

端粒及端粒酶在人体肿瘤中的研究进展

邓芝云 杨霄鹏综述 于 兰 吕同德审校

端粒(telomere)是线性染色性末端的一特殊结构,它能够维持染色体的稳定性。当细胞分裂时,端粒 DNA 序列(telomeric DNA sequence, TEL)随着细胞分裂而缩短,这对真核生物的 DNA 复制带来了一大困难。因为 DNA 复制须由 RNA 引物起始,从 5'→3' 方向合成。引物去除后留下一段 5' 端缺口无法复制。1985 年,端粒酶(telomerase)的发现解决了 5' 末端这一特殊的 DNA 复制问题^[1],因为它能将 TEL 加到染色体末端上。近年来的研究表明,端粒的异常变化及端粒酶的活化可能参与了生物肿瘤的形成。本文就它们在人体肿瘤中的研究进展作一回顾。

1 人的端粒及端粒酶

端粒主要由 DNA 及蛋白质组成^[2]。人的端粒于 1988 年被分离克隆与其它真核生物的端粒非常相似,由几百到几千个 G 丰富重复 DNA 序列(TTAGGG 构成,沿 C 丰富链 5' 端延伸,在其富含 C 链 3' 末端多出 12—16 个核苷酸,呈现分子内的简单重叠结构,且以非 Watson-Crick 碱基配对 G·G 方式连接形成,从而可增加其稳定性。端粒蛋白(telomere binding protein)可能与端粒一核基质的相互作用有关,它可使端粒免于被核酸酶降解及端粒间的融合、重组。

端粒酶是一种核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP),主要由 RNA 及蛋白质组成,作为 RNA 依赖的一种特殊 DNA 聚合酶,它属于一种反转录酶。目前应用联合色谱分析(co-chromatography)及基因交至杂交(cross-hybridization)已在几种生物中分离克隆了几种不同的端粒酶 RNA^[2-6]。人的端粒酶 RNA 直到去年才被 Haley 等^[7]应用部分端粒酶纯化和递减式杂交(subtractive hybridization)从人 Hela 细胞中分离克隆。虽然在不同生物其端粒酶 RNA 序列长度不同,但它们都含有 1 个与端粒互补的模板区序列,编码 1.5 个端粒序列。在四膜虫、酵母及人体肿瘤细胞中,应用定点突变(site-directed mutagenesis)及反义 RNA 技术发现,端粒酶 RNA

序列的突变,不仅可引起突变端粒酶 RNA 的过度表达,而且可导致相应 TEL 的改变,反义端粒酶 RNA 不仅可抑制端粒酶的活性,而且可诱使端粒序列丢失或缩减。表明端粒酶既有自身的模板功能,又有端粒引物的特异识别位点。因此它能够利用 3' 端粒作为引物,以自身的 RNA 为模板来拷贝 TEL,不断添加到染色体末端上。

2 在人体肿瘤中的端粒异常变化

在正常人体细胞端粒随着细胞的分裂及年龄的增长,而逐渐变短,提示端粒长度的变化是细胞分裂与衰老的一个分子生物钟^[8]。但在基因突变,细胞永生及肿瘤形成时,端粒可表现出缺失,融合及序列缩短等异常。有人先后在 B 细胞淋巴样白血病,恶性纤维性组织细胞瘤,前 T 细胞急性淋巴细胞白血病,肾癌,心脏粘液瘤等患者中发现起源于端粒融合所引起的易位型染色体,大约占 20~30%,且融合可在任意染色体对上随机出现;在实体瘤中 20q 的端粒似乎最易形成融合^[9-13]。Hastie^[14]认为在某些肿瘤中这种染色体的端一端融合可造成遗传物质不稳定和肿瘤发生。Sawyer 等^[15]在 1 例复发多形黄色星形细胞瘤病人中发现,在 15pter 与 20qter 间以及 1 号染色体长臂的一条额外拷贝与 22qter 间的端粒融合能发展形成 20 号和 22 号环形染色体。由此证实,端粒融合可能是通过产生具有不稳定染色体中间类型的亚克隆引起染色体不稳定,并导致环形染色体和最终染色体丢失,这可能在肿瘤的形成中具有一定作用。最近的分子生物学研究揭示,在大多数人体肿瘤中端粒长度明显缩短,但与肿瘤相邻的正常组织相比,缩短的端粒又趋于稳定^[16]。Hastie 等^[16]在 20 例结肠癌患者观察到 19 例癌变组织的端粒长度均比正常粘膜组织明显缩短。在 wilms 氏瘤、乳腺癌及急性白血病等患者中的端粒也有类似发现。Hiyama 等^[16]在神经母细胞瘤中还观察到端粒的长度似乎与肿瘤的进展及转移有关,但尚未得到直接证实。表明在肿瘤形成时端粒序列以缩短为主要特征。当这种缩短到达一定程度后将会导致染色体失稳,或激活癌基因引发肿瘤。因此,端粒的缩短也可以被认为是肿瘤发生的一个诊断标

