

난소암에서의 텔로메레이즈(Telomerase) 활성도의 변화 탐색

계명대학교 의과대학 산부인과학교실* · 의학유전연구소**
송진화* · 조치흠* · 차순도* · 이태성*·**

=Abstract=

Telomerase Activities in Ovarian Malignancies

Jin Hwa Song, M.D., Chi Heum Cho, M.D.,
Soon Do Cha, M.D., Tae Sung Lee, M.D.**

*Department of Obstetrics and Gynecology, Institute for Medical Genetics**
Keimyung University, School of Medicine Taegu, Korea*

Telomerase is a ribonucleoprotein that can add hexameric TTAGGG sequences to the end of chromosomes and thus stabilize telomeres.

Telomeres are shortened by progression of cell division, a process known as cellular senescence. If telomerase activity is not activated the chromosomes are shortened to a critical length and the division of cell is stopped. In cancer cells telomere shortening is stopped by the presence of the enzyme telomerase and the cell divisions is continued indefinitely.

Most normal somatic tissues don't express telomerase activity, but both fetal and adult human ovaries and testis express telomerase.

To investigate the relationship between telomerase activity and acquisition of malignancy in ovaries, the activity of telomerase was assayed in normal, benign, borderline and malignant ovarian tissues.

With TRAP assay, the telomerase activity was examined in 15 normal ovarian tissues, 1 benign mucinous cystadenoma, 1 borderline carcinoma, and 10 ovarian malignancies.

Telomerase activities were detected weakly in 9 of 15 cases of normal ovarian tissues and were not related to the activity of reproduction.

The strong activity of telomerase were found in borderline carcinoma and 5 of 6 cases of epithelial ovarian carcinoma and 1 rest case revealed low activity. Telomerase activities in dysgerminoma were undetectable in one and weak in rest one, but 1 case of immature teratoma revealed strong activity.

The telomerase is reactivated or upregulated in epithelial carcinoma of the ovary, as it is detectable in borderline carcinoma, but is undetectable or weakly detectable in benign ovarian tumor and normal ovarian tissues.

Telomerase activity is closely related to the epithelial ovarian carcinoma, and it may be useful as a marker for diagnosis and as a target for therapeutic intervention.

The dysgerminoma revealed no or weak activity of telomerase compared to another germ cell tumors and epithelial carcinomas, so further study will be needed to examine the role of telomerase activity in dysgerminoma.

Key Words: Telomerase; Telomere Repeat Fragment length; TRAP assay; Ovarian carcinoma

I. 서 론

인간의 세포는 시험관 내에서는 단지 제한된 범위 내에서만 증식을 하는데 이를 복제능의 노화(repli-cative senescence)라고 하며 이는 종종 세포의 노화과정의 모델로 이용한다(Hayflick and Moorhead, 1961). 인간의 암 발생은 정상세포의 유전자인 원종양유전자(proto oncogene)의 활성화나 종양억제유전자(tumor suppressor gene)의 작용이 억제되어 나타나는 등 여러 가지의 서로 다른 유전자의 변화에 기인하여 정상세포가 어떤 일정 기간내 제한된 증식을 하는 기전을 벗어나게 되므로 발생하게 된다. 또 정상세포의 암화는 transformation과 immortalization의 여러 단계를 거쳐 이루어지며 최근 세포사(cell mortality)를 조절하는 과정에 관한 많은 연구 결과에 힘입어 인간세포에서 immortal phenotype(unlimited cell division)이 생기는 과정에 대하여 많은 정보가 얻어졌다.

