[Expanded Abstract]

in situ telomerase 活性検出による膵癌の診断

¹⁾大阪府立成人病センター消化器内科²⁾同 消化器検診科³⁾同 病理細胞診断科⁴⁾同 消化器外科

上原 宏之¹⁾ 中泉 明彦²⁾ 飯石 浩康¹⁾ 竹中 明美³⁾
 江口 英利 大東 弘明 石川 治⁴⁾

背景と目的

新しく開発された MRCP や MD-CT などの画像診断法によって、膵管の微細変化や膵微小病変の発見される頻度が増加している。このような微細変化や微小病変の鑑別診断法として最も期待されるのは、内視鏡的膵管造影 (ERP) の際に採取した膵液検体による細胞診と分子生物学的診断法である。

膵液細胞診は膵癌の確定診断に有用であるが¹⁾、検体採取法や診断基準、熟練度により成績が一定しない。K-ras 癌遺伝子変異は膵癌に特異的で 80—100% の高頻度に検出されると注目を集めたが、その後この変異が膵癌の発癌における初期変化であることを示唆する成績が多数報告された²⁾。p53 癌抑制遺伝子異常は膵癌に対する特異度は高いが感度は 50 ないし 70% と比較的低い。

telomerase は染色体末端構造 telomere を伸長する酵素で、無限の細胞分裂能をもつ不死化細胞、生殖細胞、癌細胞に特異的である。膵癌に対する検出感度、特異度はともに高く、膵癌症例の膵液中にも高頻度に検出されているが³⁾、最近では慢性膵炎などの非膵癌症例にも検出されるという報告がある⁴⁾。本研究では膵液検体における in situ telomerase 活性検出を行い、この問題点の解決を試みた。

方 法

膵癌 10 例、膵管内乳頭腺腫 (IPMN) 4 例、正常対照 3 例を対象として、ERP の際にセクレチン負

荷にて採取した膵液を用いて蛍光 primer による in situ telomerase 活性検出を行った (in situ TRAP 法)⁵⁾。in situ telomerase 活性は緑色蛍光として検出され、その強度に応じて強陽性、弱陽性、陰性に分類した (Fig. 1)。強陽性細胞は位相差顕微鏡で N/C 比が非常に大きく腺腔を形成し、リンパ球よりも大きい細胞であることから、膵癌組織由来の癌細胞であることが推測された。

結果と考察

in situ telomerase 活性は膵癌 10 例中 9 例が強陽性、1 例が弱陽性であった (Table 1)。部位別では頭部癌 4 例中 3 例、体尾部癌 6 例の全例が強陽性、大きさ別では TS1 3 例中 2 例、TS2 3 例の全例、TS3 4 例の全例が強陽性であった。膵液細胞診では膵癌 10 例中 7 例に癌細胞を認め、細胞診陰性

Fig. 1 A high telomerase activity in situ detected by a fluorescence microscope using B-filter

Table 1 *In situ* telomerase activity detected in pancreatic juice in various pancreatic diseases

Diagnosis	High	Low	None	Total
Pancreatic cancer	9	1	0	10
IPMN	0	2	2	4
Normal pancreas	0	0	3	3
Total	9	3	5	17

の3例にも *in situ* telomerase 活性強陽性が検出され、両者を行うことにより診断成績が向上した。IPMN 4例中2例が弱陽性で2例が陰性、正常3例はすべて陰性であった (Table 1)。

従来の TRAP 法による telomerase 活性検出では膵癌症例で telomerase 活性強陽性細胞が採取できても少数であれば false negative となり、非膵癌症例でも弱陽性細胞が多数採取されれば false positive となる。 *in situ* telomerase 活性検出はこれらの問題を解決するとともに、小膵癌、早期膵癌の診断においても重要な位置を果たすことが期待される。

文 献

- 1) Nakaizumi A, Tatsuta M, Uehara H, et al. Effectiveness of the cytologic examination of pure pancreatic juice in the diagnosis of early neoplasia of the pancreas. *Cancer* 1995; 76: 750-7.
- 2) Uehara H, Nakaizumi A, Baba M, et al. Diagnosis of pancreatic cancer by detecting K-ras mutation and cytology of pancreatic juice. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1616-21.
- 3) Iwao T, Hiyama E, Yokokawa T, et al. Telomerase activity for the preoperative diagnosis of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1621-3.
- 4) Uehara H, Nakaizumi A, Tatsuta M, et al. Diagnosis of pancreatic cancer by detecting telomerase activity in pancreatic juice: comparison with K-ras mutations. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2513-8.
- 5) Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Nishimaki J, et al. Cytological detection of telomerase activity using an *in situ* telomeric repeat amplification protocol assay. *Cancer Res* 1997; 57: 2100-3.

Expanded abstract cited from the original paper:

Hiroiyuki Uehara¹⁾, Akihiko Nakaizumi²⁾, Hiroyasu Iishi¹⁾, Akemi Takenaka³⁾, Hidetoshi Eguchi, Hiroaki Ohigashi, Osamu Ishikawa⁴⁾. *In situ* telomerase activity in pancreatic juice may discriminate pancreatic cancer from other pancreatic diseases. *Pancreas* 2008; 36: 236-40.

¹⁾Department of Gastrointestinal Oncology, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases

²⁾Department of Cancer Survey, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases

³⁾Department of Cytology, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases

⁴⁾Department of Surgery, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases