



Figure 3.

結論：培養細胞を用いたプロテオミクス解析により、大腸癌の転移に関わるタンパク質プロファイリングが明らかになった。臨床検体への応用が期待された。

4. 蛍光診断法を用いたセンチネルリンパ節検出の基礎的検討

(外科学第一)

○石角太一郎、奥仲 哲也、黒岩ゆかり
白田 実男、山田 公人、原田 匡彦
土田 敬明、加藤 治文

最近、悪性腫瘍の手術においてリンパ節郭清を省略あるいは縮小させる目的で、センチネルリンパ節の検出についての研究が進められている。現在、センチネルリンパ節の検出法としては色素法や放射性医薬品を用いた RI 法などがある。今回、我々は新たに、光感受性物質を用いた蛍光診断法によりセンチネルリンパ節検出の可能性を検討した。

【方法】 実験モデルとして Balb/c マウス、雄性を使用。光感受性物質として ATXs-10(Na) を用いた。ATXs-10(Na) は次世代の水溶性光感受性物質で、蛍光強度が強く、組織代謝、排泄時間が非常に短いため日光過敏症等の副作用がなく、組織透過性にも優れているという性質を持っている。Balb/c マウスの足底部

に ATXs-10(Na) を皮下投与し、蛍光診断装置を用いてリンパ管の走行およびセンチネルリンパ節である膝窩リンパ節への取り込みを観察した。

【結果】 マウスの足底部に皮下投与された ATXs-10(Na) は速やかにリンパ管に取り込まれ、リンパ流を介して膝窩リンパ節に集積した。さらに ATXs-10(Na) は、膝窩リンパ節より中枢側のリンパ管を通過して腹腔内のリンパ節に取り込まれた。

【結語】 今回のマウスの基礎的実験により、蛍光診断装置を用いてリンパ管の走行、リンパ流の様子を直視下にて観察が可能となり、この蛍光診断法がセンチネルリンパ節検出の有効な一手段になると考えられた。

5. 特異的 PCR 法を用いた輸入皮膚真菌症起因菌：*Trichophyton tonsurans* 遺伝子同定法の開発と検診時採取検体に関する検討

(皮膚科学)

○茂田 江理、坪井 良治
(帝京大医真菌研究センター)
槇村 浩一

【背景】 *Trichophyton tonsurans* は頭部白癬の起原因菌として知られているが、わが国では従来ほとんど報告されていなかった。しかし近年、欧米のレスリング選手を中心に感染が広がり、本邦にも輸入されて各地

の柔道およびレスリング選手に本菌感染の集団発生が報告されるようになった。

【目的】 白癬菌の菌種同定は、培養によるものであったが、近年分子生物学的手法の進歩により様々な菌種の迅速同定、診断が可能となった。今回、*T. tonsurans* 感染症の患者から分離培養したコロニーからPCR法による迅速同定を試みた。

【対象】 *T. tonsurans* 分離株6株、およびその他主要な皮膚糸状菌18菌種、93株である。また、本法を利用し、某大学柔道部員約74名の検診を行い、起因菌の同定を行った。

【方法】 18SリボゾームRNA遺伝子(rDNA)と5.8S-rDNAに挟まれたスペイサー領域であるinternal transcribed spacer 1 (ITS1)の塩基配列から、本菌特異的プライマーを設計した。この領域は皮膚糸状菌に関して、種間の保存性が高く、菌種ごとの配列情報が豊富であるため利用した。プライマー対はTons-forwardとTons-reverseを作製し、内側にnested PCRを施行した。

【結果】 Nested PCRの結果 *T. tonsurans* に特異的な約200bpのsingle bandを認め、全塩基配列が同一であることを同定した。検診の結果10名の患者から本菌に一致するコロニーが分離され、本プライマーを用いたPCR法にて全て、*T. tonsurans* と同定できた。

【結論】 今回デザインしたプライマー対を用いてPCRによる迅速同定が可能となり、*T. tonsurans* 感染症の早期診断に役立つと思われる。

6. RNA interference を用いた癌の遺伝子治療法の開発

(病理学第一)

○黒田 雅彦、及川 恒輔、泉 美貴
岩屋 啓一、向井 清

RNA干渉法(RNA interference、RNAi)は、遺伝子の情報に基づくタンパク質生合成の中間生成物であるRNAを分解させることによって遺伝子機能を抑える新技術である。従来の代表的な遺伝子抑制技術であるアンチセンス法に比べて抑制効率も高く、また1/100程度の量で効果を発揮するともいわれ、PCR法以来の革命的な技術と考えられる。1998年に線虫の

実験で見つかったのに続き、2001年にドイツのグループがヒト細胞での実験に成功し医療応用の可能性も開け研究が活発になっている。特に、AIDSやウイルス肝炎などの重篤なウイルス性疾患の治療にRNAiを用いる臨床研究が実用化段階にはいつている。

このような背景から、我々は癌の分子標的治療にRNAiの技術を応用することを検討した。具体的には、我々は最近、新規癌遺伝子*T1-15*を単離し、本遺伝子が癌組織に高発現していることを明らかにしたことから、*T1-15*を標的にしたsmall interference RNA (siRNA)を設計した。*T1-15*が高発現しているヒト癌由来培養細胞株にそのsiRNAを導入した結果、RNAiの効果により*T1-15*の発現が抑制され、細胞死が誘導された。そこで、さらに*in vivo*での効果を確認するために、*T1-15*が高発現しているヒト由来培養細胞株をヌードマウスに移植して腫瘍を形成させ、その腫瘍に*T1-15* siRNAを局注して検討を行なった結果、siRNAを導入した腫瘍において、著しい増殖阻害が観察された。以上の結果から、*T1-15* siRNAが腫瘍増殖抑制作用を有することが明らかになった。さらに、臨床応用も視野に入れ、*T1-15*を標的分子としたsiRNA発現レトロウイルスベクターを作成した。現在、本ベクターを用いた検討を行っているところであるが、siRNAを直接導入した際と同様の結果を得ている。本システムが今後siRNAを用いた癌治療に応用できることが期待される。

7. 癌抗原ペプチドを用いた免疫細胞治療

(泌尿器科学)

○大野 芳正、吉岡 邦彦、秦野 直
青柳貞一郎、並木 一典、古賀 祥嗣
黄 英茂、松井 善一、坂本 昇
松本 一宏、中神 義弘、橘 政昭

キーワード：泌尿器科癌、免疫療法、樹状細胞

【要旨】 泌尿器科進行癌、再発例14例に対して自己末梢血単核球由来樹状細胞を用いた免疫細胞治療を行った。内訳は腎癌8例、前立腺癌4例、尿路上皮癌2例である。樹状細胞は、末梢血単核球よりGM-CSFとIL-4にて2週間培養し誘導した。前立腺癌ではHLA-A24拘束性前立腺特異的膜抗原エプー