염색체 단말소립(telomere)은 진핵세포의 염색체의 말단에 위치한 DNA 및 단백질 복합체로 구성되어 있는 구조로서 염색체의 보호, 위치설정 및 복제등에 관여한다고 알려져 있으며 인간에서는 수백 또는 수 천개의 TTAGGG 염기서열이 일렬로 반복된 구조를 하고 있다(Blackburn and Szostak, 1984; Moyzis et al., 1988; Cross et al., 1989; de Lange et al., 1990). 진핵세포의 염색체는 선상 이중 나선 DNA로 구성되어 있는데 염색체의 복제시 3 말단이 완전하게 복제가 되지 못하여 염색체의 말단 즉 염색체 단말소립의 길이가 점점 짧아지게 되나 염색체의 복제에 따른 문제점은 세포 내의 ribonucleotide protein 효소인 텔로메레이즈가 telomeric sequence를 붙이므로 극복되어진다(Greider and Blackburn, 1985; 1987; Counter et al., 1992; Vaziri et al., 1994; Harley and Vilépontea, 1995). 동일인에서 체세포의 염색체 단말소립은 germ line의 염색체 단말소립에 비해 상당히 짧음을 관찰할 수 있는데, 이는 텔로메레이즈의 활

성이 체세포에서는 활동이 정지된 결과이다. 염색체의 염색체 단말소립은 한 번 세포분열을 할 때마다 15~200개 정도의 핵산을 소실하는데 이런 염색체 단말소립의 길이의 단축은 세포의 분열수를 나타내는 mitotic clock(또는 biological clock)의 역할을 할 것으로 생각되고 있으며 또한 충분히 짧아진 염색체 단말소립은 정상 세포에 대해 복제능의 노화가 왔음을 시사하는 신호로 작용한다고 생각되고 있다(Vaziri et al., 1994). 그러므로 세포가 복제능의 노화를 피하고 또한 무한정 증식하기 위해서는, 특히 암세포의 경우에는 염색체 단말소립의 보존이 필요함을 뜻하며 이렇게 되기 위해서는 불활성화되어 있는 텔로메레이즈가 재활성화 되어야 한다.

최근 텔로메레이즈의 활성을 알 수 있는 유용한 방법인 TRAP(telomerase repeat assay procedure) 방법이 발견된 이후로 많은 종류의 암에서 텔로메레이즈가 활성화되어 있는 것을 보고하였다(Kim et al., 1994; Piatyszek et al., 1995). 텔로메레이즈는 100가지 이상의 immortal cell line의 98%, 서로 다른 종류의 원발암 조직에서 90% 이상에서 활성화 되는 반면 정상세포에서는 전혀 나타나지 않는 것으로 보고되고 있다. 이러한 결과를 볼 때 텔로메레이즈의 활성화는 immortalization/tumorigenesis 과정에서 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다.

본 연구는 정상 난소세포와 경계성 난소암 및 난소암 조직에서 난소암의 단계적인 발전단계에 따른 텔로메레이즈의 활성화와 이의 역할을 규명하고자 시도하였다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 환자 및 조직

1996년 6월부터 1996년 12월까지 계명대학교 의과대학 산부인과학교실에 내원하여 부인과 수술을 받은 환자에서 12명의 자궁근종 환자에서 정상 난소

조직, 1명의 점액성 난소종양 조직, 1명의 경계성 종양환자의 난소 조직 및 11명의 난소암 환자에서 난소암조직을 채취하였으며 3명의 난소암 환자에서는 반대편 난소의 정상 조직을 동시에 채취하였다. 채취된 조직은 -80 °C로 냉동하여 TRAP assay 시행시까지 보관한다. 이들의 병리조직학적 소견은 수술시 얻어지는 조직검사 결과에 따라 확인한 후 분류하였으며 병리학적 소견은 Table 1과 같았다(Table 1).

2. 조직으로부터 단백질 분리(CHAPS cell Extract)

난소암 조직 100~200 mg을 phosphate-buffered saline(PBS, 10 mM HEPES-KOH, pH7.5, 1.5 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM DTT)으로 1~2회 세척 후에 500 μl의 lysis buffer(10 mM Tris-Cl, pH7.5, 1 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 0.1 mM PMSF, 5 mM 2-mercaptoethanol, 0.5% CHAPS, 10% glycerol)상에서 분쇄기로 분쇄한 후 염음에서 30분간 방치한 다음 12,000×g로 30분간 원침하여 상층액을 회수하였다. 회수한 상층액은 -70 °C에 보관하면서 실험에 사용하였다(Kim et al., 1994).

