

原 著

胃癌組織におけるテロメラーゼ活性とテロメラーゼ 構成要素との関連について

獨協医科大学第1外科

田中 直行 宮地 和人 砂川 正勝

胃癌組織におけるテロメラーゼ活性とhTR, hTERT および TRF1, TRF2の発現とそれらの関連を比較・検討した。胃癌51例で、テロメラーゼ活性はF-TRAP法にて半定量化、hTR, hTERTはreal-time PCR法にて定量化、TRF1, TRF2は免疫組織化学法にて核内陽性細胞率を算定した。癌組織でのテロメラーゼ活性陽性率および平均活性値は78.4%・88.7, hTRは98.0%・8.49, hTERTは96.0%・3.05であった。TRF1, TRF2の核内陽性細胞率は、45.1%, 42.9%であった。テロメラーゼ活性発現率はhTR高値群で有意に高発現であった($p=0.04$)。同様にhTERTに関しても高値群でテロメラーゼ活性発現率が有意に高かった($p=0.03$)。TRF1, TRF2との関連は認めなかった。以上より、hTR, hTERTがテロメラーゼ活性の発現と強く関連する可能性が示唆された。

はじめに

細胞が分裂増殖する際に、染色体末端のテロメアが短縮する¹⁾。細胞分裂を繰り返すとテロメア長は次第に短縮し染色体の安定性が保持できなくなる。正常細胞でテロメア長がHenleyの臨界点に達した場合には、さらに増殖することができなくなり、増殖を停止するかアポトーシスに陥る^{2,3)}。一方、癌細胞ではこのテロメア長を維持するテロメラーゼ活性が観察されている。癌組織におけるテロメラーゼ活性の発現は、多くの癌腫で約90%前後の高い率で認められている⁴⁾。残り約10%の症例ではテロメラーゼ活性の発現を見ない。この現象を解明するにはテロメラーゼ活性の発現に関する調節機構の研究を行う必要がある。

この調節機構については現在まで、テロメラーゼを構成する鋳型要素であるhuman telomerase m-RNA (hTR⁵⁾)やテロメアの合成の触媒作用を有するhuman telomerase reverse transcriptase m-RNA (hTERT⁶⁾)などが単離されている。これらのテロメラーゼ関連物質の発現に関しては、発見当初細胞の癌化との関連が示唆されていたが、研究が進むに従いテロメラーゼ活性、hTR, hTERTなどは癌細胞に特有なものではなく、増殖能の高い生殖細胞や造血細胞のみならず正常

の細胞や組織にも認められることが判明した⁸⁾。

さまざまな知見がテロメラーゼ活性やその関連物質に関してえられているが、依然テロメラーゼそのものは単離合成されていない上に、これらの発現を調節するメカニズムに関しても不明である。最近、テロメラーゼの発現を制御する物質の一つとして、telomeric repeating binding factors (TRFs⁹⁾⁻¹⁷⁾が発見された。本研究ではTRFsの癌組織内発現とテロメラーゼ活性との関連について検討し、さらに胃癌の臨床病理学的所見と比較した。

対 象

対象は平成9年から平成11年に手術を行った胃癌症例中の51例である。胃癌手術時、胃摘出後直ちに腫瘍の先進部より癌部以外の組織をできるだけ除いた胃癌組織100mg以上を採取し2分した。また、癌から5cm以上離れた非癌部組織も採取した。2分した一方と非癌部組織を10%中性緩衝ホルマリンで24時間固定後、パラフィン包埋し組織学的検索のためのHE染色と免疫組織学的検索のための切片を作製した。2分した癌組織の残りをテロメラーゼ活性の検索のために-80で凍結保存した。採取した胃癌症例の組織学的分類⁸⁾では分化型19例(乳頭状腺癌1例、管状腺癌18例)、未分化型32例(低分化腺癌27例、印環細胞癌5例)であった。深達度別では、T0・1; 4例, T2; 20例, T3; 18例, T4; 9例であった。

