

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2014.11.017

• 综述 •

人端粒结合蛋白CST复合体的研究进展

罗云蔓¹, 周云峰^{1,2}

Review on Human Telomere-binding Proteins of CST Components

LUO Yunman¹, ZHOU Yunfeng^{1,2}

1. Hubei Cancer Clinical Study Center, Hubei Key Laboratory of Tumor Biological Behaviors, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 2. Department of Radiation Oncology & Medical Oncology, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China
Corresponding Author: ZHOU Yunfeng, E-mail: yfzhouwhu@163.com



Abstract: As an important structure contributing to linear chromosome end protection, telomere which is composed of telomeric DNA and a suite of telomere-binding proteins (TBPs) is involved in senescence, apoptosis and immortalization of cells. Telomere-binding proteins play pivotal roles in telomere silencing, telomere end protection and telomere length regulation. Previous studies have demonstrated that there are two major distinct telomere-binding complexes, CST components (Cdc13, Stn1 and Ten1) in yeast and shelterin components (TRF1, TRF2, TIN2, Rap1, TPP1 and POT1) in vertebrates. However, recent data have showed that CST-like components also exist in a wide range of higher eukaryotes. This review has summarized the research advances of construction and function of CST components in diverse eukaryotes in recent years to reveal its potential applications in tumor treatments and preventions.

Key words: Telomere; Telomere-binding proteins(TBPs); CST components

摘要: 端粒是线性染色体末端的重要保护结构, 由端粒DNA和多种端粒结合蛋白构成, 参与了细胞的衰老、凋亡和永生。端粒结合蛋白在端粒沉默、端粒末端的保护及端粒长度的调节中起了重要的作用。既往研究普遍认为: 酵母和脊椎动物的核心端粒结合蛋白分别为CST复合体(Cdc13、Stn1及Ten1)和shelterin复合体(TRF1、TRF2、TIN2、Rap1、TPP1和POT1)。然而, 最近的研究发现CST样复合体也同样存在于许多高等真核生物细胞中。本文概述了近年来国内外关于不同类型真核生物CST复合体结构和功能的研究进展, 以揭示其在肿瘤防治中的潜在应用价值。

关键词: 端粒; 端粒结合蛋白; CST复合体

中图分类号: Q291; R730.2 **文献标识码:** A

0 引言

端粒(telomere)是位于真核细胞线性染色体末端的一种特殊结构, 参与细胞的衰老、凋亡和永生。它能使染色体末端免受核酸酶的降解和DNA损伤反应的激活, 从而防止染色体发生融合, 维持染色体的完整与稳定^[1]。端粒主要由端粒DNA和多种端粒结合蛋白(telomere-binding protein, TBP)组成, 其中, 端粒结合蛋白对于端粒稳态的维持至关重要, 既往研究普遍认为哺

乳动物的核心端粒结合蛋白与酵母不同, 分别为shelterin(TRF1、TRF2、TIN2、Rap1、TPP1和POT1)复合体^[2]和CST(Cdc13、Stn1和Ten1)复合体^[3]。然而, 最近研究发现CST复合体也同样存在于多细胞真核生物中, 该复合体与端粒的稳定与维持密切相关。这一发现揭示了端粒结构和功能的复杂性, 也使得CST复合体有望成为人类肿瘤防治的新靶标。

1 人CST复合体的结构

既往研究认为CST复合体仅存在于酵母中, 通过其亚单位Cdc13特异性地结合于端粒单链DNA上, 与位于端粒双链DNA的shelterin样(Rap1-Rif1-Rif2)复合体共同维持端粒的结构与功能^[4]。结构分析显示CST复合体包含有六个寡核苷酸/低聚糖结合(oligonucleotide/oligosaccharide-binding,

收稿日期: 2013-12-12; 修回日期: 2014-05-12

基金项目: 国家自然科学基金(81071825)

作者单位: 1.430071 武汉, 湖北省肿瘤医学临床研究中心 肿瘤生物学行为湖北省重点实验室 武汉大学中南医院; 2.430071 武汉, 武汉大学中南医院放疗科

