

までは原則的に週 1 回、腫瘍径およびその状態(壊死の混在の比率など)を評価する。安全性を含めた総合的な評価は治療開始後 7 週目と 11 週目に実施する。

- 3) 遺伝子治療実施の際には、治療実施 1 週間前に、遺伝子治療製剤の皮膚テストを実施する。また、1 回目および6回目の遺伝子治療製剤注入時に、病巣の生検を行い、病理組織学的観察を施行し、④-5) で示す腫瘍細胞の変性やアポトーシス、炎症反応などについて解析する。また、ヒト β 型インターフェロン遺伝子の発現(蛋白質量、mRNA)の有無とその程度について可能な限り検討する。
- 4) 入院中は週 1~3 回、尿および末梢血を採取し、各種血液・生化学検査を施行する。
- 5) 免疫学的検討事項

免疫学的検討事項を以下に示す。

(1) 摘出組織

- ・ HE:治療前後の病巣の組織学的変化と病巣への免疫担当細胞の浸潤をヘマトキシリン・エオジン染色で評価する。
- ・ 免疫染色:免疫細胞(リンパ球、マクロファージ、NK 細胞)を各表面抗原の免疫染色で同定し、腫瘍局所への誘導について評価する。また、腫瘍細胞のアポトーシスについて TUNEL 法で評価する。
- ・ 遺伝子発現:RT-PCR を用いて組織内における IFN- β , TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 の mRNA の発現につき測定する。

(2) 血液

- ・ PCR(plasmid DNA):病巣に注入した IAB-1 に含まれているプラスミド pDRSV-IFN β の有無を PCR で評価する。
- ・ CD4/8:血中リンパ球サブセットをフローサイトメトリーで測定する。
- ・ 抗プラスミド抗体:病巣に注入した IAB-1 に含まれているプラスミド pDRSV-IFN β に対する抗体を EIA(enzymeimmunoassay)で測定
- ・ サイトカインアッセイ: IFN- β , TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 の血中レベルを EIA(enzymeimmunoassay)で測定

(3) 尿

- ・ PCR(plasmid DNA):病巣に注入した IAB-1 に含まれているプラスミド pDRSV-IFN β の有無を PCR で評価する。

組織採取は 1 回目および 6 回目の遺伝子治療製剤注入前に、注入予定部位の針生検によって行う。同手技では十分な組織量が得られない可能性もあるので、この中でも特に、①ヒト β 型インターフェロン遺伝子の腫瘍内での発現の有無、②ヒト β 型インターフェロン遺伝子の導入により腫瘍細胞のアポトーシスが誘導されているか否か、③腫瘍局所へ NK 細胞や細胞障害性 T リンパ球が誘導されるか否かに重点を置いて検討する。検体は適宜 4℃、-20℃、-80℃の冷蔵庫あるいは冷凍庫、超低温槽に保存する。解析は京都府立医科大学附属病院泌尿器科、