方 法

テロメラーゼ活性：胃癌組織から1×CHAPS lysis buffer により蛋白を抽出し，蛋白量を1μg に調整後，TRAP-eze™ Telomerase Detection Kit (Oncor 社) を用い Fluorescence-based Amplification Protocol (F-TRAP) 法で測定した．活性の定量には ALF Express™ DNA sequencer (Pharmacia Biotech) を用い久富らの方法⁹⁾によって半定量値を測定した．このテロメラーゼ活性値はPCR 法により組織中のテロメラーゼによって産生された物質の蛍光を測定し，内部標準とした蛍光と比較して数値化している半定量値で表示した．

hTR：試料より Isogen (和光純薬) を用いて total RNA を抽出し，1μg を検査に用いた．この total RNA に対し DNase 処理後，random primer により cDNA を合成した．TLM-F primer と TLM-R primer および TLM-P probe を含むPCR溶液を用いて real-time PCR を行った．real-time PCR は ABI PRISM™ 7700 DNA Sequencer(PE Apllied Biotech, CA, USA)により，95 /45sec.，60 /45sec.，72 /30sec.：50cycle の条件下で行った．Standard RNA¹⁰から10²copies 由来の発光値とサンプル由来の発光値を比較し定量化を行った．その算出されたコピー値の対数の指数値を活性値として判定した．

hTERT：試料より Isogen (和光純薬) を用いて total RNA を抽出した．RNA 量を1μg に調整し，DNase 処理後，random primer により cDNA を合成した．BABO-F primer と BABO-R primer および BABO-P probe を含むPCR溶液を用いて real-time PCR を行った．PCR は ABI PRISM™ 7700 DNA Sequencer (PE Apllied Biotech, CA, USA) により，95 /30sec.，60 /30sec.，72 /30sec.：53cycle の条件下で行った．Standard RNA¹⁰から10²copies 由来の発光値とサ

ンプル由来の発光値を比較し定量化を行った．その算出されたコピー値の対数指数値を活性値として判定した．

TRF1および TRF2：パラフィン包埋組織より4μm の切片を作製し，脱パラフィン後，マイクロウェーブ処理(100℃，5分)し，免疫組織化学的検査を行った．方法は PAP 法で，一次抗体は抗 TRF1抗体 (Santa Cruz 社製)，抗 TRF2 抗体 (Santa Cruz 社製) を200 倍に希釈して用いた．これらの1次抗体の反応は4℃で24時間行った．1次抗体反応後 PBS で洗滌し，ABC キット (フナコシ社製) を使用して，添付のマニュアルに従って免疫組織化学的染色を行った．核染色はメチルグリーンを用いて行った．

おのおのの癌組織において，対物レンズ40×の顕鏡下に腫瘍内の近接しない部位を3から10視野観察し，合計1,000個の癌細胞内の核内所見を検討した．また，同一切片内に存在するリンパ球で認められる所見と同等である局在所見を認める癌細胞を数えおのおのの陽性率を算出した．

判定基準：テロメラーゼ活性は，半定量値が測定できた場合を陽性，測定値が得られない場合を陰性とした．また，これらの各因子の平均値は，陽性症例のみの半定量値の平均である．統計学的検定は，陽性・陰性間の検定には χ^2 検定を用い，半定量活性値の比較には Student's t-test および Welch's t-test を用い p < 0.05 を有意差ありと判定した．

結 果

(1) テロメラーゼ活性：癌組織でのテロメラーゼ活性は，51例中40例(78.4%)に認められた．活性陽性例での半定量活性値は，6.3U/μg protein (以下，単位省略) から1,356.2であり，活性の平均は88.7 ± 215.2であった．組織型との関連では，分化型において19例中17例(89.5%)にテロメラーゼ活性を認めたのに対して，未

Table 1 Correlation between telomerase activity and differentiation, depth of invasion

