

## カレントレビュー

## 4. 腫瘍

## a. 婦人科腫瘍とテロメラーゼ

Telomere, Telomerase and Gynecologic Malignancies

坂元 秀樹 佐藤 和雄

Hideki SAKAMOTO and Kazuo SATO

## はじめに

すべての生命個体は有限の寿命をもつ。不老不死は古今東西ヒトの夢であったが誰もそれを実現していない。なぜ不老不死が不可能なのか？ 老化のメカニズムは何なのか？ このような基本的な問題すら明らかにはされていなかった。しかし最近の10年間でこの領域に急速に光があたり始めている。その中心的位置を占めるのがテロメアとテロメラーゼがかかわる細胞老化の制御機構である [Harley, 1990]。実際1998年米国のグループがテロメラーゼ遺伝子を導入することにより、正常なヒト細胞を癌化させずに今も長寿化させている。ペトリ皿の中とはいえ、不老不死が達成されたといってもよい画期的な出来事である。さてこのテロメアとテロメラーゼをめぐる話題は寿命の科学である [Wright, 1992] 一方、新しい観点からの癌細胞の特性の理解と、癌の治療の可能性を追及する

科学といえる。癌細胞に発現しているテロメラーゼは、その細胞に無限の分裂能力を保証することで、逆に細胞にとって、さらに多くの遺伝子異常が起こりえる状況を作り出している。もし癌細胞に無限の分裂能力を付与しているテロメラーゼを抑制することができるならば、癌細胞はその増殖を停止し、老化する。本当の意味での tumor static な治療が可能であろう。狙った癌組織の細胞分裂を停止させ、老化させることが可能であれば、癌との共存も不可能ではない。本稿ではテロメラーゼをめぐる最近の状況をレビューするとともに、婦人科領域のテロメラーゼに関する知見をまとめてみた。

## 不死化と癌

ヒト線維芽細胞の培養を行うと、50~80回の分裂ののちに細胞は増殖(分裂)を停止してしまう [Hayflick, 1965]。この状態では細胞は膨化したり、不整な形態を示したりして老化していることがわかる。さらにはガラクトシダーゼなど、老化した細胞に特有の遺伝子を発現している。その後さらに培養を続けると、一連のアポトーシス機構が始動し、細胞死が起こり始める。その後は細胞が死滅し、老化のプロセスが完了することになるが、極めて稀に(約 $1 \times 10^{-7}$ )細胞

日本大学医学部産婦人科

〒173-8610 板橋区大谷口上町30-1

Department of Obstetrics and Gynecology, Nihon University School of Medicine, Tokyo

Key words: Telomere • Telomerase • Gynecologic tumors

死のプロセスを抜け出し、不死化する細胞が得られることがある(図1)[Shay, 1991]. もっとも in vitro でラットなどの細胞では容易に観察される不死化も、ヒト細胞では極めて稀である。実際胎児の細胞は例外として、ヒト細胞の株化は非常に困難である。このことは重要な意味をもつ。すなわちヒトの細胞では不死化が起こるのを阻止するメカニズムが幾重にも作動しており、常軌を逸する細胞はただちに除去される仕組みになっている。なぜか?

分裂する細胞は、紫外線、放射線、ウイルス、環境ホルモン、活性酸素などのさまざまなDNAに直接作用し得る物質により、常に損傷や脱落、塩基配列の読取り損ない(ミスマッチ)が起こり得る。その誤りが遺伝情報とは無関係な部分に、わずかに起きる限りは、種の保存と個体の生命維持には比較的無害な誤りといえるが、遺伝情報部分のミスマッチはクロソームに次世代に引き継がれてしまう。これを防ぐ第一の手だてとして、問題の起こったDNA部分を切り取って修復する酵素(ERCC1など)がまず修復を行う。しかしより高度のミスマッチが起こった場合は細胞の増殖態度に変化が起こる。このような変化は細胞周期のチェックを行っている分子、すなわち Rb と P53 に伝えられ、アポ

トーシスによりそのような細胞は除去される(図2)。しかし細胞の寿命が長ければ長いほど、分裂回数が多いほどいわば大数の法則で、Rb や p53 自身の遺伝子にミスマッチが入る可能性が高まってくる。対立遺伝子の両方の Rb や p53 にも変異が起こればこれら遺伝子が果たすチェック機能が失われ、持続性・無統制な増殖(分裂)が起こり始めるとともにテロメラーゼが発現し[Hara, 1991], 発癌といえる状態となる。

すなわち細胞は不死化に近づけば近づくほど、癌化しやすくなるといえる。正常の体細胞が、一定の生存期間を過ぎて老化・死滅していくのは、癌化を抑止する自然のメカニズムといえる。もともと不死化しやすい細胞をもつマウスなどでは老化した個体にしばしば腫瘍が発生する。それでは細胞に一定の寿命を設定し、不死化を防止しているメカニズムは一体何であろうか?

