

	<p>ところ、治療開始後 30 日目では有意な増殖抑制効果を認めた。一方、ヒト β 型インターフェロン蛋白投与では一時的に増殖は抑制されるものの、治療終了後比較的早期から再増殖を開始し、治療開始後 30 日の時点では有意な増殖抑制効果は認められなかった。これらのことから、基礎実験においてはインターフェロン蛋白投与を上回る治療効果を得られることが期待されている。</p> <p>そこで、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)の腎細胞癌病巣への直接投与が、進行期腎細胞癌に対する有効な治療法となり得るか否かを検討するため、今回の臨床研究を計画した。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究で導入される遺伝子はヒト β 型インターフェロン遺伝子である。遺伝子導入用プラスミドの調製方法としては、制限酵素 <i>Sma</i> I 及び <i>Hind</i> III で消化してえられたヒト 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 <i>Xba</i> I 及び <i>Hind</i> 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 を構築している。さらに、制限酵素 <i>Bam</i> HI で消化して約 2kb の不要な断片を欠失させ、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)を得ている。</p> <p>また、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。</p> <p>腎細胞癌転移巣への遺伝子導入は前述のヒト β 型インターフェロンの cDNA を組み込んだ遺伝子発現プラスミドを正電荷多重膜リポソーム[構成成分; 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-ホスファチジルエタノールアミン (DOPE)]に包埋して行う。粒子径は 0.5-2 μm である。このようにして調製された、内部にヒト β 型インターフェロン発現プラスミドを包埋する正電荷リポソーム製剤が IAB-1 である。なお、この IAB-1 の調製法は名古屋大学でグリオーマに対して、信州大学で悪性黒色腫に対して行われた遺伝子治療の臨床研究で用いられた IAB-1 と同じである。主としてエンドサイトーシスの機序で内容物(プラスミド DNA)が細胞内へ取り込まれ、その遺伝子導入効率は細胞の種類にもよるが、10-20%程度であり、それほど高いものではない。しかし、細胞毒性は低く、正常細胞ではほとんど発現がみられない。さらに、この方法では主として分裂中の細胞に遺伝子発現が認められることが示されており、分裂細胞が多数含まれている癌病巣への局所注入は、腫瘍細胞への選択的発現という点からも利点を有する。本遺伝子治療臨床研究では、IAB-1 を超音波あるいは CT ガイド下に、注入用穿刺針を用いて経皮的に癌病巣に局所注入する。</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>本臨床試験に用いる遺伝子製剤 IAB-1 は我々が共同研究者と共に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作製し、その凍結乾燥製剤をドライアイス入り発泡スチロール箱に入れて当施設へ運搬し、専用の 4°C 冷蔵庫に保管、管理し、生物活性を確認後に臨床研究に供する。本臨床研究に用いる IAB-1 については、各種の細胞において 10 μM 以下では毒性はほとんど認められず、細胞増殖も抑制されない。生体内分布と時間的移行については、IAB-1 をマウスの脳内に投与した後の各臓器への移行により検討を行っている。臨床用量の約 10 倍のプラスミドが投与されているが、1ヶ月後</p>