

# 端粒、端粒酶与癌症

张友亭, 郭晓农

**【摘要】** 端粒和端粒酶是近年来生命科学研究的热点。细胞分裂过程中,因其染色体末端(端粒)DNA不能完全复制而缩短,使细胞逐渐失去增殖能力而衰老,端粒酶可延长染色体末端DNA,端粒酶的活化使细胞获得无限增殖能力。在永生细胞系及绝大多数的恶性肿瘤(85%)细胞中有活化的端粒酶。本文综述了端粒与端粒酶的结构与功能,端粒酶在端粒合成与稳定中的作用,介绍了端粒酶活性的测定方法,并讨论了通过抑制端粒酶活性来治疗癌症的可能性。

**【关键词】** 端粒;端粒酶;癌症

**【中图分类号】** R73-3

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1680-6115(2006)10-1115-02

端粒(telomere)和端粒酶(telomerase)是近年来生命科学研究的热点之一,正常细胞在分裂过程中,因其染色体末端(端粒)DNA不能完全复制而缩短,细胞经多次分裂后,端粒缩短达到危机点(crisis),促发某一信号,使细胞逐渐失去增殖能力而衰老死亡。端粒酶可延长染色体末端DNA,端粒酶的活化使细胞获得无限增殖能力。基于此,有少数细胞(如永生细胞系)及绝大多数恶性肿瘤细胞(85%)可逃逸这一危机点。因为在这些细胞中含有活化的端粒酶系统,从而使细胞获得无限增殖能力,使之永生化和恶变,因此,对端粒和端粒酶系统的研究,有助于阐明细胞衰老和恶变机制,对肿瘤的诊断、治疗以及抗衰老都具有重要的理论和实际意义。一般认为,癌症是由多种突变的积累,破坏了细胞正常的生长调控而引起的,除了一些明确的病因外,有许多实验结果支持这样一种假说,即端粒酶的激活对许多恶性肿瘤细胞的形成是必需的,且肿瘤细胞与端粒酶活动增加之间存在相互激发的关系<sup>[1]</sup>。这种显著的相关性提示:在肿瘤细胞恶性状态的进展和维持中,端粒酶可能起到关键性的作用。本文就端粒与端粒酶研究的最新进展作一综述,具体讨论了端粒的结构与功能,端粒酶在端粒合成与稳定中的作用,介绍了端粒酶活性的测定方法,细胞永生与端粒酶激活的关系,提出了通过抑制端粒酶活性来治疗癌症的可能性。

## 1 端粒(telomere)

**1.1 端粒(telomere)的概念** 端粒是指真核细胞线性染色体末端的蛋白质-DNA特殊结构,即染色体末端DNA序列的多个重复,其作用是保护和稳定染色体的末端,它由2~20kb串联的短片段重复序列(TTAGGG)<sub>n</sub>及一些结合蛋白组成。四膜虫(单细胞生物)端粒的结构是6个核苷酸5'-TTGGGG-3序列的多次重复。人类为5'-TTAGGG-3序列的多次重复。随着细胞不断分裂,染色体复制次数增加,端粒DNA序列进行性缩短。故粒端长度决定了细胞寿命,至一定长度时,细胞停止分化,并出现程序性死亡(细胞凋亡,Apoptosis)。端粒作为细胞的“有丝分裂钟”(mitosis clock)调节细胞分裂。早衰的端粒长度明显低于正常人,而人精原细胞的端粒长度比体细胞长数千kb,并不随年龄增长而递减<sup>[2]</sup>。

**1.2 端粒的结构、功能** 1978年,Blackburn发现一种单细胞池塘生物四膜虫的染色体端粒DNA为一种简单核苷酸序列的大量重复,即(TTAGGG)<sub>n</sub>,后来证明人和脊椎动物的端粒均为含有丰富鸟嘌呤(G)的重复DNA序列,人类端粒

DNA由5'TTAGGG3的重复单位构成,细胞中端粒DNA总是和非组蛋白成分的蛋白质结合成一个复合体,其结构虽不清楚,但它有重要的作用,可以保护染色体末端不被核酸酶降解,防止染色体末端丢失、融合,并参与染色体在核内定位及基因表达调控的作用,从而保持遗传系统的稳定性。

