

# 端粒酶逆转录酶 TERT 的分子调节机制

庞建新 综述 袁曙光 审校 (第一军医大学药物研究所 广东 广州 510515)

摘要 人端粒酶逆转录酶 TERT 是端粒酶成分中的限速亚单位,是端粒酶活性调节的主要部分。细胞通过调节 c-Myc、Mad、锌指蛋白 2、MZF-2、甲基化等调节 hTERT 的转录水平,或通过 hTERT mRNA 的不同剪切方式,分子之间相互作用、磷酸化和脱磷酸化等转录后途径调节 hTERT。

关键词 端粒酶;端粒酶逆转录酶;调节机制

中图分类号 Q55 文献标识码 A 文章编号 000-2588(2001)02-0156-02

真核细胞染色体末端由一简单重复的 DNA 序列及与其结合的蛋白构成,称为端粒(telomere)。不同物种的端粒 DNA 序列各异,人的端粒重复序列为 (TTAGGG)<sub>n</sub>,长约 2~15kb,本身并不编码蛋白质,但能防止染色体末端的融合和降解,维持染色体的稳定性和完整性。由于 DNA 聚合酶不能完全复制线型的 DNA 末端,端粒将会在每次细胞分裂后丧失 50~100bp。当丢失达到一定程度时,细胞则停止分裂,开始衰老或死亡。因此,端粒的长度可作为一种信号,调节细胞衰老过程。端粒缩短引起细胞衰老的信号途径目前尚不清楚,一种可能的机制是,随着端粒缩短,靠近端粒的基因转录受到影响,抑制或激活。这一现象称作端粒位点效应,即 telomere position effect (TPE)。人染色体中,哪些基因受 TPE 的调控,目前了解的端粒缩短敏感基因(TSSG)目前了解不多。在鼠细胞中,53 是第一个随着端粒缩短而补充激活的 TSSG。

端粒酶 telomerase 是维持端粒长度的逆转录酶,以自身 RNA 为模板,反转录合成端粒重复单元,添加到染色体末端,以防止端粒缩短。使细胞具有继续增殖的能力。正常人体细胞中不表达或低表达端粒酶,而 85% 以上的肿瘤细胞和永生细胞具有高度端粒酶活性。这说明端粒酶是一受细胞内外因素影响的,可逆性调节酶。人端粒酶的主要成分有人端粒酶 RNA (hTR)、人端粒酶相关蛋白 1(hTP1)、人端粒酶逆转录酶(hTERT 或 hTRT/hEST2/TP2)。hTR 和 hTP1 在端粒酶活性阴性的正常组织中广泛表达,而 hTERT 只在端粒酶阳性的肿瘤细胞和永生细胞中表达。正常组织中 hTERT 表达被抑制,说明细胞主要通过调节 hTERT 来调节端粒酶活性。hTERT 已成为研究端粒酶基因表达调控的主要对象。本文就目前已知的 hTERT 的调控及机制作一综述。

## 1 hTERT 转录水平的调节

### 1.1 hTERT 表达的正调控

hTERT 的表达调控主要是转录水平的调控。许多实验证明,在端粒酶阴性的正常上皮细胞和二倍体成纤维细胞中,Δ-myc 可激活端粒酶,而用反义寡核苷酸拮抗 c-myc 可下调白血病细胞端粒酶活性。Satoru 等证明,ΔTERT 转录位点上游 181 bp 区域的核心启动子内缺乏 TATA 盒,但含有多个 SP1 和 c-myc 的结合位点。转录因子 c-myc 和 SP1 特异性与 hTERT 启动子结合后,可明显增加转录活性。故 SP1 被认为是另一个强大的 hTERT 转录激活因子。在鼠 TERT 转录起始位点上游 350bp 处有 NF-κB 结合位点,ΔNF-κB 与其结合后可激活 TERT 的转录。

### 1.2 端粒酶基因表达的负调控

Myc/Max 二聚体的作用几乎总是与 Mad/Max 的作用相反。同样,许多实验证明,当 Myc 正调控 hTERT 表达的同时,Δ被诱导表达的 Mad 明显抑制 hTERT 转录水平。Mad 与 Max 竞争结合启动子上的 E-box 而抑制 Max 的作用。

