

Ⅱ相試験を実施している²⁹⁾。その報告によると、登録 52 症例中 17 例が腎細胞癌患者であり、評価可能であった 14 例中 2 例(14%)で有効、2 例(14%)で安定という結果であった。また、この臨床研究では最大 1,500 μg という比較的大量のプラスミド DNA を皮膚・皮下・リンパ節・肝臓・腎臓・副腎・後腹膜・肺などに対し週 1 回、計 6 回注入しているが、重篤な副作用は一例も認めていない。この報告は方法論的には我々が実施しようとしているプロトコールと非常に近似したものである。今回我々は 1 回の使用プラスミド DNA 量を Galanis らのプロトコールの約 17%の量である 250 μg に設定しており、このことは我々の臨床研究の安全性を強く示唆するものであるといえる。さらに、Galanis らは腎細胞癌患者の 31 症例にたいして、プラスミド DNA 量を最大 4,000 μg まで増量し同様の遺伝子治療を施行した²⁴⁾。1 例(3%)で著効、2 例(6%)で有効、7 例(23%)で安定、21 例(68%)で進行であった。皮下、リンパ節、肝臓、腎臓、副腎、後腹膜、胸壁などに対し週 1 回、計 6 回の注入を行った。副作用として、注入部痛(軽度;5 例、中等度;3 例)、倦怠、筋肉痛、発熱、悪寒などの全身症状(軽度;19 例、中等度;4 例)、疲労 6 例(軽度)、嘔気 3 例(軽度もしくは中等度)、アレルギー反応(中等度;1 例)を認めたが、重篤な副作用はなかった。生存期間は、2-72 ヶ月(中央値 11 ヶ月)で、1 年生存率が 48%、3 年生存率が 19%と報告されている。

(2) リポソームを用いた遺伝子治療の開発

リポソームは脂質二重膜よりなる閉鎖小胞であり古くから drug delivery system として注目を集め、一部では臨床応用されている。リポソームについては、①生体膜に類似した構造を有しており、細胞などと相互作用しやすく、②その組成の多くは生体膜に由来するため毒性が低く、抗原性が少ない、③遺伝子を含めた種々の物質を物理化学的に包埋できる、④リポソームの表面に抗原、抗体、糖などの特異的リガンドを結合できる、などの利点があげられる。従来のリポソームは遺伝子の delivery system としては効率が悪く、その利用価値は少なかったが、Felgner ら³⁰⁾が合成カチオン性脂質、N-L-(2,3 ジオレオキシ)-プロピル-N,N,N- トリメチルアンモニウムクロライド(DOTMA)を用いたリポソームによる遺伝子導入(リポフェクション)で高い遺伝子導入効率が得られることを明らかにしたことを契機に、遺伝子導入用リポソームの開発が盛んに行われるようになった。

リポソームを用いた遺伝子治療開発に関する基礎的研究は癌・嚢胞性線維症・脳炎をはじめ多くの疾患を対象に行われてきた。噴霧による肺や気管支あるいは鼻腔上皮への遺伝子導入、カテーテルを用いた血管内皮細胞への遺伝子導入、腫瘍内への直接投与、全身投与による治療効果などがその例である。臨床研究については、米国あるいは英国で DC-chol/DOPE リポソームを用いた転移性皮下腫瘍に対する遺伝子治療と同リポソームや DMRIE/DOPE リポソームを用いた線維性嚢胞症に対する遺伝子治療などが進められている。その一例が、前述の Galanis らによる、正電荷リポソームを用いたインターロイキン 2 遺伝子導入による、進行期悪性腫瘍に対する遺伝子治療の第 I / II 相試験である²⁹⁾。また、シンガポール大学の Hui ら³¹⁾は皮膚転移巣内へ HLA サブタイプと murine H-2K の遺伝子をリポソーム法で遺伝子導入し、卵巣癌や子宮頸癌で顕著な増殖抑制が観察されたと報告している。線維性嚢胞症に対する遺伝子治療臨床研究は英国の National Heart and Lung Institute で開始され、患者 15 症例に DC-chol/DOPE リポソーム

を用いて cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) 遺伝子が気管上皮に噴霧された。気管上皮への毒性、炎症反応、遺伝子導入効率が検討された結果、ヒトにおいて安全に施行できること³²⁾、また動物実験では繰り返し投与も可能なことなどが報告されている³³⁾。

本臨床研究の共同研究者である名古屋大学の吉田らは、これまで用いられてきた unilamellar vesicles とは異なる multilamellar vesicle (MLV) の正電荷リポソームを遺伝子治療のベクターとして開発した¹⁴⁻¹⁸⁾。この multilamellar vesicle (MLV) は DNA が表面に結合する unilamellar vesicle と異なり、DNA の多くは胞内に包埋されるという特徴を有する。彼らは名古屋大学医学部附属病院において、このリポソームに pDRSV-IFN β を包埋した遺伝子製剤 IAB-1 を clinical grade の製剤として生産、調製する体制を整えたうえで、旧文部省、旧厚生省の許可をえて、2000年4月より悪性グリオーマに対する遺伝子治療臨床研究を開始した^{17, 18)}。第1例目では画像診断学的ならびに病理組織学的に一定の効果が認められ、重篤な有害反応はみられなかった。現在、この製剤の凍結乾燥製剤が作製され、安定的な供給が可能となった。第2例目以降の治療にはこれらの製剤が使用され、効果と安全性が確認されている。本遺伝子治療臨床研究では、最終的に5例中2例において近接効果にて PR が得られ、奏効率 40% の治療成績が得られている。5例とも、すでに死亡の転帰をとっているが、PR が得られた2例の生存期間は、26 および 29 ヶ月であり、SD であった3例の生存期間(6-11 ヶ月)より、明らかに延長していた。さらに、上述のヒト 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(IAB-1)を進行期悪性黒色腫患者の皮膚転移巣に局所注入する遺伝子治療臨床研究が、2003年より信州大学医学部皮膚科で行われた。治療効果は、5症例中3症例で PD(増悪)、1症例で NC(不変)、1症例で治療を受けた皮膚病巣の完全退縮と新たな皮膚転移巣の出現がみられ、MR(mixed response)であった。IAB-1 注入皮膚転移巣の反応は、1例で完全消失、1例で不変、2例で一旦平坦化した後に増大、1例で増大であった。転帰は、5症例中3症例が、治療開始後6-11 ヶ月後に死亡、2症例は治療開始後1年の時点で生存、であった。重篤な有害反応はみられなかった³⁴⁾。

対象疾患	悪性グリオーマ(脳腫瘍)	悪性黒色腫(皮膚癌)
施設名	名古屋大学脳外科	信州大学皮膚科
患者数	5例	5例
投与方法	定位脳手術による腫瘍内局所注入	腫瘍内局所注入
DNA 1回投与量	15 μ g(2回/週) 30 μ g(1回/週)	10 μ g/病変(1cm未満:1病変;2例、3病変;2例) 30 μ g/病変(1cm以上2cm未満:1病変;2例)
投与間隔	4例:30 μ g/回、1回/週 1例:1回目:30 μ g/回、2-6回目:15 μ g	3回/週
総投与回数	1-6回(平均:3.4回)	6回
DNA 総投与量	平均:87 μ g (30-120 μ g)	平均:132 μ g (60 μ g:2例、180 μ g:3例)
副作用 (本治療と直接関)	貧血;3例(軽度:術後一過性) 白血球減少;1例(軽度:一過性)	蜂窩織炎;1例(軽度:治療前より繰り返していた) 食欲不振、悪心;1例(軽度:リン酸コデイン服用によ