

hTERT 启动子的转录调控机制及其靶向性介导肿瘤治疗的研究进展

沈晓涵 综述 曹亚 审校
(中南大学肿瘤研究所,长沙 410078)

[摘要] 端粒酶与肿瘤发生发展的关系是近年来肿瘤研究领域的热点之一。端粒酶是一种核糖核蛋白复合物,在绝大多数恶性肿瘤细胞中呈阳性表达,而在正常体细胞中则一般为阴性。端粒酶的活性表达主要是通过 hTERT 基因的转录机制严格调控的。端粒酶的活化与肿瘤的发生发展及细胞衰老和永生生化关系密切。hTERT 基因启动子为恶性肿瘤早期诊断、预后评估及基因治疗提供了新的思路。

[关键词] hTERT 启动子; 转录因子; 靶向性; 基因治疗

[中图分类号] R730.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)02-0113-05

Transcriptional regulation mechanism and targeted cancer therapy of human telomerase reverse transcriptase promoter

SHEN Xiao-han, CAO Ya

(Cancer Research Institute, Central South University, Changsha 410078, China)

[Abstract] Recently, the relationship between telomerase and cancer has become a heated issue in the field of cancer research. Telomerase is a ribonucleoprotein enzyme, which is positively expressed in most malignant tumor cells, while negatively expressed in normal somatic ones. And the transcriptional regulation of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) promoter is the main mechanism for telomerase expression, which plays a significant role in the developmet of tumor as well as cell aging and immortalization. hTERT promoter has become a new target for the early diagnosis, prognostic evaluation and gene therapy of cancer.

[Key words] hTERT promoter; transcriptional factor; targeting; gene therapy

[Int J Pathol Clin Med, 2008,28(2):0113-05]

分子生物学、分子遗传学、免疫学等相关学科的发展和渗透,使肿瘤基因治疗技术迅速发展。肿瘤基因治疗方法在理论和技术上的不断改进,促进了肿瘤基因治疗从实验及基础研究过渡到临床试用阶段。然而基因治疗并不如当初人们想象的那样完美,它离安全、高效、准确的要求还有一定的差距,其中基因治疗的靶向性是值得密切关注的问题之一。所谓靶向性,是指在治疗过程中,把治疗作用或药物效应限定在特定的靶细胞、组织或器官内,而不影响其他正常的细胞、组织或器官的功能,这对于基因治

疗至关重要。近年来,由于端粒酶和人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)启动子区域克隆和特点的鉴定, hTERT 启动子介导的靶向性肿瘤基因治疗将不断取得新的进展。

1 hTERT 启动子及其调控

1.1 hTERT 启动子的组成 人端粒酶复合体由 3 个主要的亚单位组成:端粒酶 RNA 组分(hTR),端粒酶相关蛋白(TP1/TEP1)和端粒酶催化亚单位(hTERT)。hTERT 是端粒酶的催化亚基,与端粒酶 RNA-端粒酶相关蛋白 1(hTEP1)复合物形成全酶,

激活端粒酶的活性。研究表明,除干细胞、生殖细胞和活化的淋巴细胞外,hTERT几乎只在肿瘤细胞和永生化细胞中表达。hTERT在大多数永生化细胞和各种人类肿瘤,如头颈部肿瘤,胃癌,前列腺癌等肿瘤组织中有表达,在大多数正常组织中表达阴性^[1]。hTR和TP1在肿瘤组织和正常组织中均持续性表达,无组织特异性,提示hTERT是调节端粒酶活性的正调控因子。在人类肿瘤中,端粒酶活性主要是通过hTERT基因的转录机制严格调控的。因此,利用hTERT基因核心启动子作为肿瘤基因治疗的靶向启动子引导异源基因的表达,从而降低基因治疗中对正常组织的毒副作用,成为肿瘤基因治疗的新策略。Han等^[2]构建了由hTERT基因核心启动子调控的荧光素酶基因表达载体。结果发现,由hTERT基因核心启动子调控的荧光素酶基因的表达量远高于SV40启动子调控的荧光素酶基因的表达量。这表明hTERT启动子具有很强的活性。