甲基化调节也是 hTERT 转录调控的重要因素。hTERT 启动子上游 654bp 至下游 510bp (与第一个外显子隔 56bp) 之间富含 CG (约占碱基数的 74%)。其中的胞嘧啶容易被甲基化。CpG 岛 CpG 岛 DNA 甲基化可抑制某些体外培养的细胞中 hTERT 的表达,而用不能被甲基化的 5-氮胞苷替代胞嘧啶,或用甲基化抑制剂,则可诱导 hTERT 表达。表明 hTERT 启动子甲基化与 hTERT 表达和端粒酶活性的调节有关。但这并不表明 CpG 岛甲基化是 hTERT 表达的固定调节模式。大多数 hTERT 阴性的正常细胞和约 1/3 hTERT 阳性的细胞株 CpG 岛没被甲基化,或低甲基化,说明甲基化调节依细胞类型的不同,有甲基化依赖和甲基化非依赖两种方式。最近文献报道,Δ组氨酸去乙酰化可抑制正常细胞 hTERT 的转录水平,认为这可能是正常细胞不表达端粒酶活性的重要原因之一。Theodora 等证明,甲基化和去乙酰化有协同调节作用。

Kohtaro 等发现,ΔTERT 核心启动子上游 378~原 76bp 之间,有一约 400bp 的负调控区,含有多个锌指蛋白 2。MZF-2 特异结合位点,位点突变可明显增强 hTERT 的转录,Δ过度表达 MZF-2 则抑制 hTERT 的转录水平。hTERT 启动子上负调控区的发现,为更好地阐明 hTERT 的调控机理提供了新的思

收稿日期 000-09-23

作者简介 庞建新,1965-男,湖北崇阳人,1995 年硕士毕业于第一军医大学,第一军医大学在读博士,电话 020-85148167, e-mail: jxp@fimmu.edu.cn

路袁同时也为抗衰老和抗肿瘤的研究提供了新的途径遥

有趣的是有人<sup>[16]</sup>已证明正常人体细胞中存在 hTERT 抑制基因袁该基因定位于 3 号染色体袁并且进一步将定位于该染色体的 p14.2~p21.3 区域遥将该染色体转入端粒酶阳性的肿瘤细胞中可明显降低端粒酶活性袁端粒长度缩短袁细胞增殖被抑制遥

以上表明袁在基因表达水平上袁无论是抑制还是促进作用袁TERT 的表达都是通过多水平袁多途径作用袁而且与细胞类型有关遥

## 2 hTERT 的转录后调节

端粒酶成分转录后袁尚须经过一系列的调节过程袁如 mRNA 的剪切袁蛋白质翻译袁端粒酶组装袁端粒功能的维持袁端粒酶的解聚等等遥尽管其调节机制目前知之不多袁但这方面的研究方兴未艾遥

### 2.1 hTERT mRNA 剪切方式的调节

hTERT mRNA 除了全长的 mRNA 外袁还有三种剪切体 mRNA<sup>[17]</sup>袁分别为 hTERT<sup>1</sup>袁 hTERT<sup>2</sup>袁 hTERT<sup>3</sup>遥剪切位点都位于 hTERT 的 A 和 B 结构域单元 motif 之间遥其中袁 hTERT<sup>1</sup> 为 A 单元内剪掉一 36 bp 的 hTERT<sup>2</sup> 为 B 单元内剪掉 182bp 的 hTERT<sup>3</sup> 为同时剪掉 A 和 B 单元片段的 hTERT<sup>3</sup> 只有含有完整 A 和 B 单元的 hTERT 才具有端粒酶活性遥但许多没有端粒酶活性的正常组织和肿瘤组织中能同时检测到完整的 hTERT 及全部或部分剪切体<sup>[18]</sup>袁而某些组织袁如静息的正常 T 淋巴细胞中却检测不到任何剪切体<sup>[19]</sup>袁 7 周的人胚胎肾组织中袁其端粒酶活性开始消失袁检测不到 hTERT<sup>3</sup>遥尽管 hTERT 的不同剪切方式对端粒酶活性有重要的调节作用袁但这些剪切体是否都翻译成相应的蛋白质袁它们在端粒酶活性中各自起什么作用袁哪些因素决定不同的剪切方式等袁目前仍然一无所知遥这些显然是今后端粒酶活性调节研究中的热点问题遥

