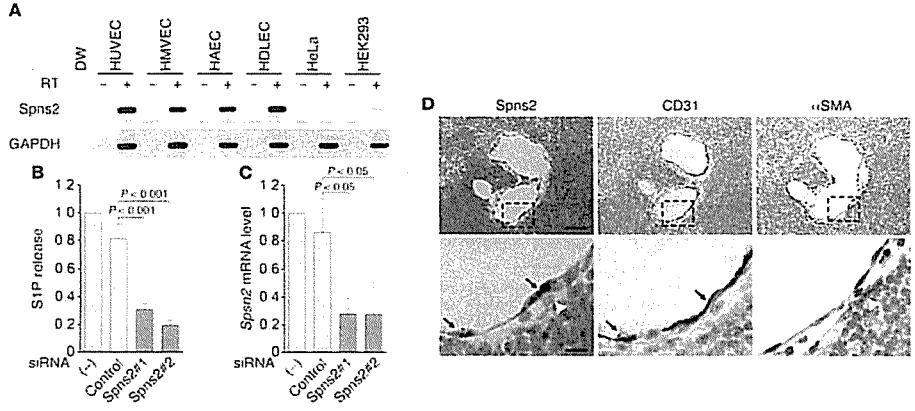


Figure 6
Spns2 is involved in S1P release from ECs. (**A**) Expression of Spns2 in ECs. RT-PCR analysis was performed to examine the expression of Spns2 in HUVECs, HMVECs, HAECs, HDLECs, HeLa, and HEK293 cells as indicated at the top. PCR was performed using specific primers for either Spns2 (upper panel) or GAPDH (lower panel). To verify the absence of contaminating genomic DNA, RT-PCR was also performed in the absence of reverse transcriptase (–). (**B** and **C**) S1P release from Spns2-depleted ECs. (**B**) Release of S1P by ECs transfected without (–) or with either control siRNA (control) or 2 independent siRNAs targeting Spns2 (Spns2#1 and Spns2#2). (**C**) Real-time RT-PCR analysis to assess the efficiency of siRNA-mediated Spns2 knockdown. In **B** and **C**, data are expressed relative to those observed in the untransfected cells and shown as mean ± SD of 3 independent experiments. (**D**) In situ hybridization for *Spns2* mRNA in thymus. Antisense probe was hybridized to thymus section (Spns2: purple). Serial sections were also stained with anti-CD31 (CD31: brown) and anti–α-SMA (brown) antibodies to identify ECs and pericytes, respectively. The boxed areas of upper panels are enlarged in lower panels. Arrows and white arrowheads indicate ECs and pericytes, respectively. Scale bars: 50 μm (upper panels); 10 μm (lower panels).

exported into the peripheral blood (50–52). Sinusoidal entry of immature B cells is thought to be a key step in bone marrow egress. Recently, it has been reported that S1P/S1P1 signaling promotes the movement of immature B cells from parenchyma to sinusoid, thereby facilitating egress of immature B cells from bone marrow (15, 16). Thus, bone marrow sinusoidal ECs may attract immature B cells from the parenchyma by producing S1P through Spns2 and thereby promoting the immature B cell egress into the peripheral blood.

The lymphocyte egress from secondary lymphoid organs such as lymph nodes and spleen also depends on S1P/S1P1 signaling. Pham et al. have recently reported that lymphatic ECs are an in vivo source of S1P required for lymphocyte egress from lymph nodes and Peyer patches (20). Since Spns2 is expressed not only in vascular ECs but also in lymphatic ECs, Spns2 may also regulate lymphocyte egress from lymph nodes by inducing the release of S1P from lymphatic ECs. However, to address this hypothesis, we need to analyze mice lacking Spns2 specifically in the lymphatic ECs because lymphocyte egress from primary lymphoid organs is severely impaired in global *Spns2* mice. It also remains elusive whether Spns2 is involved in lymphocyte egress from spleen. Thus, this will be a subject for future studies.

In conclusion, we demonstrate that Spns2 is a key S1P transporter involved in lymphocyte trafficking and further indicate that vascular ECs are the major source of S1P in vivo responsible for lymphocyte egress from the thymus and the bone marrow. Thus, this study not only reveals the crucial role of Spns2 as an S1P transporter in mammals, but also contributes to our understanding of molecular mechanisms of S1P-mediated lymphocyte trafficking. Since S1P signaling is profoundly involved in the inflammatory and autoimmune diseases, such as multiple sclerosis, psoriasis, asthma, and rheumatoid arthritis, as well as in transplantation, Spns2 can be a potential therapeutic target for these diseases.

Methods

Generation of Spns2$^{fl/fl}$ mice. *Spns2^{tm1a}* mice (acc. no. CDB0705K; http://www.cdb.riken.jp/arg/mutant%20mice%20list.html), in which exon 2 is flanked by 2 loxP sites, were generated (Supplemental Figure 1A). TT2 ES cells derived from an F1 hybrid of C57BL/6 and CBA mice (53) were transfected with the targeting vector, selected in the presence of G418, and screened for homologous recombination by PCR and Southern blotting. Two ES clones were introduced into host embryos to generate chimeric mice. Chimeric mice with a high ES cell contribution were bred with the CMV-Cre mice (C57BL/6 strain background) expressing Cre recombinase under the control of cytomegalovirus promoter to generate heterozygous *Spns2*$^{+/-}$ mice (Supplemental Figure 1). *Spns2*$^{+/-}$ mice were intercrossed to obtain *Spns2*$^{-/-}$ mice (75% C57BL/6 and 25% CBA genetic background). The chimeric mice were also crossed with the CMV-Flp mice (C57BL/6 strain background) expressing Flp recombinase under the control of cytomegalovirus early enhancer/chicken β-actin promoter to remove the PKG-Neo-pA cassette, resulting in Spns2 floxed mice (Supplemental Figure 1). To inactivate the *Spns2* gene in ECs, the Spns2 floxed mice were bred with Tie2-Cre mice (C57BL/6 strain background), which carry the Cre recombinase driven by the Tie2 promoter (45, 46) and were provided by T.N. Sato (Nara Institute of Science and Technology, Nara, Japan) and M. Yanagisawa (University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas, USA) (Supplemental Figure 1). For confirmation of correct targeting, Southern blot analysis was performed with the probe located outside of the regions used in the targeting vector (Supplemental Figure 1). For the genotyping of mice, PCR was performed using a forward primer, 5′-AGGCTCATTTCATGGCTGAT-3′, and a reverse primer, 5′-AGCCCTGTGCTCTCTGTTGT-3′, producing products of 552-bp fragment for WT allele, 842-bp fragment for floxed allele, and 316-bp fragment for deleted allele. All mice were housed under specific pathogen-free conditions.

RT-PCR and real-time RT-PCR. To check the expression of *Spns2* mRNA in *Spns2*$^{-/-}$ mice, total RNA was extracted from the lungs using TRIzol reagent (Invitrogen) and reverse transcribed by random hexamer primers using Superscript II (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions. PCR amplification was carried out with the following primer sets: PCR1, 5′-AAGAGGTGCAGACGTTGTCC-3′ and 5′-CCACAGCTGAGGATCACCTT-3′, for exons 1–3 of the mouse *Spns2*; and PCR2, 5′-ATGATGTGCCTGGAATGC-3′ and 5′-TCAGACTTTCACGGATGCAG-3′, for complete coding sequence of mouse *Spns2*.

To determine the expression of Spns2 in ECs, RT-PCR was performed using the gene-specific primers for human *SPNS2* (5′-ACTTTGGGGTCAAGGACCGA-3′ and 5′-AATCACCTTCCTGTTGAAGCG-3′). Amplification of GAPDH was also performed using the gene-specific primers for human *GAPDH* (5′-ATGGGGAAGGTGAAGGTCG-3′ and 5′-GGGGTCATTGATGGCAACAATA-3′) in parallel as a control.

To assess the efficiency of siRNA-mediated knockdown of Spns2, total RNA was extracted from HUVECs transfected without or with either control siRNA or 2 independent siRNAs targeting Spns2 and subjected to quantitative real-time RT-PCR analysis using the QuantiFast SYBR Green RT-PCR Kit (QIAGEN) as described (54). For each reaction, 100 ng of total RNA was transcribed for 10 minutes at 50°C, followed by a denaturation step at 95°C for 5 minutes, 40 cycles of 10 seconds at 95°C, and 30 seconds at 60°C. Fluorescence data were collected and analyzed using Mastercycler ep realplex (Eppendorf). For normalization, expression of human *GAPDH* was determined in parallel as an endogenous control. The gene-specific primers used to amplify human *SPNS2* and *GAPDH* were the same as described above.

Cell culture, transfection, and siRNA-mediated gene silencing. HUVECs, human microvascular ECs (HMVECs), and human aortic ECs (HAECs) were purchased from Kurabo and maintained as described previously (55). Human dermal lymphatic ECs (HDLECs) were obtained from Lonza and maintained in EC growth medium EGM-2 (Lonza). HeLa and HEK293 cells were cultured in DMEM (Nissui) supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics (100 μg of streptomycin/ml and 100 U of penicillin/ml).

Stealth siRNAs targeted to human Spns2 (HSS151335 and HSS151336) were purchased from Invitrogen. As a control, siRNA duplexes with irrelevant sequences were used. HUVECs were transfected with 20 nM siRNA duplexes using Lipofectamine RNAi MAX reagent (Invitrogen). After incubation for 48 hours, the cells were used for the experiments.

Detection of subcellular localization of GFP-tagged Spns2. cDNAs encoding WT and mutant Spns2 were amplified using cDNAs derived from the lungs of WT and *Spns2*$^{-/-}$ mice by RT-PCR, and cloned into pEGFP-N1 vector to construct the expression plasmids encoding WT and mutant Spns2 with a C-terminal GFP tag, respectively. HUVECs were transfected with the plasmid encoding either WT or mutant Spns2-GFP or with myristoylated GFP-encoding plasmid. GFP and phase contrast images were obtained using an IX81 inverted microscope (Olympus) equipped with a pE-1 LED excitation system (CoolLED).

S1P release from cultured cells. HEK293 cells were plated in 24-well plates (5×10^4 cells/well), cultured for 24 hours, and transfected with the expression plasmids indicated in the legend of Supplemental Figure 2D using Lipofectamine 2000 reagent (Invitrogen). After incubation for 24 hours, cells were incubated in 250 μl of serum-free DMEM containing 0.5 % fatty acid–free bovine serum albumin, 10 mM sodium glycerophosphate, 5 mM sodium fluoride, and 1 mM semicarbazide for 24 hours. To determine the role of Spns2 in S1P release from ECs, HUVECs transfected without or with either control siRNA or 2 independent Spns2 siRNAs were detached, replated in collagen-coated 24-well plates (2.5×10^5 cells/well), and cultured for 12 hours. The cells were then washed twice with Medium 199 (Invitrogen) and incubated in 200 μl of Medium 199 containing 20 mM Hepes, pH 7.4, 10 mM sodium glycerophosphate, 5 mM sodium fluoride, 1 mM semicarbazide, 0.5% fatty acid free bovine serum albumin, 40 ng/ml vascular endothelial growth factor, 40 ng/ml fibroblast growth factor-2, and 400 ng/ml angiopoietin-1 for 12 hours. After incubation, conditioned medium was collected and centrifuged at 15,000 *g* for 5 minutes at 4°C to remove cell debris. S1P levels in the conditioned medium were determined as described below.

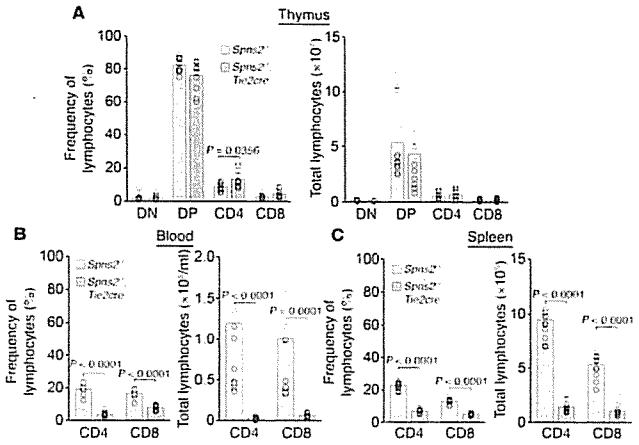


Figure 7
Spns2 expressed in ECs is required for mature T cell egress from thymus. (**A–C**) Flow cytometric analyses of lymphocytes of control (*Spns2$^{fl/fl}$*) or Spns2-ECKO (*Spns2$^{fl/fl}$;Tie2Cre*) mice. (**A**) Frequencies (left) and numbers (right) of CD4/CD8 DN (DN), CD4/CD8 DP (DP), CD4 SP (CD4), and CD8 SP (CD8) thymocytes and T cells in thymus are shown ($n = 11$). (**B**) Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in peripheral lymph nodes are shown ($n = 11$). (**C**) Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in spleens are shown ($n = 11$). In **A–C**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

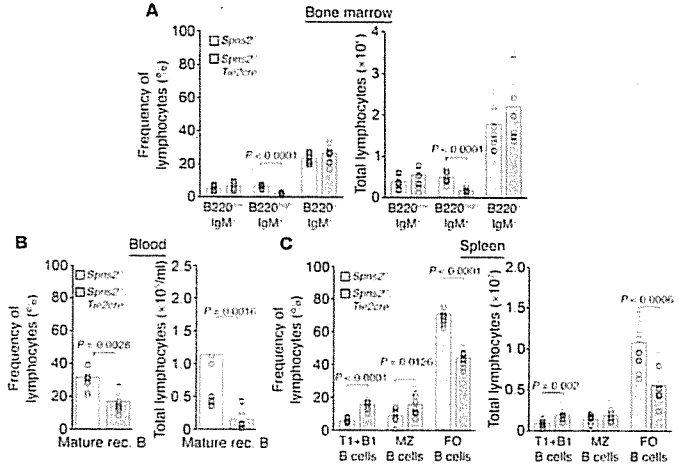


Figure 8

Spns2 expressed in ECs is required for immature B cell egress from bone marrow. (A–C) Flow cytometric analyses of lymphocytes of control (*Spns2*$^{f/f}$) or Spns2-ECKO (*Spns2*$^{f/f}$*;Tie2Cre*) mice. (A) Frequencies (left) and numbers (right) of pro–/pre–B cells (B220$^+$IgM$^-$), immature B cells (B220^{lo}IgM$^+$), and mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$) in bone marrow are shown (n = 11). (B) Frequencies (left) and numbers (right) of mature recirculating B (Mature rec. B) cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$) in peripheral blood are shown (n = 11). (C) Frequencies (left) and numbers (right) of T1 and B1 B cells (T1+B1), MZ, and follicular B cells in spleens are shown (n = 11). T1 and B1 B cells, MZ B cells, and follicular B cells were phenotypically defined as described in the legend of Figure 3D. In A–C, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

Quantification of S1P using LC-MS/MS. Quantification of S1P was performed according to previously described methods (56) with minor modifications. Briefly, plasma and conditioned medium were mixed and sonicated with 10-fold volume of methanol and an internal standard (C17-S1P). Similarly, S1P extraction from cells was performed by homogenizing and sonicating cells in methanol. After centrifugation at 21,500 *g*, the resulting supernatant was recovered and used for the LC-MS/MS analysis. Then 20 μl of methanol extract was injected and separated by Nanospace LC (Shiseido) equipped with a C18 CAPCELL PAK ACR column (1.5 × 250 mm; Shiseido), using a gradient of solvent A (5 mM ammonium formate in water) and solvent B (5 mM ammonium formate in 95% [v/v] acetonitrile). Elution was sequentially ionized with an ESI probe, and the parent ion (m/z 380.2) and the fragment ion (m/z 264.2) were monitored in the positive mode by a Quantum Ultra Triple Quadrupole Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific). Similarly, other lysophospholipids, including lysophosphatidic acid (LPA), lysophosphatidylcholine (LPC), lysophosphatidylethanolamine (LPE), lysophosphatidylglycerol (LPG), lysophosphatidylinositol (LPI), and lysophosphatidylserine (LPS), were extracted with methanol and analyzed by the LC-MS/MS system. For each lysophospholipid class, 12 acyl chains (14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:3, 20:4, 20:5, 22:5, and 22:6) were monitored.

For quantification of HDL- and albumin-bound S1P, mouse plasma was subjected to size-exclusion chromatography according to previously described methods (57) with some modifications. Briefly, 100 μl of plasma was loaded onto a Superose 12 column (GE Healthcare) using an ÄKTA Explorer System (GE Healthcare) and eluted with PBS at 0.25 ml/min at 4°C. Fractions were collected every 2 minutes (0.5 ml). S1P concentration in each fraction was determined by LC-MS/MS as described above.

Biochemical and hematological test of blood. Blood was collected from WT (*Spns2*$^{+/+}$, n = 4) and *Spns2*$^{-/-}$ (*Spns2*$^{-/-}$, n = 4) mice via the abdominal aorta under inhalation anesthesia (isoflurane) using EDTA as an anticoagulant. Blood biochemistry parameters (total protein, total bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, triglycerol, glucose, blood urea nitrogen, and albumin) were determined by using a blood biochemical analyzer, Fuji DRI-CHEM 3500V (Fuji Film). Hematology and blood clotting parameters (white blood cells, red blood cells, platelets, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration) were determined by using an XT-1800iv hematology analyzer (Sysmex).

Antibodies and flow cytometric analysis. Unless otherwise stated, all anti-mouse monoclonal antibodies were obtained from eBiosciences Inc. Antibodies used for cell-surface staining were PE-conjugated anti-CD19 (eBio1D3), anti-CD8 (53-6.7), and anti-CD23 (B3B4); FITC-conjugated anti-B220 (RA3-6B2), anti-CD19 (1D3) (BD Biosciences), anti-CD8 (53-6.7) and anti-CD69 (H1.2F3) (BD Biosciences); APC-conjugated anti-CD62L (MEL-14) (BioLegend); Pacific Blue–conjugated anti-IgD (11-26) and anti-CD4 (RM4-5) (BD Biosciences); PeCy7-conjugated anti-IgM (II/41); and PerCP-Cy5.5 conjugated anti-CD21/CD35 (7E9) (BioLegend). Single-cell suspensions of freshly isolated thymus, spleen, peripheral lymph nodes (inguinal, axillary, and brachial), and total bone marrow cells of femur and tibia were subsequently incubated with anti-CD16/CD32 for 10 minutes, followed by staining with a combination of conjugated antibodies in FACS buffer (PBS + 4% heat-inactivated FCS + 2 mM EDTA) for 30 minutes. Before antibody staining, 250 μl of freshly isolated blood was treated with heparin solution, and red blood cells were lysed with BD Pharm Lyse solution (BD Biosciences) according to the manufacturer's protocol. Stained cells were analyzed on a FACSCanto II Flow Cytometer (BD Biosciences) equipped with blue (488 nm), violet (405 nm), and red (633 nm) lasers. FACS data were statistically analyzed with FlowJo software (TreeStar Inc.).

Histopathology and immunohistochemistry. Tissue samples from the spleen, thymus, axillary lymph nodes, mesenteric lymph nodes, and intestine (including Peyer patches) were collected from WT (*Spns2*$^{+/+}$, n = 3) and *Spns2*$^{-/-}$ (*Spns2*$^{-/-}$, n = 3) mice and fixed in 20% neutral phosphate-buffered formalin. Each paraffin-embedded tissue was cut into 4-μm thickness and stained with H&E for light microscopy.

For immunohistochemistry, paraffin was then removed from the sections and antigen retrieval was performed in 10 mM citrate buffer (pH 6.0) by placing the sections in a pressure cooker for 3 minutes. Endogenous peroxidase activity was blocked with 0.3% H_2O_2 in methanol. The sections were exposed to 1% BSA in PBS and were then incubated overnight at 4°C with goat anti-CD3ε (M-20; Santa Cruz Biotechnology Inc.). Immune complexes were labeled with biotinylated anti-goat IgG and streptavidin alkaline phosphatase (Nichirei). The signals were visualized with a Vector Blue Alkaline Phosphatase Substrate Kit (Vector Laboratories). For double immunostaining, sections were sequentially incubated with rat anti-CD45R (BD Biosciences – Pharmingen). Immune complexes were detected with HRP-conjugated anti-rat IgG (simple stain Max-Po; Nichirei) and 3-amino-9-ethyl carbazole (AEC) substrate system (Lab Vision) for color development.

S1P release from blood cells. Blood was collected from anesthetized WT (*Spns2*$^{+/+}$, n = 4) and *Spns2*$^{-/-}$ (*Spns2*$^{-/-}$, n = 4) mice via the inferior vena cava using heparinized syringes and transferred to tubes containing EDTA as an anticoagulant. Blood cells were separated from plasma by centrifugation at 1,200 *g* for 5 minutes at 4°C and washed twice with ice-cold PBS to remove plasma residues. The cells were resuspended in the ice-cold incubation buffer containing 20 mM Hepes, pH 7.4, 138 mM NaCl, 3.5 mM NaH_2PO_4, 2.9 mM KCl, 1.0 mM $MgCl_2$, 1 mg/ml glucose, and 1% fatty acid–free bovine serum albumin at a cell density of 5 × 10^6 cells/ml. Then 500 μl of blood cell suspensions (2.5 × 10^6 cells) was incubated at 4°C or at 37°C for 90 minutes. After incubation, the cells were pelleted by centrifugation at 1,200 *g* for 5 minutes at 4°C. The S1P levels in the supernatants were determined as described above. To quantify the total amount of S1P in the blood cells, cells were collected from 500 μl of cell suspensions by centrifugation at 1,200 *g* for 5 minutes at 4°C and homogenized in 100 μl of methanol.

Generation of bone marrow chimeras. Bone marrow chimeras were generated with 5 × 10^6 freshly isolated total bone marrow cells from femur and tibia of WT and Spns2 floxed mice (donor). Isolated cells were injected i.v. into lethally irradiated (900 cGY) *Spns2*$^{-/-}$ and Spns2-ECKO mice (host). Hematopoietic reconstitution of lymphoid organs of hosts by donor-derived cells was controlled 6 weeks after bone marrow transfer by genotyping of total bone marrow cells. Furthermore, lymphoid organs of reconstituted mice were FACS analyzed as described above.

In situ hybridization and immunohistochemistry on serial tissue sections. In situ hybridization and immunohistochemistry on serial tissue sections was performed by Genostaff. Briefly, the thymus, heart, lung, brain, and kidney of 8-week-old mice were dissected after perfusion, fixed with Tissue Fixative (Genostaff), and then embedded in paraffin by proprietary procedures and sectioned at 6 μm.

For in situ hybridization, tissue sections were de-waxed with xylene and rehydrated through an ethanol series and PBS. The sections were fixed with 4% paraformaldehyde in PBS for 15 minutes and then washed with PBS. The sections were treated with 8 μg/ml Proteinase K in PBS for 30 minutes at 37°C, washed with PBS, refixed with 4% paraformaldehyde in PBS, again washed with PBS, and placed in 0.2 N HCl for 10 minutes. After washing with PBS, the sections were acetylated by incubation in 0.1 M tri-ethanolamine-HCl, pH 8.0, 0.25% acetic anhydride for 10 minutes. After washing with PBS, the sections were dehydrated through a series of ethanol. The cDNA templates for Spns2 were 535-bp and 634-bp fragments corresponding to bases 1629–2163 and 2291–2924 of mouse Spns2 cDNA (GenBank NM_153060.2). Sense and antisense riboprobes for *Spns2* mRNA were synthesized using a digoxigenin RNA labeling kit (Roche) according to the manufacturer's protocol. Hybridization was performed with probes at concentrations of 300 ng/ml in the Probe Diluent-1 (Genostaff) at 60°C for 16 hours. After hybridization, the sections were washed in 5× HybriWash (Genostaff), equal to 5× SSC, at 50°C for 20 minutes and then in 50% formamide, 2× HybriWash at 50°C for 20 minutes, followed by RNase treatment in 50 μg/ml RNase A in 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 M NaCl, and 1 mM EDTA for 30 minutes at 37°C. Then the sections were washed twice with 2× HybriWash at 50°C for 20 minutes, twice with 2× HybriWash at 50°C for 20 minutes, and once with TBST (0.1% Tween 20 in TBS). After treatment with 0.5% blocking reagent (Roche) in TBST for 30 minutes, the sections were incubated with anti-DIG AP conjugate (Roche) diluted 1:1,000 with TBST for 2 hours at RT. The sections were washed twice with TBST and then incubated in 100 mM NaCl, 50 mM $MgCl_2$, 0.1% Tween 20, and 100 mM Tris-HCl, pH 9.5. Coloring reactions were performed with NBT/BCIP solution (Sigma-Aldrich) overnight and then washed with PBS. The sections were counterstained with Kernechtrot Stain Solution (Mutoh), dehydrated, and mounted with Malinol (DBS).

For immunohistochemistry, serial tissue sections were deparaffinized with xylene and rehydrated through an ethanol series and TBS. Endogenous peroxidase activity was blocked with 0.3% H_2O_2 in methanol for 30 minutes. For CD31 staining, the sections were treated with Protein Block (Dako) and avidin/biotin blocking kit (Vector), and incubated with 0.1 μg/ml of anti-CD31 rabbit polyclonal antibody (Spring Bioscience) at 4°C overnight. Immune complexes were labeled with biotin-conjugated goat anti-rabbit Ig (Dako) and peroxidase-conjugated streptavidin (Nichirei). For α-SMA staining, sections were treated with Blocking Reagent A (Nichirei) and incubated with anti-α-SMA mouse monoclonal antibody (Dako) at 4°C overnight. The sections were then blocked with Blocking Reagent B (Nichirei) and incubated with Simple Stain Mouse MAX-PO (M) (Nichirei). Peroxidase activity was visualized by diaminobenzidine. The sections were counterstained with Mayer's hematoxylin, dehydrated, and mounted with Malinol (Muto).

Statistics. Data were analyzed using GraphPad Prism software (GraphPad Software Inc.). Statistical significance was determined using a 2-tailed Mann-Whitney U test for paired samples or 1-way ANOVA and nonparametric tests for multiple groups. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Study approval. All animal experiments were approved by the animal committee of the National Cerebral and Cardiovascular Center and performed according to the regulations of the National Cerebral and Cardiovascular Center.

Acknowledgments

We thank T.N. Sato and M. Yanagisawa (Nara Institute of Science and Technology and University of Texas Southwestern Medical Center, respectively) for Tie2Cre mice. We are also grateful to K. Hiratomi, W. Koeda, M. Sone, H. Yonekawa, and Y. Matsuura for technical assistance, and to K. Shioya for providing excellent animal facilities. This work was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, "Fluorescence Live Imaging" (No. 22113009 to S. Fukuhara and No. 22113007 to M. Ishii) and "Neuro-Vascular Wiring" (No. 22122003 to N. Mochizuki), of The Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan; and by grants from the Japan Society for the Promotion of Science (to S. Fukuhara, M. Ishii, and N. Mochizuki); the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan (to N. Mochizuki); the Program for the Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (to S. Fukuhara and N. Mochizuki); a grant from the International Human Frontier Science Program (to M. Ishii); the Takeda Science Foundation (to M. Ishii and N. Mochizuki); the Mitsubishi Foundation (to N. Mochizuki); the Japan Cardiovascular Research Foundation (to S. Fukuhara); and an AstraZeneca research grant (to N. Mochizuki).

Received for publication August 30, 2011, and accepted in revised form January 30, 2012.

Address correspondence to: Shigetomo Fukuhara or Naoki Mochizuki, Department of Cell Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan. Phone: 81.6.6833.5012; Fax: 81.6.6835.5461; E-mail: fuku@ri.ncvc.go.jp (S. Fukuhara), nmochizu@ri.ncvc.go.jp (N. Mochizuki). Or to: Masaru Ishii, Laboratory of Cellular Dynamics, WPI-Immunology Frontier Research Center, Osaka University, 3-1 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan. Phone: 81.6.6879.4268; Fax: 81.6.6879.8296; E-mail: mishii@ifrec.osaka-u.ac.jp.

1. Chi H. Sphingosine-1-phosphate and immune regulation: trafficking and beyond. *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32(1):16–24.
2. Cyster JG. Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:127–159.
3. Hla T. Physiological and pathological actions of sphingosine 1-phosphate. *Semin Cell Dev Biol.* 2004; 15(5):513–520.
4. Rivera J, Proia RL, Olivera A. The alliance of sphingosine-1-phosphate and its receptors in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(10):753–763.
5. Spiegel S, Milstien S. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(6):403–415.
6. Alvarez SE, et al. Sphingosine-1-phosphate is a missing cofactor for the E3 ubiquitin ligase TRAF2. *Nature.* 2010;465(7301):1084–1088.
7. Allende ML, Dreier JL, Mandala S, Proia RL. Expression of the sphingosine 1-phosphate receptor, S1P1, on T-cells controls thymic emigration. *J Biol Chem.* 2004;279(15):15396–15401.
8. Matloubian M, et al. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature.* 2004;427(6972):355–360.
9. Pappu R, et al. Promotion of lymphocyte egress into blood and lymph by distinct sources of sphingosine-1-phosphate. *Science.* 2007;316(5822):295–298.
10. Schwab SR, Pereira JP, Matloubian M, Xu Y, Huang Y, Cyster JG. Lymphocyte sequestration through S1P lyase inhibition and disruption of S1P gradients. *Science.* 2005;309(5741):1735–1739.
11. Brinkmann V, et al. The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors. *J Biol Chem.* 2002;277(24):21453–21457.
12. Graler MH, Goetzl EJ. The immunosuppressant FTY720 down-regulates sphingosine 1-phosphate G-protein-coupled receptors. *FASEB J.* 2004; 18(3):551–553.
13. Mandala S, et al. Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine-1-phosphate receptor agonists. *Science.* 2002;296(5566):346–349.
14. Brinkmann V, et al. Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(11):883–897.
15. Allende ML, Tuymetova G, Lee BG, Bonifacino E, Wu YP, Proia RL. S1P1 receptor directs the release of immature B cells from bone marrow into blood. *J Exp Med.* 2010;207(5):1113–1124.
16. Pereira JP, Xu Y, Cyster JG. A role for S1P and S1P1 in immature-B cell egress from mouse bone marrow. *PLoS One.* 2010;5(2):e9277.
17. Schwab SR, Cyster JG. Finding a way out: lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nat Immunol.* 2007; 8(12):1295–1301.
18. Breart B, et al. Lipid phosphate phosphatase 3 enables efficient thymic egress. *J Exp Med.* 2011; 208(6):1267–1278.
19. Zachariah MA, Cyster JG. Neural crest-derived pericytes promote egress of mature thymocytes at the corticomedullary junction. *Science.* 2010; 328(5982):1129–1135.
20. Pham TH, et al. Lymphatic endothelial cell sphingosine kinase activity is required for lymphocyte egress and lymphatic patterning. *J Exp Med.* 2010; 207(1):17–27.
21. Spiegel S, Milstien S. Functions of the multifaceted family of sphingosine kinases and some close relatives. *J Biol Chem.* 2007;282(4):2125–2129.
22. Kim RH, Takabe K, Milstien S, Spiegel S. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1791(7):692–696.
23. Hanel P, Andreani P, Graler MH. Erythrocytes store and release sphingosine 1-phosphate in blood. *FASEB J.* 2007;21(4):1202–1209.
24. Kobayashi N, et al. Sphingosine 1-phosphate is released from the cytosol of rat platelets in a carrier-mediated manner. *J Lipid Res.* 2006;47(3):614–621.
25. Yang L, Yatomi Y, Miura Y, Satoh K, Ozaki Y. Metabolism and functional effects of sphingolipids in blood cells. *Br J Haematol.* 1999;107(2):282–293.
26. Yatomi Y, et al. Sphingosine 1-phosphate, a bioactive sphingolipid abundantly stored in platelets, is a normal constituent of human plasma and serum. *J Biochem.* 1997;121(5):969–973.
27. Ito K, et al. Lack of sphingosine 1-phosphate-degrading enzymes in erythrocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;357(1):212–217.
28. Olivera A, et al. The sphingosine kinase-sphingosine-1-phosphate axis is a determinant of mast cell function and anaphylaxis. *Immunity.* 2007; 26(3):287–297.
29. Kobayashi N, Kobayashi N, Yamaguchi A, Nishi T. Characterization of the ATP-dependent sphingosine 1-phosphate transporter in rat erythrocytes. *J Biol Chem.* 2009;284(32):21192–21200.
30. Mitra P, Oskeritzian CA, Payne SG, Beaven MA, Milstien S, Spiegel S. Role of ABCC1 in export of sphingosine-1-phosphate from mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(44):16394–16399.
31. Sato K, et al. Critical role of ABCA1 transporter in sphingosine 1-phosphate release from astrocytes. *J Neurochem.* 2007;103(6):2610–2619.
32. Takabe K, et al. Estradiol induces export of sphingosine 1-phosphate from breast cancer cells via ABCC1 and ABCG2. *J Biol Chem.* 2010; 285(14):10477–10486.
33. Kawahara A, Nishi T, Hisano Y, Fukui H, Yamaguchi A, Mochizuki N. The sphingolipid transporter spns2 functions in migration of zebrafish myocardial precursors. *Science.* 2009;323(5913):524–527.
34. Osborne N, et al. The spinster homolog, two of hearts, is required for sphingosine 1-phosphate signaling in zebrafish. *Curr Biol.* 2008; 18(23):1882–1888.
35. Campbell JJ, Pan J, Butcher EC. Cutting edge: developmental switches in chemokine responses during T cell maturation. *J Immunol.* 1999;163(5):2353–2357.
36. Weinreich MA, Hogquist KA. Thymic emigration: when and how T cells leave home. *J Immunol.* 2008;181(4):2265–2270.
37. Ge Q, Chen WF. Phenotypic identification of the subgroups of murine T-cell receptor alphabeta+ CD4- CD8- thymocytes and its implication in the late stage of thymocyte development. *Immunology.* 1999;97(4):665–671.
38. Tian T, Zhang J, Gao L, Qian XP, Chen WF. Heterogeneity within medullary-type TCRalphabeta+ CD3+CD4-CD8- thymocytes in normal mouse thymus. *Int Immunol.* 2001;13(3):313–320.
39. Rosen H, Alfonso C, Surh CD, McHeyzer-Williams MG. Rapid induction of medullary thymocyte phenotypic maturation and egress inhibition by nanomolar sphingosine 1-phosphate receptor agonist. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(19):10907–10912.
40. Argraves KM, Argraves WS. HDL serves as a S1P signaling platform mediating a multitude of cardiovascular effects. *J Lipid Res.* 2007;48(11):2325–2333.
41. Sato K, Okajima F. Role of sphingosine 1-phosphate in anti-atherogenic actions of high-density lipoprotein. *World J Biol Chem.* 2010;1(11):327–337.
42. Aoki S, et al. Sphingosine 1-phosphate-related metabolism in the blood vessel. *J Biochem.* 2005; 138(1):47–55.
43. Lee YM, Venkataraman K, Hwang SI, Han DK, Hla T. A novel method to quantify sphingosine 1-phosphate by immobilized metal affinity chromatography (IMAC). *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2007;84(3–4):154–162.
44. Venkataraman K, et al. Vascular endothelium as a contributor of plasma sphingosine 1-phosphate. *Circ Res.* 2008;102(6):669–676.
45. Kisanuki YY, Hammer RE, Miyazaki J, Williams SC, Richardson JA, Yanagisawa M. Tie2-Cre transgenic mice: a new model for endothelial cell-lineage analysis in vivo. *Dev Biol.* 2001;230(2):230–242.
46. Schlaeger TM, et al. Uniform vascular-endothelial-cell-specific gene expression in both embryonic and adult transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94(7):3058–3063.
47. Takakura N, et al. A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. *Cell.* 2000; 102(2):199–209.
48. Liu Y, et al. Edg-1, the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, is essential for vascular maturation. *J Clin Invest.* 2000;106(8):951–961.
49. Takada K, et al. Kruppel-like factor 2 is required for trafficking but not quiescence in postactivated T cells. *J Immunol.* 2011;186(2):775–783.
50. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(2):107–116.
51. Osmond DG, Batten SJ. Genesis of B lymphocytes in the bone marrow: extravascular and intravascular localization of surface IgM-bearing cells in mouse bone marrow detected by electron-microscope radioautography after in vivo perfusion of 125I anti-IgM antibody. *Am J Anat.* 1984; 170(3):349–365.
52. Pereira JP, An J, Xu Y, Huang Y, Cyster JG. Cannabinoid receptor 2 mediates the retention of immature B cells in bone marrow sinusoids. *Nat Immunol.* 2009;10(4):403–411.
53. Yagi T, et al. A novel ES cell line, TT2, with high germline-differentiating potency. *Anal Biochem.* 1993; 214(1):70–76.
54. Zhang J, et al. Angiopoietin-1/Tie2 signal augments basal Notch signal controlling vascular quiescence by inducing delta-like 4 expression through AKT-mediated activation of beta-catenin. *J Biol Chem.* 2011;286(10):8055–8066.
55. Fukuhara S, et al. Differential function of Tie2 at cell-cell contacts and cell-substratum contacts regulated by angiopoietin-1. *Nat Cell Biol.* 2008; 10(5):513–526.
56. Inoue A, Arima N, Ishiguro J, Prestwich GD, Arai H, Aoki J. LPA-producing enzyme PA-PLA1alpha regulates hair follicle development by modulating EGFR signalling. *EMBO J.* 2011;19(16):4248–4260.
57. Tanaka M, Kishi Y, Takanezawa Y, Kakehi Y, Aoki J, Arai H. Prostatic acid phosphatase degrades lysophosphatidic acid in seminal plasma. *FEBS Lett.* 2004;571(1–3):197–204.

Original Article

Defining Patients at Extremely High Risk for Coronary Artery Disease in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia

Takako Sugisawa[1], Tomonori Okamura[2], Hisashi Makino[1], Makoto Watanabe[3], Ichiro Kishimoto[1], Yoshihiro Miyamoto[3], Noriyuki Iwamoto[1], Akira Yamamoto[4], Shinji Yokoyama[5] and Mariko Harada-Shiba[1, 6]

[1]Division of Endocrinology and Metabolism, National Cerebral and Cardiovascular Center, Japan
[2]Department of Public Health and Preventive Medicine, Keio University, Japan
[3]Department of Preventive Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Japan
[4]Health Care Facilities for the Aged, Minoh Life Plaza, Japan
[5]Food and Nutritional Sciences, College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, Japan
[6]Department of Molecular Innovation in Lipidology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan

Aim: **Heterozygous patients with familial hypercholesterolemia (FH) are known to be associated with a high risk of coronary artery disease (CAD), which is a major determinant of their clinical outcome. The prognosis of heterozygous FH patients substantially varies, being dependent on the level of their CAD risk, and their therapeutic regimen should be individualized. We assessed critical levels of LDL-cholesterol (LDL-C) and Achilles tendon thickness (ATT) to identify heterozygous FH patients at "very high" risk for CAD.**

Methods: **One hundred and nine heterozygous FH patients who had no history of CAD and had had their plasma lipid profile and ATT assessed before treatment were followed up until their first CAD event or 31 December 2010. Multivariable logistic regression models were used to analyze the correlation of LDL-C and/or ATT levels with the risk of developing CAD.**

Results: **During the follow-up period, 21 of the 109 patients had a CAD event, diagnosed by coronary angiogram. Individuals in the highest tertile of LDL-C had a CAD risk 8.29-fold higher than those in the lowest tertile. Individuals in the highest tertile of the ATT group had a 7.82-fold higher CAD risk than those in the lowest tertile. Those who had either LDL-C ≥260 mg/dL or ATT ≥14.5 had a 23.94-fold higher CAD risk than those with LDL-C <260 mg/dL and ATT <14.5 mm.**

Conclusions: **In heterozygous FH patients, LDL-C 260 mg/dL or higher and/or ATT 14.5 mm or thicker are useful markers for extracting patients at "very high" risk for CAD.**

J Atheroscler Thromb, 2012; 19:369-375.

Key words; Familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, Coronary artery disease, Coronary risk, Achilles tendon thickness

Introduction

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant disorder characterized by hypercholesterolemia, skin and tendon xanthomas and a high risk of coronary artery disease (CAD) due to premature atherosclerosis[1]. FH has the highest prevalence in genetic metabolic diseases, showing one per 300 to 500 heterozygous patients in the general population[1, 2]. High low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) is the first symptom, appearing in heterozygous FH even from birth, and xanthomas in the Achilles tendon usually appear during or after the late 10s and are found in half of all patients by the age of 30[1]. Coronary artery disease (CAD), which determines the prognosis of FH patients, appears during or after the third decade of life in men and the fifth decade in women[3-5].

Address for correspondence: Mariko Harada-Shiba, Department of Molecular Innovation in Lipidology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka, 565-8565, Japan
E-mail: shiba.mariko.ri@mail.ncvc.go.jp
Received: August 23, 2011
Accepted for publication: October 14, 2011

CAD mortality in heterozygous FH is several times higher than that in the general population[1, 6-8]; therefore, it is very important to prevent CAD in heterozygous FH patients. The prognosis of heterozygous patients of FH varies substantially, such that some develop CAD at their 20s while others may not develop CAD until their seventh decade; therefore, the therapeutic regimen should be individualized according to the patients' risk of CAD.

Various risk factors for CAD have been identified in heterozygous patients with FH, such as age, sex, LDL-C, triglyceride (TG), HDL-C, Achilles tendon thickness (ATT), smoking, a family history of CAD, hypertension, diabetes mellitus, Lp(a), homocysteine and so on[3, 9-12]. Among these parameters, LDL-C and ATT are simple, specific and non-invasive to measure, and can easily be used by primary care physicians to evaluate the CAD risk. We therefore estimated the CAD risks in accordance with LDL-C and ATT in heterozygous FH patients in order to identify those at extremely high risk.

Methods

Subjects

Of the patients referred to the lipid clinic at the National Cerebral and Cardiovascular Center (NCVC) from 1977 to 2007, 329 consecutive patients diagnosed as FH heterozygotes using previously described criteria[6] were subjected to this study. After diagnosis, the FH patients had medical checks according to the standard procedure for treating heterozygous FH in NCVC. The patients were subjected to a treadmill test for CAD screening just after their first visit to our clinic. Those who had a positive result on the treadmill test were subjected to a coronary angiogram (CAG), and diagnosed with CAD with 75% or more stenosis. Those who had a negative result on the treadmill or no significant stenosis by CAG were included in this study. Among the 329 FH patients, 229 were excluded: 53 had a past history of CAD, 160 had not had LDL-C measured before treatment, 76 had not had ATT thickness measured and 3 had TG more than 4.5 mmol/L, so 109 were followed up until their first CAD event or 31 December 2010. After the first visit to our clinic, dietary and drug treatment, including statins, was immediately started and continued.

During the course, those who had chest pain or a positive result on the treadmill test performed biennially were subjected to CAG, and diagnosed with CAD with 75% or more stenosis. Medical records of the patients were examined according to the analysis protocol approved by our institutional ethics committee (ID#M20-25-2).

Clinical and Laboratory Characteristics

Serum lipid and lipoprotein levels were measured at the time of initial diagnosis, before any lipid-lowering treatment. TC, TG and HDL-C levels were measured enzymatically with a commercial kit (Daiichi Pure Chemicals Co., Tokyo, Japan) using an automated analyzer (Hitachi model 704; Hitachi, Tokyo, Japan) in the clinical laboratory of the National Cerebral and Cardiovascular Center (NCVC). LDL-C was calculated by the Friedewald formula. ATT was measured by X-ray according to the method previously described[13]. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared (kg/m^2). Hypertension was defined as the use of antihypertensive drugs or blood pressure ≥140 mmHg systolic or ≥90 mmHg diastolic or both at the first clinic visit (the criteria for hypertension of the Japanese Society of Hypertension Guidelines)[14]. Diabetes mellitus was defined according to the 2002 Guideline for the Treatment of Diabetes Mellitus of the Japanese Diabetes Society[15]. A family history of CAD was defined as positive by having within 2nd degree family members with CAD on the standardized questionnaire. Smoking was defined as positive by having a smoking habit at the first visit to NCVC on the patient report.

Statistical Analyses

Continuous variables are presented as the means ±SDs. Categorical data are presented as numbers and percentages. Unpaired Student's *t*-test and one-way analysis of variance (ANOVA) were used to assess differences between groups in continuous variables. Differences in categorical variables were assessed by the χ^2 test.

Multivariable logistic regression analysis after adjusting for age, sex, hypertension, diabetes mellitus, smoking, family history of CAD, and low HDL-C (<40 mg/dL) were used to analyze correlations of LDL-C levels or ATT levels and the development of CAD. LDL-C levels were categorized into tertiles: (1) LDL-C <206 mg/dL, (2) LDL ≥206 and <260 mg/dL, (3) LDL-C ≥260 mg/dL. ATT levels were also categorized into tertiles: (1) ATT <9.0 mm, (2) ATT ≥9.0 mm and <14.5 mm, (3) ATT ≥14.5 mm. All the confidence intervals were estimated at the 95% level and significance was set at $p<0.05$. All data were analyzed with the SPSS version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) statistical software package.

資料11

Table 1. Clinical characteristics of 109 patients with heterozygous FH classified with or without CAD

	Total $n=109$	CAD(−) $n=88$	CAD(+) $n=21$	p value
Age (years)	41.9±16.2	39.7±16.7	50.9±10.5	<0.01
Sex (male), n (%)	43 (39.4%)	30 (34.1%)	12 (57.1%)	0.052
Achilles tendon thickness (mm)	12.6±5.4	11.5±4.5	17.4±6.3	<0.0001
Skin xanthomas, n (%)	25 (22.9%)	16 (18.2%)	9 (42.9%)	0.052
Arcus cornea, n (%)	45 (41.3%)	27 (30.7%)	16 (76.2%)	0.001
Total cholesterol (mg/dL)	321±68	309±56	368±92	<0.001
Triglyceride (mg/dL)	139±82	134±85	156±65	0.272
HDL-C (mg/dL)	51±15	51±15	50±15	0.747
LDL-C (mg/dL)	242±70	232±59	287±92	0.001
Smoking (past or current), n (%)	42 (38.5%)	28 (31.8%)	14 (66.6%)	0.003
Hypertension, n (%)	19 (17.4%)	10 (11.4%)	9 (42.9%)	0.003
Diabetes mellitus, n (%)	9 (8.2%)	5 (5.7%)	4 (19.0%)	0.186
Family history of CAD, n (%)	47 (43.1%)	37 (42.0%)	10 (47.6%)	0.411

Table 2. Clinical characteristics at first visit in heterozygous patients of FH classified by LDL-C Levels (Mean±SD)

LDL-C (mg/dL) categories	LDL-C <206 $n=36$	206≦LDL-C<260 $n=36$	LDL-C ≥260 $n=37$	p value
Age (years)	43.7±15.6	42.0±17.5	40.0±15.8	0.645
Sex (male), n (%)	14 (38.9%)	13 (36.1%)	15 (40.5%)	0.928
Body mass index (kg/m²)	22.2±3.3	22.5±3.2	22.8±6.8	0.880
Total cholesterol (mg/dL)	258±28	308±20	394±55	<0.001
Triglyceride (mg/dL)	149±102	134±67	134±74	0.672
HDL-C (mg/dL)	54±16	51±15	47±14	0.100
Smoking (past or current), n (%)	15 (41.7%)	10 (27.8%)	15 (40.5%)	0.385
Hypertension, n (%)	5 (13.9%)	6 (16.7%)	3 (8.1%)	0.660
Diabetes mellitus, n (%)	2 (5.6%)	3 (8.3%)	2 (5.4%)	0.831
Family history of CAD, n (%)	17 (47.2%)	14 (38.9%)	16 (43.2%)	0.775
Achilles tendon thickness (mm)	10.7±4.2	12.5±5.5	14.6±5.8	0.282
CAD, n (%)	5 (13.9%)	3 (8.3%)	13 (35.1%)	0.02

Results

Characteristics of the Patients Subjected to Analysis of the Correlations of LDL-C and CAD

Among 109 patients, 21 (19.3%) developed CAD during the subsequent period. There was a significantly higher prevalence of hypertension, skin xanthomas, arcus cornea and smoking in the CAD (+) group. Mean age, ATT, TC and LDL-C were significantly higher in the CAD (+) group than in the CAD (−) group (**Table 1**).

LDL-C Levels and Development of CAD

The clinical characteristics of patients categorized into tertiles according to their LDL-C levels are shown in **Table 2**. They clearly show that parameters other than TC levels were not significantly different in each tertile. Higher LDL-C was associated with higher TC and the incidence of CAD.

To examine the influence of conventional coronary risk factors, logistic regression analyses for CAD were performed. The multivariable adjusted odds ratios (ORs) for CAD are shown in **Table 3**. Individuals in the highest tertile (LDL-C ≥260 mg/dL) had a 8.29-fold increased risk of CAD incidence compared with those in the lowest tertile (LDL-C <206 mg/dL) (adjusted odds ratio (OR) 8.29, 95 % CI 1.33-51.47, $p=0.023$). No significant increase in the odds of future CAD in the second tertile (206≦LDL-C<260 mg/dL) (adjusted OR 0.42, 95%CI 0.05-3.26, $p=0.409$).

Table 3. Multivariate-adjusted odds ratio for CAD by logistic regression analyses according to LDL-C

LCL-C categories	n	Odds Ratio	95% CI	p value
LDL-C <206 mg/dL	36	1.0 (referent)	–	–
206≦LDL-C<260 mg/dL	36	0.42	0.05-3.26	0.409
LDL-C ≥260 mg/dL	37	8.29	1.33-51.47	0.023

Multivariable logistic regression models for CAD are adjusted for age, sex, hypertension, diabetes mellitus, smoking, family history of CAD, and low HDL-C (<40 mg/dL).

Table 4. Clinical characteristics at first visit in heterozygous patients of FH classified by ATT levels (mean±SD)

ATT (mm) categories	ATT <9 $n=36$	9≦ATT<14.5 $n=37$	ATT ≥14.5 $n=36$	p value
Age (years)	39.7±18.3	39.4±16.4	45.2±13.5	0.177
Sex (male), n (%)	11 (30.6%)	13 (35.1%)	18 (50.0%)	0.207
BMI (kg/m²)	22.3±2.8	21.7±2.8	23.1±2.7	0.883
Total cholesterol (mg/dL)	293±42	319±66	350±79	0.002
Triglycerides (mg/dL)	140±106	134±69	142±67	0.505
HDL-C (mg/dL)	57±14	47±14	48±15	0.916
LDL-C (mg/dL)	208±44	245±67	274±78	0.003
Smoking habit, n (%)	9 (25.0%)	13 (35.1%)	14 (38.9%)	0.001
Hypertension, n (%)	4 (11.1%)	2 (5.4%)	8 (22.2%)	0.094
Diabetes mellitus, n (%)	1 (2.8%)	1 (2.7%)	5 (13.9%)	0.125
Family history of CAD, n (%)	16 (44.4%)	17 (46.0%)	14 (38.9%)	0.815
CAD, n (%)	2 (5.6%)	4 (10.8%)	15 (41.7%)	<0.001

ATT Levels and Development of CAD

The clinical characteristics of patients categorized into tertiles according to their ATT levels are shown in **Table 4**. Higher ATT levels were associated with higher TC and LDL-C levels, smoking and the incidence of CAD.

The multivariable adjusted OR for CAD is shown in **Table 5**. Individuals in the highest tertile group of ATT ≥14.5 mm had a 7.82-fold increased risk of CAD compared with those in the ATT <9.0 mm group (95%CI 1.28-47.7, $p=0.001$). No significant increase in the odds of future CAD in the group with 9≦ATT<14.5 mm (adjusted OR 1.42, 95%CI 0.18-11.14, $p=0.740$).

LDL-C and/or ATT Levels and Development of CAD

To estimate the future risk for CAD using the combination of LDL-C and ATT thickness, the patients were divided into 3 groups, (1) LDL-C <260 mg/dL and ATT <14.5 mm, (2) LDL-C <260 and ATT ≥14.5, or LDL-C ≥260 and ATT <14.5, (3) LDL-C ≥260 and ATT ≥14.5. OR for CAD was calculated for these groups and shown in **Table 6**. Those who had both LDL-C ≥260 and ATT ≥14.5 had a 20.62-fold increased risk of CAD compared with those with LDL-C <260 and ATT <14.5 (95%CI 2.91-145.89). Those with either LDL-C ≥260 or ATT ≥14.5 had a 23.62-fold increased risk of CAD compared with those with LDL-C <260 and ATT <14.5 (95%CI 3.11-184.16).

Discussion

As the prognosis of heterozygous FH patients varies substantially, the therapeutic regimen should be determined according to the CAD risk of individual patients. High levels of LDL-C and ATT are clinical signs already found at a young age and can be measured easily and non-invasively by family physicians in primary care, so they can be good markers for estimating the future CAD risk of FH. In the present study, we demonstrated the critical levels of LDL-C and ATT for estimation of the CAD risk in Japanese heterozygous patients with FH.

Several studies on the Japanese population have indicated that the serum cholesterol level is correlated significantly with the risk of CAD[16, 17]. The increased CAD incidence seems exponential with the serum cholesterol level in the general population, and it can be

Table 5. Multivariate-adjusted odds ratio for CAD by logistic regression analyses according to ATT levels

ATT (mm) categories	n	Odds Ratio	95% CI	*p* value
ATT < 9 mm	36	1.0 (referent)	–	–
9 ≦ ATT < 14.5 mm	37	1.42	0.18-11.14	0.740
ATT ≥ 14.5 mm	36	7.82	1.28-47.7	0.001

Multivariable logistic regression models for CAD are adjusted for age, sex, hypertension, diabetes mellitus, smoking, family history of CAD and low HDL-C (< 40 mg/dL).

Table 6. Multivariate-adjusted odds ratio for CAD by logistic regression analyses according to both ATT and LDL-C levels

LDL-C and ATT categories	n	Odds Ratio	95% CI	*p* value
LDL-C < 260, ATT < 14.5 mm	54	1.0 (referent)	–	–
LDL-C < 260, ATT ≥ 14.5 mm or LDL-C ≥ 260, ATT < 14.5 mm	37	23.94	3.11-184.16	0.002
LDL-C ≥ 260, ATT ≥ 14.5 mm	18	20.62	2.91-145.89	0.002

Multivariable logistic regression models for CAD are adjusted for age, sex, hypertension, diabetes mellitus, smoking, family history of CAD and low HDL-C (< 40 mg/dL).

considered low until it hits a certain "threshold". The findings of the relationship with LDL-C levels and the onset of CAD in FH patients seem to show a "right shift" of this profile as LDL-C 2-fold higher and CAD incidence more than 10-fold. Previous studies have reported that higher LDL-C is related with the higher risk factors for the development of CAD even in heterozygous FH patients[18, 19], whereas other factors, such as age, gender, hypertension, smoking, or other lipid abnormalities, such as low HDL-C and high TG reportedly contribute to the increased risk[3, 12, 18-22]. Bujo *et al.* reported that male gender, age over 50, smoking, hypertension, diabetes mellitus, TG > 150 mg/dL and HDL-C < 40 mg/dL were risk factors for CAD in FH by multicenter, cross-sectional analysis[3].

As we reported in a previous paper, drug treatment including statins may influence the outcome of CAD[5]. The name and dose of drugs prescribed to the patients during the course are listed in **Table 7**. Because all FH patients had had intensive drug therapy to prevent the development of atherosclerosis, no comparison could be made with those without drug therapy. It was also impossible to analyze the difference in drugs statistically because there were so many patterns of prescription and most patients changed the type and dose of drugs several times during the course.

LDL-C levels under drug treatment may also affect the outcome. The mean LDL-C under drug treatment did not increase the odds ratio for CAD (odds ratio: 0.983, 95%CI: 0.97-1.00); however the relationship between mean LDL-C in the pre-treatment period and CAD risk remained due to pre-exposure to high LDL-C before treatment, although the absolute risk of CAD might be decreased at any LDL-C level by intensive drug treatment during the course.

Table 7. Lipid-lowering drugs in heterozygous FH patients during the course

	Dose/day
cholestyramine	4-12 g
colestimide	0.5-3 g
probucol	250-1,000 mg
pravastatin	10-30 mg
simvastatin	5-20 mg
fluvastatin	20-60 mg
atorvastatin	5-40 mg
pitavastatin	1-4 mg
rosuvastatin	2.5-20 mg
fenofibrate	100-200 mg
bezafibrate	100-400 mg
ezetimibe	5-10 mg

Civerira *et al.* reported that heterozygous FH with tendon xanthomas has a 3.1-fold increased risk of premature CAD compared with those without it[23]. The Achilles tendon was reported to be thicker in FH patients with CAD than in those without CAD in both sexes[12]. Persistent high LDL-C causes cholesterol depositions in the tendons and results in tendon xanthomas[1]. Achilles tendon xanthomas have been used as one of the criteria for clinical diagnosis of FH because of their high sensitivity and specificity[1, 24]. A strongly positive correlation was observed between ATT and cholesterol-year scores in FH patients[25, 26], suggesting that ATT reflects both the severity and duration of hypercholesterolemia. ATT is an important factor that can be measured quantitatively as the deposition of cholesterol in the tissue. The present study showed that ATT is a good marker for evaluating the risk for CAD, indicating that there is a strong correlation between the deposition of cholesterol in extravascular tissue and the stenosis of coronary arteries. ATT should be used not only as a diagnostic parameter for FH but also, and more importantly, as a prognostic factor that indicates the need for a more aggressive approach for patients at high risk.

In conclusion, LDL-C ≥ 260 mg/dL and ATT ≧ 14.5 mm or thicker are useful criteria for identifying patients at "very high" risk of CAD in Japanese heterozygous FH. Patients with either of these risk factors require more intensive cholesterol-lowering therapy and a more careful medical check-up for CAD.

Acknowledgments

This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare (H23-seisakutansaku-ippan-004 and H20-nanji-ippan-011) and the Cardiovascular Research Foundation (Suita, Japan).

References

1) Goldstein JL, Hobbs H, Brown MS: Familial hypercholesterolemia. Edited by Scriver CR BA, Sly WS, Valle D, pp2863-2913, McGraw-Hill, New York, 2001
2) Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Yamagishi M, Inazu A, Koizumi J: Molecular genetic epidemiology of homozygous familial hypercholesterolemia in the Hokuriku district of Japan. Atherosclerosis, 2011; 214: 404-407
3) Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Ishibashi S, Shionoiri F, Yamada N, Kita T: Clinical features of familial hypercholesterolemia in Japan in a database from 1996-1998 by the research committee of the ministry of health, labour and welfare of Japan. J Atheroscler Thromb, 2004; 11: 146-151
4) Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, Takeda R: Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. Circulation, 1989; 79: 225-232
5) Harada-Shiba M, Sugisawa T, Makino H, Abe M, Tsushima M, Yoshimasa Y, Yamashita T, Miyamoto Y, Yamamoto A, Tomoike H, Yokoyama S: Impact of statin treatment on the clinical fate of heterozygous familial hypercholesterolemia. J Atheroscler Thromb, 17: 667-674
6) Mabuchi H, Miyamoto S, Ueda K, Oota M, Takegoshi T, Wakasugi T, Takeda R: Causes of death in patients with familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 1986; 61: 1-6
7) Jensen J, Blankenhorn DH, Kornerup V: Coronary disease in familial hypercholesterolemia. Circulation, 1967; 36: 77-82
8) Stone NJ, Levy RI, Fredrickson DS, Verter J: Coronary artery disease in 116 kindred with familial type II hyperlipoproteinemia. Circulation, 1974; 49: 476-488
9) Yagi K, Hifumi S, Nohara A, Higashikata T, Inazu A, Mizuno KO, Namura M, Ueda K, Kobayashi J, Shimizu M, Mabuchi H: Difference in the risk factors for coronary, renal and other peripheral arteriosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia. Circ J, 2004; 68: 623-627
10) Pisciotta L, Cortese C, Gnasso A, Liberatoscioli L, Pastore A, Mannucci L, Irace C, Federici G, Bertolini S: Serum homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 2005; 179: 333-338
11) Real JT, Martinez-Hervas S, Garcia-Garcia AB, Chaves FJ, Civera M, Ascaso JF, Carmena R: Association of C677T polymorphism in MTHFR gene, high homocysteine and low HDL cholesterol plasma values in heterozygous familial hypercholesterolemia. J Atheroscler Thromb, 2009; 16: 815-820
12) Hirobe K, Matsuzawa Y, Ishikawa K, Tarui S, Yamamoto A, Nambu S, Fujimoto K: Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 1982; 44: 201-210
13) Mabuchi H, Ito S, Haba T, Ueda K, Ueda R: Discrimination of familial hypercholesterolemia and secondary hypercholesterolemia by Achilles' tendon thickness. Atherosclerosis, 1977; 28: 61-68
14) Ikeda N, Hasegawa T, Hasegawa T, Saito I, Saruta T: Awareness of the Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2000) and compliance to its recommendations: surveys in 2000 and 2004. J Hum Hypertens, 2006; 20: 263-266
15) Matsushima M: [Japan Diabetes Society clinical practice guideline]. Nippon Rinsho, 2002; 60 Suppl 9: 161-166
16) Nakamura Y, Yamamoto T, Okamura T, Kadowaki T, Hayakawa T, Kita Y, Saitoh S, Okayama A, Ueshima H: Combined cardiovascular risk factors and outcome: NIPPON DATA80, 1980-1994. Circ J, 2006; 70: 960-964
17) Okamura T, Kokubo Y, Watanabe M, Higashiyama A, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, Okayama A: Low-density lipoprotein cholesterol and non-high-density lipoprotein cholesterol and the incidence of cardiovascular disease in an urban Japanese cohort study: The Suita study. Atherosclerosis, 2009; 203: 587-592
18) Hill JS, Hayden MR, Frohlich J, Pritchard PH: Genetic and environmental factors affecting the incidence of coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb, 1991; 11: 290-297
19) Ferrieres J, Lambert J, Lussier-Cacan S, Davignon J: Cor-

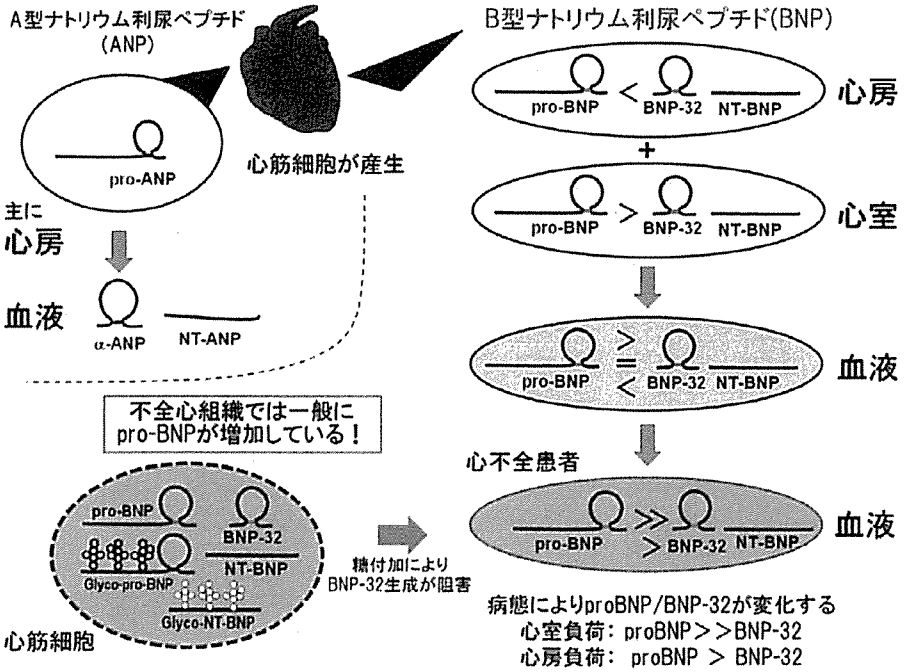
onary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. Circulation, 1995; 92: 290-295
20) Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, McCarthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, Utermann G: Relation of serum lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein(a) phenotype to coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolemia. N Engl J Med, 1990; 322: 1494-1499
21) Wiklund O, Angelin B, Olofsson SO, Eriksson M, Fager G, Berglund L, Bondjers G: Apolipoprotein(a) and ischaemic heart disease in familial hypercholesterolaemia. Lancet, 1990; 335: 1360-1363
22) Yanagi K, Yamashita S, Kihara S, Nakamura T, Nozaki S, Nagai Y, Funahashi T, Kameda-Takemura K, Ueyama Y, Jiao S, Kubo M, Tokunaga K, Matsuzawa Y: Characteristics of coronary artery disease and lipoprotein abnormalities in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia associated with diabetes mellitus or impaired glucose tolerance. Atherosclerosis, 1997; 132: 43-51
23) Civeira F, Castillo S, Alonso R, Merino-Ibarra E, Cenarro A, Artied M, Martin-Fuentes P, Ros E, Pocovi M, Mata P: Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with cardiovascular risk independently of the low-density lipoprotein receptor gene mutation. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005; 25: 1960-1965
24) Sullivan D: Guidelines for the diagnosis and management of familial hypercholesterolaemia. Heart Lung Circ, 2007; 16: 25-27
25) Schmidt HH, Hill S, Makariou EV, Feuerstein IM, Dugi KA, Hoeg JM: Relation of cholesterol-year score to severity of calcific atherosclerosis and tissue deposition in homozygous familial hypercholesterolemia. Am J Cardiol, 1996; 77: 575-580
26) Lehtonen A, Makela P, Viikari J, Virtama P: Achilles tendon thickness in hypercholesterolaemia. Ann Clin Res, 1981; 13: 39-44

２．循環器病の予防法と治療法確立の推進

2)「心不全診断法を開発する研究の推進」　分子薬理部、心臓血管内科、研究所長

研究所職員の寒川、南野らが発見したナトリウム利尿ペプチド類（ANP、BNP、CNP）のうち、ANP と BNP は心不全の治療薬、診断薬として世界で汎用されている。特に血中 BNP 濃度は心不全のゴールデンマーカーとして日常診療に不可欠な指標で、世界で年間 1 億検体が測定されている。

血中には活性型 BNP-32 以外に低活性の前駆体 proBNP も循環するが、心不全の重症例では proBNP が増加する。しかし、現在の測定法は BNP-32 と proBNP を区別できず、これらの分子の総和を測定している。我々は、大動脈弁狭窄などの心室負荷症例では proBNP が優位であるのに対して、僧房弁閉鎖不全などの心房負荷症例では BNP-32 が優位であることを示した。また、心不全の悪化に伴い proBNP /BNP-32 比が増加し、改善に伴い低下することも報告した（図参照）。一方、心不全初期には、BNP 濃度と重症度が必ずしも相関しない症例も認められる。つまり、心不全の重症化に伴い血中 BNP 濃度は増加するが、病態により BNP-32/proBNP 比が変化する可能性が強く示唆された。この事実は、各分子の濃度と濃度比を測定することにより、より正確な心不全病態を評価ができる可能性を示すものので、平成 23 年度に BNP-32 と proBNP の個別測定系の構築を京都大学、塩野義製薬と共同で着手した。急性心不全及び急性心筋梗塞を対象とする研究計画を作成し、倫理委員会の承認を得て平成 24 年度より研究を開始した。proBNP 測定法の開発については、24 年度末に発表した（Nishikimi, et al. Plos One, 8: e53233, 2013）。



心筋細胞及び血液中のナトリウム利尿ペプチド分子の多様性と心不全

一方、ANP でも従来の測定法は3種の分子型（活性型分子1、低活性型分子2）の総和を測定している。ANP についても各分子の測定系の構築を進め、3種について特異的測定系を構築し、測定安定性や個体差などについて最終的な調製、確認を進めており、確立でき次第、上記の計画に加えて測定を実施する。

心不全は多様な心疾患の終末像であり、抜本的な治療法開発のために、より正確に病態や治療効果、予後を評価するバイオマーカーの発見が強く求められている。ナトリウム利尿ペプチド測定の分子分別測定研究がこれらに対する答えとなりうる可能性があり、研究所、病院が一体となり研究を推進して行きたい。

『発症 3 時間超 4.5 時間以内の虚血性脳血管障害患者に対する
rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法の適正な施行に関する緊急声明』

（推奨）

1. アルテプラーゼ静注療法は、発症から 4.5 時間以内に治療可能な虚血性脳血管障害患者に対して行う。
2. 発症後 4.5 時間以内であっても、治療開始が早いほど良好な転帰が期待できる。このため、患者が来院した後、少しでも早く（遅くとも 1 時間以内に）アルテプラーゼ静注療法を始めることが望ましい。
3. 発症後 3～4.5 時間に投与開始する場合、慎重投与のうちとくに「81 歳以上」、「脳梗塞既往に糖尿病を合併」、「NIHSS 値 26 以上」、「経口抗凝固薬投与中」に該当する場合は，適応の可否をより慎重に検討する必要がある。

虚血性脳血管障害急性期に伴う機能障害の改善を目的とした遺伝子組み換え組織型プラスミノゲン・アクティベータ（recombinant tissue-type plasminogen activator: rt-PA）であるアルテプラーゼ（alteplase）の静脈内投与が、2005 年に国内で使用承認され、その後現在までの治療件数は 4 万例を超えた。承認にあたって、国内臨床試験 Japan Alteplase Clinical Trial（J-ACT）[1]の結果を踏まえ、独自のアルテプラーゼ投与量 0.6 mg/kg（欧米では 0.9 mg/kg）を用いることが推奨された。日本脳卒中学会はわが国独自の治療法が安全に実施されることを目指して、「rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法適正治療指針（2005 年 10 月）」を作成し[2]、その後の日常臨床の場で広く用いられてきた。

この指針での根幹となる推奨事項のうち、とくに治療可能時間に関して「発症から 3 時間以内に開始しなければならない」と明記され、その後に作成された脳卒中合同ガイドライン委員会による「脳卒中治療ガイドライン 2009」においても同じ内容が記載された[3]。この規定の根拠として、発症 3 時間以内の患者を対象とした米国 National Institute of Neurological Disorders and Stroke（NINDS）主導の臨床試験が良好なアルテプラーゼ治療効果を示したのに対して[4]、5 ないし 6 時間以内の患者を対象とした試験では治療効果が明らかでなかった点や[5-7]、国内承認の直接の根拠となった J-ACT[1]が 3 時間以内の患者を対象とした点があげられる。治療開始可能時間を短時間に制限することは、既に広範な脳虚血障害を起こしている患者への治療機会を避けて本治療の安全性（頭蓋内出血の抑止）を高める半面で、多くの患者の治療機会を損ね、実際に投与される患者は虚血性脳血管障害患者全体の 5%以下に留まっている。

海外での臨床試験のメタ解析の結果からは、発症後 4.5 時間以内にアルテプラーゼ静注療法を始める場合の良好な治療効果が示唆され（図 1）[8,9]、欧州での観察研究（Safe Implementation of Treatments in Stroke-International Stroke Thrombolysis Registry: SITS-ISTR）[10]と介入試験（European Cooperative Acute Stroke Study Ⅲ: ECASS Ⅲ）[11]で発症後 3～4.5 時間の患者への本治療の有効性と安全性が証明された。この結果に基づき、欧州では 2009 年にガイドラインを改訂して発症後 4.5 時間以内の患者に対する本治療が推奨され[12]、2011 年 11 月に欧州 15 ヵ国の相互認証方式で発症後 3～4.5 時間の患者への投与が承認された。米国・カナダも 2009 年に[13,14]、また豪州も 2010 年にガイドラインでの治療開始可能時間を 3 時間から 4.5 時間に延ばし[15]、豪州では 2010 年に発症後 3～4.5 時間の患者にアルテプラーゼの投与が承認された。このように現在では、治療開始可能時間 4.5 時間以内が、国際標準となっている。

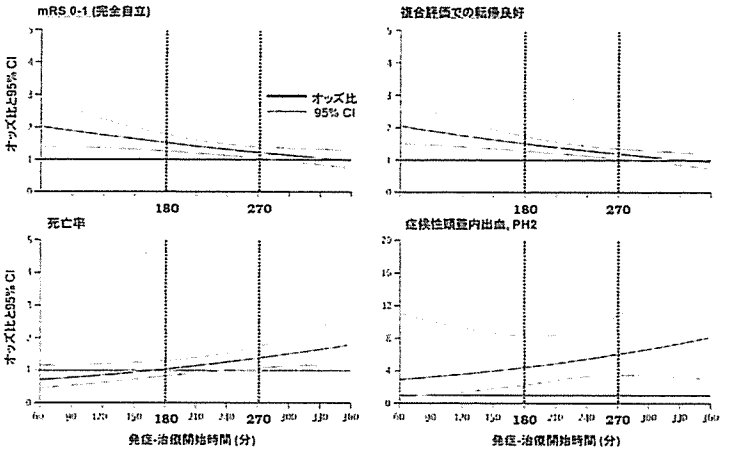


図 1.発症から治療開始までの時間と 3 か月後の転帰：海外主要試験（NINDS 試験、ECASS Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ、ATLANTIS、EPITHET）のメタ解析結果　[文献 9 より改変引用]

以上のような状況にあって、国内でも虚血性脳血管障害患者へのアルテプラーゼ静注療法の開始可能時間を 3 時間から 4.5 時間に延ばすことについて「医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」で評価され、2012 年 8 月に薬事・食品衛生審議会で公知申請の事前評価が終了し、保険適用が可能となった。わが国において、発症後 3～4.5 時間の虚血性脳血管障害患者に対して本治療を適正に行うための診療指針を明らかにすることは、日本脳卒中学会の極めて重要な使命であり、今回の緊急声明をもって国内に診療指針を周知させることとした。

1. 治療開始時間

虚血性脳血管障害発症 4.5 時間以内の患者を、治療対象とする。ただし、図 1 に示したように、本治療の効果は発症からの時間経過とともに低下し、症候性頭蓋内出血の危険性が高まるため、本治療は可能な限り早く始めるべきである。言い換えれば、3 時間以内に治療開始可能である患者に対しては、治療開始を遅らせることなく従来通り 3 時間以内に治療を始める。

2. 治療適応となる患者・診療施設の基準

発症後 3~4.5 時間の虚血性脳血管障害患者のうち、アルテプラーゼ静注療法の適応外（禁忌）例、慎重投与例（適応の可否を慎重に検討すべき症例）を表 1 に示す。この表は、「rt-PA（アルテプラーゼ）静注療法適正治療指針（2005 年 10 月）」における表 3 と同一であるが、注意事項として「慎重投与」のうちとくに「脳梗塞既往に糖尿病を合併」，「年齢 81 歳以上」，「たとえば NIHSS スコア 26 以上の重い臨床症状」，「経口抗凝固薬投与中」に該当する場合は，適応の可否をより慎重に検討する必要がある点を書き加えている。

欧州（ドイツ）のアルテプラーゼ添付文書では、この 4 項目に該当する患者には本治療を行わないようにと書かれている（3 時間以内の患者においても同様に、行わないようにと書かれている）。このうち高齢者の投与制限について、欧州脳卒中機構のガイドラインでは、「81 歳以上でも一部の患者には投与して良い」と推奨している[12]。2010 年のカロリンスカ脳卒中会議では、81 歳以上の患者への投与が合理的であると提言し、さらに「脳梗塞既往に糖尿病を合併した患者の一部には投与して良い」ことを上記ガイドラインに加えるよう提言している[16]。豪州の添付文書では、「年齢 81 歳以上」を慎重投与としている。このように、海外でも 4 項目の取り扱いは一定の見解を得ていない。わが国では、この 4 項目はいずれも 2005 年版国内適正治療指針における慎重投与に該当するため、従来から適応の可否を慎重に検討してきたが、発症後 3~4.5 時間の患者においてはさらに個々の症例ごとに慎重に適応を検討すべきと考える。

また本治療の施設基準は、2005 年版国内適正治療指針における基準と同一とする。

3. 画像診断

頭蓋内出血や広汎な早期虚血性変化、圧排所見（正中構造偏位）はアルテプラーゼ静注療法の禁忌に該当するため、CT もしくは MRI を実施してこれらの所見を除外する必要がある。とくに発症後 3~4.5 時間では、3 時間以内に比べて脳の虚血障害が進行し、早期虚血性変化が広がる可能性が高いので、この変化所見を正確に評価すべきである。ただし画像所見による治療開始時間の遅れは、極力避けねばならない。

4. アルテプラーゼ投与量と投与方法

発症後 3~4.5 時間の虚血性脳血管障害患者へのアルテプラーゼ投与量として、3 時間以内の患者と同じく 0.6 mg/kg（34.8 万国際単位/kg）を、投与方法として 10%を 1~2 分かけて急速投与し、残りを 1 時間で持続静注することを推奨する。

海外において、発症後 3 時間以内と 3~4.5 時間の患者では、同一の投与量（0.9 mg/kg）になっている。一方わが国においては、発症後 3 時間以内の患者に 0.6 mg/kg を投与した全国使用成績調査 Japan post-Marketing Alteplase Registration Study（J-MARS）[17]や観察研究 Stroke Acute Management with Urgent Risk-factor Assessment and Improvement (SAMURAI) rt-PA Registry[18]で海外と同様の良好な成績が確認されていることから、3~4.5 時間の患者においても 3 時間以内の場合と同じ投与量とすることが適切である。

5. アルテプラーゼ静注療法後の管理

Stroke care unit (SCU)あるいはそれに準じた病棟でのきめ細かい管理が推奨される。管理指針は 2005 年版国内適正治療指針における発症後 3 時間以内の患者への指針と同じである。とくに発症後 3~4.5 時間の患者では、3 時間以内の患者と比べて頭蓋内出血が増えることが、ECASS Ⅲやメタ解析の結果でも示されているので[9,11]、頭痛，悪心・嘔吐，急激な血圧上昇を認めた場合，緊急 CT スキャンを実施して、頭蓋内出血を見逃さないようにする。

6. その他

以上の指針以外にも、この数年の国内外での新たなエビデンスの蓄積や医療環境の変化（新規抗凝固薬や経皮経管的脳血栓回収用機器の承認など）に伴い、2005 年版国内適正治療指針では対応できない状況が生じている。今回の緊急声明と並行して、日本脳卒中学会では適正治療指針の改訂作業を進めており、年内の改訂版公表を予定している。

2012 年 9 月

一般社団法人日本脳卒中学会　理事長　小川　彰

脳卒中医療向上・社会保険委員会 rt-PA 適正治療指針改訂部会　部会長　峰松一夫

文 献

1. Yamaguchi T, Mori E, Minematsu K, et al for the Japan Alteplase Clinical Trial (J-ACT) Group: Alteplase at 0.6 mg/kg for acute ischemic stroke within 3 hours of onset: Japan Alteplase Clinical Trial. Stroke 37: 1810-1815, 2006
2. 日本脳卒中学会医療向上・社会保険委員会 rt-PA (アルテプラーゼ) 静注療法指針部会： rt-PA (アルテプラーゼ) 静注療法適正治療指針 (2005 年 10 月)。 脳卒中 27; 327-354, 2005
3. 脳卒中合同ガイドライン委員会。 脳卒中治療ガイドライン 2009。 東京、協和企画、2009
4. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group: Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. N Engl J Med. 333: 1581-1587, 1995
5. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, et al: Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. The European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). JAMA. 274: 1017-1025, 1995
6. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, et al: Randomised double-blind placebo-controlled trial of thrombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischaemic stroke (ECASS II). Second European-Australasian Acute Stroke Study Investigators. Lancet. 352: 1245-1251, 1998
7. Clark WM, Wissman S, Albers GW, et al: Recombinant tissue-type plasminogen activator (Alteplase) for ischemic stroke 3 to 5 hours after symptom onset. The ATLANTIS Study: a randomized controlled trial. Alteplase Thrombolysis for Acute Noninterventional Therapy in Ischemic Stroke. JAMA. 282: 2019-2026, 1999
8. Hacke W, Donnan G, Fieschi C, et al: Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. Lancet 363: 768-774, 2004
9. Lees KR, Bluhmki E, von Kummer R, et al: Time to treatment with intravenous alteplase and outcome in stroke: an updated pooled analysis of ECASS, ATLANTIS, NINDS, and EPITHET trials. Lancet. 375: 1695-1703, 2010
10. Wahlgren N, Ahmed N, Davalos A, et al: Thrombolysis with alteplase 3-4.5 h after acute ischaemic stroke (SITS-ISTR): an observational study. Lancet. 372: 1303-1309, 2008
11. Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, et al: Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. N Engl J Med. 359: 1317-1329, 2008
12. The European Stroke Organization (ESO) Executive Committee and the ESO Writing Committee. Guideline for management of ischaemic stroke and transient ischemic attack 2008. Available from: http://www.eso-stroke.org/pdf/ESO%20Guidelines_update_Jan_2009.pdf/.
13. del Zoppo GJ, Saver JL, Jauch EC, et al. Expansion of the time window for treatment of acute ischemic stroke with intravenous tissue plasminogen activator. A Science Advisory from the American Heart Association/ American Stroke Association. Stroke 40: 2945-2948, 2009
14. Best Practices and Standards WG: Canadian Best Practice Recommendations for Stroke Care. Available from: http://www.strokebestpractices.ca/
15. National Stroke Foundation. Clinical guidelines for stroke management 2010, p11, p137. Available from: http://www.strokefoundation.com.au/clinical-guidelines/.
16. Karolinska Stroke Update Consensus Statements 2010: Reperfusion Therapy - Intravenous Thrombolysis. Available from: http://www.strokeupdate.org/Cons_Reperf_IVT_2010.aspx
17. Nakagawara J, Minematsu K, Okada Y, et al: Thrombolysis With 0.6 mg/kg Intravenous Alteplase for Acute Ischemic Stroke in Routine Clinical Practice. The Japan post-Marketing Alteplase Registration Study (J-MARS). Stroke 41: 1984-1989, 2010
18. Toyoda K, Koga M, Naganuma M, et al: Routine use of intravenous low-dose rt-PA in Japanese patients: general outcomes and prognostic factors from the SAMURAI register. Stroke 40: 3591-3595, 2009

表 1. 発症 3~4.5 時間に治療開始するアルテプラーゼ静注療法のチェックリスト

確認事項		
発症時刻(最終未発症確認時刻)		□
治療開始（予定）時刻 _____	(≤4.5 時間)	□
症状の急速な改善がない		□
軽症（失調，感覚障害，構音障害，軽度の麻痺のみを呈する）ではない		□
禁 忌	**あり**	**なし**
既往歴		
頭蓋内出血既往	□	□
3ヶ月以内の脳梗塞（TIA は含まない）	□	□
3ヶ月以内の重篤な頭部脊髄の外傷あるいは手術	□	□
21 日以内の消化管あるいは尿路出血	□	□
14 日以内の大手術あるいは頭部以外の重篤な外傷	□	□
治療薬の過敏症	□	□
臨床所見		
痙攣	□	□
くも膜下出血(疑)	□	□
出血の合併（頭蓋内出血，消化管出血，尿路出血，後腹膜出血，喀血）	□	□
頭蓋内腫瘍・脳動脈瘤・脳動静脈奇形・もやもや病	□	□
収縮期血圧（適切な降圧療法後も 185mmHg 以上）	□	□
拡張期血圧（適切な降圧療法後も 110mmHg 以上）	□	□
血液所見		
血糖異常（<50mg/dl，または>400mg/dl）	□	□
血小板 100,000/mm^3以下	□	□
ワルファリン内服中，PT-INR> 1.7	□	□
ヘパリン投与中，APTT の延長（前値の 1.5 倍以上または正常範囲を超える）	□	□
重篤な肝障害	□	□
急性膵炎	□	□
画像所見		
CT で広汎な早期虚血性変化	□	□
CT/MRI 上の圧排所見（正中構造偏位）	□	□
慎重投与（適応の可否を慎重に検討する）	**あり**	**なし**
既往歴		
10 日以内の生検・外傷	□	□
10 日以内の分娩・流早産	□	□
3ヶ月以上経過した脳梗塞（＊とくに糖尿病合併例）	□	□
蛋白製剤アレルギー	□	□
臨床所見		
年齢 75 歳以上（＊81 歳以上）	□	□
NIHSS スコア 23 以上（＊26 以上）	□	□
JCS100 以上	□	□
消化管潰瘍・憩室炎，大腸炎	□	□
活動性結核	□	□
糖尿病性出血性網膜症・出血性眼症	□	□
血栓溶解薬，抗血栓薬投与中（＊経口抗凝固薬投与中）	□	□
月経期間中	□	□
重篤な腎障害	□	□
コントロール不良の糖尿病	□	□
感染性心内膜炎	□	□

<注意事項>
1. 確認事項は完全に満足する必要がある。
2. 一項目でも「禁忌」に該当すれば実施しない。
3. 一項目でも「慎重投与」に該当すれば，適応の可否を慎重に検討し，治療を実施する場合でも「リスクとベネフィット」を患者本人・家族に正確に説明し同意を得る必要がある。
4. 「慎重投与」のうち，＊を附した 4 項目に該当する場合は，個々の症例ごとに適応の可否を慎重に検討する必要がある。

※ 適正治療指針改訂版（年内公表予定）では、リスト内のいくつかの記載のさらなる修正を予定している。

News Letter vol.5
2012.05 特集：先天性心疾患

独立行政法人
国立循環器病研究センター

【お問い合わせ先】
国立循環器病研究センター
総務課広報係
TEL06-6833-5012(内線2496) E-mail:kouhou@ml.ncvc.go.jp

生まれながら心臓疾患の子どもは、100人に1人
―― 胎児から成人まで生涯を通じたQOLの向上めざす

小児循環器科、小児心臓外科、周産期・婦人科から構成される当センターの小児循環器・周産期部門には、全国から重症な心臓疾患の子どもたちがやってきます。今回は、生まれながらに心臓病をもつ患者を、胎児期から成人にいたるまで診察する同部門の先天性心疾患に対する取り組みをご報告します。

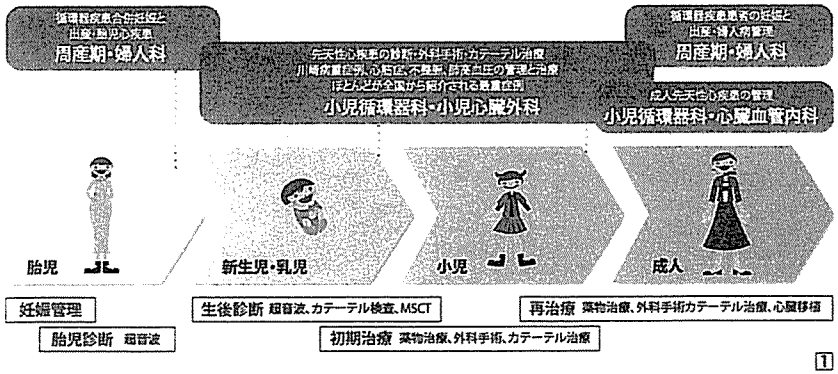
小児循環器医療の最後の砦の覚悟をもって

我が国で生まれる赤ちゃんのほぼ100人に1人が、心臓に何らかの先天的な疾患をもって生まれてきます。年間の出生者数が100万人超ですから、毎年約1万人もの先天性心疾患の赤ちゃんが誕生していることになります。これは決して軽視できる数字ではありません。その半数近くは軽症で自然に治癒することも多いのですが、それ以外は手術などの治療を受けなければなりません。

国立循環器病研究センターでは、開設以来、最も重症な先天性心疾患の子どもを全国から受け入れてきました。また、診断精度の向上や先端的な治療・手術の開発において、全国の先駆的な役割を果たしてきました。失われる子どもの命をゼロにするために、患者への負担の軽い診断・治療のさらなる研究開発に取り組み、命を助けるだけでなく、生涯を通じて高いQOLを保つような治療の確立をめざしています。

小児循環器・周産期部門は、下図のように胎児、新生児から成人までを生涯にわたって診察しています。さらに、心疾患をもつ妊婦の出産まで扱う世界的にもユニークな診療部門で、心疾患合併妊娠を扱う施設としては国内最多、世界第3位の規模を誇っています。周産期・婦人科、小児循環器科、小児心臓外科の各科が密接に連携して治療にあたっていることも大きな特徴です。また最近では、厚生労働省の班研究として、「乳児特発性僧帽弁腱索断裂（にゅうじとくはつせいそうぼうべんけんさくだんれつ）」の病因研究や疫学調査「成人先天性心疾患の診療体制の構築に向けた研究」も行っています。これからもどんな重症の患者も断らず、諦めず、小児循環器医療の最後の砦であるという覚悟で、部門全体が一体となってすべての小さな命を救うために全力を尽くしていきます。

当センターにおける小児心疾患治療



1

全国の産科・小児科医が信頼寄せる診断技術
―― 胎児期に心疾患を発見。小さな命をチームで守る

多くの複雑な疾患が全国から

小児循環器・周産期部門で多くを占めるのが先天性心疾患の患者です。当部門には年齢別の病棟がありますが、乳幼児病棟では、2011年は243人の赤ちゃんが入院。そのうち、先天性心疾患が87%の212人でした。

先天性心疾患には、下のグラフのような種類がありますが、最も多い心室中隔欠損のような比較的単純な疾患を当センターで診療することは少なく、もっと複雑で、地域の大学病院などでも対応がむずかしい重症の患者を全国から受け入れています。

先天性心疾患の診断・治療はお母さんのお腹にいるときから始まります。胎児期の検査は、地域の病院産婦人科での検査で、お腹の赤ちゃんの心臓にむずかしい問題があるとうたがわれた妊婦さんが紹介を受けて当センターに来られ、精査検査を受けることになります。

胎児の精査検査の中心は心エコー、つまり心臓に対する超音波検査です。心エコーの画像をもとに、周産期・婦人科と小児循環器科の医師が定期的にカンファレンスを行い、共同で診断します。出産直後に手術が必要な場合には小児心臓外科の医師とのカンファレンスも行います。各科の緊密な連携は、小児循環器・周産期部門の特徴の1つです。カンファレンスではどの時期にどの産み方をするか、出産後にどんな手術・治療を行うのかなどを話し合います。

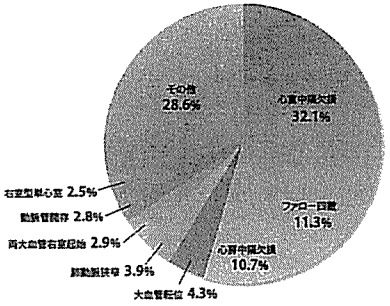
心エコーを読み解く高度な診断

近年の超音波CTなどの画像診断の向上によって、胎児や乳児に負担をかけずに病態を正確に把握できるようになりました。心エコーやCT画像を3次元化し、図のように心臓の状態を鮮明に見ることもできます。胎児のときから正確な診断が可能となったことで、生まれてくるまで状態がわからず手遅れになる例が減り、出生前に診断して、最善の準備を整え、介入時期を遅らせることなく治療ができるようになりました。

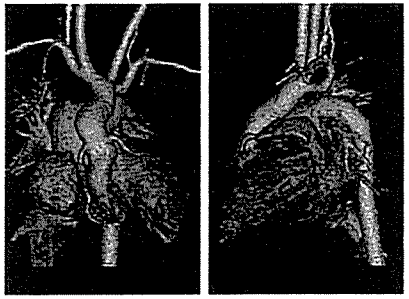
新生児患者には、他院で生まれて当センターに搬送されてくる場合と当センターで出産する場合がありますが、年々当センターでの出産が増え、2011年には半数を超えました。これも胎児診断が進み妊娠中から入院する例が増えたことが要因です。また、重症の胎児や新生児患者の割合が増えています。これも以前ならば病態が判明する前に亡くなっていたケースでも、早い時期に異常の発見が可能になったことが背景にあります。

超音波による画像診断装置は発展しましたが、その画像から正確な診断ができる医師は全国的にはまだ多くはありません。そこで、循環器に特化し経験も豊富な当センターの医師がインターネットなどを利用し、他の病院の胎児や子どもたちの心エコー画像を見て診断を行う"遠隔医療"の取り組みも始めています。

日本における主な先天性心疾患とその割合



生後1ヶ月女児の心大血管CT画像（左は正面像、右は側面像）
～3次元画像を基に精度の高い手術が可能に



2

トップクラスの先天性心疾患治療実績
――子どもへの負担軽い診断法、治療法を開発

高度な手術手技を確立

先天性心疾患に対する治療・手術の進歩にはめざましいものがあります。小児循環器医療における先駆的な役割を担う当センターが日本有数の治療実績をもち、治療方法の確立に大きな役割を果たした手術には、ダブルスイッチ手術、ロス手術などがあります。

ダブルスイッチ手術は修正大血管転位症に対して行う手術です。ロス手術は先天性の大動脈弁疾患に対して、人工弁ではなく、自分自身の肺動脈弁を使って置き換える手術です。ロス手術もダブルスイッチ手術も高度な技術が求められる難手術で、国内で実施できるのは限られた施設だけです。

またフォンタン手術も開設以来積極的に取り組んできた治療で、累計400例以上の実績があり、20年以上にわたる長期のフォローアップをしています。フォンタン手術の手術方法は以前と大きく変わり、実施時期が低年齢化しました。長年にわたるフォローアップから、小さい時に実施した方が成人してからの状態もよいことがわかってきたからです。この手術は現在では多くの施設で行われるようになりましたが、当センターでは世界的にも珍しい人工心肺を使わないやり方を取り入れています。人工心肺を使わないことで、患者の肺への負担が小さくなるからです。

国内最多のカテーテル治療

患者に与えるダメージの小さい、低侵襲（ていしんしゅう）な診断・治療法で行うことも大切な課題です。たとえば、外科手術しか治療法がなかった心房中隔欠損に対して、2005年からカテーテル治療を提供しています。心房中隔欠損は左心房と右心房の間の壁に穴が開く先天性疾患で、この穴をふさぐ栓をカテーテルに入れて留め置いて治します。現在では、すべてのカテーテル治療数は年間約250例と国内最多の実績があります。とくに心房中隔欠損のカテーテル治療では、全国で最初に導入した施設の一つとして、現在も指導的な役割を果たし続けています。

また他施設で治療することが困難な複雑先天性心疾患患者の難治性不整脈に対して先駆的な治療を進める役割を担う施設として、カテーテル治療（アブレーション治療）を数多く手がけてきました。さらにセンター開設当初より行ってきた川崎病の臨床研究では、小児期の冠動脈バイパス手術実績や成人患者の長期経過観察など、世界をリードするデータを出し続けています。

また、患者の心臓の3次元画像をもとに精密な心臓レプリカを作製するプロジェクトをすすめています。

主な先進的手術の内容

名称	対象疾患	手術内容
ダブルスイッチ手術	修正大血管転位症	大動脈と肺動脈が入れ換わっているが、左心室と右心室も通常とは逆につながっているので、血流の流れは正常と同じように修正された形の疾患である修正大血管転位症に対して、大動脈と肺動脈の血管の転換と心房内での血流の転換を同時に行う。
ロス手術	大動脈弁疾患	狭窄＆逆流のある大動脈弁を人工弁ではなく、患者自身の肺動脈弁を使って置き換える。
フォンタン手術	単心室症	2つあるべき心室の片方が小さく、本来は2つの心室で分担している体循環と肺循環がうまくできない疾患に対して、静脈血が直接に肺動脈に流れ込むようにして、心室からは動脈血だけを駆出させるようにする。

これまでの心臓移植の実績を子どもにも
――早期承認めざし、補助人工心臓の治験始まる

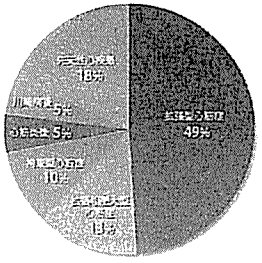
認定施設として万全の体制を

2010年7月に改正臓器移植法が施行され、従来は年齢制限でドナーとならなかった15歳未満の小児からの臓器提供が可能になりました。また法改正とともに10歳未満の小児への移植が可能な心臓移植実施施設として、当センターが東京大学医学部附属病院、大阪大学医学部附属病院とともに認定されました。施設認定を受け、当センターでは大人の心臓移植を国内で最も多く手がけてきた実績と経験を活かし、小児心臓移植のための体制づくりを進め、移植の適応判定や待機中の患者の管理、移植後の治療などをまとめた小児の心臓移植実施計画を策定しています。また、移植を受けた子どもが快適に過ごす専用の病室の新設なども行ってきました。

しかし改正法施行という大きな一歩は踏み出されましたが、子どもの心臓移植が医療として我が国で定着するためには未だに多くの課題が存在しています。

まず小児の臓器提供が少なく、移植が必要な子どもたちがドナーが現れる前に亡くなったり、海外での移植を求める状況が続いています。世界では18歳未満の小児に対する心臓移植は年ごとに多少の増減はありますが緩やかに増え続け、現在は年間500例以上実施され、1歳以下でも100例を越えています。それに対して我が国では現在改正後の国内での15歳以下の心臓移植は1件のみ、10歳以下についてはゼロです。

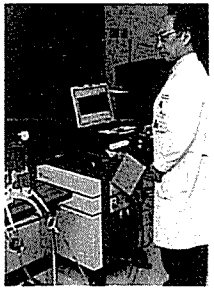
心臓移植の原因となる疾患と割合



今回の改正移植法では虐待をうけて亡くなった児童からの臓器提供は禁止されており、臓器の摘出手術を行う施設には虐待防止委員会など虐待の有無を判断する体制の整備が求められています。また虐待防止委員会があっても脳死判定ができる体制がない施設もあり、小児心臓移植の定着のためには脳死判定や臓器提供の体制を整備した施設の増加が求められています。

移植までの命をつなぐために

また体重20キロ未満の子どもに安全に使える補助人工心臓が国内にはなく、実用化が待たれています。小児は成人よりも症状の進行が早く、移植までの待機中の命をつなぐ補助人工心臓の臨床への導入は緊急の課題です。当センターでは東大、阪大と共同で、ドイツのベルリンハート社製の小児用補助人工心臓「EXCOR」の国内承認をめざした治験を2012年4月から開始しました。


治験の始まった補助人工心臓「EXCOR」

EXCORは体外据え置き型で、海外ではすでに20カ国124施設で890人以上の患者が使用しています。欧州では1997年に販売基準に適合したことを示すCEマークを取得しました。アメリカでは2011年にFDA（アメリカ食品医薬品局）で承認され、安全性が確認されています。また、厚生労働省が設置した「医療ニーズの高い医療機器等の早期導入に関する検討会」で2010年に早期導入がのぞまれる医療機器に選定されています。

各施設で1人に装着し、3ヶ月経過を観察し、移植までの橋渡しとして機能するかを確認します。治験は2014年まで行う予定です。

成人した先天性心疾患患者をどこが診る？
―― 専門外来を開設。延べ受診者は日本最大

今や先天性心疾患の半数は成人

日本では当センターが開設された1970年代から、複雑な先天性心疾患に対する手術の成功率が高くなってきました。かつては複雑心疾患の乳児死亡率は60%と言われていましたが、今では90%以上の先天性心疾患患者が成人を迎えるようになりました。現在、先天性心疾患患者全体の半数以上の約40万人が20歳以上の成人患者で、今後も毎年一万人の割合で増加すると予想されています。

成績が良くなったとは言え、先天性心疾患の患者の中には子どものときに最善である手術を受けても、機能障害を免れない場合があります。手術を受けていない場合には当然ながら機能障害が伴います。その機能障害が少年期や青年期には大きな問題とはならなくても次第に進行して重症化し、成人期以降に不整脈や心不全などを発症することが少なくありません。

先天性心疾患をベースにもつ患者を、加齢などにともなって冠動脈や弁などに不調が現れるようになった後天性心疾患患者と同じように診療することはできません。後者は通常、心臓内科、循環器内科の医師が診察しますが、内科の先生方には心臓の構造異常を主体とする先天性心疾患の実体験が乏しいので、特にフォンタン手術のような特異な血行動態の患者さんは敬遠されがちです。一方小児科医には成人の診療経験は乏しく、またこども病院や小児科で、成人が診療を受けることもむずかしい現状があります。成人した先天性心疾患患者をどこで誰が診るのか、それが今、日本の医療界の中で大きな問題となってきています。

適切な受診科が見つけにくい成人した先天性心疾患患者が安心して受診できるように、当センターでは2010年12月より、小児循環器科と心臓内科にまたがる「成人先天性心疾患外来」を開設しています。

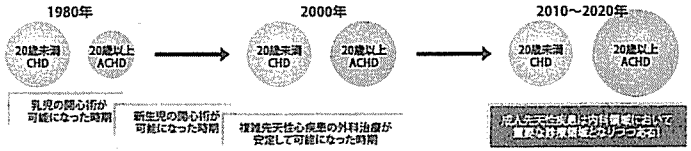
成人先天性外来のモデル確立めざす

1970年代からの手術実績を有する当センターでは、以前から多くの成人した先天性心疾患患者を診察してきました。昨年度の小児循環器科延べ外来受診数17,000人のうち実に6,700人が18歳以上で4割を占めます。これは国内最大規模です。この豊富な実績をもとに各科が協力して成人先天性心疾患の患者さんに最先端の医療を提供しています。

成人した先天性心疾患患者には、心臓だけでなく他臓器にも生活習慣病の発生頻度が高く専門医の診療を要する場合が少なくありません。更に妊娠、出産をむかえる女性患者もいます。普段は問題がなく日常生活が送れている患者でも、出産間近には5割増しの循環を昼夜維持しないといけない妊娠中は健やかに過ごせるとは限りません。前もって心臓の機能を評価して妊娠の可否を判断し患者さんに伝えていくことも成人先天性心疾患外来の役目になります。可能ではあるがリスクの高い場合には周産期・婦人科での妊娠管理とともに、小児循環器科、心臓内科での循環の管理が必要になります。また小児期手術に対する成人期での再介入だけでなく、成人期での初回手術もあります(小児心臓外科が担当します)。

成人に達した先天性心疾患の患者の診療は、新たな循環器疾患の一分野といえます。当センターでは現在さまざまな領域が連携して診療にあたっていますが、実体のあるユニットとしての成人先天性心疾患診療のモデルづくりに取り組んでいきます。また、この分野に関心のある医師(小児循環器医、心臓内科医)のための教育プログラムを2013年度から実施する予定です。

成人先天性心疾患患者の年齢分布の推移



1980年代には成人期に到達する先天性心疾患(CHD)患者数はきわめて少なかったが、2000年代には小児と成人の患者数がほぼ同等になった。2010年には成人が小児患者を凌駕し、2020年にはACHD患者数が小児の患者数を大きく上回ると予想されている。

INFORMATION

国循発の高機能ドクターカーの試験運用を開始



国立循環器病研究センターは、医師、看護師が同乗し他院から当院へ安全に患者の搬送を行うドクターカーの試験運用を5月14日から開始しました。

マイクロバスを元に作製されたこのドクターカーは、車内に除細動器、人工呼吸器、心電図モニタ、携帯型吸引機、自動体外式除細動器を使いやすく配置した、いわば「動く診療室」。新生児向けの搬送用保育器、幼児用ストレッチャーと幼児用赤外線ウォーマーも装備され、新生児から成人まで幅広い患者に対応する、国内でも類を見ない高機能車輌です。

また、国循が開発した「モバイルテレメディシンシステム」も搭載。搬送中の車内から患者の脈拍、血圧12誘導心電図などのバイタルデータと車内カメラで撮影した映像を送信。同乗の医師と病院の医師が搬送中の患者の情報をリアルタイムで共有し、病院到着後、時間のロスなく速やかに治療を行うことができます。

たとえば、重症の心不全のために補助循環装置を装着された患者、緊急手術が必要な新生児など、重篤な循環器疾患患者を対象にした出動を主に想定しています。救急車よりも広く、十分な医療機器を備え、通信設備を使って搬送患者の情報を病院とやりとりしながら車内で医療行為を行い、迅速かつ安全に搬送を行うドクターカー。その開発、運用ノウハウを、当センターでは今後、内外に向けて発信していきます。



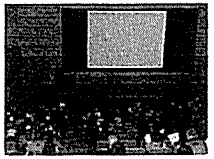
「国循市民公開講座」がスタート、年内に4回開催

広く社会に向けて循環器病予防等を啓発する取組みとして、年4回の国循市民公開講座を開催していきます。第1回は3月11日、大阪府豊中市の千里ライフサイエンスセンターで行われました。

第1回のテーマは「生活習慣病の改善で循環器病を予防」。第1部では健康チェック、生活習慣病相談、食に関する展示を行い、約300名の来場者の血圧、身長、体重、体脂肪、血糖測定などを行いました。第2部では「循環器病のための生活習慣病の予防と治療」と題して、国循の医師など5名が講演。そのなかで、峰松一夫副院長は国循が被災地で行った活動も紹介。当日は震災から1周年にあたることから、地震発生の時刻に参加者全員で犠牲になられた方々に黙祷を捧げました。

これまでも診療科単位などで市民公開講座を開催してきましたが、国循全体としては初めての試みとなります。次回以降は年内6月、10月、12月に開催。いずれも、健康チェック・相談・展示と講演の2部構成の予定です。第2回は「心臓発作で困らないために」をテーマに、6月23日、大阪府茨木市の茨木市福祉文化会館(オークシアター)で行います。

なお、第1回市民講座の様子は、ユーチューブの「国循チャンネル」(http://www.youtube.com/user/kokujunNCVC)で動画をご覧いただけます。



News Letter vol.6
2012.08　特集：最新プロジェクト

独立行政法人
国立循環器病研究センター

【お問い合わせ先】
国立循環器病研究センター
総務課広報係
TEL06-6833-5012（内線8496）E-mail:kouhou@ml.ncvc.go.jp

未来の医療と社会に貢献 最新プロジェクト報告
―― 次世代の医療ニーズを見据えた課題に今、取り組む

2010年に独立行政法人に移行した国立循環器病研究センターは、長年培って来た知的資産を活かし、「循環器病の制圧」を目指した新たな歩みを重ねてきました。今号では、さらに10年、20年後の未来の医療に向けた当センターの最新のプロジェクトを３つご紹介します。

健康寿命をのばし、活力ある社会を築く

循環器病は日本人の死亡原因の上位を占める心筋梗塞、心不全や脳卒中など、幅広く血管に関わるすべての疾患を対象としています。循環器病の患者数、医療費はがんの倍に達し、その制圧は国家的な課題となっています。

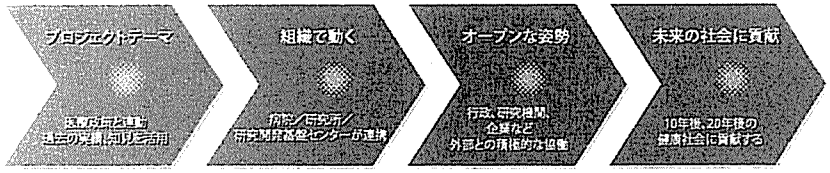
たとえば、脳卒中患者は2020年には300万人に達するという予測もあります。ある人が60歳で脳卒中で倒れ、後遺症で80歳まで介護を必要とする状態で生きる場合と、その人が健康で社会にアクティブに関わり続けた場合では、その人個人の幸福やご家族の負担だけでなく、社会の損失や負担も膨大な違いが生じます。

特に、今後10～15年後、人口構成において突出している団塊の世代が75歳以上となるときに、この世代が健康で自律した生活ができるかどうかは我が国にとって大きな問題です。その解決のためには、健康寿命を短くする大きな要因となる循環器病をいかに少なくするかが課題です。

これは、我が国だけの問題ではありません。韓国、中国、インドなど進境著しいアジア諸国も必ず高齢化し、同様の課題を抱えることになるでしょう。今、日本が新たなモデルを作り上げることができれば、医療だけでなく国家のあり方においても国際的に先導的な役割を果たすことができます。

当センターには、循環器病の各分野のトップクラスの専門家が集まっています。質的にも量的にも循環器の専門家がこれだけ集中した組織は他にありません。当センターは国立高度専門医療研究センター（ナショナルセンター）として、循環器病の制圧を今、日本が直面する極めて重大な課題ととらえ、予防医療から最先端医療、超急性期医療、リハビリまで、あらゆる段階でより高い効果を求めて戦略的に取り組み、未来の医療と社会に貢献していきます。

当センターのプロジェクトデザイン



イノベーションを起こす環境・基盤を整備
―― 多様な連携で、医療を日本の成長牽引役に

蓄積した成果を基礎に、課題解決的に取り組む

「早期・探索的臨床試験拠点」「バイオバンク」「減塩」の3プロジェクトは、未来にむけた当センターの取り組みの代表的なものです。

早期・探索的臨床試験拠点は創薬・医療機器開発を進める新しい体制をつくるもの。バイオバンクは創薬、個別化医療など今後の医療に欠かせない、生体試料のデータベースをつくるもの。減塩プロジェクトはより広範に、日本人全体の血圧を下げ、脳と心臓病の患者の数を減らす戦略を立てるものです。

3つのプロジェクトは1977年の開設以来、蓄積されてきた当センターならではのノウハウと実績があって初めて取り組むことができたものです。たとえば、長年取り組んできた補助人工心臓の開発が、早期・探索的臨床試験拠点として医療機器を対象とすることにつながっています。

当センターは病院と研究所が一体となり、循環器医療の現場の問題をいかに解決するかに取り組み成果を上げてきました。そのような課題解決的な手法は当センターの特徴といえます。

おいしいと評判の減塩病院食や早期・探索的臨床試験拠点として取り組む医療機器も現場のニーズをしっかりとらえた当センターの課題解決的な取り組みから生まれました。当センターはこれまでの研究と治療の実績を活かし、課題解決的な手法によって先駆的な成功事例をつくりあげ、我が国の医療イノベーションの推進に寄与していきます。

オープン・イノベーションで革新的成果を

医療関連産業は日本経済を活性化する大きな可能性を持った産業として期待されています。医療関連産業が成長牽引産業となるためには医療現場のニーズ、研究機関のもつシーズと我が国の得意とするものづくり力をマッチングさせ医薬品・医療機器の開発を進めることが必要と考えられています。

当センターでは独立行政法人に移行した2010年に、研究開発基盤センターを創設。医工連携、産学連携を積極的に推し進める体制を整備し、従来の医療の枠にとらわれず、多様な業界・職種と連携し、互いの知的資産を組み合わせて革新的な成果を生み出すオープン・イノベーションに挑戦しています。

早期・探索的臨床試験拠点としての機能が強化され、バイオバンクのデータベースが充実し製薬企業、大学などの利用が拡大すれば、オープン・イノベーションの核として、先進的な医療研究と医療産業における当センターの役割は一段と大きくなっていくでしょう。

減塩関連ではレシピのデジタル配信や減塩弁当の販売など、連携の成果もすでに出ています。当センターの位置する関西は、世界有数の大学・研究機関が集積される一方、東大阪に代表される中小ものづくり企業も多数活動する地域です。当センターはオープン・イノベーションの推進により、広く地域の産業の活性化や雇用の促進などにつながる貢献をめざしていきます。

3プロジェクトのねらいとそれを支える基盤



①早期・探索的臨床試験拠点プロジェクト
――革新的医療技術を生み出す場と環境を築く

唯一の医療機器の拠点に選定される

日本発の革新的な医薬品・医療機器の創出を目的に、2012年度から開始された国の早期・探索的臨床試験拠点整備事業において、当センターが厚生労働省から、最初の5施設の１つに選定されました。5施設の中でも当センターは唯一、医療機器の開発を手がけます。

この選定を受け、当センターは実験結果の信頼性を担保するシステム（GLP）に適合する人材、設備の整備を進め、ファースト・イン・ヒューマンの治験を、企業主導ではなく医師主導で行える体制づくりを行っていきます。

ファースト・イン・ヒューマンとは、世界に先駆けて、ヒトに初めて新規薬物・機器を投与・使用すること。

当センターではすでに、重症心不全の患者に植え込み型補助人工心臓を装着するかどうかを決定するまでの間、一時的に使用する「超小型補助循環システム」、現在の手術では治療がむずかしい脳動脈瘤の閉塞治療などに使う「多孔化薄膜カバードステント」という、２つの医療機器について、ファースト・イン・ヒューマンの医師主導治験にむけた研究開発を進めています。

２つの医療機器はどちらも当センターの臨床現場のニーズから生まれた国循発の機器で、国内企業との連携によって開発を進めているものです。

これからの医療機器開発のモデル築く

医療機器開発は日本の得意とする"ものづくり力"が活かされる分野と期待されています。しかし、安全性のリスク、採算性、規制などが懸念材料となって国内の参入企業は増えず、輸入超過の状態が続いているのが現状です。

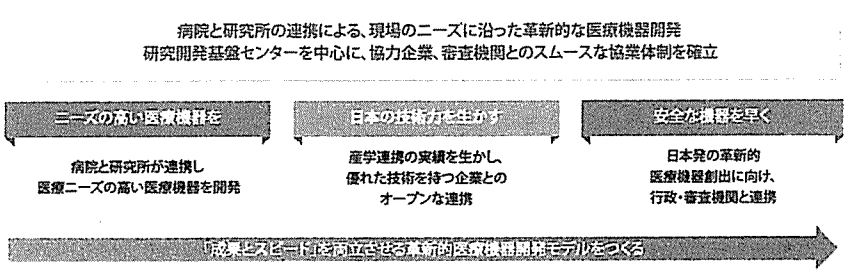
医療機器を扱う唯一の早期・探索的臨床試験拠点に選定された当センターとしては、シーズを次々と製品化に持ち込むような、医療機器開発を円滑に進める仕組みのモデルづくりをめざしていきます。

また、承認審査業務などを行う医薬品医療機器総合機構（PMDA）とも協力関係を築き、学会などと協力して提言などを行い、我が国の医療機器開発の環境づくりにも取り組んでいきます。

当センターでは国内の開発環境の改革こそ早期・探索的臨床試験拠点プロジェクトの真の目的ととらえ、「MeDICI Project」（メディチ・プロジェクト＝Medical Device Innovation Circumstances Improvement Project：医療環境イノベーション環境整備プロジェクト）というニックネームをつけました。

メディチ家などがパトロンとなって花咲いたイタリアのルネッサンス期のように、潜在的に高いポテンシャルをもつ我が国の革新的医療技術を生み出す力を、爆発的に発揮させる場と仕掛けを整備していきたいと考えています。

日本発の革新的医療機器創出に向けた当センターの取組み



②バイオバンクプロジェクト
――未来の医療に欠かせない研究基盤整備

国内初、循環器疾患に特化

当センターはバイオバンク事業を、2011年11月に設立、2012年6月から患者さんへの協力のお願いを開始しました。循環器病の領域に特化したバイオバンクは国内初となります。

バイオバンクとは、患者さんの同意を得た上で、血液や手術・検査の際に摘出された組織の一部などの生体試料を医療情報と合わせて保存、それらを国内外の研究機関などに活用してもらう仕組みです。

当センターを含む6つのナショナルセンターのバイオバンクが並行して事業を進めています。6センターの連携によって、近い将来、大規模なバイオバンクの整備につながると期待しています。

今日、病気の原因や治療法の研究を進めるにあたっては、さまざまな医療情報や生体試料を活用し、多面的な解析を行うことが欠かせません。バイオバンクの充実によって、新しい治療薬・治療法・検査法・予防診断法・疾患マーカーの開発、医学・医療・医学教育の質・技術・レベルの向上、などの成果が望めます。

当センターでは次世代に向けた医療のための重要な研究基盤として、日本のバイオバンクを着実に育てていきます。

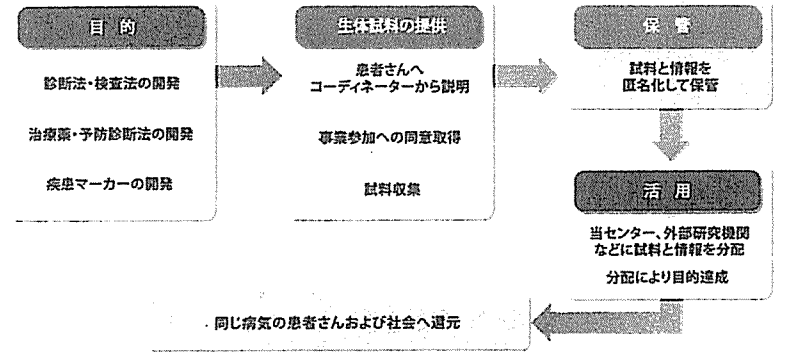
患者さんの協力が医療の発展に寄与

バイオバンクでは、はじめからバイオバンクで活用することを目的に提供された生体試料の他、診療や検査後に残った生体試料、診療や検査で得られた情報・データ、解剖で得られたヒト組織、臓器・標本などを保存します。

生体試料の収集にあたっては、コーディネーターが患者さんに趣旨を説明し、文書で同意を得た上で採取、保存を行います。生体試料、医療情報に付帯する個人情報は無関係な番号、記号に置きかえて個人が特定されないように匿名化します。試料と情報の分配は、当センターの倫理委員会で承認を得た医学研究にのみ匿名化されたまま提供されます。

多くの患者さんに協力いただき、日本の医学と日本人に合った医療の発展に寄与していきます。

国立循環器病研究センター・バイオバンクの目的と流れ



③減塩プロジェクト
―― 日本人の食塩摂取量を減らす多角的な働きかけ

減塩なのにおいしい病院食が大好評

食塩の摂り過ぎは血圧を上昇させ、循環器病のリスクを高めます。また、最近の研究では食塩が直接心臓や血管に悪い影響を与えることもわかってきました。しかし、日本人の食塩の1日の摂取量は1日11グラム程度と世界的にみても高くなっています。

当センターは食塩摂取量を減らすことを国民的な課題ととらえ、減塩食の普及と定着を進める多面的な活動を行っています。

当センター病院では、臨床栄養部が中心となって2005年から、塩分摂取量が1食2グラム、1日合計6グラムの減塩食を入院患者さんに提供しています。また、食事治療のサポートとして、入院・外来の患者さんを対象に栄養指導を行っています。

一般に塩を減らした食事は味気ないイメージがありますが、栄養士と調理師が協力して開発した当センターの減塩食は京料理の手法を取り入れ、素材そのものの旨みを引き出し、塩分が少ないのにしっかり味があっておいしいと、病院食のイメージを変えるほどの好評を博し、メディアでも多数取り上げられてきました。

センターから社会へ。減塩普及への取り組み

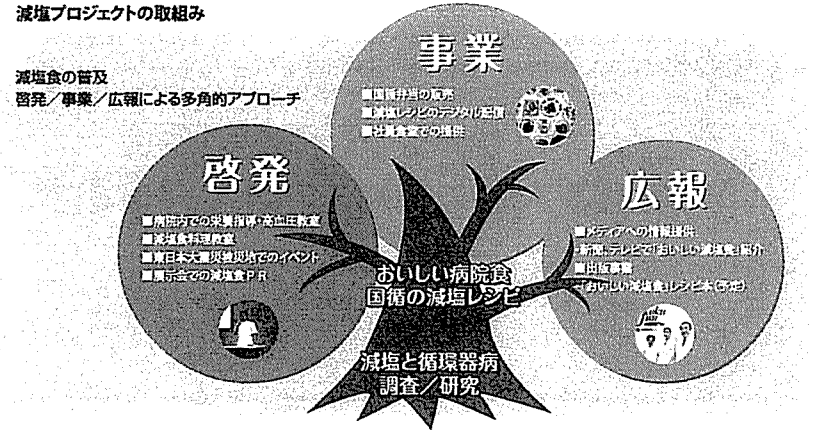
減塩食を広めるためには、いつでも減塩食を食べられるようにすることも大切です。そのために、研究開発基盤センター知的資産部を通じて、当センターのおいしい減塩食の事業化にも取り組んでいます。

民間企業と提携、デジタル化した減塩レシピを配信する事業が3月から開始されました。また、弁当事業者との提携による減塩食弁当の販売も始まっています。

各地で減塩セミナー、講演会を開催するなど、塩分摂取を減らすことの意義や効果を広く知っていただく啓発活動にも力を入れています。高血圧・腎臓科の河野雄平部長は、日本高血圧学会の減塩委員会委員長であり、「減塩サミット in 呉2012」では副代表を務めました。また、震災後の東北被災地に対しては、調理講座、健康講話、健康サロンなどからなる減塩・循環器病予防イベントを積極的に開催しています。

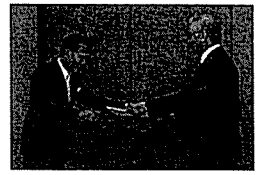
血圧を2mmHg下げると、国内で循環器病による死亡を2万人減らすことが期待できるといわれています。日本高血圧学会など他の減塩活動との連携も深め、日本人全体の血圧を下げるために減塩プロジェクトを推進していきます。

減塩プロジェクトの取組み



INFORMATION

肺高血圧先端医療学研究部を民間企業の寄付で設置


橋本信夫総長(右)が感謝状を手渡す

当センターは研究開発型製薬企業のアクテリオンファーマシューティカルズジャパン株式会社からの研究寄付金を有効活用し、先端基礎研究および臨床研究を推進する寄付プロジェクト部門「肺高血圧先端医療学研究部」を、2012年5月に設置しました。

当センターでは、2010年の独立行政法人化に伴って、企業等からの外部資金の受入制度を刷新。従来からあった受託研究に加えて、共同研究による研究資金の受け入れを行ってきました。これに加えて、新たな規定を設け、2012年4月から寄付による支援の受け入れを可能にしました。肺高血圧先端医療学研究部はこの新たな規定に基づいて、民間からの寄付金を活用して設置された初めての組織で、ナショナルセンターとしても初の事例となります。

同部では肺高血圧症の診断・治療に関わる新しい先端医療を確立することを目的に、肺高血圧症に関するゲノム解析等の基礎研究の充実を図るとともに、臨床研究を推進します。

7月23日には、同社への感謝状贈呈式を行いました。

早期・探索的臨床試験拠点整備事業記念シンポジウムを開催

当センターが早期・探索的臨床試験拠点整備事業の施設に選定されたことを受けて、7月9日、千里ライフセンターサイエンスセンター(大阪府豊中市)において、記念シンポジウムを開催しました。

「医療機器開発のルネッサンスを目指して」と題したこのシンポジウムでは、冒頭、峰松一夫副院長が、「MeDICI(メディチ) プロジェクト」とニックネームを付けた当センターの早期・探索的臨床試験拠点プロジェクトの概要を説明。続いて、佐原康之・厚生労働省医政局研究開発振興課課長、鈴木由香・医薬品医療機器総合機構医療機器審査第二部部長、清水公治・京都大学医学部附属病院先端医療機器・臨床研究センター先端医療機器開発支援室長などが登壇、行政、審査機関、アカデミアなど、それぞれの立場から、革新的医療機器開発に向けた取り組みと期待などについて講演しました。



医療機器開発に特化し、広く一般向けに開催されたこうしたイベントはほとんど例がなく、全国の大学、医療施設、研究機関や医療機器メーカーや参入を考える企業などから、予想を上回る210名が参加。多くの参加者が我が国の医療機器開発の未来や早期・探索的臨床試験拠点としての当センターの取り組みに大きな可能性を感じていました。

なお、このシンポジウムで各講演者が使用したスライド資料を、当センターホームページ(http://www.ncvc.go.jp/event/003927.html)で2012年10月31日まで公開しています。

News Letter vol.7
2012.12 特集：減塩プロジェクト

独立行政法人
国立循環器病研究センター

【お問い合わせ先】
国立循環器病研究センター
総務課広報係
TEL06-6833-5012(内線8496) E-mail:kouhou@ml.ncvc.go.jp

減塩ライフを広げる、多彩な取り組み
――減塩プロジェクト最新報告

日本人は塩分を摂りすぎています。最近の1日の食塩摂取量は、男性で平均11.4グラム、女性9.8グラムと、世界のなかでも多くなっています。塩分の摂り過ぎは高血圧につながり、循環器病のリスクを高めます。今号では、日本人の健康寿命をのばすために当センターが力を注ぐ「減塩プロジェクト」の多角的な取り組みを紹介します。

おいしい減塩食で、循環器病予防

日本では成人の3人に1人、高齢者の3人に2人が高血圧と診断されています。高血圧は脳卒中や心臓病につながりやすく、高血圧の予防と治療は、今や国民的な課題です。高血圧の予防には、「減塩」「体重管理」が有効。なかでも、毎日の食事の塩分を制限することが重要です。

当センター病院では臨床栄養部が中心となって、2005年から、塩分が1食2グラム程度、1日合計6グラム未満になる減塩食を入院患者さんに提供しています。また、入院・外来の患者さんを対象に栄養指導、調理師の実演を交えた調理講習会も行っています。

塩分の少ない食事といえば、味気ないものというイメージが一般的ですが、当センターの減塩食は京都の割烹などで修行した調理師長が、栄養士と協力して京料理の手法を取り入れた独自メニューを開発。素材の旨みを引き出し、塩気が少なくてもしっかり味があっておいしいという評判をいただいています。

「あの食事を家庭でも食べたい」という退院された患者さんから、予防のためにも塩分を控えた食生活に関心があるといった方まで、おいしい減塩食をより多くの方に日常的に食べていただけるように、民間企業と連携、レシピを電子化し、企業・自治体食堂、介護保険施設、一般家庭に配信する事業にも取り組んでいます。

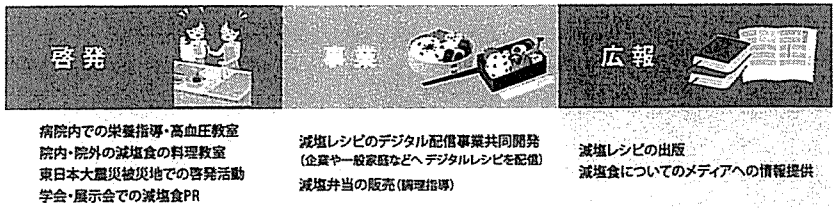
今月は当センターの減塩食の作り方を紹介した家庭向けのレシピ本『国循の美味しい!かるしおレシピ』(セブン&アイ出版)も発売されます。

食塩の摂取量を減らし、血圧が2mmHg下がれば、国内での循環器病による死亡を2万人減らすことができるといわれています。当センターは減塩を国民的な課題ととらえ、日本高血圧学会など、他の減塩活動との連携も深め、日本人の血圧を下げるために減塩プロジェクトを多角的に推進していきます。



国循の美味しい!かるしおレシピ

当センターの減塩プロジェクト



なぜ「減塩」が必要なのか？
――塩分摂取と循環器病の関係

塩が増えれば、危険な高血圧に

塩分は血圧と密接な関係があります。塩分を摂りすぎると、血液中のナトリウムの濃度が高くなります。ナトリウム濃度が高くなると、それが、中枢神経に働いてのどが渇き、人は水分を摂ります。水分を摂ると血管に流れる血液量が増え、血圧が高くなります。つまり、塩分を摂りすぎると体内の塩分と水分の量を調整するために血液量が増え、高血圧になるというわけです。

高血圧状態が続くと血管はいつも張りつめた状態におかれ、次第に厚く、硬くなってしまいます。これが、高血圧による動脈硬化です。動脈硬化は脳梗塞、心筋梗塞などの原因になります。また、高血圧状態を続けることは、心臓に無理な負担をかけることになり、心臓肥大が起こり、心不全になることもあります。

当センターでは健康診断を受診された方などを対象に、ある要因と病気の発症との関連などを長年にわたって追跡調査する「吹田研究」を行っています。この研究をもとにした「血圧別の循環器疾患の発症率」の分析でも、やはり血圧が高くなるほど、循環器病を発症する割合が高くなっていますが、高血圧ではない正常値とされる血圧の中でも、正常高値と呼ぶ血圧が高めの人たちが低い人たちよりも発症率が高いという結果が出ています。

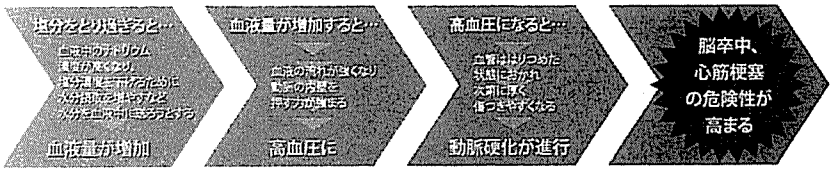
循環器病の大きな危険因子である高血圧を予防するためには、高血圧の原因となる塩分の摂りすぎを控えることが重要です。また、同じ血圧でも塩を多く摂っている人の方が脳卒中になりやすいというデータもあり、塩分摂取量を減らすことは、血圧を下げるだけではないプラスアルファの効果が期待できます。

世界は1日6グラム未満が当たり前

塩分摂取量を減らすためには、まず、自分がどれだけ食塩を摂取しているかを知ることが必要です。現代では外食や加工食品から摂る食塩が大きな割合を占めます。加工食品の成分表示に食塩を表示することは義務づけられていません。また、表示している場合でも多くはナトリウム(Na)と表示されています。ナトリウムの量と食塩の量が同じではありません。食塩の量はナトリウムの量に2.54をかけたものだということを知っておくと良いでしょう。

「世界の中の食塩摂取量の非常に少ない地域では、高血圧の人は少なく、年を取っても血圧が高くなることは、ほとんどありません。減塩が原因で健康を損なうことはありません。欧米諸国では、一般の人の1日の食塩摂取量として、6グラム未満が推奨されています。我が国の高血圧治療ガイドラインでは、高血圧の人に対しては、6グラム未満を勧めていますが、血圧が正常な人にとっても1日6グラム未満を心がけることが勧められます。ほとんどの日本人は必要量をはるかに超える食塩を摂取しています。減塩に対する正しい認識を広め、自治体、食品業界などが協力して減塩を進め、日本人の生活習慣を改善していかなければなりません」と、河野雄平高血圧・腎臓科部長は話します。

塩分を摂りすぎてはいけない理由



おいしい「減塩食」を被災地にも
―― 減塩の啓発・教育にチームであたる

院内で啓発。高血圧教室、栄養指導

当センターでは患者さんの指導や教育に力を入れており、減塩についても医師、看護師、薬剤師、臨床栄養部の栄養士、調理師がチームを組んで、高血圧教室、検査教育入院、栄養指導、調理講習会を実施しています。


検査入院や高血圧教室では栄養指導も実施

高血圧教室では高血圧とその治療について理解を深めていただくための講義と質疑応答を行っています。検査教育入院は原則として1週間入院していただき、高血圧、腎臓、心臓などの検査、実際に減塩食を食べていただく食事療法の体験、高血圧教室への参加などをしていただきます。2012年からは忙しい方にも利用していただきやすいように2泊3日のコースも始めました。

高血圧教室、検査教育入院には、栄養士による栄養指導はありますが、調理の実技指導はありません。国循のおいしい減塩食を家庭でも作りたいという患者さんやそのご家族のためには、当センターの竹田博幸調理師長が直接指導にあたる調理講習会を行っています。当センター近くの千里金蘭大学を会場に、年数回開催しています。

被災地の課題に応える健康講演会

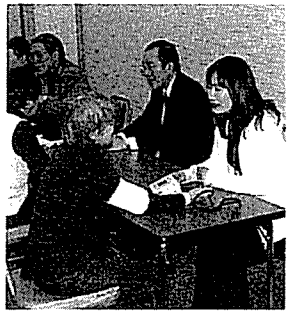
減塩に対して連携するチームのパワーは、東日本大震災の被災地でも発揮されました。

当センターでは震災発生後、ただちに医療支援対策本部を立ち上げ、現地調査チームを複数回派遣。震災から3ヶ月余りが経過した2011年7月には岩手県を訪問し被災地の食生活や医療体制などについて調査しました。もともと塩分摂取量が多く，脳卒中などのリスクの高い地域で、震災後は食事や医療の提供の体制の回復の遅れや災害ストレスから、そのリスクはさらに高まっていました。そこで、調査チームは冬の到来を前に循環器病予防のためによりよい食生活の確立が急務という結論に達しました。

この結論を受け高血圧、心不全、脳卒中の抑制を目的とした被災地における「減塩食プロジェクト」がスタートしましたが、活動に当たって心がけたのは、声高に循環器病リスクを強調するのではなく、被災者に寄り添い、お手伝いできることをしようという姿勢でした。

循環器病を専門とする医療機関が被災地のために何ができるのか、岩手県栄養士会、岩手医科大学と連携をはかり模索する中から実現したのが、2度にわたる被災地での健康講演会でした。第1回は、2011年11月、盛岡市で一般市民を対象に「減塩で健康教室～脳卒中予防は食事から～」のタイトルで開催。第2回は2012年2月、宮古市で仮設住宅住民の方を対象に開催しました。

医師による健康講話だけでなく、減塩食の試食、調理師による調理教室、看護師による体操、健康相談など、身体を動かして参加する内容も多いのが特徴。「減塩食でもしっかり味がすることもわかった。料理をつくる気もなかったが、やってみようという気になった」といった感想をいただくことができ、被災者に寄り添いながら、減塩に対する啓発活動としての成果をあげることができました。


好評だった健康サロン

減塩レシピを知的資産として活用
―― 民間企業と連携、事業化で成果を上げる

レシピ配信で減塩食の普及拡大

当センターのおいしい減塩食が、病院の外にも着々と広がり始めています。民間企業と連携した共同事業として、減塩食レシピのデジタル配信、減塩弁当の販売が軌道に乗り始めています。

これらの事業化にあたっては、当センターが蓄積してきた知的資産の活用を目的に2010年に設置された知的資産部が、当センターと企業の間の橋渡しや調整などに中心的な役割を果たしてきました。

減塩食レシピのデジタル配信は、おいしいと評判の当センターの減塩食のレシピをデジタルデータ化し、契約した外食産業、給食会社や個人などに配信し、手軽につくっていただこうという事業。調理支援システム「G-クッキングシステム」を展開する株式会社グローカルフード（大阪市）と連携、2012年2月から業務向けを、同3月から一般向けのサービスを開始しました。

株式会社グローカルフードが提供する「G-クッキングシステム」は、インターネットで配信されたデジタルレシピを利用して、「ガススチームコンベクションオーブン」などの調理機械を操作、誰でも簡単に多彩な本格的なメニューを安定した品質で作ることができる業務用のシステム。病院、介護老人保健施設、社員食堂、保育園、スーパー、総菜店、給食、配食業者などへの普及拡大をはかっています。当センターは株式会社グローカルフード、大阪ガス株式会社と共同で減塩食レシピのデジタル化に取り組み、このシステムの目玉レシピとして現在、約250種のメニューを提供しています。

家庭でも当センター発の減塩食を

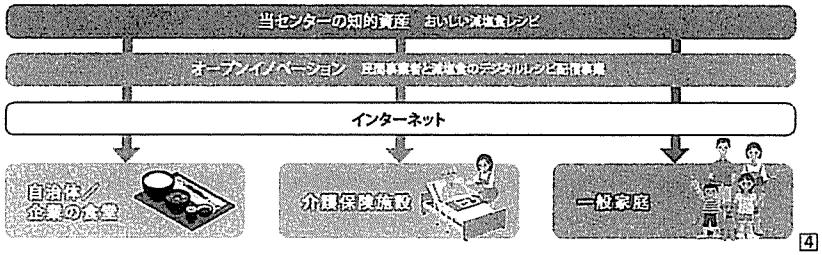
一般向けサービスは、当センターの減塩食レシピを株式会社グローカルフードが運営するインターネット会員サイト「G-クッキングシステム　げんえんデリカ」で公開。入会者は、パソコン、スマートフォン、携帯電話などからアクセスし、レシピを利用して家庭で減塩食をつくることができます。

このサイトでは塩分量、材料、料理の種類、調理法などのキーワードからレシピの検索が可能。また、塩分量だけでなく、カロリーも把握できる、完成写真はもちろん途中の手順が写真や動画で確かめられる、食事を記録することができる、などの機能も備えており、高血圧などの症状をかかえる患者さんやそのご家族をはじめ、食生活の改善に関心の高い一般のご家庭からの利用も多くあります。

「一般向けのサイトは国循の食事ということで安心感を感じて利用される方が多いようです。利用された方は減塩といってもしっかり味がついておいしいと納得されています。業務用は調理の技術がなくてもちゃんとした料理をつくることができ、幅広い施設で利用していただけるシステム。減塩食の普及にも大いに貢献できるのではと考えています」と、株式会社グローカルフードの田崎和弘社長は話します。

当センターでは、今後、より作りやすいレシピの開発やメニュー数など、デジタルレシピの充実をはかり、減塩食の普及・均てん化による循環器病制圧に向けた取り組みをすすめていきます。

減塩食レシピのデジタル配信の事業化



おいしい減塩食がここでも食べられる
—— 健康なヘルシーメニューとして広がる

大阪府庁食堂の減塩ランチが人気

塩分を減らした醤油や味噌、加工食品などが続々と登場、専用コーナーを設けるスーパーなども現れています。高血圧などの症状がなくても、自分の身体の健康を考えて食塩を制限した食事をしたいと考える人が増えているようです。そんな人たちにとって、理想的な食事ともいえる、当センターの健康的でおいしい減塩食を一般の方でも普通の食事として気軽に体験できる場所があります。


一般客も利用可能な大阪府庁食堂の減塩ランチ

大阪府庁本館（大阪市中央区）の食堂で、9月から当センターの減塩食レシピを元にした「減塩ランチ」の提供が始まりました。このランチの提供は官民でつくる「大阪ヘルシー外食推進協議会」が企画。府庁食堂では株式会社グローカルフードが開発したG-クッキングシステムを導入し、当センターの減塩食デジタルレシピの配信を利用して調理しています。

同システムを使った減塩食の提供は、大阪ガス株式会社、阪急阪神ホールディングス株式会社、住友商事株式会社などの社員食堂ですでに行われていますが、一般客も利用できる食堂では初めて。9月18日から、1日30食限定で提供されている減塩ランチは、血圧が気になる中高年などの支持を受けて、毎回12時過ぎには完売する人気です。

国循マーク入りの減塩弁当も登場

また、病院、介護施設向けの給食事業など、医療・保健分野の"食"を中心にした事業を展開するシップヘルスケアグループが、当センターの調理師から直接指導を受け、当センターの減塩食レシピをもとにした国循のマークが入った「減塩弁当」を製造、当センター病院地下1階の食堂で販売しています。当センターの職員や患者さん以外でも、どなたでも購入して、食堂でそのまま食べても、持ち帰ることもできます。また、電話や同グループのホームページを通じて、宅配を申し込むこともできます。配達エリアは大阪府下の吹田市・豊中市・箕面市・池田市です。

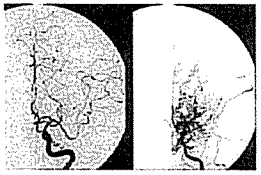
「おかげさまで、当センターの減塩食は各方面で反響を呼び、事業化開始から短期間で大きな広がりを見せています。一般に受け入れられたのは、まず、味も見た目もおいしく食べられるという条件をクリアしていたからだと思います。当センターの減塩食は塩分を控えているだけでなく、カロリーも低く、繊維質、カリウムなどの栄養素も考慮したトータルに練り上げられた健康食。私たちは循環器病制圧のためのアプローチの1つとして普及に取り組んでいます。

入院患者さんにとって食べることは大きな意味があります。たとえば、術後の重症の患者さんが、食べ始めるとぐんと回復が進みます。だから、できるだけ早く食べてほしい、そんな思いを込めて作っている。そのことが当センターの減塩食のおいしさにつながっています。患者さんをいかに元気にするか、そのために工夫と努力を重ねている現場から生み出された食事であるということが、当センターの減塩食の原点です。広く普及しても、この原点にある思いが調理する方々に正しく伝わるようにしていきたい」と巽英介知的資産部長は話します。


宅配もスタートした国循弁当

INFORMATION

もやもや病の専門外来を開設。長期支援の受け皿に


脳血管造影の画像。右はもやもや病患者で、細い血管がたばこの煙のように見える

全国でも珍しい「もやもや病」の専門外来を10月1日付けで開設、診察を開始しました。診察日は毎週水曜日です。

もやもや病は、脳の太い動脈（内頸動脈）が細くなる、詰まるなどして、脳に流れる血液が減少して起こる病気です。日本で見つけられた病気で、不足した血液を補うように発達した末梢の細い血管（もやもや血管）が、脳血管造検査でたばこの煙のように見えることから名付けられました。

幅広い年齢で発症。小児では身体の片側に麻痺やことばの障害などを起こす脳梗塞、成人ではもやもや血管が長期間の負担に耐えられず破れて出血する脳出血の症状が出やすい。原因はまだはっきり解明されておらず。治療法も確立していません。重い後遺症を残す可能性が高く、難病として厚生労働省の特定疾患に指定されています。国内の推定患者数は7500人。女性が男性の1.8倍見つかっています。

「本人が気づくような症状がなく、脳ドックで初めてもやもや病が見つかる例が増えています。また、外科手術で治癒したと安心していたところが、気づかないうちにわずかな出血が続いていたケースなど、長期的な支援の必要な患者さんもあります。そのような患者さんの受け皿になっていきたい」と中川原譲二・脳卒中統合イメージングセンター部長は話します。

当センターではこの専門外来を窓口にして、もやもや病の患者さんに早期から専門的な診断治療を提供、長期的なフォローを行い、患者さんの社会的な支援につなげていきます。

心臓移植50例のあゆみを振り返るシンポジウム開催

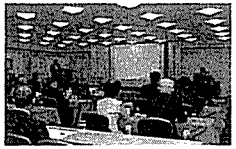
当センターにおける心臓移植手術が50例に達したことを１つの節目ととらえ、11月3日、「国循　心臓移植50例のあゆみとCoCoRo会10周年」と題した心臓移植シンポジウムが大阪市内のリーガロイヤルホテルで開催されました。

参加者は医療関係者とCoCoRo会（心臓移植患者連絡会）の方々。CoCoRo会は国内外で心臓移植を受けた患者さんやご家族同士の情報交換などを目的に、2003年9月に発足。このシンポジウムは、その10周年を記念するものでもありました。

当センターの中谷武嗣移植部長が「全国最多の心臓移植の経験」と題して、基調報告を行ったほか、臓器移植法の成立に尽力された前衆議院議員・中山太郎氏による特別講演をいただきました。

また、移植コーディネーターや臓器提供施設となる高度救命救急センターの担当医師など、心臓移植に関わる方々によるそれぞれの立場からの報告も行われました

2010年に臓器移植法が改正され、家族の承諾のみで臓器の提供が認められるようになって以降、心臓移植手術の実施例は大きく増加。当センターにおける第1例目の移植手術が行われた1999年当時に比べ、重い心臓病の患者さんを取り巻く環境は大きく変わりました。参加者は我が国の心臓移植の歩みを振り返るとともに、第3者の善意による臓器提供があって初めて成立する移植医療の発展のためには、国民の理解や社会的な環境整備が必要なことを改めて確認していました。


医療関係者とCoCoRo会を合わせて121名が参加した

News Letter vol.8
2013.03　特集：脳卒中診療の最前線

独立行政法人
国立循環器病研究センター

【お問い合わせ先】
国立循環器病研究センター
総務課広報係
TEL06-6833-5012(内線8496) E-mail:kouhou@ml.ncvc.go.jp

脳卒中診療の理想型を追求し、均てん化を進める

我が国の死因の第4位、介護が必要となる原因の1位を占める脳卒中。今後も患者数が増加することが懸念され、医療・介護にかかる費用も大きく、予防と後遺症の軽減は重要な社会的な課題となっています。今回は予防から治療、リハビリテーションまで、国立循環器病研究センター（以下、国循）の脳卒中診療の取り組みの最前線をご報告します。

進化する治療、地域格差の課題も

脳卒中の治療は近年、飛躍的に進展しました。2005年には急性期の脳梗塞の後遺症を大幅に軽減するt-PA静注療法が認可され、救急医療の現場に大きな変化をもたらしました。t-PA療法は発症3時間以内の患者に使用すると決められていましたが、2012年8月には4.5時間まで延長され、より多くの患者さんに適用可能になりました。また、発症4.5時間を超えても効果的な治療が行える血管内治療の新しいデバイスも認可されました。以前に比べ脳卒中の患者さんの命を救い、障害を軽くする治療は格段に向上しています。

こうした治療法、機器の進歩に呼応して、脳卒中ケアユニットの整備、かかりつけ医や救急隊との連携も盛んになってきました。

しかし一方ではt-PA療法を実施できる施設が１つもない二次医療圏もあります。都道府県別に治療実績を比べると約4倍の格差があり、脳卒中医療の極端な地域差が問題となっています。

また、脳卒中治療に携わる医師の半数が疲労やストレスから仕事への意欲を失う「燃え尽き症候群」の恐れがあることが、国循の飯原弘二脳神経外科部長を中心とした厚生労働科学研究班の調査で明らかになっています。脳卒中の専門的治療体制の整備された地域でも、医師の勤務体制の見直しなどの課題を抱えています。

国循は、t-PAをはじめとする治療法の確立・普及に中心的に貢献し、脳卒中治療の中心的拠点として国内外をリードしてきました。これからも、予防から医療、介護、日常復帰までを全般的に充実したものにする脳卒中医療の理想型を追求し、急性期の治療の進歩、継ぎ目ない医療・介護などの恩恵を、全国どこでも誰もが受けられるような均てん化に取り組んでいきます。

予防からリハビリまで～脳卒中医療の均てん化を目指して

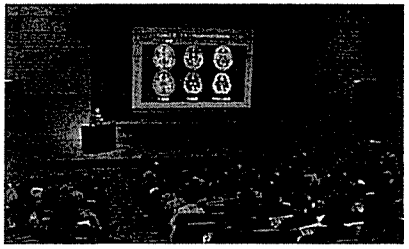
予防	■脳卒中の啓発　■スクリーニング検査（早期診断のための検査）の普及
治療	■超急性期脳梗塞治療～t-PA療法の適用延長と新デバイスの登場 ■カテーテル治療の進歩　■ハイブリッド手術のメリット
リハビリテーション	■早期介入が重要　■地域連携体制の構築

教育・普及活動
―― 予備知識の向上・スクリーニング検査普及のために

脳卒中の知識を、若いうちから

肥満・運動不足・喫煙・飲酒過剰などの生活習慣の問題や高血圧・糖尿病などの病気は、脳卒中につながる危険因子です。しかし、脳卒中に関する知識はまだまだ浸透しておらず、危険因子に注意して日常の改善につなげる方は多くありません。国循では脳卒中予防に関する基本的な知識を多くの方にもっていただくことが重要な仕事であると考え、教育・啓発の取り組みをさまざまな形で展開しています。

2012年12月には、第4回国循市民公開講座『知ってることで救われる―脳卒中―』を千里ライフサイエンスセンター（大阪府豊中市）で開催しました。



第４回市民公開講座

また、脳卒中の予防のためには若年から正しい知識、適切な生活習慣を身につけていくことが大事です。当病院の副院長・峰松一夫が主任研究員をつとめ、循環器病研究開発費の支援を受けた「新しい脳卒中医療の開拓と均てん化のためのシステム構築に関する研究」班では、中学生を対象にした啓発活動を続けています。



脳卒中啓発マンガ表紙

2010年から11年にかけては、大阪府下の中学３校で「脳卒中教室」を実施。国循の医師が講師となり、芝居やクイズを織り交ぜながら、脳卒中の後遺症や治療法を伝授しました。授業を受けた学生が家庭で脳卒中を話題にするなど、市民講座などに参加することがない層の関心を高める効果もありました。

また、同研究班では脳卒中啓発マンガ読本、アニメDVD、オリジナルグッズを作成、親しみやすい手法で幅広い年齢層に向けた啓発活動を行っています。

危険なサインを見逃さず受診を

脳卒中には多くの場合、前触れとなる症状が現れます。たとえば、ろれつが回らない、顔の片側が麻痺して下がる、片腕に力が入らない、などの症状が出れば脳卒中の可能性をうたがったほうがよいでしょう。ただ、こうした前触れの症状は短時間で元に戻るため、軽視されてしまうことがあります。

24時間以内に症状がなくなる病態を「一過性脳虚血発作（TIA）」と呼びます。TIAは血管がごく短時間詰まって起こるもので、早い時期に脳卒中につながる危険性が非常に高いものです。国循ではTIAに対しても24時間対応する体制を整備しています。脳卒中を疑わせる症状があれば、軽いものであっても急いで診察を受けてください。

脳卒中がうたがわれる患者さんには、CT、MRIなどの画像検査を必ず行います。近年はMRIによる「拡散強調画像」という撮影方法も開発されました。これによって、脳梗塞の新しい病巣が早い段階からわかるようになりました。

画像検査の進歩によって、まったく症状がない「無症候性脳梗塞」や「無症候性脳動脈狭窄・閉塞症」も見つけられるようになっています。いずれも高血圧、糖尿病、脂質代謝異常等の危険因子を持つ人ではかなりの頻度で見つかるもので、より深刻な症状のある脳梗塞に高い確率で進みます。

国循は超音波検査や各種画像検査などの診断法の確立に全国の中心的な施設として貢献してきました。経験豊富な専門医が最新の画像検査機器を用いて、脳卒中の早期発見、診断を行っていきます。

動き出した超急性期脳梗塞治療
――t-PA治療とカテーテル治療の進歩

t-PAが4.5時間まで使用可能に

脳卒中の中でも脳の血管が詰まり、その先に血液が流れなくなるのが脳梗塞です。2005年にt-PA「アルテプラーゼ」という薬が国内で保険承認され、脳梗塞の治療は劇的に変化しました。t-PAは血栓を溶かす薬で、これを点滴で静脈から注入し、詰まった血管を早期に再開通させ、障害が起こっていた部分を回復させるというのがt-PA静注療法です。

この治療法によって、以前なら麻痺が残ったような例でも、緊急搬送された数日後に自分で歩いて帰るほど回復することも珍しくありません。承認から丸7年以上を経過、全国で5万人以上がこの治療を受け、今や標準的な治療として定着しています。

ただし、t-PAはすべての患者さんに使えるわけではありません。脆くなった血管が破れて頭蓋内出血などの副作用を引き起こすことがあるため、倒れた時点から3時間以内で使用することがルールづけられていました。

それが、2012年8月末から、4時間半まで受けられるようになり、適正治療指針もあらためられました。病院にたどり着くまでに3時間を過ぎてしまい、これまでなら対象にならなかった患者さんも、時間が延びたことでt-PA療法を受けられるようになりました。実施例は2、3割増になると見込まれます。

新しいデバイスで血管の再開通

t-PA療法の他にも、急性期の脳梗塞に対する新しい治療法が登場しています。2010年10月から使用が承認されたMerci（メルシー）リトリーバーシステムと2011年10月に承認されたPenumbra（ペナンブラ）は、血管内治療の新しいデバイスです。

血管内治療は足の付け根の血管からカテーテルを挿入して行います。メルシーはカテーテルの先端のコイル状のワイヤで血栓をからめ取り、ペナンブラは血栓を吸引して取り除きます。どちらも発症後8時間まで使用可能です。

国循ではこれらの最新機器を用いて、t-PAで十分な効果が得られない患者さんや、発症から治療開始までに4.5時間以上かかりt-PAが使えない患者さんに対しても効果的な治療を行っていきます。

さらに日本ではまだ承認されていませんがソリテア、トレボーという新しい血管内治療用のデバイスがアメリカでは承認され、血管の再開通率でよい成績を出しています。また、発症後9時間以内の患者さんに対して使用できる新世代t-PA「デスモテプラーゼ」を用いた臨床試験を国循で行っています。ほかにも、臨床試験前ですが、頭の外から脳血管にむけて超音波を照射して血栓溶解を早める研究も進められています。

t-PA療法の承認や適用を発症4.5時間にまで延ばす指針の策定には、国循が牽引役となり各地の施設に協力いただいた大規模な臨床調査・研究の成果が役立ちました。国循は日本脳卒中学会、日本脳卒中協会、世界脳卒中機構など国内外の団体・機関と連携しながら、脳卒中治療の発展に寄与していきます。

最新の脳梗塞超急性期治療法

	製剤／デバイス	保険適用	発症後の適用可能時間など
血栓溶解療法（t-PA製剤）	アルテプラーゼ	2005年	2012年8月より4.5時間に適用拡大
	デスモテプラーゼ		9時間／臨床試験中
血栓回収デバイス	メルシー	2010年	8時間／血栓をループワイヤで絡め取る
	ペナンブラ	2011年	8時間／血栓を吸引器により吸引する

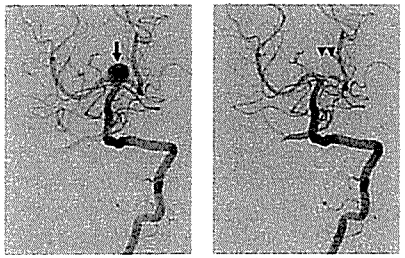
脳神経外科の挑戦
――ハイブリッド手術室も利用し最適治療を提供

脳血管内治療の進歩

脳卒中に対する国循の外科治療の中心である脳神経外科で開頭手術と並ぶ治療の柱となっているのがカテーテルを用いる血管内治療です。

血管内治療が対象にする疾患は主に、脳動脈瘤と頸動脈、鎖骨下動脈、頭蓋内血管の狭窄や閉塞。

脳動脈の一部がふくらんで瘤のようになる脳動脈瘤では、膨らんだ部分の血管が脆く、破れて脳卒中の1種であるくも膜下出血につながりやすい。これに対する血管内治療はカテーテルを瘤まで誘導し、プラチナコイルなどの塞栓物質を瘤に充填し、流れ込む血液を遮断して破裂を予防する塞栓術です。



脳動脈瘤コイル塞栓術（左：治療前、右：治療後）

頭動脈などの狭窄や閉塞に対して行う血管内治療は、狭くなったり、塞がっている部分にまで、カテーテルを到達させ、バルーンやステントで血管を広げ、正常に近い血流に戻す血行再建術です。

また、脳梗塞で搬送された患者さんがt-PA療法でも状態が改善しない場合、脳血管内科と連携し、メルシーやペナンブラなどのデバイスを用いて血栓を取り除く血管内治療を行っています。

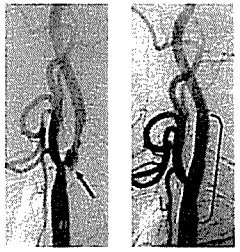
血管内治療は、患者さんへの負担が小さく回復が早いというメリットがありますが、病態によっては血管内治療に血管が耐えられず破れて出血する危険もあり、開頭手術の方が安全で治療効果が確実な場合もあります。国循ではそれぞれの患者さんに最も有益な治療法を専門医たちが検討し選択しています。

開頭手術と血管内治療を同時に

2011年に国循は日本で初めて本格的ハイブリッド手術室を導入しました。ハイブリッド手術室は手術台とカテーテルによる血管内治療に必要なX線撮影装置を組み合わせた先端的な手術システムです。

従来の手術室にあるX線撮影機器ではカテーテルによる心臓や脳の血管内治療に必要な画像を映し出すことができず、カテーテル治療は、手術室とは別のカテーテル専門の部屋で行っていました。それが、ハイブリッド手術室ならば同じ場所で開頭手術などの外科手術と血管内治療を同時に行うことができるようになったわけです。

たとえば、頭動脈を広げるためのステントを留置する血管内手術をすると同時に、治癒がむずかしい脳動脈瘤に対しては迂回路を造るバイパス手術を行うことができます。



頭動脈ステント留置術（左：治療前、右：治療後）

ハイブリッド手術室を使う治療には、場所を変えて複数回の手術をせずに済み、患者さんの負担が軽い。心・脳血管X線撮影装置によって治療中に正確で詳細な血管の状態を把握でき、より安全で確実は治療を行うことができる、などのメリットがあります。ハイブリッド手術室のメリットを十分に発揮するためには、外科手術と血管内手術の両方に通じた、まさにハイブリッドな医師が手術に携わることが望ましいでしょう。国循の導入に続いて、ハイブリッド手術室を設置する病院が増えましたが、そこで開頭手術と血管内治療が実際に同時に行われた例はまだ多くありません。国循は患者さんの負担が軽く、安全で確実な治療を広めるために、ハイブリッド手術室を活用した標準的治療の確立や脳外科医の育成にも取り組んでいます。

脳卒中リハビリテーションと地域連携
――継ぎ目のない診療を提供するために

リハ早期介入の効果を検証

脳卒中で倒れたあとには、多くの場合、半身の手足が動かなくなるなどの障害が残ります。その状態を改善し、日常生活を取り戻すために欠かせないのがリハビリテーション（以下、リハ）です。

2009年に策定された脳卒中ガイドライン以降、心身の機能の低下を予防し、介護なしに日常の生活動作を行い、早い時期に社会復帰できるように、十分なリスク管理の下、発症して間もない早期から脳卒中リハを始めることが強く勧められています。

脳血管リハビリテーション科がリハの早期介入効果を把握するために、2008年から2012年までの各年6～8月の期間に脳血管内科からリハ依頼のあった患者さん932例を調査したところ、リハ開始時期は約2日早くなり、患者さんの在院日数は10日ほど短くなり、退院時の動作レベルには差がないことがわかりました。入院期間が短くなっても、機能・能力は同レベルまで回復していたことから、より早期に充実したリハを行うことで、患者の能力をより効果的に向上させることができたと考えられます。なお、この調査結果は2013年5月に開催される日本理学療法学会で発表します。

リハの早期介入を実行するためには、対応できる体制の整備も必要です。国循ではリハビリテーション科の人員増をはかり、2013年度から土曜日にもリハを提供してきます。

脳卒中ノートで情報共有

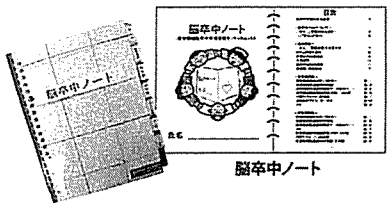
脳卒中医療では急性期治療から回復期リハ、維持期の在宅介護に至るまでの長期的な継ぎ目のない医療および介護を提供することが必要です。国循では継ぎ目のない医療の実現のために、全国に先駆けて病院間の情報の共有を目的とした「脳卒中ノート」を始めました。

脳卒中ノートは患者さんの急性期から回復期、維持期にわたる医療・看護・リハビリ・介護などの情報を病院・施設の担当者が記入して患者さんが所持する診療記録です。転院先の医師やケアマネージャーはこのノートを見て情報を共有し、患者さんに適切なサービスを提供する参考として活用します。

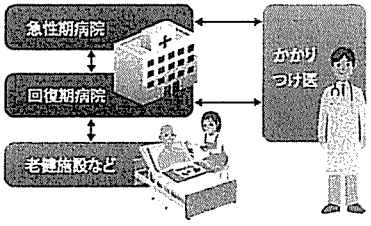
急性期病院と回復期病院の連携は、最近では地域連携クリティカルパスの導入もあって全国に広がってきました。地域連携クリティカルパスは、急性期から回復期を経て早期に自宅に帰るなどのゴールを設定し、地域の中で診療にあたる複数の医療機関の役割分担、診療内容などを決め、共有する診療計画表のことです。

国循では脳卒中の予防のための「脳卒中前方連携パス」も作製しています。これは、脳卒中の危険因子をもつ患者さんをかかりつけ医に紹介いただき、無症候性脳梗塞や血管病変の有無を検査し、脳卒中の危険性を判定し今後の治療方針を患者さんに説明し、結果をかかりつけ医にお返しするというもの。発症予防の治療は基本的にかかりつけ医にお願いし、国循の専門医が必要に応じてフォローします。

「脳卒中ノート」を活用した脳卒中治療の循環型連携



脳卒中ノート



INFORMATION

子どもからの臓器提供を想定した訓練を実施

1月15日、国循の図書館講堂で医師、看護師、コーディネーターら100名超が参加し、脳死と判定された子どもからの臓器提供を想定した公開訓練を実施しました。

5歳の女児が脳動静脈奇形による脳内出血のため脳死と判定されうる状態になったと想定して行われたこの訓練では、まず、主治医役が「脳死とされうる状態」と診断するところからシミュレーションを開始。続いて、ご両親役に女児の状態を説明、その上で臓器提供という選択があることを説明しました。

その一方、虐待の有無を判断する委員会が開かれ、医師役、看護師役が、外傷の有無、児童相談所への相談歴がないかなどを確認。その後、実際に日本臓器移植ネットワークに所属するコーディネーターが、ご両親役に臓器摘出までの過程を説明し、承認書にサインをいただきました。続く、法定脳死判定では女児役の人形を相手に実際の医療器具を使用して判定しました。

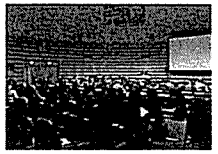
約2時間にわたるシミュレーション終了後には、豊田一則臓器組織提供対策室長、白石公小児循環器部長、飯原弘二脳死判定委員長によるブリーフィングを行いました。

小児からの臓器提供を想定した訓練は、2010年9月に続いて2度目。大阪府下の脳死下臓器提供条件該当施設からの見学者14名を含めた、院内外からの聴講者も、臓器摘出までの一連の手順とそれぞれの役割を確認することができました。


公開訓練には医療関係者100人超が参加

創造的産学連携体制整備事業成果シンポジウムを開催

国循では2010年度から3年間採択された経済産業省「創造的産学連携体制整備事業」により産学連携の体制整備を進めてきました。その成果報告として、1月23日、大阪国際会議場において創造的産学連携事業成果シンポジウム「国際的な医療産業拠点形成に向けた挑戦～世界に誇る日本の医療と、それを支える医療機器ビジネスの国際展開の重要性～」を開催。同事業における国循の取り組みやこれまでに得られた知見などを報告しました。


国際的な医療産業拠点形成に、高い関心を集める

セッション1では妙中義之研究開発基盤センター長が「国循における産学連携活動について」と題した報告を行った他、3氏が我が国の医療機器開発の現状と課題などについて発言しました。セッション2では、約3000の医療関連企業・団体が参加する米国のNPO、バイオビジネス・アライアンス・オブ・ミネソタ（BBAM）のデール・ワールストローム代表がBBAMにおける医療機器研究開発の取り組みについて、国循の赤川英毅知的資産部事業化戦略室長が国循とBBAMの連携などについて報告。BBAMは先頃、日本事務所を大阪市内にある大阪商工会議所内に開設、在阪の医療機器関連企業との連携を深めています。

当日は省庁や大阪府など行政関係者、医療機器研究開発関連企業、企業の海外進出支援機関、大学の産学連携担当者など、100名を超える参加をいただき、国循の取り組みへの高い関心をうかがうことができました。また、BBAMとの事例の報告などを通じて、産学連携成果の海外への展開のモデルケースを示すこともできました。

国循では今後も具体的な連携事業を積み重ね、さらなる産学連携・医工連携の促進へとつなげていきます。

資料15

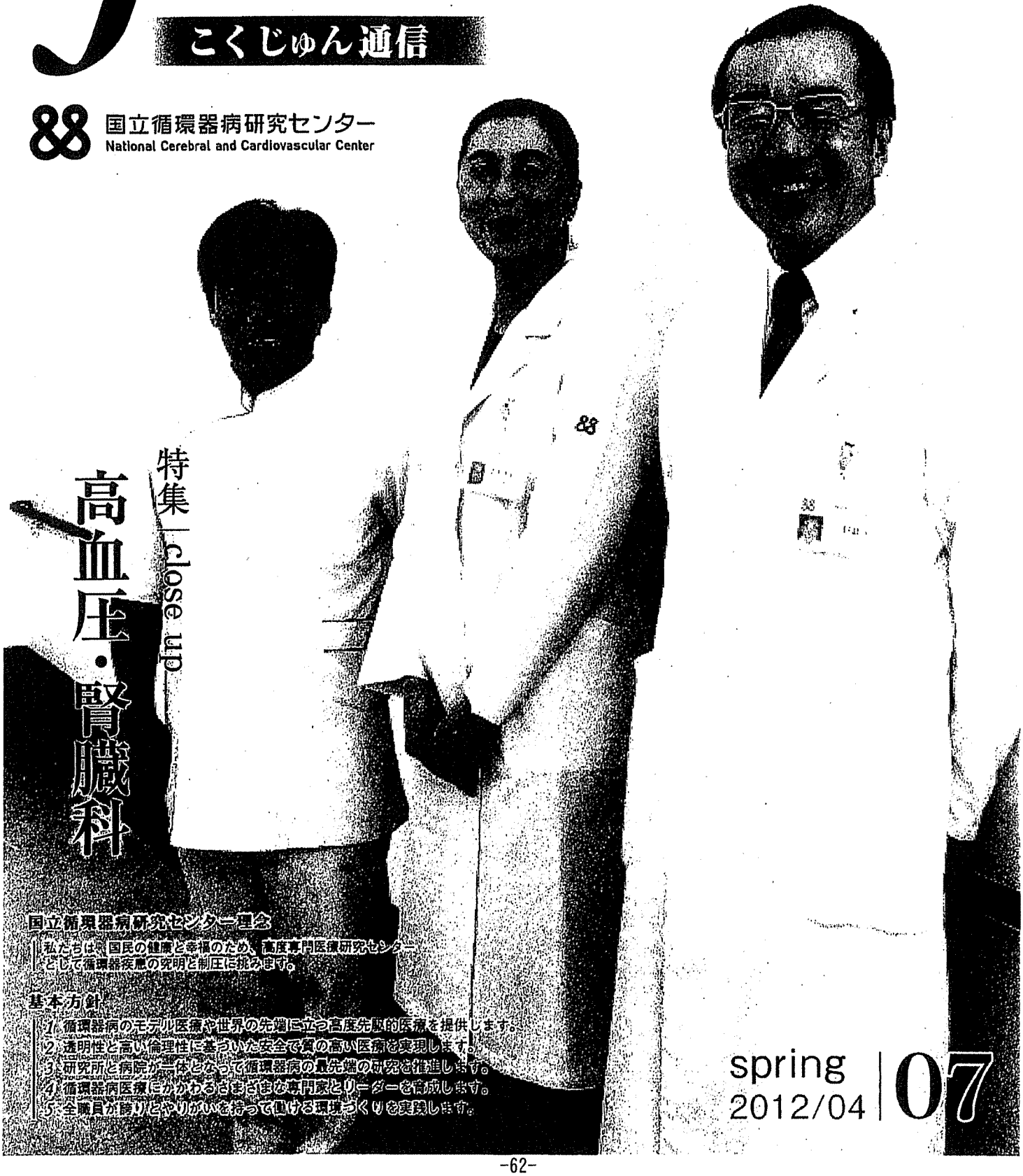
Koku Jun

こくじゅん通信

国立循環器病研究センター
National Cerebral and Cardiovascular Center

特集 close up

高血圧・腎臓科



国立循環器病研究センター理念

私たちは、国民の健康と幸福のため、高度専門医療研究センターとして循環器疾患の究明と制圧に挑みます。

基本方針

1. 循環器病のモデル医療や世界の先端に立つ高度先駆的医療を提供します。
2. 透明性と高い倫理性に基づいた安全で質の高い医療を実現します。
3. 研究所と病院が一体となって循環器病の最先端の研究を推進します。
4. 循環器病医療にかかわるさまざまな専門家とリーダーを育成します。
5. 全職員が誇りとやりがいを持って働ける環境づくりを実践します。

spring
2012/04 | 07

特集 | close up

高血圧・腎臓科

チームによる高血圧教室や腎臓病教室、検査教育入院を行なっています

部長 河野 雄平（かわの ゆうへい）

最近は腎臓や副腎の異常などによる二次性高血圧がかなり多い

高血圧はありふれた病気ですが、脳卒中や心筋梗塞、心不全などの循環器病の主要な危険因子ですので、その適切な診断と治療はとても重要です。高血圧の大部分は生活習慣などの環境因子と遺伝によりますが、最近は腎臓や副腎の異常などによる二次性高血圧がかなり多いことが分かってきました。また、腎臓の機能が低下したり、尿に蛋白がでているような慢性腎臓病の人も多くおられます。慢性腎臓病は糖尿病や腎炎、高血圧、動脈硬化、加齢などが原因となり、透析を必要とする腎不全や種々の循環器病の危険因子となっています。

国立循環器病研究センター（国循）の高血圧・腎臓科は、高血圧および腎臓病の専門的な診療を行っています。高血圧グループと腎・透析グループに分かれていますが、お互いに協力しています。患者さんの指導や教育にも力を入れており、医師、看護師、薬剤師、栄養士のチームによる高血圧教室や腎臓病教室、検査教育入院を行なっています。検査教育入院は、高血圧は1週間、腎臓病は2週間が原則ですが、高血圧は3日間コース（2泊3日）を始めました。また、高血圧や腎臓病についての研究も行なっており、毎年多くの学会や医学誌に研究成果を発表しています。

高血圧については、血圧値や動脈硬化の程度、心臓や腎臓などの障害の有無などを詳細に評価し、原因を調べるとともに、個々の患者さんに最適な治療を目指しています。家庭血圧や24時間血圧を取り入れた診療を行っており、腎血管性高血圧や副腎が原因の原発性アルドステロン症などの二次性高血圧、悪性高血圧や治療抵抗性高血圧といった重症高血圧の診療にも、多くの経験を有しています。高血圧グループの部長は日本高血圧学会の理事・専門医、医長は評議員・専門医です。また、来年は大阪国際会議場で日本高血圧学会を開催します。高血圧・腎臓科の全員で、他科の先生にもご協力頂き、万全の準備を進めているところです。