Telomerase activity	(+)	(-)	Expression ratio	Average value
Total	40	11	78.4%	88.7 ± 215.2
Differentiated	17	2	89.5%	70.9 ± 69.3
Undifferentiated	23	9	71.9%	101.8 ± 279.6
T0・1	2	2	50.0%	87.3 ± 104.3
T2	15	5	75.0%	143.0 ± 341.1
T3	15	3	83.3%	45.9 ± 44.8
T4	8	1	88.9%	67.4 ± 91.4

分化型では32例中23例(71.9%)であった。分化型の場合の方が、テロメラーゼ活性の発現率が高かったが有意差は認めなかった($p=0.26$)。また、テロメラーゼ活性値に関しても差は認めなかった。テロメラーゼ活性陽性例の活性値では、分化型で6.7から249.5で平均70.9 \pm 69.3であったのに対して、未分化型では6.3から1,356.2で平均101.8 \pm 279.6であった。深達度との関連においては、各深達度におけるテロメラーゼ活性発現率はT0・1; 50.0%, T2; 75.0%, T3; 83.3%, T4; 88.9%であり深達度が進んだ症例ほど活性発現率が高かったが有意差は認めなかった (Table 1)。

(2) hTR: 癌組織でのhTRは、51例中50例(98.0%)に認められた。半定量値は5.32log copies/ μ g total RNA (以下, 単位省略) から10.76で平均は8.49 \pm 0.79であった。組織型別ではhTR半定量値は、分化型で5.32から10.76で平均8.53 \pm 1.13であったのに対して、未分化型では7.46から9.49で平均8.22 \pm 0.49であり、組織型で差は認めなかった。深達度との関連においては、各深達度における平均hTR値はT0・1で7.97, T2で8.56, T3で8.98, T4で8.59であり、深達度が進んだ症例ほどhTR値が高かったが有意差は認めなかった (Table 2)。

Table 2 Correlation between hTR and differentiation, depth of invasion

hTR	Average value
Total	8.49 \pm 0.79
Differentiated	8.53 \pm 1.13
Undifferentiated	8.22 \pm 0.49
T0・1	7.97 \pm 1.39
T2	8.56 \pm 1.05
T3	8.98 \pm 0.44
T4	8.59 \pm 0.38

(3) hTERT: 癌組織でのhTERT活性は、51例中49例(96.0%)に認められた。半定量値は1.78 log copies/ μ g total RNA (以下, 単位省略) から5.26で平均3.05 \pm 0.65であった。組織型との関連では、hTERT活性陽性例は分化型において19例中18例(94.7%), 未分化型では32例中31例(96.9%)と両者に差を認めなかった。また、陽性症例のhTERT値に関しては、分化型で2.72から5.26で平均3.40 \pm 0.60であったのに対して、未分化型では1.78から4.65で平均3.04 \pm 0.65であり組織型で差は認めなかった。各深達度別にhTERT活性発現率と活性値をみるとT0・1で3.22, T2で3.20, T3で3.12, T4で3.22であり差は認めなかった (Table 3)。

(4) TRF1の局在: 癌組織における核内局在は全症例で認め、発現率は0.9%~88.6%であり、平均45.1 \pm 23.7%の癌細胞に認められた。また、非癌部組織における腺管での発現率は3.8%~99.0%であり、平均70.6 \pm 23.3%であった。癌部において有意に低い発現率であった($p<0.001$)。組織学的分類での比較では分化型での核内陽性細胞率は平均で62.5 \pm 20.1%であり、未分化型では核内陽性細胞率の平均は34.7 \pm 19.3%であった。組織型別では分化型の方が有意に発現率が高かった($p<0.001$)。深達度別では、T0・1の早期癌で核内陽性細胞率は63.7%, T2; 51.6%, T3; 43.3%, T4; 25.7%であった。深達度が進むほど陽性率が低下して、T0・1およびT2がT4と比較して有意に高値であった($p<0.01$) (Fig. 1, 2) (Table 4)。