通信作者: 周云峰, E-mail: yfzhouwhu@163.com

作者简介: 罗云蔓(1984-), 女, 博士, 主要从事端粒与肿瘤放射抗拒方面的研究

OB) 折叠域^[5]。其三个亚单位正是通过OB折叠域相互作用形成复合体结构并且识别单链DNA。不同于酵母CST复合体, 在高等真核生物细胞中, shelterin复合体结合于端粒的单链及双链DNA上, 例如TRF1和TRF2结合于端粒双链DNA, 而POT1结合于端粒单链DNA^[2]。

最近, 研究者在拟南芥属 (*Arabidopsis*) 植物和哺乳动物细胞中也发现了CST复合体的存在^[6-7]。它们以CTC1-STN1-TEN1的顺序形成一个三聚体复合物, 而CTC1与TEN1之间没有相互作用; 大约有20%的CST复合体以非序列特异性的方式结合于端粒单链DNA, 其余部分则游离于细胞核, 它们在端粒部位和非端粒部位的分布差异并不受细胞周期的影响^[8]。此外, 酵母Cdc13与高等真核生物细胞中的POT1之间缺乏序列相似性, 但它们的OB折叠域的结构是相似的, 这提示POT1是Cdc13的功能性同源物^[9]。

2 人CST复合体的功能

2.1 人CST复合体与端粒酶

端粒酶是肿瘤最具特征性的标志之一, 大约在85%以上的人类肿瘤细胞中能够检测到端粒酶的存在^[10]。在人类S期肿瘤细胞中, 端粒酶可以与shelterin复合体中的TPP1结合, 经过每一轮延伸过程, 能够将约60个核苷酸加至端粒末端, 进而阻碍端粒的缩短^[11-12]。Chen等^[13]研究发现人胚肾细胞HEK293T中的CST复合体能够竞争POT1-TPP1的端粒结合位点, 阻碍端粒酶与TPP1的结合, 从而抑制端粒酶的活性。Bryan等^[14]指出人STN1-TEN1能形成亚复合体, 后者也能下调端粒酶的活性。由此可见, 人CST复合体在肿瘤形成中起了重要的作用。

2.2 人CST复合体与端粒维持

端粒功能的维持与端粒长度和端粒结构密切相关。诱导端粒功能失调的机制主要有: (1) 失活的端粒结合蛋白可以破坏端粒的功能, 这些功能异常的端粒可以作为DNA损伤修复反应的识别底物, 通过非同源性末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 修复机制引起染色体末端发生融合^[15], 后者在细胞有丝分裂过程中发生断裂、产生畸变, 从而引起染色体的不稳定和细胞的衰老死亡; (2) 端粒酶RNA突变等原因引起的端粒序列的改变, 这些突变的端粒无法像正常端粒一样募集端粒结合蛋白^[16]; (3) 端粒的缩短使得端粒结合蛋白的可结合位点减少^[16]。以上三种

机制都与端粒结合蛋白密切相关。它们通过非特异性的空间效应以及特异性地与端粒酶结合来调节端粒酶的活性^[17]。Levy等^[18]在3 417名志愿者全基因组中寻找与白细胞端粒长度变异相关的SNPs (single nucleotide polymorphisms) 易感基因, 结果证实STN1基因具有显著的相关性, 过表达STN1的细胞会出现端粒的延长。一项对人类全基因组的荟萃分析指出: CTC1是调节人端粒稳态的基因^[19]。此外, 通过RNAi抑制人CTC1的表达能够引起端粒的功能失调, 表现为DNA损伤反应的触发、染色质桥的形成、端粒G-尾的增加以及散在的端粒丢失等^[7]。