腎・透析グループの医師は、腎臓専門医や透析専門医です。国循を受診されている心臓病や脳血管疾患の患者さんの多くが、既に慢性腎臓病を持っておられます。慢性腎臓病は、尿所見異常のみの軽症な場合から、維持透析が必要な重症な場合まで様々です。腎・透析グループは入院患者さんの透析治療を担当し、循環器疾患の治療中の急性腎障害にも対応しています。腎臓病の患者さんには、専門的な検査や治療を受けて頂きますし、減塩・低蛋白食、生活、服薬などについて、個人指導や腎臓病教室での講義を受けて頂くことが可能です。「腎臓が悪いね」と言われた場合には、高血圧・腎臓科への受診をお勧めします。



透析室の様子



右端が河野部長

生活習慣病部門長
高血圧・腎臓科 部長
河野（かわの） 雄平（ゆうへい）



1974年 九州大学医学部卒業、同第2内科入局
1981年 九州大学医学部第2内科 助手
1982年 米国クリーブランドクリニック 心血管研究部門 研究員
1985年 国立循環器病センター内科高血圧腎臓部門 医員
1987年 同部門 医長
2001年 同部門 部長
2010年 独立行政法人国立循環器病研究センター 生活習慣病部門長 高血圧・腎臓科部長、現在にいたる

九州大学 非常勤講師、関西医科大学 非常勤講師
日本高血圧学会 理事・減塩委員会委員長

日本人の食塩摂取は加工食品や外食によるほうが多い

食塩制限は、高血圧や腎臓病、心臓病の管理においてとても重要です。塩分の摂り過ぎは血圧を上げ、脳卒中や心臓病の危険性を高めます。食塩が血圧への影響以上に、心臓や血管に害を及ぼすことも分かってきました。1日の食塩摂取量については、高血圧や腎臓病の人は6g未満に、健康な人でも男性で9g未満、女性では7.5g未満とすることが勧められています。しかし、日本人の食塩摂取量の平均は10gを超えており、高血圧の人も大部分は目標の6g未満が達成できていません。

食塩制限については、塩や醤油など塩分の多い調味料を少なくすることも大事ですが、日本人の食塩摂取は家庭での調味料より加工食品や外食によるほうが多く、これらに注意する必要があります。減塩食は味気ないと思われるかもしれませんが、最近では美味しい減塩食が作られるようになりました。特に国循の減塩食は、管理栄養士さんや調理師さんの工夫で、とても美味しいと評判です。高血圧などの病気の管理や健康維持のために、毎日の食生活に美味しい減塩食を取り入れられることをお勧めします。

健康講座⑦

病院食のレシピ

一品料理レシピ

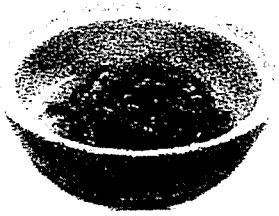
百合根まんじゅうのかにあんかけ

■材　料（1人分）

① 百合根まんじゅう　じゃがいも〈20g〉　百合根〈15g〉　小麦粉〈2g〉　卵〈3g〉
お茶漬用ふぶあられ〈10g〉　油（揚げ油用）〈適宜〉

② かにの生姜風味くずあん　かに身〈5g〉　えのき〈3g〉
三つ葉（葉）〈1g〉　生姜〈1g〉　砂糖〈0.3g〉　薄口醤油〈0.2cc〉
塩〈0.25g〉　酒〈2cc〉　だし汁〈35cc〉　片栗粉〈1g〉

③ 天盛り野菜　人参〈2g〉　三つ葉（軸）〈2g〉　粉わさび〈1g〉



■作り方

① 調理前の準備　八方だしを作る…砂糖〈0.3g〉　薄口醤油〈0.2cc〉　塩〈0.25g〉　酒〈2cc〉　だし汁〈35cc〉を鍋に入れ一煮立ちする ▶ 水溶き片栗粉を作る…片栗粉：水＝1：1で混ぜ合わせる ▶ 揚げもの用鍋に油を入れる ▶ 粉わさびに水を入れて練る ▶ 野菜をきれいに洗う

② 材料の下準備　かに身…1.5cmに切りほぐす　卵…ボールに溶く　えのき…2cmに切る
百合根…根を外しバラす ▶ じゃが芋…小さいものを選び皮付きを使用する ▶ 人参…3cmの細い線切りにする ▶ 三つ葉…根を外し、葉と分ける ▶ 生姜…すりおろす

③ 調理　百合根とじゃが芋を串が通る柔らかさになるまで茹でてザルに移す ▶ じゃが芋は熱いうちに皮をむき、ボールに移して潰す ▶ 潰して丸めたじゃが芋の中に百合根を置いて包み、再度丸くする ▶ 丸くしたじゃが芋を小麦粉→卵→ふぶあられの順につける（百合根まんじゅう）▶ 人参と三つ葉を茹でて流水にさらしざるに移す ▶ 三つ葉の軸は2cmに切り葉とわける 葉も細かく切る

④ 仕上げ　鍋に八方だしとえのきを入れ火にかける ▶ かに身と三つ葉（葉）を加え一煮立して水溶き片栗を入れる ▶ 揚げもの油を熱し175℃までの温度で百合根まんじゅうを揚げる（カリッとなる程度まで）▶ 器にかにあんを入れ、百合根まんじゅうを置き、その上に人参、三つ葉（軸）、わさびを盛って仕上げる

「減塩デジタルレシピ」の開発について

国循がもつ調理に関する独自のノウハウやレシピを、広く院外に提供する試みが始まります。知的資産部が推進役となり、民間企業との共同事業で、弁当の販売、料理教室の開催、デジタル化したレシピの提携企業への提供、などに取り組んでいます。

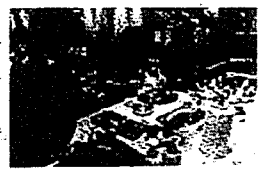
減塩食の事業化

近々、国循の病院食レシピに基づいた1食2g未満である減塩弁当が弁当業者を通じてお届けでき、院外でも美味しい減塩食を楽しめるようになります。また、インターネットを通じて電子媒体で減塩レシピが手に入るようになります。



調理講習会の開催

患者さんおよびご家族を対象に病院食の減塩調理技術を教える講習会を年3回程度実施しています。実際に美味しい減塩食を国循の調理師の手ほどきを受けながら作って食べることができるため参加者から好評を得ています。今後も開催する予定ですので興味のある方はご参加ください。



竹田調理師長インタビュー



調理師長 竹田 博行

7年ほど前、塩分摂取量を1日6g迄にできないかという提案が医師からあったとき、この機会に塩分を減らすだけでなく、病院食といえばおいしくないものというイメージを変えてやろうと思いました。

メニューは、管理栄養士と協力して開発しています。私は病院食に携わる以前、長く京都で料理人として技術を磨いてきたこともあって、新しい病院食を創り出す上で意識したのは伝統的な京料理でした。控えめな味つけで素材そのものの旨みを引き出す京料理のやり方は、そのまま減塩食に応用できると考えました。また、盛りつけも懐石料理の流れを汲む松花堂弁当を意識して、おかずを小分けにして4品つけるようにしました。1日3食の合計塩分が6グラム迄ですから、1回の食事は2グラム。1食に4品つくと1品の塩分は0.5グラム程度ですね。おかずを小さくして品数を増やすことには、大きいお皿のおかずを一品出す場合と違って、食べる気にならないおかずがあっても、他のものを食べることができるので、少しでも食事をとっていただけるという狙いもあります。

入院をすれば食事は「治療食」に変わります。食事は単にお腹一杯になればいいというものではないんです。食事次第で病気にもなるし、予防にもなる。症状の改善もできる。そういう力があるのだということを、私たちはしっかり認識していかないといけないと思います。

「うちは循環器病ホテルなんだ」と、よく私はスタッフに言っています。一見さんもいれば、常連さんもいる。病院だからなかには最期を迎える方もいる。自分の出した食事が患者さんにとって最期の食事になったと知るのはやはり心痛いものです。自分は最期にどういう食事をとりたいだろうかと、考えたりもします。患者さんの立場に立って、気持ちを込めてつくることが大事です。

今回、病院の外にも国循のメニューを提供していきたいというお話をいただいたときには、認めてもらえたという喜びがありました。広く循環器病の予防につながっていけばいいですね。減塩食による予防効果をもっと訴えていきたいです。

部門のご紹介

臨床栄養部

Department of Clinical Nutrition



臨床栄養部は循環器病の予防・治療のため食事の調理提供、
栄養指導(調理指導を含む)、入院患者さんの栄養管理を行っています。

患者さんに対する我々のモットー

- ◉ 治療効果とアメニティを兼ね合わせた食事を提供します。
- ◉ 患者さんの生活背景を考え、より実践的な栄養指導を行います。
- ◉ チーム医療を通じ、入院患者さんの病状管理を行います。



国循には1日塩分6g未満を基本に80種類の治療食があります。予算・栄養管理・調理作業等の制約の中で調理師は患者さんに満足して食べていただくために「品数を多くする」「昆布、かつお節、椎茸などの旨み成分を用いた味付けをする」「手作り」といった工夫をしています。日本の文化や四季を採り入れた食事内容になっています。

また、食事療法のサポートとして入院・外来の患者さんを対象に個人および集団栄養指導を行っています。

「心臓リハビリ教室」や糖尿病、腎臓・高血圧の「教育入院」「外来生活習慣病教室」といったチーム連携しての指導も積極的に行っています。

調理師の実演を交えた調理講習会も開催し、好評を得ています。

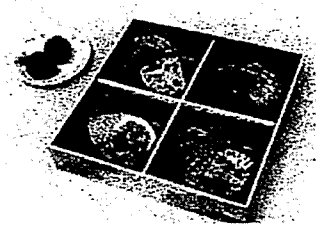
さらに入院中に「口から食べられない」「体重減少がある」「褥瘡や嚥下障害がある」など低栄養リスクがある患者さんに対して「摂食・嚥下」「褥瘡」「栄養サポート(NST)」のチームに参画し栄養面でのサポートに努めています。



管理栄養士による栄養指導



栄養サポートチーム(NST)



この日の昼食はお花見弁当

高血圧の検査教育入院のご案内

高血圧・腎臓科では、高血圧の患者さんへの検査教育入院を行っています。これは、高血圧や腎臓、心臓などについての検査(24時間血圧測定を含む)とともに、食事療法の体験や高血圧教室への参加により、高血圧とその治療についての理解を深めていただくことを目的としています。入院期間は1週間ですが、このたび3日間(2泊3日)コースを加えました。

高血圧教室では、医師、看護師、薬剤師、栄養士による講義と質疑応答が行われます。病棟では腎臓病教室や糖尿病教室も行われていますので、これらにもご参加いただくことが可能です。

高血圧の検査教育入院をご希望の方や、ご質問がおありの方は、どうぞ主治医または下記の担当医にご相談下さい。

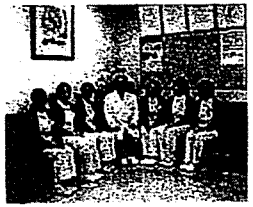


国立循環器病研究センター高血圧・腎臓科

河野雄平、中村依子、吉原史樹、岩嶋義雄、林真一郎、藤井 健、高田英明

TEL：06-6833-5012

医療法人 南川クリニック　連携医紹介⑦

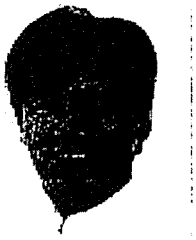


昭和57年から5年間、当時の国立循環器病センター脳血管外科で研修させて頂きました経験が今日の私の医師としての礎となっております。脳神経外科専門医・脳卒中専門医として"脳は健康のバロメーター"をテーマに生活習慣病を管理することで脳卒中等の循環器疾患の予防と管理を目指し地域医療に貢献できればと願い平成10年に門真市で開業しました。有能で患者さん思いのスタッフと多数の寛厚な患者さん達に支えて頂き日々診療に専心致しております。循環器疾患は早期診断・早期治療が必要不可欠です。国立循環器病研究センター脳血管部門が"包括的脳卒中センター"としての重責を担っておられる体制には感服致しております。その実現には私ども開業医も同様の姿勢で地域医療を担う決意で臨むことへの重要性を認識し、診療時間外・休診日でも患者の皆様からは常に電話連絡が可能な態勢を取っております。当院ではマルチスライス16列全身CT撮影装置、超音波エコー検査等の検査機器を設備し、迅速に病態を把握し必要時には速やかに専門病院に紹介させて頂いております。国立循環器病研究センターとの病診連携を礎に、病診連携を通じて専門病院の先生方にご指導頂くことで患者の皆様に安心して頂ける医療が提供できますよう日々精進致す所存でございますので、何卒宜しくお願い申し上げます。

診療科目／脳神経外科・内科・リハビリテーション科・放射線科
所在地／571-0048　大阪府門真市新橋町1-18 ロジュマン門真1階
電話番号／06-6900-8600
診療時間／9:00～12:00　17:00～19:00(木、土、日曜除く)
休診日／木曜・土曜の午後・日曜・祝日



表紙の人



調理師長
竹田 博幸（たけだ ひろゆき）



栄養管理室長補佐　管理栄養士
高木 洋子（たかぎ ようこ）



生活習慣病部門長　高血圧・腎臓科部長
河野 雄平（かわの ゆうへい）

塩分チェック表

日常の生活に近いものに○、当てはまらないものには ✕ をしてみましょう。

1．味噌汁やス ープなどを１日２回は 食べている ☐
2．漬物・梅干・魚卵などを毎日食べている ☐
3．麺類を食べる時は、スープを半分あるいはそれ以上飲む ☐
4．かけ醤油などの調味料はしっかりかける方である ☐
5．加工品（ハム・かまぼこ・チーズなど）を利用する ☐
6．主食はパンや麺が多く、ご飯は１日１回程度である ☐
7．外食やインスタント食品などをよく利用する ☐
8．味が付いている料理にも調味料を使うことがある ☐

○の合計	毎日の塩分摂取量について
6～8 点	著しい塩分過剰が疑われます 塩分の多いものを積極的に控えることから始めましょう
3～5 点	まだまだ減塩には努力が必要です 毎日の食生活で減塩の工夫を始めましょう
1～2 点	味付けが濃い場合には塩分が多いことも心配されます 引き続き塩分を意識した生活を行いましょう

※次号は7月上旬発行予定です。

Koku Jun

こくじゅん通信

国立循環器病研究センター
National Cerebral and Cardiovascular Center



特集 | close up

小児循環器科

summer
2012/08
08

国立循環器病研究センター理念

私たちは、国民の健康と福祉のための高度専門医療研究センターとして循環器疾患の究明と制圧に努めます。

基本方針

1. 循環器病のモデル医療や世界の先端に立つ高度先駆的医療を提供します。
2. 透明性と高い倫理性に基づいた安全で質の高い医療を実現します。
3. 研究所と病院が一体となって循環器病の最先端の研究を推進します。
4. 循環器病医療にかかわるさまざまな専門家とリーダーを育成します。
5. 全職員が誇りとやりがいを持って働ける環境づくりを実践します。

第2回 国循 市民公開講座（2012.6.23　茨木市福祉文化会館）

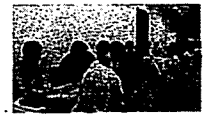
国立循環器病研究センター（国循）では、広く一般市民に対して循環器病予防の啓発を行うことなどを目的として、年4回の「国循 市民公開講座」を開催しています。

第2回は、2012年6月23日（土）茨木市福祉文化会館において開催しました。テーマを「心臓発作で困らないために」とし、第1部は「健康チェックと健康相談」と「心肺蘇生術体験」、第2部は心臓病の診断・治療等についての講演会を行いました。

第1部の「健康チェックと健康相談」会場は大盛況。血圧測定、血管機能測定のあと、医師による健康相談に行列ができました。別会場で行われた心肺蘇生術体験にも多くの方が参加され、心臓マッサージのやり方やAEDの使い方を学ばれました。

第2部の講演会では、285名の方が来場され、多くの質問が出るなど熱心に受講されました。







今後の予定は以下のとおりです。受付は開催日の約2ヶ月前から、国循のホームページなどで告知する予定です。多数のご来訪をお待ちしています。

【第3回】
日　時：平成24年10月20日（土）14：00～16：30（予定）
場　所：大阪国際会議場
テーマ：「循環器病の制圧のために～国循の取り組み～」

【第4回】
日　時：平成24年12月16日（日）14：00～15：30（予定）
場　所：千里ライフサイエンスセンター
テーマ：「知ってることで救われる～脳卒中～」

交通アクセス

鉄道利用の場合

地下鉄御堂筋線・北大阪急行線千里中央駅から
●阪急バス5番乗場（一部6番乗場）「循環器病センター前」下車（15分）
●タクシー（3．4km．10分）

阪急電鉄千里線北千里駅から
●阪急バス5番乗場「循環器病センター前」下車（5分）
●タクシー（1．3km．3分）
●徒歩（15分）

東海道線・新幹線新大阪駅から
●地下鉄御堂筋線千里中央行　千里中央駅下車（18分）

※阪急バスをご利用の方は急行など一部センター前に停車しない便がありますので、乗車前に十分ご確認ください。

航空機利用の場合

大阪国際空港（伊丹）から
●大阪モノレール　千里中央駅下車（12分）
千里中央にて阪急バスに乗り換え　阪急バス5番乗場（一部6番乗場）「循環器病センター前」下車（15分）
●タクシー（20分）

自動車利用の場合

名神高速道路沿線から
●吹田ICより約10分
●茨木ICより国道171号線を経て約20分

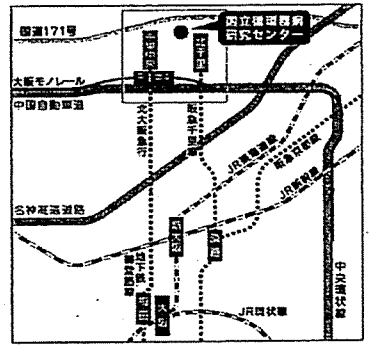
近畿自動車道沿線から
●吹田ICより約10分

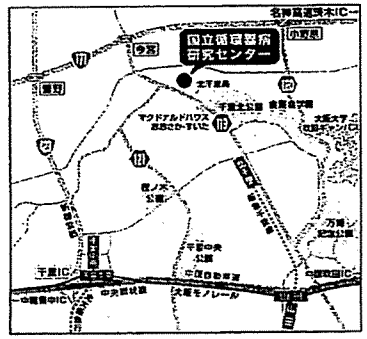
中国自動車道沿線から
●中国池田ICより中央環状線千里中央を経て約20分

無料直行バス利用の場合

発着駅
●北千里駅（阪急千里線）
●千里中央駅（地下鉄御堂筋線・北大阪急行／大阪モノレール）
●茨木市駅（阪急京都線）／茨木駅（JR京都線）
●石橋駅（阪急宝塚線）／箕面駅（阪急箕面線）

※詳細はhttp://www.ncvc.go.jp/about/access.html#bus





※次号は10月上旬発行予定です。

【お問い合せ】
独立行政法人　国立循環器病研究センター　〒565-8565　大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号
国立循環器病研究センター総務課広報係　TEL：06-6833-5012（代）　http://www.ncvc.go.jp

「赤ちゃんの心臓病救急搬送は絶対に断らない」を合い言葉に緊急入院を受け入れています



小児循環器集中治療室医長
黒嵜 健一（くろさき けんいち）

国循では、心臓手術直後の急性期管理を行う心臓外科系ICUと集中治療室ことは別に、小児循環器科が運営するCardiac ICU（心臓病専門小児集中治療室）を設けています。重症心臓病の赤ちゃんを対象に、チーフンスペースの集中治療ベッド、ドクターカーによる搬送体制などを整えた重症度別に、緊急入室対象のための病室6、優先ベッド8の合計23床で一貫性のICU管理」を構築して、集中治療を行っています。一刻を争う心臓病の赤ちゃんの緊急救急搬送は絶対に断らないことを合い言葉に、365日24時間体制で全国各地から緊急搬送されてくる重症心臓病の赤ちゃんの緊急入室を受け入れています。今までよりドクターカーを導入して、集中治療中の赤ちゃんをもっと安全に搬送できる様になりました。

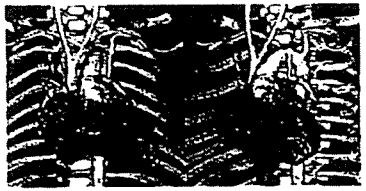
Cardiac PICU（小児循環器集中治療室）

胎児検診で心臓病を疑われて当院周産期科を受診する妊婦さんも増えてきました。胎児心臓超音波検査で詳しく診断して、出生後の治療方針をたてています。計画的に出産してPICUで治療を開始することで、重症度の心臓病をもった赤ちゃんも救命できる様になってきました。

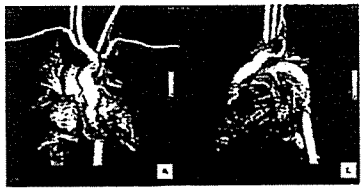
インターネットを利用して心臓超音波検査（心エコー）の動画をリアルタイムに転送することで、小児心臓病専門医がいない病院の赤ちゃんの心臓病を遠隔診断することができます。これまで何人もの赤ちゃんが適切診断を利用して適切な治療をすることができました。また救急現場や救急車内からPICUへ、携帯電話回線を利用してリアルタイム動画像を中継することも可能になりました。

高度な専門的技術を駆使して、できる限り赤ちゃんに優しい治療と治療をめざしています。新生児では痛みや危険性がない心エコー検査だけでほとんどの形態異常を診断できるようになり、より良い状態で手術を受けて頂ける様になりました。心エコーで見えないところはCTやコンピューター画像解析装置で詳細な立体画像を作って検討しています。また補助循環関連など従来に手術が必要であった病気も、より赤ちゃんに優しい心臓カテーテル治療で治せる様になってきました。

これからも循環器専門病院のPICUであるという誇りを生かして、心臓病の赤ちゃんが元気に成長できるように最善を尽くします。



新生児の3次元CT画像
大動脈弓離断を合併した総動脈幹の新生児
大動脈や肺動脈の立体関係がよくわかる



生後1～月児の3次元CT画像：
三尖弁閉鎖、大血管転位、大動脈縮窄、
両側肺動脈枝梗子疾後
立体構造を正確に把握して手術を施行した



新生児のカテーテル治療
肺動脈閉鎖に対してバルーン形成術を行った

小児循環器科　小児循環器集中治療室医長　黒嵜 健一（くろさき けんいち）



昭和62年　琉球大学医学部卒業　一般小児科医として研修、勤務
平成1年　国立循環器病センター小児科　レジデント
平成7年　静岡県立こども病院循環器科　医師、医長
平成12年　国立循環器病センター小児科　医師、医長
平成22年　国立循環器病研究センター
小児循環器集中治療室　医長

小児科専門医、小児循環器専門医
専門分野は小児循環器集中治療、小児循環器急性疾患

健康講座⑧

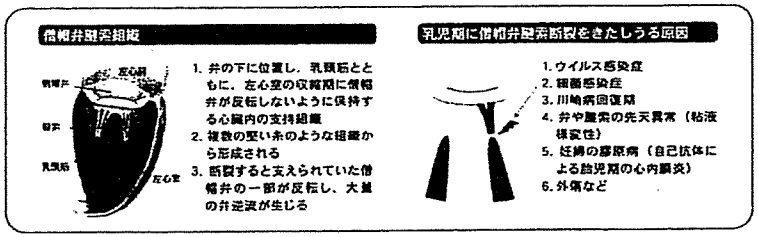
乳児特発性僧帽弁腱索断裂

小児心臓外科医長　鍵﨑　康治

早期診断と早期治療が行われないと生命の危険にさらされる重篤な疾患

乳児特発性僧帽弁腱索断裂とは、生来健康な乳児が突然に心不全によるショック状態に陥り、早期診断と早期治療が行われないと生命の危険にさらされる重篤な疾患です。何らかの感染・炎症により、僧帽弁を支えている腱索が断裂し、急性かつ高度の僧帽弁逆流を起こします。4から6ヶ月の乳児に好発し、数日の風邪のような症状に続き、突然に僧帽弁腱索が断裂します。重度の僧帽弁閉鎖不全により、心拍出量の低下および著しい肺うっ血をきたし、短時間に呼吸困難、顔面蒼白、ショック状態に陥ります。早期の診断・治療が行われないと、死亡したり、救命することができても、重度の多臓器障害を残すことがあります。

外科治療は、診断がつき次第、緊急的に行います。人工腱索再建を用いた僧帽弁形成術が第一選択となりますが、弁の炎症性変化が高度であると、人工弁置換術を余儀なくされる場合もあります。国循では、過去10年に10例を経験しました。幸い全例救命できました。同様な症例は全国的にも過去5年間に50例以上存在し、乳児突然死症候群と診断された症例や未診断の症例を含めると、実際の頻度はもっと高いものと考えられます。



「乳児特発性僧帽弁腱索断裂」の臨床的特徴

① 生後4−6ヶ月の乳児に好発する。

② 数日の風邪のような症状に続き、突然に僧帽弁腱索（僧帽弁を支持する組織）が断裂する。

③ 大量の僧帽弁閉鎖不全により、心拍出量の低下および著しい肺うっ血をきたし、短時間に呼吸困難、顔面蒼白、ショック状態に陥る。

④ 早期発見と早期外科治療がなされないと、死亡したり、救命し得ても重度の多臓器障害を残すことがある。患者さんによっては人工弁置換を余儀なくされたり、生涯にわたる抗凝固剤の内服と再弁置換術を必要とすることがある。

部門のご紹介

乳幼児病棟

Infants Ward



乳幼児病棟では小児循環器病に従事する優秀な人材を育成し乳幼児期患児の良質な医療と看護を提供します。

主な疾患・治療・検査

疾患
- 左心低形症候群
- 房中隔欠損症
- 心室中隔欠損症
- 弁疾患・ファロー四徴症
- 大血管転位症等

治療・検査
- 手術（95件）
- 心臓カテーテル検査（79件）（2010年 実績）
- BAS（経皮的心房中隔欠損拡大術）
- PTPV/PTAV（経皮的肺動脈弁切開術/経皮的大動脈弁切開術）
- PTA（経皮的血管腔形成術）
- Enbolization（コイル塞栓術）

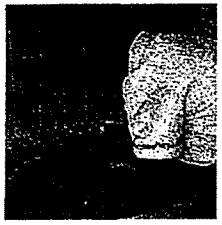
国循の乳幼児病棟には、主に6ヶ月未満の新生児・乳幼児が入院しています。病床数は23床でPICU（小児集中治療室）を有しています。主に先天性心疾患の手術前後の管理や心不全、不整脈の治療を行っています。また、24時間の受け入れ体制をとっており、今年度より導入されたドクターカーで患者さんを安全かつ円滑に移送することもできるようになりました。

病棟では、こどもと家族がより密に関われるよう、医師と看護師が一丸となって治療・看護に取り組んでいます。また、医師・看護師だけでなく多職種とさらなる協働を目指し連携を図っています。

今後も、患者さんに近い存在として子ども達やご家族をサポートしていきます。また、自宅での生活にも目を向け、地域とも連携し、こども達の豊かな生活を支援していきたいと考えています。









最新医療・研究情報

小児心臓外科部長　市川　肇

小児用補助人工心臓、臨床治験始まる

小児用サイズのバリエーションに対応する「Excor」による治療開始。
小児の小さい心拍出量を大きなポンプで行うことの危険性を回避できるようになる。



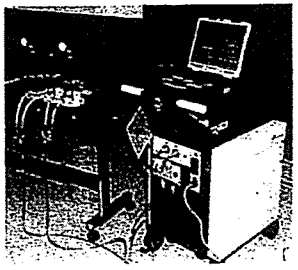
小児用補助人工心臓の説明を受ける医師ら

心不全治療の最後の砦としての心臓移植は 1982 年から 2011 年までに全世界では 9 万例以上が、18 歳以下でも 2300 例以上が行われています。日本では 2010 年の改正臓器移植法以前に 10 歳以下のレシピエントへの 1 例が、そして改正臓器移植法施行以降では 18 歳以下のドナー・レシピエントの心臓移植が 2 例、2012 年 6 月には日本初の 6 歳未満の心臓移植が行われました。しかしながらまだまだドナー不足は否めないという現状です。成人においてすらほとんどの心臓移植のレシピエントは補助人工心臓装着下でドナーを待っている現状であり、小児における心臓移植待機期間が年単位になることは間違いありません。

日本では体重 20 キロ未満の子供が安全に使える小児用補助人工心臓はありません。世界的にはベルリンハート社の「Excor」という製品のみが唯一臨床で実績のある小児用補助人工心臓ですが、日本ではまだ承認されていません。そこでこの Excor を日本で使えるようにするため、数年前から開発者とコンタクトを取り始め、今回ようやく日本医師会の資金援助のもと治療開始までこぎつけました。

Excor の特徴は小児用サイズのバリエーションに対応できるように 10ml、25ml、30ml ポンプが用意されていることです。このことにより体重に応じた選択ができるので小さい心拍出量を大きな従来のポンプで行うことの危険性を回避できます。

適応に関しては補助人工心臓を装着するというのは同時に多くのリスクを背負うことにもなりますので、その適応は補助人工心臓で患者予後が改善する場合のみになります。今回の臨床治験に参加できる条件は、心臓移植へのブリッジとしての使用、そしてそのためには日本臓器移植ネットワークへの登録患者であることとなっています。Bridge to decision（植込み型への橋わたし）のデバイスとしての使用はできませんが、将来的にそのような使用ができればと考えています。まずは承認と保険償還が目標です。



小児用補助人工心臓「Excor」（独ベルリンハート社製）

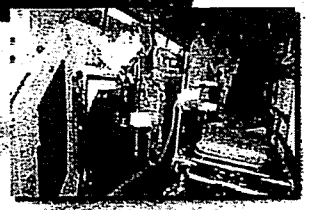
ドクターカーの試験運用開始しました

国循では、循環器病緊急疾患の救急車による搬送を年間 3000 件以上受け入れています。その半数以上が入院を必要とする重症患者です。ドクターカーに医師・看護師が乗車し、搬送の過程から診療に関わることで、患者さんの病態を把握し速やかな治療を行うことが可能となり、救命率の向上と患者予後の改善が期待されます。

車内には移動体通信（携帯電話）を使用したモバイルテレメディシンを導入し、心電図や動画などの情報をインターネットでリアルタイムに CCU（心臓血管集中治療室）に伝送し、ドクターカーを「動く診療室」として運用していきます。緊急カテーテル検査・手術などが必要と判断される場合には、適時該当部署へ連絡するなど、受入体制を整えます。

他の医療機関と連携して重篤な循環器疾患患者を対象に出動します。例えば、重症の心不全のために補助循環装置が装着された患者さんや、緊急手術が必要な新生児が、高度専門治療を受けるための国循への搬送を、迅速かつ安全に行うことが可能になります。今後は国循ドクターカー開発の医療技術・運用のノウハウを日本・世界へ発信していきます。





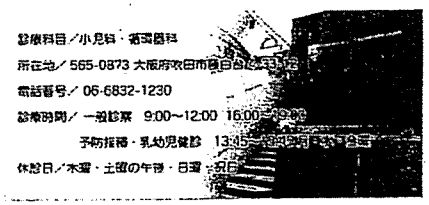
連携医紹介⑧

えちごクリニック



今日受診された患者様の中にも、糖尿病のため国循での検査入院にて、治療方針が決定され、さらに食事指導を受けて来院された方がおられました。今後、当クリニックで投薬し、血糖値などをフォローしつつ必要なときは国循の担当の先生と相談しながら治療を行っていきます。これまで、緊急受診を含めて国循に紹介した患者様のほか、退院後に初めて当クリニックを受診される患者様がおられますが、共通していることは国循の診療に非常に満足されていることです。改めて、国循の正確な診断と適切な治療など診療レベルの高さを再認識させられています。

えちごクリニックは、北千里の交差点を東に向かって徒歩 6 分で、「ふじしろ幼稚園」の近くにあります。5 年前に自宅をリフォームして、小児科・循環器科クリニックを開院しました。それまで 30 年間国循に勤務しましたが、現在、国循と連携した小児並びに大人の循環器疾患や感染症の診療を行っています。今後も、必要な場合は国循との病診連携を通じて、患者様に満足していただける医療を行っていきます。



診療科目／小児科・循環器科
所在地／565-0873 大阪府吹田市[illegible]
電話番号／06-6832-1230
診療時間／一般診療　9:00～12:00　16:00～[illegible]
　　予防接種・乳幼児健診　13:[illegible]
休診日／木曜・土曜の午後・日曜・祝日

Koku Jun

こくじゅん通信

国立循環器病研究センター
National Cerebral and Cardiovascular Center



特集 | close up

脳神経外科

国立循環器病研究センター理念

私たちは、国民の健康と幸福のため、高度専門医療研究センターとして循環器疾患の究明と制圧に挑みます。

基本方針

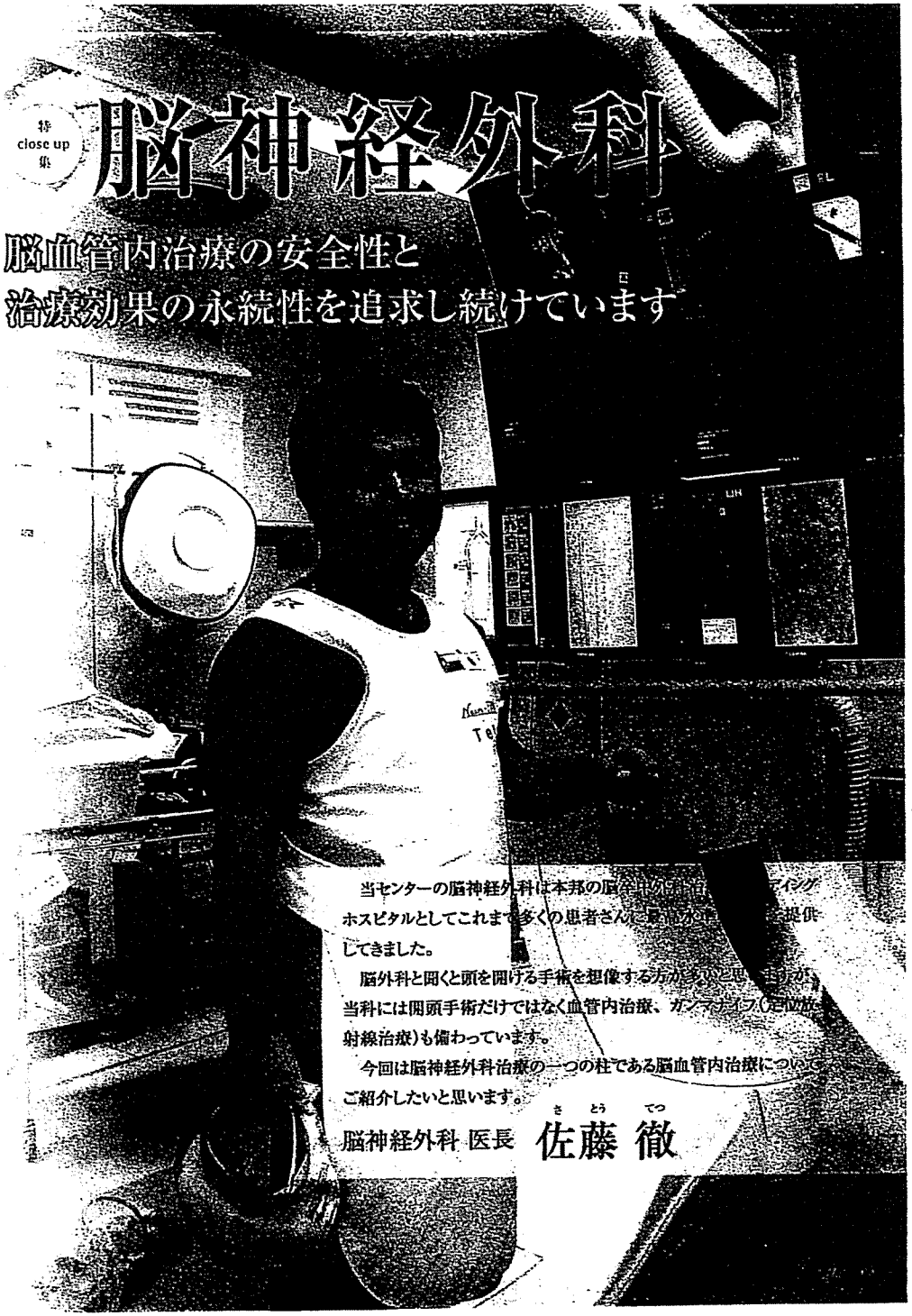
1 循環器病のモデル医療や世界の先端に立つ高度先駆的医療を提供します。
2 透明性と高い倫理性に基づいた安全で質の高い医療を実現します。
3 研究所と病院が一体となって循環器病の最先端の研究を推進します。
4 循環器病医療にかかわるさまざまな専門家とリーダーを育成します。
5 全職員が誇りとやりがいを持って働ける環境づくりを実践します。

autumn 2012/10 09

特集 close up

脳神経外科

脳血管内治療の安全性と治療効果の永続性を追求し続けています



当センターの脳神経外科は本邦の[illegible]ホスピタルとしてこれまで多くの患者さんに[illegible]提供してきました。

脳外科と聞くと頭を開ける手術を想像する方が多いと思いますが、当科には開頭手術だけではなく血管内治療、ガンマナイフ（定位放射線治療）も備わっています。

今回は脳神経外科治療の一つの柱である脳血管内治療についてご紹介したいと思います。

脳神経外科 医長 佐藤 徹（さとう てつ）

【脳血管内治療とは】

脳血管内治療とはマイクロカテーテルという細いチューブを脳血管の中に誘導して行う治療で、日本では1990年代後半から普及してきました。現在、国循では年間150件ほどの治療を行っています。

脳血管内治療は実際の血管や病変を見るのではなく、造影剤とX線を用いて血管や病変をモニターに映しながら、足の付け根から挿入した長さ1m50cmのマイクロカテーテルの先でミリ単位の細かな作業を行っていきます。



脳血管内治療の模式図：
足の付け根の動脈から大動脈内を逆行する形で頭・頸部血管にマイクロカテーテルを誘導する

主な対象としては(1)脳動脈瘤、脳動静脈奇形や硬膜動静脈瘻などの出血を起こしうる（起こした）疾患に対しての、プラチナコイルや液体塞栓物質を用いた塞栓術（血管や瘤などを詰める治療）と(2)頭動脈、頭骨下動脈や頭蓋内血管の狭窄、閉塞に対する血行再建術（バルーンカテーテルを用いた血管形成術、ステント留置術、急性期血栓回収療法）などがあります。急性期血栓回収に関しては急性期脳梗塞に対するt-PA静注療法でも状態の改善しない患者さんなどを対象に脳内科とのタイアップで行っています。

また、2011年1月からは国内初のハイブリッド手術室の運用が始まりました。血管内治療のみ、開頭手術のみのいずれでも治療困難な症例に対して双方を同時に行うことにより、良好な治療結果を得ています。

【直達手術と血管内治療のしっかりした適応決定が当科の最大の強みです】

血管内治療の最大の利点は頭や頸部を切開せずに治療が行えることであり、患者さんの身体的ストレスが比較的少ないことにあります。器具の開発、技術の発展により今後も治療対象となる症例はさらに増加すると思われます。ただし、脳動脈瘤の場所、大きさによっては安全性、根治性においてコイル塞栓術よりもクリッピング術が勝る場合もありますし、頸動脈狭窄症では狭窄部に存在するプラーク（粥腫）がもろく不安定な場合はステント留置術よりも頸動脈内膜剥離術（切開手術）のほうが安全です。このように脳血管内治療よりも直達手術のほうが患者さんにとって安全かつ確実な結果をもたらす症例も少なからずあります。直達手術と脳血管内治療、どちらの治療が患者さんにとって最も有益かを一例一例全員で検討しながら適用していく点が当科の長所であり、結果として各治療法の安全性とその効果の永続性のさらなる向上につながっていると考えています。

患者さんに最善の治療を提供することは当然のこと、当科に在籍している若手医師を次代の脳卒中外科治療のリーダーに育てることも当科のミッションです。当科で研修し、巣立っていった医師たちも全国各地で同様の治療を行ってくれています。

今後も、患者さんの声に耳を傾け、丁寧で分かりやすい説明を行い、よく練られた治療戦略と最高水準の技術を提供することを続けていきます。



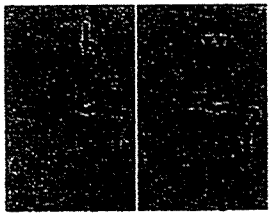
脳神経外科 医長 佐藤 徹（さとう てつ）

福岡県北九州市出身

平成6年	京都大学医学部卒業、同脳神経外科入局
平成6年～9年	倉敷中央病院脳神経外科（研修医、医員）
平成9年～12年	京都大学大学院医学研究科脳神経外科
平成13年	京都大学医学部附属病院脳神経外科 医員
平成15年	同 助手
平成16年	米国ベイラー医科大学放射線科 研究員
平成17年	国立循環器病センター脳神経外科 医師
平成23年	国立循環器病研究センター脳神経外科 医長

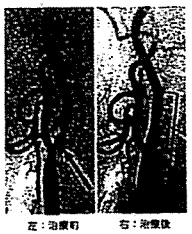
京都大学医学博士、日本脳神経外科学会専門医、日本脳神経血管内治療学会専門医・指導医、日本脳卒中学会専門医
専門分野は脳血管内治療

脳血管内治療の例（1）
脳動脈瘤コイル塞栓術



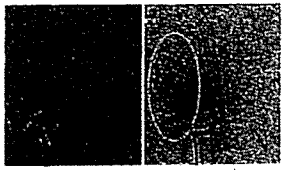
左：治療前　右：治療後
脳動脈瘤（矢印）をプラチナコイルで詰めることにより、瘤は治療後の血管撮影で消失している（矢頭）。

脳血管内治療の例（2）
頚動脈ステント留置術



左：治療前　右：治療後
頚動脈の狭窄部位（矢印）にステントという金属製の網状の筒を置くことにより（赤線が留置範囲）狭窄は解消されている。

脳血管内治療の例（3）急性期血行再建（血栓回収）療法



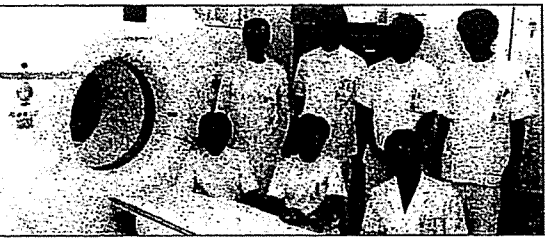


血管の塞栓している部分（矢印）にある血栓をMerciという器具（右）を用いて回収して血行を再開している（黄色円内）。

部門のご紹介

放射線部

Radiology Department

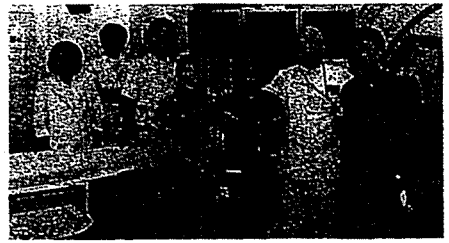


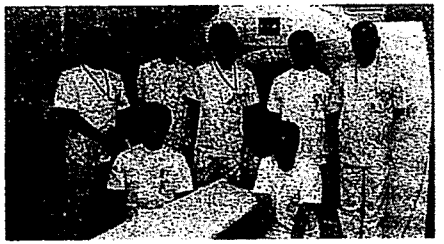
病院の安全・安心の高度診療を支える「縁の下の力持ち」。多くの科が最良の状態で使用できるよう、放射線技師の技術向上を図っています。

放射線部は、画像情報、映像情報を提供し、診療各科の高度診療の一部として活躍しています。CT・MRI・RI・PET・Angio の検査はワークステーションを使いお互いの画像をフュージョンし情報を明確にします。また、3D 画像として表示し次のステップの診療・治療へ行動しやすくします。また、機能解析を行ない局所組織機能などを調べることが多くあります。

カテーテル室では多くの科が検査室へ入り X 線動画を見ながらさまざまなデバイスを用いた冠動脈・脳血管など血管治療を行なっています。ハイブリッド手術室では3D 画像を描出しながら位置と大きさを確認し手術を行なっています。ガンマナイフ治療では 60Coγ線源を搭載した装置を使い頭蓋内の一部分に放射線を集中し照射することで、治療を行なっています。

このように放射線部で扱っている装置はいろいろな科から依頼され、様々な目的に使用しています。いつも最良の状態で使用できるように診療放射線技師も常に技術向上を図っています。





主な診断・治療

- CT　2管球 CT、160 列 CT、16 列 CT
  CTA（血管描出）：脳動脈、冠動脈、大動脈、下肢動脈
  脳、心臓、大動脈の検査
- MR　3T 1台、1.5T 1台
  MRA（血管描出）：脳動脈、頚動脈
  脳、心臓の検査
- RI　SPECT 5台、PET 1台
  脳血流 SPECT、心筋 SPECT、脳 PET、心臓 PET
- カテーテル室　7室
  頭部・心臓・大血管・末梢血管のカテーテル診断・治療、不整脈の診断と治療など
- ガンマナイフ
  脳動静脈奇形・脳腫瘍の放射線治療

診療放射線技師の主な資格認定取得状況



- AHA BLS インストラクター
- MRI 専門技術者
- X 線 CT 認定技師
- 救急撮影認定技師
- 医学物理士
- 医用画像情報管理士
- 医療情報技師
- 核医学専門技師
- 血管撮影・インターベンション専門診療放射線技師
- 第一種放射線取扱主任者
- 第一種作業環境測定士
- 放射線管理士　・放射線機器管理士

健康講座⑨

「冬の脳卒中」にならないために

脳血管内科医長　横田　千晶

外気温の低下が血圧上昇を招く冬。防寒対策と風邪予防で脳卒中から身を守りましょう。



暑い夏も去り、秋らしくなってきました。「夏に脳卒中が多い」というのは、随分有名になり、この夏、脱水にならないよう、体調をくずさないように気を配られた方は大勢いらっしゃったのではないでしょうか。

さて、これから寒い冬を迎えるにあたり、「冬も脳卒中が多い」ということを心にとめてください。冬になぜ脳卒中が多いのか、それは主に以下の２つの理由によると思われます。

1. 気温が下がることによって血圧が上昇しやすい。
2. 風邪をひきやすい。

まず１について、外気温が下がると血圧が上昇するという研究データがあります。大きな寒暖の差、すなわち暖房の効いた部屋からいきなり冷たい外気に触れるのは、血圧が上昇し、体に大きなストレスを与えます。

２に関しては、冬になって気温が下がり、空気が乾燥すると、ウィルス感染が広まりやすくなります。風邪をひくことで、発熱し脱水にもなり、脳梗塞につながりうるのです。ウィルス感染が動脈硬化にとって悪影響を与える可能性も考えられています。

そこで、冬の脳卒中予防に次の４点に注意しましょう。

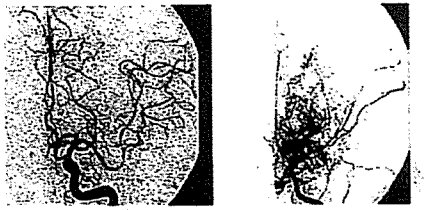
冬の脳卒中予防対策

① 外出時の防寒はしっかりと。
② 外出先から帰宅したら、必ずうがい手洗いを励行。
③ 部屋は乾燥しすぎないように、適宜、加湿。
④ 風呂場の脱衣所、風呂場は、浴槽のふたを開ける等工夫して、入浴前に暖めましょう。

もやもや病の専門外来の開設

国循では、脳の太い血管が細くなったり詰まったりして起こる「もやもや病（ウィリス動脈輪閉塞症）：Moyamoya Disease」の専門外来を10月1日から開設しました。

もやもや病は、脳に栄養を送る頭蓋内の太い動脈（内頸動脈）が細くなったり、詰まったりして脳に流れる血液の量が減少して起こる病気です。不足した血液を補うように発達した末梢の細い血管（もやもや血管）が、脳血管造影検査で「たばこの煙」のように見えることから「もやもや病」と名付けられました。この病気は日本で見つかり、「もやもや病」という病名は、現在世界中で使われています。症状には2種類あり、脳に血流が足りないために体の片側の麻痺やことばの障害などを起こす脳梗塞の症状と、もやもや血管が長期間の負担に耐えられずに破れ出血を起こす脳出血の症状です。脳梗塞の症状は小児に多く、脳出血の症状は成人に多く見られます。最近では、前頭葉の長期の脳虚血が原因と考えられる成人の高次脳機能障害が問題となっています。患者数は日本全国で約7500名と推定され、性別では女性が男性の1.8倍多く見つかっています。



【図1　脳血管造影の画像】
左：正常者　右：もやもや病患者：細い血管がたばこの煙のように見える

原因はまだはっきり分かっていません。

脳血流が不足して症状が起こった患者さんには、まずアスピリンなどの「抗血小板薬」で治療しますが、血流不足が強い重症の患者さんには頭蓋内外の血管を吻合するバイパス手術などが必要となります。もやもや病は原因が不明で治療法がまだ確立していない病気で、重篤な後遺症を残す可能性が高いため、厚生労働省の特定疾患に指定されている難病です。国循では、全国的にも珍しいもやもや病の専門外来を開設し、専門医が診断・治療・社会的支援にあたります。診療日は毎週水曜日を予定しています。

循環器科・神経内科　なかむら内科　連携医紹介⑨



国循には何かとお世話になり深く感謝しています。

当院のある北千里医療ビルには13の診療科があり、各科を掛け持ちする患者さんに喜ばれています。当院はこの医療ビル唯一の内科診療所ですが、循環器科・神経内科を標榜していることから、生活習慣病や脳卒中・心筋梗塞後の患者さんが多く受診されています。国循に最も近い診療所であり、私も国循出身者であるため「緊急時にいつでも紹介してもらえる」という安心感が患者さんにあるようです。

私にとっても、懐かしい同僚が国循で偉くなっておられるので心強い限りです。パーキンソン病や頭痛も専門にしていますが、まずは何でも診る診療所として頑張っていきたいと考えています。（院長　中村　雅一）



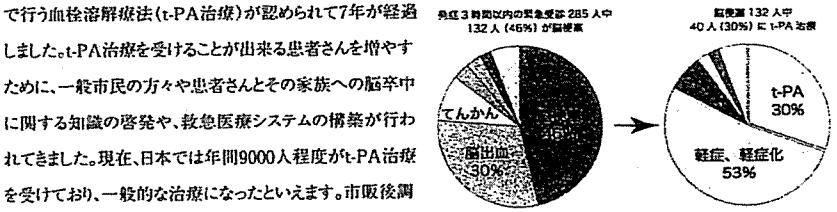
診療科目／循環器科・神経内科
所在地／〒565-0874 大阪府吹田市古江台4-2-60
千里ノルテビル305（北千里医療ビル3F）
電話番号／06-6873-7751
診療時間／一般診察　9:00～12:00　16:00～19:00
休診日／木曜午後・土曜午後・日曜・祝日
URL　http://www.nakamura-naika.com

脳卒中集中治療科　古賀　政利

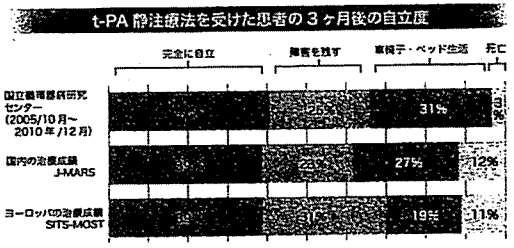
発症して4.5時間以内に延長されたt-PAによる脳梗塞治療の適応時間

治療可能時間の延長はより多くの患者さんを治療できる可能性を高めたが、できる限り早く治療を受けることが重要課題である。

2005年に発症3時間以内の脳梗塞に対する点滴治療で行う血栓溶解療法（t-PA治療）が認められて7年が経過しました。t-PA治療を受けることが出来る患者さんを増やすために、一般市民の方々や患者さんとその家族への脳卒中に関する知識の啓発や、救急医療システムの構築が行われてきました。現在、日本では年間9000人程度がt-PA治療を受けており、一般的な治療になったといえます。市販後調査や当センターを中心とした研究から本治療の効果や安全性が欧米と同等であることがわかりました。治療を受けた患者さんの4割前後は、完全に以前の生活に復帰しています。重篤な合併症である症状の悪くなる頭蓋内出血は約4%でした。欧州を中心に行われた研究結果から、t-PA治療は脳梗塞が起こってから4.5時間以内であれば有効かつ安全に行えることが示されました。平成24年8月31日に厚生労働省の薬事・食品衛生審議会で治療可能時間を4.5時間以内とすることが妥当と判断され、本治療の使用可能時間が発症4.5時間以内に延長されました。現在までに世界で行われた研究をまとめて解析すると、発症して各々90分以内、91～180分、181～270分に治療した場合では、1人が完全に病前の状態に復帰するために各々5人、9人、15人の治療が必要です。これは遅くなるほど治療の効果が下がるということです。



治療可能時間の延長でより多くの患者さんを治療できる可能性が高まりましたが、患者さんはできる限り早く治療を受けることが大変重要です。また、大きな血管が詰まっている場合にはt-PA治療のみでは治療効果が低いこともわかってきました。このような場合にはカテーテルを使用して血管内から血栓を回収する治療を組み合わせる機会も増えてきました。当センターでは、めまぐるしく進歩する最先端の知識と技術で脳梗塞の治療を行っています。



ヨーロッパでの治療成績に合わせて、17歳以下と81歳以上、治療前にNIHSSスコア25点以上を除外した患者で比較

一品料理レシピ

減塩レシピのご紹介

鯛めん

茶そばを加えることで高級感のある1品となり、季節の素材を彩りよく添えると上品に仕上がります。



材　料（1人分）

＜そば＞		＜錦糸卵＞		＜合わせ調味料(②)＞	
抹茶そば(乾燥)	10g	卵	4g	みりん	2cc
＜蒸し鯛＞		油	0.5cc	砂糖	0.12g
鯛	20g	＜お湯戻し＞		濃口醤油	2cc
＜鯛のだし汁(①)＞		干し椎茸	0.5g	だし汁	15cc
卸し生姜	0.3g	＜彩り野菜＞		＜薬味、香り付け＞	
砂糖	0.3g	胡瓜	5g	青ねぎ	1.5g
淡口醤油	0.3g	トマト	10g	卸し生姜	0.5g
塩	0.06g			白ゴマ	0.3g
だし汁	13cc				

作り方

調理前の準備
- 合わせ調味料(①)に20gにカットした鯛を漬け込む
- 卵はボールに割りほぐし、裏ごしして別ボールに移す
- 干し椎茸は熱湯に浸けて戻し、軸を切り取る
- トマトは2mm幅の半月に切る
- 胡瓜は5cmの長さで2mm幅に線切りする
- 青ねぎは2mmに小口切りし、水にさらして水気をきる
- 生姜はすりおろす
- 白ゴマは炒ってすり潰す

調　理
- 鯛を漬けた合わせ調味料を一煮立ちさせる
- 干し椎茸を柔らかくなるまで茹で冷まして2mm幅で切る
- 茹でた干し椎茸を合わせ調味料(②)で一煮立ちさせる
- 出しまき卵用鍋（フライパン）を熱し油をいれて卵を薄く焼き、冷ます
- 錦糸卵が冷えたら5cmの長さで3mm幅に線切りする
- 鯛をだし汁(①)から取り出し、蒸す
- そばを茹で、好みの硬さになったらザルに茹で汁をきり、流水にさらす

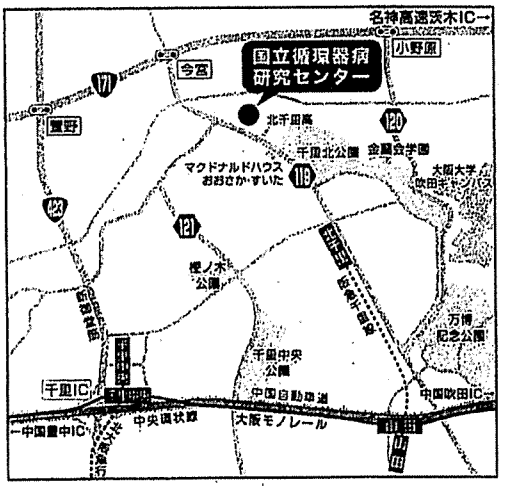
仕上げ
- 器の中央に麺をふんわり盛り、上からゴマをふりかける
- 鯛は麺の手前、トマトは鯛の手前に置き正面から左より椎茸、青葱、錦糸卵、胡瓜の順に盛る
- つゆは別容器に用意する

交通アクセス

- JR東海道線・新幹線「新大阪」駅下車→地下鉄御堂筋線・北大阪急行線「千里中央」駅下車→阪急バス5番乗場（一部6番乗場）「循環器病センター前」下車
- 阪急電鉄千里線「北千里」駅下車→阪急バス5番乗場「循環器病センター前」下車
- 大阪国際空港（伊丹空港）→大阪モノレール「千里中央」駅下車→阪急バス5番乗場（一部6番乗場）「循環器病センター前」下車
- 名神高速道路「吹田IC」より約10分
- 名神高速道路「茨木IC」より国道171号線「今宮交差点」を経て約20分

無料シャトルバス（土日以外は毎日運行）

千里中央・北千里・阪急茨木市・JR茨木・石橋・箕面、各駅より発着



シンボルマーク

「国立循環器病研究センター」は、新しい医療モデルを産み出すクリエイティブな場。それは無限の循環・相互作用となって、つながっていきます。「青」と「赤」のカラーは、静脈と動脈を示すと同時に、医療と研究、知性と情熱、患者と医師といった、相対する要素の相互触発と協力をあらわしています。

※次号は12月上旬発行予定です。

【お問い合せ】
独立行政法人　国立循環器病研究センター　〒565-8565　大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号
国立循環器病研究センター総務課広報係　TEL：06-6833-5012（代）　http://www.ncvc.go.jp

Koku Jun

こくじゅん通信

特集 close up

血管外科



国立循環器病研究センター
National Cerebral and Cardiovascular Center

国立循環器病研究センター理念

私たちは、国民の健康と幸福のため、循環専門医療研究センターとして循環器疾患の究明と制圧に挑みます。

基本方針

1 循環器病のモデル医療や世界の先端に立つ高度先駆的医療を提供します。
2 透明性と高い倫理性に基づいた安全で質の高い医療を実現します。
3 研究所と病院が一体となって循環器病の最先端の研究を推進します。
4 循環器病医療にかかわるさまざまな専門家とリーダーを育成します。
5 全職員が誇りとやりがいを持って働ける環境づくりを実践します。

2013/03 | 10

close up

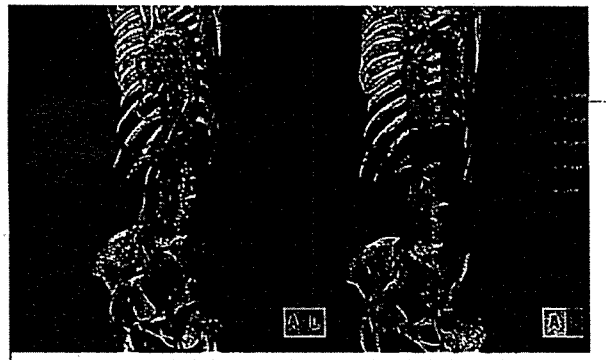
血管外科

国内屈指の手術件数のもと、最先端技術を追求

【患者さんにとって最善の方法を選択】

国循では設立以来、心臓血管外科の中に大動脈外科を専門とする血管外科が独立しています。他施設でも大動脈手術が行われるようになってきましたが、弓部大動脈瘤置換術、胸腹部大動脈瘤置換術、大動脈基部置換術等は圧倒的な経験を有します。

大動脈瘤の手術は術前に症状がなく、言い換えると術後にも症状が消失するわけではないので、実感を得にくく理解しにくい手術です。一般的な心臓の手術と異なり、術後に機能が改善するわけではないので、身体にとって負担が大きい手術であることが知られていました。そのため、従来、大動脈瘤の手術は成績が悪いとされていましたが、国循は国際的にもその良好な成績がよく知られています。現在、大動脈瘤に対する治療法には従来からの人工血管置換術と最近積極的に実施しているステントグラフト留置術の二つがあります。国循では患者さんの状態に応じた最善の方法を選択すべく、どちらかに偏ることなく双方とも力を入れています。特にステントグラフトが近年注目され、マスコミ等で報道されることが多いことから、患者さんのほうから使用を希望されることが多くなっています。ステントグラフトは低侵襲で患者さんの負担が極めて少ない優れた治療法ですが、全ての大動脈疾患に有効に使えるとは限りません。また未だ歴史が浅い治療であり、長期遠隔期の問題もよく分かっていません。通常の人工血管置換術の成績も決して悪いものではなく、国循では、充分に検討した上で、その患者さんにとって一番ふさわしい治療を考慮してお勧めしています。



胸腹部大動脈瘤人工血管置換術（左：術前、右：術後）



大動脈基部拡大に対する自己弁温存大動脈基部置換術（左：術前、右：術後）

【365日24時間体制で受け入れ】

急性大動脈解離の治療成績も向上してきました。急性大動脈解離には大動脈瘤とは異なり、突然発症するのが特徴です。急性大動脈解離は、高血圧が放置されると起こりやすいと考えられています。急性大動脈解離は、発症するとすぐに生命の危機にさらされる重篤な疾患であり、大部分の症例で一刻も早く手術を行う必要があります。緊急手術の成績の向上のために、医療連携室、緊急外来、麻酔科、手術室、集中治療室、臨床工学技士の皆さん方と協力し、5名の大動脈の専門医が365日24時間体制で緊急症例の受け入れを行っています。一刻も早く手術を開始するために、救急車で搬送されてからできるだけ速やかに手術室に移動するようにしています。その際に説明が不充分にならないように、執刀医とは別の医師が手術の説明を行うこともあります。

これからも、最先端の技術を追求して、国内外の大動脈疾患で苦しむ患者さんを救命するように努力を続けてまいります。





弓部大動脈瘤に対するステントグラフト留置術（左：術前、右：術後）



腹部大動脈瘤に対するステントグラフト留置術（左：術前、右：術後）

部門のご紹介

手術室

Operating Room



最先端の高度医療を実践しています。

手術室看護師が心がけていること

- 手術における安全の確保と、患者さんの立場に立った看護を提供しています。

国循の手術室では、24時間体制で高度な技術を要する緊急性の高い手術に対応しています。手術室は9室あり、心臓血管外科（小児先天性心疾患・後天性心疾患・血管疾患）、心臓内科、脳神経外科、周産期科の手術を毎日実施しています。心臓移植・ロボット手術などの最先端の高度医療を実践しています。また、手術とカテーテル治療を同時に行うことができるハイブリッド手術室での、より高度な治療も行っています。手術室では看護師だけでなく、麻酔科医師・臨床工学技士・外科医師・放射線科医師・診療放射線技師など、多職種との連携により患者さんの治療に全力を尽くしています。

平成24年は、2,568件の手術を実施しました。そのうち緊急手術は962件（31％）と昼夜を問わず、生命の危機に瀕した状態にも多く対応しています。そのような中で、看護師は手術を受けられる患者さん及び家族の不安を和らげ、安心していただけるように安全な手術看護の実践を心がけています。



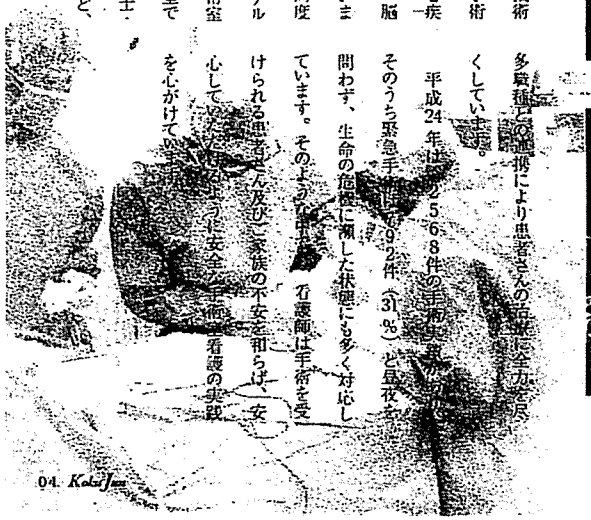
緊急性の高い手術は昼夜を問わず対応



ロボット手術など最先端の治療を実施



手術とカテーテル治療を同時に行うハイブリッド手術室

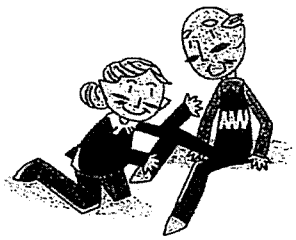


健康講座⑩

閉塞性動脈硬化症

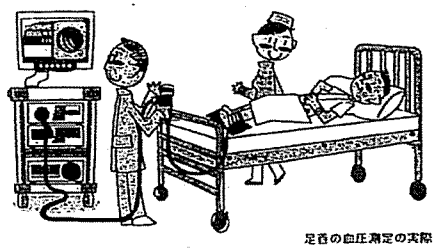
～救肢に一生を得るために～

心臓血管内科　血管科医長　河原田　修身



食生活の欧米化、糖尿病や腎臓病の増加、高齢化社会の到来などによって足の動脈硬化の患者さんが増えてきています。この病気を「閉塞性動脈硬化症」といいます。足の動脈が狭くなったり詰まったりすることで血流不足になり、足の冷感から歩行時のお尻や太もも、ふくらはぎの痛み、さらには足の潰瘍壊疽にいたる場合があります。その一方で、しばしば症状を自覚しないまま進行していく場合もあります。また閉塞性動脈硬化症の方は心臓や脳の動脈も同じように動脈硬化が進んでいることが多く、近い将来に心筋梗塞や脳梗塞を発症する可能性も高いと言われています。

足の症状が気になる方、50歳以上で糖尿病がある方、また喫煙歴、高血圧、コレステロールが高いなど２つ以上の危険因子がある方は足の血圧測定をお勧めします。足首の血圧は外来検査で簡便に測定することができますので医師にご相談ください。足首の血圧が低ければ閉塞性動脈硬化症の可能性が高いと言えます。



足首の血圧測定の実際

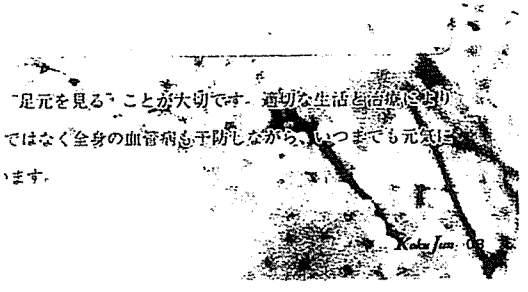
Q. どんなことに気をつけるといいでしょうか？

A. タバコを吸っている方は禁煙がとても重要です。糖尿病の方は、感覚が鈍くなっている可能性があるので冬場で足が冷たくても湯たんぽやカイロなどの使用は避けてください。低温やけどがきっかけで足壊疽にいたる場合があります。また足の水虫や胼胝などから細菌感染や潰瘍壊疽を発症する場合もあるのでフットケアに心がけてください。

Q. どんな治療法があるでしょうか？

A. 症状がひどい場合には、積極的に血流を良くするためにカテーテル治療やバイパス手術を考慮します。軽症の場合には血流を改善する薬を始めます。

閉塞性動脈硬化症で困らないために、文字通りしっかり"足元を見る"ことが大切です。適切な生活と治療により足を救うことができます。"救肢に一生を得"て、足ばかりではなく全身の血管病も予防しながら、いつまでも元気に自分の足で歩く、健康な暮らしを送っていただきたいと思います。

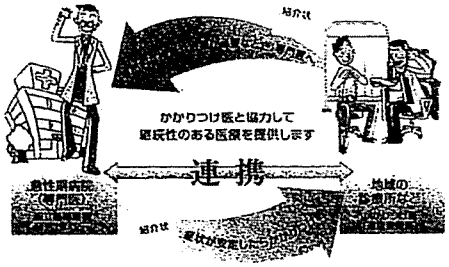


「かかりつけ医」のご案内

自宅に近く、気軽に相談できる「かかりつけ医」と当センターとの二人主治医制で患者さんをサポートします。

「かかりつけ医」とは？

日頃から患者さんご自身やご家族の体質や病歴、健康状態を把握し、診療行為のほか健康管理上のアドバイスなどもしてくれる身近な医師（ご自宅や職場近くの診療所など）のことです。より専門的な治療や検査が必要な時は、適切な病院を紹介してもらえます。



「かかりつけ医」と一緒に患者さんを見守ります。

当センターは、循環器の専門病院です。循環器疾患の専門的な検査や治療を必要とする患者さんに、適切に治療を受けていただける様、地域の医療機関とそれぞれの役割を分担し、連携をとりながら患者さんの健康をサポートしています。

病状の変化や、定期的な検診など、当院で治療が必要な場合は、従来どおり当院で対応させて頂きますので、ご安心ください。

患者さんにとってのメリットは？

身近で便利
ご自宅から近く、待ち時間も比較的短くてすみます。夜診を行なっている医院が多いため、お仕事をお休みして病院に行く必要もありません。

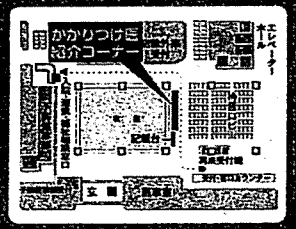
気軽に相談できる
一人の医師と長く付き合うことで、安心して気軽に相談できます。急に具合が悪くなっても適切に治療してもらうことができ、「何科を受診したら良いのかわからない」といった時でも安心です。

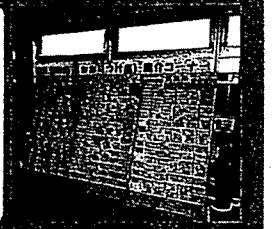
病気の早期発見につながる
普段の健康状態や過去の病歴などを把握しているので、患者さんの体調変化をいち早くとらえることができ、病気の早期発見につながります。

「かかりつけ医」についてのご相談は下記まで

独立行政法人
国立循環器病研究センター
専門医療連携室窓口

主治医と相談の上、お越し下さい





国立循環器病研究センターの減塩レシピが本になりました

「国循の美味しい！かるしおレシピ」



国立循環器病研究センター（国循）は、「減塩なのにおいしい」と好評をいただいているオリジナル減塩メニューを紹介したレシピ本「**国循の美味しい！かるしおレシピ～0.1mlまで量れる！かるしお（軽塩）スプーン3本セットつき**」（セブン&アイ出版）を、12月11日（火）より全国の書店にて発売しました。

世界的にみても日本人の食塩摂取量は約11g／日と高く、成人の3人に1人、高齢者の3人に2人は高血圧と診断されています。高血圧は脳卒中や心臓病につながりやすく、高血圧の予防と治療は国民的な課題です。国循では平成17年から、1日の塩分摂取量が合計6グラム未満（1食2g未満）となる減塩食を入院患者さんに提供しています。この減塩食は京都の割烹などで修行した調理師長を中心に、京料理の手法を取り入れて独自メニューを開発したものです。退院された患者さんからは「あの食事を家庭でも食べたい」と要望をいただいていました。今回のレシピ本は、減塩食の必要な患者さんだけではなく、幅広く塩分を控えた食生活に関心がある一般の方までを対象に制作され、健康寿命をのばす適切な食生活のガイドとして活用いただきたいと考えています。

国循は、「循環器」を対象とする国内唯一の国立高度専門医療センター（ナショナルセンター）として、循環器疾患の究明と制圧に挑んでいます。病態解明と先端医療の研究・提供だけではなく、「循環器病の予防」のための研究・情報提供にも取り組んでいます。今回の出版は、国循の「減塩プロジェクト」の一環であり、今後も日本人の食塩摂取量を減らすために多角的に活動していきます。

「かるしお」について

国循が循環器病の入院患者さんに出す通常の食事は、1日の塩分摂取量が合計6グラム未満（1食2g未満）となる減塩食ですが、国循の管理栄養士や調理師たちの「独自の調理」への工夫により「おいしい」という評価をいただいています。その工夫の一つが塩を軽く使ってうまみを引き出す「かるしお」という新しい減塩の考え方です。少ない塩分だからこそ、美味しいメニューとなっています。本書では、「しっかり味」の秘密である、八方だしや、素材のきざみ方など、「国循の減塩調理」の基本とあわせ、循環器病の予防に向けた減塩の重要性を紹介します。そのうえで、栄養面や彩りの工夫とともに、春夏秋冬の季節感あふれる家庭での減塩献立レシピを73点紹介しています。

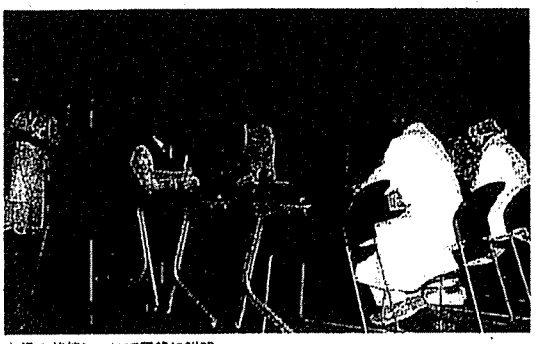
書名

「国循の美味しい！かるしおレシピ～0.1mlまで量れる！かるしお（軽塩）スプーン3本セットつき」

子どもからの臓器提供を想定した訓練を実施

2013年1月15日、医師、看護師、コーディネーターら100名超が参加し、脳死と判定された子どもからの臓器提供を想定した公開訓練を実施しました。

5歳の女児が脳動静脈奇形による脳内出血のため脳死と判定されうる状態になったと想定して行われたこの訓練では、まず、主治医役が「脳死とされうる状態」と診断するところからシミュレーションを開始。続いて、ご両親役に女児の状態を説明、その上で臓器提供という選択があることを説明しました。



女児の状態について両親に説明



実際の医療器具を用いて脳死判定

その一方、虐待の有無を判断する委員会が開かれ、医師役、看護師役が、外傷の有無、児童相談所への相談歴がないかなどを確認。その後、実際に日本臓器移植ネットワークに所属するコーディネーターが、ご両親役に臓器摘出までの過程を説明し、承認書にサインをいただきました。続く、法定脳死判定では女児役の人形を相手に実際の医療器具を使用して判定しました。

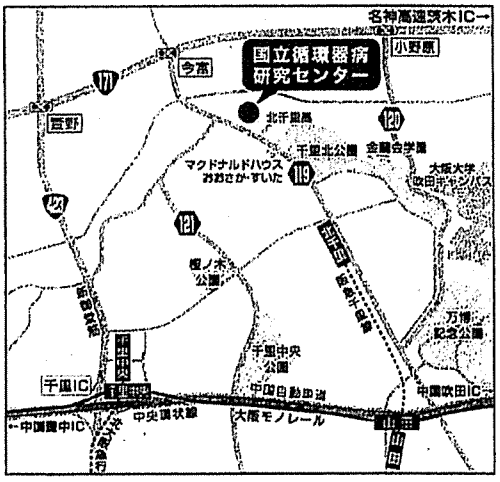
小児からの臓器提供を想定した訓練は、2010年9月に続いて2度目。院内外の100人超の聴講者も、臓器摘出までの一連の手順とそれぞれの役割を確認することができました。

交通アクセス

- JR東海道線・新幹線「新大阪」駅下車→地下鉄御堂筋線・北大阪急行線「千里中央」駅下車→阪急バス5番乗場（一部6番乗場）「循環器病センター前」下車
- 阪急電鉄千里線「北千里」駅下車→阪急バス5番乗場「循環器病センター前」下車
- 大阪国際空港（伊丹空港）→大阪モノレール「千里中央」駅下車→阪急バス5番乗場（一部6番乗場）「循環器病センター前」下車
- 名神高速道路「吹田IC」より約10分
- 名神高速道路「茨木IC」より国道171号線「今宮交差点」を経て約20分

無料シャトルバス（土日以外は毎日運行）

千里中央・北千里・阪急茨木市・JR茨木・石橋・箕面、各駅より発着



シンボルマーク

「国立循環器病研究センター」は、新しい医療モデルを産み出すクリエイティブな場。それは無限の循環・相互作用となって、つながっていきます。「青」と「赤」のカラーは、静脈と動脈を示すと同時に、医療と研究、知性と情熱、患者と医師といった、相対する要素の相互触発と協力をあらわしています。

【お問い合せ】
独立行政法人　国立循環器病研究センター　〒565-8565　大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号
国立循環器病研究センター総務課広報係　TEL：06-6833-5012（代）　http://www.ncvc.go.jp

※次号は5月発行予定です。

Original Article

Multicenter Study to Determine the Diagnosis Criteria of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia in Japan

Mariko Harada-Shiba[1], Hidenori Arai[2], Tomonori Okamura[3], Koutaro Yokote[4], Shinichi Oikawa[5], Atsushi Nohara[6], Tomoo Okada[7], Takao Ohta[8], Hideaki Bujo[9], Makoto Watanabe[10], Akihiko Wakatsuki[11] and Shizuya Yamashita[12]

[1]Department of Molecular Innovation in Lipidology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan
[2]Department of Human Health Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan
[3]Department of Public Health and Preventive Medicine, Keio University, Tokyo, Japan
[4]Department of Clinical Cell Biology and Medicine, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan
[5]Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, Nippon Medical School, Tokyo, Japan
[6]Department of Lipidology, Kanazawa University Graduate School of Medical Science, Kanazawa, Japan
[7]Department of Pediatrics and Child Health, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan
[8]Department of Child Health and Welfare (Pediatrics), Faculty of Medicine, University of the Ryukyu, Nishihara, Japan
[9]Department of Genome Research and Clinical Application, Chiba University, Graduate School of Medicine, Chiba, Japan
[10]Department of Preventive Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan
[11]Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Aichi Medical University, Aichi, Japan
[12]Department of Cardiovascular Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Japan

Aim: **Heterozygous patients of familial hypercholesterolemia (FH) are known to have a high risk of coronary artery disease (CAD). Early diagnosis and prompt treatment are necessary to prevent their CAD. In this study we tried to amend the Japanese diagnostic criteria of FH for general practitioners by examining each component of the current criteria.**
Methods: **A multicenter study was performed, which included 1356 dyslipidemic patients at 6 centers. Pretreatment demographic information including LDL-cholesterol (LDL-C), Achilles tendon thickness (ATT), family history of FH and premature CAD and the result of genetic analysis were analyzed.**
Results: **Of 1356 patients, 419 were diagnosed with FH by criteria in 1988, which were used as a golden standard. We tried to define FH according to 3 conventional major items, i.e., 1) LDL-C, 2) ATT and/or cutaneous nodular xanthomas (CX), 3) family history of FH and/or family history of premature CAD. We then determined the cutoff of LDL-C using the new criteria. When we used 180 mg/dL as the cutoff of LDL-C, 94.3% of FH patients and 0.85% of non-FH satisfied 2 or more criteria. When we used 190 mg/dL, 92.1% of FH and 0.85% of non-FH satisfied 2 or more criteria; therefore, we chose 180 mg/dL for the cutoff of LDL-C in the new criteria and proposed that the diagnosis of definite FH can be made if 2 or more criteria are satisfied.**
Conclusions: **We examined each component for the diagnosis of heterozygous FH in a multicenter study in Japan.**

J Atheroscler Thromb, 2012; 19:1019-1026.

Key words; Diagnosis criteria, Familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, Achilles tendon thickness, LDL receptor

Address for correspondence: Mariko Harada-Shiba, Department of Molecular Innovation in Lipidology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka, 565-8565, Japan
E-mail: shiba.mariko.ri@mail.ncvc.go.jp
Received: April 9, 2012
Accepted for publication: June 26, 2012

Introduction

Familial hypercholesterolemia (FH) is a genetic disease caused by a mutation in genes related to low-density lipoprotein (LDL) metabolism. Heterozygous FH patients manifest high LDL cholesterol (LDL-C) levels, skin and/or tendon xanthomas, and increased risk of premature coronary artery disease (CAD)[1]. High LDL-C levels are the first symptom that appears even from birth, while xanthomas on the Achilles tendon usually appear during or after the late 10s and CAD that determines the prognosis of FH patients appears during or after the third decade of life in men and the fifth decade in women[2-4]. Because morbidity and mortality of CAD in heterozygous FH are much higher than in the general population[1, 5-7], special attention should be paid to screen these patients and to prevent their atherosclerotic complications. For the diagnosis of FH, several criteria have been published throughout the world, including ours, reported in 1988[8]; however, appropriate diagnosis of FH by primary care physicians is not performed in general practice in Japan[9]. Therefore, it is very important to establish useful diagnostic criteria for primary care physicians to diagnose FH with high specificity and sensitivity.

Because FH patients are estimated to be more than 250,000, primary care physicians need to take care of most of them; therefore, the criteria should be as simple as possible for clinical usefulness and have high sensitivity and specificity. We have used diagnosis criteria for FH published in 1988 in Japan[8], which include hypercholesterolemia, presence of skin/tendon xanthoma and reduced LDL receptor activity as major items; however, it is difficult to measure LDL receptor activity in routine clinical practice and even lipid specialists do not measure its activity. Furthermore, it is not covered by Japan's health insurance system; therefore, it is necessary to make the current diagnostic criteria easy to use for general practitioners. Toward this end, we performed a multicenter collaborative study of 1397 patients with dyslipidemia.

Methods

Subjects

A total of 1397 patients with dyslipidemia, referred to the outpatient clinic of 6 hospitals (Kyoto University Hospital, Osaka University Hospital, Nippon Medical School Hospital, Chiba University Hospital, Kanazawa University Hospital, and National Cerebral and Cardiovascular Center Hospital), were the subjects to this study. Among these patients, 41 were excluded due to missing data. Consequently, 1356 patients with dyslipidemia were eligible for the present study. Most had been diagnosed with or without FH by lipid specialists at each hospital according to the criteria for FH reported in 1988, and genetic analysis was performed in 223 patients, some of whom were diagnosed with FH based only on mutations of the LDL receptor or PCSK9. The criteria were as follows: Major items included 3 items, (1) IIa or IIb phenotype at serum cholesterol level of 260 mg/dL or above; (2) Tendinous xanthoma or xanthoma tuberosum is present; (3) Reduced or abnormal receptor activity. Minor items included 3 items: (1) Xanthoma palpebratum; (2) Arcus juvenalis (<50 years); (3) Juvenile (<50 years) ischemic heart disease.

Table 1. Clinical characteristics of non-FH and FH patients in this cohort

	non-FH	FH	*p*
N	937	419	
Male (n, %)	453 (48.3%)	170 (42.7%)	<0.01
Age (y.o.)	58.3±16.3	52.9±18.6	<0.01
TC (mg/dL)	236±53	339±72	<0.01
LDL-C (mg/dL)	146±46	257±67	<0.01

Determination of Conventional Criteria for FH

In this study we tried to amend the current criteria. For the primary care setting, three major items, i.e. serum level of LDL-C, family history and specific physical findings of FH, were chosen as diagnostic items because all are easily assessed by general practitioners. Family history and specific physical findings were also separated in more detail. Finally, we set 5 items, (1) LDL-C, (2) specific physical findings: a) ATT, b) cutaneous nodular xanthomas (CX), (3) family history: a) family history of FH in 1st or 2nd degree relatives, b) family history of premature CAD in 1st or 2nd degree relatives. A family history of premature CAD was defined as having CAD before the age of 55 in males and 65 in females. First, we assessed the prediction for FH by the combination of physical findings and family history, and then we determined the cutoff point of LDL-C with the combination of the above-mentioned two items. LDL-C levels were calculated by the Friedewald formula. ATT levels were measured by X-ray according to the method previously described and determined as positive with 9 mm or more[10].

The data in the medical records of the patients were sent to the National Cerebral and Cardiovascular Center and examined. The study protocol was approved by the ethics committee of the National Cerebral and Cardiovascular Center (D#M20-25-2 for the multicenter trial and ID#M17-56-4 for the genetic analysis). The ethics committee of each hospital also approved the study protocol.

資料16

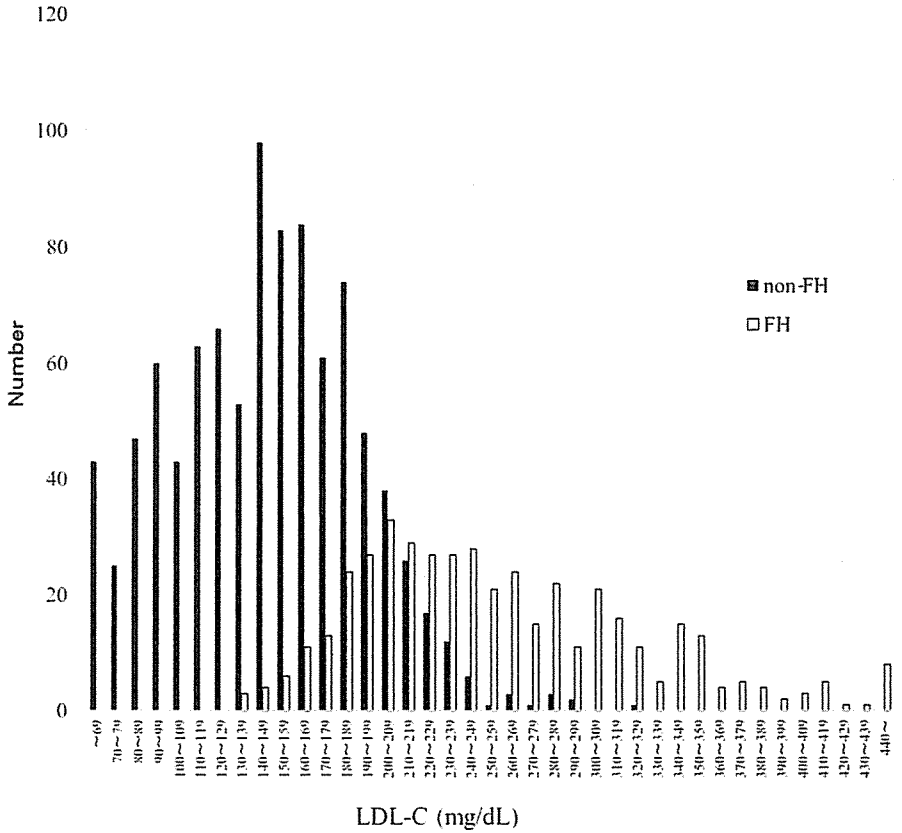


Fig. 1. Distribution of LDL-C levels before treatment in FH and non-FH patients. LDL-C levels were calculated by the Freidewald formula in patients with dyslipidemia diagnosed with FH or non-FH by specialists.

Statistical Analyses

Continuous variables are presented as the means ±SD. Categorical data are presented as numbers and percentages. Unpaired Student's *t*-test and one-way analysis of variance (ANOVA) were used to assess differences between groups in continuous variables. Differences in categorical variables were assessed by the χ^2 test.

Results

Among 1356 patients, 419 had been diagnosed with FH, while 937 with non-FH. Patient demographic data are shown in **Table 1**. FH patients were younger than non-FH patients. TC and LDL-C levels were 339 and 257 mg/dL in FH patients, respectively, and were significantly higher than in non-FH patients. The distribution of LDL-C levels in both groups is shown in **Fig. 1**. FH patients were divided into 3

Table 2. LDL-C levels in FH patients with or without genetic data

LDL-C (mg/dL)	FH (Total)	FH (Mut+)	FH (Mut−)	FH (no genetic data)	*p*-value
N	419	224	41	173	
Mean	257.4	266.2*	229.0*	252.9	
SD	67.39	69.85	60.14	63.70	
MEDIAN	244	253	216	241	0.003
IQ					
25%	205	213	189	203	
75%	300	308	244	295	

FH (Mut+): mutations in the LDL receptor or PCSK9, FH (Mut−): no mutations found, FH (no genetic data): no genetic analysis
*$p<0.005$ by Bonferroni

Table 3. Sensitivity and specificity in screening FH by physical findings and family history

	Specificity	Sensitivity
Physical findings		
ATT (+) (%)	98.6	64.1
CX (+) (%)	99.6	9.4
ATT (+) or CX (+) (%)	98.6	64.6
ATT(+) and CX(−)	99.6	11.7
Family history		
Family history of FH (+) (%)	93.6	98.2
Family history of CAD (+) (%)	96.3	28.3
Family history of FH (+) or CAD (+) (%)	91.7	98.7
Family history of FH (+) and CAD (+) (%)	98.2	27.4

ATT: Achilles tendon thickness, CX: Cutaneous nodular xanthomas
FH ($n=224$) was diagnosed by mutations in the LDL receptor and/or PCSK9. Non-FH ($n=937$) was diagnosed by specialists.

groups depending on their genetic data: FH with mutation(s) in LDL receptor or PCSK9, FH with no mutation(s) and FH with no genetic data. The mean and median of LDL-C along with SD and interquartile range of each group are shown in **Table 2**. LDL-C levels in FH with mutations were higher than those in FH without mutations.

We tried to define FH according to the screening standards as 3 major items, i.e., 1) LDL-C, 2) ATT and/or cutaneous nodular xanthomas (CX), 3) family history of FH and/or family history of premature CAD. We used LDL-C instead of total cholesterol, because LDL-C should better reflect the activity of the LDL receptor and is used for the goal of lipid management in the current Japanese guideline[5]. We incorporated "family history" as a major item because general practitioners were able to find FH by a family history of FH and/or premature CAD instead of LDL receptor activity. Sensitivity and specificity in screening FH by physical findings and family history are listed in **Table 3**. Based on these data, we decided to use 1) ATT or CX, and 2) family history of FH or CAD as 2 major items in addition to high LDL-C levels.

Next we tried to determine the cutoff levels of LDL-C. The percentage of the patients who satisfied each criterion according to LDL-C levels is listed in **Table 4**. Levels of 180 or 190 mg/dL are suggested as candidate cutoff levels. Therefore, the criteria for model 1 were set as those who satisfy 2 or more of the 3 criteria: 1) LDL-C 180 mg/dL or higher, 2) ATT (+) or CX (+), 3) Family history of FH or CAD, and for model 2, for which the cutoff point of LDL-C was changed to 190 mg/dl or higher, their sensitivity, specificity, and false positive and false negative rates were compared (**Table 5**). When we compared model 1 with model 2, higher sensitivity in model 1 than model 2 was obtained without any change in specificity, suggesting that 180 mg/dL is a better cutoff for LDL-C. The percentages were quite similar in FH with mutation (s) in LDL receptor or PCSK9, FH with no mutation (s) and FH with no genetic data. The diagnostic criteria of FH were then determined

Table 4. Percent satisfying each LDL-C level in non-FH and FH patients

	non FH	FH (All)	FH (Mut+)	FH (Mut−)	FH (No genetic data)
N	937	419	223	41	155
LDL-C ≥ 170 mg/dL (%)	30.5	94.5	96.0	85.4	94.8
LDL-C ≥ 180 mg/dL (%)	24.3	94.3	94.6	82.9	92.9
LDL-C ≥ 190 mg/dL (%)	16.6	92.1	93.7	75.6	89.7
LDL-C ≥ 200 mg/dL (%)	11.6	80.0	84.3	63.4	78.1

FH(Mut+): mutations in the LDL receptor or PCSK9, FH(−): no mutations found, FH (no genetic data): no genetic analysis

Table 5. Accuracy metrics of FH criteria using LDL-C cutoff levels of 180 or 190 mg/dL

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	False positive (%)	False negative (%)
Model 1: Satisfying 2 or more of the following criteria: 1) LDL-C ≥ 180 mg/dL, 2) ATT(+) or CX(+), 3) Family history of FH or CAD	94.5	99.1	0.85	5.5
Model 2: Satisfying 2 or more of the following criteria: 1) LDL-C ≥ 190 mg/dL, 2) ATT(+) or CX(+), 3) Family history of FH or CAD	92.1	99.1	0.85	7.9

Table 6. Diagnostic criteria for adult (15 years or older) heterozygous FH

1	Hyper-LDL-cholesterolemia (LDL-C level before treatment: 180 mg/dL or more)
2	Tendon xanthoma (tendon xanthoma of the dorsal hands, elbows, and knees, or Achilles tendon thickening) or nodular xanthoma of the skin
3	Family history (relatives in the second degree): FH or premature CAD

-A diagnosis should be made after ruling out the possibility of secondary hyperlipidemia.
-Patients meeting 2 criteria should be regarded as having FH. Concerning those meeting 1 criterion, refer to Fig. 4. When FH is suspected, gene tests should be conducted to make a diagnosis.
-Nodular xanthoma of the skin does not include palpebral xanthoma.
-Patients with Achilles tendon thickening (9 mm or more) on radiography should be regarded as having xanthoma.
-When the LDL-C level is 250 mg/dL or more, FH should be strongly suspected.
-During drug therapy, the pretreatment lipid level should be employed as a reference value.
- CAD in males younger than 55 years old and females younger than 65 years old is defined as premature CAD.
-When a diagnosis of FH is made, the patient's family should also be investigated.
- LDL-C may be decreased after surgery, myocardial infarction, severe inflammation and so on. In these cases, LDL-C values before the diseases should be requested to give a diagnosis.
- To diagnose patients who have already been treated with statins, pretreatment levels of LDL-C should be requested; however, termination of statin treatment is not recommended to obtain pretreatment levels of LDL-C, even if the data are not available.

and are shown in **Table 6**.

Discussion

FH has the highest prevalence in genetic metabolic diseases, being heterozygous in one in 500 of the general population[1, 11]. Most young heterozygous FH patients have no symptoms other than high LDL-C levels, and those who have Achilles tendon thickness have no symptoms. The reason for undiagnosed FH patients to go to a clinic may be mainly divided into the following 4 situations: 1) a chance visit to a primary care physician due to flu or gastritis, etc., 2) recommendation of further medical examination due to high cholesterol at a health checkup, 3) transportation to the emergency room due to the development of acute coronary syndrome, 4) recommendation of medical consultation due to the presence of FH in his/her family. The diagnostic criteria should be applied to these patients. Accordingly, conventional criteria are needed for the primary care setting.

Heterozygous FH patients show high levels of LDL-C, cutaneous and tendon xanthomas, and are complicated with myocardial infarction at young age by atherosclerosis due to intravascular exposure to high levels of LDL-C for many years. Because early diagnosis and treatment are recommended for these patients, the diagnostic criteria for FH have been reported in many countries including Japan[8, 12-17]. While some criteria give a satisfactory diagnosis of FH using specific items, others are adopting a scoring system. The Japanese criteria reported in 1988[8] were as follows. Major items included the following 3 items: (1) the patient shows the IIa or IIb phenotype at a serum cholesterol level of 260 mg/dL or above, in principle; (2) Tendinous xanthoma or xanthoma tuberosum is present; (3) Reduced or abnormal receptor activity is noted by LDL receptor analysis; however, for LDL receptor activity, even lipid specialists do not routinely measure activity. It would be even more difficult for primary care physicians to measure activity for the diagnosis of FH.

The cutoff level of serum cholesterol used in the first criterion in the criteria published in 1988 was 260 mg/dL; however, LDL-C is directly affected by dysfunction of the LDL receptor and is routinely measured in clinics by the direct method or Friedewald formula; therefore, we tried to use LDL-C as a cutoff level instead of total cholesterol. The presence of tendon and/or cutaneous nodular xanthomas was also used because of its convenience, high sensitivity and specificity. A family history of FH or premature CAD in 1st or 2nd degree relatives was proposed for the third criterion instead of measuring LDL receptor activity in the new diagnostic criteria. A family history of FH showed high sensitivity and specificity; however, primary care physicians may have difficulty obtaining this because it was not easy for them to reach a diagnosis of FH with the previous criteria. In the present study, accurate diagnosis of a family history of FH seemed to have been given because lipid specialists made the diagnosis at all the hospitals; however, the same result may not be applied to primary care physicians. Therefore, a family history of CAD, which may be easier to obtain, was added to the criteria. It should be noted that the sensitivity of a "family history of FH or CAD" was slightly higher than that of a "family history of FH". Accordingly, we chose a "family history of FH or premature CAD in 1st or 2nd degree relatives" as the third criterion.

The cutoff level of LDL-C for the diagnosis of FH should be set by its sensitivity and specificity in different cutoff points. The cutoff level of LDL-C for the diagnosis of FH was reported to be 190 mg/dL in Simon Broome[17], NICE[15] and 205 mg/dL in MEDPED[16]. In this study, 180 mg/dL was selected as the cutoff level together with the presence of xanthoma and the family history as the criteria for the diagnosis of FH because of its high sensitivity and specificity.

Reduced LDL receptor activity is direct evidence of FH and was used as one of the criteria in the previous version. Usually, LDL receptor activity is determined by the binding of fluorescent-labeled LDL to lymphocytes. The procedure of measuring LDLR activity is cumbersome and it is difficult to measure in routine clinical settings. Further, few companies can measure LDLR activity. Indeed, the specialists involved in this study measured LDLR activity only in 7 of 419 patients of FH, showing the sensitivity of the previous criteria as 60.9%. Therefore, in order to determine criteria sensitive enough to give a diagnosis of FH, the third item was changed from LDLR activity to family history.

There are some limitations in the present study. First, the patients analyzed in this study may have different characteristics from those followed by primary care physicians, because the physicians in this study are taking care of many FH patients and information about family history can be obtained more easily than by primary care physicians. Second, it is sometimes difficult for primary care physicians to take a complete family history, especially FH, and to diagnose ATT and/or the presence of CX, about which information can be missed in the primary care setting. Third, FH has been reported to have mutations in LDL receptor, PCSK9 and apolipoprotein B. Because mutations in PCSK9 may cause milder forms of FH, the sensitivity of the criteria may be reduced in these patients. Further study is required to address the applicability of the criteria for the primary care setting.

In conclusion, we have determined the cutoff of LDL-C for the diagnosis of FH by a multicenter study and proposed conventional diagnostic criteria by using high LDL-C, ATT and/or the presence of CX, and a family history of FH and/or CAD for primary care settings.

Acknowledgments

We thank Dr. Daisaku Masuda, Miyako Yuasa-Kawase (Osaka University), Mihoko Ogita (Kyoto University), Masa-aki Kawashiri (Kanazawa University) Minoru Takemoto (Chiba University), Taro Harada (Nippon Medical School) and Noriyuki Iwamoto

(National Cerebral and Cardiovascular Center) for their help with data acquisition and analysis. This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare (H23-seisakutansaku-ippan-004 and Research on Measures for Intractable Diseases) and the Cardiovascular Research Foundation (Suita, Japan).

Disclosures

COI
Dr. Harada-Shiba
Kowa Co. Ltd. – Honoraria
MSD – Research Grants
Kaneka Medix Co. Ltd. – Research Grants
Dr. Arai
MSD – Honoraria
Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Honoraria and Research Grants
Kowa Co. Ltd. – Honoraria
Otsuka Co. Ltd. – Research Grants
Dr. Okamura
None
Dr. Yokote
MSD K.K. – Honoraria
Ono Pharmaceutical Co. Ltd. – Honoraria
Pfizer Co. Ltd. – Honoraria
Astellas Pharma Inc. – Honoraria
Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. – Honoraria
Kowa Pharmaceutical Co. Ltd. – Honoraria
Novartis Pharma K.K. – Research Grants
MSD K.K. – Research Grants
Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. – Research Grants
Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Research Grants
Eli Lilly Japan K.K. – Research Grants
Sanofi-Aventis K.K. – Research Grants
Novo Nordisk Pharma Ltd. – Research Grants
Pfizer Co. Ltd. – Research Grants
Dainippon Sumitomo Pharma Co. Ltd. – Research Grants
Kyowa Hakko Kirin Co. Ltd. – Research Grants
Astellas Pharma Inc. – Research Grants
Shionogi & Co. Ltd. – Research Grants
Dr. Nohara
MSD – Research Grants
Kaneka Medix Co. Ltd. – Research Grants
Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Research Grants
Shionogi & Co. Ltd. – Research Grants
Kowa Co. Ltd. – Research Grants
Dr. Okada
None
Dr. Ohta
None
Dr. Bujo
None
Dr. Watanabe
None
Dr. Wakatsuki
None
Dr. Oikawa
Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Research Grants
MSD – Research Grants
Dr. Yamashita
MSD – Honoraria
Kowa Co. Ltd. – Honoraria, Advisory Board
Skylight Biotech Inc. – Advisory Board
Astellas Pharma Inc. – Research Grants
MSD – Research Grants
Kissei Co. Ltd. – Research Grants
Otsuka Co. Ltd. – Research Grants
Shionogi & Co. Ltd. – Research Grants

References

1) Goldstein JL HH, Brown MS: Familial hypercholesterolemia. Edited by Scriver CR BA, Sly WS, Valle D, pp2863-2913, McGraw-Hill, New York, 2001
2) Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Ishibashi S, Shionoiri F, Yamada N, Kita T: Clinical features of familial hypercholesterolemia in Japan in a database from 1996-1998 by the research committee of the ministry of health, labour and welfare of Japan. J Atheroscler Thromb, 2004; 11: 146-151
3) Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, Takeda R: Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. Circulation, 1989; 79: 225-232
4) Harada-Shiba M, Sugisawa T, Makino H, Abe M, Tsushima M, Yoshimasa Y, Yamashita T, Miyamoto Y, Yamamoto A, Tomoike H, Yokoyama S: Impact of statin treatment on the clinical fate of heterozygous familial hypercholesterolemia. J Atheroscler Thromb, 17: 667-674
5) Mabuchi H, Miyamoto S, Ueda K, Oota M, Takegoshi T, Wakasugi T, Takeda R: Causes of death in patients with familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 1986; 61: 1-6
6) Jensen J, Blankenhorn DH, Kornerup V: Coronary disease in familial hypercholesterolemia. Circulation, 1967; 36: 77-82
7) Stone NJ, Levy RI, Fredrickson DS, Verter J: Coronary artery disease in 116 kindred with familial type II hyperlipoproteinemia. Circulation, 1974; 49: 476-488
8) Teramoto T, Sasaki J, Ueshima H, Egusa G, Kinoshita M, Shimamoto K, Daida H, Biro S, Hirobe K, Funahashi T, Yokote K, Yokode M: Diagnostic criteria for dyslipidemia. Executive summary of Japan Atherosclerosis Society (JAS) guideline for diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases for Japanese. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 2007; 14: 155-158

9) Teramoto T: Status of lipid-lowering therapy prescribed on recommendations in the 2002 report of the Japan Atherosclerosis Society Guideline for Diagnosis and Treatment of Hyperlipidemia in Japanese Adults: A study of the Japan Lipid Assessment Program (J-LAP). Current Therapeutic Research, 2005; 66: 80-95
10) Mabuchi H, Ito S, Haba T, Ueda K, Ueda R: Discrimination of familial hypercholesterolemia and secondary hypercholesterolemia by Achilles' tendon thickness. Atherosclerosis, 1977; 28: 61-68
11) Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Yamagishi M, Inazu A, Koizumi J: Molecular genetic epidemiology of homozygous familial hypercholesterolemia in the Hokuriku district of Japan. Atherosclerosis, 2011; 214: 404-407
12) Watts GF, Sullivan DR, Poplawski N, van Bockxmeer F, Hamilton-Craig I, Clifton PM, O'Brien R, Bishop W, George P, Barter PJ, Bates T, Burnett JR, Coakley J, Davidson P, Emery J, Martin A, Farid W, Freeman L, Geelhoed E, Juniper A, Kidd A, Kostner K, Krass I, Livingston M, Maxwell S, O'Leary P, Owaimrin A, Redgrave TG, Reid N, Southwell L, Suthers G, Tonkin A, Towler S, Trent R: Familial hypercholesterolaemia: a model of care for Australasia. Atheroscler Suppl, 2011; 12: 221-263
13) Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Perrone Filardi P, Riccardi G, Storey RF, Wood D: ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). Atherosclerosis, 2011; 217 Suppl 1: S1-44
14) Damgaard D, Larsen ML, Nissen PH, Jensen JM, Jensen HK, Soerensen VR, Jensen LG, Faergeman O: The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. Atherosclerosis, 2005; 180: 155-160
15) Wierzbicki AS, Humphries SE, Minhas R: Familial hypercholesterolaemia: summary of NICE guidance. BMJ, 2008; 337: a1095
16) Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, Hopkins PN: Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. Am J Cardiol, 1993; 72: 171-176
17) Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. BMJ, 1991; 303: 893-896

平成24年度調査報告書集計表

病院名	入院				外来									
	退院患者	入院配布	入院回収	入院回収率	外来患者数			配布枚数			回収数			外来回収率
						1日目	2日目		1日目	2日目		1日目	2日目	
国立循環器病センター	858	509	448	88	1,068	533	535	781	359	422	748	341	407	95.8
NC計	3,710	2,163	1,759	81.3	9,488	4,926	4,562	3,802	1,914	1,888	3,096	1,519	1,577	81.4

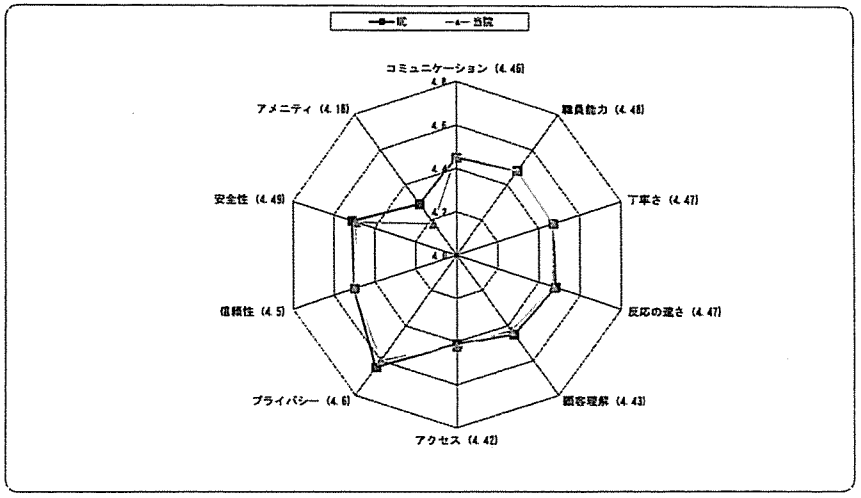
平成24年度　10のサービスクオリティー別点数(入院)

■国立循環器病センター

分析区分	24'全体平均点	NC	24'当院点数	23'当院点数
10の医療サービスクオリティ別点数				
1. コミュニケーション 消費者の言葉で正確に分かりやすく説明されていること	4.49 (68/144)	4.45	4.46	4.40
2. 職員能力 従業員は必要な技術と知識を身につけていること	4.51 (71/144)	4.48	4.48	4.42
3. 丁寧さ 従業員が親切で、思いやりがあり丁寧であること	4.50 (70/144)	4.47	4.47	4.41
4. 反応の速さ 従業員が顧客の要求や問題に迅速かつ創造的に対応していること	4.51 (73/144)	4.48	4.47	4.43
5. 顧客理解 従業員が顧客のニーズを理解するよう努力し注意をはらっていること	4.48 (78/144)	4.45	4.43	4.36
6. アクセス 待ち時間が少なく、立地的にも時間的にも利便性が大きいこと	4.49 (105/144)	4.41	4.42	4.45
7. プライバシー 企業と従業員を信頼できること	4.63 (70/144)	4.64	4.60	4.55
8. 信頼性 サービスに一貫性があり、正確に行われていること	4.54 (68/144)	4.50	4.50	4.45
9. 安全性 サービスが安全であること	4.54 (77/144)	4.51	4.49	4.45
10. アメニティ サービスのクオリティが正確な形として表現されていること	4.34 (102/144)	4.29	4.18	4.12

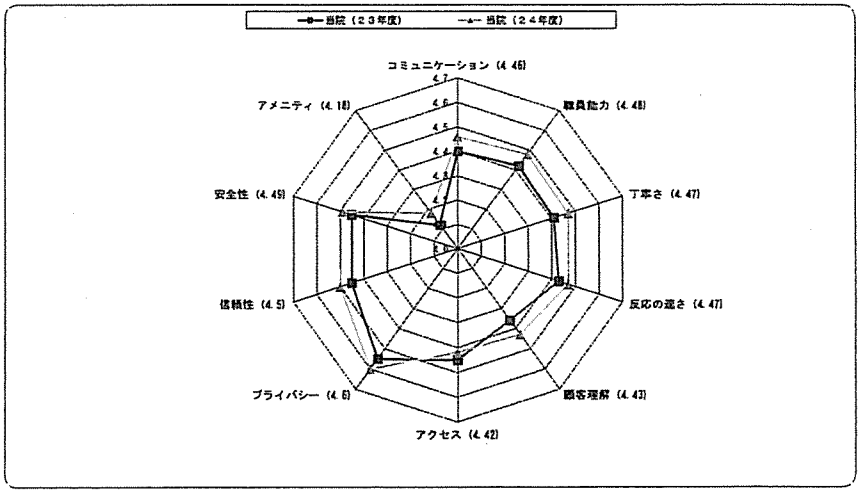
平成24年度　10の医療サービスクオリティ別平均点数(入院)

■国立循環器病センター



※)各シーンの数値は、当院の点数。

平成24年度　10の医療サービスクオリティ別平均点数(入院)



※)各シーンの数値は、24年度当院の点数。

資料17

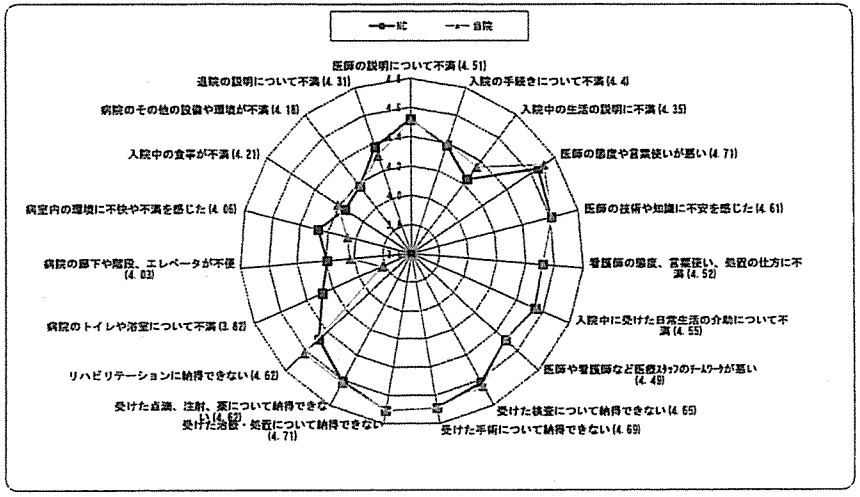
平成24年度 シーン別点数(入院)

■国立循環器病センター

分析区分	24'全体平均点	NC	24'当院点数	23'当院点数
1. 病院についての総合評価	4.53 (45/144)	4.53	4.56	4.52
2. シーン別点数				
医師の説明について不満	4.53 (62/144)	4.52	4.51	4.44
入院の手続きについて不満	4.47 (87/144)	4.38	4.40	4.42
入院中の生活の説明に不満	4.27 (40/144)	4.24	4.35	4.27
医師の態度や言葉使いが悪い	4.64 (36/144)	4.66	4.71	4.66
医師の技術や知識に不安を感じた	4.61 (67/144)	4.61	4.61	4.53
看護師の態度、言葉使い、処置の仕方に不満	4.54 (66/144)	4.52	4.52	4.44
入院中に受けた日常生活の介助について不満	4.58 (71/144)	4.54	4.55	4.56
医師や看護師など医療スタッフのチームワークが悪い	4.53 (79/144)	4.49	4.49	4.36
受けた検査について納得できない	4.62 (56/144)	4.62	4.65	4.56
受けた手術について納得できない	4.73 (72/134)	4.69	4.69	4.73
受けた治療・処置について納得できない	4.72 (66/141)	4.71	4.71	4.65
受けた点滴、注射、薬について納得できない	4.64 (71/141)	4.61	4.62	4.49
リハビリテーションに納得できない	4.49 (33/141)	4.48	4.62	4.49
病院のトイレや浴室について不満	4.29 (119/144)	4.28	3.82	3.78
病院の廊下や階段、エレベータが不便	4.42 (125/144)	4.19	4.03	4.02
病室内の環境に不快や不満を感じた	4.30 (104/144)	4.27	4.06	3.90
入院中の食事が不満	4.18 (66/144)	4.15	4.21	4.19
病院のその他の設備や環境が不満	4.22 (72/144)	4.18	4.18	4.14
退院の説明について不満	4.42 (104/144)	4.37	4.31	4.23

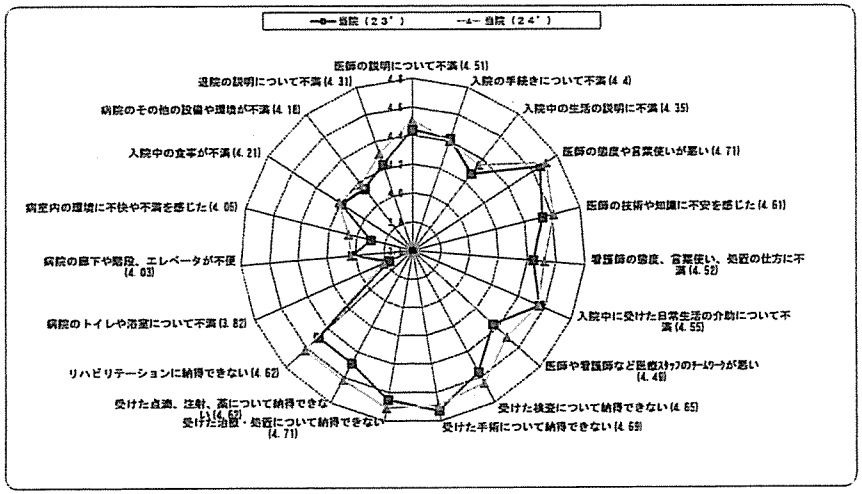
平成24年度 シーン別平均点数(入院)

■国立循環器病センター



※)各シーンの数値は、当院の点数。

平成24年度 シーン別平均点数(入院)



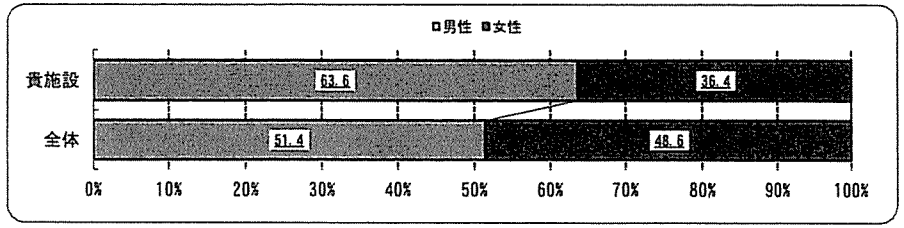
※)各シーンの数値は、当院24'の点数。

平成24年度　入院プロファイル

■国立循環器病センター

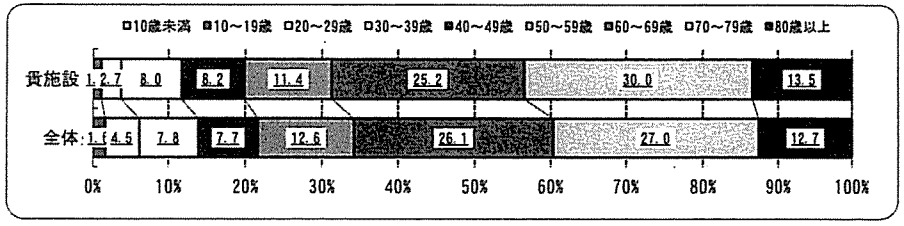
【性別】

有効回答数　404 件(貴施設) ／ 20,279 件(全体)



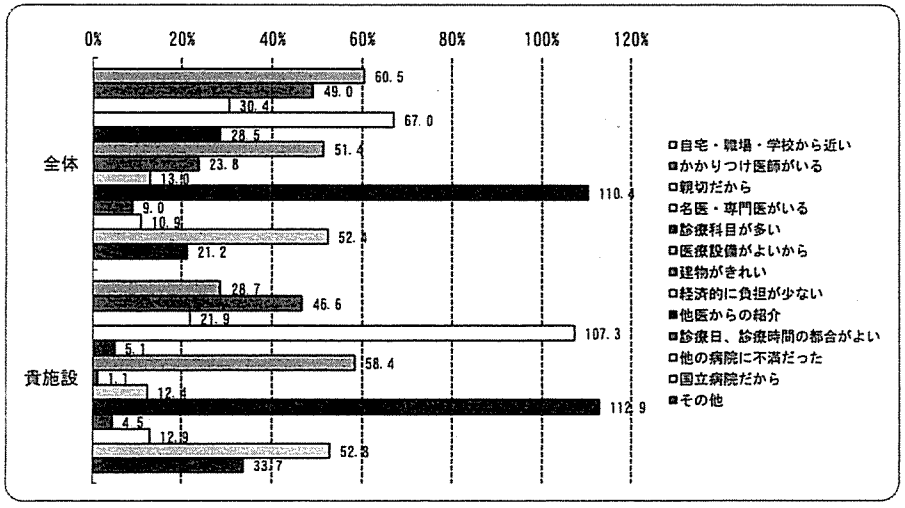
【年齢】

有効回答数　377 件(貴施設) ／ 18,949 件(全体)



【選択理由】（複数回答）

有効回答数　178 件(貴施設) ／ 8,955 件(全体)

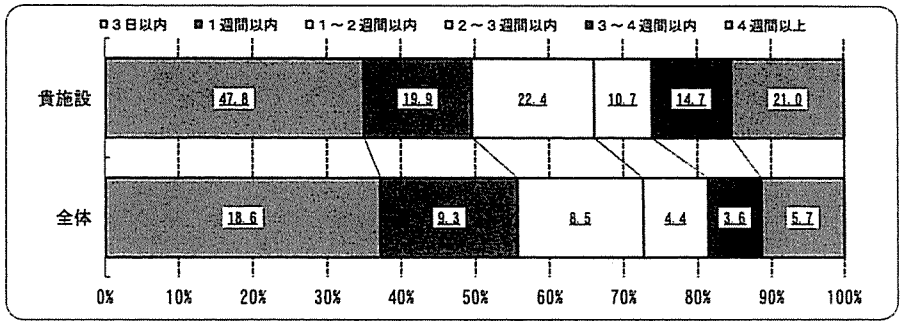


平成24年度　入院プロファイル

■国立循環器病センター

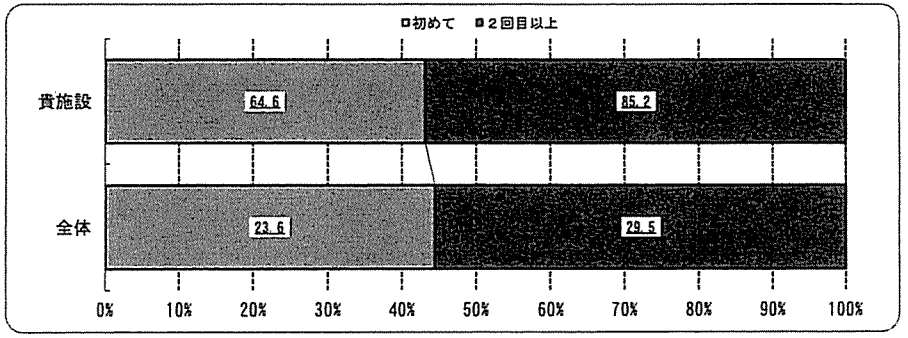
【入院前期間】

有効回答数　272 件(貴施設) ／ 39,168 件(全体)



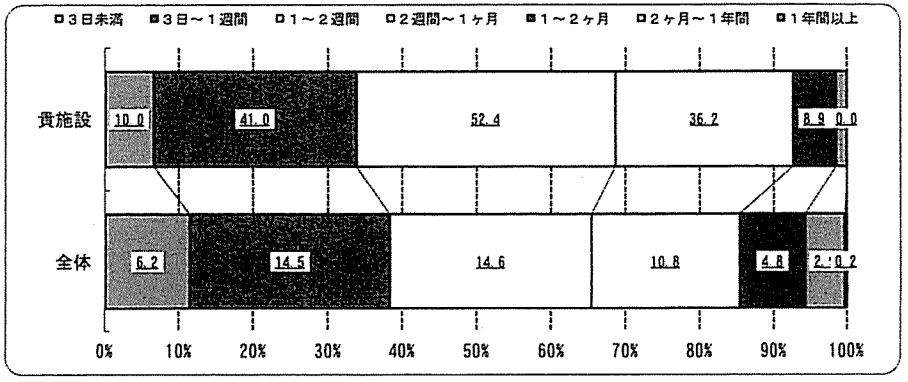
【入院回数】

有効回答数　277 件(貴施設) ／ 39,888 件(全体)



【入院期間】

有効回答数　271 件(貴施設) ／ 39,024 件(全体)

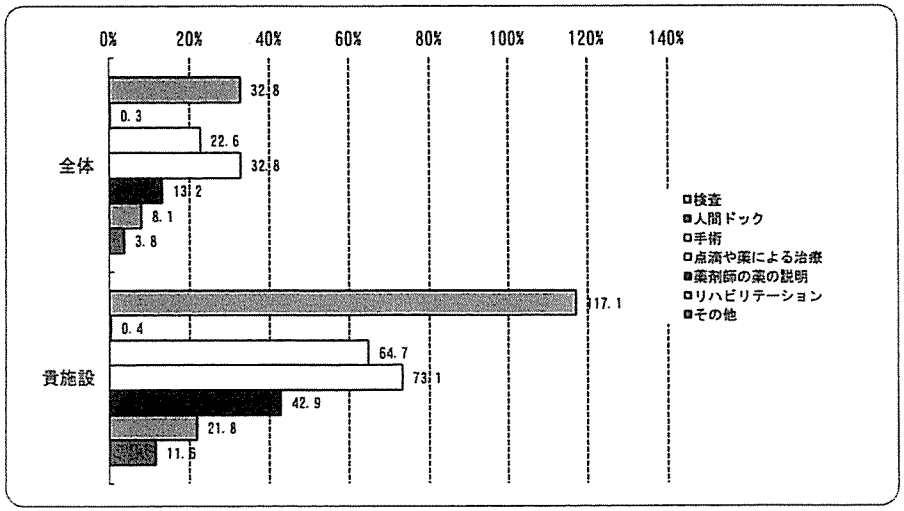


平成24年度　入院プロファイル

■国立循環器病センター

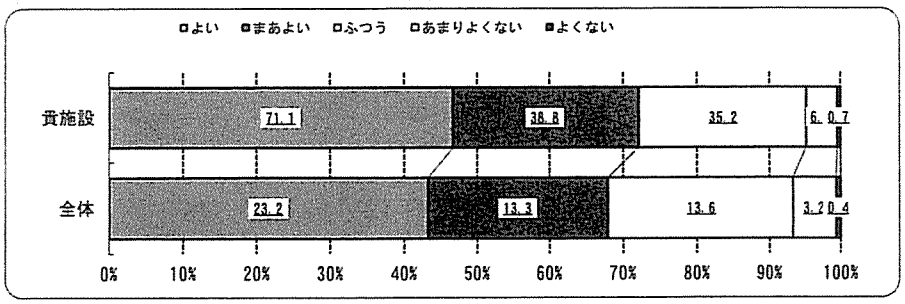
【治療内容】（複数回答）

有効回答数　275 件(貴施設) ／ 39,600 件(全体)



【体調】

有効回答数　250 件(貴施設) ／ 39,312 件(全体)



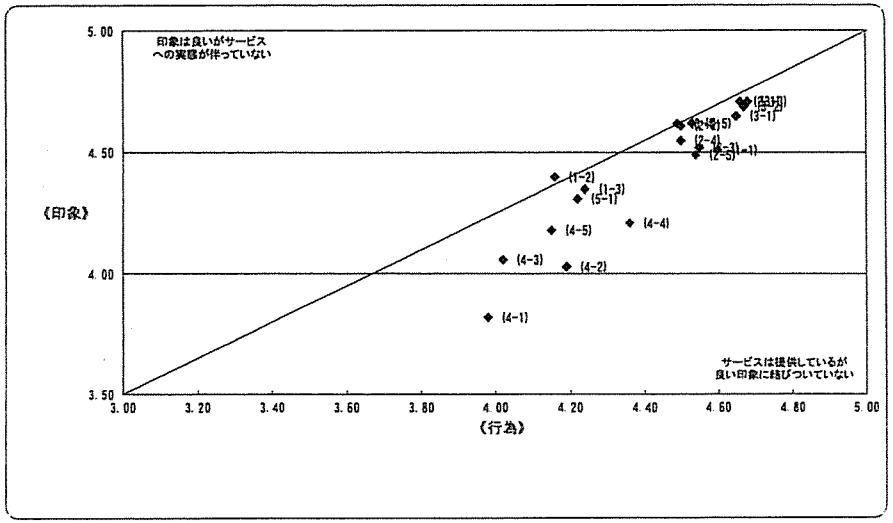
平成24年度 「印象」と「行為」別点数(入院)

■国立循環器病センター

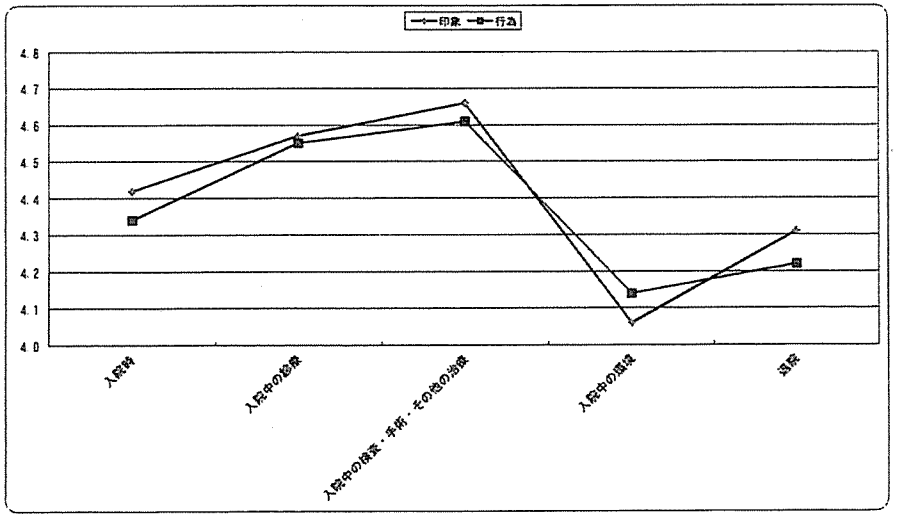
分析区分	24'当院点数		23'当院点数	
	印象	行為	印象	行為
1. 入院時	4.42	4.34	4.38	4.28
医師の説明について不満	4.51	4.60	4.44	4.48
入院の手続きについて不満	4.40	4.16	4.42	4.20
入院中の生活の説明に不満	4.35	4.24	4.27	4.16
2. 入院中の診療	4.57	4.55	4.51	4.52
医師の態度や言葉使いが悪い	4.71	4.66	4.66	4.62
医師の技術や知識に不安を感じた	4.61	4.50	4.53	4.47
看護師の態度、言葉使い、処置の仕方に不満	4.52	4.55	4.44	4.50
入院中に受けた日常生活の介助について不満	4.55	4.50	4.56	4.47
医師や看護師などの医療スタッフのチームワークが悪い	4.49	4.54	4.36	4.52
3. 入院中の検査・手術・その他の治療	4.66	4.61	4.58	4.55
受けた検査について納得できない	4.65	4.65	4.56	4.59
受けた手術について納得できない	4.69	4.67	4.73	4.63
受けた治療・処置について納得できない	4.71	4.68	4.65	4.62
受けた点滴、注射、薬について納得できない	4.62	4.49	4.49	4.42
リハビリテーションに納得できない	4.62	4.53	4.49	4.48
4. 入院中の環境	4.06	4.14	4.01	4.08
病院のトイレや浴室について不満	3.82	3.98	3.78	3.91
病院の廊下や階段、エレベータが不便	4.03	4.19	4.02	4.17
病室内の環境に不満	4.06	4.02	3.90	3.91
入院中の食事が不満	4.21	4.36	4.19	4.30
病院のその他の設備や環境が不満	4.18	4.15	4.14	4.09
5. 退院	4.31	4.22	4.23	4.16
退院の説明について不満	4.31	4.22	4.23	4.16

平成24年度 「印象」と「行為」別平均点数(入院)

■国立循環器病センター



平成24年度 「印象」と「行為」別平均点数(入院)



『入院患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 JI	23'当院
入院アンケート総合得点	46,730	745	1,664	6,250	7,126	30,921	4.41	4.44	4.48	4.35
	100.0	1.6	3.6	13.4	15.3	66.2				
1. 入院までのできごと	42,516	732	1,612	5,653	6,323	27,996	4.39	4.43	4.47	4.34
	100.0	1.7	3.8	13.3	14.9	65.8				
1. 入院時	7,236	166	309	941	1,156	4,646	4.35	4.39	4.37	4.29
	100.0	2.6	4.3	13.0	16.0	64.2				
●医師の説明について不満	403	2	13	45	61	282	4.51	4.52	4.53	4.44
	100.0	0.5	3.2	11.2	15.1	70.0				
①説明時、検査結果等を見せてくれなかった	405	7	11	36	57	294	4.53	4.51	4.56	4.42
	100.0	1.7	2.7	8.9	14.0	72.6				
②検査・治療内容を教えてくれなかった	405	-	14	23	57	311	4.64	4.60	4.65	4.53
	100.0	-	3.5	5.7	14.1	76.8				
③検査、治療、手術等の日程の説明なし	398	2	7	31	53	305	4.64	4.61	4.65	4.49
	100.0	0.5	1.8	7.8	13.3	76.6				
④一方的な説明で意思を尋ねなかった	398	3	11	31	52	301	4.60	4.57	4.57	4.48
	100.0	0.8	2.8	7.8	13.1	75.6				
⑤聞きたいことを質問できなかった	404	2	9	35	63	296	4.59	4.55	4.52	4.45
	100.0	0.5	2.2	8.7	15.3	73.3				
●入院の手続きについて不満	392	6	9	57	72	248	4.40	4.36	4.47	4.42
	100.0	1.5	2.3	14.5	18.4	63.3				
①パンフレットや資料が不十分	395	5	14	57	55	265	4.42	4.42	4.51	4.47
	100.0	1.3	3.5	14.3	13.8	67.2				
②入院するまで長く待った	397	9	18	55	45	269	4.38	4.42	4.51	4.42
	100.0	2.3	4.8	13.9	11.3	67.8				
③入院手続きに手間がかかった	396	7	16	48	76	249	4.37	4.37	4.47	4.45
	100.0	1.8	4.0	12.1	19.2	62.9				
④どのくらい費用がかかるのか、わからず入院	399	67	65	70	62	135	3.33	3.42	3.46	3.34
	100.0	16.8	16.3	17.5	15.5	33.8				
⑤入院の際に相談できなかった	402	3	14	73	73	239	4.32	4.34	4.35	4.31
	100.0	0.7	3.5	18.2	18.2	59.5				
●入院中の生活の説明に不満	395	6	12	61	74	242	4.35	4.24	4.27	4.27
	100.0	1.5	3.0	15.4	18.7	61.3				
①食事が選択できることを教えてくれなかった	411	20	25	55	65	246	4.20	4.03	4.07	4.12
	100.0	4.9	6.1	13.4	15.8	59.9				
②入浴、食事、消灯時間の説明なし	408	10	15	51	74	258	4.36	4.25	4.35	4.33
	100.0	2.5	3.7	12.5	18.1	63.2				
③非常口、トイレ、前室などの場所の説明なし	407	10	16	60	75	246	4.30	4.23	4.25	4.26
	100.0	2.5	3.9	14.7	18.4	60.4				
④売店、洗濯、テレビ等のサービスの説明なし	408	10	15	70	65	248	4.29	4.20	4.27	4.14
	100.0	2.5	3.7	17.2	15.9	60.8				
⑤入院生活がどうなるのか分からないまま入院	408	17	24	53	78	206	4.06	4.01	4.11	3.95
	100.0	4.2	5.9	20.3	19.1	50.5				

『入院患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
2. 入院中の診療	12,345	112	265	1,230	1,786	8,952	4.55	4.55	4.58	4.51
	100.0	0.9	2.2	10.0	14.5	72.5				
●医師の態度や言葉使いが悪い	414	-	3	31	51	329	4.71	4.66	4.64	4.66
	100.0	-	0.7	7.5	12.3	79.5				
①症状や治療の質問ができなかった	420	3	5	37	67	308	4.60	4.61	4.57	4.57
	100.0	0.7	1.2	8.8	16.0	73.3				
②声が小さく聞き取りづらい	421	2	7	26	55	331	4.68	4.65	4.64	4.63
	100.0	0.5	1.7	6.2	13.1	78.6				
③プライバシーに配慮しない	421	4	6	26	58	327	4.66	4.65	4.65	4.65
	100.0	1.0	1.4	6.2	13.8	77.7				
④自分のために、十分な時間を取ってくれなかった	421	1	9	36	57	318	4.62	4.56	4.59	4.54
	100.0	0.2	2.1	8.6	13.5	75.5				
⑤話を向けずに説明、様な話をする	424	1	2	22	53	346	4.75	4.71	4.69	4.69
	100.0	0.2	0.5	5.2	12.5	81.6				
●医師の技術や知識に不安を感じた	417	3	12	30	56	316	4.61	4.61	4.61	4.53
	100.0	0.7	2.9	7.2	13.4	75.8				
①説明がわかりにくい	421	2	5	35	64	309	4.59	4.58	4.60	4.56
	100.0	0.5	1.9	8.3	15.2	73.4				
②検査数値や画像を用いて説明してくれない	411	10	13	35	61	289	4.47	4.45	4.56	4.38
	100.0	2.4	3.2	8.5	14.8	70.3				
③処置が下手	412	4	8	44	64	292	4.53	4.45	4.58	4.53
	100.0	1.0	1.9	10.7	15.5	70.9				
④複数の治療法がありうることの説明なし	412	4	9	46	57	296	4.53	4.59	4.53	4.52
	100.0	1.0	2.2	11.2	13.8	71.8				
⑤自分が良くなっている実感が持てない	421	7	16	69	73	266	4.36	4.40	4.46	4.35
	100.0	1.7	3.8	16.4	17.3	63.2				
●看護師の態度、言葉使い、処置の仕方に不満	414	6	9	41	67	291	4.52	4.52	4.54	4.44
	100.0	1.4	2.2	9.9	16.2	70.3				
①説明が分かりにくい	417	3	11	40	72	291	4.53	4.52	4.54	4.49
	100.0	0.7	2.6	9.6	17.3	69.8				
②医師の指示や処置を間違える	417	5	5	34	66	304	4.57	4.59	4.62	4.52
	100.0	1.2	1.9	8.2	15.8	72.9				
③質問や相談の対応が悪い	416	1	14	36	75	290	4.54	4.56	4.60	4.48
	100.0	0.2	3.4	8.7	18.0	69.7				
④プライバシーに配慮しない	415	3	7	37	59	309	4.60	4.60	4.61	4.55
	100.0	0.7	1.7	8.9	14.2	74.5				
⑤話をしていて、嫌な気持ちになった	420	5	5	41	63	306	4.51	4.51	4.53	4.48
	100.0	1.9	2.1	9.8	15.0	71.2				
●入院中に受けた日常生活の介助について不満	395	3	6	41	63	314	4.55	4.54	4.58	4.56
	100.0	0.8	2.0	10.3	15.8	71.2				
①ナースコールしても長く待たされ、対応してもらえない	407	4	11	47	63	282	4.49	4.50	4.54	4.54
	100.0	1.0	2.7	11.5	15.5	69.3				
②身体を拭くなど清潔に関する介助が不十分	390	4	6	57	61	262	4.46	4.47	4.53	4.46
	100.0	1.0	1.5	14.6	15.6	67.2				
③身体の向きを変える、食事などの介助が不十分	390	1	1	60	49	279	4.55	4.55	4.58	4.47
	100.0	0.3	0.3	15.4	12.6	71.5				
④日常生活の手助けを必要だけに留めがかった	390	1	7	52	53	277	4.53	4.56	4.57	4.49
	100.0	0.3	1.8	13.3	13.6	71.0				
⑤病室の変更に納得できない	365	6	6	63	40	271	4.45	4.49	4.51	4.38
	100.0	1.5	2.1	16.2	10.3	69.9				
●医師や看護師など医療スタッフのチームワークが悪い	405	3	16	39	69	278	4.49	4.45	4.53	4.36
	100.0	0.7	4.0	9.6	17.0	68.6				
①同じ事を別の職員から何度も聞かれた	416	7	23	46	75	267	4.37	4.42	4.48	4.38
	100.0	1.7	5.5	11.0	17.9	63.9				
②氏名、病名、薬などを間違えられた	411	6	6	25	40	331	4.66	4.63	4.59	4.66
	100.0	1.5	1.5	6.8	9.7	80.5				
③受け持ちの医師や看護師が代わって不安だった	411	4	14	54	51	288	4.47	4.49	4.56	4.41
	100.0	1.0	3.4	13.1	12.4	70.1				
④スタッフの人間関係が悪く不安	413	4	5	35	48	317	4.62	4.64	4.65	4.59
	100.0	1.0	1.2	8.4	11.6	76.8				
⑤職員同士の私語が多く不快	413	2	8	41	57	305	4.59	4.61	4.60	4.57
	100.0	0.5	1.9	9.9	13.8	73.8				

『入院患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
3. 入院中の検査・手術・その他の治療	8,551	50	180	769	1,010	6,542	4.62	4.61	4.63	4.56
	100.0	0.6	2.1	9.0	11.8	76.5				
●受けた検査について納得できない	375	3	7	35	43	291	4.65	4.62	4.62	4.56
	100.0	0.8	1.9	9.3	11.5	77.6				
①検査の待ち時間が長すぎる	361	5	16	35	47	261	4.50	4.45	4.49	4.49
	100.0	1.3	4.4	10.1	12.1	72.4				
②検査前、本人確認されなかった	393	-	2	25	35	331	4.77	4.76	4.74	4.74
	100.0	-	0.5	6.4	8.9	84.2				
③恥ずかしい思いに十分な気配りがない	388	-	6	31	50	301	4.66	4.66	4.66	4.58
	100.0	-	1.5	8.0	12.9	77.6				
④検査室が不潔だった	390	2	5	34	45	304	4.65	4.66	4.66	4.59
	100.0	0.5	1.3	8.7	11.5	77.9				
⑤説明が分かりにくい検査技師がいた	393	-	6	37	47	303	4.65	4.63	4.65	4.55
	100.0	-	1.5	9.4	12.0	77.1				
●受けた手術について納得できない	225	-	3	20	20	182	4.69	4.69	4.73	4.73
	100.0	-	1.3	8.9	8.9	80.9				
①どのような手術なのか十分に理解できなかった	230	1	5	14	27	183	4.68	4.66	4.69	4.68
	100.0	0.4	2.2	6.1	11.7	79.6				
②思っていたような手術でなかった	225	2	6	15	27	175	4.64	4.67	4.69	4.68
	100.0	0.9	2.6	6.6	11.8	78.2				
③麻酔についての説明なし	225	1	2	22	18	181	4.68	4.71	4.73	4.53
	100.0	0.4	0.9	9.8	8.4	80.4				
④手術後の痛みや不快感に対応なし	230	-	1	19	28	182	4.70	4.69	4.72	4.66
	100.0	-	0.4	8.3	12.2	79.1				
⑤手術結果について十分に理解できなかった	220	2	1	22	27	177	4.64	4.64	4.67	4.61
	100.0	0.9	0.4	9.6	11.8	77.3				
●受けた治療・処置について納得できない	316	-	3	23	36	254	4.71	4.71	4.73	4.65
	100.0	-	0.9	7.2	11.3	79.9				
①治療・処置の前に本人確認されなかった	336	-	3	14	31	288	4.80	4.77	4.75	4.72
	100.0	-	0.9	4.2	9.2	85.7				
②何をされるのかわからず、不安に思った	338	2	16	24	43	251	4.55	4.59	4.62	4.51
	100.0	0.6	5.3	7.1	12.7	74.3				
③必要な手助けが少なかった	332	-	3	22	44	263	4.71	4.72	4.70	4.66
	100.0	-	0.9	6.6	13.3	79.2				
④痛みや不快感に対応してくれなかった	332	2	7	21	37	265	4.67	4.66	4.68	4.59
	100.0	0.6	2.1	6.3	11.1	79.8				
⑤恥ずかしい思いに十分な気配りがない	333	1	2	31	36	263	4.68	4.69	4.69	4.61
	100.0	0.3	0.6	9.3	10.8	79.0				
●受けた点滴、注射、薬について納得できない	367	-	9	33	46	277	4.62	4.61	4.64	4.49
	100.0	-	2.5	9.0	13.1	75.5				
①十分な説明なしに点滴や注射をされた	350	4	12	30	54	256	4.55	4.57	4.60	4.40
	100.0	1.1	3.2	8.4	14.2	73.2				
②点滴や注射のやり直しが何度かあった	365	14	35	35	59	242	4.24	4.16	4.25	4.16
	100.0	3.6	9.1	10.1	14.3	62.9				
③我慢できない痛みや不快を感じた	375	6	16	40	51	264	4.45	4.44	4.51	4.41
	100.0	1.6	4.7	10.6	13.5	69.7				
④点滴、注射、薬について質問できなかった	365	2	7	45	51	260	4.56	4.59	4.61	4.47
	100.0	0.5	1.8	11.7	13.2	72.7				
⑤説明のわかりにくい医師がいた	375	3	3	35	42	252	4.65	4.65	4.66	4.64
	100.0	0.8	0.8	9.3	11.2	77.9				
●リハビリテーションに納得できない	95	-	-	13	12	74	4.62	4.48	4.45	4.49
	100.0	-	-	13.1	12.1	74.7				
①リハビリの期間や、一回あたりの時間が不十分	99	-	-	17	14	68	4.52	4.34	4.35	4.24
	100.0	-	-	17.2	14.1	68.7				
②リハビリの設備や器具が悪い、または少ない	95	-	1	17	13	64	4.46	4.42	4.45	4.37
	100.0	-	2.0	17.2	13.1	67.7				
③リハビリのスタッフが親切に対応してくれなかった	100	-	-	13	11	76	4.63	4.61	4.61	4.65
	100.0	-	-	13.0	11.0	76.0				
④リハビリの指導の変化に、適切な対応が得られなかった	95	-	1	15	8	71	4.59	4.59	4.60	4.65
	100.0	-	1.0	15.2	8.1	75.8				
⑤リハビリ時に今受けている疾患を医師や看護師が知らなかった	100	-	2	21	7	70	4.45	4.34	4.45	4.52
	100.0	-	2.0	21.0	7.0	70.0				

『入院患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 JI	23'当院
4. 入院中の環境	12,028	338	743	2,445	2,819	6,479	4.13	4.29	4.33	4.07
	100.0	2.8	6.2	20.4	16.8	53.9				
●病院のトイレや浴室について不満	358	24	46	76	72	170	3.82	4.20	4.25	3.78
	100.0	6.2	11.9	19.6	18.6	43.8				
①トイレまでが遠すぎる	398	8	19	76	67	228	4.23	4.46	4.41	4.17
	100.0	2.0	4.8	19.0	16.8	57.4				
②トイレや浴室が狭い、不潔、臭い	403	26	56	63	73	163	3.73	4.20	4.24	3.53
	100.0	6.5	13.9	20.6	18.6	40.4				
③トイレや浴室が使すぎる	406	32	60	90	73	151	3.63	4.24	4.26	3.57
	100.0	7.8	14.7	22.1	17.9	37.5				
④肘式、車椅子用、ウォシュレットなどが少なすぎる	405	20	37	66	68	192	3.93	4.34	4.26	3.91
	100.0	5.0	9.2	21.3	16.9	47.6				
⑤トイレや浴室で人に見られたりした	403	9	9	62	56	267	4.40	4.55	4.56	4.39
	100.0	2.2	2.2	15.4	13.9	66.3				
●病院の廊下や階段、エレベータが不便	397	14	34	74	69	196	4.03	4.19	4.42	4.02
	100.0	3.6	8.6	18.1	17.8	50.6				
①廊下や階段が狭すぎる	406	15	28	74	68	223	4.12	4.41	4.51	4.11
	100.0	3.7	6.9	18.1	16.7	54.7				
②手すりやスロープがなく不安	401	6	10	67	52	246	4.30	4.45	4.54	4.29
	100.0	1.5	2.5	21.7	13.0	61.3				
③廊下や階段にものが置かれていて歩きにくい	399	10	22	80	67	220	4.17	4.46	4.55	4.13
	100.0	2.5	5.5	20.1	16.8	55.1				
④エレベータの数が少ない、または使すぎる	407	19	44	76	70	196	3.94	4.01	4.33	3.87
	100.0	4.7	10.8	18.7	17.2	48.0				
⑤廊下や階段で滑りそうになった	406	2	10	70	54	270	4.43	4.54	4.58	4.44
	100.0	0.5	2.5	17.2	13.3	66.5				
●病室内の環境に不満	367	11	35	74	68	199	4.06	4.27	4.30	3.90
	100.0	2.8	9.0	19.1	17.5	51.4				
①病室が狭すぎる、隣のベッドとの距離が狭い	405	17	36	53	61	208	3.99	4.25	4.26	3.80
	100.0	4.2	9.4	20.5	15.1	50.9				
②病室、ベッド周り、シーツなどが汚い	397	3	11	65	76	235	4.31	4.46	4.49	4.23
	100.0	0.8	4.5	16.4	19.1	59.2				
③病室内の明るさや温度が適切でない	401	10	35	87	83	186	4.00	4.21	4.27	4.01
	100.0	2.5	8.7	21.7	20.7	46.4				
④ベッド周りの設備が不十分	403	4	23	66	70	220	4.19	4.36	4.43	4.15
	100.0	1.0	5.7	21.3	17.4	54.6				
⑤携帯やインターネットが使えず不便	402	30	62	92	65	150	3.61	3.76	3.82	3.36
	100.0	7.5	15.4	22.9	16.2	37.3				
●入院中の食事が不満	395	9	21	75	66	225	4.21	4.15	4.16	4.19
	100.0	2.3	5.3	18.8	16.5	57.1				
①食事の時間が早すぎる、または遅すぎる	412	3	14	52	83	240	4.27	4.34	4.28	4.23
	100.0	0.7	3.4	22.3	15.3	58.3				
②冷たすぎる、または熱すぎる	411	2	6	50	55	256	4.36	4.34	4.35	4.32
	100.0	0.5	1.5	21.9	13.4	62.3				
③配膳や片付けの時、丁寧でうるさかった	407	1	6	59	66	271	4.47	4.45	4.47	4.39
	100.0	0.2	2.0	14.5	16.7	66.6				
④食事や食器が不衛生な感じがした	411	1	5	52	65	285	4.52	4.48	4.49	4.45
	100.0	0.2	1.9	12.7	15.8	69.3				
⑤食事を選べなかった	411	23	13	76	67	232	4.15	4.05	4.17	4.12
	100.0	5.6	3.2	18.5	16.3	56.4				
●病院のその他の設備や環境が不満	376	3	14	93	70	196	4.18	4.18	4.22	4.14
	100.0	0.8	3.7	24.7	18.6	52.1				
①足腰が弱い、または使いにくい	396	11	19	105	67	190	4.03	4.02	4.06	4.01
	100.0	2.8	4.8	27.5	16.9	48.0				
②面会時間に制限が多すぎる	400	4	11	99	67	219	4.22	4.30	4.32	4.14
	100.0	1.0	2.8	24.8	16.8	54.8				
③医療スタッフ以外の態度や言葉使いが悪い	403	1	8	73	76	245	4.38	4.42	4.41	4.31
	100.0	0.2	2.0	18.1	18.9	60.8				
④インテリアが不十分	355	10	20	117	76	173	3.96	4.16	4.19	3.96
	100.0	2.5	5.6	28.4	19.6	43.5				
⑤意見をだしたいが受け場所がない	397	10	15	93	60	219	4.17	4.24	4.31	4.18
	100.0	2.5	3.8	23.4	15.1	55.2				

『入院患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 JI	23'当院
5. 退院	2,350	46	111	464	353	1,377	4.24	4.31	4.35	4.26
	100.0	2.0	4.7	19.7	15.0	58.6				
●退院の説明について不満	386	5	13	68	66	234	4.31	4.37	4.42	4.33
	100.0	1.3	3.4	17.6	17.1	60.6				
①退院の日程を早くから知らせて欲しかった	400	8	22	73	67	224	4.19	4.31	4.36	4.25
	100.0	2.0	5.5	18.2	16.8	55.9				
②支払額をもっと早くから知らせて欲しかった	395	12	48	80	54	205	3.98	4.09	4.14	3.97
	100.0	3.0	12.2	20.3	13.7	51.9				
③支払額について納得できなかった	386	1	9	66	51	256	4.33	4.35	4.39	4.33
	100.0	0.3	2.3	22.8	13.2	61.1				
④退院後の治療等が十分に理解できなかった	393	6	7	72	56	250	4.36	4.40	4.45	4.36
	100.0	2.0	1.8	18.3	14.2	63.6				
⑤退院後、緊急時の場合の説明なし	392	12	12	77	57	234	4.25	4.25	4.36	4.32
	100.0	3.1	3.1	19.6	14.5	59.7				

	有効回答数	たいへん不満	やや不満	どちらでもない	やや満足	たいへん満足	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 JI	23'当院
II. 病院についての総合的評価	4,204	17	52	357	813	2,925	4.56	4.53	4.53	4.57
	100.0	0.4	1.2	8.4	19.3	69.6				
①全体として満足	425	1	9	31	115	273	4.52	4.52	4.58	4.58
	100.0	0.2	2.1	7.2	26.8	63.5				
②治療の結果に満足している	416	1	8	35	89	279	4.53	4.50	4.56	4.57
	100.0	0.2	1.9	8.4	21.4	67.1				
③入院期間に満足している	422	7	19	60	93	243	4.29	4.33	4.40	4.40
	100.0	1.7	4.5	14.2	22.0	57.6				
④入院中に受けた治療について満足	411	3	4	41	80	283	4.55	4.52	4.53	4.54
	100.0	0.7	1.0	10.0	19.5	68.9				
⑤治療に自分の考えが反映されたので満足	353	1	1	66	51	224	4.34	4.31	4.33	4.33
	100.0	0.3	0.3	21.9	20.6	57.0				

	有効回答数	そう思わない	あまりそう思わない	どちらでもない	ややそう思う	そう思う	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 JI	23'当院
II. ⑥安全な治療をしてもらって安心	423	1	1	23	74	324	4.70	4.63	4.62	4.64
	100.0	0.2	0.2	5.4	17.5	76.6				
⑦医師や職員の説明はわかりやすい	426	1	5	31	83	305	4.61	4.59	4.55	4.59
	100.0	0.2	1.2	7.2	19.5	71.5				
⑧入院中に受けた治療に納得している	422	-	2	35	78	314	4.65	4.61	4.61	4.62
	100.0	-	0.5	8.5	18.5	74.4				
⑨全体としてこの病院を信頼している	420	1	1	18	62	248	4.76	4.68	4.65	4.73
	100.0	0.2	0.2	4.2	14.4	80.9				
⑩家族や友人に勧めたい	420	1	2	32	64	331	4.68	4.57	4.54	4.68
	100.0	0.2	0.5	7.4	14.9	77.0				

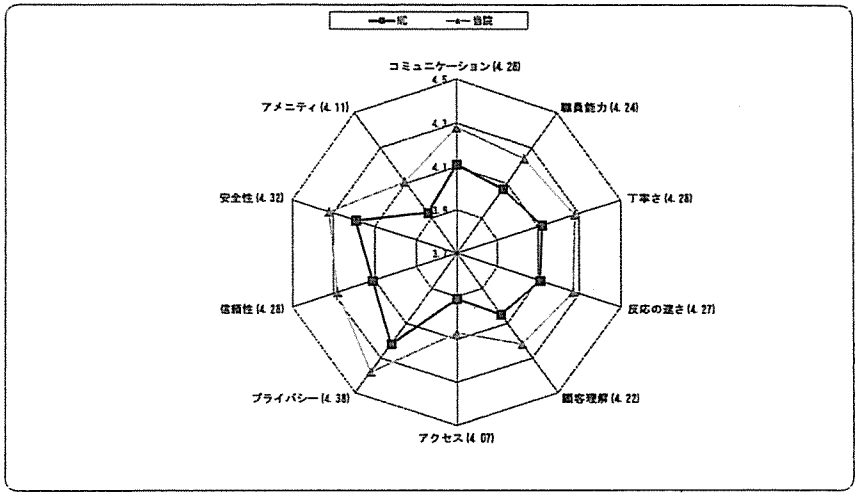
平成24年度　10のサービスクオリティー別点数(外来)

■国立循環器病センター

分析区分	24'全体平均点	NC	24'当院点数	23'当院点数
10の医療サービスクオリティ別点数				
1. コミュニケーション 消費者の言葉で正確に分かりやすく説明されていること	4.11 (28/149)	4.11	4.28	4.33
2. 職員能力 従業員は必要な技術と知識を身につけていること	4.08 (31/149)	4.07	4.24	4.29
3. 丁寧さ 従業員が親切で、思いやりがあり丁寧であること	4.13 (31/149)	4.12	4.28	4.34
4. 反応の速さ 従業員が顧客の要求や問題に迅速かつ創造的に対応していること	4.11 (30/149)	4.11	4.27	4.31
5. 顧客理解 従業員が顧客のニーズを理解するよう努力し注意をはらっていること	4.06 (31/149)	4.05	4.22	4.27
6. アクセス 待ち時間が少なく、立地的にも時間的にも利便性が大きいこと	3.90 (24/149)	3.91	4.07	4.16
7. プライバシー 企業と従業員を信頼できること	4.23 (29/149)	4.22	4.38	4.43
8. 信頼性 サービスに一貫性があり、正確に行われていること	4.11 (22/149)	4.11	4.28	4.33
9. 安全性 サービスが安全であること	4.19 (38/149)	4.19	4.32	4.38
10. アメニティ サービスのクオリティが正確な形として実現されていること	3.98 (35/149)	3.93	4.11	4.16

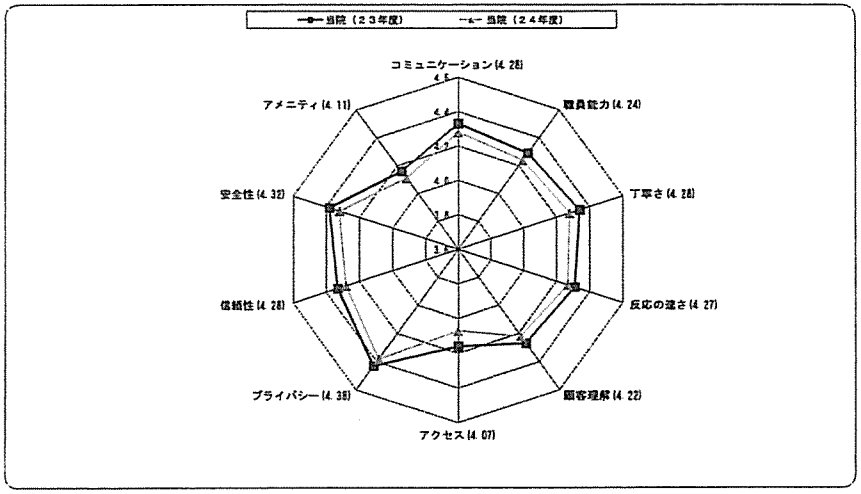
平成24年度　10の医療サービスクオリティ別平均点数(外来)

■国立循環器病センター



※)各シーンの数値は、当院の点数。

平成24年度　10の医療サービスクオリティ別平均点数(外来)



※)各シーンの数値は、24年度当院の点数。

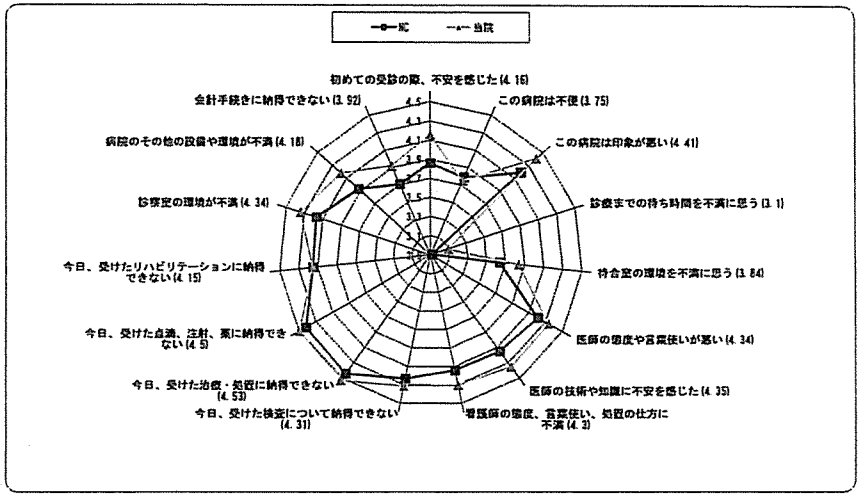
平成24年度　シーン別点数(外来)

■国立循環器病センター

分析区分	24'全体平均点	NC	24'当院点数	23'当院点数
1. 病院についての総合評価	4.12 (9/149)	4.18	4.41	4.41
2. シーン別点数				
初めての受診の際、不安を感じた	3.78 (2/149)	3.86	4.16	4.17
この病院は不便	3.79 (70/149)	3.79	3.75	3.77
この病院は印象が悪い	4.18 (8/149)	4.19	4.41	4.50
診療までの待ち時間を不満に思う	3.00 (65/149)	2.92	3.10	3.12
待合室の環境を不満に思う	3.76 (70/149)	3.64	3.84	3.91
医師の態度や言葉使いが悪い	4.18 (38/149)	4.21	4.34	4.41
医師の技術や知識に不安を感じた	4.11 (22/149)	4.15	4.35	4.40
看護師の態度、言葉使い、処置の仕方に不満	4.14 (26/149)	4.14	4.30	4.30
今日、受けた検査について納得できない	4.18 (35/149)	4.23	4.31	4.50
今日、受けた治療・処置に納得できない	4.40 (28/149)	4.44	4.53	4.58
今日、受けた点滴、注射、薬に納得できない	4.39 (34/149)	4.42	4.50	4.61
今日、受けたリハビリテーションに納得できない	4.15 (78/149)	4.15	4.15	4.33
診察室の環境が不満	4.21 (42/149)	4.17	4.34	4.44
病院のその他の設備や環境が不満	3.96 (19/149)	3.93	4.18	4.23
会計手続きに納得できない	3.82 (69/149)	3.71	3.92	3.91

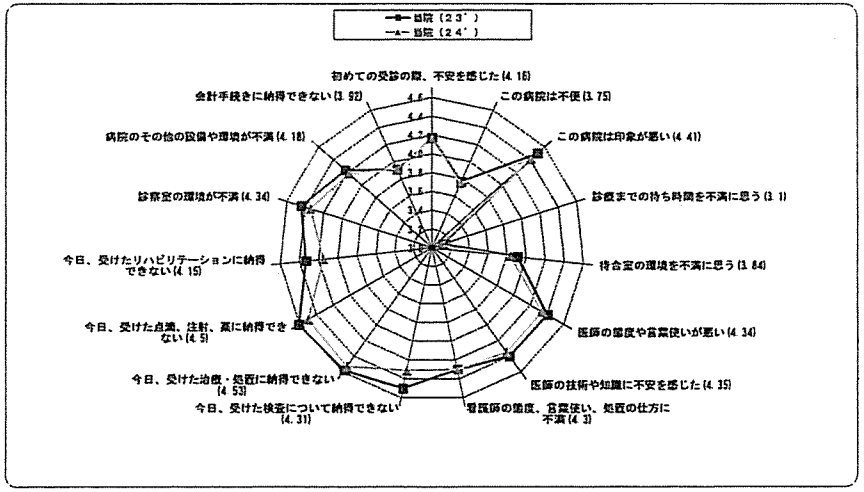
平成24年度　シーン別平均点数(外来)

■国立循環器病センター



※)各シーンの数値は、当院の点数。

平成24年度　シーン別平均点数(外来)



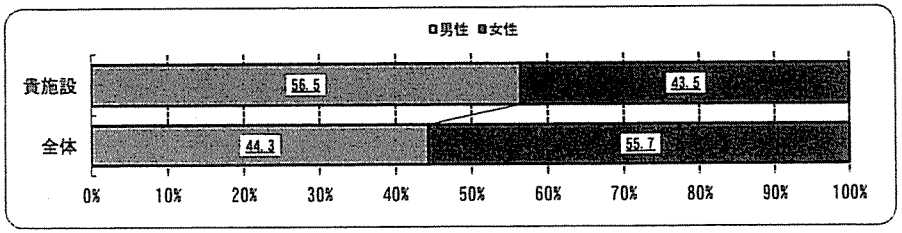
※)各シーンの数値は、当院の24年度点数

平成24年度　外来プロファイル

■国立循環器病センター

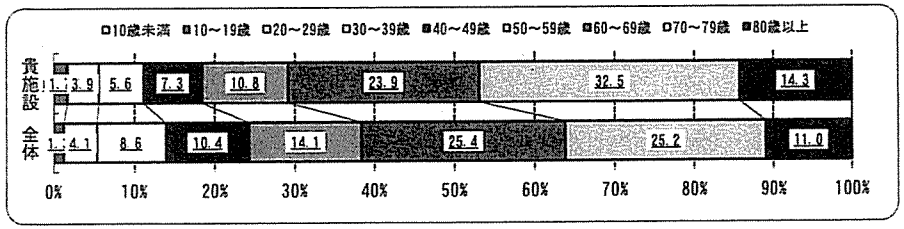
【性別】

有効回答数　620 件(貴施設) ／ 29,623 件(全体)



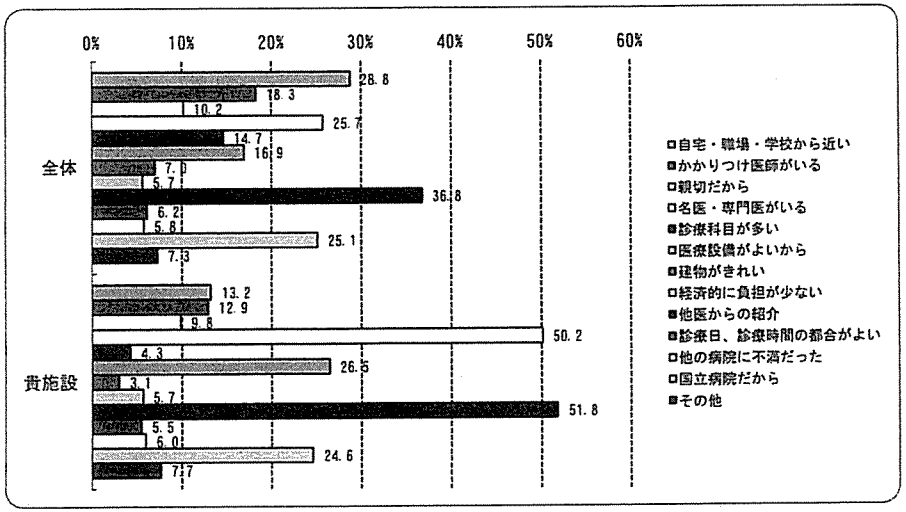
【年齢】

有効回答数　593 件(貴施設) ／ 28,057 件(全体)



【選択理由】（複数回答）

有効回答数　650 件(貴施設) ／ 31,073 件(全体)

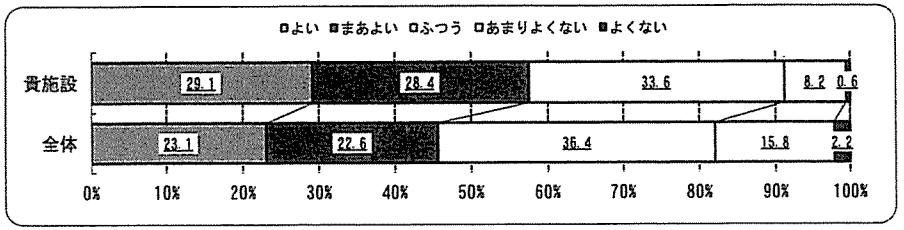


平成24年度　外来プロファイル

■国立循環器病センター

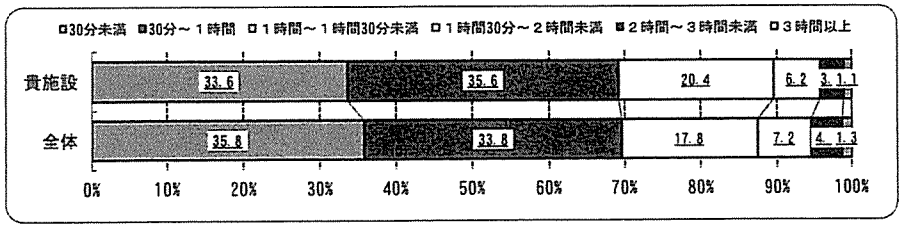
【体調】

有効回答数　669 件(貴施設) ／ 31,278 件(全体)



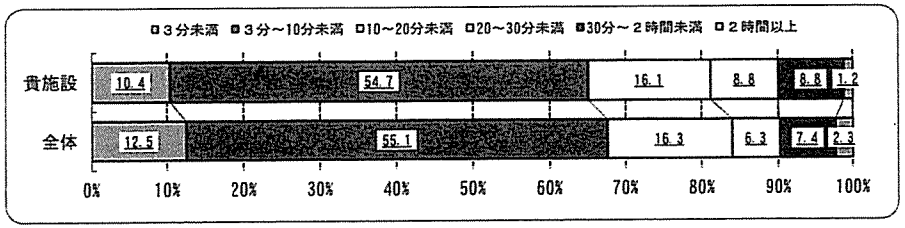
【待ち時間】

有効回答数　565 件(貴施設) ／ 26,897 件(全体)



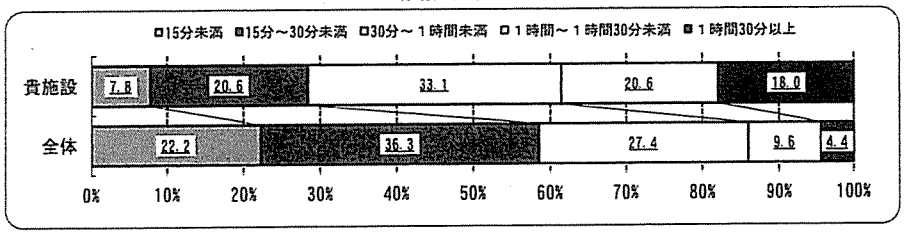
【診療時間】

有効回答数　510 件(貴施設) ／ 24,795 件(全体)



【来院時間】

有効回答数　656 件(貴施設) ／ 30,738 件(全体)

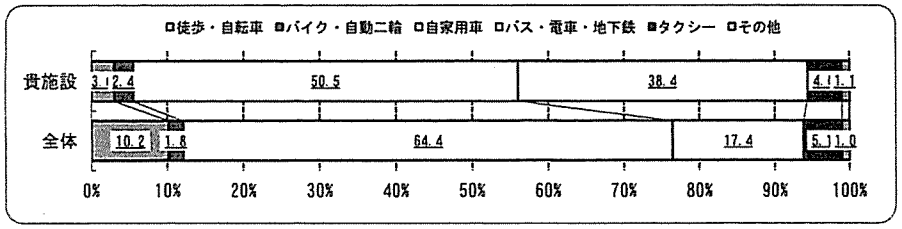


平成24年度　外来プロファイル

■国立循環器病センター

【交通手段】

有効回答数　657 件(貴施設) ／ 31,379 件(全体)



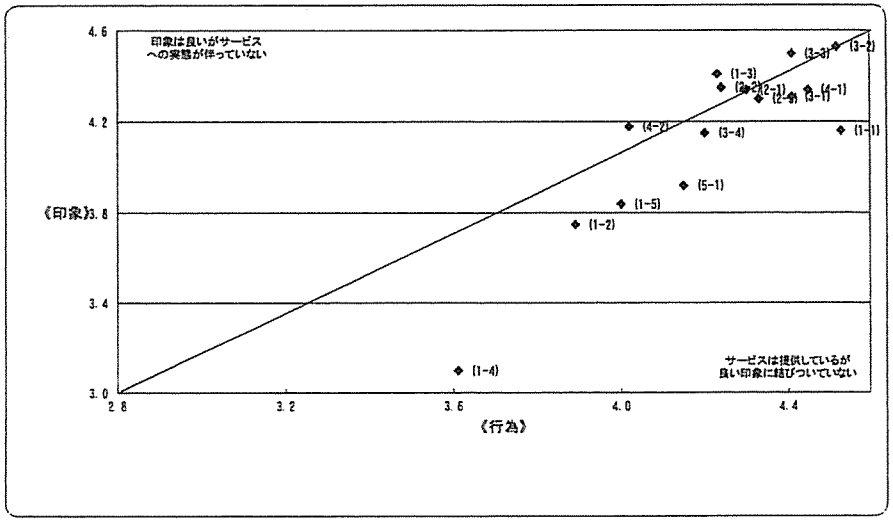
平成24年度 「印象」と「行為」別点数(外来)