### 2.2 端粒酶内外分子间相互作用的调节

Li 等<sup>[20]</sup>用亲和层析法发现一可与 hTP1 特异结合袁并抑制端粒酶活性的多肽分子 TEIPP1 袁序列分析显示该肽来源于 hTP1 的氨基末端袁进一步合成起源于 hTP1 肽序列的其它多肽分子袁用亲和色谱法可分离到几种与 hTP1 肽序列特异结合的蛋白袁其中包括 P53 蛋白遥因而他认为 hTP1 是端粒酶的结构调节亚单位袁当支架募集和组织 hTR 袁 TERT 袁端粒底物和其它调节因子遥同样袁作为端粒酶的功能单位袁 TERT 在行使逆转录功能的同时袁分子内部的变化袁与端粒酶其它成分及调节因子之间的相互接触也需要分子表面功能基团与多肽分子的相互作用袁研究 hTERT 的功能基团或与这些功能基团相互作用的多肽分子袁不仅有利于阐明端粒酶活性的调节袁而且有可能通过筛选和模仿它们的结构袁寻找到抑制或激活 hTERT 的小分子肽或化合物袁用于抗肿瘤或抗衰老治疗遥

## 2.3 蛋白磷酸化和脱磷酸化对 hTERT 的调节

Li 等<sup>[21]</sup>研究证明袁蛋白磷酸酶 2A 渊 PP2A 冤 在体外能明显抑制端粒酶活性袁而是蛋白磷酸酶 1 渊 P1 冤 或蛋白磷酸酶 2B 渊 P2B 冤 则无引作用袁而 PKC 激动剂 PMA 能增加端粒活性袁并证明促进端粒酶蛋白磷酸化的 PKC 为 PKC $\epsilon$ 遥免疫沉淀实验证明袁 TP1 和 hTERT 都能被 PP2A 脱磷酸化并被 PKC $\epsilon$ 再磷酸化<sup>[22]</sup>遥目前认为袁磷酸化可促进端粒酶全酶组装成有活性的功能结构袁而脱磷酸化则相反<sup>[17]</sup>遥

也有人<sup>[23]</sup>发现,蛋白激酶 B 渊 PKB 冤 或 Akt 能使 hTERT 第 824 位丝氨酸残基磷酸化而增加端粒酶活性袁并证明 PKB 的磷酸化作用与 PI3 激酶途径介导的细胞信号转导有关遥总之袁磷酸化和脱磷酸化能可逆地调节端粒酶的活性遥

## 3 hTERT 活性的其它调节

以上主要是 hTERT 表达的下游调节或直接调节过程袁许多端粒酶活性阴性或低端粒酶活性的细胞在受到细胞外特异刺激时端粒酶活性可以明显增加,如静息淋巴细胞或白血病淋巴细胞受 PHA 和 / 或 PMA 刺激<sup>[24]</sup>袁造血细胞受 X 线照射时<sup>[25]</sup>遥其它刺激因素还有雌激素<sup>[26]</sup>袁生长激素释放激素<sup>[27]</sup>袁缺氧<sup>[28]</sup>等遥而当癌细胞退出细胞周期袁或细胞受分化诱导剂诱导时袁端粒酶活性明显下降<sup>[29]</sup>遥这些端粒酶活性的改变大多数伴有 hTERT 表达水平的改变袁说明 hTERT 还受细胞内信号转导的调节遥许多信号分子或蛋白袁如 v-ki-ras<sup>[30]</sup>袁 c-2<sup>[31]</sup>袁 b 蛋白<sup>[32]</sup>袁细胞周期依赖性激酶抑制因子 p21WAF-1 等<sup>[33]</sup>袁 6 蛋白<sup>[34]</sup>等对端粒酶活性有影响袁但其作用机制还不清楚遥显然袁研究 hTERT 表达的信号转导袁能更好地从细胞水平了解端粒酶活性的调节过程袁这也是今后端粒酶活性研究中感兴趣的课题遥