由于CST复合体在端粒上的定位没有序列特异性, 研究人员推测它与端粒的结合可能依赖于shelterin复合体的亚单位 (POT1) 或者其他尚未证实的端粒结合蛋白^[8]。他们在POT1突变的HeLa细胞中观察到了与端粒DNA结合的Ctc1和Stn1, 且POT1突变会引起端粒部位DNA损伤灶TIFs (telomere dysfunction-induced foci) 的形成, 而在POT1/STN1双突变株中, TIFs的增加更为明显。这一结果说明CST复合体与端粒的结合并不依赖POT1, 且它与POT1共同参与端粒功能的保护。此外, 在人HTC75细胞中发现的STN1与TPP1蛋白存在相互作用, 说明TPP1作为端粒酶和CST复合体的枢纽参与了端粒的维持^[20]。因此, 以上研究提示人CST与shelterin复合体共定位于端粒, 两者相互协调保护端粒的完整与稳定。

2.3 人CST复合体与端粒复制

人端粒DNA为富含鸟嘌呤的TTAGGG重复序列, 故称为G链; G链的3'末端还有一段长约50~500个核苷酸的单链DNA, 称为G尾。这一突出的3'末端能够伸入端粒双链DNA中形成一个“t环”套索样结构。端粒DNA的复制包括以下过程: 复制叉沿着双链DNA移动、DNA末端的处理、3'悬垂结构的生成、t环的形成、端粒结合蛋白的结合以及端粒酶的募集与活化^[21]。由于端粒序列的重复性特征及其形成二级结构的潜在可能, 因此, 除了常见的复制机制外, 还需要其他蛋白以保证端粒的有效复制。这些蛋白包括TRF1、WRN复合体、核酸酶FEN1和CST复合体等^[22-23], 去除其中任一蛋白将引起端粒长度的丢失和/或端粒结构的改变。

最近有研究指出, 人CTC1/STN1复合体分别与DNA聚合酶- α 辅助因子(alpha-accessory factor, AAF)的亚单位AAF-44和AAF-132相对应, AAF具

有活化DNA聚合酶- α /引物酶的作用^[24]。人STN1和TEN1参与了端粒复制和全基因组复制叉阻滞后的复制重启^[25-26]。

3 人CST复合体与临床

3.1 人CST复合体与疾病

人CTC1突变会引起一种罕见的人类遗传疾病——Coats plus综合症，以消化道和神经系统的缺陷、持续的DNA损伤反应以及端粒缩短为典型特征^[27-28]。这可能与CTC1突变引起DNA代谢异常和端粒功能失调有关。

3.2 人CST复合体与肿瘤放射治疗

放射治疗是恶性肿瘤的主要治疗手段之一，约三分之二的恶性肿瘤患者需要在治疗的不同阶段接受放疗。然而，由于肿瘤内在放射抗拒导致的肿瘤残存或复发是放疗失败的主要原因。大量研究表明：端粒与肿瘤细胞放射敏感性密切相关，端粒长度和端粒结合蛋白丰度是评价肿瘤细胞放射敏感性的标志^[29-31]。由于干扰人CTC1的表达能够引起端粒的丢失，这也提示CST复合体可能成为肿瘤放射增敏的新靶点。

3.3 人CST复合体与肿瘤化学治疗

化疗是恶性肿瘤重要的全身治疗方法，其应用在一定程度上能够抑制肿瘤的生长、复发和转移。但近年来，肿瘤细胞耐药性及其多药耐药的产生严重影响了化疗的总体疗效。其机制不仅和药物被泵出细胞外有关，还与许多基因或蛋白的表达密切相关。研究者通过过表达或干扰胃癌细胞株端粒结合蛋白TRF2后，可以增强或部分逆转细胞的耐药表型，说明TRF2参与了胃癌细胞株耐药性的产生^[32]。因此，探究人CST复合体与肿瘤化疗耐药的关系可能有助于揭示肿瘤耐药的潜在作用机制。

4 总结

近几年来，端粒结合蛋白CST复合体受到了越来越多研究者的关注，它与shelterin复合体共同定位于端粒的现象揭示了端粒生物学的复杂性。以上大量研究表明CST复合体在端粒维持、染色体末端保护、细胞凋亡及永生等方面起了重要的作用，但这些作用的具体分子机制尚不明确。此外，目前这些研究结果还仅限于基础研究，其潜在的临床应用价值仍有待进一步探究。因此，对CST复合体的功能及其作用机制的深入研究可能有助于揭示细胞的衰老机制，有助于探讨人类肿瘤

