

· 综述 ·

端粒、端粒酶与再生

童庭辉 综述, 郭力 审校

【摘要】 端粒位于真核细胞染色体末端, 起保护染色体末端的作用。端粒酶位于端粒末端, 作用是合成端粒 DNA 序列, 以抵消或延缓端粒随细胞分裂的不断缩短。端粒酶活性的表达在一定程度上意味着细胞分裂、组织增生, 甚至可以看作是损伤修复、再生的迹象。

【关键词】 端粒; 端粒酶; 增生; 修复; 再生医学

【中图分类号】 Q25; R641 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1001-0726(2004)01-0067-05

Telomere, telomerase and regeneration TONG Ting-hui, Dept. of Burns and Plastic Surgery, Huzhou Medical College, Huzhou, Sichuan Province 646000, China

【Abstract】 Telomere is at the end of the chromosome in eukaryotic cells and protects chromosomes. Telomerase is at end of the telomere, it helps to keep the sequence of DNA, to offset or postpone the continuously shortening of the telomere while the cell division takes place. To some extent, the expression of the activity of telomerase means cell division, tissue hyperplasia, or even is a sign of injury repair and regeneration.

【Key words】 Telomere; telomerase; hyperplasia; repair; regeneration medicine

一、端粒和端粒酶

端粒是真核细胞染色体末端的一种特殊结构, 由端粒 DNA 和端粒蛋白质组成, 其功能是完成染色体末端的复制, 防止染色体融合, 重组和降解^[2,3], 起着保护染色体末端的作用。其中 DNA 部分主要由富含鸟嘌呤 (G) 的简单重复序列构成, 人类端粒主要由“5-TTAGGG-3”片段重复串联组成, 大约重复 2000 次左右, 长度范围为 2—15kb。在正常情况下, 由于染色体的“末端复制问题”, 细胞每分裂 1 次, 端粒 DNA 将丢失 50—150 个碱基对。当端粒缩短到一定的极限时, 细胞分裂将停止, 细胞走向衰老、死亡。端粒因而被视为“有丝分裂钟”(mitotic clock), 控制着细胞的增殖能力。新近研究表明, 哺乳动物的端粒最后都形成环状结构而终结^[4]。端粒结合蛋白与端粒 DNA 结合, 调节端粒的长度, 并可使端粒免受酶

及其他理化因素的影响而降解。

端粒酶 (telomerase) 位于端粒末端, 是一种特殊的核糖核蛋白逆转录酶, 激活状态下能发挥逆转录酶活性。它由 RNA 和蛋白质两种成分构成^[5]。其 RNA 的二级结构具有显著的保守性, 其中有一段区域与端粒重复序列互补, 被视为合成端粒重复序列的模板^[6]。人类端粒酶序列长度为 445 个碱基, 其中的模板序列长度为 9 个核苷酸 (5'-CUAACCCUA-3'), 与人类端粒的重复序列 (TTAGGG) 互补^[7]。端粒酶的主要作用是合成端粒中重复 DNA 序列加到端粒末端而维持端粒的长度^[8], 以抵消或延缓端粒随细胞分裂的不断缩短。大多数正常体细胞不表达端粒酶活性。

近来研究认为, 人类端粒酶由 3 个亚单位组成: 端粒酶 RNA 成分 (hTR) 催化亚单位 (hTERT/HEST₂) 和端粒酶相关蛋白 1 (TP1)。其中 hTR 是合成端粒 DNA 的模板, hTERT/HEST₂

是端粒酶活性的限速决定子, 而 TPI 的功能尚未完全明确。有学者认为 TP1 可能不仅是结构蛋白, 还是一种调节端粒酶与其它分子相互作用的调节亚单位。进一步研究又发现 hTR 在正常细胞及肿瘤细胞中都有表达, 而 hTERT 则更具有特异性, 是人端粒酶活性的主要决定因素。

二、端粒酶研究进程中的历史性认识

20 世纪 30~40 年代, Muller^[9]首先发现染色体末端或端粒是维持染色体完整性所必需的。随后, Blackburn 等^[10]报道: 四膜虫端粒是 5'—GGGGTT—3' 的连续重复序列, 每条染色体的端粒重复单位、重复次数不同, 其他生物也存在类似的端粒重复序列^[2]。端粒重复序列位于 DNA 的 3' 末端, 长约 5—8bp, 富含 G。人类端粒的重复单位是 5'—TTAGGG—3', 重复长达 15kb^[11]。

