

端粒长度调控及端粒与衰老和疾病的关系

白玉杰, 林思妮, 吴东颖*

(山东荆卫生物科技有限公司, 潍坊市抗衰老重点实验室, 潍坊 261000)

摘要: 端粒是线性染色体末端的DNA-蛋白质结构, 可保护染色体末端免于降解和融合。由于大多数体细胞中存在末端复制问题和端粒酶缺乏的固有限制性, 端粒DNA随着细胞每次分裂而缩短。短端粒或功能失调的端粒可诱导持续的DNA损伤反应, 从而触发细胞复制性衰老。端粒长度主要通过端粒酶和端粒替代延长途经2种端粒机制维持。此外, 端粒DNA还会被转录, 生成含有端粒重复序列的RNA (telomeric repeat-containing RNA, TERRA), 积极参与端粒维持和染色体末端保护。端粒长度是一种复杂的遗传特征, 受遗传、疾病和环境因素的影响。流行病学数据显示, 端粒长度与衰老、癌症、端粒生物学疾病及多种衰老相关疾病之间存在不同程度的关联。随着端粒长度检测方法的不断发展, 血细胞端粒长度作为人类衰老生物标志物和衰老相关疾病的危险因素得到了广泛研究, 具有作为生物标志物的潜力。

关键词: 端粒; 端粒长度; TERRA; 衰老; 疾病; 生物标志物

Regulation of telomere length and its relationship with aging and diseases

BAI Yujie, LIN Sini, WU Dongying*

(Shandong Jingwei Biotechnology Co.Ltd., Weifang Key Laboratory of Anti-Aging, Weifang 261000, China)

Abstract: Telomeres are DNA-protein structures at the ends of linear chromosomes, protecting chromosome ends from degradation and fusion. Due to the inherent limitations of the end-replication problem and the lack of telomerase in most somatic cells, telomere DNA shortens as cells divide. Short or dysfunctional telomeres can induce a persistent DNA damage response, which triggers replicative senescence. Telomere length is mainly maintained by two telomere maintenance mechanisms, telomerase or alternative lengthening of telomeres. Telomere DNA can be transcribed to generate telomeric repeat-containing RNAs (TERRA), which are actively involved in telomere maintenance and chromosome end protection. Telomere length, a complex hereditary trait, is influenced by genetic, diseases, and environmental factors. Epidemiological data shows an association with varying magnitudes between telomere length and aging, cancers, telomere biology disorders, and several age-related diseases. With the development of telomere length detection methods, telomere length in blood cells has been studied extensively as a biomarker of human aging and risk factor for age-related diseases, which hold potential as a biomarker.

Key Words: telomere; telomere length; TERRA; aging; diseases; biomarker

收稿日期: 2021-08-20

第一作者: E-mail: baiyujie1111@163.com

*通信作者: E-mail: dongyingwu@126.com

正常人的成纤维细胞在体外培养过程中的增殖能力并不是无限的,细胞分裂增殖持续40~60代后会出现衰老,该现象被称为“Hayflick”极限^[1]。随后的研究显示,“Hayflick”极限是由于DNA聚合酶无法完全复制线性染色体的3'端,导致端粒DNA重复序列随着每一轮DNA复制而不断丢失,当其缩短到一定长度时,细胞进入衰老阶段^[2,3]。端粒长度是染色体功能正常和衰老的关键因素之一。端粒缩短速率由遗传和环境因素共同决定,具有同时反映衰老程度、疾病状况、生活方式的潜力,因此端粒长度是衰老生物标志物的良好候选者^[4]。本文将总结端粒长度的维持机制及各种影响因素,并阐述端粒生物学与衰老和疾病的关系,以帮助相关领域研究者在选择端粒作为其研究的有效手段中提供帮助。

1 端粒的结构、功能与维护

1.1 端粒的结构和功能

端粒由端粒DNA和蛋白质组成。端粒DNA为高度保守的串联重复序列(人类为5'-TTAGGG-3'),该序列主要为双链区(人类为10~15 Kb),但以短单链(人类为50~500 nt)富含G的3'突出端结束,其中3'单链突出端侵入同源双链区域,形成端粒环(T-loop)^[5]。端粒“shelterin”六蛋白复合体由端粒重复结合因子1(telomeric-repeat-binding factor 1, TRF1)、端粒重复结合因子2(telomeric-repeat-binding factor 2, TRF2)、端粒保护蛋白1(protectin of

telomeres 1, Pot1)、TRF1-相互作用核蛋白2(TRF1-interacting nuclear protein 2, Tin2)、TIN2-相互作用蛋白1(TIN2-interacting protein, TPP1)和阻滞活化蛋白1(repressor and activator protein 1, Rap1)组成。其中, TRF1和TRF2识别双链端粒DNA, Pot1以高特异性和亲和力结合端粒单链3'突出端,封闭染色体末端,保护端粒DNA免受降解和末端融合事件的影响,如图1所示^[6]。