■国立循環器病センター

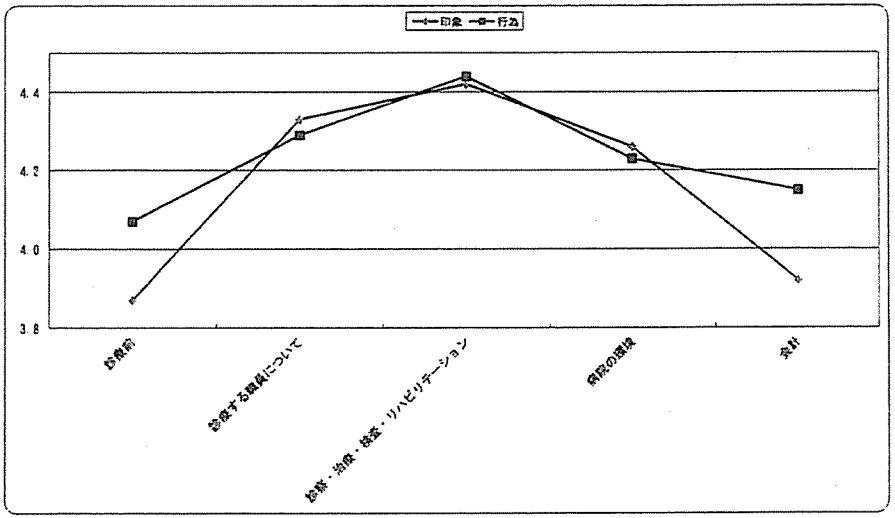
分析区分	24'当院点数		23'当院点数	
	印象	行為	印象	行為
1. 診療前	3.87	4.07	3.92	4.14
初めての受診の際、不安を感じた	4.16	4.53	4.17	4.59
この病院は不便	3.75	3.89	3.77	4.00
この病院は印象が悪い	4.41	4.23	4.50	4.30
診療までの待ち時間を不満に思う	3.10	3.61	3.12	3.71
待合室の環境を不満に思う	3.84	4.00	3.91	4.03
2. 診療する職員について	4.33	4.29	4.37	4.31
医師の態度や言葉使いが悪い	4.34	4.30	4.41	4.33
医師の技術や知識に不安を感じた	4.35	4.24	4.40	4.26
看護師の態度、言葉使い、処置の仕方に不満	4.30	4.33	4.30	4.33
3. 診察・指導・検査・リハビリテーション	4.42	4.44	4.54	4.53
今日、受けた検査について納得できない	4.31	4.41	4.50	4.46
今日、受けた指導・処置に納得できない	4.53	4.52	4.58	4.58
今日、受けた点滴、注射、薬に納得できない	4.50	4.41	4.61	4.58
今日、受けたリハビリテーションに納得できない	4.15	4.20	4.33	4.36
4. 病院の環境	4.26	4.23	4.33	4.26
診察室の環境が不満	4.34	4.45	4.44	4.48
病院のその他の設備や環境が不満	4.18	4.02	4.23	4.03
5. 会計	3.92	4.15	3.91	4.15
会計手続きに納得できない	3.92	4.15	3.91	4.15

平成24年度 「印象」と「行為」別平均点数(外来)

■国立循環器病センター



平成24年度 「印象」と「行為」別平均点数(外来)



『外来患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 H	23'当院
外来アンケート総合得点	53,887	995	2,521	9,783	11,205	29,382	4.21	4.04	4.04	4.26
	100.0	1.9	4.7	18.2	20.8	54.5				
1. 病院でのできごと	47,528	954	2,408	9,021	9,476	25,669	4.19	4.02	4.03	4.24
	100.0	2.0	5.1	19.0	19.9	54.0				
1. 診察前	19,219	573	1,457	3,960	3,905	9,294	4.03	3.85	3.87	4.11
	100.0	3.0	7.7	20.6	20.3	48.4				
●初めての受診の際、不安を感じた	656	15	67	105	88	381	4.16	3.86	3.78	4.17
	100.0	2.3	10.1	15.8	13.2	58.7				
①この病院は症状にあう診療科がない	662	12	17	67	107	459	4.49	4.33	4.32	4.61
	100.0	1.8	2.6	10.1	16.2	69.3				
②この病院の診察日やお薬時間があわない	671	13	35	113	131	389	4.28	4.12	4.02	4.39
	100.0	1.9	3.7	16.7	19.5	58.1				
③この病院には名医や専門医がいないと思う	688	3	11	54	119	501	4.60	4.25	4.07	4.63
	100.0	0.4	1.6	7.9	17.3	72.8				
④この病院は評判が悪い	685	3	6	62	102	512	4.63	4.38	4.15	4.65
	100.0	0.4	0.9	9.1	14.9	74.7				
⑤この病院は検査機器や設備が整っていない	676	6	7	45	100	518	4.65	4.34	4.18	4.67
	100.0	0.9	1.0	6.7	14.8	76.6				
●この病院は不便	627	28	95	125	137	242	3.75	3.79	3.79	3.77
	100.0	4.5	15.2	19.9	21.9	38.6				
①この病院はバス、電車で通えない	671	27	70	100	131	343	4.03	4.00	3.87	3.99
	100.0	4.0	10.4	14.9	19.5	51.1				
②病院に来るまでに迷ったことがある	649	21	54	96	87	389	4.18	4.24	4.29	4.43
	100.0	3.2	8.3	15.1	13.4	59.9				
③駐車場が狭すぎる、または料金が高すぎる	616	53	84	179	107	193	3.49	3.61	3.70	3.57
	100.0	8.6	13.6	29.1	17.4	31.3				
④駐車場から病院までが暗い、または危険	620	10	36	153	119	302	3.94	3.88	3.94	4.03
	100.0	1.6	6.1	31.1	19.2	41.9				
⑤病院内で迷ったことがある	671	22	100	132	148	263	3.78	3.61	3.78	3.98
	100.0	3.3	15.8	19.7	22.1	39.2				
●この病院は印象が悪い	643	7	11	58	131	406	4.41	4.15	4.18	4.50
	100.0	1.1	1.7	15.2	18.8	63.1				
①電話での応対が悪い	677	6	27	129	144	371	4.25	4.09	4.13	4.35
	100.0	0.9	4.0	19.1	21.3	54.8				
②守衛・警備員の態度や言葉使いが悪い	678	4	10	142	146	376	4.30	4.17	4.18	4.35
	100.0	0.6	1.5	20.9	21.5	55.5				
③受付の職員の態度や言葉使いが悪い	682	4	7	118	153	400	4.36	4.18	4.22	4.44
	100.0	0.6	1.0	17.3	22.4	58.7				
④職員の私語が多い	678	3	7	141	153	374	4.31	4.11	4.13	4.33
	100.0	0.4	1.0	20.8	22.6	55.2				
⑤病院の仕組みがわかる掲示がない	685	13	51	172	177	272	3.94	3.75	3.85	4.03
	100.0	1.9	7.5	25.1	25.8	39.7				
●診察までの待ち時間を不満に思う	599	78	148	136	113	126	3.10	2.92	3.00	3.12
	100.0	13.0	24.7	22.5	18.7	21.0				
①予約したのに待たされた	596	93	160	120	113	111	2.98	2.78	2.90	3.12
	100.0	15.4	26.9	20.1	19.0	18.6				
②どのくらい待つのか、知りたかった	594	62	135	134	120	143	3.25	3.01	3.08	3.37
	100.0	10.4	22.7	22.6	20.2	24.1				
③診察の順番が守られないことがあった	596	13	28	156	148	251	4.00	3.79	3.76	4.11
	100.0	2.2	4.7	26.2	24.8	42.1				
④待つのが当然という態度の職員がいた	607	10	28	100	147	262	4.03	3.83	3.82	4.08
	100.0	1.7	4.6	26.4	24.2	43.2				
⑤呼び出しが聞きとりにくい	608	25	79	131	155	218	3.76	3.74	3.76	3.85
	100.0	4.1	13.0	21.6	25.5	35.9				
●待合室の環境を不満に思う	586	9	46	153	122	246	3.84	3.64	3.76	3.91
	100.0	1.5	7.9	32.9	20.8	36.9				
①待合室が狭すぎる	618	8	52	157	137	224	3.84	3.59	3.72	3.88
	100.0	1.3	8.4	31.9	22.2	36.3				
②椅子が少なすぎる	618	8	43	201	132	234	3.88	3.63	3.73	3.90
	100.0	1.3	7.0	32.5	21.4	37.9				
③換気が悪い、または冷暖房が効かない	618	6	21	181	145	265	4.04	3.80	3.89	4.02
	100.0	1.0	3.4	29.3	23.5	42.9				
④汚い、または禁煙席幅されていない	613	5	14	138	167	289	4.18	3.98	4.07	4.21
	100.0	0.8	2.3	22.5	27.2	47.2				
⑤診察中が見えたり、会話が聞こえる	621	7	40	142	137	295	4.08	3.81	3.91	4.12
	100.0	1.1	6.4	22.9	22.1	47.5				

『外来患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
2. 診療する職員について	10,901	165	362	1,800	2,329	6,241	4.29	4.13	4.13	4.31
	100.0	1.6	3.3	16.5	21.4	57.3				
●医師の態度や言葉使いが悪い	605	8	17	92	131	357	4.34	4.21	4.18	4.41
	100.0	1.3	2.8	15.2	21.7	59.0				
①症状や治療の質問ができなかった	618	11	41	92	139	335	4.21	4.05	4.02	4.25
	100.0	1.8	6.6	14.9	22.5	54.2				
②声が小さく話が聞き取りにくい医師がいた	618	10	23	94	133	358	4.30	4.16	4.12	4.32
	100.0	1.6	3.7	15.2	21.5	57.9				
③プライバシーに配慮しない医師がいた	614	8	14	92	125	375	4.38	4.24	4.20	4.42
	100.0	1.3	2.3	15.0	20.4	61.1				
④あわただしく、十分な時間を取ってくれなかった	623	10	29	105	134	344	4.24	4.08	4.08	4.25
	100.0	1.6	4.7	17.0	21.5	55.2				
⑤顔を向けずに説明したり、嫌な顔をする	615	9	22	87	131	380	4.36	4.19	4.16	4.38
	100.0	1.5	3.6	14.1	19.6	61.4				
●医師の技術や知識に不安を感じた	593	9	15	91	124	354	4.35	4.15	4.11	4.40
	100.0	1.5	2.5	15.4	20.9	59.7				
①説明が分かりにくい医師がいた	612	11	28	84	137	352	4.29	4.11	4.09	4.31
	100.0	1.8	4.6	13.7	22.4	57.5				
②検査数値や画像を用いて説明しない医師がいた	612	10	26	102	122	352	4.27	4.15	4.16	4.30
	100.0	1.6	4.3	16.7	19.9	57.5				
③処置の下手な医師がいた	594	9	21	136	107	331	4.23	4.09	4.11	4.29
	100.0	1.5	3.5	21.2	18.0	55.7				
④複数の治療法があううることを説明しない医師がいた	597	11	27	115	130	314	4.19	4.03	4.03	4.21
	100.0	1.8	4.5	19.3	21.8	52.6				
⑤自分が良くなっている実感が持てない	597	12	18	119	135	313	4.20	3.95	3.97	4.19
	100.0	2.0	3.0	19.9	22.6	52.4				
●看護師の態度、言葉使い、処置の仕方に不満	588	7	13	102	138	327	4.30	4.14	4.14	4.30
	100.0	1.2	2.2	17.5	23.5	55.6				
①説明が分かりにくい看護師がいた	607	9	16	102	150	330	4.28	4.12	4.13	4.24
	100.0	1.5	2.6	16.8	24.7	54.4				
②医師の指示や処置を間違える看護師がいた	599	8	10	94	118	369	4.39	4.23	4.25	4.42
	100.0	1.3	1.7	15.7	19.7	61.6				
③質問や相談の対応をしない看護師がいた	603	9	13	94	141	346	4.33	4.17	4.20	4.32
	100.0	1.5	2.2	15.6	23.4	57.4				
④プライバシーに配慮しない看護師がいた	601	8	8	109	120	356	4.34	4.20	4.21	4.35
	100.0	1.3	1.3	18.1	20.0	59.2				
⑤話をしていて、嫌な気持ちになることがあった	601	10	21	98	124	348	4.30	4.15	4.16	4.32
	100.0	1.7	3.5	16.3	20.6	57.9				
3. 診察・治療・検査・リハビリテーション	7,220	71	141	1,076	1,239	4,693	4.43	4.34	4.30	4.53
	100.0	1.0	2.0	14.9	17.2	65.0				
●今日、受けた検査について納得できない	458	5	11	81	109	261	4.31	4.23	4.18	4.50
	100.0	1.1	2.4	17.7	23.8	57.0				
①検査の待ち時間が長すぎる	475	11	31	103	95	231	4.07	3.92	3.84	4.10
	100.0	2.3	6.5	21.7	20.0	48.6				
②検査前、本人確認されなかった	473	2	3	43	78	347	4.62	4.49	4.47	4.69
	100.0	0.4	0.6	9.1	16.5	73.4				
③恥ずかしい思いに十分な気配りがない	472	4	6	62	85	315	4.49	4.37	4.33	4.54
	100.0	0.9	1.3	13.1	18.0	66.7				
④検査室が不潔だった	470	3	8	62	89	308	4.47	4.38	4.35	4.53
	100.0	0.6	1.7	13.2	18.9	65.5				
⑤説明が分かりにくい検査技師がいた	469	5	7	71	88	298	4.42	4.31	4.29	4.45
	100.0	1.1	1.5	15.1	18.8	63.5				
●今日、受けた治療・処置に納得できない	386	2	6	44	66	266	4.53	4.44	4.40	4.58
	100.0	0.5	1.6	11.4	17.6	68.9				
①治療・処置の前に本人確認されなかった	386	4	1	29	56	286	4.60	4.47	4.46	4.65
	100.0	1.0	0.3	10.1	14.5	74.1				
②次に何をされるかわからず、不安に思った	388	2	11	45	64	266	4.50	4.39	4.35	4.58
	100.0	0.5	2.8	11.6	16.5	68.6				
③必要な下着けがなかった	386	2	5	44	66	269	4.54	4.40	4.38	4.56
	100.0	0.5	1.3	11.4	17.1	69.7				
④痛みや不快感に対応なし	383	4	6	52	59	262	4.49	4.37	4.35	4.54
	100.0	1.0	1.6	13.6	15.4	68.4				
⑤恥ずかしい思いに十分な気配りがない	387	3	3	58	64	259	4.48	4.40	4.38	4.58
	100.0	0.8	0.8	15.0	16.5	66.9				

『外来患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
●今日、受けた点滴、注射、薬に納得できない	277	1	5	37	46	188	4.50	4.42	4.39	4.61
	100.0	0.4	1.8	13.4	16.6	67.9				
①十分な説明なしに点滴や注射をされた	288	2	6	37	51	192	4.48	4.43	4.40	4.63
	100.0	0.7	2.1	12.9	17.7	66.7				
②注射や点滴のやり直しがあった	288	9	7	42	44	186	4.36	4.29	4.24	4.53
	100.0	3.1	2.4	14.6	15.3	64.6				
③我慢できない不快を感じた	285	4	4	43	43	191	4.45	4.37	4.31	4.61
	100.0	1.4	1.4	15.1	15.1	67.0				
④点滴、注射、薬について質問できなかった	287	3	4	52	49	179	4.38	4.35	4.33	4.59
	100.0	1.1	1.4	18.1	17.1	62.4				
⑤説明のわかりにくい薬剤師がいた	276	1	2	59	44	170	4.38	4.36	4.34	4.55
	100.0	0.4	0.7	21.4	15.9	61.6				
●今日、受けたリハビリテーションに納得できない	68	1	3	18	9	37	4.15	4.15	4.15	4.33
	100.0	1.5	4.4	26.5	13.2	54.4				
①リハビリ科の診察日や診療時間帯がわかない	64	-	2	18	9	35	4.20	4.13	4.09	4.31
	100.0	-	3.1	28.1	14.1	54.7				
②リハビリの設備や器具が悪い、または少ない	65	-	4	19	7	35	4.12	4.12	4.05	4.33
	100.0	-	6.2	29.2	10.8	53.9				
③リハビリのスタッフが親切に対応してくれなかった	63	2	1	16	6	38	4.22	4.21	4.14	4.41
	100.0	3.2	1.6	25.4	9.5	60.3				
④リハビリ中に体調変化を訴えたが、対応されなかった	63	-	3	15	9	36	4.24	4.16	4.15	4.42
	100.0	-	4.8	23.8	14.3	57.1				
⑤リハビリの内容等を、医師や看護師が知らなかった	63	1	2	16	6	38	4.24	4.13	4.11	4.34
	100.0	1.6	3.2	25.4	9.5	60.3				

『外来患者さまへのアンケート』集計結果表

■国立循環器病センター

	有効回答数	まったくそうだ	ややそうだ	どちらでもない	ややちがう	まったくちがう	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
4. 病院の環境	6,670	80	228	1,378	1,315	3,669	4.24	4.03	4.07	4.27
	100.0	1.2	3.4	20.7	19.7	55.0				
●診察室の環境が不満	554	2	18	99	104	331	4.34	4.17	4.21	4.44
	100.0	0.4	3.3	17.9	18.8	59.8				
①診察中、外の会話等が聞こえたり、のぞかれた	571	2	35	72	103	369	4.42	4.22	4.28	4.49
	100.0	0.4	4.4	12.6	18.0	64.6				
②診察室が汚い、または整理整頓されていない	566	3	1	84	124	354	4.46	4.29	4.32	4.52
	100.0	0.5	0.2	14.8	21.9	62.5				
③使用する器具や機器が不潔だった	562	1	3	88	102	369	4.49	4.36	4.36	4.50
	100.0	0.2	0.4	15.7	18.2	65.7				
④カルテやレントゲンのフィルムなどの管理がずさん	550	1	1	90	92	366	4.49	4.36	4.35	4.49
	100.0	0.2	0.2	16.4	16.7	66.6				
⑤椅子・ベッド等は、患者の快適さに配慮がない	562	3	7	101	119	332	4.37	4.23	4.25	4.40
	100.0	0.5	1.3	18.0	21.2	59.1				
●病院のその他の設備や環境が不満	548	3	21	125	116	275	4.18	3.93	3.95	4.23
	100.0	0.6	3.9	23.2	21.5	50.9				
①売店がない、または使いにくい	563	8	31	109	114	301	4.19	3.86	3.88	4.23
	100.0	1.4	5.5	19.4	20.3	53.5				
②ATMや自動販売機などがない、または不十分	560	13	41	123	110	273	4.05	3.78	3.82	4.08
	100.0	2.3	7.3	22.0	19.6	48.8				
③絵本、公衆などのインテリアが不十分	552	11	25	153	117	246	4.02	3.82	3.88	4.00
	100.0	2.0	4.5	27.7	21.2	44.6				
④苦情を言いたいが受付場所がない	548	19	12	152	112	252	4.03	3.81	3.89	4.05
	100.0	3.5	2.2	27.8	20.4	46.0				
⑤病気等を、本やビデオで調べる場所がない	542	14	44	181	102	201	3.80	3.47	3.58	3.80
	100.0	2.6	8.1	33.4	18.8	37.1				
5. 会計	3,518	61	150	807	686	1,772	4.11	3.90	3.95	4.11
	100.0	1.7	5.4	22.9	19.6	50.4				
●会計手続きに納得できない	573	18	45	150	109	251	3.92	3.71	3.82	3.91
	100.0	3.1	7.9	26.2	19.0	43.8				
①会計までの待ち時間が長すぎる	592	21	96	145	112	218	3.69	3.48	3.64	3.70
	100.0	3.6	16.2	24.5	18.9	36.8				
②会計の順番が守られなかった	588	2	5	147	115	319	4.27	4.01	4.05	4.23
	100.0	0.3	0.9	25.0	19.6	54.3				
③支払いの内訳がわからない	587	5	11	119	122	330	4.30	4.09	4.10	4.30
	100.0	0.9	1.9	20.3	20.8	56.2				
④支払った金額が予想していたより高かった	587	8	23	132	109	316	4.20	3.98	3.97	4.22
	100.0	1.4	3.9	22.5	18.6	53.8				
⑤会計の職員の態度や言葉使いが悪い	591	7	11	114	121	338	4.31	4.10	4.12	4.30
	100.0	1.2	1.9	19.3	20.5	57.2				

	有効回答数	たいへん不満	やや不満	どちらでない	やや満足	たいへん満足	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
II. 病院についての総合的評価	6,359	41	113	762	1,730	3,713	4.41	4.18	4.13	4.41
	100.0	0.6	1.8	12.0	27.2	58.4				
①全体として満足	659	5	16	35	208	391	4.46	4.21	4.14	4.48
	100.0	0.8	2.4	5.3	31.6	59.3				
②治療の結果に満足	633	3	17	65	195	349	4.38	4.12	4.07	4.38
	100.0	0.5	2.7	10.3	31.4	55.1				
③通院期間に満足	630	6	19	119	170	316	4.22	3.98	3.94	4.18
	100.0	1.0	3.0	18.9	27.0	50.2				
④受けている治療に満足	622	4	15	88	169	346	4.35	4.10	4.05	4.29
	100.0	0.6	2.4	14.2	27.2	55.6				
⑤治療に自分の考えが反映されたので満足	602	4	11	156	160	272	4.14	3.99	3.95	4.12
	100.0	0.7	1.8	25.9	26.6	45.2				

	有効回答数	そう思わない	あまりそう思わない	どちらでもない	ややそう思う	そう思う	当院得点	全国平均点 NC	全国平均点 計	23'当院
II. ⑥安全な治療をしてる	636	5	1	66	173	391	4.48	4.28	4.22	4.50
	100.0	0.8	0.2	10.4	27.2	61.5				
⑦医師や職員の説明はわかりやすい	642	5	11	74	180	372	4.41	4.24	4.20	4.43
	100.0	0.8	1.7	11.5	28.0	57.9				
⑧受けている治療に納得している	640	4	16	64	167	389	4.44	4.26	4.19	4.45
	100.0	0.6	2.5	10.0	26.1	60.8				
⑨全体として信頼している	649	2	3	34	160	450	4.62	4.40	4.31	4.63
	100.0	0.3	0.5	5.2	24.7	69.3				
⑩家族や知人に勧めたい	646	3	4	58	144	437	4.56	4.25	4.13	4.59
	100.0	0.5	0.6	9.0	22.3	67.7				

平成24年度　対外的研修・講習

資料18

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
1	NCVC-PCI 初級トレーニングコース	平成24年7月22日	国立循環器病研究センター・クラスター棟	全国若手循環器内科医	10名	PCIシステムとその役割と使用法、ガイドカテーテルの種類とエンゲージ、カテーテルとガイドワイヤー、を習得するPCIトレーニングコースを開催した。手技の習得のために、最新鋭のコンピューターシュミレーションも活用した。
2	第11回千里循環器病セミナー	平成24年4月5日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	55名	本会は北摂地域における循環器疾患診療の向上のために、疾患別にテーマを選定し、学術集会を月1回以上開催している。医療連携の推進および標準化を図ることにより、地域医療の向上に貢献することを目的としている。 『不整脈に対するアップストリーム治療』 演者：相庭　武司　座長：安斉　俊久
3	第12回千里循環器病セミナー	平成24年4月19日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	73名	『冠動脈疾患における糖尿病治療の重要性』 演者：石原　正治　座長：清水　渉
4	第13回千里循環器病セミナー	平成24年5月17日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	56名	『日本における循環器疾患のエビデンス』 演者：小川　久雄　座長：安田　聡
5	第14回千里循環器病セミナー	平成24年6月21日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	48名	『新しい抗凝固薬を実地臨床に活かす』 演者：清水　渉　座長：安田　聡
6	第15回千里循環器病セミナー	平成24年7月19日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	44名	『冠動脈インターベンション時代の心血管保護：薬物を活かす』 演者：安田　聡　座長：清水　渉

平成24年度　対外的研修・講習

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
7	第16回千里循環器病セミナー	平成24年8月23日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	53名	『スタチンに関する最近の臨床研究からのエビデンス』 演者：朝倉　正紀　座長：安斉　俊久
8	第17回千里循環器病セミナー	平成24年9月20日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	60名	『心不全治療におけるレニン・アンギオテンシン系の重要性』 演者：安斉　俊久　座長：安田　聡
9	第18回千里循環器病セミナー	平成24年10月18日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	55名	『β遮断薬を日常診療に活かす』 演者：神崎　秀明　座長：清水　渉
10	第19回千里循環器病セミナー	平成24年11月15日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	46名	『心房細動治療のUp to Date』 演者：里見　和浩　座長：安斉　俊久
11	第20回千里循環器病セミナー	平成24年12月6日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	48名	『冠動脈CTと負荷RI検査を外来診療・薬物治療に活かす』 演者：野口　暉夫　座長：安田　聡
12	第21回千里循環器病セミナー	平成25年1月17日（木）	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	42名	『心房細動治療を考える』 演者：野田　崇　座長：清水　渉

平成24年度　対外的研修・講習

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
13	第22回千里循環器病セミナー	平成25年2月21日(木)	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	35名	『身近な静脈疾患に対するマネジメント』 演者:大郷　剛　座長:安斉　俊久
14	第23回千里循環器病セミナー	平成25年3月14日(木)	千里阪急ホテル	開業医・薬剤師・放射線技師	46名	『重症虚血肢を救う！糖尿病管理の重要性』 演者:河原田　修身　座長:石原　正治
15	滋賀医科大学看護学生への講義　〈横田医長〉	平成24年 7月6日	滋賀医科大学医学部看護学科	滋賀医科大学看護学生(3回生)	62名	看護学生を対象に、超急性期脳卒中ケアにおけるチーム医療というテーマで、脳卒中全般の内容に加え、超急性期脳卒中医療についての講義を行った。
16	大阪府看護協会　脳卒中リハビリテーション看護認定看護師教育課程での講義〈横田医長〉	平成24年 7月18日	大阪府看護協会桃谷センター	脳卒中リハビリテーション看護認定看護師教育課程受講看護師	30人	脳卒中リハビリテーション看護認定看護師を目指す受講者を対象に、脳血管障害の診断、症候、重症化予防のための病態生理などを講義した。
17	広島大学医学部学生への心臓血管生理学の講義〈古賀医長〉	平成24年 9月27日	広島大学医学部	広島大学医学部学生(2回生)	100名	医学部生を対象に、脳循環代謝の生理を講義した。特に、血圧変動に伴う脳血流の変化や自動調節能、脳血流に影響する様々な因子を説明し、急性期脳梗塞で血管閉塞が起こった場合のペナンブラの概念、急性期の治療では早期の治療が重要であることを講義した。
18	日本集中治療医学会　近畿地方会看護部主催　第5回　看護教育セミナー　〈古賀医長〉	平成24年 11月10日	大阪商工会議所	集中治療などに携わる看護師	100名	脳梗塞の急性期治療に関する講義を行った。特にrt-PA治療や最近導入されたMerciやPenumbraといった血管内治療デバイスの実際を概説し、緊急対応の重要性を説明した。また、緊急対応時の看護師の関わりについて講義した。

平成24年度　対外的研修・講習

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
19	循環器病研究振興財団　第1回講習会〈上原医長〉	平成25年 1月20日	国立循環器病研究センター図書館講堂	理学療法士、作業療法士、言語聴覚士	90名	理学療法士、作業療法士、言語聴覚士を対象に、脳血管障害の病態理解をテーマに講習会を開催した。
20	第18回TEE講習会	平成25年7月27-28日	大阪国際会議場10F	全国麻酔科医師	350名	麻酔科医にとって必要な経食道心エコーの講習を2日間おこなう。この講習を受講することにより、日本の周術期経食道心エコー認定試験の受講資格ができる。また、心臓麻酔専門医の受験資格に必要となる。
21	第2回生活習慣病フォーラムin北摂	平成25年 3月 7日	千里阪急ホテル	北摂地域開業医・勤務医	60名	北摂地域における生活習慣病の病診連携、情報共有を目的として、高血圧、脂質異常症、糖尿病について、「高血圧治療の現状と降圧薬の選択方法」、「意外と身近な家族性高コレステロール血症(FH)入門」、「2型糖尿病治療薬の現状とこれから」と題する講演を行い、最新の知見を紹介した。
22	第7回腎臓病と高血圧を考える会	平成24年 8月 4日	千里ライフサイエンスセンタービル	北摂地域開業医・勤務医	30名	北摂地域における腎臓病・高血圧診療におけるの病診連携、情報共有を目的として、高血圧、腎臓病について、「慢性腎臓病の経過中に発症した急性間質性腎炎の1例」、「透析患者へのアプローチー心不全と糖尿病の管理ー」と題する症例報告や講演を行い、最新の知見を紹介した。
23	北摂心・腎疾患フォーラム	平成24年 9月 15日	千里阪急ホテル	北摂地域開業医・勤務医	50名	北摂地域における腎臓病・心臓病診療におけるの病診連携、情報共有を目的として、腎臓病、心臓病について、「心筋梗塞・脳出血の九世紀に合併したエンドトキシンショックに対して、早期のPMXが奏功した1例」、「腎性貧血治療の新しい展開:鉄代謝異常への挑戦」と題する症例報告や講演を行い、最新の知見を紹介した。

平成24年度　対外的研修・講習

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
24	第52回日本呼吸器学会教育講演	平成24年4月20日～22日	神戸国際展示場	若手呼吸器内科医	200名	肺動脈性肺高血圧症の病理について解説した。
25	第101回日本病理学会総会(臓器別病理診断講習会)	平成24年4月26日～28日	京王プラザホテル(東京)	若手病理医	150名	循環器病理の解説で、大血管に発生する内膜肉腫について供覧した。
26	第101回日本病理学会総会(コンパニオンミーティング)	平成24年4月26日～28日	京王プラザホテル(東京)	若手・一般病理医	80名	「今日の心臓病理学」のテーマでエキスパート6名が解説、 その中で心移植について解説した。
27	第60回日本心臓病学会（日本心臓病学-心筋生検研究会ジョイントシンポジウム)	平成24年9月14日～16日	ホテル日航金沢	若手循環器内科医	50名	刺激伝導系周囲の構造と心筋症の線維化を中心に、心臓病理組織から考えた不整脈源性について解説した。
28	第34回心筋生検研究会 モーニングセミナー	平成24年11月23日～24日	信州大学医学部附属病院	全国若手循環器内科医及び一般病理医	120名	経験した50例の心臓移植の病理について解説し、NCVCのきめ細かな診断・治療が生存率に貢献していることを確認した。
29	第34回心筋生検研究会 教育講演	平成24年11月23日～24日	信州大学医学部附属病院	全国若手循環器内科医及び一般病理医	130名	「心不全と心筋病理－病因別にみたマクロ・ミクロ像の特徴－」心筋症の分類に基づき、原発性心筋症、二次性心筋症、特定心疾患の各疾患における肉眼的及び組織学的特徴を把握することにより、特に若手の臨床医や一般病理医にとっては日常診療における画像診断や生検診断に役立てることができる。

平成24年度　対外的研修・講習

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
30	第116回医用超音波講義講習会	平成24年12月23日	大阪国際会議場	臨床検査技師 循環器内科医	200名	心エコーに活かす心臓病理学について解説した。
31	第32回日本画像医学会 教育講演	平成25年2月22日～23日	東京ステーションコンファレンス	若手循環器内科医 放射線科医	100名	循環器慢性肺血栓塞栓症について病理の立場から解説した。
32	第32回日本画像医学会 教育講演	平成25年2月22日～23日	東京ステーションコンファレンス	若手呼吸器内科医 放射線科医	100名	呼吸器肺高血圧の臨床について病理の立場から解説した。
33	第32回日本画像医学会　コラボレーションシンポジウム	平成25年2月22日～23日	東京ステーションコンファレンス	若手循環器内科医 放射線科医	100名	心筋症と心筋炎のMRIについて解説した。
34	第77回日本循環器学会　ミート・ザ・エキスパート（心筋生検研究会ジョイントセッション）	平成25年3月15日～17日	パシフィコ横浜会議センター	全国循環器専門医	150名	「不全心筋：病態解明への挑戦」心筋症及び特定心疾患の中から、非典型例の肉眼的及び組織学的特徴を把握することにより、臨床医にとっては画像や生検診断に結びつく所見の理解が深まる。
35	第6回 脳血管外科ビデオカンファレンス	平成24年5月19日	ガーデンシティクラブ大阪	全国若手脳神経外科医	46名	手術の編集ビデオを掲示、手術のコツとピットフォールについての公開討論。日常よく遭遇する症例から高度なテクニックを要する症例まで、1日で効率よく手術のコツを学ぶ事を目標とする。

平成24年度　対外的研修・講習

No.	会の名称	開催日時	開催場所	対象者	参加人数	内容
36	第17回脳血管外科治療セミナー	平成24年7月6日～8日	千里阪急ホテル・国立循環器病研究センタークラスター	全国若手脳神経外科医	130名	脳血管疾患の手術の適応・手技についての講義、ハンズオン（人工血管吻合モデル）講習を行う。
37	脳血管外科フォーラム2012・サマー	平成24年7月6日～7日	国立循環器病研究センター図書館・千里阪急ホテル	全国若手脳神経外科医		脳神経外科の手術教育にとって、今後重要性を増すと考えられる3D手術ビデオの供覧。脳血管外科フォーラムにおいて、顕微鏡手術の基本となりうる症例を選び、無編集でのビデオライブセミナーを開催。
38	第7回脳血管外科ビデオカンファレンス	平成24年 11月10日	ガーデンシティクラブ大阪	全国若手脳神経外科医	31名	手術の編集ビデオを掲示、手術のコツとピットフォールについての公開討論。日常よく遭遇する症例から高度なテクニックを要する症例まで、1日で効率よく手術のコツを学ぶ事を目標とする。
39	第18回脳血管外科治療セミナー	平成25年1月25日、27日	国立循環器病研究センター図書館・クラスター棟・千里阪	全国若手脳神経外科医	101名	脳血管疾患の手術の適応・手技についての講義、ハンズオン（血管内治療）講習を行う。
40	脳血管外科フォーラム2013・ウィンター	平成25年1月25日～27日	国立循環器病研究センター図書館	全国若手脳神経外科医		脳神経外科の手術教育にとって、今後重要性を増すと考えられる3D手術ビデオの供覧。脳血管外科フォーラムにおいて、顕微鏡手術の基本となりうる症例を選び、無編集でのビデオライブセミナーを開催。
41	第3回国立循環器病研究センター脳卒中連携セミナー	平成24年3月16日	国立循環器病研究センター研究所本館大会議室	京阪神の脳神経外科医、脳神経内科医、クリニック、開業医リハビリ施設	29名	京阪神の脳神経外科医、脳神経内科医、クリニック、開業医 リハビリ施設との連携セミナー

Special Report

Guidelines for the Management of Familial Hypercholesterolemia

Mariko Harada-Shiba[1], Hidenori Arai[2], Shinichi Oikawa[3], Takao Ohta[4], Tomoo Okada[5], Tomonori Okamura[6], Atsushi Nohara[7], Hideaki Bujo[8], Koutaro Yokote[9], Akihiko Wakatsuki[10], Shun Ishibashi[11, 12] and Shizuya Yamashita[13]

[1]Department of Molecular Innovation in Lipidology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan
[2]Department of Human Health Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan
[3]Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, Nippon Medical School, Tokyo, Japan
[4]Department of Child Health and Welfare (Pediatrics), Faculty of Medicine, University of the Ryukyu, Nishihara, Japan
[5]Department of Pediatrics and Child Health, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan
[6]Department of Public Health and Preventive Medicine, Keio University, Tokyo, Japan
[7]Department of Lipidology, Kanazawa University Graduate School of Medical Science, Kanazawa, Japan
[8]Department of Genome Research and Clinical Application, Chiba University, Graduate School of Medicine, Chiba, Japan
[9]Department of Clinical Cell Biology and Medicine, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan
[10]Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Aichi Medical University, Aichi, Japan
[11]Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, Jichi Medical University, Tochigi, Japan
[12]Chair, The Research Committee for Primary Hyperlipidemia, Research on Measures against Intractable Diseases by the Japanese Ministry of Health, Labour, and Welfare
[13]Department of Cardiovascular Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Japan

Familial hypercholesterolemia (FH) is a highly prevalent autosomal dominant hereditary disease, generally characterized by three major signs, hyper-low-density-lipoprotein (LDL) cholesterolemia, tendon/skin xanthomas and premature coronary artery disease (CAD). Because the risk of CAD is very high in these patients, they should be identified at an early stage of their lives and started on intensive treatment to control LDL-cholesterol. We here introduce a new guideline for the management of FH patients in Japan intending to achieve better control to prevent CAD. Diagnostic criteria for heterozygous FH are 2 or more of 1) LDL-cholesterol ≥ 180 mg/dL, 2) tendon/skin xanthoma(s), and 3) family history of FH or premature CAD within second degree relatives, for adults; and to have both 1) LDL-cholesterol ≥ 140 mg/dL and 2) family history of FH or premature CAD within second degree relatives, for children. For the treatment of adult heterozygous FH, intensive lipid control with statins and other drugs is necessary. Other risks of CAD, such as smoking, diabetes mellitus, hypertension etc., should also be controlled strictly. Atherosclerosis in coronary, carotid, or peripheral arteries, the aorta and aortic valve should be screened periodically. FH in children, pregnant women, and women who wish to bear a child should be referred to specialists. For homozygotes and severe heterozygotes resistant to drug therapies, LDL apheresis should be performed. The treatment cost of homozygous FH is authorized to be covered under the program of Research on Measures against Intractable Diseases by the Japanese Ministry of Health, Labour, and Welfare.

J Atheroscler Thromb, 2012; 19:1043-1060.

Key words; LDL cholesterol, LDL receptor, Achilles tendon thickness, Coronary artery disease, Diagnosis criteria

Address for correspondence: Shizuya Yamashita, Department of Cardiovascular Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Osaka 565-0871, Japan
E-mail: shizu@imed2.med.osaka-u.ac.jp
Received: June 5, 2012
Accepted for publication: July 5, 2012

Introduction

Familial hypercholesterolemia (FH) is a genetic disorder caused by mutations in the genes related to the low-density lipoprotein (LDL) receptor pathway, and is transmitted by autosomal dominant inheritance. Heterozygous patients are observed in 1 in every 500, and homozygous patients in approximately 1 in every 1 million people in Japan. The total number of FH patients has been estimated to be 250,000 or higher in Japan. Accordingly, FH is the most frequent hereditary metabolic disorder and is often encountered in daily practice. Primary manifestations of FH are hypercholesterolemia, tendon xanthoma, and premature coronary artery disease (CAD). Since atherosclerosis progresses faster and is accompanied by more severe organ disorders in FH patients than in hyperlipoproteinemic patients without a genetic background, prompt diagnosis and treatment are mandatory.

The effectiveness of reducing LDL-cholesterol (LDL-C) for primary and secondary prevention has been reported by many large-scale clinical studies using statins in high-risk groups of hypercholesterolemia and CAD. On the basis of these reports, guidelines for the prevention of atherosclerosis mainly targeting LDL-C have also been established in Japan; however, the subjects of large-scale clinical studies are not only patients with marked hypercholesterolemia, such as those with FH. In addition, as FH patients are exposed to hypercholesterolemia for a long period of time from their infancy, they exhibit more advanced atherosclerosis and more severe organ disorders than patients with typical hypercholesterolemia without a genetic background, necessitating particular caution in their diagnosis and treatment. Guidelines for the prevention of atherosclerosis classify FH patients into a high-risk group of CAD and stress the importance of early diagnosis and treatment. However, the guidelines for FH have not been sufficiently established in Japan, and no consensus has been reached; therefore, the paper proposes a guideline specific for the diagnosis and treatment of FH for the Japanese population.

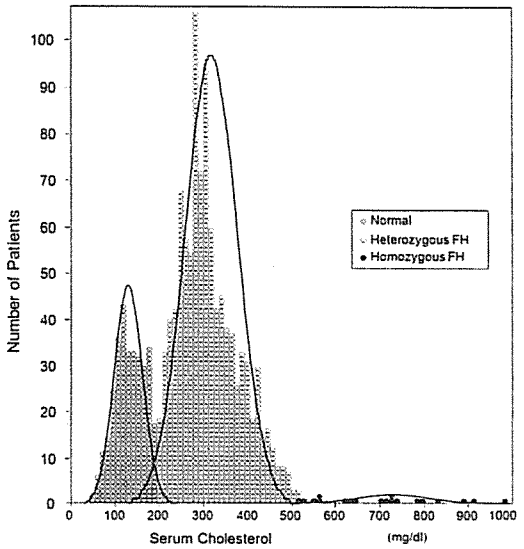


Fig. 1. Distribution of serum total cholesterol levels in normal subjects, and heterozygous and homozygous patients with familial hypercholesterolemia (modified by adding patients to Reference 85).

Clinical Features and Gene Mutations of Familial Hypercholesterolemia

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant hereditary disease characterized by three major signs: 1) hyper- LDL cholesterolemia, 2) tendon/skin xanthoma and 3) premature coronary artery disease (CAD).

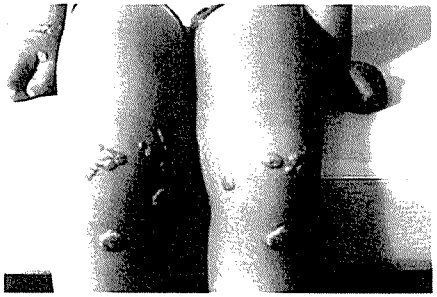


Fig. 2. Xanthoma observed in homozygous FH patients.

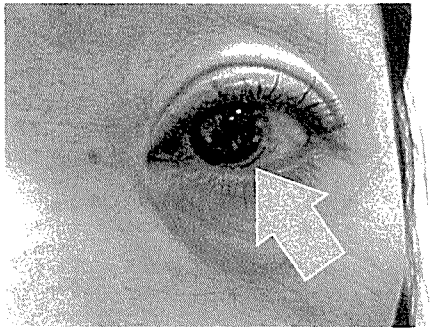


Fig. 3. Corneal arcus in FH patients.

In patients with FH, hyper-LDL cholesterolemia persists after birth, and Achilles tendon xanthoma may appear as early as in their 10s and is found in 50% of patients by the age of 30. Coronary atherosclerosis also develops at a young age, and the CAD risk is very high in FH patients. CAD events, such as myocardial infarction, which determine the prognosis of FH patients, may appear from 30 to 50 years of age in men and 50 to 70 years of age in women[1].

FH is one of the most frequently encountered hereditary diseases that may cause cardiovascular diseases (CVD) in general clinical practice. It should also be emphasized that the contribution of FH to CAD is higher in Japanese public health because of the low prevalence of CAD among the general Japanese population; however, neither diagnosis nor treatment is adequately performed for these patients. According to the literature, identification of FH may be only 20% or less in Europe, the United States and Japan[2, 3]. Health care professionals must understand that FH is a highly prevalent autosomal dominant hereditary disease and therefore surveying family members is important for the identification and treatment of patients.

Clinical Features of FH

Hyper-LDL Cholesterolemia

A patient with a mutation in one of the alleles in the gene involved in LDL metabolism, typically the LDL receptor, is termed heterozygous FH, and a patient with gene mutations in both alleles is termed homozygous FH. Serum total cholesterol (TC) in FH patients and their families shows a trimodal pattern. The mean serum TC in normal adults, heterozygous FH patients, and homozygous FH patients was 179±26, 338±63, and 713±122 (mean±SD) mg/dL, respectively; the mean value was 2 times higher in heterozygous FH patients and 4 times higher in homozygous FH than in normal adults[4]. There were overlaps between the normal and heterozygous FH, as well as between heterozygous and homozygous FH patients. It is sometimes difficult to differentiate these conditions based on the serum lipid level alone (**Fig. 1**). According to Bujo *et al.*, the mean LDL-C before treatment was 248 mg/dL in 641 Japanese patients with heterozygous FH (296 males and 345 females, mean age: 51 years)[5]. Although there was no gender difference in the LDL-C, triglyceride was significantly higher and HDL-cholesterol (HDL-C) was significantly lower in males than females.

Tendon/Skin Xanthoma

Physical findings such as tendon/skin xanthoma are important signs for the clinical diagnosis of FH. In homozygous FH patients, xanthoma becomes more marked than in heterozygous FH (**Fig. 2**). Xanthoma of the skin frequently develops at sites under regular mechanical stimuli, such as the extensor sides of the elbows/knees and wrist/gluteal regions. Tendon xanthoma appears as Achilles tendon thickening in many cases. It can be diagnosed based on inspection and palpation. Some FH patients may complain of inflammation-related pain of the Achilles tendon; however, FH should not be ruled out based on the absence of xanthoma. In those with a definitive diagnosis of FH by genetic analysis, xanthoma is absent in 20 to 30% of patients[5]. When xanthoma is absent, family surveys and genetic diagnosis are important. Xanthoma may be absent especially before 20 years of age, but becomes more prominent with aging. It should be noted that evaluation of xanthoma is difficult in the Achilles tendon after its rupture. Palpebral xanthoma is not diagnostically valuable because it is observed in many persons without FH.

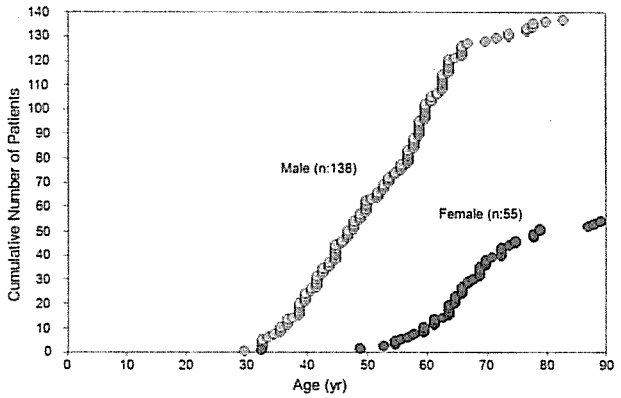


Fig. 4. Cumulative number of patients with myocardial infarction by age in male and female heterozygous FH patients (patients were added to Reference 1, and the form of indication was modified).

Corneal Arcus

Corneal arcus is also characteristic of FH, as shown in **Fig. 3**, and its prevalence is approximately 30% in FH. Senile arcus is observed in most people aged over 60, but the border of corneal arcus is clearer, making it distinguishable. Corneal arcus in those who are under 50 is diagnostically valuable in clinical practice.

Coronary Atherosclerosis

FH should be suspected in premature CAD patients with high LDL-C. Hyper-LDL cholesterolemia deteriorates coronary atherosclerosis, and the absence of treatment leads to cardiac death in approximately 60% of patients with heterozygous FH. Some previous studies also indicated the association of hyper-LDL cholesterolemia with cerebrovascular disorder, but the incidence is approximately 5 to 10% in heterozygous FH[4, 6]. In males, the incidence of myocardial infarction increases linearly after the age of 30. On the other hand, myocardial infarction is not very common in females under the age of 49. There is therefore a marked gender difference, as shown in **Fig. 4**.

Epidemiology

Diagnosis of FH is not definitive for most heterozygous FH; therefore, the incidence of heterozygous FH is estimated as 1/500 persons (general population) using the Hardy-Weinberg equilibrium formula, as the incidence of homozygous FH with marked clinical features is approximately 1/1,000,000[7]; however, no nationwide survey has been carried out to investigate the accurate incidence of heterozygous FH in Japanese. On the other hand, recent advances in genetic diagnostic techniques have made possible to make a definitive diagnosis in more homozygous FH patients. Mabuchi *et al.* reported that LDL-receptor mutations are more frequent and consequently the incidence of heterozygous FH was estimated to be approximately 1/200 in the Hokuriku area, based on the incidence of homozygous FH[8]. It is still unclear whether this is a region-specific phenomenon, such as seen in Quebec, Lebanon and South Africa, and there are no evident grounds to extrapolate these data to nationwide prevalence; therefore, it is not irrational to regard the nationwide FH incidence as 1/500. Nevertheless, FH is not a rare disease, and FH patients may comprise approximately 8.5% of hyper-LDL cholesterolemia patients receiving treatment[9].

Causative Genes

The diagnosis of FH is definitive when mutations of the genes involved in LDL metabolism are



Fig. 5. Achilles tendon thickening in FH patients.

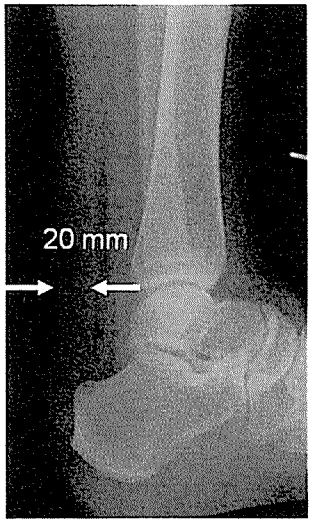


Fig. 6. Radiography of the Achilles tendon. The measurement site of the Achilles tendon is indicated by arrows.

confirmed, such as LDL receptors, in addition to hyper-LDL cholesterolemia; however, institutions where genetic diagnosis is available are limited. When a genetic diagnosis of FH is made for a primary patient, the diagnosis in his/her family can be definitive.

Besides the LDL receptor, it is known that mutations in the genes for apolipoprotein B-100 (Apo B-100), and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) cause FH[10, 11]. These molecules play an important role in LDL metabolism. The mutations of causative genes can be confirmed in 60 to 80% of clinically diagnosed heterozygous FH patients.

LDL Receptors

In the majority of FH patients, the causative mutation is in the LDL receptor gene. A number of mutation sites have been identified in this gene to cause FH; more than 1,000 sites of mutations worldwide (http://www.ucl.ac.uk/fh/) and some 100 sites in Japan[4].

Apolipoprotein B-100

Mutations in the apoB gene, a ligand of the LDL receptor, are termed familial defective apolipoprotein B-100 (FDB). The incidence of these mutations is relatively high in Caucasians in Europe and the United States but low in other races. An increase in the serum lipid level is relatively mild in comparison with LDL receptor mutations. No patient has been reported in Japan.

PCSK9

PCSK9 is a plasma protein that facilitates turnover of the LDL receptor. Gain-of-function mutation of PCSK9 therefore decreases the number of LDL receptors, causing hyper-LDL cholesterolemia. These mutations may not always induce marked hyper-LDL cholesterolemia. In Japan, E32K mutation (slight gain-of-function mutation), which contributes to a relatively small increase in the LDL-C level, is identified in 1 to 2% of the general population and in 6% of clinically diagnosed FH patients. When E32K mutation is concomitantly present in LDL-receptor-related heterozygous FH, the clinical features may become like homozygous FH[11]; however, these patients respond to drug therapy more effectively than an FH patient homozygous for a mutation in the LDL receptor gene.

Significance of Diagnosis and Treatment

Among untreated heterozygous FH, the risk for the development of CAD is 20 times higher than in those treated. No symptom might be observed except for hyper-LDL cholesterolemia before CAD events. It is therefore important to make a definitive diagnosis at an early stage of life and to start appropriate treatment to prevent juvenile death, even when patients are still asymptomatic. FH should be positively suspected in patients with hyper-LDL cholesterolemia to make a definitive diagnosis through surveys of tendon/skin xanthoma and of family members. When a definitive diagnosis of heterozygous FH is made, the patient's family should be examined extensively for early diagnosis/treatment.

Table 1. Diagnostic criteria for adult (15 years or older) heterozygous FH

1. Hyper-LDL cholesterolemia (LDL-C before treatment: 180 mg/dL or more)
2. Tendon xanthoma (tendon xanthoma on the dorsal hands, elbows, and knees, or Achilles tendon thickening) or nodular xanthoma on the skin
3. Family history within the second-degree relatives FH or premature CAD

- A diagnosis should be made after ruling out the possibility of secondary hyperlipidemia.
- Patients meeting 2 items should be regarded as having FH. Concerning those meeting 1 item, refer to Fig. 4. When FH is suspected, genetic tests should be conducted to make a diagnosis.
- Nodular xanthoma on the skin does not include palpebral xanthoma.
- Patients with Achilles tendon thickening (9 mm or more) on radiography should be regarded as having xanthoma.
- When the LDL-C is 250 mg/dL or more, FH should be strongly suspected.
- During drug therapy, the pretreatment lipid level should be employed as a reference value.
- CAD in males younger than 55 years old and females younger than 65 years old is defined as premature CAD.
- When a diagnosis of FH is made, the patient's family should also be investigated.

Diagnosis of Heterozygous FH

FH is characterized by the presence of type IIa or IIb dyslipidemia, Achilles tendon thickening, skin xanthoma, and corneal arcus. Achilles tendon thickening is evaluated based on the results of inspection and palpation (**Fig. 5**); however, when diagnosis is difficult, radiography should be conducted to measure the maximum thickness of the Achilles tendon. Patients with a maximum thickness of 9 mm or more are regarded as having thickening of the tendon (**Fig. 6**). Skin/tendon xanthoma frequently develops on the extensor sides of the hands, elbows or knees. The onset of premature CAD (age at onset: less than 55 years in males, less than 65 years in females) in the family is frequent.

New Diagnostic Criteria for FH

Mabuchi *et al.* reported that the mean LDL-C levels in genetically diagnosed heterozygous FH patients and their relatives without FH were 260.8 and 114.8 mg/dL, respectively, suggesting the definition of heterozygous FH with an LDL-C level over 161 or 163 mg/dL[12].

Previous diagnostic criteria included a total cholesterol level of 260 mg/dL or more as a major symptom, but Japanese guidelines for the management of atherogenic risks use LDL-C, so that the use of LDL-C is chosen as a more appropriate parameter to diagnose and treat FH. Based on the results of previous and preliminary studies, hyper-LDL cholesterolemia, Achilles tendon thickening, skin xanthoma, and the presence of FH or premature CAD in first and/or second degree relatives were established as major symptoms, and patients with 2 or more of these symptoms were regarded as having FH. To determine the cut-off level of LDL-C for the diagnosis, we analyzed the before-treatment data obtained from 1,356 patients who had consulted the Lipid Clinics (FH patients: 419, non-FH: 937) of the National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka University, Kyoto University, Chiba University, Nippon Medical University, and Kanazawa University. When establishing a cut-off as 180 mg/dL or more for LDL-C, the sensitivity and specificity were 94.3 and 99.1%, respectively. When establishing the cut-off as 190 mg/dL or more, the sensitivity and specificity were 92.1 and 99.1%, respectively; therefore, 180 mg/dL was employed as a more sensitive cut-off of LDL-C (Study Group of Primary Hyperlipidemia, Research report in fiscal year 2011). In this analysis, the sensitivity and specificity of LDL-C were higher than those of total cholesterol. The new diagnostic criteria prepared in this study are shown in **Table 1**. The flow chart of diagnosis is shown in **Fig. 7**. In this analysis, non-FH patients accounted for 5% of those with an LDL-C level of 250 mg/dL or more. The subjects of this analysis were those who had been followed-up at Lipid Clinics, so that this proportion should be lower in general clinical practice; therefore, it is described in our diagnostic criteria that FH should be strongly suspected when the LDL-C level is 250 mg/dL or more. FH patients with no Achilles tendon thickening but with corneal arcus are extremely rare; therefore, corneal arcus, included in the previous diagnostic criteria, was not employed in the present diagnostic criteria. Lymphocytic LDL receptor activity assay was not employed as a standard measure because there is no data accumulation.

When serious illnesses develop concomitantly, including acute myocardial infarction, LDL-C may significantly decrease and hyper-LDL cholesterolemia

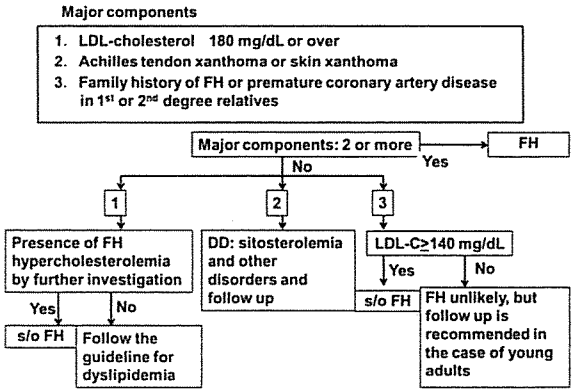


Fig. 7. Flow chart of FH diagnosis. DD: differential diagnosis

may not be apparent even in FH patients on admission. Therefore, palpation should be performed to examine the Achilles tendon and a survey of the family history must be conducted for all the patients with acute myocardial infarction.

Radiography of the Achilles Tendons

Thickening of the Achilles tendons can be measured using radiography. The angle between the lower leg bone and sole should be 90 degrees. An angle of incidence should be established involving the fibular lateral malleolus from the lateral side. The imaging distance is 120 cm. The following imaging conditions should be employed: 50 kV and 5.0 mA. Ultrasonic assessment of Achilles tendon thickening is also possible; however, it has not yet been standardized.

Differential Diagnosis

Secondary hyperlipidemia with hyper-LDL cholesterolemia (i.e. diabetes, hypothyroidism, and nephrotic syndrome), as well as familial combined hyperlipidemia (FCHL), should be differentiated from FH. FCHL can be differentiated based on the absence of tendon xanthoma, presence of small dense LDL, presence of other types of dyslipidemia (types IIa, IIb, and IV) in the family, and a less marked increase in LDL-C during childhood in comparison with FH patients. Key points to differentiate FH from FCHL are summarized in **Table 2**.

Risk Factors for Heterozygous FH and the Target Level of LDL-C in Lipid Control

The age at onset of CAD and the rate of its deterioration vary among heterozygous FH patients. Risk factors reportedly play roles in the development of CAD in Japan, as indicated by the following studies: Yagi *et al.* investigated 117 patients with heterozygous FH in the Hokuriku district and identified diabetes and hypo-HDL cholesterolemia as significant risk factors[13]. Sugisawa *et al.* reported that LDL-C 260 mg/dL or higher and/or Achilles tendon thickness 14.5 mm or thicker are useful markers for detecting patients at "very high" risk for CAD[14]. Hirobe *et al.* also indicated the involvement of hypo-HDL cholesterolemia in the onset of CAD in FH patients[15]. Yanagi *et al.* reported the involvement of diabetes and impaired glucose tolerance[16]. Nakamura *et al.* emphasized the importance of visceral fat[17]. Furthermore, the Primary Hyperlipidemia Research Group indicated that hypertriglyceridemia and hypo-HDL cholesterolemia were frequent in FH patients with CAD[18]. In The Netherlands, Rana *et al.* reported that the risk of cardiovascular events increased 1.5-fold in FH patients with metabolic syndrome, which was diagnosed using the NCEP-ATPIII criteria based on the analysis of 1,698 patients with FH[19]. Jensen *et al.* conducted a cohort study involving 2,400 patients with heterozygous FH in the Netherlands, and indicated that the risk of cardiovascular events increased 1.5-fold when lipoprotein (a) was 30 mg/dL or more[20, 21]. Holmes *et al.* performed a cohort study involving patients with heterozygous FH in Canada, and reported that the risk of

Table 2. Comparison of familial hypercholesterolemia (FH) and familial combined hyperlipidemia (FCHL)

	Heterozygous FH	FCHL
Causative gene	LDL receptors, PCSK9, Apo B-100 (single gene abnormality)	Although USF-1 and LPL have been reported as candidates, no causative gene has been identified (multi-gene abnormalities).
Frequency	1 per approximately 500 persons	1 per approximately 100 persons
Lipid profile	IIa in most patients, IIb in some patients	During the course, both patients and their families may show 3 phenotypes, IIa, IIb, and IV.
Achilles tendon thickening, skin xanthoma	Present	Absent
Juvenile corneal arcus	Present	Absent
Presence of small-dense LDL	Not frequent	Frequent
Insulin resistance	Not frequent	Frequent

PCSK9: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9
USF-1: upstream transcription factor 1, LPL: lipoprotein lipase

cardiovascular events increased 2.5-fold in those with lipoprotein (a) of 56 mg/dL or more[22]. Recently, Nenseter *et al.* indicated that lipoprotein (a) of 35 mg/dL or more was a significant risk factor for heterozygous FH[23].

Risk factors for CAD include age, hypertension, diabetes (including impaired glucose tolerance), chronic kidney disease (CKD), family history of CAD, hypo-HDL cholesterolemia, and smoking in the guidelines for the prevention of atherosclerosis in 2012. Based on these previous studies, this guideline defines risk factors for CAD development in FH patients; an age of 30 years or older in males/45 years or older in females (or postmenopausal women), pretreatment LDL-C of 260 mg/dL or more, Achilles tendon thickening (15 mm or more), lipoprotein (a) of 50 mg/dL or more, and metabolic syndrome. Therefore, to prevent CAD in FH patients, risks other than LDL-C should also be extensively managed.

Since the CAD risk is very high in heterozygous FH, the target level of LDL-C management should be set similarly to secondary prevention; less than 100 mg/dL; however, this target may not be achievable in many cases of FH. Even when LDL-C does not reach the target level, physicians may be advised to target LDL-C reduction more than 50% of the pretreatment value. In the ASAP study, 325 patients with FH were assigned to receive high-dose atorvastatin (80 mg/day) or simvastatin (40 mg/day), and were followed-up for 2 years. LDL-C in the atorvastatin group (LDL-C: 308 to 149 mg/dL) decreased more markedly than in the simvastatin group (LDL-C: 321 to 185 mg/dL). When measuring IMT using carotid ultrasonography, intima-media thickness (IMT) increased in the latter whereas it significantly decreased in the former[24]; therefore, 50% or more decrease in LDL-C may be beneficial. As clinical studies without lipid-lowering therapy cannot be conducted on FH patients for ethical reasons, there is no evidence regarding these target levels. Even when LDL-C reaches the target goal, the absence of events may not be assured. It should be noted that the risk chart published by the Japan Atherosclerosis Society cannot be applied for risk assessment of FH patients.

The goal of the treatment in this guideline should be employed for FH patients aged 30 years or older. As a rule, treatment should be performed under specialist guidance. In particular, FH patients aged 15 to 29 years must be treated under specialist guidance. Therapeutic strategies for women who may become pregnant are described in another section.

Treatment of Heterozygous FH

As FH patients show severe hyper-LDL cholesterolemia, the direct influence of lifestyle modifications on the plasma lipoprotein profile, such as diet and exercise, and on the prognosis remains uncertain; however, lifestyle modifications may positively influence other risk management so they are recommended even when the rate of LDL-C decrease is limited to 2 or 3%. It is extremely important to instruct smokers to quit smoking.

Diet Therapy

Diet management should also be performed for

Table 3. Diagnostic criteria for heterozygous FH in children

1. Hypercholesterolemia: Pretreatment LDL-C level ≥ 140 mg/dL (When the total cholesterol level is 220 mg/dL or more, LDL-C should be measured.)
2. Family history of FH or premature CAD (second degree relative)

- As clinical symptoms such as tendon xanthoma are absent in children, FH diagnosis in their families is important.
- As there are changes in LDL-C level during the growth period, close follow-up is necessary.
- CAD in males younger than 55 years old and females younger than 65 years old is defined as premature CAD.

FH patients. There is no diet therapy regimen specific to FH, and standard diet therapy for hypercholesterolemia should be applied. Maintaining good compliance is more important for FH patients.

Exercise Therapy

Exercise should also be helpful for FH patients; however, the presence of insidious CAD should be carefully screened before starting exercise therapy, as their CAD risk is high. History taking, electrocardiography, stress electrocardiography, and echocardiography should be performed to evaluate coronary function. When the presence of CAD is suspected, exercise therapy should be conducted cautiously after appropriate treatment.

Drug Therapy

Normalization of the plasma lipid and lipoprotein profile cannot be achieved in most FH patients by lifestyle modification alone. Drug therapy is therefore required. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) are chosen as first-line drugs. Retrospective analysis of 329 patients with heterozygous FH in Japan demonstrated that the use of statins significantly delayed the onset of CAD[25].

Statin therapy should be started with an "initial" dose, and the dose should be adjusted while observing its efficacy and side effects. The LDL-C-lowering effects of statins are potentiated in a dose-dependent manner, but the frequency and severity of side effects may also increase. It is necessary to examine the presence of myalgia by inquiry, and to evaluate liver function parameters, such as AST and ALT, as well as CK, particularly cautiously during the initial month and thereafter periodically. Rhabdomyolysis is the most serious side effect and should not be overlooked.

When patients do not respond to monotherapy with statins, combination therapy with other lipid-lowering agents may be beneficial to decrease LDL-C, such as ezetimibe, bile acid resins (cholestyramine, colestimide), probucol, fibrates, and nicotinic acid derivatives. However, it remains undermined whether these combination therapies are more effective to inhibit or delay the onset of cardiovascular events in patients with FH than monotherapy with statins. In the ENHANCE study, 720 patients with heterozygous FH were assigned to receive 80 mg/day simvastatin alone or combination therapy with 10 mg/day ezetimibe, and followed-up for 24 months. In the combination therapy group, the rate of LDL-C decrease was significantly greater (combination therapy group: 58% vs. monotherapy group: 41%, $p<0.01$). However, there was no significant difference in the carotid IMT between the two groups (combination therapy group: 0.0111 mm vs. monotherapy group: 0.0058 mm)[26]. IMT is a surrogate marker for CAD and the IMT values measured before the treatment were within the normal range in this trial, so it should be clarified in the future whether additional therapy significantly reduces thickened IMT and inhibits the onset of cardiovascular events in FH patients.

For patients with statin intolerance due to side effects such as myalgia and liver dysfunction, monotherapy or combination therapy with the above lipid-lowering agents should be performed in order to avoid or reduce the dose of statins. In Japan, the results of a retrospective study suggested that probucol delays the onset of recurrent CAD in patients with heterozygous FH[27].

To establish safe treatment for FH patients, a long-term, large-scale study is necessary. Extensive drug therapy with statins or a combination should be performed for FH patients based on carefully informed consent by the patients and/or their family after evaluating the balance between the risk of atherosclerosis and safety of the treatments. For safety evaluation of combination therapy, a study involving 248 adolescent males and females with heterozygous FH showed that there was no increase in the incidence of adverse reactions in patients receiving combination therapy with simvastatin and ezetimibe in comparison with monotherapy with simvastatin[28]; however, combination therapy with statins and fibrates is contraindicated in the presence of kidney dysfunction.

LDL Apheresis for Heterozygous FH

For heterozygous FH patients, LDL apheresis is covered by public health insurance when the total cholesterol exceeds 400 mg/dL in a steady state under diet therapy and does not decrease to 250 mg/dL or less by drug therapy in the presence of coronary lesion. It is appropriate to choose LDL apheresis for drug-resistant FH patients with severe CAD.

Screening/Follow-Up of Cardiovascular Disease (CVD)

Heterozygous FH patients develop systemic atherosclerotic disorders including CAD in the early stage of life, so early screening for these disorders is necessary. When atherosclerotic vascular disorders are found, early treatment and careful follow-up should be carried out. CAD can be fatal, so screening for CAD should be performed at 1- to 2-year intervals. For the diagnosis of CAD, history taking, electrocardiography, stress electrocardiography (master double, ergometer, and treadmill), echocardiography, and stress myocardial scintigraphy are to be performed. When CAD is suspected in these examinations, coronary multidetector-row computed tomography (MDCT) should be conducted to identify the site of coronary stenosis. When stenosis is suspected on MDCT, coronary angiography should be performed; however, FH patients frequently show calcification, which sometimes makes it difficult to make a diagnosis. Coronary angiography findings characteristic of heterozygous FH include marked stenotic lesions at the origin and dilative lesions downstream (coronary aneurysms). Coronary lesions in FH patients are often severe and multi-vessel. As systemic atherosclerosis develops in most patients with heterozygous FH, examination procedures must be performed carefully, considering complications such as thrombosis/embolism.

To evaluate carotid atherosclerosis in patients with heterozygous FH, vascular murmur hearing and carotid ultrasonography are helpful. When stenosis is suspected, MR angiography, CT angiography, or angiography should be performed. To evaluate the presence of cerebral infarction, magnetic resonance imaging (MRI) and CT should be carried out if necessary.

In some patients with heterozygous FH, peripheral arterial disease (PAD) develops concomitantly; therefore, the presence of intermittent claudication should be investigated by history taking. To evaluate arteriosclerosis of the femoral artery, the ankle-brachial blood pressure index (ABI) should be measured. In addition, when stenosis is suspected, femoral artery ultrasonography (Doppler method), CT angiography, and MR angiography should be performed.

To assess valvular disorders such as aortic valve stenosis (AS), echocardiography should be conducted. In severe cases having a decrease in the aortic valve orifice area with marked differences in the aortic valve pressure, aortic valve replacement may be performed. When selecting this procedure, the preoperative assessment of concomitant arteriosclerotic lesions, especially CAD, is necessary.

FH in Children

CAD may not be an apparent clinical manifestation in children with heterozygous FH; however, autopsy findings in the Bogalusa Heart Study[29] and Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY)[30] demonstrated that atherosclerotic changes were already present in children; therefore, starting intervention for dyslipidemia in childhood is important to prevent CAD in heterozygous FH.

Diagnosis of Heterozygous FH in Children

Hyper-LDL cholesterolemia is already present at birth in heterozygous FH. In many of these patients; however, hyper-LDL cholesterolemia-related physical symptoms may not become apparent in childhood, such as Achilles tendon xanthoma and corneal arcus. Therefore, FH in children is diagnosed based on hyper-LDL cholesterolemia and the family history. To make a diagnosis of FH in children, their parents' history of FH is essential; therefore, it is important to make a definitive diagnosis of FH in the parent when either parent has hyper-LDL cholesterolemia. Diagnostic criteria for FH in children are listed in **Table 3**. As 95% of healthy children show LDL-C of 140 mg/dL or less[31], a reference value for screening was established as 140 mg/dL. Briefly, 1 per 15 to 25 children with LDL-C of 140 mg/dL or more may have FH.

FH in Screening of Children

FH can be screened during infancy[32]. Definitive diagnosis of FH should be made before the age of 10 to consider intervention, anticipating an effect of diet therapy on psychosomatic growth and the development of arteriosclerotic lesions. Ideally, FH screening should be conducted by measuring the serum lipid level once around 10 years of age in all children[33, 34]. Average Japanese children undergo a hematology and blood biochemistry check-up at least a few times before they reach 10 years old of age on various occasions, including health checks and consultations for diseases. The examination mostly includes a total cholesterol

test; therefore, the awareness of the guidelines by pediatricians should increase the chance of early identification of FH.

When a pediatric patient has LDL-C exceeding 140 mg/dL, a family member(s) diagnosed with FH, and a family history of hyper-LDL cholesterolemia or premature CAD, extensive examination must be performed to make a definitive diagnosis. The diagnostic criteria shown in **Table 3** were prepared to screen heterozygote FH children. When FH is suspected, it is necessary to refer them to a specialist.

Risk Factors for FH in Children

FH patients with risk factors for CAD have a higher risk, especially for hyper-LDL cholesterolemia and obesity, thickened IMT during childhood, coronary calcification, and vascular endothelial dysfunction during adulthood[29, 35-37]. Therefore, assessment and management of risk is important during childhood. Primary risk factors in children with heterozygous FH include a family history of CAD (within second degree relatives), obesity (degree of obesity: 20% or more), diabetes (including impaired glucose tolerance), hypertension (>125/70 mmHg), hypo-HDL cholesterolemia, and smoking. The number of these primary risk factors can be used as an index for treatment.

Diagnosis of Atherosclerotic Disease in Children

To evaluate atherosclerosis in children with heterozygous FH, non-invasive methods should be employed. IMT measurement with carotid ultrasonography is useful for evaluation of the deterioration of atherosclerosis and treatment response.

Treatment of Heterozygous FH in Children

Nutritional Guidance and Lifestyle Modification

When a diagnosis of heterozygous FH is made, the patients and parents should be advised to improve their lifestyle as early as possible. Those who smoke must stop smoking for their lifetime. It is also important to encourage their families to cease smoking. When the weight of the patients is within +20% of the standard body weight (in the absence of obesity), the dietary fat content should be less than 30% of the standard total energy intake with the saturated fatty acid 7 to 10%. Dietary cholesterol intake should be limited to 300 mg/day[38, 39]. When the body weight exceeds 20% of the standard body weight, energy intake and dietary fat/saturated fatty acid must be limited similarly to obesity treatment. Initial diet therapy should continue for 6 months to 1 year, as described in the NCEP guidelines in the United States[55]. A common standard Japanese diet is acceptable for the first step as far as it meets the requirement above, and more active dietary intervention is conducted in the second step. Lifestyle modification is useful for reducing risk factors; however, LDL-C decrease is insufficient for many patients[40-42]. The effect must be reviewed while considering potential drug therapy.

Drug Therapy

Evidence has not yet been established regarding the age at which heterozygous FH patients should start drug treatment. Nevertheless, appropriate LDL-C control should be achieved because atherosclerotic changes of coronary arteries are observed at a young age in these patients. The American Academy of Pediatrics proposed that lipid-lowering therapy should be initiated in children with LDL-C of 190 mg/dL or more, those with LDL-C of 160 mg/dL or more having a family history of premature CAD, and those with 2 or more risk factors. When the effects of lifestyle modification are not sufficient, drug therapy should be considered in boys aged 8 to 10 years or older or girls experiencing menarche[54]. In high-risk patients with tendon xanthoma/aortic valve stenosis or a family history of CAD, differentiation from homozygous FH is important and drug therapy may be initiated at a young age.

For drug therapy for children with heterozygous FH, bile acid resins have been chosen as the first-line agent as they may be considered a relatively low risk for development and growth; however, these resins do not have high potency for decreasing LDL-C, and compliance does not seem to be high. On the other hand, an increasing number of clinical studies have demonstrated the safety and efficacy of statin therapy in pediatric to adolescent patients with heterozygous FH; in children with heterozygous FH, simvastatin improved endothelial function, and 2-year pravastatin therapy reduced carotid IMT[43]. With respect to safety, several studies involving approximately 200 adolescent patients with heterozygous FH, aged 8 years or older, reported that short-term (2 years or less) therapy with lovastatin, simvastatin, pravastatin, or rosuvastatin effectively decreased LDL-C without influencing development, sexual maturation, testis volume, and blood gonadotropin and liver/muscular enzyme levels[44-47]. Based on these findings, statin therapy may be chosen when thickening of the Achilles tendon or an increase in the IMT is observed in children with FH; however, drug therapy for FH in children should be under cautious and extensive guidance by specialists.

Heterozygous FH in Women

Premenopausal Women

Although lifestyle modification is a basic strategy for female patients, it is necessary to decrease LDL-C by drug therapy[48]. The patients should consult specialists in dyslipidemia treatment after adolescence to decide the timing and types of drug therapy, considering the risks in individual patients.

There are two female-specific problems with FH drug therapy; pregnancy and oral contraceptives (OCs). During pregnancy, drug therapy other than bile acid resins therapy should be avoided due to the risk of fetal anomalies. According to the National Institute for Health and Clinical Excellence, drug therapy should be promptly discontinued when patients are identified to be pregnant. Drug administration should be discontinued for 3 months before trying to become pregnant.

OCs are administered to many patients not only for contraception, but also to relieve menstrual pain and hypermenorrhea. The influence of OCs on the risk of myocardial infarction in healthy females was investigated and showed that the increase of the odds ratios with first- and second-generation OCs was 2.21 (1.30-3.76) and 2.17 (1.76-2.69), respectively, but there was no increase with third-generation OCs, 1.27 (0.96-1.67)[49]. Another study regarding combination therapy with statins and OCs involving healthy women reported that statins exhibited lipid-lowering effects without reducing the hormonal effects of OCs[50], showing that combination therapy with OCs and statins is not always contraindicated for premenopausal women with FH. However, the scale of their study was relatively small and the confidence interval was large; therefore, when selecting combination therapy, the risks/benefits must be sufficiently explained.

Postmenopausal Women

LDL-C increases in women after menopause[51], and the increase in FH patients is greater than in healthy women. It is therefore necessary to reduce LDL-C more intensively by lifestyle modification and drug therapy with statins.

Hormonal replacement therapy (HRT) to treat climacteric disturbance also improves lipid metabolism by decreasing LDL-C and increasing HDL-C[52]. A study involving healthy postmenopausal women reported that the combination of HRT and statin therapy potently decreased LDL-C[53]. Another observational study indicated that HRT reduced the risk of myocardial infarction[54]; however, double-blind studies, the Women's Health Initiative (WHI)[55] and Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS)[56], ruled out primary/secondary preventive effects of HRT on the risk of myocardial infarction. In fact, the results indicated that the risk increased; however, a recent observational study regarding percutaneous estrogen administration in Europe reported that the risk of myocardial infarction significantly reduced, differing from oral administration[57]. Therefore, it may be important to consider differences related to the route of administration when evaluating the risk of myocardial infarction. The influence of HRT in postmenopausal women with FH on the risk of myocardial infarction remains to be clarified.

Diagnosis of homozygous FH

Homozygous FH can be diagnosed based on clinical features: serum total cholesterol of 600 mg/dL or more, cutaneous xanthoma, premature CAD during childhood, and parents' family history of heterozygous FH. Cutaneous xanthoma during childhood is characteristic of this disease. On many occasions, patients may initially consult a dermatologist. When it is difficult to differentiate homozygous from severe heterozygous FH, it is possible to make a definitive diagnosis based on the detection of reduced LDL receptor activity in fibroblasts/lymphocytes (20% or less of the normal activity)[58] and LDL-receptor, ApoB or PCSK9 gene mutations.

A condition in which mutations of the LDL receptor or ApoB gene, or gain-of-function mutations of PCSK9 are present in both alleles is defined as homozygous FH. It is impossible to clinically differentiate homozygous FH patients with LDL-receptor mutation from those with PCSK9 mutations[59, 60]. Response to treatment may differ in the two types of homozygous FH. Since the incidences of both types are relatively high, concomitant development of LDL-receptor and PCSK9 abnormalities must be taken into account. LDL-receptor and PCSK9 mutations are present in respective alleles in these patients, so that they are not genetically homozygotes. This condition is, however, clinically undistinguishable from homozygous FH in some cases. A few other types of primary hypercholesterolemia to be differentiated exist, although cases are relatively rare. Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) is one such type. Homozygous ARH is also impossible to differentiate from homozygous FH based on clinical features of the patient. LDL receptor adapter protein 1 (LDLRAP1) is a gene causing ARH[61], and heterozygous ARH is usually asymptomatic; therefore, the family history is important[62]. Sitosterolemia also causes xanthoma and

CVD in many cases, similarly to FH. It induces a marked increase in the blood vegetable sterol concentration due to ABCG5 or ABCG8 mutations[63]; however, most patients show normal LDL-C[64, 65]. For differential diagnosis, the family history and measurement of the blood levels of plant sterols (sitosterol, campesterol) are useful. Cerebrotendinous xanthomatosis (CTX) is known as an autosomal recessive disease with marked tendon xanthoma[66]. In the presence of this disease, sterol 27-hydroxylase abnormalities increase the blood cholestanol level, causing mental retardation and/or neurological symptoms as well as marked tendon xanthomatosis; however, CTX does not show hypercholesterolemia. As a disease with a similar condition, pseudohomozygous type II hypercholesterolemia is known, although its pathogenesis is genetically unclear. Patients' parents do not show marked hypercholesterolemia and favorably respond to diet therapy and bile acid resins[67, 68].

Drug Therapy for Homozygous FH

As described for patients with heterozygous FH, lifestyle modification also comprises basic treatment for patients with homozygous FH; however, the risk of CAD onset/deterioration is markedly high in these patients. Therefore, potent LDL-C-lowering therapy is required at a young age; however, most LDL-lowering agents act through increasing LDL receptor activity, such as bile acid resins and statins, so these drugs are not expected to be effective for the majority of homozygous FH where the LDL receptor is absent. Probucol exhibits limited specific LDL-C-lowering effects in patients with homozygous FH. A study reported that probucol therapy led to the reduction/disappearance of skin/Achilles tendon xanthoma[69]; therefore, LDL apheresis therapy at 1- to 2-week intervals is necessary. Drug treatment including statins generally helps to decrease the rebound rate of LDL-C after individual LDL apheresis treatment. In the statement "to decrease the risk of cardiovascular events in high-risk children" published by the American Heart Association (AHA) in 2006, it is recommended that combination therapy with high-dose statins or ezetimibe be started at a young age in addition to LDL apheresis[35].

In homozygous FH patients who wish to become pregnant, CAD/aortic valve stenosis/supravalvular stenosis screening should be conducted for the continuation of pregnancy and easy delivery. If necessary, appropriate treatment must be performed[70]. An animal experiment showed the teratogenicity of statins. As the safety of lipid-lowering agents other than bile acid resins, regarding administration to humans during pregnancy, has not been established, physicians must instruct hetero-/homozygous FH patients to discontinue therapy with lipid-lowering agents other than bile acid resins at least 3 months before trying to become pregnant and during the lactation period after delivery.

LDL Apheresis in Patients with Homozygous FH

Start of LDL Apheresis Therapy

When LDL apheresis therapy was introduced after 10 years of age, the prognosis of the patient was unfavorable[71], so treatment should be started as early as possible[72]; however, it is difficult to start this therapy until children become able to cooperate, such as resting during the treatment, usually at 4 to 6 years of age. There are some infants with coronary stenosis, complete obstruction, aortic valve stenosis, or supravalvular stenosis. During infancy, the plasma exchange method may be chosen since the extracorporeal volume of the device is small.

Effects of LDL Apheresis

Some studies have reported that LDL apheresis therapy was safe in children without influencing development/growth, and that this therapy led to the reduction/disappearance of skin xanthoma, inhibiting exacerbation of aortic valve stenosis/supravalvular stenosis, which are characteristic of homozygous FH, and coronary lesions, or resulting in improvement[73-80]. Iron-deficiency anemia is the most frequent side effect. During treatment, blood pressure may fall due to a decrease in the circulating blood volume in some patients. LDL apheresis therapy should be performed with caution, particularly in patients with aortic valve/CAD. LDL apheresis using LDL adsorption columns needs special attention as they have a negative charge, increasing the bradykinin level by activating the blood coagulation system. Therefore, combination therapy with angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors may cause anaphylactic symptoms and is contraindicated.

Pregnancy/Delivery in Patients with Homozygous FH

It is important for patients with homozygous FH to plan their pregnancy. Before pregnancy, screening should be conducted using echocardiography, electrocardiography, stress electrocardiography, and carotid ultrasonography to evaluate CVD. Lipid-lowering agents other than bile acid resins must be discontinued 3 months before trying to become pregnant. In FH patients, LDL-C and triglyceride further increase during pregnancy. In particular, these two parameters increase by approximately 30 and 100%, respectively, after week 24 of pregnancy[81]. In FH patients, the blood coagulation capacity and platelet function are enhanced during pregnancy, increasing blood viscosity[82]. In pregnant women with homozygous FH, uteroplacental blood flow is less abundant than in those with normal pregnancy. In addition, LDL apheresis therapy improves blood flow[83]. In the third pregnancy trimester, especially on delivery, high-intensity stress is added to the cardiovascular system; therefore, LDL apheresis should be performed during pregnancy. Several studies have reported that LDL apheresis therapy could be safely conducted during pregnancy, leading to delivery[72, 84, 85]. During lactation, lipid-lowering agents other than bile acid resins should also be discontinued, and periodic LDL apheresis therapy must be continued for LDL-C control.

Designation of Homozygous FH as a Specific Disease

In October 2009, homozygous FH was designated as a disease to be covered in the Specific Disease Treatment Research Business in Japan. Designation criteria include marked hypercholesterolemia, presence of skin xanthoma during childhood, and resistance to drug therapy in addition to a definitive diagnosis made on analysis of genes involved in the route of LDL metabolism or measurement of LDL receptor activity. Therefore, in addition to typical homozygous FH patients, severe hypercholesterolemic patients who resist drug therapy, even though genetic diagnosis had not led to a definitive diagnosis, are also included. These patients can receive a subsidy for the health expenditure for chronic LDL apheresis. The procedures for FH specific disease authorization are described on the homepage of the Specific Disease Treatment Research Business published by the Japan Intractable Diseases Information Center, Ministry of Health, Labour and Welfare (http://www.nanbyou.or.jp/what/nan_kenkyu_45.htm).

Acknowledgments

This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare (H23-seisakutansaku-ippan-004 and Research on Measures for Intractable Diseases") and the Cardiovascular Research Foundation (Suita, Japan).

Disclosures

COI

Dr. Harada-Shiba
- Kowa Co. Ltd. – Honoraria
- MSD – Research Grants
- Kaneka Medix Co. Ltd. – Research Grants

Dr. Arai
- MSD – Honoraria
- Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Honoraria and Research Grants
- Kowa Co. Ltd. – Honoraria
- Otsuka Co. Ltd. – Research Grants

Dr. Oikawa
- Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Research Grants
- MSD – Research Grants

Dr. Ohta
- None

Dr. Okada
- None

Dr. Okamura
- None

Dr. Nohara
- MSD – Research Grants
- Kaneka Medix Co. Ltd. – Research Grants
- Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Research Grants
- Shionogi & Co. Ltd. – Research Grants
- Kowa Co. Ltd. – Research Grants

Dr. Bujo
- None

Dr. Yokote
- MSD K.K. – Honoraria
- Ono Pharmaceutical Co. Ltd. – Honoraria
- Pfizer Co. Ltd. – Honoraria
- Astellas Pharma Inc. – Honoraria
- Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. – Honoraria
- Kowa Pharmaceutical Co. Ltd. – Honoraria
- Novartis Pharma K.K. – Research Grants
- MSD K.K. – Research Grants
- Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. – Research Grants
- Daiichi-Sankyo Co. Ltd. – Research Grants
- Eli Lilly Japan K.K. – Research Grants
- Sanofi-Aventis K.K. – Research Grants
- Novo Nordisk Pharma Ltd. – Research Grants
- Pfizer Co. Ltd. – Research Grants
- Dainippon Sumitomo Pharma Co. Ltd. – Research Grants
- Kyowa Hakko Kirin Co. Ltd. – Research Grants
- Astellas Pharma Inc. – Research Grants
- Shionogi & Co. Ltd. – Research Grants

Dr. Wakatsuki
- None

Dr. Ishibashi
- Kowa Co. Ltd. – Honoraria
- MSD – Research Grants

Takeda Pharmaceutical Co.Ltd. – Research Grants
Dr. Yamashita
MSD – Honoraria
Kowa Co. Ltd. – Honoraria, Advisory Board
Skylight Biotech Inc. – Advisory Board
Astellas Pharma Inc. – Research Grants
MSD – Research Grants
Kissei Co. Ltd. – Research Grants
Otsuka Co. Ltd. – Research Grants
Shionogi & Co. Ltd. – Research Grants

References

1) Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, Takeda R: Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. Circulation, 1989; 79: 225-232
2) Rees A: Familial hypercholesterolaemia: underdiagnosed and undertreated. Eur Heart J, 2008; 29: 2583-2584
3) Teramoto T: Status of lipid-lowering therapy prescribed on recommendations in the 2002 report of the Japan Atherosclerosis Society Guideline for Diagnosis and Treatment of Hyperlipidemia in Japanese Adults: A study of the Japan Lipid Assessment Program (J-LAP). Curr Ther Res, 2005; 66: 80-95
4) Mabuchi H: Introduction to Hyperlipidemia. Edited by Asai H, pp35-61, Bunkodo, Tokyo, 2005
5) Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Ishibashi S, Shionoiri F, Yamada N, Kita T: Clinical features of familial hypercholesterolemia in Japan in a database from 1996-1998 by the research committee of the ministry of health, labour and welfare of Japan. J Atheroscler Thromb, 2004; 11: 146-151
6) Neil HA, Hawkins MM, Durrington PN, Betteridge DJ, Capps NE, Humphries SE: Non-coronary heart disease mortality and risk of fatal cancer in patients with treated heterozygous familial hypercholesterolaemia: a prospective registry study. Atherosclerosis, 2005; 179: 293-297
7) Yu W, Nohara A, Higashikata T, Lu H, Inazu A, Mabuchi H: Molecular genetic analysis of familial hypercholesterolemia: spectrum and regional difference of LDL receptor gene mutations in Japanese population. Atherosclerosis, 2002; 165: 335-342
8) Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Yamagishi M, Inazu A, Koizumi J: Molecular genetic epidemiology of homozygous familial hypercholesterolemia in the Hokuriku district of Japan. Atherosclerosis, 2011; 214: 404-407
9) Ohta N, Yoshida H, Teramoto T, Oikawa S, Saito Y, Yamada N, Shirai K, Ishibashi S, Ishikawa T, Yoshino G, Hirano T: Survey regarding hyperlipidemia treatment in Japan (Survey 1: Complications in hyper-LDL-cholesterolemia and familial hypercholesterolemia patients, as well as survey regarding selected drugs)-LiMAP1-. 37th meeting held by the Japan Atherosclerosis Society, 2005;
10) Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Ishibashi S, Ohashi K, Shionoiri F, Gotoda T, Yamada N, Kita T, on behalf of Research Committee on Primary Hyperlipidemia of the Ministry of Health and Welfare of Japan: Mutations in Japanese subjects with primary hyperlipidemia. –Results from the research committee of the Ministry of Health and Welfare of Japan since 1996–. J Atheroscler Thromb, 2004; 11: 131-145
11) Noguchi T, Katsuda S, Kawashiri MA, Tada H, Nohara A, Inazu A, Yamagishi M, Kobayashi J, Mabuchi H: The E32K variant of PCSK9 exacerbates the phenotype of familial hypercholesterolaemia by increasing PCSK9 function and concentration in the circulation. Atherosclerosis, 2010; 210: 166-172
12) Mabuchi H, Higashikata T, Nohara A, Lu H, Yu WX, Nozue T, Noji Y, Katsuda S, Kawashiri MA, Inazu A, Kobayashi J, Koizumi J: Cutoff point separating affected and unaffected familial hypercholesterolemic patients validated by LDL-receptor gene mutants. J Atheroscler Thromb, 2005; 12: 35-40
13) Yagi K, Hifumi S, Nohara A, Higashikata T, Inazu A, Mizuno KO, Namura M, Ueda K, Kobayashi J, Shimizu M, Mabuchi H: Difference in the risk factors for coronary, renal and other peripheral arteriosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia. Circ J, 2004; 68: 623-627
14) Sugisawa T, Okamura T, Makino H, Watanabe M, Kishimoto I, Miyamoto Y, Iwamoto N, Yamamoto A, Yokoyama S, Harada-Shiba M: Defining Patients at Extremely High Risk for Coronary Artery Disease in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. J Atheroscler Thromb, 2012; 19: 369-375
15) Hirobe K, Matsuzawa Y, Ishikawa K, Tarui S, Yamamoto A, Nambu S, Fujimoto K: Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 1982; 44: 201-210
16) Yanagi K, Yamashita S, Kihara S, Nakamura T, Nozaki S, Nagai Y, Funahashi T, Kameda-Takemura K, Ueyama Y, Jiao S, Kubo M, Tokunaga K, Matsuzawa Y: Characteristics of coronary artery disease and lipoprotein abnormalities in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia associated with diabetes mellitus or impaired glucose tolerance. Atherosclerosis, 1997; 132: 43-51
17) Nakamura T, Kobayashi H, Yanagi K, Nakagawa T, Nishida M, Kihara S, Hiraoka H, Nozaki S, Funahashi T, Yamashita S, Kameda-Takemura K, Matsuzawa Y: Importance of intra-abdominal visceral fat accumulation to coronary atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolaemia. International journal of obesity and related metabolic disorders, 1997; 21: 580-586
18) Report in 1986 published by the Specific Disease Primary Hyperlipidemia Survey Research Group, Ministry of Health, Labour and Welfare
19) Rana JS, Jansen AC, Zwinderman AH, Nieuwdorp M, van Aalst-Cohen ES, Jukema JW, Trip MD, Kastelein JJ: Metabolic syndrome and risk of coronary, cerebral, and peripheral vascular disease in a large Dutch population with familial hypercholesterolemia. Diabetes Care, 2006, 29: 1125-1127
20) Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Trip MD, Lansberg PJ, Liem AH, van Lennep HW, Sijbrands EJ, Kastelein JJ: The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. J Intern Med, 2004; 256: 482-490
21) Jensen HK, Hansen PS, Jensen LG, Kristensen MJ, Klausen IC, Kjeldsen M, Lemming L, Bolund L, Gregersen N, Faergeman O: Complexity of molecular genetics of dyslipidemia in a family highly susceptible to ischemic heart disease. Clinical genetics, 1995; 48: 23-28
22) Holmes DT, Schick BA, Humphries KH, Frohlich J: Lipoprotein(a) is an independent risk factor for cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. Clin Chem, 2005; 51: 2067-2073
23) Nenseter MS, Lindvig HW, Ueland T, Langslet G, Ose L, Holven KB, Retterstol K: Lipoprotein(a) levels in coronary heart disease-susceptible and -resistant patients with familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 2011; 216: 426-432
24) van Wissen S, Smilde TJ, de Groot E, Hutten BA, Kastelein JJ, Stalenhoef AF: The significance of femoral intima-media thickness and plaque scoring in the Atorvastatin versus Simvastatin on Atherosclerosis Progression (ASAP) study. European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation, 2003; 10: 451-455
25) Harada-Shiba M, Sugisawa T, Makino H, Abe M, Tsushima M, Yoshimasa Y, Yamashita T, Miyamoto Y, Yamamoto A, Tomoike H, Yokoyama S: Impact of statin treatment on the clinical fate of heterozygous familial hypercholesterolemia. J Atheroscler Thromb, 2010; 17: 667-674
26) Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, Zwinderman AH, Bots ML, Stalenhoef AF, Visseren FL, Sijbrands EJ, Trip MD, Stein EA, Gaudet D, Duivenvoorden R, Veltri EP, Marais AD, de Groot E: Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. N Engl J Med, 2008; 358: 1431-1443
27) Yamashita S, Bujo H, Arai H, Harada-Shiba M, Matsui S, Fukushima M, Saito Y, Kita T, Matsuzawa Y: Long-term probucol treatment prevents secondary cardiovascular events: a cohort study of patients with heterozygous familial hypercholesterolemia in Japan. J Atheroscler Thromb, 2008; 15: 292-303
28) van der Graaf A, Cuffie-Jackson C, Vissers MN, Trip MD, Gagne C, Shi G, Veltri E, Avis HJ, Kastelein JJ: Efficacy and safety of coadministration of ezetimibe and simvastatin in adolescents with heterozygous familial hypercholesterolemia. J Am Coll Cardiol, 2008; 52: 1421-1429
29) Li S, Chen W, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Urbina EM, Berenson GS: Childhood cardiovascular risk factors and carotid vascular changes in adulthood: the Bogalusa Heart Study. JAMA, 2003; 290: 2271-2276
30) Natural history of aortic and coronary atherosclerotic lesions in youth. Findings from the PDAY Study. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Arterioscler Thromb, 1993; 13: 1291-1298
31) Okada T, Murata M, Yamauchi K, Harada K: New criteria of normal serum lipid levels in Japanese children: the nationwide study. Pediatr Int, 2002; 44: 596-601
32) Hattori H NM, Kawamura K, Ishii J, Tsuji M, Iwata F, Yamamura T, Miyake Y, Egashira T, Okada T, Cooper JA, Miller NE, Emi M, Yamamoto A: A flow cytometric procedure to measure functional LDL receptors for diagnosis of familial hypercholesterolemia. Edited by pp357-363, MEDIMOND Inc, Salzburg, 2002
33) Ohta T, Kiwaki K, Endo F, Umehashi H, Matsuda I: Dyslipidemia in young Japanese children: its relation to familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipidemia. Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society, 2002; 44: 602-607
34) Haney EM, Huffman LH, Bougatsos C, Freeman M, Steiner RD, Nelson HD: Screening and treatment for lipid disorders in children and adolescents: systematic evidence review for the US Preventive Services Task Force. Pediatrics, 2007; 120: e189-214
35) Kavey RE, Allada V, Daniels SR, Hayman LL, McCrindle BW, Newburger JW, Parekh RS, Steinberger J: Cardiovascular risk reduction in high-risk pediatric patients: a scientific statement from the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science; the Councils on Cardiovascular Disease in the Young, Epidemiology and Prevention, Nutrition, Physical Activity and Metabolism, High Blood Pressure Research, Cardiovascular Nursing, and the Kidney in Heart Disease; and the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. Circulation, 2006; 114: 2710-2738
36) Mahoney LT, Burns TL, Stanford W, Thompson BH, Witt JD, Rost CA, Lauer RM: Coronary risk factors measured in childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults: the Muscatine Study. J Am Coll Cardiol, 1996; 27: 277-284
37) Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM: Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. Circulation, 2001; 104: 2815-2819
38) Klag MJ, Ford DE, Mead LA, He J, Whelton PK, Liang KY, Levine DM: Serum cholesterol in young men and subsequent cardiovascular disease. N Engl J Med, 1993; 328: 313-318
39) National Cholesterol Education Program (NCEP): highlights of the report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. Pediatrics, 1992; 89: 495-501
40) Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. Pediatrics, 2011; 128 Suppl 5: S213-256
41) Rask-Nissila L, Jokinen E, Ronnemaa T, Viikari J, Tammi A, Niinikoski H, Seppanen R, Tuominen J, Simell O: Prospective, randomized, infancy-onset trial of the effects of a low-saturated-fat, low-cholesterol diet on serum lipids and lipoproteins before school age: The Special Turku Coronary Risk Factor Intervention Project (STRIP). Circulation, 2000; 102: 1477-1483
42) Efficacy and safety of lowering dietary intake of fat and cholesterol in children with elevated low-density lipoprotein cholesterol. The Dietary Intervention Study in Children (DISC). The Writing Group for the DISC Collaborative Research Group. JAMA, 1995; 273: 1429-1435
43) de Jongh S, Lilien MR, op't Roodt J, Stroes ES, Bakker

HD, Kastelein JJ: Early statin therapy restores endothelial function in children with familial hypercholesterolemia. J Am Coll Cardiol, 2002; 40: 2117-2121
44) Wiegman A, Hutten BA, de Groot E, Rodenburg J, Bakker HD, Buller HR, Sijbrands EJ, Kastelein JJ: Efficacy and safety of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia: a randomized controlled trial. JAMA, 2004; 292: 331-337
45) Stein EA, Illingworth DR, Kwiterovich PO, Jr., Liacouras CA, Siimes MA, Jacobson MS, Brewster TG, Hopkins P, Davidson M, Graham K, Arensman F, Knopp RH, DuJovne C, Williams CL, Isaacsohn JL, Jacobsen CA, Laskarzewski PM, Ames S, Gormley GJ: Efficacy and safety of lovastatin in adolescent males with heterozygous familial hypercholesterolemia: a randomized controlled trial. JAMA, 1999; 281: 137-144
46) de Jongh S, Ose L, Szamosi T, Gagne C, Lambert M, Scott R, Perron P, Dobbelaere D, Saborio M, Tuohy MB, Stepanavage M, Sapre A, Gumbiner B, Mercuri M, van Trotsenburg AS, Bakker HD, Kastelein JJ: Efficacy and safety of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with simvastatin. Circulation, 2002; 106: 2231-2237
47) Avis HJ, Hutten BA, Gagne C, Langslet G, McCrindle BW, Wiegman A, Hsia J, Kastelein JJ, Stein EA: Efficacy and safety of rosuvastatin therapy for children with familial hypercholesterolemia. J Am Coll Cardiol, 2010; 55: 1121-1126
48) Civeira F: Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 2004; 173: 55-68
49) Khader YS, Rice J, John L, Abueita O: Oral contraceptives use and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. Contraception, 2003; 68: 11-17
50) Simonson SG, Martin PD, Warwick MJ, Mitchell PD, Schneck DW: The effect of rosuvastatin on oestrogen & progestin pharmacokinetics in healthy women taking an oral contraceptive. Br J Clin Pharmacol, 2004; 57: 279-286
51) Wakatsuki A, Sagara Y: Lipoprotein metabolism in postmenopausal and oophorectomized women. Obstet Gynecol, 1995; 85: 523-528
52) Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial. JAMA, 1995; 273: 199-208
53) Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N: Effects of combination therapy with estrogen plus simvastatin on lipoprotein metabolism in postmenopausal women with type IIa hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 2000; 150: 103-111
54) Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH: Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. N Engl J Med, 1991; 325: 756-762
55) Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E: Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. JAMA, 1998; 280: 605-613
56) Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA, 2002; 288: 321-333
57) Lokkegaard E, Andreasen AH, Jacobsen RK, Nielsen LH, Agger C, Lidegaard O: Hormone therapy and risk of myocardial infarction: a national register study. Eur Heart J, 2008; 29: 2660-2668
58) Bilheimer DW, Ho YK, Brown MS, Anderson RG, Goldstein JL: Genetics of the low density lipoprotein receptor. Diminished receptor activity in lymphocytes from heterozygotes with familial hypercholesterolemia. J Clin Invest, 1978; 61: 678-696
59) Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derre A, Villeger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG, Boileau C: Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet, 2003; 34: 154-156
60) Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH: Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. Nat Genet, 2005; 37: 161-165
61) Harada-Shiba M, Tajima S, Yokoyama S, Miyake Y, Kojima S, Tsushima M, Kawakami M, Yamamoto A: Siblings with normal LDL receptor activity and severe hypercholesterolemia. Arteriosclerosis and thrombosis, 1992; 12: 1071-1078
62) Harada-Shiba M, Takagi A, Miyamoto Y, Tsushima M, Ikeda Y, Yokoyama S, Yamamoto A: Clinical features and genetic analysis of autosomal recessive hypercholesterolemia. J Clin Endocrinol Metab, 2003; 88: 2541-2547
63) Hubacek JA, Berge KE, Cohen JC, Hobbs HH: Mutations in ATP-cassette binding proteins G5 (ABCG5) and G8 (ABCG8) causing sitosterolemia. Human mutation, 2001; 18: 359-360
64) Bhattacharyya AK, Connor WE: Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters. J Clin Invest, 1974; 53: 1033-1043
65) Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, Kwiterovich P, Shan B, Barnes R, Hobbs HH: Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. Science, 2000; 290: 1771-1775
66) Kim KS, Kubota S, Kuriyama M, Fujiyama J, Bjorkhem I, Eggertsen G, Seyama Y: Identification of new mutations in sterol 27-hydroxylase gene in Japanese patients with cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). J Lipid Res, 1994; 35: 1031-1039
67) Morganroth J, Levy RI, McMahon AE, Gotto AM Jr: Pseudohomozygous type II hyperlipoproteinemia. J Pediatr, 1974; 85: 639-643
68) Fujita M, Okamoto S, Shirai K, Saito Y, Yoshida S: Pseudohomozygous type II hyperlipoproteinemia. Dermatologica, 1991; 182: 94-97
69) Yamamoto A, Matsuzawa Y, Yokoyama S, Funahashi T, Yamamura T, Kishino B: Effects of probucol on xanthomata regression in familial hypercholesterolemia. Am J Cardiol, 1986; 57: 29H-35H
70) Thorogood M, Seed M, De Mott K: Management of fertility in women with familial hypercholesterolaemia: summary of NICE guidance. BJOG, 2009; 116: 478-479
71) Thompson GR: Recommendations for the use of LDL apheresis. Atherosclerosis, 2008; 198: 247-255
72) Makino H, Harada-Shiba M: Long-term effect of low-density lipoprotein apheresis in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. Ther Apher Dial, 2003; 7: 397-401
73) Thompson GR, Lowenthal R, Myant NB: Plasma exchange in the management of homozygous familial hypercholesterolaemia. Lancet, 1975; 1: 1208-1211
74) Yokoyama S, Hayashi R, Satani M, Yamamoto A: Selective removal of low density lipoprotein by plasmapheresis in familial hypercholesterolemia. Arteriosclerosis, 1985; 5: 613-622
75) Yamamoto A, Harada-Shiba M, Kawaguchi A, Tsushima M: Apheresis technology for prevention and regression of atherosclerosis. Ther Apher, 2001; 5: 221-225
76) Mabuchi H, Michishita I, Sakai T, Sakai Y, Watanabe A, Wakasugi T, Takeda R: Treatment of homozygous patients with familial hypercholesterolemia by double-filtration plasmapheresis. Atherosclerosis, 1986; 61: 135-140
77) Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, Kajinami K, Miyamoto S, Ueda K, Takegoshi T: Long-term efficacy of low-density lipoprotein apheresis on coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. Hokuriku-FH-LDL-Apheresis Study Group. Am J Cardiol, 1998; 82: 1489-1495
78) Thompson GR, Maher VM, Matthews S, Kitano Y, Neuwirth C, Shortt MB, Davies G, Rees A, Mir A, Prescott RJ, et al.: Familial Hypercholesterolaemia Regression Study: a randomised trial of low-density-lipoprotein apheresis. Lancet, 1995; 345: 811-816
79) Kroon AA, Aengevaeren WR, van der Werf T, Uijen GJ, Reiber JH, Bruschke AV, Stalenhoef AF: LDL-Apheresis Atherosclerosis Regression Study (LAARS). Effect of aggressive versus conventional lipid lowering treatment on coronary atherosclerosis. Circulation, 1996; 93: 1826-1835
80) Aengevaeren WR, Kroon AA, Stalenhoef AF, Uijen GJ, van der Werf T: Low density lipoprotein apheresis improves regional myocardial perfusion in patients with hypercholesterolemia and extensive coronary artery disease. LDL-Apheresis Atherosclerosis Regression Study (LAARS). J Am Coll Cardiol, 1996; 28: 1696-1704
81) Amundsen AL, Khoury J, Iversen PO, Bergei C, Ose L, Tonstad S, Retterstol K: Marked changes in plasma lipids and lipoproteins during pregnancy in women with familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, 2006; 189: 451-457
82) Amundsen AL, Khoury J, Sandset PM, Seljeflot I, Ose L, Tonstad S, Henriksen T, Retterstol K, Iversen PO: Altered hemostatic balance and endothelial activation in pregnant women with familial hypercholesterolemia. Thromb Res, 2007; 120: 21-27
83) Beigel Y, Bar J, Cohen M, Hod M: Pregnancy outcome in familial homozygous hypercholesterolemic females treated with long-term plasma exchange. Acta Obstet Gynecol Scad, 1998; 77: 603-608
84) Naoumova RP, Thompson GR, Soutar AK: Current management of severe homozygous hypercholesterolaemias. Curr Opin Lipidol, 2004; 15: 413-422
85) Klingel R, Gohlen B, Schwarting A, Himmelsbach F, Straube R: Differential indication of lipoprotein apheresis during pregnancy. Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy, 2003; 7: 359-364

Recent Advances in Cardiovascular Disease
'12 May
東日本大震災支援
特別号

循環器病研究の進歩

東日本大震災支援－国循1年の取り組み

ISSN 0286-0716

Recent Advances in Cardiovascular Disease
'12 May
東日本大震災支援
特別号

循環器病研究の進歩
東日本大震災支援－国循1年の取り組み

目　次　2012年　「東日本大震災支援」特別号

巻頭言　橋本信夫　3

国循の医療支援

医療支援対策本部の活動　内藤博昭　4
付記）各部局の活動　内藤博昭　11
付記）学会・大学などとの連携　内藤博昭　13

医療スタッフプチームの派遣

震災後早期の被災地　後藤　篤　15
第1回調査チーム報告：山形県・宮城県　野々木宏　19
循環予防会の活動に参加して　宮本恵宏　32
第2回調査チーム報告：岩手県　峰松一夫，横山広行ほか　36

提言

東日本大震災被災地における循環器病対策（第1回）　44
東日本大震災被災地における循環器病対策（第2回）　46
東日本大震災被災地における循環器病対策（第3回）　49

減塩・高循環器病予防プロジェクト

プロジェクトの概要　河野雄平，岸本一郎ほか　50
付記）センターの減塩食　甘井一人　56
付記）知的資産部の関わり　西　篤一，中田はる住ほか　61
第1回講演会：岩手県盛岡市　横山広行，岸本一郎ほか　63
第2回講演会：岩手県宮古市　岸本一郎，河野雄平　71

循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究

主任研究者報告　横山広行，花田裕之ほか　81
分担研究者報告：ネットワーク構築　花田裕之　85
分担研究者報告：災害メンタルヘルス体制について　伊藤弘人，加藤寿宏ほか　90
分担研究者報告：感染対策　佐田　誠　93

巻頭言

独立行政法人国立循環器病研究センター
理事長・総長　橋本　信夫

2010年の夏の終わりに，私はかねてよりの望みだった三陸沿岸を家内と二人で旅をしました。すでに観光シーズンは終わり，静かな旅でした。八戸から2両編成ディーゼルのJR八戸線と北リアス鉄道を乗り継いで宮古で1泊し，翌日はJR山田線と南リアス線を乗り継ぎ，気仙沼で2泊目，そして3日目は大船渡線などを乗り継いで盛岡までと，単線各駅停車の列車の旅をしました。八戸線では終わり向かいの席に聡明そうな女子高生が一人乗っていました。無人駅で降りた彼女を一人待つ高校生がありました。自転車を押す彼に寄り添う様しそうな後姿が印象的でした。また気仙沼は，特に美しい漁港でした。

2011年3月11日のテレビに映し出される映像は，まさに悪夢でした。あの二人は無事だろうか，八戸から仙台まで3日かけての旅の美しい記憶は，救援の手を差し伸べるには海岸線はあまりに長く，生活は寸断された不連続な点として浮かっているという絶望的な事実となって迫ってきます。

国立循環器病研究センターでは今すぐ飛び出して行って，救援の手助けをしたいという思いがあふれていました。私は三陸海岸に至る冬の峠道の危険さを以前より聞いていました。小雪が舞う三陸沿岸へは，重装備で訓練されたチーム以外危険すぎると判断しました。翌日やっと連絡がとれた盛岡では，被害情報はほとんど入っていない様子でした。阪神・淡路大震災当時に比べてコミュニケーション手段は格段に発達しましたが，コミュニケーション手段が失われたときのコミュニケーション手段はありませんでした。あるフォーラムを介して知った会社が支援活動として「無線インターネットキット」を設置してくれるという話を聞き，岩手医科大学の小川学長に紹介することができました。過去にスマトラ島沖地震，米国ハリケーンカトリーナ災害，中国四川省地震においてインターネットを利用した救援・復興支援を行った経験があり，岩手でも大いに役立ったと聞いています。人のつながりの重要性を再認識したことでもありました。

当センターでは，我々が行うべき救援・支援のありかたについて議論が白熱し，患者受け入れ態勢の整備から，急性期医療支援，さらに長期的展望に立った戦略までを視野に入れた救援・支援のありかたが検討され，実行されていきました。一人の人間として，一医療者として，また国立循環器病研究センターの一員として，その重層的な視点からの使命感が職員のなかから湧き上がるのを強く感じました。

本冊子はそのセンター職員の行動記録であり，専門家の立場からの提言であり，そして明日に向けてのアクション，すなわちセンターのミッションの行動計画でもあります。東日本大震災の被災者の健康維持，そして次に起こるかもしれない大災害への備えとして役立てていただければ幸いです。

国循の医療支援

医療支援対策本部の活動

内藤博昭

はじめに－対策本部の立ち上げまで

突然，足もとがふらつき，思わず街路樹につかまる。脳卒中か，周囲を見回すと皆同じ様子で，自分ではなく地面のせいと気づく－2011年3月11日午後，私は東京・目黒で開催の国立病院院長協議会に出席するため会場に向かう途中で，彼の大地震を体験した。協議会は中止，帰宅難民として会場ホテルロビーで一夜を過ごし，翌朝の新幹線で大阪に戻って初めて事の重大さを認識する。野々木心臓血管内科部門長（当時）などと相談の上，14日月曜午前の幹部会議で国立循環器病研究センターとしての対応方針を協議することとした。その会議での決定事項を図1に示す。ここで基本方針と，「医療支援対策本部」の設置が決まり，具体的な対応策の立案や実施の方法は対策本部の議論に委ねられた。

Ⅰ．東日本大震災医療支援対策本部

上記のごとく，本対策本部は以降，センターの被災地医療支援と大震災のセンターへの影響対策のヘッドクォーターとして機能してきた。本稿では，そのうち医療支援に関する活動の概要を紹介する。

メンバーは病院長を本部長とし，副院長，病院の中央診療と専門診療系の各部門長，看護部長，企画戦略室長，総務部長でスタートした。事務局は総務部に置かれた。その後，心臓血管内科担当部長，予防健診部長，循環病・代謝内科医長，薬剤部長，臨床検査技師長，診療放射線技師長などが加わり，人事異動や退職による入れ替わりを経て，2012年3月1日現在で総勢22名である。橋本総長は随時での本部会議に参加し，ご意見をいただいた。

本部会議の開催は，2011年3月14日午後が初回で，その後，当初は週1回連日であり，4月より週2回，5月より週1回，7月より隔週，9月より月1回開催となった。

Ⅱ．活動の概要

1．初期（2011年3月～4月）

1）基本スタンス

本部会議の議論で，基本スタンスが確認された。即ち，医療支援には医師・医療者の派

1. 医師派遣
・国からの要請に応じ派遣
・ボランティアでの対応は可
2. 後方支援
・循環器疾患の系疾例について患者を受け入れ
・他の医療機関で対応できない症例を優先
3. 体　制
・東日本大震災医療支援対策本部を2011年3月14日付けで設置
4. 広　報
・国との連絡調整（総務部）
・対策本部の設置をホームページで広報

図1．幹部会議決定事項
（2011年3月14日幹部会議での決定事項から抜粋）

国立循環器病研究センター病院 病院長
東日本大震災医療支援対策本部 本部長

1. 心血管
　脳血栓塞栓症，たこつぼ型心筋症，重症心不全，虚血性心疾患を中心に
　　受け入れ患者数：重症5名，中等症15名
2. 脳血管
　患者搬送に耐えられる脳卒中患者全般
　　受け入れ患者数：重症患者10名
3. 小児循環器・周産期
　重症の先天性心疾患もしくは心不全の小児または胎児（母体搬送），妊婦出産に専門の管理が必要な心血管疾患を持つ妊婦など
　－受け入れ患者数：小児循環器；重症・中等症10名，周産期；5名
4. 透　析
　透析患者については，併せて手術などの必要な複雑例の受け入れを中心とする
　－受け入れ患者数：若干名

図2. 重症循環器疾患患者の受け入れ

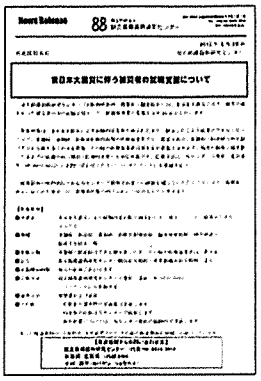


図3. 医療従事者の受け入れ

道と後方病院としての活動があり，いずれの実施においても「センターの能力が最大限に発揮できる」ことを要件とする，したがって行政や学会・拠点医療機関などの要請や連携のもとでの動きが主体となる．正式要請外での医師や医療者の現地医療参加はボランティアベースになるが，希望があればセンターとして支援する必要がある，などである．

2）後方支援

まず後方病院としての患者の受け入れにつき，早急に態度を表明するとともに，病棟などの受け入れ態勢を整備した．上記の基本スタンスに則り，当センターの性格から「重症の循環器疾患患者で他の医療機関では対応できない症例」を優先的に受け入れることを決定した．具体的な患者数などは図2の通りである．

一方，看護部の発案により，被災者の私職を支援するために，医療従事者のセンターでの受け入れを表明し，ハローワークにも掲載した（図3）．当初は，休業中の病棟に被災地の施設または病棟単位での患者と医療者を受け入れることも企図されたが，これは実現に至らなかった．振り返れば，センターへの重症循環器疾患患者の搬送，被災地の医療従事者の就職は，いずれも見られなかった．

3）医師・医療者の派遣

被災後早期での被災地における最も重要な循環器疾患として，肺血栓塞栓症（エコノミークラス症候群）とたこつぼ型心筋症を想定し，これに対するスクリーニングと診療のスペシャルチームを形成，要請により直ちに出動できることを公表した．チームの概要は図4の通りである．通常のいわゆる救命・救急

1. チームの特徴
　肺血栓塞栓症・たこつぼ型心筋症のスクリーニング/診療のスペシャルチーム
2. メンバー構成（下記で2チーム）
　・医　師：1～2名
　・看護師：1名
　・生理機能検査技師：0～1名
　・薬剤師：1名
　・事　務：1名
3. 準備物品
　ポータブルエコー・バッテリー・電話・衛星電話・水・食料・寝袋・ゼッケンなど
4. 出　動
　厚生労働省や学会などの要請に対応

図4. 肺血栓塞栓症・たこつぼ型心筋症診療チーム

障の編成と派遣はセンターとして行っていない，結果的にはこのスペシャルチームも出動の機会に恵まれなかったが，この時の人員構成などが後の調査チーム編成へと繋がった．

4）更なる医療支援：情報提供と相談窓口

重要な循環器疾患に関する情報提供もセンターのミッションである．上記の肺血栓塞栓症とたこつぼ型心筋症について，前者はセンター職員が鋭意し循環器病研究振興財団から発行されている既刊の小冊子『知っておきたい循環器病あれこれ』のなかに該当するものがあったため（第46号・78号，図5），これをホームページから容易に参照できるようにした．たこつぼ型心筋症にはこの該当冊子が無く，これは新たに注意文書を作成してホームページに掲載した（図6）．

また循環器専門医による電話相談窓口（循環器疾患相談ホットライン）を開設した（図7）．これは医療従事者を対象とした，肺血栓塞栓症とたこつぼ型心筋症についての24時間相談窓口で，日本循環器学会からの要請に対応したものである．平成23年3月下旬から4月



図5.『知っておきたい循環器病あれこれ（78）「肺塞栓症－その予防と治療」』

災害時には，ストレスによる
心臓病（たこつぼ型心筋症）に注意
次のような症状が出てくれば，お近くの医療機関に受診を
1. 胸の痛み
2. 胸に強い圧迫感
3. 呼吸困難

「たこつぼ型心筋症」とは，精神的な過度のストレスを受けた後に，心臓の筋肉が収縮しにくくなり，正常に血液を送り出すことができなくなる状態．

心臓の動きが悪くなった形が，たこ焼きで使われるたこつぼのような形に見えるため，この病名がつけられた．

突然大きなストレスがかかると，自律神経が極度に混乱し，心臓の一部が硬直し動かなくなってしまい，心筋障害となる．

阪神淡路大震災や新潟中越地震の時に，被災者の中で主に中年女性の方に，この病気の疑いありと診断された．

このような大きな災害以外にも，様々なストレスによる発症が報告されている．

突然の胸の痛みや圧迫感，呼吸困難は心臓発作（心筋梗塞）にも似ているので，我慢せず相談を．

図6. たこつぼ型心筋症に注意
（国循ホームページ「東日本大震災関連情報より抜粋・改変）

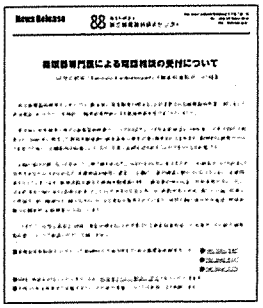


図7. 循環器病医療支援相談窓口

1. 背　景
　・被災後1カ月を経て支援要求が変化していると思われるが，情報が不足
　・交通手段が回復してきた
2. 目的・内容
　・国循が今後の適正かつ効果的な医療支援を行うために現地調査を行う
　・学会などと連携し，医療支援の実施についての全国レベルでの提言を行う
3. 方　法
　・調査主体の医療チームを拠点連携で派遣
　・①岩手，②宮城，③福島県の順に別チームが1週間程の予定で順次訪問
　・チーム：医師・看護師・薪剤師・事務で4～5名
4. 派遣実施後
　・報告と提言を行う
　・ネットワーク構築し，適切な医療支援を実施する

図8. 医療支援調査チームの派遣について
「2011年4月7日付け病院長宛書「東日本大震災に対する医療支援調査チームの派遣について」から抜粋」

朱の運用で，医療者限定と銘打っていたが，一般からの問い合わせも少なからず認められた．

5）情報の収集

国や行政，学会関連など通常のルートでの情報収集に加え，被災地を訪れたセンター職員からの情報も取得した．震災後，仙台に避難していた脳内科レジデントの逸脱医師からの本部会議での報告（4月4日），3月下旬に仙台の実家に戻った放射線部の森田医師からの報告（3月24日），予防健診部の宮本部長からの報告（5月9日）は，いずれも非常に有用であった．なお，逸脱医師と宮本部長の報告の詳細は，別項[1]を参照されたい．

6）その他

この時期に2011年度循環器病研究開発費の研究課題の策定があった．そして大規模災害時の循環器疾患対策をテーマとする新規課題の設定が決まり，横山心臓血管内科岩佐任部

医（当時）を主任研究者とする班研究が立ち上がった．この研究報告が後章に設けられている[1]．

2．適正な支援とは―調査から提言へ

1）状況の変化・今何が求められているのか

4月上旬の対策本部会議では，3月の医療支援の見直しとともに，センターの今後の支援のあり方を判断するための現地調査の必要性が議論された（図8）．背景には，震災後，約1カ月となり，超急性期～急性期の救急医療から中長期的・慢性期医療へと支援要求が移行していると思われるが，情報が不足していること，交通手段が回復してきたことなどが挙げられる．そして「医療支援の実施についての全国レベルでの提言を行う」目的での調査チームの派遣が決定した．当初の計画は，岩手，宮城，福島県の順に4月～5月にかけて調査を行うものであったが，岩手医科大学からの要望などにより，岩手県訪問は順延され，第1回訪問は宮城県となる．福島県は放射線被曝の問題が前面に出ており，岩手・宮城両県とは少し事情が異なるため，結局，調査チーム派遣は行われなかった．

2）第1回調査とその後

2011年4月19～22日に野々木心臓血管内科部門長をリーダーとする山形県・宮城県調査チームが派遣され，その報告が4月27日の本部会議で行われた．詳細は別項[2]を参照されたい．なお，調査への協力のお礼として食品や高血圧グッズなどを提供させていただいた避難所（石巻市の小学校）とは，その後も連絡が継続した．

3）提言：第1回と第2回

第1回調査チームの報告を受けて，被災地における循環器病対策の提言を病院長主導で作成し，第1回を2011年5月13日付け，第2回を同7月1日付けで発表した（提言自体は別項[1]を参照）．いずれも「被災地の循環器病を押さえ込む」観点での提言で，第1回は疾患として高血圧症，第2回は循環病を取り上げ，第1回では当時，大きな問題となっていた中・小病院～診療所の診療体制整備を，第2回では保健衛生上のケアを付け加えた．引き続き第3回以降の提言で静中症対策や血栓症の防止などを考えていたが，これは第2回調査チームの派遣以降，予定変更となった．

4）第2回調査

岩手医科大学などとの日程調整の結果，鉾松副院長をリーダーとする岩手県への第2回調査チームの派遣は2011年7月19～22日に実施された．この際の岩手県栄養士会との接触が，その後の医療支援の方向に大きく影響することになる．7月27日の対策本部会議で第2回調査の報告が行われた．その詳細は別項[1]を参照されたい．

5）その他

2011年6月27日の本部会議にて，当時，おいしいと評判になりつつあった当センターの病院食（減塩食）を被災地に持ち込めないかとの議論があった．高血圧の防止がセンターのミッションとすれば，被災地における減塩は非常に重要なテーマであり，野々木中央管理部門長（当時）をリーダーとして減塩食普及のプロジェクトを立ち上げることになった．

また7月に厚生労働省との連携で，循環器病研究振興財団発行の『知っておきたい循環器病あれこれ』から被災地でのケアに有効と思われる冊子を抜粋し，保健所ネットワークを通じて保健師への配布が行われた（図9）．

3．減塩プロジェクト―提言から実践へ

1）国循のおいしい減塩食を被災地へ

上記のように「減塩プロジェクト」は，センターの減塩食を被災地への観点から始まり，次第に膨らんでいく．プロジェクトチームには，臨床栄養部や看護部のほか，当センターの調理ノウハウの均てん化事業活動に携わる研究開発基盤センター知的資産部のメンバーも加わり，厚みを増した．そして8月24日の本部会議で，減塩食の職員試食会とアンケート，現地の栄養士の方々の招聘と試食などの方針が提示された．本プロジェクトの発展の様相の詳細は，別項[3]を参照されたい．

2）提言：第3回

2011年8月17日付けの第3回提言は，岩手県への第2回調査報告を受けてのものです．その調査チームリーダーの鉾松副院長の主導で作成された．提言の原文は別項[4]を参照されたい．直接に減塩プロジェクトには触れていないが，プロジェクトに関する同時期の活発な議論の影響もあり，「食」に焦点を当てた内容になっている．なお，提言はこれが最終



A

1. 血圧関係
   （64）血圧の話
   （41）血圧の自己管理
2. 肥満・糖尿病関係
   （58）メタボリックシンドロームって何？
   （74）糖尿病の食
3. 血管・血液
   （46）急性動脈血栓塞症（エコノミークラス症候群）の話
   （78）脳卒中予防　その予防と治療
4. たばこ関連
   （18）たばこのやめ方
   （65）まだたばこを吸っているあなたへ
5. 循環器病全般
   （82）循環器病の食事療法
   （79）循環器病と気になる嗜好品

B

図9.「知っておきたい循環器病あれこれ」既刊一覧と配布リスト
A：既刊一覧，B：配布リスト

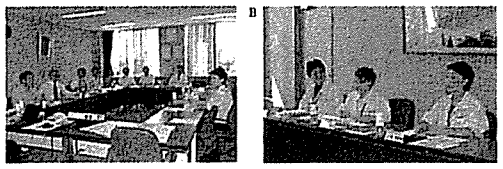
回となった。

3）プロジェクトの進捗ー講演会の開催

第2回調査チームと会見した岩手県栄養士会の幹部メンバー（会長・副会長・常務理事）3名が，2011年9月29日に当センターを訪問された（図10）。目的は，同栄養士会と当センターとの協力関係の構築や減塩教室などの共催イベントの企画等である。この際の減塩食の試食で，岩手県の人々でも食べられるとのご意見をいただき，また当センターの東北地方出身職員の試食でも良好な反応であったことより，岩手県栄養士会・国循共催イベントでは講演のみでなく，当センター減塩食の試食会を兼ねる方針で，プロジェクトメンバーによる企画立案が進められた。そしてこの共催イベントは減塩プロジェクト推進のための第1回の講演会として，平成23年11月29日に盛岡市で開催され，好評裡の終了が本部会議で報告された。この講演会の詳細は，別項[1]に記載されている。

4）広報活動の推進ー第2回講演会

当センターの減塩食の広報と普及活動はその後も活発に進められ，認知度が高まってきた。また減塩プロジェクト推進の第2回講演会が，プロジェクトチームの企画のもとに「脳卒中と心臓病予防は良い生活習慣から」と題する市民公開講座として，岩手県宮古市の道経機器で2012年2月5日に開催され，これも大好評であったと報告されている。この講演会の詳細も別項[1]を参照されたい。



A　B

図10. 岩手県栄養士会メンバーの国循訪問
A：会議室内，B：岩手県栄養士会幹部

おわりに－1年を迎えて

2011年12月14日の本部会議で2つの重要な決定が行われた。第一は対策本部の活動実績を冊子などの形の残るものとして取りまとめることで，これは本冊子がその答えといえる。第二は従来，対策本部に属する形で存在していた減塩プロジェクトチームの独立である。

振り返れば本対策本部の1年の活動は，専門性の高い高度の医療を行う当センターがどのような医療支援を行えるのかを絶えず模索しながらのものであった。被災地から大きく離れるため，例えば我々がかつて体験した阪神淡路大震災と本震災における健康損傷の違い－本震災では津波の被害が大きく，建物の倒壊による損傷が少ないことなど，を実感するのに些か時間を要した点は否めない，しかしここに至り，ようやく方向性が定まったように思われる。即ち，減塩～循環器病予防プロジェクトは，まさにセンターのミッションに合致する。今後は被災地を含む本邦全体でのこのプロジェクトの推進に道を拓るとともに，対策本部は2012年度早々に活動を休止して，これを見守りたい。これまでの対策本部の活動にご協力いただいた各位に，深く感謝申し上げます。

§ 参 照
1）池脇 真：震災後早期の被災地，本誌p.15～18.
2）宮本恵里：循環予防会の活動に参加して，本誌p.32～35.
3）横山広行，他：循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究，本誌p.81～101.
4）野々木宏：第1回調査チーム報告：山形県・宮城県，本誌p.19～31.
5）提言：東日本大震災被災地における循環器病対策（第1報），本誌p.44～45.
6）提言：東日本大震災被災地における循環器病対策（第2報），本誌p.46～48.
7）峰松一夫，他：第2回調査チーム報告：岩手県，本誌p.36～43.
8）河野雄平，他：減塩・循環器病予防プロジェクト：プロジェクトの概要，本誌p.50～55.
9）提言：東日本大震災被災地における循環器病対策（第3報），本誌p.49.
10）横山広行，他：第1回講演会：岩手県盛岡市，本誌p.63～70.
11）岸宏一郎，他：第2回講演会：岩手県宮古市，本誌p.71～80.

国循の医療支援

付記）各部局の活動

内藤博昭

はじめに

国立循環器病研究センター病院内の各部局では，東日本大震災が当センターの行う医療にどのような悪影響を与えるかを調査し，その影響を最小限に抑える努力を尽くしたこと，またセンター全体としての支援活動に参加してこれを支えたことは言うまでもない。本稿では，それに加えての被災地支援の観点での部局独自の活動を紹介する。

Ⅰ．看護部

本誌「医療支援対策本部の活動」の項で記載のように，被災者の就職支援としてセンターが医療従事者の受け入れを震災後早期に表明したことは，看護部の発案であった。東北地方のハローワークを通じて働きかけたが，被災地の看護師たちは甚だ多い被害を受けたにもかかわらず，被災地を離れることはなく，結果的には当センターでの受け入れは見られなかった。

看護部では，より直接的な支援活動も実施している。その1つは寄付金である。2010年度末に予定の送別会費用約150万円が，日本看護協会を通じて被災地に届けられた。また，2011年4月に大阪府看護協会からの依頼を受けて，看護部の看護単位ごとに被災者の方々に送る色紙・寄せ書きが作成され，「何かお役に立ちたい」「被災者の方を勇気づけたい」「健康管理上こんなことに気をつけて」という思いが込められた合計21枚の色紙が被災地の避難所に配布された（図1）。

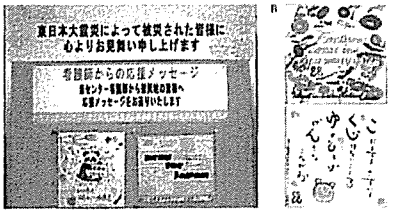
Ⅱ．他の部局

薬剤部・臨床検査部では，東北地方に工場拠点のある製薬メーカの被災などによる医薬品の供給不足に対応し，結果として当センターの入院患者・外来患者の診療に重大な支障を来すことは無かった。また薬剤部からは，循環病手帳などの「おくすり手帳」の普及と常時携帯の重要性の指摘があった。臨床検査部では当初，下肢深部静脈血栓症やたこつぼ型心筋症の診療チームに加わって超音波検査を行う技師の派遣が予定されていた。

放射線部では，被曝に関する適宜の情報提供と対応が行われた。震災後早期の2011年3月末には「放射線緊急モニタリング対応マニュアル」（図2）が作成され，被災地からの被曝者・放射能汚染者の来院に対する体制が整備された。また，全国国立病院機構放射線技師会の放射線被曝スクリーニングサーベイ班への参加につき待機をしていたが，応援要請は無かった。

事務部門は，厚生労働省や国立病院機構等との緊密な連絡，広報活動，被災者の診療における医療費請求等に関する情報提供など，センターの医療支援の基盤を支える役回りを担当。研究開発基盤センターは，減塩食に関連して知的資産部の大きな関与があるが，これは本誌「知的資産部の関わり」の項（p.61～62）を参照いただきたい。

国立循環器病研究センター病院 病院長



A　B

図1. 看護部による色紙・寄せ書き
A：応援メッセージ，B：色紙

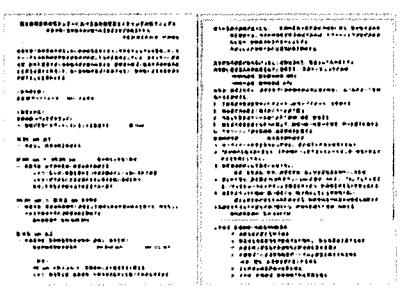


図2. 放射線緊急モニタリング対応マニュアル

国循の医療支援

付記）学会・大学などとの連携

内藤博昭

はじめに

国立循環器病研究センターが東日本大震災の医療支援を進める上で，学会や大学などとの連携は不可欠であった。

本稿では，そのうち主要なものを報告する。

Ⅰ．学会関係

循環器系では，震災後早期より日本循環器学会，日本心臓病学会，集中治療医学会などの連携した動きがあり，当センターからは日本循環器学会震災対策プロジェクトに野々木心臓血管内科部門長（当時）が実行副委員長，横山心臓血管内科特任部長が委員として参加した（図1）。また，日本循環器学会の要請もあって脳血栓塞栓症とたこつぼ型心筋症の電話相談窓口を開設したことは，「医療支援対策本部の活動」の項に記載の通りである。

日本脳卒中学会・日本脳卒中協会は，理事に橋本祐一，峰松副院長が名を連ね，2011年・2012年の脳卒中学会での2年連続の特別企画「大震災と脳卒中」で，峰松副院長からセンターの取り組みが紹介された。また，日本脳卒中協会の会報に，大震災に関する橋本祐一，峰松副院長の巻頭言が掲載されている[1]。

日本高血圧学会では，センターの河野生活習慣病部門長が理事および減塩委員会委員長を務めることから，減塩に関する医療支援活動での連携が生じている。

国立循環器病研究センター病院 病院長

Ⅱ．大学など

岩手医科大学と当センターは，独法化以前より固有の情報ネットワーク（循ネット）で結ばれ，人事交流も盛んであった。また大学と岩手県栄養士会との間も，県をあげての減塩食普及運動で結ばれていた。このような背景から，調査チーム派遣と減塩プロジェクト講演会の開催を通じて，当センターと岩手医科大学・岩手県栄養士会に強い協力関係が得られている。

そのほか，被災地の保健所への循環器病の説明冊子「知っておきたい循環器病あれこれ」の配布や，宮本予防健診部長の精技予防会の活動への参加などは本稿別項に記載の通り。

Ⅲ．その他

当センターでは，2012年内に大阪府下の北摂地区と大阪市内で4回の「国循市民公開講座」の開催を予定している。その第1回は既に3月11日に終了したが，図らずも大震災1周年の日にあたり，追悼式典の中継にあわせた黙とうの実施と峰松副院長からのセンターの震災医療支援の紹介があった（図2）。

広報関係では，センターの減塩食についてのものほかに，2011年10月にプレスリリースした「冬場は心筋梗塞による心停止が増加」の広報が，震災との関連で注目を集めた。研究開発基盤センター予防医学・疫学情報部のこの研究では，寒冷と入浴時の急激な温度変化などが心筋梗塞発症の重要な注意点と考えられるところから，被災者の避難所や仮設住宅での生活の問題と関連づけられたためと思われる。

1　橋本信夫：巻頭言．JSA News, 2011；No.26
2　峰松一夫：巻頭言．JSA News, 2011；No.28

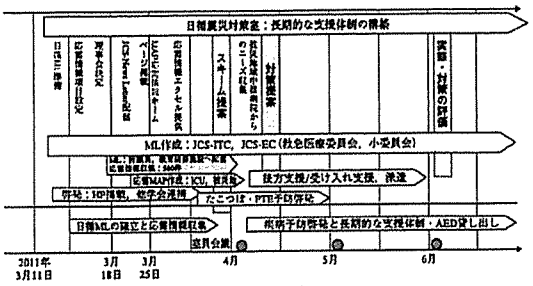


図1．日本循環器学会の震災対策プロジェクト・ロードマップ

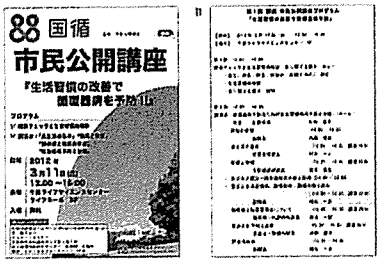


図2．第1回市民公開講座
A：ポスター，B：プログラム

震災後早期の被災地 ～仙台市内の生活と被災地医療機関の状況～

遠藤　薫

はじめに

私は仙台出身で幼少時から学生時代，そして医師としてのキャリアのほとんどを仙台で過ごした。大阪には単身赴任であり，震災当時はレジデント2年目で直接の被災は免れたが，国立病院機構仙台医療センターの放射線技師である妻と当時2歳の娘は仙台で被災した。沿岸部の状況は調査団の先生方が詳細に報告されると思うので，ここでは当時の自分の経験について述べさせていただきたい。

Ⅰ．震災～仙台入り

2011年3月11日14時46分，私は地震の知らせを聞いてメールで妻と連絡を取り，院内保育園にいる娘ともども無事であることを確認したが，その後テレビを見ると仙台空港がまさに津波に飲まれていた。以降，携帯は通じず，NHKに近い母校の小学校が避難所として映るほか，聞き慣れのある地名が次々と出てきて不安な一夜を過ごした。結局，妻と娘は病院に泊まり，マンモグラフィーの撮影室に待合のソファを並べて眠ったそうだ。翌朝，航空便の再開を知って妻の実家に近い13日の由形空港便を押さえ，風呂には当面は入れないと思い丸刈りにし，衣料と日用品を持てるだけ持って飛行機に乗った。元自衛官の義父と空港で合流でき，仙台を目指した。途中で道路が一部崩落していたため大渋滞だったが，21時には自宅に到着。

国立循環器病研究センター脳血管内科

Ⅱ．ロクウイルス

14日になり妻は娘を連れて出勤したが，保育園は閉院していたため，子守りかつ医療センターの予備いがでできればと30分ほどの道のりを自転車で向かった。市内中心部はあちこちでビルの看板が傾いていたり，ガラスが割れたりしていて，スーパーは入場制限のためどこも行列（図1），コンビニは開店（図2），自販機もすべて売り切れであった。医療センターは一般外来を休診しており，大きな混乱は見られなかった。娘は機嫌が悪く連れて帰ったが，39℃の発熱と白色下痢を認め，結局再び病院に行きロタウイルス感染症だった。水が飲めたので入院はしなかったが，娘は妻から離れず結局仕事を休むことになった。



図1．冷たい雨が降るなか，入場制限のため行列ができている（3月15日）。

電気は13日夕方に通ったため，室内は明るく，持ち込んだ食料を電子レンジで温めて食べることができた。この日はちょうど娘の2歳の誕生日であり，祝ってあげられず悲しい思いをした。

Ⅱ．ロタウイルス

14日になり妻は娘を連れて出勤したが，保育園は閉院していたため，子守りかつ医療センターの予備いができればと30分ほどの道のりを自転車で向かった。市内中心部はあちこちでビルの看板が傾いていたり，ガラスが割れたりしていて，スーパーは入場制限のためどこも行列（図1），コンビニは開店（図2），自販機もすべて売り切れであった。医療センターは一般外来を休診しており，大きな混乱は見られなかった。娘は機嫌が悪く連れて帰ったが，39℃の発熱と白色下痢を認め，結局再び病院に行きロタウイルス感染症だった。水が飲めたので入院はしなかったが，娘は妻から離れず結局仕事を休むことになった。



図2．近所のコンビニ，略奪を恐れたためか，外装も壊れている（3月16日）。



図3．寒いため石油ストーブの前で入浴（3月16日）。

た。オムツは買い置きがあり，水道が通っていた私の実家に洗濯をお願いし，スポーツ飲料も買えないので経口補水塩をwikipediaで調べて作った。これが超強力で水分もまなならなかったらと思うとゾッとするが，幸い数日で娘は元気になった。15日には我が家の水道も復旧し，電気ポットで湯を沸かして衣装ケースの引き出しで娘を入浴させることができた（図3）。大人は消耗するのがやっとで，まだ3月の仙台は寒く体が温まることはなかった。

Ⅲ．市中病院の状況

16日に東北大学病院神経内科を訪れた。別棟の図局はインフラが通らず，病棟内に臨時医局を設けて病棟業務に励まれていた。主に関連病院から呼吸器が必要な筋委縮性側索硬化症など介護度の高い患者を受け入れ，教授自ら転院先を探して回形，東京などに自衛隊のヘリコプターで搬送する中継地点として機能していた。17日には一部再開した地下鉄に乗り，私の初期研修先である仙台市立病院を訪問した。仙台市立病院は市内中心部にある500床ほどの総合病院で，屋上の煙突の転落が危惧され，一部が立ち入り禁止区域となっていた。直後は忙しかったようだが，試薬や薬の在庫に限界があり，特に減圧の関係から手術が難しくなっているということだった。この時期は放射能の恐れもあり，医師も交代で家族を仙台から離れた実家や親戚宅へ避難させていた。その後，神経系の単科病院である広南病院（約200床）も訪問し，医局の先輩や脳血管内科の先生方と情報交換を行った。

結局，急性期病院はどこも直後は多忙を極めたものの，インフラや医療資源も限られ，病床数も限られ，転院先も限られ，数日経つとできることがなくなってしまったようだ。また，働いている医療従事者も被災者であり家族がいる，親戚の安否も分からず，衣食住もままならない状態で出勤し仕事をすることは倫理的には当然とはいえ，大きなストレスを抱えることになる。実際に市内の病院でも震災後に来なくなった医師がいると，噂を耳にすることもあった。



図4．宮城県内高速SAのガソリンスタンド．4月に入っても供給は安定せず（4月3日）．

Ⅳ．石巻

3月23日，石巻へ診療支援に向かった．石巻市は車で1時間ほどの沿岸地域で，市街地の多くが津波で浸水し，特に沿岸部は壊滅的な被害を受けた．仙台と石巻を結ぶJR仙石線は津波で流され，ガソリンも無く高速道路も緊急車両専用のため，大学病院が用意したバスで向かった．訪れた齋藤病院は170床ほどの神経内科，循環器内科の施設であり，民間で唯一透水を免れた病院である．石巻市立病院や開業医が多く水没したため，定期薬がなくなった，薬が流されたといった患者が来院されていた．病院側の多大な努力により薬剤は確保されたが，「お薬手帳」や話を頼りに処方せざるを得なかった．ワルファリンも維持量継続であった．そのほか，脱水症状や低体温症の超高齢者が搬送され，気管支炎，胃腸炎にて避難所から受診する方，将来への不安や身を寄せている家への遠慮からのストレスを訴える方も多く見られた．

家を失った医療スタッフも当直室や会議室，外来に住み込んでおり，病院食は1日2食，電気は通っているものの水道は給水車のみであった．

Ⅴ．流通の回復と帰阪

2週間ほどで，市内の物流は少しずつ改善してきた．当時のtwitterを振り返る．

「近くの生協に行ってきた．20分ほど並んだだけで入れました．10品限定で，ちょっと高いけど案外生鮮食料品があって満足でした．20日－14:33」

「ファミマが開いてる！26日－15:58」

「今日はミスドゲット．西友も24時間営業になったし，生協にも精肉野菜が揃ってました．豆腐もあったし，コンビニは開いてても空だけど．28日－20:47」

「西友でオムツゲット．品揃えが良くなってきた！小麦粉，納豆，ヨーグルトは無し，パンも無い．意外に水は売ってた（1人2本まで）．29日－12:25」

「納豆も普通に売るようになってました．『個数制限ありません』ってわざわざ書いてある…31日－23:32」

27日に，ようやく隣町の銭湯で入浴ができた．ガスは全国から応援が駆けつけてもらったが，電気や水道に比べて時間がかかり，自宅のガスが復旧したのは4月7日だった．ガソリンも仙台市内で安定供給となったのは，4月中旬であった（図4）．

4月2日には山形の温泉で娘の誕生会を祝い，4日に大阪に戻った．自販機やコンビニで物が売っていることに妙に感動したことを覚えている．その後は，4月19～22日に当センターの宮城調査団（第1回調査チーム）に参加したが，3月には移動手段が無く，行くことのできなかった石巻沿岸部の惨状を known する被害に絶句した．そして4月29日，東北新幹線が全線再開し，ベガルタ仙台と楽天イーグルスがホーム開幕戦（どちらも勝利！）を迎えた日に，私の弟夫婦が仙台で結婚式を挙げた．会場のホテルでは震災後初めてだったそうだが，余震もなく「普通の」披露宴を挙

しむことができた．

おわりに

大切な家族を失ったり，家財や故郷を流されたりして，私よりもっと辛い経験をされた方々は，もちろん多くいらっしゃるが，当たり前と思っていた生活ができず「日常を紡ぐ」ことに苦労しなくてはならない状況は大きなストレスである．妻と娘を連れて大阪に避難することも考えて，実際に飛行機の予約もとったが，妻も医療に携わる者として働く気概もあり，原発事故も収束が予測されたため仙台に留まることにした．

また，今回の震災では，情報が非常に重要であった．インターネットが使えたため，電子メールやtwitter，mixiなどのSNSを通して友人の安否を確認することができ，地方自治体やMEXT（文部科学省）のホームページなどは原発事故の情報を得るのに非常に役立った．一方で，情報の質を見極めることも必要であった．震災直後は大気汚染や放射能の恐怖を必要以上に煽ったチェーンメールが出回り，パニック状態に陥る人も見受けられた．私も，心ないメッセージに萎縮になることがあった．

（中略）

当センターの先生方には，大変なご迷惑をおかけしました．2011年3月で退職された先生方には，ご挨拶もできませんでした．豊田部長には被災地へ快く送り出してもらい，私が現地で診療支援を行う事務手続きについても気にしていただき，そしてなにより毎日欠かさずメールを下さいました．必ず最後に書き添えてある「今日が逸郎君やご家族にとって安全で昨日より良い日であることを，祈っています」という言葉に日々励まされました．

私は3年間のレジデント生活を終え，2012年4月からは仙台に戻ります．沿岸部は，まだまだ復興への道のりは遠いです．震災から1年が経過し，支援の気運も薄れつつある時期ではありますが，私自身少しずつでも地元の復興に協力できることがないか，今一度考えなくてはならないと思います．

医療スタッフ/チームの派遣

第1回調査チーム報告：山形県・宮城県

野々木　宏

Ⅰ．はじめに

このたびの東日本大震災にあたって，被災者における循環器疾患への中長期的対策立案のための現地調査・情報収集を目的とし，2011年4月19日～22日に国立循環器病研究センターより多職種からなる第1回調査チームが派遣された．今後の対策の一助とするため，当センターの1年間の取り組みの一環として活動の概要を報告する．

具体的な調査内容は，人的支援の状況（現地・近隣県・後方受け入れ），医療機器・薬品などの供給や経済的支援の状況，広報・情報コントロールの状況についてである．

派遣メンバー構成は，リーダーの野々木を含む医師2名，薬剤師1名，看護師1名，事務官1名の5名であった（順不同，敬称略）．

1．派遣先行程

1）4月19日
- 大阪伊丹空港より山形空港へ（仙台空港入りが困難なため）
- 山形大学救急科による山形市内の避難所案内と状況聞き取り
- 陸路で山形市から仙台市へ移動し，東北大学循環器科教授・宮城県医師会，宮城県保健福祉部との面談により宮城県の被災状況をはじめ，東北大学の被災状況と

静岡県立総合病院 院長代理
国立循環器病研究センター心臓血管内科客員部長

救急部の活動状況を聞き取り

2）4月20日
- 石巻赤十字病院を訪問し，被災状況と地域ネットワーク活動状況を聞き取り
- 民間中核病院である齋藤病院を訪問し，発災時の状況と対応を聞き取り

3）4月21日
- 遠楽館避難所における石巻市立病院の対応と市立病院が壊滅状態となった実態について聞き取り
- 石巻市内の被害小学校避難所を視察し，避難所における健康状況や食生活などのライフラインの現況を調査

4）4月22日
- 宮城県庁内の宮城県災害保健医療支援室を訪問し，被災地への対策について聞き取り

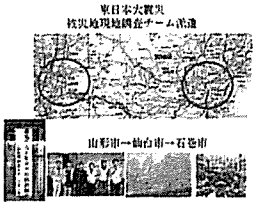


図1．行程
山形→仙台を陸路で往復したが，高速道路が雪道で疎通．山形市総合スポーツセンターの避難所視察，東北大学も被災し，中庭にがれきが積まれていた．

- 国立病院機構仙台医療センターを訪問し，DMAT（Disaster Medical Assistance Team：災害派遣医療チーム）活動，院内対策について聞き取り
- 山形空港から大阪伊丹空港にて帰阪

Ⅱ．調査結果の概略と発災1カ月時点での課題

- 1カ月の段階において，被災地はまだ劣悪な健康環境にあった．
- 避難所は，主に体育館などに設置されているため，生活環境はプライバシーが保てず，周囲の衛生対策のため換気が十分に行われず，保存食中心の食生活のため適切な減塩対策，栄養対策が行われていなかった．
- 被災地の診療体制は，診療所や病院の機能が未だ不十分であり，広範として全国からの医療支援が必要であった．
- 医療支援にはプライマリーケアのチームを要するが，一方で専門チームへのニーズも生じていた．調査時点では，「心のケア」「歯科口腔外科」「循環器内」「皮膚科」「理学療法・介護ケア」のチームなどが，プライマリーケアチームと連携して活動を開始していた．
- 循環器疾患への対応はほとんど手つかずの状態であり，現地での高血圧や心肺機能，脳卒中への予防対策，それに必要な市民や医療従事者への啓発活動，国や県レベルへの働きが望まれる．

1．人的支援（現地・近隣県・後方受け入れ）

- 基幹病院の機能が回復したため，全国専門病院への搬送需要は限られてきている．
- 基幹病院への専門医派遣については，その需要がない．
- 現地医療チームへの人材支援の需要は依然あり，チームとしての派遣が期待されている．
- 既存チームへのアドバイザーとして，循環器疾患を持つ患者に対する避難所レベルでのケアと医療救護所での専門的診療，避難所環境における感染予防への対策が必要である．
- 支援目的を明確にし，需要があるケースについては，継続的な支援が必要である．
- 心のケアと循環器疾患への発症予防が重要である．

2．医療機器・薬品などの供給や経済的支援

- 1カ月時点で医薬品は十分に支援されている．
- 医療機材（循環器系）：携帯エコーやAEDの提供（日本循環器学会），コアグチェック®（INR）とコバスh232®（トロポニンT，NT-proBNP，Dダイマー）が有用と考えられる．

3．広報・情報集約システム，啓発資料の作成

- 循環器疾患への応急処置に関する資料作成と提供，啓発資料
  避難所における市民啓発と医療チームへの診療支援：血圧座・心不全・高血圧などの予防啓発活動やポスターを作成して避難所に配布，またホームページなどで後方支援を行うことが有用と考えられる．
- 発災直後に通信手段が壊滅した事実がある一今後の通信インフラ整備への対応を提言，成層圏Wi-Fi等や仮設基地局などの情報網を二重三重に整備しておくことが必要である．

Ⅲ．調査の詳細報告

1．山形市立総合スポーツセンター

山形大学救急医学講座准教授と合流し，まず山形県での最大の避難所である「山形市立総合スポーツセンター」を4月19日に訪問し

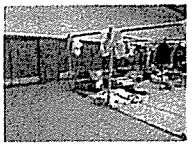
た。ここは3月15日に避難所として使用が開始され，ピーク時の3月19日には宮城県・福島県で被災された1,086名の方が避難されていた。

避難者は，その後徐々に近隣の温泉宿や市営住宅へ移動し，4月19日現在で残っていた避難者は285名であった。残留されていた方々は，福島県からの避難者が多数を占めていた。福島県からの避難者は被曝避難圏からなので，今後の帰宅が可能か否かなど，未解決の問題点が多く，それだけ避難者の不安感も強く，宮城県や岩手県からの避難者とは異なる対応が必要なようであった。

避難所のなかでは，近隣であった地域ごとにコミュニティをつくり，数多くのボランティアの支援があった。山形市自体は被災地でないため，内服薬は市販薬のみで医薬品の処方はできない状況だったが，周辺地域の医療機関（市民病院，開業医）は十分に機能し，救急受診など医療面での問題は生じていなかった。震災直後は心不全や深部静脈血栓症が多く，下肢エコー室を併設し，必要時は病院へ入院させていた。心のケアについては，臨床心理士グループが県内や全国から参画して，臨床心理士3人が，心の相談室として1日3回時間を決めて行っていた。訪れる人は1～2人/日程度と少なく，避難者を定期的に訪問し，声をかけると話してくれる人が多く，「皆が被災しているなかで，自分だけ弱音は吐けない」という心理が働くためかもしれない。臨床心理士がフロアを巡回しつつ話を聞くことが重要で，保健師などと連



図2. 避難所1
子どもが遊べるスペースが確保され，心のケア相談室も設置されていた。



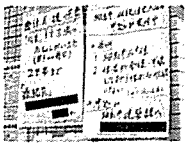


図3. 避難所2
柔道場には畳が敷かれていた。東北芸術工科大学の学生らにより段ボール製の間仕切りが設置され，これを利用して夜にはカーテンを引いてプライバシーが保たれていた。一方，食はコミュニケーションが図れるようカーテンが開かれていた。段ボールでできているため軽く倒れても危険性がなく，今後，他の場所でも活用が可能である。掲示板には様々な情報が掲載され，住宅受け入れ情報もあった。

携し，少し注意が必要な人がいれば，情報交換し連絡できるようにしていた。市立体育館には子どもがいる親も多く，余震直後などは子どもの行動が変容（夜泣き，夜尿など）し，そのため子どもへのストレスをためる親が多かった。対策として，子どもとともに遊べる施設なども併設されており，少しずつではあるが改善されているとのことであった（図2，3）。

山形大学や蔵王病院への県外からの患者受け入れも一定数あったが，それほど多くはなかった。東北の方は地元を離れたがらない傾向が強く，「避難患者が単独で，遠隔地の医療機関に転院することはあまり期待できない」との説明があった。

行政間の連携についての問題点の指摘があった。市立体育館に1,000名以上の避難者がいた時に，県立体育館の避難者は200～300名に過ぎなかった。ボランティアの支援効率を良くする目的で，同程度の受け入れ人数調整を提案しても，行政間での調整が困難であったようだ。こうした課題の解決には，強いリーダーシップが必要である一方，地域行政に委ねるだけでは解決できないことも多い。

【次回への注意点と課題】

トロポニンなどの試薬は冷蔵が必要なため，保冷箱を機内持ち込みとしたが，トロップT用の採血針（短い）が含まれ機内持ち込みが許可されず，没収されそうになった。被災地の医療支援であることを説明し，機内での預け荷物として許可された。針は別途預ける荷物のなかに入れること，季節外れの雪（山間部の移動）を想定し，レンタカーの雪道対応を確認しておくこと。

2. 東北大学医学部附属病院

4月19日午後，東北大学救命救急センター病棟医長から震災の状況を収集した。

救命救急センターには，walk-inのER，三次救急・救命センター20床，ハイケア病棟15床があり，1つの看護単位で運営されている。通常はwalk-inは受け付けていないが，そのスペースと観察室で震災直後の急患を受け付けた。低体温症やCO中毒が多く，重症多発外傷例は少なかった。被災地医療機関からの搬送例を自衛隊の協力で北海道などへ搬送した（陸路と空路）。待機的な手術などは病院長決定で延期し，病院全体として100床を空けて急患対応とした。

また，循環器内科教授兼宮城県医師会副会長，宮城県保健福祉部次長と面談し，宮城県災害対策本部による被害状況収集や対策について情報収集した。宮城県では災害地域コーディネーター制が敷かれ，2010年7月に5名，2011年2月に1名を県知事が任命していたことが奏功し，発災直後から地域ごとに活動が開始された。特に初日からDMATが駆けつけた地域もあり，すぐに連携が開始された。震災後にはコーディネーターがさらに5名加わって計11名体制となり，県庁が中心となって情報交換をし，対策が立てられた。情報網が遮断されたなかで，災害医療コーディネーターが独自の判断で動けたことが有効であったと考えられた。大学病院としての課題は，被災地域への医療チーム派遣（特に救急医療の時期から慢性期ケアに移り，プライマリーケアチームが必要となっている）と資金援助が必要とされる。専門医のみの派遣は不要であり，プライマリーケアのなかで専門性が発揮できるか否かが課題であると指摘された。

3. 石巻日赤病院

4月20日石巻市（人口17万人）へ。石巻日赤病院は，以前は海岸に近かったが，高台へ移転したことが石巻市立病院との明暗を分けた形となった。もし移転前であれば，2つの公的基幹病院がともに壊滅状態となり，もっと悲惨な状況に陥ったと思われた。病院は，

近接することなく高台に設置することが必要と思われた。市内の民間病院である齋藤病院（200床）と石巻日赤病院の2つが，診療機能を残して存在していた。石巻日赤の循環器診療機能は1カ月後には完全に戻り，ペースメーカー植え込みは機種にやや制限はあるが可能で，CAG，PCIも実施されていた。救急対応が優先されるため，病院全体でベッド数を400から300床へ削減し，待機的な治療は延期されていた。スタッフも機材も現在では十分に揃っている。被災したため医局で寝泊まりしている医師もいた。宮城県災害医療コーディネーターの部長からは，石巻地区のコーディネーションの現状について説明を受けた。専門の医師の仕事から離れ，日赤病院のユニフォームは脱ぎ，所属を越えて全国のチームとともに地域全体に対応するというリーダーとしての姿勢を明確にされていた。これも県知事から直前に，県災害医療コーディネーターとしての任命を受けていたことが大きい。

石巻日赤病院では，石巻モデルともいえる方式がとられ，詳細な説明を資料とともに受けた。地域をエリア別に分けて，全国からの医療チーム（ユニット）をそのエリアの避難所に配置し，連続的に担当可能なように同じ所属施設や県単で交替して，申し送りなど連続性を持たせて担当していた（ライン作成）。これにより，3泊4日などの短期間でチームを交替させても，申し送りにより問題症例や避難所での問題点が的確に把握され，情報は本部機能のある石巻日赤病院に収集されていた。各エリアのチームリーダーが石巻日赤での毎朝のミーティングに参加し，コンセンサスを作る方式である。この方式は発災後1カ月間，非常に効果的に運営され，避難所の健康管理がなされていたため，今後の参考になるものと思われる。

すでに開業医機能が戻ったエリアでは，チ

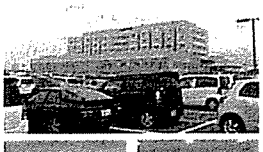








図4. 石巻日赤病院の全容と災害コーディネーターからの説明

ームの撤収が始まっているが，なお長期的に医療支援が必要なエリアも多く，ラインを提供できるチームが必要と説明を受けた。ユニットを担う全国の組織は，日赤のみならず医師会や大学なども参加していた。基本的なユニットには，内科としてのプライマリーケアと看護，精神的ケア，薬剤処方，事務作業のチーム医療である。医師単独での参加は有効性に乏しく，ユニット形成も困難と思われた。ただし，定期的な参加でラインを作れるなら，週1～2回でも継続が可能であり，特に専門的な医師や看護師なら，既存のユニットへの支援を行うこともあり得るとのことであった（皮膚科や心のケア，歯科などが参画していた）。ただし，宿泊，交通手段など自己完結型の支援が必要である。各医療団体が避難所支援を5月末までと表明しているが，その後の長期的な医療支援が必要であり，循環器領域からは，専門領域での支援提言が必要と思

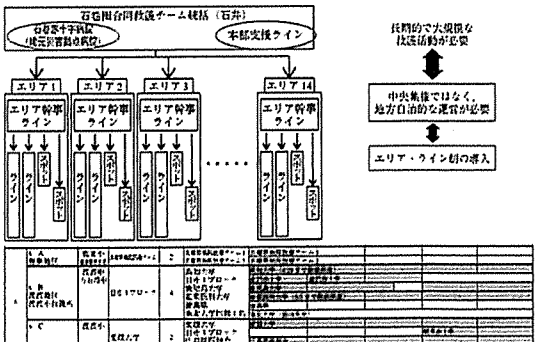


図5. 石巻日赤病院が実行していたエリア・ライン制

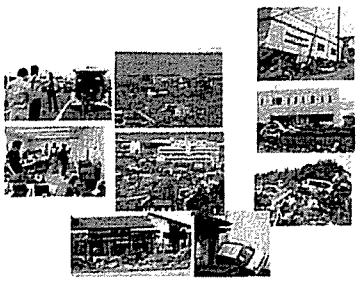


図6. 石巻市街地の被害状況
津波で壊滅状態である市街地を目前から見て，石巻市立病院の建物が海岸沿いに残っている。

われた。

被災地での課題は，行政が変化に追従できていないことであった。市役所が機能できていないことから，司令塔としての県庁の役割も十分に発揮できず，地方行政の機能が消失したときの，中央行政機能の司令台機能の確保は今後の課題である。石巻モデルのライン機能は，避難所支援とともに石巻日赤病院内の医療支援に使用されていたが，他の機能が残っている病院や診療所との病病あるいは病診連携ではないことが課題であり，広域支援機能が検討されることが必要と考えられた。

被災地では学校の新学期が始まり，そのため住民が土地を離れられない要因の一つとなっていた。劣悪な環境で児童が学ぶ，あるいは高齢者が生活するところではないため，復旧まで地域ごとの疎開を真剣に考える時期であるとの意見もあった。

4. 民間病院の被害状況

石巻市で唯一，民間病院の診療機能が残った齋藤病院を4月20日に訪問した。172床〔一般病床141床（ICU：4床，CCU：4床，回復期リハビリ病棟：48床），療養病床31床〕の病院で，石巻地区での急性期病院から回復期症例の受け皿機能を果たしている病院である。海岸から近く，津波の被害を被った地域であり，一時的に病院は孤立したが，幸いにしてやや高台にあったため奇跡的に残った病院であった。震災直後，病院は浸水を免れたが，ライフラインは完全に停止した。携帯電話，防災無線は使用できず，衛星電話は保有していない状況であり，外部への連絡が全くできない状態となり，陸の孤島化した。そのため数日間，石巻日赤病院，東北大学，宮城県庁でも，齋藤病院は機能しているものと判断され，状況の把握はされていなかった。

職員，患者の食料を1日2食と制限し，薬品は院内にある在庫で対応された。DMATなどの支援は全く無い状況で，職員が腰まで水につかりながら市役所などへ医薬品などの支援を求めたが，民間病院であるため自力交渉といわれ，薬品卸へ交渉し1社のみ対応可能となり，最低限の薬剤確保が可能となった。震災より3日目に，非常勤で応援に来ていた大学医師が被害を免れた車により自力で大学に戻り，初めて齋藤病院の被災実態が報告された。その後，大学からの支援が準備され，医局からの定期的な応援が始まった。しかしながら，ガソリン欠乏状態が続いたため，大学からマイクロバスで石巻日赤病院と齋藤病院へ医師が派遣された。石巻市では石巻日赤病院を拠点とした各地域の避難所への救助隊と医療物資の支援が最優先され，残った病院や診療所への支援あるいは連携が取り残されたとのことであった。幸い医療スタッフが無事で，診療にあたることができたため，入院患者死亡事例は最小限にすんだ。

齋藤病院では外来患者が通常1日200人程度であるのに対し，被災直後には600人の急患が受診した。薬を無くした方への処方が多く，「お薬手帳」（これは多くの患者が避難時に持っていた。持参するようにという啓発が有効）や自己申告で，薬剤師がすべて内容を確認し，同効薬の処方が容易となった。また，ほとんどの医療スタッフは自宅が被災したが，病院から全スタッフに一時金が配布され，早期に住居の確保がなされた。多くの施設で，スタッフが自らも被災しながら病院へ詰めたまま診療に専念しなければならなかったことを考えると，この病院の対応は医療スタッフへの心の支援も含め，素晴らしい対応と思われた。スタッフは幹部を含め前向きに診療体制を立て直し，それには大学医局からの24時間体制の支援も大きかったようである。

被災後の機能を残した医療機関との連携や支援が課題であり，緊急連絡情報網の遮断が最大のネックとなった。発災直後の緊急情報

発信の方法を二重三重に確保しておく必要があり，行政は最優先で情報網が復旧する手段を準備しておく必要があると考えられた（臨時避難局設置，たとえば成層圏WiFi，また衛星電話の普及）。また，防災無線網が無効に終わった理由とその有効性を見直す必要があると思われた。

5. 仙台市の被災状況

仙台空港をはじめ，仙台市の海岸沿いの若林区が津波で被災し，壊滅状態となっていた。仙台東部道路（盛り土方式）が海岸から2kmもあるにも関わらず，防波堤の役割を担ったことは驚きであった。それより海岸側は避難所とされていた場所でも，津波で被災し死亡者が出ていることから，高速道路を盛り土式にして防波堤とすることが提唱されていることは理解できた。

仙台市内のライフラインは回復して，ガスも使用できるようになり，温水が使え4週間ぶりに入浴ができるようになったと聞いた。温水でのシャワーや入浴ができることは，いろんな意味で大きいと思われた。一方，入浴も困難な避難所の生活環境はなお劣悪で，仮設あるいは既存住宅への早期の入居勧告が望まれる。

沿岸には低層の住宅は建てずに，高層で避難できる方式，あるいは住宅は内陸部にし，公共機関の設置場所，特に病院機能は今後設置場所を再考する必要があるといわれている。仙台市は平野部が広く，内陸部もあり仮設住宅などの対応は今後，比較的容易と想像されるが，リアス式海岸地域は高台にスペースがほとんどなく，近接したところに仮設住宅を作るのは困難であり，早い時期に強制移転をしたほうが良かったのではないかとの意見もあった。現在は，地域で学校も始まり，避難所の環境整備がなされ，ライフライン普及や食料対応，救助医務室も整備され，コミュニティもできていることから，そこを離れて遠隔地域の仮設住宅や公営住宅，さらには温泉宿の長期無料提供にも応じる避難者が少ないことも，うなずける状況であった。しかしながら，医療環境は，きわめて劣悪であり，粉塵や異臭，常にがれきの山を見て生活あるいは通学をするというストレス，食事は缶詰として保存食が中心で減塩対策は困難など，呼吸器疾患や循環器疾患発症の危険性が高く，感染や動脈が循環器領域においても必要と思われる。

住民の健康面，精神面を考えると，この時期であっても，極力して，住民を良い生活環境に置くことが，医療的にも急務でないかという意見もあった。地域整備を行うためには，がれき処理の粉塵，アスベストなどを避けるためにも，一定期間，空気の良い，環境の良い，心の休まる地域へ年単位で移住することは妥当なことではないかと思われた。

6. 石巻市立病院と避難所

4月21日は，石巻市立病院の被災とその後の活動につき調査した。石巻市立病院は，石巻市民の要望に応えて1998年1月7日にオープンした新設の病院で，ベッド数200床の二次救急輪番制の中核病院であり，隣接している急患センターとの連携を設置させ，CAG，PCIも揃えて最新の機器（64列CT，血管撮影装置，心エコー図など）を備えており，3人の常勤スタッフにより，ペースメーカー植え込みやカテーテルアブレーションも施行し，ほとんどすべての循環器疾患の24時間の救急対応を可能としていた。異常に備えて地階は造らず，病棟や薬局を2階以上としたことが，今回スタッフや患者が助かった大きな要因であった。しかし，この施設が海岸沿いにあったことが不運であった。津波により3階まで浸水し，建物は津波に耐えた。スタッフや患者は上層階へ移動し，2階にあった医薬

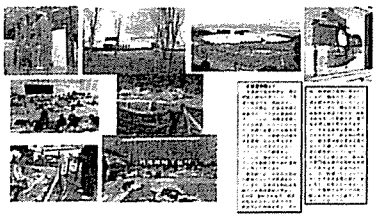


図7. 避難所の支援状況
石巻市立病院のスタッフによって，要介護の避難所として集められる予定。

品が使用できたが，周囲は壊滅状態となり，外部との連絡もとれず陸の孤島となった。齋藤病院と同様に防災無線は通じず，衛星や支援を外部へ伝えられなかった。避難を試み，津波に巻き込まれ死亡された医師もいた。

3月13日にTwitterにより連絡が通じ，「病院の3階まで浸水。携帯電話も全くつながらない。どんな方法でもいいから連絡を」とのメッセージが発信された。このメッセージが医療関係者に受信されたことにより，DMATが動き救命につながった。当時，患者150人が残され，大半が高齢で，酸素吸入が必要な人や寝たきり状態の人も多かった。水も食料もほとんどなく，暖房も無い凍える寒さのなかで病院スタッフは懸命に手を尽くしたが，5人の患者が亡くなり，限界状況にあったと思われる。福島県立医大には，大阪，千葉，静岡，山口，福岡など各県からのDMATのドクターヘリが集結していて，13日夜，宮城県庁にいたDMAT隊から連絡を受け，地震発生から4日目の14日早朝，5機のヘリが石巻市へ向かった。DMATのヘリは計30～40回往復し，120人余りを運んだ時，日が暮れたため残る約30人を自衛隊ヘリで運んでもらい，その日のうちに全員が救出されたということである。

患者をすべて送り出してから，病院長からスタッフへ「病院を解散する」旨の話があり，病院からスタッフは退散し，市立病院は閉院となった。その後，市の職員として避難所としての医療支援の依頼があり，福祉避難所としての医療支援が開始された。