的形成与进展机制，有助于评估不同肿瘤病人对治疗的反应性差异，从而为临床采取更为有效的个体化治疗方案提供重要的理论依据。

参考文献：

- [1] Grandin N, Charbonneau M. Protection against chromosome degradation at the telomeres[J]. *Biochimie*, 2008, 90(1):41-59.
- [2] Palm W, de Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres[J]. *Annu Rev Genet*, 2008, 42:301-34.
- [3] Gao H, Cervantes RB, Mandell EK, *et al*. RPA-like proteins mediate yeast telomere function[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(3):208-14.
- [4] Li S, Makovets S, Matsuguchi T, *et al*. Cdk1-dependent phosphorylation of Cdc13 coordinates telomere elongation during cell-cycle progression[J]. *Cell*, 2009, 136(1):50-61.
- [5] Fanning E, Klimovich V, Nager AR. A dynamic model for replication protein A (RPA) function in DNA processing pathways[J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(15):4126-37.
- [6] Song X, Leehy K, Warrington RT, *et al*. STN1 protects chromosome ends in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(50):19815-20.
- [7] Surovtseva YV, Churikov D, Boltz KA, *et al*. Conserved telomere maintenance component 1 interacts with STN1 and maintains chromosome ends in higher eukaryotes[J]. *Mol Cell*, 2009, 36(2):207-18.
- [8] Miyake Y, Nakamura M, Nabetani A, *et al*. RPA-like mammalian Ctc1-Stn1-Ten1 complex binds to single-stranded DNA and protects telomeres independently of the Pot1 pathway[J]. *Mol Cell*, 2009, 36(2):193-206.
- [9] Linger BR, Price CM. Conservation of telomere protein complexes: shuffling through evolution[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2009, 44(6):434-46.
- [10] Forsyth NR, Wright WE, Shay JW. Telomerase and differentiation in multicellular organisms: turn it off, turn it on, and turn it off again[J]. *Differentiation*, 2002, 69(4-5):188-97.
- [11] Abreu E, Aritonovska E, Reichenbach P, *et al*. TIN2-tethered TPP1 recruits human telomerase to telomeres *in vivo*[J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(12):2971-82.
- [12] Zhao Y, Abreu E, Kim J, *et al*. Processive and distributive extension of human telomeres by telomerase under homeostatic and nonequilibrium conditions[J]. *Mol Cell*, 2011, 42(3):297-307.
- [13] Chen LY, Redon S, Lingner J. The human CST complex is a terminator of telomerase activity[J]. *Nature*, 2012, 488(7412):540-4.
- [14] Bryan C, Rice C, Harkisheimer M, *et al*. Structure of the human telomeric Stn1-Ten1 capping complex[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e66756.
- [15] Smogorzewska A, Karlseder J, Holtgreve-Grez H, *et al*. DNA ligase IV-dependent NHEJ of deprotected mammalian telomeres in G₁ and G₂[J]. *Curr Biol*, 2002, 12(19):1635-44.
- [16] Hemann MT, Hackett J, Ijima A, *et al*. Telomere length, telomere-