1.2 hTERT启动子的转录调控 hTERT启动子区富含GC碱基,而缺乏TATA盒及CAAT盒。转录起始元件(CCTCTCC)位于转录起始点上游第3位,转录起始点上游181bp(binding point)是核心启动子区。hTERT基因核心启动子上存在多个转录因子结合位点,如c-myc,Max,Mad,Sp1和P53等。对这些转录因子结合区进行突变后的研究表明,不同的细胞系同一结合区突变对hTERT表达水平的影响不同;不同的结合区突变对同一细胞系hTERT的表达水平的影响也不同。这可能是各细胞系中的转录因子不同引起,也表明对hTERT启动子的调控是在多个靶点中受多个因素的影响,是一个错综复杂的过程。

1.2.1 C-myc C-myc是hTERT转录的直接激活因子之一。近年来研究进一步表明,c-myc的过度表达可能是恶性肿瘤中端粒酶活性升高的一个重要机制^[3]。Horikawa等^[4]研究发现在核心启动子区域和转录起始点下游各存在一个典型的E-box(CACGTG),它们是c-myc原癌基因产物潜在的结合位点,其中上游E-box可以使hTERT启动子活性显著上调,是正向调节元件,下游E-box对hTERT启动子活性影响不大。C-myc基因与Max蛋白以螺旋-环-螺旋亮氨酸锌指结构(bHLH-Zip)形成异源二聚体结合到E-box上,从而激活hTERT的转录。Mad蛋白是c-myc蛋白的拮抗物,能使Myc/Max二

聚体结合转变为Mad/Max二聚体,从而降低hTERT启动子的活性。

1.2.2 Sp1 Sp1也是结合到hTERT核心启动子GC富含位点和激活hTERT转录的关键分子。在核心启动子上有5个Sp1结合位点,每个位点的突变都将导致转录活性不同程度地降低,而当5个Sp1位点同时突变,则核心启动子的活性下降90%以上。多个Sp1位点是一种有效的顺式作用元件。因此,核心启动子5'末端的E-box和3'末端Sp1的结合对于hTERT的转录激活是非常重要的。C-myc和Sp1的协同作用能激活hTERT启动子的全部活性。

1.2.3 雌激素 Wang等^[5]发现两个潜在的hTERT启动子区雌激素反应成分(estrogen response elements,EREs),一个在转录起始位点上游2754bp,可以结合雌激素及其受体,应用此EREs序列与报告基因相连导入细胞,在应用雌激素作用后,转录活性可以提高10倍。但在ER(estrogen receptor)阴性的细胞内则无此作用,提示雌激素的这种作用只限ER阳性的细胞。下游区的EREs,位于-950bp处,是雌激素和Sp1协同调节的位点。此处含Sp1识别序列(5'-GGCGGG-3'),邻近ER半位点(5'-TGACC-3'),后者功能同EREs。ER结合到此位点可直接激活hTERT表达。而且,EREs突变可显著降低hTERT启动子活性,表明雌激素激活hTERT启动子的活性作用是直接的。

1.2.4 P53 P53蛋白是一种与细胞周期相关的核磷酸蛋白,对肿瘤细胞的作用是抑制细胞增殖,诱导细胞分化和凋亡。P53蛋白能与Sp1结合,抑制Sp1与hTERT启动子结合^[6]。将hTERT启动子与野生型P53基因共转染Hela细胞后hTERT启动子的活性受到抑制。进一步的研究表明,激活SL2细胞中hTERT启动子的活性,完全依赖于异位表达的Sp1,而P53可以取消这种激活作用;P53通过与Sp1形成P53-Sp1复合物而抑制Sp1与hTERT核心启动子区域结合,此作用需要P53全长基因序列的参与。

1.2.5 WT1 WT1(Wilms tumor 1 tumor suppressor gene product)是hTERT转录表达调控的抑制因子。WT1通过特异地与Sp1竞争性地结合转录起始位点上游-281bp处的“GCGCGGCG”序列(Sp1结合位点)而抑制hTERT的转录。但是WT1仅表达于肾细胞、性腺细胞及脾细胞中,故WT1的抑制