3. 조직으로부터 DNA 분리

300 mg 정도의 조직에 조직 100 mg당 1 ml의 extraction buffer(10 mM Tris-0.1 M EDTA, pH8.0)액을 넣어 ultraturrax homogenizer(IKA Co. Germany)로 15,000~20,000 rpm에서 3~5분 정도 조직을 파쇄시키고 RNase와 sodium dodecyl sulfate(SDS)를 각각 최

종농도 20 μg/ml 및 0.5%(W/V)로 섞은 후 37 °C에서 1시간 동안 진탕하였다. 여기에 최종 농도 20 μg/ml의 proteinase K를 넣고 섞은 후 50 °C에서 3시간 진탕하였다. 이것을 Tris-saturated phenol, phenol/chloroform/isooamyl-alcohol mixture, 및 chloroform/ isoamyl-alcohol mixture로 각 1회씩 처리하여 제단백 과정을 실시 후 상층액을 뽑아 0.2 volume의 10 M ammonium acetate와 2 volume의 ethanol을 넣어 DNA를 침전시켰다. 그 후 유리봉으로 DNA를 견져내어 70% ethanol로 세척한 다음 10 mM Tris-1mM EDTA 액에 DNA를 녹여 ultra-violet spectrophotometer로 농도 및 순도를 측정 후 4 °C에 보관하면서 사용하였다(Blin and Stafford, 1976).

4. Telomerase Repeat Amplification Protocol(TRAP)

먼저 0.1 μg의 Cx. primer(5'CCCTTACCC TTACCC TTACCTAA3')를 0.2 ml tube에 넣은 후 Speed-Vac(Savant Co.)을 이용하여 완전히 말린 다음 10 μl의 액체상태의 AmpliWax(Perkin Elmer)를 넣는다. AmpliWax가 완전히 굳은 다음 5×TRAP buffer(100 mM Tris-Cl, pH8.3, 7.5 mM MgCl₂, 315 mM KCl, 0.025% Tween20, 5 mM EGTA, 50 mg bovine serum albumin, 50 μg/ml T4g32 protein), 0.1 μg의 Ts primer(5'AATCCGTCGAGCAGAGTT3'), 50 mM의 deoxyribonucleotides, 2 unit의 Taq polymerase(Perkin Elmer), 0.3 μl의 α-³²P-dCTP(Amersham Co., 10 μCi/μl), 그리고 6 μg의 상기 방법으로 추출한 단백질을 넣은

Table 1. Telomerase activity in ovarian malignancies

No.	Age	Tissue diagnosis	Stage	Telomerase
15	42	Normal		Undetectable
16	49	Papillary serous cystadenocarcinoma	I a	Low
17	21	Papillary serous cystadenocarcinoma borderline malignancy		High
18	59	Papillary serous cystadenocarcinoma	II b, G3	High
19	23	Dysgerminoma	I a	Low
20	21	Dysgerminoma	I a	Undetectable
21	43	Immature teratoma	IV	High
22	63	Malignant mesothelioma	I a, G3	High
23	43	Serous cystadenocarcinoma	IV, G3	High
24	52	Endometrioid	I a, G3	High
25	58	Serous cystadenocarcinoma		High
26	75	Mucinous cystadenoma		Undetectable
27	63	Krukenberg tumor	IV	High

후 실온에서 10분간 두었다. 그 후 thermal cycler (GeneAmp PCR System 2400, Perkin Elmer)에서 94 °C에서 30초, 50 °C에서 30초, 그리고 72 °C에서 1분 30초로하여 PCR를 27 cycle 실시하였다(Kim et al., 1994). 그런 후 상기 반응액을 15% non-denaturing polyacrylamide gel 상에서 전기영동 후 말린 다음 자가방사기록법을 실시하였다. Size marker는 γ -³²P-A TP(Amersham Co., 10 μ Ci/ μ l)로 5'-end label한 100 bp DNA ladder(GibcoBRL)을 사용하였다. 양성 대조군으로 HT-29 세포주를 이용하였으며 활성정도는 이태성 등(1996)의 방법에서 분리한 단백 2 μ g 이상의 양성 반응을 보일시 강한 활성을 보이는 것으로 그이하는 약한 활성으로 분류하였다.