(5) TRF2の局在: 癌組織における核内局在はTRF1と同様に全症例に認め、発現率は6.9%~85.0%であり、平均42.9 \pm 22.1%の癌細胞に認められた。また、非癌部組織における腺管での発現率は17.1%~95.3%であり、平均65.6 \pm 20.7%であった。癌部において有意に低い発現率であった($p<0.001$)。組織学的分類での比較では分化型で核内陽性細胞率は平均で61.0 \pm 16.8%

Table 3 Correlation between hTERT and differentiation, depth of invasion

hTERT	Positive	Negative	Expression ratio	Average value
Total	49	2	96.1%	3.05 \pm 0.65
Differentiated	18	1	94.7%	3.40 \pm 0.60
Undifferentiated	31	1	96.7%	3.04 \pm 0.65
T0・1	4	0	100.0%	3.32 \pm 0.98
T2	18	2	90.0%	3.20 \pm 0.65
T3	18	0	100.0%	3.12 \pm 0.67
T4	9	0	100.0%	3.22 \pm 0.53

であり、未分化型では核内陽性細胞率は平均で $32.1 \pm 17.3\%$ であった。組織型別では分化型腺癌で有意に高率であった($p < 0.01$)。深達度別では、T0・1の早期癌で核内陽性細胞率は62.6%，T2；49.1%，T3；44.0%，T4；14.4%で、これも TRF1と同様に TRF2陽性細胞率はT0・1およびT2がT4と比較して有意に高値であった($p=0.01$) (Fig. 3, 4) (Table 4)。

(6)テロメラーゼ活性とhTR およびhTERTとの関連：テロメラーゼ活性を認めた胃癌40例におけるhTR陽性率は100%、hTERT陽性率は100%であり、テロメラーゼ活性陰性例11例におけるおのおの90.9%，81.8%に比較して、テロメラーゼ活性陽性例でいずれも高率であったが発現率に有意差は認めなかった。hTRは1例を除いた症例で発現を認めた。hTR値を中央値で2分し、高値群と低値群で比較検討すると、高値群でのテロメラーゼ活性陽性率は92.6%、低値群62.5

%で有意にhTR高値群で高かった($p=0.04$)。hTERTに関してはテロメラーゼ活性陽性例でhTERTの測定値が平均3.27、テロメラーゼ活性陰性例では2.74と有意にテロメラーゼ活性陽性例で高く($p=0.03$)、また、hTERT陰性例ではテロメラーゼ活性を認めなかった (Table 5)。

(7)テロメラーゼ活性とTRF1、TRF2との関連：テロメラーゼ活性を認めた胃癌40例におけるTRF1陽性細胞率は平均で46.1%，TRF2陽性細胞率は43.1%であり、テロメラーゼ活性陰性例11例におけるおのおの41.2%，42.0%に比較して、テロメラーゼ活性陽性例でいずれも軽度高率であったが有意差は認めなかった。また、テロメラーゼ活性値とTRF1陽性細胞率およびTRF2陽性細胞率との間に相関関係は認めなかった。

(8)TRF1とTRF2の関連：癌組織におけるTRF1とTRF2の発現率の相関係数は0.68であり高い相関関

Fig. 1 Immunohistochemical staining for TRF1 on differentiated type gastric cancer (tub. $\times 40$)



Fig. 2 Immunohistochemical staining for TRF1 on undifferentiated type gastric cancer (por. $\times 40$)

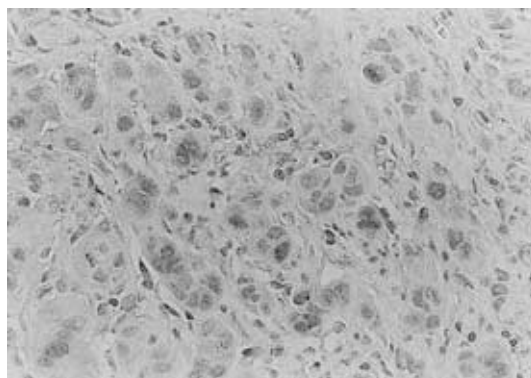


Table 4 Correlation between positive cell ratio for TRFs and differentiation, depth of invasion