端粒除了能维持基因组的稳定性外,还能调控基因的表达。首先,端粒长度会影响临近区域的基因表达,被称为端粒位置效应(telomere position effect, TPE),人类受TPE影响的基因代表是位于染色体1p36.33的*ISG15*,其距端粒1 Mb,在老年个体细胞中表现出更高的表达^[7]。TPE不仅影响端粒近端基因,还通过形成长程环影响端粒远端基因,这种非典型的TPE称为长距离端粒位置效应(telomere position effect over long distances, TPE-OLD),例如“shelterin”组成成分TRF2,连接端粒和位于*TERT*基因下游100 Kb处的端粒间质重复序列,产生长程染色质环,以抑制*TERT*基因的表达^[7]。人类全基因组测序鉴定了2 920个端粒间质重复序列,表明TPE-OLD可能比预期更广泛地影响全基因组的基因表达^[7]。

1.2 端粒维持机制

在体细胞中,端粒随着细胞分裂不断缩短,导致DNA损伤积累,引发细胞衰老,但在自我更新的细胞,如干细胞和大多数癌细胞中,可通过

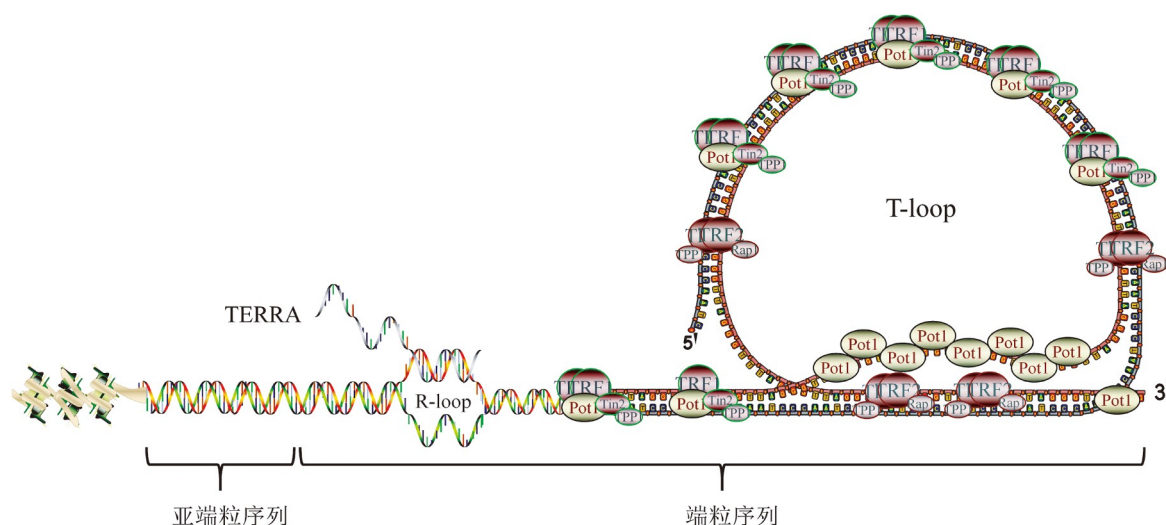


图1 端粒结构示意图

端粒维持机制克服端粒缩短引起的细胞衰老或凋亡, 并获得永生。目前主要报道了2种端粒维持机制: 端粒酶和端粒替代延长途径(alternative lengthening of telomeres, ALT)^[8]。