5. Telomere Repeat Fragment(TRF) 길이 분석

분리된 DNA 5 μ g을 제한효소 RsaI 및 HinfIII로 37 °C에서 12시간 처리 후 0.8% agarose와 Trisborate-EDTA buffer를 사용하여 수평형 전기영동장치로 10 volt에서 24시간 전기영동하였다. 전기영동된 gel을 0.2N HCl 용액에서 10분 진탕한 후 중류수에 잠시 씻고 0.5 N NaOH/1.5 M NaCl 용액에 1시간 진탕 후 20 \times SSC(sodium chloride-sodium citrate)액으로 nitrocellulose membrane(0.45 μ m pore size)으로 15시간 Southern transfer를 실시하였다. Blotting된 filter는 80 °C 전공오븐에서 90분간 baking하여 고정시킨 후 비닐봉지에 넣고 sealing한 다음 데시케이터에 보관하다가 hybridization을 시행하였다. Hybridization은 nitrocellulose filter에 0.75 M sodium chloride, 0.075 M sodium citrate, 0.1% SDS, 0.02% polyvinyl pyrrolidone, 0.02% Ficoll 400, 0.02% bovine serum albumin, 5% salmon sperm DNA 및 50% formamide를 함유한 용액을 넣고 48 °C에서 16시간 prehybridization을 실시하고 그 다음에 digoxigenin(DIG) oligonucleotide tailing kit(Boehringer Mannheim GmbH)를 이용하여 DIG를 표지한 (TTA GGG)4를 넣고 48 °C에서 24시간 hybridization을 실시하였다. Hybridization 후 필터를 4 \times SSC 용액으로 실온에서 20분, 그리고 같은 용액으로 48 °C에서 30분 세척한 다음 DIG-luminescent detection kit(Boehringer Mannheim GmbH)를 이용하여 DIG로 표지된 probe를 실온에서 x-ray 필름에 노출하여 검출하였다. TRF 길이는 GS360 scanning densitometer(Hoefer scientific Instruments)를 사용하여 밀도계(densitometer)상 가장 높은 수치를 나타내는 곳을 평균치로 하였다.

III. 결 과

난소암에서의 텔로메레이즈의 활성과 역할을 알기 위하여 정상 난소조직과 양성 난소종양, 경계성 난소암 및 난소암에서의 텔로메레이즈 활성을 상기한 TRAP 방법에 의하여 실시하였다.

1. 정상 조직에서의 텔로메레이즈의 활성

15명의 정상 난소 조직 중 9명이 약한 양성을 보이고 있으며 6명은 전혀 반응을 보이지 않았다. 성숙단계의 난자가 텔로메레이즈에 양성 반응을 보일 수 있으므로 이들의 영향을 보기 위하여 난자의 활동이 없는 생년기 이후의 난소를 보았을 때 5명의 생년기 이후 난소 중 3명이 약한 양성 반응을 보였으며 2명은 반응이 없었다. 반응이 없는 1명은 자궁경부암으로 방사선 치료 후 난소기능이 없어진 환자였다(Fig. 1).

Fig. 1. Telomerase activity in normal ovaries. 2, 4, 5, 6, 14 represent postmenopause ovarian tissue.

2. 난소암에서의 텔로메레이즈의 활성

1명의 경계성 난소암(Borderline malignancy)에서는 강한 활성을 보였으며, 2명의 미분화세포종(dysgerminoma)은 활성이 없거나 낮은 활성을 보였다. 그러나 상피성 난소암에서는 6명 모두 활성을 보였는데 이 중 1명은 약한 활성을 보였다. 1명의 미성숙기형종(immature teratoma)과 1명의 mesothelioma에서도 강한 활성을 보였다(Fig. 2 및 Table 1).

