

文章编号:1005-6947(2005)10-0780-03

· 综述 ·

端粒酶在肿瘤诊断与辅助治疗中的潜在应用价值

陈波 综述 邹声泉 审校

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 普通外科, 湖北 武汉 430030)

摘要: 复习相关文献,就端粒酶在肿瘤诊断与辅助治疗方面的应用价值进行分析并加以综述。端粒酶检测有助于肿瘤性质的鉴别及部分肿瘤的早期发现和预后判断;通过抑制端粒酶活性、构建端粒酶肿瘤疫苗及将端粒酶抑制剂与常规化疗药协同应用等方法可以发挥其辅助抗肿瘤效应。端粒酶在肿瘤的诊断与辅助治疗中可能具有一定的潜在应用价值。

关键词: 肿瘤/诊断; 端粒酶; 综述文献

中图分类号: R730.4; R44

文献标识码: A

端粒酶是由 RNA 组分 (human telomerase RNA, hTR)、端粒酶催化亚单位 (human telomerase reverse transcriptase, hTERT) 和端粒酶调节相关蛋白组成的一种核糖核酸蛋白酶复合体 (RNP)。在正常细胞中,端粒酶被一整套严密的调控机制所抑制;当细胞突变时,胞内的端粒酶被激活,以自身的 RNA 为模板,逆转录出端粒 DNA,达到维系端粒长度稳定的作用,使得突变细胞摆脱细胞周期中衰退期 (senescence) 与危机期 (crisis) 的限制而永生 (immortality),获得无限增殖的能力,参与肿瘤的发生、发展过程。探讨端粒酶与肿瘤发生、发展的关系及其在肿瘤诊断与辅助治疗中的潜在应用价值,成为当前肿瘤研究中又一热点问题。本文现就近年来这方面的研究进展做一综述。

1 端粒酶检测及其在肿瘤诊断中的意义

Kim^[1] 在培养的 18 种不同的人类

组织中发现:100 个永生细胞株中有 98 个端粒酶检测呈阳性;12 种不同类型的 101 份活检的肿瘤组织中有 90 份端粒酶检测呈阳性;而端粒酶在 50 种不同类型的正常体细胞中呈阴性。Hiyama 等^[2] 应用端粒重复扩增法 (telomere repeat amplification protocol, TRAP) 检测了近 3 000 份各种不同类型的人类肿瘤组织,发现其中有超过 85% 的肿瘤组织的端粒酶检测呈阳性。有些正常组织,特别是增殖性强的干细胞、活化的淋巴细胞及某些良性肿瘤组织 (如乳腺纤维腺瘤、增生性结节等组织) 也可以检测到端粒酶的激活^[3,4],但这些组织中的端粒酶活性远低于恶性肿瘤组织。由此可见,端粒酶检测,特别是精确定量检测将有助于肿瘤良恶性的判断。在 Kim^[1] 建立 TRAP 法以前,端粒酶检测是比较困难的。TRAP 法在检测端粒酶活性方面虽然灵敏度很高,事实上其只能做到定性或半定量。实时定量 PCR (real-time PCR) 技术的建立使得端粒酶的定量检测得以实现。Hou 等^[5] 应用荧光定量 PCR 的方法检测了 HeLa 细胞株以及 13 例恶性淋巴瘤标本的端粒酶活性,与传统的 TRAP 法比较,发现前者的精确性和可重复性更好,可以精确定量。为了避免肿瘤

组织中活化的淋巴细胞所造成的检测的假阳性,Iwao 等^[6] 建议每次都从瘤体组织中分离 1 000 个瘤细胞进行检测,理由是即便分离的 1 000 个细胞全都是活化的淋巴细胞,其端粒酶活性也不足以造成检测的假阳性。

