

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ハイドロダイナミック遺伝子導入法による遺伝子治療—イヌ血友病モデルでの検証—			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of Hydrodynamics-based Gene Therapy			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)カミムラ	名)ケンヤ	研究期間 B	2010 ~ 2012 年
	漢字 CB	上村	顕也	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	KAMIMURA	KENYA	研究機関名	新潟大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		新潟大学医学部消化器内科学分野・医員			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>ハイドロダイナミック遺伝子導入法 (Hydrodynamic gene delivery, 以下 HGD) は核酸そのものを生体細胞に導入し、特に肝細胞に遺伝子を効率よく導入できる方法として開発され、遺伝子導入実験に汎用されている。我々は遺伝子治療の臨床応用への観点から、その基礎的メカニズムを小動物で系統的に検討を重ね、血管造影やカテーテル操作といった手技を組み合わせることにより、大動物へ応用し、ブタ肝臓、筋肉への遺伝子導入の効率と安全性を実証した。本申請に基づく研究では、肝臓の組織学的構造がよりヒトに近く、血友病をはじめとする疾患モデルとしても汎用されているイヌを対象動物として、hFIX (human factor IX) 発現プラスミドを導入し、その長期遺伝子治療効果と安全性を検証したので報告する。</p> <p>1. イヌ肝臓に対する HGD の応用と安全かつ効率的な遺伝子導入パラメーターの確立 pCMV-Luc プラスミドを HGD によってイヌ肝臓に遺伝子導入し、筆者らがこれまでに確立した血管造影下での各肝区域へのカテーテル挿入とコンピューター制御の遺伝子注入器による方法論が、イヌにおいても応用可能であることを確認した。遺伝子注入圧、量、速度などの注入パラメーターを遺伝子導入効率と安全性の観点から検証し、最適な遺伝子導入パラメーターを確立した。具体的には遺伝子注入時肝静脈圧を 150 mmHg、注入量を対象区域の 2.5 倍容量に設定した際に他の条件に比較して有意に高い導入効率を認めた。</p> <p>2. イヌへ肝臓への hFIX 発現プラスミドの導入と長期遺伝子発現効果及び安全性の検証 実験用雑種犬に対して、1の結果に基づき最適化された遺伝子導入パラメーター下でヒト factor IX 発現プラスミドを HGD により導入した。遺伝子導入後、2 週で遺伝子発現による血漿 Factor IX 濃度は 10^6 ng/ml、Factor IX 活性は 90%程度に上昇し、緩徐に低下傾向を示し、解析を継続中である。心電図や酸素飽和度を中心とする、生理学的な検証では異常所見を認めず、血液生化学検査では、AST、ALT、LDH などの肝酵素が正常に比較し 10 倍程度の一時的な上昇を認めたが、この変化は約 1 週で前値に復した。以上の結果から、イヌを対象動物とした HGD により長期的な遺伝子発現効果と安全性を確認した。</p> <p>3. 臨床応用可能な遺伝子導入器の開発 1, 2の検証過程において、遺伝子注入中の対象臓器内圧を一定にコントロールする、電動モーター駆動式の HGD 器が必要であることが再認識された。現在、上記の研究と並行し、医工連携による、日本初の遺伝子導入機器の開発を行っている。</p> <p>考察 本研究による安全な遺伝子治療の確立が血友病のみならず、種々の疾患治療への応用を可能にすると考え、今後も疾患モデル動物に対する遺伝子治療や Good Clinical Practice 準拠の遺伝子注入器の開発そして非ヒト霊長類での検証を継続する予定である。 本研究の共同研究者は、新潟大学医歯学総合病院第三内科の須田剛士、ジョージア大学 (前ピッツバーグ大学) Prof. Dexi Liu である。 本稿を終えるにあたり、本研究にご支援を賜りました住友財団に深く感謝いたします。</p>					
キーワード FA	遺伝子治療	ハイドロダイナミック遺伝子導入法	血友病		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Development of Electromotor-Driven Injector for Hydrodynamic Gene Delivery							
	著者名 ^{GA}	Yokoo T, Kamimura K, et al.	雑誌名 ^{GC}	Molecular Therapy					
	ページ ^{GF}	S270	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	19
雑誌	論文標題 ^{GB}	Long Term Transgene Expression in Rat Liver Using a Novel Electromotor-Driven Hydrodynamic Gene Injector							
	著者名 ^{GA}	Yokoo T, Kamimura K, et al.	雑誌名 ^{GC}	Molecular Therapy					
	ページ ^{GF}	S240	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	20
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Hydrodynamic gene delivery has been extensively studied in small animals as safe and efficient gene delivery method. We have reported its effective gene delivery in pigs combining with clinically well been established method of angiography and catheterization technique.

In this study, we have examined whether this strategy can be used in canine liver and the therapeutic level of human factor IX was achieved after the hydrodynamic gene injection of pBS-hFIX. The balloon catheter was inserted into the each hepatic vein in canine liver through the jugular vein followed by a hydrodynamic injection of reporter plasmid. The various injection parameters were tested to evaluate the best one for long-term study. For example, by injecting pCMV-Luc plasmid DNA, the intravascular pressure upon the injection of 150 mmHg and the volume of 2.5 times to the target lesion showed the highest level of luciferase activity among tested. By utilizing the optimum parameter, pBS-hFIX plasmid was hydrodynamically injected to the canine. The level of plasma human factor IX in dogs showed the highest and therapeutic level of 10^6 ng/ml sustained for 2 months. This long-term study is ongoing however, other than a slight elevation of transaminase, no changes in the animal conditions were seen. These results indicate that the development of hydrodynamics-based gene delivery method will contribute to the establishment of safe and efficient human gene therapy.

Finally, I would like to thank the SUMITOMO FOUNDATION for a grant that made it possible to complete this study.