到了 70 年代初, Olovnikov 提出染色体末端丢失可导致细胞退出分裂周期, 并得到许多实验证实。90 年代, Harley 提出了“端粒—端粒酶”假说^[13], 认为: 随着二倍体细胞有丝分裂的不断进行, 因端粒酶活性的缺如, 端粒的长度不断缩短。当端粒长度缩短到一定程度, 即所谓末端限制片段 (TRF) 的长度为 5—7Kb 时, 细胞进入危机期 M1 (crisis M1), 触发某种信号, 使细胞周期在检查点 (check point) 处受阻, 细胞退出周期并出现衰老。如果此时细胞被病毒转染, 或某些抑癌基因 (如: P₅₃、Rb 等) 发生突变, 则细胞有可能越过 M1 期继续分裂。此时端粒酶仍没有活性; 端粒长度继续缩短, 当其缩短到极限, 即末端限制片段长度为 2—4KbP 时, 细胞进入危机期 M2, 此时, 由于端粒的保护作用丧失, 染色体的不稳定性增加, 染色体间出现端·端融合现象, 细胞因而死亡。但仍有极少数细胞在此阶段其端粒酶为某些因素所激活, 使端粒维持在一定的长度不再缩短, 稳定了染色体, 细胞因而逃过死亡成为具无限增殖力的细胞。

支持这一假说的事实和现象有: Harley 等发现人成纤维细胞的端粒长度随着年龄增长而不断缩短^[14]; Richard 认为: 精子中的端粒长度不因年龄而变化可能是因为精细胞中存在有端粒酶的活性^[16]; 近来有研究证实, 多数肿瘤组织中端粒酶

活性很高, 但仍有少数恶性肿瘤组织中检测不到端粒酶活性^[1], 有可能是因这些细胞逃逸了 M1, 具有一定的增殖能力, 但端粒酶尚未被激活, 所以并不是无限增殖^[19], 事实是这些癌细胞的恶性度往往相对较低。当然不能排除它们以其他方式完成端粒复制的可能性, 如利用反转录系统或救援途径等^[20], 等等。

三、对端粒、端粒酶生物学意义的探讨

1. 关于端粒:

有人认为端粒长度是细胞分裂能力的决定因素。自 1990 年 harley 等^[14]提出端粒的长短可反映细胞有丝分裂的次数后, 类似的研究逐步深入。已有实验证明, 转染端粒酶催化亚单位至人类正常体细胞, 则其端粒长度的维持作用使细胞保持表型的年轻状态^[21]。

新近的研究结果显示, 端粒长度本身不能作为决定和预测细胞分裂次数的指标, 而端粒在细胞中的状态才是至关重要的。Blackburn^[22]提出的关于端粒功能的模型认为: 应以端粒的戴帽状态作为确定端粒是否具有功能的指标。端粒长度和端粒酶活性等因素对端粒功能的影响要通过其对端粒戴帽状态的影响来评价。对该模型认为: 无论端粒长短如何, 只要处于戴帽状态细胞就可以继续分裂, 反之细胞则退出周期而发生衰老和死亡。因此端粒状态可作为细胞分裂的指标, 而端粒本身并不重要。

2. 对于端粒酶:

有人提出, 端粒酶活性的丧失是细胞凋亡的机制之一; 而更多的人则认为, 端粒酶活性的升高是肿瘤的发病原因之一, 例如: Morin G B, Kontogeorgos G, Kovacs K 都认为端粒酶的激活与恶性肿瘤的形成有密切关系^[23 24]。虽然有关端粒酶与肿瘤关系问题的讨论和实验已有很多, 但始终没有统一的和十分确定的理论。如果认为端粒酶和肿瘤存在必然性联系的话, 实践中的许多现象则无法得到较合理的解释。

有关事实不胜枚举: 国内有实验证明, 外源性 hTERT 基因转染使胎儿成纤维细胞增殖旺盛, 寿命延长, 但不具有恶性表型^[25]。Jiwei 等^[26]将人端粒酶逆转录酶 (hTERT) 转入血管内皮细胞后发现:

不同血管内的 hTERT + 内皮细胞均产生了端粒酶活性,恢复了正常细胞的许多生理特征,但这些细胞并没有改变基因构型而成为肿瘤细胞。Bodnar 等^[21]将正常二倍体细胞人为诱导 hTERT 的短暂表达,发现端粒酶表达阳性的克隆株,端粒明显延长,细胞的增殖力也明显增加,但其核型及表型并无异常,提示端粒酶的表达本质上并不是致癌因素。因此, Yan 等^[27]认为端粒酶活性不能作为肿瘤的诊断标志,亦不能作为预测预后的指标。

近些年来,人们对端粒酶的研究又有了新的进展。1996 年 Harle—Bachor 等^[28]首先在人的正常皮肤中发现:表皮基底层细胞存在端粒酶活性表达,而在真皮层的细胞则检测不到端粒酶活性,这表明端粒酶对表皮层的再生可能具有重要作用。同年, Yasumoto 等^[29]在培养的正常表皮角质形成细胞、子宫颈外口的鳞状上皮细胞中也检测到了端粒酶的弱表达。这进一步证实了在人的上皮细胞的生理性再生中有端粒酶的活性表达。1997 年 Ramirez 等^[30]在人的毛囊中检测到了端粒酶活性表达。并且还发现:在生长期毛囊中,有丝分裂活跃的毛球部位端粒酶的表达水平较高,有丝分裂不活跃的毛囊中上段表达则较低;而整个退行期毛囊的端粒酶表达都较低。表明了端粒酶的活性表达确实与细胞增生有着密切的关系。

四、分析

综上所述,我们似乎可以认为:端粒是染色体 DNA 末端的保护单位,随着 DNA 的不断复制,即细胞的不断分裂,而逐渐缩短。当端粒缩短到一定程度,便启动了某种机制使端粒酶激活,以延长端粒,从而保护 DNA,达到保护生命的目的。生命有很强的自我调节能力,因此作为机体的功能需要,端粒长度和端粒酶活性之间可能存在着负反馈关系。端粒酶活性的升高可能最多仅仅提示端粒得到延长的可能性。因此,可以得出结论:端粒酶仅是细胞增殖的一种生物标志,而不应该是细胞恶性的转化标志。

端粒酶活性升高存在以下几种可能因素:

1. 说明端粒缩短到了可以启动某种机制激活端粒酶的程度。这是最大的可能性,因为它是生命

的正常生理状态。在这种情况下,提示了细胞分裂增殖的存在。而细胞分裂增殖可能是生理性正常需要,如大多数的胚胎组织、正常成年男性生殖细胞、炎性细胞、更新组织的增生细胞(上皮的基底层细胞、肠隐窝等)等^[11],也可能是机体损伤后的生理性或病理性修复,因为需要有大量的细胞去充填缺损、增强功能、抵抗侵袭、损害等。

新近的再生医学^[31]研究告诉我们:当组织缺损修复需要增加细胞或其它因素使生命体“认为”有增加细胞的需要时,体内的潜能再生细胞就会被激活,即而产生大量的细胞,并向着需要的方向去分化。这和人们对端粒酶的认识恰好吻合:即正常组织、细胞不表达端粒酶活性,但当机体受到损伤后进行自我修复时,潜能再生细胞激活,转向干细胞途径,分化、增殖,形成正常缺损组织。这个过程中只要存在细胞的有丝分裂进行,就有端粒末端碱基的丢失,而当损伤较大的时候,填补损伤所需要细胞的量就很大,细胞的有丝分裂次数就很多,端粒末端碱基的丢失就相应增多,当碱基丢失到一定程度,就会通过某种途径激活端粒酶,以修复、保护端粒。因此,我们可以认为,在一定程度上讲,组织修复就可能致端粒酶活性表达。

2. 某些其它因素刺激使端粒酶激活。这可能会打破端粒—端粒酶的平衡(负反馈调节机制?)。如果是这样,就将有可能使细胞分裂失控,呈永生性倾向。

3. 单纯端粒酶活性升高,而端粒酶功能并不完整,即为了满足正常端粒损失修复对端粒酶的需要量,而反馈性增加了端粒酶的量,有类似适应性和代偿性意义。这种可能性不能排除,但需要进一步证实。