Christopher 等^[7] 通过检测甲状腺穿刺标本中端粒酶逆转录酶 (hTERT) 的表达以反映端粒酶活性,发现其灵敏度和特异度分别达到 91% 和 79%;将 hTERT 检测同细胞学检查结合起来可以明显提高术前穿刺诊断的准确率。朱国献等^[8] 通过针吸细胞学 (FNAB) 检查结合术后病理证实的方法分析了 32 例甲状腺癌穿刺标本的检测结果表明,单一的 FNAB 对甲状腺癌的正确诊断率为 43.8% (14/32),端粒酶检测的阳性率为 75.0% (24/32);在 18 例甲状腺癌被 FNAB 诊断为“可疑阳性”、“取材不够”、“阴性”及“甲状腺炎”者中,有 14 例端粒酶阳性,阳性率为 77.8% (14/18);若将两者联合应用,诊断率可提高至 87.5%。Uchida^[9] 等从十二指肠乳头插入内镜获取胆囊内胆汁,通过对胆汁中脱落细胞的端粒酶活性的检测并联合病理形态学检查,发现这种联合检测的方法有利于胆囊癌的早期诊断,特别是在早期形态学改变不典型,病理学判

收稿日期:2005-01-14;

修订日期:2005-05-24。

作者简介: 陈波 (1978-),男,湖北枣阳人,华中科技大学同济医学院附属同济医院硕士研究生,主要从事胆道外科方面的研究。

通讯作者: 邹声泉 电话:027-83662398; E-mail:shelder@sina.com。

断比较困难时。刘涛等^[10]比较了24例胰腺癌和14例慢性胰腺炎患者胰液中端粒酶活性的检测结果,发现胰腺癌与慢性胰腺炎胰液中端粒酶阳性检出率分别为83.3%(20/24)及28.6%(4/14)。据此,他们认为胰液中检测端粒酶活性对胰腺癌诊断与鉴别诊断有一定价值。Tangkijvanich等^[11]的研究发现,端粒酶检测和细胞学检测在判断良恶性腹水方面的灵敏度分别为76%和40%,在腹膜癌恶性腹水中的灵敏度分别为81.3%和56.3%,而在肝细胞癌的恶性腹水中的灵敏度分别为66.7%和11.1%,端粒酶检测的特异度为95.7%。故认为端粒酶检测有利于良、恶性腹水的鉴别。Yu等^[12]人对29例食管鳞状上皮癌、47例食管鳞状上皮不典型增生以及正常食管上皮组织的端粒酶活性进行检测发现,正常食管上皮的阳性率为0,不典型增生组织为44.7%,而在食管鳞癌中的阳性率则为86.2%。另外也有研究发现,异常增高的端粒酶活性还与多种肿瘤的预后密切相关^[13]。

2 端粒酶与肿瘤的辅助治疗

2.1 以端粒酶为靶点的肿瘤基因治疗

hTERT与hTR是构成端粒酶的核心部件,hTERT与hTR在试管内的混合物足以表达端粒酶活性^[14]。因此,通过反义核酸或RNA干扰(RNAi)手段抑制这两个核心组分可以抑制端粒酶活性,发挥抗肿瘤效应。

Folini等^[15]应用光化学介导的细胞摄取效应,能够高效率地将针对hTERT编码基因的反义肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)导入到DU145前列腺癌细胞中,发现其具有高效的抗肿瘤活性。宋东坡等^[16]通过构建pGTRz-U6真核表达载体,将针对hTERT mRNA的核酶(ribozyme)导入肝癌细胞株SMMC7721中,发现其能明显降低肝癌细胞株SMMC7721的端粒

酶活性并诱导其凋亡。Yokoyama^[17]等人设计合成了3种类型的锤头状核酶(hammerhead ribozyme),发现其通过结合hTR模板或者hTERT mRNA 5'末端而抑制端粒酶活性,从而发挥抗肿瘤效应。