### テロメアの機能と意義

真核細胞染色体の中央「セントロ(中央)メア(小粒)」に対し、末端は「テロ(末端)メア(小粒)」と呼ばれる。この部分の染色体は、遺伝情報を担当しないヘテロクロマチンであり、その塩基配列は TTAGGG が繰り返されている。さて細胞は分裂に際し、染色体DNAを複製するが、こ

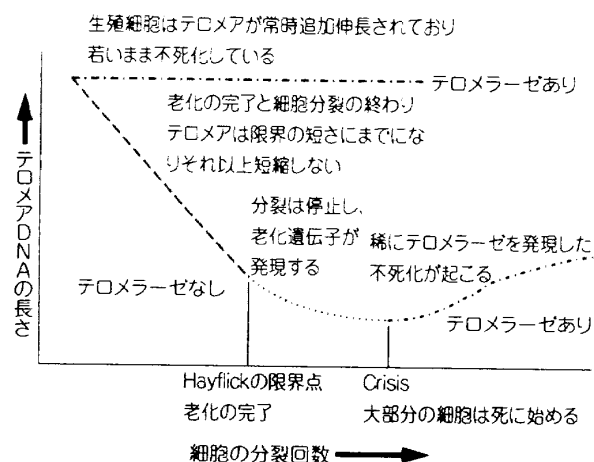


図 1

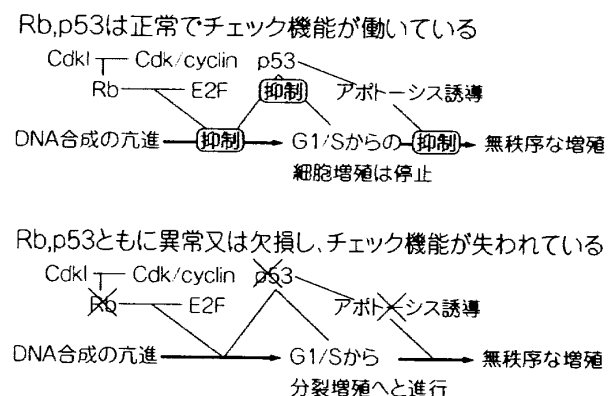


図 2

これはDNAポリメラーゼの働きによっている。このDNAポリメラーゼは染色体末端、すなわちテロメアDNA部分を完全に複製できないという特性が早くから指摘されてきた[Watson, 1972]。このため細胞はその分裂1回につき、娘染色体では50~200塩基分が短くなることになる。テロメアDNAの長さは約15,000塩基対であり、それから計算すると細胞は75~300回の分裂寿命をもっていることになるが、実際には80回程度の分裂をした後に細胞が老化し、分裂が停止する。このようにテロメアがある一定の「長さ」になり、完全に消失しない前に分裂がほとんど停止し、増殖能力が平衡に達した制止状態をM1期(mortality stage 1)と呼ぶ。さらに時間が経過するとそれに続く細胞死が始まり、これをM2期と呼んでいる(図3)[Shay, 1991]。ごく稀に未知のメカニズムによりこのM1, M2をすり抜ける細胞は、後述するように不死化し、癌化への道を辿ると考えられている。

さてテロメアは染色体の末端にあり、細胞分裂ごとに短縮するが、単に「分裂回数券」としての役目だけを負っているのではない。染色体の末端を保持・安定させ、染色体自身の構造を維持している。それはちょうどロープの両端に結び目を作ることで、ロープの繊維が「ほつれ」て