志。

3 端粒酶在人体肿瘤中的表达

端粒酶主要存在于人体生殖细胞、永生细胞及肿瘤组织中，因此，人们推测它可能参与了人体细胞的永生性转化及肿瘤的形成。从人体细胞的永生性过程看，当端粒酶缺乏或表达受抑时，端粒随着体细胞的分裂逐渐缩短直至细胞周期检查点(checkpoint)发出细胞周期停止信号，细胞生长被阻止在 M1(mortality stage1 M1)，在病毒基因如 sv40 大 T 抗原的作用下，细胞可以绕过 M1 继续分裂繁殖，端粒明显缩短，DNA 失去其复制能力，绝大多数细胞在 M2(mortality stage2, M2)凋亡。这时端粒酶可能在某种因子作用下被激活，持续合成 TEL，使细胞越过 M2 获得永生性转化，发展成为具有无限增殖力的肿瘤细胞。

由于端粒酶对端粒具有特殊的指导合成作用，端粒酶活性表达正是依据这种特殊合成机制来设计的^[17,18]。端粒酶活性的检测最初是分析细胞提取物在 3‘端寡核苷酸引物上添加 TEL 的能力，通过同位素标记核苷酸，聚丙烯酰胺凝胶电泳分离反应产物进行放射性自显影。因为在哺乳动物细胞端粒酶水平较低，这种方法在人体肿瘤病中的应用受到限制。只在人卵巢上皮细胞癌，骨巨细胞瘤及恶性血液病的肿瘤组织中发现了端粒酶活性的表达^[16-19]。最近，Kim 等对这一方法进行成功改进。他们首先应用去垢剂介导细胞溶解富含端粒酶的提取物，然后利用端粒酶催化的引物延伸反应产物作为聚合酶链反应的模板，容许产物呈指数扩增，建立了一种高效、特异及敏感的端粒重复扩增方法(telomere repeat amplification protocol, TRAP)，使其敏感性提高 10 倍。在迄今 400 余例不同人体肿瘤的检测中，发现端粒酶活性的阳性表达率在肿瘤组织为 84.8%，在与肿瘤邻近的正常组织或良性肿瘤中仅为 4.2%^[20]，具体分布如表 1 所示，由此可见，端粒酶几乎在所有进展期肿瘤中表达，而在人体正常组织及良性病变中很少活化，这不仅支持端粒酶与细胞永生性有关，而且提示肿瘤的生长需要细胞永生性来维持。

4 问题与展望

端粒的缩短及端粒酶的活化在人体细胞的永生性转化及肿瘤的发生与形成中具有非常重要的作

用。但是，端粒及端粒酶与癌变的因果关系及确切的作用途径仍不清楚。一旦这些问题得到进一步证实，人们在分子水平上寻找理想的癌靶将会成为可能。

表 1 人体组织中的端粒酶活性

肿瘤部位/类型	正常组织/良性病变	肿瘤组织(%)
肺	3/68	109/136 (80.1)
乳 腺	2/28	19/24 (79.0)
前列腺	1/18	23/27 (85.1)
结 肠	0/45	22/23 (95.6)
肝		1/1 (100.0)
卵 巢	0/8	7/7 (100.0)
肾	0/55	40/55 (72.7)
神经母细胞瘤	0/17	94/100(94.0)
血液(淋巴瘤等)		21/23 (91.3)
脑		6/8 (75.0)
其它(wilm's 病等)	8/93	24/26 (92.3)
合 计	14/332(4.2%)	365/430(84.8)

参 考 文 献

1 Greider C Blackburn EH. Cell, 1985, 43:405.

2 Greider C Blackburn EH. Cell, 1987, 51:887.

3 Morin GB Nature, 1991, 353:454.

4 Blackburn EH. Annu Rev Biochem, 1992, 61:113.

5 Monica MG Romero D. Nucleic Acids Res, 1995, 7: 1091.

6 Singer MS Gottschilin DE. Science, 1994. 266:404.

7 Harley CB, et al. Rroc Am Assoc Cancer Res, 1995, 36:671.

8 Lange T. Proc Natl Acad Sci, 1994, 91:2882.

9 Fitzgerald PH, et al. Hum Genet, 1984, 67:384.

10 Mandahl N, et al. ibid, 1985, 71:321.

11 Morgan R, et al. ibid, 1986, 73:260.

12 Kovacs G, et al. Cancer Genet cytegent, 1987, 28: 363.

13 Dewald cw. et al. Mayo clin Proc. 1987, 62:553.

14 Hastie ND, et al. Natare, 1990, 346:866.

15 Sawyer JR, et al. Cancer Genet Cytegent, 1992, 60: 152.

16 Harley CB. Path. Biol. 1994, 4:342.

17 Counter CM, et al. Proc Natl Acad Sci, 1994, 91: 2900.

18 Kim NM. et al. Science, 1994. 266:2011.

19 Schwartz HS. et al. Cancer, 1995, 75:1094.

20 Rhyu MS. J. Natl Cancer Inst, 1995. 87:884.