

23 子宮内膜癌のテロメラーゼhTRとhTERTに対するリボザイムとその酵素活性抑制効果の検討

岐阜大

高橋雄一郎、横山康宏、篠原有美、玉舎輝彦

【目的】我々は昨年の本学会においてhTRのtemplate部分をtargetにしたリボザイム36が細胞への直接導入や、発現ベクター、レトロウイルスベクターを用いた検討でもよくTAを抑制したことを報告してきた。今回我々はより強力なTA抑制を目的として、更に2種類のリボザイムの設計を行いTA抑制について検討した。【方法】1) Monovalentであるリボザイム36(RZ36)より更に強力な切断活性を期待して、hTR基質部の下流13塩基のGUA配列をも同時に切断するdivalent type(Divalent RZ)を作製した。2) TA酵素活性により関連があるとされるhTERTを標的にし、hTERTmRNAのORFを含む7カ所に monovalent typeのリボザイムを作製した。これらのリボザイムについて1) In vitroでの切断活性、2) in vivoでの抑制効果について子宮内膜癌細胞AN3 CA, Ishikawa細胞を用いて検討した。【成績】1) DRZはin vitroでは36RZより強力な基質切断活性を示したが、in vivoでの酵素活性抑制効果は36RZより有意に弱かった。2) hTERTに対するリボザイムでは、その標的部位によって抑制効果は様々であったが、Ishikawa, AN3 CA株ともpoly Aの60塩基上流のGUCを標的としたリボザイム(3951RZ)が最も抑制効果が高く、hTRに対する36RZとほぼ同等のTA抑制活性を示した。【結論】TAの必須分子であるhTR, hTERTを標的としたRZではhTRに対しては36RZ、hTERTに対しては3951RZが最も酵素活性抑制が期待できる。

24 子宮体癌におけるhTERT発現の検討

広島大

大下孝史、永井宣隆、村上順子、阪田研一郎、重政和志、大濱紘三

【目的】最近telomeraseの活性化と発癌との関連性が指摘されており、特にcatalytic subunitであるhuman telomerase reverse transcriptase(以下hTERT)の発現と癌化との関連性が注目されている。そこで今回われわれは子宮体癌におけるhTERTの発現を検索し、telomerase活性と比較検討した。【方法】患者の同意の下に得られた子宮体癌組織32検体と閉経後の正常子宮内膜8検体を対象とした。hTERTの発現はRT-PCR法で確認し、次いでコントロールとした β -tubulinのband intensityに対するhTERTの比をdensitometerにて求め半定量化した。同時にnon-RT TRAP法にてtelomerase活性を検出し、内部標準に対するtotal ladder intensityの比をrelative telomerase activity(以下RTA)として半定量化した。これらの成績から体癌組織と正常子宮内膜、臨床進行期別、分化度別、筋層浸潤の部位別でのhTERT発現とRTAを比較検討した。統計学的検定には回帰分析、t検定、分散分析を用い、危険率5%以下を有意差ありとした。

【成績】hTERT発現とRTAの間には有意な相関が認められた($r=0.48, p<0.05, n=40$)。体癌組織におけるhTERT発現およびRTAはそれぞれ0.48, 44.05で、いずれも正常子宮内膜の0.02, 1.98に比べ有意に高値であった。またhTERTの発現は、筋層浸潤の程度に相応して浸潤部位に検出された。なお、臨床進行期別、分化度別に検討したhTERTの発現には一定の傾向はみられなかった。

【結論】hTERTがtelomerase活性を制御している可能性が確認された。また、hTERTの検出は、癌の浸潤範囲の診断にも有益であり、telomerase活性の検出とならんで癌診断に応用できるものと考えられた。