

Telomere length and telomerase activity in carcinogenesis of the stomach

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 丸山, 保彦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1096

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 243号	学位授与年月日	平成10年 3月26日
氏名	丸山保彦		
論文題目	Telomere of length and telomerase activity in carcinogenesis of the stomach (胃の発癌におけるテロメア長とテロメラーゼ活性)		

博士(医学) 丸山保彦

論文題目

Telomere length and telomerase activity in carcinogenesis of the stomach

(胃の発癌におけるテロメア長とテロメラーゼ活性)

論文内容の要旨

[はじめに]

テロメアは染色体末端に存在する繰り返し配列からなる領域である。DNA複製の際テロメアは失われ短縮してゆく。テロメア領域自身には遺伝子情報はなく、染色体内部の遺伝子領域を保護し、その長さは細胞の寿命を規定している一つの因子であると考えられている。

癌細胞は無限の増殖能を持ち不死化している。癌細胞は増殖に伴って短縮してゆくテロメアをテロメラーゼというRNA蛋白質で延長している事が最近明らかになってきた。テロメラーゼはほとんどの正常細胞にはなく、多くの癌細胞で活性を認めるため細胞の不死化、癌化に関わっていると推測されている。

一方、胃の腸上皮化生は炎症、加齢とともに頻度が高くなり、腺腫とともに高分化型腺癌の発生母地と考えられている。現在、胃の発癌過程での遺伝子異常が解明されつつあるが、テロメラーゼ活性の発現時期、テロメア長の変化についての検討はされていない。

本研究の目的は、胃の腸上皮化生、腺腫といった前癌病変から高分化型腺癌への胃癌化過程におけるテロメラーゼ活性の発現時期とテロメア長の変化を明らかにすることである。

[材料ならびに方法]

胃内視鏡下生検にて腸上皮化生13例、腺腫23例(26病変)、高分化型腺癌(うち早期癌4例)をコントロール(胃体上部大弯の粘膜)とともに採取した。

テロメア長はサザンブロットにより検討した。すなわち、組織検体よりDNAを抽出し制限酵素Hinf Iで切断後、電気泳動しテロメア配列に特異的なプローブでハイブリダイズした。スメア状のシグナルの中央をテロメア長とし、病変部とコントロール部とで比較した。

テロメラーゼ活性はTRAP(telomeric repeat amplification protocol)法により調べた。ポジティブコントロールとして胃癌細胞株KATO-III細胞を用い、検出限界であるKATO-III細胞 10^2 細胞相当のバンドよりシグナルの弱いものをテロメラーゼ活性陰性とした。

[結果]

各症例毎に病変部とコントロール部のテロメア長を比較すると、腸上皮化生ではコントロールと比較し、短い傾向にあったが有意差は無かった。腺腫のテロメア長はコントロールより有意に短かく、病変の大きさに反比例していた。癌では、テロメア長のばらつきが大きくコントロールと有意差、相関は認めず、進行度による差もなかった。各病変間の比較では、コントロール部、腸上皮化生、腺腫の順に短縮してゆき、癌では症例毎のばらつきが大きく、平均値はコントロール部とほぼ同じであった。腺腫のテロメア長は他のすべてに対して有意に短縮していた。

一方、テロメラーゼ活性は腸上皮化生で15%、腺腫で45%、癌で89%に認め、シグナルの強さは癌で高かった。

〔考察〕

テロメア長はコントロール、腸上皮化生、腺腫の順に短くなり、癌では症例によりばらつきが大きくなる傾向が認められ、テロメラーゼは腸上皮化生、腺腫、癌の順に高い活性を認めた。

テロメア長に影響する因子はまだ十分に解明されていないが、現在明らかなものとしては細胞分裂による短縮とテロメラーゼによる伸張とのバランスが考えられている。この視点より今回の実験結果を考えると、腸上皮化生、腺腫ではテロメラーゼ活性が弱いため増殖に伴うテロメア短縮の効果が強く影響しているのではないかと推測される。腺腫では病変の大きくなるに伴いテロメア長が短縮していたが、これもこの推測を支持する結果であると思われる。これに対し癌ではテロメラーゼ活性も強くなっており、細胞増殖、分裂もともに亢進しているため、症例によりそのバランスが異なっているのではないかと考えられる。