避難施設は，ホール，生涯学習施設，アリーナ，プールからなる多目的複合施設である。両南町と石巻市が合併時の交付金で建てられた箱物（2005年3月に落成）で，グッドデザイン賞に選ばれた立派な設備であるが，この施設機能が震災で思わぬ効用を発揮していた。震災後，石巻市は3月29日，要介護者を避難施設に移送し集約した。アリーナと呼ばれるバスケットボールのコート2面分の広さがある体育館に100人ほどが避難していた。車椅子での移動や介護を必要とする避難者に限っていて，広いアリーナであるので，他の避難所と異なりスペースには余裕があった。当初は避難施設の職員が介護や車椅子業をしていたが，その後，石巻市立病院の医師や看護師，石巻市社協の介護士らが常駐して，医師2名と看護師7名が交代で医療活動にあたって万

が一の際は，すぐに病院に搬送できるよう避難者の状態をチェックしていた。

日勤帯ではスタッフは30人ほど（県外からの支援含む）が常勤していた。震災直後はライフラインがすべて断たれ，避難施設に移動してからも食事も十分にとれず心不全などを再発する方が多かったとのこと。現在は内服管理，血圧管理，尿回数，体重測定などを行っており，避難所でできるかぎりの健康の質向上に努めているようであった。感染対策として，手洗い，うがいだけでなく住居空間を最低1mあけることや内服の抗生剤を早期から開始していた。深部静脈血栓症の予防のため，歩ける人は歩くように促すなど，理学療法士も介入しているとのことだった。栄養状態に関しても栄養士が介入しており，給食センターより配られる食事の管理を行っている。今後の課題は，避難所であると同時に，福祉施設としての機能（介護を要する避難民の増加）が求められるようで，長期的かつ継続的な支援が必要になってくる。

高齢者の半数以上には，高血圧や糖尿病など日々の投薬が必要であり，要介護者の多くは認知症や精神障害を患っている。オムツ交換が必要な車椅子の人だけで20人近くいるため，介助ボランティアがなお不十分で全国からの介護や理学療法などの支援が始まっていた。

血圧測定などは自力でできず，心電図記録や診療はスクリーニングとしては実施されていない状況であった。また，間仕切りは用意されていたが，観察がしにくくなるため設置されず，プライバシー確保は十分ではなかった。病院機能ではなく，介護施設としての存続を望んでいるためともいわれた。避難者ひとり一人の体の状態を調べ，自力でさち上がれるか，どんな福祉用具があれば良いのかなどが検討され，歩行器を使って体育館でリハビリが行われていた。回復期のリハビリ施設が壊滅状態となっていることから，必要な施設と考えられた。

これからは，各避難所の要介護の方を集約して福祉避難所としてしばらくこの施設は存続すると考えられ，多くの医療従事者，特に介護に関わる介護士や理学療法士，心のケア，看護師，医師のチームが必要となると思われた。

7. 小学校避難所

最も課題の多い地域として，引き続き21日に庇家小学校を訪問した。石巻市街のがれきで悲惨な地域の細い道路を，バンタンするのを警戒しながら安全運転で抜けていった。物流と郵政省がひどい通りを，なんとか抜けてたどり着いた。最も被害が甚しかった海岸から若干離れ，やや高台で何とか津波の被害から逃れたところで，すぐ近くは，壊滅状態でがれきの山である。運動場には自衛隊や米軍の車や支援施設が並んでいた。新学期が始まり，大学生や中高生のボランティアがいなくなったので避難所では人的につらい時期であった。避難所本部の本部長代理でPTAの方が案内してくれた。とても素晴らしいリーダーシップを発揮している。前向きのしっかりした素晴らしいお母さんであった。多くの取材や訪問者（県や市の職員，国の役人など）が来て，時間を割いて説明をしているが，フィードバックされることはほとんど無いという一言が，私たちにとってもショックで忘れられないメッセージであった。何とかできる範囲で支援ができればと考えさせられた。

すでに新学期を迎え，被災者は体育館に敷いマットを引き，仕切りもなく寝具が並べられていた。ピーク時には1,000名以上の被災者がいたそうだ。6週間たち，自衛隊や米軍の支援により，仮設トイレ，シャワー施設，飲料水補給がされていた。震災によって下水処理場が壊れており，水が使えない状況が残い

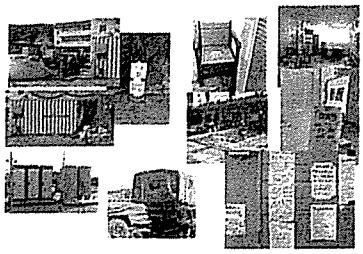


図8. 医療小学校避難所

ている。そのため排泄は仮設トイレを使っている現状にある。水を使えない代わりにアルコール消毒を使用するにあたって，看護師から説明を受けている多くの人が消毒薬を使うことに対し違和感十分に行われていない。飲み水の供給が十分でないため，汚染している可能性のある水を飲むこともある。また，体育館は換気が悪く，外はがれきによる粉塵で窓も開けられず，蚊で夜も眠れない方が多いと聞いた。食事は，昼は炊き出しで暖かい食事が届いたが，朝と夜はまだおにぎりやパンのようで，朝からカップラーメンで済ませる人も多いとのことであった。塩分過多の危険性があり，ストレスとともに血圧上昇が懸念される。また，トイレが屋外にあるため，トイレの回数を減らす目的で飲水を我慢することが多く，脱水による循環器疾患，呼吸器疾患の多発が懸念され，循環器領域からの啓発や長期的な支援が必要と考えられた。

野菜ジュースにはカリウムが含まれるので，塩分過多やビタミン不足に良いと話し，支援としての野菜ジュース提供ができればと相談し，その後実践した。高血圧の予防のパンフレット，1枚程度の絵入り減塩対策と血圧記録の簡易版などは啓発材料として大変有効と思われた。今後，医療班の派遣などにより24時間滞在を行えていた状態から通常必要な時に必要な医療を提供していくようになり，避難所の被災者自身が体調を確認できる環境が最低でも必要になってくる。そのため体温計，自動血圧計の配布や被災者自身が記録できる用紙などが必要であり，それにより

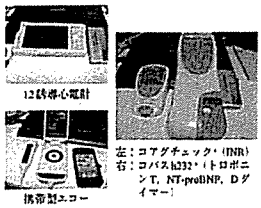


図9. 避難所で活用可能な携帯臨床機器

医療者自身も今必要なことや患者の状況把握が容易に行えるのではないかと感じられた。

メンタルケアに関しては週に1回，ケアチームが訪問している。各避難所にいる保健師，看護師，栄養士，臨床心理士をはじめとするメンタルケアチームが個々に動いており，他科への情報交換，連携が十分にできていないと感じられた。今後の長期的な関わりが必要である。

後日，国立循環器病研究センターの医療支援対策本部で，この報告をもとに，コロコロ・（粘着テープ使用ゴミ取り）と野菜ジュース，自動血圧計10台を鹿妻小学校へお送りし，避難所本部の方から感謝の報告を受けた。熊本県から体育館へ大量の蚊が送られ，体育館に集まり詰められたときに，この粘着テープが間に合い，みんなでコロコロと一斉に掃除をして，その日の夜はほとんど蚊をする方がいなくなったと喜んでいただいた。血圧計も体育館などに設置され，野菜ジュースの効用を含め，次に支援予定の兵庫県のチームに確認をお願いした。

8. 宮城県庁の宮城県災害保健医療支援室

4月22日には，まず宮城県庁を訪問した。宮城県災害保健医療支援室は，宮城県庁のアドバイザーが中心となり設置されたもので，ボランティアが様々な積力的な活動を行っていた。市とか県のレベルでは，もはや解決できないので大きな組織が必要であり，やっと救助のスタートができたばかりで，まだまだ復興というスタートラインにすら至っていないということが強調された。援助にはロジスティックが必要で，被災地へ負担させるのではなく，すべて支援者側で自立して人材，物資を必要とされるところへ送ることが基本と説明された。

循環器領域の支援の方策について意見交換をした。被災地での循環器疾患の予防が重要



図10. 宮城県のコーディネーターが活躍した地域

で，血圧管理や食内容の指導が重要となり，被災者への啓発作業のみならず，医療支援者にも指導方法や診療の啓発が必要なので，当センターや日本循環器学会の役割は重要との指摘があった。医療チームとして参加するなら，医療チームへのアドバイザー的な支援が重要ではないかとの意見をいただいた。これは後日，岩手県での支援へ活かされた。

9. 国立病院機構病院への訪問：仙台医療センターにおける被災選後の対応

仙台医療センターを22日に訪問。本施設は東北ブロックの災害拠点病院であり，毎年，災害訓練を実施していてスタッフは即座に対応可能であった。機能的には，津波被害・地震被害は少なく，病院機能は発揮できた。ただし，電気と水道は数日で復旧し，ガスも2週間程度で復旧したものの，高層本館について4基のうち3基のポンプが故障したため，長期間病棟において制約が生じた。DMATはピーク時には77チームが本院をベースとして活動し，施設された医薬品を被災地へ送り出した。被災当初はクラッシュ症候群の患者受け入れを想定していたが，実際は沿岸部からの搬送はなかった。宮城県の6人の災害

医療コーディネーターの1人である牡鹿救急センター長が中心となり，医療チームの派遣や連携を行った。なお，4月18日からは通常通りの診療体制となっていた。

各地域のコーディネーターによる連携は，メールやメーリングリストで行い，定期的に県庁で集約されている。宮城県では，気仙沼，南三陸，石巻地域が最大の被害地域であり，コーディネーターにより全国からの医療支援チームをコントロールしている。石巻モデル（Unit と Line）を，ほぼ他の2地域でも実施していると説明を受けた。全国からの医療チーム（Unit）に Line（定期的に1つのエリアを担当）を構築してもらい，コーディネーターは，そのLineを各エリアへ貼り付ける作業を行っている。Unit と Line 形成は，自己完結型であるので，現場の調整負担が少なく，今後も長期的に必要な地域が残る見通しであると説明された。例えば，循環器領域が週1回の医療チーム（Unit）を定期的に派遣（Line 形成）することは，循環器疾患の発症予防や管理に専門性を発揮できることで成立することになる。

これは災害救助法の基に無償医療の提供であるが，今後，保険診療が可能な診療所（開業医）が復活すると，Line は撤収する方向である。しかし，なお多くの避難所が残り，十分な医療の提供ができていないため，Line，特に専門領域の支援が必要とされている。循環器領域では，一部東北大学が外来支援をしているが，広範囲の啓発活動は手つかず状態である。循環器の診療所あるいは Line での支援は，今後も必要性があるとの意見があった。

薬剤情報

医薬品は，卸業者からの入手分および県薬務課ルートによる支援物資で確保できていたが，県薬務課ルートの場合，県指定の場所まで受け取りに行く必要があり，被災地からの交通手段の確保が課題であった。NHO医療班（DMAT）へは仙台医療センターが拠点となり，医薬品の供給が行われた。今回，津波などで医薬品が流され，「お薬手帳」などしか持っておらず，かつ医師の診療が受けられないなど，一定の条件の被災者の場合，「お薬手帳」の情報をもとに調剤薬局で薬を交付してもかまわないことを厚生労働省に確認し，避難所などの被災者の医薬品の供給を確保した。今後各地の状況に応じ，避難所での医療支援を行いつつ，被災地での診療所，薬局などの医療機関の復興にも配慮した支援をすべきではないか，との意見をいただいた。

これで4日間の予定をすべて終了して，22日に帰院した。帰院後，報告書を当センターのホームページに掲載した。本稿は，その改稿である。

1日も早い復興ができ，健康的な生活が戻ることを祈っている。

【執筆協力者】
国立循環器病研究センター
脳血管内科 遠藤 徹
脳卒中科部長 北田 孝
看護師 筑地 賢
総務課長 梶崎 真琴

医療スタッフ/チームの派遣

結核予防会の活動に参加して

宮本恵宏

はじめに

2011年3月11日14時46分に発生した東日本大震災では，日を渡うばかりの地震・津波被害が報道された。さらに原子力発電所の事故は，いまだ収束を見ていない。地震大国である我が国にとっても，東日本大震災の被災規模（避難民52万人，避難所2,000カ所以上）は，1995年に経験した阪神・淡路大震災（最大避難民32万人，避難所1,100カ所）を超えており，近年我々が経験したことのない大規模なものであった。結核予防会は，結核・生活習慣病予防を柱として国民の公衆衛生向上を旨とする公益財団法人であるが，いち早く東北地方太平洋沖地震被災対策委員会を組織し，全国の結核予防会支部を組織して被災地住民の健康を守るための支援活動を始められた。2011年3月15日以降，結核予防会第一健康相談所（岡山明所長，元・国立循環器病センター予防検診部長）は先遣隊を被災地に派遣して情報収集を行い，その後，健康支援チームを派遣した。我々公衆衛生学関係者は，日頃から疫学研究で行政，地域の方々のご協力を得て，疾病対策に取り組んでいるが，同所より被災地の方々の支援をするための呼びかけがあり，支援チームの一員として参加したので，当時の状況と支援活動の報告を行う。

Ⅰ．結核予防会の被災地支援活動

大震災直後から，結核予防会では災害対策

国立循環器病研究センター予防健診部

委員会が立ち上げられ，どのような活動ができるのか，そのための準備（資金，資材），現地調査が行われ，支部活動として岩手県では3月15日～27日に保健支援（支援地域：宮古地区・釜石地区・大船渡地区），宮城県では3月30日～5月2日まで看護師2名が現地に泊まりこみで支援（支援地域：気仙沼），福島県では3月16日～末日まで7名1チームの2班で避難所を巡回し，被爆測定を含む健康支援を行ったあと，本部の支援活動として，岩手県山田町で3月27日～7月1日まで保健活動支援，宮城県気仙沼市で5月2日～7月1日まで保健活動支援，宮城県石巻市で4月4日～28日まで医療活動支援，岩手県大船渡病院で4月4日～6月4日まで医療活動支援を行った（図1）。

全国の結核予防会職員とボランティア計104名（医師28名，保健師17名，看護師23名，検査技師4名，相談員2名，事務員20名，介護1名，臨床心理士7名，管理栄養士2名）が参加した。私は岩手県山田町の保健活動支援チームの医師として，2011年4月30日～5月7日まで現地で活動した（図2）。

Ⅱ．岩手県山田町を訪れて

山田町は，岩手県沿岸部に位置し，牡蠣の養殖が盛んで，1643年にオランダ船「プレスケンス号」が同町に漂着したことから名前が付けられた「オランダ島」（正式名「大島」）が沖合に浮かぶ美しい町である。2010年の国勢調査では人口18,625人，世帯数6,605だったが，今回の東日本大震災による死者数は

初回（3/27～4/2）	最終回（6/26～7/2）
①健康状態の確認（医療チーム・心のケアチームとの連携）	①健康相談・生活指導（心のケアチームとの連携）
②生活環境の確認と改善（感冒予防・手指消毒等）	②生活環境の確認と改善（食中毒予防・湿気対策等）
③運動指導（ストレス軽減）	③運動指導（健康増進）

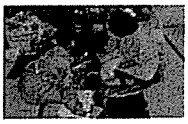




図1．支援活動の実際（避難所）

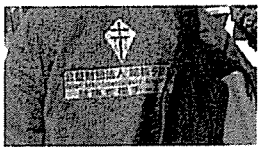


図2．結核予防会の健康支援チームに参加

604人，行方不明者数は153人，死亡認定者数146人，住宅・建物被害（全壊数＋半壊数）は3,167戸であった。

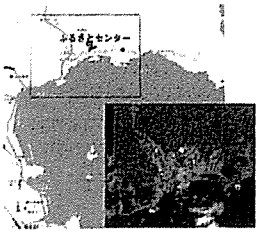


図3．カッターで切り取ったような町並み

我々のチームは医師1名（私），看護師1名（東京新山手病院），保健師1名（結核予防会愛媛支部），事務員1名（第一健康相談所）の4名からなるチームで，4月30日に岩手医科大学衛生学公衆衛生学教室（盛岡市）にてオリエンテーションを受けたのち，自動車で山田町役場に移動し，避難所などの状況の確認と町からの依頼を確認した。主な依頼内容は，各避難所での避難者数や健康状況を調査して提出することであった。避難所で必要な支援物資を調査して，役場に配給を依頼することもあった。避難所に避難していない方に対しては，町から依頼を受けて戸別訪問を行い，住民の調査と健康調査を行った。

東日本大震災は大津波により，図3のようにカッターで切り取ったように町から家や施設を奪い取り，我々が行った時には造成地のように見えるところもあった（図4）。

山田町の避難所は「ふるさとセンター」と大沢小学校に分かれており，大沢小学校に医療チームとして和歌山日赤病院チームが滞在していた。たまたま，我々が行った日に和歌山日赤の医療チームが引き上げることになり，「ふるさとセンター」と大沢小学校の2



図4．家や施設が大津波により青い取られ，造成地のように見えるところも



図5．食器の洗浄設備

か所の避難所を受け持つこととなった。

時期としては，徐々に気温が上昇しており，食中毒などの感染症の発生が懸念された。しかし，食器の洗浄設備は，その時期でも十分なものではなく（図5），食事も弁当が配布されることが多く（図6），常温で弁当は置かれていた。大沢小学校を訪れた初日に，低学年の子どもさんを持つ家族が集められた図書室で生活する低学年の児童1名が吐いているという情報があった。臨時診療所で検査を行ったところノロウイルスが陽性となったため，その児童と家族をコンピューター学習室に隔離し，次亜塩素酸ナトリウムで図書室の消毒を行った。

山田町役場保健福祉課では，様々な所からくる支援チームや避難所，在宅者の情報に1～2名の保健師が対応していた。彼女ら自身が被災者であることに加え，過重な業務で心身の負担は想像以上であろうと思われた。

「ふるさとセンター」では中高年の避難者が多く，血圧の上昇や眠れないなど，避難生活によるストレスと運動不足が原因と思われる症状が多々見られた。避難者の方の表情は明るく見えたが，震災の日のこと，失われたご家族のことを思い起こして涙を流される方もおられ，全ての方に内に隠した思いがある



図6．弁当配布が多かった食事

のだと思われた。遠慮をしてか，体調不良があっても訴えられない方が多かったが，自宅は浸水していながら倒壊していないため，在宅として「ふるさとセンター」の傾聴ボランティアをしている方がキーパーソンとなり，避難者の状況を把握しておられた。その方から，身体の調子が悪い人を教えてもらうことで，診察を行うこともあった。

岩手医科大学でのミーティングではマニュアルを渡されたが，現場の状況は日々変化していて，チームメンバーや各キーパーソンに相談しながら，支援内容を決定していく必要があった。

在宅の方の健康状態を把握するため，住宅地図を持って戸別訪問も行った。役成や知り合いの方が集まって避難していることもあり，住民票情報とは異なることも多く，居住



図7．岩手県宮古から届いたキーホルダー

者の確認をして役場に報告を行った。高台にあり住居は被害を受けていない人でも，商店街にある店が流され，仕事ができなくなった人も多くおられた。

おわりに

2011年12月に「絆」と書かれた木製のキーホルダーが，礼状とともに岩手県宮古から届けられた（図7）。私のほうこそお礼をしないといけない，また山田町に行かないといけないと考えている。

謝　辞

岩手県山田町の町民と役場の皆様，岩手県宮古市保健所の皆様，結核予防会第一健康相談所の支援事務局の先生方と事務員の皆様，結核予防会の保健師様，新山手病院の看護師様，岩手医科大学衛生学公衆衛生学教室の先生方に心より感謝申し上げます。

医療スタッフ/チームの派遣

第2回調査チーム報告：岩手県

峰松一夫*，横山広行*2，西　謙一*3

はじめに

第2回調査チームは，2011年7月19～22日の4日間にわたり岩手県を訪問した。本調査チームは，当初は4月に現地入りする予定であった。しかしながら，岩手医科大学（以下，岩手医大）の小川 彰学長に相談したところ，「今はまだ混乱が続いている。国立循環器病研究センター（以下，国循）の出番は，緊急災害医療支援ではなく，その後の復興に向けての息の長い医療支援のはず，もう1～2カ月待たれたい」との返事であった。岩手医大は，以前から国循との人事交流も盛んであった。また小川学長は一般社団法人日本脳卒中学会の理事長を務め，同学会理事の橋本信夫先生や峰松との親交も深い。その小川学長からOKの連絡が入ったのは，7月に入ってからであった。

岩手県をはじめとする東北・北関東各県は，もともと住民の塩分摂取量が多く，脳卒中など循環器疾患の死亡率上位県が並ぶ。第1回調査チームの報告により，被災地での食生活・生活環境の悪化により，塩分摂取量の増加，運動不足，これらによる高血圧患者や肥満者の増加が懸念されたことから，食生活の改善（特に減塩）が重要な支援テーマと考えられた。

第2回調査チームは，脳血管疾患を専門とする副院長の峰松，心疾患を専門とし日本循環器学会の震災対策委員会の委員も務める横山心臓血管内科特任部長（当時），国循の減塩プロジェクトに携わる研究開発基盤センター知的資産部の西研究員の3名で構成された（図1）。前述の経緯から，岩手県庁（特に，災害対策本部），岩手県栄養士会，岩手医大，沿岸部被災地の仮設診療所を訪れることとした（表1）。なお，岩手県の面積は北海道に次いで広大であり，国循全体とほぼ同じである。今回の3泊4日の調査は，岩手県全体の1/4程度をカバーしたに過ぎなかった（図2）。

1．岩手県庁（盛岡市）

7月19日朝，大阪伊丹空港より空路岩手県入りした。いわて花巻空港から空港バスで盛

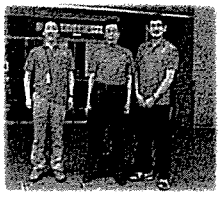


図1．第2回調査チーム
左より，横山，峰松，西．岩手医科大学高度救命救急センター入り口前で撮影。

*国立循環器病研究センター病院 副院長
*2国立循環器病研究センター 医療安全管理部，心臓血管内科
*3国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター 知的資産部産学官連携室

表1．第2回調査チーム（岩手県）の日程

第1日 （7月19日）	大阪伊丹空港からいわて花巻空港を経て盛岡市へ ・岩手県庁4階 災害対策本部の伏屋先生と面談 ・同9階 岩手県保健福祉部と面談 ・岩手県栄養士会訪問
第2日 （7月20日）	・岩手医科大学学長室にて小川学長，小林病院長と面談 ・岩手医科大学付属病院にて脳神経外科小笠原教授と面談 ・同神経内科寺山教授と面談 ・同 公衆衛生学堀田教授と面談 ・同 循環器・腎・内分泌分野中村教授と面談
第3日 （7月21日）	・宮古市田老地区被災地域を視察後，「グリーンピア三陸みやこ」内に設置された宮古市国民健康保険田老仮設診療所を訪問．黒田所長と面談． ・大槌町被災地域を視察後，仮設焼却炉現地で植田所長と面談．
第4日 （7月22日）	いわて花巻空港より大阪伊丹空港を経て，国際に帰着．

岡市に入り，その足で岩手県庁を訪問した．岩手県庁4階にある広い会議室内に設置された岩手県災害対策本部には，県の関連部局・組織，陸上自衛隊司令部などが大部屋形式で同居し，連携して作業を行っていた．まず，医療担当チームの岩手医大附属病院岩手県高度救命救急センター伏屋 雅司准教授から，医療支援に関する苦労話をうかがった．伏屋先生は，吹田市南千里地区にある千里救命救急センターに在籍されたことがあり，北千里地区の国循のことはよくご存じであった．伏屋先生は，小川学長の指示により，震災数日後から県庁に乗り込み，以後4カ月以上にわたり，県内の医療情報の集約と，全国から押し寄せる医療支援部隊への指示系統の一元化など，岩手県の災害医療支援体制の司令塔の役割を担ってきた．災害対策本部内に設置された自衛隊司令部には，現地入りした

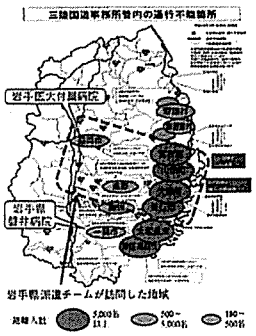


図2．岩手県の避難地域と避難人数（2011年3月18日現在）
破線の枠内が，岩手県調査チームが訪問した地域である．

自衛隊各部隊からの生の沿岸部被災地情報が集約され，これが災害対策本部内の各チームに提供されていた．こうした連携なくして，発災直後からの的確な医療支援は不可能であった．途中から，自衛隊司令部で指揮を執る関谷拓郎二等陸佐にも議論に加わっていただき，具体的な話を聞くことができた（図3）．

次に，県庁9階にある保健福祉部を訪問した．小田島智弥部長以下6名の職員の皆さんに対応いただき，被災地の保健・医療問題について意見交換を行った．避難所での食事は，被災直後はカップラーメン，おにぎり，パンが中心であったが，4月上旬までには徐々に改善された．岩手県栄養士会の協力で，6月には避難所での栄養調査が行われ，カロリー



図3．岩手県庁4階災害対策本部にて
岩手医科大学高度救命救急センター伏屋 雅司准教授（右端）と陸上自衛隊第九師団関谷拓郎二等陸佐（右より2人目）と面談した．

摂取量などには問題がなかった．ただし，塩分摂取量などは調査項目に含まれず，不明であった．我々が訪問した7月下旬には，避難所から仮設住宅への被災者の移動，自衛隊部隊の撤収などが始まっていた．災害支援法により食事などが保障されていた避難所生活に比べ，その適用外となる仮設住宅では，むしろ食事，飲酒，心のケアなどが問題化すると危惧されていた．「被災住民の血圧が上昇している」との情報が多かったものの，系統的な調査は行われておらず，その詳細は不明であった．また脳卒中や心疾患の増悪実態は，全く分からないとのことであった．これまで岩手県沿岸部の地域医療を支えてきた県立病院の大半が，今回の震災・津波で全半壊の大打撃を受けてしまい，その再建が最大の問題とされた．医療体制の復旧・復興や，高齢者福祉施設の不足問題の解決には，数年以上がかかると予想された（表2）．

表2．岩手県保健福祉部での面談内容（要点）

1. 災害支援法が適用される避難所生活から，適用外となる仮設住宅での生活が始まる．これから先の問題が顕在化する．
2. 住民の血圧上昇問題．
3. 脳卒中や心疾患の増悪実態は不明．
4. 当面の大問題は被災した県立病院の再建．医療復興には数年以上かかるであろう．
5. 仮設住宅でのアルコール依存や自殺の増加が懸念される．
6. 高齢者福祉施設の不足問題．

Ⅱ．岩手県栄養士会（盛岡市）

県庁訪問後，盛岡市内の古い民家に本部を構える社団法人岩手県栄養士会を訪れ，伊東 節子会長を含む3人の幹部と面談した．最初は，「国循の医師や研究員がなぜ栄養士会を



図4．岩手県栄養士会で刊行されている減塩食普及啓発パンフレット

被災対策本部」の看板が掛けられた別の出入り口に案内され，その前で記念撮影を行った（図5）．

Ⅲ．岩手医科大学（盛岡市）

2日目（7月20日）は九1日を費やして，岩手医科大学の各部署を訪問した．まず学長室で，小川学長，小林統一郎岩手医大附属病院長と面談した（図6）．学長の指示により，発災後早期に「岩手県災害医療ネットワーク」が構築され，医療情報収集や医療支援の指揮命令系統が一本化されたことは，特筆に値する．県外からの医療支援チームについても，本ネットワークで交通整理がなされたという．岩手医大は，内陸部と沿岸部との中継基地として遠野市に活動拠点を構築し，DMAT経験

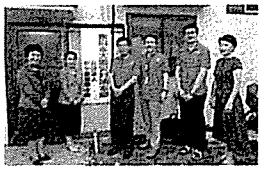


図5．岩手県栄養士会幹部の皆さんと社団法人岩手県栄養士会「東日本大震災対策本部」の看板前にて．

者2名を被災地情報収集にあてた．津波被災地である県沿岸部は，もともと医師不足であったところに，今回の津波被害で多くの医療機関が壊滅的な打撃を受けた．被害が長期化，広域化するなかで，保健師や栄養士不足も顕著となっている．今後はハブとなる医療機関（久慈，宮古，釜石，大船渡の各県立病院）に医療資源を集中し，内陸部の基幹病院（岩手医科大学附属病院など）とはドクターヘリや遠隔医療で結ぶ新しい医療復興構想を実現したいと，小川学長が力説された．

脳神経外科の小笠原教授，神経内科の寺山教授とも面談し，被災地の脳神経疾患の患者動向について具体的な話を聞いた（図7，8）．被災者の健康状況については，県内外に避難した住民も多いこと，また医療従事者不足により系統的な患者調査が行われていないため，以前との比較が困難であった．断片的な情報からは，高血圧患者が増加し，かつそれが長期間持続しているとのことであった．被災住民は大きな心理的打撃を受けており，今後は彼らのメンタルヘルスが重要な問題とのコメントであった．

引き続き，公衆衛生学の坂田教授，循環器・腎・内分泌内科の中村教授と面談した．坂田教授は，以前から岩手県北部で住民疫学



図6．岩手医科大学小川学長，小林病院長と岩手医科大学学長室にて，左から2人目が小川学長．

調査を実施中であり，国循予防検診部とも交流がある．坂田教授は，発災後の地元保健師の活躍を語ってくれた．すなわち，元大槌町保健師であった岩手看護短期大学の鈴木るり子教授が，125名の保健師を動員し，大槌町の全戸調査を実施したという．陸前高田市では，保健師9名中6名が被災死亡，2名が離職し，残る1名が孤軍奮闘中という．最近になって，被災者健康調査予算がやっと付いたため，9～12月にかけて，沿岸中・南部の陸前高田市，大槌町，山田町の被災者1万人を対象とした大規模健康調査を行う計画とのことであった．なお，釜石市地区については，国立栄養研究所が同様の調査を実施する．

5～6月に簡単な調査を行った中村教授によると，昨年，一昨年の同時期に比し，入院を要する心不全患者が倍増していた．震災に関連する公募研究課題が採択されたため，今後は宮古，釜石，大船渡，盛岡市の医療機関にリサーチナースを10名ほど配置し，急性心筋梗塞，突然死，心不全を対象とした循環器病実態調査を予定しているとのことであった．沿岸部被災地域の循環器医は絶対的に不足しており，特に循環器医がいない宮古市地区で心筋梗塞を発症すると，対応可能な内陸部の基幹病院に移送するだけでも，陸路2時間（片道）が必要であり，救命率の低下が懸



図7．岩手医科大学脳神経外科小笠原教授と脳神経外科教授室にて



図8．岩手医科大学神経内科寺山教授と神経内科教授室にて

念されるとのことであった．表3に，坂田教授，中村教授との面談内容を箇条書きにまとめた．

Ⅳ．田老診療所（宮古市）

3日目（7月21日）は，地元のタクシーをチャーターし，盛岡市から陸路，沿岸部の宮古市田老地区に入った．盛岡市内から沿岸部までは2時間以上の道のりであった．途中までは沿道の変化にあまり気がつかなかったが，宮古市を一望できる所に来て，景色が一変した．テレビ，新聞報道などで見たことのある被災景色ではあったが，しかしそれが見渡す限り延々と続いているのを見て，言葉を失った．発災より4カ月過ぎてもなお，がれき処

表3. 岩手医科大学盛田教授，中村教授との面談内容（要点）

1. 125名の保健師による大槌町全戸訪問健康調査が実施された．
2. 岩手県被災地1万人健康調査が計画されている．
3. これからの問題として，仮設住宅での食事，飲酒，心のケアの問題があげられる．
4. がれき処理問題の解決には数十年がかかるであろう．
5. 行政面では，市町村職員が多数死亡したこと，住基データが喪失してしまったことが問題．
6. 被災後に心不全患者入院は倍増した傾向．
7. 冬場の医療支援については不安がある．

理が続いており，集められたがれきの山は，まるで廃坑となった炭鉱のボタ山を連想させた．高さ10m以上の山肌には，まだ布切れやがれきの一部が残っており，押し寄せた津波の高さに恐怖を覚えた．ちなみに，田老地区を襲った津波の最大波高は38mであったと報告されている．

津波到来直後の映像がテレビで何度も放映された宮古港を跨ぐ道路橋を渡り，有名な大堤防を含む町全体ががれきと化していた田老地区を通り過ぎ，高台にある「グリーンピア三陸みやこ」に設けられた仮設田老診療所の黒田仁所長を訪問した．黒田所長は，田老地区唯一の医療機関であった田老診療所のたった1人の勤務医であった．彼から，発災後から訪問当日までの状況について，細かく教えていただいた．彼の孤軍奮闘ぶりは，新聞，テレビなどでもよく紹介されている．本来の田老診療所は，津波で全壊してしまった．避難所を転々としながら，黒田所長と診療所看護師が協力し，診療活動を続けた．田老地区住民の健康調査を実施したかったが，住基データがなくなってしまい，名簿が作れなかった．部分的な実施は，かえって不公平になると考え，実施していないとのこと．本州の東西南北端に位置する大間，串本，下関，宮古

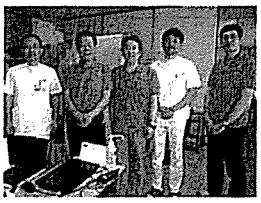


図9. 田老仮設診療所
「グリーンピア三陸みやこ」2階に仮設診療所が設置されていた．左より日本循環器学会ドクターバンクからの派遣医師，林松，横山，黒田仁田老仮設診療所長，筆．

の4市町で締結していた「国循都市協定」に基づき，下関市から派遣された保健師2人が，「グリーンピア三陸みやこ」内の体育館（パシフィックアリーナ）に設けられた避難所で活動し，全避難者の血圧，脈拍，体重測定を行ってくれた．また，日本循環器学会からは，1～2週間交代で医師派遣が続き，診療所業務を手伝ってもらっているとのこと．彼らに避難所の健診データを入力してもらい，必要性のある患者は黒田所長がチェックしているとのことであった（図9）．

田老地区を含む宮古市地域の高度医療は，県立宮古病院が担ってきた．県立宮古病院は津波被害を免れたものの，医師不足が深刻である．この問題が解決されない限り，心筋梗塞などの重症患者を救えない可能性がある．盛岡市の基幹病院に搬送する場合は，住民や申し送りなどのために6時間ほどの拘束となる．需が多い地域のため，ドクターヘリにも過度の期待はできないという．

V．植田医院（大槌町）

最後に，大槌町の仮設診療所植田医院の植



図10. 大槌町を襲った大津波
2011年3月11日，巨大津波第1波が大槌町を襲った直後に，4階建ての植田医院屋上から植田俊郎医師が撮影（植田医師提供）．



図11. 被災直後の大槌町の風景
植田医師が2011年3月24日に撮影．中央やや左下に見える4階建てのビルが被災した植田医院（植田医師提供）．

田俊郎院長を訪問した．植田院長は往診中に地震に遭い，往診先から自宅に戻ったところで津波に襲われた（図10）．幸い，4階建ての植田医院の屋上に避難して助かり，被災翌日に自衛隊のヘリコプターで救助された．図11は，後日，植田院長自身が町の高台から植田医院を含む被災地域を撮影したものである．

植田院長は，ヘリコプターでの救助直後から避難所での医療活動に励まれた．その活躍ぶりは新聞，テレビなどで何度も報道されている．なお，大槌町には，大阪府医師会がJMAT（日本医師会災害医療支援チーム：Japan Medical Association Team）を派遣し，3月22日～5月末まで継続的な医療支援活動を行った．こうした経緯から，2011年10月15日に大阪で開催された公開討論会「震災と地域医療－被災地から学ぶ」には，植田医師が招聘された．その討論の内容は，大阪府医師会報に紹介されている．

我々が訪問した時には，仮設住宅への引っ越しがかなり進んでいた．最大600名の被災者がいたという避難所の寺野弓道場には，70名程度が残っていたに過ぎなかった．それまで被災住民の避難所生活を支えてきた自衛隊

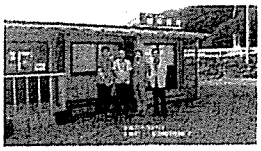


図12. 仮設植田診療所
沿岸部より数キロ山間の広場にプレハブ平屋建ての仮設診療所が建てられていた．左より2人目が植田先生．

られたのが大変印象的であった．多くの被災者が，先生の優しさ，明るさに救われたことであろう．最後に，仮設植田医院の前で，記念写真を撮らせていただいた（図12）．

おわりに

植田医院訪問後は，釜石市およびその周辺地域の被災地を視察し，遠野市を経由して，花巻空港近くのホテルに宿泊，翌22日昼ごろに，空路大阪に戻った．この第2回調査チームの活動報告をもとに，「東日本大震災被災地における循環器病対策の提言（第3回）平成23年8月17日」を，国循のホームページ（http://www.ncvc.go.jp/topics/wig-erdbehen.html）に掲載した．提言の内容は，①仮設住宅における「食」の問題と循環器病対策，②「食」と「こころ」の問題解決に役立つ仕組みの構築の2つである．また，冊子にまとめた「調査派遣チーム活動記録：岩手県派遣チーム」も，PDFとして入手可能である．

大阪に戻った直後に，最初に話を伺った岩手県災害対策本部の秋冨慎教授からメールが届いていた．そのなかで，印象的なメッセージがあったので，表4に引用させていただく．また，大槌町の植田院長からは，別れ際に1枚のお手紙をいただいた．そのなかに，先生

表4. 秋冨慎司准教授からのメッセージ（抜粋）

（原稿）
自分自身，岩手はやっと峠を越え，長く暗い先の見えないトンネルに入ったばかりだと，感じております．お金をかければ復興は出来ると思いますが，人の心も復興できるような取り組みを是非ていきたいと思っております．

佐冨　慎司

表5. 植田俊郎先生からのメッセージ

（原稿）
ここまで来たのも皆様の物心からのご支援があったおかげと心より感謝致します．本当にありがとうございました．これから少しずつですが自立に向けて逞しみを加速させ，自宅診療を行いたいと思います．出にたとえるなら未知のルートをたどる登山でしょうか．
そして，いつの日か生まれ変わった大槌での再会を楽しみにしています．最後に皆様のご健康とご健勝を祈念しお礼と致します．

植田　俊郎

のお人柄が感じられる一文があったので，表5に引用しておく．

3泊4日の大急ぎの，大勢の多忙な方々からお話をうかがうばかりの調査であった．我々は何とかして，被災地の復興に役に立つ，しかも団体でしかできないプロジェクトにつなげたいと考えた．この調査を通じて形成された岩手県栄養士会，岩手医大の皆様との人間関係は，幸いにも11月の盛岡市での，また2012年2月の宮古市での「減塩・循環器病予防プロジェクト講演会」（共催）開催へと発展した．これについては，別項（本誌「減塩・循環器病予防プロジェクト「第1回・第2回講演会」」にて詳述されているので，ぜひお読みいただきたい．

§ 文　献
1）大阪府医師会：第33回 大阪の医療と福祉を考える公開討論会．震災と地域医療　被災地から学ぶ．大阪府医師会報 2012;1月号(vol.373) 9-33

提　言

東日本大震災被災地における循環器病対策（第1回）

2011年5月13日

（当センターのホームページに掲載）

国立循環器病研究センターでは，東日本大震災発生当初より対策本部を設置し，被災地における医療支援を準備してきました．そして震災後の経過に伴う支援要求の変転などの実態を把握して，適正かつ効果的な医療支援を実施するための現地調査を計画し，2011年4月19日～22日にかけて山形県・宮城県に調査チーム第1班（リーダー：野々木 宏）を派遣しました（本誌「第1回調査チーム報告：山形県・宮城県」参照）．

今回，このチーム報告を受け，被災地の循環器病を「押さえ込む」という観点から，次の2項目：Ⅰ．高血圧症対策の推進，Ⅱ．中・小病院～診療所における循環器病診療体制の整備につき対策の提言を行います．すでに実施されているものについては，重複をご容赦ください．言うまでもなくこれは対策の一部に過ぎませんが，被災地での医療の一助となれば幸いです．なお，当センターでは，さらに調査チームを派遣し，適宜，提言を検討する予定です．また提言内容の実施について，循環器病のナショナルセンターとして必要な尽力と協力は惜しみません．

Ⅰ．高血圧症対策の推進

【提　言】
①食品対策：減塩食品，野菜・果物ジュースの推奨
②血圧の自己管理の推進：家庭用血圧計・記録用紙・解説冊子（血圧・減塩など）の配布，適度の運動の奨励

循環器病の救急診療や外科手術については，拠点医療施設を中心に体制が整いつつあるため，今後は管理・予防診療にかかわる病態が重要となると想定されます．なかでも高血圧症は最重要疾患の一つです．

高血圧症はありふれた疾患ながら，ストレスの多い環境下におけるコントロールには細心の注意を要し，既に心筋梗塞や心不全，脳卒中など，被災地での高血圧続発症の報告がされ始めています．今回の被災地はもともと塩分摂取量の多い地域であることに加え，避難所の保存食による過剰な塩分摂取などから，特に高齢者の爆発的な続発症増加が危惧されます．また初期の救急主体の医療支援チームの引き上げが始まっているため，今後の被災地の高血圧管理では「食生活と血圧の自己管理」が非常に重要と考えられます．

なお，野菜・果物ジュースはカリウムを多く含み，腎からのナトリウム排泄を増加させるので，弱い降圧作用が期待できることが知られています．引きこもりを避け，体を動かすことにも高血圧の予防効果があります．

Ⅱ．中・小病院～診療所における循環器病診療体制の整備

【提　言】
①診療可能な中・小病院～診療所（避難所含む）の施設整備と連携ラインの形成
②「提言①」に基づく循環器病診療専門医の中長期的な巡回や定時派遣

上記の「提言①」は，被災地の最前線診療

を担当する施設群を想定していて，避難所の診療施設を含みます．循環器病診療に特化したものではなく，主に行政と医師会や基幹大学，公的病院グループ（国立病院機構，日本赤十字）などの役割と考えます．今回の調査チームの報告では，完全に孤立した私立病院も認められました．また，どのような病気をどう治療しているかという，診療実態調査も併せて実施していただきたいと思います．

一方，プライマリケア主体の最前線診療では感染症などが中心ですが，上記の高血圧症のほか，虚血性心疾患，不整脈疾患，脳卒中後など，診療と管理に高い専門性を必要とする循環器疾患患者も少なからず含まれると予想されます．従って循環器病診療の専門医が中長期的に被災地の最前線診療に加わること（「提言②」）の重要性は明らかです．これは循環器病関連の学術団体（循環器学会・心臓病学会など）が主導して，医師登録と統一的コーディネーションをすべきであり，センターもこれに協力します．スタイルは巡回，定時派遣，短期滞在，アドバイザーなどがあり，施設に応じたチーム医療スタイルの検討が必要と思われます．

（付記）避難所などにおけるヘルスケアについて

【提　言】
○結核対策の推進

避難所などにおけるヘルスケアの問題は，メンタルヘルス（心のケア）を含め多岐にわたりますが，医学的にも生活環境の改善が循環器疾患の発症と悪化の予防に繋がると考えられます．この提言は，ガレキからの粉塵が多くて窓も開けられないという，今回の調査チームへのある避難所からの強い訴えに端づくもので，ここに付記します．

具体的な対策として，結着テープを使用したごみ取り装置（コロコロ）を，後日，当センターから当該避難所に送付提供させていただきました[1]．

§　参　照
1：提言①の減塩食品については，Webサイト『塩を減らそうプロジェクト』（http://www.shio-herasou.com/）を参照．
2：提言②の解説冊子については，当センターホームページ掲載の『知っておきたい循環器病あれこれ（84）血圧の話（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/bp/pamph04.html），（43）血圧の自己管理（改訂版）（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/bp/pamph43.html）』を参照．
3：当センターホームページ掲載『宮城県石巻市立旧渡波小学校避難所への支援について』（http://www.ncvc.go.jp/shimaki-shien.pdf）を参照．

制の構築は行政や地域の主幹大学・中核病院などの主導で行われるべきと考えます．

被災地での循環器病の診療体制について，即製された医療チームのなかではほとんどが循環器病非専門であり，循環器病専門医・専門看護師・薬剤師などより構成される「循環器病巡回診療チーム」を避難所・救護所などへ派遣することも重要です（「提言③」）．その際，慢性病の悪化や合併する心筋梗塞や心不全などを早期に発見するため，血液検査や超音波検査などの携帯型機器の持参が必要です．

循環器病のような慢性疾患では被災後長期にわたる支援が必要となり，可能な限り固定したメンバーのグループが継続して診療に当たることが望まれます．これらのチームやグループの編成は学会が主導で行うべきでしょう．そして，その後ほぼに，地元医師会中心の横の連携体制へ移行することが望ましいと考えます．

なお患者さん側の備えとして，治療内容や検査結果などの診療情報の保存や，（期間に注意しながら）薬剤の予備を分散保管しておくことも勧められます．具体的には，循環病連携手帳やお薬手帳（これらがあると派遣チームの診療が格段に容易になる），インスリン製剤・経口薬（3日間は自力で対処できるように）を別個の袋に保管し，いざという時にすぐ持ち出せるように準備しておくことが必要です．また，緊急時のインスリン入手の連絡先などをあらかじめ知っておくことも重要です．

＊インスリン供給や医療に関する現地情報は，日本糖尿病学会（http://www.jda or jp/）や日本糖尿病協会（http://www nittokyo or jp/）のホームページを参照．
＊インスリン製剤の保管や取り扱いに関しての問い合わせは，お手持ちの製剤の製造会社のフリーダイヤルへ．

Ⅱ．保健衛生の観点でのケアについて

【提　言】
①保健衛生体制の整備と連携ラインの構築
②循環器病病抑制のためのヘルスケアの推進：運動の奨励，体重管理，禁煙，心のケア対策の推進

心のケアを含めて，保健衛生上の問題が避難所での循環器病の発症と悪化に繋がると考えられています．また，インフラが改善され自宅に戻った方は情報提供のルートや支援の輪から外れることがあり，在宅避難者の健康管理対策も必要です．このため保健衛生環境の改善が，被災地での循環器病を含む疾病の抑制には不可欠です．そこでまず，それを行う体制の整備と連携ラインの構築を提案します（「提言①」）．

東日本の被災地は元来，脳卒中などの循環器病の発症率が高く，保健所や地域の医療機関による予防健診事業が重要な役割を果たしてきました．そこで，これらの予防健診に携わってきた体制～ラインと全国規模の団体（結核予防会など）の連携が一つの方法と考えます．

循環器病の抑制の観点からは，生活習慣病と呼ばれる高血圧，糖尿病，脂質異常症などの病気やそれらの複合であるメタボリックシンドロームの発生や悪化を抑えるようなヘルスケアが重要です（「提言②」）．また，禁煙していた方が喫煙を再開したりすることがあります．ここでは運動の推奨と体重管理，禁煙指導，心のケア対策の推進について提言します．

避難所生活が長くなり，環境の変化があると，体を動かすことが少なくなりがちです．適度の運動が慢性病の治療に繋がることはよく知られていますが，高血圧症の発症や悪化の予防にも結びつくことは「第1回提言」でもお示ししました．当センターの心臓リハビリテーション部門で循環器病の予防のために用いている運動のガイド（http://www.ncvc.go.jp/undoguide.pdf）をご活用ください．柔軟体操（ストレッチ），室内でできる運動，筋肉強化トレーニング（自加重（自分の体重）を利用した運動，セラバンド（運動用のラバーバンド）を用いた運動）からなっており，ご自分の体力や環境に合わせて利用していただけます．

少し意外な印象を受けられるかもしれませんが，被災地では不規則な食事やその内容の偏り，運動不足などで肥満が生じやすいことも知られています．この体重増加は，高血圧症や慢性病の悪化に関係するだけでなく，深部静脈血栓症から肺血栓塞栓症（いわゆるエコノミークラス症候群）に至る重篤な循環器病の原因にもなります．柔軟体操を毎日行う，可能な時は少しでも余分に歩く，食事は腹八分目にする，体重を定期的に測るなど自己管理を行うことが奨められます[*]．

喫煙は，心筋梗塞や肺がんを招やすことが知られています．震災のストレスが原因でせっかく禁煙をしていた方が，喫煙を再開することが危惧されます．たばこやライターなどの喫煙具を身の回りに置かない，たばこを吸う人のそばに近づかないなど，喫煙のきっかけとなる環境を改善すること，自分はたばこをやめることを周囲の方に告げることなどが禁煙の助けとなります[*]．

被災した方は，様々な不安やストレスを抱えておられます．医療者は被災した方の不満や不安を少しでも時間をかけて聞くことが求められています．また，心のケアの専門家との連携も図らなければなりません．電話相談などの相談窓口の活用も有効です．

＊厚生労働省ホームページ（http://kokoro.mhlw.go.jp/ote-info0322.html）に東日本大震災 心の相談電話 0120-111-916（フリーダイヤル）（日本精神神経学会，日本臨床心理士会，東京臨床心理士会，日本電話相談学会）などの相談窓口案内あり．
＊『知っておきたい循環器病あれこれ』の冊子の入手を希望される場合は，財団法人循環器病研究振興財団（http://www.jcvrf.jp/）まで．
＊第1回提言で高血圧対策として挙げられた『減塩食』については，『おいしい！』と評判の国立循環器病研究センター病院の減塩食の情報（http://hospital.ncvc.go.jp/section/nm001/knowhow.html）を参照．

§　参　照
1：循環器病の解説冊子については当センターホームページ掲載の『知っておきたい循環器病あれこれ（48）糖尿病と動脈硬化（前編）（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/obesity/pamph48.html），（49）同（後編）（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/obesity/pamph49.html）』を参照．
2：メタボリンドローム，肥満，脂質異常症の解説冊子については，当センターホームページ掲載の『知っておきたい循環器病あれこれ（58）メタボリックシンドロームって何？（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/obesity/pamph58.html），（39）いまなぜ肥満が問題なのか（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/obesity/pamph39.html），（65）『脂質異常症』と言われたら（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/blood/pamph65.html）』を参照．
3：食塩や嗜好品の解説冊子については，『知っておきたい循環器病あれこれ（79）循環器病と気になる嗜好品（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/general/pamph79.html），（82）循環器病の食事療法（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/general/pamph17.html）』を参照．
4：脳血栓塞栓症については，『知っておきたい循環器病あれこれ（46）急性脳血栓塞栓症の話（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/blood/pamph46.html），（78）勢高症症～その予防と治療（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/blood/pamph78.html）』を参照．
5：日本循環器学会作成の禁煙ポスター（http://www.j-circ.or.jp/kinen/public/poster/poster.pdf）を参照．
6：禁煙の解説冊子については，『知っておきたい循環器病あれこれ（18）たばこやめ方（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/general/pamph18.html），（65）まだたばこを吸っているあなたへ（http://www.ncvc.go.jp/cvdinfo/pamphlet/general/pamph65.html）』を参照．

提　言

東日本大震災被災地における循環器病対策（第2回）

2011年7月1日

（当センターのホームページに掲載）

国立循環器病研究センターでは，東日本大震災に被災された地域に対する適正かつ効果的な医療支援を実施するため，2011年4月19日～22日にかけて山形県・宮城県に調査チームを派遣しました．そして被災地の循環器病を「押さえ込む」という観点から，5月13日に第1回の対策提言を行ったところです．これは「高血圧症対策」と「循環器病診療体制の整備」についてのもので，詳細は当センターのホームページをご覧ください（本誌「東日本大震災被災地における循環器病対策の提言（第1回）」を参照）．

今回は次の2項目：Ⅰ．糖尿病対策の推進，Ⅱ．保健衛生の観点でのケアについてつき，第2回の対策提言を行います．前回と同じく，すでに実施されているものについては，重複をご容赦ください．ここでの提示は対策の一部に過ぎませんが，被災地での医療の一助となれば幸いです．

なお，当センターでは，刻々と変化する被災地の医療の状況を把握すべく，新たな調査チームの派遣を計画しています．そして対策の提言を続ける予定です．また提言内容の実施について，循環器病のナショナルセンターとして必要な努力と協力は惜しみません．

Ⅰ．糖尿病対策の推進

【提　言】
①自己管理の推進：「災害時の自己管理マニュアル」の作成と配布
②「提言①」では対応できない個別の事例に対する相談体制の構築
③被災地での糖尿病の診療体制の構築

糖尿病は，脳卒中や心筋梗塞など動脈硬化が原因となる循環器病の発症の大きなリスク要因です．また高血糖は免疫機能の低下を招くことから，感染症の危険性が高まります．不適切な管理による高血糖や低血糖は生命の危機にも直結します[*]．このため被災地であっても適切な血糖管理が行われなければなりません．しかしながら，避難所の生活では，心理的・身体的ストレスが多く，これも血糖値の上昇につながります．

また被災地では，インスリンや内服薬が散逸または不足するといった問題にも直面します．実際，かかりつけ医療機関が被災して連絡がとれない，製剤や注射器・注射針の供給不足により在庫がなくなる，医療費の手持ちがなく医療機関にかかりづらいなどの例が，新聞やインターネットを介して多数報告されています．

そこで上記のリスクの低減のため，患者さんの避難生活におけるストレス緩和や水分・食事のとり方，運動および薬剤服用の指導，インスリンの使用と管理方法など，通常時とは違った視点での「災害時の糖尿病自己管理マニュアル」の作成と配布を提言します（「提言①」）．またインスリンの入手困難など，自己管理のみでは対応できない個別の事例に対する相談体制の構築も必要でしょう（「提言②」）．このマニュアル作成は循環病学会などの学会の主導で，マニュアルの配布や相談体

提　言

東日本大震災被災地における循環器病対策（第3回）

2011年8月17日

（当センターのホームページに掲載）

国立循環器病研究センターでは，2011年7月19日～22日にかけて岩手県に調査チーム第2班（リーダー；峠松一夫副院長）を派遣しました（本誌「第2回調査チーム報告：岩手県」を参照）。

今回，このチーム報告を受け，被災地の今後の循環器病を「押さえ込む」という観点から，食と見守りにつき提言を行います。今回で第3回目になります。前回，前々回と同じく，すでに実施されているものについては，承知をご容赦ください。

食と見守りについての提言

【提　言】

①仮設住宅における「食」の問題と循環器病対策

②「食」と「こころ」の問題解決に役立つ仕組みの構築

東北地方はもともと塩分摂取量が多く，脳卒中などの循環器疾患のリスクが高い地方として知られています。震災後は高血圧の頻度・程度が以前より高くなり，かつ持続しているとの情報があり，今後の脳卒中，心筋梗塞，心不全などの増加が大変心配されます。その要因として，被災後の食生活が保存食中心で塩分が多く，新鮮な野菜や果物，魚介類が少ないこと，長期間続くストレスの悪影響などの問題がクローズアップされています。

避難所での食事は，それでも異害救助法の適用を受けるため無料配給されていましたが，仮設住宅ではその適用外となるため，自立した生活が必要となります。多くの被災者が肉親を亡くし，生活基盤を失い，就職先配布も遅れています。仮設住宅では，食材を含めた物資調達，自炊なども困難な場合が少なくありません。このため，保存食中心の生活が続き，特に高齢者，独居者の食生活は，循環器病予防の観点から問題が多いと推測されます。

今後は，健康維持，循環器病予防のためのより良い食生活の確立が急がれます。加えて，新生活が安定するまでの高齢者，独居者の見守りも必要です。当センターは，より健康的で美味しい食材や弁当のデリバリーサービス，集会場での集団食事サービスの展開，調理教室の開催などを通じて，被災地の「食」と「こころ」の問題を解決することを提言します。これらは同時に，食材の地産地消，関連産業における雇用の促進，食育，温暖・労働衛生の向上，健康維持，生活者の見守りなど，様々な被災地復興のための課題の解決にも役立ち，循環器病制圧にも役立つはずです。この目的達成のためには，現地の自治体，大学，栄養士会，産業界などのご理解と，政府などの支援，関係諸機関の息の長い連携が必要です。

減塩・循環器病予防プロジェクト

プロジェクトの概要

河野雄平*，岸本一郎*2，横山広行*3，野々木　宏*4

はじめに

震災後は血圧が上昇し，心筋梗塞や脳卒中などの循環器病が多発することが知られている。また，東北地方は以前より食塩摂取量が多く，血圧や脳卒中の発症，死亡率が高い。2011年3月11日の東日本大震災は極めて多数の被災者を生じ，被災者のなかには現在も生活が不自由な方々が多くおられる。大震災は急性に循環器病を増加させるとともに，被災地においては，望ましくない食生活や身体的不活発，精神的ストレスにより，慢性的にも循環器病のリスクを高めると考えられる。

国立循環器病研究センターでは，東日本大震災の発生後早期から医療支援対策本部会議を組織し，被災地の循環器病対策に取り組んできた。初期の活動には，食塩制限や運動などの循環器病の予防についての提言や，宮城県への調査チーム派遣時の血圧計，野菜ジュース，減塩みそ汁の提供などが含まれる。その後，当センターは美味しい減塩食を提供するノウハウを有していることもあり，減塩を中心とした循環器病の予防のために，減塩・循環器病予防プロジェクトチームが組織され，活動することになった。この活動として，岩手県栄養士会と連携し，2011年11月は盛岡市で，また2012年2月には宮古市において，市民を対象とした講演会や健康相談，調理指導を含むイベントが開催された。

*国立循環器病研究センター 高血圧・腎臓科
**国立循環器病研究センター 循環器病・代謝内科
***国立循環器病研究センター 医療安全管理室，心臓血管内科
****静岡県立総合病院 院長代理

本稿では，異害と高血圧，循環器病および食塩と高血圧，循環器病について概説するとともに，当センターの減塩・循環器病予防プロジェクトの概要について述べる。盛岡と宮古におけるイベントの詳細については，別項を参照されたい。

Ⅰ．異害と高血圧，循環器病

1．異害と高血圧

ストレスが交感神経系や視床下部-副腎皮質系を活性化し，血圧を上昇させることはよく知られている。異害が強いストレスになることも明らかであり，壊滅的な自然異害は，各種のストレッサーのなかでも最強の破局的レベルに分類される。異害前後の血圧変化を調べた研究はいくつかあるが，いずれも被災後に血圧が上昇することを示している[1]。われわれも1995年の阪神淡路大震災における高血圧患者の家庭血圧を検討し，地震当日の血圧上昇を認めた[2]。今回の東日本大震災においても，被災後の血圧上昇が観察されている。この異害による血圧上昇は，通常は一過性であり，1～4週後に前値に復する場合が多い。

しかし，壊滅的な異害により，日常生活における支障が長く残いたり，降圧薬が不足したり，避難所での集団生活を送らざるを得ないような場合には，血圧高値が持続して高血圧の発症や増悪をもたらす可能性が高い。東日本大震災においては，6カ月後も血圧が低下しない例が多かったといわれる。これには精神的なストレスも関与するが，望ましくない食生活や身体的不活発といった生活習慣も関係するであろう。特に食塩摂取が多い場合には，ストレスは腎において Na 貯留に働くことから，両者があいまって血圧上昇が増幅されると考えられる。

2．異害と循環器病

異害ストレスは，血圧以外にも心拍数や血小板凝集能などに悪影響を及ぼし，循環器病の発症を誘発する。震災当日に心筋梗塞や心臓突然死，脳卒中が激増することが，阪神淡路大震災や米国の Northridge 地震において認められている。これらの心血管イベントの大部分は，震災当日，特に1時間以内に発症し，以後は急減してほぼ前値に復することが報告されている。

しかし，震災後に生活環境や生活習慣が変化し，精神的ストレスの持続や，食塩摂取過剰，野菜・果物の不足など望ましくない食生活，身体的不活発などが続けば，以後も心血管リスクは高い状態が持続することになろう。震災後に車内で寝泊まりしていた人に肺塞栓症が多かったことが，2004年の新潟県中越地震において報告されている。東日本大震災においても，震災後1カ月の心不全，急性冠症候群，脳卒中は，震災前4週間と比べて増加していた。また，長期的な生活環境や生活習慣の変化は，血圧や糖・脂質などの心血管危険因子を悪化させ，動脈硬化性疾患のリスクを慢性的に高めることになると考えられる。

Ⅱ．食塩と高血圧，循環器病

1．食塩と高血圧

食塩摂取量と血圧は密接な関係があり，食塩摂取増加が血圧上昇や高血圧をもたらすことは明らかである[3]。世界各地の食塩摂取量と血圧との関係を調べた INTERSALT 研究においても，食塩摂取量は血圧と正相関を示し，食塩摂取が非常に少ない地域では，血圧値や高血圧の頻度が低く，加齢に伴う血圧上昇もほとんどないことが示されている。日本での食塩摂取量は減少傾向にあるが，最近の報告でも平均10.6g/日で，まだ世界的に見れば多い[4]。また，食塩摂取量は北日本，特に東北および北関東で多く，南日本は比較的少ない（図1）[4]。

食塩制限が血圧を低下させることも明らかである。この血圧変化には個人差が大きいが，食塩制限1g/日あたり高血圧者では収縮期血圧1mmHg程度，正常血圧者ではその半分ほど，低下する。また，食塩は他の血圧調節系や生活習慣と血圧との関係にも役割を持っている。例えば，アンジオテンシンやアルドステロンは Na 貯留に働き，ストレスや肥満による血圧上昇には Na 貯留が関与している。

高血圧の管理における食塩摂取量は，6g/日未満が推奨されている[3]。食塩摂取の多い日本人が6g/日未満に制限できれば，かなりの降圧が得られ，心血管疾患の予防が期待できるであろう。また，一般人における食塩摂取量は，男性で9g，女性では7.5g/日未満とされている。

2．食塩と循環器病

食塩の過剰摂取は，血圧を上昇させて循環器疾患のリスクを高めるが，血圧とは独立して心血管系に悪影響を及ぼすと考えられる[3]，すなわち，食塩摂取は脳卒中や心不全の独立した危険因子であることが認められている。最近の報告でも，わが国における食塩と脳卒中の関係は，血圧と脳卒中の関係より明らかであった（図1）[4]。観察研究の結果は一致しているわけではないが，メタアナリシスでは食塩摂取が多いと心血管リスクが高いことが示されている。

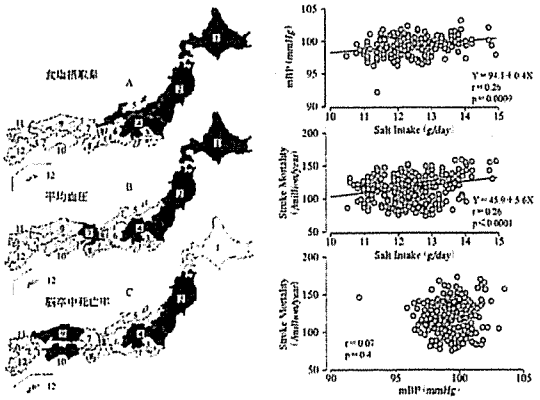


図1．日本の地域別の食塩摂取量，平均血圧，脳卒中死亡率とそれらの相関（文献4より）
左図の黒：高値の4地域，グレー：中間の4地域，白：低値の4地域．mBP：平均血圧，Salt Intake：食塩摂取量

食塩制限が循環器疾患を予防することを直接示した無作為介入研究はほとんどない。しかし，Trials of Hypertension Prevention (TOHP) では，介入後の観察研究で，10～15年後の心血管死亡は減塩群が対照群より少ないとの結果が得られている。したがって，減塩は循環器疾患の予防にも極めて効果的であると考えられる。

Ⅲ．国立循環器病研究センター減塩・循環器病予防プロジェクト

1．減塩・循環器病予防プロジェクトの立ち上げ

当センターの減塩・循環器病予防プロジェクトは，2011年6月27日の東日本大震災支援対策本部会議において提案され，多職種からなるプロジェクトチームを結成し，被災地の循環器病予防のために減塩を中心とする支援活動を推進することが決定された。

この背景としては，①東日本大震災と原子力発電所事故により多くの方が被災者となっ

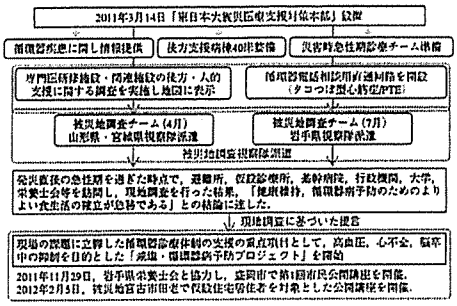


図2. 国立循環器病研究センターによる東日本被災地の減塩・循環器病予防プロジェクトの経緯

たこと，②当センターでは大震災発生当初より対策本部と相談窓口を設置し，被災地に対する医療支援を準備してきたこと，③震災後の実態を把握して適正で効果的な医療支援を実施するため，現地（宮城県，山形県）に調査団を派遣したこと，④それによると，被災地はもともと塩分摂取量の多い地域であることに加え，避難所の供給食による過剰な塩分摂取や生活不活発状態から高血圧が悪化し，脳卒中や心筋梗塞，心不全などが増加することが危惧されていること，⑤今後の被災地における食生活を通した血圧管理が脳卒中や心筋梗塞を予防するために極めて重要と考え，減塩を中心とした心血管疾患予防のための第1回提言をとりまとめたこと，がある。また，当センターでは，長年の高血圧管理を含めた循環器病予防の実績がある。そもそも，独自に開発した「美味しい減塩食」を広く普及啓発することを始めており，その調理のコツを料理教室で指導したり，国循ブランドの減塩弁当配食，タブレット型の携帯端末や調理機器に対応したデジタルレシピ開発，などを産学官連携で行っていることがあげられる。

そこで，これらのノウハウを応用し，被災地の方々の健康維持と心血管疾患予防を支援することを目的として，被災地の循環器病予防プロジェクトチームを立ち上げた（図2）。このプロジェクトチームは，心臓血管内科，高血圧・腎臓科，循環器・代謝内科の専門医と知的資産部スタッフ，臨床栄養部（管理栄養士，調理師）から構成され，後に看護部，栓務部も加わった（表1）。プロジェクトチームのリーダーは，野々木中央管理部門長（心臓血管内科）で，後に河野生活習慣病部門長（高血圧・腎臓科）がこれを引き継いだ。

本プロジェクトの内容は，塩分制限を含めた生活習慣改善指導とともに，料理教室，減塩弁当配食やレシピ公開を被災地で行い，生

表1. 国立循環器病研究センターの被災地の循環器病予防プロジェクトチーム

チームリーダー	河野	生活習慣病部門長 （高血圧・腎臓科）
前チーム リーダー	野々木	中央管理部門長 （心臓血管内科，現・静岡県立総合病院）
サブリーダー	横山	心臓血管内科非常勤医師
チームメンバー	岸本	循環器・代謝内科医長
同	西	知的資産部産学官連携室長
同	中田	知的資産部非常勤職員
同	村井	臨床栄養部栄養管理室長
同	高木	臨床栄養部栄養管理室長補佐
同	竹田	臨床栄養部調理師長
同	横山	看護部看護師長
同	中村	看護部看護師
同	塚崎	栓務部栓務課長
同	小林	栓務部広報係長

に減塩を通して被災地の方々の健康維持を支援するものである。また，これらの活動を通して地元産業と協同できれば，現地の雇用創出につながる可能性も考えられる。

2. 減塩・循環器病予防プロジェクトの活動

被災地の循環器病予防プロジェクトチームは，2011年7月4日に第1回の会議を開催し，以後もたびたび会議を重ねてきた。7月19日からの岩手県への調査派遣チームが岩手県栄養士会を訪問した際に話し合いがもたれ，当センターと岩手県栄養士会が協同して被災地の減塩・循環器病予防のイベントを開催する計画が立てられた。9月28日には，岩手県栄養士会の幹部3名が当センターに来訪され，具体的な計画として，11月に盛岡市で，また2012年2月には宮古市において，減塩・循環器病予防のイベントが開催されることになった。

表2. 国立循環器病研究センターの減塩・循環器病予防プロジェクト活動

第1回減塩・循環器病予防イベント（市民公開講座）
開催日：2011年11月15日 場　所：盛岡市（アイーナいわて県民情報交流センター） 主　催：国立循環器病研究センター，岩手県栄養士会 プログラム： 調理講座，健康講話，健康サロン，減塩食試食 国立循環器病研究センター参加者： 横山（心臓血管内科），岸本（循環器・代謝内科），横山（看護部），高木（臨床栄養部），竹田（臨床栄養部），西（知的資産部），中田（知的資産部）
第2回減塩・循環器病予防イベント（市民公開講座）
開催日：2012年2月5日 場　所：宮古市田老（「グリーンピア三陸みやこ」） 主　催：国立循環器病研究センター，岩手県栄養士会，岩手医科大学 プログラム： 健康講話，健康サロン（健康体操，健康相談，調理指導） 国立循環器病研究センター参加者： 河野（高血圧・腎臓科），野々木（静岡県立総合病院），横山（心臓血管内科），岸本（循環器・代謝内科），横山（看護部），中村（看護部），村井（臨床栄養部），竹田（臨床栄養部），小林（栓務部）

第1回の減塩・循環器病予防のイベント（市民公開講座）は，2011年11月15日に盛岡市の「アイーナいわて県民情報交流センター」において，当センターと岩手県栄養士会の共催で開催された（表2）。詳細は別項にて述べられるが，プログラムは調理講座と健康講話，健康サロンよりなり，当センターの減塩食が提供された。140名が参加され，アンケートの評価も良く，盛会であった。また，地元の多くのマスメディアが後援し，その一部が報

道された。このイベントは，循環器病研究開発費（主任研究者：横山広行）によるものである。

第2回の減塩・循環器病予防イベント（被災地の循環器病予防のための市民公開講座）は，震災の被害を受け仮設住宅で暮らしておられる方々を対象として，2012年2月5日に宮古市田老地区の「グリーンピア三陸みやこ」で，当センター，岩手県栄養士会，岩手医科大学の共催で開催された（表2）。こちらも別項で詳述されるが，健康講話と健康サロンよりなり，多くのマスメディアの後援が得られた。130名以上が参加され，アンケートでも大変勉強になったとの意見が多く，意義の大きいイベントとなった。この公開講座は，循環器病研究振興財団の支援によるものである。

おわりに

災害と高血圧，循環器病および食塩と高血圧，循環器病について概説し，当センターの減塩・循環器病予防プロジェクトの概要を述べた。東北地方は以前より食塩摂取量が多く，血圧や脳卒中死亡率が高い状況にあったが，東日本大震災は循環器病の発症を急性に増加させるとともに，それに続く生活環境の変化により循環器病のリスクを慢性的にも高めることが懸念される。当センターの減塩を中心とした被災地の循環器病予防プロジェクトがいくらかでも効果があれば幸いであるが，限られた日時と地域での活動では大きな成果は望み得ない。効果的な循環器病予防のためには，行政や様々の医療，ヘルスケア関係の団体と連携しての，多面的で広範的，継続的な支援活動が必要であろう。

文　献

1：河野雄平：災害と高血圧．血圧2001;8:873-877.
2：Minami J, Kawano Y, Ishimitsu T, et al：Effect of the Hanshin-Awaji earthquake on home blood pressure in patients with essential hypertension. Am J Hypertens 1997;10:222-225.
3：Kawano Y, Ando K, Matsuura H, et al：Report of the Working Group for Dietary Salt Reduction of the Japanese Society of Hypertension(1) Rationale for salt reduction and salt-restriction target level for the management of hypertension. Hypertens Res 2007;30:879-886.
4：厚生労働省：平成22年国民健康・栄養調査の概要．厚生労働省ホームページ，2012.
5：Tomonari T, Fukuda M, Miura T, et al：Is salt intake an independent risk factor of stroke mortality? Demographic analysis by regions in Japan. J Am Soc Hypertens 2012;6:456-462.

減塩・循環器病予防プロジェクト

付記）センターの減塩食

村井一人

1．薄味を我慢する減塩食から美味しい減塩食へ

従来の病院食は，作業量，材料費，栄養量などの制約から，「病院食は美味しくない」「見た目が良くない」「味が薄くても我慢」など，マイナスのイメージが一般的であった。

国立循環器病研究センターの患者は，何らかの循環器病疾患を有するため，ほとんどが減塩を必要としている。また，その塩分管理も，添加塩分0g から栓塩分3，5，7，8～10g の5段階で細分し，運用していた。

当センター発足当初からこの形は変わっていなかったが，2004年に高血圧治療ガイドラインが改正され，振奨塩分が7g/日以下から6g/日未満になった。このことを受け，当センターの食事塩分も従来に増しるよう医師陣から栄養管理室に検討要請があった。

一般病院の減塩食が当センターの基準食に当たるため，さらなる減塩は患者の食事評価に悪影響を与える懸念があり，部署内で協議が繰り返された。その時，調理師長からの提案で，「薄い味だから美味しくない」は間違いではないか，「薄いけれど美味しい，あるいは，薄いから美味しい料理は作れる」の提案があり，今まで栄養士が主に行っていた献立立案に，調理師長が深く関わるようになった。

こうして，栄養学のプロである栄養士と，調理のプロである調理師が今まで以上に協力，連携も密にした（図1，2）。

このことにより今までの固食の品数も3品から4品に増やし，見栄えの配慮から食材も機械切りを主にしていたところを手切りに切り替え，京風会席料理の調理技術を盛り込んだ“美味しい減塩食”を作り出した（図3，4）。

その後，行事食や単品メニューの改善も積極的に行い，入院患者から「食事が美味しい」「退院後も減塩を続けるために，調理方法を教えてほしい」「外来時にも食べたい」など，病院食に対するお褒めの言葉が多数寄せられ

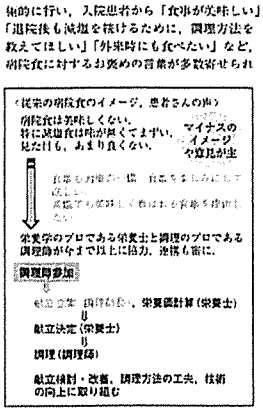


図1. 病院食の改革をめざして（2005年からの取り組み）

国立循環器病研究センター臨床栄養部栄養管理室

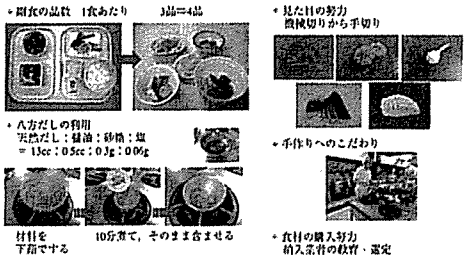


図2. 美味しく食べてもらうための取り組み（2005年より）

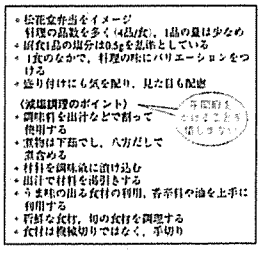


図3. 当センターの減塩食献立・調理のポイント

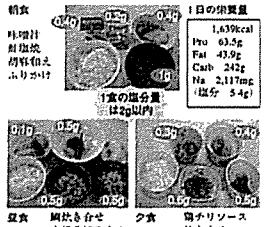


図4. 当院の病院食の献立（一例）

るようになった（図5，6）．

Ⅱ．美味しい減塩食を院外にも広める

2010年4月に当センターが独立行政法人になったことを契機に，栄養指導時に患者から「具体的な調理方法を学びたい」との声もあり，2010年9月より患者向け調理講習会を始めることになった（図7，8）．

さらに2011年4月からは，減塩食のノウハ

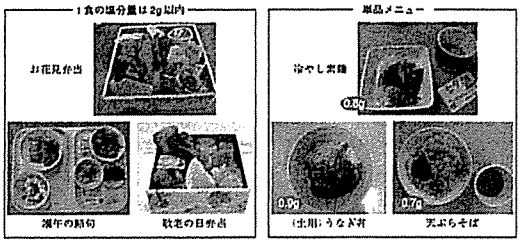
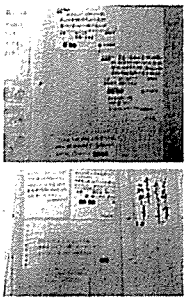


図5. 行事食御弁

＊患者からのメッセージ



＊入院患者のみに留まらず院外に広める方向へ
2010年　加的資源部と連携

図6. 取り組んだ結果



図7. 病院食を院外に広める活動：外来患者向けの調理講習会



図8. 病院食を院外に広めた活動
外来患者向けの調理講習会

一般向けにGクッキングシステム（複合調理器に料理データベースを連動）導入のレシピを提供（2011年3月より開始）

オーブン調理用と鍋を使用した加熱調理用の2種のレシピを作成し，サイクルメニュー31日分+行事食4日分を提供済み．現在，300種の1品料理レシピを作成中．

【期待される運用】
当センターと同じ調理方法が遠隔地で再現できる．（六員調理協設向け）
更なる発展として携帯情報端末を利用できる．（個人利用向け）

図9. 病院食を院外に広める活動

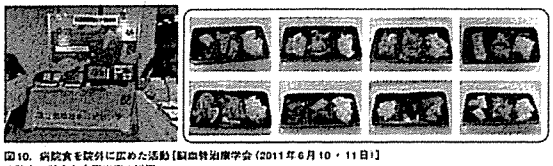


図10. 病院食を院外に広めた活動【脳血管疾患学会（2011年6月10・11日）】
病院食の試食と食事内容の説明．
減塩に関する展示ブースを設け，3種のミニ弁当を提供．



図11. 病院食を院外に広めた活動
【専門医療連携室公開講座（2011年11月2日）】
病院食の試食と食事内容の説明．
管理栄養士やそのスタッフを中心に弁当を提供．

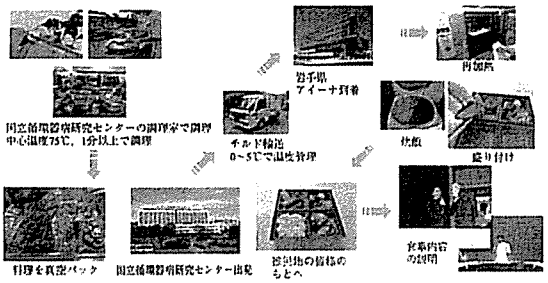


図12. 岩手県被災地減塩啓発イベント（2011年11月29日）
病院食の試食と食事内容の説明



図13. 宮古市田老町市民公開講座にて

ウを外部に広てん化する観点から，知的資産部と連携し，民間企業と提携，電子ツールによる献立配信に取り組んでいる（図9）．

同じく病院食を院外に広める活動で，同年6月，脳血管疾患学会で展示ブースを設け，ミニ弁当を提供（図10）．

同年11月2日には，専門医療連携室公開講座でも弁当を提供している（図11）．

当センターの東日本大震災支援活動にも参加し，11月29日に開かれた岩手県被災地減塩啓発イベントとして当センターから「クックチル弁当」を被災地に届け，調理講習を行った（図12）．

2012年2月5日には，被災地の仮設住居入所者を主な対象に宮古市田老町にて当センターの食事の取材映像をもとに，調理方法の解説を行っている（図13）．

今後，循環器疾患のコントロール要因である減塩を広げるため，薄味を我慢する減塩食でなく，美味しい減塩食をツールに活動を広げたい．

減塩・循環器病予防プロジェクト

付記）知的資産部の関わり

西　謙一*，中田はる佳*，翼　英介*，妙中義之*2

はじめに

国立循環器病研究センターは30余年の実績に基づいた循環器病に関する卓越した知的資産を有しており，その活用推進を目的として知的資産部が設置され活動を行っている．知的資産の1つに臨床栄養部が培ってきた調理ノウハウがあり，その均てん化を進めることで循環器疾患の制圧に貢献しようと事業化を推進している．発災から約1カ月後に当センターが派遣した被災地調査チーム第1班の野々木宏班長より，被災地では高塩分食が常態化し循環器疾患の予防に食生活の改善が必要であるとの報告があり，減塩ノウハウ活用事業を被災地向けに展開できないか検討を行った．

Ⅰ．被災地の食の状況

被災地の課題について，①食材などの流通が安定すると自立が求められる，②自立までの間は炊出しや非常食に依存せざるを得ない，③非常食は比較的高塩分食が多く，炊出しに減塩ノウハウはなく高血圧化が懸念される，④ライフラインの限定的な復旧のなかで調理可能な場所が限られ，大量調理は長期化する可能性がある，と考えた．課題と解決策を図1にまとめた．避難所の解散に伴い生活は集団から個へと移るが，減塩による循環器病予防，配食による独居者の見守り，復興工事などによる単身者の食事，継続的な雇用などを理由に大量調理のニーズは続くと考えた．

Ⅱ．食生活改善と雇用創生

当センターの減塩調理や大量調理を比較的容易に再現できるデジタルレシピシステムは，調理工程やレシピを電子情報として配信するもので，図2-aは事業推進を担当する我々が描いていたビジネスモデルである．図2-bはそれを被災地に転用したモデルであり，食材や人材は現地調達することで地産地消や雇用創生に貢献し，ノウハウや器材を外部から持ち込むことで産業化にかかる時間を短縮できると考えた．

Ⅲ．減塩啓発イベント

このような事業提案が現地ニーズや社会環境に適合するかを確認するため，被災地調査チーム第2班（峰松一夫班長）に参加し，発災4カ月後の被災地を訪問した（2011年7月19日～22日）．各訪問先で発災から現在までの状況について説明を受け，今後懸念する課題について意見交換し，併せて減塩食の産業化に関する提案を行った．岩手県栄養士会は減塩推進について活動がサーバーラップするため，訪問後も知的資産部を窓口に緊密な情報交換や調整を行った結果，共催イベント『減塩で健康教室』を開催するに至った（減塩プロジェクト第1回講演会；2011年11月29日）．我々はデジタルレシピ事業に関わる企業にイベントの趣旨説明を行い，賛同を得た企業から試食提供に不可欠な器材の提供や会場での人員協力などを得ることができた．



図1．被災地の食の状況と解決策提案

おわりに

東日本大震災・大津波の被災地に対し循環器病の高度専門医療機関として後方支援する当センターのなかで，医療行為を行わない知的資産部ができる活動として食生活改善と雇用創生の両立を目指した事業を提案した．食の課題確認や事業提案を重ねた岩手県訪問では事業化には至らなかったが，共催イベントの開催を実現し，減塩啓発に寄与することができた．被災地との情報共有と意見交換を継続し，当センターの知的資産活用が必要とされる場合には積極的に提供していきたい．

*国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター 知的資産部
*2国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター センター長

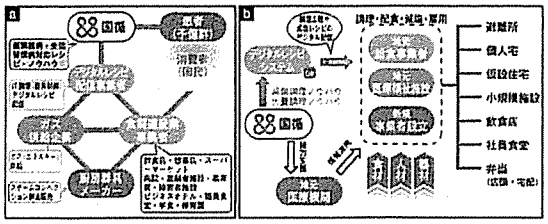


図2．デジタルレシピ事業の関係図（a）と被災地での産業化モデル（b）

減塩・循環器病予防プロジェクト

第1回講演会：岩手県盛岡市 減塩で健康教室～脳卒中予防は食事から～

横山広行*，岸本一郎*2，西　謙一*3

はじめに

国立循環器病研究センターでは，震災後ただちに「東日本大震災医療支援対策本部」を設置するとともに，災害時の急性期循環器病診療支援や電話相談，被災者の軋轢支援情報を提供した．同時に現地調査チームを派遣し複数回にわたり被災地を訪れて，同や関係諸学会，団体への政策提言の基礎資料とするとともに，現場の課題に立脚した循環器診療体制，高血圧，糖尿病，保健衛生上のケア，食とこころの問題解決に役立つ仕組みなどに関する積極的な提言を行った．2011年7月に，岩手県庁，県栄養士会，岩手医科大学，被災地の診療所などを訪問し，被災地域での食生活や循環器医療提供体制の問題点などについて，現地調査を行った結果，今後は，健康維持，循環器病予防のためのよりよい食生活の確立が急務であるとの結論に達した（図1）．岩手県を含めた東北地方はもともと塩分摂取量が多く，脳卒中などの循環器病患のリスクが高い地方として知られている．震災後は高血圧の頻度・程度が以前より高くなっているので，今後の脳卒中，心筋梗塞，心不全などの増加が大変心配される．

そこで，当センターでは，より健康的で美味しい食材や弁当のデリバリーサービス，集会場での集団食事サービスの展開，調理教室の開催などを通じて，被災地の「食」と「こころ」の問題を解決することを提言した．これらは同時に，食材の地産地消，関連産業における雇用の促進，食育，福祉・労働衛生の向上，健康維持，生活者の見守りなど，様々な被災地復興のための課題の解決にも役立ち，循環器病制圧にも役立つものである．特に，厳寒の冬期を迎える東北地方において，減塩の普及により，高血圧のリスクを軽減し，脳卒中・心筋梗塞の予防を啓発することは大きな意味を持つ．

この啓発活動の第一弾として，2011年11月29日に岩手県栄養士会と当センターの共催により，盛岡市アイーナいわて県民情報交流センターにおいて一般市民を対象とした講演会を開催した（図2，表1～3）．講演会の趣旨は，「脳卒中予防を1つの目標にして，毎日の食事のなかでできる減塩の工夫と過ごし方について学び，健康に対する不安を軽減できるように支援する」ことである．『減塩で健康教室～脳卒中予防は食事から～』をテーマに，当センター臨床栄養部・調理部による調理講座と「減塩でもおいしく食べられる食事」の試食，「健康講和」と題して予防部門と救急部門の第一線の医師，岩手県立中央病院川目実総合内科診療科長の講演，循環器病予防専門看護師による健康サロンを企画実行した（表4）．会場には，100名を超える参加者の方々にお越しいただいた．

*国立循環器病研究センター 医療安全管理部，心臓血管内科
*2国立循環器病研究センター 循環器・代謝内科
*3国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター 知的資産部栄養指導専門看護師

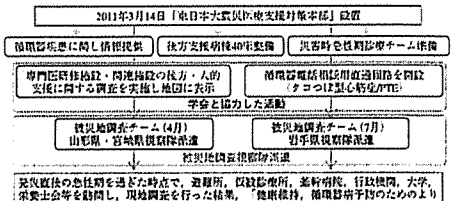


図1．「被災地の循環器病予防プロジェクト・チーム」の誕生

表1．当センター参加人員一覧

氏　名	所　属	役　割
横山　広行	心臓血管内科（医師）	講演，健康サロン
岸本　一郎	循環器・代謝内科（医師）	講演，健康サロン
横山　幸枝	看護部（看護師）	健康サロン
竹田　玲子	臨床栄養部栄養管理室（調理師）	調理講座，調理指導，盛付指導
高木　洋子	臨床栄養部栄養管理室（管理栄養士）	調理講座，調理支援，盛付支援
中田はる佳	研究開発基盤センター知的資産部（研究員）	後方支援
翼　　謙一	研究開発基盤センター知的資産部（研究員）	団体調整担当

Ⅰ．調理講座

「減塩食をおいしく食べよう」をテーマにして，社団法人岩手県栄養士会の管理栄養士である技岡智子氏が初めに，減塩に関する栄養士からの講話を行った（図3）．岩手県栄養士会では，震災前から岩手県における脳卒中発症率と塩分摂取量が高いことに注目して，



図2．参加スタッフ

表2. 後　援

岩手県	岩手日報社
岩手医科大学	NHK盛岡放送局
(社)岩手県医師会	IBC岩手放送
(社)岩手県歯科医師会	テレビ岩手
(社)岩手県薬剤師会	めんこいテレビ
(社)岩手県看護協会	岩手朝日テレビ

表3. 協力企業

株式会社グローカルフード	会場支援，企業間調整
住友商事株式会社	会場支援
株式会社コメットカトウ	調理支援，スチームコンベクションオーブン機器キャラバンカー提供
福商工業株式会社	会場支援，調理支援，背加熱処理場所・熱源提供
東京ガス株式会社	会場支援
株式会社エフ・エム・アイ	真空処理機貸与

表4. 第1回講演会のスケジュール

1. 調理講座 (10:00～11:45)	
「減塩食をおいしく食べよう」	長岡智子
「減塩弁当の試食」	竹田博幸
2. 健康サロン (11:45～12:30)	
○座ってできる健康体操	横山幸英
○血圧測定とBMI算出	岸本一郎
○家庭食の塩分測定	横山広行
3. 健康講話 (13:00～14:45)	
○「脳卒中と心臓病予防のために」	岸本一郎
○「心臓病：こんな症状には気をつけて」	横山広行
○「岩手の食塩摂取の現状と減塩の重要性」	川村　実

減塩食運動を通した岩手県民の脳卒中予防に取り組んでいた。岩手県民の現状をよく知っているため，単純に減塩を強調するのではなく，バランスのとれた栄養摂取と減塩とを一体化する工夫を凝らし，『具沢山のお味噌汁運動』を進めていた。

『減塩弁当の試食』では，当センター調理師の竹田から一つひとつの料理について，調理の技術，調理の工夫についての解説を聞きながら，実際に当日会場内で調理した減塩弁当を試食した(図4，5)。参加者は調理の工夫に感心しながら，熱心に聴講し，減塩してもおいしく食べられるということを体験した。当日，減塩食弁当140食を準備するには，岩手県栄養士会，岩手医大調理師，当センターのスタッフ合わせて11名が約90分かけて盛り付けを完了した。衛生面には十分に注意し，専門家指導のみが盛り付けにあたり，残り物は決して持ち帰らないことも徹底した。



図3. 長岡智子氏の講演『減塩食をおいしく食べよう』

Ⅱ. 健康サロン

第2部では，参加型・対話型のセッションを企画した。健康サロンでは，当研究センターから持参した脳卒中，減塩，心臓病などを分かりやすく解説した健康冊子を配布し，情報発信にも努めた。

1. 座ってできる健康体操

震災後の避難所や仮設住宅においては，限

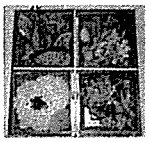


図4. 試食された当センターの減塩弁当



図5. 減塩弁当の試食と，竹田調理師による調理説明



図6. 健康サロン

られた空間でもできる体操が健康維持に有効だと思われる。今回，当センターのリハビリテーションスタッフらと相談して，座ってできる健康体操を企画した。当日はインストラクター担当者2名が参加者の前でデモンストレーションを行い，参加者は皆でインストラクターに合わせて健康体操を行った。健康体操の実技には多くの方が参加し，終了後のアンケートでは大変好評であった。

2. 血圧測定とBMI算出（図6）

健康体操と同時進行で，医師による対面形式での血圧測定と健康相談を行った。1人あたりの時間は3分程度と短く限られた時間であったが，直接相談することで安心された方が多かったようだ。

3. 家庭食の塩分測定

家庭で作った味噌汁などを少量持参してもらい，塩分濃度計を用いて，その場で測定して塩に換算し提示した。料理に含まれる塩分量を簡単に測定できることに感心されていた。

Ⅲ. 健康講話

演者3名は各30分間の講演を担当し，参加者は熱心に聴講されていた。

1. 脳卒中と心臓病予防のために～毎日の生活のなかでできること，取り組みたいこと～

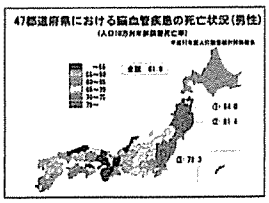
当センター循環器・代謝内科の岸本は，生活習慣と疾病予防について講演。47都道府県における男女別脳血管疾患の死亡率，男女別心疾患の死亡率を提示し，日本における岩手県の循環器病の状況を概説してから，動脈硬化を悪化させないために，血圧と食塩摂取量，糖尿病と血糖値，内臓脂肪と体重増加について説明した(図7)。

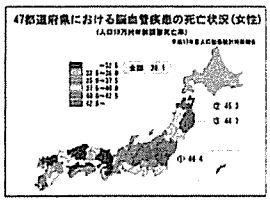
2. 心臓病：こんな症状には気をつけて～冬に多い心臓の病気～

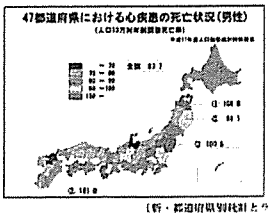
当センター心臓血管内科の横山は，一般の方々に心臓病が発症した時の症状について講演した。急性心筋梗塞になると，いったいどのような症状が出るのだろうか，一般の方々がイメージしている急性心筋梗塞の症状と，実際の症状にはズレがある。非典型的な症状で発症することも多いことを解説し，急性心筋梗塞の治療において，専門病院受診までの時間を短くすることの重要性と病院受診が延延する原因について説明した(図8)。

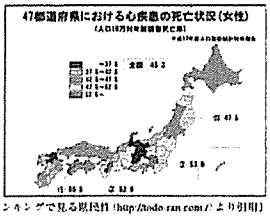
3. 岩手の食塩摂取の現状と減塩の重要性

岩手県立盛岡中央病院の総合内科診療科長川村実先生は，地元岩手県における食塩摂取

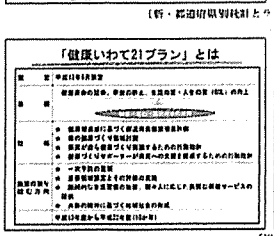


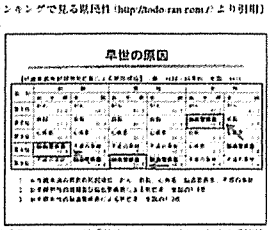






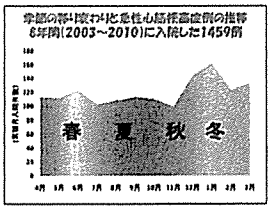
「都・都道府県別統計とランキングで見る県民性 (http://todo-ran.com/)」より引用)

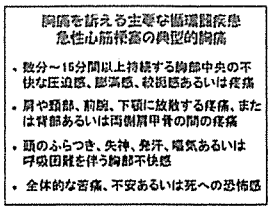


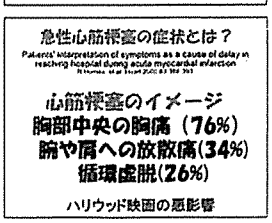


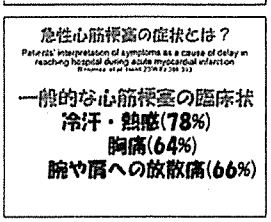
「岩手県ホームページ「健康いわて21プラン」」より引用)

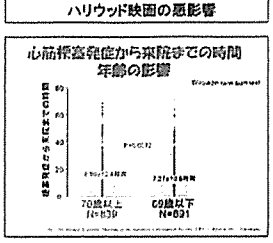
図7. 脳卒中と心臓病予防のために～毎日の生活のなかでできること，取り組みたいこと～
国立循環器病研究センター 循環動態・代謝内科部　岸本一郎











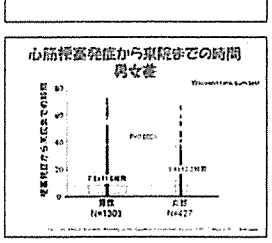


図8. 心臓病：こんな症状には気をつけて～冬に多い心臓の病気～
国立循環器病研究センター 心臓血管内科　横山広行

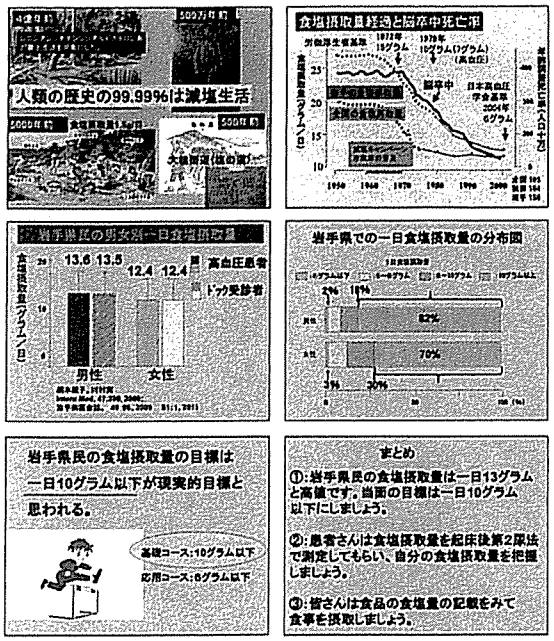


図9. 岩手の食塩摂取の現状と減塩の重要性
岩手県立宮古中央病院 総合内科診療科　田村　宏先生

の現状と，減塩の重要性を講演された．高血圧治療の三大原則として，減塩，運動，降圧薬を提示されたあと，500万年前の人類誕生まで歴史を遡り，1日食塩摂取量1.5gの時代から大陸街道（塩の道）を通り，現在の岩手県における食塩摂取量が全国的に見て多いことを，分かりやすく解説された．最後に，自分で食塩摂取量を把握することの重要性と，随床法第2尿法による食塩摂取量の測定について説明された（図9）．

まとめ

岩手県において震災から8カ月経過した2011年11月29日，岩手県栄養士会と協力して，一般市民を対象とした「減塩と健康」をテーマにしたイベントを企画した．参加者のアンケート結果には大変満足した様子がうかがえ，イベントは大成功であった．被災地から遠く離れていても，よりよい健康環境を作る手助けをしたいという支援の気持ちは伝わった．

しかし，遠隔地においてボランティアベースでイベント活動を実施するには，事前準備がいかに重要かを再認識した．特に，大量の弁当を調理して提供するには，調理機器やスタッフの手配，動線，役割分担など細心の注意が必要であった．今後，同様のイベントを企画する場合には，入念な事前準備，人と物の手配，参加協力者の入念な打ち合わせが必要である．

10年先を見据えた息の長い支援活動を継続するには，市民公開講座と循環器予防の効果，震災と減塩食の関わりについて，明確で分かりやすい展望を提示することが望まれる．

本イベント開催にあたり，「循環器病研究開発費23-4-7（主任研究者　横山広行）」から活動実援を受けた．

減塩・循環器病予防プロジェクト

第2回講演会：岩手県宮古市

岸本一郎*，河野雄平**

Ⅰ．はじめに

2011年3月11日に発生した東日本大震災と津波，原子力発電所事故により多くの方が被災者となりました．心よりお見舞いを申し上げます．

今回の被災地である東北地方は，もともと塩分摂取量の多い地域であることに加え，避難所の保存食による過剰な塩分摂取や生活不活発状態などから，高血圧が悪化し，その結果，心筋梗塞や心不全，脳卒中などの高血圧疾患が増加することが危惧されている．そこで，今後の被災地における「食生活の自己管理」を通した血圧管理が心筋梗塞や脳卒中を予防するために非常に重要と考え，減塩を中心とした心血管疾患予防のための提言を，国立循環器病研究センターの東日本大震災対策本部でとりまとめている．また，当センターでは長年の高血圧管理を含めた心血管病予防の実績がある．最近独自に開発した「減塩でもおいしく食べられる食事」を広く一般に普及啓発することを始めており，その調理のコツを料理教室で指導したり，国循ブランドの減塩弁当配食，タブレット型の携帯端末や来院用の調理機器に対応したデジタルレシピ開発，などを産学官連携で行っている．

これらのノウハウを応用し，被災地の方々の健康維持と心血管疾患予防を支援することを目的に，震災対策本部のもとに「被災地の循環器病予防プロジェクトチーム」を立ち上げた．このプロジェクトチームは，心臓血管内科，高血圧・腎臓科，循環病・代謝内科の各専門医と知的資産部スタッフ，管理栄養士，調理士などから構成され，塩分制限を含めた生活習慣改善指導とともに，料理教室，減塩弁当配食やレシピ公開を被災地で行い，主に減塩を通じて被災者の健康維持を支援するものである（本誌「減塩・循環器病予防プロジェクト」「プロジェクトの概要」参照）．第1回は，2011年11月に岩手県盛岡市で周辺の一般住民を対象に開催し，好評を博した（本誌『第1回講演会：岩手県盛岡市』参照）．さらに，第2回を岩手県沿岸部の被災地である宮古市田老の仮設住民などを対象に，生活習慣改善を通して脳卒中などの循環器病を予防し，健康的で充実した人生を過ごしていただく目的で，複数の診療科，看護部，臨床栄養部，知的資産部，社務部を含めた多職種のチームを構成して啓発講演会を開催した．下記に，その概要を述べる．

Ⅱ．背景にある岩手県の状況

2011年11月29日に，岩手県庁保健福祉部健康国保課に健康予防担当課長，主任主査を訪問し，当センターの被災地支援の取り組みを説明し，岩手県の被災者健康支援情報を収集した．岩手県では，健康の維持・増進に関わる主な取り組み事項として，被災者の状況変化に応じた保健師，栄養士などによる保健活動や栄養指導，口腔ケア活動への支援と新

*国立循環器病研究センター 循環器・代謝内科
**国立循環器病研究センター 生活習慣病部門

たな地域コミュニティ活動に配慮した健康づくり活動の推進を通じて，自発的に楽しく健康が守れる仕組みを構築する方針とのことであった．また，食事が作れない，治療食が必要など，要支援者への個別支援が必要とのことであり，ボランティアの参画を得て地域ぐるみでの健康づくり活動を推進することを考えているとの話であった．

さらに，岩手医科大学の坂田清美衛生学公衆衛生学講座教授や幸田靖夫神経内科老年科教授の調査によって被災後高血圧患者の頻度・程度が悪化していることが判明しているが，県庁では具体的な生活習慣改善指導のノウハウに関して知識や経験は多くないとのことであり，当センターでこれらの点について補完的にサポートしていくことの意義を再認識した．

また，岩手県では運動不足と肥満が問題となっており，特に小児期からの運動習慣と指導が大切であることがうかがえた．その背景には，炭水化物と脂質の摂取量が多いことがあると思われ，さらに食習慣を改善していくことが将来的な循環器病予防につながると考えられた．

Ⅲ．準備に当たって考慮した点

1．対象が，津波被害で自宅に住めない状態が続いている仮設住宅の住民であること

今回の会場となった「グリーンピア三陸みやこ」は，長らく避難所として使用されていた場所であり，震災翌月の4月には プロ野球の巨人で活躍した中畑清さんや歌手和典さんらが訪れて約680人の避難住民を激励している．避難所自体は 災に閉鎖となり，「グリーピア三陸みやこ」は8月5日からホテル宿泊営業を再開しているが，講演会開催時には周辺に構築された約400戸の仮設住宅に約1,200人の住民が居住している状況であった．前回の盛岡市での講演会とは異なり，今回の対象者の多くは震災より長らく避難所生活や仮設住宅での暮らしを余儀なくされており，大きな不自由を経験されているため，現状における不満や将来に対する不安が強いことが，当初想定された．さらに健康状態も自宅住民よりも不安定であり，指導面でのより大きな配慮が必要と考えられた．特に開催時期がノロウィルスを中心とした冬場の食中毒の時期でもあり，また前回よりもさらに遠方であり交通のアクセスも不自由であること，会場の下見ができずぶっつけ本番で開催することなどの理由から，前回のような当センターからの配食は困難と考え，今回は配食以外の内容に絞ることとした．ただ，昼下時間がちょうど昼時になることから，昼食は会場レストランで用意していただき，講演会後に食事をして帰っていただくこととした．また，当初参加者に記帳してもらうことを考えていたが，仮設住民の方々の感情に配慮して，質問が得られる方のみに事後アンケートを回収することに止めた．しかしながら，結果的に仮設住宅の方々には多数ご参加いただき，しかも大変熱心に聴講いただいて，また会の進行にも協力していただいたことが成会理に終了できた大きな理由であり，ここにお礼申し上げる．

2．厳寒期であり，参加者の人数が予測できなかったこと

今回の参加者は当初100名を想定していたが，厳寒期であり天候次第で参加者が極端に少ないことも考えられた．しかも交通の便も多くなく，仮設住民以外は車で参加する必要があった．また仮設住宅からも徒歩で10分程度はかかるため，いかに有益とはいえ寒冷のなかで健康に関する勉強会に来ていただけるかどうかが懸念された．そこで事前にポスター（図1）などの案内を作成し，宮古市栄養士会の方々に仮設住宅へ配布していただ



図1. 配布ポスター

き，また参加は事前登録制とした．地元の方の意見を参考に，申込先も仮設住民の方々がより提出しやすい完先に変更した．さらに開始時間を午前9時20分とし，比較的外出しやすい時間帯に設定した．「グリーンピア三陸みやこ」では，平成23年11月に「森山食子田老特別（ちょこっと）ふれあいコンサート」などを開催しており，これらのイベントにおける来場者の様子などの情報収集も行った．実際に事前告知と岩手県宮古市栄養士会の方々の周知のご尽力が奏功し，開催10日前の時点で95名の参加が確定していた．最終的には参加者はさらに増え，開催当日には135名の参加となり，大変盛会であった．

3. 岩手県や地元の診療のサポートとしての役割

基本的に被災地の方々の医療と健康は，地元の医療・保健体制が中心になって行われるべきであり，そのなかで当センターとしては側面支援をする役割であるという考えから，県および宮古市の行政や医師会・歯科医師会・看護協会・薬剤師会など多方面に案内と共催のお願いをした．また今回は，前回と同様に岩手県栄養士会に加えて，岩手医科大学に主催者としてご協力をいただくため，12月13日に小川彰岩手医科大学学長を岩手医科大学附属循環器医療センター学長室に訪問し，横木理事長・内藤震災対策本部長名の書状にもとづいて我々の取り組みの目的と内容をご説明したところ，その趣旨にご賛同いただき，担当窓口として同大学の高橋智准教授をご紹介いただいた（事前に林松副院長から担当者を指名していただくようアドバイスを受けていた）．発災直後は，県災害医療本部，医療救護班，避難所，病院間の連携や各医療チーム間の横の連携が薄く，効率的な診療活動から逸脱して混乱している状態であったが，この問題を解消するため，県の災害医療本部に小川学長が設置された「いわて災害医療支援ネットワークセンター」の本部長として，高橋先生は県庁に詰めて司令塔として活躍されていた．このネットワークセンターでは岩手県，岩手医科大学，医師会，歯科医師会，薬剤師会，看護協会，医療機関，自衛隊の広範な連携のもと，官民一体となって一元的な管理が可能となっており，今回のプロジェクトに加わっていただき，そのお話を拝聴できたことは大変貴重な機会であった．実際，高橋先生のご講演の際には震災時を思い出して涙ぐむ姿も見られ，会員が静粛な雰囲気で聞いていた．さらに，岩手医科大学からは，及川総務課長にご高配いただき，循環器病棟看護師2名にご参加していただくことが決定した．今回，当センター看護部からも2名の看護師が派遣されたが，この2名は運動指導に専念したため，岩手医科大学からの看護師には血圧測定を含めた健康看護相談に回っていただき，その貢献は大であった．

4. 半日ですべての内容を終了する時間設定であったこと

今回は，前回の盛岡よりさらに2時間以上かかる行程であったため，当日に帰院するためには昼過ぎには現地を出なくてはならず，会をそれまでに終了する必要があった．しかしながら，降雪なども考えられ，あまり朝早い時間帯に開始することもできなかったため，全体で約3時間弱の時間のなかに講演を4つ，挨拶を4つ，健康サロンを1時間組み入れることとなり，大変タイトな時間設定となった．時間的・空間的な事情から，健康体操，健康相談，調理指導を個別にせずに全体を分割してそれぞれに行った．結果的に，岩手県栄養士会の方々の誘導や参加していただいた方々のご協力もあり，場所の移動時間も短時間ですみ，非常にスムーズに進行できた．また各演者も時間通りに簡潔に話していただいた．

5. 事務的な仕事の担当者が同行したこと

今回，総務部より事務職に同行していただいたが，搬送手配，会計，写真撮影，事前告知，現地との連絡，事後報告作成など，すべてに渡って尽力していただいた．このたの他のスタッフは事務的な負担が軽減されたため，各自の持ち場に専念でき，会の成功に貢献が大きかった．

Ⅳ．開催内容

日時：2012年2月5日（日）　午前 9時20分～12時15分

場所：グリーンピア三陸みやこ（岩手県宮古市田老向新田148）

主催：国立循環器病研究センター，岩手県栄養士会，岩手医科大学

参加者：宮古市田老の仮設住民ほか（135名）



図2.「国循総長・病院長からのメッセージ」を代読

■公開講座の内容

1. 開会挨拶

a）岩手県栄養士会会長挨拶
岩手県栄養士会伊東会長

b）国循総長・病院長からのメッセージ
横山斉任部長代読（以下全文掲載）

このたびの東日本大震災により被害を受けられた皆様に，心よりお見舞い申し上げます．特に昨今の寒さ厳しき折，避難所や仮設住宅での生活を余儀なくされておられる方々のご苦労はいかばかりかと拝察いたします．一日も早い復興と皆様のご健康を願ってやみません．

さて，我々国立循環器病研究センターでは，震災急遽当職の昨年3月14日に被災地の皆様に対する医療支援対策本部を設置し，診療チームの派遣，患者さまを受け入れる後方支援病棟の整備，電話相談窓口を設けての対応や循環器病についての情報提供などを行いました．また複数回にわたって調査チームを派遣し，被災地での課題に立脚した循環器病の診療体制，高血圧や慢性病の予防，保健衛生上のケア，食とこころの問題解決に役立つ仕組みなどに関する情報の収集を行ってまいりました．

そして昨年7月には，岩手県庁，県栄養士会，岩手医科大学，宮古市の診療所などを訪問し，被災地域での健康と医療の問題点について調べさせていただいた結果，これからは，健康の維持や，循環器病予防のために，より良い生活習慣の確立が急務であるとの結論に達しました．

岩手県を含めた東北地方はもともと塩分の摂取量が多く，脳卒中などの循環器疾患のリスクの高いことが知られています．また，被災後のストレスに加え，運動不足のため，被災された多くの方々が，高血圧や高コレステロール血症のようなハイリスク状態におかれている可能性があり，今後の脳卒中，心筋梗塞，心不全などの増加が大変心配されます．厳寒の冬期にある現在，適切な食事や運動などの生活

習慣を継続して心臓血管病のリスクを軽減し，脳卒中・心筋梗塞を予防することが，非常に大きな意味を持つのです．

そこで今回，岩手県栄養士会と岩手医科大学のご賛同を得て，宮古市で良い生活習慣をめざすための市民公開講座を開催する運びとなりました．本日は，健康講座と題した第一幕で活躍する医師や栄養士の方の講演と，私どものセンターで「おいしい」と評判の病院減塩食を賄う臨床栄養部・調理部による調理講座，そして医師・看護師による健康サロンなどを計画しております．健康講座には，震災直後より岩手県の診療体制を陣頭指揮されている岩手医科大学の高橋 智 先生の，震災医療支援の実際についてのご講義も含まれております．本日の公開講座を十分にお楽しみいただくとともに，その内容を皆様の今後のご健康にお役立ていただければ幸いです．

平成24年2月5日
独立行政法人国立循環器病研究センター理事長
横木 清実
岡崎院長・東日本大震災医療支援対策本部長
内藤 博昭

2. 健康講話

a）生活習慣と高血圧，脳卒中，心臓病～食塩制限の大切さ
国立循環器病研究センター生活習慣病部門長
河野雄平

減塩の重要性を中心に血圧管理の意義について説明された．

b）心臓発作の警告症状について～こんな症状があれば相談しよう
静岡県立総合病院院長代理　野々木宏

心臓病の初発症状と注意事項を説明された．また，「1日5回は笑おう」や「絆」を合い言葉にストレスに対するつきあい方などを話された．

c）岩手県における災害時の状況と脳卒中予防について
岩手医科大学神経内科・老年科分野准教授
高橋　智

震災発生直後から岩手県震災医療ネットワークの中心で活躍された経験と，被災民の血圧・コレステロールの状況を解説された．今回の震災後における生活習慣病管理の重要性を話された．

d）脳卒中予防は食事から
社団法人岩手県栄養士会会長　中屋史子

「健康で長生きすることが国民の義務である」という考えから，健康的な食事の大切さが解説された．

4. 健康サロン

健康サロンの内容と進行説明（図3）
国立循環器病研究センター
循環病棟・代謝内科医長　岸本一郎

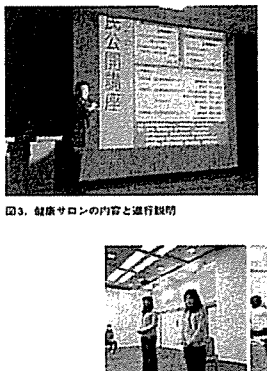
a）健康体操
国立循環器病研究センター看護部副看護師長
横山幸美
看護部看護師　中村美由紀

今回の開催に合わせて，両看護師出演のDVDを事前に収録して準備した．参加者を前半と後半に分けてDVDを上映しながら，座ってできる体操（約20分）に参加していただいた．ふだん動かさない関節や体幹などのストレッチも行った．参加者は若熱心に運動をされ，事後アンケートでも大変好評であった．自宅で継続できるようDVDを譲って欲しいとご希望の方もおり，参加者が運動の喜びを実感していた（図4）．

b）調理ビデオ
国立循環器病研究センター栄養管理室室長
甘井一人
調理師長　竹田博幸

TBS「はなまるマーケット」の放映ビデオを上映しながら，減塩食の調理方法を解説した．なじみのキャスターと画像・編集の良さもあり，集中して見ていただけた．質問も相次ぎ，食事に関することだけに関心の高さが感じられた（図5）．

c）健康相談
当センター，岩手医科大学，静岡県立総合病院からの医師および看護師で循環器医師2



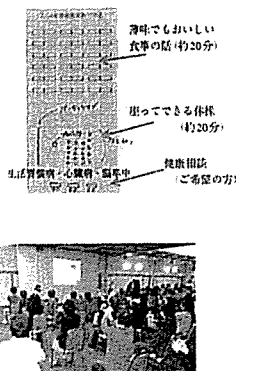


図3．健康サロンの内容と進行説明

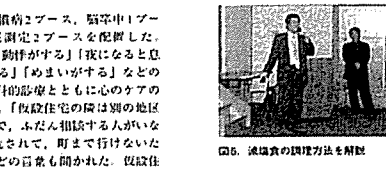


図4．DVDを上映しながら，座ってできる健康体操を行う

ブース，生活習慣病2ブース，脳卒中1ブース，看護師血圧測定2ブースを配置した．「夜，横になると動悸がする」「夜になると息が苦しい気がする」「めまいがする」などの訴えが多く，内科的診療とともに心のケアの必要性を認めた．「仮設住宅の隣は別の地区から来られた方で，ふだん相談する人がいない」「血圧計が流されて，町まで行けないため買えない」などの言葉も聞かれた．仮設住宅に暮らす方々の心のケア，環境整備を定期的に継続する必要のあることが再認識された．

d）会場の反応と健康サロンの様子
会場では終始ゆったりしたペースで，イベントを進行することができた．岩手県栄養士会の参加者の方々の引率により，参加者は動線に戸惑うことなく，いくつかの場所を移りながらイベントを楽しまれていた．参加者ア



図5．減塩食の調理方法を解説



図6. 内科的診療とともに心のケアが必要な相談が多数寄せられる

ンケートにおいては，すべての項目について高い評価をいただき，最も好評だったのが「健康体操」と「調理ビデオ」であった（Ⅶ. 参考資料」の項参照）。共通点は，自己参加と継続性である。仮設住宅で暮らしている方々にとって，狭いスペースでできる健康体操は大変有意義なもので，仮設住宅でも活用してもらえるのではないだろうか，仮設住宅で暮らすご高齢の方々が，一生懸命体を動かす姿に感動した。調理ビデオの感想には「調理法が大変参考になりました」という意見が多く寄せられ，自分で活用しようという気持ちが受け取れた。大切なことは，これからご自分たちで健康体操と減塩食の調理を継続することであり，継続した支援の必要性を実感した。



図7. 挨拶する河野部門長

4. 開会挨拶

a) 国循の河野部門長からの挨拶

b) 岩手医科大学小川学長からのメッセージ

高橋智准教授代読（以下全文掲載）

今年の冬は，大寒波にみまわれ，何かとご不便な生活に加え，暖を取るのも厳しい環境のなか，先週は，沿岸北部沿岸でも，氷点下10度を下回る厳寒のそとなり，仮設住宅に入居されている皆様をはじめ，被災地の皆様には，ご不自由な生活を送られているのではないかと心配いたしております。

本日は，減塩啓発イベントにご参加いただき，誠にありがとうございました。この取り組みの目的は，毎日の食事のなかでできる減塩の工夫と過ごし方について学んでいただき，脳卒中をはじめとする循環器病を予防し，健康に対する不安を軽減できるよう御支援することでございます。

田老地区の皆様には，震災以降，田老診療所の黒田仁先生を中心に，NPO国境なき医師団のスタッフのご支援で，医療が継続され，昨年12月には，同境なき医師団の建設支援により，仮設田老診療所が完成し，佐々先生も赴任されました。とはいえ，県内の被災地のかかりつけ医の先生方からは，震災後10か月を過ぎた今も，震災のストレスや寒さなどで，高血圧をはじめとする生活習慣病の患者様が増加していることをお聞きしております。

岩手医科大学では，今後も被災地での医療支援の継続に加え，災害医学講座を新設し，情報通信機器を用いた遠隔診療などを導入して，広大な圏域，そして，医師不足問題を抱える岩手県の医療を支える所存です。

今後，まだ，寒い日が続きますが，御地の一日も早いご復興と，皆様のご健康ご多幸を，心よりお祈り申し上げます。

一般社団法人日本脳卒中学会 理事長
岩手医科大学 学長　小川　彰

Ⅴ. まとめ

岩手県宮古市田老の仮設住宅に住む被災民を対象に，循環器病予防を啓発するイベントを開催した。多くの聴衆に集まっていただき，講演中は熱心に聴講され，健康体操や調理指導を全員が参加して楽しく行えた。事後アンケートでも，大変勉強になったという意見が多く聞かれ，意義の大きなイベントとなった。

Ⅵ. 感　想

宮古市内は多くが復興していたが，未だ空き地が多くあり，市街地まで津波が押し寄せたことが分かる状態であった。川の両岸には高い防波堤があったが，津波はそれを乗り越えてきていた。会場に入る途中に，町中でこの状況を説明してくれた（震災時は非番で自宅にいたから助かったという）宮古市のタクシー運転手さんの2つの言葉で揺めくくりたい。

―今回の震災で自然の力はすごいものだなと実感した。しかしながら震災から一年を経た今は人間の力もすごいなと思う。

―宮古の人間は，脳卒中や心筋梗塞になったら諦めるしかないといっている。

被災地の住民や東北地方の方々が最先端の循環器医療を受けられるよう皆が力を合わせて邁進する必要があり，当センターも国立高度医療センターとしてさらに政策提言などを通じて貢献していくべきと考える。

謝　辞

急遽に賛同していただいた小川彰学長をはじめとする岩手医科大学の皆様，伊東会長をはじめとする岩手県栄養士会の皆様，会場の「グリーンピア三陸みやこ」の方々，何よりも講習のなか，ご参加いただいた仮設住民の方々に，この場を借りて心より感謝申し上げます。また，本公開講座は循環器病研究振興財団の支援を得てなし得たものであり，そのご厚志に対して御礼申し上げます。

Ⅶ. 参考資料

1. 岩手日報（2月6日記事）（資料）



資料.

2. 事後アンケート集計結果

1）年齢・性別

年代	男性	女性	計
30歳代未満		1	1
30歳代	0	6	6
40歳代	0	4	4
50歳代	2	11	13
60歳代	6	39	45
70歳代	7	25	32
80歳代	1	3	4
計	16	89	105

2）この催しは何で知りましたか？

新聞	チラシ	知人・友人	栄養士会会員	その他
0	54	18	19	10

3）健康講話「生活習慣の高血圧，脳卒中，心臓病」のお話はどうでしたか？

とても参考になった	参考になった	むずかしかった
68	35	1

4）健康講話「心臓発作の前兆症状について」は，どうでしたか？

とても参考になった	参考になった	むずかしかった
66	33	0

5）健康講話「避難における災害時の状況と」は，どうでしたか？

とても参考になった	参考になった	むずかしかった
55	41	0

6）健康講話「脳卒中予防は食事から」は，どうでしたか？

とても参考になった	参考になった	むずかしかった
67	32	2

7）健康サロンには，参加されましたか？

参加した	参加していない
91	9

8）参加された方にお聞きします。
どのコーナーに，最も関心を持ちましたか？
（1つ，選んでください）

健康体操	健康相談	調理指導
44	26	32

3. 来場者の感想

・栄養士・調理師の方に来ていただいて，それが何より参考になりました。
・減塩の調理方法，魚をだし汁につけて薄すなど，初めて聞き参考になりました。
・大阪の減塩食について，もっとお聞きしたいと思いました。
・今は病気はないが，予防して長生きしたい。
・盛時間（半日）で盛りだくさんの内容でした。専門の先生方の分かりやすい説明に感謝しています。
・質問が解消されて良しかった。
・調理の際には減塩に注意していたが，もう一度見直す必要があると思いました。
・内容的，時間が足りないと思う。
・これからの生活に減塩を取り入れたいと思う。
・分かりやすかった。
・大変良かったです。近所の皆さんを誘ってくれば良かったと，声かけしなかったことが残念でなりません。
・参加してよかった。
・自分も心臓の手術をしているので，先生方のお話を聞けてよかったです。
・家族と一緒に勉強を重ねることが一番だと思いました。特に禁煙です。
・健康相談コーナーで直接，専門医の先生方からお話が聞けてよかったと思います。
・知ることの大切さ，続けることの難しさ，現実としてしなければならないことがあるので，実行しなければと思いました。
・自分も少し自信が出ました。
・時間をもっと長くとってほしかった。これからもこのような公開講座を行って良いと思います。

4. 行　程

【2012年2月4日（土）】
10:00　伊丹空港 北ターミナル集合
11:00　伊丹空港発
12:20　花巻空港着
■先発組：横山特任部長，竹井室長，竹田調



図8. 今回ご協力いただいた方々とともに

理師長，小林係長
12:35　花巻空港発 盛岡駅行連絡バス（29km）
13:28　盛岡駅着，野々木先生と合流後，「グリーンピア三陸みやこ」へ車移動
16:40　「グリーンピア三陸みやこ」着，会場準備
■後発組：河野部門長，岸本医長，横山調看護師長，中村看護師
13:00　日本健康指導士会岩手県支部研修会に参加
14:00　JR花巻駅発
14:33　盛岡駅着，「グリーンピア三陸みやこ」へ車移動
18:00　「グリーンピア三陸みやこ」着，会場準備
【2012年2月5日（日）】
7:30　会場集合，関係者ミーティング
8:45　受付開始
9:20　市民公開講座開始
12:15　終了，関係者反省会
13:00　「グリーンピア三陸みやこ」出発
18:20　花巻空港発
19:55　伊丹空港着

5. 配付資料

・プログラム　・アンケート
・減塩食レシピ　・NCVCボールペン
筒子
「循環器病あれこれ」
［34］心筋梗塞，狭心症－その予防と治療
［48］循環病と動脈硬化（前編）
［49］循環病と動脈硬化（後編）
［55］心臓発作からあなたの大切な人を救うために
［79］循環器病と気になる嗜好品
［84］血圧の話
「知ってることで救われる!? 脳卒中って」
「脳卒中予防は食事から」（岩手県栄養士会）

6. 国立循環器病研究センター参加者（図8）

生活習慣病部門長　河野雄平
心臓血管内科特任部長　横山広行
循環病・代謝内科医長　岸本一郎
栄養管理室長　竹井一人
調理師長　竹田博幸
看護部 調看護師長　横山幸英
看護部 看護師　中村美由紀
総務課広報係長　小林良平

7. 会場「グリーンピア三陸みやこ」（図9）





図9. 会場の「グリーンピア三陸みやこ」（上）と7階からの景色，真に仮設住宅が見える（下）

循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究

主任研究者報告

横山広行*1，花田裕之*2，伊藤弘人*3，佐田　誠*4，野々木　宏*5

はじめに

国立循環器病研究センターでは，震災後ただちに「東日本大震災医療支援対策本部」を設置するとともに，災害時の急性期循環器病診療支援や電話相談，被災者の健康支援情報を提供した。東北地方は，もともと塩分摂取量が多く，脳卒中などの循環器疾患のリスクが高い地方として知られている。それ故，震災後には高血圧の頻度・程度が以前より高くなり，循環器疾患の発症率増加が懸念される。自然大災害下における循環器疾患の病態と予防対策を検討することは，政策を担う当センターの使命である。迅速に状況を把握し対応策を検討するために平成23年度循環器病研究開発費の新規研究課題として，横山を主任研究者とする臨床基盤研究「循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究」(23-4-7)が立ち上がり，これを組織した(表1)。

Ⅰ．研究の目的

近年，日本では幾度かの自然大災害により生じた甚大な被害を教訓として，数々の医療支援対策が練られている。阪神淡路大震災の後には，家屋損壊による圧迫・挫滅により生じるクラッシュ症候群に対する初期対応策が研究・検討され，新潟県中越沖地震の急性期にその知見が活用された。厚生労働省は，自然大災害の超急性期における救助・救命を目的としてDMATを構築し，クラッシュ症候群を含め災害に生じる様々な病態に迅速に対応できるように，平常時より全国で医療支援チームを組織し，訓練を重ねている。一方，循環器領域においては，肺血栓塞栓症，深部下肢静脈血栓症，たこつぼ型心筋症など，災害関連死として挙げられる特異的病態が注目されているが，その発症状況の把握，初期対応策は十分には検討されていない。また，自然大災害の準急性期には，高血圧症の悪化，定期服用薬の供給途絶による急激の循環器疾患への影響や，震災によるメンタルストレスの循環器疾患発症への影響が問題となるが，その実態把握と予防対策は確立されていない。

本研究の目的は，自然大災害の急性期から亜急性期において，①被災地における循環器疾患の発症と予防に関する方策を検討すること，②循環器疾患における医療支援ネットワークの基盤を構築するための方策を検討すること，③震災によるメンタルストレスの循環器疾患発症への影響を検討することである。本特別号では，本研究班からは本稿とともに，分担研究者による報告として「循環器救急医療におけるネットワーク構築」(花田裕之)，「災害メンタルヘルス体制について」(伊藤弘人)，「震災時における感染対策」(佐田　誠)の4編を報告する。

*1国立循環器病研究センター医療安全管理部，心臓血管内科
*2弘前大学 救急・災害医学講座
*3国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 社会精神保健研究部
*4国立循環器病研究センター呼吸器・感染症診療部
*5静岡県立総合病院 院長代理

表1．研究組織一覧

研究区分	臨床基盤	研究課題名	循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究

分担研究内容	氏名	所属施設名	所属部署名・職名	現在の主な研究領域
		他施設研究者の参加項目		
自然大災害時の循環器疾患に対する対策立案	横山広行	国立循環器病研究センター	心臓血管内科特任部長	循環器救急，心不全
自然大災害時の循環器疾患に対する対策立案	野々木宏	静岡県立総合病院	病院長代理	循環器救急，心不全
自然大災害時の脳血管疾患に対する対策立案	豊田一則	国立循環器病研究センター	脳血管内科 部長	脳血管障害
自然大災害時の脳血管疾患に対する対策立案	飯原弘二	国立循環器病研究センター	脳血管部門 部門長，脳神経外科 部長	脳神経外科
自然大災害時の感染性疾患に対する対策立案	佐田　誠	国立循環器病研究センター	呼吸器・感染症統轄部 医長	呼吸器内科学，感染症，睡眠医学
自然大災害時の循環器疾患に対する医療支援ネットワークの構築	花田裕之	弘前大学	救急・災害医学講座 准教授	心臓循環器
		医療支援ネットワーク構築		
循環器疾患におけるメンタルケアの方策	伊藤弘人	国立精神・神経医療研究センター	精神保健研究所 社会精神保健［研究］部長	精神断生学
		メンタルケアの方策		

Ⅱ．研究の意義

今回の未曾有の自然大災害において，発災急性期から亜急性期に情報ネットワークが寸断され，医療情報の収集・集約に遅れが生じることを経験した。災害関連死と関連する循環器疾患の発症状況を把握し，予防策・初期対応策を構築するには，平常時からその対応方法を検討し，非常時に備える体制を整備することが重要である。被災地における医療応需情報を迅速かつ正確に収集するための方法を検討し，医療支援ネットワークを構築するために，大変意義のある研究である。

Ⅲ．研究成果および現在までの研究状況の概要(図1)

1．被災地における循環器疾患の発症と予防に関する研究

被災地を訪問し，現場の課題に立脚した循環器診療支援体制の構築に関する研究として，主任研究者の横山，分担研究者の野々木宏は，発災直後の急性期を過ぎた時点で，被災地調査チームとして山形県・宮城県視察隊，岩手県視察隊を構成し，現地視察訪問を実施した。被災地の避難所，仮設診療所や基幹病院などの医療機関，宮城県庁・岩手県庁などの行政機関，東北大学・岩手医科大学などの学術機関，岩手県薬剤士会などを訪問することにより，被災地域における健康と医療

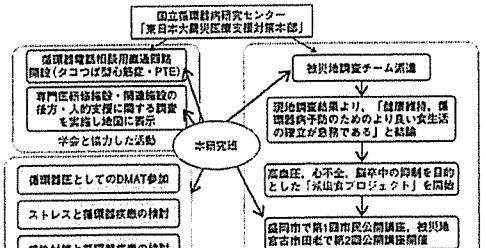


図1．循環器病研究開発費23-4-7(主任研究者：横山広行)の活動

の問題点について現地調査を行った結果に基づき，「津波後特有，循環器病予防のためのより良い生活の確立が急務である」との結論に達した。その結果は，当センターから国や行政などへの政策提言の基礎資料としてまとめられ，報告された(本誌「提言」参照)。

震災後には，避難所や仮設住宅における，過労，ストレスにより高血圧の頻度・程度が高くなり，脳卒中，心筋梗塞，心不全などの増加が懸念される。避難所，仮設住宅における衣生活は健康上重要な課題である。高血圧のリスクを軽減し，脳卒中・心筋梗塞を予防するために，減塩食の普及は平時から重要な課題であるが，特に被災地においては，減塩食を提供する体制を整備すること，自律した活動を見守ることの周者が重要である。本研究班では，現場の課題に立脚した循環器診療体制の支援の重点項目として，高血圧，心不全，脳卒中の抑制を目的に，当センターが減塩食プロジェクトとして開催した盛岡市における第1回講演会，被災地宮古市田老での仮設住宅居者を対象とした第2回講演会を支援した(本誌「減塩・循環器病予防プロジェクト」「第1回講演会」，「第2回講演会」参照)。

2．循環器疾患における医療支援ネットワークの基盤を構築するための方策に関する研究

自然大災害の急性期から亜急性期において，発災直後に利用可能な情報収集・伝達方法の開発は最重要課題であることが明確になった。被災地の医療応需情報を迅速かつ正確に収集する方法，医療支援ネットワークを構築すること，集積された医療情報を解析するためのヘッドクォーターを構築することが必要である。本研究の主任研究者の横山，分担研究者の野々木宏らは，循環器救急医療における多施設共同研究により救急システムにおける情報通信システムの応用，補助循環や低

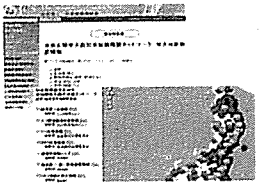


図2．日本循環器学会ホームページ

体温療法などの超急性期医療の効果的活用についての研究実績がある[1-4]。日本循環器学会と連携した活動として，主任研究者の横山，分担研究者の野々木宏・花田裕之らは東日本大震災発災5日目から日本循環器学会災害対策室の一員として活動し，人的支援のための医師登録システムを構築するために，日本循環器学会の循環器専門医研修施設，研修関連施設における後方支援・人的支援に関するアンケート調査を実施し，医療支援施設情報を集積し，情報するための全国マップを作成して，各施設の支援状況の実態を学会ホームページにリアルタイムで表示した(図2)。全国規模での災害時循環器医療支援システムの構築に関する研究として，医療支援施設情報の集積，管理するための全国マップ作成，各施設の支援状況の実態のリアルタイム表示は，発展性のある取り組みである。

主任研究者の横山，分担研究者の野々木宏は，震災関連死の原因として循環器領域で報告されている肺血栓塞栓症，深部下肢静脈血栓症，たこつぼ型心筋症に関して，日本循環器学会，日本心臓病学会と協力し，医療関係者からの電話相談窓口として2台の直通電話回線を当センターに開設し，対応した。

分担研究者で，循環器専門医の経験を持つ花田はDMATに参加し，被災地救援活動を行うとともに，循環器救急医療におけるネットワーク構築に関する研究を進めている。

今後の課題として，被災地の医療応需情報を迅速かつ正確に収集する方法を検討すること，被災地と遠隔地との医療支援ネットワークを構築するための基盤を構築すること，自然大災害時において利用可能な汎用性を有する医療情報伝達方法を開発すること，集積された医療情報を解析するためのヘッドクォーターを構築するための基盤整備を実施することが重要な課題である。

3．震災によるメンタルストレスの循環器疾患発症への影響に関する研究

主任研究者，分担研究者は，それぞれの立場で被災地を訪問し，医療活動・情報収集を実施し，被災地における問題点を検討した。分担研究者の伊藤弘人は，循環器領域におけるメンタルケアの重要性について研究実績を持ち，被災後の循環器疾患発症とメンタルケアに関する検討を行った。

◎ 文　献
1 Iwami T, Kawamura T, Hiraide A, et al : Effectiveness of bystander-initiated cardiac-only resuscitation for patients with out-of-hospital cardiac arrest. Circulation 2007;116(25):2900-2907.
2 Onuka Y, Yokoyama H, Nonogi H : Novel mobile telemedicine system for real-time transmission of out-of-hospital ECG data for ST-elevation myocardial infarction. Catheter Cardiovasc Interv 2009;74(6):867-872.
3 Yokoyama H, Yonemoto N, Yonezawa K, et al : Report from the Japanese registry of CPR for in-hospital cardiac arrest (J-RCPR). Circ J 2011;75(4):815-822.
4 Yokoyama H, Nagao K, Hase M, et al : Impact of therapeutic hypothermia in the treatment of patients with out-of-hospital cardiac arrest from the J-PULSE-HYPO study registry. Circ J 2011;75(5):1063-1070.

循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究

分担研究者報告：ネットワーク構築

花田裕之

はじめに

2011年3月11日に発生した東日本大震災で，急性期にDMATの一員として岩手県宮古市で活動し，その後，日本循環器学会の援助プログラムに参加する機会があり，今回「循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究」に加えていただき，そのときの経験からネットワーク構築についてのテーマをいただくことになった．今回，私自身が参加した活動の概略と，今後に生かすべきと考えられることについて述べる．

Ⅰ．DMAT

DMATは，「災害急性期に活動できる機動性を持った，トレーニングを受けた医療チーム」と定義されており，Disaster Medical Assistance Teamの頭文字を略してDMAT（ディーマット）と呼ばれている．1995年の阪神淡路大震災で，「防ぎえた災害死」が多くあったことが検証され，これを防ぐための医療チームとして組織された．「防ぎえた災害死」とは，倒壊物から救出される前には意識清明であった傷病者が，救出とともに意識レベルクラッシュ症候群の例や，圧迫を長くされたまま現場で切断できずに火炎に巻き込まれた例，インフラを失い診療機能が低下した医療施設で十分な医療を受けられずに死亡した例などで，阪神淡路大震災全死亡6,000人以上のうち，およそ500人といわれている．発災後数時間から12時間以内にトレーニングを受けた医療チームが被災地に出向き，救命医療を展開することで，この「防ぎえた災害死」の回避につながると考えられて，組織された．これまでに既に現地での活動として2005年の福知山線脱線事故，新潟中越沖地震などで活動が行われてきた．激甚広域災害では，災害地域から非被災地域医療機関へ患者を自衛隊の協力のもとで広域搬送することを想定し，訓練してきたが，実際に広域搬送が行われたのは，今回が初めてである．

DMAT研修は4日間にわたって行われ，医師，看護師，ロジスティクスにそれぞれ1～2名，合計5名で構成されたチームとして，単独，病院単位で参加する．患者の評価，トリアージ，治療，搬送などとともに現地対策本部設営などのマネージメント，広域搬送などを理論と実技で学び，試験される．これに合格すると隊員証が交付され，携帯アドレスが厚生労働省医政局DMAT事務局に登録され，各隊員への連絡は携帯を通じてアナウンスされる．また，EMISという広域災害救急医療情報システム（Emergency Medical Information System）があり，インターネットを用いて被災地病院，受け入れ病院情報やDMATチームの活動状況を入力することで，情報をやりとりする．個人への情報は携帯で，各病院情報はEMISが主体となる．この情報に関する経験を後述する．

発災後48時間の活動で，安定住移動を自己完結すること，と研修で教わるDMAT活

弘前大学医学部 救急・災害医学講座

動であったが，今回の活動はより長期にわたり，しかもそれが必要であることがその後の検証でも明らかにされている．慢性期の血圧や心不全管理のみならず，発災48時間以降の亜急性期こそ，循環器専門医が現地で活躍できる場面が多く，循環器領域における災害対策が必要であることを実感した．

個人の経験ではあるが，循環器医療がどのように必要であったか，これに対して情報を共有するためのネットワークがいかに必要であるか，ネットワーク構築についての提言と今後の実証試験について以下に述べたい．

Ⅱ．DMAT活動の概略

3月11日の発災と同時に，弘前大学高度救命救急センターではDMAT出動準備を開始．医薬品や車の手配，装備の準備のあと，第一次隊が11日午後7時に仙台を出発して集散地点に指定された盛岡に到着．私自身は，この時は弘前に残って救命センターで後方支援と弘前周辺の救急医療にあたっていた．DMAT一次隊（救急医1名，整形外科医1名，看護師2名，ロジ1名）は現地残活から二戸病院支援を命じられ，合流した青森県立病院DMATチームと二戸病院へ深夜に向かい，翌朝から沿岸の久慈から宮古と予想される重症患者支援に備えた．12日に，道路が破壊されているため久慈から患者は搬送されないことが明らかになり，二戸病院から宮古へ移動．午後4時から宮古病院で重症患者診療を担当した．夜間も交替で診療．13日も重症患者診療を行い，午後5時に宮古から弘前へ向かった．11～13日にかけて，初日は溺水と低体温による，赤タグ，黒タグが多かったとのことで，青森DMATが参加した12日以降は，津波やがれきによる外傷が多かった．緑タグの患者も，多くは津波に流された患者が多かった．そのほか特筆的な疾患としては，汚染された津波の海水誤嚥による肺炎が多数

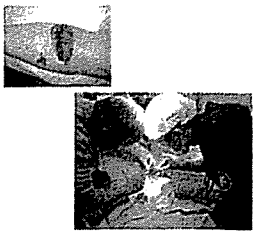


図1．津波やがれきによる外傷を治療

認められた．診療体制としては外来を各DMATが診察，入院患者を宮古病院医師が担当する体制であった．医師不足から400床を200床にしていたベッドを，元の400床まで拡大して対応していた．手術を要する患者や骨折患者，心筋梗塞患者などが降はヘリを中心に，夜間は片道2時間かけて陸路で盛岡に搬送された．13日になっても孤立している地域などの情報が全くなく，被害の全容は現地でも全く把握できていなかった．

14日の早朝にDMAT二次隊（循環器内科医1名（私），脳外科医1名，看護師1名，ロジ1名）は弘前を出発して，午後1時過ぎに宮古に到着した．14日は宮古市内の患者は少なく，道が開通した近隣町村からの患者が搬送されていた．閉塞性肺炎により低酸素血症になっていた男性，窒息で心停止になった8歳男児，骨盤骨折疑いの中学生など次々に搬送されてきたが，夜間にはそれまでのように患者が次々来ることはなくなっていた．この時期になると，各病院にいる我たり状態の患者をどうするかが1つの課題となっていた．一部外科系患者がいるが，病院機能が降かれた病院に集中せざるをえない他病院に入院し



図2．海上自衛隊のヘリで移動

ている患者群をどうするか，といった課題に悩りつつあったのだと思う．それに加え，フル回転で診療をしていた病院の水が枯渇し，検査の制限（水が足りないため患者ごとに緊急検査ができず，まとまってからやる）やトイレの問題が起こっていた．15日には道路が通れない孤立した集落へ医療チーム派遣要請が来ているとのことで，我々が手を挙げたが，どこにある何という集落かという情報もない状態であった．海上自衛隊のヘリで着いたところで場所を聞いて，初めて重茂半島南側の千鶏地区だと分かった．全く救援が入っていないところで，タグをつけるところからの活動を予想していたが，既に自衛隊が救援物資なども配っており，地元の消防団が行方不明者の名簿作成，必要な道路の修理などを行うとともに，自衛隊と医療を要するとと考えられる人を1カ所（地区を通行中だった路線バスのなかに集めていた．そのほかに心疾患患者を含む動けない人が数名いるということで，2チームに分かれて活動した．私が，動けない人の診察に車で向かったが，80歳代の大動脈解離の後血管は置換したが大動脈閉鎖不全が残存している女性，流されているところを助けられたが肋骨骨折がありそうな80歳代女性などを診察．バスのなかにいた，14日夜に安静時病痛発作があった狭心症の女性と解離術後の患者は，それぞれの家族とともに，海自のヘリで午後3時に宮古に戻った．バスのなかに重傷者はいなかったが，この時点で既に日常内服薬をどう届けるかが一番の問題であった．ワルファリン内服者はいなかったが，内服動脈狭窄にアスピリンを内服している患者がいた．結局，循環器疾患が問題となり，宮古病院では循環器専門医が常勤でないということで，解離術後の患者は盛岡へ搬送となった．他の隊が多く参集してきたこともあり，15日17時に帰路についた．

Ⅲ．その後の循環器学会の対応

3月15日に，同月18日から開催予定の日本循環器学会総会の延期が決定された．14日から学会として支援体制を整えていこうという機運が持ち上がって，国立循環器病研究センターの野々木宏先生と横山先生を中心としてメーリングリストが立ち上がり，その後，災害対策プロジェクトが立ち上がるとともに日本国中の循環器施設から循環器専門治療・患者受け入れ可能マップが作成された．その後，学会としてドクターバンクを立ち上げて長期的な専門医派遣体制を築き，岩手県立大船渡病院，田老診療所に医師派遣を行ってきた（http://www.j-circ.or.jp/shinsaitaisaku/drbank.htm）．総会の延期から医療支援に至るまで，全学会員からのメッセージがネットワーク上を駆けめぐり，多くの支援が現実に行われたことは素晴らしいことであった．今回は派遣される側が東北の医療過疎地であり，派遣する側に医療人が多かったことも大きな要因である．青森県からの循環器専門医の派遣も検討されたが，岩手県からは1カ月を超える単位での派遣要請であり，循環器専門医が日本一少ない青森県からの派遣は見送られた，ということもあった．

Ⅳ．災害急性期に循環器専門医は必要か？

発災24～48時間以内の超急性期に循環器内科医がどれだけ役立つかは明らかでないが，甚大広域災害時に外傷ばかりが問題になるのではないことを今回感じた．急性期に心筋梗塞患者も発生している．48時間以降の亜急性期には，高齢化社会では特に医療難民が生じやすいため，活動が長期化すればより内科的介入が求められる．DMATのホワイトボードには各医師の専門分野が掲示されたが，循環器内科医が2名おり，脳外科医，肺部外科医が各1名入っている．自分の専門知識と診療は十分役立ったと感じており，亜急性期には救急医のみではなく，いろいろな分野の専門医が集まるほうが活動は幅が広がると感じた．

Ⅴ．現地活動その後の活動から今後に向けて―特に情報の共有とネットワーク構築の重要性―

1．発災直後の現地での通信状況，情報伝達

停電と有線通信は途絶するものとして，対応が必要である．携帯電話も中継局が電力を用いているために，繋がらなくなる．宮古では一次隊はNTT携帯が通じず，AU携帯のみが何とか通じることがあった．その一方，AU携帯にはDMAT待機要請などのメールが全く入らず，48時間以上経ってから，まとめて出動要請などが配信された．二次隊は災害専用携帯（NTT）を入手して持参し，有用であったが，NTTの中継局がある程度回復したあとだったことも影響していると考えられる．携帯衛星電話は，常に有効であった．急性期災害地では，あらゆる通信手段を持つことが重要である．ただし，1：1の通話には限界がある．多くの医療情報を災害時に共有するためには，多くの人がアクセスして情報を共有する医療情報システムが必要で，す

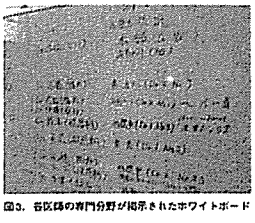


図3．各医師の専門分野が掲示されたホワイトボード

でに述べたEMISがこれにあたる．残念ながら宮古では停電とインターネットの寸断で，全くアクセス不能であった．EMISではヘリ搬送の具体的時間なども共有できるシステムになっているが，宮古病院のこのような通信状況は，患者搬送ヘリ派遣要請がうまく伝わらないといった混乱を招いた．改めてのシステム作りはなかなか難しいと思われ，このEMISに何とかアクセスできる多重のシステムが必要だと今回感じた．

2．各学会が行った対応と現地での情報

日本循環器学会のみならず，透析関係，集中治療関係など，それぞれの学会が後方支援可能であることを主にインターネットを利用して示した．災害医療センター（DMATの統括本部）でもこの事実は検討されており，今後，各学会が震災で行った活動をまとめるとの情報を得た．

一方，宮古病院でもそうであったように，その後の管理なども考えると災害急性期に現地で手術や心カテなどは不可能と考えるべきで，搬送と治療可能な病院との連携が最も大切になる．どこのどの施設に搬送して治療可能か，という情報の共有が必要である．しかし，前述のような現地での通信状況もあり，

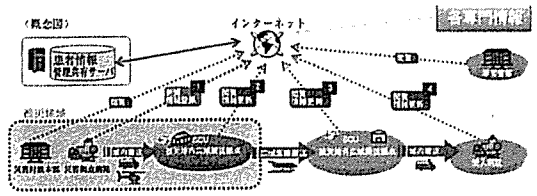


図4．EMISを利用した情報共有概念図（文献2より引用）

少なくとも急性期には宮古から内陸に患者搬送するにあたって，盛岡市内の医療機関の情報さえうまく分かっていなかった．全国的な支援情報はネットに散らばってはいたが，統合されておらず，ネットにアクセスできない状況下では（少なくともその時期は）十分活用されなかった．どこか1カ所で情報を見られることが必要であると感じた．災害地域からの搬出は，国一的で構わないが，災害域外に搬出されたあとは被災医療機関決定に詳細な支援情報が必要である．EMISの情報はDMAT関係医療機関に限られており，各学会などの情報はより詳細である．対応可能な全国の病院の情報を使って，きめ細かく搬送できればより良い医療が提供できる．

今回の活動から，循環器領域における大規模災害時の対策に関してのネットワーク構築（災害急性期）についてまとめると，

①インターネットにアクセス可能な通信の多重システム，指揮可能なものが望ましい．

②EMISに各専門分野（多くは学会単位が予想される）のリンクを構成．

③患者情報を引き出せるクラウド型データベースの利用．

――が，今後の課題と考える．

①については，通信器機の問題であり，機器発注をうまく利用できることが求められる．

②については，災害医療センター近傍医師を通じてリンクを張ることの了解を得た．

③については，EMISにも患者情報共有はあるものの，SCUから広域搬送される患者に限られている．現在の救急患者搬送が，写真を焼き付けたり，紹介状を書いたり，検査結果が出るまで待ってから持参させての搬送になっているが，患者情報をデータベースで共有することで，時間短縮可能であり，情報の後付けも可能になる．患者情報共有について実証してみる．具体的にはデータベースを設置して，救急患者情報のやりとりをデータベースの共有で簡素化することにより，心筋梗塞などで搬送時間が短縮できるかを検討したい．

§ 文 献

1）横山広行，花田裕之，伊藤弘人，他：平成23年度循環器病研究開発費「循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究」．循環器病研究の進歩2012：「東日本大震災支援」特別号．

2）日本集団災害医学会：DMAT標準テキスト．へるす出版，2011．

循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究

分担研究者報告：災害メンタルヘルス体制について

伊藤弘人*1，黒澤美枝*2，加藤 寛*3，小原聡子*4，深澤舞子*5，鈴木友理子*6，金 吉晴*6,7

*1国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 社会精神保健研究部
*2岩手県精神保健福祉センター
*3兵庫県こころのケアセンター
*4宮城県精神保健福祉センター
*5国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 成人精神保健研究部
*6（連絡先）国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所成人精神保健研究部
*7国立精神・神経医療研究センター 災害時こころの情報支援センター

はじめに

東日本大震災は，地震と津波という自然災害のみならず原子力発電所事故に関する災害と，複合的な大規模災害によって，人々の心に深い傷跡を残している．大規模災害時において，被災者へのメンタルヘルス体制はどうあるべきか．昨年度，著者らは，大規模災害時のメンタルヘルス体制構築を災害発生から時系列のフェーズに分け，岩手宮城内陸地震（2008年）と阪神・淡路大震災（1995年）の経験を集約してクリティカルパス形式で整理していた[1]．初版を作成し，次年度はDMAT（Disaster Medical Assistance Team）などの活動との連携体制を整理しようと話し合っていた時に，東日本大震災が発生した[2]．

まだ予備的な段階のクリティカルパスであったが，国立精神・神経医療研究センターのホームページに掲載され，また被災県からコンサルタントとして招かれた関係者を通じてクリティカルパスは活用されることになった．災害時のメンタルヘルスケアといっても，そのニーズは刻々と変化する．本クリティカルパスは，それぞれのフェーズで必要な体制を意識でき，支援者にロードマップを示すことに寄与した．

もちろん現地ではそれぞれの事情があり，画一的に用いるものではない．また今回ほど大規模になると初期フェーズが長引くなど，今後改訂や補足が必要になることも認識されている．いまだ総括できる時期ではないものの，本論では今後起きるかもしれない大規模災害への対策の理解に資するために，公表されているクリティカルパスの概要を紹介する．なお，本活動は「開発の経緯」に示す通り，鈴木らのコーディネートによって進められたことを付記する．

【開発の経緯】

クリティカルパスの開発には，災害対応の経験豊富な精神保健専門家から情報収集を行った．大規模災害の発生が都市部か都市部かで，その支援方針は異なるため，岩手県精神保健福祉センター黒澤美枝所長を中心に都市のケア概要を，兵庫県こころのケアセンター加藤寛副センター長には都市のケア概要から都市部の課題の抽出を行った．それぞれの地域において，災害発生からの時間（フェーズ）ごとに，関係組織がどのような対応が想定されるかをクリティカルパス形式でまとめた．災害発生のフェーズは，重点が置かれる対応の種類により，災害発生から救助が来るまでの数時間，救出・救助・救急が中心となる数時間，保健医療が中心となる数週間，福祉が中心となる数カ月の4つに区分した．各フェーズにおける，ターゲット（起こりうる事態）とゴール，災

害対応を行う組織として，精神保健対策本部（本庁，精神保健福祉センター），保健所，市町村，医療機関，医療チーム，心のケアチームの役割を明記した．東日本大震災後は宮城県などが，このクリティカルパスを参考に支援を実施した．宮城県精神保健福祉センター小原聡子医師が，その使用経験にもとづいて課題を抽出した．コーディネートは，鈴木友理子協力研究者と深澤舞子協力研究者が行った．

1．初版クリティカルパスの開発

1．都部版クリティカルパスの概要

岩手宮城内陸地震（2008年）での支援経験に基づき，岩手県の精神保健活動に関する報告書や日誌などの資料レビューに基づいて作成された都部版のクリティカルパス案（岩手版クリティカルパス）を表1に示す．その概要は，次の通りである．

a）フェーズ0

救助が来るまでの数時間～数日の間，各現場において起こりうると思定されるのは，精神不穏（パニック）である．この時期に認識した問題は，精神保健活動方針の決定と，人的支援の派遣調整に関する点であった．具体的には，県外専門チームからの人的支援派遣の打診を，県内において現場アウトリーチや情報収集がなされない段階で，断るという事態も発生する．本庁の担当部署の事特分掌に，災害時の心のケアを定めるなどの改善を行う必要がある．円滑な現場の進捗調整のためには，情報の指揮様式の準備を工夫することや，訓練への参加をさらに要する．また災害発生時，精神保健活動の方針を決定するための知識や経験が不足していたため，平時から関係機関へ，精神保健に関する研修を継続する必要性もある．

b）フェーズ1

救出・救助・救急が主となる数日の間，主な活動場所は救護所や遺体安置所となる．この間に起こりうることとしては，精神障害者の症状の悪化に加え，ASD（Acute Stress Disorder），悲嘆反応，またスタッフの惨事ストレスによる急性反応がある．

岩手宮城内陸地震発生後の場合，このフェーズの期間，岩手県では，保健所の保健師が，事故で負傷した2団体に関して情報収集を行った．岩手県精神保健福祉センターは，事例の後方支援にあたった．これらの活動を通じて，医療機関から患者が転出する前に，心理面を含めたアセスメントや情報提供がなされていれば，地域によるハイリスク者の同定やその後のフォローがスムーズになると考えられた．これを可能にするには，まず，医療機関従事者が，ASDやサイコロジカルファーストエイドなどの知識を学ぶ機会が必要であろう；また阪神淡路大震災などの経験より，行政職員が遺体や遺族に対応することを求められることも想定されるため，日常的にこのような経験のない行政職員へ，初期対応のシミュレーションの機会を提供することが求められる．

c）フェーズ2

保健医療が中心となる数週間において，主な活動場所は，避難所，自宅，医療機関となる．この期間は，精神障害者の服薬中断の問題に加え，避難所や相談窓口での適応障害，PTSD（Posttraumatic Stress Disorder）を含む不安障害，アルコールの問題などの事例が顕在化する時期である．また，スタッフの疲労の問題も顕在化してくる．

この期間，岩手県精神保健福祉センターは，多くの関係機関とともに，様々な状況に対応すべくアウトリーチを行ったり，その調整を行うことになる．活動のなかで，ケアアクセスの確保や地理的移動の困難を再確認した．

登録所などにおける精神保健活動は，感染症や集災管理などの一般保健活動の現場レベルの調整主体が確立して初めて可能になる．岩手宮城内陸地震における活動では，地域ご

表1．都部版［大規模災害時の精神保健対応のクリティカルパス］

フェーズ	フェーズ0（0日目，各日）	フェーズ1（1日目）	フェーズ2（1週間）	フェーズ3（1カ月）
お題	救助，救出，救急開始	避難所，遺体安置所	避難所，自宅，医療機関	自宅など
ターゲット	・精神不穏（パニック）	・惨事ストレスによる急性反応 ・ASD ・悲嘆反応 ・スタッフの惨事ストレスによる急性反応	・PTSD ・アルコール問題 ・スタッフの疲労の問題 ・自殺	・ハイリスク者の同定，連携
ゴール	救助・平時による初期化	・ハイリスク者の同定，連携		・活動の引き継ぎ，最終引き継ぎの検討，活動報告書の作成
本部（県庁，精神保健福祉センター）	・情報収集と分析 ・情報収集と分析，活動方針の決定，人的支援の派遣調整 ・人的支援の派遣調整 ・人的支援の派遣調整			
保健所	・情報収集と分析 ・情報収集と分析，活動方針の決定，人的支援の派遣調整 ・人的支援の派遣調整 ・人的支援の派遣調整	・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会	・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会	・地域精神保健福祉活動の再開 ・地域精神保健福祉活動の再開 ・地域精神保健福祉活動の再開 ・地域精神保健福祉活動の再開
市町村	・情報収集と分析 ・情報収集と分析，活動方針の決定，人的支援の派遣調整 ・人的支援の派遣調整 ・人的支援の派遣調整	・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会	・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会 ・ケア会議，自粛会，連絡会	・地域精神保健福祉活動の再開 ・地域精神保健福祉活動の再開 ・地域精神保健福祉活動の再開 ・地域精神保健福祉活動の再開
医療機関	・情報収集と分析 ・主訴別における初期対応方針の決定 ・主訴別における初期対応方針の決定	・精神保健対策本部との連絡調整，ケア会議への参加 ・ケア会議への参加 ・ケア会議への参加	・精神保健対策本部との連絡調整，ケア会議への参加 ・ケア会議への参加 ・ケア会議への参加	・精神保健対策本部との連絡調整，ケア会議への参加 ・ケア会議への参加 ・ケア会議への参加
医療チームおよび心のケアチーム	・活動準備	・アセスメントとケアの実施，情報提供，精神科医療導入	・アセスメントとケアの実施，情報提供，精神科医療導入 ・精神保健対策本部，保健所，市町村，医療機関，自宅，避難所，ケア会議，自粛会，連絡会への参加	・アセスメントとケアの実施，情報提供，精神科医療導入 ・精神保健対策本部，保健所，市町村，医療機関，自宅，避難所，ケア会議，自粛会，連絡会への参加
登録所	・活動準備	・アセスメントとケアの実施，情報提供		・アセスメントとケアの実施，情報提供

とにその主体が異なっていたため，精神保健福祉センターによる後方支援の進め方も多様となった。

次に，医療機関へのアクセスの問題があった。岩手宮城内陸地震の際には，医療機能は保持されていたものの，多くの区域には精神医療資源がなかった。このため混乱のなか，医療保護入院の対象者を，100km離れた病院へ搬送する調整を行った事例があった。また，PTSD患者の治療は，内科医により行われた。このような地域では，普段から保健活動に従事する地元の行政の支援者と，都市部から応援にきた支援者の間に，精神医療機関へ紹介する対象者やそのタイミング，連携というイメージの共有化が難しい場合があった。

またこの時期，複数の支援者の精神不調が明らかになり，心のケア班が対応した。この同定と連携については，心のケア班よりむしろ産業保健スタッフによる関わりが，長期的なフォローや労務管理の観点からも効率的だと考えられた。

d) フェーズ3

福祉が主となる数カ月以降は，主な活動場所は仮設住宅などに移る。フェーズ3に入ると，うつ病や自殺なども活動のターゲットになる。岩手県では岩手宮城内陸地震の際，地域単位で精神医学的のスクリーニングを実施した。しかしながら，被災現場で調査管理をすることは難しく，地区によっては，十分に回収を得ることができなかった。スクリーニングは，住民健康診査や各種公的調査に，平時の段階から組み込まれているほうが効率的だと考えられた。

また岩手県は，被災前から自殺率が高く，医療従事者が少ないという地域特性を有している。したがって精神医療機関へ紹介する対象者は，不眠などの軽症者ではなく，自殺の危険性が高い重症者が主となる。この振り分けを可能にするには，支援者が，自殺リスクの評価と，見守りを継続するのか，専門治療へつなぐ必要があるのかを見極めるスキルを持つことが必要である。しかし，平時において，精神保健スクリーニングのフォロー事例や未遂事例を扱うケア会議やモニタリングをする習慣のない地域も少なくない。このような地域が被災した場合，支援者が心のケア介入を行ったとしても，適切にフォローすることは容易ではないと考えられた。

2. 都市部の災害時クリティカルパス案

都市部における大型自然災害発生時の精神保健対応に関するクリティカルパス案は，岩手版クリティカルパスを基にして，都市部における災害対応の経験豊富な専門家により作成された(表2)。昨年度作成されたこのパスは，今後も改訂が必要となると考えられ，現在のところ提出されている都市部における課題は次の通りである。都市部で大型自然災害が発生した場合に問題となる点として，体制構築上の問題，精神科医療供給の問題，および外部から流入する支援者の統制の問題の3点が指摘されている。

a) 体制構築上の問題

体制構築上の問題として，本部機能を担う組織が被災した場合の問題，政令指定都市や保健所政令市が存在する場合の問題，都道府県をまたぐ広域的な災害の場合の問題の3点に整理できる。

まず1つめの課題として，本部機能を担うべき都道府県庁が被災した場合，どの組織がどのような権限で災害対応の全体をコントロールするのか，という問題が整理されていないということがある。例として，阪神・淡路大震災の際，兵庫県庁も神戸市役所も被災しており，これらが機能を回復するまでは現場がそれぞれ独自に対応しており，その後，県精神保健センター(当時)と大学病院医師がコーディネートを始めたという経緯がある。

表2. 都市部版「大規模災害時の精神保健対応クリティカルパス案」

	フェーズ0(発生～数時間)	フェーズ1(数時間～3日)	フェーズ2(3日～1週)	フェーズ3(1週～数カ月)
フェーズ	救援期	超急性期	急性期	亜急性期
ターゲット(主な対象とするもの)	自己	現場，避難所，医療機関	現場，避難所，医療機関	現場，避難所，医療機関，自宅，応援者
ゴール	自己・家族による安全確保	現場での安全確保，医療機関への搬送	現場・避難所での安全確保，医療機関への搬送，精神科医療の提供	現場・避難所での安全確保，医療機関への搬送，精神科医療の提供，心的外傷後ストレス障害の予防
主体	自己，家族，近隣住民	救急隊，医療機関，DMAT，災害拠点病院	災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システム，DMAT，精神科医療チーム	災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システム，DMAT，精神科医療チーム，心的外傷後ストレス障害の予防チーム
活動内容	・自己の安全確保 ・家族の安全確保 ・近隣住民の安全確保	・救急隊による救出・搬送 ・医療機関による治療 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供 ・心的外傷後ストレス障害の予防
医療機関	・自己，家族による安全確保	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供 ・心的外傷後ストレス障害の予防
医療チーム	・自己，家族による安全確保	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供	・災害拠点病院，精神科病院，精神科救急システムによる精神科医療の提供 ・DMATによる医療支援 ・精神科医療チームによる精神科医療の提供 ・心的外傷後ストレス障害の予防
メディア	・災害発生時の情報収集	・災害発生時の情報収集	・災害発生時の情報収集	・心的外傷後ストレス障害の予防に関する情報収集

次に，被災都道府県内に，政令指定都市や保健所政令市が含まれている場合，システムが複雑になるという問題がある。例えば阪神・淡路大震災の際は，神戸市は独自のやり方を継続し，兵庫県との関係調整が非常に難しかったという経緯がある。

3つめとして，都道府県をまたがる広域的な災害が起こった場合に，各都道府県における災害対応の全体をまとめる機能を持つ組織やその仕組みについての議論がなされていないという問題がある。

b) 精神科医療供給の問題

統合失調症などの疾患の精神障害者が，災害により治療中断となった場合や，避難所などのストレスの多い環境下における不適応を起こした場合など，精神科医療による対応が必要となるケースが発生してくる。そのため，精神科救急システムを強化した上での運用や，投薬を継続するための精神科救護所の設置などの対応が必要になる。

c) 外部から流入する支援者の統制の問題

管理体制の整備が伏手に回る場合，都部と比較するとアクセスのしやすい都市部には，外部から多数の支援者が独自に入る可能性がある。外部から大量の支援者が被災地へ入り，各支援の調整がなされないままに独自に支援が始められた場合，本部が支援の全体を把握し統制することは非常に困難となる。これを統制するためには，被災地外に情報を集約し，発信する体制を作っておく必要がある。

Ⅱ. 東日本大震災での経験

東日本大震災において，宮城県などで，クリティカルパスは指針として活用された。今回は災害規模も甚大で範囲も広域であったため，都市版を参考にした。ただし，実際に用いてみると，被災の規模の違いなどから，運用上改善すべき点が明らかになった。その概要は次の通りである。また，2011年4月に宮城県精神保健福祉センターによって全県版と各地域別にこのような対応プランが作成され，現場の担当者との議論の一助に用いられた(図3)。

a) フェーズ0

県精神保健福祉センター職員が現地の状況を把握し，関係者との関係構築，方針の共有をする活動が必要であった。また生存，救命，救急医療が優先され，災害拠点病院に精神科が設置されていないという状況もあり，いくつかのDMATチームに精神科医がいると精神科救急への対応も円滑になると考えられる場面があった。精神保健に特化したチームのニーズは少なかった。さらに精神科病院の状況把握，連絡体制が脆弱であった。DMATや統合病院とは別に，精神科病院の支援体制を整える必要がある。東日本大震災は被害が甚大であったため，フェーズ0に相当する部分が遷延化し，特にこの時期に様々な課題が出てくることが明らかになった。様々な事態を想定した準備とともに，発生時に状況に応じた柔軟な対応ができる工夫をしておく必要があると考えられる。

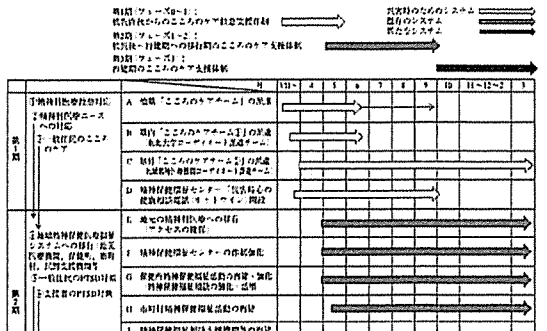
b) フェーズ1～2

服薬中断の防止など，精神科医療の提供が継続できることが重要な課題であった。通常の反応としてのストレス反応は多かったが，精神科対応が求められたものの多くは，既往精神疾患の増悪，再発であった。

c) フェーズ2～3

住民を対象とした健康調査が行われたが，これらは市町村が主体であり，現地に支援に入っている団体(大学，心のケアチームなど)に，調査設計，フォローを相談する形で行われた。スタッフのストレスや健康問題が課題となったが，市町村職員の健康管理よりも，住民対応が優先され，落ち着いて調査を開始する体制になれたのは，6カ月後以降であった。

図3. 宮城県「大規模災害時精神保健医療福祉対応プラン(中・長期的プラン)」



おわりに

昨年度から開発してきた大型自然災害時の精神保健対応クリティカルパスは，東日本大震災の対応で，宮城県では実際に活用された。災害の急性期には，タイムリーに，滞らさず対応するために，ある程度詳細な活動の記述を準備することは有用であると考えられる。ただし個別の状況に柔軟に対応できる工夫が必要である。一方，災害後中長期の活用にあたっては，現地の医療資源，人的資源などの条件で適応できるように，大枠を示す程度のほうが，活用が進むと考えられた。

クリティカルパスは，それぞれの活動を制限するものではなく，最低基準を示したものであり，現地で修正，活用できるように，事前の研修，そして災害後には定期的な継続支援を提供することで，有意義な活用が進むものと考えられる。国立精神・神経医療研究センターに「災害時こころの情報支援センター」

が設立され，その一翼を担うべく活動を開始している．

§ 文 献

1）金 吉晴：健康危機発生時における地域健康安全に係る効果的な精神保健医療体制の構築に関する研究．平成22年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）報告書，2011．

2）金 吉晴：健康危機発生時における地域健康安全に係る効果的な精神保健医療体制の構築に関する研究．平成23年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）報告書，2012．

3）横山広行，花田裕之，伊藤弘人，他：平成23年度循環器病研究開発費「循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究」．循環器病研究の進歩2012：「東日本大震災支援」特別号．

循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究

分担研究者報告：感染対策

佐田 誠

はじめに

大規模自然災害時には衛生状態の悪化，あるいは狭い避難所での生活などにより，二次災害として感染症が発生し，アウトブレイクする可能性が高い．一方，呼吸器感染症をはじめとした慢々の感染症が引き金となって心血管系疾患が発症，あるいは増悪するケースは，日常診療でもよく遭遇する．感染症は心血管系疾患における重要な発症あるいは増悪因子の1つである．東日本大震災の被災地でも，心血管系疾患患者が増加したことが報告されているが，感染症に続発したケースは少なくないと考えられる．本稿では，大規模自然災害時における心血管系疾患の発症および増悪予防としての感染対策について概説する[1]．

Ⅰ．感染症と心血管系疾患との関連

心血管系疾患の発症および増悪因子として，重要なものの1つに感染症がある．もともと心不全のように心機能が低下しているような患者では，心拡大や間質性肺水腫に伴う気道浮腫などによって換気障害が生じており，進行例では栄養障害も惹起される．これらは宿主の免疫能を低下させるので，心機能低下患者は細菌やウイルスを排除しにくい状態にあることが示唆されている（図1）．実際，日常診療でも，詳細に問診をすると，心不全や虚血性心疾患の悪化に先行して感染症が存在するケースが比較的多く見られる．循環器疾患を有している患者が感染症に罹患すると，発熱，脱水，頻脈，低酸素血症などが生じて，心臓にさらに負荷を与える．脱水症は血栓形成を助長するため，心筋梗塞，脳梗塞，肺塞栓などの発症の引き金となりうる．一方，細菌やウイルスを貪食したマクロファージからは，IL-1β，IL-6，TNF-αなどの炎症性サイトカインが放出され，心機能をさらに低下させる可能性がある．

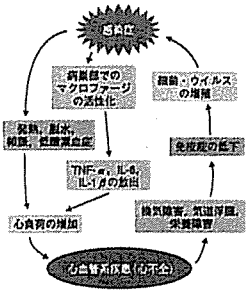


図1．心血管系疾患（心不全）と感染症とが作り出す悪循環

国立循環器病研究センター 呼吸器・感染症診療部，医療安全管理部 感染対策室

Ⅱ．大規模災害時における感染症

一般的に大規模な自然災害のあとには，感染症発生のリスクが高くなる．主な理由として，被災地の地域全体の衛生状態が悪化すること，停電・断水などライフラインの途絶のために個人レベルでの衛生状態も悪化すること，狭い避難所では感染が拡大しやすいこと，などが挙げられる．災害後に発生しやすい感染症の種類は，その自然災害の種類と規模，発生後の経過時間，地域，季節（温度，湿度）により異なるが，大まかには以下のように捉えられる．

1．災害発生直後（発生直後～3日以内）

この時期は，外傷，骨折，熱傷などが主体となるので，破傷風や創部感染症に留意する．

2．災害発生3日以降

この時期になると，災害と直接関係のある疾患よりも，いわゆる日常診療で見られる種類の感染症の比率が高くなる．すなわち，衛生状態の悪化や，避難所での生活が長くなることによる身体的・精神的ストレスなどにより，風邪やインフルエンザ，肺炎などの呼吸器感染症，感染性胃腸炎，空気感染症（結核，麻疹，水痘など），尿路感染症などの感染症の発症リスクが高まる（表1）．

これらは被災者すべてに当てはまることであり，患者を診察する医療従事者にも常に感染のリスクがある．

Ⅲ．大規模災害時における感染症の予防策および治療

1．標準予防策の実施[2]

標準予防策は，大規模災害時においても最重要事項の1つである．しかし，災害時には電気，水道，ガスなどのライフラインの確保・整備が極めて難しいのが実状であり，教科書やガイドライン通りの対策ができないと考えたほうがよい．例えば，電気システムの破壊（停電）は，空調管理（空気感染対策上の陰圧室，手術室など陽圧室などの管理）や滅菌器具の使用を不可能にする．また，断水や水道管の破裂，下水道の逆流，津波・洪水による浸水などの水害が発生すると，水の供給が制限されたり球便不能となったりする．ライフラインが確保され物資が揃うまでは，“あるもの”を最大限活用して標準予防策を実施していくしかない．

a）手指衛生

視覚的に汚れが軽度であれば，速乾性手指消毒薬を使用する．汚染の程度が著しい場合は，石けんと流水（ボトル入りの水または配給された水）で手洗いを行う．水の使用制限が厳しい環境では，ウェットティッシュで代用してもよい．手袋は1回ごとの使い捨てが原則であるが，物資が限られている場合には場合によっては24時間使用もやむを得ない．うがいは水が潤沢に利用できる場合のみとし，手洗いを優先する．

b）咳エチケット[3]

咳のある時にはティッシュペーパーにて口と鼻を覆い，使用したティッシュペーパーは迅速に廃棄し，咳をしている人には外科用マスクを装着させる．マスクが不足している場合には，タオルやハンカチで代用する．呼吸器分泌物に触れたあとには，必ず手指衛生を行う．避難所などでは，呼吸器感染症のある人から空間的距離を空ける（理想的には1m以上）．

c）創部感染

創部は汚染されていることが多いため，止血後洗浄する．洗浄後，10％ポビドンヨード液，0.01～0.2％ベンザルコニウム塩化物液，0.02～0.5％クロルヘキシジングルコン酸塩液など（以上は，すべて水での希釈を要さない）で消毒する．ただし，クロルヘキシジングルコン酸塩はアナフィラキシーショックを引き起こす可能性があるため，積極には使用すべきでない．

d）環境・物品

血液が付着した環境・物品には，血液を拭き取った上で0.1％次亜塩素酸ナトリウム液などを使用する．器具は使い捨てのものを使用するが，耐熱性器具であれば，釜と鉗による煮沸消毒を行うことができるので消毒後再利用が可能である．また，吐物や便を扱う際は，必ず手袋と外科用マスクを着用する．

表1．大規模災害時に留意すべき主な感染症

1. 創部感染
   破傷風，壊疽感染
2. 急性呼吸器感染症
   a）風邪，上気道炎
   b）インフルエンザ
   c）気管支炎
   d）肺炎
3. 感染性胃腸炎（急性下痢症）
   ノロウイルス，ロタウイルス，細菌性
4. 結核，麻疹，水痘
5. 尿路感染症

2．各種感染症に対する予防策および治療

大規模災害時には，100％の予防・治療は難しい．いずれのケースでも，常に抗菌薬などの物資の量やマンパワーに左右される．需要と供給のバランスを考慮して，臨機応変に対応することが重要である．

a）外傷，破傷風

創部の汚染の程度が軽ければトキソイド，汚染がひどければ破傷風免疫グロブリンが必要となる．三種混合ワクチン（DTaP）の接種歴があっても年齢が30歳以上であれば免疫が弱まっている可能性があるので注意する．

抗菌薬の第一選択はセフェム系（複数の場合は第一世代＞第二世代＞第三世代）あるいはβラクタマーゼ阻害薬配合ペニシリン系が望ましいが，選択の余地がない状況では“あるもの”を使用する．投与期間は通常3～4日間，すでに二次感染を起こしている場合は1週間は使用したほうがよい．

b）急性呼吸器感染症（風邪，インフルエンザ，肺炎）

飛沫感染および接触感染が主体なので，手洗いと咳エチケットが予防策として重要である．

一般的には，風邪の原因のほとんどがウイルスであるので，抗菌薬投与は不要である．しかし，災害時にはきちんとした定期的なフォローアップが難しい場合が多いので，高齢者や，慢性病，循環器疾患，慢性腎臓病などの慢性基礎疾患を有している患者に対しては，初診時の抗菌薬投与も許容されると考える．災害時がインフルエンザ流行時の場合は，臨床的にインフルエンザが疑わしければタミフルなどの抗インフルエンザ薬を使用してもよい．迅速診断キットを使用してもよいが，災害時のような過酷な環境にあっては先手必勝が原則であるため，陰性であっても症状重視で判断すべきである．ただし，抗インフルエンザ薬量が限られている場合は，通常5日投与のところを3日程度にするなど臨機応変に対応する．

呼吸器感染症が重症化すれば，肺炎となる．肺炎では抗菌薬は必須であるが，使用可能な後輩や数も限られる場合が多い．点滴静注薬が第一に推奨される．医療スタッフの不足や腎障害があっても使いやすいことを考えれば，1日1回投与が可能なセフトリアキソンがよい（1日1回1～2g）．注射薬が使用できない場合は，レボフロキサシン（500mg）1日1回内服で代用できる．薬品の入手が難しく，医療スタッフも不足している災害時には，なるべく投与回数が少なくてすむ薬剤を選択すべきである．

c）感染性胃腸炎

特に避難所などでは衛生状態が悪く，トイレ・水の不足もあることから予防はかなり難しい。手洗いをできる範囲で十分に行う。吐物や便を扱う際は，必ず手袋と外科用マスクを着用する。キッチンハイターなどの次亜塩素酸ナトリウム液を500mLのペットボトルのキャップに半分入れ，これを500mLの水と混ぜればノロウイルスに対する消毒薬となる。

治療面では，下痢による脱水症をいかに防ぐか，いかに十分な補液をするかがポイントとなる。点滴による補液が難しくても，経口補液で十分に対応可能である。一般的には，経口補水塩を水に溶かした経口補水液（ORS）が推奨される。市販のスポーツドリンクは塩分が少なく，糖分が多すぎるといわれているが，ほかに水分補給の手段がないのであれば迷わず使用すべきである。

d）結核，麻疹，水痘

すべて空気感染するので，周囲への伝播予防には陰圧個室管理が必要であるが，避難所や入院患者があふれている医療機関では，隔離さえ容易でない状況である。感染予防のためには何とか個室を確保し，可能な限り患者を隔離するしか方法はない。結核の既往があり，2週間以上咳や痰が続いている患者では一度は結核を疑う。N95マスクがなければ，サージカルマスクでもよいので患者に着用させる。水痘の場合は，曝露後のワクチン（3日以内）や水痘高力価免疫グロブリン（6日以内），アシクロビル（抗ウイルス薬，曝露7日目から5日間）による予防効果が期待できる。

e）褥瘡感染症

トイレが不足し，水分摂取も十分ではない状況では，褥瘡感染の発症リスクも高まる。

肺炎の項と同様，1日1回投与が可能なセフトリアキソン（1日1回1～2g）か，レボフロキサシン（500mg）1日1回内服で対応可能である。

おわりに

大規模災害は，人々の生活を一変させる。その際の被災者の身体的・精神的ストレスは計り知れない。本稿では，感染症が心血管系疾患の発症および増悪因子であること，そしてその予防および的確な治療が重要であることを述べてきたが，感染対策を感染症という枠のなかだけで考えてはいけない。基礎疾患，服薬状況，食事，睡眠，ストレス，不安・悲しみなど様々な要因と常に関連づけて，包括的にケアしていくことが重要である。そのためには各分野の専門家が非専門分野も十分に意識して，相互に連携して診療にあたることが肝要と考える。

§ 文 献

1：横山史行，笹田裕之，伊藤弘人，他：平成23年度循環器病研究開発費「循環器領域における大規模災害時の対策に関する研究」，循環器病研究の歩み2012：「東日本大震災支援」特別号．

2：CDC：Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. MMWR 2003, 52(RR-10).

