

て Affymetrix 社 GeneChip™ にアプライし、hybridization system, Fluidicus Station (washing-staining system) および Gene Array Scanner を用いて解析をおこなった。

【結果】2例の MCNS 患者で共通して3倍以上発現増強が認められた遺伝子は、情報伝達物質、各種 ribosomal RNA やサイトカインなど27種類、また FGS 患者1例とも共通したものが14種類認められた。一方、ラット抗基底膜抗体腎炎では、2匹とも対照より6倍以上の発現強度を持つ遺伝子を解析したところ、1日目では4種類の遺伝子にのみ発現増強が認められ、それらは転写因子、免疫グロブリンC領域の他、未知の遺伝子2種類であった。3日目には38種類の遺伝子に6倍以上の発現増強が認められ、各種サイトカインやケモカイン、蛋白分解酵素や炎症性蛋白、情報伝達物質の他、未知の遺伝子5種類が認められた。7日目には15種類の遺伝子で発現増強が認められ、蛋白分解酵素や炎症性蛋白などの他、細胞外基質と思われる未知の遺伝子など4種類が認められた。

【考察】GeneChip™ を用いることにより、一度に約一万種類の発現遺伝子を定量的に検索でき、病態形成にかかわる発現遺伝子の体系的、経時的な変化の解析や、病態に関与する遺伝子の同定に極めて有用であると思われる。

### 13) 未熟卵子の体外成熟を目的としたFSH受容体遺伝子導入による遺伝子治療の基礎的検討

藤田 和之・芹川 武大(新潟大学医学部)  
永田 寛・田中 憲一(産科婦人科学教室)

【目的】未熟卵子を体外で成熟させ受精させることができれば、不妊治療に大きな進歩がもたらされるものと思われる。その方法として卵胞内での状態に近付けるために、顆粒膜細胞との共培養することが試みられているが、初代培養顆粒膜細胞は培養数日でFSH受容体(FSHR)発現が消失しその機能を失うため、効果は少ないと考えられる。そこでFSHR遺伝子を導入し発現させることにより機能を保たせた顆粒膜細胞と共培養することにより、未熟卵子を成熟させることを目的とした遺伝子治療の基礎的検討を行った。

【方法】diethylstilbestrolにて刺激した幼若雌ラットから顆粒膜細胞を採取、培養開始時および数日後に125I-FSHを用いたバインディングアッセイ法により

FSHR数を、またFSH刺激によるE2産生能を測定した。ヒトFSHR遺伝子をアデノウイルスベクターに組み込んだ組換えアデノウイルス(Ad-FSHR)を作成、MOI10にて顆粒膜細胞に導入し、FSHR数、E2産生能を測定した。

【成績】培養開始時の顆粒膜細胞では、FSHR数は6071±719/cellであり、FSH刺激によりE22865pg/ml産生された。培養3日目のFSHR数は2390±1011/cell、E2産生は382pg/mlと減少し、培養7日目にはFSHRはほとんど消失し、E2産生も測定感度以下となった。一方、Ad-FSHR導入顆粒膜細胞では、培養3日目でFSHR数は6752±76/cell、E2産生は1310pg/mlと未導入細胞を比較して増加し、培養7日目においてもFSHR数が1851±385/cellの発現を認め、E2産生は365pg/mlであった。

【考察】FSHR遺伝子を初代培養顆粒膜細胞に導入することにより、減少したFSHRを再び発現させ、FSH刺激に対する反応性を回復させることができたことより、FSH導入顆粒膜細胞との共培養が、未熟卵子の体外成熟に有用であることが期待される。

### 14) Peritubular Capillary-Specific Kidney-Targeted Naked DNA Transfer by Retrograde Renal Vein Injection in Rats

丸山 弘樹・樋口 昇(新潟大学)  
飯野 則昭・今井 直史(第二内科)  
下条 文武(同 第二外科)  
平原 浩幸(秋田大学)  
西川 祐司(第一病理)  
宮崎 純一(大阪大学大学院  
医学研究科分子  
防御医学)

腎臓への遺伝子導入法の確立は、腎疾患の新しい治療手段として期待されている。これまで、nonviral vectors(ポリプレックス、リポプレックス)を用いて、経腎動脈的、経尿管的、経腎盂のルートから腎へアプローチする方法が開発され、糸球体、尿細管、間質線維芽細胞に遺伝子が導入された。しかし、その発現は弱く、一過性で4週間未満である。私達は、ラットの尿細管周囲毛細血管をターゲットとして、経腎静脈的アプローチにより、逆行性に左腎にnaked DNAを注射して、腎毒性を起さずに、尿細管周囲毛細血管内皮に遺伝子(pCAGGS-lacZ)を導入することに成功した。造血効果という生理活性のあるエリスロポエチン発現遺伝子(pC

AGGS-Epo) をレポーター遺伝子として、本方法による遺伝子の導入・発現効率を評価した。In vivo electroporation 法による muscle-targeted gene transfer に比べて、遺伝子の発現効率は高く、24時間後も血清 Epo 濃度はピーク値の55%と安定した持続発現が認められた。RT-PCR で全身の主要臓器について、pCAGGS-Epo の biodistribution を検討したが、左腎選択的に遺伝子の発現が確認された。尿細管周囲毛

細血管内皮は、慢性腎不全の進行に関わる尿細管間質病変の場であり、また、腎移植後の急性・慢性拒絶反応の重要な標的部位である。この方法は、腎移植用グラフトに ex vivo で、簡単、安全に拒絶反応を抑える遺伝子を導入する方法として応用できる。さらに、経静脈カテーテルを用いて、非侵襲的に腎臓にアプローチする方法を開発中である。これらのことを中心に報告したい。