いくのを防止するのに似ている。さらにはテロメアは染色体を核膜に固定している。テロメアDNAでアンカリング固定された染色体は安定であり、染色体同士の端が癒合することはない。しかしテロメアが一定の長さ以下になるとこれらの機能が失われアンカリングがはずれてしまう。その結果、染色体DNAの破断や染色体同士の癒合が起きる。このような染色体異常を起こした細部は、その細胞自身のもつチェック機能が働く結果、アポトーシスが誘導され、その細胞は除去される。

さて細胞が「分裂回数券」ともいえるテロメアを使い切ると老化するとすれば、長いテロメアをもつ細胞は寿命が長いはずである。しかしマウスなど長いテロメアをもつ動物が長寿ということでもない。また「無限」の分裂能力をもつ癌細胞は、むしろ逆に短いテロメア(200~1,000塩基)をもっている。癌がそれでも分裂を繰り返していくことができるのは、分裂ごとに短縮するテロメアを逐次追加していく能力が癌には存在しているからであり、そのための酵素、テロメラーゼと呼ばれる一種の逆転写酵素を発現しているからと考えられている。生体に害をなすだけの癌細胞こそが、不老不死細胞であるという自然のアイロニーが感じられる。

### テロメラーゼの発見

1985年、Greider and Blackburnはテトラヒメナからテロメラーゼを発見した。この酵素はリボ核酸-蛋白酵素であり、複合体中のRNA分子を鋳型として蛋白部分にある逆転写酵素がテロメア断片(TTAGGG)を作り、これを分裂ごとに短縮するテロメアDNAに逐次追加していくことを報告した(図4)。その4年後にはヒトの腫瘍においてもテロメラーゼが検出されている[Morin, 1989]。しかしin vitroでのテロメラーゼ活性の検出には多くの試料が必要であり、手技も繁雑であったため、ただちには一般

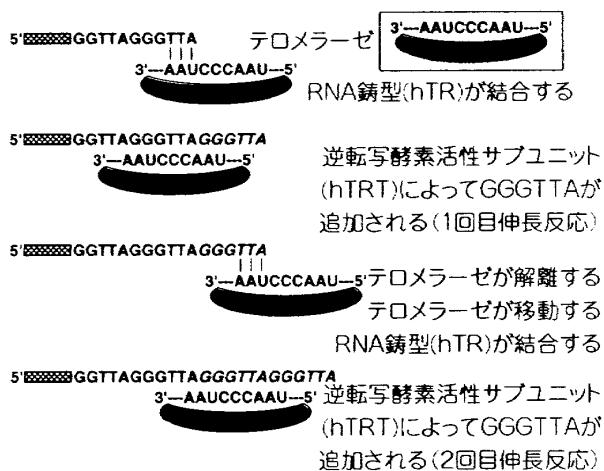


図 3

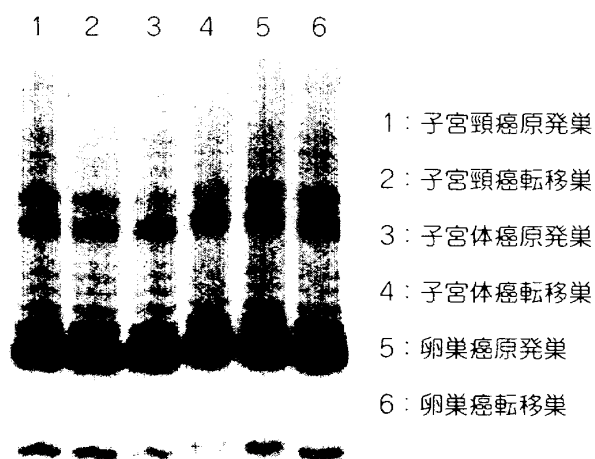


図4 婦人科癌におけるテロメラーゼ活性の発現

化しなかった。ところが1994年 Kim et al. により PCR 法とカップルさせた新しいテロメラーゼ活性の検出方法(Telomeric Repeat Amplification Protocol=TRAP)がサイエンス誌に発表され、この酵素活性がヒト腫瘍細胞でほぼ普遍的に発現し、正常細胞では検出されないとの報告が出るにいたり、その癌特異性が大きくクローズアップされ、TRAP 法の簡便さも手伝って、臨床からも次々とテロメラーゼ活性の報告が始まった。すなわちヒトの腫瘍細胞株において90%にテロメラーゼが発現しているとされ[Kim, 1994]、テロメラーゼと発癌、転移そして癌治療への応用が期待されている。しかしその展開は、まだまだ始まったばかりである。テロメアと癌については最近のグライダーとブラックバーンの総説に詳しいので参照されたい[日経サイエンスの日本語訳, 1996]。