3：CDC：Guideline for isolation precautions：Preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. 2007. http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/isolation/Isolation2007.pdf

循環器病研究の進歩「東日本大震災支援」特別号

発行日 2012年5月31日

監修 橋本信夫

編集委員 内藤博昭
峰松一夫
小川久雄

発行者 櫻井正伍

発行所 株式会社協和企画
〒105-0004 東京都港区新橋2丁目20番地
<連絡先/大阪支社>
〒541-0045 大阪市中央区道修町2丁目1番地8号
TEL（06）6226-4755

印刷所 小自元肖像印刷株式会社

禁無断転載 ※丁・落丁本はお取りかえいたします

「大規模災害における循環器病診療の体制と手法の確立に関する多施設共同研究」（内藤班）

大規模災害における循環器病診療体制と手法の確立に関する共同研究

国立循環器研究センター院長　内藤博昭
心臓血管内科　安田聡
予防医学・疫学情報部
宮本恵宏　竹上未紗　西村邦宏

NCVC 国立循環器病研究センター
National Cerebral and Cardiovascular Center

人口動態調査死亡票 集計

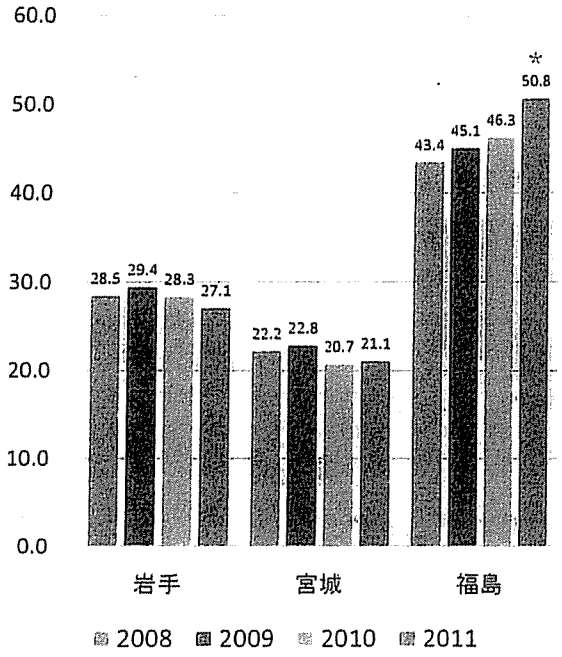
- 2008年3月11日～2011年12月10日
- 3県の各年ごと10万人あたりの死亡割合を算出
  - ポアソン回帰分析
    - 過去3年間の平均との比較
- 各県の推定人口
  - 岩手県：前年10月1日時点
  - 宮城県：前年12月末日時点
  - 福島県：同年1月1日時点
- 津波による死亡
  - その他の不慮の事故
  - 暫定推定数：2011年の件数－過去3年の平均件数
- 疾患の定義（ICD10コードより）
  - 心筋梗塞、脳出血、脳梗塞、心不全
  - 不整脈、腎不全、肺炎

NCVC

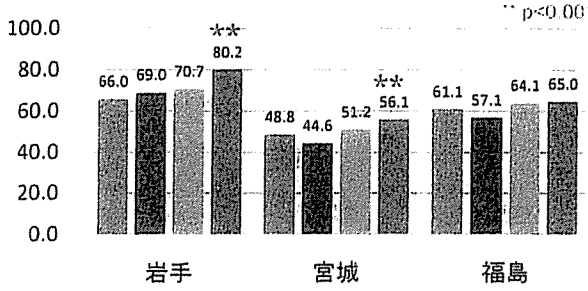
3県の死亡割合：10万人対
（3月11日～12月10日）

2011と2008-10の平均疾患発生件数との比較
ポアソン回帰分析
* p<0.05
** p<0.001

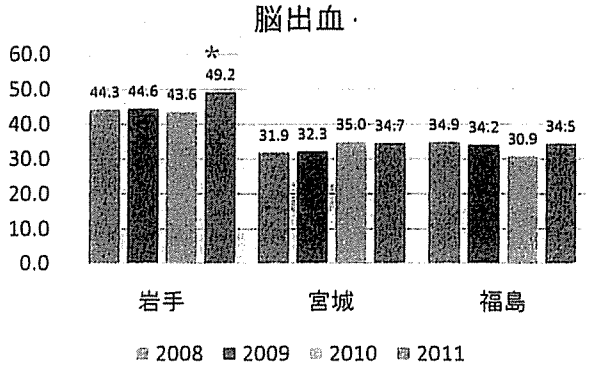
心筋梗塞



脳梗塞



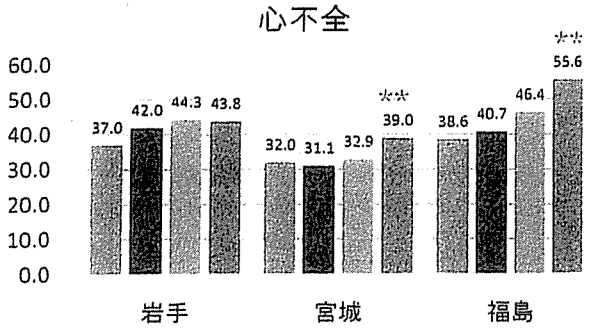
脳出血



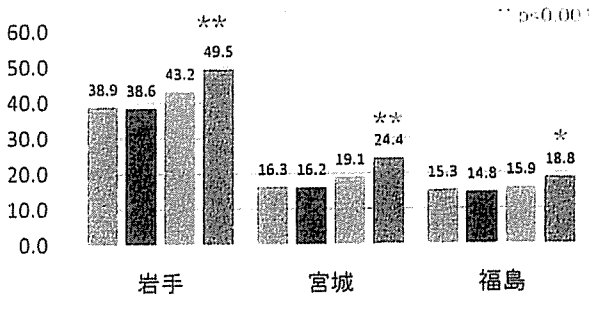
3県の死亡割合：10万人対
（3月11日～12月10日）

2011と2008-10の平均疾患発生件数との比較
ポアソン回帰分析
* p<0.05
** p<0.001

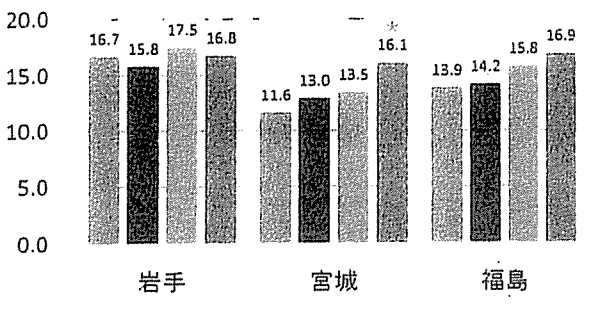
心不全



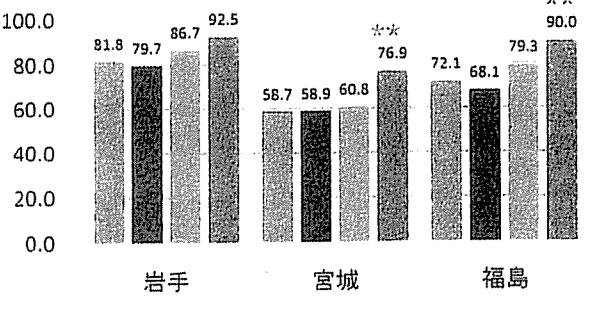
不整脈



腎不全

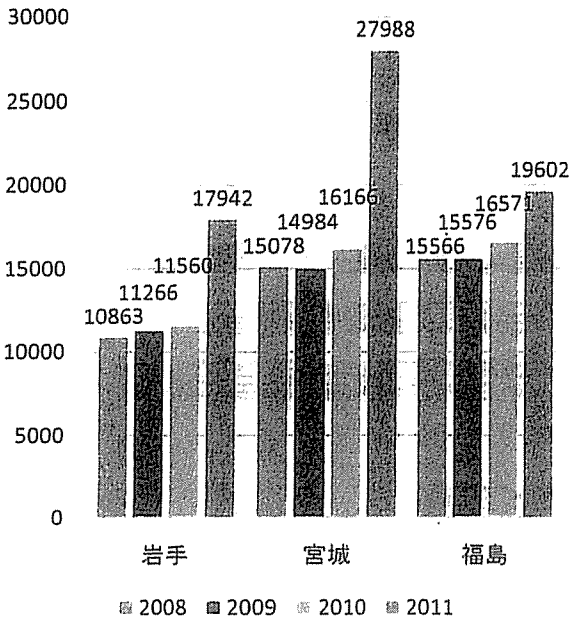


肺炎

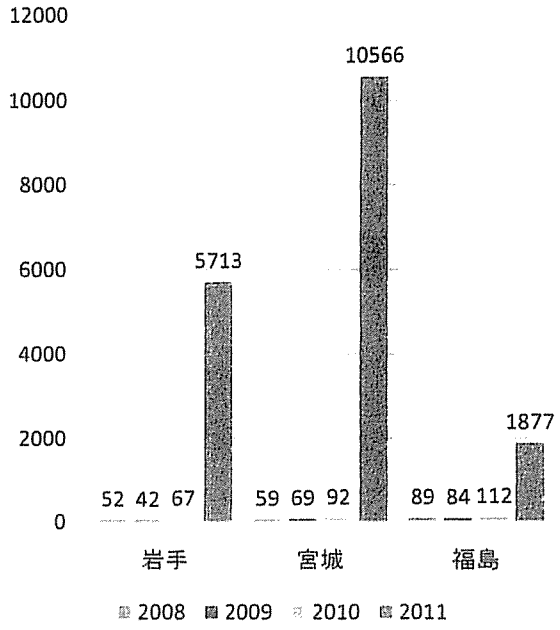


3県の死亡者数
(3月11日～12月10日)

総死亡



その他の不慮の事故



結果のまとめ

- 心筋梗塞発症登録数
  - 疾患登録の死亡割合は変化なし
- 震災後9ヶ月の死亡割合を検討（人口動態調査死亡票より）
  - 心筋梗塞　福島のみ増加傾向
  - 脳梗塞は、岩手、宮城で増加傾向
  - 脳出血は、岩手のみ増加傾向
  - 腎不全、心不全は、宮城、福島で増加傾向
  - 不整脈、肺炎は、全県で増加傾向
- 津波被害者による死亡割合算出への影響は少ない

NCVC



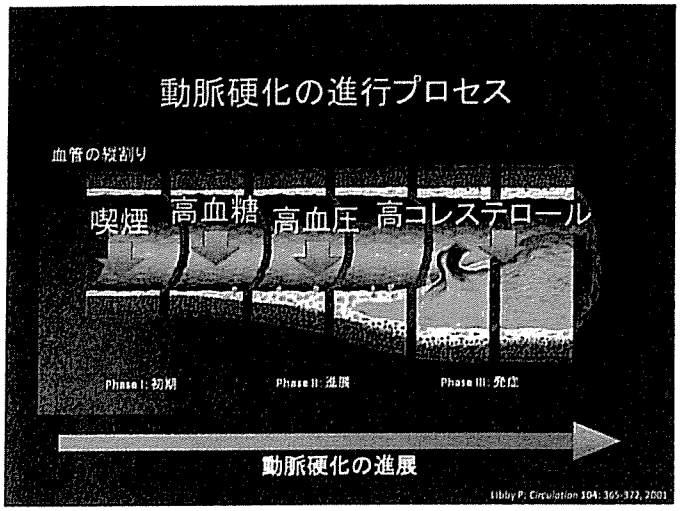
資料22

平成25年2月17日(日)10:00~12:30
野田村総合センター 2階 大会議室

野田村 生活習慣病予防について考える健康講演会

生活習慣病・生活不活発病の基礎
～病気を引き起こす生活習慣は？～

国立循環器病研究センター
糖尿病・代謝内科医長
岸本 一郎



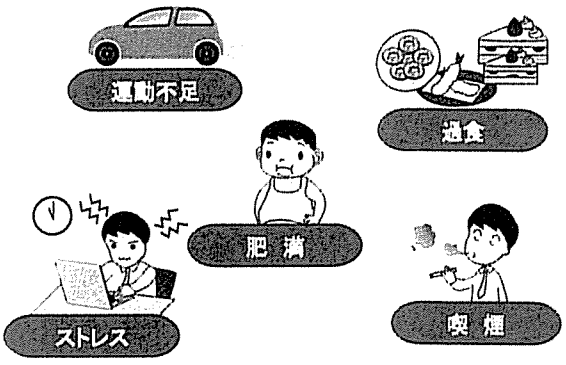


『動脈硬化を悪化させない生活習慣を』

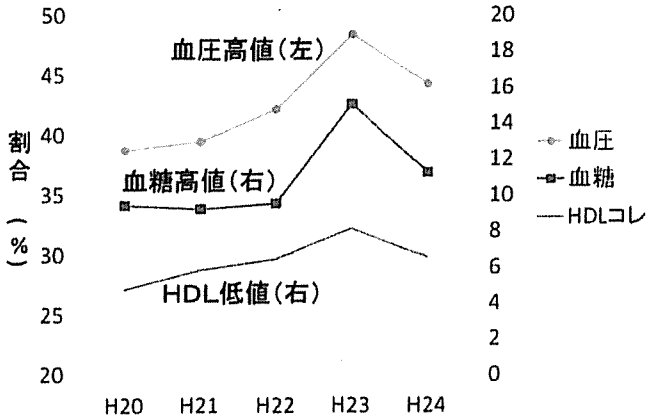
四十歳を過ぎると自分の習慣と結婚してしまうのだ。

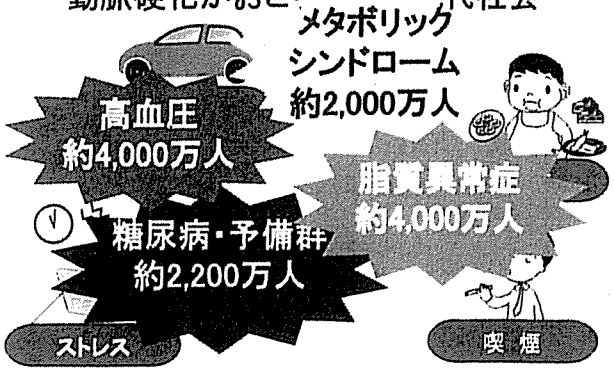
ジョージ・メレディス(19世紀英国の小説家)
出典:「リチャード・フェヴレルの試練」

動脈硬化がおこりやすい現代社会

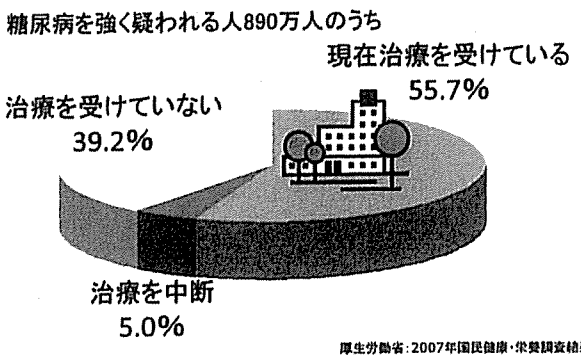


野田村における特定健診の経時的データ





中高年の4人に1人が糖尿病、約半数の人は治療を受けていない。



厚生労働省：2007年国民健康・栄養調査結果

野田村における特定健診の経時的データ

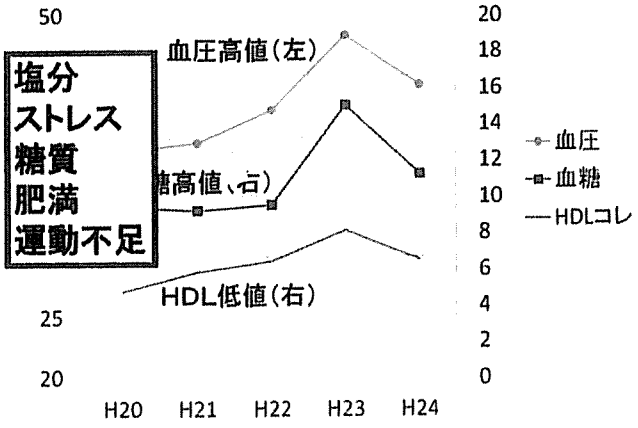
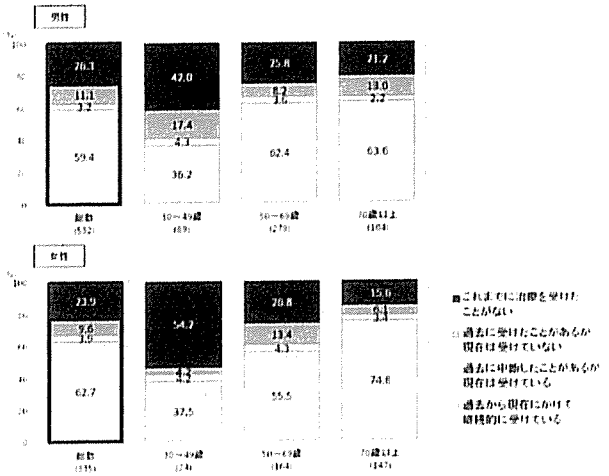


図8　糖尿病といわれたことがある者における、治療の状況（30歳以上）

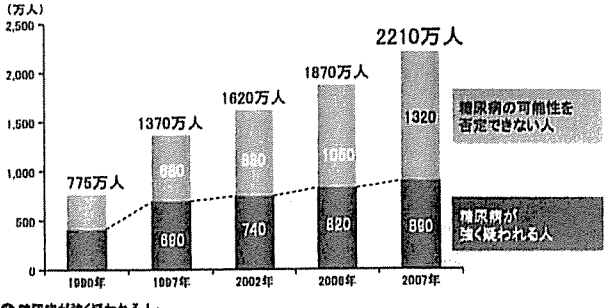




糖尿病の治療を放置した働き盛りの今



日本の糖尿病患者数



① 糖尿病が強く疑われる人：
HbA1c（JDS値）が6.1%以上、または、質問票で「現在糖尿病の治療を受けている」と答えた人
② 糖尿病の可能性を否定できない人：
HbA1c（JDS値）が5.6%以上、6.1%未満で、①以外の人

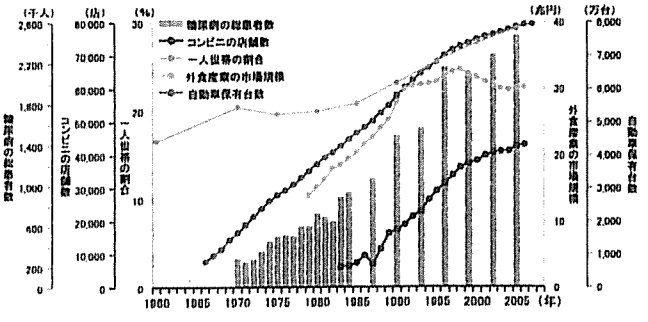
厚生労働省「2007年国民健康・栄養調査」



糖尿病は、宣告されても自覚症状がない病気です。
働き盛りの皆さんは多忙な毎日の中でなかなか本気で治療に取り組めないのではないでしょうか。
治療を始めても、食事療法は食欲との戦いがつらく、運動療法も面倒で続かないものです。
つい治療を投げ出してしまい、いつの間にか取り返しのつかないことになっている、
という例が多く見られるのです。

私は、28年前に発症して、担当医に宣告されたことが幸いでした。
糖尿病との上手な付き合い方を見つけ、治療を明るく楽しみながら実践し続けてきました。
働き盛りの皆さんには、ぜひ元気で働いてもらいたい。糖尿病と診断されたら、決して目を見ず、
すぐに治療をはじめてほしい。適切な治療を続ければ糖尿病は怖くありません。
新しいライフワークが出来たと思って前向きに治療に向き合ってください。家族のためにも、
あなたのためにも、どうか糖尿病とうまくつきあい、充実した人生を送ってください。

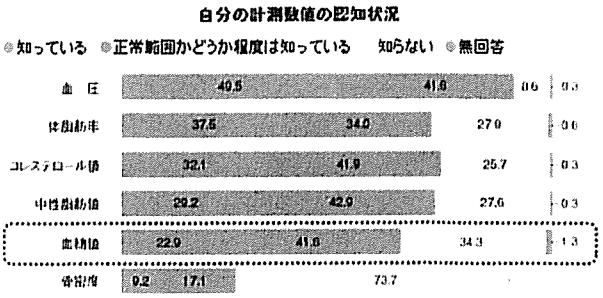
ライフスタイルの変化と糖尿病有病率の変化



指宿昌之（監）糖尿病・代謝・栄養疾患ビジュアルブック. 学研 2010 p10



意外と把握されていない血糖値



糖質はオフだが、糖類はゼロ



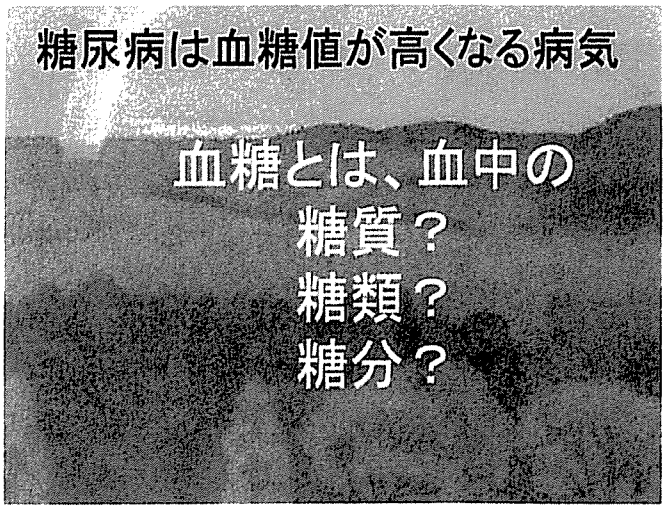


図1 糖質の種類

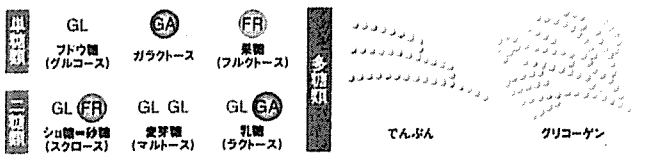


図2 炭水化物(でんぷん)の消化吸収

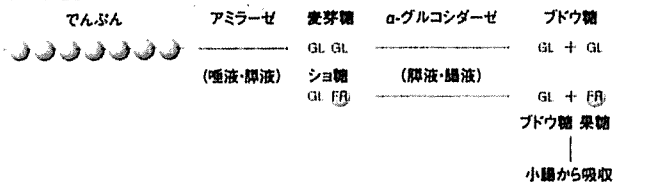




図1 糖質の種類

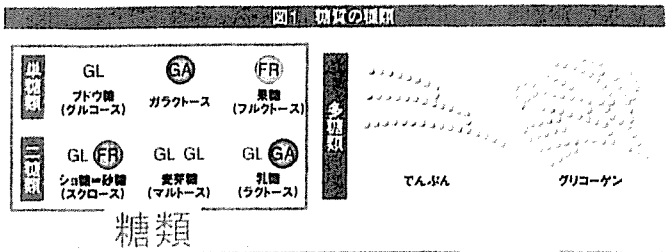
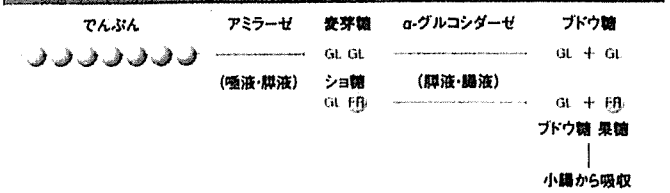
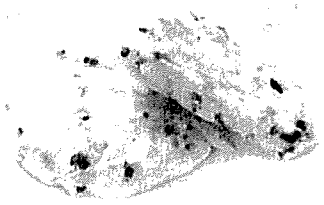


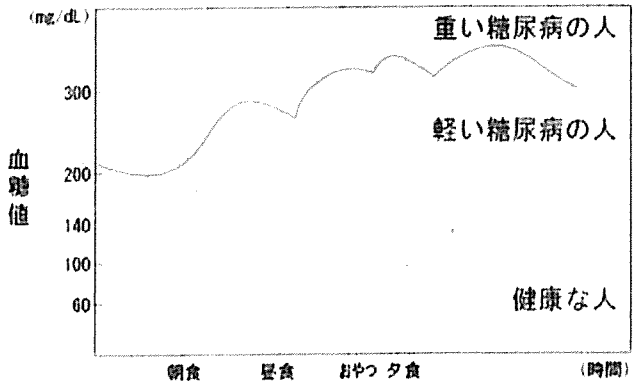
図2 炭水化物(でんぷん)の消化吸収



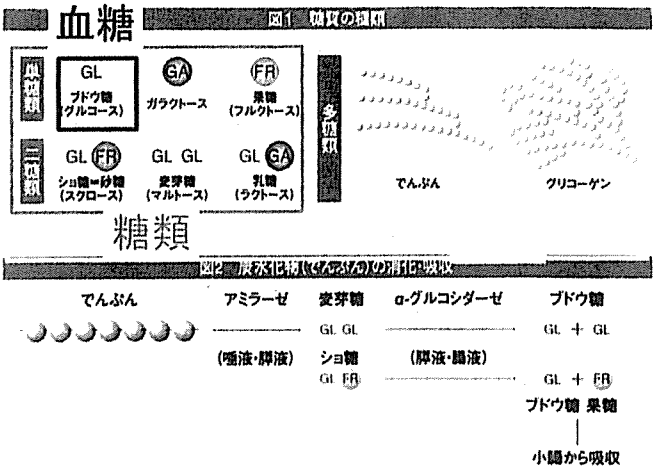
史上初! 糖質オフな
かまぼこが登場!

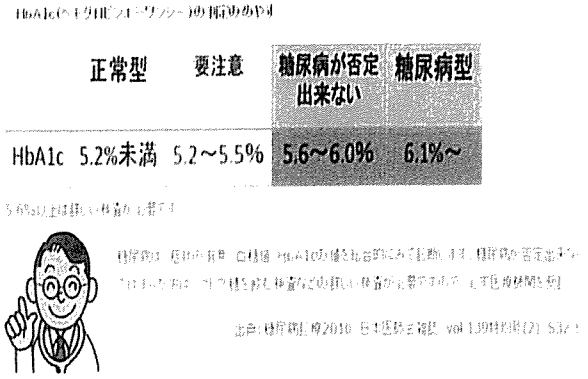


1日の血糖値の変化



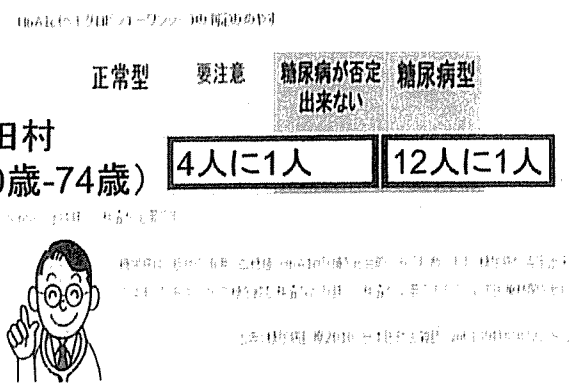
糖尿病治療の手びき 日本糖尿病学会編より作図







平成24年度特定健診結果



あんパン一個食べると

糖質　77.2 g = 77,200 mg

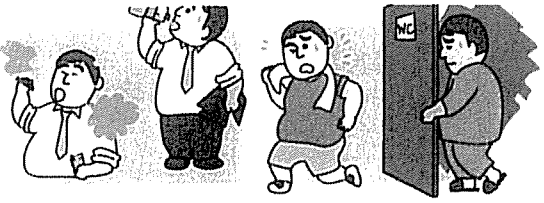
循環血液量は、約 5L = 50 dL

そのままだと、

77,200 mg ÷ 50 dL = 1,544 mg/dL

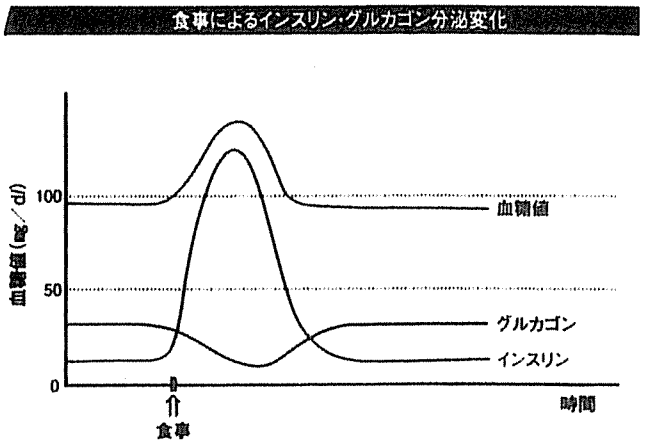
血糖値が上がる！

こんな人は糖尿病に



(1)運動不足である。
(2)朝食を抜く、間食が多い、夕食が遅い、早食いである。
(3)きのこ類・海藻・野菜・果物の摂取が少ない。
(4)喫煙者である、禁煙して体重が増えた。
(5)アルコール日本酒換算で平均1日2合以上呑んでいる。
(6)体重が多い、最近体重が増えた。
(7)高血圧症がある。
(8)親兄弟(姉妹)が糖尿病だ。
(9)最近おなかがすきやすい。
(10)最近のどが乾く。
(11)尿が近い、夜間トイレに起きる。
(12)最近体重が減った。





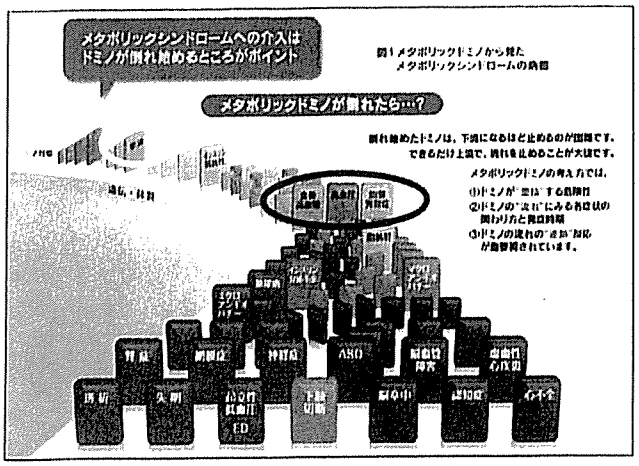


図1 メタボリックドミノから見た
メタボリックシンドロームの病態



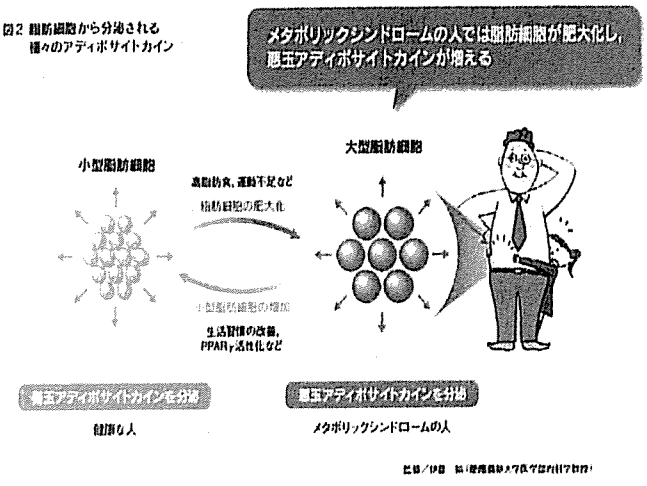
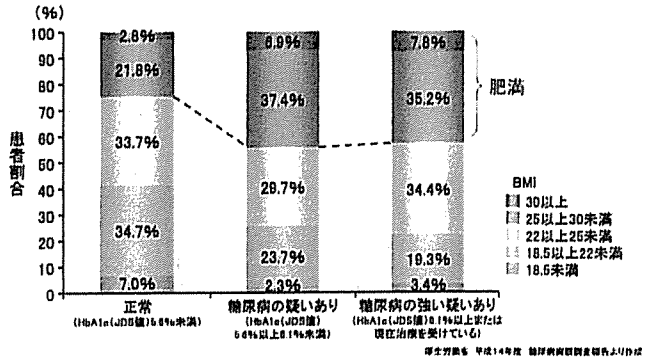


図2 脂肪細胞から分泌される
種々のアディポサイトカイン

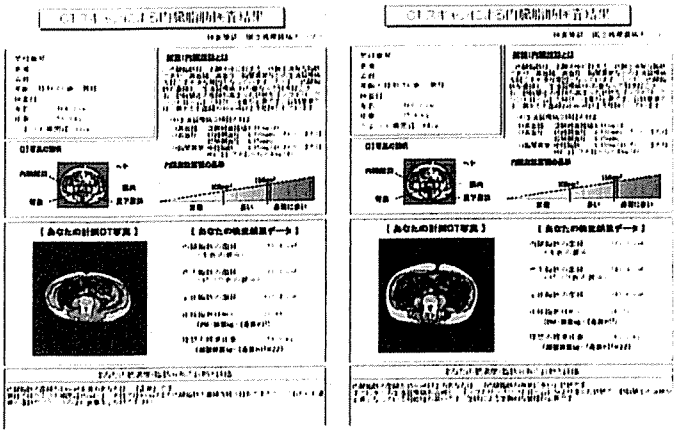
日本人の肥満度と糖尿病

■「肥満(BMI 25以上)の割合は、正常(24.8%)に比べて糖尿病(43%)で多い

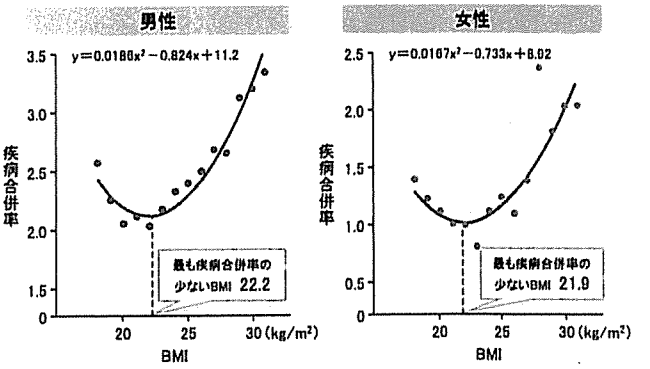


厚生労働省 平成14年度 糖尿病実態調査報告より作成

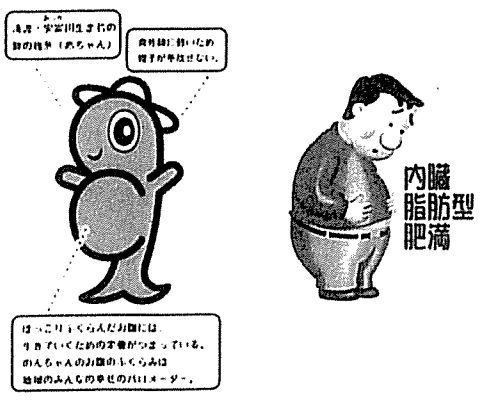
CTでわかる内臓脂肪面積



体格指数(BMI)と疾病合併率



(のんちゃんのお腹は幸せのバロメーターですが、) あなたのお腹はどうですか?



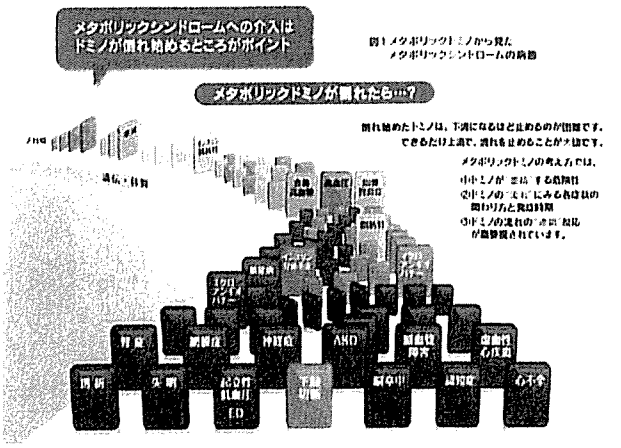
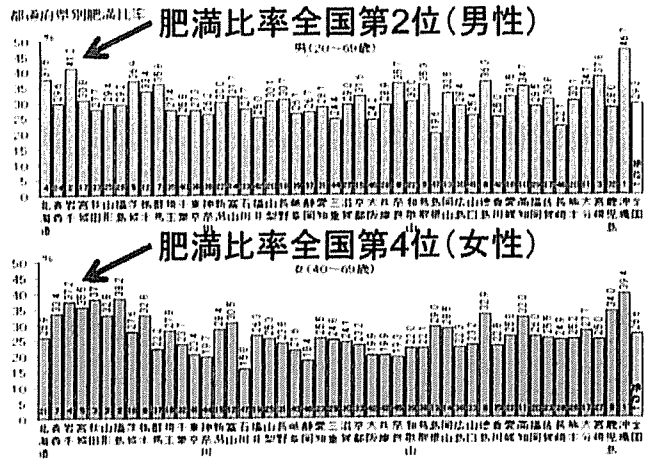
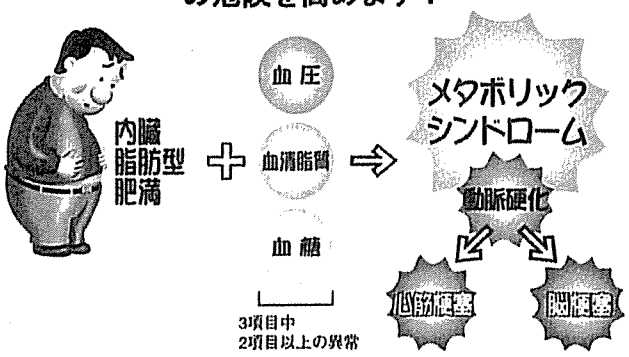


図1 メタボリックドミノから見た
メタボリックシンドロームの病態

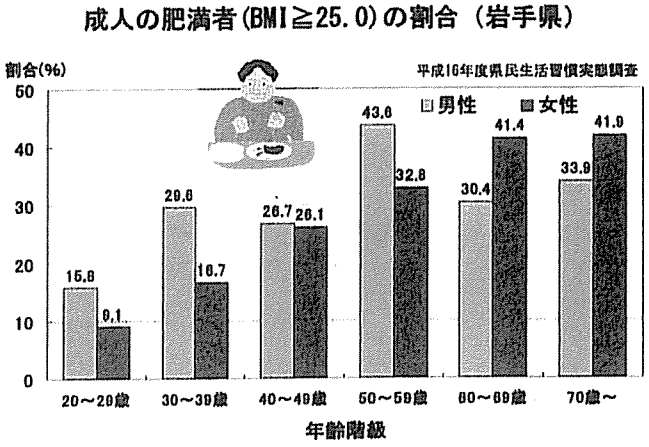


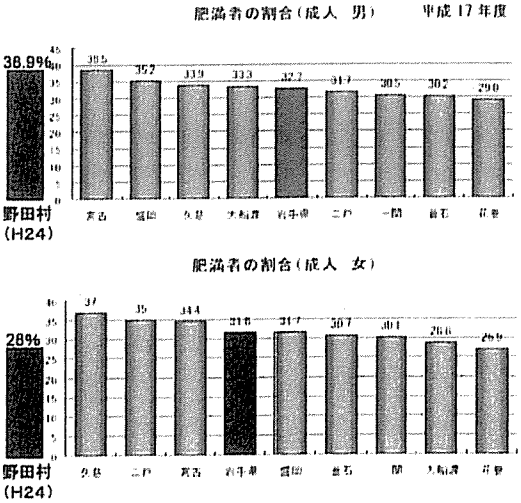
（注）2004～05年の国民健康・栄養調査のデータから作成（平成19年厚生労働科学研究「都道府県単位の生活習慣病リスク因子の推移及び将来予測とその対策に関する疫学的研究」による）。



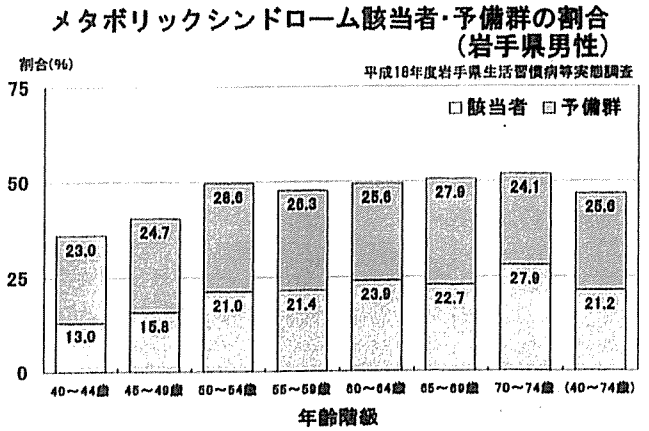
メタボリックシンドローム撲滅運動キャンペーン「オフィシャルガイドブック2006」

栄養領域

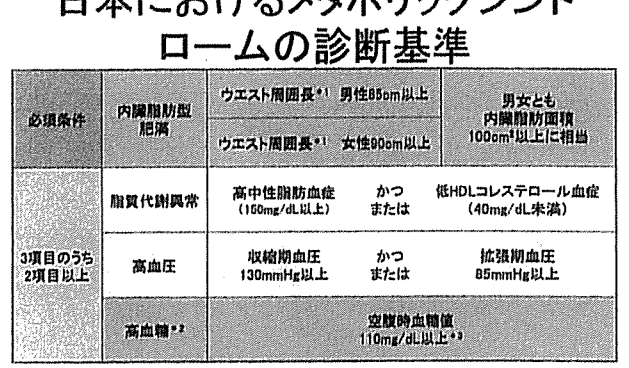




循環器疾患領域・糖尿病領域



※県別におけるメタボリックシンドローム該当者・予備群の定義は国民健康・栄養調査に準ずる。

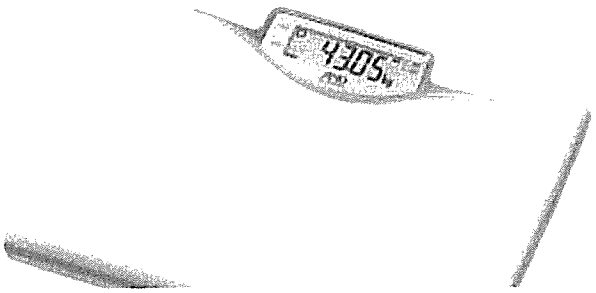


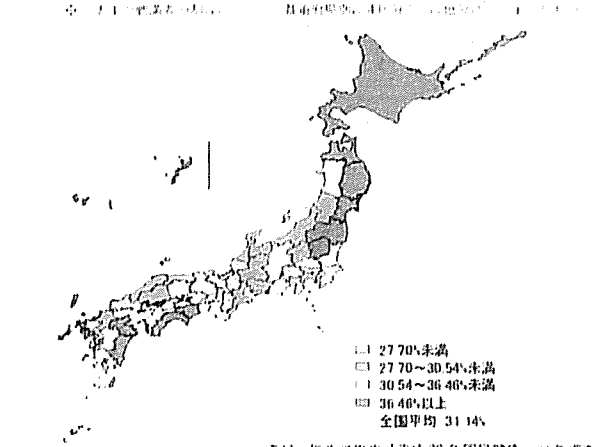
必須条件	内臓脂肪型肥満	ウエスト周囲長*1 男性85cm以上 ウエスト周囲長*1 女性90cm以上	男女とも内臓脂肪面積100cm²以上に相当
3項目のうち2項目以上	脂質代謝異常	高中性脂肪血症（150mg/dL以上） かつ または 低HDLコレステロール血症（40mg/dL未満）	
	高血圧	収縮期血圧 130mmHg以上 かつ または 拡張期血圧 85mmHg以上	
	高血糖*2	空腹時血糖値 110mg/dL以上*3	

*1：ウエスト周囲長とは臍の高さで立位、呼気時に測定した腹囲
*2：メタボリックシンドロームと診断された場合、糖負荷試験が勧められるが、診断に必須ではない
*3：IDFは、空腹時血糖値の基準を100mg/dL以上としている

メタボリックシンドローム診断基準検討委員会：メタボリックシンドロームの定義と診断基準．日本内科学会雑誌94(4)：794-809，2005より引用改変

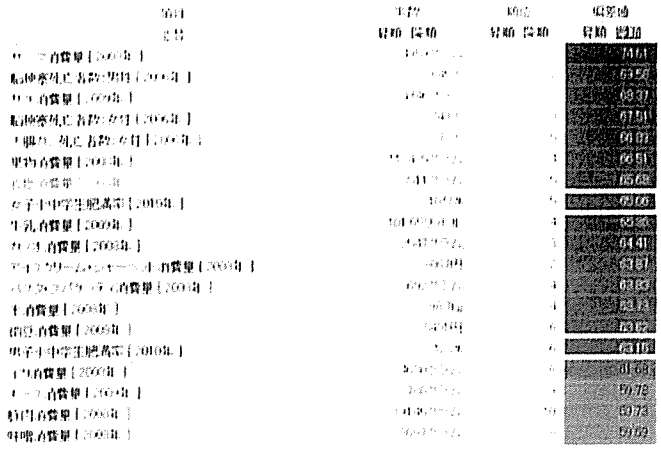
日本糖尿病学会(編)：糖尿病治療ガイド2012-2013．文光堂 2012．p22-23





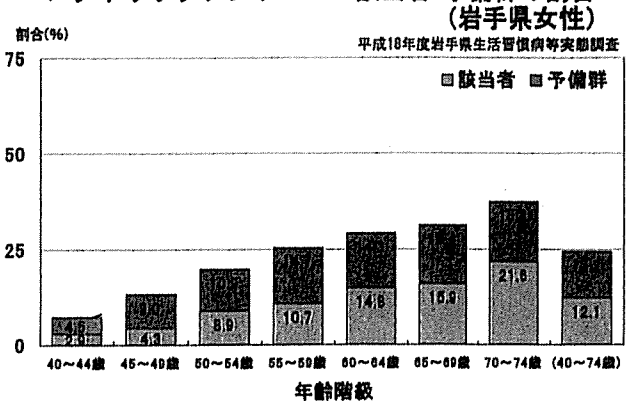
資料 厚生労働省「平成22年国民健康・栄養調査」

都道府県ランキング（岩手県）



循環器疾患領域・糖尿病領域

メタボリックシンドローム該当者・予備群の割合（岩手県女性）



※集計におけるメタボリックシンドローム該当者・予備群の定義は国民健康・栄養調査に準ずる。

良い生活習慣は家族の財産

一家は習慣の学校なり。
父母は習慣の教師なり。
而してこの習慣の学校は教育の学校よりも有効にして、実効を奏する

福沢諭吉

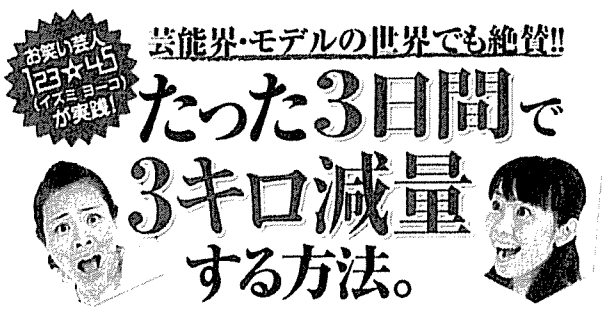
20歳ごろの体重から 5kg以上 増えている場合は 要注意



体重を4%減らすと 血圧が下がる

体重を6%減らすと 血糖値が下がる

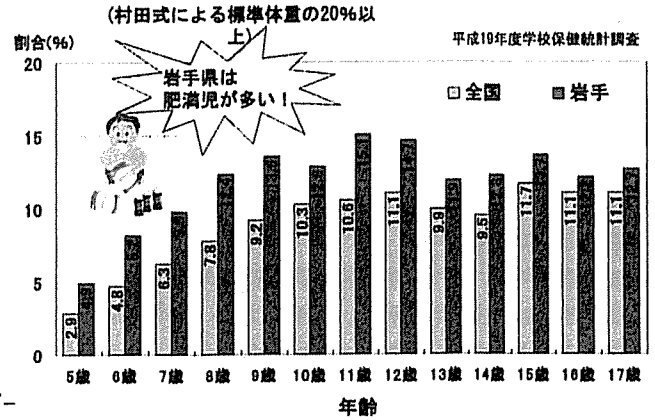
安易なダイエット法に惑わされない



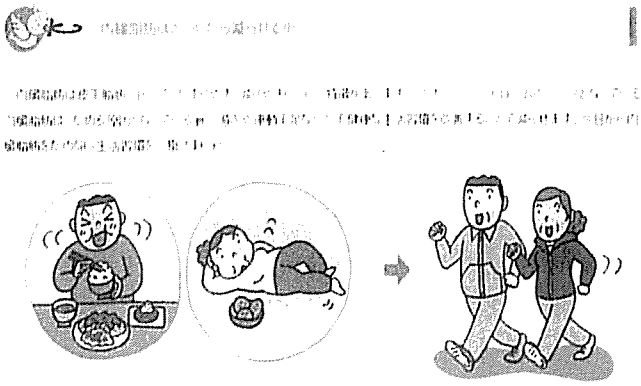
Easy come, Easy go.——ことわざ
簡単に手に入れたものは簡単に失われる

栄養領域

肥満児の割合（全国と岩手県）







間違った食習慣と生活習慣病

間違った食習慣	生活習慣病
食べ過ぎ	肥満、脂質異常症、糖尿病、脂肪肝、痛風
動物性脂肪の摂り過ぎ	肥満、脂質異常症、大腸がん、乳がん
野菜、果物の不足	動脈硬化、大腸がん、その他のがん、便秘
塩分の摂り過ぎ	高血圧、脳血管障害、胃がん
お酒の飲み過ぎ	肝機能障害、膵臓炎、動脈硬化
不規則な食事	肥満、脂質異常症、糖尿病、便秘

やさしい生活習慣病の自己管理、医薬ジャーナル社出版、2007

肥満の具体的な原因

① 運動不足
② 外食　（カロリー過多、偏食になりすぎ）
③ 夜型生活　（食事時間が不規則になり、夜食が増える）
④ 加齢　（基礎代謝が低下し、太りやすくなる）
⑤ 食事の仕方
　（朝食抜き、早食い、ながら食いはカロリーが増える）
⑥ アルコール　（飲み過ぎはカロリーが増える）
⑦ 間食
⑧ ストレス
⑨ 宴会・旅行　（食べ過ぎはカロリーが増える）
⑩ 体質・遺伝

やさしい生活習慣病の自己管理、医薬ジャーナル社出版、2007　一部改

食生活指針

- 食事を楽しみましょう。
- 1日の食事のリズムから、健やかな生活リズムを。
- 主食、主菜、副菜を基本に、食事のバランスを。
- ごはんなどの穀物をしっかりと。
- 野菜・果物、牛乳・乳製品、豆類、魚なども組み合わせて。
- 食塩、脂肪は控えめに。
- 適正体重を知り、日々の活動に見合った食事量を。
- 食文化や地域の産物を活かし、ときには新しい料理も。
- 調理や保存を上手にして無駄な廃棄を少なく。
- 自分の食生活を見直してみましょう。

内臓脂肪を減らすには

内臓脂肪減少シート

無理なく内臓脂肪を減らすために

～運動と食事でバランス良く～

腹囲が男性85cm以上、女性90cm以上の人は、次の①～⑤の順番に計算して、自分にあった腹囲の減少法を作成してみましょう。

①あなたの腹囲は？　［　1　cm］

②当面目標とする腹囲は？

［　2　cm］

メタボリックシンドロームの基準値は男性85cm、女性90cmですが、それを大幅に超える場合は、無理をせずに段階的な目標を立てましょう。

③当面の目標達成までの期間は？

確実にじっくりコース　［1 － 2　cm］÷1cm／月 ＝［3　か月］

急いでがんばるコース　［1 － 2　cm］÷2cm／月 ＝［1　か月］

④目標達成まで減らさなければならないエネルギー量は？

［1 － 2　cm］ × 7,000kcal* ＝［4　kcal］

［4　kcal］ ÷［3　か月］÷ 30日 ＝［1日あたりに減らすエネルギー　kcal］

*腹囲1cmを減らす（＝体重1kgを減らす）のに、約7,000kcalが必要

⑤そのエネルギー量はどのように減らしますか？

1日あたりに減らすエネルギー　kcal

運動で　kcal

食事で　kcal



③当面の目標達成までの期間は？

確実にじっくりコース　1　cm ÷1cm／月 ＝ 1　か月

急いでがんばるコース　1 － 2　cm ÷2cm／月 ＝［3　か月］

④目標達成まで減らさなければならないエネルギー量は？

1　cm × 7,000kcal* ＝ 7000

7000 ÷［1　か月］÷ 30日 ＝［1日あたりに減らすエネルギー　230　kcal］

*腹囲1cmを減らす（＝体重1kgを減らす）のに、7,000kcalが必要

⑤そのエネルギー量はどのように減らしますか？

1日あたりに減らすエネルギー　230　kcal

運動で　70

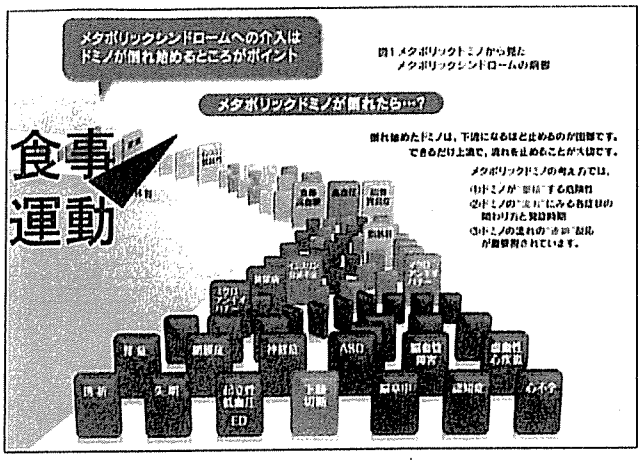
食事で　160



「3メッツ」以上の生活活動（身体活動量の目標の計算に含むもの）

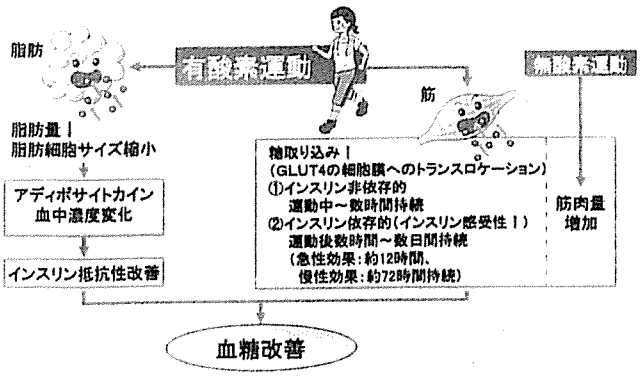
メッツ	活動内容	1エクササイズに相当する時間
4.0	普通歩行（平地、67m/分、幼い子どもや犬を連れて、買い物など）、ゆっくり（25kg程度の荷物を積んで）、階段を下りる、子どもと遊ぶ（立位）、キャッチボール、ソフトボール、ゴルフ（クラブを持ち運ぶ）、屋内の掃除、洗濯、物干し、布団シーツ交換、ベッドメイキング、台所仕事（皿洗い、食事の準備・後片付け）、洗車、車の荷物の積み下ろし	20分
3.3	歩行（平地、81m/分）、通勤時など、カーペット掃き、フロア掃き	18分
3.5	キャッチボール、軽い荷物運び、子どもと遊ぶ（座って）、ビデオ鑑賞（座って）、電話（座って）、会議・出席（座って）、食事（座って）、休憩（座って）、車の運転、ゆっくり歩く、ギター	17分
3.8	やや速歩（平地、やや速めに＝93m/分）、自転車に乗る（通勤、買い物など）、子どもと遊ぶ（歩く、走る）、子どもを抱っこする、ゴルフ（クラブを運ばずに打つ）	16分
4.0	速歩（平地、95～100m/分程度）、自転車に乗る（16km/時未満、レジャー、通勤、買い物）、子どもと遊ぶ（歩く、走る）、動物の世話（歩く、走る）、高齢者や障害者の介護、庭仕事（芝刈り、草むしり、雪かき）、家具・荷物の運び出し入れ（軽い物）、大工仕事（日曜大工）、ボート漕ぎ（ゆっくり）、カヌーに乗る（ゆっくり）、ウォーキング（ゆっくり）、ゴルフ（クラブを運ばずに打つ）、ゲートボール、ダンス（ゆっくり）、ヨガ、ストレッチング（ゆっくり）、太極拳、座禅、ラジオ体操	15分
4.5	苗木の植え、苗の草むしり、掃除、農作業（家畜に餌をやる）	13分
5.0	子どもと遊ぶ（動物の世話）（歩く、走る）、活発に（かなり速歩（平地、速く、107m/分）	12分
5.5	芝刈り（電動芝刈り機を使って、歩きながら）	11分
6.0	家具・荷物の移動・運搬、スコップで雪かきをする	10分
8.0	運搬（重い荷物）、農作業（干し草をまとめる）、庭仕事（薪割り）、子どもと遊ぶ（活発な活動、階段を上がる）	8分
9.0	荷物を運ぶ（上の階へ運ぶ）	7分



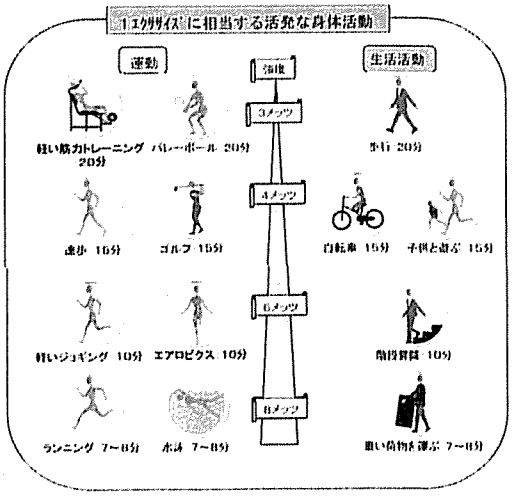




運動療法による血糖改善メカニズム



[1] 杉 浩子, 原 寿郎 監修：糖尿病・代謝・栄養疾患ビジュアルブック. 学研 2010. p37



「3メッツ」以上の運動（身体活動量の目標の計算に含むもの）

メッツ	活動内容	1エクササイズに相当する時間
4.0	自転車エルゴメーター（60ワット）、とても軽い活動、ウェイトトレーニング（軽・中等度）、ボーリング、バドミントン、バレーボール	20分
3.5	体操（家で、軽・中等度）、ゴルフ（カートを使って、持ち時間を与えられた場合）	18分
3.8	やや速歩（平地、やや速めに＝93m/分）	16分
4.0	速歩（平地、95～100m/分程度）、自転車通勤、自転車に乗る（通勤、買い物）、太極拳、エアロビクス、自転車	15分
4.5	バドミントン、ゴルフ（クラブを自分で運ぶ、持ち時間5分）	13分
4.8	バレエ、モダン、ジャズ、ジャズダンス	12分
5.0	ソフトボールまたは野球、子どもの遊び（石拾い、キャッチボール、遊具設置、ヒール上高ひなど）、かなり速歩（平地、速く、107m/分）	12分
5.5	自転車エルゴメーター（80ワット）、軽い活動	11分
6.0	ウェイトトレーニング（高強度、パワーリフティング、ボディビル）、柔道（乱取り、シャスタンス）、ボウリングと歩行の組み合わせ、ボウリングは10分以下）、バスケットボール、スキーミング（歩いて押したりスキーを運ぶ）	10分
6.5	エアロビクス	9分
7.0	ジョギング、サッカー、テニス、水泳（クロール、ゆっくりした背泳ぎ、平泳ぎ）、スケート、スキー	9分
7.5	山を登る（0kg～4kgの荷物を背負って）	8分
8.0	サイクリング（約20km/時）、ランニング（134m/分）、水泳（クロール、やや速い、45m/分）、柔道（乱取り、試合）	8分
10.0	ランニング（階段を上る、走る、全力で）、ラグビー、水泳（平泳ぎ、クロール、速い、70m/分）、柔道（打ち込み練習）	6分
11.0	水泳（バタフライ、クロール、速い、70m/分）、柔道（試合）	5分

1日30分の運動で

- ゴールを明確化するくせが身につく
- 時間管理の意識が身につく
- アイデアが出やすくなる
- 集中力が高まる
- 腰痛・肩こり・頭痛などが和らぐ







肥満、食生活、運動の状況

【成人男性の肥満率（%）】

区　分	20-39歳	40-49歳	50-59歳	60-69歳	70歳以上
岩手県	23.0%	26.7%	43.0%	30.4%	33.0%
全　国	25.2%	32.7%	30.8%	29.7%	25.5%

【県民の１日平均歩数】

区　分	基準値	中間値	目標値
男　性	7,632歩	6,618歩	8,632歩
女　性	7,245歩	6,037歩	8,245歩

【運動習慣者の割合】

区　分	基準値	中間値	目標値
男　性	32.4%	15.0%	40%以上
女　性	32.2%	19.7%	40%以上

① 肥満．50歳代男性の肥満率＝43.6%（H16県民生活習慣実態調査）
　　全国（H16国民健康・栄養調査）と比較して12.8%も高い
② 運動　「県民の１日平均歩数」や「運動習慣者の割合」（H16）が大きく後退

運動するために来ているのでは？



歩数計を持とう





家の中でできる運動

- □ 柔軟体操
- □ ストレッチ
- □ ラジオ体操
- □ ヨガ
- □ 太極拳
- □ 掃除・洗濯



ちょこまか運動（運動と自覚されない身体活動）を増やそう

- 通勤ではバスや電車の一駅分を歩く
- 駅や歩道橋など、積極的に階段を使う
- 職場でもエレベーターは使わず、階段を使う
- 仕事でもプライベートでも、用事があれば自分から出向く
- トイレは、階段を使ってほかのフロアーへ行く
- 昼食は、少し遠くの店へ行く
- 職場でのコピー取りやファックスは、自分で行う
- 職場でスタッフを呼ぶより、自分から行って話す
- 自宅では、お茶入れ、食器下げ、電話取り、新聞・郵便物取りなど、何でも自分で動く
- 休日は家のそうじをする
- そうじには電気そうじ機を使わずホウキで、床ふきは雑巾がけをする
- 電気製品のスイッチ操作に、リモコンは使わない
- 電気製品のコードの差し込みや引き抜きをこまめに行う
- ペットと散歩する

など

ORIGINAL ARTICLE

The Natural Course of Unruptured Cerebral Aneurysms in a Japanese Cohort

The UCAS Japan Investigators*

ABSTRACT

BACKGROUND

The natural history of unruptured cerebral aneurysms has not been clearly defined.

METHODS

From January 2001 through April 2004, we enrolled patients with newly identified, unruptured cerebral aneurysms in Japan. Information on the rupture of aneurysms, deaths, and the results of periodic follow-up examinations were recorded. We included 5720 patients 20 years of age or older (mean age, 62.5 years; 68% women) who had saccular aneurysms that were 3 mm or more in the largest dimension and who initially presented with no more than a slight disability.

RESULTS

Of the 6697 aneurysms studied, 91% were discovered incidentally. Most aneurysms were in the middle cerebral arteries (36%) and the internal carotid arteries (34%). The mean (±SD) size of the aneurysms was 5.7±3.6 mm. During a follow-up period that included 11,660 aneurysm-years, ruptures were documented in 111 patients, with an annual rate of rupture of 0.95% (95% confidence interval [CI], 0.79 to 1.15). The risk of rupture increased with increasing size of the aneurysm. With aneurysms that were 3 to 4 mm in size as the reference, the hazard ratios for size categories were as follows: 5 to 6 mm, 1.13 (95% CI, 0.58 to 2.22); 7 to 9 mm, 3.35 (95% CI, 1.87 to 6.00); 10 to 24 mm, 9.09 (95% CI, 5.25 to 15.74); and 25 mm or larger, 76.26 (95% CI, 32.76 to 177.54). As compared with aneurysms in the middle cerebral arteries, those in the posterior and anterior communicating arteries were more likely to rupture (hazard ratio, 1.90 [95% CI, 1.12 to 3.21] and 2.02 [95% CI, 1.13 to 3.58], respectively). Aneurysms with a daughter sac (an irregular protrusion of the wall of the aneurysm) were also more likely to rupture (hazard ratio, 1.63; 95% CI, 1.08 to 2.48).

CONCLUSIONS

This study showed that the natural course of unruptured cerebral aneurysms varies according to the size, location, and shape of the aneurysm. (Funded by the Ministry of Health, Labor, and Welfare in Japan and others; UCAS Japan UMIN-CTR number, C000000418.)

The members of the UCAS Japan writing committee — Akio Morita, M.D., Ph.D., UCAS Japan Coordinating Office University of Tokyo, and Department of Neurosurgery, NTT Medical Center Tokyo, Tokyo; Takaaki Kirino, M.D., Ph.D., National Center for Global Health and Medicine, Tokyo; Kazuo Hashi, M.D., Ph.D., Pacific Neurosurgical Consulting, Sapporo, Japan; Noriaki Aoki, M.D., Ph.D., University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, and Center for Health Service, Outcomes Research and Development–Japan (CHORD-J), Tokyo; Shunichi Fukuhara, M.D., Department of Healthcare Epidemiology, Kyoto University School of Medicine and Public Health, Kyoto, Japan; Nobuo Hashimoto, M.D., Ph.D., National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan; Takeo Nakayama, M.D., Ph.D., Department of Health Informatics, Kyoto University School of Public Health, Kyoto, Japan; Michi Sakai, Ph.D., CHORD-J, Tokyo; Akira Teramoto, M.D., Ph.D., Department of Neurosurgery, Nippon Medical School, and the Japan Neurosurgical Society, Tokyo; Shinjiro Tominari, M.D., Department of Health Informatics, Kyoto University School of Public Health, Kyoto, Japan; and Takashi Yoshimoto, M.D., Ph.D., National Center for University Entrance Examination, Tokyo — assume responsibility for the overall content and integrity of the article. Address reprint requests to Dr. Morita at the UCAS Japan Coordinating Office, Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan 113-8655, or at ucasj-head@umin.ac.jp.

*The Unruptured Cerebral Aneurysm Study of Japan (UCAS Japan) investigators are listed in the Supplementary Appendix, available at NEJM.org.

N Engl J Med 2012;366:2474-82.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society.

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

Although incidentally discovered cerebral aneurysms are common,[1] the management of these lesions has been controversial,[2-6] and the number of patients undergoing repair has been increasing.[7] Previous studies have shown that aneurysms smaller than 5 or 7 mm in the largest dimension rarely rupture and that aneurysms in the posterior circulation have a greater tendency to rupture than do those in the anterior circulation.[5,8] To determine the most appropriate treatment for individual patients, we need to have a better understanding of the risk of rupture of cerebral aneurysms.

We conducted a large, prospective cohort study of unruptured cerebral aneurysms in the Japanese population. The objectives of the study were to elucidate the natural course of such aneurysms and to identify specific independent risk factors for rupture.

METHODS

PATIENTS

We included in the study patients with newly diagnosed, unruptured cerebral aneurysms who visited one of the study centers during the period from January 2001 through April 2004. Patients were eligible for enrollment if they were 20 years of age or older and had an aneurysm that was 3 mm or more in the largest dimension. All patients who visited a study center during the enrollment period and met these criteria were asked to join the study. We excluded patients who had had previous episodes of intracranial hemorrhage of unknown or untreated cause. Patients who presented with a modified Rankin score of more than 2 were also excluded. A modified Rankin scale score of 0 indicates no disability, a score of 1 or 2 indicates slight disability (i.e., the patient requires some help with daily activities but can care for himself or herself), and a score of 3 to 5 indicates moderate disability (i.e., the patient requires some help in daily activity) to severe disability (i.e., the patient requires constant specific care or is bedridden); a score of 6 indicates death.[9] Investigators at each institution obtained the approval of the local institutional review board before joining the study. Each patient was fully informed about the study and provided written consent to participate.

STUDY DESIGN

This study was a project of the Japan Neurological Society. Patients were enrolled prospectively with the use of an electronic data-capture system. The treatment strategy was chosen by the patient or was determined on the basis of the recommendation of the physician. Data were recorded periodically after enrollment. Data were collected through the coordinating office and the data center, which were located at the University Medical Information Network. The protocol of the study, which is summarized briefly here, is available with the full text of this article at NEJM.org. The first member of the writing committee and two comembers assume responsibility for the accuracy and completeness of the data and for the fidelity of the study to the protocol.

DATA COLLECTION

Patients with aneurysms were prospectively identified by the local investigators, and eligible patients who agreed to participate were enrolled. We did not collect information about patients who were not enrolled in the study, and we do not know how many patients were not asked to participate or did not agree to participate.

The date of the patient's initial visit for the current medical condition was designated as day 0 for follow-up. The patient's clinical characteristics, a description of the aneurysm, and the management plan were recorded. After day 0, follow-up data on the patient's clinical status were recorded through either direct interview or telephone contact at 3, 12, and 36 months and at 5 to 8 years if any follow-up data were available (for details, see the protocol). Any change in the patient's condition, any intervention for the aneurysm, and any imaging of the central nervous system during the follow-up period were recorded in detail. Data collection for each patient ended when the aneurysm ruptured or when the patient died or could no longer be followed.

Each patient's clinical status was recorded with the use of the modified Rankin scale. Subarachnoid hemorrhage was identified by means of either computed tomographic (CT) imaging or lumbar puncture or was documented at autopsy (with the exception of five cases for which the diagnosis was made on the basis of sudden severe headache or loss of consciousness).

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

A diagnosis of aneurysm was based on images obtained through magnetic resonance angiography, high-resolution three-dimensional CT angiography, or digital-subtraction or conventional angiography. For computer images (three-dimensional angiography, three-dimensional CT angiography, or magnetic resonance angiography), the size of the aneurysm was measured with the use of digital data. In the case of digital-subtraction or conventional angiographic machines that were not equipped with size-measurement devices, the 1-yen coin method was used. (A 1-yen coin is exactly 20 mm in diameter and can be visualized on radiographs; therefore, if placed near the patient's head during radiographic examination, it can be used a reference for the size of the aneurysm.) For details on the various imaging techniques, see the protocol. A daughter sac was defined as an irregular protrusion of the aneurysmal wall on the two-dimensional or three-dimensional images. Fusiform or dissecting aneurysms were excluded from the analysis because their pathological characteristics are different from those of the cerebral aneurysms in this study. Aneurysms located at the cavernous portion of the internal carotid artery were excluded because of their specific anatomical location (not directly facing the subarachnoid space) and because they are known to confer a minimal risk of subarachnoid hemorrhage.[2,5]

To confirm the accuracy of the data in the registry, we arranged for outside investigators to verify the data at randomly sampled institutions. For cases of rupture or enlargement of an aneurysm during the follow-up period, all available documentation, including pertinent imaging films, was confirmed by outside investigators (for details of the source-document verification, see the Supplementary Appendix, available at NEJM.org).

STATISTICAL ANALYSIS

To calculate the appropriate sample size for the study, we proposed a working hypothesis: unruptured cerebral aneurysms of 5 mm or more rupture at an annual rate of more than 0.5%. To reject the null hypothesis with an alpha error of 5% (two-sided) and a beta error of 20%, we estimated that 4575 person-years would be required to perform the analysis on the basis of the one-sample binomial distribution if the observed annual rupture rate in this group was 0.75%. We estimated that to obtain this sample size, we would need an enrollment period of 3 years, with 3 years of follow-up for each patient, an estimate that was based on the annual number of untreated, unruptured cerebral aneurysms in a national survey (for details, see the Supplementary Appendix). The incidence of rupture was assessed per aneurysm rather than per patient. Data were censored at the time of a patient's death, a surgical or endovascular intervention, or the last follow-up assessment. When a patient underwent a surgical or endovascular intervention, data from the period up to the time of the intervention were included in the analysis of risk of rupture. Although the patient continued to be followed after the intervention, data from this period were not included in the risk analysis.

The hazard ratios for rupture were analyzed with the use of a Cox proportional-hazards model. Variables associated with rupture in univariate analyses ($P<0.20$) were included in a backward, stepwise, multivariate analysis. We checked the proportional-hazards assumption for each variable by testing Schoenfeld residuals and using the double-log plot method. Statistical analyses were performed with the use of Stata software, version 11.2 (Stata). Two-sided P values of less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

RESULTS

CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS

A total of 6413 patients with newly diagnosed aneurysms, at 283 institutions, were enrolled during the period from January 1, 2001, through April 30, 2004. At the time of extraction of data from the registry, on April 14, 2010, a total of 5720 patients with 6697 aneurysms met the eligibility criteria. Most patients were asymptomatic, and 91% of the aneurysms were discovered incidentally. Two thirds of the patients were women. The mean (±SD) age of patients was 62.5±10.3 years. The mean size (i.e., the largest dimension) of the aneurysms was 5.7±3.6 mm. Table 1 and Figures 1S through 4S in the Supplementary Appendix show the characteristics of the patients and the aneurysms. An analysis of aneurysms according to the patients' age (in decades) showed that older patients had larger aneurysms. Aneurysms of 7 mm or more were found in 18.0% of patients younger than 50 years of age, in 21.4% of patients 50 to 59 years of age, in 24.7% of patients 60 to 69 years of age, in 32.6% of patients 70 to 79 years of age, and in 39.7% of patients 80 years of age or older ($P<0.001$) (Fig. 1S in the Supplementary Appendix).

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

During the follow-up period, 2722 patients with 3050 aneurysms underwent surgical repair before rupture of the aneurysm (Fig. 1), through either open or endovascular methods, at a median of 48 days after day 0 (25% by day 28 and 75% by day 82). Patients who underwent surgical repair and those who did not differed according to their age and the size and location of the aneurysm (Table 1).

NATURAL COURSE OF THE ANEURYSMS

Our analysis showed that 111 aneurysms ruptured during the 11,660 aneurysm-years of follow-up, and the annual risk of rupture was 0.95% (95% confidence interval [CI], 0.79 to 1.15). (Individual rates of rupture according to characteristics of the aneurysms are shown in Table 1S in the Supplementary Appendix.) Five cases of subarachnoid hemorrhage were documented only on the basis of loss of consciousness or death after a sudden, severe headache. The Kaplan–Meier curve showed that the rate of rupture was fairly constant throughout the follow-up period (Fig. 2A).

A final review of cases of ruptured aneurysms showed that for 39 ruptured aneurysms (35%), the rupture resulted in the death of the patient, and for 32 aneurysms (29%), the rupture resulted in the patient having a score of 3 to 5 on the modified Rankin scale, indicating moderate-to-severe disability. A total of 131 patients died of causes other than subarachnoid hemorrhage or results of treatment.

The multivariate Cox proportional-hazards model revealed that the size of the lesion, the specific location, and the presence or absence of a daughter sac were significant independent factors affecting the risk of rupture (Table 2), with a clear stratification of risk according to these factors (Fig. 2A and 2B). As compared with aneurysms that were 3 to 4 mm in the largest dimension, aneurysms that were 5 to 6 mm were not associated with a significantly increased risk of rupture, but the risk of rupture was significantly increased for all aneurysms that were 7 mm or larger.

Women and patients with hypertension had an increased risk of rupture, and patients with hyperlipidemia had a decreased risk, but the differences did not reach significance in multivariate analysis. The presence of another aneurysm causing subarachnoid hemorrhage, former or current smoking, a family history of subarachnoid hemorrhage, and the presence of multiple aneurysms

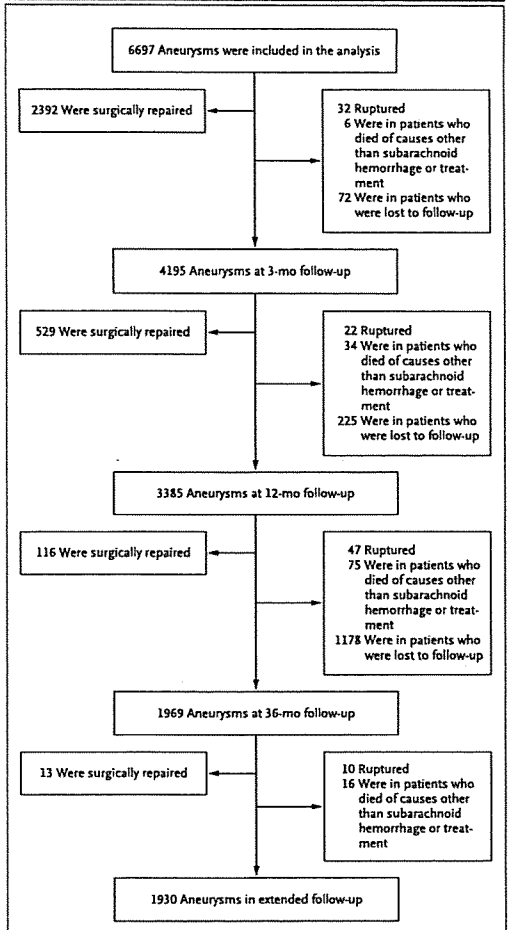


Figure 1. Natural Course of Cerebral Aneurysms in the Study Cohort.
Data were extracted from the registry on April 14, 2010. Aneurysms were assessed among patients with a score on the modified Rankin scale of 0 to 2 (no more than slight disability) at the initial presentation for whom any follow-up data were available. Fusiform and dissecting aneurysms and aneurysms of the cavernous portion of the internal carotid artery were excluded from the analysis. There were various reasons for loss to follow-up, including transfer to a different hospital and the patient's decision to withdraw from follow-up. For the analysis of the 1930 aneurysms that are in the extended follow-up, data were included as of the last follow-up visit.

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

did not significantly influence the risk of rupture of an aneurysm (P>0.20 for all comparisons) (Table 3S in the Supplementary Appendix). Because we analyzed the rupture risk per aneurysm, the last finding indicates that in patients with multiple aneurysms, each aneurysm is not associated with an increased risk of rupture. However, such patients are subject to the cumulative risk for all individual aneurysms. Thrombosed or calcified aneurysms were often large (83% of thrombosed aneurysms and 71% of calcified aneurysms were 7 mm or larger; P<0.001 for the comparison between the size of aneurysms with and those without thrombosis and for the comparison between the size of aneurysms with and those without calcification) and had an increased tendency to rupture (Table 3S in the Supplementary Appendix), but the number of these aneurysms was small.

The hazard ratio for rupture was significantly higher with aneurysms of the anterior communicating artery and the internal carotid–posterior communicating artery than with those of the middle cerebral artery (Table 2). When aneurysms were stratified by size, the risk of rupture differed

Table 1. **Characteristics of the Patients and the Aneurysms.***

Characteristic	Patients (N=5720)	Aneurysms			P Value†
		Total (N=6697)	Not Surgically Treated before Rupture (N=3647)	Surgically Treated before Rupture (N=3050)	
Age					
Mean — yr	62.5±10.3		65.0±10.4	59.7±9.2	<0.001
≥70 yr — no. (%)	1577 (27.6)	1844 (27.5)	1400 (38.4)	444 (14.6)	<0.001
Female sex — no. (%)	3805 (66.5)	4532 (67.7)	2480 (68.0)	2052 (67.3)	0.53
Family history of subarachnoid hemorrhage — no. (%)	736 (12.9)	910 (13.6)	416 (11.4)	494 (16.2)	<0.001
Reason for imaging — no. (%)‡					0.001
Screening	2503 (43.8)	2910 (43.5)	1632 (44.7)	1278 (41.9)	0.001
Headache or dizziness	2714 (47.4)	3172 (47.4)	1713 (47.0)	1461 (47.9)	
Symptoms caused by mass effects or embolic episodes	171 (3.0)	203 (3.0)	100 (2.7)	103 (3.4)	
Subarachnoid hemorrhage	217 (3.8)	273 (4.1)	120 (3.3)	153 (5.0)	
Other	115 (2.0)	137 (2.0)	82 (2.2)	55 (1.8)	
Former or current smoking — no. (%)	960 (16.8)	1173 (17.5)	551 (15.1)	622 (20.4)	<0.001
Medical history — no. (%)					
Hypertension	2480 (43.4)	2969 (44.3)	1665 (45.7)	1304 (42.8)	0.02
Diabetes mellitus	362 (6.3)	396 (5.9)	243 (6.7)	153 (5.0)	0.004
Hyperlipidemia	809 (14.1)	939 (14.0)	484 (13.3)	455 (14.9)	0.05
Ischemic stroke	400 (7.0)	466 (7.0)	308 (8.4)	158 (5.2)	<0.001
Polycystic kidney disease	18 (0.3)	22 (0.3)	11 (0.3)	11 (0.4)	0.67
Multiple aneurysms	793 (13.9)	1770 (26.4)	1003 (27.5)	767 (25.1)	0.03
≥3 Aneurysms	148 (2.6)	480 (7.2)	270 (7.4)	210 (6.9)	0.41
Largest dimension of aneurysm					
Mean — mm		5.7±3.7	5.3±3.3	6.1±3.8	<0.001
Distribution — no. (%)					
≥7 mm		1711 (25.5)	786 (21.6)	925 (30.3)	<0.001
3–4 mm		3132 (46.8)	2000 (54.8)	1132 (37.1)	
5–6 mm		1854 (27.7)	861 (23.6)	993 (32.6)	
7–9 mm		1016 (15.2)	462 (12.7)	554 (18.2)	
10–24 mm		661 (9.9)	310 (8.5)	351 (11.5)	
≥25 mm		34 (0.5)	14 (0.4)	20 (0.7)	

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

Table 1. **(Continued.)**

Characteristic	Patients (N=5720)	Aneurysms			P Value†
		Total (N=6697)	Not Surgically Treated before Rupture (N=3628)	Surgically Treated before Rupture (N=3069)	
Location of aneurysm — no. (%)					<0.001
Middle cerebral artery		2425 (36.2)	1210 (33.2)	1215 (39.8)	
Anterior communicating artery		1037 (15.5)	530 (14.5)	507 (16.6)	
Internal carotid artery§		1245 (18.6)	696 (19.1)	549 (18.0)	
Internal carotid–posterior communicating artery		1037 (15.5)	602 (16.5)	435 (14.3)	
Basilar tip and basilar–superior cerebellar artery		445 (6.6)	327 (9.0)	118 (3.9)	
Vertebral artery–posterior inferior cerebellar artery and vertebrobasilar junction		123 (1.8)	80 (2.2)	43 (1.4)	
Other¶		385 (5.7)	202 (5.5)	183 (6.0)	
Other features of aneurysm — no. (%)					
Thrombosed		120 (1.8)	59 (1.6)	61 (2.0)	0.24
Calcified		113 (1.7)	65 (1.8)	48 (1.6)	0.51
Presence of daughter sac		1266 (18.9)	510 (14.0)	756 (24.8)	<0.001

* Plus–minus values are means ±SD. Patients with a score on the modified Rankin scale of 0 (indicating no disability) or 1 or 2 (indicating slight disability) at the time of presentation were enrolled.

† P values are for the comparison between aneurysms that were not surgically treated before rupture and those that were surgically treated before rupture (with either open or endovascular procedures) during follow-up. The P value for the mean age of the patients and for the mean largest dimension of the aneurysms was calculated with the use of Student's t-test. The P value for reason for imaging and for location of the aneurysm was not calculated for individual variables; each of these categories was analyzed as a single variable, with a chi-square test. The P value for distribution of the largest dimension of the aneurysm was calculated for the variables of 3–4 mm, 5–6 mm, 7–9 mm, 10–24 mm, and ≥25 mm as a group, with a Wilcoxon rank-sum test; the analysis of the variable of ≥7 mm was performed separately with a chi-square test.

‡ The reasons for imaging are those that led to the detection of unruptured cerebral aneurysms. Screening was performed to detect any asymptomatic cerebral lesions in the healthy population or to rule out coexisting central nervous system disease in patients with other systemic or central nervous system diseases. Headache or dizziness included aneurysms that were diagnosed incidentally when imaging was performed because of vague, mild symptoms such as mild dizziness or headache; not included in this category were symptoms such as severe headache attributed to sentinel bleeding or enlargement of an aneurysm. Symptoms caused by mass effects or embolic episodes included severe headache with abrupt onset, cranial-nerve palsy, and neurologic deficits that could be associated with aneurysms. Subarachnoid hemorrhage included unruptured cerebral aneurysms coexisting with other aneurysm-induced subarachnoid hemorrhages.

§ This category includes the internal carotid artery paraclinoid location, so-called internal carotid artery dorsal curvature location, internal carotid artery bifurcation, and internal carotid–anterior choroidal artery and excludes other internal carotid artery aneurysms located at the posterior communicating artery and cavernous portion.

¶ "Other" includes aneurysms at the anterior cerebral artery A1 portion, distal anterior cerebral artery, and other supratentorial or infratentorial locations not categorized above.

significantly according to the location of the aneurysm (Table 3). Among small aneurysms, those in the anterior and posterior communicating arteries were associated with a relatively high risk of rupture; this risk was higher than that associated with small aneurysms of the middle cerebral artery, the location that accounted for the largest number of aneurysms in each size group (Table 4S in the Supplementary Appendix).

DISCUSSION

The results of this study showed that the natural course of an unruptured cerebral aneurysm is influenced not only by the size of aneurysm but also by the specific location and shape. The overall rate of rupture of cerebral aneurysms was 0.95% annually. However, this rate may be an underestimate due to possible selection bias, because we censored data when patients underwent surgical intervention, and some of these patients may have been at increased risk for rupture.

Regarding the independent risk factors for rupture, aneurysms of 7 mm or larger were associated with a significantly increased risk of rupture according to our multivariate analysis; large and giant aneurysms were associated with a very high risk of rupture. This finding is similar to

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

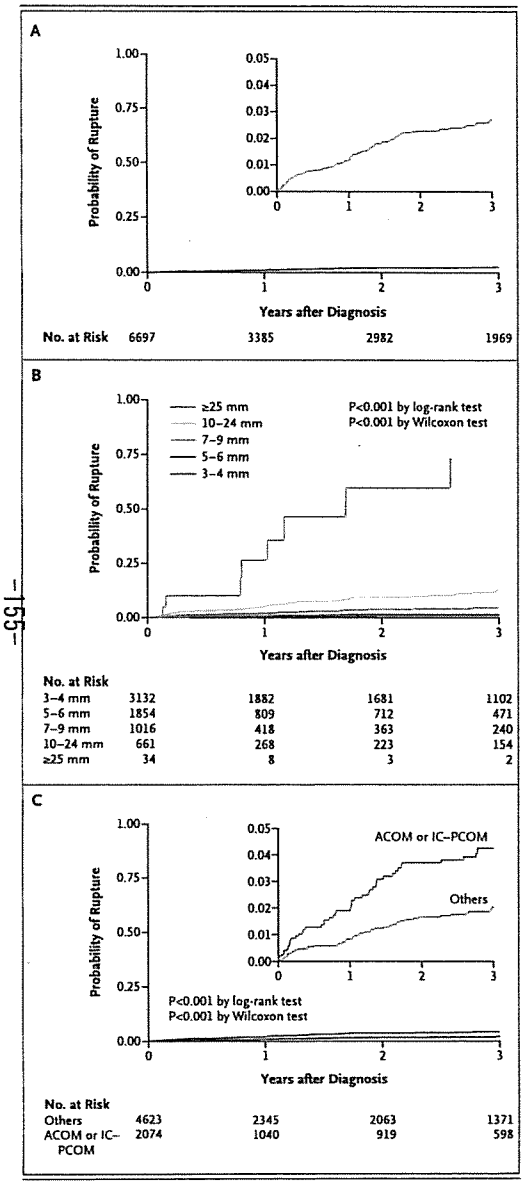


Figure 2. **Probability of Rupture of Cerebral Aneurysms.** Shown are the overall probability of rupture of a cerebral aneurysm (Panel A), the probability of rupture according to the size of the aneurysm (Panel B), and the probability of rupture according to the location of the aneurysm (Panel C). The insets in Panels A and C show the same data on an enlarged y axis. ACOM denotes anterior communicating artery, and IC–PCOM internal carotid–posterior communicating artery.

the trend toward an association between size and risk of rupture that was observed in the International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms (ISUIA).[5]

The location of the aneurysm is also known to be an important risk factor.[5,6,10] The aneurysms most prone to rupture are located in the anterior communicating and posterior communicating arteries. In our cohort, aneurysms in both locations ruptured at a relatively high rate, even when they were smaller than 7 mm, whereas the ISUIA showed a minimal probability of rupture in patients who had anterior-circulation aneurysms that were smaller than 7 mm and who did not have a history of subarachnoid hemorrhage.[5] Although the ISUIA showed that posterior-circulation aneurysms had a greater tendency to rupture than did anterior-circulation aneurysms,[5] in our analysis, posterior-circulation aneurysms — except for those in the posterior communicating artery and those that were large — were not more prone to rupture (Table 3).

Our multivariate Cox regression model showed that the shape of the aneurysm also influenced the risk of rupture. Aneurysms with a daughter sac were associated with a higher rate of rupture than were aneurysms with a smooth wall. The influence of the shape on the risk of rupture has been suggested in cross-sectional studies comparing ruptured and unruptured cerebral aneurysms.[11,12] Our study shows this association in a prospective cohort.

A history of subarachnoid hemorrhage, former or current smoking, the presence of multiple aneurysms, and hypertension, each of which was identified as an independent risk factor for rupture in other studies,[8,13,14] did not significantly affect the risk of rupture in our cohort. Only 4% of the aneurysms in our study were found in patients who had a history of subarachnoid hemorrhage, and it was therefore difficult to assess the influence of this factor on the risk of rupture. We analyzed the risk of rupture per aneurysm, whereas previous studies documenting an increased risk among patients with multiple aneurysms have analyzed the rate of rupture per patient. With the latter method, the risk among patients with multiple aneurysms would be at least double the risk among patients with a single aneurysm; therefore, the high risk of rupture reported previously for patients with multiple aneurysms may reflect the cumulative risk of rupture rather than the risk per aneurysm. Regarding the influence of hypertension and smoking, these are modifiable risk factors that might have changed over time. We did not obtain data on such changes over the course of the follow-up period.

One limitation of this study is that we could not exclude a case-selection bias. Patients with aneurysms that are associated with a presumably high rate of rupture could be candidates for early surgical intervention. In this cohort, more than 2000 small aneurysms were treated surgically, and the characteristics of these aneurysms were different from those of the aneurysms that were not treated surgically. Data on aneurysms that were treated surgically were censored at the time of the intervention, and this fact definitely limits the validity of our calculation of the risk of rupture. Although the overall risk of rupture can be affected by this selection bias, the analysis of individual risk factors should not be substantially influenced. The risk of rupture for aneurysms that were smaller than 5 mm (0.36% per year) in our study is very similar to the risk of rupture of single aneurysms in the Small Unruptured Intracranial Aneurysm Verification (SUAVe) study (0.34% per year),[8] in which no surgical intervention was allowed during the follow-up period. Hence, we believe that the influence of selection bias on our analysis of individual risk factors should be acceptably small.

Although most patients were successfully and consecutively enrolled according to the study protocol, not all patients who were eligible were enrolled. The number and characteristics of the unregistered patients were not documented, and we were therefore not able to compare the characteristics of the patients who were included with those of the patients who were not included, to assess potential biases in the selection of patients. However, the characteristics of our cohort were similar to those of cohorts in previous retrospective studies of unruptured cerebral aneurysms from Japan[10,15,16] and should be representative of patients with this disease in Japan.

Table 2. **Risk Factors Associated with Rupture of Cerebral Aneurysms.***

Risk Factor	Hazard Ratio (95% CI)	P Value
Female sex	1.54 (0.99–2.42)	0.05
Age ≥70 yr	1.21 (0.81–1.78)	0.34
Hypertension	1.41 (0.96–2.07)	0.08
Hyperlipidemia	0.54 (0.28–1.03)	0.06
Daughter sac	1.63 (1.08–2.48)	0.02
Largest dimension of aneurysm		
3–4 mm	Reference	
5–6 mm	1.13 (0.58–2.22)	0.71
7–9 mm	3.35 (1.87–6.00)	<0.001
10–24 mm	9.09 (5.25–15.74)	<0.001
≥25 mm	76.26 (32.76–177.54)	<0.001
Location of aneurysm		
Middle cerebral artery	Reference	
Anterior communicating artery	2.02 (1.13–3.58)	0.02
Internal carotid artery	0.43 (0.18–1.01)	0.05
Internal carotid–posterior communicating artery	1.90 (1.12–3.21)	0.02
Basilar tip and basilar–superior cerebellar artery	1.49 (0.78–2.83)	0.23
Vertebral artery–posterior inferior cerebellar artery and vertebrobasilar junction	0.68 (0.16–2.87)	0.60
Other	1.48 (0.61–3.60)	0.39

* Hazard ratios for rupture were analyzed with the use of a multivariate Cox proportional-hazards model, with a stepwise selection process adding an age factor. The Harrell's C concordance statistic for this analysis was 0.8172.

Another limitation of the study is that it included only Japanese patients. The risk of subarachnoid hemorrhage is higher in the Japanese population than in other populations, even though the incidence of unruptured cerebral aneurysms is similar to that in Western populations.[2] The current study shows a higher risk of rupture than that shown in the ISUIA.[5] Therefore, caution must be applied in extrapolating the overall risk of rupture in our cohort to other populations. The ISUIA findings represent the natural history of unruptured aneurysms in white populations (more than 90% of the ISUIA cohort is white).[5] Study of the similarities and differences in natural history between these two cohorts should yield valuable information about the natural course of unruptured aneurysms. The explanation for the difference in the risk of rupture between our cohort and the ISUIA cohort may be multifactorial rather than just genetic.

In summary, this study shows that unruptured

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

Table 3. **Annual Rate of Rupture According to Size and Location of Aneurysm.**

Location of Aneurysm	Rate of Rupture per Aneurysm per Year (95% CI)				
	3–4 mm	5–6 mm	7–9 mm	10–24 mm	≥25 mm
			percent		
Middle cerebral artery	0.23 (0.09–0.54)	0.31 (0.10–0.96)	1.56 (0.74–3.26)	4.11 (2.22–7.66)	16.87 (2.38–119.77)
Anterior communicating artery	0.90 (0.45–1.80)	0.75 (0.28–2.02)	1.97 (0.82–4.76)	5.24 (197–13.95)	39.77 (9.95–159.00)
Internal carotid artery	0.14 (0.04–0.57)	0	1.19 (0.30–4.77)	1.07 (0.27–4.28)	10.61 (1.49–75.3)
Internal carotid–posterior communicating artery	0.41 (0.15–1.10)	1.00 (0.37–2.66)	3.19 (1.66–6.12)	6.12 (1.66–6.13)	126.97 (40.95–393.68)
Basilar tip and basilar-superior cerebellar artery	0.23 (0.03–1.61)	0.46 (0.06–3.27)	0.97 (0.24–3.89)	6.94 (3.74–12.90)	117.82 (16.60–836.43)
Vertebral artery–posterior inferior cerebellar artery and vertebrobasilar junction	0	0	0	3.49 (0.87–13.94)	0
Other	0.78 (0.25–2.43)	1.37 (0.34–5.50)	0	2.81 (0.40–19.99)	0
Total	0.36 (0.23–0.54)	0.50 (0.29–0.84)	1.69 (1.13–5.93)	4.37 (3.22–5.93)	33.40 (16.60–66.79)

cerebral aneurysms that are larger than 7 mm, are located in the anterior communicating or internal carotid–posterior communicating arteries, and have a daughter sac are associated with an increased risk of rupture. The natural course of unruptured cerebral aneurysms depends on the size, specific location, and the shape of individual aneurysms.

Supported by grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare in Japan, the National Cerebral and Cardiovascular Center in Japan, and the Japan Brain Foundation.

Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article at NEJM.org.

We thank Robert L. Martuza, David G. Piepgras, and Laligam N. Sekhar for their review and comments and Julie Yamamoto for editorial assistance.

-156-

REFERENCES

1. Vlak MH, Algra A, Brandenburg R, Rinkel GJ. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol 2011;10:626-36.
2. The International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. Unruptured intracranial aneurysms — risk of rupture and risks of surgical intervention. N Engl J Med 1998;339:1725-33. [Erratum, N Engl J Med 1999;340:744.]
3. Bederson JB, Awad IA, Wiebers DO, et al. Recommendations for the management of patients with unruptured intracranial aneurysms: a statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. Stroke 2000;31:2742-50.
4. Weir B. Unruptured intracranial aneurysms: a review. J Neurosurg 2002;96:3-42.
5. Wiebers DO, Whisnant JP, Huston J III, et al. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. Lancet 2003;362:103-10.
6. Wermer MJ, van der Schaaf IC, Algra A, Rinkel GJ. Risk of rupture of unruptured intracranial aneurysms in relation to patient and aneurysm characteristics: an updated meta-analysis. Stroke 2007;38:1404-10.
7. Huang MC, Baaj AA, Downes K, et al. Paradoxical trends in the management of unruptured cerebral aneurysms in the United States: analysis of nationwide database over a 10-year period. Stroke 2011;42:1730-5.
8. Sonobe M, Yamazaki T, Yonekura M, Kikuchi H. Small Unruptured Intracranial Aneurysm Verification Study: SUAVe Study, Japan. Stroke 2010;41:1969-77.
9. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. Stroke 1988;19:604-7.
10. Morita A, Fujiwara S, Hashi K, Ohtsu H, Kirino T. Risk of rupture associated with intact cerebral aneurysms in the Japanese population: a systematic review of the literature from Japan. J Neurosurg 2005;102:601-6.
11. Raghavan ML, Ma B, Harbaugh RE. Quantified aneurysm shape and rupture risk. J Neurosurg 2005;102:355-62.
12. Ujiie H, Tachibana H, Hiramatsu O, et al. Effects of size and shape (aspect ratio) on the hemodynamics of saccular aneurysms: a possible index for surgical treatment of intracranial aneurysms. Neurosurgery 1999;45:119-29.
13. Jurela S, Porras M, Poussa K. Natural history of unruptured intracranial aneurysms: probability of and risk factors for aneurysm rupture. J Neurosurg 2000;93:379-87.
14. Yasui N, Suzuki A, Nishimura H, Suzuki K, Abe T. Long-term follow-up study of unruptured intracranial aneurysms. Neurosurgery 1997;40:1155-9.
15. Ishibashi T, Murayama Y, Urashima M, et al. Unruptured intracranial aneurysms: incidence of rupture and risk factors. Stroke 2009;40:313-6.
16. Nakagawa T, Hashi K. The incidence and treatment of asymptomatic, unruptured cerebral aneurysms. J Neurosurg 1994;80:217-23.

Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society

The New England Journal of Medicine
Downloaded from nejm.org at NATL CEREBRAL & CARDIOVASCULAR CTR on April 10, 2013. For personal use only. No other uses without permission.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

nature genetics

Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians

Wanqing Wen[1–3,53], Yoon-Shin Cho[4,5,53], Wei Zheng[1–3,53], Rajkumar Dorajoo[6,7,53], Norihiro Kato[8,53], Lu Qi[9,53], Chien-Hsiun Chen[10,11,53], Ryan J Delahanty[1–3], Yukinori Okada[12,13], Yasuharu Tabara[14], Dongfeng Gu[15], Dingliang Zhu[16–19], Christopher A Haiman[20], Zengnan Mo[21], Yu-Tang Gao[22], Seang-Mei Saw[23], Min-Jin Go[4], Fumihiko Takeuchi[8], Li-Ching Chang[10], Yoshihiro Kokubo[24], Jun Liang[25], Mei Hao[26], Loïc Le Marchand[27], Yi Zhang[16–18], Yanling Hu[28], Tien-Yin Wong[29–31], Jirong Long[1–3], Bok-Ghee Han[4], Michiaki Kubo[32], Ken Yamamoto[33], Mei-Hsin Su[10], Tetsuro Miki[34], Brian E Henderson[20], Huaidong Song[35], Aihua Tan[36], Jiang He[26], Daniel P-K Ng[23], Qiuyin Cai[1–3], Tatsuhiko Tsunoda[37], Fuu-Jen Tsai[11], Naoharu Iwai[38], Gary K Chen[20], Jiajun Shi[1–3], Jianfeng Xu[39], Xueling Sim[40], Yong-Bing Xiang[22], Shiro Maeda[41], Rick T H Ong[6,42], Chun Li[43], Yusuke Nakamura[44], Tin Aung[29,30], Naoyuki Kamatani[12], Jian-Jun Liu[6], Wei Lu[45], Mitsuhiro Yokota[46], Mark Seielstad[6,47], Cathy S J Fann[10], The Genetic Investigation of ANthropometric Traits (GIANT) Consortium[48], Jer-Yuarn Wu[10,11,54], Jong-Young Lee[4,54], Frank B Hu[9,49,54], Toshihiro Tanaka[50,54], E Shyong Tai[23,51,52,54] & Xiao-Ou Shu[1–3,54]

Multiple genetic loci associated with obesity or body mass index (BMI) have been identified through genome-wide association studies conducted predominantly in populations of European ancestry. We performed a meta-analysis of associations between BMI and approximately 2.4 million SNPs in 27,715 east Asians, which was followed by *in silico* and *de novo* replication studies in 37,691 and 17,642 additional east Asians, respectively. We identified ten BMI-associated loci at genome-wide significance ($P < 5.0 \times 10^{-8}$), including seven previously identified loci (*FTO, SEC16B, MC4R, GIPR-QPCTL, ADCY3-DNAJC27, BDNF* and *MAP2K5*) and three novel loci in or near the *CDKAL1, PCSK1* and *GP2* genes. Three additional loci nearly reached the genome-wide significance threshold, including two previously identified loci in the *GNPDA2* and *TFAP2B* genes and a newly identified signal near *PAX6*, all of which were associated with BMI with $P < 5.0 \times 10^{-7}$. Findings from this study may shed light on new pathways involved in obesity and demonstrate the value of conducting genetic studies in non-European populations.

Genome-wide association studies (GWAS) have thus far identified 37 genetic loci associated with obesity or BMI[1–11]. Virtually all of these studies were conducted in populations of European ancestry and included limited data from Asian populations[9,11]. Asians, who account for over 60% of the world's population, have higher percentages of body fat and increased metabolic disease risk than individuals of European ancestry with the same BMI[12]. Therefore, studies conducted in Asian populations, in addition to allowing an evaluation of the extent to which genetic markers of obesity identified in North American and European populations can be generalized, also facilitate the dissection of the genetic architecture of obesity and the identification of genetic variants of particular importance in Asians.

The initial genome-wide association meta-analysis of BMI included approximately 2.4 million genotyped or imputed SNPs generated from eight GWAS including 27,715 east Asians (stage 1). This was followed by an *in silico* replication analysis conducted among 37,691 east Asians from an additional seven GWAS (stage 2) and a subsequent *de novo* replication study conducted among 17,642 east Asians from three studies (stage 3). Details of the study designs are provided in **Supplementary Figure 1**, **Supplementary Tables 1–3** and the **Supplementary Note**.

The stage 1 meta-analysis was performed using the METAL program, and study-specific genomic control adjustment was applied (see Online Methods). The stage 1 analysis revealed that three well-established loci (*FTO*, *SEC16B* and *MC4R*) were associated with BMI at or near the level of genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$)[13] (**Fig. 1** and **Table 1**).

In stage 2, we analyzed 798 SNPs that were associated with BMI at $P < 1.0 \times 10^{-4}$ in stage 1 and 50 additional SNPs that were previously reported to be associated with BMI but which did not reach $P < 1.0 \times 10^{-4}$ in stage 1. Seven additional GWAS conducted in east Asian populations participated in the stage 2 study. We combined data from stage 2 with the stage 1 meta-analysis results in meta-analyses with adjustment for both study-specific genomic control inflation and estimated genomic control inflation for the stage 1 meta-analysis results (1.056; see Online Methods). These analyses revealed that the index SNPs in six previously reported loci (*FTO, SEC16B, MC4R, GIPR-QPCTL, ADCY3-DNAJC27* and *BDNF*) were associated with BMI with genome-wide significance ($P < 5.0 \times 10^{-8}$), whereas those in three other previously reported loci (*GNPDA2, TFAP2B* and *MAP2K5*) were near genome-wide significance ($P < 5.0 \times 10^{-7}$) (**Table 1** and **Supplementary Table 4**). In addition, the index SNPs in nine other previously reported loci were associated with BMI with nominal significance ($P < 0.05$) (**Supplementary Table 4**).

We compared two SNPs at each of the *GIPR-QPCTL, ADCY3-DNAJC27* and *MAP2K5* loci (**Supplementary Table 5**), one identified by our study and another by the GIANT consortium (published during the course of our study)[8]. The SNPs at *ADCY3-DNAJC27* and *MAP2K5* identified in our study are in linkage disequilibrium (LD) with the ones identified by the GIANT consortium. At *GIPR-QPCTL*, our identified SNP, rs11671664, is not in LD with the GIANT-identified SNP, rs2287019, in Asians ($r^2 = 0.026$) and is in weak LD with rs2287019 in Europeans ($r^2 = 0.264$). rs2287019 did not have a statistically significant association with BMI in east Asians (**Supplementary Table 4**). Conditional analyses with the two SNPs at each locus included in the same model for mutual adjustment revealed a statistically significant association with BMI only for the SNP identified by our study (Online Methods and **Supplementary Table 5**), suggesting that the SNP we identified represents an independent association signal in Asians at the same locus.

The reported effect sizes for BMI-related SNPs in studies of populations of European ancestry are usually greater than 3% of the s.d. of BMI[1]. Given the sample sizes of our study, we had adequate statistical power (>0.8) to detect a SNP with such an effect size and with a MAF of >0.2 in stage 1 or a MAF of >0.08 in the combined stage 1 and 2 data at a significance of $P < 0.05$. The index SNPs in the 19 previously identified loci that were not replicated in our study at $P < 0.05$ had either very small effect sizes or very low MAFs in east Asians (**Supplementary Table 4**).

One representative SNP from the four newly identified loci at or near the *CDKAL1, PCSK1, PAX6* and *GP2* genes and the three loci at the *GIPR-QPCTL, ADCY3-DNAJC27* and *MAP2K5* genes that were reported by the GIANT consortium[8] (**Supplementary Table 4**) were selected for further replication in stage 3 using *de novo* genotyping in three studies that included a total of 17,642 subjects (**Supplementary Tables 1** and **2**). In stage 3 analyses, the directions of the associations between BMI and the seven SNPs were consistent with the corresponding associations in stages 1 and 2. The final results derived from combined data from all three stages showed that six SNPs at or near *GIPR-QPCTL, ADCY3-DNAJC27, MAP2K5, CDKAL1, PCSK1* and *GP2* were associated with BMI with genome-wide significance ($P = 1.02 \times 10^{-8}$ to 5.93×10^{-14}) (**Table 1**), and rs652722 near the *PAX6* gene was found to be associated with BMI with $P = 7.65 \times 10^{-8}$ (**Supplementary Table 6**). The variance in BMI explained by these SNPs is presented in **Table 1**.

We also evaluated the association of BMI with these seven SNPs in the GIANT consortium data. Four of these SNPs (rs654581, rs261967, rs4776970 and rs1167166) at or near the *AGCY3-DNAJC27, PCSK1, MAP2K5* and *GIPR-QPCTL* loci, respectively, showed a significant association with BMI at $P < 0.007$ ($P = 0.05/7$, to account for seven tests) (**Supplementary Table 7**). Although the effect sizes of these seven loci were smaller than those of the well-established variants in the *FTO, MC4R* and *SEC16B* loci (2.55–4.22% of s.d. versus 5.51–7.92%; **Table 1**), their effect sizes were larger and the explained variances were larger in east Asians than in Europeans (**Supplementary Table 7**), with the exception of rs4776970 in the *MAP2K5* gene, which was independently identified by both our study and the GIANT

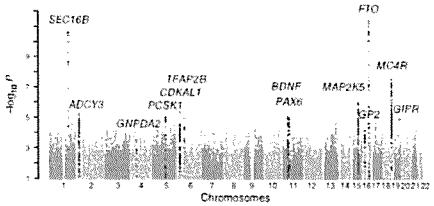


Figure 1 Manhattan plot showing the significance of associations between BMI and SNPs in the stage 1 data. The SNPs in previously reported genes that show significant associations with BMI are highlighted in red. The SNPs in newly identified loci that are significantly associated with BMI are highlighted in blue.

Table 1 Identified loci associated with BMI variation in east Asian populations

Gene	Chr.	SNP	Genotype[a]	EAF[b]	β (s.e.m.)[c]	*P* value by stage[d]				Explained variance[e]
						1	2	3	Final[f]	
Previously identified BMI loci										
FTO	16	rs17817449	G/T	0.17	7.92 (1.06)	6.13×10^{-12}	8.18×10^{-14}		4.60×10^{-27}	0.18%
SEC16B	1	rs574367	T/G	0.20	5.93 (0.92)	2.38×10^{-11}	1.28×10^{-10}		9.47×10^{-20}	0.11%
MC4R	18	rs6567160	C/T	0.21	5.51 (0.93)	6.92×10^{-8}	3.35×10^{-9}		2.76×10^{-15}	0.10%
GIPR-QPCTL	19	rs11671664	G/A	0.50	4.22 (0.76)	1.29×10^{-8}	2.57×10^{-8}	3.57×10^{-3}	5.93×10^{-14}	0.09%
ADCY3-DNAJC27	2	rs6545814	G/A	0.45	3.26 (0.76)	1.20×10^{-5}	1.62×10^{-5}	1.05×10^{-5}	1.35×10^{-13}	0.05%
BDNF	11	rs6265	C/T	0.44	4.97 (0.83)	1.18×10^{-9}	2.72×10^{-9}		3.56×10^{-13}	0.12%
MAP2K5	15	rs4776970	A/T	0.22	2.55 (0.90)	1.10×10^{-6}	4.63×10^{-3}	2.90×10^{-3}	2.33×10^{-9}	0.02%
GNPDA2	4	rs10938397	G/A	0.29	3.72 (0.85)	1.60×10^{-3}	1.30×10^{-5}		9.69×10^{-8}	0.06%
TFAP2B	6	rs4715210	T/C	0.21	3.05 (0.91)	1.12×10^{-5}	7.64×10^{-4}		1.61×10^{-7}	0.03%
Newly identified BMI loci										
CDKAL1	6	rs9356744	T/C	0.58	3.39 (0.76)	3.21×10^{-5}	7.67×10^{-6}	3.02×10^{-3}	2.00×10^{-11}	0.06%
PCSK1	5	rs261967	C/A	0.41	3.77 (0.77)	1.22×10^{-5}	9.36×10^{-7}	8.46×10^{-1}	5.13×10^{-9}	0.07%
GP2	16	rs12597579	C/T	0.80	4.09 (0.96)	7.13×10^{-5}	2.07×10^{-5}	1.45×10^{-1}	1.02×10^{-8}	0.05%
PAX6	11	rs652722	C/T	0.61	2.75 (0.77)	2.84×10^{-5}	3.70×10^{-4}	1.89×10^{-1}	7.65×10^{-8}	0.04%

Chr., chromosome.
[a]Effect allele/other allele. [b]Effect allele frequency in Asians, estimated from stages 1 and 2. [c]Per allele effect of SNPs (in percentage) on BMI, obtained from stage 2 data only. [d]Derived from meta-analysis. *P* values for the combined data were adjusted for both study-specific inflation factors and the estimated inflation factor for the stage 1 meta-analysis statistic. [e]Combination of all available data from the three stages. [f]The effect sizes obtained from stage 2 data were used to estimate the explained variance.

© 2012 Nature America, Inc. All rights reserved.

–157–

复制124

A full list of affiliations appears at the end of the paper.

Received 20 December 2011; accepted 28 December 2011; published online 19 February 2012; doi:10.1038/ng.1087

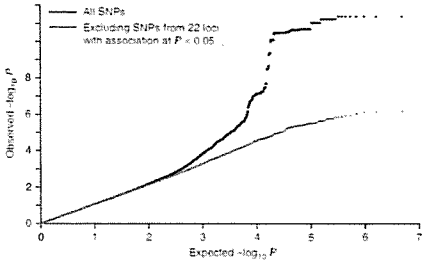


Figure 2 Quantile-quantile plot for the association of BMI with SNPs in all stage 1 data (black) and in stage 1 data that excluded the 22 SNPs with associations at $P < 0.05$ (red) (**Supplementary Table 4**).

consortium study. The explained variance of this SNP is 0.03% in Europeans (**Supplementary Table 7**) and 0.02% in Asians (**Table 1**).

As shown in **Table 1**, the SNP in *FTO* had the greatest effect on BMI and accounted for the largest proportion of the variance (0.18%) in our study population. Together, the 10 loci associated with BMI that reached genome-wide significance explained 0.87% of the interindividual variation in BMI, and all 22 loci that were associated with BMI at $P < 0.05$ explained 1.18% (Online Methods and **Supplementary Table 4**). These explained variance values are lower than those reported by the GIANT consortium (1.45% for the SNPs overall and 0.34% for *FTO*)[6]. After exclusion of SNPs within these 22 loci that were associated with BMI at $P < 0.05$, the number of SNPs with small observed *P* values for an association with BMI still exceeded the expected number (**Fig. 2**), suggesting that additional BMI-related loci remain to be uncovered in east Asians.

The newly identified associations of four SNPs at or near the *CDKAL1*, *PCSK1*, *PAX6* and *GP2* genes with BMI were consistent across studies, gender and ancestry and remained little changed after subjects with chronic diseases (cancer or diabetes) were excluded (**Supplementary Table 6**). Meta-analyses of obesity as a dichotomous outcome (BMI ≥ 27.5)[11] also showed similar associations, with odds ratios per allele ranging from 1.05 to 1.10 (**Supplementary Table 8**). Of the studies participating in our analyses, one stage 2 study, the Singapore Cohort study Of the Risk factors for Myopia (SCORM), only included children (9 year olds). In data from the SCROM study, all four loci had an association with BMI consistent with the meta-analysis, and the rs652722 SNP near *PAX6* was associated with nominal significance ($P = 0.0335$) (**Supplementary Table 6**). Excluding the SCORM study from the analysis had little effect on the results.

The consistency of the findings across studies and populations suggests that population structure alone did not account for the significant associations we identified. In addition, multiple SNPs in LD with each other showed similar associations in the combined stage 1 and 2 data at each locus (**Fig. 3** and **Supplementary Table 9**). This finding, together with the identification of similar associations in the *de novo* replication stage, suggests that our results are unlikely to have been caused by genotyping or imputation errors.

The locus represented by the rs9356744 SNP (6p22.3) contains the *CDKAL1* gene, which has been reported to affect type 2 diabetes risk in a number of studies[15–17]. A recent study identified an association between a SNP in *CDKAL1*, rs4712526, and BMI in 8-year-old children[18]. rs4712526 was not included in stage 2, but stage 1 data for this SNP were consistent with the previous report (**Supplementary Table 10**). This SNP is in strong LD with rs9356744 ($r^2 = 0.87$) in Asians. Excluding participants with type 2 diabetes resulted in a similar association ($P = 4.01 \times 10^{-8}$) (**Supplementary Table 6**), indicating that the association of rs9356744 with BMI was not driven by inclusion of individuals with diabetes in the study. Additionally, two SNPs in the *CDKAL1* gene (rs9356744 and rs9368222; **Supplementary Table 9**) are *cis* expression quantitative trait loci (eQTLs) for the nearby *E2F3* gene, a transcription factor and tumor suppressor[19]. In an accompanying paper, Okada *et al.*[20] identified another SNP (rs2206734) in the *CDKAL1* gene that is associated with BMI. rs9356744 and rs2206734 are in strong LD in Asians ($r^2 = 0.932$) and in weaker LD in Europeans ($r^2 = 0.396$). In data from the GIANT consortium, rs9356744 was not associated with BMI ($P = 0.186$; **Supplementary Table 7**), but rs2206734 was ($P = 0.0049$). These findings suggest that the functional SNP encoding risk for obesity is in LD with both rs9356744 and rs2206734 in east Asians but only with rs2206734 in populations of European ancestry.

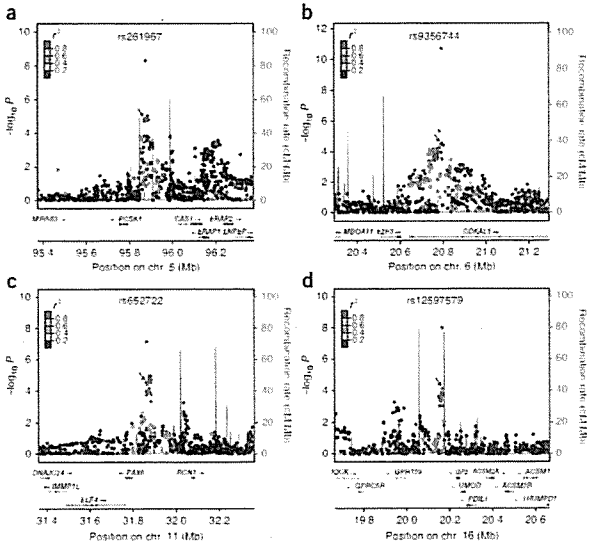


Figure 3 Regional plots of four newly identified loci in this study. (**a**–**d**) Results are shown for the rs261967 (**a**), rs9356744 (**b**), rs652722 (**c**) and rs12597579 (**d**) SNPs. SNPs are plotted by their position on the chromosome against their association ($-\log_{10} P$) with BMI using stage 1 (GWAS meta-analysis) data. The names are shown for the top SNPs, which were selected on the basis of combined data from all studies with full genomic control adjustment (**Table 1**). The *P* value in stage 1 for the same SNP is denoted by a purple circle and indicated with an arrow. Estimated recombination rates (from HapMap) are plotted in cyan to reflect the local LD structure. The SNPs surrounding the top SNP are colored to reflect their LD with the top SNP (using pairwise r^2 values from HapMap Han Chinese in Beijing (CHB) and Japanese in Tokyo (JPT) data). The positions of genes and exons, as well as the direction of transcription, are shown below the plots (using data from the UCSC Genome Browser). Plots were generated using LocusZoom.

At the chromosome 5 locus (5q15), the top SNP, rs261967, along with 13 other SNPs that are in strong LD ($r^2 = 1.0$) with it, reached genome-wide significance in the combined stage 1 and 2 data (**Supplementary Table 9**). The nearest gene to this locus is *PCSK1* (81.3 kb upstream). A candidate-gene study reported two common nonsynonymous coding variants (rs6234 and rs6235) in the *PCSK1* gene that were associated with obesity[21]. However, these two SNPs showed no association with BMI in our study (**Supplementary Table 10**), nor were they in LD with the 14 SNPs we identified ($r^2 = 0$) according to HapMap Asian data. rs261967 showed an association with BMI ($P = 0.00158$; **Supplementary Table 7**) in the data provided by the GIANT consortium[6].

At the chromosome 16 locus (16p12.3), the identified SNP, rs12597579, is near the *GPR139* and *GP2* genes. Multiple SNPs in this region showed an association with BMI in stage 1 that nearly met the significance threshold that was required for them to be evaluated in stage 2 (**Fig. 3d**). One of these SNPs, rs12598578 ($P = 1.63 \times 10^{-4}$; **Supplementary Table 10**), which is in LD ($r^2 = 0.968$ in Asians) with the identified rs12597579 SNP, is highly conserved across species according to the TRANSFAC database[22], and the common G allele creates a Ying-Yang transcription factor binding site.

The top SNP at the chromosome 11 locus (11p13), rs652722, is approximately 66.0 kb from the nearest gene, *PAX6*. This SNP is in LD with several SNPs that, according to the SCAN database[23], are predicted to be eQTLs for a number of genes potentially important in the regulation of body weight. Among the potentially regulated genes is *MIF*, according to HapMap lymphoblastoid cell lines. According to data from these cell lines, two SNPs (rs621611 and rs679887) in LD with rs652722 are significantly associated with *MIF* expression in SCAN. High plasma levels of the MIF protein are related to higher BMI[24]. Another gene whose expression is associated with rs652722 is *PFKP*, which, along with *FTO*, has been associated with increased BMI, hip circumference and weight[2].

We identified multiple signals at the *ADCY3-DNAJC27* locus (**Supplementary Table 4**). The rs11676272 SNP ($P = 5.88 \times 10^{-10}$) encodes a predicted missense mutation in the *ADCY3* gene that causes a p.Ser107Pro alteration in the protein, and this change is predicted to be potentially deleterious according to PolyPhen. This SNP is also associated with expression of the *POMC* gene, which regulates energy balance[8]. In addition, rs11676272 and rs6545814 at this locus ($r^2 = 0.98$ for LD between the two SNPs in Asians) are both eQTLs for the *ADCY3* gene[25].

In conclusion, our study identified ten loci that are associated with BMI at the genome-wide significance level ($P < 5.0 \times 10^{-8}$), including seven loci previously identified in populations of European ancestry (*FTO*, *SEC16B*, *MC4R*, *GIPR-QPCTL*, *ADCY3-DNAJC27*, *BDNF* and *MAP2K5*) and three newly identified loci in or near the *CDKAL1*, *PCSK1* and *GP2* genes. Three additional loci nearly reached genome-wide significance, including two previously identified SNPs in the *GNPDA2* and *TFAP2B* genes and a newly identified marker near *PAX6*, all having $P < 5.0 \times 10^{-7}$. Of the three previously reported loci at *GIPR-QPCTL*, *ADCY3-DNAJC27* and *MAP2K5*, conditional analyses showed that only the SNPs identified by our study were associated with BMI in east Asian populations. The representative SNP (rs261967) near the newly identified association with *PCSK1* showed a significant association ($P = 0.00158$) with BMI in a European population. As expected, the explained variance of the previously reported loci was generally lower in east Asians than in Europeans, whereas the explained variance for the newly identified loci from this study was generally higher in east Asians than in Europeans. The identification of new loci may shed light on new pathways involved in obesity. Future fine mapping of mixed-ancestry populations could lead to the identification of causal links.

URLs. METAL, http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/Metal/; ConSite, http://www.phylofoot.org/consite/; PolyPhen, http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/; USCS Genome Browser, http://www.genome.ucsc.edu/; SNPinfo Web Server, http://snpinfo.niehs.nih.gov; MACH, http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/MACH/index.html; Impute, http://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/impute.html.

METHODS

Methods and any associated references are available in the online version of the paper at http://www.nature.com/naturegenetics/.

Note: Supplementary information is available on the Nature Genetics website.

ACKNOWLEDGMENTS

The Shanghai Genome Wide Associations Studies (SGWAS) would like to thank the dedicated investigators and staff members from the research teams at Vanderbilt University, the Shanghai Cancer Institute and the Shanghai Institute of Preventive Medicine and, most of all, the study participants for their contributions to this work. Genotyping assays and statistical analyses for the SGWAS were primarily supported by grants from the US National Institutes of Health (NIH; R01 CA064277, R37 CA070867, R01 CA090899, R01 CA118229, R01 CA092585 and R01 CA122756), as well as by Ingram professorship funds, Allen Foundation funds and a Vanderbilt Clinical and Translational Science Award (CTSA; 1 UL1 RR024975) from the National Center for Research Resources (NCRR) at the NIH. NIH grants provided support for the participating studies, including the Shanghai Breast Cancer Study (R01 CA064277), the Shanghai Breast Cancer Survival Study (R01 CA118229) and the Shanghai Endometrial Cancer Study (R01 CA092585). The KARE project was supported by grants from the Korea Centers for Disease Control and Prevention (4845-301, 4851-302 and 4851-307). The Singapore Prospective Study Program (SP2) was funded through grants from the Biomedical Research Council of Singapore (BMRC; 05/1/36/19/413 and 03/1/27/18/216) and the National Medical Research Council of Singapore (NMRC; NMRC/1174/2008). E.S.T. also received support from the NMRC through a clinician scientist award (NMRC/CSA/008/2009). The Singapore Malay Eye Study (SiMES) was funded by the NMRC (NMRC/0796/2003 and NMRC/STaR/0003/2008) and the BMRC (09/1/35/19/616). The CAGE Network Studies were supported by grants for the Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST) from the Japan Science Technology Agency, the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences, the National Institute of Biomedical Innovation Organization (NIBIO) and the National Center for Global Health and Medicine (NCGM). L.Q. is supported by a grant from the NIH (HL071981), an American Heart Association Scientist Development Award and the Boston Obesity Nutrition Research Center (DK46200). The Genetic Epidemiology Network of Salt Sensitivity (GenSalt) is supported by research grants from the National Heart, Lung, and Blood Institute at the NIH (HL072507, HL087263 and HL090682). SINDI was funded by grants from the BMRC (09/1/35/19/616 and 08/1/35/19/550) and the NMRC (NMRC/STaR/0003/2008). SCORM was funded by the NMRC (NMRC/0975/2005), the BMRC (06/1/21/19/466) and the Centre for Molecular Epidemiology at the National University of Singapore. The SIH was supported by the Chinese National Key Program for Basic Research (973:2004CB518603) and the Chinese National High Tech Program (863:2009AA022703). The MEC was supported by grants from the National Cancer Institute (NCI; CA063464, CA054281 and CA132839) and from the NIH Genes, Environment and Health Initiative (GEI; HG004726). Assistance with genotype cleaning for the MEC Japanese prostate cancer study was provided by the Gene Environment Association Studies (GENEVA) Coordinating Center (HG004446). Assistance with data cleaning was provided by the National Center for Biotechnology Information. Funding support for genotyping, which was performed at the Broad Institute of MIT and Harvard University, was provided by the GEI (HG004424).

© 2012 Nature America, Inc. All rights reserved.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

T.A., Y.-S.C., Y.-T.G., D.G., B.-G.H., I.H., E.H.L.N. Kamatani, N. Kato, L.-L.-M., I.-Y.L., W.L., Z.-M., Y.N., D.P.-K.N., L.Q., S.-M.S., X.-O.S., E.-S.T., F.-T.T., T. Tanaka, H.T., T.-Y.W., J.-Y.W., Y.-B.X., J.X., W.Z. and D.Z. supervised the research. Y.-S.C., D.G., I.H., Y.H., N. Kato, J. Liang, Z.-M., Y.N., L.Q., M.S., X.-O.S., H.S., E.S.T., T. Tanaka, J.-Y.W., W.Z. and D.Z. conceived and designed the experiments. I.H., Y.H., M.K., J. Liang, M.S., J.S., M.Y. and Y.Z. performed the experiments. L.-C.C., C.-H.C., G.K.C., R.D., M.-J.G., M.H., Y.H., C.L., J. Long, Y.-O.L., Q.-M., H.S., Y.T., A.T., T. Tsunoda and W.W. performed the statistical analyses. The GIANT Consortium, Q.C., L.-C.C., C.-H.C., R.J.D., R.D., M.-J.G., M.H., Y.H., N.J., J. Long, E.M., Y.O., R.J.H.O., L.Q., X.S., M.-H.S. and Y.T. analyzed the data. T.A., Q.C., Y.-T.G., C.A.H., B.E.H., N.J., N. Kato, Y.K., L.L.-M., J. Liang, I.-H., W.L., D.P.-K.N., L.Q., S.-M.S., M.S., X.-O.S., H.S., E.S.T., F.-T.T., T.-Y.W., J.-Y.W., Y.-B.X., K.Y., M.Y., C.S.I.F. and W.Z. contributed reagents, materials and/or analysis tools. R.J.D., Y.O., X.-O.S., E.S.T., T. Tanaka, W.W. and W.Z. wrote the manuscript. S.M. reviewed the manuscript for important intellectual content. All authors reviewed and approved the final version of the manuscript.

COMPETING FINANCIAL INTERESTS

The authors declare no competing financial interests.

Published online at http://www.nature.com/naturegenetics/
Reprints and permissions information is available online at http://www.nature.com/reprints/index.html

1. Frayling, T.M. *et al.* A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* **316**, 889–894 (2007).
2. Scuteri, A. *et al.* Genome-wide association scan shows genetic variants in the *FTO* gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.* **3**, e115 (2007).
3. Loos, R.J. *et al.* Common variants near *MC4R* are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat. Genet.* **40**, 768–775 (2008).
4. Thorleifsson, G. *et al.* Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat. Genet.* **41**, 18–24 (2009).
5. Willer, C.J. *et al.* Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat. Genet.* **41**, 25–34 (2009).
6. Meyre, D. *et al.* Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat. Genet.* **41**, 157–159 (2009).
7. Scherag, A. *et al.* Two new loci for body-weight regulation identified in a joint analysis of genome-wide association studies for early-onset extreme obesity in French and German study groups. *PLoS Genet.* **6**, e1000916 (2010).
8. Speliotes, E.K. *et al.* Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat. Genet.* **42**, 937–948 (2010).
9. Chambers, J.C. *et al.* Common genetic variation near *MC4R* is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat. Genet.* **40**, 716–718 (2008).
10. McCarthy, M.I. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N. Engl. J. Med.* **363**, 2339–2350 (2010).
11. Cho, Y.S. *et al.* A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat. Genet.* **41**, 527–534 (2009).
12. Deurenberg, P., Deurenberg-Yap, M. & Guricci, S. Asians are different from Caucasians and from each other in their body mass index/body fat per cent relationship. *Obes. Rev.* **3**, 141–146 (2002).
13. de Bakker, P.I. *et al.* Practical aspects of imputation-driven meta-analysis of genome-wide association studies. *Hum. Mol. Genet.* **17**, R122–R128 (2008).
14. WHO Expert Consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet* **363**, 157–163 (2004).
15. Voight, B.F. *et al.* Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat. Genet.* **42**, 579–589 (2010).
16. Zeggini, E. *et al.* Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* **316**, 1336–1341 (2007).
17. Steinthorsdottir, V. *et al.* A variant in *CDKAL1* influences insulin response and risk of type 2 diabetes. *Nat. Genet.* **39**, 770–775 (2007).
18. Winkler, C. *et al.* BMI at age 8 years is influenced by the type 2 diabetes susceptibility genes *HHEX-IDE* and *CDKAL1*. *Diabetes* **59**, 2063–2067 (2010).
19. Veyrieras, J.B. *et al.* High-resolution mapping of expression-QTLs yields insight into human gene regulation. *PLoS Genet.* **4**, e1000214 (2008).
20. Okada, Y. *et al.* Common variants at *CDKAL1* and *KLF9* loci are associated with body mass index in east Asian populations. *Nat. Genet.* published online, doi:10.1038/ng.1086 (12 February 2012).
21. Benzinou, M. *et al.* Common nonsynonymous variants in *PCSK1* confer risk of obesity. *Nat. Genet.* **40**, 943–945 (2008).
22. Wingender, E. *et al.* TRANSFAC: an integrated system for gene expression regulation. *Nucleic Acids Res.* **28**, 316–319 (2000).
23. Gamazon, E.R. *et al.* SCAN: SNP and copy number annotation. *Bioinformatics* **26**, 259–262 (2010).
24. Dandona, P. *et al.* Increased plasma concentration of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and MIF mRNA in mononuclear cells in the obese and the suppressive action of metformin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 5043–5047 (2004).
25. Yang, T.P. *et al.* Genevar: a database and Java application for the analysis and visualization of SNP-gene associations in eQTL studies. *Bioinformatics* **26**, 2474–2476 (2010).

[1]Division of Epidemiology, Department of Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA. [2]Vanderbilt Epidemiology Center, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA. [3]Vanderbilt-Ingram Cancer Center, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA. [4]Center for Genome Science, National Institute of Health, Cheongwon-gun, Republic of Korea. [5]Department of Biomedical Science, Hallym University, Chuncheon, Republic of Korea. [6]Genome Institute of Singapore, Agency for Science, Technology and Research, Singapore. [7]Department of Genomics of Common Disease, School of Public Health, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London, UK. [8]Department of Gene Diagnostics and Therapeutics, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine, Tokyo, Japan. [9]Department of Nutrition, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA. [10]Institute of Biomedical Sciences, Academia Sinica, Taipei, Taiwan. [11]School of Chinese Medicine, China Medical University, Taichung, Taiwan. [12]Laboratory for Statistical Analysis, Center for Genomic Medicine (CGM), RIKEN, Yokohama, Japan. [13]Department of Allergy and Rheumatology, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan. [14]Department of Basic Medical Research and Education, Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Japan. [15]Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, China. [16]State Key Laboratory of Medical Genomics, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China. [17]Shanghai Institute of Hypertension, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China. [18]Sino-French Research Center for Life Science and Genomics, Shanghai, China. [19]Shanghai Key Laboratory of Vascular Biology, Shanghai, China. [20]Department of Preventive Medicine, University of Southern California Norris Comprehensive Cancer Center, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, California, USA. [21]Institute of Urology and Nephrology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, China. [22]Department of Epidemiology, Shanghai Cancer Institute, Shanghai, China. [23]Saw Swee Hock School of Public Health, National University of Singapore, Singapore. [24]Department of Preventive Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan. [25]Department of Endocrinology, The Central Hospital of Xuzhou, Affiliated Hospital of Southeast University, Xuzhou, China. [26]Department of Epidemiology, Tulane University School of Public Health and Tropical Medicine, New Orleans, Louisiana, USA. [27]Epidemiology Program, Cancer Research Center, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii, USA. [28]Medical Scientific Research Center, Guangxi Medical University, Nanning, China. [29]Singapore Eye Research Institute, Singapore National Eye Centre, Singapore. [30]Department of Ophthalmology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore. [31]Center for Eye Research Australia, The University of Melbourne, East Melbourne, Victoria, Australia. [32]Laboratory for Genotyping Development, CGM, RIKEN, Yokohama, Japan. [33]Division of Genome Analysis, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, Fukuoka, Japan. [34]Department of Geriatric Medicine, Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Japan. [35]State Key Laboratory of Medical Genomics, Molecular Medical Center, Shanghai Institute of Endocrinology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China. [36]Center for Metabolic Disease and Diabetes, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, China. [37]Laboratory for Medical Informatics, CGM, RIKEN, Yokohama, Japan. [38]Department of Genomic Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan. [39]Center for Cancer Genomics, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, USA. [40]Centre for Molecular Epidemiology, National University of Singapore, Singapore. [41]Laboratory for Endocrinology and Metabolism, CGM, RIKEN, Yokohama, Japan. [42]National University of Singapore Graduate School for Integrative Science and Engineering, National University of Singapore, Singapore. [43]Department of Biostatistics, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA. [44]Laboratory of Molecular Medicine, Human Genome Center, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan. [45]Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai, China. [46]Department of Genome Science, Aichi Gakuin University, School of Dentistry, Nagoya, Japan. [47]Institute for Human Genetics, University of California, San Francisco, San Francisco, California, USA. [48]A complete list of authors is provided in the **Supplementary Note**. [49]Department of Epidemiology, Harvard University School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA. [50]Laboratory for Cardiovascular Diseases, CGM, RIKEN, Yokohama, Japan. [51]Department of Medicine, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore. [52]Duke-National University of Singapore Graduate Medical School, Singapore. [53]These authors contributed equally to this work. [54]These authors jointly directed this work. Correspondence should be addressed to X.-O.S. (xiao-ou.shu@vanderbilt.edu).

© 2012 Nature America, Inc. All rights reserved.

ONLINE METHODS

Study design. This study had three stages. Stage 1 was a meta-analysis of study-specific results on the association between SNPs and BMI from eight GWAS that participated in the consortium and included a total of 27,715 individuals of east Asian ancestry. Each participating study was approved by the local institutional review board, and informed consent was obtained from participants. Promising SNPs selected from the stage 1 meta-analysis were further examined by *in silico* (stage 2) and *de novo* (stage 3) replication analyses. Basic information for all participating studies is summarized in **Supplementary Figure 1**, **Supplementary Tables 1** and **2** and the **Supplementary Note**.

Stage 1 samples and genotyping. The sample sizes of the eight GWAS in stage 1 varied between 821 and 8,838 participants, with a total of 27,715 individuals. For genotyping, two studies used Affymetrix arrays, and six studies used an Illumina platform (detailed information is provided in the **Supplementary Note**). To allow for the combination of the data derived from different genotyping platforms and to improve coverage of the genome, genotype imputation was performed by each participating study using either MACH or IMPUTE.

Stage 1 statistical analysis. A uniform statistical analysis protocol was followed by each participating study. To calculate BMI, each study collected weight and height measurements. To improve the normality of the BMI distribution and alleviate the impact of outliers, the rank-based inverse normal transformation (INT) was applied separately to BMI values for each gender in each study. INT involves ranking all BMI values, transforming these ranks into quantiles and converting the resulting quantiles into normal deviates. The association between SNPs and the inverse normal transformed BMI values was analyzed with a linear regression model. The association between SNPs and obesity as a dichotomous outcome, which defined obesity as BMI ≥ 27.5 (ref. 14), was analyzed with a logistic regression model assuming an underlying additive genetic mode and adjusting for age (continuous), age squared, gender (if applicable) and ancestry (if applicable). Stratified analyses by gender and disease status (for cancer or type 2 diabetes) were also performed by each study.

Next, we carried out meta-analyses using two methods in parallel to cross-check the results: one approach combined effects weighted by the inverse variance and the second combined *P* values weighted by the square root of the sample size for each study. Both meta-analysis procedures were implemented in the METAL software package (see URLs). The final *P* values obtained from these two methods were highly congruent (Pearson correlation $r = 0.98$). *P* values derived from the effect-size–based method are reported here, as this method is preferred, in general, to the *P* value–based method and also provides combined regression coefficients and their standard errors[26]. The meta-analyses were carried out with all data combined and were also stratified by gender and disease status. The presence of heterogeneity across studies and between genders was tested with Cochran's *Q* statistics[27].

To correct each study for residual population stratification or cryptic relatedness, the meta-analyses were performed with genomic control correction[28] by adjusting for the study-specific inflation factor (λ), which ranged from 1.000 to 1.075 in stage 1 (**Supplementary Table 3**). After study-specific genomic control adjustment, the estimated inflation factor for the stage 1 meta-analysis statistic was 1.056, which was further adjusted when combining stage 1 results with stage 2 replication data.

On the basis of the stage 1 meta-analysis on the association between SNPs and BMI in all participants, we selected for stage 2 replication a total of 848 SNPs, which included 798 SNPs with $P < 1.0 \times 10^{-4}$ and 50 SNPs located in previously reported obesity-related loci that had $P > 1.0 \times 10^{-4}$. The cutoff of $P < 1.0 \times 10^{-4}$ was chosen so that the overall *P* value would reach genome-wide significance ($P < 5.0 \times 10^{-8}$) given the sample sizes of stages 1 and 2.

Stage 2 *in silico* replication. The 848 SNPs selected for replication were investigated in an independent set of 37,691 individuals of east Asian ancestry from seven additional GWAS. The sample sizes of the seven additional studies varied between 901 and 27,284 subjects. The RIKEN study was the main source of the replication data and included 27,284 individuals. One study (SCORM) included only children (9 year olds). All studies used the Illumina platform except for the GenSalt study, which used an Affymetrix array. Genotype imputation was also performed by each study using either MACH or IMPUTE, as for studies included in stage 1.

Each study individually conducted a similar analysis of the SNPs selected from stage 1, using the same protocol as in stage 1. The stage 2 data were combined using meta-analysis methods with study-specific genomic control adjustment in a manner similar to that performed in stage 1. Finally, we used meta-analysis to combine all data from stages 1 and 2, with further adjustment for the estimated inflation factor for the stage 1 meta-analysis statistic.

Stage 3 *de novo* replication. Seven SNPs that were associated with BMI according to the analysis of combined stage 1 and 2 data, including four SNPs at four newly identified loci and three loci that overlapped with loci that were reported by the GIANT consortium during the course of our study, were further validated in our stage 3 *de novo* replication studies. These analyses were conducted with data from three study sites (**Supplementary Table 1**), and the genotyping for the seven SNPs was carried out for a total of 17,642 east Asians. The results from stages 1, 2 and 3 were combined and analyzed using meta-analysis methods.

Quality control procedures. The following quality control procedures were recommended for each participating study. SNPs were excluded, either in the primary analysis conducted by each participating study or at the meta-analysis stage (**Supplementary Table 3**), if they (i) had a call rate of <90%, (ii) deviated from Hardy-Weinberg equilibrium with $P < 1.0 \times 10^{-6}$, (iii) had a MAF of <1%, (iv) had low imputation quality (for imputed SNPs: r-hat < 0.3 for MACH or proper-info < 0.5 for IMPUTE) or (v) were potentially contaminated. Samples from individuals were removed if they had a call rate of <90%, if they showed first-degree cryptic relationships in an identity-by-descent (IBD) analysis or if they were potentially contaminated. The specific quality control procedures adopted by each study are summarized in **Supplementary Table 3**.

Conditional analysis. To investigate the independent association of SNPs in the same locus, conditional analyses were conducted by including both SNPs at the same locus in the same regression model for mutual adjustment. The normal transformation of BMI values and the adjustment of covariates were applied in the same manner as in the stage 1 analysis. These conditional analyses were conducted among 57,931 (88.6%) subjects from 11 of the 15 studies in stages 1 and 2.

Estimation of the explained variance. The variation in BMI explained by an individual SNP was estimated by $2\beta^2 f(1-f)$ (ref. 29), where f is the frequency of the variant and β is its additive effect estimated from the stage 2 studies. We subsequently estimated the overall fraction of variance that can be explained by all significantly associated SNPs found in the current meta-analyses by calculating the genetic score with

$$\text{Score}_i = \sum_{j=1}^{m} \beta_j A_{ij}$$

where m is the number of SNPs, β_j is the effect of an allele at locus j, estimated from the stage 2 data, and A_{ij} is the number of reference alleles of individual i at locus j. The measure of variance explained (adjusted R^2) was estimated from a linear regression model incorporating the score as the predictor and the covariate-adjusted inverse normal transformed BMI residuals as the outcome. We reported the average explained variance weighted by the sample size of each study. These analyses to estimate the explained variance were conducted among 57,931 (88.6%) subjects from 11 of the 15 studies in stages 1 and 2.

Analyses of coding SNPs, eQTLs and copy-number variant (CNVs). Variants with potential functional impact were evaluated using the SNP Function Prediction tool, which is part of the SNPinfo Web Server[30]. This tool identifies SNPs with potential functional consequences, including those resulting in coding changes. The severity of a coding change was evaluated with PolyPhen, although SNPs reported to result in coding changes of consequence were independently verified using the PolyPhen website[31] (see URLs).

eQTLs were evaluated using the SCAN database[23] and the GeneVar program[25], with RNA sequencing and genotyping experiments conducted as described previously[32].

To test for CNVs in the proximity of the specific variants of interest, we used the UCSC Genome Browser[33]. Although direct access to individual-level SNP

genotype information was unavailable to directly test for the presence of CNVs, we used the phased genotypes from HapMap 2 release 22 data[34], which show estimated LD values for the CHB and JPT HapMap populations (hapmapLdPhChbJpt table), in combination with the UCSC Genome Browser track from the Database of Genomic Variants (dgv table)[35] to identify the presence of known CNVs that intersected regions in strong LD with GWAS variants.

26. Zeggini, E. & Ioannidis, J.P. Meta-analysis in genome-wide association studies. *Pharmacogenomics* **10**, 191–201 (2009).
27. Cochran, W.G. The combination of estimates from different experiments. *Biometrics* **10**, 101–129 (1954).
28. Devlin, B. & Roeder, K. Genomic control for association studies. *Biometrics* **55**, 997–1004 (1999).
29. Park, J.H. *et al.* Estimation of effect size distribution from genome-wide association studies and implications for future discoveries. *Nat. Genet.* **42**, 570–575 (2010).
30. Xu, Z. & Taylor, J.A. SNPinfo: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Res.* **37**, W600–W605 (2009).
31. Ramensky, V., Bork, P. & Sunyaev, S. Human non-synonymous SNPs: server and survey. *Nucleic Acids Res.* **30**, 3894–3900 (2002).
32. Montgomery, S.B. *et al.* Transcriptome genetics using second generation sequencing in a Caucasian population. *Nature* **464**, 773–777 (2010).
33. Fujita, P.A. *et al.* The UCSC Genome Browser database: update 2011. *Nucleic Acids Res.* **39**, D876–D882 (2011).
34. Frazer, K.A. *et al.* A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* **449**, 851–861 (2007).
35. Feuk, L., Carson, A.R. & Scherer, S.W. Structural variation in the human genome. *Nat. Rev. Genet.* **7**, 85–97 (2006).

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

The sphingosine-1-phosphate transporter Spns2 expressed on endothelial cells regulates lymphocyte trafficking in mice

Shigetomo Fukuhara,[1] Szandor Simmons,[2,3] Shunsuke Kawamura,[2,3] Asuka Inoue,[4] Yasuko Orba,[5] Takeshi Tokudome,[6] Yuji Sunden,[7] Yuji Arai,[8] Kazumasa Moriwaki,[9] Junji Ishida,[10] Akiyoshi Uemura,[9] Hiroshi Kiyonari,[11] Takaya Abe,[11] Akiyoshi Fukamizu,[10] Masanori Hirashima,[9] Hirofumi Sawa,[5] Junken Aoki,[4] Masaru Ishii,[2,3] and Naoki Mochizuki[1]

[1]Department of Cell Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan. [2]Laboratory of Cellular Dynamics, World Premier International Research Center–Immunology Frontier Research Center, Osaka University, Osaka, Japan. [3]Japan Science and Technology, Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Tokyo, Japan. [4]Laboratory of Molecular and Cellular Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Miyagi, Japan. [5]Department of Molecular Pathobiology, Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control, Sapporo, Japan. [6]Department of Biochemistry, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan. [7]Laboratory of Comparative Pathology, Hokkaido University School of Veterinary Medicine, Sapporo, Japan. [8]Department of Molecular Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan. [9]Division of Vascular Biology, Department of Physiology and Cell Biology, Kobe University Graduate School of Medicine, Hyogo, Japan. [10]Life Science Center, Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan, and Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan. [11]Laboratory for Animal Resources and Genetic Engineering, RIKEN Center for Developmental Biology, Hyogo, Japan.

The bioactive lysophospholipid mediator sphingosine-1-phosphate (S1P) promotes the egress of newly formed T cells from the thymus and the release of immature B cells from the bone marrow. It has remained unclear, however, where and how S1P is released. Here, we show that in mice, the S1P transporter spinster homolog 2 (Spns2) is responsible for the egress of mature T cells and immature B cells from the thymus and bone marrow, respectively. Global *Spns2*-KO mice exhibited marked accumulation of mature T cells in thymi and decreased numbers of peripheral T cells in blood and secondary lymphoid organs. Mature recirculating B cells were reduced in frequency in the bone marrow as well as in blood and secondary lymphoid organs. Bone marrow reconstitution studies revealed that Spns2 was not involved in S1P release from blood cells and suggested a role for Spns2 in other cells. Consistent with these data, endothelia-specific deletion of *Spns2* resulted in defects of lymphocyte egress similar to those observed in the global *Spns2*-KO mice. These data suggest that Spns2 functions in ECs to establish the S1P gradient required for T and B cells to egress from their respective primary lymphoid organs. Furthermore, Spns2 could be a therapeutic target for a broad array of inflammatory and autoimmune diseases.

Introduction

Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a bioactive lysophospholipid mediator that plays a crucial role in diverse physiological functions, such as lymphocyte trafficking, vascular development, and inflammation (1–5). S1P exerts biological functions mostly through activating cell-surface G protein–coupled receptors S1P1–S1P5, while intracellular S1P is also known to act as a second messenger to regulate inflammation (6). It remains unclear how intracellular S1P is transported to the outside of the cells to activate S1P receptors expressed on the cells.

The activation of S1P1 signaling in lymphocytes by S1P has been shown to promote the egress of newly formed T cells from the thymus and that of mature T and B cells from secondary lymphoid organs such as spleen and lymph nodes (7–10). An immunosuppressive molecule, FTY720, produces peripheral lymphopenia by blocking the lymphocyte egress from the thymus and lymph nodes. Interestingly, FTY720 was found to elicit the immunosuppressive effect by functionally antagonizing the S1P/S1P1 signaling pathway (8, 11–13). In fact, this compound has been recently approved by the United States Food and Drug Administration for treatment of autoimmune diseases (14). In addition, S1P/S1P1 receptor signals direct the release of immature B cells from the bone marrow to the peripheral blood (15, 16).

The concentration of S1P is abundant in circulatory fluids, such as blood and lymph (~μM), whereas it is normally kept low in the lymphoid tissues (~nM) by S1P-degrading enzymes that include lipid phosphate phosphatase 3 (17, 18). However, it has been suggested that this concentration difference of S1P is required but not sufficient for lymphocyte egress from lymphoid tissues into the circulation (9), implying the significance of S1P gradient made in lymphoid tissues. Consistently, S1P produced by neural crest–derived perivascular cells is required for efficient T cell egress (19). Moreover, lymphatic ECs release S1P, which is necessary for lymphocyte egress from lymph nodes into lymph (20). However, it is still unclear how B and T cell egress from the primary lymphoid organs and which cells release S1P that promotes the egress of these cells.

S1P is generated inside of the cell by phosphorylation of sphingosine in a reaction catalyzed by sphingosine kinase 1 and 2, 2 closely related isozymes, and is exported toward the outside of the cell to stimulate its cell-surface receptors (21, 22). Release of S1P is observed in a variety of cells, such as platelets, erythrocytes, mononuclear cells, neutrophils, mast cells, and ECs (3, 21–28). In vitro analyses have revealed that ABC transporters mediate S1P release in several types of cells, such as mast cells, erythrocytes, platelets, breast cancer cells, and astrocytes (24, 29–32). We and others have identified the S1P transporter spinster homolog 2 (Spns2) as an S1P transporter in zebra fish (33, 34). However, the physiological functions of Spns2 in mammals remain totally unknown. Furthermore, S1P transporters responsible for S1P-mediated lymphocyte trafficking have not been identified.

In the present study, we investigated the importance of Spns2 in lymphocyte trafficking by analyzing the *Spns2*-deficient mice and found that Spns2 is responsible for egress of mature T cells and immature B cells from thymus and bone marrow, respectively. We further revealed, by performing bone marrow reconstitution studies and by analyzing mice with conditional deletion of Spns2 in ECs, that ECs release S1P through Spns2, thereby promoting lymphocyte egress from both thymus and bone marrow.

Conflict of interest: The authors have declared that no conflict of interest exists.
Citation for this article: *J Clin Invest.* 2012;122(4):1416–1426. doi:10.1172/JCI60746

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

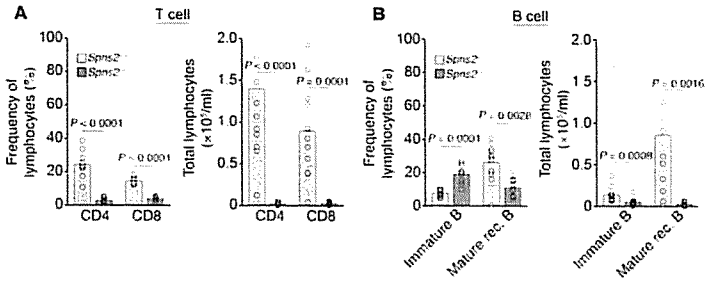


Figure 1
Mature T and recirculating mature B lymphocytes are remarkably reduced in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A** and **B**) Flow cytometric analyses of control (*Spns2*$^{+/+}$) and global *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A**) Frequencies (left) and total numbers (right) of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in peripheral blood are shown ($n = 11$). (**B**) Frequencies (left) and total numbers (right) of immature B cells (CD19$^+$CD23$^-$IgD$^-$IgM$^+$, immature B) and mature recirculating B cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$, Mature rec. B) in peripheral blood are shown ($n = 11$). In **A** and **B**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

Results

Spns2 is essential for trafficking of both T and B cells. To address the physiological functions of Spns2 in mammals, we generated global *Spns2*-KO (*Spns2*$^{-/-}$) mice by crossing *Spns2*$^{fl/fl}$ mice, in which exon 2 of the *Spns2* gene is flanked with loxP sites, with mice expressing Cre recombinase under the control of cytomegalovirus promoter (Supplemental Figure 1; supplemental material available online with this article; doi:10.1172/JCI60746DS1). RT-PCR analyses of the RNA extracted from the lungs of WT and *Spns2*$^{-/-}$ mice revealed that *Spns2*$^{-/-}$ mice express a mutant mRNA transcript lacking exon 2–derived sequence encoding aa 124–145 of WT Spns2 (Supplemental Figure 2, A and B). This Spns2 mutant protein failed to localize at the plasma membrane and lost the ability to export S1P (Supplemental Figure 2, C and D). Thus, we conclude that *Spns2*$^{-/-}$ mice are indeed functionally disrupted for Spns2.

Spns2$^{-/-}$ mice develop normally, survive to adulthood, and are fertile, although they exhibited symblepharon to a greater or lesser extent (Supplemental Figure 3). In addition, blood biochemical examination revealed no significant differences between WT and *Spns2*$^{-/-}$ mice (Supplemental Figure 4). Notably, hematological analysis showed a significant decrease in white blood cell count in *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with control mice, although there were no differences in the other hematological parameters, such as red blood cells, platelets, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration (Supplemental Figure 5), implying the role of Spns2 in lymphocyte trafficking.

It should be noted that the number and proportion of mature CD4 and CD8 single-positive (SP) T cells was dramatically reduced in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 1A and Supplemental Figure 6A). In addition, immature B cells (CD19$^+$CD23$^-$IgD$^-$IgM$^+$) and mature recirculating B cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$) were decreased in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with WT mice (Figure 1B and Supplemental Figure 6B). These findings suggest that Spns2 is involved in trafficking of both T and B lymphocytes.

Spns2 regulates T cell egress from the thymus into blood. To study the cause of the decrease in mature T lymphocytes in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice, we examined the thymus where T lymphocytes develop and from which they egress into blood. *Spns2*$^{-/-}$ mice exhibited normal thymus structures (Supplemental Figure 7). The numbers and proportions of mature CD4 and CD8 SP T cells in the thymi of *Spns2*$^{-/-}$ mice were increased compared with those of WT mice, although there was no significant change in the number of immature CD4/CD8 double-positive (DP) T cells and CD4/CD8 double-negative (DN) progenitor thymocytes (Figure 2, A and B). These data suggest a significant role for Spns2 in modulating the egress of mature T cells from the thymus into the blood.

During final maturation of CD4 and CD8 SP T cells in the medulla of the thymus, they downregulate CD69, upregulate S1P1 and CD62L, and consequently migrate out of the thymus in response to S1P (35–38). Thus, we examined the semi-mature (CD69$^+$CD62L^{hi}) and fully mature (CD69^{lo}CD62L$^+$) SP T cells in the thymi of *Spns2*$^{-/-}$ mice. The proportion of fully mature SP T cells was increased in comparison with that of WT mice, while the relative amount of semi-mature SP T cells was decreased (Supplemental Figure 8, A and B). In addition, the cell-surface expression of CD69 on the fully mature SP T cells was slightly higher in *Spns2*$^{-/-}$ mice than in WT mice (Supplemental Figure 8C). Since S1P is suggested to be required for full CD69 downregulation during final maturation of SP thymocytes (8, 36, 39), this may be due to a decreased release of S1P in thymus of *Spns2*$^{-/-}$ mice. These results indicate that Spns2 is involved in the release of S1P required for T cell egress from the thymus into the blood.

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

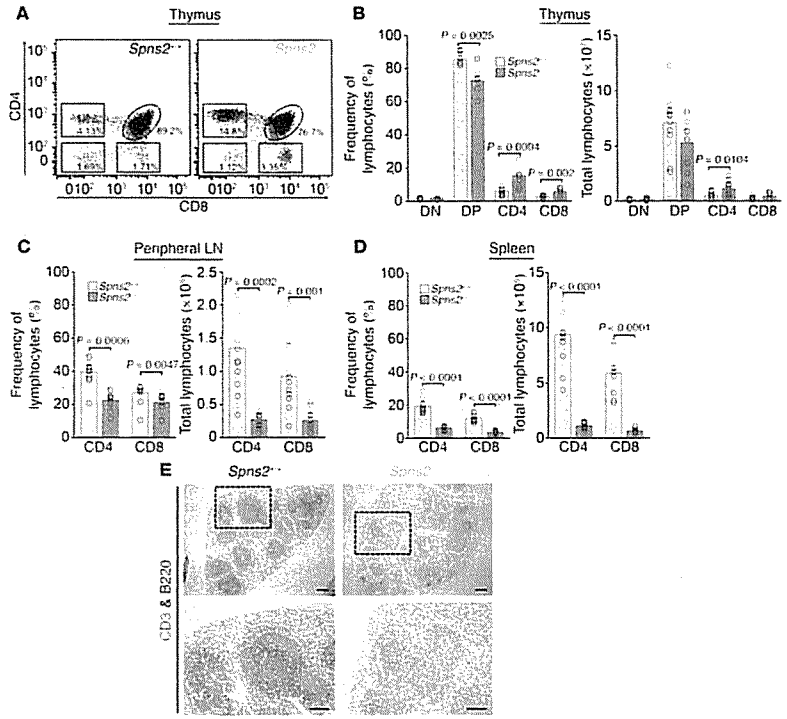


Figure 2
Egress of mature T cells from the thymus is impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A–D**) Flow cytometric analyses of control (*Spns2*$^{+/+}$) and global *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A**) A representative flow cytometric analysis of T cells in the thymus. The numbers represent the percentages of CD4 SP, CD8 SP, CD4/CD8 DP T cells, and CD4/CD8 DN thymocytes. (**B**) Frequencies (left) and total numbers (right) of CD4/CD8 DN (DN), CD4/CD8 DP (DP), CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) thymocytes and T cells are shown ($n = 11$). (**C**) Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in peripheral lymph nodes are shown ($n = 11$). (**D**) Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in spleens are shown ($n = 11$). In **B–D**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively. (**E**) Spleen sections from control (*Spns2*$^{+/+}$) or *Spns2*$^{-/-}$ mice, stained to detect CD3$^+$ T cells (blue) and B220$^+$ B cells (red). The boxed areas of upper panels are enlarged in lower panels. Scale bars: 200 μm (top row); 50 μm (bottom row).

To assess the possibility that lack of mature T cells in the blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice is related to their accumulation in other secondary lymphoid tissues, we further examined mature SP T lymphocytes in peripheral lymph nodes and in the spleen. In contrast with the accumulation of mature T cells in the thymus, the numbers and proportions of mature CD4 and CD8 SP T cells were dramatically reduced in peripheral lymph nodes and in the spleen of *Spns2*$^{-/-}$ mice, although their structures were normal (Figure 2, C–E, and Supplemental Figure 7). These results show that a decrease in the number of mature T cells in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice is a consequence of impaired T cell egress from the thymus, but not due to the accumulation in the secondary lymphoid organs.

Spns2 regulates egress of immature B cells from the bone marrow into the blood. In the late stage of B cell development in the bone marrow, newly generated immature B cells are exported into the peripheral blood in an S1P/S1P1 signal-dependent manner (15, 16). The immature B cells subsequently undergo maturation in the secondary lymphoid tissues and migrate back to the bone marrow through the blood (recirculating mature B cells). To explore the cause of remarkable reduction of recirculating mature B lymphocytes in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice, we examined the number and proportion of the lymphocytes at different developmental stages. The numbers and frequencies of mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$ or CD19$^+$IgM$^+$IgD$^+$) were significantly reduced in the bone marrow of *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with that of control mice (Figure 3, A and B, and Supplemental Figure 9). However, the number of pro-/pre-B cells (B220$^+$IgM$^-$) and immature B cells (B220^{lo}IgM$^+$ or CD19$^+$IgM$^+$IgD$^-$) was normal in the bone marrow of *Spns2*$^{-/-}$ mice, although their frequencies were slightly higher than those in control mice, probably due to the reduction of mature recirculating B cell count (Figure 3, A and B, and Supplemental Figure 9). Together with the evidence for the decreased number of immature B cells in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 1B), these results suggest that the egress of immature B cells from the bone marrow is impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice.

To further confirm this conclusion, we examined the number and proportion of B lymphocytes in the secondary lymphoid organs. In the peripheral lymph nodes, the number of mature B cells was reduced in *Spns2*$^{-/-}$ mice, although the frequency of mature B cells was not different from that in control mice (Figure 3C). In the spleen, the numbers and proportions of follicular B cells were significantly decreased in *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with those of control mice, although there was no difference in the number of marginal zone (MZ) and transitional type 1 (T1) and B1 B cells between control and *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 3D). These results reveal that the decrease in mature recirculating B cells in the peripheral blood of *Spns2*$^{-/-}$ mice is not due to their accumulation in the secondary lymphoid organs, although it remains unclear whether Spns2 is involved in the egress of B lymphocytes from the secondary lymphoid organs. Therefore, we conclude that Spns2 is required for the egress of immature B cells from the bone marrow into the blood.