作用仅限于少数几种特定的组织类型。这一位点的突变可使表达 WT1 基因的细胞显著地诱导 hTERT 表达,WT1 的过表达可显著抑制端粒酶的活性。

1.2.6 甲基化与乙酰化 近年 hTERT 启动子 DNA 的甲基化及启动子区组蛋白的乙酰化也引起了研究者的广泛关注。hTERT 启动子区是 GC 富含区,其中的胞嘧啶容易被甲基化,叫 CpG 岛。CpG 岛 DNA 甲基化可以抑制某些体外培养的细胞 hTERT 的表达,且用不能被甲基化的 5-氮胞苷替代胞嘧啶或用甲基化抑制剂,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。而启动子区域的组蛋白在组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT)的作用下,可激活(导致启动)基因的转录。相反,在组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylase, HDAC)作用下,组蛋白去乙酰化,转录受到抑制。

1.3 hTERT 的核移位 hTERT 在胞质合成,在核内发挥作用,因此它的核移位是其活性调节的重要机制。在非活化状态下 hTERT 存在于胞质,由于磷酸化或其他机制导致 hTERT 发生核移位。Akiyama 等^[7]研究表明,多发性骨髓瘤细胞在 TNF- α 的刺激下,NF- κ B P65 亚基与胞质中的 hTERT 瞬间结合,并共同移位于核内,使核内端粒酶活性明显升高。研究证明,很多致癌病毒可调节 NF- κ B 的活性。EB 病毒是一种 DNA 致癌病毒,与人类多种恶性肿瘤有关,如鼻咽癌、何杰金氏病、胃癌、肺癌和乳腺癌等多种肿瘤的发生密切相关。在 EB 病毒转化人淋巴细胞的过程中,伴随着端粒酶活性的表达和端粒长度的维持。Yang 等^[8]研究表明,EB 病毒编码的潜伏膜蛋白 LMP1 通过 NF- κ B 诱导端粒酶活性。位于 LMP1 羧基端 351 ~ 386 位氨基酸残基的活化区 CTAR2 通过与肿瘤坏死因子受体相关死亡域 TRADD 和肿瘤坏死因子受体相关因子 TRAF2 形成的复合物直接作用,从而诱导 NF- κ B 的激活。NF- κ B 能促使 hTERT 的核移位,从而诱导端粒酶的表达。

2 hTERT 启动子介导的靶向性肿瘤基因治疗

2.1 hTERT 启动子介导自杀基因疗法 自杀基因疗法又称药物敏感基因疗法。其原理是将一些病毒或细菌的前药转换酶基因(即自杀基因)导入肿瘤细胞,该基因编码特殊的酶,将原先对哺乳动物细胞无毒的前药在肿瘤细胞中代谢为毒性产物,从而

引起细胞自杀,而正常组织可免受损伤。目前研究较多的自杀基因是大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶(CD)基因和单纯疱疹病毒胸苷激酶(TK)基因。在成熟分化的体细胞中 hTERT 基因的表达处于关闭状态,而在肿瘤细胞中该基因主要是在转录水平上被组成性激活。因此,当 hTERT 启动子介导自杀基因转染正常体细胞和肿瘤细胞时,正常体细胞没有特定的转录激活因子,不能转录特定的 mRNA,也就不能表达相应的蛋白,而肿瘤细胞中具有该转录激活因子,能激活特定蛋白表达,从而特异性地表达自杀基因的活性。

Bilsland 等^[9]构建了受 hTERT 启动子控制并携带细菌性降氮酶基因(bacterial nitroreductase gene)的腺病毒载体。降氮酶可以将前药 CB1954 转化为有细胞毒性的烷化剂。将此腺病毒载体转染人卵巢癌细胞和正常细胞,Western 印迹表明降氮酶在肿瘤细胞中特异性表达,癌细胞对前药 CB1954 的敏感性提高了 18 倍,但在正常细胞中未观察到药物作用。Majumar 等^[1]用携带 HSV-TK 基因并由 hTERT 启动子调控的质粒转染端粒酶阳性的骨肉瘤细胞系 143B,注射到裸鼠体内 10 d 后给予无毒性抗病毒丙氧鸟苷(GCV)后,观察到肿瘤生长完全受到抑制,同时抗癌前体药物 GCV 对该瘤的敏感性增强。通过裸鼠肝组织病理学及血清酶学检查,肝脏未发现有毒性反应。