### テロメラーゼと細胞の不死化・癌化

ヒトではテロメラーゼの発現は生殖細胞か腫瘍細胞にのみ特異的にみられるものと考えられてきたが、骨髄細胞、腸管上皮、子宮内膜など reserve cell あるいは stem cell が存在する組

織からも、わずかに検出されることが最近わかってきた[Burger, 1997]。後者の細胞は不死ではないことから、in vivo でのテロメラーゼ発現が、細胞の不死化の必要十分条件ではないといえる。事実テロメラーゼが発現している細胞も、急激な分裂を強いられた場合は疲弊・老化する。例をあげると、骨髄移植された stem cell は、造血のための過剰な分裂を強いられると老化する。しかし in vitro ではテロメラーゼ発現と不死化が同義である可能性が高くなってきた。1997年ノーベル賞を受賞した Cech のグループの Nakamura はテロメラーゼの活性サブユニット(human telomerase reverse transcriptase subunit: 以下 hTERT)をクローニングした。この遺伝子は第5番染色体の短腕(5p)に存在する逆転写酵素モチーフをもった蛋白質[Lingner, 1997]で、mRNA は34Kb の長さをもっている。そして1998年 Bodner et al. が、この hTERT 発現ベクターを正常の線維芽細胞に導入した。hTERT 発現ベクターは細胞のなかでテロメラーゼの活性サブユニットを発現し、テロメラーゼ活性をもった線維芽細胞ができていく。この細胞は対照の細胞が老化した後も老化せず、分裂を繰り返している。さらに興味あることは、これらの細胞が形質変換を受けておらず、腫瘍を形成していないことである。彼らの報告では、現時点では対照より20~30世代の寿命の延長を更新中とのことで、この時間尺度内においては、少なくともテロメラーゼ発現自身は発癌性に直結してはいないといえる。

細胞の不死化とテロメラーゼ発現に関しては、多くの実験結果が報告されている。Lundblad et al. は真菌のテロメラーゼに変異を導入し、細胞の老化が起こることを証明した[Lundblad, 1989]。一方では正常細胞をウイルス転写因子にて(SV40, アデノウイルス E1A, E1B, パピローマウイルス E6, E7など)形質変換するとテロメラーゼ活性があらわれることが報告さ

れた[Klingelutz, 1994]. マウスでは, この形質変換により遺伝子の安定がくずれ, 前癌状態, 初期癌, 進行癌と, 細胞の悪性度が増すにつれテロメラーゼ活性が増すことも知られている[Bendarek, 1995].

### 婦人科腫瘍とテロメラーゼ

本稿の主題であるが, 現在のところ, ある一つの領域の腫瘍に関してテロメラーゼを中心とするレビューがまとまるほどの知見が得られていないのが現実である.

頸癌, 体癌, 卵巣癌, 外陰癌, 肉腫では他の癌と同様にテロメラーゼ活性が報告されているがその頻度は90~95%と高い[坂元秀樹, 1996; Zheng, 1997; Gorham, 1997]. テロメラーゼ活性は腫瘍の原発巣・転移巣のいずれにも検出され, 癌の進行期, 分化度などの臨床的パラメータとは, 明確な関連はみられていない. 子宮頸部の検討では中等度から高度異形にかけてはテロメラーゼ活性がみられないので, 癌に特異的と考えられる[Gorham, 1997]. 細胞診の検体でもテロメラーゼの検出は可能であるが[Kyo, 1997], 正常な上皮にも活性がわずかながら検出されるようで, 診断的意義には今後一層の検討が必要であろう. 癌とその周辺の組織における検討では, テロメラーゼ活性の発現にフィールド効果(癌の周辺の健常組織にも癌と同様な遺伝子発現がみられること)を示唆する報告もある. しかし検出方法が高度な遺伝子増幅(PCR)を使用するため[Piatyszek, 1995], 形態学的には確認できないような少数の癌細胞の健常部分への混入とそのテロメラーゼ活性を検出している可能性も否定できない.