3. 난소암에서의 염색체 단밀소립의 길이

Fig. 2. TRAP assay for telomerase activity in ovarian malignancies. nc represent negative control. Number of specimen correponds to tissue sample number in above table.

난소암에서의 염색체 단말소립의 길이를 알기 위하여 DNA를 제한효소 *Hinf*III 및 *Rsa*I으로 절단 후 전기영동하여 Southern blot한 다음 (TTAGGG)4를 이용하여 검색한 결과 정상조직에 비하여 1례가 유의한 증가를 보이고 있었으며 나머지는 차이가 없었다 (Fig. 3).

IV. 고 찰

최근 암화와 노령화 연구는 그 원인을 텔로메레이즈와 염색체 단말소립 가설로서 설명을 하고 있다. 염색체 단말소립의 길이는 end replication problem에 의하여 짧아지는 데 비하여 텔로메레이즈가 염색체 단말소립의 길이를 늘려주므로 그 균형을 유지하게 된다. 따라서 정상 조직에서는 텔로메레이즈가 존재하지 않는 데 반하여 암조직에서는 텔로메레이즈가 작용을 하여 세포의 끈임없는 분열을 일으키는 원인이 된다. TRAP assay는 100가지 이상의 Immortal cell line의 98%, 서로 다른 종류의 원발암조직에서 90% 이상에서 활성화 되는 반면 활발히 증식을 하는 체세포에서는 전혀 나타나지 않으나 정상 난소조직과 고환조직은 텔로메레이즈 양성 반응을 보이는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1994).

Wright 등(1996)은 인체의 germ line 조직이나 체세포조직 및 세포에서 태아 발생 기간 동안 일시적

Fig. 3. Sourthern blot analysis of terminal restriction fragments performed on *Hinf*III and *Rsa*-digested genomic samples with digoxigenated (TTAGGG) 4 oligonucleotides. Size marker are indicated on the left (kilobase, KB). 1-4; normal ovary, 5: papillary serous cystadenocarcinoma, 6: Endometrioid carcinoma, 7: Serous cystadenocarcinoma.

인 발현을 보이며 성인의 체세포 조직에서는 발현이 없으나 태아의 난소 및 고환과 성인의 고환 및 난소에서는 텔로메레이즈에 양성 반응을 보이며 성숙한 정자나 난자에서는 발견되지 않으며 이들은 일단 수정이 되고 나면 blastocyst 시기부터 곧 활성화되는 것으로 알려져 있다. 난소 조직에서는 다른 조직과 달리 정상 조직에서도 텔로메레이즈의 발현이 있으므로 본 연구에서도 일단 정상 난소에서의 텔로메레이즈 활성화를 보기 위하여 15명의 정상 난소 조직에서 관찰한 결과 9명에서 약한 활성화를 보였으며 6명에서는 전혀 활성이 없었다. 이는 성숙단계의 난자가 원인이 되는 것으로 사료가 된다.

난소암 조직에서는 1명의 양성 점액성 상피종양에서 텔로메레이즈의 활성이 없었으며, 1명의 경계성 상피암에서는 강한 양성 반응을 보였다. 경계성 상피암은 비교적 양호한 예후를 가지나(Taylor, 1929) 양성 종양과 조직학적으로 다른 점은 epithelial budd-

ing, 상피세포의 증첩, 유사분열활동(mitotic activity)의 증가 및 세포의 이형성(atypia)으로 구분되며, 한편 악성 상피세포암과는 달리 기질의 침윤이 없다는 점이 다르지만 세포의 특성은 같으므로 텔로메레이즈의 발현이 나타난다고 볼 수 있다. 또 이는 세포자체는 암과 같으나 단지 기질침윤이 없는 자궁경부암의 전암단계인 자궁경부 상피내암에서의 텔로메레이즈의 발현이 나타나는 것과 유사한 것으로 볼 수 있다(박종하 등, 1997).