〔結論〕

胃の高分化型腺癌の発癌過程でテロメラーゼ活性は早期から出現しているが、初期のテロメラーゼのテロメア伸張効果は細胞増殖に伴うテロメア短縮を補うほど強くはないと考えられる。

論文審査の結果の要旨

染色体末端に存在するテロメアは染色体の安定性に関与し、細胞分裂に伴い短縮してゆくため、その長さは細胞の寿命を規定していると考えられている。

不死化した癌細胞では増殖に伴って短縮してゆくテロメアをテロメラーゼで延長し充填している事が最近明らかになり、テロメラーゼは特に癌化、不死化、老化との関係において現在非常に注目されている酵素である。

胃の発癌過程での多段階の遺伝子異常が解明されつつあるが、とくに前癌病変とされる腺腫や化生性粘膜のテロメラーゼ活性の発現、テロメア長の変化についての検討はきわめて少ない。

申請者は、胃の腸上皮化生、腺腫といった前癌病変から高分化型腺癌への胃癌化過程におけるテロメラーゼ活性の発現時期とテロメア長の変化について49病変の臨床検体を用いて検討した。

その結果、テロメア長はコントロール、腸上皮化生、腺腫の順に短くなり、癌では症例によりばらつきが大きくなる傾向があること、テロメラーゼ活性は腸上皮化生で15%、腺腫で45%、癌で89%に認め、活性は癌で高いことなどを明らかにした。

これらの結果より腸上皮化生、腺腫ではテロメラーゼ活性が弱いため増殖に伴うテロメア短縮の効果が強く影響しているのに対し、癌では症例によりそのバランスが異なっているのではないかと推測をした。

従来の研究によれば腸上皮化生でテロメア長が短縮しているとしているものはあるが、少数の検討で統計的検討がなされておらず、また腺腫におけるテロメア長の変化については明らかにされていなかった。更に、胃の前癌病変でのテロメラーゼ活性の報告もほとんどなく、テロメラーゼ活性と同時にテロメア長の変化を検討することはテロメラーゼの意義を知る意味でも重要な基礎的知見を得ることができた。

審査委員会は申請者の研究が、胃の種々の前癌病変でのテロメラーゼ活性の出現とテロメア短縮の実態を明らかにした点、及び胃癌発癌過程初期におけるテロメラーゼ活性の意義をテロメア長の変化から考察をくわえた点などを高く評価し、さらに今後の発展性の期待される研究論文であると判断した。

申請者の発表について以下の質疑がなされた。

- 1) DNA複製の際に合成されるRNAプライマーの長さはどのくらいか
- 2) Hinf I による切断で不完全消化の有無を検定する方法について
- 3) TRAP法でのプライマー設計の原則について
- 4) 抽出蛋白中に存在するテロメラーゼ阻害物質について
- 5) 抽出蛋白の定量法について
- 6) 大腸癌でのテロメラーゼとテロメア長について
- 7) テロメラーゼの細胞内局在について
- 8) テロメラーゼは消化管粘膜腺管上皮の増殖帯の細胞に存在するか
- 9) テロメラーゼ活性の有無は臨床的に良悪性の鑑別になるか
- 10) テロメラーゼの抽出、安定性について
- 11) テロメラーゼ活性陽性の腸上皮化生サンプルでの臨床的、病理学的特徴
- 12) 胃腺腫の癌化率、癌合併率について
- 13) テロメラーゼ活性と他の癌遺伝子、癌抑制遺伝子との関係
- 14) テロメラーゼの発現調節機構について
- 15) 分化誘導とテロメア、テロメラーゼの関係について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 梶 村 春 彦

副査 教授 馬 場 正 三 副査 助教授 上 里 忠 良