研究者常通过对 hTERT 启动子进行修饰来增强其活性和自杀基因在肿瘤细胞中的表达。Wang 等^[10]运用 SV40 增强子,CMV 增强子,CMV 增强子/启动子及 SV40-CMV 双增强子分别增强 hTERT 启动子转录活性,调控双自杀融合基因 CDTK 载体对人宫颈癌 Hela 细胞的杀伤作用,发现 Hela 细胞中增强子能使 hTERT 启动子活性提高 6 ~ 13 倍,其中 SV40-CMV 双增强子/hTERT 启动子的活性最高,达到 CMV 增强子/启动子的近 3 倍,从而认为 SV40-CMV 双增强子联合 hTERT 启动子能高效靶向的调控 CDTK 融合自杀基因杀伤宫颈癌细胞,是一种很有前景的基因治疗宫颈癌的策略。

2.2 hTERT 启动子介导凋亡基因 肿瘤发生的一个重要机制是细胞对死亡信号敏感性降低。所以,通过 hTERT 介导凋亡基因激活正成为快速发展的肿瘤基因治疗策略。

2.2.1 Bax Bax 基因在 P53 依赖的凋亡信号途

径中起重要作用。研究表明,通过一种腺病毒载体, hTERT 启动子可诱导 Bax 基因的表达从而抑制肿瘤的生长。Gu 等^[11] 构建了 hTERT 启动子介导的 Bax 基因表达载体,能在体外诱导肿瘤特异性的凋亡,在裸鼠内抑制肿瘤的生长,并在体内外均能抑制 Bax 基因的毒性。体外研究表明, hTERT 基因启动子能介导肿瘤特异性 Bax 基因在小鼠 UV-2237m 纤维细胞中的表达,在具有免疫能力的小鼠中抑制同源基因肿瘤的增长,无显著或长期的毒性效应。

2.2.2 TRAIL 人的 TRAIL (TNF 相关凋亡诱导配体基因)可编码一种由 281 个氨基酸组成的 2 型跨膜蛋白,可在许多组织(如胎盘,胎儿肺,肝等组织)中表达。TRAIL 可强烈诱导细胞凋亡,而对正常组织和细胞不具有明显的毒性作用。

LI 等^[12] 构建了特异性基因治疗载体 hTERTpromoter-pIRES2-EGFP-TRAIL,并将其转染卵巢癌 SK-OV3 细胞,结果显示,未转染质粒的阴性对照组凋亡率为 12.6%,转染 hTERTpromoter-Pires2-EGFP-TRAIL 基因治疗组的凋亡率为 24.7%,明显高于未转染质粒阴性对照组的凋亡率,表明 hTERT 基因核心启动子在卵巢癌细胞中可特异性地调控其下游 TRAIL 基因的表达,并发挥其促凋亡作用。Huang 等^[13] 使用 hTERT 基因启动子介导 Bax 和 TRAIL 联合作用于人类卵巢癌细胞系,发现联合使用比单独使用 Bax 或 TRAIL 更能加速肿瘤细胞的死亡,可能对治疗腹腔转移肿瘤有一定效果。

2.2.3 Caspase-8 Caspase-8 是一种凋亡起始因子,与肿瘤坏死因子受体家族的死亡受体激发的凋亡通路有关,并能在细胞自身催化过程中激活。Koga 等^[14] 构建了 hTERT 基因启动子介导的 caspase-8 的表达载体(hTERT-caspase-8),利用该载体治疗裸鼠皮下肿瘤能明显抑制其生长,经 5 d 的治疗后肿瘤体积缩小至原始肿瘤的 58%,在肿瘤组织中有大量细胞凋亡且能检测到 caspase-8 基因的表达。在小鼠移植瘤中局部注射 hTERT-caspase-8 基因表达载体,7 d 后观察发现 U373-MG 肿瘤的增长明显受到抑制,肿瘤体积缩小 44%,在无其他治疗手段的情况下,3 周后观察肿瘤大小只有原始瘤的 43%,表明 hTERT-caspase-8 基因表达载体有持久的抗肿瘤效应。

2.2.4 rev-caspase-3 Caspase-3 是细胞凋亡过程中最关键的执行分子之一,在凋亡信号转导的许多

途径中发挥功能,广泛表达于正常人体组织及多种肿瘤组织中,但其自身缺乏自我催化的能力。重组型 caspase-3(re-caspase-3)具有自我催化的能力,能够不依赖上游的起始凋亡因子诱导凋亡的发生。Yang 等^[15] 构建了 hTERT 基因启动子介导的 re-caspase-3 的表达载体(hTERT-re-caspase-3),证实 hTERT-re-caspase-3 能在 hTERT 阳性肿瘤细胞,如鼻咽癌细胞(CNE1),结肠癌细胞(HRT-18),胃癌细胞(MGC)中诱导细胞凋亡,而在 hTERT 阴性细胞,如人正常角化上皮细胞(Hacat)中则不能诱导细胞凋亡。此外,利用该载体治疗裸鼠皮下肿瘤能明显抑制其生长。由此表明端粒酶特异性的 re-caspase-3 基因转染可能成为一种有前景的靶向性肿瘤治疗方法。