전암단계에서의 발현은 지금까지 연구된 410예 중 30% 가까이에서 발현되는 것으로 알려져 있는데 경계성 난소암에서는 좀더 많은 예를 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Chadeneau 등(1995)은 대장항문암의 암화과정에서 양성의 선종플립에서는 텔로메레이즈의 활동성이 나타나지 않는 반면 침윤암에서는 나타나는 것으로 보아 텔로메레이즈의 활성이 암화의 과정에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다고 하였으며, Hiyama 등(1995)은 위암의 58%에서 활성을 보였으며 활성이 없는 경우의 80%는 조기위암이고, 그 악성도는 활성도가 있는 경우 훨씬 높다고 보고하였다. 인간의 간 조직에서 Tahara 등(1995)은 간세포성 간암은 종양의 크기나 임상기에 관계없이 33명 중 28명에서 텔로메레이즈가 활동성을 보인 반면 정상 간 조직에서는 22명 중 1명이 약한 활동성을 보였다 한다. 특이한 것은 간염은 38명 중 19명, 간경병증은 8명 중 6명에서 약한 활동성을 보이고 있어 간세포성 간암의 발생과정에서 이들의 중요성에 관하여 보고하였다.

2명의 미분화세포종에서 1명은 약한 활성을 1명은 활성이 없었는데, 이는 Zheng 등(1997)의 보고에서 1명의 비분화세포종에서 발현이 없는 것과 유사한 결과를 보인다. 이들은 첫 번째로 조직의 냉동과 해빙과정에서의 효소의 파괴로 인하여 나타나지 않을 가능성과 두 번째로는 실지 텔로메레이즈의 발현이 없는 상태로써 충분한 염색체 단말소립 길이의 유지는 알려지지 않는 다른 기전이 있을 것으로 보고하고 있으며, 특히 첫 번째 원인이 더욱 가능성 있는 것으로 분석을 하였다. 그러나 같은 생식세포에서 기원하는 미성숙기형종은 종등도의 양성반응을 보이나 단지 미분화세포종에서만 활성이 낮으므로 이의 원인으로는 미분화세포종의 암화과정이 다른 종류의 난소암과는 다른 기전에 의하여 이루어지며 첫 번째 원인보다는 실지 발현이 없을 가능성이 많

으며 향후 이에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

상피성 난소암에서는 5명이 강한 양성을 1명은 약한 양성을 보이며, 난소암과는 다르나 전이된 mesothelioma에서도 강한 양성을 보이고 있었다.

이러한 결과를 볼 때 난소암에서도 암의 조직학적인 기원에 따라 텔로메레이즈의 발현이 달라진다는 것을 알 수 있다. 지금까지 보고된 여러 종류의 암에서 텔로메레이즈의 발현은 약 85%(2,031예 중 1734예)되는 것으로 알려져 있으며 난소암은 88% 정도에서 활성을 보인다(Shay et al., 1997; Zheng et al., 1997; 이태성 등, 1996).

난소암에서도 역시 텔로메레이즈의 발현이 경계성암에서부터 나타나는 것으로 보아 이들의 난소암의 발생에서의 중요한 역할을 알 수 있다.

난소암 중 가장 많은 형태는 상피성 난소암이다. 본 연구에서와 같이 상피성 난소암에서 특히 텔로메레이즈의 활성이 대부분의 환자에서 강한 활성을 보이므로 이들의 암화과정에서의 역할을 알 수 있으며 향후 복수 내에서의 텔로메레이즈 활동의 측정으로 복수의 암성 여부를 감별진단하는 데 유용한 지표가 될 것으로 사료된다. 요약하여 난소암 특히 상피성 난소암에서의 텔로메레이즈의 활성이 강하게 나타나는 것으로 보아 상피성 난소암 암화에서 텔로메레이즈의 역할이 중요하다는 것을 알 수 있으며 생식세포종 중 특히 미분화세포종에서는 텔로메레이즈의 활성이 보이지 않는데 향후 이에 대한 규명이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 난소의 정상 조직, 양성의 난소종양, 경계성 종양 및 난소암을 대상으로 텔로메레이즈의 활성도 및 염색체 단말소립의 길이의 조사하여 난소암의 암화과정에서 활성이 나타나는 시기와 조직학적인 특성과의 상관관계를 알기 위하여 본 연구를 시행하였다.

