

hTERT 基因在肿瘤领域研究进展

胡倩岚 张 爽 李红娜 毛 昕 宋旭东^{通讯作者}

华北理工大学附属医院病理科 河北唐山 063000

【摘要】端粒酶是一种维持端粒长度的核蛋白复合物，是位于染色体末端的重复核苷酸序列，主要功能为维持染色体稳定。人类端粒酶由人端粒酶 RNA 组分 (hTERT) 是端粒酶组成成分之一，其基因位点位于 3 号染色体(3q26.3)，其在正常细胞中一般不表达，而在肿瘤细胞中表达活跃，从而导致端粒酶活性增高，促进细胞永生即癌变。多年来在对 hTERT 研究中发现它与多种肿瘤发生发展密切相关，并随癌症进展其基因活性及表达明显增高。研究提示该基因可作为癌症早期预测及靶向治疗指标为临床诊疗带来新方案，本文将详细阐述 hTERT 在几种常见恶性肿瘤中研究进展。

【关键词】人类端粒酶 RNA 组分；宫颈癌；端粒酶；基因检测；子宫内腺癌

端粒位于染色体末端，其主要功能为稳定染色体长度，在大多数真核生物中，端粒由一系列简单的重复的 DNA 序列组成^[1]。端粒酶可以通过复制其完整 RNA 中的模板区域从头将端粒重复添加到染色体末端，属于逆转录酶^[1]。人端粒酶 RNA 组分 (human telomerase RNA component, hTERT) 是其主要组成部分^[2]。端粒 DNA 序列高度保守，在一特性在避免染色体稳定性遭到干扰与破坏中具有重要意义。

3 号染色体(3q26.3)是 hTERT 的基因位点，该基因属于单拷贝基因，碱基数量在 450 个左右^[3]。过往研究中人们多关注于 hTERT 在端粒酶中作用，证实了 hTERT 与端粒酶激活的相关程度^[4]。但随着医学技术的发展，关于端粒与的恶性肿瘤方面新的研究不断涌现，尤其是 hTERT 在活化端粒酶中作用引起了国内外学者广泛关注，于是 hTERT 有关研究逐渐成为热点。正常情况下，hTERT 仅在细胞增殖活跃的时表达，如生殖细胞、干细胞等。但随着有关 hTERT 基因研究不断深入，大量实验结果表明端粒酶活性同样会被 hTERT 基因表达程度所影响，端粒酶活性程度随 hTERT 基因的突变、激活和扩增而相应增加^[5]。在因此当 hTERT 基因发生扩增或突变，端粒酶活性将明显上调，导致端粒维持正常长度功能能力下降或消失，使细胞端粒长度突破临界值，促使细胞永生发生癌变。

先前许多研究发现，在各种恶性肿瘤中端粒酶活性远远高于正常细胞，hTERT 基因作为端粒酶重要组成部分，在细胞永生及癌症进展中发挥重要作用，本篇综述将详细叙述 hTERT 基因在各类型肿瘤作用及研究进展。

1. hTERT 在肿瘤诊治中的应用

1.1 子宫内腺癌

子宫内腺癌 (endometrial carcinoma, EC) 在欧美等发达国家中女性生殖系统恶性肿瘤发病率位于第一，在中国排名也位于前列，位居第二^[6]。近年来，关于端粒酶研究已经逐渐深入，在端粒酶与子宫内腺癌研究上有了明显进展，如端粒酶核心结构之一 hTERT 与子宫内腺癌研究也发表了一些具有价值的理论，而另一重要组成部分 hTERT 基因在子宫内腺癌中相关研究也有了一些新发现。国外研究表明，在正常子宫内腺组织中，端粒酶正常表达，而在子宫内腺癌前病变及子宫内腺癌中端粒酶活性逐渐增加，尤其是在子宫内腺癌中活性最高^[7]。在关于子宫内腺癌与 hTERT 研究中，国外 Samojedny 等^[8]人通过 RT-PCR 定量分析 hTERT 在正常子宫内腺、子宫内腺癌前病变及子宫内腺腺癌患者中表达情况，子宫内腺癌标本中，阳性率达 85.7%，而正常子宫内腺中 hTERT 表达阳性例数罕见，阳性率仅仅 37.5%，意味着该基因可在子宫内腺癌临床实际诊疗中作为一种新的筛查标记物。付丽华等^[10]及段清等^[11]人研究也显示在正常子宫内腺、子宫内腺癌前病变及子宫内腺癌中 hTERT mRNA 表达与组织病变程度趋于一致，并与子宫内腺癌组 TNM 分期具有显著关联。提示 hTERT 在子宫内腺癌发生发展中具有重要作用，有极大潜力作为子宫内腺癌早期诊断与预后指标为临床提供一定指导意义。

