

383 子宮頸部由来細胞におけるテロメレーズ活性と臨床的意義

東京医大

白石賢也、藤東淳也、伊東宏絵、弓立 環、
井坂恵一、高山雅臣

【目的】細胞の不死化・癌化との深い関係が注目されているテロメレーズ活性(TA)は、*in vivo*においては、悪性細胞の約90%に強い陽性を示すが、正常細胞においては、造血幹細胞、生殖細胞を除いては、悪性細胞のような強い活性は認められていないと言われている。今回我々は、子宮頸部由来細胞におけるTAの検出を試み、子宮頸癌の補助診断と成り得るかについて検討した。【方法】TAは、蛍光標識したプライマーを用いるnon-RI TRAP法により得られたPCR産物をALF DNAシーケンサーにて解析検出した。【成績】子宮頸癌由来培養細胞株では、100%にTAが検出されたが、臨床検体における子宮頸癌組織では85.7%にTAが検出された。また、子宮頸部擦過細胞におけるTAは、class I: 54.5%, class II: 52.9%, class IIIa: 80%, class IIIb: 100%, class IV: 66.7%, class V: 100% に検出され、子宮頸部においては正常細胞でもTAが存在することも示唆されたが、その活性は子宮頸癌由来培養細胞株や子宮頸癌組織・細胞にみられるような強さはなかった。また、これらの細胞においては抗Ki-67抗体を用いた免疫組織化学染色において強い染色性を示した。

【結論】このことからTAと細胞の増殖能とに関連性が強く示唆され、子宮頸部擦過細胞においてもTAの検出は可能であることが明らかになった。以上より、TAの検出は子宮頸部癌病変の早期発見において有用であること、nonRI-TRAP法がRI-TRAP法に比べ、検査室レベルにおいて安全に行えることから、本検査法は癌検診補助診断法として有用で臨床的に広く応用できる可能性があることが明らかになった。

384 ヒト悪性腫瘍細胞株におけるM1 senescenceの誘導とtelomerase抑制に関する検討

日本大

太田裕穂、坂元秀樹、木下和哉、中山靖夫
高見雅司、佐藤和雄

【目的】ヒト悪性腫瘍細胞はtelomerase(TLM)を発現しており、無限の分裂能力を有している。そこでこのTLM活性を抑制することで腫瘍の増殖を制御することが可能か否かを検討した。【方法】卵巣癌株(HRA, OVHS-1)、子宮体癌株(Ishikawa), 乳癌株(MCF-7)を用いた。まずRT-PCR法によりGnRH受容体のmRNA発現を検討した。つづいて細胞をestrogen freeで培養後、estradiol (E, 50nM), progesterone (P, 50nM), Buserelin(B, 0-60μg/ml)で48時間培養した。Kimらの方法(Science, 1994)で細胞からCHAPS抽出を行い、4μgの蛋白でTRAP assayを行った。ゲルを切り出し、増幅されたtelomeric repeat ladderに取り込まれた³²Pを定量することでTLMの活性を測定した。さらに細胞はこの条件で長期(>20週)継代しM1 senescenceの誘導がおこるか否かを観察した。

【成績】Eは48時間培養において、すべての株のTLM活性を抑制する一方、Pはまったく影響を与えなかった。Bは容量依存性にMCF-7, OVHS-1, HRAのTLM活性を抑制した。長期培養でE, PによりM1 senescenceは誘導されず、B単独ではMCF-7, HRAがそれぞれPDL(Population Doubling Time)=10, PDL=50で、BとEの併用ではIshikawa, MCF-7, OVHS-1, HRAのすべてでPDL=70, 10, 60, 30においてM1 senescenceが誘導された。BとP併用はB単独と同様の効果のみが認められた。

【結論】Bにはヒト悪性腫瘍株においてTLM活性を抑制することで腫瘍の増殖を停止させる作用がある。さらにこの作用はEにより増強されることが示された。