	Expression ratio (%)			
	TRF1		TRF2	
	Cancer tissue	Non-cancerous tissue	Cancer tissue	Non-cancerous tissue
total	45.1 \pm 23.7	70.6 \pm 23.3	42.9 \pm 22.1	65.6 \pm 20.7
Differentiated	62.5 \pm 20.1	74.3 \pm 17.8	61.0 \pm 16.8	67.3 \pm 20.0
Undifferentiated	34.7 \pm 19.3	68.5 \pm 26.0	32.1 \pm 17.3	64.6 \pm 64.6
T0・1	63.7 \pm 20.1	66.2 \pm 26.4	62.6 \pm 17.9	63.1 \pm 20.7
T2	51.6 \pm 21.9	70.4 \pm 21.6	49.1 \pm 19.2	63.1 \pm 21.8
T3	43.3 \pm 22.4	71.2 \pm 22.4	44.0 \pm 21.3	74.4 \pm 16.2
T4	25.7 \pm 21.0	72.0 \pm 30.7	14.4 \pm 6.6	54.8 \pm 22.3

* $p < 0.01$

係を示した。一方、非癌部組織においてはTRF1とTRF2の発現率の間に相関関係は認めなかった。

考 察

近年さまざまな癌腫や不死化細胞でテロメラーゼ活性が測定され、その結果大多数の癌腫や不死化細胞でテロメラーゼ活性が認められた。さらに、TRAP法の開発により、容易にテロメラーゼ活性が測定できるようになった。このため本邦でもここ数年の間に、癌組織でテロメラーゼ活性を測定した報告が増加している^{20)~25)}。消化器系臓器別のテロメラーゼ活性は、食道癌で52~87%、胃癌で74~90%、大腸癌で66~89%、肝臓癌で72~86%と報告されている^{22)~25)}。今回の、我々の胃癌におけるテロメラーゼ活性の発現率は78.4%で、他の報告例と差は認めなかった。一方、組織型別のテロメラーゼ活性の発現に関して、分化型と未分化型に2分して比較すると、食道癌では未分化型で高率であり、胃癌や大腸癌では分化型で高率であったと報告^{23)~25)}されている。今回の胃癌での検討でも分化型で発現率が未分化型よりも高率であり同様の結果で

あった。胃癌の分化度別でテロメラーゼ活性の発現が異なることの説明として、未分化型胃癌は一般的に浸潤性に増殖するため、単位体積当たりの癌細胞数が少ないことが考えられる。しかし、テロメラーゼ活性値として比較した場合には組織型による差は認めていない。テロメラーゼ活性値に差がないことから、未分化型ではテロメラーゼ活性の発現が少なく、テロメラーゼに依存しないで不死化能を獲得している可能性もある。テロメラーゼ活性陰性細胞でも長いテロメア長を有する場合があることが報告²⁶⁾²⁷⁾されていることから、未分化型でテロメラーゼに依存しない不死化の獲得の可能性を示唆するものである。

テロメラーゼの鋳型となるhTRに関して、当初はhTRがテロメラーゼ活性の構成要素の中心であり癌細胞でのみ高い発現を認めると報告されていた。しかし、研究が進むにつれ、hTRの発現は不死化細胞や癌細胞に特徴的なものではないことが示されつつある。今回の検討でも98%の症例でhTRの発現を認めた。このhTR陰性の1例ではテロメラーゼ活性を認めな

Fig. 3 Immunohistochemical staining for TRF2 on differentiated type gastric cancer (tub. x 40)