## 参考文献

- Chin L, Artandi SE, Shen Q. Telomerase deficiency rescues the adverse effects of telomere loss and cooperates with telomere dysfunction to accelerate carcinogenesis. *Cell*, 1999, 97: 527-538.
- Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 1994, 266: 2011-5.
- Jun-ping L. Studies of the molecular mechanisms in the regulation of telomerase activity. *FASEB J*, 1999, 13: 2091-104.
- Wang J, Xie LY, Allan S. Myc activates telomerase. *Genes Dev*, 1998, 12: 1769-74.
- Fujimoto K, Takahashi M. Telomerase activity in human leukemic cell lines is inhibited by antisense pentadecadeoxynucleotide targeted against c-myc mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 241: 775-81.
- Satoru K, Masahiro T, Takahiro T. P1 cooperates with the Myc to activate transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene (hTERT). *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(3): 669-77.
- Yin L, Hubbard AK, Giardina C. NF-kappa B regulates transcription of the mouse telomerase catalytic subunit. *J Biol Chem*, 2000, 275(47): 36671-5.

- 咱暂 Liu Y, Liu H, Xie BD. Detection of gene deletions in Chinese patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy using cDNA probes and the polymerase chain reaction method [J]. *Life Sciences*, 1999, 65(9): 8648-69.
- 咱暂 Lisiecka D, Wigowska SJ, Kwiatkowska J. 藻藻藻 Molecular-genetic characteristics of mutations in dystrophin gene and clinical symptoms in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Neurol Neurochir Pol*, 1998, 32(5): 1069-79.
- 咱暂 Roberts RG, Barby TF, Manners E. 藻藻藻 Direct detection of dystrophin gene rearrangements by analysis of dystrophin mRNA in peripheral blood lymphocytes [J]. *Am J Hum Genet*, 1991, 49(2): 298-310.
- 咱暂 Feener CA, Boyce FM, Kunkel LM. Rapid detection of CA polymorphisms in cloned DNA: application to the 5' region of the dystrophin gene [J]. *Am J Hum Gene*, 1991, 48: 621-27.
- 咱暂 Clemens PR, Fenwick RG, Chamberlain JS. 藻藻藻 Carrier detection and prenatal diagnosis in Duchenne and Becker muscular dystrophy families, using dinucleotide repeat polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1991; 49: 951-60.
- 咱暂 Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE. 藻藻藻 Deletions screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification [J]. *Nucleic Acids Res*, 1988, 16(23): 11141-56.
- 咱暂 Beggs AH, Koenig M, Boyce FM. 藻藻藻 Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction [J]. *Hum Genet*, 1990, 86(1): 45-8.
- 咱暂 Chen JD, Denton MJ, Morgan G. 藻藻藻 Use of field-inversion gel electrophoresis for deletion detection in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Am J Hum Genet*, 1988, 42(5): 777-80.
- 咱0暂 Rininsland F, Hahn A, Niemann SS. 藻藻藻 Identification of a new DMD gene deletion by cDNA transcript analysis [J]. *J Med Genet*, 1992, 29(9): 647-51.
- 咱1暂 Zietkiewicz E, Sinnett D, Richer C. 藻藻藻 Single-strand conformational polymorphisms (SSCP): detection of useful polymorphisms at the dystrophin locus [J]. *Hum Genet*, 1992, 89(4): 453-6.
- 咱2暂 Prior TW. Perspectives and molecular diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophies [J]. *Clin Lab Med*, 1995, 15(4): 927-41.
- 咱3暂 Pastore L, Caporaso MG, Frisso G. 藻藻藻 A quantitative polymerase chain reaction (PCR) assay completely discriminates between Duchenne and Becker muscular dystrophy deletion carriers and normal females [J]. *Mol Cell Probes*, 1996, 10(2): 129-37.
- 咱4暂 Mansfield ES, Robertson JM, Lebo RV. 藻藻藻 Duchenne/Becker muscular dystrophy carrier detection using quantitative PCR and fluorescence-based strategies [J]. *Am J Med Genet*, 1993, 48(4): 200-8.
- 咱6暂 Li H, Cao Y, Berndt MC. 藻藻藻 Molecular interactions between telomerase and the tumor suppressor protein p53 藻藻藻 *Oncogene*, 1999, 18(48): 6785-94.
- 咱7暂 Li H, Zhao LL, Funder JW. 藻藻藻 Protein phosphatase 2A inhibits nucleolar telomerase activity in human breast cancer cells 咱暂 *J Biol Chem*, 1997, 272: 16729-32.
- 咱8暂 Andrea GB, Nam WK, Rita BE. 藻藻藻 Mechanism of telomerase induction during T cell activation 咱暂 *Exp Cell Res*, 1996, 228: 58-64.
- 咱9暂 Li H, Zhao L, Yang Z. 藻藻藻 Telomerase is controlled by protein kinase C $\alpha$  in human breast cancer cells 咱暂 *J Biol Chem*, 1998, 273: 33436-42.
- 咱0暂 Kang SS, Kwon T, Kwon DY. 藻藻藻 Akt protein kinase enhances human telomerase activity through phosphorylation of telomerase reverse transcriptase subunit 咱暂 *J Biol Chem*, 1999, 274: 13085-90.
- 咱1暂 Silvia M, Simona N, Giulia F. 藻藻藻 Induction of hTERT expression and telomerase activity by estrogens in human ovary epithelium cells 咱暂 *Mol Cell Biol*, 2000, 20(11): 3764-71.
- 咱2暂 Kiaris H, Schally AV. Decrease in telomerase activity in U-87MG human glioblastoma after treatment with an antagonist of growth hormone-releasing hormone 咱暂 *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 226-31.
- 咱3暂 Vasa M, Breitschopf K, Zeiger AM. 藻藻藻 Nitric oxide inactivate telomerase and delays endothelial cell senescence 咱暂 *Circ Res*, 2000, 87(7): 540-2.
- 咱4暂 吴翔, 朱冰, 杨光彩, 等. 人成纤维细胞转染 HPV16 型早期蛋白基因后端粒酶的活性表达 咱暂 *第一军医大学学报*, 1999, 19: 431-4.