五、结语

端粒酶的研究似乎给生命科学的发展带来了另一丝曙光,很多领域的研究工作都已经与端粒、端粒酶建立了一定的联系,在现阶段尤其表现在肿瘤和衰老方面的研究。虽然在大量的工作之后我们得到了许多有启示性的结论,但就端粒酶对于生命的意义方面我们仍是知之甚少。

目前研究结果显示,端粒酶在多数肿瘤组织中

的高表达已经是不容否认的事实,但在肿瘤以外的组织可以检测到端粒酶有一定程度的表达恰恰提示我们,端粒酶活性升高并不一定导致永生化(即肿瘤的发生并不是端粒酶活性升高的必然产物),而有可能仅仅是增生的体现。因此,我们有理由认为在机体损伤后的修复期,即有组织修复需要的增生时期,就应该有端粒酶的表达,当然这有必要在实践中进一步证实;同样有理由认为,在受到损伤后,如果一定时期内损伤局部甚至相关部位出现了端粒酶的高表达,在排除了肿瘤的可能性后,可以乐观地估计机体有自身修复的迹象。

当然,我们还需要更多的实践验证,更加深入地研究和思考,才有可能进一步地认识端粒和端粒酶的本质,了解其与生命科学的关系,揭示生命规律。

参考文献

- [1] Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. *Science*, 1994, 266 : 2011 - 2015.
- [2] Blackburn EH. Structure and function of telomeres [J]. *Nature*, 1991, 350 (6319): 569 - 573.
- [3] Shore D. Telomerase and telomere - binding proteins : controlling the endgame [J]. *Trends Biochem Sci*, 1997, 22 (7): 233 - 235.
- [4] Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, de lange T. Mammalian telomeres end in a large duplex loop [J]. *Cell*, 1999, 97 (4): 503 - 514.
- [5] Greider CW, Blackburn, EH. The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity [J]. *Cell*, 1987, 51 (6): 887 - 898.
- [6] Romero DP, Blackburn EH. A conserved secondary structure for telomerase RNA [J]. *Cell*, 1991, 67 (2): 343 - 353.
- [7] Feng J, Funk WD, Wang SS, Weinrich SL, Avilion AA, Chiu CP, Adams RR, Chang E, Allsopp RC, Yu J, et al. The RNA component of human telomerase [J]. *Science*, 1995, 269 (5228): 1236 - 1241.
- [8] Rhyu MS. Telomeres, telomerase, and immortality [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1995, 87 (12): 884 - 894.
- [9] Muller, H. J. The remaking of chromosomes [J]. *Collect. Net - Woods Hole*, 1938, 13 : 181 - 198.
- [10] Blackburn EH, Gall JG. A randomly repeated sequence at the termini of extrachromosomal ribosomal RNA genes in tetrahymena [J]. *J Mol Biol*, 1978, 120 : 33 - 53.
- [11] Allshire R C, Gosden J R, Cross S H et al. Telomeric repeat from *T. thermophila* cross hybridizes with human telomeres [J]. *Nature*, 1998, 332 : 656.
- [12] Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymatic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon [J]. *J Theor Biol*, 1973, 41 : 181 - 190.
- [13] Harley CB et al. Telomere loss : Mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat [J]. Res*, 1991, 256 : 271 - 282.
- [14] Harley, C. B., Futcher, A. B., and Greider, C. W. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts [J]. *Nature*, 1990, 345 : 458 - 460.
- [15] De Lange, T., Shiu L., Myers R. M., Cox D. R., Naylor S. L., Killery A. M. and Varmus H. E. Structure and variability of human chromosome ends [J]. *Mol. Cell. Biol*, 1990, 10 : 518 - 527.
- [16] Allsopp R. C., Vaziri H., Patterson C., Goldstein S., Younglai E. V., Futcher A. B., Greider C. W., Harley C. B. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89 : 10114 - 10118.
- [17] Hiraga S, Ohnishi T, Izumoto S, et al. Telomerase activity and alterations in telomere length in human brain tumors [J]. *Cancer Res*, 1998, 58 : 2117 - 2125.
- [18] Cheng RYS et al. , Telomerase activation in nasopharyngeal carcinomas [J]. *Br. J. Cancer*, 1998, 77 : 456 - 460.
- [19] Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, et al. Telomerase activity in small - cell and non - small - cell lung cancers [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1995, 87 : 895 - 902.
- [20] Levis R W, Ganesan R, Houtcbens K Tolar, L. A., and Sheen, F. M. Transposons in place of telomeric repeats at a *Drosophila* telomere [J]. *Cell*, 1993, 75 : 1083 - 1093.
- [21] Bodnar AG, Ouellette M. Frolkis M. Extension of life - span by introduction of telomertase into normal cells [J]. *Science*, 1998, 279 : 349 - 352.