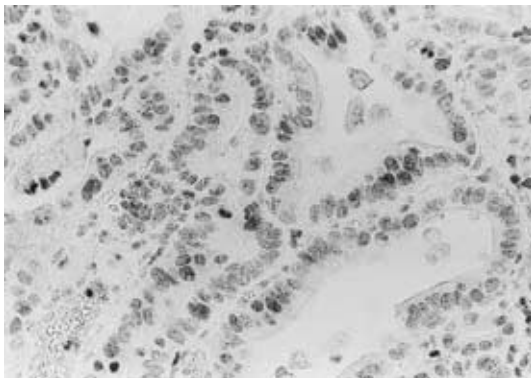


Fig. 4 Immunohistochemical staining for TRF2 on undifferentiated type gastric cancer (por. x 40)

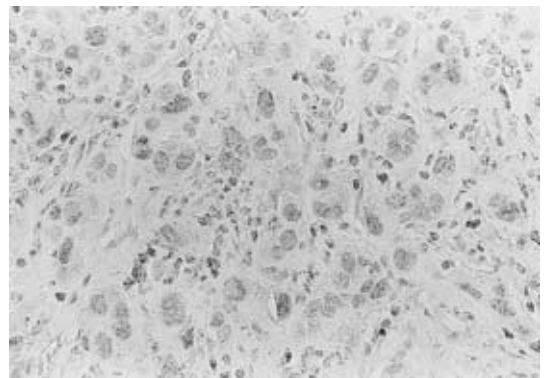


Table 5 Correlation between telomerase activity and differentiation, depth of invasion

Telomerase activity	hTR			hTERT		
	High	Low	Average value	High	Jow	Average value
Positive (40 case)	25	15	8.68 ± 0.63	23	17	3.27 ± 0.61
Negative (11 case)	2	9	7.79 ± 0.97	2	9	2.74 ± 0.66
Telomerase activity Positive ratio	92.6%	62.5%		92.0%	65.4%	

* p = 0.04

** p = 0.03

かった。hTR 発現例において、その発現レベルは5.3 ~ 10.8と約10万倍の差であった。このため、中央値で2分し比較したところ、テロメラーゼ活性の発現に関連を認めた。hTR は、その発現量の増加に伴ってテロメラーゼ活性発現の誘導を行っている可能性が示された。すなわち、hTR はテロメラーゼ活性の発現には必要ではあるが、その多寡によってテロメラーゼ活性の発現を制御している可能性があるものと考えられた。

次に、hTR からテロメアを逆転写するために必要な要素である hTERT に関しては、2例を除く96.1%に発現を認めている。この hTERT 陰性の2例は、ともにテロメラーゼ活性を認めていない。hTERT の陽性でテロメラーゼ活性陰性例の hTERT 値は平均2.73であり、テロメラーゼ活性陽性例での平均3.27と比較して有意に低値であった。このことから、hTERT の発現量がテロメラーゼ活性の発現を制御している可能性も示された。

最近テロメアの末端を安定化させる物質の一つのテロメア結合蛋白として TRF1がクローニングされた^{9)~11)}。TRF1過剰発現はテロメア長を短縮させ TRF1がテロメラーゼの伸長反応を抑制しているとの *in vitro* での実験が報告されている。今回の胃癌症例での検討で、TRF1の局在は癌細胞の多くに認められた。しかし、その TRF1局在所見は微細顆粒状でごく弱い局在を示す場合や、核内に均等に局在所見を認める場合があった。局在所見の対象とした同一切片上のリンパ球では、細胞の核内に均等な TRF1局在所見を認めた。このため TRF1の局在判定は細胞の核内に均等に局在を認めた場合のみを陽性とした。一部の癌症例で認められる核内の一部に微小な局在を認める場合は陰性とした。この TRF1陽性細胞の発現率は平均で45.1%であり、非癌部組織の70.6%に比較して癌部で有意に発現が低かった。このことから、癌細胞ではテロメア末端がフリーの状態にあり、テロメラーゼの影響を受けやすいとともに不安定な状態であることが推測される。この傾向は未分化型でより TRF1の発現率が低いことから、未分化型がより不安定な状態の染色体を有している可能性がある。このため変異を受けやすく、悪性度の高い状態に陥る可能性が高いと考えられる。一般的に未分化型の方が分化型に比較して悪性度が高いと報告されていることと一致する。一方、TRF1の発現率とテロメラーゼ活性の発現の間に相関を認めず、さらにテロメラーゼ陽性例・陰性例の間で TRF1の発現率においても差を認めなかった。このことから、

