

いう特徴が得られた。

当院の方針では、合併症患者は身体科へ入院し身体症状の治療を優先させ、当科はコンサルテーション・リエゾン活動で精神疾患をフォローすることが前提である。しかし、精神疾患が重症であり身体科での対応が困難な場合、当科へ入院し身体治療を行う。今回の結果では、改めてこのことが確認された。

今後、身体科と当科とでさらなる連帯を持ち、積極的に合併症患者の治療を行うと共に、当院の特徴について他院に理解を得られるよう努力する必要性を痛感した。

## Ⅱ. 特別講演

### 「サイコオンコロジー：がん医療における心の医学」

国立がんセンター研究所支所

精神腫瘍学研究部 部長

内 富 庸 介

## 第3回新潟遺伝子治療セミナー

日 時 平成15年10月11日(土)

午後1時～5時

会 場 新潟大学有壬記念館

1階会議室

### I. 一般演題

#### 1 経腎静脈的アプローチによるマウス腎臓への naked plasmid DNA の導入

亀田 茂美・丸山 弘樹・樋口 昇

飯野 則昭・中村 元・今井 直史

下条 文武・宮崎 純一\*

新潟大学第二内科

大阪大学大学院分子治療学\*

【目的】我々は、リンゲル液に溶解したラットエリスロポエチン(Epo)(34kDa)発現 naked plasmid DNA を hydrodynamics-based gene transfection 法を用いて、ラットの腎静脈から逆行性に腎の間質線維芽細胞に導入する方法を開発した(Maruyama et al., Hum Gene Ther 2002)。導入遺伝子由来の分泌蛋白は、傍尿細管毛細血管を通過して、血中に分泌される。分子量の大きい分泌蛋白も Epo のように血中に分泌されるか不明である。マウスは、発生工学的手法を用いて、多くの疾患モデルが作られている。マウスの腎臓へ Epo に比べて分子量の大きい遺伝子の導入を試みた。

【方法・結果】naked plasmid DNA はリンゲル液(0.12ml)に溶解した。ラットの腎静脈に比べて、マウスの腎静脈は細く、短いので、腎臓への遺伝子導入は難しいが、29G インスリン用注射針付シリンジを用いてマウスの左腎静脈から逆行性に急速に注入した。注入された pCAGGS-lacZ の発現は、ラットと同様に間質線維芽細胞で認められた。次に mouse interleukin-10 (mIL-10)(22-kDa) 遺伝子 (pCAGGS-IL10) および Epo や mIL-10 より分子量の大きな mIL-10 と免疫グロブリン Fc とのキメラ蛋白 (mIL-10/Fc)(96-kDa) 遺伝子 (pCAGGS-IL10/Fc) を注入後の全身臓器への biodistribution を検討したとこ

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、 $116.8 \pm 19.0$  ng/ml、pCAGGS-IL10/Fcの血清IL-10値は、 $51.0 \pm 9.0$  ng/mlであり、control群値( $21.6 \pm 6.2$  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  $\gamma$  rec-IgG<sub>1</sub>Fc-Glucagon

19-29とpCAGGS-INF  $\gamma$  rec IgG<sub>1</sub>FcをPCRにて作成し、Lewisラットの尾静脈からそれぞれ800  $\mu$ 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  $\gamma$  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  $\mu$ 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。