- [22] Blackburn EH et al. Telomere states and cell fates [J]. Nature, 2000, 408 : 53 - 56.
- [23] Morin GB. The human telomere terminal transferase enzyme is ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats [J]. Cell, 1989, 59 (3): 521 - 529.
- [24] Kontogeorgos G, Kovacs K. Telomeres and telomerase in Endocrine pathology [J]. Endocrine. 1998, 9 (2): 133 - 138.
- [25] 梁光萍, 罗向东, 杨宗城. 端粒酶催化亚单位基因转染对人胚胎成纤维细胞表型及寿命的影响 [J]. 中国临床康复, 2002, 6 (24): 3672 - 3673.
- [26] Yang J, Chang E, Cherry AM et al. Human endothelial cell life extension by telomerase expression [J]. J Biol Chem, 1999, 274 (37): 26141 - 26148.
- [27] Yan P, Coindre JM, Benhaltar J, et al. Telomerase activity and human telomerase reverse transcriptase mRNA expression in soft tissue tumors: correlation with grade, histology, and proliferative activity [J]. Cancer Res, 1999, 59 : 3166 - 3170.
- [28] Harle - Bachor C, Boukamp P. Telomerase activity in the regenerative basal layer of the epidermis in human skin and in immortal and carcinoma - derived skin keratinocytes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93 (13): 6476 - 6481.
- [29] Yasumoto S, Kunimura C, Kikuchi K, et al. Telomerase activity in normal human epithelial cells [J]. Oncogene, 1996, 13 (2): 433 - 439.
- [30] Ramirez RD, Wright WE, Shay JW, et al. Telomerase activity concentrates in the mitotically active segments of human hair follicles [J]. J Invest Dermatol, 1997, 108 (1): 113 - 117.
- [31] 徐荣祥. 再生医学理论与实践 [J]. 中国烧伤创疡杂志, 2002, 14 (4): 201 - 215.

【作者简介】

童庭辉 (1975—), 男 (汉族), 江苏徐州人, 1998 年毕业于南京铁道医学院, 在读硕士生。

郭力 (1957—), 男 (汉族), 四川宜宾人, 1990 年第三军医大学毕业, 硕士, 科主任, 主任医师。

(收稿日期: 2003 - 09 - 17; 修回日期: 2003 - 11 - 20)

欢迎订阅 2004 年版《中国烧伤创疡杂志》

《中国烧伤创疡杂志》由国家卫生部主管, 是全国唯一的一份烧伤创疡医学高级学术季刊, 它被国家认定为中国科技论文统计源期刊, 中国学术期刊综合评价数据库源期刊, 中国科学引文数据库源期刊和中国生物医学文献数据库期刊, 1998 年进入国际互联网, 以原文照录方式编入 ChinaInfo 系统, 在网上提供检索咨询服务。

本刊内容: 研究探讨人体生命科学规律; 报道再生医学理论及其研究成果; 交流烧伤湿性医疗技术的临床经验; 介绍国内外烧伤创疡的发展动态; 开展学术交流与争鸣, 可供从事烧伤、创疡、整形及相关学科的各级临床、教学和科研人员以及医学院校学生阅读参考。

本刊为大 16 开本 64 页, 每期订价 8 元, 全年四期定价 32 元, 国内外公开发售。国内发行代号: 82 - 600, 全国邮局订阅: 国外发行代号: 1390Q, 中国国际图书贸易总公司订阅 (北京 399 信箱)。

本社地址: 北京市宣武区广义街 7 号乐凯大厦 11 层 1104 室 邮编: 100053 电话: (010) 63042423。

《中国烧伤创疡杂志》社