子宮内膜においては, 正常内膜でもテロメラーゼ活性が検出されるとの報告が続いて出された[Brien, 1997; Kyo, 1997]. しかもその活性は増殖期後期から分泌期中期に高く, 性周期を示すとされる[Saito, 1997]. 内膜組織で検出

表1 婦人科癌症例におけるテロメラーゼ発現  
—原発巣と転移巣—

	原発巣	転移巣
頸癌(n=5)	5(100%)	5(100%)
体癌(n=16)	16(100%)	15(93.8%)
卵巣癌(n=14)	14(100%)	13(92.9%)
閉経後卵巣皮質(n=2)	0	—
腹直筋(n=7)	0	—
子宮筋(n=4)	0	—

表2 婦人科悪性腫瘍におけるテロメラーゼのRNA部分の発現の検討

	原発巣	転移巣
頸癌(n=5)	5(100%)	3(60%)
体癌(n=16)	11(68.8%)	10(62.5%)
卵巣癌(n=14)	13(92.9%)	13(92.9%)
非癌組織(n=10)	8(80%)	—

されるテロメラーゼ活性は, setm cell に由来すると考えられており, これらが性ホルモンの調節下にある可能性が示唆されるが, その確たる証明はいまだ提出されていない. 一方, 内膜増殖症では異型性のあるなしにかかわらずテロメラーゼは陽性である. 閉経後の子宮内膜ではテロメラーゼは極めて弱いか, 陰性であり, 内膜増殖症や癌では陽性であることから, 閉経後の内膜からテロメラーゼ活性を検出すれば癌の診断の一助となる可能性はある.

卵巣においてもテロメラーゼ活性が検出される. 閉経前の正常の卵巣では, テロメラーゼ活性は卵に由来する活性が検出される[Wright, 1996]. 卵巣腫瘍については, その原発巣ならびに転移巣いずれにおいても高い頻度でテロメラーゼ活性がみられる. 胚細胞由来の腫瘍でも同様に活性があるが, 悪性腫瘍に比較してみるとそれほど高くない. 閉経後の卵巣ではテロメ

ラーゼ活性が検出されないので、テロメラーゼを標的とした療法が可能であろう。しかしながら、内膜・卵巣では正常組織でもテロメラーゼが発現していることは、診断や治療のうえで問題となりうる。

乳癌においてのテロメラーゼ活性は、生検材料や needle aspiration 検体で検討されており、癌に高い特異性がある[Sugino, 1996; Hiyama, 1996]. Landberg et al. は乳癌検体において、細胞周期を調節する cyclin D1, cyclin E あるいは増殖の指標である Ki-67が過剰に発現している検体には強いテロメラーゼ発現を報告している。しかしリンパ節への転移の有無、ステロイド受容体の有無、腫瘍の大きさなどとは関連がなく[Newaz, 1997], 予後診断には有用ではない。この点は他の婦人科癌と同様である。

テロメラーゼは蛋白部分(hTRT)と鋳型となるRNA(hTR)で成り立っているが、後者の発現を調べてみると、癌・非癌組織を問わず、ほとんどの組織でhTRが検出される。これはhTRTが癌に特異的に発現しているのと大きな違いである。このことがどのような意義をもつか明らかではない。テロメラーゼ活性にはこのhTRが重要で、このhTRのアンチセンスを子宮頸癌細胞に発現させると、テロメアの短縮が起り、癌細胞が増殖しなくなることが報告されている[Feng, 1995]. しかしテロメラーゼが発現していないほとんどの組織で検出されるhTRが、テロメラーゼのサブユニットとしての機能以外にも重要な役割を担っているであろうことは、その発現の普遍性より容易に推察されるので、hTRを標的とする治療には厳密な選択性が要求される。

### テロメラーゼ陰性の癌

ヒト癌検体では高頻度にテロメラーゼ活性が検出されるが、その程度は80~98%とされる。

このことはわずかではあるが、テロメラーゼ活性が陰性の腫瘍があることを意味している。すでに述べてきたように、テロメアの伸張にはテロメラーゼが必要であるが、in vitroではテロメラーゼ活性が検出されないにもかかわらずテロメアの伸張が観察される腫瘍の報告がある[Bryan, 1995]. このように腫瘍によっては例外的にテロメラーゼに依存しない形式で、テロメアが補充・伸張している可能性がある。実際に真菌などでは、長いテロメアを短くなったテロメアに移し変えることも起こっているようである。