RNAi又称为转录后基因沉默,是指双链RNA分子阻断或者降低同源基因的表达现象。RNA干扰现象的发现及其在生物中存在的普遍性,以及RNAi作用机制和生物学功能的初步阐明,为RNAi的应用提供了理论基础。TERT编码基因或hTR模板序列同样是RNAi的有效靶位。Kosciolek等^[18]的实验证实,无论是针对TERT编码基因还是hTR的RNA干扰都能明显抑制多种肿瘤细胞的端粒酶活性。张鹏辉等^[19]通过构建针对hTERT编码基因的真核表达质粒pTZU6+1-shRNA-hTERT,将其转染SMMC-7721肝癌细胞株,发现其通过抑制和TERT基因的表达而抑制端粒酶活性,体内外实验证实其具有明显的抑瘤效应。

2.2 端粒酶与肿瘤免疫治疗

hTERT mRNA或hTR可以作为一种广泛表达的肿瘤相关抗原,在肿瘤免疫治疗中具有广阔的应用前景。将hTERT mRNA或hTR负载到专职抗原提呈细胞——树突状细胞(dendritic cell, DC)中,诱导特异性的细胞毒T细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)反应,不失为一种有效的肿瘤免疫治疗手段。Su等人^[20]将hTERT mRNA负载DC,在体外和动物体内的实验中均成功诱导了特异性的CTL反应;他们在随后进行的18例转移性前列腺癌患者的I期临床试验中,也证实了其具有明显的抗肿瘤效应,且未发现明显的副反应。Buanes等在31例不宜手术治疗的晚期胰腺癌患者中进行了I期临床试验,检验了一种针对hTERT不同新表位的疫苗接种策略。他们发现施以最佳剂量,大多数患者对疫苗产生免疫应答;产生免疫应答患者的生命期较之未产

生免疫应答的患者长;接受高剂量疫苗患者的生命期也较之接受低剂量疫苗的患者长。在接受高剂量疫苗的部分患者中出现类似“感冒”样症状,但未发现其他与治疗相关的明显副反应。

2.3 端粒酶抑制剂与肿瘤化疗的协同效应

将能够破坏端粒结构并引起端粒缩短(telomere erosion)的化疗药(如taxinol, cisplatin)与端粒酶抑制剂合用,同时作用于端粒及端粒酶,可能具有协同抗肿瘤效应。此外,端粒酶抑制剂与常规抗癌药物联合使用,将有助于减缓和防止癌细胞在手术后或放疗、化疗后的扩散。Mao等人^[21]将taxinol与针对hTR的反义核酸或者端粒酶抑制剂3'叠氮脱氧胸苷(AZT)联合应用,发现在端粒酶阳性的FaDu细胞株中具有协同效应,可以明显增强taxinol的抗肿瘤效应。荷瘤小鼠的体内实验也证实了二者具有协同效应而并不增加taxinol的毒性。美国德克萨斯大学西南医学中心发现:端粒酶抑制剂可在几周内有效减缓肿瘤的形成;若辅以常规抗癌药物,如carboplatin和cisplatin,可以促进抗癌效应。

3 结语及展望

尽管端粒酶在肿瘤的辅助诊断与治疗中具有一定的潜在应用价值,但距离其实际的临床应用还有很长的路程。端粒酶检测除了要具有较高的特异度和敏感度之外,还应具有临床实际应用所要求的简便性和较高的性价比。就其应用于肿瘤辅助治疗方面而言,目前尚处在实验阶段。尽管已开展了一些小样本的临床试验,但还缺乏大样本、多中心、随机对照的大规模的临床试验,其有效性和生物安全性尚需进一步评估。目前对端粒酶复杂的调节机制的研究还处于起步阶段,对肿瘤通过端粒酶替代途径(ALT)^[22]来维系端粒长度稳定的机制还知之甚