Spns2 is not involved in S1P release from blood cells. Which cells expressing Spns2 are responsible for releasing S1P necessary for lymphocyte trafficking? Blood cells, especially erythrocytes, are known to produce S1P, thereby contributing to high plasma S1P concentration (9, 23–26). Thus, we first investigated whether Spns2 is involved in S1P release from blood cells. In *Spns2*$^{-/-}$ mice, plasma S1P levels were reduced to 54% of those in control mice (0.39 ± 0.03 μM in control mice; 0.21 ± 0.01 μM in *Spns2*$^{-/-}$ mice), although plasma sphingosine and glycerolysophospholipids of *Spns2*$^{-/-}$ mice were comparable to those in control mice (Figure 4, A–H). Most of the plasma S1P is known to be associated with HDL and albumin (40–42). Consistent with the reduced concentration of plasma S1P in *Spns2*$^{-/-}$ mice, the amount of S1P associated with HDL and albumin was lower in *Spns2*$^{-/-}$ mice than in WT mice (Supplemental Figure 10).

To further clarify whether the reduction of plasma S1P concentration in *Spns2*$^{-/-}$ mice is attributed to the decreased S1P release from blood cells, we examined the secretion of S1P from blood cells isolated from either control or *Spns2*$^{-/-}$ mice. S1P release from blood cells occurred in *Spns2*$^{-/-}$ mice to an extent similar to that in control mice (Figure 5A). This S1P release was not caused by membrane damage, since no release was observed when the cells were incubated at 4°C (Figure 5A), as previously reported (27). These results suggest that Spns2 is not involved in the release of S1P from blood cells. To further confirm this conclusion, we performed bone marrow reconstitution studies (Supplemental Figure 11). Reconstitution of irradiated *Spns2*$^{-/-}$ mice with WT bone marrow did not restore the reduced concentration of plasma S1P (Figure 5B). Furthermore, *Spns2*$^{-/-}$ mice reconstituted with WT bone marrow still exhibited accumulation of mature SP T lymphocytes in the thymus and reduction of mature recirculating B cells in the bone marrow in comparison with WT mice (Figure 5,

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

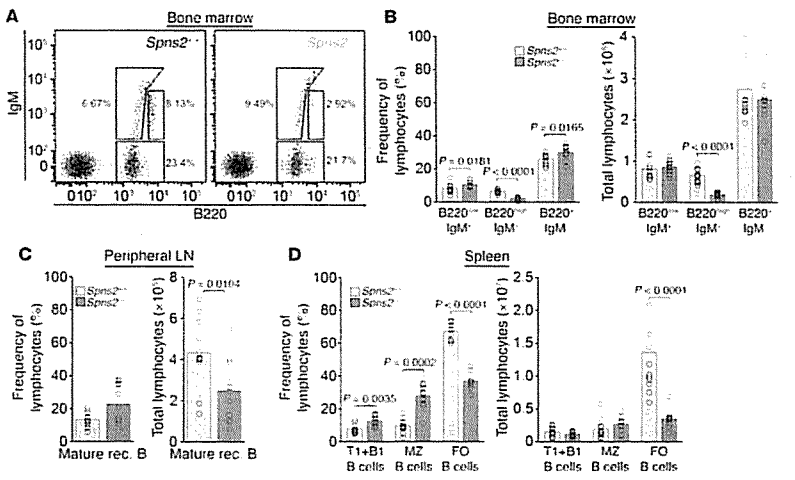


Figure 3
Immature B cell egress from bone marrow is impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A–D**) Flow cytometric analysis of B cells in control (*Spns2*$^{+/+}$) and *Spns2*$^{-/-}$ mice. (**A**) A representative flow cytometric analysis of progenitor B (B220$^+$IgM$^-$), immature B (B220^{lo}IgM$^+$) and mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$) in the bone marrow cavity. Numbers indicate the percentages of IgM- and B220-expressing cells of total lymphocytes. (**B**) Frequencies (left) and total numbers of pro-/pre-B cells (B220$^+$IgM$^-$), immature B cells (B220^{lo}IgM$^+$), and mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM$^+$) defined as in A are shown ($n = 11$). (**C**) Frequencies (left) and numbers (right) of mature recirculating B (mature rec. B) cells (CD19$^+$CD23$^+$IgD$^+$) in peripheral lymph nodes are shown ($n = 11$). (**D**) Frequencies (left) and numbers (right) of T1 B cells (CD19$^+$CD21$^-$CD23$^-$), MZ (CD19$^+$CD21$^+$CD23^{lo}), and follicular B cells (FO) CD19$^+$CD21^{lo}CD23$^+$) in spleens are shown ($n = 11$). In **B–D**, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

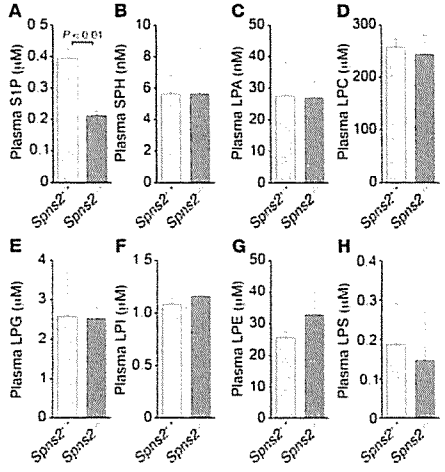


Figure 4

Plasma S1P concentration is reduced in *Spns2*$^{-/-}$ mice. (A–H) Plasma concentrations of S1P (A), sphingosine (SPH) (B), LPA (C), LPC (D), LPG (E), LPI (F), LPE (G), and LPS (H) in control (*Spns2*$^{+/+}$) or *Spns2*$^{-/-}$ mice. Data are shown as mean ± SD (n = 3–5).

C and D). These findings indicate that cells other than blood cells expressing Spns2 secrete S1P to control lymphocyte trafficking.

Spns2 mediates S1P release from ECs. Cultured vascular ECs produce S1P in vitro (43, 44), although S1P release from vascular ECs has not been confirmed in vivo. Another type of EC, lymphatic ECs, secrete S1P into lymph, thereby regulating lymphocyte egress from lymph nodes (20). Thus, we next investigated whether Spns2 is involved in the release of S1P from ECs. RT-PCR analyses revealed that Spns2 is expressed not only in lymphatic ECs, but also in several types of vascular ECs (Figure 6A). In addition, depletion of Spns2 by siRNA resulted in the inhibition of S1P release from ECs (Figure 6, B and C). Furthermore, we investigated whether Spns2 is expressed in ECs in vivo by performing in situ hybridization analyses. *Spns2* mRNA was clearly expressed on the ECs in the thymus (Figure 6D). Although it has been reported that pericytes covering thymic ECs release S1P to promote T cell egress from thymus (19), we could not detect expression of *Spns2* mRNA on the pericytes in the thymus (Figure 6D). Besides the thymus, expression of *Spns2* mRNA was also observed in the ECs of other tissues, such as heart, lung, and hypothalamus, but not in those of kidney and olfactory bulb (Supplemental Figure 12). These results suggest that ECs secrete S1P through Spns2. Hence, we hypothesized that S1P released from ECs via Spns2 is required for lymphocyte egress from primary lymphoid organs.

ECs regulate thymic egress by releasing S1P through Spns2. To address whether Spns2 functions in ECs to regulate lymphocyte trafficking, we tried to generate mice lacking Spns2 in ECs (Spns2-ECKO: *Spns2*$^{fl/fl}$;*Tie2Cre*) by crossing the *Spns2*$^{fl/fl}$ mice with the mice expressing Cre recombinase under the Tie2 promoter (Supplemental Figure 1). In Spns2-ECKO mice, plasma S1P concentration was decreased to the level observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice (Supplemental Figure 13), indicating that ECs release S1P into plasma in an Spns2-dependent manner. Spns2-ECKO mice develop normally without symblepharon formation that is observed in global *Spns2*$^{-/-}$ mice, suggesting that Spns2 acts as an S1P transporter not only in ECs but also in other types of cells.

We further investigated whether Spns2 functions in ECs to promote T cell egress from the thymus by S1P. Compared with control mice, the proportion of mature CD4 and CD8 SP T cells was increased in the thymus of Spns2-ECKO mice, but to a lesser extent than that in *Spns2*$^{-/-}$ mice (Figure 2A and Figure 7A). In addition, the number and proportion of CD4 and CD8 SP T cells in Spns2-ECKO mice were dramatically decreased in the peripheral blood, spleen, and peripheral lymph nodes (Figure 7, B and C, and Supplemental Figure 14), suggesting an impaired thymic egress of mature T lymphocytes in Spns2-ECKO mice into the peripheral lymphoid organs. The Tie2 promoter is active not only in ECs, but also in hematopoietic cells (45–47). To further confirm that the phenotype of Spns2-ECKO mice is attributed to the impaired function of Spns2 in ECs, we performed bone marrow reconstitution experiments. Spns2-ECKO mice reconstituted with control bone marrow exhibited accumulation of mature CD4 and CD8 SP T cells in the thymus, and their deficiency in the peripheral blood compared with control mice reconstituted with control bone marrow (Supplemental Figure 15). These findings apparently reveal that S1P released from ECs through Spns2 is involved in the egress of mature T cells from the thymus into the blood.

ECs promote the egress of immature B cells from the bone marrow by releasing S1P through Spns2. We further investigated the role of ECs in immature B cell egress from the bone marrow. As observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice, the numbers and proportions of mature recirculating B cells, but not pro-/pre-B cells and immature B cells, were remarkably decreased in the bone marrow of Spns2-ECKO mice in comparison with control mice (Figure 8A and Supplemental Figure 16). Mature recirculating B cells in the blood and peripheral lymph nodes of Spns2-ECKO mice were decreased (Figure 8B and Supplemental Figure 17). Furthermore, the numbers and frequencies of follicular B cells were significantly reduced in the spleen of Spns2-ECKO mice compared with control mice (Figure 8C), although the number of MZ B cells in the spleen was comparable between WT and Spns2-ECKO mice. Unexpectedly, the spleens of Spns2-ECKO mice have increased numbers of T1 and B1 B cells compared with those of control mice. This result may imply a more complex role of Spns2 in B cell trafficking that has to be tested in more detail in further experiments. Moreover, reconstitution of irradiated Spns2-ECKO mice with control bone marrow did not restore reduction of mature recirculating B cells in the bone marrow and peripheral blood (Supplemental Figure 18). These results demonstrate that S1P released by ECs through Spns2 promotes the egress of immature B cells from the bone marrow into the blood.

Discussion

In the present study, we show for what we believe is the first time that Spns2 expressed on ECs is essential for lymphocyte egress from the primary lymphoid organs. By analyzing the *Spns2*-deficient mice, we found that Spns2 is an S1P transporter required for the egress of mature T cells and immature B cells from the thymus and the bone marrow, respectively, into the peripheral blood. In addition, by deleting Spns2 in ECs and performing bone marrow reconstitution studies, we showed that Spns2 regulates S1P secretion in ECs, but not in blood cells, to promote lymphocyte egress from primary lymphoid organs. Therefore, the present study on Spns2 largely contributes to the understanding of S1P signaling, which is used in the egress of lymphocytes from primary lymphoid organs (1, 2, 4, 5).

Spns2 is the first S1P transporter functioning in mammals. Intracellularly generated S1P has to be transported out of the cell to stimulate its cell-surface receptors. Several lines of evidence obtained from in vitro studies have suggested the involvement of the ABC family of transporters in S1P release from several types of cells (22, 24, 29–32). However, their biological significance in vivo has remained unclear. In this study, we demonstrate Spns2 as a key S1P transporter that regulates lymphocyte trafficking in mammals. Although Spns2 regulates lymphocyte trafficking by inducing the release of S1P from ECs, this transporter may also function in other cells, since symblepharon was observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice, but not in Spns2-ECKO mice. On the other hand, Spns2 appears not to be the only transporter of S1P in mammals because plasma S1P levels were partially but not completely decreased in *Spns2*$^{-/-}$ mice compared with control mice. Although blood cells, especially erythrocytes, are thought to be the major cellular source of S1P in plasma (9, 23, 27), blood cells from *Spns2*$^{-/-}$ mice still retained the ability to release S1P (Figure 5A). Thus, S1P release from blood cells appears to be mediated by S1P transporters other than Spns2. In addition, S1P transporters other than Spns2 might also be involved in the release of S1P required for vascular development, since *Spns2*$^{-/-}$ mice did nor show the defects in vascular development that can be observed in *S1p1*-deficient mice (48).

This study clearly reveals that Spns2-dependent S1P release from ECs is important for egress of mature T cells from the thymus into the peripheral blood. Thymic egress is strictly controlled by the S1P/S1P1 signaling pathway (1, 2, 4, 5). In the thymus, thymocytes differentiate into mature T cells, and subsequently express S1P1 through upregulation of Krüppel-like factor 2 (5, 49). S1P1-expressing mature T cells acquire responsiveness to S1P, thereby exiting from the thymus into the peripheral blood. Until recently, it has been assumed that the S1P gradient between the thymus and the blood is required for egress of mature T cells. However, recent evidence has suggested that plasma S1P is insufficient to promote thymic egress (9, 19). Importantly, egress of mature T cells from the thymus was impaired in *Spns2*$^{-/-}$ mice even though the plasma contains enough concentration of S1P to stimulate lymphocyte S1P1 in vitro (10). Similarly, Zachariah and Cyster have recently reported that neural crest-derived pericytes covering the ECs release S1P responsible for thymic egress without influencing plasma S1P concentration (19). Therefore, mature T cells might be recruited to the abluminal side of blood vessels by S1P locally released from both ECs and pericytes, and possibly exit into the peripheral blood in response to high concentrations of plasma S1P. However, further studies are needed to confirm this hypothesis.

Spns2 expressed on ECs of the blood vessels is also essential for B cell egress from the bone marrow. Although recent reports reveal the role of S1P/S1P1 signaling in the egress of immature B cells from the bone marrow (15, 16), a cellular source of S1P involved in this process has not been identified. In *Spns2*$^{-/-}$ mice, the number of mature recirculating B cells was significantly decreased not only in the bone marrow but also in the blood, spleen, and peripheral lymph nodes, indicating a block in the egress of immature B cells from the bone marrow. Importantly, reconstitution of irradiated *Spns2*$^{-/-}$ mice with WT bone marrow did not rescue the deficiency of mature recirculating B cells in the bone marrow. Furthermore, Spns2-ECKO mice also exhibited reduced numbers of mature recirculating B cells in the bone marrow, peripheral blood, spleen, and peripheral lymph nodes, as observed in *Spns2*$^{-/-}$ mice. This phenotype was not rescued by reconstitution with control bone marrow. Thus, these results reveal for what we believe is the first time that ECs are the major cellular source of S1P necessary for the egress of immature B cells from the bone marrow. In the late stage of B cell development in the bone marrow, newly generated immature B cells placed in the parenchyma are first recruited into the sinusoidal compartment and subsequently

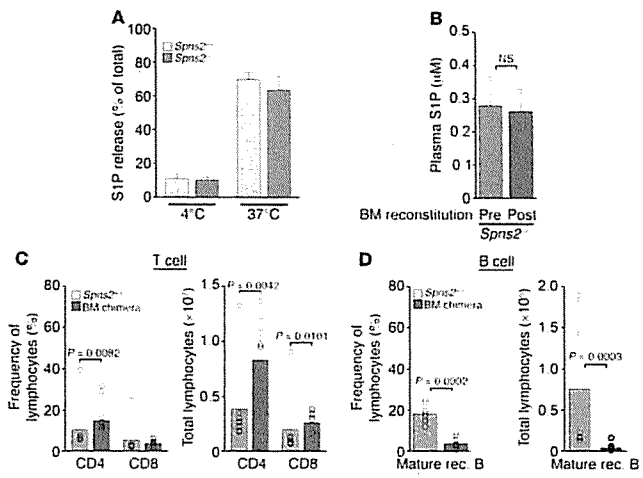


Figure 5

Spns2 is not involved in S1P release from blood cells. (A) Release of S1P by the blood cells isolated from control (*Spns2*$^{+/+}$) and *Spns2*$^{-/-}$ mice. Cells were incubated at either 4°C or at 37°C for 90 minutes as indicated at the bottom. Data are expressed as a percentage of the total amount of S1P in the cells without incubation and shown as mean ± SD (n = 4). (B–D) *Spns2*$^{-/-}$ mice were lethally irradiated and reconstituted with bone marrow from littermate control mice. (B) Plasma S1P concentrations of either *Spns2*$^{-/-}$ mice (Pre) or of those reconstituted with WT bone marrow (Post) (n = 13). (C and D) Flow cytometric analyses of control (*Spns2*$^{+/+}$) and *Spns2*$^{-/-}$ mice reconstituted with littermate control bone marrow (BM chimera). (C) Frequencies (left) and total numbers (right) of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in the thymus are shown (*Spns2*$^{+/+}$, n = 8; BM chimera, n = 13). (D) Frequencies (left) and total numbers of mature recirculating B cells (CD19$^+$IgM$^+$IgD$^+$) in the bone marrow are shown (*Spns2*$^{+/+}$, n = 8; BM chimera, n = 13).

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

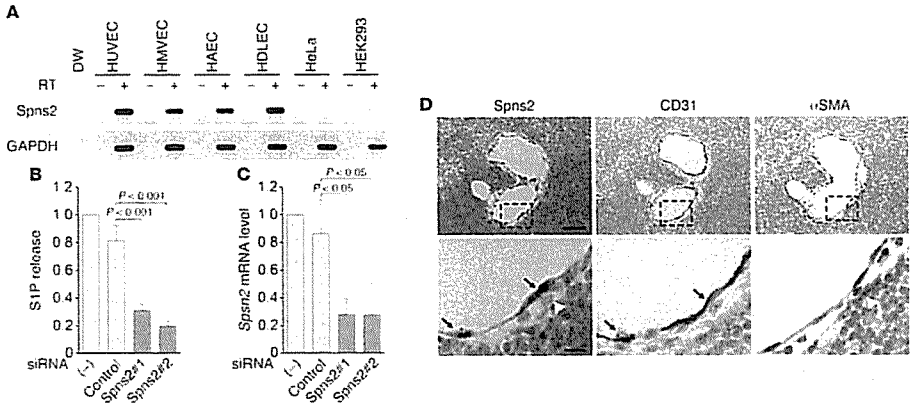


Figure 6

Spns2 is involved in S1P release from ECs. **(A)** Expression of Spns2 in ECs. RT-PCR analysis was performed to examine the expression of Spns2 in HUVECs, HMVECs, HAECs, HDLECs, HeLa, and HEK293 cells as indicated at the top. PCR was performed using specific primers for either Spns2 (upper panel) or GAPDH (lower panel). To verify the absence of contaminating genomic DNA, RT-PCR was also performed in the absence of reverse transcriptase (–). **(B and C)** S1P release from Spns2-depleted ECs. **(B)** Release of S1P by ECs transfected without (–) or with either control siRNA (control) or 2 independent siRNAs targeting Spns2 (Spns2#1 and Spns2#2). **(C)** Real-time RT-PCR analysis to assess the efficiency of siRNA-mediated Spns2 knockdown. In B and C, data are expressed relative to those observed in the untransfected cells and shown as mean ± SD of 3 independent experiments. **(D)** In situ hybridization for *Spns2* mRNA in thymus. Antisense probe was hybridized to thymus section (Spns2: purple). Serial sections were also stained with anti-CD31 (CD31: brown) and anti-α-SMA (brown) antibodies to identify ECs and pericytes, respectively. The boxed areas of upper panels are enlarged in lower panels. Arrows and white arrowheads indicate ECs and pericytes, respectively. Scale bars: 50 μm (upper panels); 10 μm (lower panels).

exported into the peripheral blood (50–52). Sinusoidal entry of immature B cells is thought to be a key step in bone marrow egress. Recently, it has been reported that S1P/S1P1 signaling promotes the movement of immature B cells from parenchyma to sinusoid, thereby facilitating egress of immature B cells from bone marrow (15, 16). Thus, bone marrow sinusoidal ECs may attract immature B cells from the parenchyma by producing S1P through Spns2 and thereby promoting the immature B cell egress into the peripheral blood.

The lymphocyte egress from secondary lymphoid organs such as lymph nodes and spleen also depends on S1P/S1P1 signaling. Pham et al. have recently reported that lymphatic ECs are an in vivo source of S1P required for lymphocyte egress from lymph nodes and Peyer patches (20). Since Spns2 is expressed not only in vascular ECs but also in lymphatic ECs, Spns2 may also regulate lymphocyte egress from lymph nodes by inducing the release of S1P from lymphatic ECs. However, to address this hypothesis, we need to analyze mice lacking Spns2 specifically in the lymphatic ECs because lymphocyte egress from primary lymphoid organs is severely impaired in global *Spns2* mice. It also remains elusive whether Spns2 is involved in lymphocyte egress from spleen. Thus, this will be a subject for future studies.

In conclusion, we demonstrate that Spns2 is a key S1P transporter involved in lymphocyte trafficking and further indicate that vascular ECs are the major source of S1P in vivo responsible for lymphocyte egress from the thymus and the bone marrow. Thus, this study not only reveals the crucial role of Spns2 as an S1P transporter in mammals, but also contributes to our understanding of molecular mechanisms of S1P-mediated lymphocyte trafficking. Since S1P signaling is profoundly involved in the inflammatory and autoimmune diseases, such as multiple sclerosis, psoriasis, asthma, and rheumatoid arthritis, as well as in transplantation, Spns2 can be a potential therapeutic target for these diseases.

Methods

Generation of Spns2^{fl} *mice.* *Spns2*^{fl} mice (acc. no. CDB0705K; http://www.cdb.riken.jp/arg/mutant%20mice%20list.html), in which exon 2 is flanked by 2 loxP sites, were generated (Supplemental Figure 1A). TT2 ES cells derived from an F1 hybrid of C57BL/6 and CBA mice (53) were transfected with the targeting vector, selected in the presence of G418, and screened for homologous recombination by PCR and Southern blotting. Two ES clones were introduced into host embryos to generate chimeric mice. Chimeric mice with a high ES cell contribution were bred with the CMV-Cre mice (C57BL/6 strain background) expressing Cre recombinase under the control of cytomegalovirus promoter to generate heterozygous *Spns2*$^{+/-}$ mice (Supplemental Figure 1). *Spns2*$^{+/-}$ mice were intercrossed to obtain *Spns2*$^{-/-}$ mice (75% C57BL/6 and 25% CBA genetic background). The chimeric mice were also crossed with the CMV-Flp mice (C57BL/6 strain background) expressing Flp recombinase under the control of cytomegalovirus early enhancer/chicken β-actin promoter to remove the PKG-Neo-pA cassette, resulting in Spns2 floxed mice (Supplemental Figure 1). To inactivate the *Spns2* gene in ECs, the Spns2 floxed mice were bred with Tie2-Cre mice (C57BL/6 strain background), which carry the Cre recombinase driven by the Tie2 promoter (45, 46) and were provided by T.N. Sato (Nara Institute of Science and Technology, Nara, Japan) and M. Yanagisawa (University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas, USA) (Supplemental Figure 1). For confirmation of correct targeting, Southern blot analysis was performed with the probe located outside of the regions used in the targeting vector (Supplemental Figure 1). For the genotyping of mice, PCR was performed using a forward primer, 5′-AGGCTCATTTCATGGCTGAT-3′, and a reverse primer, 5′-AGCCCTGTGCTCTCTGTTGT-3′, producing products of 552-bp fragment for WT allele, 842-bp fragment for floxed allele, and 316-bp fragment for deleted allele. All mice were housed under specific pathogen-free conditions.

RT-PCR and real-time RT-PCR. To check the expression of *Spns2* mRNA in *Spns2*$^{-/-}$ mice, total RNA was extracted from the lungs using TRIzol reagent (Invitrogen) and reverse transcribed by random hexamer primers using Superscript II (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions. PCR amplification was carried out with the following primer sets: PCR1, 5′-AAGAGGTGCAGACGTTGTCC-3′ and 5′-CCACAGCTGAGGATCACCTT-3′, for exons 1–3 of the mouse *Spns2*; and PCR2, 5′-ATGATGTGCCTGGAATGC-3′ and 5′-TCAGACTTTCACGGATGCAG-3′, for complete coding sequence of mouse *Spns2*.

To determine the expression of Spns2 in ECs, RT-PCR was performed using the gene-specific primers for human *SPNS2* (5′-ACTTTGGGGTCAAGGACCGA-3′ and 5′-AATCACCTTCCTGTTGAAGCG-3′). Amplification of GAPDH was also performed using the gene-specific primers for human *GAPDH* (5′-ATGGGGAAGGTGAAGGTCG-3′ and 5′-GGGGTCATTGATGGCAACAATA-3′) in parallel as a control.

To assess the efficiency of siRNA-mediated knockdown of Spns2, total RNA was extracted from HUVECs transfected without or with either control siRNA or 2 independent siRNAs targeting Spns2 and subjected to quantitative real-time RT-PCR analysis using the QuantiFast SYBR Green RT-PCR Kit (QIAGEN) as described (54). For each reaction, 100 ng of total RNA was transcribed for 10 minutes at 50°C, followed by a denaturation step at 95°C for 5 minutes, 40 cycles of 10 seconds at 95°C, and 30 seconds at 60°C. Fluorescence data were collected and analyzed using Mastercycler ep realplex (Eppendorf). For normalization, expression of human *GAPDH* was determined in parallel as an endogenous control. The gene-specific primers used to amplify human *SPNS2* and *GAPDH* were the same as described above.

Cell culture, transfection, and siRNA-mediated gene silencing. HUVECs, human microvascular ECs (HMVECs), and human aortic ECs (HAECs) were purchased from Kurabo and maintained as described previously (55). Human dermal lymphatic ECs (HDLECs) were obtained from Lonza and maintained in EC growth medium EGM-2 (Lonza). HeLa and HEK293 cells were cultured in DMEM (Nissui) supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics (100 μg of streptomycin/ml and 100 U of penicillin/ml).

Stealth siRNAs targeted to human Spns2 (HSS151335 and HSS151336) were purchased from Invitrogen. As a control, siRNA duplexes with irrelevant sequences were used. HUVECs were transfected with 20 nM siRNA duplexes using Lipofectamine RNAi MAX reagent (Invitrogen). After incubation for 48 hours, the cells were used for the experiments.

Detection of subcellular localization of GFP-tagged Spns2. cDNAs encoding WT and mutant Spns2 were amplified using cDNAs derived from the lungs of WT and *Spns2*$^{-/-}$ mice by RT-PCR, and cloned into pEGFP-N1 vector to construct the expression plasmids encoding WT and mutant Spns2 with a C-terminal GFP tag, respectively. HUVECs were transfected with the plasmid encoding either WT or mutant Spns2-GFP or with myristoylated GFP-encoding plasmid. GFP and phase contrast images were obtained using an IX81 inverted microscope (Olympus) equipped with a pE-1 LED excitation system (CoolLED).

S1P release from cultured cells. HEK293 cells were plated in 24-well plates (5×10^5 cells/well), cultured for 24 hours, and transfected with the expression plasmids indicated in the legend of Supplemental Figure 2D using Lipofectamine 2000 reagent (Invitrogen). After incubation for 24 hours, cells were incubated in 250 μl of serum-free DMEM containing 0.5 % fatty acid–free bovine serum albumin, 10 mM sodium glycerophosphate, 5 mM sodium fluoride, and 1 mM semicarbazide for 24 hours. To determine the role of Spns2 in S1P release from ECs, HUVECs transfected without or with either control siRNA or 2 independent Spns2 siRNAs were detached, replated in collagen-coated 24-well plates (2.5×10^5 cells/well), and cultured for 12 hours. The cells were then washed twice with Medium 199 (Invitrogen) and incubated in 200 μl of Medium 199 containing 20 mM Hepes, pH 7.4, 10 mM sodium glycerophosphate, 5 mM sodium fluoride, 1 mM semicarbazide, 0.5% fatty acid free bovine serum albumin, 40 ng/ml vascular endothelial growth factor, 40 ng/ml fibroblast growth factor-2, and 400 ng/ml angiopoietin-1 for 12 hours. After incubation, conditioned medium was collected and centrifuged at 15,000 *g* for 5 minutes at 4°C to remove cell debris. S1P levels in the conditioned medium were determined as described below.

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

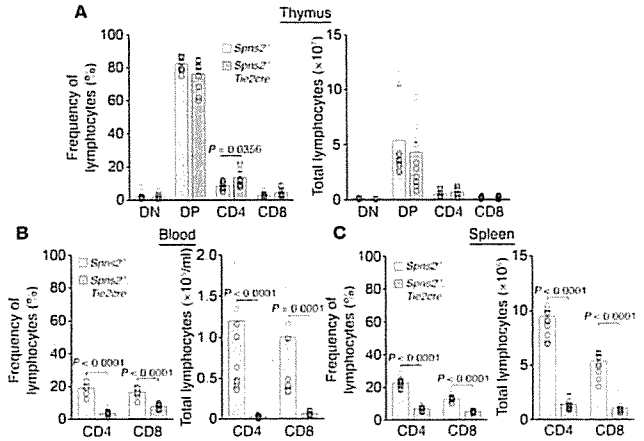


Figure 7

Spns2 expressed in ECs is required for mature T cell egress from thymus. **(A–C)** Flow cytometric analyses of lymphocytes of control (*Spns2*$^{fl/fl}$) or Spns2-ECKO (*Spns2*$^{fl/fl}$*;Tie2Cre*) mice. **(A)** Frequencies (left) and numbers (right) of CD4/CD8 DN (DN), CD4/CD8 DP (DP), CD4 SP (CD4), and CD8 SP (CD8) thymocytes and T cells in thymus are shown ($n = 11$). **(B)** Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in peripheral lymph nodes are shown ($n = 11$). **(C)** Frequencies and numbers of CD4 SP (CD4) and CD8 SP (CD8) T cells in spleens are shown ($n = 11$). In A–C, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

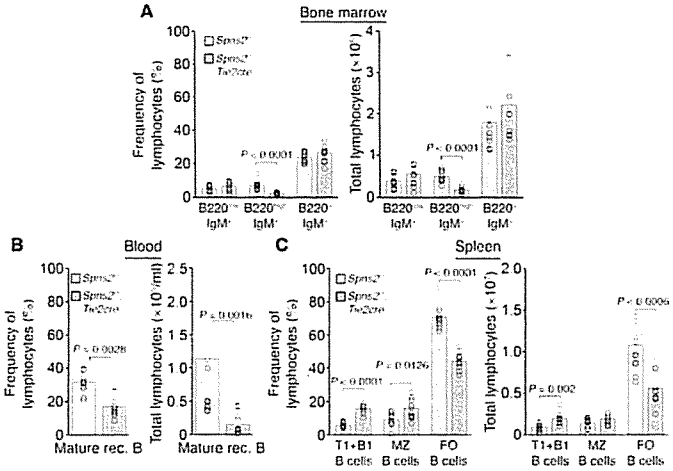


Figure 8

Spns2 expressed in ECs is required for immature B cell egress from bone marrow. (A–C) Flow cytometric analyses of lymphocytes of control (*Spns2*$^{fl/fl}$) or Spns2-ECKO (*Spns2*$^{fl/fl}$*;Tie2Cre*) mice. (A) Frequencies (left) and numbers (right) of pro–/pre–B cells (B220^{+}IgM^{-}), immature B cells (B220^{lo}IgM^{+}), and mature recirculating B cells (B220^{hi}IgM^{+}) in bone marrow are shown (n = 11). (B) Frequencies (left) and numbers (right) of mature recirculating B (Mature rec. B) cells (CD19^{+}CD23^{+}IgD^{+}) in peripheral blood are shown (n = 11). (C) Frequencies (left) and numbers (right) of T1 and B1 B cells (T1+B1), MZ, and follicular B cells in spleens are shown (n = 11). T1 and B1 B cells, MZ B cells, and follicular B cells were phenotypically defined as described in the legend of Figure 3D. In A–C, bars and circles indicate averages and values for individual mice, respectively.

Quantification of S1P using LC-MS/MS. Quantification of S1P was performed according to previously described methods (56) with minor modifications. Briefly, plasma and conditioned medium were mixed and sonicated with 10-fold volume of methanol and an internal standard (C17-S1P). Similarly, S1P extraction from cells was performed by homogenizing and sonicating cells in methanol. After centrifugation at 21,500 *g*, the resulting supernatant was recovered and used for the LC-MS/MS analysis. Then 20 μl of methanol extract was injected and separated by Nanospace LC (Shiseido) equipped with a C18 CAPCELL PAK ACR column (1.5 × 250 mm; Shiseido), using a gradient of solvent A (5 mM ammonium formate in water) and solvent B (5 mM ammonium formate in 95% [v/v] acetonitrile). Elution was sequentially ionized with an ESI probe, and the parent ion (m/z 380.2) and the fragment ion (m/z 264.2) were monitored in the positive mode by a Quantum Ultra Triple Quadrupole Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific). Similarly, other lysophospholipids, including lysophosphatidic acid (LPA), lysophosphatidylcholine (LPC), lysophosphatidylethanolamine (LPE), lysophosphatidylglycerol (LPG), lysophosphatidylinositol (LPI), and lysophosphatidylserine (LPS), were extracted with methanol and analyzed by the LC-MS/MS system. For each lysophospholipid class, 12 acyl chains (14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:3, 20:4, 20:5, 22:5, and 22:6) were monitored.

For quantification of HDL- and albumin-bound S1P, mouse plasma was subjected to size-exclusion chromatography according to previously described methods (57) with some modifications. Briefly, 100 μl of plasma was loaded onto a Superose 12 column (GE Healthcare) using an ÄKTA Explorer System (GE Healthcare) and eluted with PBS at 0.25 ml/min at 4°C. Fractions were collected every 2 minutes (0.5 ml). S1P concentration in each fraction was determined by LC-MS/MS as described above.

Biochemical and hematological test of blood. Blood was collected from WT (*Spns2*$^{+/+}$, n = 4) and *Spns2*$^{-/-}$ (*Spns2*$^{fl/fl}$, n = 4) mice via the abdominal aorta under inhalation anesthesia (isoflurane) using EDTA as an anticoagulant. Blood biochemistry parameters (total protein, total bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, triglycerol, glucose, blood urea nitrogen, and albumin) were determined by using a blood biochemical analyzer, Fuji DRI-CHEM 3500V (Fuji Film). Hematology and blood clotting parameters (white blood cells, red blood cells, platelets, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration) were determined by using an XT-1800iv hematology analyzer (Sysmex).

Antibodies and flow cytometric analysis. Unless otherwise stated, all anti-mouse monoclonal antibodies were obtained from eBiosciences Inc. Antibodies used for cell-surface staining were PE-conjugated anti-CD19 (eBio1D3), anti-CD8 (53-6.7), and anti-CD23 (B3B4); FITC-conjugated anti-B220 (RA3-6B2), anti-CD19 (1D3) (BD Biosciences), anti-CD8 (53-6.7) and anti-CD69 (H1.2F3) (BD Biosciences); APC-conjugated anti-CD62L (MEL-14) (BioLegend); Pacific Blue–conjugated anti-IgD (11-26) and anti-CD4 (RM4-5) (BD Biosciences); PeCy7-conjugated anti-IgM (II/41); and PerCP-Cy5.5 conjugated anti-CD21/CD35 (7E9) (BioLegend). Single-cell suspensions of freshly isolated thymus, spleen, peripheral lymph nodes (inguinal, axillary, and brachial), and total bone marrow cells of femur and tibia were subsequently incubated with anti-CD16/CD32 for 10 minutes, followed by staining with a combination of conjugated antibodies in FACS buffer (PBS + 4% heat-inactivated FCS + 2 mM EDTA) for 30 minutes. Before antibody staining, 250 μl of freshly isolated blood was treated with heparin solution, and red blood cells were lysed with BD Pharm Lyse solution (BD Biosciences) according to the manufacturer's protocol. Stained cells were analyzed on a FACSCanto II Flow Cytometer (BD Biosciences) equipped with blue (488 nm), violet (405 nm), and red (633 nm) lasers. FACS data were statistically analyzed with FlowJo software (TreeStar Inc.).

Histopathology and immunohistochemistry. Tissue samples from the spleen, thymus, axillary lymph nodes, mesenteric lymph nodes, and intestine (including Peyer patches) were collected from WT (*Spns2*$^{+/+}$, n = 3) and *Spns2*$^{-/-}$ (*Spns2*$^{fl/fl}$, n = 3) mice and fixed in 20% neutral phosphate-buffered formalin. Each paraffin-embedded tissue was cut into 4-μm thickness and stained with H&E for light microscopy.

For immunohistochemistry, paraffin was then removed from the sections and antigen retrieval was performed in 10 mM citrate buffer (pH 6.0) by placing the sections in a pressure cooker for 3 minutes. Endogenous peroxidase activity was blocked with 0.3% H_2O_2 in methanol. The sections were exposed to 1% BSA in PBS and were then incubated overnight at 4°C with goat anti-CD3ε (M-20; Santa Cruz Biotechnology Inc.). Immune complexes were labeled with biotinylated anti-goat IgG and streptavidin alkaline phosphatase (Nichirei). The signals were visualized with a Vector Blue Alkaline Phosphatase Substrate Kit (Vector Laboratories). For double immunostaining, sections were sequentially incubated with rat anti-CD45R (BD Biosciences — Pharmingen). Immune complexes were detected with HRP-conjugated anti-rat IgG (simple stain Max-Po; Nichirei) and 3-amino-9-ethyl carbazole (AEC) substrate system (Lab Vision) for color development.

S1P release from blood cells. Blood was collected from anesthetized WT (*Spns2*$^{+/+}$, n = 4) and *Spns2*$^{-/-}$ (*Spns2*$^{fl/fl}$, n = 4) mice via the inferior vena cava using heparinized syringes and transferred to tubes containing EDTA as an anticoagulant. Blood cells were separated from plasma by centrifugation at 1,200 *g* for 5 minutes at 4°C and washed twice with ice-cold PBS to remove plasma residues. The cells were resuspended in the ice-cold incubation buffer containing 20 mM Hepes, pH 7.4, 138 mM NaCl, 3.3 mM NaH_2PO_4, 2.9 mM KCl, 1.0 mM $MgCl_2$, 1 mg/ml glucose, and 1% fatty acid–free bovine serum albumin at a cell density of 5 × 10^6 cells/ml. Then 500 μl of blood cell suspensions (2.5 × 10^6 cells) was incubated at 4°C or at 37°C for 90 minutes. After incubation, the cells were pelleted by centrifugation at 1,200 *g* for 5 minutes at 4°C. The S1P levels in the supernatants were determined as described above. To quantify the total amount of S1P in the blood cells, cells were collected from 500 μl of cell suspensions by centrifugation at 1,200 *g* for 5 minutes at 4°C and homogenized in 100 μl of methanol.

Generation of bone marrow chimeras. Bone marrow chimeras were generated with 5 × 10^6 freshly isolated total bone marrow cells from femur and tibia of WT and Spns2 floxed mice (donor). Isolated cells were injected i.v. into lethally irradiated (900 cGY) *Spns2*$^{-/-}$ and Spns2-ECKO mice (host). Hematopoietic reconstitution of lymphoid organs of hosts by donor-derived cells was controlled 6 weeks after bone marrow transfer by genotyping of total bone marrow cells. Furthermore, lymphoid organs of reconstituted mice were FACS analyzed as described above.

In situ hybridization and immunohistochemistry on serial tissue sections. In situ hybridization and immunohistochemistry on serial tissue sections was performed by Genostaff. Briefly, the thymus, heart, lung, brain, and kidney of 8-week-old mice were dissected after perfusion, fixed with Tissue Fixative (Genostaff), and then embedded in paraffin by proprietary procedures and sectioned at 6 μm.

For in situ hybridization, tissue sections were de-waxed with xylene and rehydrated through an ethanol series and PBS. The sections were fixed with 4% paraformaldehyde in PBS for 15 minutes and then washed with PBS. The sections were treated with 8 μg/ml Proteinase K in PBS for 30 minutes at 37°C, washed with PBS, refixed with 4% paraformaldehyde in PBS, again washed with PBS, and placed in 0.2 N HCl for 10 minutes. After washing with PBS, the sections were acetylated by incubation in 0.1 M tri-ethanolamine-HCl, pH 8.0, 0.25% acetic anhydride for 10 minutes. After washing with PBS, the sections were dehydrated through a series of ethanol. The cDNA templates for Spns2 were 535-bp and 634-bp fragments corresponding to bases 1629–2163 and 2291–2924 of mouse Spns2 cDNA (GenBank NM_153060.2). Sense and antisense riboprobes for *Spns2* mRNA were synthesized using a digoxigenin RNA labeling kit (Roche) according to the manufacturer's protocol. Hybridization was performed with probes at concentrations of 300 ng/ml in the Probe Diluent-1 (Genostaff) at 60°C for 16 hours. After hybridization, the sections were washed in 5× HybriWash (Genostaff), equal to 5× SSC, at 50°C for 20 minutes and then in 50% formamide, 2× HybriWash at 50°C for 20 minutes, followed by RNase treatment in 50 μg/ml RNase A in 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 M NaCl, and 1 mM EDTA for 30 minutes at 37°C. Then the sections were washed twice with 2× HybriWash at 50°C for 20 minutes, twice with 2× HybriWash at 50°C for 20 minutes, and once with TBST (0.1% Tween 20 in TBS). After treatment with 0.5% blocking reagent (Roche) in TBST for 30 minutes, the sections were incubated with anti-DIG AP conjugate (Roche) diluted 1:1,000 with TBST for 2 hours at RT. The sections were washed twice with TBST and then incubated in 100 mM NaCl, 50 mM $MgCl_2$, 0.1% Tween 20, and 100 mM Tris-HCl, pH 9.5. Coloring reactions were performed with NBT/BCIP solution (Sigma-Aldrich) overnight and then washed with PBS. The sections were counterstained with Kernechtrot Stain Solution (Mutoh), dehydrated, and mounted with Malinol (DBS).

For immunohistochemistry, serial tissue sections were deparaffinized with xylene and rehydrated through an ethanol series and TBS. Endogenous peroxidase activity was blocked with 0.3% H_2O_2 in methanol for 30 minutes. For CD31 staining, the sections were treated with Protein Block (Dako) and avidin/biotin blocking kit (Vector), and incubated with 0.1 μg/ml of anti-CD31 rabbit polyclonal antibody (Spring Bioscience) at 4°C overnight. Immune complexes were labeled with biotin-conjugated goat anti-rabbit Ig (Dako) and peroxidase-conjugated streptavidin (Nichirei). For α-SMA staining, sections were treated with Blocking Reagent A (Nichirei) and incubated with anti-α-SMA mouse monoclonal antibody (Dako) at 4°C overnight. The sections were then blocked with Blocking Reagent B (Nichirei) and incubated with Simple Stain Mouse MAX-PO (M) (Nichirei). Peroxidase activity was visualized by diaminobenzidine. The sections were counterstained with Mayer's hematoxylin, dehydrated, and mounted with Malinol (Muto).

Statistics. Data were analyzed using GraphPad Prism software (GraphPad Software Inc.). Statistical significance was determined using a 2-tailed Mann-Whitney U test for paired samples or 1-way ANOVA and nonparametric tests for multiple groups. P < 0.05 was considered statistically significant.

Study approval. All animal experiments were approved by the animal committee of the National Cerebral and Cardiovascular Center and performed according to the regulations of the National Cerebral and Cardiovascular Center.

Acknowledgments

We thank T.N. Sato and M. Yanagisawa (Nara Institute of Science and Technology and University of Texas Southwestern Medical Center, respectively) for Tie2Cre mice. We are also grateful to K. Hiratomi, W. Koeda, M. Sone, H. Yonekawa, and Y. Matsuura for technical assistance, and to K. Shioya for providing excellent animal facilities. This work was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, "Fluorescence Live Imaging" (No. 22113009 to S. Fukuhara and No. 22113007 to M. Ishii) and "Neuro-Vascular Wiring" (No. 22122003 to N. Mochizuki), of The Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan; and by grants from the Japan Society for the Promotion of Science (to S. Fukuhara, M. Ishii, and N. Mochizuki); the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan (to N. Mochizuki); the Program for the Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (to S. Fukuhara and N. Mochizuki); a grant from the International Human Frontier Science Program (to M. Ishii); the Takeda Science Foundation (to M. Ishii and N. Mochizuki); the Mitsubishi Foundation (to N. Mochizuki); the Japan Cardiovascular Research Foundation (to S. Fukuhara); and an AstraZeneca research grant (to N. Mochizuki).

Received for publication August 30, 2011, and accepted in revised form January 30, 2012.

Downloaded on April 10, 2013. The Journal of Clinical Investigation. More information at www.jci.org/articles/view/60746

Address correspondence to: Shigeromo Fukuhara or Naoki Mochizuki, Department of Cell Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan. Phone: 81.6.6833.5012; Fax: 81.6.6835.5461; E-mail: fuku@ri.ncvc.go.jp (S. Fukuhara), nmochizu@ri.ncvc.go.jp (N. Mochizuki). Or to: Masaru Ishii, Laboratory of Cellular Dynamics, WPI-Immunology Frontier Research Center, Osaka University, 3-1 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan. Phone: 81.6.6879.4268; Fax: 81.6.6879.8296; E-mail: mishii@ifrec.osaka-u.ac.jp.

1. Chi H. Sphingosine-1-phosphate and immune regulation: trafficking and beyond. *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32(1):16–24.
2. Cyster JG. Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:127–159.
3. Hla T. Physiological and pathological actions of sphingosine 1-phosphate. *Semin Cell Dev Biol.* 2004; 15(5):513–520.
4. Rivera J, Proia RL, Olivera A. The alliance of sphingosine-1-phosphate and its receptors in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(10):753–763.
5. Spiegel S, Milstien S. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(6):403–415.
6. Alvarez SE, et al. Sphingosine-1-phosphate is a missing cofactor for the E3 ubiquitin ligase TRAF2. *Nature.* 2010;465(7301):1084–1088.
7. Allende ML, Dreier JL, Mandala S, Proia RL. Expression of the sphingosine 1-phosphate receptor, S1P1, on T-cells controls thymic emigration. *J Biol Chem.* 2004;279(15):15396–15401.
8. Matloubian M, et al. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature.* 2004;427(6972):355–360.
9. Pappu R, et al. Promotion of lymphocyte egress into blood and lymph by distinct sources of sphingosine-1-phosphate. *Science.* 2007;316(5822):295–298.
10. Schwab SR, Pereira JP, Matloubian M, Xu Y, Huang Y, Cyster JG. Lymphocyte sequestration through S1P lyase inhibition and disruption of S1P gradients. *Science.* 2005;309(5741):1735–1739.
11. Brinkmann V, et al. The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors. *J Biol Chem.* 2002;277(24):21453–21457.
12. Graler MH, Goetzl EJ. The immunosuppressant FTY720 down-regulates sphingosine 1-phosphate G-protein-coupled receptors. *FASEB J.* 2004; 18(3):551–553.
13. Mandala S, et al. Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine-1-phosphate receptor agonists. *Science.* 2002;296(5566):346–349.
14. Brinkmann V, et al. Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(11):883–897.
15. Allende ML, Tuymetova G, Lee BG, Bonifacino E, Wu YP, Proia RL. S1P1 receptor directs the release of immature B cells from bone marrow into blood. *J Exp Med.* 2010;207(5):1113–1124.
16. Pereira JP, Xu Y, Cyster JG. A role for S1P and S1P1 in immature-B cell egress from mouse bone marrow. *PLoS One.* 2010;5(2):e9277.
17. Schwab SR, Cyster JG. Finding a way out: lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nat Immunol.* 2007; 8(12):1295–1301.
18. Breart B, et al. Lipid phosphate phosphatase 3 enables efficient thymic egress. *J Exp Med.* 2011; 208(6):1267–1278.
19. Zachariah MA, Cyster JG. Neural crest-derived pericytes promote egress of mature thymocytes at the corticomedullary junction. *Science.* 2010; 328(5982):1129–1135.
20. Pham TH, et al. Lymphatic endothelial cell sphingosine kinase activity is required for lymphocyte egress and lymphatic patterning. *J Exp Med.* 2010; 207(1):17–27.
21. Spiegel S, Milstien S. Functions of the multifaceted family of sphingosine kinases and some close relatives. *J Biol Chem.* 2007;282(4):2125–2129.
22. Kim RH, Takabe K, Milstien S, Spiegel S. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1791(7):692–696.
23. Hanel P, Andreani P, Graler MH. Erythrocytes store and release sphingosine 1-phosphate in blood. *FASEB J.* 2007;21(4):1202–1209.
24. Kobayashi N, et al. Sphingosine 1-phosphate is released from the cytosol of rat platelets in a carrier-mediated manner. *J Lipid Res.* 2006;47(3):614–621.
25. Yang L, Yatomi Y, Miura Y, Satoh K, Ozaki Y. Metabolism and functional effects of sphingolipids in blood cells. *Br J Haematol.* 1999;107(2):282–293.
26. Yatomi Y, et al. Sphingosine 1-phosphate, a bioactive sphingolipid abundantly stored in platelets, is a normal constituent of human plasma and serum. *J Biochem.* 1997;121(5):969–973.
27. Ito K, et al. Lack of sphingosine 1-phosphate-degrading enzymes in erythrocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;357(1):212–217.
28. Olivera A, et al. The sphingosine kinase-sphingosine-1-phosphate axis is a determinant of mast cell function and anaphylaxis. *Immunity.* 2007; 26(3):287–297.
29. Kobayashi N, Kobayashi N, Yamaguchi A, Nishi T. Characterization of the ATP-dependent sphingosine 1-phosphate transporter in rat erythrocytes. *J Biol Chem.* 2009;284(32):21192–21200.
30. Mitra P, Oskeritzian CA, Payne SG, Beaven MA, Milstien S, Spiegel S. Role of ABCC1 in export of sphingosine-1-phosphate from mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(44):16394–16399.
31. Sato K, et al. Critical role of ABCA1 transporter in sphingosine 1-phosphate release from astrocytes. *J Neurochem.* 2007;103(6):2610–2619.
32. Takabe K, et al. Estradiol induces export of sphingosine 1-phosphate from breast cancer cells via ABCC1 and ABCG2. *J Biol Chem.* 2010; 285(14):10477–10486.
33. Kawahara A, Nishi T, Hisano Y, Fukui H, Yamaguchi A, Mochizuki N. The sphingolipid transporter spns2 functions in migration of zebrafish myocardial precursors. *Science.* 2009;323(5913):524–527.
34. Osborne N, et al. The spinster homolog, two of hearts, is required for sphingosine 1-phosphate signaling in zebrafish. *Curr Biol.* 2008; 18(23):1882–1888.
35. Campbell JJ, Pan J, Butcher EC. Cutting edge: developmental switches in chemokine responses during T cell maturation. *J Immunol.* 1999;163(5):2353–2357.
36. Weinreich MA, Hogquist KA. Thymic emigration: when and how T cells leave home. *J Immunol.* 2008;181(4):2265–2270.
37. Ge Q, Chen WF. Phenotypic identification of the subgroups of murine T-cell receptor alphabeta+ CD4- CD8- thymocytes and its implication in the late stage of thymocyte development. *Immunology.* 1999;97(4):665–671.
38. Tian T, Zhang J, Gao L, Qian XP, Chen WF. Heterogeneity within medullary-type TCRalphabeta+CD3+CD4-CD8- thymocytes in normal mouse thymus. *Int Immunol.* 2001;13(3):313–320.
39. Rosen H, Alfonso C, Surh CD, McHeyzer-Williams MG. Rapid induction of medullary thymocyte phenotypic maturation and egress inhibition by nanomolar sphingosine 1-phosphate receptor agonist. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(19):10907–10912.
40. Argraves KM, Argraves WS. HDL serves as a S1P signaling platform mediating a multitude of cardiovascular effects. *J Lipid Res.* 2007;48(11):2325–2333.
41. Sato K, Okajima F. Role of sphingosine 1-phosphate in anti-atherogenic actions of high-density lipoprotein. *World J Biol Chem.* 2010;1(11):327–337.
42. Aoki S, et al. Sphingosine 1-phosphate-related metabolism in the blood vessel. *J Biochem.* 2005; 138(1):47–55.
43. Lee YM, Venkataraman K, Hwang SI, Han DK, Hla T. A novel method to quantify sphingosine 1-phosphate by immobilized metal affinity chromatography (IMAC). *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2007;84(3–4):154–162.
44. Venkataraman K, et al. Vascular endothelium as a contributor of plasma sphingosine 1-phosphate. *Circ Res.* 2008;102(6):669–676.
45. Kisanuki YY, Hammer RE, Miyazaki J, Williams SC, Richardson JA, Yanagisawa M. Tie2-Cre transgenic mice: a new model for endothelial cell-lineage analysis in vivo. *Dev Biol.* 2001;230(2):230–242.
46. Schlaeger TM, et al. Uniform vascular-endothelial-cell-specific gene expression in both embryonic and adult transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94(7):3058–3063.
47. Takakura N, et al. A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. *Cell.* 2000; 102(2):199–209.
48. Liu Y, et al. Edg-1, the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, is essential for vascular maturation. *J Clin Invest.* 2000;106(8):951–961.
49. Takada K, et al. Kruppel-like factor 2 is required for trafficking but not quiescence in postactivated T cells. *J Immunol.* 2011;186(2):775–783.
50. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(2):107–116.
51. Osmond DG, Batten SJ. Genesis of B lymphocytes in the bone marrow: extravascular and intravascular localization of surface IgM-bearing cells in mouse bone marrow detected by electron-microscope radioautography after in vivo perfusion of 125I anti-IgM antibody. *Am J Anat.* 1984; 170(3):349–365.
52. Pereira JP, An J, Xu Y, Huang Y, Cyster JG. Cannabinoid receptor 2 mediates the retention of immature B cells in bone marrow sinusoids. *Nat Immunol.* 2009;10(4):403–411.
53. Yagi T, et al. A novel ES cell line, TT2, with high germline-differentiating potency. *Anal Biochem.* 1993; 214(1):70–76.
54. Zhang J, et al. Angiopoietin-1/Tie2 signal augments basal Notch signal controlling vascular quiescence by inducing delta-like 4 expression through AKT-mediated activation of beta-catenin. *J Biol Chem.* 2011;286(10):8055–8066.
55. Fukuhara S, et al. Differential function of Tie2 at cell-cell contacts and cell-substratum contacts regulated by angiopoietin-1. *Nat Cell Biol.* 2008; 10(5):513–526.
56. Inoue A, Arima N, Ishiguro J, Prestwich GD, Arai H, Aoki J. LPA-producing enzyme PA-PLA(1)alpha regulates hair follicle development by modulating EGFR signalling. *EMBO J.* 2011;19(16):4248–4260.
57. Tanaka M, Kishi Y, Takanezawa Y, Kakehi Y, Aoki J, Arai H. Prostatic acid phosphatase degrades lysophosphatidic acid in seminal plasma. *FEBS Lett.* 2004;571(1–3):197–204.

Circulation
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart Association.

Very Late Stent Thrombosis and Late Target Lesion Revascularization After Sirolimus-Eluting Stent Implantation : Five-Year Outcome of the j-Cypher Registry

Takeshi Kimura, Takeshi Morimoto, Yoshihisa Nakagawa, Kazuya Kawai, Shunichi Miyazaki, Toshiya Muramatsu, Nobuo Shiode, Masanobu Namura, Takahito Sone, Shigeru Oshima, Hideo Nishikawa, Yoshikazu Hiasa, Yasuhiko Hayashi, Masakiyo Nobuyoshi, Kazuaki Mitudo and on Behalf of the j-Cypher Registry Investigators

Circulation. 2012;125:584-591; originally published online December 27, 2011;
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.046599
Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231
Copyright © 2011 American Heart Association, Inc. All rights reserved.
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://circ.ahajournals.org/content/125/4/584

Data Supplement (unedited) at:
http://circ.ahajournals.org/content/suppl/2011/12/27/CIRCULATIONAHA.111.046599.DC1.html

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Circulation* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
http://www.lww.com/reprints

Subscriptions: Information about subscribing to *Circulation* is online at:
http://circ.ahajournals.org//subscriptions/

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Very Late Stent Thrombosis and Late Target Lesion Revascularization After Sirolimus-Eluting Stent Implantation

Five-Year Outcome of the j-Cypher Registry

Takeshi Kimura, MD; Takeshi Morimoto, MD; Yoshihisa Nakagawa, MD; Kazuya Kawai, MD; Shunichi Miyazaki, MD; Toshiya Muramatsu, MD; Nobuo Shiode, MD; Masanobu Namura, MD; Takahito Sone, MD; Shigeru Oshima, MD; Hideo Nishikawa, MD; Yoshikazu Hiasa, MD; Yasuhiko Hayashi, MD; Masakiyo Nobuyoshi, MD; Kazuaki Mitudo, MD; on Behalf of the j-Cypher Registry Investigators

Background—There is a scarcity of long-term data from large-scale drug-eluting stent registries with a large enough sample to evaluate low-frequency events such as stent thrombosis (ST).

Methods and Results—Five-year outcomes were evaluated in 12 812 consecutive patients undergoing sirolimus-eluting stent (SES) implantation in the j-Cypher registry. Cumulative incidence of definite ST was low (30 day, 0.3%; 1 year, 0.6%; and 5 years, 1.6%). However, late and very late ST continued to occur without attenuation up to 5 years after sirolimus-eluting stent implantation (0.26%/y). Cumulative incidence of target lesion revascularization within the first year was low (7.3%). However, late target lesion revascularization beyond 1 year also continued to occur without attenuation up to 5 years (2.2%/y). Independent risk factors of ST were completely different according to the timing of ST onset, suggesting the presence of different pathophysiological mechanisms of ST according to the timing of ST onset: acute coronary syndrome and target of proximal left anterior descending coronary artery for early ST; side-branch stenting, diabetes mellitus, and end-stage renal disease with or without hemodialysis for late ST; and current smoking and total stent length >28 mm for very late ST. Independent risk factors of late target lesion revascularization beyond 1 year were generally similar to those risk factors identified for early target lesion revascularization.

Conclusion—Late adverse events such as very late ST and late target lesion revascularization are continuous hazards, lasting at least up to 5 years after implantation of the first-generation drug-eluting stents (sirolimus-eluting stents), which should be the targets for developing improved coronary stents. **(*Circulation*. 2012;125:584-591.)**

Key Words: coronary artery disease ■ prognosis ■ restenosis ■ stents ■ thrombosis

Coronary drug-eluting stents (DES) have been used widely in clinical practice. Results from several randomized, controlled trials and registries comparing mid-term (2–3 years) outcome between bare metal stents (BMS) and DES are generally reassuring for DES use with a marked reduction of target lesion revascularization (TLR) without major safety issues.[1,2] However, in contrast to the clinical course after BMS implantation,[3] late adverse events such as very late stent thrombosis (VLST) and late TLR are reported to continue occurring beyond 1 year up to 3 to 4 years after DES implantation.[4,5] Despite lingering concerns about DES-related late adverse events, there is a scarcity of longer-term data from large-scale DES registries with adequate statistical power to evaluate low-frequency events such as stent thrombosis (ST).

Editorial see p 562
Clinical Perspective on p 591

In the present report, we comprehensively evaluated 5-year clinical outcome after sirolimus-eluting stent (SES) implan-

Continuing medical education (CME) credit is available for this article. Go to http://cme.ahajournals.org to take the quiz.
Received May 31, 2011; accepted November 7, 2011.
From the Kyoto University, Kyoto (T.K., T. Morimoto); Tenri Hospital, Tenri City (Y.N.); Chikamori Hospital, Kochi City (K.K.); National Cardiovascular Center, Osaka (S.M.); Kawasaki Social Insurance Hospital, Kawasaki City (T. Muramatsu); Matsue Red Cross Hospital, Matsue (N.S.); Kanazawa Cardiovascular Hospital, Kanazawa (M. Namura); Ogaki Municipal Hospital, Ogaki (T.S.); Gunma Prefecture Cardiovascular Center, Maebashi (S.O.); Mie Heart Center, Mie (H.N.); Tokushima Red Cross Hospital, Komatsushima City (Y. Hiasa); Tsuchiya General Hospital, Hiroshima (Y. Hayashi); Kokura Memorial Hospital, Kokura (M. Nobuyoshi); and Kurashiki Central Hospital, Kurashiki (K.M.), Japan.
The online-only Data Supplement is available with this article at http://circ.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.046599/-/DC1.
Correspondence to Takeshi Kimura, MD, Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, 54 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan. E-mail taketaka@kuhp.kyoto-u.ac.jp
© 2011 American Heart Association, Inc.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

資料-26

tation in a large observational database in a real-world clinical practice in Japan.

Methods

Study Population

The j-Cypher registry is a physician-initiated, prospective, multicenter observational study in Japan enrolling consecutive patients undergoing SES implantation. The design, enrollment status, and 2-year follow-up results were previously reported in detail.[6] From August 2004 to November 2006, 12 824 consecutive patients undergoing an attempt of at least 1 SES implantation were enrolled in the registry. After exclusion of 2 patients with procedural failure, 4 patients without stent use, and 6 patients with BMS use only, the study population consisted of 12 812 patients treated with at least 1 SES (19 662 lesions; Figures I and II in the online-only Data Supplement). The relevant review boards in all 37 participating centers (Appendix A in the online-only Data Supplement) approved the study protocol. Written informed consent was obtained from all patients.

Collection of 5-year follow-up information was conducted mainly through review of inpatient and outpatient hospital charts by the site investigators or experienced research coordinators in the independent research organization (Research Institute for Production Development, Kyoto, Japan; Appendix B in the online-only Data Supplement). Additional follow-up information was collected through contact with patients, relatives, or referring physicians by mailing a questionnaire on vital status, additional hospitalizations, and status of antiplatelet therapy. Telephone calls to patients were also conducted in several centers. Patients who were lost to follow-up were censored on the last day with follow-up information. When death, myocardial infarction (MI), and ST were reported, the events were adjudicated by use of the original source documents by an clinical events committee (Appendix C in the online-only Data Supplement). Adjudication of TLR events was left to the judgment of the site investigators. Median follow-up interval for the surviving patients was 1699 days (interquartile range, 1184–1928 days). Clinical follow-up was completed in 12 540 patients (98%) at 1 year, in 11 839 patients (92%) at 2 years, and in 10 667 patients (83%) at 3 years. Five-year clinical follow-up was completed in 4301 patients (77%) among 5563 patients eligible for 5-year follow-up.

End Points and Definitions

Death was regarded as cardiac in origin unless obvious noncardiac causes could be identified. Any death during the index hospitalization was regarded as cardiac death. Sudden death was defined as unexplained death in previously stable patients. MI was adjudicated according to the definition in the Arterial Revascularization Therapy Study.[7] ST was defined according to the Academic Research Consortium definition.[8] Unless otherwise noted, definite ST in SES-treated lesions assessed on a patient basis was used as the end point for ST. TLR was defined as either percutaneous coronary intervention or coronary artery bypass grafting surgery resulting from restenosis or thrombosis of the SES-treated target lesion that included the proximal and distal edge segments and the ostium of the side branches. ST and TLR were counted on a patient basis. Events related to non–SES-treated lesions were not included in the evaluation of ST and TLR but were included in the evaluation of MI and any coronary revascularization. Stroke during follow-up was defined as ischemic or hemorrhagic stroke requiring hospitalization with symptoms lasting >24 hours.

Antiplatelet Therapy

The recommended antiplatelet regimen was aspirin (≥81 mg daily) indefinitely and thienopyridine (200 mg ticlopidine or 75 mg clopidogrel daily) for at least 3 months. Duration of antiplatelet therapy was left to the discretion of each attending physician. Status of antiplatelet therapy was evaluated throughout the follow-up period as previously described.[6] Persistent discontinuation of thienopyridine was defined as withdrawal lasting at least 2 months.

Table 1. Baseline Characteristics

Characteristic	
Patients, n	12 812
Age, y	68.4±10.3
≥80 y, n (%)*	1664 (13)
Male, n (%)*	9643 (75)
Body mass index, kg/m^2	23.9±3.4
<25.0 kg/m^2, n (%)*	8332 (65)
Hypertension, n (%)*	9550 (75)
Diabetes mellitus, n (%)*	5312 (41)
Insulin-treated	1203 (9.4)
Current smoking, n (%)*	2604 (20)
ESRD, n (%)	
Without hemodialysis*	628 (4.9)
On hemodialysis*	680 (5.3)
Acute coronary syndrome, n (%)*	3178 (25)
STEMI	1253 (9.8)
Non-STEMI	306 (2.4)
Unstable angina	1619 (13)
Prior myocardial infarction, n (%)*	3484 (27)
Prior stroke, n (%)*	1218 (9.5)
Peripheral vascular disease, n (%)*	1523 (12)
Prior heart failure, n (%)*	1791 (14)
Prior PCI, n (%)*	5945 (46)
Prior CABG, n (%)*	918 (7.2)
Multivessel disease, n (%)	7049 (55)
Target of proximal LAD, n (%)*	6590 (51)
Target of unprotected LMCA, n (%)*	582 (4.5)
Target of in-stent restenosis, n (%)*	1947 (15)
Target of chronic total occlusion, n (%)*	1590 (12)
Side-branch stenting, n (%)*	730 (5.7)
Ejection fraction, %	57.8±13.4
≤40%, n (%)	1256 (11)
Vessels treated, n	1.32±0.56
Multivessel stenting, n (%)	3568 (28)
Lesions treated, n	1.53±0.8
Reference vessel diameter pre <2.5 mm, n (%)*	4618 (37)
Total stents per patient, n	1.99±1.29
Total length of stents per patient, mm	42.5±28.3
Total length of stents >28 mm, n (%)*	7103 (55)
Use of intravascular ultrasound, n (%)*	6063 (48)

ESRD indicates end-stage renal disease; STEMI, ST-segment–elevation myocardial infarction; PCI, percutaneous coronary intervention; CABG, coronary artery bypass grafting; LAD, left anterior descending coronary artery; and LMCA, left main coronary artery. There were missing values in 4 patients for body mass index, in 7 patients for in-stent restenosis, in 25 patients for chronic total occlusion, in 10 patients for side-branch stenting, in 1698 patients for ejection fraction, in 236 patients for reference vessel diameter pre, in 5 patients for total stent length per patient, and in 51 patients for use of intravascular ultrasound.

*Variables used for multivariable analyses evaluating independent risk factors for stent thrombosis and target lesion revascularization.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 2. Baseline Lesion and Procedural Characteristics

Characteristic	
Lesions, n	19 662
Lesion location, n (%)	
LAD	7840 (40)
LCx	4344 (22)
RCA	6623 (34)
LMCA	686 (3.5)
Saphenous vein graft	144 (0.7)
In-stent restenosis, n (%)	2196 (11)
Chronic total occlusion, n (%)	1794 (9.1)
Severe calcification, n (%)	1786 (9.1)
Bifurcation lesion, n (%)	3715 (19)
Side-branch stenting, n (%)	757 (3.9)
Lesion length ≥30 mm, n (%)	2832 (15)
Reference vessel diameter pre <2.5 mm, n (%)	5744 (30)
Use of intravascular ultrasound, n (%)	8213 (42)
Direct stenting, n (%)	4274 (22)
Postdilatation, n (%)	8193 (44)
Maximum inflation pressure, atm	17.8±3.4
Stents used per lesion, n	1.3±0.73
Length of stents used per lesion, mm	29.7±17.1
Minimal stent size, mm	2.89±0.39

LAD indicates left anterior descending coronary artery; LCx, left circumflex coronary artery; RCA, right coronary artery; and LMCA, left main coronary artery. There were missing values in 13 lesions for in-stent restenosis, in 42 lesions for chronic total occlusion, in 11 lesions for bifurcation lesion, in 10 lesions for side-branch stenting, in 407 lesions for lesion length, in 364 lesions for reference vessel diameter pre, in 100 lesions for use of intravascular ultrasound, in 81 lesions for postdilatation, in 245 lesions for maximum inflation pressure, in 41 lesions in length of stents used per lesion, and in 42 lesions for minimal stent size.

Statistical Analysis

Categorical variables are expressed as number and percentages. Continuous variables are expressed as mean±SD unless otherwise indicated. Cumulative incidences were calculated by the Kaplan-Meier method, and differences were assessed with the log-rank test. As a result of a potential competing risk issue, cumulative incidence estimates of definite ST and TLR accounting for competing mortality were also calculated.[9]

Consistent with our previous report,[6] a Cox proportional hazard model was used to identify independent risk factors of ST (early, late, and very late) and TLR (within the first year and beyond 1 year). We used the 23 variables listed in Table 1 as potential independent variables. Multivessel stenting included in the previous report was excluded because of its significant correlation with total stent length >28 mm.[6] We did not include treatment of multiple lesions as a potential independent variable, also because of its significant correlation with total stent length >28 mm. We adjusted for the center effect by using center as a stratification variable. The continuous variables were dichotomized by clinically meaningful reference values or median values. To determine the independent risk factors, we first selected variables with values of $P<0.05$ in the univariate Cox models, and we confirmed that proportional hazard assumptions were acceptable on the plots of log (time) versus log [−log (survival)] stratified by the variables. We then included them simultaneously in the multivariable models and obtained the adjusted hazard ratios and their 95% confidence intervals. We imputed the missing values of potential independent variables in the multivariable analysis. In terms of the method for imputation, missing values for the categorical variables were regarded as absent, and missing values for the continuous variables were assigned to the dominant group after dichotomization of the continuous variables. Missing values for variables such as in-stent restenosis, chronic total occlusion, and use of intravascular ultrasound were regarded as absent. Missing values for reference vessel diameter pre <2.5 mm were regarded as absent, whereas missing values for body mass index <25.0 kg/m^2 and total stent length per patient >28 mm were regarded as present. In evaluating risk factors for late and very late ST, we included only those patients who completed the 30-day and 1-year follow-up without ST, respectively. Similarly, eligible patients for risk factor analysis for TLR beyond 1 year were those patients who completed the 1-year follow-up without TLR.

All statistical analyses were performed by a physician (T. K.) and a statistician (T. Morimoto) using JMP 8.0 and SAS 9.2 (SAS Institute Inc, Cary, NC). All reported P values were 2 sided, and values of $P<0.05$ were regarded as statistically significant.

Table 3. Clinical Event Rates Through 5 Years

	Events, n (Cumulative Incidence, %)		
	30 d	1 y	5 y
Death	94 (0.7)	515 (4.1)	1545 (14.4)
Cardiac death	92 (0.7)	300 (2.4)	727 (6.9)
Sudden death	10 (0.1)	87 (0.7)	248 (2.5)
Myocardial infarction	49 (0.4)	138 (1.1)	388 (3.8)
Stent thrombosis			
Definite	44 (0.3)	70 (0.6)	164 (1.6)
Definite/probable	62 (0.5)	98 (0.8)	209 (2.0)
Definite /probable /possible	64 (0.5)	192 (1.5)	545 (5.4)
Stroke	50 (0.4)	241 (1.9)	604 (5.9)
Target lesion revascularization	64 (0.5)	905 (7.3)	1703 (15.9)
Non–target lesion revascularization	274 (2.2)	1996 (16.1)	9769 (31.2)
Coronary artery bypass grafting surgery	13 (0.1)	111 (0.9)	268 (2.7)
Any coronary revascularization	347 (2.7)	2668 (21.5)	4282 (38.6)
Death/myocardial infarction	136 (1.1)	614 (4.8)	1817 (16.9)
Death/myocardial infarction/stroke	183 (1.4)	800 (6.3)	2212 (20.3)
Death/myocardial infarction/stroke/any coronary revascularization	491 (3.8)	3281 (25.9)	5668 (49.1)

Incidences of events were calculated by the Kaplan-Meier method.

Results

Baseline Characteristics

The study population reflected the real-world clinical practice in Japan, including large proportions of patients with advanced age, diabetes mellitus, prior percutaneous coronary intervention, multivessel disease, small-vessel disease, multivessel stenting, and intravascular ultrasound use and significant proportions of patients with end-stage renal disease, prior stroke, prior heart failure, target of in-stent restenosis, and target of chronic total occlusion. The prevalence of acute coronary syndrome was relatively low (Tables 1 and 2).

Clinical Outcome Through 5 Years

Cumulative incidence of all-cause death was 14.4% at 5 years after SES implantation (Table 3 and Figure 1A). Cardiac death and sudden death constituted 47% and 16% of all-cause

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

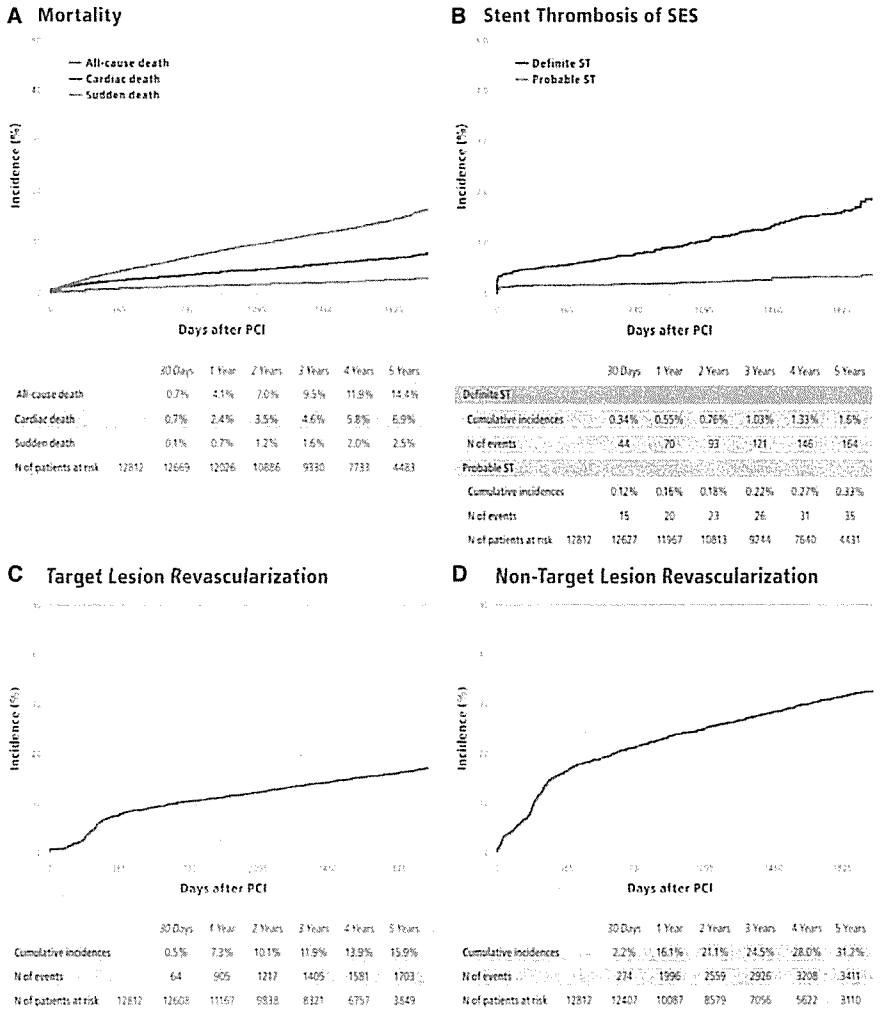


Figure 1. Crude cumulative incidences of all-cause death, cardiac death, and sudden death (**A**), Academic Research Consortium (ARC) definite stent thrombosis (ST) of sirolimus-eluting stent (SES)–treated lesion (**B**), target lesion revascularization of SES-treated lesion (**C**), and non–target lesion revascularization (**D**). PCI indicates percutaneous coronary intervention.

death, respectively. The annual incidences of sudden death remained constant beyond 1 month after SES implantation through 5 years (0.49%/y; Figure 1A).

Cumulative incidence of definite ST was low (30 day, 0.3%; 1 year, 0.6%; and 5 years, 1.6%). However, late ST and VLST continued to occur constantly without attenuation up to 5 years after SES implantation (0.26%/y; Table 3 and Figure 1B). Incidence estimates of definite ST accounting for competing risk were quite similar to the crude cumulative incidences presented above (30 day, 0.3%; 1 year, 0.5%; and 5 years, 1.5%). Among 172 ST events through 5 years (early, 44 events; late, 26 events; and very late, 102 events), 151 events (88%) resulted in MI. ST was the cause of MI during follow-up in 37% of 410 MI episodes. Regarding the status of antiplatelet therapy at the time of ST, the proportion of patients on dual antiplatelet therapy decreased with time

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

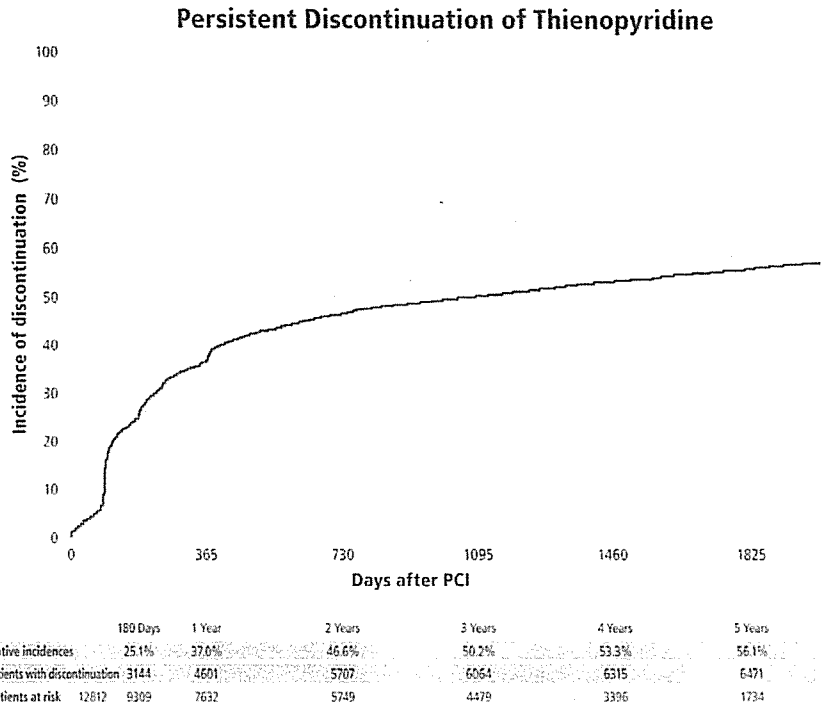


Figure 2. Crude cumulative incidence of persistent discontinuation of thienopyridine. Persistent discontinuation was defined as withdrawal lasting for at least 2 months. PCI indicates percutaneous coronary intervention.

(early ST, 89%; late ST, 54%; and VLST, 32%). It was noteworthy that 27% of patients with late ST and 13% of patients with VLST had discontinued both aspirin and thienopyridine before the onset of ST (Table I in the online-only Data Supplement).

The cumulative incidence of TLR within the first year was relatively low (7.3%) with a high rate (61%) of angiographic follow-up within the first year. However, late TLR beyond 1 year also continued to occur constantly without attenuation up to 5 years after SES implantation (2.2%/y; Table 3 and Figure 1C). The cumulative incidence of TLR at 5 years was 15.9%. Incidence estimates of TLR accounting for competing mortality were also similar to the crude cumulative incidences presented above (1 year, 7.2%; 5 years, 15.0%). The cumulative incidence of non-TLR at 5 years was also high (31.2%) with a constant rate of 3.8%/y beyond 1 year (Table 3 and Figure 2D).

In terms of the status of antiplatelet therapy, the cumulative incidence of persistent discontinuation of thienopyridine was 25.1% at 6 months, 37.0% at 1 year, and 56.1% at 5 years after index SES implantation (Figure 2).

Risk Factors of ST According to the Timing of ST Onset

Independent risk factors of ST were completely different according to the timing of ST onset (Table 4 and Tables II–IV in the online-only Data Supplement): acute coronary syndrome and target of proximal left anterior descending coronary artery lesions for early ST; side-branch stenting, diabetes mellitus, and end-stage renal disease with or without hemodialysis for late ST; and current smoking at the time of the index procedure and total stent length >28 mm for VLST.

Risk Factors of Early and Late TLR

Independent risk factors of early TLR within 1 year included hemodialysis, side-branch stenting, total stent length >28 mm, prior coronary artery bypass grafting, target of in-stent restenosis, diabetes mellitus, target of chronic total occlusion, and reference vessel diameter pre <2.5 mm (Table 4 and Table VI in the online-only Data Supplement). Independent risk factors of late TLR beyond 1 year were generally similar to those risk factors identified for early TLR, including hemodialysis, total stent length >28 mm, reference vessel

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 4. Univariate and Multivariable Correlates for Stent Thrombosis and Target Lesion Revascularization

Variables	Present Events/Patients, n (30-d Incidence, %)	Absent Events/Patients, n (30-d Incidence, %)	Univariate HR (95% CI)	Univariate P	Multivariable HR (95% CI)	Multivariable P
Early ST						
Acute coronary syndrome	19/3178 (0.6)	25/9634 (0.3)	2.32 (1.26–4.19)	0.008	2.34 (1.25–4.41)	0.008
Proximal LAD target	30/6590 (0.5)	14/6222 (0.2)	2.03 (1.1–3.94)	0.02	1.99 (1.05–3.78)	0.03
Late ST						
Side-branch stenting	7/708 (1.0)	19/11 919 (0.2A)	6.22 (2.43–14.14)	<0.001	6.01 (2.15–16.81)	<0.001
ESRD on hemodialysis	7/680 (1.2)	19/12 132 (0.2)	7.19 (2.81–16.4)	0.0002	5.63 (2.15–14.76)	<0.001
Diabetes mellitus	20/5312 (0.4)	6/7500 (0.1)	4.75 (2.03–13.0)	0.0002	3.86 (1.51–9.88)	0.005
ESRD without hemodialysis	4/628 (0.7)	22/12 184 (0.2)	3.86 (1.13–10.1)	0.03	3.83 (1.23–11.93)	0.02
Body mass index <25.0 kg/m^2	22/8195 (0.3)	4/4432 (0.1)	3.0 (1.15–10.26)	0.02	2.76 (0.94–8.09)	0.06
Prior CABG	5/918 (0.6)	21/11 894 (0.2)	3.12 (1.04–7.64)	0.04	2.47 (0.9–6.78)	0.08
Target of unprotected LMCA	4/582 (0.7)	22/12 230 (0.2)	3.93 (1.15–10.3)	0.03	1.71 (0.52–5.64)	0.38
Very late ST						
Current smoking	37/2604 (2.0)	65/10 208 (0.8)	2.32 (1.53–3.45)	0.0001	2.04 (1.34–3.11)	<0.001
Total stent length >28 mm	67/6582 (1.3)	35/5370 (0.8)	1.66 (1.11–2.53)	0.01	1.58 (1.04–2.41)	0.03
Male sex	88/9643 (1.2)	14/3169 (0.6)	2.0 (1.18–3.66)	0.009	1.63 (0.91–2.91)	0.1
Age ≥80 y	4/1664 (0.3)	98/11 050 (1.1)	0.36 (0.11–0.87)	0.02	0.46 (0.17–1.26)	0.13
TLR within 1 y						
ESRD on hemodialysis	145/680 (24.2)	760/12 132 (6.5)	4.23 (3.53–5.04)	<0.0001	3.72 (3.07–4.51)	<0.001
Side-branch stenting	122/730 (17.6)	783/12 082 (6.7)	2.75 (2.26–3.32)	<0.001	1.98 (1.61–2.44)	<0.001
Total stent length >28 mm	672/7108 (9.9)	233/5704 (4.2)	2.4 (2.07–2.8)	<0.001	1.89 (1.61–2.21)	<0.001
Prior CABG	103/918 (11.8)	802/11 894 (7.0)	1.73 (1.4–2.11)	<0.0001	1.59 (1.29–1.96)	<0.001
Diabetes mellitus	391/5312 (10.5)	457/7500 (8.3)	1.72 (1.51–1.96)	<0.0001	1.44 (1.26–1.65)	<0.001
Reference vessel diameter pre <2.5 mm	375/4618 (8.5)	530/8194 (6.7)	1.26 (1.12–1.46)	<0.001	1.38 (1.19–1.59)	<0.001
Target of ISR	186/1947 (9.9)	719/10 865 (6.9)	1.45 (1.23–1.7)	<0.001	1.32 (1.11–1.55)	0.002
Target of CTO	160/1590 (10.5)	745/11 222 (6.9)	1.55 (1.3–1.83)	<0.001	1.29 (1.08–1.54)	0.004
Male sex	712/9643 (7.6)	193/3169 (6.4)	1.2 (1.03–1.41)	0.03	1.17 (0.998–1.38)	0.054
Target of unprotected LMCA	69/582 (12.7)	836/12 230 (7.1)	1.86 (1.44–2.35)	<0.0001	1.23 (0.94–1.6)	0.13
Prior heart failure	169/1791 (10.5)	736/11 021 (6.9%)	1.57 (1.33–1.86)	<0.0001	1.13 (0.95–1.35)	0.17
Body mass index <25.0 kg/m^2	612/8336 (7.7)	293/4476 (6.7)	1.15 (1.0001–1.32)	0.049	1.08 (0.94–1.25)	0.28
Age ≥80 y	93/1664 (6.1)	812/11 148 (7.5)	0.8 (0.64–0.99)	0.04	0.9 (0.72–1.12)	0.33
Peripheral vascular disease	128/1523 (9.0)	777/11 289 (7.1)	1.26 (1.04–1.52)	0.02	1.01 (0.83–1.23)	0.9
TLR beyond 1 y						
ESRD on hemodialysis	57/680 (20.0)	791/12 132 (8.9)	2.48 (1.88–3.22)	<0.0001	2.35 (1.78–3.09)	<0.001
Total stent length >28 mm	848/5976 (11.3)	298/5174 (6.9)	1.72 (1.49–1.98)	<0.001	1.65 (1.42–1.92)	<0.001
Peripheral vascular disease	123/1523 (12.2)	725/11 289 (8.9)	1.47 (1.21–1.77)	0.0002	1.34 (1.1–1.64)	0.004
Reference vessel diameter pre <2.5 mm	327/3935 (10.4)	521/7215 (8.6)	1.19 (1.04—1.37)	0.01	1.22 (1.05–1.42)	0.008
Diabetes mellitus	391/5312 (10.5)	457/7500 (8.3)	1.32 (1.15–1.51)	<0.0001	1.19 (1.04–1.37)	0.01
Target of ISR	179/1672 (12.1)	669/9478 (8.7)	1.46 (1.23–1.71)	<0.001	1.26 (1.03–1.53)	0.02
Target of CTO	132/1335 (12.1)	716/9815 (8.8)	1.44 (1.19–1.72)	<0.001	1.25 (1.03–1.52)	0.02
Age ≥80 y	62/1664 (6.8)	786/11 148 (9.5)	0.67 (0.51–0.86)	0.001	0.73 (0.56–0.96)	0.02
Male sex	678/9643 (9.7)	170/3169 (7.6)	1.28 (1.09–1.52)	0.003	1.21 (1.02–1.44)	0.03
Prior PCI	459/5945 (10.4)	389/6867 (8.2)	1.3 (1.14–1.49)	0.0001	1.15 (0.97–1.36)	0.11
Prior CABG	76/918 (11.9)	772/11 894 (9.0)	1.35 (1.06–1.7)	0.02	1.18 (0.93–1.5)	0.18
Side-branch stenting	52/562 (11.9)	796/10 588 (9.1)	1.39 (1.04–1.82)	0.03	1.17 (0.88–1.57)	0.28
Use of intravascular ultrasound	373/5263 (8.4)	475/5887 (9.9)	0.87 (0.6–0.997)	0.04	0.93 (0.78–1.12)	0.45
Prior MI	262/3484 (10.0)	586/9328 (8.9)	1.17 (1.01–1.35)	0.04	1.04 (0.89–1.23)	0.6

HR indicates hazard ratio; CI, confidence interval; ST, stent thrombosis; LAD, left anterior descending coronary artery; ESRD, end-stage renal disease; CABG, coronary artery bypass grafting; LMCA, left main coronary artery; TLR, target lesion revascularization; ISR, in-stent restenosis; CTO, chronic total occlusion; PCI, percutaneous coronary intervention; and MI, myocardial infarction. Only variables with univariate $P<0.05$ are shown. Data for all variables are given in Tables I through V in the online-only Data Supplement. Incidences of events were calculated by the Kaplan-Meier method.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

diameter pre <2.5 mm, age <80 years, peripheral vascular disease, diabetes mellitus, target of in-stent restenosis, male sex, and target of chronic total occlusion (Table 4 and Table VI in the online-only Data Supplement).

Discussion

The main findings of the current analysis were the following. First, late adverse events such as VLST and late TLR continue to occur beyond 1 year after SES implantation without attenuation of their annual incidences up to 5 years. Second, risk factors of ST were markedly different according to the timing of ST onset, whereas risk factors of late TLR were similar to those of early TLR within 1 year.

Long-term follow-up studies up to 5 years from several randomized controlled trials comparing DES with BMS have demonstrated sustained benefit of DES without major safety concerns.[10–13] However, clinical and coronary anatomic characteristics of patients enrolled in these trials are markedly different from the characteristics of patients treated in daily clinical practice. Furthermore, none of these trials had adequate power to evaluate rare clinical events such as ST. There is a scarcity of data regarding long-term outcomes from large-scale all-comers DES registries. The Bern/Rotterdam 2-center registry reported persistent occurrence of late ST and VLST in up to 4 years of follow-up with the slope of the cumulative incidence curve of 0.53%/y.[3] However, in that report, the number of patients at risk beyond 2-year follow-up was very limited. Our present 5-year follow-up results from a very large all-comers registry clearly demonstrated that VLST was the continuous hazard, lasting at least up to 5 years after SES implantation without any signal of attenuation, although the annual incidence of ST in this cohort was relatively low (0.26%/y).

The risk factors for late ST and VLST have not been fully elucidated. The risk factors identified for late ST and VLST in the present analysis were consistent with the characteristics of patients with late ST and VLST illustrated in the Registry of Stent Thrombosis for Review and Reevaluation (RESTART), which was a Japanese nationwide registry of patients with ST of SES.[14] Time-dependent differences in the risk factors of ST could suggest presence of different pathophysiological mechanisms of ST according to the timing of ST onset. Furthermore, we could identify only 2 independent risk factors with modest effect sizes for VLST, namely current smoking and long total stent length, highlighting the difficulty in developing a clinically relevant risk stratification model for VLST.

In the present analysis, late TLR beyond 1 year also continued to occur constantly without attenuation up to 5 years after SES implantation with the annual incidence of 2.2%/y. Persistent occurrence of late TLR up to 5 years was in sharp contrast to the time course of TLR after BMS implantation.[3] Although randomized, controlled trials comparing DES with BMS demonstrated sustained efficacy of DES with lower rate of TLR through 5 years, we should closely examine additional late catch-up beyond 5 years. The mechanisms of late restenosis of DES are currently very poorly understood, although inflammatory reactions, de novo atherosclerosis, and mural thrombus formation might be playing roles. Similarities in the risk factors of early and late TLR might suggest that lesions with relatively greater early neointimal hyperplasia in the complex lesions might be prone to significant late restenosis requiring TLR.

VLST and late TLR are clearly the ongoing late adverse events associated with the use of SES (a first-generation DES). Because we have not yet observed attenuation of the annual incidences of VLST and late TLR at 5 years after SES implantation, we should continue to evaluate longer-term outcome beyond 5 years to fully estimate the magnitude of problems associated with use of SES. It has not yet been clarified whether prolonged dual antiplatelet therapy could decrease the incidences of VLST and late TLR.[15] VLST and late TLR, together with the residual risk for early TLR, clearly represent the unmet needs for coronary DES, which should be appropriately addressed by the future development of improved coronary stents.

Study Limitations

This study has several important limitations. First, patients participating in the registry were not fully monitored; therefore, underreporting of the adverse events was possible. In addition, the clinical follow-up rate beyond 3 years was far from complete, although the follow-up rate was much higher than that in the Bern/Rotterdam 2-center registry. However, the incidences of death and ST in the present registry were higher than those reported in the Japan Post-Marketing Surveillance Registry (J-PMS) study, which was a fully monitored, company-directed postmarket surveillance registry of 2000 patients undergoing SES implantation in Japan.[16] Therefore, it seems unlikely that the low ST rate in this study is due to underreporting of adverse events. Second, although we could not discriminate between clinically driven and angiographically driven TLR, the high rate of angiographic follow-up in the first year suggests that a significant proportion of TLR within the first year might be angiographically driven TLR. Furthermore, the relatively high rate of TLR beyond 1 year might be due to scheduled follow-up angiography conducted according to local protocols in some centers. Third, the number of ST events was not large enough to compare variables that affect risks differently in different time periods, although the present study is the largest study evaluating 5-year outcome of DES.

Conclusion

Late adverse events such as VLST and late TLR are continuous hazards at least up to 5 years after implantation of the first-generation DES (SES), which should be the targets in developing improved coronary stents.

Acknowledgments

We appreciate the effort of the members of the cardiac catheterization laboratory and clinical research coordinators in the participating centers.

Sources of Funding

This work was supported by Cordis Cardiology Japan and Johnson & Johnson.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Disclosures

Drs Kimura and Shunichi Miyazaki serve as advisory board members for and received honoraria from Cordis Japan. Dr Nakagawa has received honoraria from Cordis Japan. The other authors report no conflicts.

References

1. Kirtane AJ, Gupta A, Iyengar S, Moses JW, Leon MB, Applegate R, Brodie B, Hannan E, Harjai K, Jensen LO, Park SJ, Perry R, Racz M, Saia F, Tu JV, Waksman R, Lansky AJ, Mehran R, Stone GW. Safety and efficacy of drug-eluting and bare metal stents: comparative meta-analysis of randomized trials and observational studies. *Circulation*. 2009;119:3198–3206.
2. Bar SS, Leon MB, Stone GW, Mehran R, Moses JW, Brar SK, Dangas G. Use of drug-eluting stents in acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:1677–1689.
3. Yamaji K, Kimura T, Nakagawa Y, Inoue K, Soga Y, Arita T, Shirai S, Ando K, Kondo K, Sakai K, Goya M, Iwabuchi M, Yokoi H, Nosaka H, Nobuyoshi M. Very long-term (15–20 years) clinical and angiographic outcome after coronary bare-metal stent implantation. *Circ Cardiovasc Interv*. 2010;3:468–475.
4. Wenaweser P, Daemen J, Zwahlen M, van Domburg R, Juni P, Vaina S, Hellige G, Tuchida K, Morger C, Boersma E, Kukreja N, Meier B, Serruys PW, Windecker S. Incidence and correlates of drug-eluting stent thrombosis in routine clinical practice. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1134–1140.
5. Nakagawa Y, Kimura T, Morimoto T, Nomura M, Saku K, Haruta S, Muramatsu T, Nobuyoshi M, Kadota K, Fujita H, Tatami R, Shiode N, Nishikawa H, Shibata Y, Miyazaki S, Murata Y, Honda T, Kawasaki T, Doi O, Hiasa Y, Hayashi Y, Matsuzaki M, Mitudo K. Incidence and risk factors of late target lesion revascularization after sirolimus-eluting stent implantation (3-year follow-up of the j-Cypher registry). *Am J Cardiol*. 2010;106:329–336.
6. Kimura T, Morimoto T, Nakagawa Y, Tamura T, Kadota K, Yasumoto H, Nishikawa H, Hiasa Y, Muramatsu T, Meguro T, Inoue N, Honda H, Hayashi Y, Miyazaki S, Oshima S, Honda T, Shiode N, Namura M, Sone T, Nobuyoshi M, Kita T, Mitudo K. Antiplatelet therapy and stent thrombosis after sirolimus-eluting stent implantation. *Circulation*. 2009;119:987–995.
7. Serruys PW, Ong AT, van Herwerden LA, Sousa JE, Jatene A, Bonnier JJ, Schönberger JP, Buller N, Bonser R, Disco C, Backx B, Hugenholtz PG, Firth BG, Unger F. Five-year outcomes after coronary stenting versus bypass surgery for the treatment of multivessel disease: the final analysis of the Arterial Revascularization Therapies Study (ARTS) randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:575–581.
8. Mauri L, Hsieh WH, Massaro JM, Ho KK, D'Agostino R, Cutlip DE. Stent thrombosis in randomized clinical trials of drug-eluting stents. *N Engl J Med*. 2007;356:1020–1029.
9. Gooley TA, Leisenring W, Crowley J, Storer BE. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Statist Med*. 1999;18:695–706.
10. Caixeta A, Leon MB, Lansky AJ, Nikolsky E, Aoki J, Moses JW, Schofer J, Morice MC, Schampaert E, Kirtane AJ, Popma JJ, Parise H, Fahy M, Mehran R. 5-Year clinical outcomes after sirolimus-eluting stent implantation: insights from a patient-level pooled analysis of 4 randomized trials comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:894–902.
11. Ellis SG, Stone GW, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann T, Turco M, Caputo R, Bergin PJ, Bowman TS, Baim D. Long-term safety and efficacy with paclitaxel-eluting stents: 5-year final results of the TAXUS® clinical trial (TAXUS®-SR: Treatment of De Novo Coronary Disease Using a Single Paclitaxel-Eluting Stent). *J Am Coll Cardiol Cariovasc Interv*. 2009;2:1248–1259.
12. Mauri L, Massaro JM, Jiang S, Jiang S, Meredith I, Wijns W, Fajadet J, Kandzari DE, Leon MB, Cutrip DE, Thompson KP. Long-term clinical outcomes with zotarolimus-eluting versus bare-metal coronary stents. *J Am Coll Cardiol Cardiovasc Interv*. 2010;3:1240–1249.
13. Vink MA, Dirksen MT, Suttorp MJ, Tijssen JGP, van Eiten J, Patterson MS, Slagboom T, Kiemeneij F, Laarman GJ. 5 Year follow-up after primary percutaneous coronary intervention with a paclitaxel-eluting stent versus a bare-metal stent in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a follow-up study of the PASSION (Paclitaxel-Eluting Versus Conventional Stent in Myocardial Infarction with ST-Segment Elevation) trial. *J Am Coll Cardiol Cardiovasc Interv*. 2011;4:24–29.
14. Kimura T, Morimoto T, Kozuma K, Honda Y, Kume T, Aizawa T, Mitsudo K, Miyazaki S, Yamaguchi T, Hiyoshi E, Nishimura E, Isshiki T. Comparisons of baseline demographics, clinical presentation, and long-term outcome among patients with early, late, and very late stent thrombosis of sirolimus-eluting stents: observations from the Registry of Stent Thrombosis for Review and Reevaluation (RESTART). *Circulation*. 2010;122:52–61.
15. Park SJ, Park DW, Kim YH, Kang SJ, Lee SW, Lee CW, Han KH, Park SW, Yun SC, Lee SG, Rha SW, Seong IW, Jeong MH, Hur SH, Lee NH, Yoon J, Yang JY, Lee BK, Choi YJ, Chung WS, Lim DS, Cheong SS, Kim KS, Chae JK, Nah DY, Jeon DS, Seung KB, Jang JS, Park HS, Lee K. Duration of dual antiplatelet therapy after implantation of drug-eluting stents. *N Engl J Med*. 2010;362:1374–1382.
16. Ikari Y, Kotani J, Kozuma K, Kyo E, Nakamura M, Yokoi H. Assessment of sirolimus-eluting coronary stent implantation with aspirin and low dose ticlopidine administration: one year result from CYPHER Stent Japan Post-Marketing Surveillance Registry (J-PMS). *Circ J*. 2009;73:1038–1044.

CLINICAL PERSPECTIVE

There is a scarcity of long-term data from large-scale drug-eluting stent registries with a large enough sample size to evaluate low-frequency events such as stent thrombosis (ST). Five-year outcomes were evaluated in 12 812 consecutive patients undergoing sirolimus-eluting stent implantation in the j-Cypher registry. Cumulative incidence of definite ST was low (30 day, 0.3%; 1 year, 0.6%; and 5 years, 1.6%). However, late and very late ST continued to occur without attenuation up to 5 years after sirolimus-eluting stent implantation (0.26%/y). Cumulative incidence of target lesion revascularization within the first year was low (7.3%). However, late target lesion revascularization beyond 1 year also continued to occur without attenuation up to 5 years (2.2%/y). Independent risk factors of ST were completely different according to the timing of ST onset, suggesting the presence of different pathophysiological mechanisms of ST according to the timing of ST onset: acute coronary syndrome and target of proximal left anterior descending coronary artery for early ST; side-branch stenting, diabetes mellitus, and end-stage renal disease with or without hemodialysis for late ST; and current smoking and total stent length >28 mm for very late ST. Independent risk factors of late target lesion revascularization beyond 1 year were generally similar to those risk factors identified for early target lesion revascularization. Late adverse events such as very late ST and late target lesion revascularization are continuous hazards, lasting at least up to 5 years after implantation of the first-generation drug-eluting stents (sirolimus-eluting stents), which should be the targets for developing improved coronary stents.

Go to http://cme.ahajournals.org to take the CME quiz for this article.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Material

Supplementary Table 1. Clinical Sequelae of ST and Status of Antiplatelet Therapy at Time of ST

	Early ST	Late ST	Very Late ST
Number of patients	44	26	102
Clinical sequelae of ST			
Myocardial infarction	34 (77%)	24 (92%)	93 (91%)
Death within 90 days of ST	6 (14%)	9 (35%)	7 (6.9%)
Status of antiplatelet therapy at time of ST			
Dual	39 (89%)	14 (54%)	33 (32%)
Aspirin alone	3 (6.8%)	4 (15%)	55 (54%)
Thienopyridine alone	0	1 (3.8%)	1 (1.0%)
None	1 (2.3%)	7 (27%)	13 (13%)
Unknown	1 (2.3%)	0	0

ST=stent thrombosis.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Table 2. Univariate and Multivariable Correlates for Early ST

Variables	Present N of events /N of patients (30-day Incidence)	Absent N of events /N of patients (30-day Incidence)	Univariate H.R. (95%C.I.)	P value	Multivariable H.R. (95%C.I.)	P value
Age ≥ 80 years	3/1664 (0.2%)	41/11148 (0.4%)	0.49 (0.12-1.35)	0.19		
Male gender	38/9643 (0.4%)	6/3169 (0.2%)	2.08 (0.95-5.47)	0.07		
Body mass index < 25.0	23/8336 (0.3%)	21/4476 (0.5%)	0.59 (0.33-1.07)	0.08		
Hypertension	34/9550 (0.4%)	10/3262 (0.3%)	1.16 (0.6-2.48)	0.67		
Diabetes mellitus	19/5312 (0.4%)	25/7500 (0.3%)	1.07 (0.58-1.94)	0.82		
Current smoking	11/2604 (0.4%)	33/10208 (0.3%)	1.31 (0.63-2.51)	0.45		
ESRD without hemodialysis	0/628 (0%)	44/12184 (0.4%)				
ESRD on hemodialysis	4/680 (0.6%)	40/12132 (0.3%)	1.79 (0.54-4.45)	0.3		
Prior MI	11/3484 (0.3%)	33/9328 (0.4%)	0.89 (0.43-1.71)	0.74		
Prior stroke	6/1218 (0.5%)	38/11594 (0.3%)	1.5 (0.57-3.3)	0.38		
Peripheral vascular disease	4/1523 (0.3%)	40/11289 (0.4%)	0.74 (0.22-1.84)	0.55		
Prior heart failure	11/1791 (0.6%)	33/11021 (0.3%)	2.07 (0.997-3.96)	0.051		
Target of Proximal LAD	30/6590 (0.5%)	14/6222 (0.2%)	2.03 (1.1-3.94)	0.02	1.99 (1.05-3.78)	0.03
Target of unprotected LMCA	1/582 (0.2%)	43/12230 (0.4%)	0.49 (0.03-2.24)	0.43		
Target of ISR	6/1947 (0.3%)	38/10865 (0.4%)	0.88 (0.33-1.93)	0.77		
Target of CTO	3/1590 (0.2%)	41/11222 (0.4%)	0.52 (0.12-1.42)	0.22		
Acute coronary syndrome	19/3178 (0.6%)	25/9634 (0.3%)	2.32 (1.26-4.19)	0.008	2.34 (1.25-4.41)	0.008
Side-branch stenting	5/730 (0.7%)	39/12082 (0.3%)	2.13 (0.73-4.92)	0.15		
Prior PCI	18/5945 (0.3%)	26/6867 (0.4%)	0.8 (0.43-1.45)	0.46		
Prior CABG	2/918 (0.2%)	42 /11894 (0.4%)	0.62 (0.1-2.0)	0.47		
Total stent length > 28 mm	27/7108 (0.4%)	17/5704 (0.3%)	1.28 (0.7-2.39)	0.43		
Reference diameter pre < 2.5 mm	14/4618 (0.3%)	30/8194 (0.4%)	0.83 (0.43-1.53)	0.56		
Use of intravascular ultrasound	26/6063 (0.4%)	18/6749 (0.3%)	1.6 (0.88-2.96)	0.12		

CABG=coronary artery bypass grafting. CI=confidence interval. CTO=chronic total occlusion. ESRD=end-stage renal disease. HR=hazard ratio. ISR=in-stent restenosis. LAD=left anterior descending coronary artery. LMCA=left main coronary artery. MI=myocardial infarction. PCI=percutaneous coronary intervention. and ST=stent thrombosis.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Table 3. Univariate and Multivariable Correlates for Late ST

Variables	Present N of events /N of patients (1-year Incidence)	Absent N of events /N of patients (1-year Incidence)	Univariate H.R. (95%C.I.)	P value	Multivariable H.R. (95%C.I.)	P value
Age ≥ 80 years	0/1619 (0%)	26/11008 (0.2%)				
Male gender	20/9519 (0.2%)	6/3108 (0.2%)	1.08 (0.46-2.97)	0.86		
Body mass index < 25.0	22/8195 (0.3%)	4/4432 (0.1%)	3.0 (1.15-10.26)	0.02	2.76 (0.94-8.09)	0.06
Hypertension	19/9416 (0.2%)	7/3211 (0.2%)	0.93 (0.41-2.37)	0.86		
Diabetes mellitus	20/5226 (0.4%)	6/7401 (0.1%)	4.76 (2.03-13.01)	<0.001	3.86 (1.51-9.88)	0.005
Current smoking	5/2559 (0.2%)	21/10068 (0.2%)	0.94 (0.31-2.3)	0.9		
ESRD without hemodialysis	4/594 (0.7%)	22/12033 (0.2%)	3.86 (1.13-10.1)	0.03	3.83 (1.23-11.93)	0.02
ESRD on hemodialysis	7/651 (1.2%)	19/11976 (0.2%)	7.19 (2.81-16.37)	<0.001	5.63 (2.15-14.76)	<0.001
Prior MI	8/3436 (0.2%)	18/9191 (0.2%)	1.19 (0.49-2.65)	0.69		
Prior stroke	2/1189 (0.2%)	24/11438 (0.2%)	0.81 (0.13-2.73)	0.77		
Peripheral vascular disease	4/1499 (0.3%)	22/11128 (0.2%)	1.38 (0.4-3.62)	0.56		
Prior heart failure	6/1717 (0.4%)	20/10901 (0.2%)	1.99 (0.73-4.66)	0.17		
Target of Proximal LAD	13/6473 (0.2%)	13/6154 (0.2%)	0.95 (0.44-2.07)	0.9		
Target of unprotected LMCA	4/568 (0.7%)	22/12059 (0.2%)	3.93 (1.15-10.28)	0.03	1.71 (0.52-5.64)	0.38
Target of ISR	4/1927 (0.2%)	22/10700 (0.2%)	1.01 (0.3-2.64)	0.99		
Target of CTO	4/1568 (0.3%)	22/11059 (0.2%)	1.29 (0.38-3.36)	0.65		
Acute coronary syndrome	5/3084 (0.2%)	21/9543 (0.2%)	0.75 (0.25-1.83)	0.54		
Side-branch stenting	7/708 (1.0%)	19/11919 (0.2%)	6.22 (2.43-14.14)	<0.001	6.01 (2.15-16.81)	<0.001
Prior PCI	11/5878 (0.2%)	15/6749 (0.2%)	0.84 (0.38-1.82)	0.66		
Prior CABG	5/907 (0.6%)	21/11720 (0.2%)	3.12 (1.04-7.64)	0.04	2.47 (0.9-6.78)	0.08
Total stent length > 28 mm	16/6982 (0.2%)	10/5645 (0.2%)	1.3 (0.6-2.96)	0.51		
Reference diameter pre < 2.5 mm	11/4541 (0.3%)	15/8086 (0.2%)	1.31 (0.59-2.84)	0.5		
Use of intravascular ultrasound	13/5972 (0.2%)	13/6655 (0.2%)	1.12 (0.51-2.43)	0.78		

CABG=coronary artery bypass grafting. CI=confidence interval. CTO=chronic total occlusion. ESRD=end-stage renal disease. HR=hazard ratio. ISR=in-stent restenosis. LAD=left anterior descending coronary artery. LMCA=left main coronary artery. MI=myocardial infarction. PCI=percutaneous coronary intervention. and ST=stent thrombosis.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Table 4. Univariate and Multivariable Correlates for Very Late ST

Variables	Present N of events /N of patients (5-year Incidence)	Absent N of events /N of patients (5-year Incidence)	Univariate H.R. (95%C.I.)	P value	Multivariable H.R. (95%C.I.)	P value
Age ≥ 80 years	4/1444 (0.3%)	98/10508 (1.1%)	0.36 (0.11-0.87)	0.02	0.46 (0.17-1.26)	0.13
Male gender	88/9032 (1.2%)	14/2920 (0.6%)	2.0 (1.18-3.66)	0.009	1.63 (0.91-2.91)	0.1
Body mass index < 25.0	64/7688 (1.1%)	38/4264 (1.0%)	0.98 (0.66-1.47)	0.91		
Hypertension	71/8914 (1.0%)	31/3038 (1.2%)	0.79 (0.52-1.22)	0.28		
Diabetes mellitus	37/4893 (0.9%)	65/7059 (1.2%)	0.84 (0.55-1.25)	0.39		
Current smoking	37/2426 (2.0%)	65/9526 (0.8%)	2.32 (1.53-3.45)	<0.001	2.04 (1.34-3.11)	<0.001
ESRD without hemodialysis	6/498 (1.9%)	96/11454 (1.0%)	1.74 (0.68-3.64)	0.22		
ESRD on hemodialysis	4/536 (0.6%)	98/11416 (1.1%)	1.15 (0.35-2.75)	0.79		
Prior MI	32/3248 (1.2%)	70/8704 (1.0%)	1.18 (0.77-1.78)	0.44		
Prior stroke	7/1096 (0.8%)	95/10856 (1.1%)	0.79 (0.33-1.59)	0.54		
Peripheral vascular disease	7/1359 (0.7%)	95/10593 (1.1%)	0.62 (0.26-1.24)	0.19		
Prior heart failure	6/1486 (0.6%)	96/10466 (1.1%)	0.51 (0.2-1.07)	0.08		
Target of Proximal LAD	56/6124 (1.1%)	46/5828 (1.1%)	1.16 (0.78-1.71)	0.47		
Target of unprotected LMCA	5/517 (1.4%)	97/11435 (1.0%)	1.28 (0.45-2.83)	0.6		
Target of ISR	18/1841 (1.2%)	84/10111 (1.0%)	1.1 (0.64-1.79)	0.71		
Target of CTO	16/1485 (1.5%)	86/10467 (1.0%)	1.38 (0.78-2.29)	0.25		
Acute coronary syndrome	32/2866 (1.5%)	70/9086 (0.9%)	1.52 (0.99-2.29)	0.06		
Side-branch stenting	5/668 (1.0%)	97/11284 (1.1%)	0.99 (0.35-2.18)	0.98		
Prior PCI	43/5591 (1.2%)	49/6361 (0.9%)	1.17 (0.79-1.72)	0.44		
Prior CABG	5/838 (0.8%)	97/11114 (1.1%)	0.66 (0.23-1.47)	0.34		
Total stent length > 28 mm	67/6582 (1.3%)	35/5370 (0.8%)	1.66 (1.11-2.53)	0.01	1.58 (1.04-2.41)	0.03
Reference diameter pre < 2.5 mm	32/4269 (0.9%)	70/7683 (1.1%)	0.84 (0.55-1.27)	0.42		
Use of intravascular ultrasound	51/5651 (1.1%)	50/6301 (1.0%)	1.11 (0.75-1.64)	0.6		

CABG=coronary artery bypass grafting. CI=confidence interval. CTO=chronic total occlusion. ESRD=end-stage renal disease. HR=hazard ratio. ISR=in-stent restenosis. LAD=left anterior descending coronary artery. LMCA=left main coronary artery. MI=myocardial infarction. PCI=percutaneous coronary intervention. and ST=stent thrombosis.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Table 5. Univariate and Multivarible Correlates for TLR Within 1 Year

Variables	Present N of events /N of patients	Absent N of events /N of patients	Univariate H.R. (95%C.I.)	P value	Multivariable H.R. (95%C.I.)	P value
Age ≥ 80 years	93/1664 (6.1%)	812/11148 (7.5%)	0.8 (0.64-0.99)	0.04	0.9 (0.72-1.12)	0.33
Male gender	712/9643 (7.6%)	193/3169 (6.4%)	1.2 (1.03-1.41)	0.03	1.17 (0.998-1.38)	0.054
Body mass index < 25.0	612/8336 (7.7%)	293/4476 (6.7%)	1.15 (1.0001-1.32)	0.049	1.08 (0.94-1.25)	0.28
Hypertension	685/9550 (7.4%)	220/3262 (7.0%)	1.06 (0.91-1.24)	0.43		
Diabetes mellitus	391/5312 (10.5%)	457/7500 (8.3%)	1.72 (1.51-1.96)	<0.001	1.44 (1.26-1.65)	<0.001
Current smoking	168/2604 (6.7%)	737/10208 (7.5%)	0.89 (0.75-1.05)	0.17		
ESRD without hemodialysis	44/628 (8.2%)	861/12184 (7.3%)	1.11 (0.81-1.48)	0.52		
ESRD on hemodialysis	145/680 (24.2%)	760/12132 (6.5%)	4.23 (3.53-5.04)	<0.001	3.72 (3.07-4.51)	<0.001
Prior MI	243/3484 (7.2%)	662/9328 (7.4%)	0.98 (0.85-1.14)	0.81		
Prior stroke	93/1218 (8.1%)	812/11594 (7.3%)	1.12 (0.9-1.38)	0.29		
Peripheral vascular disease	128/1523 (9.0%)	777/11289 (7.1%)	1.26 (1.04-1.52)	0.02	1.01 (0.83-1.23)	0.9
Prior heart failure	169/1791 (10.5%)	736/11021 (6.9%)	1.57 (1.33-1.86)	<0.001	1.13 (0.95-1.35)	0.17
Target of Proximal LAD	468/6590 (7.4%)	437/6222 (7.3%)	1.02 (0.9-1.16)	0.76		
Target of unprotected LMCA	69/582 (12.7%)	836/12230 (7.1%)	1.86 (1.44-2.35)	<0.001	1.23 (0.94-1.6)	0.13
Target of ISR	186/1947 (9.9%)	719/10865 (6.9%)	1.45 (1.23-1.7)	<0.001	1.32 (1.11-1.56)	0.002
Target of CTO	160/1590 (10.5%)	745/11222 (6.9%)	1.55 (1.3-1.83)	<0.001	1.29 (1.08-1.54)	0.004
Acute coronary syndrome	220/3178 (7.3%)	685/9634 (7.3%)	1.01 (0.86-1.17)	0.92		
Side-branch stenting	122/730 (17.6%)	783/12082 (6.7%)	2.75 (2.26-3.32)	<0.001	1.98 (1.61-2.44)	<0.001
Prior PCI	448/5945 (7.8%)	457/6867 (6.9%)	1.13 (0.99-1.28)	0.07		
Prior CABG	103/918 (11.8%)	802/11894 (7.0%)	1.73 (1.4-2.11)	<0.001	1.59 (1.29-1.96)	<0.001
Total stent length > 28 mm	672/7108 (9.9%)	233/5704 (4.2%)	2.4 (2.07-2.8)	<0.001	1.89 (1.61-2.21)	<0.001
Reference diameter pre < 2.5 mm	375/4618 (8.5%)	530/8194 (6.7%)	1.28 (1.12-1.46)	<0.001	1.38 (1.19-1.59)	<0.001
Use of intravascular ultrasound	443/6063 (7.6%)	462/6749 (7.1%)	1.07 (0.94-1.22)	0.31		

CABG=coronary artery bypass grafting. CI=confidence interval. CTO=chronic total occlusion. ESRD=end-stage renal disease. HR=hazard ratio. ISR=in-stent restenosis. LAD=left anterior descending coronary artery. LMCA=left main coronary artery. MI=myocardial infarction. PCI=percutaneous coronary intervention. and TLR=target lesion revascularization.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Table 6. Univariate and Multivariable Correlates for TLR Beyond 1 Year

Variables	Present N of events /N of patients	Absent N of events /N of patients	Univariate H.R. (95%C.I.)	P value	Multivariable H.R. (95%C.I.)	P value
Age ≥ 80 years	62/1361 (6.8%)	786/9789 (9.5%)	0.67 (0.51-0.86)	0.001	0.73 (0.56-0.96)	0.02
Male gender	678/8403 (9.7%)	170/2747 (7.6%)	1.28 (1.09-1.52)	0.003	1.21 (1.02-1.44)	0.03
Body mass index < 25.0	511/7147 (8.9%)	337/4003 (9.7%)	0.88 (0.77-1.01)	0.07		
Hypertension	644/8311 (9.4%)	204/2839 (8.7%)	1.09 (0.94-1.28)	0.26		
Diabetes mellitus	391/4463 (10.5%)	457/6687 (8.3%)	1.32 (1.15-1.51)	<0.001	1.19 (1.04-1.37)	0.01
Current smoking	185/2279 (10.4%)	663/8871 (8.9%)	1.12 (0.95-1.31)	0.19		
ESRD without hemodialysis	36/459 (11.6%)	812/10691 (9.1%)	1.22 (0.86-1.68)	0.26		
ESRD on hemodialysis	57/415 (20.0%)	791/10735 (8.9%)	2.48 (1.88-3.22)	<0.001	2.35 (1.78-3.09)	<0.001
Prior MI	262/3034 (10.0%)	586/8116 (8.9%)	1.17 (1.01-1.35)	0.04	1.04 (0.89-1.23)	0.6
Prior stroke	84/1014 (10.0%)	764/10136 (9.1%)	1.19 (0.94-1.48)	0.15		
Peripheral vascular disease	123/1248 (12.2%)	725/9902 (8.9%)	1.47 (1.21-1.77)	<0.001	1.34 (1.1-1.64)	0.004
Prior heart failure	106/1342 (10.8%)	742/9808 (9.0%)	1.2 (0.97-1.46)	0.09		
Target of Proximal LAD	440/5714 (9.2%)	408/5436 (9.2%)	1.02 (0.89-1.17)	0.76		
Target of unprotected LMCA	32/458 (8.8%)	816/10692 (9.2%)	1.02 (0.7-1.42)	0.92		
Target of ISR	179/1672 (12.1%)	669/9478 (8.7%)	1.46 (1.23-1.71)	<0.001	1.26 (1.03-1.53)	0.02
Target of CTO	132/1335 (12.1%)	716/9815 (8.8%)	1.44 (1.19-1.72)	<0.001	1.25 (1.03-1.52)	0.02
Acute coronary syndrome	192/2684 (9.2%)	656/8466 (9.2%)	0.96 (0.81-1.12)	0.6		
Side-branch stenting	52/562 (11.9%)	796/10588 (9.1%)	1.39 (1.04-1.82)	0.03	1.17 (0.88-1.57)	0.28
Prior PCI	459/5192 (10.4%)	389/5958 (8.2%)	1.3 (1.14-1.49)	<0.001	1.15 (0.97-1.36)	0.11
Prior CABG	76/750 (11.9%)	772/10400 (9.0%)	1.35 (1.06-1.7)	0.02	1.18 (0.93-1.5)	0.18
Total stent length > 28 mm	848/5976 (11.3%)	298/5174 (6.9%)	1.72 (1.49-1.98)	<0.001	1.65 (1.42-1.92)	<0.001
Reference diameter pre < 2.5 mm	327/3935 (10.4%)	521/7215 (8.6%)	1.19 (1.04-1.37)	0.01	1.22 (1.05-1.42)	0.008
Use of intravascular ultrasound	373/5263 (8.4%)	475/5887 (9.9%)	0.87 (0.76-0.997)	0.04	0.93 (0.78-1.12)	0.45

CABG=coronary artery bypass grafting. CI=confidence interval. CTO=chronic total occlusion. ESRD=end-stage renal disease. HR=hazard ratio. ISR=in-stent restenosis. LAD=left anterior descending coronary artery. LMCA=left main coronary artery. MI=myocardial infarction. PCI=percutaneous coronary intervention. and TLR=target lesion revascularization.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

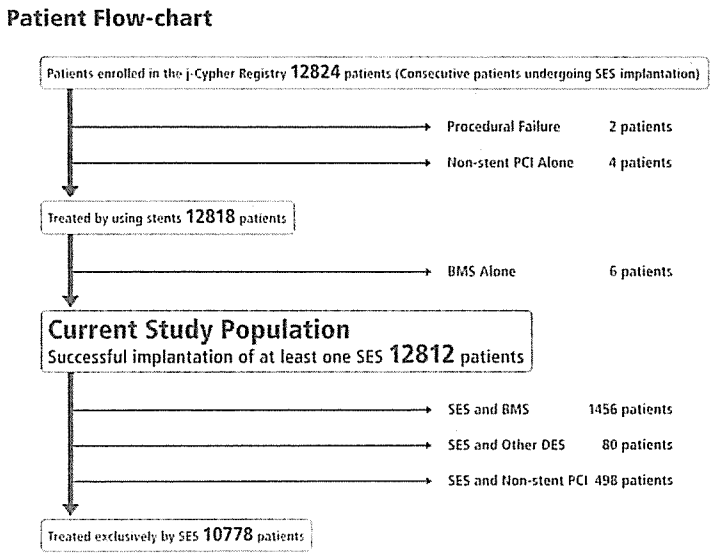
Supplementary Figure Legends:

Supplementary Figure 1. Patient Flow-chart. BMS=bare-metal stent. DES=drug-eluting stent. PCI=percutaneous coronary intervention. and SES=sirolimus-eluting stent.

Supplementary Figure 2. Lesion Flow-chart. BMS=bare-metal stent. DES=drug-eluting stent. GW=guidewire. PCI=percutaneous coronary intervention. and SES=sirolimus-eluting stent.

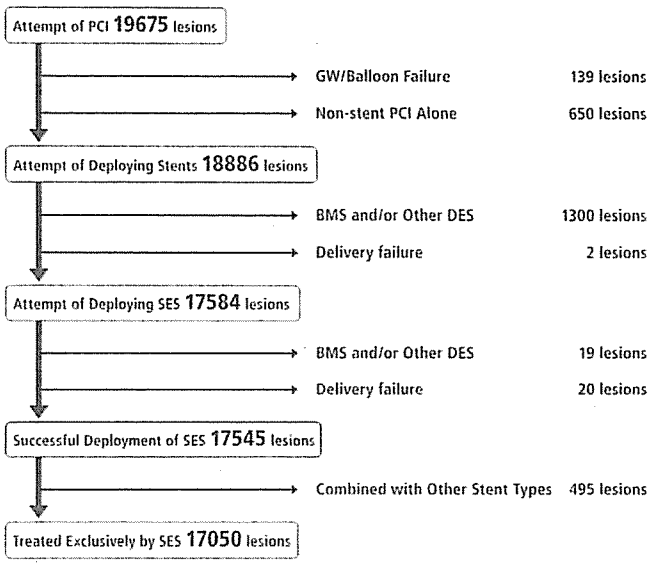
Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Figure 1.



Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Figure 2.



Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplementary Appendix A: List of participating centers and investigators for the j-Cypher registry.

Chikamori-kai Medical Corporation: Kazuya Kawai, Shuichi Seki

Ehime Prefectural Central Hospital: Yukio Kazatani, Shinichi Hiramatsu, Tsuyoshi Matsunaka, Aya Okino, Ai Nomoto

Fujita Health University Banbuntane Houtokukai Hospital: Masanori Nomura, Hiroatsu Yokoi, Masato Mikawa

Fukuoka University Hospital: Keijiro Saku, Kazuyuki Shirai

Fukuyama Cardiovascular Hospital: Seiichi Haruta, Hiroshi Akanuma

Gunma Prefectural Cardiovascular Center: Shigeru Oshima, Hiroshi Hoshizaki, Ren Kawaguchi, Hideki Tsurugaya

Hokko Memorial Hospital: Katsuhiko Sato, Yoichi Nozaki, Mitsuru Tamazawa

Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center: Akira Miura, Hiroki Sakamoto, Hiroshi Ueda

Kanazawa Cardiovascular Hospital: Masanobu Namura, Taketsugu Tsuchiya

Kawasaki Social Insurance Hospital: Tadashi Kikuchi, Toshiya Muramatsu, Yoshiaki Ito

Kishiwada Tokushukai Hospital: Yoshiaki Yokoi, Nobuyuki Morioka, Ryuji Ishikawa

Kokura Memorial Hospital: Masakiyo Nubuyoshi, Hitoshi Yasumoto, Itsuo Yuda, Shinichi Shirai

Kurashiki Central Hospital: Kazuaki Mitsudo, Kazushige Kadota, Hayato Shimizu, Noriko Makita, Hideko Nakagawa, Nagisa Watanabe, Yoshimi Sano

Kyoto Second Red Cross Hospital: Hiroshi Fujita, Akiko Matsuo

Kyoto University Hospital: Takeshi Kimura, Toshihiro Tamura, Etsuo Ohta, Taisuke Nakanoue, Yoshihisa Nakagawa, Yuriko Uchida, Masahiko Sakamoto

Maizuru Kyosai Hospital: Ryozo Tatami, Kinya Ashida, Takaaki Kitai

Matsue Red Cross Hospital: Nobuo Shiode

Mie Heart Center: Hideo Nishikawa, Fumiya Uchida

Miyazaki Ishikai Hospital: Yoshisato Shibata, Katsumasa Nomura

Nanpuh Hospital: Shinichiro Toyoshima

National Cardiovascular Center: Shunichi Miyazaki, Hiroshi Nonogi, Atsushi Kawamura, Mitsuru Abe, Takuya Taniguchi, Hironori Yokoyama

National Hospital Organization Kagoshima Medical Center: Hitoshi Nakashima, Manabu Setoguchi

Noto General Hospital: Yoshiharu Murata, Kinuyo Morita

Ogaki Municipal Hospital: Takahito Sone, Shuji Morikawa, Eijiro Hayashi

Osaka City General Hospital: Kazuo Haze, Akira Ito, Kei Yunoki

Osaka Red Cross Hospital: Masaru Tanaka, Tsukasa Inada

Saiseikai Kumamoto Hospital: Takashi Honda, Kenji Horiuchi, Naoko Takahashi, Kana Tsukushima

Saiseikai Noe Hospital: Shunsuke Take, Tomoko Yano

Sendai Kousei Hospital: Taiichiroh Meguro, Hidehiko Honda, Naoto Inoue

Shinbeppu Hospital: Natsuki Nakamura, Kouichi Kikuta, Hidenori Tanaka

Shin-Koga Hospital: Tomohiro Kawasaki

Shizuoka General Hospital: Osamu Doi, Hiromichi Tamekiyo, Satoshi Kaburagi

Shonan Kamakura General Hospital: Shigeru Saito, Saeko Takahashi, Yoshio Taketani

Teikyo University Hospital: Takaaki Isshiki, Ken Kozuma

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Tokushima Red Cross Hospital: Yoshikazu Hiasa, Koichi Kishi

Tsuchiya General Hospital: Yasuhiko Hayashi, Mamoru Toyofuku, Toru Ishibashi, Miyo Hatanari

Yamaguchi University Hospital: Masunori Matsuzaki, Jutaro Yamada, Takayuki Okamura

Supplemental Appendix B. List of clinical research coordinators

Kumiko Kitagawa, Hiromi Yoshida, Misato Yamauchi, Asuka Saeki, Chikako Hibi, Emi Takinami, Izumi Miki, Miya Hanazawa, Naoko Okamoto, Sachiko Maeda, Saeko Minematsu, Saori Tezuka, Yuki Sato, Yumika Fujino, Hitomi Sasae, Rei Fujita, Yuko Yamamoto, Satoko Nishida, Yuriko Uchida, Yui Kinoshita, and Asuka Takahashi.

Supplementary Appendix C. List of clinical event committee members

Kazushige Kadota, Takeshi Kimura, Toshihiro Tamura, Yoshihisa Nakagawa, Toshiya Muramatsu, and Hitoshi Yasumoto

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Circulation
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart Association.

Mutations in Cytoplasmic Loops of the KCNQ1 Channel and the Risk of Life-Threatening Events : Implications for Mutation-Specific Response to β-Blocker Therapy in Type 1 Long-QT Syndrome

Alon Barsheshet, Ilan Goldenberg, Jin O-Uchi, Arthur J. Moss, Christian Jons, Wataru Shimizu, Arthur A. Wilde, Scott McNitt, Derick R. Peterson, Wojciech Zareba, Jennifer L. Robinson, Michael J. Ackerman, Michael Cypress, Daniel A. Gray, Nynke Hofman, Jorgen K. Kanters, Elizabeth S. Kaufman, Pyotr G. Platonov, Ming Qi, Jeffrey A. Towbin, G. Michael Vincent and Coeli M. Lopes

Circulation. 2012;125:1988-1996; originally published online March 28, 2012;
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.048041
Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231
Copyright © 2012 American Heart Association, Inc. All rights reserved.
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://circ.ahajournals.org/content/125/16/1988

Data Supplement (unedited) at:
http://circ.ahajournals.org/content/suppl/2012/03/26/CIRCULATIONAHA.111.048041.DC1.html

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Circulation* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
http://www.lww.com/reprints

Subscriptions: Information about subscribing to *Circulation* is online at:
http://circ.ahajournals.org//subscriptions/

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Genetics

Mutations in Cytoplasmic Loops of the KCNQ1 Channel and the Risk of Life-Threatening Events

Implications for Mutation-Specific Response to β-Blocker Therapy in Type 1 Long-QT Syndrome

Alon Barsheshet, MD*; Ilan Goldenberg, MD*; Jin O-Uchi, MD, PhD*; Arthur J. Moss, MD; Christian Jons, MD; Wataru Shimizu, MD; Arthur A. Wilde, MD, PhD; Scott McNitt, MS; Derick R. Peterson, PhD; Wojciech Zareba, MD, PhD; Jennifer L. Robinson, MS; Michael J. Ackerman, MD; Michael Cypress, BS; Daniel A. Gray, MD, PhD; Nynke Hofman, MS; Jorgen K. Kanters, MD; Elizabeth S. Kaufman, MD; Pyotr G. Platonov, MD, PhD; Ming Qi, PhD; Jeffrey A. Towbin, MD; G. Michael Vincent, MD; Coeli M. Lopes, PhD

Background—β-Adrenergic stimulation is the main trigger for cardiac events in type 1 long-QT syndrome (LQT1). We evaluated a possible association between ion channel response to β-adrenergic stimulation and clinical response to β-blocker therapy according to mutation location.

Methods and Results—The study sample comprised 860 patients with genetically confirmed mutations in the *KCNQ1* channel. Patients were categorized into carriers of missense mutations located in the cytoplasmic loops (C loops), membrane-spanning domain, C/N terminus, and nonmissense mutations. There were 27 aborted cardiac arrest and 78 sudden cardiac death events from birth through 40 years of age. After multivariable adjustment for clinical factors, the presence of C-loop mutations was associated with the highest risk for aborted cardiac arrest or sudden cardiac death (hazard ratio versus nonmissense mutations=2.75; 95% confidence interval, 1.29–5.86; P=0.009). β-Blocker therapy was associated with a significantly greater reduction in the risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death among patients with C-loop mutations than among all other patients (hazard ratio=0.12; 95% confidence interval, 0.02–0.73; P=0.02; and hazard ratio=0.82; 95% confidence interval, 0.31–2.13; P=0.68, respectively; P for interaction=0.04). Cellular expression studies showed that membrane spanning and C-loop mutations produced a similar decrease in current, but only C-loop mutations showed a pronounced reduction in channel activation in response to β-adrenergic stimulation.

Conclusions—Patients with C-loop missense mutations in the *KCNQ1* channel exhibit a high risk for life-threatening events and derive a pronounced benefit from treatment with β-blockers. Reduced channel activation after sympathetic activation can explain the increased clinical risk and response to therapy in patients with C-loop mutations. **(*Circulation.* 2012;125:1988-1996.)**

Key Words: adrenergic beta-antagonists ■ ion channels ■ long QT syndrome ■ mutation

Long-QT syndrome type 1 (LQT1) is the most common type of inherited long-QT syndrome (LQTS), accounting for ≈35% of all patients and >50% of genotyped patients.[1] LQT1 arises from a decrease in repolarizing potassium current resulting from mutations in the *KCNQ1* gene. Four *KCNQ1*-derived α-subunits assemble to form the I_{Ks} channel along with obligatory auxiliary subunits derived from *KCNE1*. Exercise is the main trigger for cardiac arrhythmic

Received February 24, 2011; accepted February 27, 2012.
From the Cardiology Division (A.B., I.G., A.J.M., S.M., W.Z., J.L.R.), Department of Biostatistics and Computational Biology (D.R.P.), and Nephrology Division (M.C.), University of Rochester Medical Center, Rochester, NY; Cardiovascular Research Institute (J.O-U., C.M.L.) and Department of Pathology (M.Q.), University of Rochester School of Medicine and Dentistry, Rochester, NY; Gentofte University Hospital, Copenhagen, Denmark (C.J., J.K.K.); National Cardiovascular Center, Suita, Japan (W.S.); Department of Cardiology (A.A.W.) and Department of Clinical Genetics (N.H.), Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands; Department of Pediatrics, Division of Pediatric Cardiology, Mayo Clinic, Rochester, MN (M.J.A.); Heart and Vascular Research Center, MetroHealth Campus, Case Western Reserve University, Cleveland, OH (E.S.K.); Department of Cardiology, Lund University, Lund, Sweden (P.G.P.); The Heart Institute, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH (J.A.T.); and Department of Medicine, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City (G.M.V.).
*Drs Barsheshet, Goldenberg, and O-Uchi contributed equally to this article.
The online-only Data Supplement is available with this article at http://circ.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.048041/-/DC1.
Correspondence to Coeli M. Lopes, PhD, Department of Medicine, Box CVRI, Aab Cardiovascular Research Institute, University of Rochester School of Medicine and Dentistry, 601 Elmwood Ave, Rochester, NY 14642 (E-mail Coeli_Lopes@URMC.Rochester.edu); or Ilan Goldenberg, MD, Heart Research Follow-Up Program, University of Rochester Medical Center, Box 653, Rochester, NY 14642 (E-mail Ilan.Goldenberg@heart.rochester.edu).
© 2012 American Heart Association, Inc.
Circulation is available at http://circ.ahajournals.org DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.048041

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

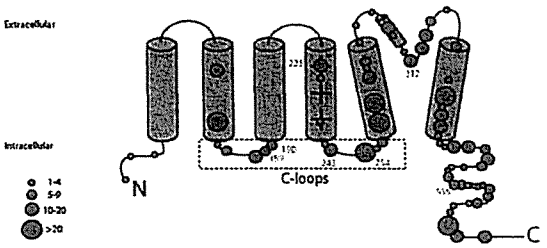


Figure 1. Frequency and location of mutations in the KCNQ1 potassium channel. Diagrammatic location of 99 different mutations in the *KCNQ1* potassium channel involving 860 subjects. The α-subunit involves the N-terminus (N), 6 membrane-spanning segments, 2 cytoplasmic loops (S2–S3 and S4–S5), and the C-terminus portion (C). The size of the circles reflects the number of subjects with mutations at the respective locations.

events in patients with LQT1.[2] Activation of β1-adrenergic receptors is the major signaling pathway contributing to the increase in heart rate and cardiac output during exercise. β1-Adrenergic receptor activation leads to activation of protein kinase A (PKA), which directly phosphorylates the *KCNQ1* subunit, increasing I_{Ks} function.[3,4] The increase in I_{Ks} is thought to suppress the premature beats and afterdepolarization induced by increased L-type Ca^{2+} currents during β-adrenergic stimulation.[5] Accordingly, β-blockers have been considered the first-line therapy in LQT1 patients without a history of aborted cardiac arrest (ACA). Data from several prior LQTS studies[1,6] demonstrate that despite the reduction in the risk of cardiac events with β-blocker therapy among LQT1 patients, there is a considerable cardiac residual event rate among patients who are being treated with this mode of medical therapy (≈10 cardiac events per 100 person-years),[6] suggesting that β-blockers may be less effective in certain subgroups of LQT1 patients.

Editorial see p 1961
Clinical Perspective on p 1996

The *KCNQ1* protein consists of 676 amino acid residues with an intracellular N-terminus region, 6 membrane-spanning segments with 2 connecting cytoplasmic loops (C loops), and an intracellular C-terminus region.[7] Prior genotype-phenotype studies have provided important information on the effect of location and coding type of the channel mutations on the phenotypic manifestations and clinical course of LQT1 patients. These studies have shown that missense mutations and mutations located at the transmembrane region (including the C loops) were associated with greater risk for cardiac events.[8] However, the mechanism related to the increased risk associated with transmembrane mutations has not been studied. C loops, part of the transmembrane region, were suggested to affect adrenergic channel regulation by PKA.[9] We therefore hypothesized that the previously reported finding about the risk associated with transmembrane mutations[8] is related to the effect of C-loop mutations within this region. Accordingly, the present study was carried out in a large cohort of subjects having a spectrum of *KCNQ1* mutations from the International LQTS Registry and was designed to investigate the clinical outcomes among *KCNQ1* mutation carriers by further dividing the transmembrane region into membrane-spanning and C-loop domains, to determine a possible differential response to β-blocker therapy depending on mutation location and function related to PKA regulation, and to relate the clinical data to functional studies of changes in I_{Ks} function and β-adrenergic receptor regulation in mammalian cells.

Methods

Study Sample

The study comprised 860 patients with genetically confirmed *KCNQ1* mutations derived from 170 proband-identified families. The proband in each family had QTc prolongation not resulting from a known secondary cause. The subjects were drawn from the Rochester (n=637), the Netherlands (n=94), the Japanese (n=82), the Danish (n=43), and the Swedish (n=4) portions of the Multicenter Mutation Registry. All subjects or their guardians provided informed consent for the genetic and clinical studies. Patients with congenital deafness and patients with multiple LQTS-associated mutations were excluded from the study.

Phenotype Characterization

On enrollment, routine clinical and ECG information was obtained from birth to the participants' enrolled age, and ongoing clinical information was obtained at yearly intervals thereafter. For each patient, data on personal and family histories, cardiac events, and therapy were systematically recorded at enrollment and at each visit or medical contact. Clinical data, recorded on prospectively designed forms, included patient and family histories and demographic, ECG, therapeutic, and cardiac event information. Data on β-blocker therapy included the starting date and discontinuation date if appropriate. Information on the end point of ACA or sudden cardiac death (SCD) was also verified through requested medical records. Every effort was made to confirm an underlying life-threatening arrhythmia when observed or documented by medical staff.

Genotype Characterization

The *KCNQ1* mutations were identified with the use of standard genetic tests performed in academic molecular genetics laboratories. Genetic alterations of the amino acid sequence were characterized by location and by the specific type of mutation (missense, splice site, in-frame insertion/deletions, nonsense, stop codon, and frameshift).

We evaluated the risk associated with 4 main prespecified subgroups: C- or N-terminus missense, membrane-spanning missense, C-loop missense, and nonmissense (ie, splice sites, in-frame insertions, in-frame deletions, stop codons, and frameshift). The membrane-spanning region of the KCNQ1-encoded channel was defined as the coding sequence involving amino acid residues between 124 and 170 (S1–S2), 196 and 241 (S3–S4), and 263 and 355 (S5–S6), with the C-loop region between residues 171 to 195 (S2–S3) and 242 to 262 (S4–S5; Figure 1). The N-terminus region was defined before residue 124 and the C-terminus region after residue 355.

To minimize survival bias, we included patients who died before they were genotyped (n=64). They were assumed to have the mutation that their first-degree relatives had. All other patients were confirmed through genotyping.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Cellular Expression Studies

To study the mechanism underlying the risk for cardiac events in patients with missense C-loop mutations, we measured channel function and regulation for channels formed with wild-type (WT) subunits coexpressed with 4 mutant subunits present in C loops (G189R, R190Q, R243C, and V254M) and 4 mutant subunits present in the non-C-loop domains: 3 in the membrane-spanning domain (T312I, G168R, and S225L) and 1 in the C terminus (R555C). The mutations chosen included the most common mutations in the LQT1 registry. WT and mutant KCNQ1 subunit cDNA and KCNE1 subunit cDNA were transfected into HEK293T cells.[10] Mutant KCNQ1 cDNA was transfected in combination with WT-KCNQ1 to mimic the heterozygous nature of the disease (WT-KCNQ1:mutant KCNQ1:KCNE1=0.5:0.5:1). Fluorescence-conjugated and -tagged constructs were used to evaluate the efficiency of the cotransfection of WT and mutant subunits[11] (see the online-only Data Supplement). Of the HEK293T cells cotransfected with both WT and mutant subunits, 85% to 90% showed fluorescence of at least 1 subunit transfected, and 85% to 95% of transfected cells expressed all the subunits transfected (Figure I in the online-only Data Supplement). All electrophysiology determinations were performed with the untagged subunit. Expression of WT and mutant subunits was confirmed by Western blot (Figure II in the online-only Data Supplement). Expression levels were not significantly decreased for the mutant subunits compared with WT. We measured ion channel currents after channel depolarization to 20 mV for 4 seconds from −80-mV holding potential before and after application of forskolin, a PKA activator (10 μmol/mL), with standard electrophysiological techniques and physiological solutions. Current was normalized for all voltages to cell capacitance, and further normalization was performed between WT and mutant. The normalization to WT currents was accomplished by use of WT cell currents transfected and measured on the same day as the currents measured from mutant channel.[10] Pipettes used had resistances ranging from 2 to 6 MOhm. Series resistance compensation of >70% was used to compensate for voltage drops in the pipette. All experiments were performed at room temperature. Details of the molecular biology and electrophysiological methods are given in the Materials and Methods section of the online-only Data Supplement.

End Point

The primary end point of the study was the occurrence of a first life-threatening cardiac event, comprising ACA requiring external defibrillation as part of the resuscitation or LQTS-related SCD (abrupt in onset without evident cause if witnessed or death that was not explained by any other cause if it occurred in an unwitnessed setting) from birth through 40 years of age. Follow-up after 40 years of age was not included to minimize the influence of coronary disease on cardiac events. The consistency of the results among patients who received an implantable cardioverter-defibrillator during follow-up was evaluated in a secondary analysis that included the occurrence of a first appropriate implantable cardioverter-defibrillator shock in the composite ACA or SCD end point.

Statistical Analysis

Characteristics of the 4 subgroups of patients categorized by mutation location and type were compared by use of a 1-way ANOVA test or χ^2 and Fisher exact tests as appropriate. The probability of a first life-threatening cardiac event by the mutation location and type subgroup was graphically displayed according to the Kaplan-Meier method, with comparison of instantaneous risk by the log-rank test. The Cox proportional-hazards survivorship model was used to evaluate the independent contribution of clinical and genetic factors to the first occurrence of a life-threatening cardiac event from birth through 40 years of age. The Cox regression models, stratified by decade of birth year and allowing for time-dependent covariates, were fit to estimate the adjusted hazard ratio function of age. Therefore, to fulfill the assumption of proportional hazards for sex over the entire age range, a time-dependent covariate for sex (via an interaction with time) was incorporated, allowing for different hazard ratios by sex before and after 13 years of age. This was justified by the known higher risk of cardiac events or life-threatening cardiac events among male subjects before adolescence and a similar or higher female risk after the onset of adolescence.[12–16] Patients who did not have an ECG for QTc measurement (n=127) were identified in the Cox models as QTc missing, and all Cox models were adjusted for this QTc-missing parameter. The influence of time-dependent β-blocker therapy (the age at which β-blocker therapy was initiated) on outcome in the subgroups of patients with and without C-loop missense mutations was determined by adding a time-dependent β-blocker–by–mutation category interaction term to the multivariable Cox model. We have adjusted for the effect of potential lack of independence between subjects using the robust sandwich estimator for family membership.[17,18] This robust sandwich covariance estimator is used with correlated data. Correlations among data points in the Cox model lead to underestimation of the SE used in significance testing, whereas the robust estimator uses an inflated variance estimate, taking family membership or other clustering connection into account. All significant predictors of life-threatening event risk remained significant with or without the use of this robust measure of variance. It should be noted that there is seldom more than a single observed outcome (ACA/SCD) per family (only 7% of families had >1 event); thus, the standard model-based SEs, confidence intervals, P values, and likelihood ratio tests are valid.[16]

We have carried out the following additional secondary analyses: (1) including the biophysical function of the mutations (categorized as dominant negative, haploinsufficiency, and unknown) as a covariate in the model, (2) excluding the large subgroup of patients with V254M mutations, and (3) including appropriate implantable cardioverter-defibrillator shocks in the composite end point. In addition, to assess whether fuller adjustment for family membership was important, regression models that included shared frailty terms (ie, random effects) for family were fit.

The statistical software used for the analyses was SAS version 9.20 (SAS Institute Inc, Cary, NC). For the fitting of models with frailty terms, the software used was Splus 7.0.0 for Sun SPARC. For electrophysiology and biochemistry experiments, 1-way ANOVA followed by the Tukey post hoc test was applied to assess statistical significance for multiple-group comparisons by use of SPSS Statistics (IBM). An unpaired Student t test was used for 2-group comparisons. A 2-sided significance level of 0.05 was used for hypothesis testing.

Results

Study Sample

The spectrum of mutations as categorized by location and type and their respective number of carriers are presented in Table I-A in the online-only Data Supplement. The location and frequency of missense mutations are presented diagrammatically in Figure 1. Of the 99 total different KCNQ1 mutations identified, 77 were missense mutations and 22 were nonmissense mutations. Missense mutations were further categorized according to their location: 28 different mutations in C-terminus or N-terminus regions (26 in C terminus), 34 mutations in membrane-spanning regions, and 15 mutations in the C-loop regions (8 in S2–S3 loop and 7 in S4–S5 loop). The clinical characteristics of patients in the 4 mutation location/type subgroups are presented in Table 1. Of the 860 study subjects, 20% had C/N terminal missense mutations, 44% had membrane-spanning missense mutations, 15% had C-loop missense mutations, and 22% had nonmissense mutations. Patients with C-loop missense mutations exhibited the longest QTc interval at enrollment, were treated with β-blockers more frequently during follow-up, and had a higher frequency of cardiac events of any type, including

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 1. Demographic and Clinical Characteristics

Parameter	Missense			Nonmissense
	C/N Terminus	Membrane Spanning	C Loops	
Patients, n (%)	172 (20.0)	376 (43.7)	125 (14.5)	187 (21.7)
Female, n (%)	94 (54.7)	221 (58.8)	70 (56.0)	119 (63.6)
Age at enrollment, median (interquartile range), y	21 (9–41)	25 (11–41)	19 (5–35)	21 (11–39)
QTc at enrollment, mean±SD, ms*	467±63	480±51	503±58	470±41
QTc at enrollment ≥500 ms, n (%)	39/154 (25.3)	94/312 (30.1)	47/102 (46.1)	41/165 (24.8)
Therapy during follow-up, n (%)				
β-blockers	64 (37.0)	167 (44.4)	63 (50.4)	74 (39.8)
Pacemaker	2 (1.2)	7 (1.9)	1 (0.8)	4 (2.2)
Defibrillator	6 (3.5)	25 (6.6)	10 (8.0)	13 (7.0)
Sympathectomy	0 (0.0)	1 (0.3)	1 (0.8)	1 (0.5)
Cardiac event during follow-up, n (%)				
Syncope	52 (30.1)	122 (32.4)	69 (55.2)	46 (24.7)
Aborted cardiac arrest	6 (3.5)	10 (2.7)	8 (6.4)	3 (1.6)
Sudden cardiac death	18 (10.4)	29 (7.7)	24 (19.2)	13 (7.0)
Any cardiac event	63 (36.4)	144 (38.3)	84 (67.2)	55 (29.6)

C loop indicates cytoplasmic loop.
*Of the 127 long-QT syndrome type 1 mutation carriers who did not have an ECG for QTc measurement, 58 (46%) died suddenly at a young age without a documented ECG.

syncope, ACA, and LQTS death, compared with the other mutation subgroups. The clinical characteristics of probands only are presented in Table I-B in the online-only Data Supplement.

Clinical Outcome of Patients According to Mutation Location and Type

There were 105 first life-threatening cardiac events (27 first ACA events and 78 first LQTS-related SCD events) among the 860 study patients. Patients were enrolled in the registry between 1978 and 2007 with follow-up through 2008; the last reported life-threatening cardiac event occurred in 2005. Figure 2 presents the cumulative probabilities of first life-threatening cardiac events in the 4 subgroups. There was a significantly higher event rate in the C-loop missense subgroup compared with the other 3 subgroups (log-rank $P<0.001$). Thus, at 40 years of age, the rate of life-threatening cardiac events was 33% in patients with C-loop missense mutations compared with ≤16% in patients with other mutations.

The findings from the multivariable analysis for the end point of a first life-threatening cardiac event are shown in Table 2. Notably, the adjusted hazard ratio for C-loop missense versus nonmissense mutation was 2.75 ($P=0.009$), and there was no statistically significant difference in the risk among the other mutation location/type subgroups.

Secondary confirmatory analyses (Table II in the online-only Data Supplement) showed that patients with C-loop missense mutations had an adjusted hazard ratio of 2.74 (95% confidence interval, 1.68–4.46; $P<0.001$) for life-threatening events compared with patients with other mutations. The results were consistent when the biophysical function of the mutations was added as a covariate to the multivariable model. To show that our results do not depend on the C-loop V254M mutation, which is the most common mutation in the C-loop subgroup (Table I in the online-only Data Supplement), accounting for 50% of C-loop patients, we

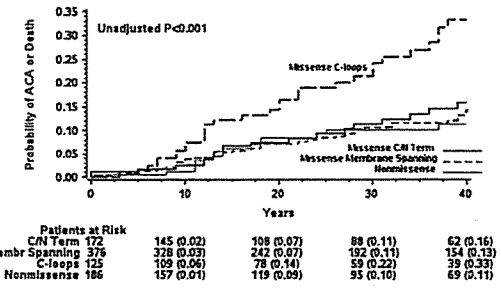


Figure 2. Kaplan-Meier estimates of cumulative probability of life-threatening cardiac events by mutation location and type. The numbers in parentheses reflect the cumulative event rate at that point in time. ACA indicates aborted cardiac arrest; LQTS, long-QT syndrome.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 2. Multivariable Analysis: Risk Factors for Aborted Cardiac Arrest or Sudden Cardiac Death

	Hazard Ratio	95% Confidence Interval	P
Sex/age			
Male (vs female) age <13 y	1.93	1.08–3.45	0.03
Male (vs female) age 13 to 40 y	1.13	0.67–1.91	0.65
QTc ≥500 ms (vs QTc <500 ms)	3.55	1.83–6.89	<0.001
Mutation type and location			
Cytoplasmic loops (missense) vs nonmissense	2.75	1.29–5.86	0.009
C/N terminus (missense) vs nonmissense	1.47	0.64–3.39	0.37
Membrane spanning (missense) vs nonmissense	0.85	0.41–1.78	0.67

The models are adjusted for sex by age and corrected QT category (including missing QT), mutation type and location category, and time-dependent β-blocker treatment. Of the 127 long-QT syndrome type 1 mutation carriers without available ECG data, 58 (46%) died suddenly at a young age without a documented ECG. The hazard ratio for missing QTc versus available was 10.49 (95% confidence interval, 6.61–16.66; $P<0.001$).

have carried out an additional separate analysis excluding patients who carried this mutation. Results were consistent, with patients with C-loop mutations having a greater risk for life-threatening events, demonstrating that our findings were independent of this mutation. The results were also consistent after inclusion of appropriate implantable cardioverter-defibrillator shocks in the composite end point (adjusted hazard ratio for C-loop missense mutations versus nonmissense mutations, 2.64; 95% confidence interval, 1.64–4.23; $P<0.001$) and after stratifying patients by enrolling center. To assess whether fuller adjustment for family membership was important, regression models that included frailty terms (ie, random effects) for family were fit in the multivariable Cox models. Models with gamma and gaussian frailty terms were fit, and the C-loop term had a consistent effect size with the original models while remaining statistically significant. Furthermore, in both of these models, the frailty terms were nonsignificant. The consistency of the results provides further support for the higher risk associated with C-loop mutations.

β-Blocker Therapy

In the present study, the effect of β-blocker therapy on the risk of life-threatening events among the different mutation subgroups was assessed as a time-dependent covariate (ie, β-blockers were given to patients at different time points during follow-up, and this information was taken into account in the multivariable models). Multivariable analysis showed a significant differential effect of β-blocker therapy on the outcome of patients with C-loop missense mutations compared with those who had other mutations (Table 3). β-Blocker therapy was associated with a significant 88% reduction ($P=0.02$) in the risk of life-threatening events among patients with C-loop missense mutations, whereas the benefit of β-blocker therapy was significantly attenuated among patients with other mutations in the *KCNQ1* channel

Table 3. Multivariable Analysis: Response to β-Blocker Therapy

β-Blocker vs No β-Blocker Therapy	Hazard Ratio	95% CI	P
All LQT1 patients	0.49	0.19–1.23	0.13
LQT1 patients with C-loop missense mutations*	0.12	0.02–0.73	0.02
LQT1 patients with other mutations (non–C-loop missense mutations)*	0.82	0.31–2.13	0.68

CI indicates confidence interval; LQT1, long-QT syndrome type 1; and C-loop, cytoplasmic loop. The models are adjusted for sex by age and corrected QT category (including missing QT), mutation type and location category, and time-dependent β-blocker treatment.
*P for interaction for mutation location-by-β-blocker treatment=0.04.

(adjusted hazard ratio, 0.82; $P=0.68$; P for treatment-by-mutation location/type interaction=0.04).

Consistent with those findings, the rate of ACA or SCD (Figure 3) was lowest among patients with C-loop missense mutations who were treated with β-blockers and highest among patients with C-loop missense mutations who were not treated with β-blockers (0.17 versus 1.11 per 100 patient-years, respectively), whereas patients with other mutations in the KCNQ1 channel exhibited intermediate and similar rates of life-threatening events with and without β-blocker therapy (0.36 and 0.38 per 100 patient-years, respectively; Figure 3).

In addition, we have repeated analysis for only patients who were treated by β-blockers (at any point in time) and consistently found that there is differential response to β-blocker therapy depending on mutation location (β-blocker versus no β-blocker therapy in patients with C-loop mutations; hazard ratio, 0.15; 95% confidence interval, 0.01–1.73; $P=0.13$; β-blocker versus no β-blocker therapy in patients with non–C-loop mutations; hazard ratio, 1.89; 95% confidence interval, 0.54–6.63; $P=0.32$) with a value for treatment-by–mutation location/type interaction of $P=0.028$.

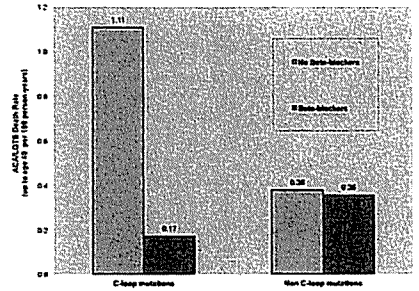


Figure 3. Risk for life-threatening cardiac events by mutation location and β-blocker treatment. Sixty-three of the 125 subjects (50%) with C-loop missense mutations were treated with β-blockers during a mean follow-up of 26.2 years; 305 of the 735 subjects (42%) with non–C-loop missense mutations were treated by β-blockers during a mean follow-up of 27.5 years. Event rates per 100 person-years were calculated by dividing the number of events during the period of β-blocker therapy or the absence of β-blocker therapy by person-years and multiplying the results by 100. ACA indicates aborted cardiac death; LQTS, long-QT syndrome.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

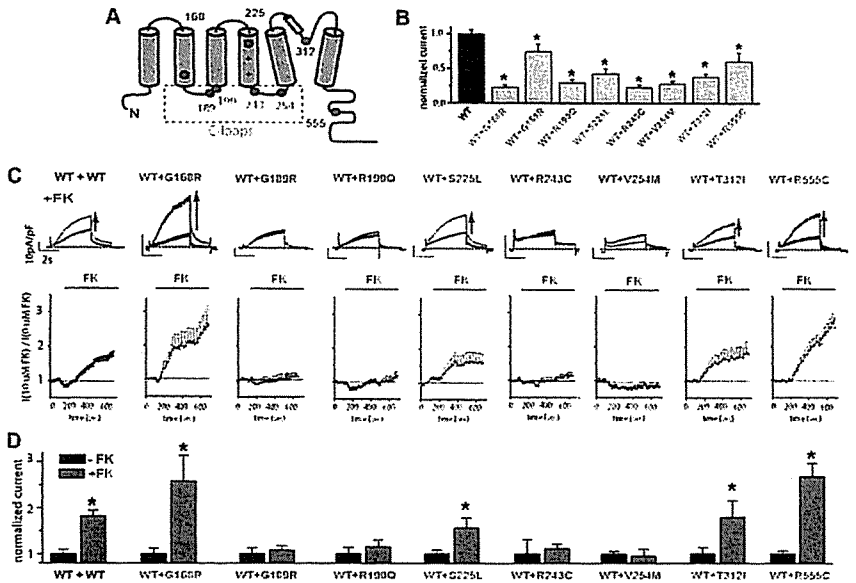


Figure 4. Regulation of LQT1 mutant channels by protein kinase A. A, Schematic representation of location of the mutations used in the study. B, Effect of each of the mutations studied in basal nonstimulated cell currents. Average current measured for cells expressing wild-type (WT) and mutant subunits measured at 40 mV after 3 seconds of depolarization. KCNQ1 and KCNE1 subunit were expressed at a ratio of 0.5 WT-KCNQ1:0.5 KCNQ1 mutant:1 KCNE1 or 0.5 WT-KCNQ1:0.5 vector:1 KCNE1 for T haploinsufficient channels. *P<0.05 vs WT. C, Top, Typical ion channel current measured before and after 10 minutes of application of the protein kinase A activator forskolin (FK; 10 μmol/L) for WT and WT and mutant subunits coexpressed. Scale bars in each panel are 10 pA/pF and 2 seconds. Scale bars are the same for all constructs. Bottom, Time course of current regulation by forskolin measured at 20 mV after 3 seconds of depolarization for channels formed by either WT or mutant coexpressed with WT subunits as indicated. Current was normalized to current in the absence of forskolin application. KCNQ1 and KCNE1 subunits were expressed at a ratio of 0.5 WT-KCNQ1:0.5 KCNQ1 mutant:1 KCNE1 or 1 WT-KCNQ1:1 KCNE1 for WT channels. Currents were activated by 4-second depolarizing steps to 20 mV from a −80-mV holding potential. These were followed by a step to −20 mV. D, Summary data for experiments done as in C. *P<0.05 vs the current before stimulation (black bar) in each group.

Cellular Expression Studies

To understand the mechanism underlying the increase in risk associated with C-loop mutations, we measured channel basal function and regulation in 8 mutant channels associated with LQT1: 3 in the membrane-spanning domains (T312I, G168R, and S225L), 4 located in C loops (G189R, R190Q, R243C, and V254M), and 1 in the C terminus (R555C; Figure 4A). WT and mutant subunits were coexpressed for all experiments. Basal channel current was decreased for all mutations studied compared with WT subunits (Figure 4B). In addition, because activation by PKA is thought to be particularly important for I_{Ks} function and to underlie arrhythmogenesis in LQT1,[3,19,20] we measured the effect of the PKA activator forskolin. All C-loop mutations tested showed dramatically impaired response to forskolin, whereas the other mutations showed a strong activation by forskolin, as did the WT KCNQ1 channel (Figure 4C and 4D).

Discussion

The present analysis of 860 LQT1 patients with a wide range of mutations in the *KCNQ1* channel provides several important implications regarding risk assessment and management in this study sample. First, patients with missense mutations located in the C loops exhibit the highest risk for life-threatening cardiac events independently of clinical and ECG variables. Second, β-blocker therapy is associated with a pronounced reduction in the risk of ACA or SCD among carriers of missense mutations in the C loop, whereas the benefit of this mode of medical therapy is significantly attenuated in LQT1 patients with other mutations. Third, expression studies of C-loop mutations suggest that an impaired regulation by PKA is the mechanism underlying the increased risk for cardiac events independently of patient QTc and may explain the pronounced response to medical therapy with β-blockers among patients with C-loop mutation carriers.

We have recently shown that patients with mutations located in the transmembrane region have a significantly higher rate of cardiac events than those with mutations located in the C terminus.[8] In addition, mutations in the transmembrane domain were suggested to be associated with a greater prolongation of the QTc during exercise.[21] The present findings confirm previous work indicating that mutations in the transmembrane region are associated with higher risk but suggest that within the transmembrane region there are distinct functional domains, with the C loops (but not in the membrane-spanning domain) being associated with increased risk for life-threatening cardiac events compared with other mutations in the KCNQ1 channel. The S2-S3 and S4-S5 C loops have previously been suggested to have an important functional role in modifying the function of voltage-gated potassium channels.[22] In particular for I_{Ks}, the S4-S5 loop has been suggested to mediate a functional interaction with the auxiliary *KCNE1* subunits.[23] Most recently, LQT1 mutations in C loops, when expressed in the absence of WT subunits, were suggested to affect adrenergic channel regulation.[9] Our results showed that even when expressed in the presence of WT subunits, C-loop mutations can dramatically affect channel regulation. Consistent with our results, induced pluripotent stem cells differentiated into cardiomyocytes from a patient carrying R190Q were recently shown to lack adrenergic regulation of their I_{Ks} current.[24] Also consistent with our results, for haploinsufficient mutations, not tested here, a simple lack of mutant subunit expression is expected to maintain normal adrenergic regulation, contributing to the milder phenotype of these mutations.[8] It is conceivable that a decrease in channel regulation, as observed for the C-loop mutations, will lead to an increase in the burden of the mutation during adrenergic stimulus. The increase in cardiac risk associated with C-loop mutations is independent of traditional clinical variables; this can be explained by a blunted PKA-mediated activation because QTc is generally measured at rest. Thus, our results suggest that exercise may exacerbate the QTc prolongation for C-loop mutants. It has recently been suggested that the mutation KNCQ1(A341V) also caused an impairment in β-adrenergic activation.[25] This mutation is located at the end of the S6 domain, a region suggested to interact with the S4-S5 loop.[26] It is possible that other mutations causing functional impairment similar to that of the C-loop mutations may also carry the increased cardiac risk and β-blocker efficacy.

Current guidelines recommend empirical therapy with β-blockers in all LQTS patients.[27] The present study shows, for the first time, a mutation-specific response to β-blocker therapy in LQT1, demonstrating that β-blockers were associated with a significantly greater reduction in the risk of life-threatening cardiac events among patients with mutations located in the C loops compared with all other mutations. It is conceivable that during β-adrenergic stimulation, patients with mutations located in the C loops have an unopposed increase in inward Ca^{2+} currents and prolongation of repolarization caused by blunted PKA-mediated activation of I_{Ks}.[5] β-Blockers may decrease these unopposed inward Ca^{2+} currents, shorten repolarization, and reduce the risk of ventricular arrhythmias,[28] whereas patients with other mutations do not exhibit such an effect.

Study Limitations

Clinical history was obtained on enrollment in the registry, so follow-up data in the current study comprised historical data from birth to enrollment and prospective information collected at yearly intervals after enrollment.

The International LQTS Registry records therapies that are prescribed at the discretion of the treating physicians to enrolled subjects; therefore, β-blocker administration was not randomized. However, because the patient's physician would have been blinded to whether the patient had a C-loop mutation, the interaction of this with β-blocker therapy is still compelling. Prior studies from the International LQTS Registry have shown that β-blocker therapy is associated with a significant reduction in the risk of cardiac events in LQTS patients. However, the present study is the first to assess the benefit of β-blocker therapy for the reduction in the risk of ACA or SCD among LQT1 patients. We have shown that β-blocker therapy is associated with a significant 88% (P=0.02) reduction in the risk of life-threatening cardiac events among LQT1 carriers of the higher-risk C-loop mutations. Risk reduction associated with β-blocker therapy in the total study sample and among carriers of the low-risk non–C-loop mutations did not reach statistical significance. The lack of a significant β-blocker effect may be due to sample size limitation and a more limited number of events among carriers of lower risk mutations. Thus, lower-risk patients should still be treated with β-blocker therapy according to guidelines[27] because the cumulative probability of ACA or SCD from birth through 40 years of age among patients with non–C-loop missense mutations was still considerable (between 11% and 16%). These limitations also suggest that further studies in independent populations are needed before the results can be extrapolated to clinical practice.

The present results, derived from LQTS families enrolled in the registry, may be confounded by familial factors such as ethnicity. To minimize bias, we adjusted for family membership in the multivariable models and carried out a secondary analysis in which additional adjustment was made for proband status. These analyses yielded similar results, further supporting the consistency of our findings. Of the 127 LQT1 mutation carriers without available ECG data, 58 (46%) died suddenly at a young age without a documented ECG. To minimize this bias related to exclusion of higher-risk patients, all multivariable analyses included adjustment for a QTc-missing category in addition to the category of QTc >500 milliseconds.

Channel current and response to forskolin were analyzed for 8 mutations of 99 mutation types observed in this study, but the robust findings in these expression studies strongly support our suggested mechanism. Experimental data were performed at room temperature; results may be different at physiological temperature.

Conclusions

We used a combination of clinical analysis and cellular electrophysiology experiments to investigate the molecular determinants and mechanisms underlying the clinical outcomes of a large cohort of subjects having a spectrum of *KCNQ1* mutations categorized by their code type and location. Patients with *KCNQ1* missense mutations located in the cytoplasmic loops had a significantly greater risk for life-threatening cardiac events and gained grater benefit when

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

treated with β-blockers compared with patients having other *KCNQ1* missense or nonmissense mutations independently of clinical risk factors. We suggest that a combination of a decrease in basal function and altered adrenergic regulation of the I_{Ks} channel underlies the increased cardiac risk in this subgroup of patients. Our results highlight the importance of understanding the molecular determinants and mechanisms underlying arrhythmogenesis to identify cardiac risk factors for LQT1 patients.

Acknowledgments

This research was carried out while Dr Barsheshet was a Mirowski-Moss Career Development Awardee at the University of Rochester Medical Center, Rochester, NY. We thank Jaime Sorenson, Nobiru Suzuki, and Mehreen Butt for their technical assistance.

Sources of Funding

This work was supported by research grants HL-33843 and HL-51618 from the National Institutes of Health, Bethesda, MD, and by a research grant from BioReference Labs to the Heart Research Follow-Up Program in support of the LQTS Registry.

Disclosures

Dr Ackerman has a consulting relationship and license agreement/royalty arrangement with Transgenomic. Dr Kaufman receives research support from Cambridge Heart. Dr O-Uchi is the recipient of an American Heart Association Postdoctoral Fellowship Grant (09POST2310079), a Foreign Study Grant Award of the Kanae Foundation (Tokyo, Japan), and an Irisawa Memorial Promotion Award for Young Physiologists (Physiological Society of Japan). Dr Kanters is a recipient of the Danish Council for Strategic Research grant. Dr Shimizu is a recipient of research grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. Dr Moss is a recipient of National Institutes of Health grants and receives research support from BioReference Labs. Dr Wilde has a consulting relationship with Transgenomic. The other authors report no conflicts.

