

ろ、左腎にだけ、RT-PCRで導入遺伝子由来のmIL-10mRNAの発現を認めた。pCAGGS-IL10群の導入1日後の血清IL-10値は、 116.8 ± 19.0 ng/ml、pCAGGS-IL10/Fcの血清IL-10値は、 51.0 ± 9.0 ng/mlであり、control群値 (21.6 ± 6.2 pg/ml)に比較し上昇を認め、2週間後まで有意の高値が続いた。導入遺伝子の発現は用量依存性に認められた。本法による腎臓への明らかなtoxicityは、認められなかった。

【結論】経腎静脈的アプローチによりnaked plasmid DNAをマウスの腎臓へ導入する方法を開発した。本法による遺伝子導入は、簡便かつ安全であり、分子量の大きな分泌蛋白でも傍尿細管毛細血管を通過して血中に分泌され、腎は分子量の大きな分泌蛋白のDepotとしても有用である。

2 遺伝子治療により合成される蛋白血中濃度のグルカゴンC端側19-29アミノ酸標識を用いた測定法

埜 晴雄・渡辺 律雄・劉 慧
常 賀・ラファト エルナガー
阿部 暁・林 学・大倉 裕二
加藤 公則・小玉 誠・相澤 義房
丸山 弘樹*・宮崎 純一**

新潟大学大学院医歯学総合研究科
循環器学

同 腎膠原病内科学*

大阪大学大学院医学系研究科分子
治療学**

【目的】近年、多くの施設で遺伝治療が検討され、多くの疾患モデルに対する様々な蛋白の評価がなされるようになった。その際、合成された蛋白の血中濃度を測定することが効果や副作用を判定するためにはかならず必要となる。しかし、蛋白によっては測定法が確立されていないものも多く、十分な評価ができないのが現状であった。今回我々は、pCAGGSベクターにグルカゴンC端側19-29アミノ酸を標識として用い、遺伝子治療によって合成された蛋白血中濃度を測定できるか否かを検討した。

【方法】pCAGGS-INF γ rec-IgG₁Fc-Glucagon

19-29とpCAGGS-INF γ rec IgG₁FcをPCRにて作成し、Lewisラットの尾静脈からそれぞれ800 μ gを80ml/kg体重のリンゲル液に溶解し、約15秒で急速静注した。4時間後、8時間後、12時間後に尾静脈から採血し、その血糖値とグルカゴンの濃度を測定し、キメラ蛋白の濃度を求めた。また1日後、3日後、7日後、16日後にもグルカゴン濃度を同様に測定し、キメラ蛋白の濃度を求めた。またINF γ recをCTLA4, IL-13, IL-1 rec antagonist, SLPI signal peptideあるいはIL-18 binding peptideに置換し作成したベクターを同様に急速静注し、それぞれのキメラ蛋白の血中濃度を求めた。

【結論】血漿10 μ lからの微量検体からグルカゴン濃度が測定可能で、蛋白の血中濃度が容易に計測できると考えられた。この時血糖値は影響を受けず、グルカゴンの生理作用はないと考えられた。また組み込んだ遺伝子の違いにより、血中濃度の推移はかなり異なっており、蛋白のクリアランスに差があることが示唆された。

3 ラット心移植モデルにおけるCTLA4Ig遺伝子導入による生着延長効果

竹久保 賢・土田 正則・羽賀 学
齊藤 正幸・林 純一・埜 晴雄*
丸山 弘樹**・宮崎 純一***

新潟大学大学院医歯学総合研究科
呼吸循環器外科

同 循環器学分野*

同 内部環境医学講座**

大阪大学大学院医学系研究科幹細胞制御分野***

【背景】遺伝子治療においてプラスミドベクターはウイルスベクターに比べ安全性が高い反面、遺伝子の発現の低さが課題であったが、プラスミドDNAを大量の溶液とともに経静脈投与することで目的遺伝子の高い発現を得ることができた。この導入法を用いてラット心移植モデルに対して、T細胞の活性化に関与しているCD28/B7結合の阻害作用を持つCTLA4Igの遺伝子導入を行いその治療効果について検討した。