1. 15명의 정상 난소 조직에서 텔로메레이즈의 활성은 6명에서는 볼 수 없었으나 9명에서는 약한 양성 반응을 보였다. 생식세포의 기능이 있는 생년기 전후로 비교해 보아 난소기능의 여부는 텔로메레이즈의 활성과는 상관관계가 없었다.

2. 양성의 낭종에서는 활성이 없었으나 경계성 종양에서는 활성을 보였다. 상피성 난소암은 1명의 약한 활성 외 모두 강한 활성을 보여 상피성 난소암의 암화는 텔로메레이즈가 중요한 역할을 할 것이라는 것을 알 수 있었다.

3. 3명의 생식세포암에서 1명의 미성숙기형종에서는 활성이 강하게 나타나지만 2명의 미분화세포종에서는 활성이 없거나 약하게 보여 미분화세포종에서 텔로메레이즈의 역할에 관하여 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

4. 염색체 단말소립의 길이는 정상 조직과 암사이에 유의한 상관관계는 볼 수 없었으나 이는 난소암이 있는 동일한 난소 조직에서 동시에 정상 조직과 암 조직을 채취하여 실시한 것이 아니기 때문에 결론을 내리기에는 어려웠다.

-References-

- 박종하·이태성·차순도·조치홍·추영애·백원기·서성일·서민호. 자궁경부 상피세포암의 암화과정에 따른 인유두종바이러스 감염과 Telomere 길이 및 Telomerase의 활성. 대부종콜포회지 1997; 8: 65-74.
- 이태성·서성일·백원기·박종욱·차순도·최병길·서민호. 한국인 자궁경부암과 telomerase 활성과의 관계. 대한암학회지 1996; 38(4): 656-683.
- Blackburn EH, Szostak JW: The molecular structure of centromere and telomeres. *Nature* 1989; 338: 771-774.
- Blin AN, Stafford DW: A General method for isolation of high molecular weight DNA form eukaryotes. *Nucl Acids Res* 1976; 3: 2303-3208.
- Chadeneau C, Hay K, Hirte HW, Gallinger S, Bacchetti S: Telomerase activity associated with acquisition of malignancy in human colorectal cancer. *Cancer research* 1995; 55: 2533-2536.
- Counter CM, Avilomin AA, LeFeuvre CE et al. Telomere shortening associated with chromosome instability if arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO* 1992; 11: 1921-1929.
- Cross SH, Allshire SJ, McKay NI, Cooke HJ: Cloning of human telomeres by complementation in yeast. *Nature* 1989; 338: 771-774.
- DeLange TL, Shiu RM, Myers DR, Cox SL, Naylor AM, Killery, Varmus HE. Structure and variability of human chromosome ends. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 518-527.
- Greider CW and Blackburn EH: Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* 1985; 43: 405-413.
- Harley CB, Villeponteau B: Telomeres and telomerase in aging and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5: 249-255.
- Hayflick L, Moorhead PS: The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exptl Cell Res* 1961; 25: 585-621.
- Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N et al. Telomerase activity in gastric cancer. *Cancer Res* 1995; 55(15): 3258-62.
- Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011-2015.
- Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6622-6626.
- Piatyszek MA, Kim NW, Weinrich SL et al. Detection of telomerase in human cells and tumors. *Methods Cell sci* 1995; 17: 1-15.
- Sahy JW, Bacchetti S: A survey of telomerase in human cancer. *Eur J Cancer* (in press). Tahara H, Nakanishi T, Kitamoto M et al. Telomerase activity in human liver tissues: comparison between chronic liver disease and hepatocellular carcinomas 1995; 55(13): 2734-6.
- Taylor HC: Malignant and semimalignant tumors of the ovary. *Surg Gynecol Obstet* 1929; 48: 203.
- Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC et al. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9857-9860.
- Wright WE, Piatyszek WA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW: Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Developmental genetics* 1996; 18: 173-179.
- 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.