References

1. Goldenberg I, Moss AJ. Long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 51:2291–2300.
2. Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, Moss AJ, Vincent GM, Napolitano C, Denjoy I, Guicheney P, Breithardt G, Keating MT, Towbin JA, Beggs AH, Brink P, Wilde AA, Toivonen L, Zareba W, Robinson JL, Timothy KW, Corfield V, Wattanasirichaigoon D, Corbett C, Haverkamp W, Schulze-Bahr E, Lehmann MH, Schwartz K, Coumel P, Bhuiyan R. Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation*. 2001;103:89–95.
3. Walsh KB, Kass RS. Regulation of a heart potassium channel by protein kinase A and C. *Science*. 1988;242:67–69.
4. Marx SO, Kurokawa J, Reiken S, Motoike H, D'Armiento J, Marks AR, Kass RS. Requirement of a macromolecular signaling complex for beta adrenergic receptor modulation of the KCNQ1-KCNE1 potassium channel. *Science*. 2002;295:496–499.
5. Shimizu W, Antzelevitch C. Differential effects of beta-adrenergic agonists and antagonists in LQT1, LQT2 and LQT3 models of the long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:778–786.
6. Goldenberg I, Bradley J, Moss A, McNitt S, Polonsky S, Robinson JL, Andrews M, Zareba W. Beta-blocker efficacy in high-risk patients with the congenital long-QT syndrome types 1 and 2: Implications for patient management. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2010;21:893–901.
7. Jespersen T, Grunnet M, Olesen SP. The KCNQ1 potassium channel: from gene to physiological function. *Physiology*. 2005;20:408–416.
8. Moss AJ, Shimizu W, Wilde AA, Towbin JA, Zareba W, Robinson JL, Qi M, Vincent GM, Ackerman MJ, Kaufman ES, Hofman N, Seth R, Kamakura S, Miyamoto Y, Goldenberg I, Andrews ML, McNitt S. Clinical aspects of type-1 long-QT syndrome by location, coding type, and biophysical function of mutations involving the KCNQ1 gene. *Circulation*. 2007;115:2481–2489.
9. Matavel A, Medei E, Lopes CM. PKA and PKC partially rescue long QT type 1 phenotype by restoring channel-PIP2 interactions. *Channels*. 2010; 4:3–11.
10. Jons C, J OU, Moss AJ, Reumann M, Rice JJ, Goldenberg I, Zareba W, Wilde AA, Shimizu W, Kanters JK, McNitt S, Hofman N, Robinson JL, Lopes CM. Use of mutant-specific ion channel characteristics for risk stratification of long QT syndrome patients. *Sci Transl Med*. 2011;3: 76ra28.
11. Jhun BS, J OU, Wang W, Ha CH, Zhao J, Kim JY, Wong C, Dirksen RT, Lopes CM, Jin ZG. Adrenergic signaling controls RGK-dependent trafficking of cardiac voltage-gated L-type Ca^{2+} channels through PKD1. *Circ Res*. 2012;110:59–70.
12. Hobbs JB, Peterson DR, Moss AJ, McNitt S, Zareba W, Goldenberg I, Qi M, Robinson JL, Sauer AJ, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Locati EH, Napolitano C, Priori SG, Towbin JA, Vincent GM, Zhang L. Risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death during adolescence in the long-QT syndrome. *JAMA*. 2006;296:1249–1254.
13. Goldenberg I, Moss AJ, Peterson DR, McNitt S, Zareba W, Andrews ML, Robinson JL, Locati EH, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Napolitano C, Priori SG, Qi M, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM, Zhang L. Risk factors for aborted cardiac arrest and sudden cardiac death in children with the congenital long-QT syndrome. *Circulation*. 2008; 117:2184–2191.
14. Locati EH, Zareba W, Moss AJ, Schwartz PJ, Vincent GM, Lehmann MH, Towbin JA, Priori SG, Napolitano C, Robinson JL, Andrews M, Timothy K, Hall WJ. Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the international LQTS registry. *Circulation*. 1998;97:2237–2244.
15. Zareba W, Moss AJ, Shen G, Kaufman ES, Priori S, Vincent GM, Towbin JA, Benhorin J, Schwartz PJ, Napolitano C, Hall WJ, Keating MT, Qi M, Robinson JL, Andrews ML. Location of mutation in the KCNQ1 and phenotypic presentation of long QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2003;14:1149–1153.
16. Sauer AJ, Moss AJ, McNitt S, Peterson DR, Zareba W, Robinson JL, Qi M, Goldenberg I, Hobbs JB, Ackerman MJ, Benhorin J, Hall WJ, Kaufman ES, Locati EH, Napolitano C, Priori SG, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM, Zhang L. Long QT syndrome in adults. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:329–337.
17. Lin DY, Wei LJ. The robust inference for the proportional hazards model. *J Am Stat Assoc*. 1989;84:1074–1078.
18. Therneau TM, Grambsch PM. *Modeling Survival Data: Extending the Cox Model*. New York, NY: Springer-Verlag; 2000.
19. Terrenoire C, Clancy CE, Cormier JW, Sampson KJ, Kass RS. Autonomic control of cardiac action potentials: role of potassium channel kinetics in response to sympathetic stimulation. *Circ Res*. 2005;96: e25–e34.
20. Potet F, Scott JD, Mohammad-Panah R, Escande D, Baro I. Akap proteins anchor cAMP-dependent protein kinase to KVLQT1/lSK channel complex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280:H2038–H2045.
21. Shimizu W, Horie M, Ohno S, Takenaka K, Yamaguchi M, Shimizu M, Washizuka T, Aizawa Y, Nakamura K, Ohe T, Aiba T, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, Towbin JA, Priori SG, Kamakura S. Mutation site-specific differences in arrhythmic risk and sensitivity to sympathetic stimulation in the LQT1 form of congenital long QT syndrome: multicenter study in Japan. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:117–125.
22. Isacoff EY, Jan YN, Jan LY. Putative receptor for the cytoplasmic inactivation gate in the Shaker K^+ channel. *Nature*. 1991;353:86–90.
23. Franqueza L, Lin M, Shen J, Splawski I, Keating MT, Sanguinetti MC. Long QT syndrome-associated mutations in the S4-S5 linker of KVLQT1 potassium channels modify gating and interaction with minK subunits. *J Biol Chem*. 1999;274:21063–21070.
24. Moretti A, Bellin M, Welling A, Jung CB, Lam JT, Bott-Flugel L, Dorn T, Goedel A, Hohnke C, Hofmann F, Seyfarth M, Sinnecker D, Schomig A, Langwitz KL. Patient-specific induced pluripotent stem-cell models for long-QT syndrome. *N Engl J Med*. 2010;363:1397–1409.
25. Heijman J, Spajjens RL, Seyen SR, Lemink V, Kuijpers HJ, Boulet IR, de Windt LJ, David M, Volders PG. Dominant-negative control of cAMP-dependent IKs upregulation in human long-QT syndrome type 1. *Circ Res*. 2012;110:211–219.
26. Chouvea ES, Rodriguez N, Ali FA, Labro AJ, Rose T, Dahimene S, Boudin H, Le Henaff C, Escande D, Snyders DJ, Charpentier F, Merot J, Baro I, Loussouarn G. KCNQ1 channels voltage dependence through a voltage-dependent binding of the S4-S5 linker to the pore domain. *J Biol Chem*. 2011;286:707–716
27. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, Buxton AE, Chaitman B, Fromer M, Gregoratos G, Klein G, Moss AJ, Myerburg RJ, Priori SG, Quinones MA, Roden DM, Silka MJ, Tracy C, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Antman EM, Anderson JL, Hunt SA, Halperin JL, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B, Blanc JJ, Budaj A, Dean V, Deckers JW, Despres C, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo JL, Zamorano JL. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2006;114:e385–e484.
28. Haffaker R, Lamp ST, Weiss JN, Kogan B. Intracellular calcium cycling, early afterdepolarizations, and reentry in simulated long QT syndrome. *Heart Rhythm*. 2004;1:441–448.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

CLINICAL PERSPECTIVE

Long-QT syndrome type 1 (LQT1) arises from a decrease in repolarizing potassium current resulting from mutations in the *KCNQ1* gene. The main trigger for cardiac arrhythmic events in patients with LQT1 is activation of β1-adrenergic receptors during exercise. Despite the observed reduction in the risk of cardiac events with β-blocker therapy among LQT1 patients, there is still a considerable cardiac residual event rate, suggesting that subgroups of LQT1 patients have differential response to β-blockers. The present study of 860 patients from the International LQTS Registry shows that the presence of missense mutations in distinct functional domains of the KCNQ1 protein, the S2-S3 and S4-S5 cytoplasmic loops (C loops), is associated with a significantly increased risk for life-threatening cardiac events compared with other mutations. Furthermore, patients with missense C-loop mutations gained greater benefit when treated with β-blockers compared with patients having other *KCNQ1* mutations independently of clinical risk factors, demonstrating that LQT1 patients have differential response to β-blocker therapy depending on mutation location. Both a decrease in basal function and altered adrenergic regulation of the I_{Ks} channel underlie the increased cardiac risk and response to β-blockers in this subgroup of patients. Patients with missense C-loop mutations should be considered a high-risk group of patients but with a pronounced response to β-blockers.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental Methods

Plasmid, antibodies and reagents

The following plasmids were used for whole experiments: Human *KCNQ1* and *KCNE1* in pcDNA3.1(+) vector (gifts from Dr. Robert S. Kass, Columbia University), GFP-tagged human *KCNQ1* in pEGFP-N2 (kindly provided from Dr. Gildas Loussouarn, IRT UN, France)[1] human *KCNQ1* in modified pIRES2 vector in containing the fluorescent protein cDNA of DsRed-MST instead of GFP (generously provided by Dr. Alfred George, Vanderbilt University).[2] pcDNA3.1(+) vector (Invitrogen) and pEGFP-N1 vector (Clontech). Mutations were introduced into *KCNQ1* and GFP-tagged *KCNQ1* using the PCR based site direct mutagenesis was performed using PFU ultra DNA polymerase (Agilent Technologies).[3] Construct sequences were confirmed by DNA sequencing at Functional Genomics Center, University of Rochester Medical Center.

The following antibodies were used for immunoblot: anti-*KCNQ1* antibody (goat polyclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology) raised against the peptide mapping at the C-terminus of *KCNQ1* of human origin, anti-β-actin antibody (mouse monoclonal IgG, GenScript USA), IRDye800-conjugated anti-goat antibody (Rockland Immunochemicals), and Alexa Fluor® 680 goat anti-mouse antibody (Invitrogen).

All reagents were purchased from Sigma-Aldrich Corporation unless otherwise indicated. Adenylyl cyclase activator, forskolin was dissolved in Dimethyl sulfoxide (DMSO) to make 25mM stock and stored at -20°C.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Cell culture and transfection

HEK293T cells (generously provided from Dr. Keigi Fujiwara, University of Rochester) were maintained in high glucose (4.5 g/L) Dulbecco's modified Eagle's medium (Mediatech) supplemented with 10% fetal bovine serum (Equitech-Bio) and 1% L-glutamax (Invitrogen) in a humidified incubator with 5% CO_2.[3-4] Cells were transfected with FUGENE-HD transfection regents (Roche), re-plated 24 hours after transfection by using Acutase (Innovative Cell Technologies) and used for experiments 48 hours after transfection.

Western blot analysis

Expression of wild-type (WT)- and mutant-*KCNQ1* subunits were confirmed by Western blot. Whole cell lysates were prepared from HEK293T cells, separated by 10% SDS-PAGE, transferred to nitrocellulose membrane (Bio-Rad) and incubated with primary antibodies, followed by incubation with fluorescence-conjugated secondary antibodies.[5] Immunoreactive bands were visualized by Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR Biotechnology, Lincoln NE). Densitometric analyses of immunoblots were performed with NIH Image J software. The expression of β-actin was used to control for protein loading in each condition. Mutant band intensity were normalized to wild-type intensity in each blot.

Analysis of co-transfection efficiency

GFP-tagged mutant constructs and wild-type subunits in a vector that can expressed DsRed fluorecent protein in addition to the WT subunit were used (Supplementary figure 1S top panel). Co-expression of WT- and mutant-*KCNQ1* subunits were observed using laser scanning confocal microscope (Fluoview FV1000, Olympus) with images obtained using

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Fluoview software (FV10-ASW ver2.1c, Olympus) in live cells at room temperature in Tyrode's solution.[6] The composition of Tyrode's solution was as follows (mM): NaCl, 136.9; KCl, 5.4; $CaCl_2$, 2; $MgCl_2$, 0.5; NaH_2PO_4, 0.33; HEPES, 5; glucose, 5, pH 7.40 adjusted with NaOH. HEK293T cells were transfected with GFP-tagged mutant *KCNQ1*, WT-*KCNQ1* in pIRES2- DsRed-MST vector and *KCNE1* at the ratio of 0.5: 0.5: 1.

In order to study the heterozygous mutant channel, expression of both wild-type and mutant channel subunits in the same cells is necessary. To address whether co-transfection of wild-type and mutant subunits in HEK293 cells yielded expression of both subunits, we used fluorescence tagged constructs (Top panel A). A typical group of cells showing mutant and wild type expression is depicted at the bottom of panel A. In panel B, green (mutant expressing) and red (wild-type expressing) cells were counted and separated into three groups: 1) only WT subunit-expressed cells despite co-transfection of the mutant subunit (only red fluorescence from DsRed), 2) only mutant subunit-expressed cells despite co-transfetion of wild-type subunit (only green fluorescence from EGFP) and 3) the desired combination of WT- and mutant subunit-coexpressed cells (both green and red fluorescence). For 85-95% of cells, WT and mutant-*KCNQ1* were co-expressed, suggesting that this transfection protocol leads to expression of both subunits in the same cells and the heterozygous expression of the channel subunits (Supplementary Figure 1S bottom panel). Using electrophysiology measurements (see next section for details), we determined that for all heterozygous mutant channels transfected, in about 10% of total cells patched, fast current activation characteristic of *KCNQ1* expressed alone without *KCNE1* subunits [7] was

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

observed. These cells were not used for determination of channel regulation. This number is consistent with a high co-transfection efficiency of the KCNE1 subunit.

Electrophysiology

Wild type *KCNQ1*:*KCNE1* DNA were expressed in HEK293T cells either at a ratio of 1:1 or 0.5:1, mimicking the haploinsufficient phenotype. Empty plasmid was added to maintain total DNA concentration constant. Each mutant *KCNQ1* plasmid was co-transfected with WT *KCNQ1* and *KCNE1* at the ratio of 0.5 μg mutant *KCNQ1*:0.5 μg WT-*KCNQ1*:1μg *KCNE1* to yield heterozygous mutant channel expressed. Cells were also co-transfected with low amounts of pEGFP-N1 (0.2 μg) to allow identification of transfected cells using fluorescence. Selection of bright green cells, expressing high concentration of pEGFP, are expected to have higher concentration of the other transfected plasmids, decreasing the inherent variability of the subunit expression levels. In a small percentage of cells (about 10% of total cells patched for all mutants), fast current activation characteristic of *KCNQ1* expressed alone without *KCNE1* subunits was observed. These cells were not used for determination of channel regulation.

K^+ currents were measured using an Axon 200B amplifier (Axon Instruments) and conventional whole cell patch clamp techniques. The tip resistances of glass pipettes were of 2–6 MΩ. Voltage-clamp protocols and data acquisition and analyses were performed using Clampex software (Axon Instruments). The voltage drop across the access resistance was compensated >70%. Whole cell currents were recorded using a low-pass filter with an 1 kHz cutoff and sampled at 2–5 kHz.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplemental Tables

Table 1S. Distribution of Mutation Location and Type in LQT1 patients

Missense									Nonmissense		
C/N terminal			Membrane spanning			Cytoplasmic loops					
Codon	n (%)	Dominant Negative*	Codon	n (%)	Dominant Negative*	Codon	n (%)	Dominant Negative*	Type	n (%)	Dominant Negative*
All	172 (20)	-	All	376 (44)	-	All	125 (15)	-	All	187 (22)	-
R591H	19 (11)	No [3]	G168R	67 (18)	Yes [3†]	V254M	62 (50)	Yes [3†]	A344A/sp	41 (22)	No‡
H363N	17 (10)	Unknown	G269S	41 (11)	Yes [3]	Y184S	18 (14)	Yes [3]	Q530X	25 (13)	No‡
R366W	15 (9)	Unknown	G269D	24 (6)	Yes [8]	R243C	13 (10)	Yes [3†]	R518X	19 (10)	No‡
R594Q	14 (8)	No [3]	L266P	24 (6)	Yes [3]	A178P	5 (4)	Yes [9]	K598K/sp	17 (9)	No‡
D611Y	10 (6)	No [3]	A341V	22 (6)	Yes [3]	R259L	5 (4)	Unknown	448 insG	11 (6)	No‡
K393N	10 (6)	Unknown	G314S	19 (5)	Yes [3]	G189R	4 (3)	Yes †	delF340	9 (5)	No‡
S373P	8 (5)	Unknown	A344V	18 (5)	Unknown	R190Q	4 (3)	Yes †	IVS +5 G>A	8 (4)	Unknown
G568R	7 (4)	Unknown	T312I	17 (5)	Yes [3†]	D242N	3 (2)	Unknown	IVS7 +5 G>A	8 (4)	Unknown
I567S	7 (4)	Unknown	W305S	16 (4)	Yes [3]	G189E	2 (2)	Unknown	L191fs/90	8 (4)	No‡
R555C	7 (4)	Yes †	S225L	15 (4)	Yes [3†]	R174H	2 (2)	Unknown	P400fs/62	7 (4)	No‡
V524G	6 (3)	Unknown	S349W	15 (4)	Yes [3]	R259C	3 (2)	Yes [10]	Y171X	7 (4)	No‡
R397W	5 (3)	Unknown	E160K	12 (3)	unknown	A178T	1 (1)	Unknown	S349X	6 (3)	No‡
R591C	5 (3)	Unknown	A341E	10 (3)	Yes [3]	D242Y	1 (1)	Unknown	intron2,-2 G/A	4 (2)	Unknown
S546L	5 (3)	Unknown	L273F	10 (3)	Yes [9]	R190W	1 (1)	Unknown	S571fs/20	3 (2)	No‡
R562S	4 (2)	Unknown	Y315C	10 (3)	Yes [3]	R243S	1 (1)	Unknown	639+5G>A	2 (1)	Unknown
A590T	3 (2)	Unknown	G325R	8 (2)	Unknown				A150fs/133	2 (1)	No‡
D455Y	3 (2)	Unknown	S277L	8 (2)	Unknown				A636fs/28	2 (1)	No‡
I517T	3 (2)	Unknown	D317G	5 (1)	Unknown				IVS2 +1 G>A	2 (1)	Unknown
K557E	3 (2)	Unknown	L353P	4 (1)	Unknown				IVS4 +5 G>A	2 (1)	Unknown
M520R	3 (2)	Unknown	Y281C	4 (1)	Unknown				R195fs/40	2 (1)	No‡
Q357H	3 (2)	Unknown	A226V	3 (1)	Unknown				K422fsX10	1 (1)	No‡
R360G	3 (2)	Unknown	A302V	3 (1)	Unknown				M1V	1 (1)	No‡

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

The composition of the extracellular solution for the I_{Ks} measurements was (in mmol/L): 145 NaCl, 5.4 KCl, 1. $MgCl_2$, 1.8 $CaCl_2$, 10 HEPES, 10 glucose (pH 7.40 adjusted with NaOH). The composition of the pipette solution was (in mmol/L): 130 K-aspartate, 11 EGTA, 1. $MgCl_2$, 1 $CaCl_2$, 10 HEPES, 5 K-ATP (pH 7.20 adjusted with KOH). Cell-plated glass cover slides were placed on recording chamber (Warner Instruments) and continuously perfused with extracellular solution. All experiments were performed at room temperature (≅ 22°C).

Currents time course was measured using a 4-sec depolarization pulse to +20 mV from a holding potential of -80 mV, followed by a 2-sec pulse to -20mV repeated every 10 sec. Current-voltage (I-V) relationships were obtained using a series of test pulses between -40 mV and +120 mV in 10-mV increments before and after forskolin treatment. Baseline mutant current was compared to the current measured from haploinsufficient control channel (0.5 ng WT-*KCNQ1*: 1ng *KCNE1*). The time course of current regulation by forskolin for channels formed by mutant subunits co-expressed with WT subunits was normalized to the changes measured in the absence of forskolin application over the same time course. The time course of current regulation by forskolin in WT channels was measured from cells transfected with 1 μg WT-*KCNQ1* and 1 μg *KCNE1*.

Statistics

One-way ANOVA followed by Tukey Post Hoc test was applied for the assessment of statistical significance for multiple group comparison by using SPSS Statistics ver 17 (IBM). Unpaired Student T-test was used for two group comparison. The significance was set at $p < 0.05$.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 2S. Secondary confirmatory multivariate analyses: risk factors for aborted cardiac arrest or sudden cardiac death

A. Including the variable Cytoplasmic loops- missense vs. other mutations.

	Hazard ratio	95% CI	P Value
Gender/age			
Males age < 13 yrs	1.94	1.09-3.47	0.026
Females age 13 to 40 yrs	0.88	0.51-1.52	0.652
QTc ≥ 500 msec (vs. QTc<500)	3.46	1.80-6.63	<0.001
Cytoplasmic loops- missense vs. other mutations	2.74	1.68-4.46	<0.001

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

R583H	3 (2)	Unknown	G292D	3 (1)	Unknown						
S566F	3 (2)	Unknown	W305C	3 (1)	Unknown						
R562M	2 (1)	Unknown	E284K	2 (1)	Unknown						
W120C	2 (1)	Unknown	F296S	2 (1)	Unknown						
A525T	1 (1)	Unknown	G306R	2 (1)	Yes [11]						
G57V	1 (1)	Unknown	T322M	2 (1)	Unknown						
			V310I	2 (1)	Unknown						
			I274V	1 (0)	Unknown						
			P320H	1 (0)	Unknown						
			P343S	1 (0)	Yes [12]						
			R237P	1 (0)	Unknown						
			Y315S	1 (0)	Unknown						

*The biophysical function of the mutations was categorized as dominant-negative (>50% reduction in ion channel repolarizing current), haploinsufficiency (<50% reduction in ion channel repolarizing current), and unknown.
†Based on the present study.
‡Assumption based on the nature of the mutation.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

B. With adjustment for biophysical function

	Hazard ratio	95% CI	P Value
Gender/age			
Males age < 13 yrs	1.96	1.09-3.52	0.024
Females age 13 to 40 yrs	0.87	0.51-1.49	0.610
QTc ≥ 500 msec (vs. QTc<500)	3.46	1.79-6.70	0.000
Cytoplasmic loops- missense vs. other mutations	2.87	1.74-4.75	<0.001
Dominant negative vs. Haploinsufficiency.*	0.97	0.52-1.81	0.929

Adjusted also for unknown biophysical function.

* In a separate model adjusting only for biophysical function (including unknown function). Dominant negative vs. Haploinsufficiency HR= 2.15, 95% CI 1.15-4.02, p=0.017.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

C. Excluding patients with V254M mutation.

	Hazard ratio	95% CI	P Value
Gender/age			
Males age < 13 yrs	2.14	1.09-4.24	0.028
Females age 13 to 40 yrs	0.70	0.40-1.22	0.207
QTc ≥ 500 msec (vs. QTc<500)	4.45	2.26-8.76	<0.001
Cytoplasmic loops- missense (excluding V254M) vs. other mutations	1.89	1.09-3.26	0.024

D. Including appropriate ICD shocks in the composite end point.

	Hazard ratio	95% CI	P Value
Gender/age			
Males age < 13 yrs	1.70	0.95-3.05	0.074
Females age 13 to 40 yrs	0.95	0.57-1.60	0.849
QTc ≥ 500 msec (vs. QTc<500)	3.26	1.75-6.09	<0.001
Cytoplasmic loops- missense vs. other mutations	2.64	1.65-4.23	<0.001

All tables adjusted also for time-dependent ß-blocker treatment and for QTc missing.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

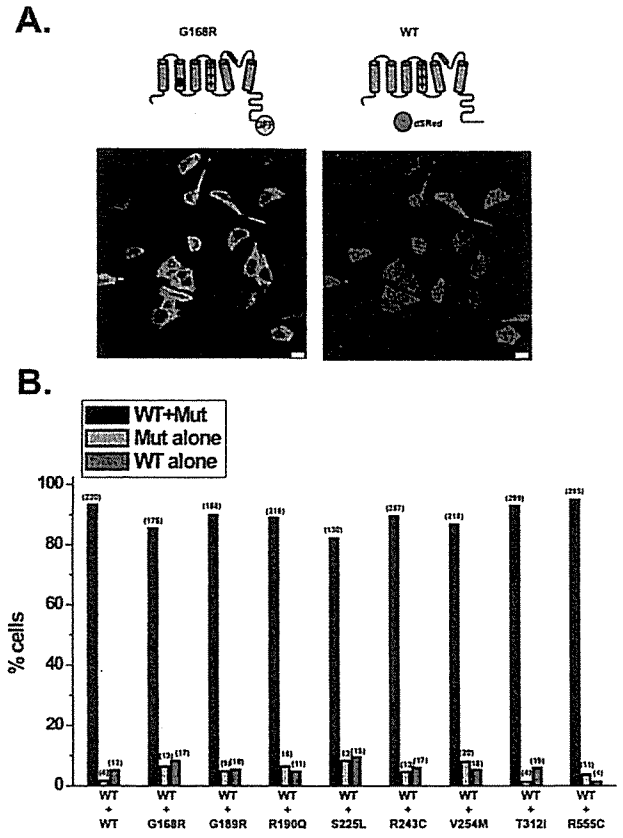

A.
G168R
WT
eGFP
eCFP
eCFP
eC

Figure Legends

Supplementary Figure 1S. Co-expression of WT- and mutant-*KCNQ1* subunits in HEK293T cells.

A. Schematic pictures of the DNA constructs used for confirming co-expression of WT- and mutant-*KCNQ1* subunits in HEK293T cells. GFP was tagged to mutant *KCNQ1* at C-term (upper panel, left). WT-*KCNQ1* was introduced in pIRES2-DsRed plasmid containing unlinked *KCNQ1* and DsRed fluorescence cDNA (see also Supplementary Material and Methods) (upper panel, right). Each GFP-tagged mutant *KCNQ1* plasmid was transfected with WT *KCNQ1* in pIRES2-DsRed plasmid and *KCNE1* at the ratio of 0.5 μg mutant *KCNQ1*: 0.5 μg WT-*KCNQ1*: 1 μg *KCNE1* to mimic heterozygous mutation. Representative pictures obtained from confocal microscope shown in lower panels showed that most of the cells were expressing both WT-*KCNQ1* and *KCNQ1*(G168R) subunits. Scale bar in each panel, 10 μm. **B.** Summary data obtained from all mutants tested. WT channels expression (GFP-tagged WT-*KCNQ1*: WT-*KCNQ1* in pIRES2-DsRed plasmid: *KCNE1*= 0.5 μg :0.5 μg: 1μg) is shown as control experiments (showing as WT+WT). The number of the cells used for analysis is shown in parentheses. Untransfected cells show very low background green and red fluorescence compared to transfected cells (not shown).

Supplementary Figure 2S. Expression of WT- and mutant-*KCNQ1* subunit proteins in HEK293T cells.

Representative Western blotting picture for WT- and mutant-*KCNQ1* subunit proteins expressed in HEK293T cells. HEK293T cells were co-transfected with either WT- or

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

mutant *KCNQ1* (1 μg), in addition to *KCNE1* (1 μg) and pEGFP-N1 (0.2 μg). Lysates were subjected to 10% SDS-PAGE followed by immunoblotting with anti-*KCNQ1* antibody and anti-β-actin antibody. **B.** Summary data obtained from 4-9 experiments. The band intensity of each mutant subunit was not significantly changed compared to that of WT (G168R, p=1.00; G189R, p= 0.850; R190Q, P=1.00; S225L, P=0.492; R243C, P=0.309; V254M, P=0.222; T312I, P=0.994; R555C, 0.750). Normalized intensity was determined by measuring intensity of *KCNQ1* protein and β-actin protein in each lane to control for protein loading. *KCNQ1*/ β-actin ratio for each mutant was normalized to WT/ β-actin ratio in each blot.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplemental References

1. Loussouarn G, Baro I, Escande D. KCNQ1 K+ channel-mediated cardiac channelopathies. *Methods Mol Biol*. 2006;337:167-183
2. Vanoye CG, Welch RC, Daniels MA, Manderfield LJ, Tapper AR, Sanders CR, George AL, Jr. Distinct subdomains of the KCNQ S6 segment determine channel modulation by different KCNE subunits. *J Gen Physiol*. 2009;134:207-217
3. Jons C, J OU, Moss AJ, Reumann M, Rice JJ, Goldenberg I, Zareba W, Wilde AA, Shimizu W, Kanters JK, McNitt S, Hofman N, Robinson JL, Lopes CM. Use of mutant-specific ion channel characteristics for risk stratification of long QT syndrome patients. *Sci Transl Med*. 2011;3:76ra28
4. Williams DM, Lopes CM, Rosenhouse-Dantsker A, Connelly HL, Matavel A, J OU, McBeath E, Gray DA. Molecular basis of decreased Kir4.1 function in sesame/east syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21:2117-2129
5. J OU, Komukai K, Kusakari Y, Obata T, Hongo K, Sasaki H, Kurihara S. Alpha1-adrenoceptor stimulation potentiates L-type Ca2+ current through Ca2+/calmodulin-dependent PK II (CaMKII) activation in rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:9400-9405
6. Jhun BS, J OU, Wang W, Ha CH, Zhao J, Kim JY, Wong C, Dirksen RT, Lopes CM, Jin ZG. Adrenergic signaling controls rgk-dependent trafficking of cardiac voltage-gated l-type Ca2+ channels through PKD1. *Circ Res*. 2012;110:59-70
7. Sanguinetti MC, Curran ME, Zou A, Shen J, Spector PS, Atkinson DL, Keating MT. Coassembly of K(V)LQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac i(ks) potassium channel. *Nature*. 1996;384:80-83
8. Chouabe C, Neyroud N, Guicheney P, Lazdunski M, Romey G, Barhanin J. Properties of KVLQT1 K+ channel mutations in Romano-Ward and Jervell and Lange-Nielsen inherited cardiac arrhythmias. *EMBO J*. 1997;16:5472-5479
9. Shalaby FY, Levesque PC, Yang WP, Little WA, Conder ML, Jenkins-West T, Blanar MA. Dominant-negative KVLQT1 mutations underlie the LQT1 form of long QT syndrome. *Circulation*. 1997;96:1733-1736
10. Kubota T, Shimizu W, Kamakura S, Horie M. Hypokalemia-induced long QT syndrome with an underlying novel missense mutation in S4-S5 linker of KCNQ1. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2000;11:1048-1054
11. Wang Z, Tristani-Firouzi M, Xu Q, Lin M, Keating MT, Sanguinetti MC. Functional effects of mutations in KVLQT1 that cause long QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1999;10:817-826
12. Zehelein J, Thomas D, Khalil M, Wimmer AB, Koenen M, Licka M, Wu K, Kiehn J, Brockmeier K, Kreye VA, Karle CA, Katus HA, Ulmer HE, Schoels W. Identification and characterisation of a novel KCNQ1 mutation in a family with Romano-Ward syndrome. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1690:185-192

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Circulation
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart Association

Regulatory Role of Dendritic Cells in Postinfarction Healing and Left Ventricular Remodeling

Atsushi Anzai, Toshihisa Anzai, Shigenori Nagai, Yuichiro Maekawa, Kotaro Naito, Hidehiro Kaneko, Yasuo Sugano, Toshiyuki Takahashi, Hitoshi Abe, Satsuki Mochizuki, Motoaki Sano, Tsutomu Yoshikawa, Yasunori Okada, Shigeo Koyasu, Satoshi Ogawa and Keiichi Fukuda

Circulation. 2012;125:1234-1245; originally published online February 3, 2012;
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.052126
Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231
Copyright © 2012 American Heart Association, Inc. All rights reserved.
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://circ.ahajournals.org/content/125/10/1234

Data Supplement (unedited) at:
http://circ.ahajournals.org/content/suppl/2012/02/03/CIRCULATIONAHA.111.052126.DC1.html

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Circulation* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
http://www.lww.com/reprints

Subscriptions: Information about subscribing to *Circulation* is online at:
http://circ.ahajournals.org//subscriptions/

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Heart Failure

Regulatory Role of Dendritic Cells in Postinfarction Healing and Left Ventricular Remodeling

Atsushi Anzai, MD; Toshihisa Anzai, MD, PhD; Shigenori Nagai, PhD; Yuichiro Maekawa, MD, PhD; Kotaro Naito, MD, PhD; Hidehiro Kaneko, MD; Yasuo Sugano, MD, PhD; Toshiyuki Takahashi, MD, PhD; Hitoshi Abe, BSc; Satsuki Mochizuki, PhD; Motoaki Sano, MD, PhD; Tsutomu Yoshikawa, MD, PhD; Yasunori Okada, MD, PhD; Shigeo Koyasu, PhD; Satoshi Ogawa, MD, PhD; Keiichi Fukuda, MD, PhD

Background—Inflammation and immune responses are integral components in the healing process after myocardial infarction. We previously reported dendritic cell (DC) infiltration in the infarcted heart; however, the precise contribution of DC in postinfarction healing is unclear.

Methods and Results—Bone marrow cells from CD11c-diphtheria toxin receptor/green fluorescent protein transgenic mice were transplanted into lethally irradiated wild-type recipient mice. After reconstitution of bone marrow–derived cells, the recipient mice were treated with either diphtheria toxin (DC ablation) or vehicle (control), and myocardial infarction was created by left coronary ligation. $CD11c^{+}$ green fluorescent protein–positive DCs expressing CD11b and major histocompatibility complex class II were recruited into the heart, peaking on day 7 after myocardial infarction in the control group. Mice with DC ablation for 7 days showed deteriorated left ventricular function and remodeling. The DC-ablated group demonstrated enhanced and sustained expression of inflammatory cytokines such as interleukin-1β, interleukin-18, and tumor necrosis factor-α, prolonged extracellular matrix degradation associated with a high level of matrix metalloproteinase-9 activity, and diminished expression level of interleukin-10 and endothelial cell proliferation after myocardial infarction compared with the control group. In vivo analyses revealed that DC-ablated infarcts had enhanced monocyte/macrophage recruitment. Among these cells, marked infiltration of proinflammatory $Ly6C^{high}$ monocytes and $F4/80^{+}$ $CD206^{-}$ M1 macrophages and, conversely, impaired recruitment of anti-inflammatory $Ly6C^{low}$ monocytes and $F4/80^{+}$ $CD206^{+}$ M2 macrophages in the infarcted myocardium were identified in the DC-ablated group compared with the control group.

Conclusions—These results suggest that the DC is a potent immunoprotective regulator during the postinfarction healing process via its control of monocyte/macrophage homeostasis. **(*Circulation*. 2012;125:1234-1245.)**

Key Words: myocardial infarction ■ remodeling ■ inflammation ■ immune system ■ heart failure

Left ventricular (LV) remodeling after myocardial infarction (MI) is the process of complex architectural myocardial alteration and is associated with a poor clinical outcome. Congestive heart failure due to postinfarction LV remodeling remains an unresolved problem, in spite of aggressive revascularization and pharmacological therapy in recent clinical practice. Therefore, better understanding of the molecular and cellular mechanisms involved in this process and the search for alternative therapeutic targets against LV remodeling are matters of great importance.

Clinical Perspective on p 1245

Inflammation and immune responses are integral components of the host reaction to myocardial injury and play a crucial role in infarct healing and subsequent LV remodeling.[1-3] We have previously reported that elevated serum C-reactive protein concentration and peripheral monocytosis predict a poor clinical outcome after MI.[4,5] Moreover, our experimental study demonstrated that the enhanced infiltration of monocytes and macrophages into the infarcted myo-

Received July 9, 2011; accepted January 9, 2012.
From the Division of Cardiology, Department of Medicine (A.A., T.A., Y.M., K.N., H.K., Y.S., T.T., M.S., T.Y., S.O., K.F.), Department of Microbiology & Immunology (S.N., S.K.), and Department of Pathology (H.A., S.M., Y.O.), Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan; Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral & Cardiovascular Center, Osaka, Japan (T.A.); Core Research for Evolutional Science & Technology, Japan Science & Technology Agency, Tokyo, Japan (S.N.); and Cardiovascular Center, International University of Health & Welfare Mita Hospital, Tokyo, Japan (Y.S., S.O.).
The online-only Data Supplement is available with this article at http://circ.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.052126/-/DC1.
Correspondence to Toshihisa Anzai, MD, PhD, Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka 565-8565, Japan. E-mail anzai@cpnet.med.keio.ac.jp
© 2012 American Heart Association, Inc.

Circulation is available at http://circ.ahajournals.org DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.052126

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

資料28

cardium induced by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor leads to aggravated infarct expansion and LV dysfunction.[6] These findings indicate that excessive immune-mediated inflammatory reactions have a deleterious effect on postinfarction LV remodeling. On the other hand, immunosuppressive therapy with corticosteroids resulted in increased catastrophic incidents such as cardiac rupture in clinical practice,[7,8] and recent experimental data showed that macrophage depletion with clodronate-containing liposomes (Clo-Lip) impaired infarct healing in a murine model,[9] which suggests that controlled inflammation and immune response are prerequisites for appropriate cardiac repair after MI. However, the regulatory mechanism that controls these reactions during the postinfarction healing process remains to be determined.

The dendritic cell (DC) is a potent central immunoregulator that orchestrates various types of inflammatory cells in innate and adoptive immunity.[10–12] After microbial infection or tissue injury, bone marrow (BM) and splenic precursors and circulating monocytes are reported to differentiate into DCs and exert various influences on the immune system at the inflammatory site, such as priming of antigen-specific immune responses, induction of tolerance, and chronic inflammation.[13–15] Zhang et al[16] first demonstrated infiltration of DCs into the infarcted heart in experimental MI. We have reported that an increased number of mature DCs in the infarcted heart is associated with deterioration of LV remodeling in a rat MI model.[17] However, the causative effect of infiltrating DCs on LV remodeling and their origin in the postinfarction healing process are unclear.

The primary aim of the present study was to clarify the role of DCs in tissue repair and LV remodeling after MI and the origin of DCs involved in the process. We used transgenic mice expressing diphtheria toxin receptor (DTR) on DCs, which enabled us to specifically deplete DCs by injecting diphtheria toxin (DT), which has proved to be a powerful and useful tool to manipulate DCs in vivo.[18–20]

Methods

An additional detailed Methods section can be found in the online-only Data Supplement.

Animals

CD11c-DTR/green fluorescent protein (GFP) transgenic mice on a C57BL/6 background (CD45.2$^+$) were provided by Dr D. Littman (New York University, New York, NY). B6.SJL congenic mice on a C57BL/6 background (CD45.1$^+$) were obtained from Taconic (Germantown, NY). Wild-type C57BL/6 mice (CD45.2$^+$) were purchased from Clea Japan (Tokyo, Japan). These mice were bred and kept under specific-pathogen–free conditions. All experiments were performed in accordance with the Keio University animal care guidelines, which conform to the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" published by the US National Institutes of Health (NIH publication No. 85-23, revised 1996).

BM Cell Preparation and BM Transplantation

A BM transplantation (BMT) model was used to evaluate the role of DCs by depleting CD11c$^+$ DTR$^+$ cells by DT administration.[19] The detailed methods used to harvest BM cells and to perform BMT are described in the online-only Data Supplement.

DT Administration

BMT mice were inoculated intraperitoneally with DT (Sigma, St Louis, MO) in PBS at a dose of 4 ng per gram of body weight. BMT mice were randomly assigned to DT (DC ablation) and PBS (control) treatment groups. DT or PBS was administered on the day before MI or sham operation and then 2 and 5 days after the operation. In the present study, control and DC-ablated BMT mice were compared in a permanent coronary occlusion model according to the Methods described in the online-only Data Supplement.

Additional Methods

The expanded Methods section in the online-only Data Supplement contains information on BM cell preparation and BMT; creation of MI; echocardiography and hemodynamics; morphometric analysis; real-time quantitative polymerase chain reaction; Western blotting; gelatin zymography; immunohistochemical staining; immunofluorescent staining; preparation of splenic and peripheral blood cells; isolation of infiltrating leukocytes from the infarcted heart; and flow cytometry.

Statistical Analyses

All data were expressed as mean±SEM. Comparisons between 2 groups were performed with Wilcoxon rank sum test. When more than 2 groups were analyzed, a Kruskal-Wallis test followed by Bonferroni post hoc test was used. Survival distributions were estimated by the Kaplan-Meier method and compared by the log-rank test. The difference in cause of death between control and DC-ablated mice after MI was assessed by Fisher exact test. $P<0.05$ was considered significant. All statistical analyses were performed with SPSS 15.0 statistical software package for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL).

Results

Strategy of DC Depletion In Vivo

To minimize the effect of DT on nonhematopoietic cells expressing an integrin, CD11c, we used a BMT model as described in Methods. The repopulation efficiency of hematopoietic cells after BMT was determined with B6.SJL mice (CD45.1$^+$) as recipients. After reconstitution with donor CD11c-DTR/GFP transgenic marrow cells (CD45.2$^+$), flow cytometric analysis of splenocytes revealed that the reconstitution rate of our BMT method was approximately 96% (online-only Data Supplement Figure IA). Moreover, almost all the CD11c$^+$ DCs were CD45.2$^+$ (CD45.2$^-$ CD11c$^+$ recipient–derived DCs were absent), and more than 97% of these DCs were also positive for green fluorescent protein GFP (online-only Data Supplement Figure IB). These data indicated that cells such as DCs of BMT mice were almost totally replaced with donor BM–derived cells in our BMT mice.

We assessed the effect of DT inoculation in BMT mice by flow cytometry. Flow cytometric analysis of splenocytes revealed that CD11c$^+$ GFP$^+$ and CD11c$^+$ major histocompatibility complex class II (MHCII)–positive DCs were completely depleted by DT administration (online-only Data Supplement Figure IIA), whereas other immune cells (CD4$^+$ T cells, CD8$^+$ T cells, CD19$^+$ B cells, and CD11b$^+$ monocytes/macrophages) were barely affected (online-only Data Supplement Figure IIB). These data were compatible with other previously published studies that used this transgenic mouse system.[18,19]

Recruitment of DCs Into the Infarcted Heart

Peripheral circulating CD11c$^+$ GFP$^+$ DCs that expressed MHCII increased rapidly after MI in control mice and were almost completely abolished by DT administration in DC-ablated mice. Immunofluorescent staining showed that resident DCs were

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

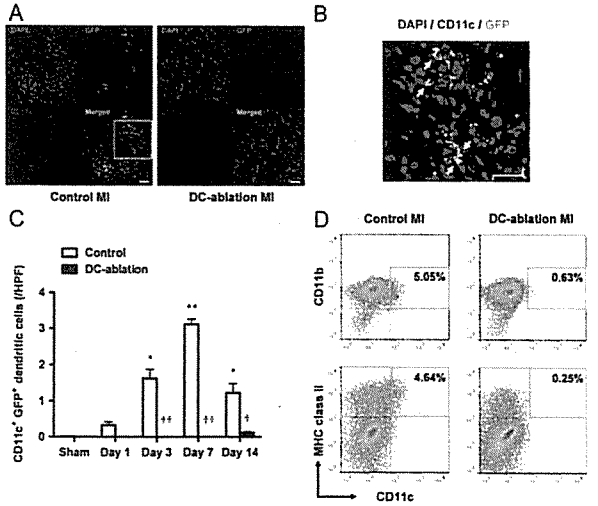


Figure 1. Recruitment of dendritic cells (DCs) into the infarcted heart. A, Representative photographs of immunofluorescent staining for CD11c (red) and green fluorescent protein (GFP; green) in infarcted myocardium 7 days after myocardial infarction (MI) in control and DC-ablated mice. Scale bars indicate 30 μm. B, High-magnification view of rectangle in A. White arrows indicate CD11c$^+$ GFP$^+$ heart-infiltrating DCs (yellow). Scale bar indicates 30 μm. C, Time course of CD11c$^+$ GFP$^+$ DC infiltration after MI in control and DC-ablated mice analyzed by immunofluorescent staining. Data were obtained from 5 independent experiments at each time point. D, Representative flow cytometric dot plots of heart-infiltrating CD45$^+$ leukocytes for CD11c-allophycocyanin and CD11b-phycoerythrin or major histocompatibility complex (MHC) class II-phycoerythrin in control and DC-ablated mice 7 days after MI. HPF indicates high-power field. *$P<0.05$ and **$P<0.01$ vs sham of same group; †$P<0.05$ and ††$P<0.01$ vs control MI.

rarely observed in the control heart without MI, and the number of heart-infiltrating CD11c$^+$ GFP$^+$ DCs in the infarcted myocardium reached its peak 7 days after MI in control mice, but they were absent in DC-ablated mice for 7 days after MI (Figures 1A–1C). DCs were predominantly identified in the infarcted and border area, whereas there were few DCs in the noninfarcted area after MI in control mice. These DCs that infiltrated the heart also expressed CD11b and MHCII, which disappeared almost completely in DC-ablated mice 7 days after MI (Figure 1D). These data indicate that infiltrating cardiac mature DCs originated from the BM and were recruited into the infarcted heart and that DT treatment is effective for the abrogation of DC infiltration after MI in our BMT model.

No effects of DT on wild-type mice were confirmed by the data from echocardiographic and organ weight measurements 28 days after sham or MI operation, which showed that LV function and heart/lung weight adjusted for body weight were similar in nontreated and DT-treated wild-type mice (online-only Data Supplement Figure III).

DC Ablation Aggravates LV Dysfunction and Remodeling After MI

Cardiac function was analyzed 28 days after MI (Table). Echocardiographic measurements revealed acceleration of cardiac dilatation and deterioration of LV function in DC-ablated mice compared with control mice. Hemodynamic data also indicated that the maximum rate of isovolumic pressure development after MI was significantly lower in DC-ablated mice than in control mice. Moreover, heart and lung weights adjusted for body weight 28 days after MI were significantly higher in DC-ablated mice than in control mice.

Acceleration of MI-Induced Death, Wall Thinning, and Myocardial Fibrosis in DC-Ablated Mice

The survival rate tended to be lower in DC-ablated mice than in control mice 28 days after MI, whereas all sham-operated animals in both groups survived throughout the study (Figure 2A). We found that the incidence of death due to heart failure tended to be higher in DC-ablated mice than in control mice after MI (21.7% versus 9.4%, $P=0.086$), although the occurrence of cardiac rupture was similar in the 2 groups (13.0% versus 9.4%, $P=0.53$). Masson's trichrome staining revealed that there was no difference in the gross morphology in sham-operated hearts between control and DC-ablated mice (Figure 2B). Twenty-eight days after MI, DC-ablated mice demonstrated enhanced infarct expansion and wall thinning compared with control mice, although the infarct size was similar in the 2 groups (Figures 2B–2D). Collagen volume fraction detected by picrosirius red staining in the noninfarcted area was significantly higher in DC-ablated mice than in control mice 28 days after MI (Figures 2E and 2F). Myocardial fibrosis in the infarcted area did not differ significantly between DC-ablated and control mice 28 days after MI (Figures 2E and 2F); however, picrosirius red polarized microscopy of collagen fibers in the infarcted area showed that a predominance of loosely assembled green or yellow fibers were seen in DC-ablated mice, whereas well-aligned thick orange fibers were observed in control mice 28 days after MI (Figure 2G).

Absence of DCs Enhances Inflammatory Cytokine But Suppresses Anti-Inflammatory Cytokine Expression After MI

Figure 3 demonstrates the temporal changes of interleukin (IL)-1β, IL-18, tumor necrosis factor-α, IL-10, CCL2, and CX3CL1 expression after MI. In control mice, the expression of IL-1β, IL-18, tumor necrosis factor-α, and CCL2, which are proinflammatory, increased 3 days after MI and gradually decreased thereafter (Figures 3A–3D). In contrast, DC-ablated mice had sustained elevation of IL-1β, IL-18, tumor necrosis factor-α, and CCL2 for 7 days after

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

-192-

Table. Body and Organ Weights and Echocardiographic and Hemodynamic Data 28 Days After MI

	Sham		MI	
	Control	DC Ablation	Control	DC Ablation
Organ weight				
n	6	6	13	12
BW, g	27.2±0.3	26.8±0.4	24.6±0.3*	24.3±0.3*
HW/BW, mg/g	3.66±0.06	3.63±0.05	4.35±0.13*	4.75±0.10*†
LW/BW, mg/g	4.19±0.09	4.01±0.12	7.40±0.47*	8.90±0.47*†
Echocardiography				
n	6	6	11	12
HR, bpm	535.9±4.8	532.0±4.8	524.1±6.0	521.1±3.1
AWT, mm	0.66±0.02	0.66±0.02	0.54±0.01*	0.52±0.02*
PWT, mm	0.66±0.02	0.65±0.02	0.62±0.03	0.59±0.02
LVEDD, mm	2.74±0.06	2.79±0.06	4.22±0.12*	4.65±0.13*†
LVESD, mm	1.36±0.03	1.39±0.03	3.11±0.10*	3.62±0.13*†
FS, %	50.3±0.4	50.2±0.3	26.2±0.5*	22.3±0.8*†
LV mass, mg	49.0±2.23	50.0±3.13	85.1±3.95*	95.9±4.21*†
LV mass/BW, mg/g	1.80±0.07	1.87±0.11	3.46±0.16*	3.94±0.16*†
Hemodynamics				
n	6	6	13	12
HR, bpm	508.9±4.2	509.6±4.9	507.8±6.4	503.4±3.9
LVESP, mm Hg	105.7±1.5	106.2±1.3	83.3±1.3*	77.6±1.3*
+dP/dt, mm Hg/s	11 695±946	11 881±847	7836±341*	6392±246*†
−dP/dt, mm Hg/s	9976±456	9740±367	5205±202*	4723±199*

MI indicates myocardial infarction; DC, dendritic cell; BW, body weight; HW, heart weight; LW, lung weight; HR, heart rate; AWT, anterior wall thickness; PWT, posterior wall thickness; LVEDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVESD, left ventricular end-systolic diameter; FS, fractional shortening; LV, left ventricular; and LVESP, left ventricular end-systolic pressure.

Results are presented as mean±SEM.

*$P<0.05$ vs corresponding sham group; †$P<0.05$ vs control MI group.

MI compared with control mice (Figures 3A–3D). On the other hand, the expression of IL-10 and CX3CL1, which are anti-inflammatory, 7 days after MI was lower in DC-ablated mice than in control mice (Figures 3E and 3F). Western blotting analysis confirmed that expression of IL-10 at the protein level was significantly lower in DC-ablated mice than in control mice 7 days after MI (Figures 3G and 3H).

DC Ablation Accentuates Matrix Metalloproteinase-9 Activity and Inducible Nitric Oxide Synthase Expression After MI

As shown in Figure 4, matrix metalloproteinase (MMP)-9 activity was increased in the infarcted heart 3 days after MI and decreased thereafter in control mice, whereas its activity in DC-ablated mice was persistently upregulated for 28 days after MI (Figures 4A and 4B). The activity of MMP-2 tended to be higher in DC-ablated mice than in control mice, although there was no statistical significance between the 2 groups (Figures 4A and 4C). Furthermore, inducible nitric oxide synthase was also increased by MI, and DC ablation further enhanced the induction of inducible nitric oxide synthase 7 days after MI (Figures 4D and 4E).

Postinfarction Myocardial Angiogenesis Is Impaired by DC Depletion

To assess the influence of DC depletion on cardiac angiogenesis, we performed immunoblot and histological analyses. As shown in Figures 5A and 5B, the expression of vascular endothelial growth factor at the protein level, which was upregulated in control infarcts, was significantly suppressed by DC ablation 7 days after MI. Moreover, immunohistochemical staining revealed that the number of blood vessels in the infarcted myocardium was smaller and the fraction of $CD31^+$ $Ki67^+$ proliferating endothelial cells was significantly lower in DC-ablated mice than in control mice 7 days after MI (Figures 5C and 5D), which suggests that DC depletion might affect cardiac neoangiogenesis during the postinfarction healing process.

Enhanced Infiltration of Inflammatory M1 Macrophages and Diminished Recruitment of Anti-Inflammatory M2 Macrophages Into the Infarcted Myocardium in Response to DC Ablation

We evaluated the degree of infiltration by various inflammatory cells after MI in control and DC-ablated mice. The number of total $CD45^+$ leukocytes in the infarcted heart was significantly higher in DC-ablated mice than in control mice 7 days after MI (online-only Data Supplement Figure IVA).

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

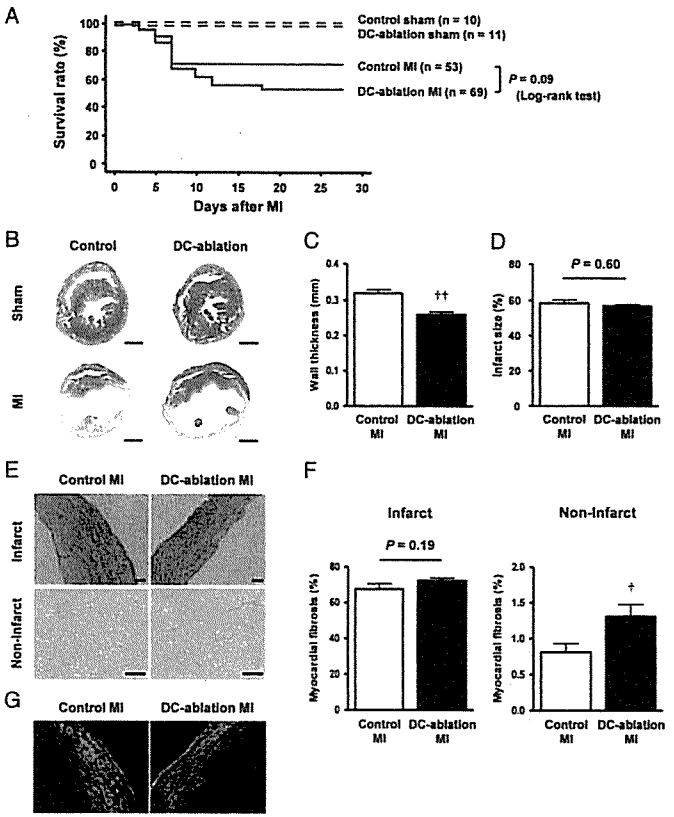


Figure 2. Dendritic cell (DC) ablation accelerates myocardial infarction (MI)–induced death, wall thinning, and myocardial fibrosis without affecting infarct size. **A**, Kaplan-Meier survival analysis in control and DC-ablated mice after MI or sham operation. **B**, Representative Masson's trichrome staining of cardiac tissue sections in control and DC-ablated mice 28 days after MI or sham operation. Scale bars indicate 1 mm. **C**, Wall thickness of scar at papillary muscle level 28 days after MI in control (n=11) and DC-ablated (n=12) mice. **D**, Quantitative analysis of infarct size 28 days after MI in control (n=11) and DC-ablated (n=12) mice. **E**, Representative picrosirius red–stained sections of infarcted and noninfarcted areas 28 days after MI in control and DC-ablated mice. Scale bars indicate 100 μm. **F**, Quantification of fibrotic area in infarcted and noninfarcted area 28 days after MI in control (n=11) and DC-ablated (n=12) mice. **G**, Polarized microscopic view of picrosirius red–stained section demonstrated in panel **E**. †$P<0.05$ and ††$P<0.01$ vs control MI.

Immunofluorescent staining also indicated that infiltration of $CD45^+$ leukocytes into the infarcted myocardium 7 days after MI was greater in DC-ablated mice than in control mice (online-only Data Supplement Figure IVB). Immunohistochemical staining for Mac3 showed that the number of differentiated macrophages that infiltrated into the infarcted myocardium peaked on day 7 after MI and was significantly higher in DC-ablated mice 7 and 14 days after MI than in control mice (Figures 6A and 6B). Flow cytometric analysis also demonstrated that the percentage of $Mac3^+$ macrophages in the heart 7 days after MI in DC-ablated mice was significantly higher than in control mice (online-only Data Supplement Figures IVC and IVD). Furthermore, among tissue-infiltrating $F4/80^+$ macrophages, DC-ablated infarcts had enhanced infiltration of $F4/80^+$ $CD206^-$ inflammatory M1 macrophages and diminished recruitment of $F4/80^+$ $CD206^+$ anti-inflammatory M2 macrophages compared with control mice 7 days after MI, on the basis of flow cytometry (Figures 6C and 6D). The number of myeloperoxidase-positive neutrophils in the infarcted heart 7 days after MI tended to be higher in DC-ablated mice than in control mice (Figure 6E); however, the number of $CD3^+$ T cells that

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

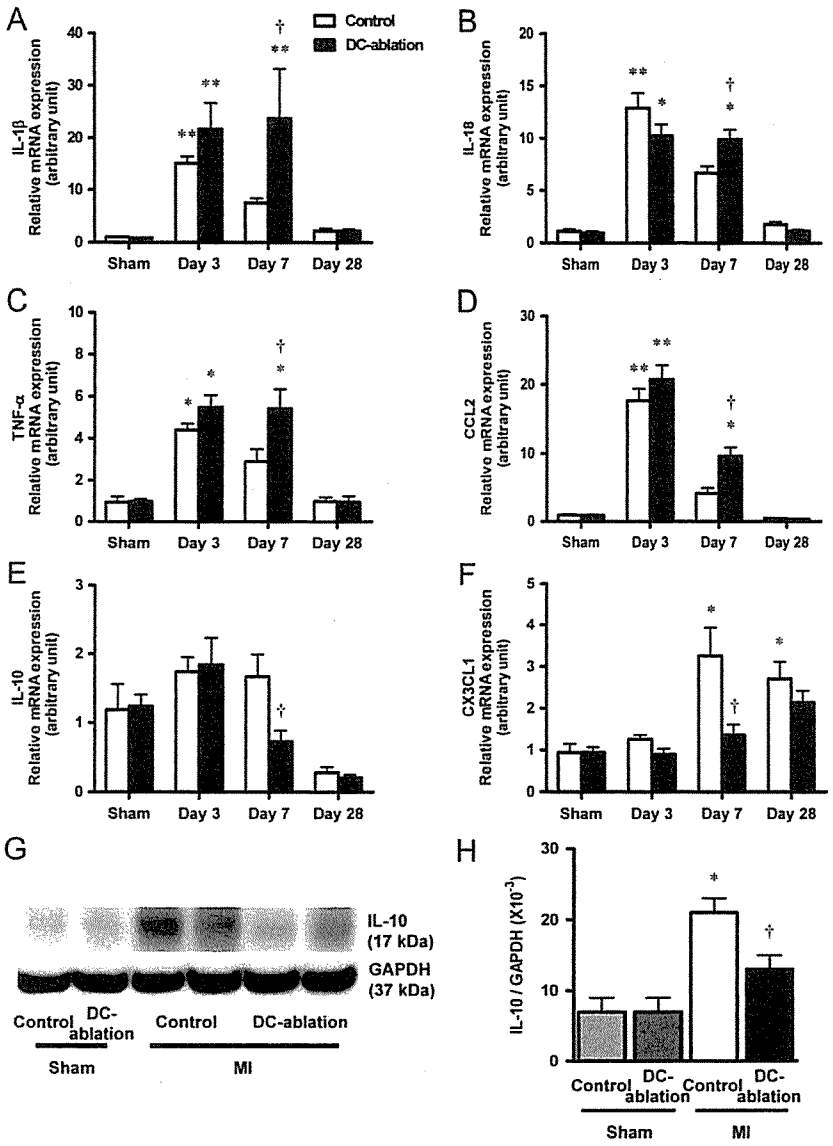


Figure 3. Ablation of dendritic cells (DCs) enhances proinflammatory cytokine but suppresses anti-inflammatory cytokine expression in the infarcted myocardium. A through F, Time course of mRNA expression of interleukin-1β (IL-1β; A), IL-18 (B), tumor necrosis factor (TNF)-α (C), CCL2 (D), IL-10 (E), and CX3CL1 (F) in the infarcted heart after myocardial infarction (MI) in control and DC-ablated mice. Data were obtained from 8 to 10 independent experiments at each time point. G, Representative immunoblotting image for IL-10 in the infarcted heart of control and DC-ablated mice 7 days after MI or sham operation. H, Quantitative analysis of IL-10 protein expression in control and DC-ablated mice 7 days after MI or sham operation (n=5 per group). *P<0.05 and **P<0.01 vs sham of same group; †P<0.05 vs control MI.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

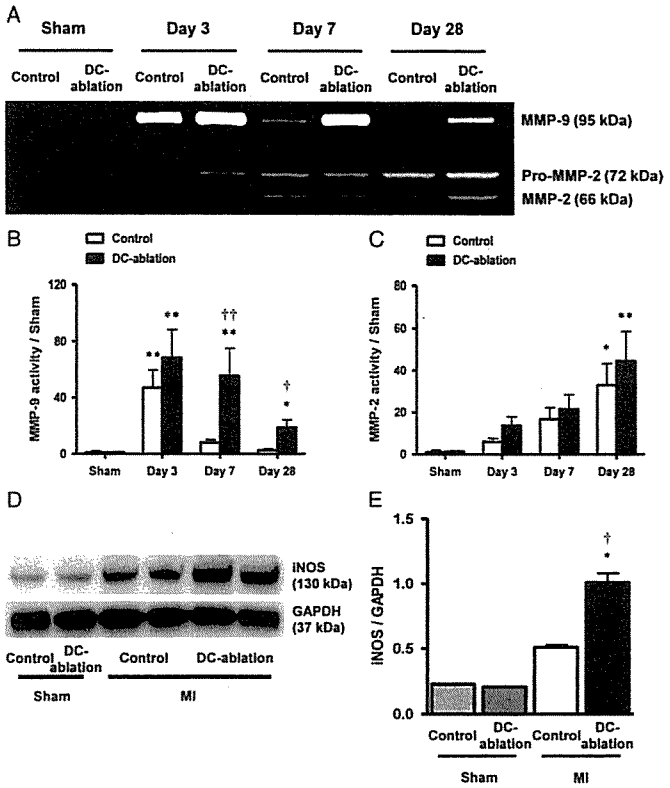


Figure 4. Increased matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activity and inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in dendritic cell (DC)-ablated mice after myocardial infarction (MI). A, Representative photograph of zymographic gel demonstrating time course of MMP-9 and MMP-2 activities in the infarcted heart of control and DC-ablated mice. B and C, Quantitative analyses of MMP-9 (B) and MMP-2 (C) activities after MI based on gelatin zymography in control and DC-ablated mice. Data were obtained from 5 independent experiments at each time point. D, Representative immunoblotting analysis for iNOS in the infarcted heart of control and DC-ablated mice 7 days after MI. E, Quantitative assessment for iNOS expression in the infarcted heart of control and DC-ablated mice 7 days after MI (n=5 per group). *P<0.05 and **P<0.01 vs sham of same group; †P<0.05 and ††P<0.01 vs control MI.

infiltrated the infarcted myocardium was comparable in the 2 groups (Figure 6F).

DC Ablation Causes Increased Ly6C^{high} Monocyte But Decreased Ly6C^{low} Monocyte Infiltration Into the Infarcted Heart

Monocytes, which play important roles in tissue repair after MI, were evaluated in peripheral blood and heart tissue. Flow cytometric analysis showed that the total number of peripheral blood monocytes was higher in DC-ablated mice than in control mice (online-only Data Supplement Figure VA). In addition, peripheral blood Ly6C^{high} monocytes (monocytes with high levels of lymphocyte antigen 6 complex, locus C [Ly6C]) were persistently increased whereas Ly6C^{low} monocytes were decreased in DC-ablated mice compared with control mice, especially 7 days after MI (Figures 7A and 7B). Moreover, among the inflammatory leukocytes isolated from the infarcted heart, the number of total monocytes and inflammatory Ly6C^{high} monocytes was markedly higher and the number of reparative Ly6C^{low} monocytes lower in DC-ablated mice 7 days after MI than in control mice (Figures 7C and 7D, online-only Data Supplement Figure VB).

Discussion

We demonstrated in the present study that mature, activated CD11c^{+} CD11b^{+} DCs that originate from the BM infiltrate the infarcted heart during the healing process after MI. Selective depletion of DCs exacerbated postinfarction LV remodeling in association with enhanced inflammatory cytokine expression, inducible nitric oxide synthase production,

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

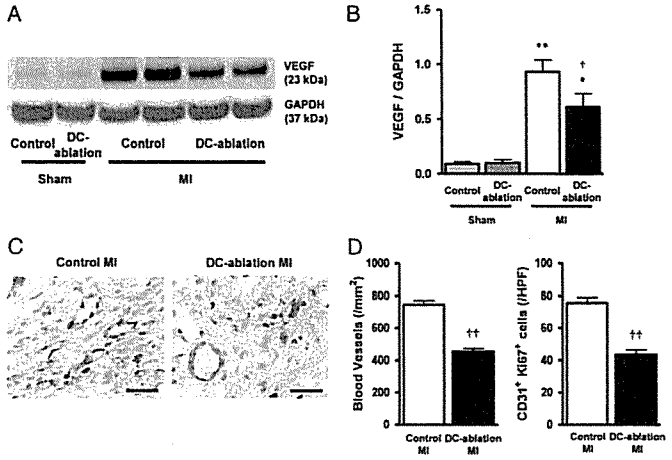


Figure 5. Postinfarction myocardial angiogenesis is impaired by dendritic cell (DC) depletion. **A**, Western blotting images for vascular endothelial growth factor (VEGF) level in the infarcted myocardium 7 days after myocardial infarction (MI). **B**, Quantification data of VEGF based on immunoblotting experiment in control and DC-ablated mice (n=4 per group). **C**, Representative immunohistochemical staining for CD31 (red), Ki67 (brown), and nuclei (blue) 7 days after MI in control and DC-ablated mice. Scale bars indicate 30 μm. **D**, Quantitative assessment for blood vessels and CD31⁺ Ki67⁺ cells in control and DC-ablated infarcts 7 days after MI (n=4 per group). HPF indicates high-power field. *P<0.05 and **P<0.01 vs sham of same group; †P<0.05 and ††P<0.01 vs control MI.

and MMP-9 activation, likely via marked infiltration of proinflammatory Ly6C^{high} monocytes and F4/80^{+} CD206^{-} M1 macrophages into the infarcted myocardium. Meanwhile, the number of anti-inflammatory Ly6C^{low} monocytes and F4/80^{+} CD206^{+} M2 macrophages, myocardial expression of IL-10, and cardiac angiogenesis after MI were suppressed by selective ablation of DCs. These results indicate the protective role of DCs in postinfarction inflammation and subsequent LV remodeling by regulation of cellular employment in the heart.

Leukocyte influx is a highly sophisticated system that contributes to cardiac repair after MI. Inflammatory signals recruit neutrophils to the ischemic heart immediately after MI, and monocytes/macrophages shortly thereafter. A large number of reports have indicated that excessive cardiac macrophage infiltration is associated with facilitated infarct expansion and adverse LV remodeling with augmented inflammation and MMP activity.[6,21,22] Macrophages can be divided into 2 populations, which have a classically (M1) and alternatively (M2) activated phenotype.[23] In addition to macrophages, growing evidence has emerged that monocytes, classically recognized as the precursor of tissue-infiltrating differentiated macrophages, per se have an important role in the postinfarction healing process. In the mouse, there are 2 distinctive subsets of monocytes: CD11b^{high} Ly6C^{high} proinflammatory monocytes and CD11b^{high} Ly6C^{low} reparative monocytes.[24,25] Nahrendorf et al[26] reported that the postinfarction repair process consists of biphasic reactions, in which the early phase is dominated by Ly6C^{high} monocytes that are recruited in a CCL2-CCR2–dependent manner and exhibit phagocytic, proteolytic, and inflammatory properties, and the late phase is dominated by Ly6C^{low} monocytes that are recruited in a CX3CL1-CX3CR1–dependent manner and promote angiogenesis and resolution of inflammation. Moreover, they also demonstrated that Ly6C^{high} monocytosis observed in apolipoprotein E knockout atherosclerotic mice was associated with exacerbated postinfarction LV remodeling through increased inflammatory reaction and MMP activity, whereas in vivo depletion of neutrophils did not improve LV dysfunction after MI.[27] On the other hand, infiltrating macrophage depletion by intravenous injection of Clo-Lip markedly impaired wound healing and accelerated LV remodeling and mortality after myocardial injury.[9,26] Furthermore, depletion of circulating Ly6C^{high} monocytes by administration of Clo-Lip during the early phase of MI caused larger areas of debris and necrotic tissue, whereas depletion of Ly6C^{low} monocytes by late-phase administration of Clo-Lip resulted in decreased collagen deposition and reduced neoangiogenesis,[9,26] which suggests that successful cardiac repair depends on well-coordinated recruitment of monocytes/macrophages in the injured heart. However, the molecular or cellular mechanisms upstream of this critical framework remain to be elucidated.

As the conductor of immune-mediated inflammatory reactions, since their discovery in 1973, DCs have attracted a great deal of attention because of their distinctive and wide variety of functions.[28] DCs are of hematopoietic origin and are widely distributed in organs and tissues. They are characterized by their capability for antigen capture, migration, antigen presentation, and activation of other immune cells, and they control immunity and tolerance in various conditions, such as infection, autoimmune disease, tumor, and allergy.[10–12,29] However, there are few reports regarding the role of DCs in cardiovascular disease, especially in LV remodeling after MI. Maekawa et al,[30] using mice deficient in IL-1 receptor–associated kinase (IRAK)-4, demonstrated that activation of IRAK-4, which is a downstream molecule of IL-1 and Toll-like receptor family members, in DCs adversely affected postinfarction inflammation and LV remodeling. However, the IRAK-4 signaling pathway is also operative in cardiomyocytes and other immune cells in addition to DCs.[31,32] Because the initial inflammatory signals after MI are known to involve

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

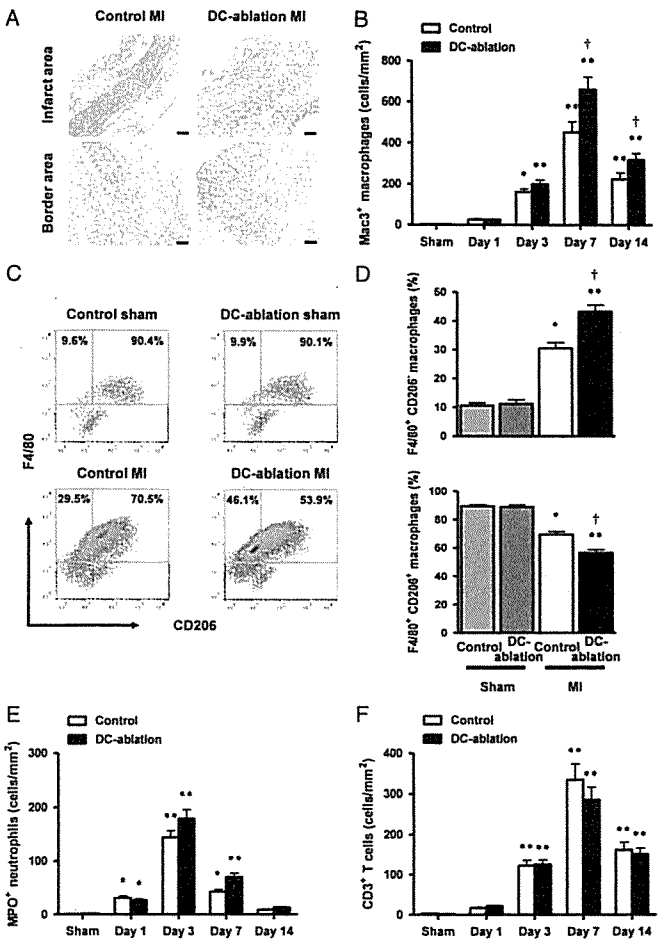


Figure 6. Enhanced infiltration of inflammatory M1 macrophages and diminished recruitment of anti-inflammatory M2 macrophages by dendritic cell (DC) ablation after myocardial infarction (MI). **A**, Representative photographs of immunohistochemical staining for Mac3⁺ macrophages in infarcted and border areas 7 days after MI. Scale bars indicate 100 μm. **B**, Time course of Mac3⁺ macrophage infiltration in control and DC-ablated mice after MI. Data were obtained from 5 independent experiments at each time point. **C**, Representative flow cytometric dot plots of CD45⁺ leukocytes in the infarcted hearts for CD206-Alexa 647 and F4/80-phycoerythrin in control and DC-ablated mice 7 days after MI or sham operation. **D**, The percentage of heart-infiltrating F4/80⁺ CD206⁻ M1 (upper) and F4/80⁺ CD206⁺ M2 (lower) macrophages in total F4/80⁺ macrophages of control and DC-ablated hearts 7 days after MI or sham operation (n=4 per group). **E** and **F**, Time course of myeloperoxidase-positive (MPO⁺) neutrophil (**E**) and CD3⁺ T-cell (**F**) recruitment after MI in control and DC-ablated mice analyzed by immunohistochemical staining. Data were obtained from 5 independent experiments at each time point. *P<0.05 and **P<0.01 vs sham of same group; †P<0.05 vs control MI.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

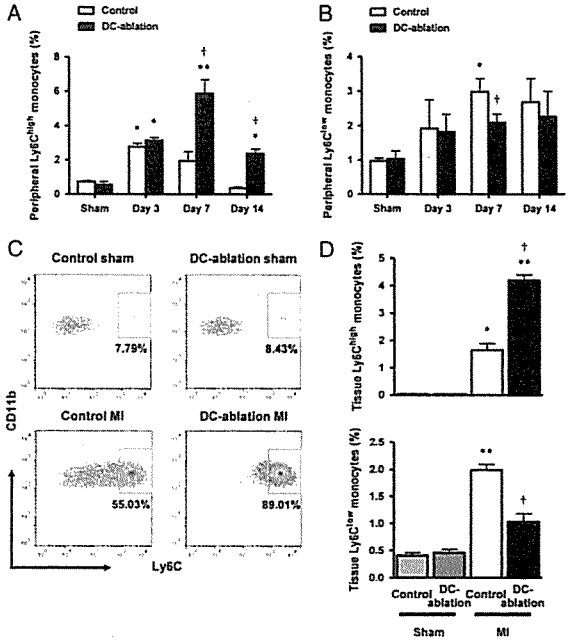


Figure 7. Increased infiltration of monocytes with high levels of lymphocyte antigen 6 complex, locus C (Ly6C^{high}) and decreased infiltration of monocytes with low levels of Ly6C (Ly6C^{low}) into infarcted myocardium in dendritic cell (DC)-ablated mice. A and B, Temporal changes of counts of peripheral Ly6C^{high} inflammatory (A) and Ly6C^{low} reparative (B) monocytes based on flow cytometric analysis in control and DC-ablated mice. Data were obtained from 5 independent experiments at each time point. C, Representative flow cytometric dot plots for Ly6C-allophycocyanin and CD11b-phycoerythrin after sorting of CD45$^+$ CD11b^{high} cells from infarcted heart in control and DC-ablated mice 7 days after myocardial infarction (MI) or sham operation. D, Flow cytometric evaluation of heart-infiltrating Ly6C^{high} (top) and Ly6C^{low} (bottom) monocytes in control and DC-ablated mice 7 days after MI or sham operation (n=5 per group). *P<0.05 and **P<0.01 vs sham of same group; †P<0.05 vs control MI.

cardiomyocytes and are further strengthened by neutrophils and monocytes/macrophages that express IRAK-4. their results might reflect the involvement of these cells in the development of postinfarction LV dysfunction. Therefore, the precise contribution of DCs in the infarcted heart remains unclear.

In the present study, we used CD11c-DTR/GFP transgenic mice to examine the effect of DC depletion on postinfarction myocardial remodeling. Conditional DC depletion for 7 days after MI resulted in dysregulation of organized monocyte/macrophage employment, critical for the postinfarction repairing process. In vivo analyses revealed that the number of peripheral monocytes and tissue monocytes/macrophages was higher in DC-ablated mice than in control mice. Among these monocytes/macrophages, marked infiltration of inflammatory Ly6C^{high} monocytes and F4/80$^+$ CD206$^-$ M1 macrophages and suppressed recruitment of anti-inflammatory Ly6C^{low} monocytes and F4/80$^+$ CD206$^+$ M2 macrophages were identified in DC-ablated mice, and this was associated with increased expression of CCL2 and decreased expression of CX3CL1. Prolonged expression of inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase and enhanced MMP-9 activation were also observed in DC-ablated mice and were associated with increased peripheral blood and tissue inflammatory monocytes/macrophages. Consistent with a previously published report that demonstrated that thick collagen fibers were degraded by augmented MMPs and replaced by premature collagen fibers in the infarcted heart,[33] the present study based on picrosirius polarized microscopy showed that DC-ablated infarcts had disorganized collagen fibers, which may lead to subsequent infarct expansion and heart failure. Moreover, cardiac angiogenesis, which has a favorable effect on tissue repair after MI, was inhibited in DC-ablated mice compared with control mice. As discussed above, Ly6C^{low} monocytes selectively express higher levels of vascular endothelial growth factor,[26] and M2 macrophages also have proangiogenic properties.[34] Taken together, these findings indicate that the absence of DCs leads to activation of inflammatory monocytes/macrophages and suppression of reparative monocytes/macrophages, inducing enhanced inflammation, extracellular matrix degradation, and impaired neoangiogenesis in the postinfarction healing process.

DCs, macrophages, and monocytes are members of the mononuclear phagocyte system, defined as nongranulocytic myeloid cells that play important roles in tissue remodeling and homeostasis, as well as regulatory and stimulatory aspects of innate and adaptive immunity.[35] Their origins are presumed to be the same BM precursor cells, termed macrophage DC progenitors.[36,37] Moreover, several reports have shown that peripheral monocytes transmigrate into inflamed tissue and differentiate into

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

macrophages or DCs.[37–39] On the basis of such tight interaction in the mononuclear phagocyte system, it is possible that selective DC depletion may change the subpopulations of the system and that DCs contribute to the maintenance of disciplined monocyte/macrophage organization after MI. The precise mechanisms of the anti-inflammatory effect of DCs through their control of monocyte/macrophage subsets are not clear, and it may be very difficult to address the mechanism because immune cells communicate through the release of many secreted factors. Further studies are needed to investigate how DCs interact with monocytes/macrophages in the healing myocardium.

In summary, the present study demonstrated that DCs are likely to play an immunoprotective role, especially in monocyte/macrophage homeostasis, during the postinfarction healing process, and suggests that modulation of DCs could be a new therapeutic target in LV remodeling after MI.

Acknowledgments

We thank Hiromi Kato (Keio University), Mayu Matsuda (Keio University), and Yukiko Baba (Keio University) for excellent technical assistance and Kyoko Hidaka for animal care.

Sources of Funding

This work was supported by a Grant-in-Aid for Young Scientists (B) (23790875 to Dr A. Anzai and 21790476 to Dr Nagai), a Grant-in-Aid (20590872 to Dr T. Anzai), and a Medical School Faculty and Alumni Grant from the Keio University Medical Science Fund (Dr T. Anzai).

Disclosures

Dr Koyasu is a consultant for Medical and Biological Laboratories, Co Ltd. The other authors report no conflicts.

References

1. Frantz S, Bauersachs J, Ertl G. Post-infarct remodelling: contribution of wound healing and inflammation. *Cardiovasc Res*. 2009;81:474–481.
2. Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Res*. 2004;94:1543–1553.
3. Frangogiannis NG. The immune system and cardiac repair. *Pharmacol Res*. 2008;58:88–111.
4. Anzai T, Yoshikawa T, Shiraki H, Asakura Y, Akaishi M, Mitamura H, Ogawa S. C-reactive protein as a predictor of infarct expansion and cardiac rupture after a first Q-wave acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997;96:778–784.
5. Maekawa Y, Anzai T, Yoshikawa T, Asakura Y, Takahashi T, Ishikawa S, Mitamura H, Ogawa S. Prognostic significance of peripheral monocytosis after reperfused acute myocardial infarction: a possible role for left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:241–246.
6. Maekawa Y, Anzai T, Yoshikawa T, Sugano Y, Mahara K, Kohno T, Takahashi T, Ogawa S. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor inducer on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1510–1520.
7. Roberts R, DeMello V, Sobel BE. Deleterious effects of methylprednisolone in patients with myocardial infarction. *Circulation*. 1976;53:I-204–I-206.
8. Hammerman H, Kloner RA, Hale F, Schoen FJ, Braunwald E. Dose-dependent effects of short-term methylprednisolone on myocardial infarct extent, scar formation and ventricular function. *Circulation*. 1983;68:446–453.
9. van Amerongen MJ, Harmsen MC, van Rooijen N, Petersen AH, van Luyn MJ. Macrophage depletion impairs wound healing and increases left ventricular remodeling after myocardial injury in mice. *Am J Pathol*. 2007;170:818–829.
10. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392:245–252.
11. Pulendran B, Tang H, Manicassamy S. Programming dendritic cells to induce T(H)2 and tolerogenic responses. *Nat Immunol*. 2010;11:647–655.
12. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, Pulendran B, Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:767–811.
13. Sallusto F, Lanzavecchia A. Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming, and chronic inflammation. *J Exp Med*. 1999;189:611–614.
14. Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, Figueiredo JL, Kohler RH, Chudnovskiy A, Waterman P, Aikawa E, Mempel TR, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science*. 2009;325:612–616.
15. Peng Y, Latchman Y, Elkon KB. Ly6C(low) monocytes differentiate into dendritic cells and cross-tolerize T cells through PDL-1. *J Immunol*. 2009;182:2777–2785.
16. Zhang J, Yu ZX, Fujita S, Yamaguchi ML, Ferrans VJ. Interstitial dendritic cells of the rat heart: quantitative and ultrastructural changes in experimental myocardial infarction. *Circulation*. 1993;87:909–920.
17. Naito K, Anzai T, Sugano Y, Maekawa Y, Kohno T, Yoshikawa T, Matsuno K, Ogawa S. Differential effects of GM-CSF and G-CSF on infiltration of dendritic cells during early left ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Immunol*. 2008;181:5691–5701.
18. Jung S, Unutmaz D, Wong P, Sano G, De los Santos K, Sparwasser T, Wu S, Vuthoori S, Ko K, Zavala F, Pamer EG, Littman DR, Lang RA. In vivo depletion of CD11c+ dendritic cells abrogates priming of CD8+ T cells by exogenous cell-associated antigens. *Immunity*. 2002;17:211–220.
19. Zammit DJ, Cauley LS, Pham QM, Lefrancois L. Dendritic cells maximize the memory CD8 T cell response to infection. *Immunity*. 2005;22:561–570.
20. Bennett CL, Clausen BE. DC ablation in mice: promises, pitfalls, and challenges. *Trends Immunol*. 2007;28:525–531.
21. Hayashidani S, Tsutsui H, Shiomi T, Ikeuchi M, Matsusaka H, Suematsu N, Wen J, Egashira K, Takeshita A. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation*. 2003;108:2134–2140.
22. Vanhoutte D, Schellings M, Pinto Y, Heymans S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: a temporal and spatial window. *Cardiovasc Res*. 2006;69:604–613.
23. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*. 2004;25:677–686.
24. Geissmann F, Jung S, Littman DR. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity*. 2003;19:71–82.
25. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:953–964.
26. Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo JL, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med*. 2007;204:3037–3047.
27. Panizzi P, Swirski FK, Figueiredo JL, Waterman P, Sosnovik DE, Aikawa E, Libby P, Pittet M, Weissleder R, Nahrendorf M. Impaired infarct healing in atherosclerotic mice with Ly-6C(hi) monocytosis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1629–1638.
28. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I: morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*. 1973;137:1142–1162.
29. Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature*. 2007;449:419–426.
30. Maekawa Y, Mizue N, Chan A, Shi Y, Liu Y, Dawood S, Chen M, Dawood F, de Couto G, Li GH, Suzuki N, Yeh WC, Gramolini A, Medin JA, Liu PP. Survival and cardiac remodeling after myocardial infarction are critically dependent on the host innate immune interleukin-1 receptor-associated kinase-4 signaling: a regulator of bone marrow-derived dendritic cells. *Circulation*. 2009;120:1401–1414.
31. Frantz S, Kobzik L, Kim YD, Fukazawa R, Medzhitov R, Lee RT, Kelly RA. Toll4 (TLR4) expression in cardiac myocytes in normal and failing myocardium. *J Clin Invest*. 1999;104:271–280.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

32. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:499–511.
33. Vanhoutte D, Schellings MW, Gotte M, Swinnen M, Herias V, Wild MK, Vestweber D, Chorianopoulos E, Cortes V, Rigotti A, Stepp MA, Van de Werf F, Carmeliet P, Pinto YM, Heymans S. Increased expression of syndecan-1 protects against cardiac dilatation and dysfunction after myocardial infarction. *Circulation*. 2007;115:475–482.
34. Lambert JM, Lopez EF, Lindsey ML. Macrophage roles following myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2008;130:147–158.
35. Varol C, Yona S, Jung S. Origins and tissue-context-dependent fates of blood monocytes. *Immunol Cell Biol*. 2009;87:30–38.
36. Fogg DK, Sibon C, Miled C, Jung S, Aucouturier P, Littman DR, Cumano A, Geissmann F. A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells. *Science*. 2006;311:83–87.
37. Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:669–692.
38. Dominguez PM, Ardavin C. Differentiation and function of mouse monocyte-derived dendritic cells in steady state and inflammation. *Immunol Rev*. 2010;234:90–104.
39. Shortman K, Naik SH. Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nat Rev Immunol*. 2007;7:19–30.

CLINICAL PERSPECTIVE

Left ventricular (LV) remodeling after myocardial infarction is a process of complex architectural myocardial alteration and is associated with a poor clinical outcome. Congestive heart failure due to postinfarction LV remodeling remains an open question for clinicians throughout the world, in spite of recent aggressive revascularization and pharmacological therapy in clinical practice. Inflammation and immune responses are integral components of the host reaction to myocardial injury and play a pivotal role in infarct healing and subsequent LV dysfunction. The dendritic cell (DC) is like a maestro conducting various types of inflammatory cells in innate and adoptive immunity. We found that temporal and spatial characteristics of heart-infiltrating DCs and conditional depletion of DCs resulted in adverse infarct expansion and LV dysfunction. This was accompanied by a sustained enhanced inflammatory response and extracellular matrix degradation and suppressed myocardial neoangiogenesis. This impaired tissue repair was associated with augmented infiltration of inflammatory $Ly6C^{high}$ monocytes and $F4/80^+$ $CD206^-$ M1 macrophages and, conversely, reduced recruitment of anti-inflammatory $Ly6C^{low}$ monocytes and $F4/80^+$ $CD206^+$ M2 macrophages in the infarcted heart. These data indicate that DC is a potent immunoprotective regulator that acts via control of monocyte/macrophage homeostasis during the postinfarction healing process. Modulation of DCs could be a novel therapeutic target in LV remodeling after myocardial infarction.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental Methods

Bone-marrow (BM) Cell Preparation and BM Transplantation (BMT)

A BMT model was used to evaluate the role of dendritic cell (DC) by depleting $CD11c^+$ diphtheria toxin receptor $(DTR)^+$ cells by diphtheria toxin (DT) administration.[1] To harvest BM cells, femurs and tibias were taken from 8-week-old male CD11c-DTR/GFP transgenic mice. BM was flushed out with a 24-gauge syringe, and a single cell suspension in phosphate buffered saline (PBS) was made through a 100-μm nylon mesh after red blood cell lysis using ACK lysis buffer solution (0.15 M NH_4Cl, 1.0 mM $KHCO_3$, 0.1 mM Na_2EDTA [pH 7.2]). Five million BM cells were transferred intravenously into lethally irradiated (10 Gy) 6- to 8-week-old male wild-type (WT) C57BL/6 mice. The mice were allowed to rest for 8 weeks, and the success of BMT was checked by polymerase chain reaction (PCR) to confirm the presence of transgene in peripheral blood cells of the recipient mice before use. To evaluate the BM chimerism after BMT, lethally irradiated (10Gy) $CD45.1^+$ B6.SJL recipient mice were reconstituted with BM cells of CD11c-DTR/GFP donor mice $(CD45.2^+)$ under the same protocols described above.

Creation of Myocardial Infarction (MI)

Experimental MI was induced as previously described.[2,3] In brief, mice were anesthetized

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

with an intraperitoneal injection of ketamine (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), then intubated and connected to a rodent ventilator. The chest cavity was opened via left thoracotomy to expose the heart, and the left coronary artery was permanently ligated with a 7-0 silk suture at the site of its emergence from the left atrium. Complete occlusion of the vessel was confirmed by the presence of myocardial blanching in the perfusion bed. Mice that died within 24 hours after surgery were excluded from the experiment. Sham-operated animals in both groups underwent the same procedure without coronary artery ligation. The deceased mice were performed an autopsy to determine the cause of death: cardiac rupture was confirmed by the presence of blood coagulation around the pericardial sac and in the chest cavity, and heart failure was diagnosed by lung congestion with chest fluid accumulation.

Echocardiography and Hemodynamics

Echocardiographic and hemodynamic evaluations were performed on day 28 after the operation. For echocardiography, mice were anesthetized with 1-2% of isoflurane. M-mode tracings were recorded through the anterior and posterior left ventricular (LV) walls at the papillary muscle level to measure anterior wall thickness (AWT), posterior wall thickness (PWT), LV end-diastolic diameter (LVEDD), and end-systolic diameter (LVESD), using an echocardiographic system (12-MHz linear transducer; EnVisor C, Philips Medical Systems,

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Andover, MA). The following formulas were used to calculate LV fractional shortening (FS) and LV mass: FS (%) = [(LVEDD-LVESD)/LVEDD] × 100 and LV mass = 1.055 × $[(AWT+PWT+LVEDD)^3-LVEDD^3]$, respectively.

Cardiac catheterization studies were performed using a 1.4 French microtip catheter (SPR-671, Miller Instruments, Houston, TX) under sedation with intraperitoneal injection of pentobarbital sodium (40 mg/kg) with spontaneous respiration. LV end-systolic pressure, maximum rate of isovolumic pressure development and minimum rate of isovolumic pressure decay were measured using analysis software (PowerLab, AD Instruments, Bella Vista, NSW, Australia). Ten sequential beats were averaged for each measurement.

Morphometric Analysis

Heart tissue was fixed in formalin, embedded in paraffin, and cut into 5-μm-thick sections. Sections were stained with hematoxylin and eosin, Masson's trichrome and picrosirius red to determine the infarct size and cardiac fibrosis, and identify their morphology. To evaluate the quality of collagen fibers, picrosirius red stained-sections were studied with polarized microscopy. The infarct size was assessed as total infarct circumference divided by total LV circumference times 100, as described previously.[4] The wall thickness of the scar at the papillary muscle level was also measured. The fraction of collagen volume was assessed in 10 randomly chosen high-power fields (×200) in each section. These data were analyzed

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

using ImageJ software (version 1.38×, National Institutes of Health).

Real-Time Quantitative PCR

Total RNA was isolated by the acid-phenol extraction method in the presence of chaotropic salts (Trizol, Invitrogen, Carlsbad, CA) and subsequent isopropanol-ethanol precipitation as described previously.[5] Reverse transcription was performed using a Super-Script First-Strand Synthesis System (Invitrogen) in accordance with the manufacturer's protocol. The sequences of primer pairs were designed using Primer Express III software (Applied Biosystems, Foster City, CA) and are described in online-only Data Supplement Table 1. Real-time quantitative PCR was performed using an ABI Prism 7500 sequence detection system (Applied Biosystems). The obtained data were normalized using the expression levels of mouse 18S rRNA.

Western Blotting

Frozen tissue was homogenized in T-PER Tissue Protein Extraction Reagent (Thermo Scientific, Rockford, IL) with protease inhibitors (Thermo Scientific). After centrifugation, the supernatant was collected and protein concentration measured using a Bradford assay system. Equal amounts of protein samples (30 μg) were electrophoresed on 4-12% NuPAGE Bis-Tris gels (Invitrogen), and then proteins were electroblotted onto polyvinylidene

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

difluoride membranes. After blocking with 5% nonfat dried skim milk in Tris-buffered saline (TBS) containing 0.1% Tween-20 at room temperature (RT) for 1 hour, the membranes were incubated with the primary antibodies anti-interleukin (IL)-10 (Abcam, Cambridge, MA), anti-inducible nitric oxide synthase (iNOS) (BD Bioscience, San Jose, NJ), anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) (Santa Cruz Biotech., Santa Cruz, CA) and anti-glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (Santa Cruz Biotech.) at 4°C overnight or for 1 hour at RT, followed by exposure to the secondary horseradish peroxidase (HRP)-conjugated antibody for 1 hour at RT. The immunoblots were developed by enhanced chemiluminofluorescence method. The signals were scanned with MF-ChemiBIS (DNR Bio-Imaging Systems, Jerusalem, Israel) and analyzed using Quantity One software (Bio-Rad, Hercules, CA).

Gelatin Zymography

To evaluate the activity of gelatinase, matrix metalloproteinase (MMP)-9 and MMP-2, gelatin zymography was performed. Equal volumes of 30 μg protein were loaded onto each lane of 10% gelatin zymogram gels (Novex, Invitrogen). After running at 80V for 2 hours, the gels were incubated in 2.5% Triton-X 100 for 30 min at RT, washed and then further incubated in 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, containing 200 mM NaCl and 5 mM $CaCl_2$ at 37°C overnight with gentle agitation. After washing with deionized water, the gels were stained with Coomassie

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

blue for 90 min followed by destaining with a solution containing 30% ethanol and 10% acetic acid. The presence of different MMPs was identified on the basis of their molecular weight. The gels were photographed using MF-ChemiBIS (DNR Bio-Imaging Systems) and analyzed using Quantity One software (Bio-Rad).

Immunohistochemical Staining

Immunohistochemical studies were performed by immunoperoxidase methods using paraffin-embedded tissue sections. After inhibiting endogenous peroxidase activity, the sections were incubated with primary anti-Mac3 (BD Bioscience), anti-MPO (Dako, Glostrup, Denmark) or anti-CD3 (Dako) antibodies at 4°C overnight. After incubation, a Vectastain ABC elite Kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA) was used according to the manufacturer's instructions. Following visualization with 3,3'-diaminobenzidine, the sections were finally counterstained with hematoxylin. The same methods were performed without the primary antibodies, as negative controls. The numbers of $Mac3^+$ macrophages, MPO^+ neutrophils, and $CD3^+$ T lymphocytes were assessed by counting the total cell numbers in the infarcted and border areas in 20 randomly chosen fields in each section. For the assessment of endothelial proliferation in the infarcted heart, double immnohistochemical staining for CD31 (Santa Cruz Biotech.) and Ki67 (Dako) was performed. After antigen retrieval, tissue sections were incubated with primary antibodies followed by the reaction with secondary

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

antibodies and labeling with alkaline phosphatase (for CD31) and 3,3'-diaminobenzidine (for Ki67). Finally, sections were counterstained with hematoxylin. The number of blood vessels and $CD31^+$ $Ki67^+$ proliferating endothelial cells were counted per unit area.

Immunofluorescent Staining

For immunofluorescent staining, frozen tissue sections were used. The excised hearts were embedded in OCT compound, snap frozen in liquid nitrogen, and then cut into 6-μm-thick sections. After fixing in acetone at RT for 10 min, cryosections were blocked using Block Ace (DS Pharma Biomedical Co. Ltd., Osaka, Japan) at 37°C for 30 min, and then incubated with anti-CD11c-APC (BD Bioscience) and purified anti-GFP (Medical & Biological Laboratories Co. Ltd., Nagoya, Japan) antibodies at 4°C overnight to identify BM-derived DCs. Alexa-Fluor 488-conjugated secondary antibody (Molecular Probes, Carlsbad, CA) was added to detect GFP^+ cells. To evaluate infiltrating leukocytes, primary purified anti-CD45 (BD Bioscience) and Alexa-Fluor 647-conjugated secondary (Molecular Probes) antibodies were used. Nuclei were identified with DAPI. As negative controls, the same procedures were performed without the primary antibodies. The sections were finally photographed under a confocal laser-scanning microscope (TCS-SP5, Leica).

Preparation of Splenic and Peripheral Blood Cells

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Spleens were removed, mushed and then passed through a 100-μm nylon mesh in PBS. After addition of ACK lysis buffer solution to exclude erythrocytes, the single cell suspension in PBS was refiltered through a 100-μm nylon mesh to remove connective tissue. Peripheral blood was drawn via cardiac puncture and collected into a heparinized tube. ACK lysis buffer solution was also added to the collected peripheral blood, followed by washing in PBS.

Isolation of Infiltrating Leukocytes from the Infarcted Heart

On the indicated days after the operation, mice were deeply anesthetized and intracardially perfused with ice-cold PBS to remove blood cells before euthanasia. Infarcted tissue was dissected, minced with fine scissors, and enzymatically digested with a cocktail of type II collagenase (Worthington Biochemical Corporation, Likewood, NJ), elastase (Worthington Biochemical Corporation) and DNase I (Sigma, St. Louis, MO) for 1 hour at 37°C with gentle agitation. After digestion, the tissue was then triturated and passed through a 100-μm cell strainer. For the separation of leukocytes, cells were incubated with biotin-conjugated anti-CD45 antibody (BioLegend, San Diego, CA) at 4°C for 10 min, followed by incubation with streptoavidin-conjugated microbeads (Miltenyi Biotec, Sunnyvale, CA) at 4°C for 15 min. Then, $CD45^+$ leukocytes were positively collected by magnetic sorting with AutoMACS (Miltenyi Biotec). The purity of cells was generally > 97%.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Flow Cytometry

Isolated splenocytes, peripheral blood cells, and leukocytes isolated from the heart were analyzed by flow cytometry. To block nonspecific binding of antibodies to Fcγ receptors, isolated cells were first incubated with anti-CD16/32 antibody (BD Bioscience) at 4°C for 5 min. Subsequently, the cells were stained with a mixture of the following antibodies at 4°C for 20 min: anti-CD11c-PE, anti-CD11c-APC, anti-CD45.1-PerCP-Cy5.5, anti-MHCII-PE, anti-CD11b-PE, anti-Mac3-PE, anti-Ly6C-APC, anti-F4/80-PE, anti-CD4-PE, anti-CD8-PE, anti-CD19-PE (BD Bioscience), CD45.2-APC (BioLegend), and Alexa-Fluor 647-conjugated anti-CD206 antibody (eBioscience, San Diego, CA). Peripheral blood monocytes were defined as SSC^{low} $CD11b^{high}$ cells as previously described.[6] After staining with 7-amino-actinomycin D (Sigma) to discriminate dead cells, flow cytometry was performed on a FACSCalibur (BD Bioscience) and the data analyzed with FlowJo software (Tree Star, Ashland, OR).

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

References

1. Zammit DJ, Cauley LS, Pham QM, Lefrancois L. Dendritic cells maximize the memory CD8 T cell response to infection. *Immunity.* 2005;22:561-570.
2. Katada J, Meguro T, Saito H, Ohashi A, Anzai T, Ogawa S, Yoshikawa T. Persistent cardiac aldosterone synthesis in angiotensin II type 1A receptor-knockout mice after myocardial infarction. *Circulation.* 2005;111:2157-2164.
3. Takahashi T, Anzai T, Kaneko H, Mano Y, Anzai A, Nagai T, Kohno T, Maekawa Y, Yoshikawa T, Fukuda K, Ogawa S. Increased C-reactive protein expression exacerbates left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299:H1795-1804.
4. Kaikita K, Hayasaki T, Okuma T, Kuziel WA, Ogawa H, Takeya M. Targeted deletion of CC chemokine receptor 2 attenuates left ventricular remodeling after experimental myocardial infarction. *Am J Pathol.* 2004;165:439-447.
5. Sugano Y, Anzai T, Yoshikawa T, Maekawa Y, Kohno T, Mahara K, Naito K, Ogawa S. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates early ventricular expansion after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2005;65:446-456.
6. Sunderkotter C, Nikolic T, Dillon MJ, Van Rooijen N, Stehling M, Drevets DA, Leenen PJ. Subpopulations of mouse blood monocytes differ in maturation stage and inflammatory response. *J Immunol.* 2004;172:4410-4417.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplemental Table 1. Primers for real-time PCR in this study

Gene	Sequence
IL-1β	(F)TTGGGCCTCAAAGGAAAGAAT
	(R)TGGGTATTGCTTGGGATCCA
TNF-α	(F)GCCAACGGCATGGATCTC
	(R)GCAGCCTTGTCCCTTGAAGAG
IL-18	(F)CTGAAGAAAATGGAGACCTGGAA
	(R)TCCGTATTACTGCGGTTGTACAGT
IL-10	(F)GCCAAGCCTTATCGGAAATG
	(R)GGGAATTCAAATGCTCCTTGAT
CCL2	(F)CCTGGATCGGAACCAAATGA
	(R)ACCTTAGGGCAGATGCAGTTTTA
CX3CL1	(F)TCCCCATCTGCCCTGACA
	(R)AGTTCCAAAGCAAGGTCTTCCA
18S	(F)TCGGAACTGAGGCCATGATT
	(R)CCTCCGACTTTCGTTCTTGATT

(F), Forward Primer; (R), Reverse Primer.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Supplemental Figure Legends

Supplemental Figure 1. Evaluation of BM chimerism of BMT mice. A, Representative flow cytometric dot plots of splenocytes for recipient-type CD45.1-PerCP-Cy5.5 and donor-type CD45.2-APC. B, Representative flow cytometric dot plots of splenocytes for CD11c-PE and CD45.2-APC, and histogram for GFP of $CD45.2^+$ $CD11c^+$ splenocytes.

Supplemental Figure 2. Depletion of DCs by DT injection. A, Representative flow cytometric dot plots of splenocytes for CD11c-APC and GFP or MHCII-PE in control and DC-ablated mice. B, Representative flow cytometric histograms of splenocytes for CD4, CD8, CD19 and CD11b in control (solid line) and DC-ablated (dotted line) mice.

Supplemental Figure 3. Inefficacy of DT on the WT mice heart. Echocardiographic measurements and heart/lung weight adjusted for body weight in non-treated and DT-treated WT mice are shown.

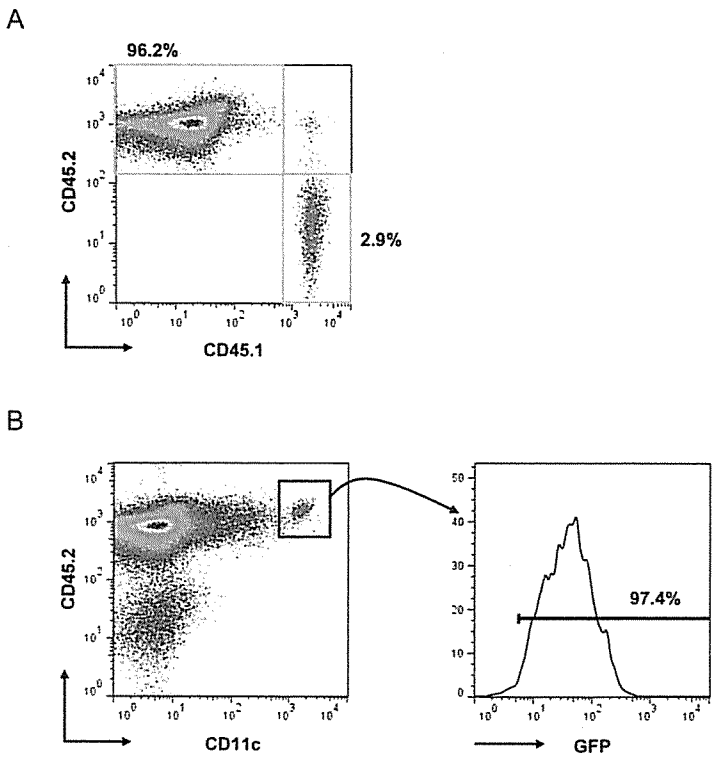
Supplemental Figure 4. Enhanced infiltration of $CD45^+$ leukocytes and $Mac3^+$ macrophages into the infarcted heart by DC-ablation. A, Time course of $CD45^+$ leukocyte infiltration into the heart of control and DC-ablated mice after MI. Data were obtained from 5 independent experiments at each time point. B, Representative immunofluorescent staining patterns for CD45 in infarcted and border areas 7 days after MI. Scale bars indicate 30 μm. C, Representative flow cytometric dot plots of heart-infiltrating $CD45^+$ leukocytes for Mac3-PE in control and DC-ablated mice 7 days after MI. D, Quantification of $Mac3^+$ macrophages based on flow cytometry in control (n = 5) and DC-ablated (n = 5) mice 7 days after MI. $^*P < 0.05$ and $^{**}P < 0.01$ vs sham of same group; $^{\dagger}P < 0.05$ and $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ vs control MI.

Supplemental Figure 5. DC-ablation induces marked monocyte recruitment after MI. A, Temporal changes in number of total peripheral blood monocytes by flow cytometry. B, Number of tissue monocytes in control and DC-ablated mice 7 days after MI or sham operation. $^*P < 0.05$ and $^{**}P < 0.01$ vs sham of same group; $^{\dagger}P < 0.05$ vs control MI.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

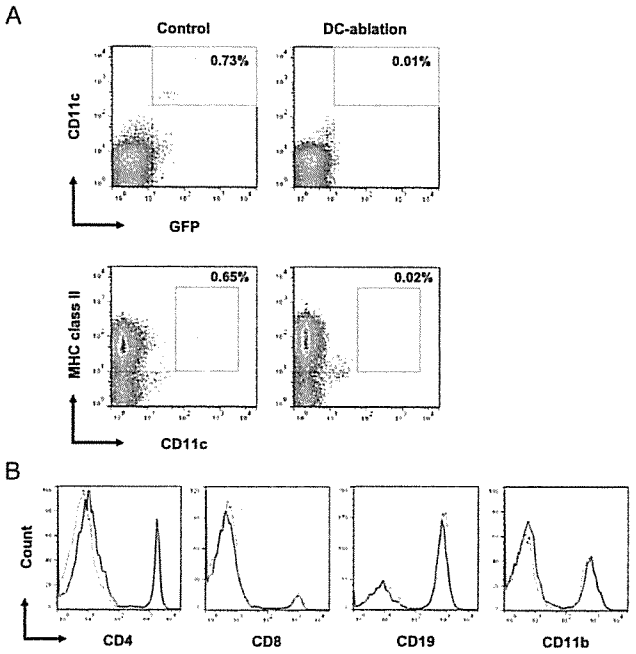
Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

The online data supplement Figure 1.



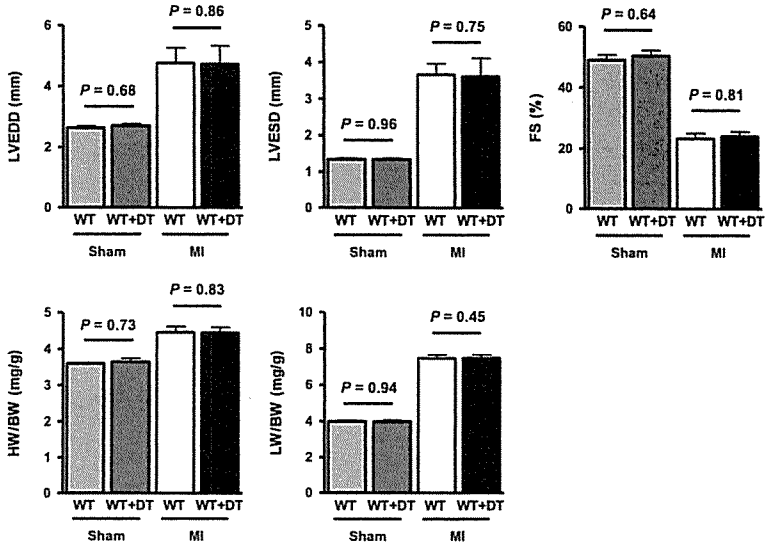
Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

The online data supplement Figure 2.



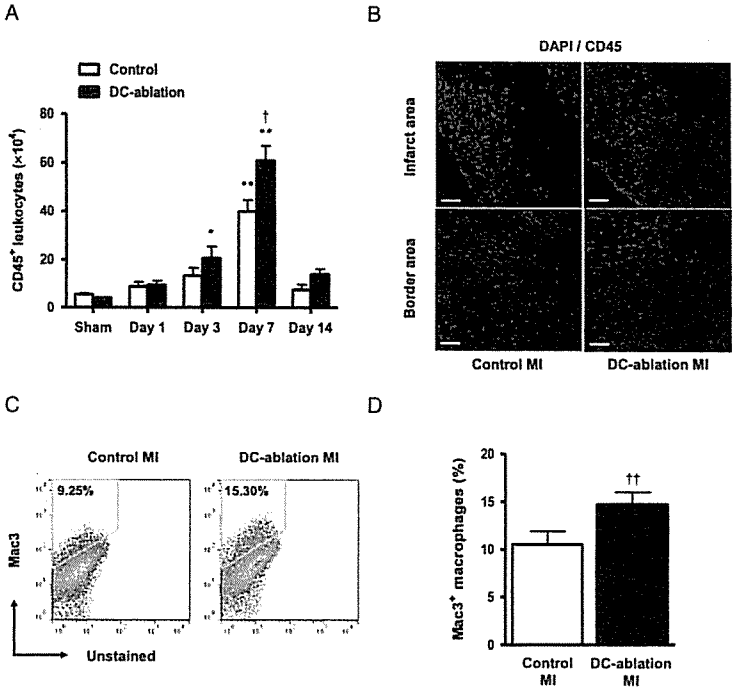
Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

The online data supplement Figure 3.



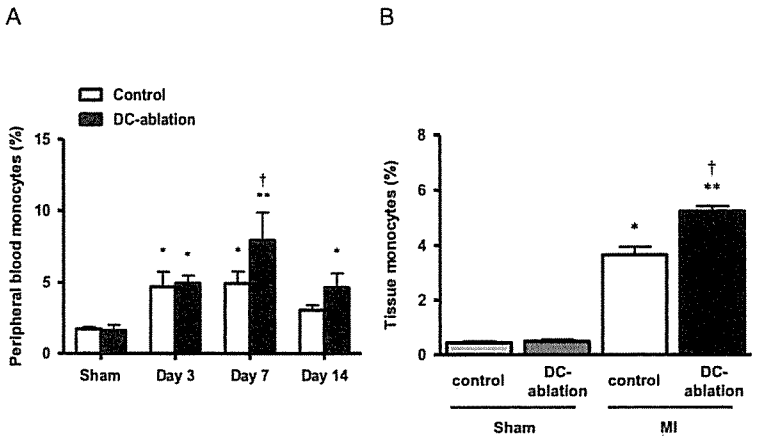
Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

The online data supplement Figure 4.



Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

The online data supplement Figure 5.



Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Circulation
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart Association.

Prognostic Values of Clockwise and Counterclockwise Rotation for Cardiovascular Mortality in Japanese Subjects : A 24-Year Follow-Up of the National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980 –2004 (NIPPON DATA80)

Yasuyuki Nakamura, Tomonori Okamura, Aya Higashiyama, Makoto Watanabe, Aya Kadota, Takayoshi Ohkubo, Katsuyuki Miura, Fumiyoshi Kasagi, Kazunori Kodama, Akira Okayama, Hirotsugu Ueshima and for the NIPPON DATA80 Research Group

Circulation. 2012;125:1226-1233; originally published online February 3, 2012;
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070045
Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231
Copyright © 2012 American Heart Association, Inc. All rights reserved.
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://circ.ahajournals.org/content/125/10/1226

Data Supplement (unedited) at:
http://circ.ahajournals.org/content/suppl/2012/02/03/CIRCULATIONAHA.111.070045.DC1.html

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Circulation* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
http://www.lww.com/reprints

Subscriptions: Information about subscribing to *Circulation* is online at:
http://circ.ahajournals.org//subscriptions/

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Epidemiology and Prevention

Prognostic Values of Clockwise and Counterclockwise Rotation for Cardiovascular Mortality in Japanese Subjects

A 24-Year Follow-Up of the National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980–2004 (NIPPON DATA80)

Yasuyuki Nakamura, MD, PhD; Tomonori Okamura, MD, PhD; Aya Higashiyama, MD, PhD; Makoto Watanabe, MD, PhD; Aya Kadota, MD, PhD; Takayoshi Ohkubo, MD, PhD; Katsuyuki Miura, MD, PhD; Fumiyoshi Kasagi, PhD; Kazunori Kodama, MD, PhD; Akira Okayama, MD, PhD; Hirotsugu Ueshima, MD, PhD; for the NIPPON DATA80 Research Group

Background—Although clockwise rotation and counterclockwise rotation are distinct findings of the ECG, their prognostic significance is rarely studied.

Methods and Results—We studied prognostic values of clockwise and counterclockwise rotation on total, cardiovascular disease (CVD), and subtype mortality using the National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980–2004 (NIPPON DATA80) database with a 24-year follow-up. At baseline in 1980, data were collected on study participants aged ≥30 years from randomly selected areas in Japan. We followed 9067 participants (44% men; mean age, 51 years). During the 24-year follow-up, mortality was as follows: 2581 total, 887 CVD, 179 coronary heart disease, 173 heart failure, and 411 stroke. The multivariate-adjusted hazard ratio (HR) with the use of the Cox model including biochemical and other ECG variables revealed that clockwise rotation was significantly positively associated with heart failure in men and women combined (HR=1.79; 95% confidence interval [CI], 1.13–2.83; P=0.013), CVD in men and in men and women combined (HR=1.49; 95% CI, 1.12–1.98; P=0.007 in men; HR=1.28; 95% CI, 1.02–1.59; P=0.030 in combined), and total mortality in men and in men and women combined (HR=1.19; 95% CI, 1.00–1.49; P=0.0496 in men; HR=1.15; 95% CI, 1.00–1.32; P=0.045 in combined). Counterclockwise rotation was significantly inversely associated stroke in men and women combined (HR=0.77; 95% CI, 0.62–0.96; P=0.017), CVD in men and in men and women combined (HR=0.74; 95% CI, 0.59–0.94; P=0.011 in men; HR=0.81; 95% CI, 0.70–0.94; P=0.006 in combined), and total mortality in women (HR=0.87; 95% CI, 0.77–0.98; P=0.023).

Conclusions—We found a significant positive association of clockwise rotation and a significant inverse association of counterclockwise rotation with CVD mortality in men and in men and women combined, independent of confounding factors including other ECG changes. **(*Circulation*. 2012;125:1226-1233.)**

Key Words: cardiovascular mortality ■ clockwise and counterclockwise rotation ■ electrocardiography

Since the first report by Einthoven[1] of accurate recording of the ECG and its development as a clinical tool in 1895, the early phase of ECG studies was devoted to descriptions of ECG changes in disease conditions, such as arrhythmia,[2–5] angina pectoris,[6] and myocardial infarction,[7] or to formation of diagnostic criteria from comparative evaluations between ECG findings and anatomic changes, such as left ventricular hypertrophy (LVH).[8] Publication of studies on prognostic values of ECG changes arrived in the1960s, when LVH by ECG was found to show an increase in cardiovascular disease (CVD) mortality in hospital-based patients,[9] as well as in general populations.[10] The other ECG changes that have been

Continuing medical education (CME) credit is available for this article. Go to http://cme.ahajournals.org to take the quiz.
Received September 23, 2011; accepted January 31, 2012.
From the Department of Cardiovascular Epidemiology, Kyoto Women's University, Kyoto (Y.N.); Department of Health Science, Shiga University of Medical Science, Otsu (Y.N., A.K., T. Ohkubo, K.M., H.U.); Department of Preventive Medicine and Public Health, Keio University, Tokyo (T. Okamura); Department of Environmental Medicine, Hyogo Medical School, Nishinomiya (A.H.); Department of Preventive Cardiology, National Cardiovascular Center, Suita (M.W.); Radiation Effects Association, Tokyo (F.K.); Radiation Effects Research Foundation, Hiroshima (K.K.); and First Institute for Health Promotion and Health Care, Tokyo (A.O.), Japan.
The online-only Data Supplement is available with this article at http://circ.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070045/-/DC1.
Correspondence to Yasuyuki Nakamura, MD, Department of Cardiovascular Epidemiology, Kyoto Women's University, 35 Imakumano Kitahiyoshi-cho, Higashiyama-ku, Kyoto 605-8501, Japan. E-mail nakamury@kyoto-wu.ac.jp
© 2012 American Heart Association, Inc.
Circulation **is available at http://circ.ahajournals.org** **DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070045**

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

資料29

shown to have prognostic significance are Q-wave abnormalities, ST-T abnormalities with or without high left R waves, prolonged QRS duration, and atrial fibrillation (AF).[11–23]

Clinical Perspective on p 1233

The transitional zone is related to the direction of the QRS axis in the horizontal plane. Although clockwise rotation and counterclockwise rotation are distinct findings of ECG, their clinical values have not been well studied, and their prognostic significance has been studied only rarely. The aim of the present study was to assess the independent prognostic values of clockwise rotation and counterclockwise rotation for mortality due to CVD and its subtypes in a large cohort of participants obtained from randomly selected health districts in Japan.[24,25]

Methods

Participants

Cohort studies of the National Survey on Circulatory Disorders, Japan, are known as NIPPON DATA (National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged). The present study analyzed data from NIPPON DATA80, in which baseline surveys were performed in 1980. Details of this cohort have been reported elsewhere.[24,25]

Three hundred health districts throughout Japan were randomly selected. The overall population aged ≥30 years in the participating health districts was 13 771. All of them were invited to participate in the study. Among them, a total of 10 546 community-based participants agreed to participate in the study. The participation rate was 76.6% (10 546 of 13 771) before exclusion for reasons mentioned below. The survey consisted of history taking, physical examinations, blood tests, a standard 12-lead ECG recording in the supine position, and a self-administered questionnaire on lifestyle. For the present study, participants were followed up to 2004 (NIPPON DATA80, 1980–2004).

Participants were excluded from follow-up because of missing baseline data (n=124), a past history of coronary heart disease (CHD) or stroke at baseline (n=164), or loss to follow-up (n=1105). The latter group was excluded because of the absence of a permanent address that was needed to link to vital statistical records. We also excluded 86 participants with baseline ECG abnormalities including moderate or severe Q-wave abnormalities (Minnesota Code [MC] 1-1 or 1-2), third-degree atrioventricular block (MC 7-1), Wolff-Parkinson-White syndrome (MC 6-4), and complete left bundle-branch block (MC 7-1).[26,27] The final sample comprised 9067 participants (3958 men and 5109 women). There were no significant differences between participants who were lost to follow-up and those who were included in the present study in terms of several risk factors.

Biochemical and Baseline Examinations

The baseline surveys were conducted at public health centers according to a standardized manual. Blood pressure was measured by trained research nurses using a standard mercury sphygmomanometer on the right arm of seated participants after at least 5 minutes of rest. Hypertension was defined as systolic blood pressure ≥140 mm Hg, diastolic blood pressure ≥90 mm Hg, use of antihypertensive agents, or any combination of these. Height and weight were measured in subjects without shoes and with light clothing. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by the square of height (m^2).

A lifestyle survey was also performed with the use of a self-administered questionnaire. Participants were asked about their alcohol drinking habit (never, past, occasional, and daily drinkers). Reported information was confirmed by public health nurses through interviews with the study participants regarding smoking, drinking habits, and present and past medical histories.

Casual blood samples were drawn and centrifuged within 60 minutes of collection and stored at −70°C until analyses, as described previously.[24,25,28,29]

The ECG findings were independently evaluated by 2 trained researchers in each of 12 institutions according to the MC, as described previously.[30] Codes in agreement were accepted, whereas inconsistent codes were decided on by a panel of study epidemiologists and cardiologists.[28] Major ECG findings for the present study were counterclockwise rotation (MC 9-4-1: a transition zone at V_3 or rightward of V_3) and clockwise rotation (MC 9-4-2: a transition zone at V_3 or leftward of V_4). Thus, MC defines normal rotation as ECG coded neither as 9-4-1 nor as 9-4-2. In other words, ECGs showing dominant S in V_3 and dominant R in V_4 are defined as normal rotation. Normal-rotation ECGs have an isoelectric transitional zone in between V_3 and V_4, which was found in the majority of cases. Additional ECG findings (http://www.sph.umn.edu/epi/ecg/mncode.pdf)[27] that we examined were mild Q-wave abnormality (MC 1-3), frontal plane QRS axis deviations (MC 2-1, 2-2, 2-3), high R wave (MC 3-1 to 3-4), ST depression (MC 4-1 to 4-4), T-wave abnormality (MC 5-1 to 5-5), combination of high R plus either ST depression or T abnormality, first- or second-degree atrioventricular block (MC 6-2 or 6-3), intraventricular conduction disturbances (bundle-branch block) other than left bundle-branch block (MC 7-2-1 to 7-8), ventricular premature beats (MC 8-1-2), AF (MC 8-3), sinus tachycardia (MC 8-7), sinus bradycardia (MC 8-8), low QRS voltage (MC 9-1), ST elevation (MC 9-2), tall P wave (MC 9-3-1), and long P wave (MC 9-3-2).[26,27]

Although reproducibility of ECG findings was not checked in this study, a previous study by de Bruyne et al[31] showed that reproducibility of QRS axis deviation was excellent. We presume that reproducibility of clockwise rotation and counterclockwise rotation should be similarly good. The prevalence values of normal rotation, clockwise rotation, and counterclockwise rotation in the present study, the baseline study of which was done in 1980, were 51.7%, 6.9%, and 41.4%, respectively, and those in the study done in 1990 in different participants were 50.7%, 7.0%, and 42.3%, respectively. These results may support good reproducibility of the ECG findings.

End Point Determination

To determine cause of death after 24-year follow-up, we used the National Vital Statistics database of Japan with permission from the Management and Coordination Agency, Government of Japan. The underlying causes of death were coded according to the *International Classification of Diseases, Ninth Revision* (*ICD-9*) through the end of 1994 and according to the *International Classification of Diseases, Tenth Revision* (*ICD-10*) from the beginning of 1995. The details of classification in the present study are described elsewhere.[16,22,23] CVD (*ICD-9*: 393–459 and *ICD-10*: I00 to I99), CHD (*ICD-9*: 410–414 and *ICD-10*: I20 to I25), heart failure (HF) (*ICD-9*: 428 and *ICD-10*: I50), stroke (*ICD-9*: 430–438 and *ICD-10*: I60 to I69), and chronic obstructive pulmonary disease (*ICD-9*: 491, 492 and *ICD-10*: J41 to J44) were identified. Approval for the study was obtained from the institutional review board of Shiga University of Medical Science (No. 12-18, 2000).

Statistical Analysis

SAS version 9.2 for Windows (SAS Institute, Cary, NC) was used throughout the analyses. Variables were compared among the 3 groups according to ECG horizontal plane rotation (normal, clockwise rotation, and counterclockwise rotation). The χ^2 test was used to compare dichotomous variables, followed by a post hoc application of the Bonferroni method. A 1-way ANOVA was used to compare means among the groups, followed by a post hoc application of the Dunnett test when the F value showed a significant difference at $P<0.05$. Prevalence of clockwise rotation and counterclockwise rotation among age and BMI groups was also examined. To obtain P for trend, the Mantel-Haenszel test was used.

To examine the factors associated with CHD, HF, stroke, CVD, and total mortality, multivariate-adjusted hazard ratios (HRs) were calculated with the use of a Cox proportional hazards model. Men and women were analyzed separately in model 1 to model 3 and were

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 1. Baseline Characteristics and Mortality According to ECG Rotation Groups: NIPPON DATA80, 1980 to 2004

	Men (Subtotal=3958)				Women (Subtotal=5109)			
Rotation	Normal	Clockwise	Counterclockwise	P	Normal	Clockwise	Counterclockwise	P
n (%)	2216 (56.0)	326 (8.2)	1416 (35.8)		2470 (48.4)	298 (5.8)	2341 (45.8)	
Age, y	50.3±13.2	53.6±13.4†	49.9±12.7	<0.001	51.2±13.3	54.7±13.5†	49.9±13.1†	<0.001
BMI, kg/m^2	22.5±2.9	21.9±3.0†	22.8±2.8†	<0.001	22.7±3.3	23.1±4.5	23.0±3.3*	0.013
Hypertension, %	50.6	53.1	48.9	0.332	43.1	52.0†	38.1†	<0.001
Smoker, %	64.1	67.5	60.0†	0.008	8.9	10.4	8.6	0.596
Alcohol drinker, %	49.5	46.3	46.0	0.101	3.0	3.7	2.7	0.530
Cholesterol, mg/dL	185.2±32.4	184.1±32.9	187.2±32.7	0.130	190.5±34.2	196.0±35.6*	190.5±33.6	0.025
Blood glucose concentration, mg/dL	101.9±30.9	105.7±32.0	101.6±34.2	0.105	100.6±28.7	107.6±41.2†	100.0±26.4	<0.001
Creatinine, mg/dL	1.05±0.16	1.08±0.56	1.06±0.24	0.096	0.85±0.18	0.86±0.18	0.84±0.13	0.051
CHD death, %	2.4	3.4*	1.5	0.047	1.8	3.0	1.7	0.275
HF death, %	1.7	3.7*	1.5	0.022	2.0	4.7†	1.7	0.002
Stroke death, %	5.6	8.3	4.0	0.004	4.6	4.7	3.2*	0.028
CVD death, %	11.3	18.7†	7.6†	<0.001	9.9	14.1*	7.6*	<0.001
COPD death, %	0.45	1.23	0.35	0.115	0.20	0	0.13	0.631
Total death, %	34.7	47.9†	31.1*	<0.001	25.3	33.9†	20.9†	<0.001

Values are shown as mean±SD or percentages. Baseline characteristics and mortality due to cardiovascular disease (CVD) and its subtypes were compared among the 3 groups according to ECG horizontal plane rotation (normal, clockwise, and counterclockwise). The χ^2 test was used to compare dichotomous variables, followed by a post hoc application of the Bonferroni method. A 1-way ANOVA was used to compare means among groups, followed by a post hoc application of the Dunnett test when the F value showed a significant difference at $P<0.05$. NIPPON DATA80 indicates National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980 to 2004; BMI, body mass index; alcohol drinker, those participants who admitted to drinking alcohol daily; smoker, those participants who admitted to smoking currently; cholesterol, serum total cholesterol concentration; CHD, coronary heart disease; HF, heart failure; and COPD, chronic obstructive pulmonary disease.

*$P<0.05$; †$P<0.01$, compared to Normal.

combined in model 4. Covariates in model 1 were age and ECG horizontal plane rotation (normal, clockwise rotation, and counterclockwise rotation; normal was taken as a reference). Model 2 consisted of model 1 plus BMI (5 categories divided at 18.5, 23, 25, and 30 kg/m^2; 18.5–23=reference), hypertension, cigarette smoking (never and past smokers and 3 current smoker categories divided at 20 and 40 cigarettes per day; never smokers=reference), alcohol drinking (ex-drinker or current drinker and never drinker; never drinkers=reference), serum total cholesterol and blood glucose concentrations (standardized to have the mean=0 and SD=1), serum creatinine (divided at 75th percentile, 1.0 mg/dL), and interaction terms. Model 3 consisted of model 2 plus ECG findings (mild Q-wave abnormality, frontal plane QRS axis deviations, combination of high R [MC 3-1 to 3-4] plus either ST depression or T abnormality, first or second degree atrioventricular block, bundle-branch block other than left bundle-branch block, ventricular premature beats, AF, sinus tachycardia, sinus bradycardia, low QRS voltage, ST elevation, tall P wave, and long P wave), and interaction terms. Model 4 consisted of model 3 plus sex indicator and interaction terms. In addition, the following sensitivity analyses for model 4 CVD mortality were performed: dichotomizing at age 60 years, subgroup analyses by frontal axis groups and by smoking groups, removing participants with AF, and removing participants with a combination of high R plus either ST depression or T abnormality. We tested proportionality by generating the time-dependent covariates by creating interactions of the predictors and a function of survival time and including them in the models. None of these were significant. In addition, by using a "test" statement, we tested all of the time-dependent covariates at once. This also was not significant. We confirmed the linearity assumption by plotting each continuous predictor variable against the martingale residuals from a Cox model. The additivity was tested by checking interaction terms between age, sex indicators, and other predictors. If any of these was significant, the interaction terms were included in the models.

Results

Descriptive Statistics

During follow-up for 24 years (191 484 person-years), 27 chronic obstructive pulmonary disease deaths (19 in men, 8 in women), 179 CHD deaths (86 in men, 93 in women), 173 HF deaths (70 in men, 103 in women), 411 stroke deaths (209 in men, 202 in women), 887 CVD deaths (423 in men, 464 in women), and 2581 total deaths (1365 in men, 1216 in women) were ascertained.

Baseline characteristics, total mortality, and mortality due to chronic obstructive pulmonary disease, CVD, and its subtypes according to ECG rotation groups are shown in Table 1. Among men, 56.0% were in the normal rotation group, 8.2% in the clockwise rotation group, and 35.8% in the counterclockwise rotation group. In men, in the clockwise rotation group, mean age and prevalence of CHD, HF, CVD, and total death were higher than in men in the normal group, whereas mean BMI was lower than in men in the normal group. In contrast to these differences, in men in the counterclockwise rotation group, mean BMI was higher, and the prevalence values of current smokers, CVD, and total death were lower than in men in the normal group.

Among women, 48.4% were in the normal rotation group, 5.8% in the clockwise rotation group, and 45.8% in the counterclockwise rotation group. In women in the clockwise rotation group, mean age, total cholesterol, blood glucose, and prevalence of hypertension, HF, CVD, and total death were higher than in women in the normal group. In contrast

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 2. Baseline ECG Characteristics According to ECG Rotation Groups: NIPPON DATA80, 1980 to 2004

	Men (Subtotal=3958)				Women (Subtotal=5109)			
Rotation	Normal	Clockwise	Counterclockwise	P	Normal	Clockwise	Counterclockwise	P
Mild Q wave (MC 1-3), %	1.94	4.29*	0.85*	<0.001	1.38	1.68	0.94	0.277
Axis (−30° to −90°), %	2.12	4.60*	1.13	<0.001	1.26	7.38†	0.68	<0.001
Axis (+120° to −150°), %	0.09	0.61	0	0.007	0.12	0.34	0	0.084
Axis (+90° to +119°), %	1.76	8.90†	0.42†	<0.001	1.42	6.04†	0.26†	<0.001
High R, %	25.2	16.3†	25.4	0.001	10.0	8.39	8.20	0.078
ST depression, %	4.42	6.75	2.75*	0.001	6.52	9.37*	5.77	0.028
T-wave inversion, %	6.00	11.0†	4.94	<0.001	10.8	15.4*	9.74	0.010
LVH_ST, %	4.29	5.52	3.04	0.052	3.40	4.36	2.39	0.044
First- or second-degree atrioventricular block, %	3.16	3.37	2.82	0.600	1.82	2.35	1.45	0.399
BBB other than LBBB, %	8.88	7.36	5.37†	<0.001	4.70	5.37	3.59*	0.097
VPC, %	0.90	1.84	1.13	0.289	1.13	1.01	1.32	0.788
AF, %	0.63	3.07†	0.07*	<0.001	0.57	4.03†	0.30	<0.001
Sinus tachycardia, %	0.90	0.92	0.35	0.139	1.90	4.03*	1.45	0.007
Sinus bradycardia, %	2.89	4.29	3.18	0.386	0.61	0.67	0.43	0.649
Low voltage, %	0.32	0.92	0.42	0.273	1.90	4.03*	0.64†	<0.001
ST elevation, %	7.40	8.28	7.70	0.836	0.40	0.67	0.34	0.685
Tall P, %	0.18	0.31	0.07	0.534	0.08	0	0	0.343
Long P, %	0.59	0.61	0.56	0.993	0.20	0.34	0.13	0.659

Values are shown as percentages. Baseline ECG characteristics were compared among the 3 groups according to ECG horizontal plane rotation (normal, clockwise, and counterclockwise). The χ^2 test was used to compare dichotomous variables, followed by a post hoc application of the Bonferroni method. NIPPON DATA80 indicates National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980 to 2004; axis, QRS axis in frontal plane; LVH_ST, combination of high R plus either ST depression or T abnormality; BBB, bundle-branch block; LBBB, left bundle-branch block; VPC, ventricular premature contractions; and AF, atrial fibrillation.

*P<0.05; †P<0.01, compared to Normal.

to these differences, for women in the counterclockwise rotation group, mean age was lower, mean BMI was higher, and the prevalence values of hypertension, stroke, CVD, and total death were lower than in women in the normal group.

Baseline ECG characteristics according to ECG rotation groups are shown in Table 2. In men in the clockwise rotation group, prevalence values of a mild Q wave, left axis and mild right axis deviations, T-wave inversion, and AF were higher than in men in the normal group, whereas prevalence of a high R wave was lower than in men in the normal group. In men in the counterclockwise rotation group, the prevalence values of a mild Q wave, mild right axis deviation, ST depression, bundle-branch block other than left bundle-branch block, and AF were lower than in men in the normal groups. In women in the clockwise rotation group, prevalence values of left axis and mild right axis deviations, ST depression, T-wave inversion, AF, sinus tachycardia, and low voltage were higher than in women in the normal group. In women in the counterclockwise rotation group, prevalence values of mild right axis deviation and low voltage were lower than in women in the normal groups.

Associations of Age and BMI Categories With Clockwise Rotation and Counterclockwise Rotation

Associations of age and BMI categories with clockwise rotation and counterclockwise rotation are shown in Tables 3 and 4. In both men and women, prevalence of clockwise rotation became higher as age increased. In contrast, prevalence of counterclockwise rotation in women became lower as age increased. In both men and women, prevalence of clockwise rotation became lower in the middle BMI groups; in contrast, prevalence of counterclockwise rotation was higher in the middle BMI groups.

Associations of Clockwise Rotation and Counterclockwise Rotation With Total Mortality and Mortality Due to CVD and Its Subtypes

Results of Cox analyses on the associations of clockwise rotation and counterclockwise rotation with total mortality and mortality due to CVD and its subtypes are shown in Table 5. In general, clockwise rotation tended to be positively associated and counterclockwise rotation tended to be inversely associated with total mortality and mortality due to CVD and its subtypes. Clockwise rotation was significantly positively associated with HF in men and women combined (model 4) (HR=1.79; 95% confidence interval [CI], 1.13–2.83; P=0.013), CVD in men and in men and women combined (model 3 HR=1.49; 95% CI, 1.12–1.98; P=0.007 in men; model 4 HR=1.28; 95% CI, 1.02–1.59; P=0.030 in combined), and total mortality in men and in men and women combined (model 3 HR=1.19; 95% CI, 1.00–1.49; P=0.0496 in men; model 4 HR=1.15; 95% CI, 1.00–1.32; P=0.045 in combined). Counterclockwise rotation was significantly inversely associated with stroke in men and women combined (model 4 HR=0.77; 95% CI, 0.62–0.96; P=0.017), CVD in men and in men and women combined (model 3 HR=0.74; 95% CI, 0.59–0.94; P=0.011 in men; model 4 HR=0.81; 95% CI, 0.70–0.94; P=0.006 in combined), and total mortality in women (model 3 HR=0.87; 95% CI, 0.77–0.98; P=0.023). A subgroup analysis by dichotomizing the participants at age 60 years yielded similar results with some loss of statistical significance (age ≤60 years: HR for clockwise rotation=1.53; 95% CI, 1.02–2.29; P=0.039; HR for counterclockwise rotation=0.80; 95% CI, 0.60–1.07; P=0.127; age >60 years: HR for clockwise rotation=1.19; 95% CI, 0.91–1.55; P=0.148; HR for counterclockwise rotation=0.83; 95% CI, 0.70–0.99; P=0.0341). Subgroup analyses by frontal axis groups and by smoking groups yielded similar results but lost statistical significance. The 2 sensitivity analyses (removing the participants with AF or removing the participants with a combination of high R plus either ST depression or T abnormality) yielded similar results.

Table 3. Prevalence of Clockwise and Counterclockwise Rotation According to Age Groups: NIPPON DATA80, 1980 to 2004

	Age Group, y							
	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	≥80	P for Difference	P for Trend
Men, n	1013	1061	924	585	323	52		
Clockwise, %	6.1	6.8	8.6	12.5	10.5	11.5	<0.001	<0.001
Counterclockwise, %	36.5	37.5	35.7	32.8	35.3	23.1	0.347	0.387
Women, n	1297	1301	1223	806	395	87		
Clockwise, %	3.7	4.8	7.1	7.0	8.9	10.3	<0.001	<0.001
Counterclockwise, %	49.7	47.4	43.8	43.4	40.8	37.9	0.060	0.001

Prevalence of clockwise and counterclockwise rotation among age groups was examined. The χ^2 test was used to obtain P for difference. To obtain P for trend, the Mantel-Haenszel test was used. NIPPON DATA80 indicates National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980 to 2004.

Discussion

We found a significant positive association of clockwise rotation and a significant inverse association of counterclockwise rotation with CVD mortality in men. We also found a significant positive association of clockwise rotation with HF in men and women combined and with total mortality in men and in men and women combined. The findings were independent of other confounding factors including blood chemical measurements and other ECG findings.

The prognostic values of major and minor ECG abnormalities at baseline for subsequent risk of incidence and/or death from CVD have been studied extensively throughout the long history of ECG studies. Other ECG changes that have been shown to have prognostic significance are Q-wave abnormalities, ST-T abnormalities with or without left high R waves, prolonged QRS duration, and AF.[11–23] Although clockwise rotation and counterclockwise rotation are distinct findings on ECG, their clinical values have not been well studied, and their prognostic significance has seldom been studied. One exceptional study was done by Rajala et al,[32] who found that stroke mortality showed the highest association with clockwise rotation and left high R waves among most of the participants aged ≥85 years. Horibe et al[30] studied the relationship between ECG findings coded by the MC system and all-cause mortality using the NIPPON DATA80 database with follow-up for 19 years and noted that the HR of participants with clockwise rotation was significantly high. No further investigation was made.

Some studies have investigated the mechanisms of clockwise rotation and counterclockwise rotation. Tahara et al[33] examined computed tomographic scans of 102 participants to compare the anatomic position of the cardiac septum and ECG position of the transitional zone. They concluded that approximately two thirds of clockwise rotation and counterclockwise rotation could be explained by anatomic rotation of the heart in the horizontal plane around the long axis, and in

Table 4. Prevalence of Clockwise and Counterclockwise Rotation According to Body Mass Index Groups: NIPPON DATA80, 1980 to 2004

	Body Mass Index Group, kg/m²						
	<18.5	18.5–23	23–25	25–30	≥30	P for Difference	P for Trend
Men, n	253	2,084	855	733	33		
Clockwise, %	14.2	8.5	6.4	7.4	9.1	0.029	0.053
Counterclockwise, %	28.1	33.8	39.9	39.7	26.3	0.002	<0.001
Women, n	369	2495	1077	1015	153		
Clockwise, %	11.1	4.7	4.3	7.3	13.1	<0.001	0.033
Counterclockwise, %	36.9	45.9	48.1	46.6	45.8	0.042	0.010

Prevalence of clockwise and counterclockwise rotation among body mass index groups was examined. The χ^2 test was used to obtain P for difference. To obtain P for trend, the Mantel-Haenszel test was used. NIPPON DATA80 indicates National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980 to 2004.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 5. Clockwise and Counterclockwise Rotation and Mortality: NIPPON DATA80, 1980 to 2004

	Men						Women					
	Clockwise			Counterclockwise			Clockwise			Counterclockwise		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
CHD												
Model 1	1.33	0.70–2.55	0.386	0.64	0.39–1.07	0.086	1.37	0.67–2.82	0.356	0.97	0.63–1.48	0.872
Model 2	1.34	0.70–2.58	0.383	0.60	0.35–0.999	0.0496	1.53	0.74–3.19	0.256	1.09	0.70–1.69	0.715
Model 3	1.37	0.71–2.67	0.351	0.57	0.34–0.96	0.034	1.67	0.78–3.56	0.183	1.13	0.72–1.77	0.583
Model 4	1.36	0.84–2.27	0.198	0.83	0.60–1.15	0.269	≤Men and women combined					
HF												
Model 1	2.09	1.09–4.02	0.026	1.01	0.59–1.72	0.986	1.83	1.00–3.35	0.048	0.88	0.58–1.29	0.448
Model 2	1.90	0.98–3.68	0.058	1.02	0.60–1.75	0.941	1.96	1.07–3.59	0.030	0.89	0.58–1.37	0.606
Model 3	1.50	0.72–3.13	0.275	1.07	0.62–1.86	0.810	1.62	0.80–3.30	0.181	1.06	0.61–1.84	0.828
Model 4	1.79	1.13–2.83	0.013	0.98	0.70–1.37	0.911	≤Men and women combined					
Stroke												
Model 1	1.42	0.94–2.15	0.100	0.78	0.57–1.07	0.120	0.82	0.47–1.42	0.475	0.70	0.53–0.94	0.019
Model 2	1.32	0.87–2.02	0.191	0.79	0.58–1.09	0.146	0.82	0.46–1.46	0.494	0.72	0.53–0.97	0.029
Model 3	1.37	0.89–2.11	0.148	0.78	0.57–1.08	0.132	0.77	0.43–1.40	0.395	0.74	0.55–1.00	0.050
Model 4	1.06	0.75–1.49	0.749	0.77	0.62–0.96	0.017	≤Men and women combined					
CVD												
Model 1	1.56	1.19–2.00	0.001	0.74	0.59–0.93	0.010	1.14	0.82–1.58	0.433	0.79	0.65–0.95	0.015
Model 2	1.48	1.12–1.96	0.007	0.74	0.59–0.93	0.011	1.16	0.83–1.63	0.384	0.83	0.68–1.01	0.059
Model 3	1.49	1.12–1.98	0.007	0.74	0.59–0.94	0.011	1.12	0.79–1.59	0.524	0.87	0.71–1.06	0.176
Model 4	1.28	1.02–1.59	0.030	0.81	0.70–0.94	0.006	≤Men and women combined					
Total												
Model 1	1.33	1.12–1.57	0.001	0.94	0.84–1.06	0.336	1.11	0.90–1.37	0.317	0.84	0.75–0.95	0.004
Model 2	1.24	1.04–1.47	0.016	0.97	0.86–1.09	0.595	1.11	0.90–1.38	0.319	0.86	0.76–0.97	0.011
Model 3	1.19	1.00–1.42	0.0496	0.99	0.88–1.11	0.824	1.09	0.88–1.35	0.441	0.87	0.77–0.98	0.023
Model 4	1.15	1.00–1.32	0.045	0.93	0.85–1.01	0.090	≤Men and women combined					

Multivariate-adjusted hazard ratios (HR) of mortality associated with clockwise and counterclockwise rotation in comparison with normal rotation are shown. We calculated HR using a Cox proportional hazards model. Men and women were analyzed separately and combined. For the following models, the following covariates were included: model 1, age+ECG (normal, clockwise rotation, and counterclockwise rotation; normal was taken as a reference); model 2, model 1+body mass index (5 categories), hypertension, cigarette smoking (5 categories), alcohol drinking (3 categories), serum total cholesterol and blood glucose concentrations, serum creatinine (cutoff at 1.0 mg/dL), and significant interaction terms; model 3, model 2+other ECG findings and significant interaction terms; and model 4, model 3+sex indicator and significant interaction terms. NIPPON DATA80 indicates National Integrated Project for Prospective Observation of Noncommunicable Disease and Its Trends in the Aged, 1980 to 2004; CI, confidence interval; CHD, coronary heart disease; HF, heart failure; and CVD, cardiovascular disease.

the remaining one third of cases, other factors such as vertical heart were responsible. It is also known that counterclockwise rotation is more common in healthy young individuals.[31,35] A higher prevalence of clockwise rotation was reported in the setting of acute massive pulmonary thromboembolism.[36–38] Counterclockwise rotation was reported to occur after right pneumonectomy.[39] Except for age-specific differences in the prevalence of clockwise rotation and counterclockwise rotation, many of these reports appear to be unrelated to situations in the present study.

We speculate regarding the reasons for the harmful effect of clockwise rotation and the beneficial effect of counterclockwise rotation on CVD mortality. First, the age-specific prevalence of clockwise rotation and counterclockwise rotation may be related. Clockwise rotation was more prevalent and, in contrast, counterclockwise rotation was less prevalent in the older age groups in the present study. These findings are consistent with the aforementioned studies.[31,35] Second, less prevalent clockwise rotation and more prevalent counterclockwise rotation among those in the middle BMI groups may also be related because it has been shown that a U-shaped relationship is at work between BMI and several outcomes.[30] Third, mild Q wave, axis deviation, ST depression, T-wave inversion, and AF were more prevalent among participants with clockwise rotation than in normal participants in men and women. Many of these features were less prevalent among participants with counterclockwise rotation than in normal male and female participants. Some of these ECG features have been shown to be associated with untoward outcomes.[10–24] Although all of the factors mentioned thus far were included as confounding factors in multivariate Cox analyses, we cannot exclude the possibility that the adjustment might not have been complete. Further studies are needed to elucidate the mechanisms involved in the harmful

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

effect of clockwise rotation and beneficial effect of counterclockwise rotation on CVD mortality. The clinical significance of clockwise rotation and counterclockwise rotation, which has been ignored for >100 years, is worth noting.

We had a large cohort of participants who were obtained from randomly selected health districts in Japan. The participants in our study were observed for 24 years, which is a long follow-up period and increases the value of our study substantially.

Study Limitations

There are some limitations to the present study. First, 1105 participants (≈10%) were lost to follow-up. There were no significant differences between participants who were lost to follow-up and those who were included in the present study in terms of several risk factors. Therefore, the potential bias regarding the participants lost to follow-up may be negligible. However, unobserved information related to outcomes might have led participants to drop out of our study early. We cannot exclude that this might lead to a bias. Second, our study participants were limited to only Japanese men and women. Although previous studies showed that other ECG findings with proven prognostic values in the United States and Europe were also applicable in Japanese men and women,[17,20,22,30] confirmation studies in a non-Japanese population may be needed. Third, we used a single ECG at baseline. It is well recognized that single biological measurements are subject to variability, and ECG abnormalities may have changed over time. In addition, it is possible that lead placement variability affected the transition point of the V leads. This might lead to dilution and underestimation of the strength of the relative risk relations as a result of misclassification. Fourth, MC was coded by visual reading in our study. Computerized ECG analysis is reportedly superior to visual reading for better reliability[11]; however, ECG reading in the study was performed under the best standardized quality control by well-trained physicians.

Conclusions

We found a significant positive association of clockwise rotation and a significant inverse association of counterclockwise rotation with CVD mortality in men and in men and women combined, independent of confounding factors including other ECG changes.

Acknowledgments

We appreciate the members of the NIPPON DATA80 Research Group who are listed in the Appendix in the online-only Data Supplement.

Sources of Funding

This study was supported by a grant-in-aid of the Ministry of Health, Labor, and Welfare under the auspices of the Japanese Association for Cerebro-Cardiovascular Disease Control; a Research Grant for Cardiovascular Diseases (7A-2) from the Ministry of Health, Labor, and Welfare; and a Health and Labor Sciences Research Grant, Japan (Comprehensive Research on Aging and Health [H11-Chouju-046, H14-Chouju-003, H17-Chouju-012, H19-Chouju-Ippan-014] and Comprehensive Research on Life Style-Related Diseases Including Cardiovascular Diseases and Diabetes Mellitus [H22-Jyunkankitou-Seisyu-Sitei-017]).

Disclosures

None.

References

1. Einthoven W. Ueber die Form des menschlichen Electrocardiogramms. *Arch f d Ges Physiol.* 1895;60:101–123.
2. Wenckebach KF. De Analyse van den onregelmatigen Pols. III: Over eenige Vormen van Allorythmie en Bradykardie. *Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, Amsterdam.* 1898,2:1132.
3. Hay J. Bradycardia and cardiac arrhythmias produced by depression of certain functions of the heart. *Lancet.* 1906;1:138–143.
4. Cushny AR, Edmunds CW. Paroxysmal irregularity of the heart and auricular fibrillation. *Am J Med Sci.* 1907;133:66–77.
5. Mobitz W. Über die unvollständige Störung der Erregungsüberleitung zwischen Vorhof und Kammer des menschlichen Herzens. *Zeitschrift für die Gesamte Experimentelle Medizin, Berlin.* 1924;41:180–237.
6. Nicolai DF, Simons A. Zur klinik des elektrokardiogramms. *Med Klin.* 1909;5:160.
7. Pardee HEB. An electrocardiographic sign of coronary artery obstruction. *Arch Intern Med.* 1920;26:244–257.
8. Sokolow M, Lyon TP. The ventricular complex in left ventricular hypertrophy as obtained by unipolar precordial and limb leads. *Am Heart J.* 1949;37:161.
9. Sokolow M, Perloff D. The prognosis of essential hypertension treated conservatively. *Circulation.* 1961;23:697–713.
10. Kannel WB, Gordon T, Offutt D. Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram: prevalence, incidence, and mortality in the Framingham Study. *Ann Intern Med.* 1969;71:89–105.
11. The Pooling Project Research Group. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the Pooling Project. *J Chronic Dis.* 1978;31:201–306.
12. De Bacquer D, De Backer G, Kornitzer M, Blackburn H. Prognostic value of ECG findings for total, cardiovascular disease, and coronary heart disease death in men and women. *Heart.* 1998;80:570–577.
13. Caird FI, Campbell A, Jackson TF. Significance of abnormalities of electrocardiogram in old people. *Br Heart J.* 1974;36:1012–1018.
14. Möller CS, Zethelius B, Sundström J, Lind L. Persistent ischemic ECG abnormalities on repeated ECG examination have important prognostic value for cardiovascular disease beyond established risk factors: a population-based study in middle-aged men with up to 32 years of follow-up. *Heart.* 2007;93:1104–1110.
15. Rose G, Baxter PJ, Reid DD, McCartney P. Prevalence and prognosis of electrocardiographic findings in middle-aged men. *Br Heart J.* 1978;40:636–643.
16. Cullen K, Stenhouse NS, Wearne KL, Cumpston GN. Electrocardiograms and 13 year cardiovascular mortality in Busselton study. *Br Heart J.* 1982;47:209–212.
17. Higashiyama A, Hozawa A, Murakami Y, Okamura T, Watanabe M, Nakamura Y, Hayakawa T, Kadowaki T, Kadowaki T, Kita Y, Okayama A, Ueshima H. Prognostic value of Q wave for cardiovascular death in a 19-year prospective study of the Japanese general population. *J Atheroscler Thromb.* 2009;16:40–50.
18. Liao Y, Liu K, Dyer A, Schoenberger JA, Shekelle RB, Collette P, Stamler J. Sex differential in the relationship of electrocardiographic ST-T abnormalities to risk of coronary death: 11.5 year follow-up findings of the Chicago Heart Association Detection Project in Industry. *Circulation.* 1987;75:347–352.
19. Larsen CT, Dahlin J, Blackburn H, Scharling H, Appleyard M, Sigurd B, Schnohr P. Prevalence and prognosis of electrocardiographic left ventricular hypertrophy, ST segment depression and negative T wave: the Copenhagen City Heart study. *Eur Heart J.* 2002;23:315–324.
20. Rumana N, Turin TC, Miura K, Nakamura Y, Kita Y, Hayakawa T, Choudhury SR, Kadota A, Nagasawa S, Fujioshi A, Takashima N, Okamura T, Okayama A, Ueshima H. Prognostic value of ST-T abnormalities and left high R-waves with cardiovascular mortality in Japanese (24-year follow-up of NIPPON DATA80). *Am J Cardiol.* 2011;107:1718–1724.
21. Dhingra R, Pencina MJ, Wang TJ, Nam BH, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Kannel WB, D'Agostino RB Sr, Vasan RS. Electrocardiographic QRS duration and the risk of congestive heart failure: the Framingham Heart Study. *Hypertension.* 2006;47:861–867.
22. Ohsawa M, Okayama A, Okamura T, Itai K, Nakamura M, Tanno K, Kato K, Yagashi Y, Onoda T, Sakata K, Ueshima H. Mortality risk

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

attributable to atrial fibrillation in middle-aged and elderly people in the Japanese general population: nineteen-year follow-up in NIPPON DATA80. *Circ J.* 2007;71:814–819.
23. Nakamura Y, Turin TC, Rumana N, Miura K, Kita Y, Takashima N, Fujiyoshi A, Hayakawa T, Okamura T, Ueshima H. Risk factors for heart failure and coronary heart disease mortality over 24-year follow-up period in Japan: NIPPON DATA80. *CVD Prevention Control.* 2010;5: 97–103.
24. Okamura T, Kadowaki T, Hayakawa T, Kita Y, Okayama A, Ueshima H. What cause of mortality can we predict by cholesterol screening in the Japanese general population? *J Intern Med.* 2003;253:169–180.
25. NIPPON DATA80 Research Group. Risk assessment chart for death from cardiovascular disease based on a 19-year follow-up study of a Japanese representative population. *Circ J.* 2006;70:1249–1255.
26. Rose GA, Blackburn H. Cardiovascular survey methods. *Monogr Ser World Health Organ.* 1968;56:1–188.
27. Prineas RJ, Crow RS, Blackburn H. *The Minnesota Code Manual of Electrocardiographic Findings: Standards and Procedures for Measurement and Classification.* Boston, MA: Wright/PSG Inc; 1982. http://www.sph.umn.edu/epi/ecg/mncode.pdf.
28. Nakamura M, Sato S, Shimamoto T. Improvement in Japanese clinical laboratory measurements of total cholesterol and HDL-cholesterol by the US Cholesterol Reference Method Laboratory Network. *J Atheroscler Thromb.* 2003;10:145–153.
29. Iso H, Imano H, Kitamura A, Sato S, Naito Y, Tanigawa T, Ohira T, Yamagishi K, Iida M, Shimamoto T. Type 2 diabetes and risk of non-embolic ischaemic stroke in Japanese men and women. *Diabetologia.* 2004;47:2137–2144.
30. Horibe H, Kasagi F, Kagaya M, Matsutani Y, Okayama A, Ueshima H. A nineteen-year cohort study on the relationship of electrocardiographic findings to all cause mortality among subjects in the national survey on circulatory disorders, NIPPON DATA80. *J Epidemiol.* 2005;15:125–134.
31. de Bruyne MC, Kors JA, Visentin S, van Herpen G, Hoes AW, Grobbee DE, van Bemmel JH. Reproducibility of computerized ECG measurements and coding in a nonhospitalized elderly population. *J Electrocardiol.* 1998;31: 189–195.
32. Rajala S, Haavisto M, Kaltiala K, Mattila K. Electrocardiographic findings and 5-year cardiovascular mortality in very old people. *Ann Clin Res.* 1987;19:324–327.
33. Tahara Y, Mizuno H, Ono A, Ishikawa K. Evaluation of the electrocardiographic transitional zone by cardiac computed tomography. *J Electrocardiol.* 1991;24:239–245.
34. James FW, Kaplan S. The normal electrocardiogram in the infant and child. *Cardiovasc Clin.* 1973;5:294–311.
35. Hiss RG, Lamb LE, Allen M. Electrocardiographic findings in 67 375 asymptomatic subjects, X: normal values. *Am J Cardiol.* 1960;6:200.
36. Yoshinaga T, Ikeda S, Shikuwa M, Miyahara Y, Kohno S. Relationship between ECG findings and pulmonary artery pressure in patients with acute massive pulmonary thromboembolism. *Circ J.* 2003;67:229–232.
37. Stein PD, Dalen JI, McIntyre KM, Sasahara AA, Wenger NK, Willis PW. The electrocardiogram in acute pulmonary embolism. *Prog Cardiovasc Dis.* 1975;17:247–257.
38. Hasegawa K, Sawayama T, Ibukiyama C, Muramatsu J, Ozawa Y, Kanemoto N, Hiroki T, Kawai N. Early diagnosis and management of acute pulmonary embolism: clinical evaluation those of 225 cases [in Japanese with English abstract]. *Kokyu to Junkan.* 1993;41:773–777.
39. Frye DM, Sahn AS. Acute electrocardiographic changes after pneumonectomy. *South Med J.* 2000;93:977–981.
40. Oki I, Nakamura Y, Okamura T, Okayama A, Hayakawa T, Kita Y, Ueshima H. Body mass index and risk of stroke mortality among a random sample of Japanese adults: 19-year follow-up of NIPPON DATA80. *Cerebrovasc Dis.* 2006;22:409–415.
41. Mmar KA, Kors JA, Yawn BP, Rodeheffer RJ. Defining unrecognized myocardial infarction: a call for standardized electrocardiographic diagnostic criteria. *Am Heart J.* 2004;148:277–284.

-211-

CLINICAL PERSPECTIVE

The transitional zone is related to the direction of the QRS axis in the horizontal plane. Although clockwise rotation and counterclockwise rotation are distinct findings on ECG, their clinical values have not been well studied, and their prognostic significance has been studied rarely. In this study, we assessed the independent prognostic values of clockwise rotation and counterclockwise rotation for mortality due to cardiovascular disease and its subtypes in a large cohort of participants obtained from randomly selected health districts in Japan. We found a significant positive association of clockwise rotation and a significant inverse association of counterclockwise rotation with cardiovascular disease mortality in men and in men and women combined, independent of confounding factors including other ECG changes. Although the mechanisms for these associations are not clear at present, in clinical practice, we may need to pay attention to these ECG changes that have been ignored for more than a century.

Go to http://cme.ahajournals.org to take the CME quiz for this article.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Appendix

The NIPPON DATA80 Research Group

Chairperson: Hirotsugu Ueshima (Department of Health Science, Shiga University of Medical Science, Otsu, Shiga).

Co-Chairperson: Akira Okayama (The First Institute for Health Promotion and Health Care, Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo).

Research members: Shigeyuki Saitoh (Department of 2nd Internal Medicine, Sapporo Medical University, Sapporo, Hokkaido), Kiyomi Sakata (Department of Hygiene and Preventive Medicine, Iwate Medical University, Morioka, Iwate), Atsushi Hozawa (Department of Public Health, Yamagata University Graduate School of Medicine, Yamagata), Takehito Hayakawa (Department of Hygiene and Preventive Medicine, Fukushima Medical University, Fukushima), Yosikazu Nakamura (Department of Public Health, Jichi Medical University, Shimotsuke, Tochigi), Yasuhiro Matsumura (Faculty of Healthcare, Kiryu University, Midori City, Gunma), Nobuo Nishi (Project for the National Health and Nutrition Survey, National Institute of Health and Nutrition, Tokyo), Nagako Okuda (The First Institute for Health Promotion and Health Care, Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo), Toru Izumi (Faculty of Medicine, Kitasato

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

University, Sagamihara, Kanagawa), Toshiyuki Ojima (Department of Community Health and Preventive Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Shizuoka), Koji Tamakoshi (Department of Public Health and Health Information Dynamics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi), Hideaki Nakagawa (Department of Epidemiology and Public Health, Kanazawa Medical University, Kanazawa, Ishikawa), Katsuyuki Miura, Takayoshi Ohkubo, Yoshikuni Kita, Aya Kadota (Department of Health Science, Shiga University of Medical Science, Otsu, Shiga), Yasuyuki Nakamura (Cardiovascular Epidemiology, Kyoto Women's University, Kyoto), Katsushi Yoshita (Osaka City University Graduate School of human life science, Osaka), Kazunori Kodama, Fumiyoshi Kasagi (Radiation Effects Research Foundation, Hiroshima), and Yutaka Kiyohara (Department of Environmental Medicine, Kyushu University, Fukuoka).

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Circulation
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart Association.

Nationwide Improvements in Survival From Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan
Tetsuhisa Kitamura, Taku Iwami, Takashi Kawamura, Masahiko Nitta, Ken Nagao, Hiroshi Nonogi, Naohiro Yonemoto and Takeshi Kimura
for the Japanese Circulation Society Resuscitation Science Study Group

Circulation. 2012;126:2834-2843; originally published online October 3, 2012;
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.109496
Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231
Copyright © 2012 American Heart Association, Inc. All rights reserved.
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://circ.ahajournals.org/content/126/24/2834

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Circulation* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
http://www.lww.com/reprints

Subscriptions: Information about subscribing to *Circulation* is online at:
http://circ.ahajournals.org//subscriptions/

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Nationwide Improvements in Survival From Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan

Tetsuhisa Kitamura, MD, MSc, DrPH; Taku Iwami, MD, MPH, PhD; Takashi Kawamura, MD, PhD; Masahiko Nitta, MD, PhD; Ken Nagao, MD, PhD; Hiroshi Nonogi, MD, PhD; Naohiro Yonemoto, DrPH; Takeshi Kimura, MD, PhD; for the Japanese Circulation Society Resuscitation Science Study Group

Background—Little is known about the nationwide trend in the survival of out-of-hospital cardiac arrest (OHCA) in Japan and the differences in incidence and survival by age group and origin of arrest.

Methods and Results—A nationwide, prospective, population-based observation covering the whole population of Japan and involving consecutive OHCA patients with resuscitation attempts was conducted from January 2005 to December 2009. The main outcome measure was 1-month survival with favorable neurological outcome. The nationwide trends in OHCA incidence and outcome by age and origin of arrest were assessed. Multiple logistic regression analysis for bystander-witnessed OHCA was used to adjust for factors that were potentially associated with favorable neurological outcome. During 5 years, 547 153 overall OHCAs and 169 360 bystander-witnessed OHCAs were enrolled. The annual incidence significantly increased among overall OHCAs and bystander-witnessed OHCAs. Neurologically favorable survival significantly increased from 1.6% (1676/102 737) in 2005 to 2.8% (3280/115 250) in 2009 ($P<0.001$), from 2.1% (638/30 556) to 4.3% (1558/36 361) ($P<0.001$), and from 9.8% (437/4461) to 20.6% (1215/5906) ($P<0.001$) among overall OHCA, bystander-witnessed OHCA, and bystander-witnessed ventricular fibrillation OHCA, respectively. Public-access automated external defibrillator use, either bystander-initiated chest compression–only cardiopulmonary resuscitation or conventional cardiopulmonary resuscitation, and earlier emergency medical services response time were associated with a better neurological outcome. Favorable neurological outcome among adult OHCA subjects significantly improved, but the outcome among younger children and very elderly subjects did not improve and was poor irrespective of origin of OHCA.

Conclusions—Nationwide improvements of favorable neurological outcome from OHCA were observed in Japan and differed by age group and origin of OHCA. (***Circulation.* 2012;126:2834-2843.**)

Key Words: cardiac arrest ■ cardiopulmonary resuscitation ■ death, sudden ■ epidemiology

Sudden cardiac arrest is one of the leading causes of death and has been an important public health problem in the industrialized world.[1,2] Approximately 300 000 cardiac arrests in the United States and 100 000 in Japan occur annually in out-of-hospital settings, and survival from out-of-hospital cardiac arrest (OHCA) is still low.[3,4]

Clinical Perspective on p 2843

Recently, after improvements in the chain of survival, including the development of a public-access defibrillation system and revisions to cardiopulmonary resuscitation (CPR) guidelines, survival from OHCA has been improving in some communities.[5–10] However, the temporal improvement of OHCA survival after dissemination of public-access defibrillation and CPR and changes of CPR guidelines was reported on the basis of data in relatively small geographic areas, and little is known about the nationwide improvement in survival from OHCA. In addition, most studies evaluated overall incidence and survival among adult OHCA patients with a cardiac origin, and the differences by age group and origin of cardiac arrest are poorly understood.

In Japan, the Fire and Disaster Management Agency[4] launched a prospective, nationwide, population-based cohort study of OHCA patients since January 2005 and collected ≈540 000 overall OHCAs and 170 000 bystander-witnessed OHCAs from January 1, 2005, to December 31, 2009. The

Received April 2, 2012; accepted September 13, 2012.
From the Kyoto University Health Service, Kyoto (T. Kitamura, T.I., T. Kawamura); Department of Emergency Medicine, Osaka Medical College, Takatsuki (M.N.); Department of Cardiology, Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care, Nihon University Surugadai Hospital, Tokyo (K.N.); Division of Cardiovascular Care Unit, Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka (H.N.); Department of Epidemiology and Biostatistics, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo (N.Y.); and Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto (T. Kimura), Japan.
Correspondence to Taku Iwami, MD, PhD, Kyoto University Health Service, Yoshida Honmachi, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan. E-mail iwamit@e-mail.jp
© 2012 American Heart Association, Inc.
Circulation is available at http://circ.ahajournals.org
DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.109496

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

資料30

purpose of this study was to assess the nationwide trend in the incidence and outcome of these OHCA patients in Japan by using the national Utstein-style registry. Furthermore, we assessed the trends in OHCA after dividing bystander-witnessed OHCA patients by age group and origin of OHCA.

Methods

Study Design and Setting

The All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency is a prospective, nationwide, population-based registry system of OHCA based on the Utstein style.[11,12] This observational study registered all patients with OHCA of cardiac and noncardiac origins in whom resuscitation was attempted and who were then transported to medical institutions from January 1, 2005, through December 31, 2009. The study protocol for analyses was approved by the Ethics Committee of the National Cerebral and Cardiovascular Center.

Cardiac arrest was defined as the cessation of cardiac mechanical activity as confirmed by the absence of signs of circulation.[11,12] The arrest was presumed to be of cardiac origin unless it was caused by cerebrovascular diseases; respiratory diseases; malignant tumors; external causes including trauma, hanging, drowning, drug overdose, and asphyxia; or any other noncardiac causes. These diagnoses of cardiac or noncardiac origin were clinically determined by the physicians in charge in collaboration with the emergency medical services (EMS) personnel.

EMS Systems in Japan

Japan has an area of ≈378 000 km^2, including both urban and rural communities, and its population was 127 million inhabitants in 2009. There were 803 fire stations with dispatch centers in 2009, and their EMS systems are almost uniform.[4] The free emergency telephone number 119 is used to call for an ambulance from anywhere in Japan. Emergency services are provided 24 hours every day. An ambulance is dispatched from the nearest fire station when called. Each ambulance has 3 emergency providers including at least 1 emergency life-saving technician, a highly trained prehospital emergency care provider. Emergency life-saving technicians were allowed to insert an intravenous line and an adjunct airway and to use semiautomated external defibrillators for OHCA patients. Specially trained emergency life-saving technicians have been permitted to insert tracheal tubes and to administer intravenous epinephrine since July 2006. Citizen use of an automated external defibrillator (AED) has been legally permitted since July 2004 in Japan. EMS providers were not permitted to terminate resuscitation in the field. Therefore, most patients with OHCA who were treated by EMS personnel were transported to a hospital and registered in this All-Japan Utstein Registry, excluding those with decapitation, incineration, decomposition, rigor mortis, or dependent cyanosis.

All EMS providers had been performing and teaching CPR according to the Japanese CPR guidelines based on the 2000 American Heart Association guidelines until September 2006 and the 2005 guidelines thereafter.[13–16] In Japan, ≈1.6 million citizens per year participated in the conventional CPR training programs, consisting of chest compressions, mouth-to-mouth ventilation, and AED use, offered mainly by local fire departments.[4] Chest compression–only CPR had not been taught as the recommended technique in any resuscitation training program during the study period, but it was first recommended as acceptable for those who were not able to or did not wish to perform rescue breathing in the 2005 CPR guidelines.[13] The emergency telephone dispatchers in Japan are basically trained and ordered to give CPR instructions with conventional CPR before EMS arrival. However, it is permitted to encourage bystanders to provide chest compression–only CPR if it is difficult for them to administer rescue breathing.[14] Details of the EMS system in Japan were described previously.[5]

Data Collection and Quality Control

Data were prospectively collected with the use of a form based on the Utstein-style reporting guidelines for OHCA, including age, sex, origin of cardiac arrest, type of bystander witness status, first documented rhythm, time course of resuscitation, type of bystander-initiated CPR, public-access AEDs, type of advanced airway management, intravenous fluids, epinephrine, and year, as well as prehospital return of spontaneous circulation, 1-month survival, and neurological status 1 month after the event. A series of EMS times of call receipt, vehicle arrival at the scene, contact with patients, initiation of CPR, defibrillation by EMS, and hospital arrival were recorded with the clock of each EMS system. When bystanders delivered shocks using public-access AEDs, the patient's first recorded rhythm was regarded as ventricular fibrillation (VF). Both bystander-initiated chest compression–only and conventional CPR with compressions and rescue breathing were considered bystander CPR. The times of collapse, initiation of public-access AED shocks, and initiation and type of bystander CPR were obtained by EMS interview with the bystander before EMS personnel left the scene.

All survivors were evaluated 1 month after the event by the EMS personnel in charge. Neurological outcome was determined by a follow-up interview 1 month after successful resuscitation with the use of the cerebral performance category scale, as follows: category 1, good cerebral performance; category 2, moderate cerebral disability; category 3, severe cerebral disability; category 4, coma or vegetative state; and category 5, death.[11,12] The primary outcome measure was 1-month survival with favorable neurological outcome, defined as cerebral performance category 1 or 2.[11,12]

The data form was completed by the EMS personnel in cooperation with the physicians in charge of the patients, and the data were integrated into the registry system on the Fire and Disaster Management Agency database server, then logically checked by the computer system. If the data form was incomplete, the Fire and Disaster Management Agency returned it to the respective fire station for data completion.

Statistical Analysis

First, we assessed the trends in the incidence and outcome of overall OHCA in Japan. Next, analyses were conducted for all bystander-witnessed OHCA patients with cardiac and noncardiac origins in whom resuscitation was attempted. We assessed the trend in the proportion of favorable neurological outcome in overall bystander-witnessed OHCA and also according to age group and origin of cardiac arrest. On the basis of the preceding studies,[17–19] age was divided into the following groups: <1 year and 1 to 4, 5 to 12, 13 to 17, 18 to 35, 36 to 64, 65 to 79, 80 to 90, and ≥90 years. The annual incidences per 100 000 persons were calculated with the use of estimated Japanese population data in each year,[20] and their trends were calculated with Poisson regression models. Trends in categorical values and numeric values were tested with logistic regression models and linear tests for trend, respectively. Multivariable analysis for bystander-witnessed OHCA was used to assess factors associated with 1-month survival with favorable neurological outcome with the use of logistic regression models; odds ratios (ORs) and their 95% confidence intervals (CIs) were calculated. Potential confounding factors based on biological plausibility and previous studies were included in the multivariable analysis. These variables included age (<1 year and 1–4, 5–12, 13–17, 18–35, 36–64, 65–79, 80–90, or ≥90 years); sex (male, female); cause of cardiac arrest (cardiac, noncardiac); type of bystander witness status (family members, others); first documented rhythm (VF, non-VF); public-access AED use (yes, no); type of bystander-initiated CPR (compression-only, conventional, or none); intravenous fluids and epinephrine administration (yes, no); advanced airway management (yes, no); EMS response time (from call to contact with patients by EMS); and year of arrest (in 1-year increments). All statistical analyses were performed with the use of SPSS statistical package version 16.0J (SPSS, Inc, Chicago, IL). All tests were 2-tailed, and P values of <0.05 were considered statistically significant.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

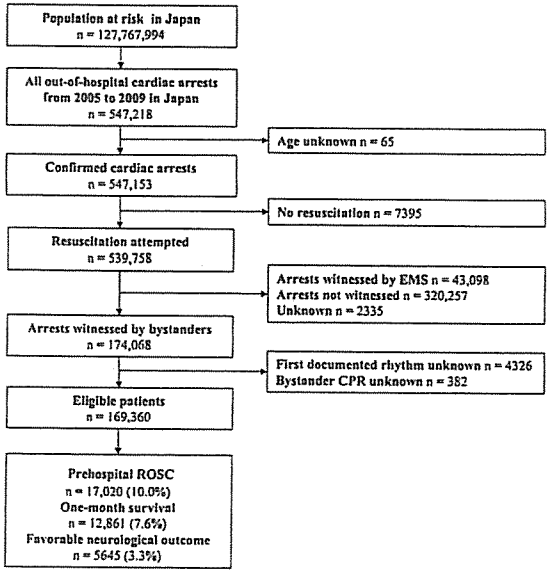


Figure 1. Study flow of out-of-hospital cardiac arrest patients with an abridged Utstein template from January 1, 2005, to December 31, 2009. EMS indicates emergency medical services; CPR, cardiopulmonary resuscitation; and ROSC, return of spontaneous circulation.