1.2 食管癌

食管癌 (esophageal carcinoma) 其高发的发病率与严峻的死亡率同样对人类健康构成严重威胁。鳞状细胞癌和腺癌是食管癌最常见的病理学类型，鳞状细胞癌在我国更多见，而欧美等国家以腺癌为主。食管鳞状上皮内病变 (esophageal squamous cell precursor lesions, ESPLs) 作为食管鳞状细胞癌进展的重要阶段，在精准病理分级、分子机制方面研究已成为当前研究中最具争议的话题。

在 Wang YF 等^[13]实验研究中，对 89 例正常食管粘膜、43 例 ESPLs 及 92 例食管鳞癌标本进行标记，发现其 hTERT 基因扩增率分别为 0%、27.91% 和 89.13%，三组差异具有统计学意义，说明 hTERT 基因可能参与食管上皮细胞的恶性转化，这一发现可能表明该基因的扩增是食管癌发展的起始事件。此外在对食管鳞癌组患者进行术后随访分析，发现 hTERT 基因阳性组 3 年生存率为 47.29%，hTERT 基因阴性组 3 年生存率为 80%，这一观察表明，hTERT 基因扩增可能是食管癌预后的独立危险因素，hTERT 基因能够被作为新靶点用于食管癌治疗。最近，在 Yanping Hu 等^[14]用 FISH 技术对 51 例 ESPLs、21 例 ESCC 标本及 21 例正常食管上皮组织中 hTERT 基因进行检测，结果显示在食管鳞状上皮内病变中的总体扩增为 43.1%，且 hTERT 扩增随着异型增生等级的进展而逐渐增加，在食管高级别鳞状上皮内病变中达到最高水平。而在正常食管黏膜病例中未发现 hTERT 扩增，但在所有食管鳞癌病例中均检测到，故推测 hTERT 基因的扩增可作为食管癌前病变与正常食管组织鉴别诊断分子指标，并与肿瘤发生及进展相关。

1.3 胃癌

胃癌 (Gastric cancer, GC) 对人类生命健康的威胁同样不容小觑，研究显示 2020 年中国胃癌发病率居恶性肿瘤前五，在性别、年龄及地域上均有明显差异^[15]。近来研究发现恶性肿瘤细胞中可检测出其表达活性，暗示了端粒酶的激活参与了胃癌细胞的增殖浸润。国内罗启超等^[16]人在选择胃癌及其癌旁标本用于端粒酶活性研究中，通过对试验结果统计分析，显示 70% 的胃癌病例中端粒酶高表达，而癌旁正常组织中端粒酶活性远低于胃癌组织，阳性率不到 10%，表明端粒酶活性上调参与胃癌发展过程，端粒酶可作为胃癌诊断的分子指标，抑制端粒酶活性可能为临床治疗提供新方案。国外学者 Jerzy Nowak 等^[17]在研究中也观察到所有癌组织中 hTERT 和 hTERT 均表现活跃，扩增显著。然而，与 hTERT 强表达相比，hTERT 的扩增信号强弱不等。虽然两者在大多数正常细胞中均可被观察到，但是信号强度远不及胃癌细胞。实验表明，与正常细胞相比，癌细胞的端粒酶活性提升至 100 倍以上，hTERT 表达强度高出 hTERT 25 倍不止，说明 hTERT 可作为癌症定量检测指标。

同时，近年来研究发现幽门螺旋杆菌感染与胃癌中端粒酶活性表达呈正比。提出 HP 感染可激活端粒酶活性一个始动因子。在国外 Kameshima H 等^[18]及国内祝荫学者等^[19]试验中显示 hTERT 表达在胃癌组织中显著高于正常胃组织，且有 HP 感染的胃癌病例 hTERT 含量明显高于未感染 HP 的胃癌病例，并具有显著相关性，提示 HP 可影响胃癌组织中 hTERT 表达进而影响端粒酶活性。以上研究说明 HP 感染可促使 hTERT 异常表达激活端粒酶活性，促进细胞永生导致癌变，提示 hTERT 基因可作为 HP 感染所致胃癌早期诊断指标，并可作为临床治疗潜在目标。

1.4 口腔鳞状细胞癌

口腔鳞状细胞癌 (Oral squamous cell carcinoma, OSCC)，是头颈部恶性肿瘤中恶性程度最高的肿瘤，大部分确诊为头颈部恶性肿瘤的均为口腔鳞状细胞癌。在对 OSCC 研究中同样发现 hTERT 活性可在确诊患者组织中上调，并与其癌细胞发生及无限增殖有关。通过实验发现与正常组织相比，hTERT 在 OSCC 中的表达增加 6.9 倍以上^[20]。似乎这种 RNA 的表达随着细胞的恶性转化而增加，因为它的表达随口腔病变严重程度而增加。研究证明 hTERT 是口腔鳞状细胞癌发生早期事件，hTERT 参与口腔鳞状细胞癌整个发生发展过程^[20]。Dorji T 等^[21]在对 30 例口腔鳞状细胞