TRF1がテロメラーゼ活性の発現と関連している可能性は低いと考えられた。

2番目にクローニングされたテロメア結合蛋白 TRF2はテロメア末端の構造を維持することによりテロメアを保護し、染色体の安定性を保持するとの *in vitro* での実験が報告されている¹³⁾¹⁴⁾。今回の胃癌症例では TRF2の局在も TRF1と同様に癌組織の方が低率であり、平均で42.9%であった。また、TRF2も TRF1と同様にテロメラーゼ活性との明らかな関連は認められず、組織型では、未分化型で正常組織に比較して発現率が低かったことから、TRF2に関しても癌細胞でその発現が減少し、染色体末端の保護機構が減少していることを示している。さらに、低分化型において TRF2の発現率がより一層低いことから、低分化型がより不安定な染色体の状態である可能性が示された。

TRF1と TRF2は癌組織において、ほぼ同様に発現が低下していた。さらに同一症例での TRF1と TRF2の発現率を比較すると高い相関関係を認めた。これは TRF1と TRF2を制御する因子が同一である可能性が高いことを示していると考えられる。

今回の胃癌組織の検討において hTR と hTERT がテロメラーゼ活性の発現に強く関連していることが明らかになった。TRF1と TRF2の関連については、これを支持する研究結果は得られなかった。

文 献

- 1) Harley CB, Futcher AB, Greider CW : Telomeres shorten during ageing of human fibroblast. *Nature* 345 : 458-460, 1990
- 2) Blachbum EH : Structure and function Nature of telomeres. *Nature* 266 : 569-573, 1991
- 3) Counter CM, Avilion AA, Lefevre CE et al : Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J* 11 : 1921-1929, 1992
- 4) Kim NW, Piatyszek A, Prowse KR et al : Specific association of human telomerase activity with immortal cell and cancer. *Science* 266 : 2011-2015, 1994
- 5) Feng J, Frank WD, Wang SS et al : The RNA component of human telomerase. *Science* 269 : 1236-1241, 1995
- 6) Linger J, Cech TR : Telomerase and chromosome end maintenance. *Curr Opin Genet Dev* 8 : 226-232, 1998
- 7) Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB et al : Telomerase cataritic subunit homologs flom fis-