2.2.5 hTERT 启动子介导 FADD 基因 FADD 是一种能与 Fas 相互作用诱导细胞凋亡的蛋白,介导多条死亡受体诱导的细胞凋亡信号转导通路。FADD 的过表达能诱导细胞凋亡,而与细胞表面的 Fas 无关。Koga 等^[16] 构建了 hTERT 基因启动子介导的 FADD 表达载体(hTERT-FADD),瞬时转染后发现 hTERT 阳性胶质瘤中能检测到大量的 FADD 阳性细胞和凋亡细胞。而 hTERT 阴性细胞不受影响。

2.3 hTERT 启动子介导控制病毒增殖基因 构建肿瘤特异性增殖病毒的一种方法是利用肿瘤特异性启动子控制病毒复制必需的基因,如腺病毒的 E1A 基因等。由于 hTERT 基因的启动子在 90% 左右的肿瘤细胞中活性升高,而在正常细胞中活性低。因此,Wirth 等^[17] 利用肿瘤特异性启动子控制病毒增殖治疗肝癌。以 hTERT 启动子代替增殖性腺病毒 E1A 启动子,构建肿瘤特异性增殖性腺病毒 hTERT-Ad,体外实验发现,此病毒能选择性地端粒酶阳性的肿瘤细胞中增殖和溶瘤,而不影响正常肝细胞的生长。将肝癌细胞(Huh7)接种裸鼠,成瘤后于瘤内注射病毒,结果表明 hTERT-Ad 能明显延缓肿瘤生长,效果显著优于 ONYX-015(E1B-55k 基因缺失的腺病毒,已进入 3 期临床试验)。

2.4 hTERT 启动子介导白喉毒素 A 链激活 白喉毒素(diphtheria toxin,DT)是白喉杆菌产生的细菌外毒素,它可以使机体产生严重的中毒反应,并且具有高度抗原性,由 A,B 两个肽链二硫键连接。白喉毒素 A 链具有酶活性,能使细胞蛋白质合成受阻,引

起细胞死亡。Abdul Ghani 等^[18]构建 hTERT 启动子控制白喉毒素 A 链基因(DT-A)的表达质粒,分别转染 HepG2 细胞后,细胞生长及蛋白合成受到抑制,提示该表达载体在人类肿瘤的靶向性基因治疗中也具有可行性。