## 2 端粒酶

**2.1 端粒酶的概念** 端粒酶为一种RNA依赖性DNA聚合酶,为一种核糖核蛋白酶,是合成端粒必需的酶。端粒的合成是以一段RNA为模板,端粒酶通过反转录过程合成端粒片段,并使其连接于染色体的端粒末端。端粒酶的发现,解释了生物细胞“末端复制问题”,并将两个看似不相关的研究领域—衰老和癌症紧密地联系在一起。Kim等(1994)建立了能稳定、成批、快速分析各组织端粒酶活性的Trap法,这是Kim等巧妙引用了PCR技术形成的粒端重复扩增分析法。端粒酶活性的调节所知甚少,调节细胞凋亡的存活因子Bcl-2可能对端粒酶的激活有正相调节功能。

**2.2 端粒酶结构、功能** 端粒酶是一种依赖于RNA的DNA聚合酶,目前认为它由三部分组成:端粒酶RNA组分、端粒酶相关蛋白、端粒酶催化亚基。人类端粒酶基因定位在5P15.33,其编码了1132个氨基酸的多肽,它是以RNA为模板的逆转录酶,通过识别端粒单链的富G区引物,合成多个端粒重复序列到3端,所以端粒酶有端粒再生的作用。人类胚胎发育的早期,很多组织可检测到端粒酶活性,但随着人类组织和细胞的分化,端粒酶活性迅速降低,到成人,仅有包括生殖细胞在内的少数细胞或细胞系仍具端粒酶活性,大多体细胞已检测不到。

## 3 端粒酶活性的测定方法

最初采用的标准检测端粒酶的方法是:分析细胞提取液在引物3'2'末端上合成重复序列的能力,通过放射性核苷酸标记、聚丙烯酰胺凝胶电泳和放射自显影的观察,结果端粒酶酶促反应呈现出6个核苷酸合成的脉冲性,因而形成典型的间隔6个核苷酸的端粒酶条带模式图谱。尽管用这种方法检测原代肿瘤样本中的端粒酶较为困难,但还是有两个研究小组设法用该项技术证实了卵巢上皮癌与恶性造血细胞癌的提取物中有活化的端粒酶<sup>[3]</sup>。此外,亦有人用放射性标记的特异性探针进行原位杂交,通过检测组织细胞中RNA表达水平来反映端粒酶有无<sup>[4]</sup>。人类细胞中正常的46条染色体,即有92个端粒。通过检测不同组织类型细胞中染色体端粒的平均长度,可以间接地检测端粒酶。端粒DNA长度的测定,一般采用染色体末端限制片段分析法,以(TTAGGG)<sub>4</sub>为探针的Southern杂交进行分析,该法的缺陷在于永生细胞中端粒长度并不能真正反映端粒酶的活性。目前,测定端粒酶活性主要采用Kim等建

立的端粒重复序列扩增法。该法采用了两项革新技术,极大地提高了端粒酶分析的敏感性(提高了104倍)。首先是对抽提物的准备和预处理,使用去污剂裂解细胞,从少量的细胞中提取有效的端粒酶(旧法采用的是低渗裂解);最主要的突破是允许一个端粒酶反应的产物以倍增指数方式进行扩增。这种扩增是通过应用一个端粒酶催化的引物,延伸反应产物作模板进行PCR,通过连续的以寡聚核苷酸为引物的DNA合成,扩增产物进行电泳,以此来反映端粒酶的活性。该法涉及到的两对引物是:正向引物为5' 2AA TCCGTCGA GCA GA GTT 2 3和反向引物为5' 2 ( CCCTA ) 3 CCCTAA 2 3。本法具有敏感、快速、高效的特点,但易受各种外来因素的干扰和同位素污染。最近Iwama等对TRAP法又进行了改进,采用内部端粒酶测定标准的荧光端粒重复扩增法,可克服此点之不足,且可进行半定量分析,是检测端粒酶活性较为理想的方法。