(上接 157 页)

- 咱暂 Sangtaek O, Young-Hwa S, Jeongbin Y. 藻藻藻 Identification of Mad as a repressor of the human telomerase (hTERT) gene 咱暂 *Oncogene*, 2000, 19: 1485-90.
- 咱暂 Scott KD, Hua-yin Y, Roger RR. 藻藻藻 Methylation of the human telomerase gene CpG island 咱暂 *Cancer Res*, 2000, 60: 537-41.
- 咱0暂 Theodora RD, Izumi H, Colleen HA. 藻藻藻 Methylation analysis of the promoter region of the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene 咱暂 *Cancer Res*, 1999, 59: 6087-90.
- 咱1暂 Cong YS, Bacchetti S. Histone deacetylation is involved in the transcriptional repression of hTERT in normal human cells 咱暂 *J Biol Chem*, 2000, 275(46): 35665-8.
- 咱2暂 Kohtaro F, Satoru K, Masahiro T. 藻藻藻 Identification and characterization of negative regulatory elements of the human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene promoter: possible role of MZF-2 in transcriptional repression of hTERT 咱暂 *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(13): 2557-62.
- 咱3暂 Ulaner GA, Hu JF, Vu TH. 藻藻藻 Telomerase activity in human development is regulated by human telomerase reverse transcriptase (hTERT) transcription and by alternative splicing of hTERT transcripts 咱暂 *Cancer Res*, 1998, 58: 4168-72.
- 咱4暂 Gary AU, Ji-Fan H, Thanh HV. 藻藻藻 Regulation of telomerase by alternative splicing of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) in normal and neoplastic ovary, endometrium and myometrium 咱暂 *Int J Cancer*, 2000, 85: 330-5.
- 咱5暂 Liu K, Schoonmaker M, Levine B. 藻藻藻 Constitutive and regulated expression of telomerase reverse transcriptase (hTERT) in human lymphocytes 咱暂 *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 5147-52.