

てえられたヒト β 型インターフェロン構造遺伝子を含む断片を動物細胞発現ベクター pRc/RSV (Invitrogen 社)の制限酵素 *Xba* I 及び *Hind* III 部位に挿入することによりヒト β 型インターフェロン発現ベクター pRSV-IFN β を構築した(図 4)。さらに、制限酵素 *Bam* HI で消化して約 2kb の不要な断片(大腸菌でのプラスミドの生産のための塩基配列や治療目的以外の塩基配列である F1 ori, PSV40, Neomycin, SV40pA)を欠失させ、ライゲーションにより遺伝子治療臨床研究用プラスミド pDRSV-IFN β (3,674bp)を得た(図 4)。

Transformant の調製と導入プラスミドの大量調製および純度検定については、臨床応用に十分に耐えうる純度の導入プラスミドであることが確認されている。なお、純度検定については、以下の規格で行っている。エンドトキシン ≤ 10 EU/mg、DNA 均一性 $>90\%$ 、RNA: 検出されず、大腸菌染色体 DNA $\leq 10 \mu\text{g/mg}$ 、タンパク質 $\leq 10 \mu\text{g/mg}$ 、A260/280:1.75 - 2.00。

(6) IAB-1 (ヒト β 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)

癌細胞株に対する抗腫瘍効果は、pSV2IFN β を内部に包埋した IAB-1(pSV2IFN β) を用いて、培養細胞や動物を用いた実験で確認された。その後、pDRSV-IFN β の発現効率及び抗腫瘍効果が pSV2IFN β と比較し、同等か高いことが確認できたことからグリオーマの遺伝子治療には後者を内部に包埋した IAB-1(pDRSV-IFN β)が用いられた。なお、ヒトグリオーマ細胞株に対する IAB-1(pDRSV-IFN β)の抗腫瘍効果も、IAB-1(pSV2IFN β)と同様に培養細胞および動物を用いた実験で確認されている。また、遺伝子治療に用いる IAB-1(pDRSV-IFN β)の安全性については、種々の動物を用いて行われており、「8. 安全性についての評価」で、後述する。本遺伝子治療でも、グリオーマの遺伝子治療と同様に pDRSV-IFN β を内部に包埋した IAB-1(pDRSV-IFN β)を用いる。

正電荷リポソームは、規格設定され、品質試験を経た 3 成分 N-(α -トリメチルアンモニオアセチル)-ジドデシル-D- グルタメイト クロライド (TMAG)、ジラウロイル-ホスファチジルコリン (DLPC)、ジオレオイル-ホスファチジリエタノールアミン (DOPE) から作製され、これに 1mg/ml の濃度の pDRSV-IFN β を含む等張リン酸緩衝液を加えてホモジナイズし、得られた懸濁液を孔径 $2 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターを装着したリポナイザーを用いて加圧濾過する。その濾液の遠沈沈殿画分に等張リン酸緩衝液を加えて再分散させ、容器に充填し、密封することにより 40ml の IAB-1(pDRSV-IFN β)が調製される。このようにしてヒト β 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤が得られる。リポソームの粒子径は $0.5\text{-}2.0 \mu\text{m}$ である。現在、この製剤は凍結乾燥製剤化されており、1 年以上にわたり保存可能であり、随時、使用に供することができる。

以上のようにして調製された IAB-1 (以下製剤という)の規格を表 1 に示す。製剤の均一性、安定性及び品質の維持保証のため、名古屋大学医学部附属病院では製剤調製に関するガイドラインと諸規約が作成され、遵守されている。製剤の調製は名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにおいて、同センター管理内規で定められた製剤