少,因此还需要进行更深入和广泛的研究。

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(5193): 2011-2015.
- [2] Hiyama E, Hiyama K. Telomerase as tumor marker [J]. *Cancer Letters*, 2003, 194(2): 221-233.
- [3] Hiyama E, Gollahan L, Kataoka T, *et al.* Telomerase activity in human breast tumors [J]. *J Natl Cancer*, 1996, 88(2): 116-122.
- [4] Matthews P, Jones CJ, Skinner J, *et al.* Telomerase activity and telomere length in thyroid neoplasia: biological and clinical implications [J]. *J Pathol*, 2001, 194(2): 183-193.
- [5] Hou M, Xu DW, Björkholm M, *et al.* Real-time quantitative telomeric repeat amplification protocol assay for the detection of telomerase activity [J]. *Clin Chem*, 2001, 47(3): 519-524.
- [6] Iwao T, Hiyama E, Yokoyama T, *et al.* Telomerase activity for the preoperative diagnosis of pancreatic cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1997, 89(21): 1621-1623.
- [7] Christopher BU, George TC, Douglas PC, *et al.* Human telomerase reverse transcriptase gene expression and the surgical management of suspicious thyroid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(17): 5762-5768.
- [8] 朱国献,朱小兵,林勇杰等. 细针穿刺标本中端粒酶活性检测对甲状腺癌的诊断[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(5): 349-352.
- [9] Uchida N, Tsutsui K, Ezaki T, *et al.* Combination of assay of human telomerase reverse transcriptase mRNA and cytology using bile obtained by endoscopic transpapillary catheterization into the gallbladder for diagnosis of gallbladder carcinoma [J]. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(11): 2415-2419.
- [10] 刘涛,王春友,万赤丹. 胰液中端粒酶及亚单位检测对胰腺癌的诊断价值[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(7): 527-530.
- [11] Tangkijvanich P, Tresukosol D, Sampatanukul P, *et al.* Telomerase assay for differentiating between malignancy-related and nonmalignant ascites [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(9): 2470-2475.
- [12] Yu HP, Xu SQ, Lu WH, *et al.* Telomerase activity and expression of telomerase genes in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. *J Surg Oncol*, 2004, 86(2): 99-104.
- [13] Hiyama E, Hiyama K. Clinical utility of telomerase in cancer [J]. *Oncogene*, 2002, 21(4): 643-649.
- [14] Masutomi K, Kaneko S, Hayashi N, *et al.* Telomerase activity reconstituted in vitro with purified human telomerase reverse transcriptase and human telomerase RNA component [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(29): 2256-2257.
- [15] Folini M, Berg K, Millo E, *et al.* Photochemical internalization of a peptide nucleic acid targeting the catalytic subunit of human telomerase [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(13): 3490-3494.
- [16] 宋东坡,林菊生,傅桂莲,等. 人端粒酶催化亚单位锤头状核酶诱导肝癌细胞凋亡的作用[J]. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12(10): 616-619.
- [17] Yokoyama Y, Wan X, Shinohara A, *et al.* Hammerhead ribozymes to modulate telomerase activity of endometrial carcinoma cells [J]. *Hum Cell*, 2001, 14(3): 223-231.
- [18] Kosciolk BA, Kalantidis K, Tabler M, *et al.* Inhibition of telomerase activity in human cancer cells by RNA interference [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(3): 209-216.
- [19] 张鹏辉,涂植光,杨明清,等. RNA干扰技术靶向hTERT基因治疗肝癌的实验研究[J]. *癌症*, 2004, 23(6): 619-625.
- [20] Su Z, Vieweg JD, Dahm P. Vaccination of metastatic prostate cancer patients using mature dendritic cells transfected with mRNA encoding hTERT or an MHC class II targeted hTERT/LAMP fusion protein: Results from a phase I clinical trial [J]. *J of Clin Oncol*, 2004, 22(14): 2507.
- [21] Mao YQ, Gan YB, Song SH, *et al.* Simultaneous targeting of telomeres and telomerase as a cancer therapeutic approach [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(3): 579-585.
- [22] Axel AN, Roger RR. Telomere maintenance and cancer-look, no telomerase [J]. *Nature Rev*, 2002, 2(11): 879-883.