APP-113 Comparative Transduction Efficiencies of AAV2 vs. Lentivirus for Cancer and Vascular Endothelial Cells

USC, Metic Transplantation Laboratory¹⁾, Institute for Genetic Medicine, University of Southern California²⁾

Kazuo Mizutani¹⁾, Ataru Sazawa²⁾

Applications for gene therapy with adeno-associated virus (AAV) and lentivirus vectors will be limited to tissues efficiently transduced by the vector based on tropism. To allow precise quantitation of titer and transduction efficiency, FACS analysis was used to detect gene transfer and expression of the GFP marker. The relative transduction efficiencies were tested on target cell types, including Hela, NMU breast cancer cells, 5637 and J82 bladder cancer cells. Furthermore, as gene transfer to endothelium may be important for cancer gene therapy, we also tested transduction of BAEC, HMVEC-L, and HUVEC. Standard transduction titers on Hela cells were $10^7 \sim 10^8$ TU/ml for lentivirus and 109 TU/ml for AAV. In cancer cells, AAV vectors were more efficient for gene transfer to 5637 and J82 cells, but less efficient for NMU and T24 cells, and endothelial cells in vitro. In contrast, lentivirus vectors showed high transduction efficiency for cancer cells, and variable efficiency for endothelial cell transduction which appeared to be inversely correlated with passage number in culture.

APP-114 腎盂尿管腫瘍の深達度診断

産業医科大学 医学部 泌尿器科学

西井 久枝, 佐藤 英樹, 山田 陽司, 藤本 直浩, 高橋 康一, 松本 哲朗

1992年から2002年までの10年間、当科にて精査・加療行った腎盂尿管腫瘍患者、男性48名、女性10名、計58名を対象に、初診時主訴、術前細胞診、初診時から診断までの期間、診断方法、病理学的診断について検討した。診断時年齢は平均68.7歳(44歳から86歳)。初診時主訴は症候性肉眼的血尿6名このうち腹痛が4名・全身倦怠感が1名・排尿時痛が1名、無症候性肉眼的血尿27名であり、肉眼的血尿を主訴としたものは合計33名であった。腹痛、陰嚢痛などの疼痛を主訴としたものが8名、食欲不振、全身倦怠感などその他が3名、14名で自覚的主訴はなかったがこのうち顕微鏡的血尿が6名、超音波検査で水腎症が指摘されたものが6名、自然尿細胞診がClass5を指摘されたものが2名であった。初診時から腎盂腫瘍診断時までの平均期間は5.0ヵ月であり37名が1ヵ月以内に診断されていた。尿細胞診は自然尿、尿管尿で術前、術後に採取されており、画像診断方法は排泄性腎盂造影、逆行性腎盂造影、造影CTであった。術前診断と病理診断がなされたいたのは計28名であったが、画像診断でunderstagingされていたものは6名、overstagingされたものは11名、一致したものは11名であった。overstaging症例はTa、T1症例であったが、病理診断で一致・understaging症例と比較すると尿細胞診のClassが低い傾向にあった。

APP-115 膀胱癌診断における尿中カルレティキュリンの有用性の検討

滋賀医科大学 泌尿器科¹⁾ 滋賀医科大学 附属実験実習機器センター²⁾ 倉敷中央病院 泌尿器科³⁾ 東北大学 医学部 泌尿器科⁴⁾

影山 進¹⁾, 吉貴 達寛¹⁾, 磯野 高敬²⁾, 岩城 秀出¹⁾

吉村 耕治³⁾, 寺井 章人³⁾, 荒井 陽一⁴⁾, 岡田 裕作¹⁾

【目的】われわれは昨年の総会で、膀胱癌(BT)のプロテオーム解析で得た診断マーカー候補タンパク質10種を発表した。今回、これらのうちの一つであるcalreticulin(CRT)について診断マーカーとしての有用性を検討した。【方法】膀胱組織での検討では腫瘍22検体、正常上皮10検体を対象として、抗CRT抗体によるWestern blot(WB)でCRT発現を確認しバンド強度を定量した。定量化にはHeLa細胞lysate 1μg由来のCRTバンドを基準(=1unit)とした。尿を用いた検討ではBT患者尿27検体および非BT患者からなる対照尿131検体を対象として、WBの免疫産物の有無により定性的に評価した。【結果】膀胱組織lysate 1μg中のCRT発現は正常部が 0.40 ± 0.32 unitに対し腫瘍部が 1.02 ± 0.39 で有意に高かった(Mann-Whitney U検定、 $p=0.0003$)。尿中にもWBでCRTの存在が確認でき、BT患者尿では19/27検体(感度70%)で陽性であった。しかし、非BT患者尿のうち尿路感染症(UTI)患者尿でも高い陽性率を示した(7/8検体、87%)。対照群からUTIを除くと陽性反応は22/123検体(18%)に認められた(特異度82%)。【結論】CRTはBT組織で高発現している上に尿中にも認められた。NMP22やBTAと比較しても遜色ない感度・特異度を示し、診断マーカーとしての有用性が示唆された。一方、UTIで高い偽陽性率を認めるという欠点も明らかとなった。

APP-116 CDDP 併用放射線療法施行膀胱癌症例における蛍光 multiplex PCR 法による LOH 解析, apoptosis 関連因子の発現解析と治療効果, 予後との関連について

山口大学 医学部 泌尿器科学

松本 洋明, 和田 尚, 山本 義明, 平田 寛, 矢野 誠司

松田 健二, 大見 千英高, 鄭 泰秀, 吉弘 悟, 松山 豪泰

内藤 克輔

【目的】我々は局所浸潤性膀胱癌症例に対してCDDP併用放射線療法を施行し、LOH解析を行うと共に免疫組織染色を用いてapoptosis関連因子の発現を検討し、治療効果や予後の予測因子を検討した。【方法】CDDP併用放射線療法を施行した膀胱癌患者62例を対象とした。治療前後の癌組織のパラフィン連続切片よりDNAを抽出し、アポトーシス関連遺伝子の存在が報告されている17p13と1p36領域のマикроサテライトマーカーをもちいてmultiplex PCRを行いLOH解析を行った。また、TUNEL法によりapoptosis index(AI)を算出し、Ki-67, p53, bcl-2, baxの発現を免疫染色にて解析し、治療効果や予後との関連を検討した。【結果】症例をCR群と非CR群に分けて検討したところ、AI, Ki-67, p53, bcl-2およびbax単独では治療効果との相関はなかったが、bax/bcl-2比は、CR群では非CR群に比べて有意に高値であった($p=0.0289$)。予後は単変量解析ではKi-67の発現、p73のLOHの有無で有意差を認めたが、多変量解析では、p73のLOHの有無が有意な予後予測因子であった($p=0.0156$)。【総括】bax/bcl-2比にてCDDP併用放射線療法の治療効果を予測できる可能性があり、また、治療効果によらずp73のLOHが重要な予後予測因子となる可能性が示唆された。