The authors had full access to and take full responsibility for the integrity of the data. All authors have read and agree to the manuscript as written.

Results

During these 5 years, a total of 547 153 OHCA patients were confirmed, excluding 65 without information on age (Figure 1). Of 539 758 OHCA patients with resuscitation attempts, 174 068 were witnessed by bystanders, 43 098 were witnessed by EMS, 320 257 were not witnessed, and 2335 had unknown witness status. With the exclusion of patients without information on first documented rhythm (n=4326) and bystander CPR (n=382), 169 360 patients were eligible for our analyses. The proportion of prehospital return of spontaneous circulation among these patients was 10.0%, 1-month survival was 7.6%, and 1-month survival with favorable neurological outcome was 3.3%.

Patient and EMS characteristics of 169 360 patients with bystander-witnessed OHCAs in Japan are noted in Table 1. The proportion of OHCAs that were of cardiac origin was 56.1%. Male patients accounted for 61.4%. Mean age was 72.3 years, and the proportion of OHCA patients aged <1 year and 1 to 4, 5 to 12, 13 to 17, 18 to 35, 36 to 64, 65 to 79, 80 to 89, and ≥90 years was 0.4%, 0.3%, 0.3%, 0.4%, 3.4%, 21.2%, 33.8%, 28.1%, and 12.2%, respectively. OHCA patients were more likely to be witnessed by a family member (64.4%), followed by friend, colleague, passerby, and other. VF as first documented rhythm was 15.4%. The proportions of OHCA patients who were delivered shocks by public-access AEDs and received bystander-initiated CPR were 1.0% and 42.8% (25.8% chest compression–only CPR and 17.0% conventional CPR), respectively. Mean EMS response time and hospital arrival time were 8.6 and 31.9 minutes, respectively.

The annual incidence rates per 100 000 persons were calculated over time, and the overall incidence rate of 547 153 confirmed OHCAs increased from 80.7 in 2005 to 90.4 in 2009 (P<0.001). The incidence rate of overall bystander-witnessed OHCAs significantly increased from 24.0 in 2005 to 28.5 in 2009 (from 13.6 to 16.0 for those of cardiac origin and from 10.4 to 12.5 for those of noncardiac origin) (Table 2). The incidence rate did not decrease regardless of age and origin except for OHCA of noncardiac origin among younger children. The incidence rate increased to a great extent among elderly OHCA patients with both cardiac origin aged 80 to 89 years (from 85.4 in 2005 to 91.9 in 2009; P<0.001) and ≥90 years (from 173.8 in 2005 to 196.7 in 2009; P<0.001) and noncardiac origin aged 80 to 89 years (from 66.8 in 2005 to 74.2 in 2009; P<0.001) and ≥90 years (from 136.9 in 2005 to 159.4 in 2009; P<0.001).

Table 3 shows temporal trends in patient and EMS characteristics of bystander-witnessed OHCAs during the study period. VF as the first documented rhythm significantly increased from 14.6% to 16.2%. The proportion of those who were shocked with public-access AEDs (from 0.2% in 2005 to 1.8% in 2009), received bystander-initiated CPR (from 36.6% to 48.4%), received epinephrine administration (from 0.0% to 15.5%), or received endotracheal intubation (from 3.4% to 9.5%) also increased significantly during the study period. Mean EMS response time (from 8.5 minutes in 2005 to 8.9 minutes in 2009) and hospital arrival time (from 30.9 minutes in 2005 to 32.6 minutes in 2009) were prolonged significantly.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Table 1. Patient and EMS Characteristics of Patients With Bystander-Witnessed Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan

	Total (n=169 360)
Year, n (%)	
2005	30 556 (18.0)
2006	32 951 (19.5)
2007	33 728 (19.9)
2008	35 764 (21.1)
2009	36 361 (21.5)
Origin, n (%)	
Cardiac	95 005 (56.1)
Noncardiac	74 355 (43.9)
External cause	28 988 (17.1)
Respiratory disease	11 631 (6.9)
Cerebrovascular disease	7710 (4.6)
Malignant tumor	6682 (3.9)
Other	19 344 (11.4)
Male, n (%)	103 978 (61.4)
Age, y, mean (SD)	72.3 (17.5)
Age group, n (%)	
<1 y	616 (0.4)
1–4 y	469 (0.3)
5–12 y	458 (0.3)
13–17 y	661 (0.4)
18–35 y	5685 (3.4)
36–64 y	35 947 (21.2)
65–79 y	57 236 (33.8)
80–89 y	47 658 (28.1)
≥90 y	20 630 (12.2)
Type of bystander witness status, n (%)	
Family member	109 008 (64.4)
Friend	7183 (4.2)
Colleague	5804 (3.4)
Passerby	8720 (5.1)
Other	38 645 (22.8)
First documented rhythm, n (%)	
Ventricular fibrillation	26 086 (15.4)
Pulseless electric activity	56 286 (33.2)
Asystole	86 988 (51.4)
Shock by public-access AEDs, n (%)	1699 (1.0)
Type of bystander-initiated CPR, n (%)	
None	96 781 (57.1)
Chest compression–only CPR	43 769 (25.8)
Conventional CPR with rescue breathing	28 810 (17.0)
Intravenous fluid, n (%)	39 274 (23.2)
Epinephrine, n (%)	13 281 (7.8)
Advanced airway management, n (%)	
None	88 161 (52.1)
Laryngeal mask airway	15 620 (9.2)
Esophageal obturator airway	52 512 (31.0)
Endotracheal intubation	13 067 (7.7)
EMS response time (call to contact with patients), min, mean (SD)	8.6 (4.2)
Hospital arrival time (call to hospital arrival), min, mean (SD)	31.9 (11.8)

EMS indicates emergency medical services; AED, automated external defibrillator; and CPR, cardiopulmonary resuscitation.

Among 547 153 overall OHCA patients, 1-month survival with favorable neurological outcome increased from 1.6% (1676/102 737) in 2005 to 2.8% (3280/115 250) in 2009 ($P<0.001$). Figure 2 shows temporal trends in 1-month survival with favorable neurological outcome among all bystander-witnessed arrests and VF arrests. The proportion of those with neurologically favorable outcomes increased significantly from 2.1% (638/30 556) in 2005 to 4.3% (1558/36 361) in 2009 (adjusted OR for 1-year increment, 1.21; 95% CI, 1.18–1.21) (Figure 2A). With regard to bystander-witnessed VF arrests, the proportion increased significantly from 9.8% (437/4461) in 2005 to 20.6% (1215/5906) in 2009 (adjusted OR for 1-year increment, 1.28; 95% CI, 1.25–1.31) (Figure 2B). In non-VF arrests, the proportion increased significantly from 0.8% (201/26 095) in 2005 to 1.1% (343/30 455) in 2009 (adjusted OR for 1-year increment, 1.13; 95% CI, 1.08–1.17).

In the multivariate analysis (Table 4), compared with older adults aged 36 to 64 years, adolescents aged 13 to 17 years had a significantly better neurological outcome (adjusted OR, 2.03; 95% CI, 1.54–2.66). The elderly groups aged ≥65 years had a significantly worse outcome than the older adult group. VF as first documented rhythm (adjusted OR, 10.06; 95% CI, 9.35–10.82), public-access AED use (adjusted OR, 2.07; 95% CI, 1.82–2.35), either bystander-initiated chest compression–only CPR (adjusted OR, 1.42; 95% CI, 1.33–1.52) or conventional CPR (adjusted OR, 1.55; 95% CI, 1.43–1.68), and earlier EMS response time (adjusted OR for 1-minute increase, 0.91; 95% CI, 0.91–0.92) were associated with a better neurological outcome. Epinephrine administration (adjusted OR, 0.48; 95% CI, 0.41–0.56) and advanced airway management (adjusted OR, 0.44; 95% CI, 0.41–0.47) were associated with a worse outcome.

The temporal trends in favorable neurological outcome of bystander-witnessed OHCAs by age group and origin of arrest are shown in Table 5. Among OHCA patients with cardiac origin, 1-month survival with favorable neurological outcome significantly increased among adults aged 18 to 35 years (adjusted OR for 1-year increment, 1.37; 95% CI, 1.23–1.52), 36 to 64 years (adjusted OR, 1.19; 95% CI, 1.15–1.24), 65 to 79 years (adjusted OR, 1.26; 95% CI, 1.21–1.31), and 80 to 89 years (adjusted OR, 1.15; 95% CI, 1.06–1.25) and tended to increase among children aged <1 year and 1 to 4, 5 to 12, and 13 to 17 years, whereas it did not change among the elderly aged ≥90 years. Among those with noncardiac origin, the trend was almost the same as for those with cardiac origin.

Discussion

From this large, prospective nationwide registry of OHCA, we demonstrated that 1-month survival with favorable neurological outcome from OHCA significantly increased during the study period in Japan. In addition, we demonstrated that the temporal changes in incidences and outcomes were different by age group and origin of OHCA. Although the preceding studies showed incidences and outcomes of OHCA, little attention was paid to the differences in patient age and OHCA origin. Our nationwide registry of OHCA covering 127 million enabled us to assess the differences among these patients and provided helpful information to establish age- and origin-specific approaches.

This study successfully demonstrated improved outcomes among OHCA patients in Japan. Although some previous community-based studies[6,7] showed improvements in outcomes after OHCA, they covered small areas. Few studies have investigated a nationwide improvement in survival from OHCA. Japan has a uniform prehospital EMS protocol and has improved the EMS system, with its population-based OHCA registry covering the whole country.[4–6] In the Swedish national registry of OHCA, 1-month survival from bystander-witnessed OHCA increased from 5.8% to 8.2%

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Table 2. Incidence Rates of Bystander-Witnessed Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan Over Time

	Incidence per 100 000 Persons					
	2005	2006	2007	2008	2009	P for Trend
Overall	24.0	25.8	26.4	28.0	28.5	<0.001
Cardiac origin	13.6	14.4	14.7	15.7	16.0	<0.001
Age <1 y	3.6	1.8	6.5	10.2	2.8	0.001
Age 1–4 y	0.7	0.6	0.5	0.5	0.5	0.417
Age 5–12 y	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.901
Age 13–17 y	0.7	0.7	0.9	0.8	0.9	0.180
Age 18–35 y	1.2	1.4	1.5	1.3	1.4	0.281
Age 36–64 y	8.2	8.2	8.2	8.6	8.5	0.017
Age 65–79 y	32.9	34.0	32.3	33.4	33.0	0.724
Age 80–89 y	85.4	87.8	87.1	92.5	91.9	<0.001
Age ≥90 y	173.8	181.7	185.8	193.0	196.7	<0.001
Noncardiac origin	10.4	11.4	11.7	12.3	12.5	<0.001
Age <1 y	4.7	4.8	10.1	7.6	4.6	0.282
Age 1–4 y	1.7	1.9	1.6	1.3	1.3	0.028
Age 5–12 y	0.9	0.4	0.8	0.7	0.8	0.721
Age 13–17 y	1.2	1.5	1.3	1.3	1.6	0.227
Age 18–35 y	2.4	2.7	2.5	2.6	2.6	0.561
Age 36–64 y	5.6	6.0	6.1	6.0	6.0	0.005
Age 65–79 y	22.8	23.4	23.2	24.0	23.5	0.103
Age 80–89 y	66.8	72.2	72.1	73.8	74.2	<0.001
Age ≥90 y	136.9	150.9	154.9	161.2	159.4	<0.001

Table 3. Patient and EMS Characteristics of Patients With Bystander-Witnessed Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan Over Time

	2005 (n=30 556)	2006 (n=32 951)	2007 (n=33 728)	2008 (n=35 764)	2009 (n=36 361)	P for Trend
Cardiac origin, n (%)	17 344 (56.8)	18 446 (56.0)	18 728 (55.5)	20 088 (56.2)	20 399 (56.1)	0.238
Age, y, mean (SD)	71.4 (17.6)	71.9 (17.4)	72.1 (17.9)	72.7 (17.6)	73.2 (17.2)	<0.001
Male, n (%)	19 082 (62.4)	20 406 (61.9)	20 642 (61.2)	21 813 (61.0)	22 035 (60.6)	<0.001
Arrests witnessed by non–family members, n (%)	9968 (32.6)	11 274 (34.2)	12 114 (35.9)	13 400 (37.5)	13 596 (37.4)	<0.001
Ventricular fibrillation, n (%)	4461 (14.6)	5008 (15.2)	5134 (15.2)	5577 (15.6)	5905 (16.2)	<0.001
Shocks by public-access AEDs, n (%)	55 (0.2)	161 (0.5)	317 (0.9)	494 (1.4)	672 (1.8)	<0.001
Bystander-initiated CPR, n (%)	11 172 (36.6)	12 972 (39.3)	14 664 (43.5)	16 169 (45.2)	17 602 (48.4)	<0.001
Chest compression–only CPR	5314 (17.4)	6672 (20.2)	8725 (25.9)	10 680 (29.9)	12 378 (34.0)	
Conventional CPR with rescue breathing	5858 (19.2)	6300 (19.1)	5939 (17.6)	5489 (15.3)	5224 (14.4)	
Intravenous fluid, n (%)	3343 (10.9)	6213 (18.9)	8402 (24.9)	10 090 (28.2)	11 226 (30.9)	<0.001
Epinephrine, n (%)	0 (0.0)	789 (2.4)	2622 (7.8)	4233 (11.8)	5637 (15.5)	<0.001
Endotracheal intubation, n (%)	1037 (3.4)	2396 (7.3)	2919 (8.7)	3249 (9.1)	3466 (9.5)	<0.001
EMS response time (call to contact with patients), min, mean (SD)	8.5 (4.3)	8.5 (4.3)	8.5 (4.1)	8.7 (4.1)	8.9 (4.2)	<0.001
Hospital arrival time (call to hospital arrival), min, mean (SD)	30.9 (11.7)	31.7 (11.8)	31.9 (11.7)	32.1 (11.9)	32.6 (11.8)	<0.001

EMS indicates emergency medical services; AED, automated external defibrillator; and CPR, cardiopulmonary resuscitation.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

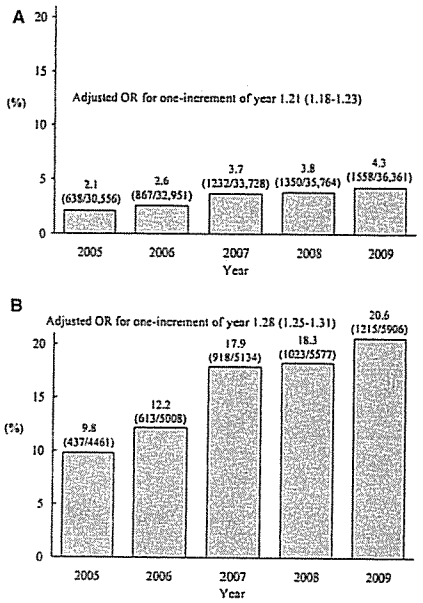


Figure 2. Temporal trend in the proportion of 1-month survival with favorable neurological outcome in all bystander-witnessed arrests (A) and ventricular fibrillation arrests (B) during the study period. Odds ratios (ORs) were adjusted for age, sex, cause of cardiac arrest, type of bystander-witnessed status, first documented rhythm, public-access automated external defibrillator use, type of bystander-initiated cardiopulmonary resuscitation, intravenous fluids and epinephrine, advanced airway management, and emergency medical services response time.

during 14-year observation, although it was not significant.[8] This study showing a 2-fold increment of favorable neurological outcome from OHCA during only a 5-year study provides considerable helpful information for other countries and areas.

Various factors are associated with improving outcomes after bystander-witnessed OHCA. The multivariate analysis of this study, which clearly demonstrates the effectiveness of bystander CPR regardless of CPR type and public-access AEDs, suggests that the increment of CPR and public-access AED use by bystanders would be the most important factors that resulted in this remarkable improvement. Japan had a 2-fold increase of bystander-initiated CPR during the last 10 years,[4,6,21] and public-access AEDs have been widely developed.[5,22] The recent increase of bystander CPR is due in part to the change in CPR guidelines that accept chest compression–only CPR.[9,10,21] This study demonstrating both nationwide improvement in survival after OHCA and the effectiveness of either chest compression–only CPR or conventional CPR also reinforces the importance of systematic and strategic dissemination of CPR by the use of chest compression–only CPR to increase survival after OHCA.

The proportion of advanced life support (ALS) measures by EMS personnel, such as epinephrine administration and endotracheal intubation, also increased during the study period. However, unlike basic life support provided by lay rescuers, ALS measures were not associated with better outcome. Indeed, they seemed to be associated with a worse outcome, as some previous observational studies have suggested.[23,24] However, importantly, we consider that there should be an inversion phenomenon of cause and effect, and it would be difficult to assess the effect of ALS measures in this observational study because EMS personnel in Japan could provide ALS measures only for OHCA patients who did not respond to basic life support. Recently, some studies suggested that earlier epinephrine administration and earlier endotracheal intubation contributed to improving outcomes after OHCA.[25,26] Further elaborate studies that consider the timing of the procedure or the patient's rhythm are needed to confirm the effect of ALS measures.

Our study underscored the nationwide improvement in survival from OHCA over the short term in Japan, but it was still low. To further improve survival from OHCA, the dissemination of CPR training (especially chest compression–only CPR training), including public-access AED use for the general public, should be particularly encouraged, as the new 2010 International Liaison Committee on Resuscitation consensus and the new national CPR guidelines emphasized,[1,2,27] because the proportions of bystander CPR and public-access AED use were only 50% and 1%, respectively. The Japan Circulation Society also started to recommend chest compression–only CPR training for lay rescuers to increase CPR and AED use since 2010.[28]

During the study period, the incidence of either overall OHCA or bystander-witnessed OHCA increased gradually, but the change was different by age group. Although the incidence of pediatric and adult OHCAs remained almost stable, the incidence of OHCA in very elderly subjects increased to a great extent. Although the reasons for the increment in OHCA incidence were unclear, the rapid aging of society might be one of the possible explanations for this phenomenon. In fact, the proportion of elderly population in Japan increased from 20.2% in 2005 to 22.7% in 2009 (an increment of ≈3 million elderly).[29] In addition, the increase of witnessed arrests of the elderly might be due to the change in social conditions, such as more elderly subjects starting to live in care facilities where they are more likely to be witnessed.

Although some reports demonstrated a reduction in the incidence of cardiovascular events, including sudden cardiac death, in prehospital settings in areas where primary and secondary preventions worked effectively,[30–31] the trends in OHCA incidence varied by community.[32–34] In this study, OHCA incidence did not decrease regardless of age and origin except for OHCA of noncardiac origin in younger children. Further efforts to prevent sudden cardiac arrest are needed, as the new CPR guidelines recommended,[1,2,27] and the preventive approach and evaluation should be conducted on the basis of age and origin.

Furthermore, the poor outcome without improvement among very elderly patients was an important issue. The

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Table 4. Factors Associated With 1-Month Survival With Favorable Neurological Outcome After Bystander-Witnessed Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan

	Survival		OR			
	%	No./Total No.	Crude	95% CI	Adjusted	95% CI
Age group						
<1 y	4.4	27/616	0.58	0.40–0.86	1.11	0.73–1.69
1–4 y	1.9	9/469	0.25	0.13–0.48	0.79	0.40–1.56
5–12 y	6.8	31/458	0.93	0.64–1.34	1.43	0.94–2.18
13–17 y	13.9	92/661	2.05	1.65–2.58	2.03	1.54–2.66
18–35 y	6.4	361/5685	0.86	0.77–0.97	1.12	0.98–1.27
36–64 y	7.3	2615/35 947	Reference		Reference	
65–79 y	3.3	1871/57 236	0.43	0.41–0.46	0.65	0.61–0.69
80–89 y	1.1	538/47 658	0.15	0.13–0.16	0.31	0.28–0.34
≥90 y	0.5	101/20 630	0.06	0.05–0.08	0.15	0.12–0.19
Origin						
Cardiac cause	5.0	4725/95 005	Reference		Reference	
Noncardiac cause	1.2	920/74 355	0.24	0.22–0.26	0.61	0.56–0.66
Gender						
Male	4.1	4292/103 978	Reference		Reference	
Female	2.1	1353/65 382	0.49	0.46–0.52	1.07	1.00–1.15
Type of bystander-witnessed status						
Family member	2.6	2806/109 008	Reference		Reference	
Other	4.7	2839/60 352	1.87	1.77–1.97	1.19	1.12–1.27
First documented rhythm						
VF	16.1	4206/26 086	18.95	17.82–20.15	10.06	9.35–10.82
Non-VF	1.0	1439/143 274	Reference		Reference	
Public-access AEDs						
No	3.0	5112/167 661	Reference		Reference	
Yes	31.4	533/1699	14.54	13.07–16.16	2.07	1.82–2.35
Type of bystander-initiated CPR						
None	2.5	2438/96 781	Reference		Reference	
Chest compression–only CPR	4.2	1837/43 769	1.70	1.59–1.80	1.42	1.33–1.52
Conventional CPR with rescue breathing	4.8	1370/28 810	1.93	1.81–2.07	1.55	1.43–1.68
Intravenous fluid						
No	3.5	4553/130 086	Reference		Reference	
Yes	2.8	1092/39 274	0.79	0.74–0.84	0.99	0.91–1.08
Epinephrine						
No	3.5	5383/155 079	Reference		Reference	
Yes	2.0	262/13 281	0.56	0.50–0.64	0.48	0.41–0.56
Advanced airway management						
No	4.6	4082/88 161	Reference		Reference	
Yes	1.9	1563/81 199	0.40	0.38–0.43	0.44	0.41–0.47
EMS response time (for 1-min increment)			0.91	0.91–0.92	0.91	0.91–0.92
Year (for 1-y increment)			1.19	1.17–1.21	1.21	1.18–1.23
2005	2.1	638/30 556				
2006	2.6	867/32 951				
2007	3.7	1232/33 728				
2008	3.8	1350/35 764				
2009	4.3	1558/36 361				

OR indicates odds ratio; CI, confidence interval; VF, ventricular fibrillation; AED, automated external defibrillator; CPR, cardiopulmonary resuscitation; and EMS, emergency medical services. ORs were adjusted for age, sex, cause of cardiac arrest, type of bystander-witnessed status, first documented rhythm, public-access AED use, type of bystander-initiated CPR, intravenous fluids and epinephrine, advanced airway management, EMS response time, and year.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Table 5. One-Month Survival With Favorable Neurological Outcome of Patients With Bystander-Witnessed Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan by Origin and Age Over Time

	Total	2005	2006	2007	2008	2009	Adjusted ORs (95% CI) for 1-Year Increment
Cardiac origin							
All	5.0 (4725/95 005)	3.1 (530/17 344)	3.8 (703/18 446)	5.5 (1036/18 728)	5.7 (1144/20 088)	6.4 (1312/20 399)	1.22 (1.19–1.25)
Age <1 y	5.9 (16/270)	2.6 (1/38)	5.3 (1/19)	7.0 (5/71)	7.1 (8/112)	3.3 (1/30)	1.17 (0.64–2.19)
Age 1–4 y	1.6 (2/124)	0.0 (0/30)	4.0 (1/25)	0.0 (0/23)	0.0 (0/23)	4.3 (1/23)	NA
Age 5–12 y	14.0 (18/129)	3.8 (1/26)	3.7 (1/27)	30.8 (8/26)	16.0 (4/25)	16.0 (4/25)	1.71 (0.92–3.13)
Age 13–17 y	31.6 (77/244)	28.9 (13/45)	21.4 (9/42)	27.8 (15/54)	32.7 (16/49)	44.4 (24/54)	1.19 (0.92–1.53)
Age 18–35 y	15.7 (313/1991)	7.6 (28/370)	9.4 (40/426)	18.8 (81/432)	15.7 (60/381)	27.2 (104/382)	1.37 (1.23–1.52)
Age 36–64 y	11.2 (2344/20 998)	6.8 (279/4101)	8.3 (344/4155)	12.3 (509/4133)	13.6 (589/4334)	14.6 (623/4275)	1.19 (1.15–1.24)
Age 65–79 y	4.6 (1538/33 551)	2.6 (164/6307)	3.6 (246/6740)	4.9 (322/6562)	5.2 (361/6924)	6.4 (445/6958)	1.26 (1.21–1.31)
Age 80–89 y	1.4 (356/26 366)	0.9 (42/4494)	1.0 (48/4917)	1.4 (72/5155)	1.7 (96/5766)	1.6 (98/6034)	1.15 (1.06–1.25)
Age ≥90 y	0.5 (61/11 332)	0.1 (2/1873)	0.6 (13/2095)	1.1 (24/2272)	0.4 (10/2474)	0.5 (12/2618)	1.04 (0.86–1.26)
Noncardiac origin							
All	1.2 (920/74 355)	0.8 (108/13 212)	1.1 (164/14 505)	1.3 (196/15 000)	1.3 (206/15 676)	1.5 (245/15 962)	1.16 (1.11–1.22)
Age <1 y	3.2 (11/346)	0.0 (0/50)	5.8 (3/52)	0.9 (1/110)	3.6 (3/84)	8.0 (4/50)	1.50 (0.82–2.77)
Age 1–4 y	2.0 (7/345)	2.6 (2/76)	1.2 (1/85)	2.8 (2/71)	1.8 (1/56)	1.8 (1/57)	1.05 (0.53–2.10)
Age 5–12 y	4.0 (13/329)	1.2 (1/83)	2.6 (1/39)	5.6 (4/72)	3.3 (2/61)	6.8 (5/74)	1.55 (0.93–2.86)
Age 13–17 y	3.6 (15/417)	2.8 (2/72)	4.3 (4/94)	2.5 (2/80)	2.6 (2/77)	5.3 (5/94)	1.10 (0.68–1.79)
Age 18–35 y	1.3 (48/3694)	0.5 (4/728)	0.9 (7/801)	1.5 (11/723)	1.5 (11/742)	2.1 (15/700)	1.51 (1.29–1.91)
Age 36–64 y	1.8 (271/14 949)	1.1 (30/2800)	1.8 (53/3003)	2.0 (60/3071)	1.7 (53/3032)	2.5 (75/3043)	1.17 (1.05–1.28)
Age 65–79 y	1.4 (333/23 685)	1.0 (46/4414)	1.1 (51/4651)	1.4 (66/4709)	1.8 (91/4960)	1.6 (79/4951)	1.14 (1.05–1.24)
Age 80–89 y	0.9 (182/21 292)	0.6 (20/3514)	0.8 (34/4040)	0.9 (40/4269)	0.8 (39/4597)	1.0 (49/4872)	1.11 (0.99–1.24)
Age ≥90 y	0.4 (40/9298)	0.2 (3/1475)	0.6 (10/1740)	0.5 (10/1895)	0.2 (4/2057)	0.6 (13/2121)	1.13 (0.89–1.44)

Values (other than odds ratios [ORs] and confidence intervals [CIs]) are percentages (No./total No.). NA indicates not analyzed. ORs were adjusted for age, sex, cause of cardiac arrest, type of bystander-witnessed status, first documented rhythm, public-access automated external defibrillator use, type of bystander-initiated cardiopulmonary resuscitation, intravenous fluids and epinephrine, advanced airway management, emergency medical services response time, and year.

increasing number of the elderly population is becoming an important social and medical problem in industrialized countries.[35] The implementation of the termination of resuscitation rule and advance directives has been discussed only to a limited degree in Japan. To make effective use of limited medical resources and allow the elderly to die a peaceful death, identifying unrecoverable patients and performing termination of resuscitation [36,37] at the scene, as well as using advance directives, should be considered. Further study is warranted for detailed proposals on these issues.

The present study also showed that the proportion of those with favorable neurological outcome from OHCA in adolescents was high, whereas that in younger children was poor. The causes of pediatric OHCAs differed markedly by age group.[19,38] This suggests the necessity of age-specific measures to improve survival from pediatric OHCA, as reported previously.[19] In addition to age-specific approaches, more efforts should focus on prevention of pediatric OHCAs because many of them are preventable.[1,2,27]

Furthermore, this study demonstrated that although favorable neurological outcome among adult patients with OHCA of noncardiac origin increased year by year, the absolute survival was low. Because ≈40% of adult OHCAs are of noncardiac origin, further efforts, including ALS techniques, origin-specific treatments, and preventive approaches, as the new Japanese CPR guidelines recommended,[27] are needed to decrease mortality in those with OHCAs of noncardiac origin.

To improve survival after OHCA, further efforts are warranted not only to strengthen prehospital EMS procedures but also to establish in-hospital therapies and age- and origin-specific approaches. For these purposes, collection and assessment of these comprehensive prehospital and in-hospital data would contribute to improving the OHCA outcome.

Limitations

This study has some inherent limitations, however. First, our data do not address the potential variability in postarrest care (hemodynamic support, induced hypothermia, and coronary interventional therapies), although the development of these treatments can be other possible explanations for the improving outcome. Second, there might be unmeasured confounding factors that might have influenced outcomes. Third, this study had only a short-term 5-year observation period. Therefore, long-term observation is also needed to assess the changes in survival from OHCA in Japan. Finally, as with all epidemiological studies, data integrity, validity, and ascertainment bias are potential limitations. The use of uniform data collection based on Utstein-style guidelines for reporting cardiac arrest, large sample size, and a population-based design to cover all known OHCAs in Japan were intended to minimize these potential sources of bias.

Conclusions

From this national registry of OHCA, we demonstrated nationwide improvement of 1-month survival with favorable neurological outcome from OHCA in Japan and the impact of difference by age and origin. An age- and origin-based approach and evaluation to reduce the mortality of sudden cardiac arrest are needed.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Acknowledgments

We are greatly indebted to all of the EMS personnel and concerned physicians in Japan and to the Fire and Disaster Management Agency and Institute for Fire Safety and Disaster Preparedness of Japan for their generous cooperation in establishing and maintaining the Utstein database. We also thank Kosuke Kiyohara and Kayo Tanigawa for their statistical support.

Disclosures

None.

References

1. 2010 International consensus on cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care science with treatment recommendations. *Circulation*. 2010;122:S250–S605.
2. 2010 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation*. 2010;122:S639–S946.
3. Nichol G, Thomas E, Callaway CW, Hedges J, Powell JL, Aufderheide TP, Rea T, Lowe R, Brown T, Dreyer J, Davis D, Idris A, Stiell I. Regional variation in out-of-hospital cardiac arrest incidence and outcome. *JAMA*. 2008;300:1423–1431.
4. Ambulance Service Planning Office of Fire and Disaster Management Agency of Japan. Effect of first aid for cardiopulmonary arrest [in Japanese]. http://www.fdma.go.jp/neuter/topics/houdou/2312/231216_1houdou/02_1.pdf. Accessed January 2, 2012.
5. Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Nagao K, Tanaka H, Hiraide A; for the Implementation Working Group for All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency. Nationwide public access defibrillation in Japan. *N Engl J Med*. 2010;362:994–1004.
6. Iwami T, Nichol G, Hiraide A, Hayashi Y, Nishiuchi T, Kajino K, Morita H, Yukioka H, Ikeuchi H, Sugimoto H, Nonogi H, Kawamura T. Continuous improvements of chain of survival increased survival after out-of-hospital cardiac arrests: a large-scale population-based study. *Circulation*. 2009;119:728–734.
7. Rea TD, Eisenberg MS, Becker LJ, Murray JA, Hearne T. Temporal trends in sudden cardiac arrest: a 25-year emergency medical services perspective. *Circulation*. 2003;107:2780–2785.
8. Hollenberg J, Herlitz J, Lindqvist J, Riva G, Bohm K, Rosenqvist M, Svensson L. Improved survival after out-of-hospital cardiac arrest is associated with an increase in proportion of emergency crew–witnessed cases and bystander cardiopulmonary resuscitation. *Circulation*. 2008;118:389–396.
9. Rea TD, Helbock M, Perry S, Garcia M, Cloyd D, Becker L, Eisenberg M. Increasing use of cardiopulmonary resuscitation during out-of-hospital ventricular fibrillation arrest: survival implications of guideline changes. *Circulation*. 2006;114:2760–2765.
10. Hinchey PR, Myers JB, Lewis R, De Maio VJ, Reyer E, Licatese D, Zalkin J, Snyder G; Capital County Research Consortium. Improved out-of-hospital cardiac arrest survival after the sequential implementation of 2005 AHA guidelines for compressions, ventilations, and induced hypothermia: the Wake County experience. *Ann Emerg Med*. 2010;56:348–357.
11. Cummins RO, Chamberlain DA, Abramson NS, Allen M, Baskett PJ, Becker L, Bossaert L, Delooz HH, Dick WF, Eisenberg MS, Evans TR, Holmberg S, Kerber R, Mullie A, Ornato JP, Sandoe E, Skulberg A, Tunstall-Pedoe H, Swanson R, Thies WH. Recommended guideline for uniform reporting of data from out-of-hospital cardiac arrest: the Utstein style: a statement for health professionals from a task force of the American Heart Association, the European Resuscitation Council, the Heart and Stroke Foundation of Canada, and the Australian Resuscitation Council. *Circulation*. 1991;84:960–975.
12. Jacobs I, Nadkarni V, Bahr J, Berg RA, Billi JE, Bossaert L, Cassan P, Coovadia A, D'Este K, Finn J, Halperin H, Handley A, Herlitz J, Hickey R, Idris A, Kloeck W, Larkin GL, Mancini ME, Mason P, Mears G, Monsieurs K, Montgomery W, Morley P, Nichol G, Nolan J, Okada K, Perlman J, Shuster M, Steen PA, Sterz F, Tibballs J, Timerman S, Truitt T, Zideman D. Cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation outcome reports: update and simplification of the Utstein templates for resuscitation registries: a statement for healthcare professionals from a task force of the International Liaison Committee on Resuscitation (American Heart Association, European Resuscitation Council, Australian Resuscitation Council, New Zealand Resuscitation Council, Heart and Stroke Foundation of Canada, InterAmerican Heart Foundation, Resuscitation Councils of Southern Africa). *Circulation*. 2004;110:3385–3397.
13. ECC Committee, Subcommittees and Task Forces of the American Heart Association. 2005 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation*. 2005;112 (suppl):IV-1–IV-203.
14. *Japanese Guidelines for Emergency Care and Cardiopulmonary Resuscitation*. 3rd ed. Tokyo, Japan: Health Shuppansha; 2007.
15. International Liaison Committee on Resuscitation. 2005 International consensus on cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care science with treatment recommendations. *Circulation*. 2005;112(suppl):III-1–III-136.
16. European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2005. *Resuscitation*. 2005;67(suppl):S1–S189.
17. Deasy C, Bray JE, Smith K, Harriss LR, Bernard SA, Cameron P; VACAR Steering Committee. Out-of-hospital cardiac arrests in the older age groups in Melbourne, Australia. *Resuscitation*. 2011;82:398–403.
18. Herlitz J, Svensson L, Engdahl J, Gelberg J, Silfverstolpe J, Wisten A, Angquist KA, Holmberg S. Characteristics of cardiac arrest and resuscitation by age group: an analysis from the Swedish Cardiac Arrest Registry. *Am J Emerg Med*. 2007;25:1025–1031.
19. Nitta M, Iwami T, Kitamura T, Berg RA, Nadkarni VM, Shimizu M, Ohta K, Nishiuchi T, Hayashi Y, Hiraide A, Tamai H, Morita H; for the Utstein Osaka Project. Age-specific differences in outcomes following out-of-hospital cardiac arrests. *Pediatrics*. 2011;128:e812–e820.
20. National Statistics Center of Japan. e-Stat. http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/eStatTopPortal.do. Accessed January 11, 2012.
21. Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Nagao K, Tanaka H, Berg RA, Hiraide A; for the Implementation Working Group for All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency. Time-dependent effectiveness of chest compression-only and conventional cardiopulmonary resuscitation for out-of-hospital cardiac arrest of cardiac origin. *Resuscitation*. 2011;82:3–9.
22. Mitamura H. Public access defibrillation: advances from Japan. *Nature Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008;5:690–692.
23. Hagihara A, Hasegawa M, Abe T, Nagata T, Wakata Y, Miyazaki S. Prehospital epinephrine use and survival among patients with out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA*. 2012;307:1161–1168.
24. Stiell IG, Wells GA, Field B, Spaite DW, Nesbitt LP, De Maio VJ, Nichol G, Cousineau D, Blackburn J, Munkley D, Luinstra-Toohey L, Campeau T, Dagnone E, Lyver M. Advanced cardiac life support in out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med*. 2004;351:647–656.
25. Hayashi Y, Iwami T, Kitamura T, Nishiuchi T, Sakai T, Kajino K, Nishiyama C, Nitta M, Hiraide A, Kai T. Impact of early intravenous epinephrine administration for out-of-hospital cardiac arrest. *Circ J*. 2012;76:1639–1645.
26. Kajino K, Iwami T, Kitamura T, Daya M, Ong ME, Nishiuchi T, Hayashi Y, Sakai T, Shimazu T, Hiraide A, Kishi M, Yamayoshi S. Comparison of supraglottic airway versus endotracheal intubation for the pre-hospital treatment of out-of-hospital cardiac arrest. *Crit Care*. 2011;15:R236.
27. Japan Resuscitation Council. *2010 Japanese Guidelines for Emergency Care and Cardiopulmonary Resuscitation*. Tokyo, Japan: Health Shuppansha; 2011.
28. Call and push. The Japan Circulation Society. http://www.j-circ.or.jp/cpr/index.html. Accessed June 12, 2012.
29. Pell JP, Haw S, Cobbe S, Newby DE, Pell AC, Fischbacher C, McConnachie A, Pringle S, Murdoch D, Dunn F, Oldroyd K, Macintyre P, O'Rourke B, Borland W. Smoke-free legislation and hospitalizations for acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2008;359:482–491.
30. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS. Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2010;362:2155–2165.
31. Dudas K, Lappas G, Stewart S, Rosengren A. Trends in out-of-hospital deaths due to coronary heart disease in Sweden (1991 to 2006). *Circulation*. 2011;123:46–52.
32. Iwami T, Kawamura T, Hiraide A, Berg RA, Hayashi Y, Nishiuchi T, Kajino K, Yonemoto N, Yukioka H, Sugimoto H, Kakuchi H, Sase K, Yokoyama H.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Nonogi H. Effectiveness of bystander-initiated cardiac-only resuscitation for patients with out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation*. 2007;116:2900–2907.
33. Margey R, Browne L, Murphy E, O'Reilly M, Mahon N, Blake G, McCann H, Sugrue D, Galvin J. The Dublin cardiac arrest registry: temporal improvement in survival from out-of-hospital cardiac arrest reflects improved pre-hospital emergency care. *Europace*. 2011;13:1157–1165.
34. Cobb LA, Fahrenbruch CE, Olsufka M, Copass MK. Changing incidence of out-of-hospital ventricular fibrillation, 1980–2000. *JAMA*. 2002;288:3008–3013.
35. United Nations. World population prospects: the 2010 revision. http://www.un.org/esa/population/unpop.htm. Accessed July 2, 2011.
36. Sasson C, Hegg AJ, Macy M, Park A, Kellermann A, McNally B; CARES Surveillance Group. Prehospital termination of resuscitation in cases of refractory out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA*. 2008;300:1432–1438.
37. Morrison LJ, Visentin LM, Kiss A, Theriault R, Eby D, Vermeulen M, Sherbino J, Verbeek PR; TOR Investigators. Validation of a rule for termination of resuscitation in out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med*. 2006;355:478–487.
38. Bardai A, Berdowski J, van der Werf C, Blom MT, Ceelen M, van Langen IM, Tijssen JG, Wilde AA, Koster RW, Tan HL. Incidence, causes, and outcomes of out-of-hospital cardiac arrest in children: a comprehensive, prospective, population-based study in the Netherlands. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1822–1828.

CLINICAL PERSPECTIVE

Sudden cardiac arrest is one of the leading causes of death and has been an important public health problem in the industrialized world. However, survival from out-of-hospital cardiac arrest (OHCA) is still low, and few studies have investigated a nationwide improvement in survival from OHCA. This Japanese nationwide, prospective, population-based study of OHCA analyzed approximately a half million OHCAs from 2005 through 2009 and clearly demonstrated an ≈2-fold increment of 1-month survival with favorable neurological outcome after OHCA. The multivariate analysis showed the effectiveness of bystander cardiopulmonary resuscitation (CPR) regardless of the type of CPR and public-access automated external defibrillators. When these data and rapid dissemination of bystander CPR and public-access automated external defibrillators in Japan were taken into account, the increment of CPR and public-access automated external defibrillator use by bystanders are the most important factors that resulted in this remarkable improvement. This study demonstrating both nationwide improvement in survival after OHCA and the effectiveness of either chest compression–only CPR or conventional CPR reinforces the importance of systematic and strategic dissemination of CPR training by use of chest compression–only CPR to increase survival after OHCA because survival is still poor, and the proportion of bystander CPR and public-access automated external defibrillator use was still only 50% and 1%, respectively. This study also showed differences in incidence, characteristics, and temporal trends in outcomes of OHCA according to age group. To improve survival after OHCA, an age- and origin-based approach and evaluation to reduce the mortality of sudden cardiac arrest are needed.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ at Osaka University on April 7, 2013

Circulation
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart Association.

Chest Compression–Only Cardiopulmonary Resuscitation for Out-of-Hospital Cardiac Arrest With Public-Access Defibrillation : A Nationwide Cohort Study

Taku Iwami, Tetsuhisa Kitamura, Takashi Kawamura, Hideo Mitamura, Ken Nagao, Morimasa Takayama, Yoshihiko Seino, Hideharu Tanaka, Hiroshi Nonogi, Naohiro Yonemoto and Takeshi Kimura
for the Japanese Circulation Society Resuscitation Science Study (JCS-ReSS) Group

Circulation. 2012;126:2844-2851
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.109504
Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231
Copyright © 2012 American Heart Association, Inc. All rights reserved.
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://circ.ahajournals.org/content/126/24/2844

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Circulation* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
http://www.lww.com/reprints

Subscriptions: Information about subscribing to *Circulation* is online at:
http://circ.ahajournals.org//subscriptions/

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Chest Compression–Only Cardiopulmonary Resuscitation for Out-of-Hospital Cardiac Arrest With Public-Access Defibrillation

A Nationwide Cohort Study

Taku Iwami, MD, MPH, PhD; Tetsuhisa Kitamura, MD, MSc, DrPH; Takashi Kawamura, MD, PhD; Hideo Mitamura, MD, PhD; Ken Nagao, MD, PhD; Morimasa Takayama, MD, PhD; Yoshihiko Seino, MD, PhD; Hideharu Tanaka, MD, PhD; Hiroshi Nonogi, MD, PhD; Naohiro Yonemoto, DrPH; Takeshi Kimura, MD, PhD; for the Japanese Circulation Society Resuscitation Science Study (JCS-ReSS) Group

Background—It remains unclear which is more effective to increase survival after out-of-hospital cardiac arrest in those with public-access defibrillation, bystander-initiated chest compression–only cardiopulmonary resuscitation (CPR) or conventional CPR with rescue breathing.

Methods and Results—A nationwide, prospective, population-based observational study covering the whole population of Japan and involving consecutive out-of-hospital cardiac arrest patients with resuscitation attempts has been conducted since 2005. We enrolled all out-of-hospital cardiac arrests of presumed cardiac origin that were witnessed and received shocks with public-access automated external defibrillation (AEDs) by bystanders from January 1, 2005, to December 31, 2009. The main outcome measure was neurologically favorable 1-month survival. We compared outcomes by type of bystander-initiated CPR (chest compression–only CPR and conventional CPR with compressions and rescue breathing). Multivariable logistic regression was used to assess the relationship between the type of CPR and a better neurological outcome. During the 5 years, 1376 bystander-witnessed out-of-hospital cardiac arrests of cardiac origin in individuals who received CPR and shocks with public-access AEDs by bystanders were registered. Among them, 506 (36.8%) received chest compression–only CPR and 870 (63.2%) received conventional CPR. The chest compression–only CPR group (40.7%, 206 of 506) had a significantly higher rate of 1-month survival with favorable neurological outcome than the conventional CPR group (32.9%, 286 of 870; adjusted odds ratio, 1.33; 95% confidence interval, 1.03–1.70).

Conclusions—Compression-only CPR is more effective than conventional CPR for patients in whom out-of-hospital cardiac arrest is witnessed and shocked with public-access defibrillation. Compression-only CPR is the most likely scenario in which lay rescuers can witness a sudden collapse and use public-access AEDs. **(*Circulation*. 2012;126:2844-2851.)**

Key Words: cardiopulmonary resuscitation ■ death, sudden ■ defibrillators ■ epidemiology ■ heart arrest

For >50 years, the combination of chest compressions and rescue breathings has been a standard for cardiopulmonary resuscitation (CPR),[1,2] and CPR can double survival after out-of-hospital cardiac arrests (OHCAs).[3–6] However, despite the proven effectiveness of CPR by bystanders, the proportion of CPR by bystanders is still low in most areas around the world.[7–9]

Clinical Perspective on p 2851

Recently, many experimental[10,11] and clinical studies[12–16] have shown the effectiveness of chest compression–only CPR (CCCPR). The 2010 CPR guidelines changed the order of CPR from ABC (airway-breathing-compressions) to CAB (compressions-airway-breathing) and recommended CCCPR

Continuing medical education (CME) credit is available for this article. Go to http://cme.ahajournals.org to take the quiz.
Received April 2, 2012; accepted October 5, 2012.
From the Kyoto University Health Service, Kyoto (T.I., T. Kitamura, T. Kawamura); Clinical Research Center, Department of Cardiology, Satseikai Central Hospital, Tokyo (H.M.); Department of Cardiology, Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care, Nihon University Surugadai Hospital, Tokyo (K.N.); Cardiology, Sakakibara Heart Institute, Tokyo (M.T.); Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Nippon Medical School, Chiba Hokusoh Hospital, Chiba (Y.S.); Graduate School of Sport System, Kokushikan University, Tokyo (H.T.); Division of Cardiovascular Care Unit, Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka (H.N.); Department of Epidemiology and Biostatistics, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo (N.Y.); and Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate school of Medicine, Kyoto (T. Kimura), Japan.
Correspondence to Taku Iwami, MD, PhD, Kyoto University Health Service, Yoshida Honmachi, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan. E-mail iwamit@e-mail.jp
© 2012 American Heart Association, Inc.
Circulation is available at http://circ.ahajournals.org DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.109504

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

資料31

for untrained lay rescuers and dispatcher-assisted CPR to increase chest compressions by bystanders.[3–6] However, in some types of cardiac arrests like pediatric cardiac arrests of noncardiac origin, conventional CPR with rescue breathing can be more effective than CCCPR,[17–19] and conventional CPR with rescue breathing is still the standard of care in most areas.

In addition to CPR, integration of automated external defibrillators (AEDs) into a system of care is critical in the chain of survival.[3–6] Recently, public-access defibrillation (PAD) programs have been developed successfully, and their effectiveness has been demonstrated in some areas, including Japan.[20–22]

To give the victims of OHCA the best chance of survival, initiation of CPR and cardiac defibrillation are needed within the first moments of a cardiac arrest.[23–25] Some animal and clinical reports have suggested that the effectiveness of each type of bystander CPR is time dependent and that CCCPR might be more effective than conventional CPR with rescue breathing in the early phase of cardiac arrest.[10,12,13,16,26] Among those with PAD for whom defibrillation would be delivered fast and CPR would be needed only in the early phase after collapse, CCCPR can be more beneficial than conventional CPR. Improvements in the education and implementation process to increase CPR and AED use by bystanders are needed in this era when PAD programs are available to save more lives from OHCAs.[3–6] Because it is easier to learn and perform,[27] CCCPR would lead to an increase in the number of individuals trained and would increase CPR and AED use by bystanders.

In this study, we compared neurological outcomes among 1376 OHCA patients with PAD based on a Japanese prospective, nationwide, population-based cohort study of OHCA victims. Our hypothesis is that CCCPR by bystanders is more effective than conventional CPR for survival after bystander-witnessed OHCA with PAD.

Methods

Study Design and Setting

The All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency is a prospective, nationwide, population-based OHCA registry system based on the Utstein style.[28,29] This observational study enrolled all patients with OHCA of presumed cardiac origin that was witnessed who were provided CPR and shocks by bystanders with public-access AEDs and then treated by emergency medical service (EMS) from January 1, 2005, through December 31, 2009. The study protocol for analyses was approved by the Ethics Committee of the National Cerebral and Cardiovascular Center of Japan.

Cardiac arrest was defined as the cessation of cardiac mechanical activity as confirmed by the absence of signs of circulation.[28,29] The arrest was presumed to be of cardiac origin unless it was caused by cerebrovascular diseases; respiratory diseases; malignant tumors; external causes, including trauma, hanging, drowning, drug overdose, and asphyxia; or any other noncardiac causes. These diagnoses of cardiac or noncardiac origin were clinically determined by the physicians in charge who collaborated with the EMS personnel.

EMS Systems in Japan

Japan has an area of ≈378 000 km^2, including both urban and rural communities, and its population was ≈127 million inhabitants in 2005. There were 803 fire stations with dispatch centers in 2009, and their EMS systems are almost uniform.[30] The free emergency telephone number 1-1-9 is used to call for an ambulance from anywhere in Japan. Emergency services are provided 24 hours every day. An ambulance is dispatched from the nearest fire station when called. Each ambulance has 3 emergency providers, including at least 1 emergency life-saving technician, a highly trained prehospital emergency care provider. Emergency life-saving technicians were allowed to insert an intravenous line and an adjunct airway and to use semiautomated external defibrillators for OHCA patients. Specially trained emergency life-saving technicians have been permitted to insert tracheal tubes since July 2004 and to administer intravenous epinephrine since April 2006. Cardiac arrest treatment guidelines were based on the American Heart Association, the European Resuscitation Council, and the International Liaison Committee on Resuscitation guidelines 2000 until September 2006 and the 2005 guidelines thereafter.[31] EMS providers were not permitted to terminate resuscitation in the field. Therefore, most patients with OHCA who were treated by EMS personnel were transported to a hospital and registered in this All-Japan Utstein Registry except those with decapitation, incineration, decomposition, rigor mortis, or dependent cyanosis. Details of the EMS system in Japan were given previously.[20]

Systemic CPR Training for the General Public and Dissemination of Public-Access AEDs

All EMS providers have been performing and teaching CPR according to the Japanese CPR guidelines.[5,31] In Japan, ≈1.6 million citizens per year participated in the conventional CPR training programs consisting of chest compressions, mouth-to-mouth ventilation, and AED use offered mainly by local fire departments.[30] CCCPR was not taught as the recommended technique in any resuscitation training program during the study period, but it was first recommended as "acceptable" for those who were not able to or did not wish to perform rescue breathing according to the 2005 CPR guidelines.[31] The emergency telephone dispatchers in Japan are basically trained and ordered to give CPR instructions with conventional CPR before EMS arrival. However, it is permitted to encourage bystanders to provide CCCPR if it is difficult for them to administer rescue breathing.

In Japan, citizen use of an AED has been legally permitted since July 2004. Public-access AED placement at public spaces, including schools, medical/nursing facilities, workplaces, sports/cultural facilities, and transportation facilities, depends on both public and private initiatives.[32] The cumulative number of public-access AEDs, excluding those in medical facilities and EMS institutions, estimated from AED sales increased from 9906 to 203 924 during this 5-year study period.[32]

Data Collection and Quality Control

Data were prospectively collected with a form based on the Utstein-style reporting guidelines for OHCA that included sex, age, type of bystander witness status, first recorded cardiac rhythm, time course of resuscitation, type of bystander-initiated CPR, type of advanced airway management, intravenous fluids, and epinephrine, as well as prehospital return of spontaneous circulation, 1-month survival, and neurological status 1 month after the event using the Cerebral Performance Category Scale. A series of EMS times of call receipt, vehicle arrival at the scene, contact with patients, initiation of CPR, defibrillation by EMS, and hospital arrival were recorded with the clock of each EMS system. When bystanders delivered shocks using public-access AEDs, the patient's first recorded rhythm was regarded as ventricular fibrillation or pulseless ventricular tachycardia. The estimated times of collapse, initiation of public-access AED shocks, and initiation of bystander CPR were obtained by EMS interview with the bystander. Type of bystander CPR was obtained by EMS observation and interview with the bystander before leaving the scene through the use of specific questions on the presence or absence of chest compressions and rescue breathing. The time interval from collapse to shocks by public-access AEDs was replaced with time to bystander CPR unless the time of shocks by public-access AEDs was obtained.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

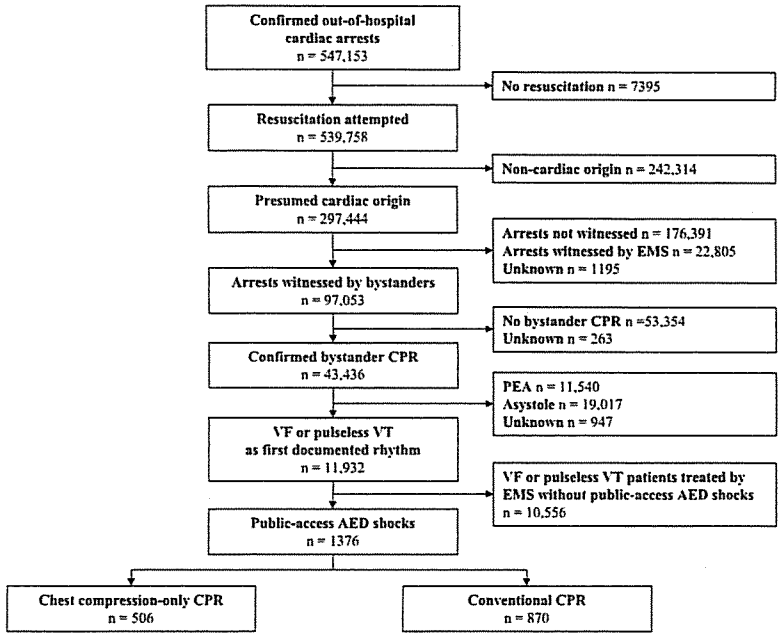


Figure. Study flow of out-of-hospital cardiac arrest patients using an abridged Utstein template from January 1, 2005, to December 31, 2009. EMS indicates emergency medical service; CPR, cardiopulmonary resuscitation; PEA, pulseless electric activity; VF, ventricular fibrillation; VT, ventricular tachycardia; and AED, automated external defibrillator.

All of those who survived OHCA were followed up for up to 1 month after the event by the EMS personnel in charge. The neurological status after 1 month was determined by the physician caring for the patients using the Cerebral Performance Category Scale: category 1, good cerebral performance; category 2, moderate cerebral disability; category 3, severe cerebral disability; category 4, coma or vegetative state; and category 5, death.[28,29] Neurologically favorable survival was defined as a Cerebral Performance Category Scale score of 1 or 2.[28,29]

The data form was filled out by the EMS personnel in cooperation with the physicians in charge of the patients, and the data were integrated into the registry system on the Fire and Disaster Management Agency database server and then logically checked by the computer system. If the data form was incomplete, the Fire and Disaster Management Agency returned it to the respective fire station for data completion.

Statistical Analysis

Outcomes after bystander-witnessed OHCA of cardiac origin with PAD were compared by type of bystander-initiated CPR. Both bystander-initiated CCCPR and conventional CPR with rescue breathing were included as bystander CPR. Patient characteristics and outcomes by type of bystander-initiated CPR were evaluated with the use of the t test for numeric variables and the χ^2 test or Fisher exact test for categorical variables. Trends were tested with univariate regression models. Multivariable analysis was used to assess the contribution of bystander-initiated CPR to 1-month survival with favorable neurological outcome; odds ratios and their 95% confidence intervals were calculated. Potential confounding factors based on biological plausibility and previous studies were included in the multivariable analysis. These variables included age (<17, 18–74, ≥75 years), sex (male, female), bystander witness status (family member, other), time interval from collapse to the public-access AED shock or the initiation of CPR by bystanders (for 1-minute increment), and year of arrest (for 1-year increment). All statistical analyses were performed with SPSS statistical package version 16.0J (SPSS, Inc, Chicago, IL). All tests were 2 tailed, and values of $P<0.05$ were considered statistically significant.

The authors had full access to and take full responsibility for the integrity of the data. All authors have read and agree to the manuscript as written.

Results

A total of 547 153 confirmed OHCAs were documented during these 5 years (the Figure). Of 539 758 OHCA patients with resuscitation attempts, 297 444 were presumed to be of cardiac origin. Of them, OHCA was witnessed in 97 053 patients (32.6%) by bystanders, 43 436 (14.6%) received bystander-initiated CPR, and 11 932 (4.0%) had ventricular fibrillation or pulseless ventricular tachycardia as the first documented rhythm. Among the bystander-witnessed OHCA with bystander CPR, 1376 patients (3.2%) who received their first shock by public-access AEDs before EMS arrival were eligible for our analyses. Among them, 506 (36.8%) received CCCPR and 870 (63.2%) received conventional CPR with rescue breathing.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 1. Characteristics of Out-of-Hospital Cardiac Arrest Patients With Public-Access Automated External Defibrillation Shocks by Type of Bystander-Initiated Cardiopulmonary Resuscitation

	Compression-Only CPR (n=506)	Conventional CPR (n=870)	P
Age, mean (SD), y	61.3 (16.2)	61.3 (19.1)	0.986
Age group, n (%)			0.003
<17 y	8 (1.6)	36 (4.1)	
18–74 y	397 (78.5)	621 (71.4)	
≥75 y	101 (20.0)	213 (24.5)	
Sex, n (%)			<0.001
Male	430 (85.0)	659 (75.7)	
Female	76 (15.0)	211 (24.3)	
Type of bystander witness status, n (%)			0.389
Family member	50 (9.9)	99 (11.4)	
Other	456 (90.1)	771 (88.6)	
Collapse to public-access AED shock or initiation of CPR by bystanders, mean (SD), min	2.9 (4.8)	2.6 (5.1)	0.256

CPR indicates cardiopulmonary resuscitation; AED, automated external defibrillator.

Characteristics of OHCA patients with PAD by type of bystander CPR are noted in Table 1. Mean age and bystander witness status were similar between the groups. The proportions of children (<17 years) and elderly (≥75 years) were lower in the CCCPR group than in the conventional CPR group, and the male/female ratio was higher in the CCCPR group than in the conventional CPR group. Mean time intervals from collapse to the public-access AED shock or the initiation of CPR by bystanders were also similar. The proportion of patients receiving CCCPR among eligible patients significantly increased from 5.1% (2 of 37) in 2005 to 44.4% (246 of 554) in 2009 (P for trend <0.001; Table 2).

Table 3 shows the outcomes of OHCA patients with PAD by type of bystander-initiated CPR. The CCCPR group had significantly better outcomes after OHCA than the conventional CPR group (prehospital return of spontaneous circulation, 50.2% [254 of 506] versus 40.5% [352 of 506], P<0.001; 1-month survival, 46.4% [235 of 506] versus 39.9% [347 of 870], P=0.018; neurologically favorable 1-month survival, 40.7% [206 of 506] versus 32.9% [286 of 870], P=0.003, respectively).

Table 4 shows the factors associated with neurologically favorable 1-month survival after OHCA with PAD.

Table 3. Outcomes of Out-of-Hospital Cardiac Arrest Patients With Public-Access Automated External Defibrillation Shocks by Type of Bystander-Initiated Cardiopulmonary Resuscitation

	Compression-Only CPR (n=506)	Conventional CPR (n=870)	P
Prehospital ROSC, n (%)	254 (50.2)	352 (40.5)	<0.001
1-mo survival, n (%)	235 (46.4)	347 (39.9)	0.018
Neurologically favorable 1-mo survival, n (%)	206 (40.7)	286 (32.9)	0.003

CPR indicates cardiopulmonary resuscitation; ROSC, return of spontaneous circulation.

Bystander-initiated CCCPR produced more neurologically favorable 1-month survival than conventional CPR (adjusted odds ratio, 1.33; 95% confidence interval, 1.03–1.70). Compared with the elderly, adults 18 to 74 years of age (adjusted odds ratio, 4.76; 95% confidence interval, 3.27–6.92) and children (adjusted odds ratio, 9.46; 95% confidence interval, 4.69–19.08) had significantly higher rates of neurologically favorable 1-month survival after OHCA. Earlier shocks (adjusted odds ratio for 1-minute increment, 0.93; 95% confidence interval, 0.89–0.96) were also associated with favorable neurological outcome.

Discussion

From this nationwide registry of OHCA, we demonstrated that CCCPR was more effective than conventional CPR with rescue breathing for individuals with witnessed OHCA who are shocked with public-access AEDs. This is the first study to investigate the effectiveness of CCCPR compared with conventional CPR in the present era when there is an increasing chance of receiving shocks with public-access AEDs. Such a large, prospective, population-based study covering all of Japan, at a time when the PAD program has developed nearly worldwide, makes it possible to evaluate the effectiveness of each type of bystander CPR for those treated with PAD.

The present study suggests that the combination of early defibrillation with public-access AEDs and CCCPR by bystanders is the best way to save lives after sudden cardiac arrests. Neurologically favorable survival after witnessed ventricular fibrillation was >40% among those who received CCCPR and defibrillation with public-access AEDs. This is one of the highest survival rates with neurologically favorable outcome reported[20] and should be the target survival after OHCA. Many reports have shown the extreme effectiveness of early defibrillation with public-access AEDs,[20–22] which

Table 2. Proportion of Type of Bystander-Initiated Cardiopulmonary Resuscitation Among Out-of-Hospital Cardiac Arrest Patients With Public-Access Automated External Defibrillation Shocks by Year

	2005 (n=39)	2006 (n=125)	2007 (n=262)	2008 (n=396)	2009 (n=554)	P for Trend
Conventional CPR with rescue breathing, n (%)	37 (94.9)	101 (80.8)	175 (66.8)	249 (62.9)	308 (55.6)	<0.001
Chest compression–only CPR, n (%)	2 (5.1)	24 (19.2)	87 (33.2)	147 (37.1)	246 (44.4)	

CPR indicates cardiopulmonary resuscitation.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Table 4. Factors Contributing to Neurologically Favorable Outcome After Out-of-Hospital Cardiac Arrest With Public-Access Automated External Defibrillation Shocks

	Survival		OR			
	%	n/N	Crude	95% CI	Adjusted	95% CI
Age group, y						
<17	56.8	25/44	9.01	4.56–17.84	9.46	4.69–19.08
18–74	41.9	427/1018	4.95	3.47–7.05	4.76	3.27–6.92
≥75	12.7	40/314	Reference		Reference	
Sex						
Male	38.9	424/1089	Reference		Reference	
Female	23.7	68/287	0.49	0.36–0.66	0.75	0.53–1.04
Bystander-initiated CPR						
Conventional CPR with rescue breathing	32.9	286/870	Reference		Reference	
Chest compression–only CPR	40.7	206/506	1.40	1.12–1.76	1.33	1.03–1.70
Type of bystander witness status						
Family member	30.2	45/149	Reference		Reference	
Other	36.4	447/1227	1.32	0.92–1.92	1.20	0.82–1.77
Collapse to public-access AED shock time or initiation of CPR by bystanders (for 1-min increment)			0.94	0.91–0.97	0.93	0.89–0.96
Year (for 1-y increment)			1.09	0.96–1.21	1.07	0.96–1.20

OR indicates odds ratio; CI, confidence interval; CPR, cardiopulmonary resuscitation; and AED, automated external defibrillator. ORs were adjusted for age, sex, type of bystander-initiated CPR, collapse to public-access AED shock time or initiation of CPR by bystanders, and year.

have been widely developed.[3–6] However, even in an interventional trial, lay rescuers attempted resuscitation before EMS arrival for only half of the victims of witnessed sudden cardiac arrests, and the onsite AED was used for only one third of the victims who experienced an arrest at locations with PAD programs.[11] Strategies and more efforts to increase the number of lay rescuers who can perform CPR and use an AED are needed.[3–6] This study showing the superiority of the combination of CCCPR and early defibrillation with public-access AEDs strongly suggests the need for implementation of PAD programs with attempts to increase the number of lay rescuers who can at least perform CCCPR and use an AED.

There are multiple possible explanations for the better outcomes in OHCA patients with CCCPR over conventional CPR shown in this study. Rescue breathing is so difficult to perform that it can interrupt chest compressions.[27] Minimizing interruptions in chest compressions during resuscitation attempts by bystanders might be associated with significant increases in survival compared with conventional CPR, as many animal and clinical studies have suggested.[10,15,31–36] The time dependency of the effectiveness of each type of bystander CPR can be another explanation. Among those with PAD, the time period for CPR by bystanders would be the time for defibrillation by use of public-access AEDs and should be the early phase after cardiac arrest. In this phase, CCCPR can be better than conventional CPR, as some animal and clinical reports have suggested.[10,12,13,16,26] The reduction of cardiac venous return during positive pressure ventilation also can be associated with a worse outcome in those receiving conventional CPR.[37]

The advantage of CCCPR for survival after OHCA with PAD over conventional CPR raises a question about the CPR program for lay rescuers. Many reports show the effectiveness of CCCPR, and there is no doubt that either CCCPR or conventional CPR is better than no CPR.[12,13,15–17,27] As for the dispatcher-assisted CPR, a meta-analysis showed that CCCPR was associated with improved survival after adult OHCAs,[38] and there is consensus that CCCPR is better than conventional CPR.[39] However, the best CPR technique for survival is a controversial issue that has been discussed extensively over the past few years.[3–6,10–20,27,40] An Arizona group launched a statewide effort to encourage bystanders to use CCCPR and showed a significant increase in the proportion of bystander CPR and the superiority of CCCPR compared with conventional CPR for survival.[15] The AHA is now leading the Hands-Only CPR campaign across the United States to increase CPR by bystanders.[31] The Japanese CPR guidelines have started to recommend CCCPR training for lay rescuers to increase CPR and AED use, but conventional CPR with rescue breathing is still the standard, and CCCPR training is limited to people who cannot receive the conventional CPR training.[5] This is a balance issue. CCCPR is easy to teach, learn, remember, and perform.[3–6,27] Considering recent data showing the superiority of CCCPR over conventional CPR for adult OHCAs of cardiac origin (which are the majority of OHCAs and have the best chance of survival with widespread AEDs), difficulties in performing CPR in real settings, and the low proportion of bystander CPR,[3–6,27] we think CCCPR should be the standard for the lay rescuer CPR program.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

This study showed that children ≤17 years of age had a better chance of survival than adults with public-access AEDs, consistent with previous studies. Although outcomes and characteristics of OHCA differ between children and adults,[42,43] adolescents with OHCA had characteristics similar to those of adults: The cardiac arrests were more likely to be of cardiac origin, to be ventricular fibrillation/ventricular tachycardia, and to have better outcomes.[42] However, for some types of cardiac arrests like those of noncardiac origin or those of long duration, conventional CPR with rescue breathing can be more beneficial than CCCPR.[16–19] The addition of rescue breathing may be especially important for pediatric cardiac arrests of noncardiac origin.[17] An important unresolved issue for future studies is how to determine in the field which subjects are experiencing cardiac and which are experiencing noncardiac origin of arrest so that resources can be focused on those most able to be helped. However, in adults, survival rates after OHCA of noncardiac origin and long-duration cardiac arrests are similarly low regardless of the type of CPR.[16,18,19] In addition, the incidence of pediatric cardiac arrests is relatively small compared with the incidence of adult OHCAs,[17,42,43] and individuals who are more likely to witness pediatric cardiac arrests of noncardiac origin can be targeted more easily. The public endorsement of CCCPR in the State of Arizona has consistently and carefully advocated conventional CPR for suspected noncardiac and pediatric arrests and successfully demonstrated that most pediatric OHCA patients had received conventional CPR.[15] On the basis of such data showing the superiority of CCCPR for OHCA with PAD, we propose a double CPR training strategy: CCCPR training as standard for most people and conventional CPR training as an option for individuals who are more likely to witness pediatric cardiac arrests of noncardiac origin such as medical professionals, lifeguards, school teachers, and members of families with children.

Study Limitations

The most important limitations of this study are the lack of data on the quality of bystander CPR and the potential biases involved in providing CCCPR or conventional CPR. Evaluating the quality of CPR before EMS arrival is not feasible. During the study period, no CCCPR but only conventional CPR with rescue breathing was taught in Japan. Rescuers who do not provide rescue breathing may be less well trained and may thus provide less effective chest compressions. Because people who learned CPR generally use an AED on the scene, the greater proportion of conventional CPR observed in this study population compared with previous reports from Japan, where the proportion of lay rescuers performing CCCPR has increased year by year,[16–18] might be due to this bias. This study demonstrates that CCCPR is more effective than conventional CPR even though such a potential bias would strengthen the superiority of CCCPR in this population. Nevertheless, our data cannot explicitly address these potential biases. Second, the present study includes only patients in whom OHCA was witnessed, who received CPR by bystanders, and who were delivered shocks with public-access AEDs. PAD occurred in only 3% of all bystander-witnessed OHCA with CPR by bystanders. We cannot evaluate the effectiveness of each type of CPR by bystanders when unwitnessed or for non–ventricular fibrillation cardiac arrests in which public-access AEDs cannot be used. Although the number of OHCA patients who received shocks with public-access AEDs has been increasing, the proportion of those with PAD among the total number of OHCAs is still low. Because penetration and more frequent use of PAD remain a challenge for many areas, translating the findings of this study showing the superiority of the combination of CCCPR and shocks with public-access AEDs into more widespread use remains a challenge. Third, we could not conduct long-term follow-ups after OHCA. Therefore, the effectiveness of the type of bystander CPR in terms of long-term outcome is uncertain. As with all multisite epidemiological studies, data integrity, validity, and ascertainment bias are potential limitations. The data collected by EMS providers included relatively few data points that were easy to attain accurately at the scene with the clear and concise Utstein-style guidelines for reporting cardiac arrest.[28,29] The uniform data collection, consistent definitions, time synchronization process, large sample size, and population-based study design covering the whole of Japan were intended to minimize these potential sources of bias.

Conclusions

CCCPR is more effective than conventional CPR for patients in whom OHCA is witnessed and shocked with PAD. Compression-only CPR is the most likely scenario in which lay rescuers who witness a sudden collapse can use public-access AEDs.

Acknowledgments

We are greatly indebted to all of the EMS personnel and concerned physicians in Japan and to the Fire and Disaster Management Agency and the Institute for Fire Safety and Disaster Preparedness of Japan for their generous cooperation in establishing and maintaining the Utstein database.

Disclosures

None.

References

1. Safar P, Escarraga LA, Elam JO. A comparison of the mouth-to-mouth and mouth-to-airway methods of artificial respiration with the chest-pressure arm-lift methods. *N Engl J Med*. 1958;258:671–677.
2. Kouwenhoven WB, Jude JR, Knickerbocker GG. Closed-chest cardiac massage. *JAMA*. 1960;173:1064–1067.
3. 2010 International consensus on cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care science with treatment recommendations. *Circulation*. 2010;122:S250–S605.
4. 2010 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation*. 2010;122:S639–S946.
5. Japan Resuscitation Council. *2010 Japanese Guidelines for Emergency Care and Cardiopulmonary Resuscitation*. Tokyo, Japan: Health Shuppansha; 2011.
6. European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2010. *Resuscitation*. 2010;81:1219–2451.
7. Iwami T, Nichol G, Hiraide A, Hayashi Y, Nishiuchi T, Kajino K, Morita H, Yukioka H, Ikeuchi H, Sugimoto H, Nonogi H, Kawamura T. Continuous improvements of chain of survival increased survival after out-of-hospital cardiac arrests: a large-scale population-based study. *Circulation*. 2009;119:728–734.
8. Nichol G, Thomas E, Callaway CW, Hedges J, Powell JL, Aufderheide TP, Rea T, Lowe R, Brown T, Dreyer J, Davis D, Idris A, Stiell I. Regional variation in out-of-hospital cardiac arrest incidence and outcome. *JAMA*. 2008;300:1423–1431.
9. Hollenberg J, Herlitz J, Lindqvist J, Riva G, Bohm K, Rosenqvist M, Svensson L. Improved survival after out-of-hospital cardiac arrest is associated with an increase in proportion of emergency crew–witnessed cases and bystander cardiopulmonary resuscitation. *Circulation*. 2008;118:389–396.
10. Berg RA, Sanders AB, Kern KB, Hilwig RW, Heidenreich JW, Porter ME, Ewy GA. Adverse hemodynamic effects of interrupting chest compressions for rescue breathing during cardiopulmonary resuscitation for ventricular fibrillation cardiac arrest. *Circulation*. 2001;104:2465–2470.
11. Ewy GA, Zuercher M, Hilwig RW, Sanders AB, Berg RA, Otto CW, Hayes MM, Kern KB. Improved neurological outcome with continuous chest compressions compared with 30:2 compressions-to-ventilations cardiopulmonary resuscitation in a realistic swine model of out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation*. 2007;116:2525–2530.
12. Iwami T, Kawamura T, Hiraide A, Berg RA, Hayashi Y, Nishiuchi T, Kajino K, Yonemoto N, Yukioka H, Sugimoto H, Kakuchi H, Sase K, Yokoyama H, Nonogi H. Effectiveness of bystander-initiated cardiac-only resuscitation for patients with out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation*. 2007;116:2900–2907.
13. SOS-KANTO Study Group. Cardiopulmonary resuscitation by bystanders with chest compression only (SOS-KANTO): an observation study. *Lancet*. 2007;369:920–926.
14. Bohm K, Rosenqvist M, Herlitz J, Hollenberg J, Svensson L. Survival is similar after standard treatment and chest compression only in out-of-hospital bystander cardiopulmonary resuscitation. *Circulation*. 2007;116:2908–2912.
15. Bobrow BJ, Spaite DW, Berg RA, Stolz U, Sanders AB, Kern KB, Vadeboncoeur TF, Clark LL, Gallagher JV, Stapczynski JS, LoVecchio F, Mullins TJ, Humble WO, Ewy GA. Chest compression-only CPR by lay rescuers and survival from out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA*. 2010;304:1447–1454.
16. Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Nagao K, Tanaka H, Berg RA, Hiraide A; Implementation Working Group for All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency. Time-dependent effectiveness of chest compression-only and conventional cardiopulmonary resuscitation for out-of-hospital cardiac arrest of cardiac origin. *Resuscitation*. 2011;82:3–9.
17. Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Tanaka H, Nagao K, Nadkarni VM, Berg RA, Hiraide A; Implementation Working Group for All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency. Conventional and chest-compression-only cardiopulmonary resuscitation by bystanders for children who have out-of-hospital cardiac arrests: a prospective, nationwide, population-based cohort study. *Lancet*. 2010;375:1347–1354.
18. Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Nagao K, Tanaka H, Hiraide A; Implementation Working Group for All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency. Bystander-initiated rescue breathing for out-of-hospital cardiac arrests of noncardiac origin. *Circulation*. 2010;122:293–299.
19. Ogawa T, Akahane M, Koike S, Tanabe S, Mizoguchi T, Imamura T. Outcomes of chest compression only CPR versus conventional CPR conducted by lay people in patients with out of hospital cardiopulmonary arrest witnessed by bystanders: nationwide population based observational study. *BMJ*. 2011;342:c7106.
20. Kitamura T, Iwami T, Kawamura T, Nagao K, Tanaka H, Hiraide A; Implementation Working Group for All-Japan Utstein Registry of the Fire and Disaster Management Agency. Nationwide public access defibrillation in Japan. *N Engl J Med*. 2010;362:994–1004.
21. Berdowski J, Blom MT, Bardai A, Tan HL, Tijssen JG, Koster RW. Impact of onsite or dispatched automated external defibrillator use on survival after out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation*. 2011;124:2225–2232.
22. Weisfeldt ML, Sitlani CM, Ornato JP, Rea T, Aufderheide TP, Davis D, Dreyer J, Hess EP, Jui J, Maloney J, Sopko G, Powell J, Nichol G, Morrison LJ; ROC Investigators. Survival after application of automatic external defibrillators before arrival of the emergency medical system: evaluation in the resuscitation outcomes consortium population of 21 million. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1713–1720.
23. Larsen MP, Eisenberg MS, Cummins RO, Hallstrom AP. Predicting survival from out-of-hospital cardiac arrest: a graphic model. *Ann Emerg Med*. 1993;22:1652–1658.
24. Valenzuela TD, Roe DJ, Cretin S, Spaite DW, Larsen MP. Estimating effectiveness of cardiac arrest interventions: a logistic regression survival model. *Circulation*. 1997;96:3308–3313.
25. Swor RA, Boji B, Cynar M, Sadler E, Basse E, Dalbec DL, Grubb W, Jacobson R, Jackson RE, Maher A. Bystander vs EMS first-responder CPR: initial rhythm and outcome in witnessed nonmonitored out-of-hospital cardiac arrest. *Acad Emerg Med*. 1995;2:494–498.
26. Dorph E, Wik L, Stromme TA, Eriksen M, Steen PA. Oxygen delivery and return of spontaneous circulation with ventilation:compression ratio 2:30 versus chest compressions only CPR in pigs. *Resuscitation*. 2004;60:309–318.
27. Sayre MR, Berg RA, Cave DM, Page RL, Potts J, White RD; American Heart Association Emergency Cardiovascular Care Committee. Hands-only (compression-only) cardiopulmonary resuscitation: a call to action for bystander response to adults who experience out-of-hospital sudden cardiac arrest: a science advisory for the public from the American Heart Association Emergency Cardiovascular Care Committee. *Circulation*. 2008;117:2162–2167.
28. Cummins RO, Chamberlain DA, Abramson NS, Allen M, Baskett P, Becker L, Bossaert L, Delooz H, Dick W, Eisenberg M, Evans TR, Holmberg S, Kerber R, Mullie A, Ornato JP, Sandoe E, Skulberg E, Tunstall-Pedoe H, Swanson R, Thies WH. Recommended guideline for uniform reporting of data from out-of-hospital cardiac arrest: the Utstein style: a statement for health professionals from a task force of the American Heart Association, the European Resuscitation Council, the Heart and Stroke Foundation of Canada, and the Australian Resuscitation Council. *Circulation*. 1991;84:960–975.
29. Jacobs I, Nadkarni V, Bahr J, Berg RA, Billi JE, Bossaert L, Cassan P, Coovadia A, D'Este K, Finn J, Halperin H, Handley A, Herlitz J, Hickey R, Idris A, Kloeck W, Larkin GL, Mancini ME, Mason P, Mears G, Monsieurs K, Montgomery W, Morley P, Nichol G, Nolan J, Okada K, Perlman J, Shuster M, Steen PA, Sterz F, Tibballs J, Timerman S, Truitt T, Zideman D. Cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation outcome reports: update and simplification of the Utstein templates for resuscitation registries: a statement for healthcare professionals from a task force of the International Liaison Committee on Resuscitation (American Heart Association, European Resuscitation Council, Australian Resuscitation Council, New Zealand Resuscitation Council, Heart and Stroke Foundation of Canada, InterAmerican Heart Foundation, Resuscitation Councils of Southern Africa). *Circulation*. 2004;110:3385–3397.
30. Effect of first aid for cardiopulmonary arrest [in Japanese]. Ambulance Service Planning Office of Fire and Disaster Management Agency of Japan. http://www.fdma.go.jp/neuter/topics/houdou/h23/2312/231216_1houdou/02_1.pdf. Accessed January 2, 2012.
31. *Japanese Guidelines for Emergency Care and Cardiopulmonary Resuscitation*. 3rd ed. Tokyo, Japan: Health Shuppansha; 2007.
32. Report on a study on social system development to improve survival from emergency cardiovascular disease using automated external defibrillator (Marukawa's report) [in Japanese]. http://kouroukaken-kyukyusosei.info/. Accessed March 4, 2012.
33. Hallstrom AP, Ornato JP, Weisfeldt M, Travers A, Christenson J, McBurnie MA, Zalenski R, Becker LB, Schron EB, Proschan M; Public Access Defibrillation Trial Investigators. Public-access defibrillation and survival after out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med*. 2004;351:637–646.
34. Sanders AB, Kern KB, Atlas M, Bragg S, Ewy GA. Importance of the duration of inadequate coronary perfusion pressure on resuscitation from cardiac arrest. *J Am Coll Cardiol*. 1985;6:113–118.
35. Bobrow BJ, Clark LL, Ewy GA, Chikani V, Sanders AB, Berg RA, Richman PB, Kern KB. Minimally interrupted cardiac resuscitation by emergency medical services for out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA*. 2008;299:1158–1165.
36. Kellum MJ, Kennedy KW, Barney R, Keilhauer FA, Bellino M, Zuercher M, Ewy GA. Cardiocerebral resuscitation improves neurologically intact survival of patients with out-of-hospital cardiac arrest. *Ann Emerg Med*. 2008;52:244–252.
37. Aufderheide TP, Sigurdsson G, Pirrallo RG, Yannopoulos D, McKnite S, von Briesen C, Sparks CW, Conrad CJ, Provo TA, Lurie KG. Hyperventilation-induced hypotension during cardiopulmonary resuscitation. *Circulation*. 2004;109:1960–1965.
38. Hüpfl M, Selig HF, Nagele P. Chest-compression-only versus standard cardiopulmonary resuscitation: a meta-analysis. *Lancet*. 2010;376:1552–1557.
39. Lerner EB, Rea TD, Bobrow BJ, Acker JE 3rd, Berg RA, Brooks SC, Cone DC, Gay M, Gent LM, Mears G, Nadkarni VM, O'Connor RE,

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

Potts J, Sayre MR, Swor RA, Travers AH; American Heart Association Emergency Cardiovascular Care Committee; Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation. Emergency medical service dispatch cardiopulmonary resuscitation prearrival instructions to improve survival from out-of-hospital cardiac arrest: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125:648–655.

40. Koster RW, Bossaert LL, Nolan JP, Zideman D; Board of the European Resuscitation Council. Advisory statement of the European Resuscitation Council on Basic Life Support. http://www.erc.edu/index.php/docLibrary/en/viewDoc/775/3/. Accessed March 4, 2012.
41. Hands-only™ CPR. American Heart Association. http://handsonlycpr.org/. Accessed March 4, 2012.
42. Nitta M, Iwami T, Kitamura T, Nadkarni VM, Berg RA, Shimizu N, Ohta K, Nishiuchi T, Hayashi Y, Hiraide A, Tamai H, Kobayashi M, Morita H, Utstein Osaka Project. Age-specific differences in outcomes after out-of-hospital cardiac arrests. *Pediatrics*. 2011;128:e812–e820.
43. Atkins DL, Everson-Stewart S, Sears GK, Daya M, Osmond MH, Warden CR, Berg RA; Resuscitation Outcomes Consortium Investigators. Epidemiology and outcomes from out-of-hospital cardiac arrest in children: the Resuscitation Outcomes Consortium Epistry-Cardiac Arrest. *Circulation*. 2009;119:1484–1491.
44. Bardai A, Berdowski J, van der Werf C, Blom MT, Ceelen M, van Langen IM, Tijssen JG, Wilde AA, Koster RW, Tan HL. Incidence, causes, and outcomes of out-of-hospital cardiac arrest in children: a comprehensive, prospective, population-based study in the Netherlands. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1822–1828.

CLINICAL PERSPECTIVE

Although early cardiopulmonary resuscitation (CPR) and shocks with public-access automated external defibrillators (AEDs) are the keys to saving lives after sudden cardiac arrests, the proportion of bystander CPR remains low. Because chest compression–only CPR (CCCPR) is easier to learn and perform than conventional CPR, CCCPR would lead to an increase in the number of individuals trained and increase CPR and AED use by bystanders. Recently, the effectiveness of CCCPR has become well accepted, but conventional CPR with rescue breathing is still the standard of CPR. However, some animal and clinical reports have suggested that the effectiveness of each type of bystander CPR is time dependent and that CCCPR may be more effective than conventional CPR in the early phase of sudden cardiac arrest. Among those with public-access defibrillation in whom defibrillation would be delivered fast and CPR would be needed only in the early phase after collapse, CCCPR can be more beneficial than conventional CPR. Based on this hypothesis, our study demonstrated that CCCPR is more effective than conventional CPR for individuals with witnessed OHCA who are shocked with public-access AEDs through a large, prospective, population-based registry covering all of Japan where the public-access defibrillation program is successfully developed. We believe that CCCPR could be a standard by which lay rescuers are likely to witness sudden collapse and use public-access AEDs. Because penetration and more frequent use of public-access defibrillation remain a challenge for many areas, strategies and efforts to increase the number of public-access AEDs and lay rescuers who can perform chest compressions and use an AED are needed.

Go to http://cme.ahajournals.org to take the CME quiz for this article.

Downloaded from http://circ.ahajournals.org/ by guest on April 10, 2013

資料32

教育・臨床プログラム一覧

平成25年5月2日

レジデントコース	心臓血管部門	心臓血管内科コース 心臓血管外科コース
	脳血管部門	脳血管内科コース 脳神経外科コース
	小児循環器・周産期部門	小児循環器科コース 周産期コース
	生活習慣病部門(高血圧・腎、予防検診)	高血圧・腎臓科コース 糖尿病・代謝内科コース 予防健診コース
	中央診療部門(麻酔、放射線)	病理コース 麻酔科コース 集中治療部門コース 放射線コース
専門修練医コース	心臓血管部門	心臓血管内科コース 心臓血管外科コース 重症心不全・移植コース
	脳血管部門	脳血管内科コース 脳神経外科コース
	小児循環器・周産期部門	小児科コース 周産期コース 小児心臓外科コース 成人先天性心疾患コース(小児循環器医コース) 新生児小児集中治療コース
	生活習慣病部門(高血圧・腎、予防検診)	高血圧・腎臓科コース 糖尿病・代謝内科コース 予防健診コース
	中央診療部門(麻酔、放射線)	病理コース 麻酔科コース 集中治療部門コース 放射線コース 臨床遺伝科コース
従事者研修		医師 看護師 診療放射線技師 臨床検査技師 臨床工学技士
薬剤部		薬剤師レジデント制度 薬学部6年制病院実務実習
看護部		循環器病診療に従事する看護師研修会 大阪府看護職員実務者研修 CVEN研修
脳血管リハビリテーション科		脳卒中患者のトランスファー
心血管リハビリテーション科		市民公開講座
臨床工学部		補助人工心臓管理研修 循環器セミナー
臨床検査部		生理機能学術連絡会

教育・研修部

参考資料

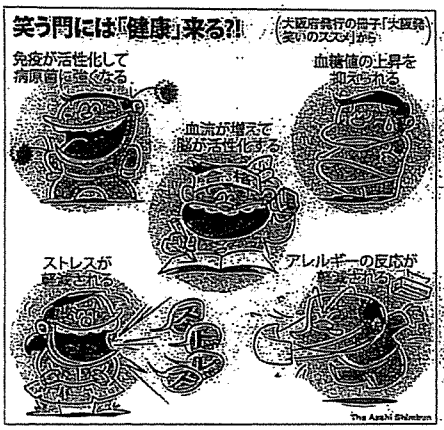
朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
（名古屋）（札幌）
'12.4.21（東京）
（北九州）

処方せん 皆で「ガハハ」

「笑い」医療現場で採用

「1日5回」で心筋症予防 ■ 落語聴いて記憶力改善

笑う門には健康も――。「笑い」を医療の現場にも採り入れようという動きが広がっている。笑いはストレス解消や血糖値を抑える働きなど、健康への効果が期待できるという研究報告もある。



「1日5回は笑おう」。国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）などが、2月に岩手県宮古市で開いた公開講座。仮設住宅暮らしの住民らに、脳神経外科医で立命館大学客員教授の野々木宏さんがこう呼びかけた。

震災後のストレスで、心臓の筋肉が収縮しにくくなる「たこつぼ心筋症」が起こりやすい。塩分の多い保存食が増えるため、脳卒中や心臓発作の危険性も高まっている。「少しでも笑うことは、ストレス解消につながる」と野々木さんは話す。

愛媛県四国中央市の寿岡台病院は「笑いヨガ」を採り入れている。笑いに意識的に深い呼吸をするヨガの手法を加えた。

「ホッホッ、ハハハ」。病院スタッフの三田子とかけ声に合わせて、入院患者が思い思いのポーズで互いに笑い合う。

60代の女性患者は「最初はつくり笑いでも次第に本当におかしくなります。大きな声を出すと気分も明るくなります」。始めたのは院長の長尾寿昌さん。「言霊信仰」という高座名を持つ社会人落語家で、日本一決定戦で優勝したこともある。高齢者向けの介護予防教室で落語を披露している。

半年間ほど断続的に落語を聴いてもらったところ、前後で最高血圧値がおよそ5ポイント下がったり、記憶や判断力テストの点数があがったりする効果が確認できたと長尾さんはいう。

しかし、落語は意味を理解しないと笑えない。年代も性格も違う全員を笑わせるのは難しい。そこで注目したのが誰でも参加できる笑いヨガだ。「認知症の患者さんもみんな一緒だと安心して笑える」と長尾さん。

笑いヨガはインド人医師が20年近く前、誰でも無理なく笑いの健康効果を体験してもらおうと考案したものだという。日本笑いヨガ協会代表の高田信子さんは「高齢者の介護予防や運動指導などにかかわる医療関係者の関心は高い」と話している。

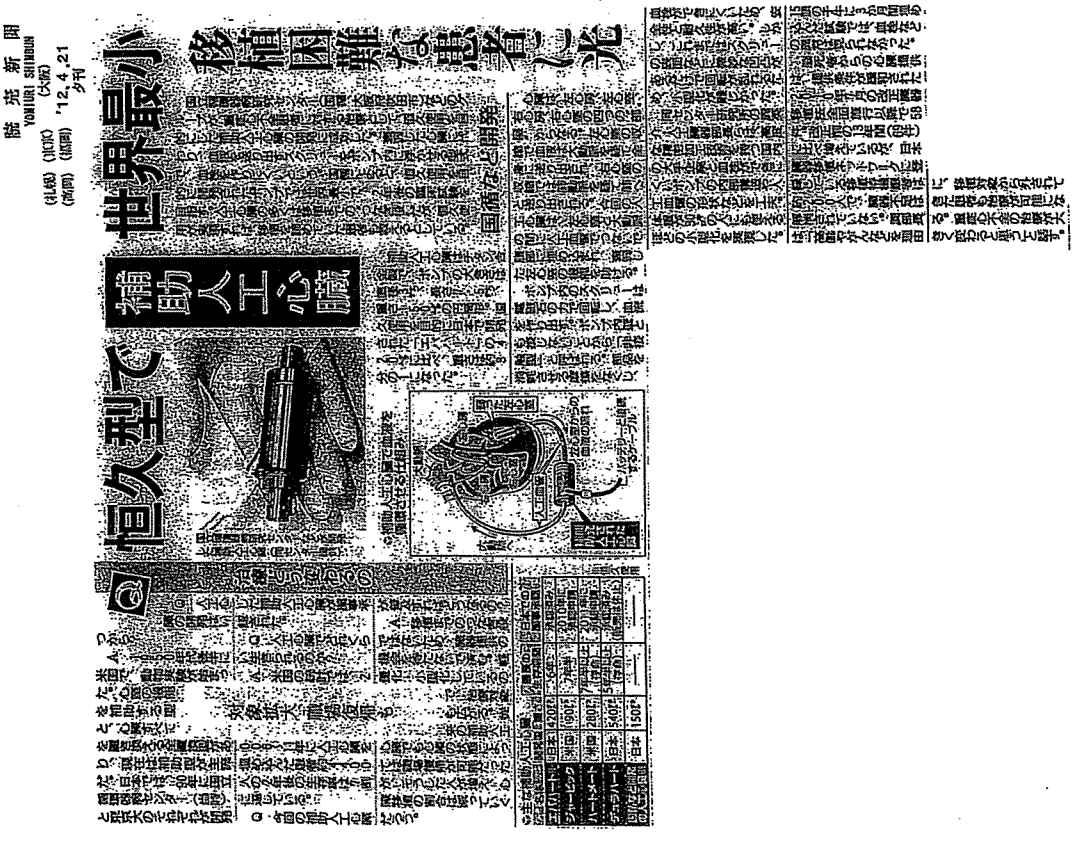
怒っているように笑っていた方が健康には良さそう。大阪大医学部の大平哲也准教授（公衆衛生学）によると、笑いの健康効果は、80年ほど前から海外で注目され、近年は科学者に報告される例が増えている。

そんな笑いを施策として活用したのは、笑いの本場・大阪府。2006年に「大阪発笑いのススメ」という冊子を作成し、病院などに配っている。

冊子には国内での研究例も多数紹介されている。

善玉を見た前後でストレスホルモンが減少したNK（がん細胞を攻撃する免疫細胞の活性を調べたところ、値が低かった人が笑うと正常範囲まで上昇した▽関節リウマチ患者が笑うと炎症物質が減ったり、糖尿病患者の血糖値の上昇を抑えたりする効果もあった――。

日本笑い学会の理事も務める大平准教授は「ストレス解消の積極策として、笑いが医療の現場で注目されている」と話している。（阪本大輔）



日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
（大阪）
'12.5.11

近畿経済A版
近畿経済・兵庫版
近畿経済・京滋版

治療しながら患者搬送

「ドクターカー」発進

国立循環器病研究センター
14日から試験運用

国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）は10日、患者を治療しながら搬送する専用車「ドクターカー」の試験運用を14日から始めると発表した。人工心肺補助装置などを搭載しており、救急医療モニターなどさまざまな医療機器を装備。医師2人と看護師1人が乗り込める十分な広さも確保した。作製費は設備込みで約4700万円。

心筋梗塞や心不全などの重症患者をほかの病院から国立循環器病研究センターに搬送するケースを想定している。

同センターでは救急車による搬送が年間300件以上あり、その半数以上が重症患者だという。

救急車は現場から病院への搬送に使われているが多数な医療機器を搭載できるスペースがない。ドクターカーは十分な医療機器を備えるだけではなく、通信設備を使って病院の医師などと患者情報をやり取りしながら治療できるのが強みだ。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（札幌）
'12.4.14

50代男性脳死判定
膵臓、心肺移植へ

日本臓器移植ネットワークは13日、脳血管障害で札幌市の手稲渓仁会病院に入院中の50代男性が、改正臓器移植法に基づき脳死と判定されたと発表した。

男性は健康保険証などで、脳死下での臓器提供の意思を明らかにしていた。

膵臓は、北海道大病院で入院中の40代女性に提供される予定で、14日に移植手術が行われる。

心臓は大阪府吹田市の国立循環器病研究センター、肺は京都大学病院の患者に移植する予定。

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
（大阪）
'12.5.16

悪玉コレステロール量下げる薬物

特定の遺伝子の働きを抑えて血中の悪玉コレステロール量を下げる新しい薬物を、国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）などの研究グループが開発し、15日付の米科学誌電子版に発表した。従来の高コレステロール血症患者への薬物療法は一部の患者に効きにくかったが、新しい薬物はマウスで悪玉コレステロールが約40％減少。ヒトでも効果が期待できるという。

悪玉コレステロールは、脂質の一種のコレステロールを肝臓から全身の細胞に運ぶ物質。増加し過ぎると血管壁の内膜にたまり、動脈硬化を引き起こす。グループは、体内の悪玉コレステロールを調節する機能を阻害するタンパク質の働きを抑えるよう改良した薬剤を、コレステロール値の高いマウスに6週間計12回投与したところ、悪玉コレステロールの値が最大で43％減少。副作用は確認されなかったという。

グループの折笠真理子病態代謝部特任部長は「他の病気の原因遺伝子を抑制することで、がんや他の難治性疾患への応用が可能になるかも」としている。

国循によると、難治性の高コレステロール血症は、体内のコレステロール調節に関わる遺伝子の変異が原因とされ、血中の悪玉コレステロールが高い値になる疾患。動脈硬化が早期に進行することから、若年でも心筋梗塞などを発症する傾向がある。国内の患者は約25万人。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（大阪）
'12.5.31
夕刊

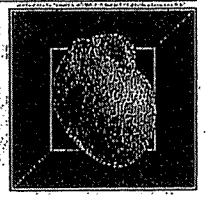
ノートPCで心臓の拍動再現

病態説明に活用

心臓が複雑に拍動する様子を市販のノートパソコン上で再現できるシステムを国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）や理化学研究所などの研究グループが開発した。誰でも簡単に操作できるのが特徴で、患者への病態説明や医学生の教育に役立つという。31日の米科学誌プロスワン電子版で発表した。

同センターの中沢一雄・研究情報基盤管理室長によると、標準的なモデルとして、心臓の立体的な形を約7000のブロックに分割。それぞれの心筋の収縮を積み上げる手法で計算した。

心臓を構成する心房、心室などの細かな動きや、心臓内部を3次元画像＝同センター提供＝であらゆる角度から見ることができ、心筋梗塞のような病的な拍動も作り出せる。従来は、心筋内部の力のかかり方など、すべてを計測していたため、スーパーコンピューターが必要だった。



塩分控えめ 地域ぐるみ

塩分を取りすぎる食生活を見直そうと、家庭だけでなく、地域ぐるみで減塩を進める運動が広がっている。減塩食には「味気ない」というイメージがあるが、外食店や弁当業者らが工夫したメニューを提供。手軽に減塩に取り組むきっかけになりそうだ。

（大盛亜紀）



ヘルシー弁当の献立を作成した参口さん（右）。「減塩しているとは思えないおいしさ」とモニターの男性にも好評だった（新潟県柏崎市で）

弁当業者や飲食店、献立改善

企業や工場などに弁当を配送する新潟県柏崎市の「協同組合柏崎給食センター」は、通常より塩分が1g程度少ない3・5g未満で、カロリーも抑えた「ヘルシー弁当」のメニューを開発した。今年2月、柏崎保健所の協力を得て1か月分の献立を作成。地元の男女6人にモニターをしてもらったところ、8割が「満足」と好評だった。

高野豆腐にシソとチーズを挟んだカツやマスタード味の大根サラダなど、「香りや味に変化を付けました」と献立作りに携わった栄養士の参口菜奈さん。同センターでは、こうしたヘルシー弁当を個人向けに宅配する事業を検討している。

同県では、県民1人あたりの食塩摂取量を2g減らす「にいがた減塩ルネサンス運動」を、2009年から始めている。塩分の過剰摂取が危険因子となる胃がんや脳卒中による死亡率が全国でも上位に入ったためだ。地元企業と協力し、1週すっしか出ないしょうゆさしを普及させるなど、地域ぐるみで減塩に取り組む環境作りを進めている。

国の食事摂取基準では、成人の食塩摂取量の目標は男性で9・0g未満、女性では7・5g未満。しかし、10年の国民健康・栄養調査では、成人の平均値は男性11・4g、女性9・5gと目標値を上回り、近年は微減にとどまっている。外食や持ち帰り用惣菜の利用が増え、家庭だけでは減塩が実現できない状況もある。

呉でサミット開催

広島県では、呉市を中心に約50軒の飲食店が、塩分2～3g、600g・kcal以下で、地産地消の食材を使う減塩メニューを提供している。同市内の開業医で日本高血圧学会減塩委員会委員でもある日下美穂さんが、「こだわりのヘルシーグルメダイエットレストラン」プロジェクトを提唱。08年に8軒の飲食店でスタートした。「医師が減塩を指導してもなかなか実践してもらえない。身近に減塩でおいしいメニューがあれば取り組みやすいのではと考えた」と日下さんは話す。

今月26、27日には、初の「減塩サミットin呉2012」（読売新聞社など共催、事務局は0823・34・5520）が同市で開かれる。減塩メニューを提供する飲食店の展台が並ぶほか、「減塩クッキングショー」なども市民が参加できる様々な催しが行われる。

こうした取り組みについて、日本高血圧学会理事で国立循環器病研究センター生活習慣病部門長の河野雄平さんは、「塩分の取りすぎは、血圧だけでなく胃がん、脳卒中、心臓や腎の病気にもつながる。医療費削減のためにも減塩を進める活動を各地に広げていく必要がある」と話している。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（東京）
'12.5.12
（札幌）（高岡）
（名古屋）（福岡）

人工心臓 お出かけできます

――体内にポンプ 小型の埋め込み型増加

重い心不全で、小型の補助人工心臓を体内に埋め込む人が増えている。これまで補助人工心臓は大きな機動装置が必要で、患者は病院から外出することができなかった。小型の埋め込み型の登場で、在宅で生活や就業も可能になってきた。

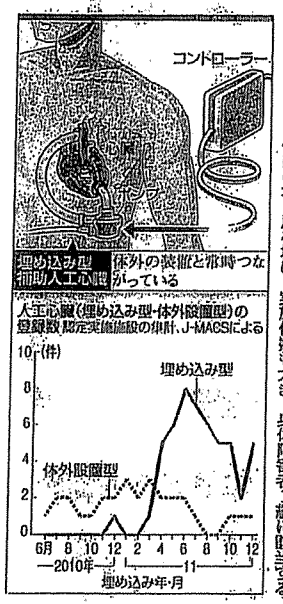
移植待つ間 自宅で日常生活

2010年9月、京都府の男性（31）が、胸の苦しさを訴えて緊急入院した。心臓から全身へ血液を送る機能が低下する拡張型心筋症だった。国立循環器病研究センター（大阪）で、将来的に心臓移植が必要な来期の重症心不全と診断された。11年5月、移植まで心臓のポンプ機能を助ける手段として、補助人工心臓を埋め込む手術を受けた。使われたのは、サンメディカル技術研究所（長野）の「エバハート」。体内に埋め込む血流ポンプは、こぶし大ほどの大きさだった。

男性は手術から約2カ月後に退院。ポンプを動かすコントローラーや充電式バッテリー（重さ計約5㌔）は、ケーブルを通じて体内の装置と常時つながっているが、車輪のついたカートで持ち運べ、自由に移動できる。家族が運転する車で買い物にも出かけている。

エバハートは11年4月、「デュラハート」（テルモ、東京）とともに、国産初の埋め込み型補助人工心臓として保険適用された。従来の補助人工心臓はポンプが体外にあり、小型治療室ほどの駆動装置も必要で、患者は病院の外に出ることができなかった。

国立循環器病研究センターの中谷武嗣移植部長は「埋め込み型ならアクティブに生活しながら長期間、移植を待つことができる。患者にとっては劇的な変化だ」と話す。



年齢や条件 緩和論も

埋め込み型手術は保険適用を機に、実施件数も大きく伸びている＝図。患者は身体障害者1級に該当するので治療費の自己負担はない。

ただし、自分で機器の操作ができ、血栓を防ぐ薬などをきちんと飲むことができなければ、埋め込み型はつけられない。ポンプは5年程度は使えるが、故障などの緊急時に備えて介助者の同居が必要だ。感染症のリスクもある。

日本では現在、心臓移植を前提にした移植までの「つなぎ」にしか補助人工心臓の保険適用は認められていない。選択基準は移植の場合と同じ「60歳未満」に事実上、限られる。この基準に当てはまる患者は、年に500人程度という。

臓器移植法改正で移植件数が増えていることなどから、心臓移植の選択基準を「65歳未満」に引き上げるべきだ、厚労省の心臓移植作業班で議論が始まった。作業班の小野稔・東京大教授（心臓外科）は「欧米ではすでに実施されているが、移植の適応外でも社会生活を続けるために人工心臓を選ぶ人に対して、日本でもチャンスが広がっていく可能性はある」と話している。

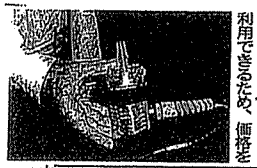
（佐藤純）

朝日新聞
（大阪）ASAHI SHIMBUN（東京）
（札幌）
（名古屋）
（北九州）
'12.5.22

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
（大阪）（東京）
（札幌）
（名古屋）
（福岡）
'12.5.22

補助心臓を再利用

循環器センターなど ポンプ交換で



補助人工心臓システムはプラスチックポンプの部分が使い捨てで交換して再利用する

国立循環器病研究センターはニプロや産業技術総合研究所と共同で新しい補助人工心臓を開発した。血液を送り出すポンプの部分だけ交換して再利用できるため、価格を従来品よりも安くできるという。1カ月ほど振動など本格的な治療が必要かどうかを判断するのに使う。2年後の臨床試験（治験）を目指す。

補助人工心臓は弱った心臓につないで全身に血液を循環させるのを助ける。開発したのは体の外に取り付けるタイプで、心筋梗塞や狭心症など急性心不全の容体が安定しない患者に取り付ける。

心機能が回復するかどうかを見極め、次の治療を決めるまでのつなぎ役として使う。次の患者に使う場合、ポンプの部分だけを取り換える。

直径約6㌢㍍、長さ約12㌢の円筒形で、重さ500㌘の補助人工心臓を試作した。新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の助成事業の成果を生かした。

プラスチック製の羽根車を電磁石の力で回して心臓に血液を送る。羽根車はポンプ内で浮かせて回し、動作不良や症状悪化の原因になる血液の塊（血栓）ができにくい。

羽根車や容器の形状を数百（㍉は100万分の1）㍍の精度で精密加工。羽根車の姿勢が安定し、ポンプ部分の壁などに衝突しないようにした。

3頭のヤギに取り付けて1カ月間動かしたところ、いずれも血栓の発生はなく経過は良好だったという。今後1年かけてさらにヤギ8頭で実験し、効果などを調べる。国循が中心となって医師主導型の治験を目指す。

急性心不全患者の6～7割は容体が不安定な状態が数日から1カ月ほど続く。その間に補助人工心臓を取り付け、長期間の使用を想定した埋め込み型補助人工心臓を移植するかを見極める。こうした用途に使うタイプは300万円以上する。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（大阪）
'12.5.21

リンパ球移動 仕組みを解明

国循研究センター

免疫細胞のリンパ球が作られてから血管内に移動する仕組みを、国立循環器病研究センター研究所（大阪府吹田市）の福原茂朋・細胞機能研究室長らのグループが解明した。過剰な免疫反応が原因で発症する多発性硬化症などの治療に生かせる可能性があるという。

リンパ球には抗体を作るB細胞と、B細胞に指令を出すT細胞があり、B細胞は骨髄で、T細胞は胸腺で作られ、血液とともに全身を巡る。グループは、血液に含まれ、リンパ球を引き寄せる作用のある「スフィンゴシン1リン酸（S1P）」という物質を、血管外に放出させるたんぱく質「Spns2」に着目。「Spns2を作れないマウスでは、リンパ球が血中にほとんど含まれないことを実験で確認した。リンパ球はS1Pに導かれ、その濃度がより高くなる血管内へと移っていくが、そのきっかけをSpns2が作るとみられる。

成果は米科学誌に発表。福原室長は「Spns2の働きを制御できれば、免疫異常で起きる病気の治療だけでなく、臓器移植後の拒絶反応の抑制にも生かせるかもしれない」と話す。

毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
(大阪)
'12.6.22

循環器病センター

弁傷つけず心臓手術

国内初 閉塞性肥大型心筋症

心臓内部の筋肉が大きくなって血液の流れを妨げる「閉塞性肥大型心筋症」の患者に対する手術で、左心室にある弁を傷つけずに肥大した筋肉を取り除くことに「国立循環器病研究センター(吹田市)の心臓外科チームが国内で初めて成功した。同センターが21日、発表した。【富山宜部】

センターによると、同心筋症は、呼吸困難や動悸などの症状があり、不整脈と合併すると死亡する恐れもあるため、日本で年間40~60人が手術を受けている。左心室から大動脈への経路に心筋が肥大する「流出路型」が7割を、左心室の内部に心筋が広がる「びまん性」が3割を占める。

このうち、びまん性ではこれまで、心臓上部の左心房に切れ目を入れ、そこから大きくなった筋肉を取り除いていた。しかし、心房と心室の間にある「僧帽弁」を切除しなければならず、人工の代替弁を付けたり、患者が抗血栓薬を飲み続ける必要があった。

同センターの小林順二郎・心臓血管外科部門長らは5月下旬、びまん性の同心筋症を患う奈良県の40代男性に、従来とは異なる手法の手術を実施した。左心室の下部に6ミリの切れ目を入れ、僧帽弁を傷つけずに肥大した左心室の筋肉をはさみやメスで取り除く手法で、無事に成功したという。

小林部門長は「国内では初めての例ではないか。今後の患者の治療に役立てたい」と話す。男性は手術10日後に退院し、経過は良好という。

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(大阪)
'12.5.23

循環器病研究に「バイオバンク」

国立循環器病研究センター(大阪府吹田市)は22日、心臓病や脳卒中などの新たな診断や治療法の開発につなげるため、患者の血液や診断情報を蓄積する「バイオバンク」事業を6月から始めると発表した。循環器の領域に特化した事業は国内初で、集めた試料やデータは将来的に国内外の研究者や研究機関に提供する予定。今後5年以内に約5万件の試料を保存することを目標としている。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
(大阪)
'12.7.-1

「心筋症」弁切らず治療

国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）の小林順二郎・心臓血管外科部門長のチームが、左心室の心筋が大きくなる難病の「閉塞性肥大型心筋症」の患者に対し、心臓内の弁を切り取らずに治療する方法に国内で初めて成功した。人工弁を埋め込む必要がなく、患者の負担軽減につながるという。

国循によると、患者は奈良県に住む40歳代の男性。不整脈も併発しており、5月下旬に手術を実施した。

同心筋症の患者には通常、心臓内の僧帽弁を切除してから、心筋の一部を切り取り、人工弁で補う。今回は、不整脈の原因とみられる硬化した左心室の一部を切り取り、そこから心筋を切除した。男性は退院し、経過も良好だという。

朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
(大阪)
'12.6.-1

心臓の動き PCで再現

ソフトを開発

心臓の動きをパソコンで本物そっくりに再現するシミュレーションソフトを、国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）と理化学研究所などが開発した。下からみたり、輪切りにしたりするなど、自在に操作できる。開発チームは「心臓の働きや病気について、患者さんに理解してもらうのに役立つ」という。

心臓全体を約7千個に分割。それぞれの収縮運動を計算し、コンピューター・グラフィックス技術で全体の動きとして再現＝写真・同センター提供。心臓は単純なポンプではなく、各部分が精密に連係しながら拍動している様子がわかる。

これまでのシミュレーションは、大型コンピューターによる計算が必要だった。研究チームは簡略な計算手法を開発し、パソコンレベルで再現できるようにした。31日、米科学誌「プロスワン」電子版に掲載された。



D デジタル版に動画

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
(全国)
'12.7.25

医療ルネサンス No.5375

食と健康

おいしさ保つ減塩技術

広島県呉市で5月、ユニークなイベントが開かれた。

タイトルは「減塩サミット」。減塩の効果に関する研究発表のほか、減塩食の屋台も出て、市民にも「おいしく減塩」をアピール。開会式では主催者を代表して内科医の日下美穂さんが「国の未来のために市民と医師が一緒になって減塩を考えたい」と訴えた。

減塩は国民の健康寿命を左右する重要な栄養目標の一つだ。国内の高血圧患者は推定4000万人。世界でトップクラスの塩分摂取量の多さが影響している。

高血圧が怖いのは、動脈硬化を招き、脳卒中や心筋梗塞など深刻な病を引き起こすことだ。塩分の取り過ぎは、胃がん発症の危険も高める。

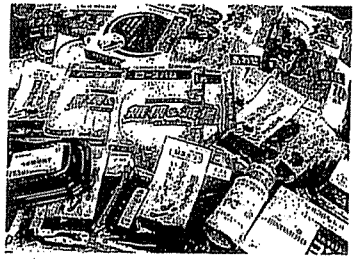
日本人の1日の塩分摂取量は約10・6㌘。年々減っているものの、世界保健機関（WHO）が掲げる目標5㌘の2倍以上。国は次期「健康日本21」（2013～22年度）の目標値を1日8㌘とした。が、塩分の6割は加工食品や外食で摂取しており、個人の努力だけで減塩するのは難しい。食品メーカーや外食産業の取り組みも必要だ。

こうした社会的な課題を受け、減塩に取り組む企業は増えている。だが、味気なさへの抵抗感もあって、減塩商品を買うのは一部の健康意識の高い人だけだ。

そこで、誰もが抵抗なく受け入れられる減塩食品の開発に挑戦し始めた企業もある。

「伊藤ハム」（兵庫県）は塩分を半分にしたハムを09年から開発している。開発段階で問題となったのは、塩分を減らすと味が物足りなくなり、食感も悪くなることだった。「健康目的だけでは消費者に選ばれない。味は妥協できない」（同社加工食品事業本部）。

そこで用いたのが「味の素」（東京都）が開発した「舌に感じる塩味はそのまま、ナトリウムを下げる」という減塩技術だった。



味の素の減塩技術を使った商品

日本高血圧学会減塩委員長の河野雄平さん（国立循環器病研究センター）は、「個人への個別指導だけでなく国民への啓発や塩分表示の義務付け、食品産業の協力など多面的な取り組みが必要だ」と話す。

血圧を上げるのは、食塩（塩化ナトリウム）に含まれるナトリウム。食塩の半分まで塩化カリウムに置き換えても塩味はほぼ変わらない。ただ、カリウムには苦みがある。それを抑えるため、納豆のねばねば成分の正体である「ポリグルタミン酸」を加える。

味の素は自社製品のほか、様々な企業の減塩商品の開発に協力。中には減塩と表示せずにこの技術を使った商品を売り、気付かないうちに多くの人が減塩食品を食べていることもある。

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(夕刊)
'12.7.27
夕刊

意外と多い夏の脳梗塞

脱水、血管詰まりやすく



毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
(大阪)
'12.7.16

NEWS NAVIGATOR



移植はどこでも受けられるの？

なるほドリ　心臓移植を大阪大病院（吹田市）で受けた10歳未満の女の子が、順調に回復していると報道されたね。移植はどこでも受けられるの？

記者　そんなことはありません。心臓移植は、臓器移植法に基づいて脳死と判断された臓器提供者（ドナー）から提供を受けて実施されますが、手術前から医師だけでなく看護師、関係者と調整するコーディネーターなど、多くの人が携わります。もちろん、高度な医療技術も必要になります。他の臓器でも同じですが、これらがそろって移植施設と認められるのです。

Q　心臓移植は大阪で多い印象があるけど。

A　心臓移植が可能な施設は全国で約10カ所、指定されていますが、近畿地方では阪大病院と国立循環器病研究センター（同市）の2カ所です。これまで130例を超える心臓移植がありましたが、阪大病院では約40例、国立循環器病研究センターでは約50例実施されました。結果的に心臓移植の大半が、この2施設であったことになります。

技術や人材整った施設が条件

130術中約90例が大阪で実施

Q　心臓移植の前提になる脳死判定ができる医療機関も決まっているの？

A　決まっています。脳死とされた後に脳死判定される場合が多く、当然ながらまずは、救命治療に全力を挙げなければなりません。厚生労働省のガイドラインでは、高度な医療を行う▽大学病院▽日本救急医学会の指導医指定施設▽救命救急センターとして認定された施設――などに当てはまる施設で臓器提供ができると定められています。全国に約340施設あり、府内には9カ施設あります。

Q　臓器の提供施設でも移植施設でも、高度な医療が必要なんだね。ところで、臓器提供については自分で意思を表明できるんだよね。

A　その通りです。コンビニエンスストアにも置かれている「意思表示カード」に記入したり、最近では保険証や運転免許証にも記入できる例があります。日本臓器移植ネットワークのホームページからも登録できます。現在は本人の意思が不明でも、家族の承諾で脳死判定と臓器提供が可能ですが、本人の考えが分かっていれば家族も判断しやすいはずです。「臓器提供する」「臓器提供しない」どちらの意思も必ず尊重され、手続きが進められます。

回答・江口一（科学環境部）



あなたの質問をお寄せください。
〒530―8251（住所不要）毎日新聞社会部「質問なるほドリ」係
（o.shakaibu@mainichi.co.jp）

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(大阪)
'12.9.25

国循に「モヤモヤ病」専門外来

脳梗塞、脳出血の恐れ

国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）は24日、脳内の細い血管が異常に増える難病「モヤモヤ病」の専門外来を設置すると発表した。センターによると、モヤモヤ病の専門外来設置は全国的にも珍しいという。開設は10月1日付で、毎週水曜日に診察日を設ける。

モヤモヤ病は、脳の太い動脈が細くなったり、詰まったりして脳に流れる血液の量が減少して起こる病気。脳血管の造影検査をすると、血管が煙のように「モヤモヤ」と見えることから名付けられた。国内の推定患者数は約7500人。原因は不明で、治療法も確立されていない。幅広い年代で発症し、病気にかかると脳梗塞や脳出血の症状が起き、重症の場合は死に至ることもあるという。

センターの中川原譲二・脳卒中統合イメージングセンター部長は「脳ドックでモヤモヤ病が見つかる例が増えており、患者の受け皿になるようにしたい。患者を長期的にフォローして社会的支援にもつなげたい」としている。

朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
(全国)
'12.9.-1

脳梗塞4時間半後まで使えます

治療薬 延長認める

厚労省、保険を適用

厚生労働省は8月31日、脳梗塞の治療薬について、対象患者を発症後3時間以内から4時間半まで延ばすことを認めた。公的医療保険が使えるようになる。とりわけ、患者を遠くの医療機関まで搬送しなければならない地方などで恩恵が大きくなりそうだ。

使用時間が延びる薬は「tPA（アルテプラーゼ）」。2005年に承認された。脳卒中の8割近くを占める脳梗塞の治療薬で、脳の血管に詰まった血の塊を溶かす作用がある。

欧州の研究チームが08年、発症後4時間半たった患者でも治療効果があると発表し、欧米では発症後4時間半まで使われるようになった。国内では、日本脳卒中学会が08年から厚労省に延長を認めるよう求めていた。

一方で、発症からの時間は短いほど効果は高いため、病院到着から遅くとも1時間以内に使用を開始するよう、日本脳卒中学会は緊急声明を出した。

tPAの治療を受けている患者は現在、年約8500人。脳卒中学会のtPAに関する委員会の委員長、豊松一夫・国立循環器病研究センター副院長は「使用時間延長で、使える患者が2割ほど増えるだろう。ようやく使用時間の延長が認められた」と話している。（大岩ゆり）

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
'12.9.15
別刷

調味料全体減らし だし活用

減塩でもおいしく食べるには

具材小さめに切る 酸味でアクセント

高血圧のような過度な塩分摂取がリスクにつながるので、普段から自分の摂取量を少なくするのがよい。毎日の生活などと関係するが、塩分を抑えてもおいしく食べるにはどうすればよいか、その秘訣を専門家に聞いた。

日本人はしょうゆやみそなど塩分が多い調味料を使う。国民健康・栄養調査（2010年）によると、成人1人当たりの平均摂取量は男性11グラム、女性9・5グラムだった。厚生労働省は1日の塩分摂取目標量を男性9グラム未満、女性7・5グラム未満とする高血圧治療ガイドライン（日本高血圧学会）の基準を参考にしている。

塩分の過剰摂取は高血圧のリスクを高めるとされる。厚労省は「高血圧治療ガイドライン」の基準の半分程度に減らすことを目標に掲げる。

対象は5千万人

厚生労働省は、1日当たりの食塩摂取量を10年で

塩分を抑えよう

塩分のとりすぎはなぜダメか

塩分過多 → 高血圧 → 動脈硬化 → 心筋梗塞 脳卒中 など

体内の塩分量を調整する腎臓に負担も

厚生労働省が目標として提示する1日当たりの食塩摂取量

男性 8グラム未満 女性 7グラム未満

塩分量をチェックしよう

食品表示のナトリウム(Na)＝食塩の量ではない。塩分換算が必要

食塩相当量(グラム)＝ナトリウム(ミリグラム)×2.54÷1000

含まれる塩分量（およそ、グラム）

大さじ1杯（15ミリリットル）の調味料

濃口しょうゆ	2.2	薄口しょうゆ	2.0
みそ	2.1	マヨネーズ	0.2
トマトケチャップ	0.5	バター（有塩）	0.3

加工食品

塩ざけ1切れ	2.0	天ぷらそば	10
梅干し1個	1	カツ丼	9.5
食パン6枚切り1枚	0.8	ラーメン	7
ロースハム1枚	0.6	豚肉のしょうが焼き	3
プロセスチーズ1切れ	0.6	ざるそば	3

外食（1人分）

減塩調理のコツ

- 塩分だけでなく調味料全体の量を減らす。塩分や油の量も減らす
- だしをうまく使う。少量のしょうゆとだしで下味を付ける時などに利用する
- 野菜や肉は小さめに切って味がしみ込みやすくする
- 香りを加える。ショウガ、ネギ、シソ、ハーブ、ユズ、ゴマ、かつお節など
- カレー粉などの香辛料を使ったり、レモンや酢で酸味を付けたりしてアクセントに

（注）厚生労働省の資料などを参考に作成

塩分控え肉じゃが

4人分

牛肉または豚肉切り落とし150グラム、サラダ油大さじ1/2、ショウガ1片、ジャガイモ400グラム、ニンジン1/2本、クマネギ1/2個、グリーンピース缶個、だし1カップ、塩大さじ1、砂糖大さじ1、しょうゆ大さじ1、みりん大さじ1/2

作り方

1. ジャガイモとクマネギを一口大に切り、ニンジンは一回り小さい乱切りにする
2. 肉を一口大に切り、しょうゆ大さじ1/2をもみこむ。ショウガは千切りにする
3. サラダ油でショウガをいためて香りをだし、肉を加えていためる
4. 2に4を加えて油が回るまでよくいため、だしを加えて煮立て、落とし蓋を入れる
5. 中火で15分ぐらい煮て、野菜が柔らかくなり、だしがなくなったら、残りのしょうゆ大さじ1/2とみりんを加える
6. 器にとりわけ、彩りでグリーンピースをそえる



減塩にひと工夫

- 食塩相当量が低い食品を選ぶ
- 麺類のスープは残す
- 漬物は控えめに
- 外食は単品メニューを選ぶ
- 香辛料や酸味を利用する
- 野菜や果物を積極的に食べる
- 新鮮な食材を選ぶ

（ライフ・ヘルスケアなんでもマップ「減塩に関する記事」）

（編集委員 安藤淳）

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(大阪)
'12.9.26

国循ノウハウ詰まったレシピ

おいしい減塩食好評

府庁食堂 一般客にも提供

「健康的でおいしい」と定評のある国立循環器病研究センター（吹田市）の減塩食をもとにしたメニューの提供が、府庁本館（大阪市中央区）の食堂で始まった。担当者は「食堂は職員以外も利用可能。府民の生活習慣病の予防や改善につながれば」と期待している。

府職員や府民に同センターのノウハウが詰まった減塩食を味わってもらおうと、健康的な外食の提供に取り組んでいる団体「大阪ヘルシー外食推進協議会」などが企画。レシピの作成やネット配信を手がける企業の協力を得て、同センターの減塩食をデータ化し、府庁食堂でも再現できる調理支援システムを構築した。



府庁本館の食堂で提供されている減塩食メニュー

「日本人の塩分摂取量は1日当たり約11㌘で、世界の中でも多く、脳卒中や心臓病などの循環器病発症の要因になっている」と指摘する同センター。今回の提供メニューでは2㌘以下に抑える一方で京料理の手法を活用してしっかりした味付けで、減塩とおいしさを両立させているという。

府庁食堂では今月10日に提供を開始。減塩食メニューは日替わりで、「ごはんにおかずが4～5品つき、1日30食限定で580円。注文した男性職員(45)が「生活習慣病が気になる年齢なので、ぜひこれからも食べ続けたい」と話すなど職員を中心に人気は上々といい、今後は売れ行きをみながら提供数を増やしていく方針。

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(全国)
'12.10.24

心臓分泌ホルモン がんの転移を抑制

心臓から分泌され血管を保護するホルモンが、がんの転移や再発を抑えることを国立循環器病研究センター（大阪府）などのチームが解明し、23日発表した。

がん細胞は血管を通じて転移するが、これを抑える薬はなかった。一般的にがんが心臓に転移しないのはこのホルモンの働きと考えられる。ホルモンは心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）で、心不全の治療薬として使われている。

同センター研究所の栗川賢治所長は「あらゆる種類のがんの転移や再発を予防できるとみられ、世界初の治療法になると期待される」としている。

朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
(大阪)
'12.10.24

心臓ホルモン製剤 がん転移阻む

国循・阪大発見 予防薬に道

心不全に広く使われる心臓ホルモンの製剤に、がん細胞を転移させづらくする働きがあることを、国立循環器病研究センターと大阪大などの研究チームが見つけた。このホルモンを使うと肺がんの再発が減り、ほかのがんにも効果があることを動物で確認しており、幅広いがんの転移予防薬になる可能性がある。

心臓にはがんが転移しづらいことから、チームは心臓に特有なANPというホルモンに着目。2009年から非小細胞肺がん患者の再発の有無を観察して552人の最新データを調べたところ、がん手術中から心不全治療などでホルモンを点滴した人の2年後の再発率は4・5%、使わなかった人は19・2%と、明らかな差を確認した。

ヒトのがん細胞を移植したマウスの実験でも、ホルモンを使った方が、そうでない方に比べて、血管転移のがん細胞数が、肺腺がんで約5分の1、肺の大細胞がん・大腸がん・乳がんで約3分の1と少なかった。ホルモンが、血管の内壁を守って、がん細胞を漏らしづらくしている仕組みも確かめた。

このホルモンは、同センターの寒川賢治研究所長らが1984年にヒトで報告し、利尿作用がある急性心不全治療の薬として国内で広く使われている。

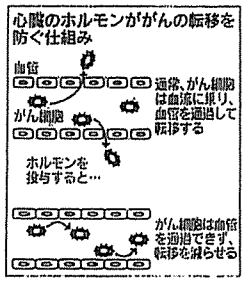
現在、がんにも使えるよう阪大が臨床試験を準備中。研究結果は、25日からの日本救急医学会で発表する。

(福地慶)

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(全国)
'12.10.24

ホルモン分泌 転移防ぐ

心臓、がんにならないのは



国立循環器病センター

国立循環器病研究センターは23日、心臓から分泌されるホルモンがんの転移を防ぐ仕組みを突き止めたと発表した。ホルモンが血管を傷つけていた。がんが心臓に転移しない理由を明らかにした成果で、他の臓器へのがん転移を防ぐ療法に応用できる可能性もあるという。

がんは様々な臓器に転移するが、一般に心臓では起こらない。研究チームは心臓から分泌されるホルモンで、心不全の治療に使われる「心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）」を投与したがん患者は、がんの再発が少ないことを見つけた。

そこで、遺伝子組み換え技術を使い、ANPと結合するたんぱく質が血管にできないマウスを作った。がん細胞は転移しなければ数日で死滅する。この期間をANPで守れば、転移を防げる可能性があるという。通常の約3倍に増え、心臓にも転移した。

逆に結合たんぱく質が過剰にできるマウスは転移が約15分の1に減った。

ANPは血管を保護して腫瘍から分泌されるホルモンで、心不全の治療に使われる。動物実験では肺や乳、大腸がんなどで転移を防ぐ効果を確認した。ただし、もともとあるがんを小さくする作用はないという。

臨床応用では、がんの摘出手術の際に投与する方法が考えられる。血管内のがん細胞は転移しなければ放っておいても死滅する。この期間をANPで守れば、転移を防げる可能性があるという。

他臓器の治療に応用も

毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
(大阪)
'12.10.24

がん転移抑制ホルモン

心臓から分泌 血管を正常化

循環器病研究センター

心臓から分泌され血管を保護するホルモンが、がんの転移や再発を抑えることを国立循環器病研究センター（大阪府）などのチームが解明し、23日発表した。

がん細胞は血管を通じて転移する。一般的にがんが心臓に転移しないのはこのホルモンの働きと考えられ、同センター研究所の寒川賢治所長は「あらゆる組織のがんの転移や再発を予防できるとみられ、世界初の治療法になると期待される」としている。25日から仮浜市で開かれる日本癌治療学会で報告する。

ホルモンは心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）で、心不全の治療薬として使われている。

がんの転移は、血中に漏れ出たがん細胞が、炎症などで傷ついた血管の壁にくっつき外の組織に出て起きるとされるが、チームはANPによって血管が正常な状態になり、がんが壁にくっつきにくくなるとみている。

チームは、肺がんの手術の際に不整脈などを予防するためANPを投与した患者は、再発率が低いことを発見。通常、手術後2年以内に約20%が再発するが、投与すると約4%に下がった。

マウスにヒトの肺がんの細胞を移植するとANPによって血管がもろくなり肺へ転移する細胞の数が約80%減少。乳がんや大腸がんの細胞では、肺への転移が約70%抑えられた。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
(大阪)
'12.10.24

がん転移 抑えるホルモン

心臓分泌 国循など確認

副作用ない治療に期待

心臓から分泌されるホルモンに、がんの転移を抑える働きがあることを、国立循環器病研究センターと大阪大のチームが突き止めた。副作用の心配がないがん転移を防ぐ治療法の開発につながると期待される。横浜市で開かれる日本癌治療学会で26日に発表する。

同センター研究所の寒川賢治所長らが発見した「心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）」というホルモン。心臓や血管を保護する役割があり、心不全の治療薬に使われている。

チームは、肺がんと心疾患を併発した患者に、がん手術後の不整脈などを予防するためANPを投与すると、がんの再発が少ないことに着目。肺がん患者の再発率は通常、術後2年で20%程度だが、ANPを投与した90人では1人にとどまった。

がん細胞があるマウスを使った実験では、ANPの投与で転移を通常の15～30%に抑えた。一方、ANPが働かないよう遺伝子操作したマウスは、肺や肝臓に転移したがん組織が通常の4～6倍多かった。普通は起こらない心臓への転移もあった。

がん細胞は血液を通じて移動し、血管内皮に潜り込んで転移する。がん患者は抗がん剤や放射線による治療で血管内皮が傷つき、がん細胞が潜り込みやすい。再発の多くは、手術時に血中にがん細胞が流れ出すことによる転移が原因だ。

チームはANPが血管内皮を保護してがん細胞をブロックすると見ており「様々な種類のがんの転移を抑制できる可能性が高い。来年中に臨床研究を始めたい」としている。

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(全国)
'12.10.26
夕刊

忍び寄る危険 大動脈瘤

血管内治療、負担小さく 精密検査で特定可能

出血前に手術こそ

大阪市に住む60代男性の夫さんは昨年10月、突然、トイレで倒れた。救急車で搬送された病院で、胸部に異常が見つかった。医師の診断は大動脈瘤の破裂。人工血管をつなぐ緊急手術を受け、1カ月近く入院した。

大動脈瘤は、心臓から全身に血液を送る大動脈の壁が膨らむ病気だ。ある日突然、大動脈が破裂すると出血多量で死に至る。破裂前に症状をつかむのが難しく、「サイレントキラー」とも呼ばれる。

破裂前に出血が始まると、激しい胸や背中の痛みに襲われる

朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
(大阪)
'12.11.22

長～い人工血管 長～い首から

首の長いダチョウの頸動脈をつかって細くて長い人工血管をつくることに国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）が成功し、21日発表した。心臓の冠動脈バイパス手術などでは患者本人の別の血管を使うなどしているが、実用化されれば長い血管が手軽に入手できるようになる。

開発した人工血管は内径約2ミリ、長さ約30センチ。これほど細くて長い実用的なものは世界初という。

血管は、細い部分を太い血管で置き換えると血の流れが遅くなって詰まりやすい。また、人工材料でつくると感染症にかかりやすいのが欠点だった。

センター生体医工学部の馬原淳研究員らは、宮城県気仙沼市でサメの血管が使えないか調べたり、ラットで基礎実験したりしてきた。今春、食用ダチョウの首を仕入れてみたところ、細さと長さが求めているとおりだったという。

移植後の拒絶反応を避けるため、ダチョウの血管に1万気圧をかけて内皮細胞などを除去。血液が固まりにくくなる特殊な加工もした。ブタ4頭に移植実験して詰まらないことを確かめた。山岡哲二部長は「3年後をめどに人に移植できるようにしたい」と話した。

長い人工血管があれば、これまでは切断するしかなかった重い糖尿病患者の足が救える可能性もあるという。（東山正宣）



ダチョウの血管で
つくった人工血管

国循センター開発 ダチョウ使い30センチ

毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
(大阪)
'12.11.22

ダチョウの首から長～い血管

30センチ、国循3年後臨床目指す

ダチョウの長い首の血管を加工し、穴の直径約2ミリ、長さ約30センチの血管を作ることに成功したと国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）が21日、発表した。

この人工血管をミニブタに移植し、詰まることなく使用できることを確かめた。センターの山岡哲二生体医工学部長は「ヒトの治療に使えるような細くて長い人工血管の開発は世界初。3年後の臨床応用を目指したい」としている。

心臓の冠動脈が詰まって血流が途絶え、心筋が壊死して起きる心筋梗塞の患者には、冠動脈に別の血管をつなぎ、血流を回復するバイパス手術が実施される。この際、穴の直径約2ミリ、長さ約15センチの血管が必要だが、実用化された人工血管はなく、体内の別の血管で代用することが多い。

山岡部長らは、食用ダチョウの首の動脈に、高い圧力をかけ細胞や雑菌を除去し、コラーゲンなどでできた管を作った。管の穴の表面には血管の細胞がくっつく物質を付けた。成果は福岡市で開かれる日本人工臓器学会で24日に発表する。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
(全国)
'12.11.22

人工血管 ダチョウ動脈から

国循が成功 心筋梗塞の治療に期待

ダチョウの首の動脈を使って、細くて長い人工血管を作ることに、国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）が世界で初めて成功したと、21日発表した。細い人工血管は、血が固まって詰まるのが問題だったが、ブタに移植しても詰まらなかった。心筋梗塞の治療などに応用が期待される。

心筋梗塞などで、詰まった心臓の動脈をう回させるバイパス手術では、内径2・5ミリ・以以下で長さ10センチ・以以上の血管が必要だ。しかし人工血管は、内径4ミリ・以以上しか実用化されておらず、患者の胸や太ももの血管が使われている。

同センターの山岡哲二・生体医工学部長らは、食用に飼育されたダチョウから、頸動脈を採取。ヒトに似たコラーゲンなどからなる管の構造は保ちながら、細胞を取り除いた。内径は2ミリ・以、長さ30センチ・以になった。その後、内側に、血管の内皮を再生させるたんぱく質のかけら「ペプチド」を並べた。

ブタ4匹の右足の動脈を止め、この人工血管で左足の動脈とつなぐバイパス手術を行うと、いずれも3週間後、管の内側はブタの内皮組織で覆われたため血管は詰まらなかった。

3年後の臨床研究を目指しており、山岡部長は「ダチョウの頸動脈は採取がなく、治療に使いやすい」と話している。

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(大阪)
'12.11.22

ダチョウから人工血管

細く長く「人の治療使える」

国循、世界初



ダチョウの長い首の血管を加工し、穴の直径約2ミリ、長さ約90ミリの血管を作ることに成功したと国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）が21日、発表した。この人工血管をミニブタに移植し、詰まることなく使用できることを確かめた。

センターの山岡哲二生体医工学部長は「ヒトの治療に使えるような細くて長い人工血管の開発は世界初。3年後の臨床応用を目指したい」としている。

心臓の冠動脈が詰まって血流が途絶える心筋梗塞の治療では別の血管をつないで血流を回復するバイパス手術を行うが、穴の直径約2ミリ、長さ約15センチの血管が必要。実用化された人工血管はなく、体内の別の血管で代用することが多い。

山岡部長らは、食用ダチョウの首の動脈に1万気圧の高い圧力をかけて細胞や繊維を除去し、コラーゲンなどでできた管を作った。管の穴の表面には血管の細胞がくっつく物質を付けた。

ブタ4匹で、右後ろ脚根元の動脈を縛って血流を止めた後、この人工血管で左後ろ脚の動脈とつなぐと、血流が回復。3週間後も異常はなかった。人工血管の内面にはブタの細胞がくっつき、血管の「内膜」という構造ができていた。

成果は福岡市で開かれる日本人工臓器学会で24日に発表する。

ダチョウの首の動脈を手に取る国立循環器病研究センターの山岡哲二生体医工学部長＝21日、大阪府吹田市

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(東京)
'12.11.20

人工血管 体内で作製

チューブ埋め込み「型」に

国立循環器病研究センター一病院
国立循環器病研究センター
中山泰秀・研究所長や岩井良輔研究員ら

国立循環器病研究センターの中山泰秀・研究所長や岩井良輔研究員らは、体内に埋め込んだチューブを「型」に利用して人工血管を作る技術を開発した。血管の層構造を再現できた。これまで難しかった細い血管も作製可能という。4年後をメドに医師主導型の臨床試験を始める。

直径約5㍉、長さ約3㌢のアクリル製のチューブの中に、脂肪から取り出した細胞を入れる。チューブ表面には直径0・5㍉の穴が180個開いており、皮膚の下に埋め込むと細胞の成分が働き掛けて、チューブの外側に血管の3層構造ができる。移植時にはチューブを抜いて使う。

実験ではラットの皮下に移植した。2週間で厚さ約1㍉の壁面を持つ血管になった。これまで作り出せなかった血管内皮細胞の層まで再現できた。弾力性も十分あり細胞の並び方も規則正しく、生体に近かった。

新技術でつくった血管は患者の細胞をもとに作るため、移植しても拒絶反応が起こらない。血の塊(血栓)ができにくいので安全性も高いという。

まずは動脈硬化などで血液の流れが悪くなった心臓の冠動脈の迂回路をつくる手術などへの応用を目指している。

従来の人工血管は繊維製や樹脂製が多い。血栓ができて詰まるリスクを回避するため、一般に直径6㍉以上のものを使う。これより細いものは患部の血管を取り出して患部に移植していた。

成果は22日から福岡市で開かれる日本人工臓器学会大会で発表する。

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(全国)
'12.11.-2

心移植患者にバイパス手術

国循、冠動脈狭窄で国内初

心臓の移植後、心臓を取り巻く冠動脈が細くなる「冠動脈狭窄」を発症した患者に対し、別の血管と冠動脈につないで血液を流れやすくする手術に国内で初めて成功したと国立循環器病研究センター(大阪府吹田市)が1日、発表した。

実施したのは「冠動脈バイパス手術」で、感染症のリスクや患者の体への負担を減らすため人工心肺は使わなかった。

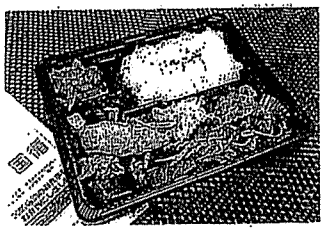
同センターの中谷武嗣移植部長は「移植後の治療も充実させることで、本当の意味で成熟した心臓移植医療が達成できる」としている。移植後の冠動脈狭窄は、慢性拒絶反応の一つとされるが、発症の仕組みははっきりしていない。移植した心臓には神経がつながっていないため胸の痛みなどの自覚症状がなく、患者にとっては突然死の原因となる。

手術を受けたのは同センターで平成20年、拡張型心筋症のため心臓移植を受けた40代女性。今年9月の定期検診で冠動脈狭窄が見つかり、10月上旬に手術した。17日後に退院し、自宅で元気に過ごしている。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（大阪）
'12.11.23

塩分2グラム未満 健康弁当

国循が開発



手間暇かけ、味も好評

吹田市の国立循環器病研究センターが、病院食をアレンジして開発した減塩食の「国循弁当」＝写真＝の売れ行きが好調だ。塩分を2グラム未満に抑える一方、味付けなどを工夫し、「おいしくて健康的な弁当」と評判を呼んでいる。

同センターの病院食は、塩分摂取量を1日3食で計6グラム以下に設定。薄味になりすぎないよう時間をかけてだしをおかずに染み込ませているほか、おかずを花形に切るなど見栄えの工夫にもこだわっている。

患者から「懐石料理みたい」「病院食と感じない」と好評で、同市の食品会社と提携し、5月から同センターの食堂で一般向けに弁当（一食700円）として販売。1日20～30食売れており、同市や豊中、箕面、池田各市で宅配もしている。

同センター知的資産部の冀英介部長は「ボリュームがあるのにカロリーや塩分は低く、循環器系疾患の要因になる高血圧の予防にもなる。健康増進のため市民に広めたい」と話している。

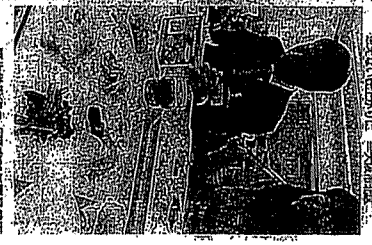
産経新聞
SANKEI SHIMBUN
（大阪）
'12.12.26

減塩

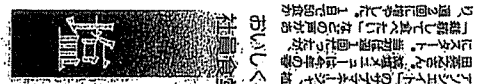
おいしく楽しく…

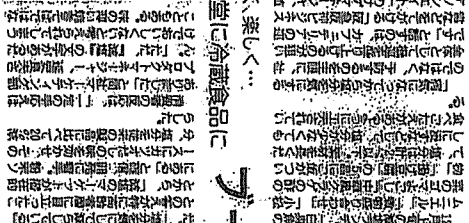
社員食堂に冷凍食品

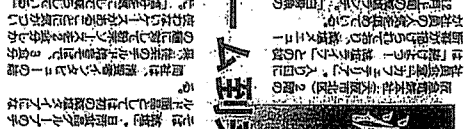


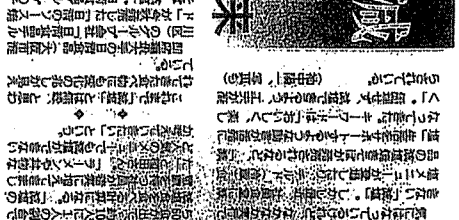


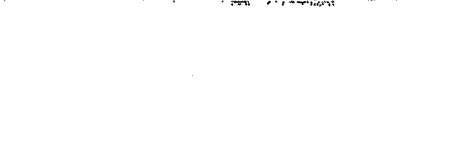
国循病院の社員食堂のメニュー。だしをしっかりと効かせ、素材そのものの味を生かしている＝吹田市









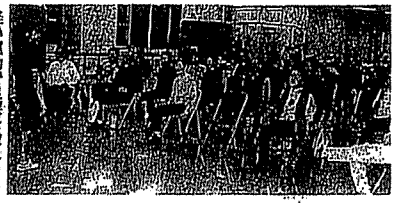




産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(大阪)
'12.12.14

加齢によるめまい 体操で改善しよう

豊中で17日に教室



軽い運動で足腰を鍛えることもめまいの改善につながるという=吹田市の国立循環器病研究センター

加齢で引き起こされるという「めまい」やふらつきを体操で改善しようと、国立循環器病研究センター（吹田市）とスポーツクラブを経営する「コナミスポーツ&ライフ」が17日、豊中市のコナミスポーツクラブ千里中央で「めまい対策教室」を開く。

めまいは一般的に耳や脳から生じるケースが知られているが、加齢によるめまいも増加傾向という。「三半規管の衰えからめまいを感じる人は65歳以上で3割以上。加齢性のめまいは、転倒を引き起こし、骨折することも」と国立循環器病研究センターの長束一行・脳神経内科部長は話す。

加齢によるめまいは、運動指導を続けることで症状が軽減することが少なくないが、あまり知られていない。11月末にセンターで開かれた「めまい対策教室」には、日常的にめまいやふらつきを感じる50～80代の男女36人が参加。目を上下左右に動かしたり、頭を前後左右に動かしたりしてめまいの感覚に慣れる運動などを実践した。

長束部長は「習慣的に軽い運動をすることで、めまいが改善するだけでなく認知症予防にもなります」と話している。

午前11時半から。定員30人。問い合わせはコナミスポーツクラブ千里中央（☎06・6873・2200）。

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
(大阪)
'12.12.-2

手術でバイパスや矯正形

重大結果 危険性低く



小林祥泰・脳卒中予防学講座特任教授

心臓病

病院の実力

＊大阪版

病院の実力「心臓病」

病院名	心臓病の患者数	心臓病の入院患者数	心臓病の手術件数	心臓病の緊急手術件数	心臓病の平均在院日数	心臓病の入院死亡率	心臓病の退院後死亡率
大阪府医師会	1,100	1,410	350	135	14.1	4.4	11.4
大阪警察病院	1,041	1,341	340	69	10.1	4.9	10.9
大阪赤十字	981	1,329	627	97	9.1	6.2	9.3
関西医科大学	1,046	1,751	1,172	45	9.7	2.3	7.4
大阪市立大学	0	0	0	0	0	0	0
大阪労災	41	516	44	28	9.1	2.2	7.4
国立大阪医療	276	1,280	53	21	9.1	2.2	7.4
市立豊中病院	46	307	31	31	9.1	0	0
関西労災病院	23	333	34	31	9.1	0	0
大阪府立急性期・総合医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪医科大学	0	0	0	0	0	0	0
大阪赤十字	19	391	35	28	9.1	0	0
国立循環器病研究センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪市立総合医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪府立成人病センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪市立十三市民病院	0	0	0	0	0	0	0
大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪府立急性期・総合医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪府立母子保健総合医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪市立総合医療センター	0	0	0	0	0	0	0
大阪医療センター

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（大阪）
'13.1.13

国循が減塩レシピ本

和洋中73種おいしく健康に

国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）は、心筋梗塞や脳卒中などの予防にもつながる減塩食の料理本「かるしお（健塩）レシピ」（セブン&アイ出版、0120・71・2777、税別1800円）＝写真＝を発刊した。院内食を提供する栄養管理室（村井二八室長）の調理師らが、塩分を減らしながら、「おいしさ」にも気配りした和洋中73種類の料理を紹介している。



「かるしおレシピ」を考えた竹田さん（右）と、栄養管理室長の村井さん＝国立循環器病研究センターで

同センターは「健康を守る食生活のレシピとして活用してほしい」と話す。

同センターでは、日本高血圧学会が2004年に高血圧患者の治療指針について「1日あたりの塩分摂取量を『7㌘以下』から『6㌘未満』にしたのをきっかけに、「おいしい減塩食」作りに取り組み始めた。減塩するだけなら、おいしさが損なわれ、患者が食べてくれなくなるからだった。

栄養部の料理で修業を積んだ調理師長の竹田順幸さん（59）らが中心となって、調理法や味付けなどを抜本的に見直した。見た目にもこだわり、懐石料理のように小分けにして1食4～5品に増やし、食べやすくしたところ、入院患者の評判も良くなったという。

昨年から大阪府庁の食堂のメニューなどにも採用されたことから、レシピ本を発刊した。

竹田さんが調理のポイントで強調するのが、下ごしらえだ。豚肉などをいためる前に「入れだし」でゆでたり、だしと酒を染み込ませてから魚を焼いたりして、素材のうまみを逃がさず、少量の塩分しか必要としない料理を心がける。

ほかにも▽調味料にとろみを付け、これは大根おろしでかさを増すことで、食べ応えをアップさせる▽ハーブなどの香りを利かせることで、素材の味をより引き立たせる――など具体的な方法を示し、1品ごとの塩分を0・1㌘単位で明記している。

毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
（夕刊）
'13.1.14

患者に評判減塩食
調理法を集め出版

国立循環器病研究センター

心筋梗塞や脳卒中などを専門に扱う国立循環器病研究センターが、入院患者に評判だった減塩病院食の調理法を集めた「国循の美味しい！かるしおレシピ」（セブン&アイ出版、1890円）＝写真＝を出版した。どの料理も、少ない塩分で食材のうまみを引き出す工夫がこらされているという。

日本人の平均塩分摂取量は1日あたり約11㌘で、国が定めた目標の男性9㌘未満、女性7・5㌘未満を上回る。血液中の塩分濃度が上がると、通常の濃度に戻そうとする働きで血液の量が増え、血圧が高めの人の健康管理だけでなく、健康な人にとってもヘルシーでおいしいメニューの参考にできるという。【久野華代】



心筋梗塞や脳卒中などを専門に扱う国立循環器病研究センターが、入院患者に評判だった減塩病院食の調理法を集めた「国循の美味しい！かるしおレシピ」（セブン&アイ出版、1890円）＝写真＝を出版した。どの料理も、少ない塩分で食材のうまみを引き出す工夫がこらされているという。

日本人の平均塩分摂取量は1日あたり約11㌘で、国が定めた目標の男性9㌘未満、女性7・5㌘未満を上回る。血液中の塩分濃度が上がると、通常の濃度に戻そうとする働きで血液の量が増え、血圧が高めの人の健康管理だけでなく、健康な人にとってもヘルシーでおいしいメニューの参考にできるという。【久野華代】

同書は減塩を「かるしお」と表現し、「薄味」という病院食のイメージを取り払った。例えば、「牛肉すき焼き風」は、牛肉をだし汁で下ゆでして味を付けることで調味料の量を減らし、1人分の塩分を0・4㌘に抑えている。

塩の量を正確に測れる計量スプーン3本セット付き。血圧が高めの人の健康管理だけでなく、健康な人にとってもヘルシーでおいしいメニューの参考にできるという。【久野華代】

毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
(大阪)
'13.1.16

国循で小児臓器移植訓練

国立循環器病研究センター（吹田市）が15日、脳死判定された子供の臓器を移植用に摘出する過程を模した訓練をした。医師や看護師、コーディネーターら約30人が参加。院内外の約70人が見学する中、虐待の有無の判断や法的脳死判定の手続き、臓器摘出までの一連の流れや各自の役割を確認した。【須田桃子】

訓練は、5歳の女児が自宅で小脳からの出血により倒れているのを母親に発見され、救急搬送されたという想定。まず、主治医が、女児の状態を「外科的治療でも回復が望めない重症」と診断後、女児の両親に、脳死と判定される可能性があることを説明した。担当医が「希望があれば、臓器提供について案内させていただきたい」と切り出すと、両親は説明を求めた。

院内では、虐待の有無を判断する委員会が開かれ、医師や看護師らが、外傷がないか、児童相談所への相談歴がないかなどを確認した。その後、連絡を受けて訪れた日本臓器移植ネットワークのコーディネーターが、両親と面会。「臓器提供はあくまで選択肢の一つ」としたうえで、臓器摘出までの流れを、遺体に残る傷なども含めて説明した。両親は提供の意思を伝え、承諾書にサインした。

1回目の脳死判定では、両親も立ち会い、女児役の人形を相手に、医師が各判定項目

産経新聞
大阪・夕刊
'13.2.25

MONO

適塩デリカ『健』すこやか

京阪百貨店守口店

1食につき塩分2g未満、600円以下でも「おいしい」と評判の弁当がある。

"日本一おいしい減塩食"とうわさされる国立循環器病研究センターの「減塩食レシピ」を活用した「適塩デリカ『健』すこやか」。京阪百貨店守口店（大阪府守口市）の食品売り場に先月から登場、早くも話題を集めている。



「1日の塩分摂取量の目標（女性7.5、男性9g未満）においしく貢献できれば」とPRする広報の浜田智美さん＝守口市の京阪百貨店守口店（北村帥子撮影）

循環器病予防に役立つ減塩食の開発に力を注ぐ同センターが、京阪の料理の手法を生かした独自のレシピをデジタル化。これを利用して配食サービス会社「デリケア」が調理を手がける。

おいしさの理由は、こんぶ、かつお、砂糖、淡口しょうゆを合わせた「八方だし」の活用。

これで野菜や肉などを下ゆでした後に調理すると、控えめな味付けでも、うま味を引き出せるのだという。

また焼き魚は塩水で味付けし、ベーコンやハムは塩抜き後に使用、柚子胡椒や京赤醤など薬味で味に変化をつける―というように、さまざまな工夫も重ねている。

利用者の多くが高齢者を中心とした地元住民ということもあり、地域貢献の意味を込めて始めた企画だったが、市外からも問い合わせや要望が相次いだため、期間限定から通常販売に切り替え、販売範囲も5店舗に拡大した。

同店食品部の下岸正宗チーフは「こういう弁当を待っていた、との声がうれしい。健康な人でも塩分を意識してもらえるきっかけになれば」と話している。

「健の塩焼き」や「カレイの照り焼き」など日替わりで1日3種類を販売。各681円。問い合わせは京阪百貨店守口店（☎06・6994・1313）。

人気↗↗減塩なのにうま味充分

大阪・守口市

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
（大阪）
'13.2.25



スプリング8のX線でとらえたマウスの心臓の冠動脈（黒く細い部分、白井さん提供）

生体マウスの冠動脈 画像化し観察 国循

生きたまま観察することが極めて難しかったマウスの冠動脈を、大型放射光施設「SPring-8（スプリング8）」（兵庫県佐用町）で画像化して観察することに成功したと、国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）の白井幹康・心臓生理機能部長らが米医学誌「サーキュレーション・リサーチ」に発表した。

マウスの心臓は人の小指の先ほどの大きさで、心臓を覆う冠動脈は、太い部分でも0・15ミリ・ばしかない。白井部長らは、普通のX線の約1億倍も明るいスプリング8のX線を使えば小さな心臓でも観察できると考え、麻酔で動けなくしたマウスの心臓にこのX線が当たるようセットした。

X線が当たり続けると明るすぎて画像がぶれるため、高速回転する風車状の遮蔽板を操え、X線が心臓に当たる前に適度に遮るなどの工夫を凝らした。造影剤を投与して冠動脈を観察すると、冠動脈が黒くはっきりと写った。血管を広げる作用を持つ薬を投与した場合は、冠動脈が広がった様子も確認できた。

白井部長は「心臓以外の各臓器の細かい血管を見ることもできる。血管にかかわる様々な病気の解明や、細かい血管を再生する治療の評価など、幅広い応用が考えられる」としている。

小室一成・東京大病院循環器内科教授は「生きた動物の心臓でこれほど細い血管を撮影できた例はなく、画期的な手法だ」と評価する。

産経新聞
SANKEI SHIMBUN
(東京)
'13.2.19

先天性心臓病

胎児期に診断
出産前からチームが手術体制

生まれつき重い心臓の病気を持った新生児が手術で救われるようになった。画像診断など医療技術の進歩により胎児段階で病気が判明し、出産前から医療チームを組み、効率的に手術できる体制が取られるようになったからだ。一方で、小児のときに手術した患者が成人になって再び心臓病で入院するケースが増加。医療関係者は「成人になっても定期的に通院し、経過を見守ることが不可欠」と指摘する。（坂口至徳）

各科が連携

先天性の心臓病を持つ新生児は100人に1人で、日本では毎年約1万人が出生すると予測され、その約50%は外科手術などの治療が必要だ。国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）の小児循環器・周産期部門は、生まれつき重い心臓病を持つケースを積極的に受け入れている。手遅れにならないように胎児のときから母親とともに入院し、診療を行うケースは5割超という。

近畿圏在住のA子さんは妊娠後期の超音波検査で、胎児が重症の心臓病である可能性が示唆された。このため、同センター周産期科で、小児循環器科の医師らと合同での診療がスタートした。

詳細に超音波検査を行ったところ、赤ちゃんの心臓の筋肉に栄養を送る冠動脈（通常直径2～3ミリ程度）が直径1ミリ以上に膨らんでいるうえ、右心室に直結していた。この状態では、出生後に肺呼吸が始まって右心室の血圧が下がると、ほとんどの血液が右心室に流れ込み、心臓の筋肉に届かずに重篤な筋肉の障害を起こす。

そこで、周産期科と小児科が厳重に管理して出産し、出生直後には小児科と心臓外科が超音波検査で赤ちゃんの心臓の異常を詳細に確認。1時間以内に緊急手術を始め、冠動脈が右心室と直結した部分を縫ったところ、心臓の筋肉への血流が回復した。手術は成功し、2カ月後には退院。現在は一人歩きもできるようになった。

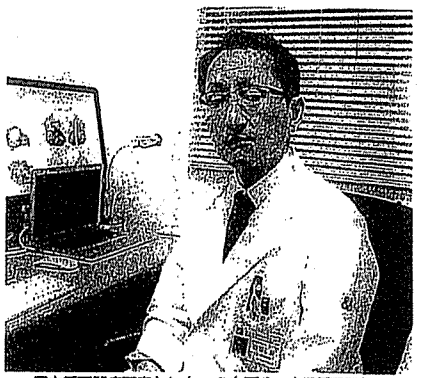
同センターの白石公・小児循環器部長は「胎児期から心臓病を診断し、最も負担が少なく一生の生活の質が保障できる手術の時期や治療法について、関連各科が連携して協議している」と説明する。

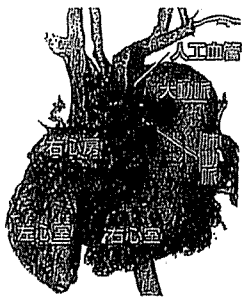
成人で新たな症状

このような診療が成果を上げている背景には、心臓の超音波検査やCT（コンピューター断層撮影装置）など画像診断の技術の発達がある。これによって、胎児の段階で「心臓から出ていく血管の配置が逆」「2つある心室の一方が極端に小さい」など重篤な症状を起こす異常を見つけやすくなった。

ただ、一方で、小児期になされた先天性心臓病の手術で治ったとされる人が、成人になって不整脈や心不全などの症状が新たに出るケースが増えている。成人に達した先天性疾患の患者は40万人を超え、既に未成年の患者数を上回る。成人患者のうち入院が必要となる可能性のある人が3分の1を占める。白石部長は「生まれつきの小児の心臓病の治療は歴史が浅く、手術後の長期間のデータが少なく、予測がつきにくい。患者期に自覚症状がなくなり、根治したと勘違いして通院しなくなるケースなどが多い」と指摘する。

新たな症状は加齢の影響が出る30代以降に起きるとみられ、同センターでは「成人先天性心疾患外来」を設け、継続した治療にあたっている。

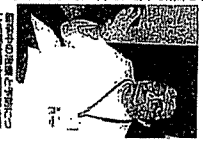

国立循環器病研究センターの白石公・小児循環器部長



3次元CTのデータで詳細に描かれた乳児の心臓（修正大血管転位）。通常の心臓と異なり、左右の心室の位置が逆になり、さらに右心室から大動脈、左心室から細い肺動脈がつながっている。肺に送られる血流が少ないため、大動脈から肺動脈へ人工血管でつないでバイパスをつくっている。（国立循環器病研究センターの白石公・小児循環器部長提供）

読売新聞
YOMIURI SHIMBUN
(大阪)
'13.2.3

後遺症予防を
「チーム」PA



日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(大阪)
'13.2.23

関西特区に3.6億円

内閣府 医療機器開発など支援

内閣府が関西イノベーション国際戦略総合特区への財政支援措置として今年度、約3億6000万円を交付する見通しとなった。総合特区推進調整費（全国で約138億円）の予算の一部を、関西の自治体などが狙いていた国産医療機器の海外への普及促進や医療機器開発の支援に回す。

医療機器の海外普及では、国立循環器病研究センター（大阪府吹田市）が設けているトレーニングセンターに海外から医師や看護師を研修に招いて日本の機器に習熟してもらう普及につなげる。

医師らが最新の医療機器の使い方を学ぶ施設として開設した同センターでは補助人工心臓や血管カテーテル、手術用ロボットなどの訓練ができる。アジア諸国などでも込みで、日本製の医療機器の優秀性を伝え、世界市場を開拓する。

医学グループと、京都大医学部付属病院などで構成するグループを支援している。テーマはともからテーマを公募し、資金面で支援する。すでに2011年度の特区推進調整費を活用しても内視鏡の改良・開発は、大阪国工業研究所が大阪大を中心とするだ。

朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
(夕刊)
'13.3.15
夕刊

毎日緑茶2杯・コーヒー1杯

脳卒中リスク 下がる傾向

緑茶を毎日2杯以上飲む人や、コーヒーを毎日1杯以上飲む人は、飲まない人に比べて脳卒中になるリスクが1～2割低いことが、国立循環器病研究センターや国立がん研究センターなどの疫学調査でわかった。

国立がん研究センターなど 8万人調査

秋田や高知など8県に住む40～70代の男女約8万人に緑茶とコーヒーを飲む習慣を尋ね、頻度に応じてグループに分類。その後、最長で13年、脳卒中や、心筋梗塞など虚血性心疾患にかかったかどうかを調べた。

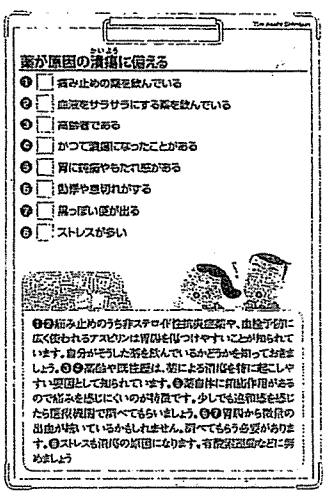
緑茶、コーヒーともに、飲む頻度が高いグループほど脳卒中のリスクが下がる傾向が見つかった。緑茶を毎日2、3杯飲む人は飲まない人に比べリスクは14%低かった。コーヒーでは毎日1杯飲む人のリスクは、飲まない人に比べ20%低かった。虚血性心疾患のリスクは下がっていなかった。研究チームは「緑茶には血管を保護する作用を持つカテキンなどが含まれ、コーヒーには血糖値を改善し、糖尿病を防ぐ効果がある成分が含まれるためだろう」とみる。（辻外記子）

朝日新聞
ASAHI SHIMBUN
(全国)
'13.3.11
夕刊

胃と腸ごころの通信簿

薬剤性潰瘍

動悸・息切れ 便の状態に兆候



相談先一覧

「胃やけ・雲丹．jp」(http://www.muneyake-donsan.jp/voice/vol03.html)は薬剤性潰瘍も特集。アステラス製薬の「なるほど胃気ガイド」(http://www.astellas.com/jp/health/healthcare/)は胃酸・十二指腸潰瘍を解説している。

薬剤性潰瘍の原因となる薬の中では、胃腸薬でもおなじみの痛み止めの薬や、血液をサラサラにする薬が重要です。

国立国際医療研究センター(大阪府吹田市)の岩佐一・行岡哲男消化器内科部長、昔から血栓予防に使われてきたアスピリンには副作用が多いものの、心筋梗塞の予防目的で処方されている。胃の薬の出番だ。

痛み止めの薬は、ロキソニンなどの非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)と、アスピリンは異なるが、アスピリンは異なるが、「その症状は薬によるもの」と気づかれにくいという。

もっともやっかいなのが、潰瘍が進行しないと症状を自覚しにくいことだ。一般に、出血があるなどの症状が現れるときには潰瘍はかなり進んでいる。

胃粘膜を傷つける作用があるため、長く飲むと潰瘍ができやすくなる。薬の作用が強くなくても、高齢者や既往歴がある人は注意が必要だ。

アスピリンを飲んでいる人のうち約3割が潰瘍ができるという。小腸に潰瘍ができる場合もあるが、こうした潰瘍も胃や十二指腸の潰瘍と同じ症状が出る。

潰瘍が進行すると出血や穿孔(胃に穴があいてしまうこと)を起こすこともある。

問題はウマミにつられて薬の飲み過ぎや、飲み方がだらだらと続いてしまうことだ。

自覚症状が出てから「胃カメラ」(内視鏡検査)を受けるのでは遅い。

アスピリンなどは1日1回と決まっている。

(佐伯秀久)

大阪府立大医学部総合医学講座(消化器内科)によると、胃腸薬アスピリンの服用者の5~6%、NSAIDsで15%潰瘍が発症するという。消化管潰瘍による死亡は年間3千~4千人、その大部分は胃潰瘍だという。

おなじみ、痛みや炎症を抑える薬だが、痛み自体が出ないものの、潰瘍や出血を起こすことがある。

胃カメラ検査を受けたことがある人は、「胃の中を見られるのが恥ずかしい」「検査が苦痛」「胃カメラ検査は医師が男性ばかり」などの理由で、検査を受けない人が多いことが、がん研究振興財団(東京)と国立がん研究センター(東京)の調査でわかった。

胃がんの原因の9割以上はピロリ菌感染とされ、ピロリ菌感染者は50歳以上に多い。

調査は、2009年度に胃がん検診を受けた74歳の男女約8万2000人を平均13年間追跡。この間に3426人が胃がんと診断された。

胃がんリスクは、「毎日飲む」「毎日2~3杯飲む」「毎日4杯以上飲む」のグループに比べ、飲まないグループに出現率が1・2倍高かった。

コーヒーについては、飲まないグループに比べ、「毎日1杯」「毎日2~3杯」「毎日4杯以上」のグループは胃がんのリスクが約3割低かった。

毎日新聞
MAINICHI SHIMBUN
(東京)
'13.3.15
夕刊

緑茶・コーヒーで胃がん中リスク減

8万人調査

がんセンターなど

緑茶やコーヒーをよく飲む人は、飲まない人に比べて胃がん中になるリスクが2割程度低かったとの研究結果を、国立がん研究センター(東京)と国立循環器病研究センター(大阪)のチームがまとめた。緑茶のカテキンやコーヒーの香り成分に胃がんを抑える効果がある可能性があるという。

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(全国)
'13.3.12

移植用角膜、患者体内で

国立循環器病センターなど 作製法を考案

国立循環器病研究センターなどのグループは、患者の体内で「工」移植したところ、ほぼ透明になって角膜の一部が再生した。

作る手法を考案した。ウサギやイヌの皮下に特殊な板を埋め込み、表面に再生医療で角膜に移植す できたコラーゲンを加

学会で発表する。

角膜移植は傷ったり変形したりした視覚障害の患者の角膜を、亡くなった人から提供された正常な角膜に健康を換える。登録数が限られ待機患者が多いアイバンクを利用せずに、治療できる可能性があるという。

ウサギやイヌの背中の皮下に2枚対向方のシリコーン樹脂製の板を入れた。1カ月ほどで板の表面にコラーゲンの膜ができ、これをくりぬいてシート状作った。

ウサギの実験では、角膜の大半を占める内部の角膜実質層にシートを埋めた。8週間後には、コラーゲンの配列が変わり、完全に透明になるものもあった。イヌの実験では患者への移植を想定し、角膜の最も外側にある角膜上皮を取り除いて表面にシートを移植。4週間後にはほぼ透明になった。

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(全国)
'13.3.15
夕刊



国立循環器病研究センターなどのグループは、患者の体内で「工」移植したところ、ほぼ透明になって角膜の一部が再生した。

作る手法を考案した。ウサギやイヌの皮下に特殊な板を埋め込み、表面に再生医療で角膜に移植す できたコラーゲンを加

学会で発表する。

角膜移植は傷ったり変形したりした視覚障害の患者の角膜を、亡くなった人から提供された正常な角膜に健康を換える。登録数が限られ待機患者が多いアイバンクを利用せずに、治療できる可能性があるという。

ウサギやイヌの背中の皮下に2枚対向方のシリコーン樹脂製の板を入れた。1カ月ほどで板の表面にコラーゲンの膜ができ、これをくりぬいてシート状作った。

ウサギの実験では、角膜の大半を占める内部の角膜実質層にシートを埋めた。8週間後には、コラーゲンの配列が変わり、完全に透明になるものもあった。イヌの実験では患者への移植を想定し、角膜の最も外側にある角膜上皮を取り除いて表面にシートを移植。4週間後にはほぼ透明にな

日本経済新聞
NIHON KEIZAI SHIMBUN
(全国)
'13.3.14
夕刊

狭心症、カテーテルが要

開発を低くする機器普及 日経実力病院調査

狭心症は心臓に血液を送る冠動脈が狭まったり詰まったりする病気。日本循環器学会の診療指針では、薬物治療と血管にレーザーを当てるなどの「カテーテル治療」と、開いた状態を保つ金属製の筒「ステント」を入れる治療などがある。最新機器は外科手術に対抗し、リハビリテーションに力を入れる病院が目立った。

カテーテル治療は手首や足の血管から細い管を入れ、詰まった部分まで進める。ステント留置が広まったことで、再発率は大幅に低くなった。

ただ、再発防止のため、ステントに薬剤を塗る「薬剤溶出ステント」を使うケースが増えた。薬剤溶出ステントは、ステントを入れた後に血管内膜が過剰に増殖するのを抑える。

薬剤溶出ステントは2006年に登場。当初は再発率が低いとされたが、11年に米食品医薬品局（FDA）が「ステント血栓症のリスクがある」と指摘した。