### 癌治療とテロメラーゼ

テロメラーゼを標的とする癌治療は今後に大きな期待を抱かせるが、テロメラーゼ活性が stem cell に存在することから、正常の骨髄や消化管粘膜などへの副作用が考慮されなければならない。将来において期待されるアプローチには、(1) アンチセンス、(2) 分化誘導作用をもつ薬剤、(3) 逆転写酵素阻害剤などがある。すでにアンチセンスはhTRに対する検討が報告されているが、テロメラーゼの活性サブユニット(hTRT)のクローニングが報告された現在、これに対するアンチセンスの検討が最も期待される。一方白血病細胞を使った検討では、活性型ビタミンDとレチノール酸にテロメラーゼ抑制効果が報告されている[Savoysky, 1996; Bestinly, 1996]. 逆転写酵素阻害剤ではAZTTP(3'-azido-3'-deoxythymidine-5'-triphosphate)やHIVの治療に用いられているAZT(3'-azidothymidine)などがin vitroの検討で用いられている。実際これらの薬剤の添加によりテロメアの短縮と染色体の末端の癒合が報告されているが、有効濃度が0.8mMと高く、実用にはまだまだ検討が必要である。

## まとめ

テロメラーゼとテロメアが、生命科学の分野に画期的な影響を与えることは間違いないと思われる。テロメアの長さからいえば、ヒトは約150年の寿命をもっているはずである[香川靖雄, 1996]。20世紀も終わる今でさえ、人類は天寿の半分を、やっと全うすることができているに過ぎない。21世紀には「疾病のない老い」や、「細胞レベルでの老化の防止」が可能な世界が来るかもしれない。

## 文 献

1. *Bednarek A, Budunova I, Slaga JT, Aldaz M.* Increased telomerase activity in mouse skin premalignant progression. *Cancer Research* 1995; 55: 4566—4569
2. *Bestilny LJ, Brown CB, Miura Y, Robertson LD, Riabowol KT.* Selective inhibition of telomerase activity during terminal differentiation of immortal cell lines. *Cancer Research* 1996; 56: 3796—3802
3. *Bodner AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chie C-P, Morin GB, Harley CB, Shay JB, Lichtsteiner S, Wright WE.* Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998; 279: 349—352
4. *Brien TP, Kakllakury BVS, Lowry CV, Ambros RA, Muraca PJ, Malfetano JH, Ross JS.* Telomerase activity in benign endometrium and endometrial carcinoma. *Cancer Research* 1997; 57: 2760—2764
5. *Bryan TM, Englezou A, Gupta J, Bacchetti S, Reddel RR.* Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J* 1995; 14: 4240—4248
6. *Burger AM, Bibby MC, Double JA.* Telomerase activity in normal and malignant mammalian tissues: Feasibility of telomerase as a target for cancer chemotherapy. *Br J Cancer* 1997; 75: 516—522
7. *グライダー CW, ブラックバーン EH.* テロメアとガン. *日経サイエンス* 1996; 4: 44—52
8. *Feng J, Funk WD, Wand SS, Weinrich SL, Avilion AA, Chiu CP, Adams RR, Chang E, Allsopp RC, Yu J, Le S, West MD, Harley CB, Andrews WH, Greider CW, Villeponteau B.* The RNA component of human telomerase. *Science* 1995; 269: 1236—1241
9. *Gorham H, Yoshida K, Sugino T, Marsh G, Manek S, Charnock M, Tarin D.* Telomerase activity in human gynaecological malignancies. *J Clin Pathol* 1997; 50: 501—504
10. *Greider CW, Blackburn EH.* Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Teteahymena extracts. *Cell* 1985; 43: 405—413
11. *Hara E, Tsurui H, Shinozaki A, Nakada S, Oda K.* Cooperative effect of antisense-Rb and antisense-p53 oligomers on the extension of life span in human diploid fibroblasts, TIG-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 528—534
12. *Harley CB, Futcher AB, Greider CW.* Telomeres shortening during aging of human fibroblasts. *Nature* 1990; 345: 458—460
13. *Hayflick L.* The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1965; 37: 614—636
14. *Hiyama E, Gollahon L, Kataoka T, Kuroi K, Yokoyama T, Gazdar AF, Hiyama K, Piatyszek MA, Shay JW.* Telomerase activity in human breast tumors. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 116—122
15. *香川靖雄.* 老化のバイオサイエンス. 東京: 羊土社 1996
16. *Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PLC, Coviello GM, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW.* Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011—2015
17. *Klingelutz AJ, Barber SA, Smith PP, Dyer K, McDougall JK.* Restoration of telomere in human papillomavirus-immortalized human anogenital epithelial cells. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 961—969
18. *Kyo S, Takakura M, Kohama T, Inoue M.* Telomerase activity in human endometrium. *Cancer Res* 1997; 57: 610—614
19. *Kyo S, Takakura M, Ishikawa H, Sasagawa*