癌及癌前病变病例进行 FISH 检测,发现 1 例原位癌完全表达 hTERC,口腔高级别鳞状上皮内病变 hTERC 阳性率为 75%,低级别鳞状上皮内病变阳性率为 14%,显示随病变发展严重程度,hTERC 表达增加。在以后病例随访中显示所有具有 hTERC 扩增的高级鳞状上皮内病变或原位癌的病例均进展为 OSCC,而没有 hTERC 扩增的低级别鳞状上皮内病变均未进展为 OSCC,但在 3 例 hTERC 扩增的低级别鳞状上皮内病变中,2 例进展为 OSCC,1 例进展为高级别鳞状上皮内病变,提示 hTERC 扩增会促进病变口腔鳞状细胞进一步发展最终转为癌症,hTERC 扩增的病例向癌症发展风险远大于无扩增病例,证明 hTERC 可作为早期癌症进展预测指标,与组织形态学评估相结合为 OSCC 及癌前病变提供精确诊断。

1.5 宫颈癌

经过多年对宫颈癌研究,众所周知 HPV 病毒感染是导致女性罹患宫颈癌主要原因,当 HPV 持续感染宫颈并侵犯鳞状上皮细胞时,会逐渐发展为宫颈鳞状上皮内病变(CIN),最终转化为宫颈癌(Cervical Cancer,CC)。在 HR-HPV 持续感染下发生癌前病变和宫颈癌细胞中,80%以上的 CIN 转为 CC 病例均伴有 3 号染色体扩增,主要观察到的特异性染色体改变多涉及 3q26.3 (hTERC 基因),该基因扩增引起端粒酶激活,染色体末端端粒延长保护细胞免于凋亡,从而导致肿瘤发生^[21]。20 世纪末,就有学者在实验中利用高危型 HPV 感染正常宫颈上皮细胞,观察宫颈细胞内基因表达情况,发现 HPV 在这些细胞中复制繁殖次数越多,端粒酶扩增表达越强烈,提示 HPV 感染与端粒酶活性有关^[22]。但在 HR-HPV 感染诱导的早期癌症中,端粒酶没有激活,而是随着 HPV 感染持续作用,hTERC 基因扩增表达增强促使端粒酶激活。说明 HPV 感染是导致 hTERC 重新激活的起始因子,HPV 与 hTERC 共同激发宫颈细胞无限增殖能力,从而逐渐转化为宫颈癌^[24]。

近年来许多相关研究均肯定了 hTERC 在宫颈癌中表达意义。Ji W 等^[24]用 FISH 检测宫颈组织学标本中 hTERC 表达,结果显示 hTERC 表达率和高危型 HPV 感染率随组织病变的严重程度逐渐升高,在与 TCT 常规筛查方法比较中显示,TCT 具有最高的灵敏度(87.04%)和最低的漏诊率(12.96%),而 hTERC 基因分析具有最高的特异度(81.76%)和最低的误诊率(18.24%),提示在宫颈癌早期筛查中可联合 hTERC 基因检测来降低细胞学误诊或漏诊,提高检测特异性。Qionghui Pan 等^[25]实验结果表明 HPV 阳性的 hTERC 基因扩增阳性表达率随病变进展而增加,排序依次为 CC>CIN1/2>CIN3。在治疗后 1 年内 hTERC 基因扩增阳性率和 HPV 表达率显著下降,两者具有统计学意义。其结论证实 hTERC、HPV 与宫颈癌前病变及宫颈癌的发生、发展密切相关,说明了 hTERC 在宫颈癌诊疗研究中发展潜力,可作为新型肿瘤分子检测指标及治疗靶标,协助临床早筛和治疗。

2. 小结与展望

端粒酶及相关组分激活是恶性肿瘤发生永生化的重要事件,因此与之相关的分子水平研究一直是当前研究热点,通过了解 hTERC 基因调控的分子基础及在恶性肿瘤中表达情况对于新型生物标志物的鉴定、早期疾病检测和相关癌症的新治疗药物开发有助于为医务工作者带来新的诊疗手段,为广大患者带来新的希望。

参考文献:

[1]LAI CK, MITCHELL JR, COLLINS K. RNA binding domain of telomerase reverse transcriptase[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(4):990-1000.

[2]GHANIM G E, FOUNTAIN A J, VAN ROON A M, et al. Structure of human telomerase holoenzyme with bound telomeric DNA[J]. Nature, 2021, 593(7859):449-453.

[3]BORDEIRA GASPARI T, SÁ A, LOPES J M, et al. Telomere maintenance mechanisms in cancer[J]. Genes, 2018, 9(5):241.