#### 4 端粒酶与肿瘤诊断和治疗

由于端粒酶活性见于绝大多数恶性肿瘤,而人正常体细胞中未见该酶活性,端粒酶活性为恶性肿瘤的诊断和治疗带来了希望。首先,端粒酶活性的检测有望成为早期恶性肿瘤诊断和判断肿瘤预后的标志物。例如端粒酶活性的检测可作为筛选早期恶性肿瘤的标志物,若能将转移癌细胞与外周血细胞分开亦可作为早期转移癌的标志物。大约20%~30%乳腺癌不伴有腋窝淋巴结转移的病例未见有端粒酶活性,同时伴有腋窝淋巴结转移的乳腺癌病例其端粒酶活性的检出率超过95%,表明端粒酶可作为独立的判断乳腺癌预后及复发的指标<sup>[5]</sup>。术前对组织进行端粒酶分析可给外科医生提供更多的信息,敏感的端粒酶分析法可用于细针穿刺组织使得术前判断病人预后成为可能。其次,由于端粒酶活性是保持绝大多数恶性肿瘤细胞继续生长必须之酶,抗癌药物建立在抑制端粒酶活性的基础上可能会得到高效治疗效果和最低的副作用。端粒酶在生殖细胞和其它永久存活细胞内的功能是保持端粒长度,使细胞能不断地分裂。目前看来该酶是治疗癌症比较特异和明确的目标<sup>[6~9]</sup>。虽然要考虑到抑制肿瘤细胞端粒酶活性的同时也抑制了生殖细胞和造血干细胞端粒酶活性,但是此治疗设想比现用治疗的毒性和副作用低,通常的化疗除了对干细胞有作用外,对所有增生的细胞均起作用。用端粒酶抑制剂会减轻或避免常规化疗所引起的恶心、脱发等副作用。应该考虑到端粒酶抑制剂一定在端粒缩短到一定程度端粒酶被激活后,才能发挥效应,所以可能需要一段时间。设计用该酶抑制剂治疗肿瘤首先应设法加快肿瘤细胞端粒的缩短速度,以尽快使抑制剂发挥作用达到治疗肿瘤的目的。

#### 5 端粒酶的基因研究初步概况

编码端粒酶全酶的整个基因仍未被人们所认识。但目前认为,端粒酶为RNA依赖性DNA聚合酶,端粒酶的亚单位工作是以RNA为模板合成端粒DNA片段。在许多生物中包括人类编码端粒酶的这段RNA模板基因已被克隆。除此之外,还确定了与激活端粒酶有关的3种相关蛋白:P80、P95和TP1。P80和P95蛋白已从纤毛四膜虫中纯化。编码与P80相似的哺乳动物的TP1蛋白的基因已克隆成功。迄今为止这些蛋白在端粒酶中所起的确切功能尚不得而知。哺乳动物TP1蛋白与四膜虫P80蛋白的氨基酸顺序极为相似。TP1蛋白表现出与哺乳动物端粒酶RNA的特异性结合。TP1的抗血清与有端粒酶活性的细胞提取液显免疫沉淀反应,提示TP1在体内与端粒酶密切相关。

综上所述,近几年,端粒及端粒酶的研究引起分子生物学家们的浓厚兴趣,在酶的三维结构预测、基因的克隆、种系的发生,都取得一定进展<sup>[10~12]</sup>。在对影响端粒长度的各种分子之间相互作用机制阐清的基础上,相信端粒及端粒酶的研究必将在延长细胞寿命、肿瘤检测与诊治、基因治疗等方面取得广泛的应用前景。

#### 【参考文献】

- 1 郑伟,石一复,王升启,等.端粒酶RNA和端粒酶活性在人生殖道癌细胞株中的表达.细胞生物学杂志,1998,20:25.
- 2 杨泽.衰老与长寿的遗传机制探讨.国外医学·遗传学分册,2002,23(4):2111.
- 3 邓铭.端粒、端粒酶和肿瘤发生的关系.国外医学·遗传学分册,2002,23(4):2171.
- 4 胡云清.端粒、隐性嵌合体、杂合性丢失与多基因病.国外医学·遗传学分册,2000,23(1):48.
- 5 胡桂英.端粒、端粒酶与妇科肿瘤.国外医学·遗传学分册,2000,23(6):300.
- 6 王伟.端粒、端粒酶及其生物学功能的研究进展.山西大学学报(自然科学版),1998,21(4):389-393.
- 7 刘鸿禧.端粒、端粒酶活性的研究与癌症.汕头大学医学院学报,1997,10(增刊):100.
- 8 黄志勇.端粒、端粒酶与癌症.中国医师杂志,2001,3(11):809.
- 9 阮晓峰.端粒、端粒酶与癌症治疗进展.临床肿瘤学杂志,1999,4(2):73.
- 10 胡建.端粒、端粒酶研究的最新进展.生命科学,2001,13(3):150.
- 11 虞伟.端粒与端粒酶的研究进展.Bulletin of Jinling Hospital,1999,173.
- 12 杨学辉,冯威健.端粒与端粒酶研究进展.生物化学与生物物理,1996,23(6):420.

(收稿日期:2006-04-24) (编辑:李 木)

欢 迎 投 稿