- sion yeast and human. *Science* 277 : 955 959, 1997
- 8) Kanaya T, Kyo S, Takakura M et al : hTERT is a critical determinant of telomerase activity in renal-cell xacinoma. *Int J Cancer* 78 : 539 547, 1998
- 9) Chong L, van Steensel B, Broccoli D et al : A human telomeric protein. *Science* 270 : 1663 1667, 1995
- 10) van Steensel B, de Lange T : Control of telomere length by the human telomeric protein TRF 1. *Nature* 385 : 740 743, 1997
- 11) Shen M, Haggblom C, Vogt M et al : Characterization and cell cycle regulation of the related human telomeric proteins Pin2 and TRF1 suggest a role in mitosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 13618 13623, 1997
- 12) Konig P, Fairall L, Rhodes D : Sequence-specific DNA recognition by the myb-like domain of the human telomere binding protein TRF1 : a model for the protein-DNA complex. *Nucleic Acids Res* 26 : 1731 1740, 1998
- 13) Broccoli D, Smogorzewska A, Chong L et al : Human telomeres contain two distinct Myb-related proteins, TRF1 and TRF2. *Nat Genet* 17 : 231 235, 1997
- 14) van Steensel B, Smogorzewska A, de Lange T : TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell* 92 : 401 413, 1998
- 15) Bilaud T, Brun C, Ancelin K et al : Telomeric localization of TRF2, a novel human telobox protein. *Nat Genet* 17 : 236 239, 1997
- 16) Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S et al : Mammalian Telomeres End in a Large Duplex Loop. *Cell* 97 : 503 514, 1999
- 17) Smith S, Giriati I, Schmitt A et al : Tankyrase, a poly (ADP-ribose) polymerase at Human Telomeres. *Science* 282 : 1484 1487, 1998
- 18) 日本胃癌学会編 : 胃癌取扱い規約 .改訂第13版 .金原出版 , 東京 , 1999
- 19) Hisatomi H, Nagao K, Komatu H : Quatification of telomerase activity in human liver tissue by fluorescemce-based TRAP analysis. *Hepato Res* 7 : 35 42, 1997
- 20) 田原栄俊 ,井手利憲 ,田原榮一 : 消化器がんのテロメラーゼ . 最新医 52 : 371 378, 1997
- 21) 檜山英三 , 横山 隆 : 消化器・消化器腫瘍のテロメア長・テロメラーゼ . 山木戸道郎編 . テロメアテロメラーゼ . 第1版 . 日本医学館 , 東京 , 1999, p169 178
- 22) 井手利憲 , 檜山英三 , 檜山桂子 : ヒト検体でのテロメラーゼ活性の測定 . 井手利憲 , 檜山英三 , 檜山桂子編 . がんとテロメア・テロメラーゼ . 第1版 . 南山堂 , 東京 , 1999, p72 76
- 23) 池口正英 , 貝原信明 : 食道癌における癌巢 , 非癌部粘膜のテロメラーゼ活性 . 日臨 56 : 1176 1180, 1998
- 24) 小川健治 , 若杉慎司 , 勝部隆男ほか : 胃癌組織におけるテロメラーゼ活性と臨床病理学的諸因子との関連 . 日臨 56 : 1194 1198, 1998
- 25) 飯田 敦 , 山口明夫 , 大滝憲夫ほか : ヒト大腸癌におけるテロメラーゼ活性と臨床病理学的所見との関連 . 日臨 56 : 1214 1217, 1998
- 26) Bryan TM, Englezou A, Gupta J et al : Telomere elongation in immortal cells without detectable telomerase activity. *EMBO J* 14 : 4240 4248, 1995
- 27) Bryan TM, Englezou A, Dalla PL et al : Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat Med* 3 : 1271 1274, 1997

Correlation between Telomerase Activity and Components in Gastric Cancer

Naoyuki Tanaka, Kazuhito Miyachi and Masakatsu Sunagawa
First Department of Surgery, Dokkyo University School of Medicine

The correlations between telomerase activity in gastric cancer and two groups of factors, hTR and hTERT, and TRF1 and TRF2 were compared and analyzed. Telomerase activity was semi-quantitatively measured by the F-TRAP technique in 51 gastric cancer patients, and hTR and hTERT activity was quantified by the real-time PCR technique. TRF1 and TRF2 were also analyzed immunohistochemically to determine the frequency of these factors in cell nuclei. Telomerase activity was detected in 78.4% of the cancer tissue samples, and the mean activity value was 88.7. hTR activity was detected in 98.0% of the cancer samples, and its mean activity was 8.349. hTERT activity was detected in 96.0% of the cancer samples, and its mean activity was 3.05. TRF1 and TRF2 were detected in the cell nuclei of 45.1% and 42.9%, respectively, of the cancer samples. The frequency of telomerase activity detection was significantly higher among the samples with high hTR activity ($p=0.04$) and the frequency of telomerase activity detection was significantly higher among the samples with high hTERT activity ($p=0.03$). However, no correlations were observed between telomerase activity and either TRF1 or TRF2 expression. These findings suggested that hTR and hTERT are correlated with the expression of telomerase activity.

Key words : telomerase, hTR, hTERT, TRF1, TRF2

[Jpn J Gastroenterol Surg 34 : 1 8, 2001]

Reprint requests : Naoyuki Tanaka First Department of Surgery, Dokkyo University School of Medicine
880 Kitakobayasi, Mibumachi, Shimotsugagunn, Tochigi, 321 0293 JAPAN