- T, Satake S, Tateno M, Inoue M.* Application of telomerase assay for the screening of cervical lesion. *Cancer Res* 1997; 57: 1863—1867
20. *Landberg G, Nielsen NH, Nilsson P, Emdin SO, Cajander J, Roos G.* Telomerase activity is associated with cell cycle deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 549—554
  21. *Cajander J, Roos G.* Telomerase activity is associated with cell cycle deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 549—554
  22. *Lingner J, Hughes TR, Shvchenko A, Mann M, Lundblad V, Cech TR.* Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase. *Science* 1997; 276: 561—567
  23. *Lundblad V, Szostak JW.* A mutant with a defect in telomere elongation leads to senescence in yeast. *Cell* 1989; 57: 633—643
  24. *Morin GB.* The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 1989; 59: 521—529
  25. *Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB, Weinrich SL, Andrews WH, Lingner J, Harley CB, Cech TR.* Telomerase catalytic subunit homologous from fission yeast and human. *Science* 1997; 277: 955—959
  26. *Nawaz S, Hashizumi TL, Markham NE, Shroyer AL, Shroyer KR.* Telomerase expression in human breast cancer with and without lymphnode metastasis. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 542—547
  27. *Piatyszek MA, Work RA, Shay JW.* Late activation of telomerase activity in human tumors. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res* 1995; 36: A3300
  28. *Saito T, Schneider A, Martel N, Mizumoto H, Bulgay MM, Kudo R, Nakazawa H.* Proliferation associated regulation of telomerase activity in human endometrium and its potential implication in early cancer detection. *BBRC* 1997; 231: 610—614
  29. **坂元秀樹.** 癌細胞の特性と行動. *日産婦誌* 1996; 48: 683—688
  30. *Savoysky E, Yoshida K, Ohtomo T, Yamaguchi Y, Akamatsu K, Yamazaki T, Yoshida S, Tsuchiya M.* Down-regulation of telomerase activity is an early event in the differentiation of HL60 cells. *BBRC* 1996; 226: 329—334
  31. *Shay JW, Pereira-Smith OM, Wright WE.* A role for both RB and p53 in the regulation of human cellular senescence. *Exp Cell Res* 1991; 196: 33—39
  32. *Shay JW, Wright WE, Werbin H.* Defining the molecular mechanisms of human cell immortalization. *Biochem Biophys Acta* 1991; 1072: 1—7
  33. *Sugino T, Yoshida K, Bolodeoku J, Tahara H, Buley I, Manek S, Wells C, Goodison S, Ide T, Suzuki T, Tahara E, Tarin D.* Telomerase activity in human breast cancer and benign breast lesions: Diagnostic application in clinical specimens including needle aspirations. *Int J Cancer* 1996; 69: 301—306
  34. *Watson JD.* Origin of concatameric T4 DNA. *Nature* 1972; 239: 197—201
  35. *Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW.* Telomerase activity in human germline and embryogenic tissues and cells. *Dev Genet* 1996; 18: 173—179
  36. *Wright WE, Shay JW.* The two-stage mechanism controlling cellular senescence and immortalization. *Exp Gerontol* 1992; 27: 383—389
  37. *Zakian VA.* Structure and function of telomere. *Annu Rev Genet* 1989; 23: 579—604
  38. *Zheng PS, Iwasaka T, Yamasaki F, Ouchida M, Yokoyama M, Nakao Y, Fukuda K, Matsuyama T, Sugimori H.* Telomerase activity in gynecologic tumors. *Gynecol Oncol* 1997; 64: 171—175