[4]CAIRNEY C J, KEITH W N. Telomerase redefined: integrated regulation of hTR and hTERT for telomere maintenance and telomerase activity[J]. Biochimie, 2008, 90(1):13-23.

[5]LIU Y, FAN P, YANG Y, et al. Human papillomavirus and human telomerase RNA component gene in cervical cancer progression[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1):1-6.

[6]SIEGEL REBECCA L, MILLER KIMBERLY D, FUCHS HANNAH E, et al. Cancer Statistics; 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1):7-33.

[7]ALNAFAKH RAA, ADISHESH M, BUTTON L, et al. Telomerase and Telomeres in Endometrial Cancer[J]. Front Oncol, 2019, 9:344.

[8]YOKOYAMA Y, WAN X, SHINOHMA A, et al. Hammerhead ribozymes to modulate telomerase activity of endometrial carcinoma cell[J]. Hum Cell, 2001,14(3):223-231.

[9]PAUL-SAMOJEDNY M, WITEK A, SAMOJEDNY A, et al. Human telomerase RNA as endogenous control in endometrial tissue[J]. Int J Gynecol Cancer, 2005, 15(2):343-348.

[10]符丽华, 梁峰, 米贤军, 等. 子宫内腺癌组织中 hTERC 基因表达及临床意义[J]. 吉林医学, 2018, 39(11):2003-2005.

[11]段清, 尹利荣, 田晶. hTERC、ASPP2 mRNA 在子宫内腺癌变化过程中的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2015, 55(34):38-40.

[12]OHASHI S, MIYAMOTO S, KIKUCHI O, et al. Recent advances from basic and clinical studies of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Gastroenterology, 2015, 149:1700-1715.

[13]WANG YF, WANG XS, GAO SG, et al. Clinical significance of combined detection of human papilloma virus infection and human telomerase RNA component gene amplification in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus in northern China[J]. Eur J Med Res, 2013, 18(1):11-18.

[14]HU Y, TENG X, WU L, et al. The Clinicopathological Correlations of hTERC Amplification with Esophageal Squamous Cell Precursor Lesions[J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(1):68-75.

[15]Zhang SW, Yang ZX, Zheng RS, et al. Incidence and mortality of stomach cancer in China, 2013[J]. Zhonghua zhong Liu Za Zhi, 2017, 39(7):547-552.

[16]罗启超, 左素清, 张薇珊. 基于胃癌组织端粒酶活性检测的临床病理分析[J]. 中国实验诊断学, 2015, (7):1082-1084.

[17]NOWAK J, JANUSZKIEWICZ D, LEWANDOWSKI K, et al. Activity and expression of human telomerase in normal and malignant cells in gastric and colon cancer patients[J]. Gastroenterol Hepatol, 2003;15(1):75-80.

[18]KAMESHIMA H, YAGIHASHI A, YAJIMA T, et al. Helicobacter pylori infection: augmentation of telomerase activity in cancer and noncancerous tissues[J]. World J Surg, 2000, 24(10):1243-1249.

[19]祝萌, 吕农华, 陈江, 等. H pylori 感染在胃癌前病变中对端粒酶相关基因及细胞增殖与凋亡的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(14):1448-1453.

[20]IRIMIE AI, ZIMTA AA, CIOCAN C, et al. The Unforeseen Non-Coding RNAs in Head and Neck Cancer[J]. Genes (Basel), 2018, 9(3):134-153.

[21]DORJI T, MONTI V, FELLEGARA G, et al. Gain of hTERC: a genetic marker of malignancy in oral potentially malignant lesions[J]. Hum Pathol, 2015, 46(9):1275-1

[22]KUGLIK P, KASIKOVA K, SMETANA J, et al. Molecular cytogenetic analyses of hTERC (3q26) and MYC (8q24) genes amplifications in correlation with oncogenic human papillomavirus infection in Czech patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma[J]. Neoplasia, 2015, 62(1):130-139.

[23]OHTA Y T K, KIKUCHI K, YASUMOTO S. Two distinct human uterine cervical epithelial cell lines established after transfection with human papillomavirus 16 DNA[J]. Jpn J Cancer Res, 1997, 88(7):644-651.

[24]JI W, LOU W, HONG Z, et al. Genomic amplification of HPV, hTERC and c-MYC in liquid-based cytological specimens for screening of cervical intraepithelial neoplasia and cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 17(2):2099-2106.

[25]HE H, PAN Q, PAN J, et al. Study on the correlation between hTREC and HPV load and cervical CIN I/II/III lesions and cervical cancer[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(7):23257.

第一作者: 胡倩岚, 女, 1997-07, 湖南邵阳, 临床病理学研究生, 主要从事女性生殖系统肿瘤的病理诊断。

通讯作者: 宋旭东, 男, 硕士, 主任医师、教授, 硕士研究生导师, 主要从事临床病理诊断工作。