- binding proteins, and DNA damage signaling[J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 2000, 65:275-9.
- [17] Zaug AJ, Podell ER, Nandakumar J, *et al.* Functional interaction between telomere protein TPP1 and telomerase[J]. Genes Dev, 2010, 24(6):613-22.
- [18] Levy D, Neuhausen SL, Hunt SC, *et al.* Genome-wide association identifies OBFC1 as a locus involved in human leukocyte telomere biology[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(20):9293-8.
- [19] Mangino M, Hwang SJ, Spector TD, *et al.* Genome-wide meta-analysis points to CTC1 and ZNF676 as genes regulating telomere homeostasis in humans[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(24):5385-94.
- [20] Wan M, Qin J, Songyang Z, *et al.* OB fold-containing protein 1 (OBFC1), a human homolog of yeast Stn1, associates with TPP1 and is implicated in telomere length regulation[J]. J Biol Chem, 2009, 284(39):26725-31.
- [21] Gilson E, Géli V. How telomeres are replicated[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(10):825-38.
- [22] Price CM, Boltz KA, Chaiken MF, *et al.* Evolution of CST function in telomere maintenance[J]. Cell Cycle, 2010, 9(16):3157-65.
- [23] Saharia A, Teasley DC, Duxin JP, *et al.* FEN1 ensures telomere stability by facilitating replication fork re-initiation[J]. J Biol Chem, 2010, 285(35):27057-66.
- [24] Casteel DE, Zhuang S, Zeng Y, *et al.* A DNA polymerase- α primase cofactor with homology to replication protein A-32 regulates DNA replication in mammalian cells[J]. J Biol Chem, 2009, 284(9):5807-18.
- [25] Wang F, Stewart JA, Kasbek C, *et al.* Human CST has independent functions during telomere duplex replication and C-strand fill-in[J]. Cell Rep, 2012, 2(5):1096-103.
- [26] Kasbek C, Wang F, Price CM. Human TEN1 maintains telomere integrity and functions in genome-wide replication restart[J]. J Biol Chem, 2013, 288(42):30139-50.
- [27] Anderson BH, Kasher PR, Mayer J, *et al.* Mutations in CTC1, encoding conserved telomere maintenance component 1, cause Coats plus[J]. Nat Genet, 2012, 44(3):338-42.
- [28] Gu P, Chang S. Functional characterization of human CTC1 mutations reveals novel mechanisms responsible for the pathogenesis of the telomere disease Coats plus[J]. Aging Cell, 2013, 12(6):1100-9.
- [29] Berardinelli F, Nieri D, Sgura A, *et al.* Telomere loss, not average telomere length, confers radiosensitivity to TK6-irradiated cells[J]. Mutat Res, 2012, 740(1-2):13-20.
- [30] Ayouaz A, Raynaud C, Heride C, *et al.* Telomeres: hallmarks of radiosensitivity[J]. Biochimie, 2008, 90(1):60-72.
- [31] Tang T, Zhou FX, Lei H, *et al.* Increased expression of telomere-related proteins correlates with resistance to radiation in human laryngeal cancer cell lines[J]. Oncol Rep, 2009, 21(6):1505-9.
- [32] Ning H, Li T, Zhao L, *et al.* TRF2 promotes multidrug resistance in gastric cancer cells[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(8):950-6.

[编辑: 周永红; 校对: 尤婷婷]

• 消息会讯 •

《国际肿瘤学杂志》2015年征订启事

《国际肿瘤学杂志》(原刊名: 国外医学肿瘤学分册)是由中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会主管, 中华医学会、山东省医学科学院主办的肿瘤专业学术性期刊, 是中华医学会学系列杂志之一。主要报道国内外肿瘤学领域的新动态、新进展和新技术, 反映国内外肿瘤学科临床、科研、防治工作的重大进展, 促进国内外肿瘤学学术交流。报道内容涵盖基础与临床、理论与技术各个方面, 反映肿瘤学专业国际水平和发展趋势。为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)。主要设置“综述”、“论著”、“短篇论著”、“临床报道”等栏目。适合广大肿瘤学及其相关学科的医疗、教学和科研工作者阅读和参考。

《国际肿瘤学杂志》1974年创刊, 月刊, 大16开, 80页, 每月8日出版, 每期定价12元, 全年144元。刊号CN 37-1439/R, ISSN 1673-422X。邮发代号24-64, 欢迎读者在各地邮局订阅, 漏订者可汇款至《国际肿瘤学杂志》编辑部补订。编辑部地址: 济南市经十路18877号, 邮编: 250062, 电话(传真): 0531-82949227, 82919917, E-mail: gjlxjn@126.com, 网址: www.gjlx.cn。

《国际肿瘤学杂志》编辑部