

**P-155** 卵巣癌のテロメラーゼ活性に及ぼす細胞周期調節蛋白の役割

札幌医大

寺沢勝彦, 寒河江悟, 武田智幸, 石岡伸一, 小林寛治, 杉村政樹, 西岡嘉宏, 工藤隆一

【目的】テロメラーゼ活性の調節機構については現在ほとんど解明されていない。なかでも細胞周期からの逸脱によるテロメラーゼ活性の制御がその一つとして注目される。今回我々は、G1 チェックポイントに関わるいくつかの分子とテロメラーゼ活性の関わりについて検討した。

【方法】37例の卵巣癌症例の凍結組織標本から、テロメラーゼ活性をTRAP法により検出し、ラダーの強度をinternal controlとの比を求めその相対強度とした。pRB, p16, cyclin D1, cyclin Eの異常は免疫組織染色により解析され、pRBとp16は核からの消失を異常と判定し、cyclin D1とEは核の過剰発現を異常とした。

【成績】cyclin Eの過剰発現とテロメラーゼ活性強度には有意に相関が認められたが( $p < 0.05$ )、他のpRB, p16, cyclin Dの異常とテロメラーゼ活性強度には有意差は認められなかった。しかし、cyclin D1とEの両方がともに正常に発現している腫瘍に比べ、両方に異常が認められる腫瘍は高いテロメラーゼ活性を示した( $p < 0.05$ )。さらに、pRBかp16のどちらかにその異常があり、それにcyclin D1とEの異常が加わることにより、テロメラーゼ活性が高くなる傾向が認められた。これらから、pRB, p16, cyclin D1, cyclin Eは、個々の異常だけでテロメラーゼを活性化するには不十分だが、その異常の集積によりテロメラーゼ活性の上昇を引き起こすことが示された。

【結論】G1期での細胞周期の停止、さらに続いて起こる細胞周期からの逸脱が、テロメラーゼ活性の調節において、何らかの役割をはたしている可能性が示唆された。

**P-156** 卵巣癌患者の末梢血におけるサイトケラチン19の発現に関する検討。

慈恵医大\*、同第三病院産婦人科

高野浩邦、岡本愛光\*、斎藤美里\*、近藤真帆\*、新家秀\*、篠崎秀雄\*、磯西成治\*、落合和徳\*、福島和夫、田中忠夫\*

【目的】癌患者の末梢血中には癌細胞が流入している。今回我々は上皮性悪性腫瘍で高頻度に発現しているサイトケラチン19が、卵巣癌患者から採血した末梢血からRNAレベルで検出されるか検討した。【方法】卵巣癌細胞株9株、インフォームドコンセントを得た初期卵巣癌2例、進行癌および再発例6例、および健常人7例の末梢血を対象とした。患者からの採血の際、採血針の皮膚貫通時に正常上皮が混入する事を避けるため、採血針を一度刺入し抜針せずに5ml 5ml 20mlと3回連続してシリンジを取り替えて採血した。3回目の20mlの末梢血を遠心分離して白血球を含む層からHot Phenol法によりmRNAを抽出し逆転写によってcDNAを作成した。このcDNAをテンプレートとして、サイトケラチン19のpseudo geneを増幅しないようにデザインした2組のプライマーを用いてnested PCRを行い、サイトケラチン19の発現の検出を試みた。【成績】卵巣癌細胞株では9株全てにサイトケラチン19の発現が検出された。卵巣癌症例では8例中6例でサイトケラチン19の発現が検出された。検出された6例は進行癌および再発症例であり、検出されなかった2例は初期の卵巣癌であった。健常人では7例すべてで検出されなかった。【結論】現在までの結果では、進行卵巣癌患者の末梢血から高頻度にサイトケラチン19のmRNAレベルでの発現が検出された。この結果より、この手法が癌の診断や再発の検出に有用な新しい腫瘍マーカーとなる可能性が示唆された。