总而言之,野生型 hTERT 基因启动子介导的肿瘤靶向治疗具有良好的肿瘤特异性和安全的高效性,对肿瘤细胞的凋亡和肿瘤的生长抑制也有一定的效果,但还有一些问题尚待解决。首先,少数的永生细胞和肿瘤细胞不表达端粒酶活性,其中一部分是依靠非端粒酶依赖机制维持端粒酶的长度;其次,造血干细胞、皮肤干细胞和胚胎细胞等都表达端粒酶活性,hTERT 启动子介导的治疗基因对这些具有端粒酶活性的非靶向细胞产生一定的毒副作用;最后,hTERT 启动子在不同癌细胞中转录活性有很大不同,在某些细胞中转录活性较低。通过不断完善这些问题,hTERT 基因启动子介导肿瘤基因治疗有望成为一个有前景的肿瘤基因治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Majumar AS, Hughes DE, Lichtsteiner SP, et al. The telomerase reverse transcriptase promoter drives efficacious tumor suicide gene therapy while preventing hepatotoxicity encountered with constitutive promoters[J]. *Gene Ther*, 2001, 8(7):568-578.
- [2] Han MK, Zhang HZ, Cheng SY. Construction of an expression vector under the control of hTERT promoter[J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2005, 21(3):384-386.
- [3] Gu DH, Wang XY, Tang F, et al. Expression and significance of human telomerase reverse transcriptase mRNA in laryngeal squamous cell cancer and its relationship with c-myc [J]. *FuDan Univ J Med Sci*, 2006, 33(4):459-462.
- [4] Horikawa I, Cable PL, Mazur SI, et al. Downstream E-Box-mediated regulation of the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene transcription; evidence for an endogenous mechanism of transcriptional repression[J]. *Mol Biol Cell*, 2002, 13(8):2585-2597.
- [5] Wang Z, Kyo S, Maida Y, et al. Tamoxifen regulates human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene expression differently in breast and endometrial cancer cells [J]. *Oncogene*, 2002, 21(22):3517-3524.
- [6] Kyo S, Inoue M. Complex regulatory mechanisms of telomerase activity in normal and cancer cells: how can we apply them for cancer therapy[J]. *Oncogene*, 2002, 21(4):688-697.
- [7] Akiyama M, Hideshima T, Hayashi T, et al. Nuclear factor-kappaB p65 mediates tumor necrosis factor alpha-induced nuclear translocation of telomerase reverse transcriptase protein [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(1):18-21.
- [8] 杨静, 邓锡云, 唐敏, 等. Epstein-Barr 病毒潜伏蛋白 1 通过核转录因子 kB 诱导鼻咽上皮细胞表达端粒酶活性[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2002, 29(4):561-565.
YANG Jing, DENG Xi-yun, TANG Min, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces telomerase activity of nasopharyngeal epithelial cells through NF-kB [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2002, 29(4):561-565.
- [9] Bilsland AE, Anderson CJ, Fletcher-Monaghan AJ, et al. Selective ablation of human cancer cells by telomerase-specific adenoviral suicide gene therapy vectors expressing bacterial nitroreductase, [J]. *Oncogene*, 2003, 22(3):370-380.
- [10] 王丽娜, 张雅坤, 周银, 等. 增强型自杀基因载体治疗宫颈癌的体外实验研究 [J]. *中国医学工程*, 2006, 14(6):567-570.
WANG Li-na, ZHANG Ya-kun, ZHOU Yin, et al. In vitro research of enhanced suicide gene vector for cervix cancer therapy [J]. *China Med Eng*, 2006, 14(6):567-570.
- [11] Gu J, Kagawa S, Takakura M, et al. Tumor-specific transgene expression from the human telomerase reverse transcriptase promoter enables targeting of the therapeutic effects of the Bax gene to cancers [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(19):5359-5364.
- [12] 李红梅, 宋天保, 于月成, 等. hTERT 基因核心启动子调控的 TRAIL 基因表达载体的构建及对卵巢癌细胞凋亡的影响 [J]. *细胞与分子免疫杂志*, 2006, 22(2):243-246.
LI Hong-mei, SONG Tian-bao, YU Yue-cheng, et al. Construction of TRAIL gene eukaryotic expression vector modulated by hTERT gene core promoter and its effect on apoptosis of ovarian cancer cells [J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2006, 22(2):243-246.
- [13] Huang X, Lin T, Gu J, et al. Combined TRAIL and Bax gene therapy prolonged survival in mice with ovarian cancer xenograft [J]. *Gene Ther*, 2002, 9(20):1379-1386.
- [14] Koga S, Hirohata S, Komata T, et al. A novel telomerase-specific gene therapy: gene transfer of caspase-8 utilizing the human telomerase catalytic subunit gene promoter [J]. *Human Gene Ther*, 2000, 11(10):1397-1406.
- [15] YANG LF, ZHAO Y, ZEN L, et al. hTERT/re-Caspase-3 system induce apoptosis in hTERT-positive cancer cells [J]. *Cancer Biol & Ther*, 2006, 5(11):1546-1553.
- [16] Koga S, Hirihata S, Kondo Y, et al. FADD gene therapy using the human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene promoter to restrict induction of apoptosis to tumors in vitro and in vivo [J]. *Anti-cancer Res*, 2001, 21(3B):1937-1943.
- [17] Wirth T, Zender I, Schulte B, et al. A telomerase-dependent conditionally replicating adenovirus for selective treatment of cancer [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(12):3181-3188.
- [18] Abdul Ghani R, Ohana P, Matouk I, et al. Use of transcriptional regulatory sequences of telomerase (hTER and hTERT) for selective killing of cancer cells [J]. *Mol Ther*, 2000, 2(6):539-544.