1.2.1 端粒酶

端粒酶是一种逆转录酶, 由端粒酶RNA (telomerase RNA component, TERC)和端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)2个主要的亚基组成。TERC与RNA结合蛋白DKC1、NHP2、NOP10、GAR1结合, 既保证了TERC的三维结构和稳定性, 又促进了端粒酶核糖核蛋白的生物发生^[9]。端粒酶以自身RNA为模板, 通过逆转录机制合成端粒DNA重复序列, 并添加到端粒末端以抵消末端复制问题引起的端粒缩短^[10]。端粒酶活性在多个水平上受到严格的调控, 从端粒酶成分的表达到端粒酶招募激活所需的装配因子, 这些过程中的任何缺陷都会导致端粒重复序列的丢失或短端粒的维持^[11]。端粒酶的表达和活性主要集中在生殖细胞、干细胞、肿瘤细胞和一些体细胞中, 大多数组织中缺乏或有非常低的端粒酶活性, 导致端粒不断丢失^[12]。

1.2.2 端粒替代延长途径

在某些情况下, 即使没有端粒酶活性, 端粒也可以恢复, 这种现象被称为端粒替代延长途径, 其基于端粒DNA的同源重组。ALT阳性肿瘤细胞具有以下特征: (1)TERT不表达, 端粒酶活性缺乏; (2)端粒长度异质性, 姐妹染色单体频繁交换, 在人类ALT细胞中端粒从极短(<1 Kb)到异常长(>20 Kb)不等; (3)存在ALT相关的早幼粒白血病体, 其包含端粒DNA、“shelterin”蛋白复合物及与DNA重组相关的蛋白质^[13]。有证据还表明, ALT在多能干细胞的端粒维持中也起着至关重要的作用, 与ALT阳性肿瘤细胞不同, 多能干细胞保持更长的端粒和稳定的基因组, 潜在机制尚不清楚, 但多能干细胞中的ALT主要由表观遗传重编程的变化触发, 为激活ALT提供“开放”染色质状态, 而不是癌细胞中经常发生的有害突变^[14]。ALT途径既能很好地解释为什么在端粒依旧很长的情况下, 细胞、动物依旧表现出许多异常的分子机制, 又能解释体细胞和多能干细胞(如生殖细胞)端粒长度之间的差异。

1.2.3 含有端粒重复序列的RNA(telomeric repeat-containing RNA, TERRA)

TERRA分子是一种将端粒生物学与基因组完整性联系起来的长链非编码RNA, 其从亚端粒区域向染色体末端转录, 由亚端粒衍生序列和富含G的端粒重复序列组成, 是一种新兴的端粒结构和调节成分^[15]。TERRA是RPA-POT1的开关, 可调节端粒复制和染色体末端保护, 在S期的早期到中期, 高水平的TERRA与核内不均一性核糖核蛋白A1结合, 允许RPA与端粒单链区结合并释放POT1, 使端粒延伸; 同时TERRA与TERT或TERC结合抑制端粒酶活性, TERRA水平的变化与细胞周期依赖的端粒酶活性的变化相一致^[15]。

TERRA在端粒生物学中还具有其他功能, 一方面, TERRA分子充当支架, 将染色质重塑因子募集到染色体末端, 促进端粒异染色质的形成; 另一方面, TERRA分子与核内不均一性核糖核蛋白A1相互作用, 并将其从染色体末端去除, 允许POT1结合端粒3'端, 因此TERRA表达是端粒正确加帽所必需的; 另一方面, TERRA还通过促进染色体末端LSD1-Mre11复合体和H3K9me3的募集, 在功能失调的端粒处维持DNA损伤反应^[16,17]。2017年, Graf等^[18]的研究还表明, TERRA转录本在染色体末端形成DNA-RNA杂交体(R-loop), 促进了端粒之间的同源定向修复, TERRA和R-环优先在短端粒处积累, 帮助激活DNA损伤反应, 并促进Rad51重组酶的招募, 延缓细胞衰老并维持基因组的不稳定性, TERRA和R-环依赖性调控是细胞复制性衰老速率的关键决定因素。此外, TERRA也参与ALT阳性细胞中的端粒维持, 2021年, Silva等^[19]报道, 在ALT阳性细胞中TERRA转录积极地破坏端粒的完整性, 从而触发断裂-诱导复制, 促进端粒延伸, 而TERRA转录抑制会降低DNA复制应激和端粒DNA损伤标记, 导致ALT活性和端粒长度维持受损。

2 端粒长度的决定因素

2.1 遗传因素

流行病学研究表明, 端粒长度是一种复杂的遗传性状, 双胞胎的遗传率为36%~82%, 而家族的遗传率为34%~50%, 进一步通过连锁分析和全

基因组关联分析鉴定了9个与端粒长度显著相关的基因座,包括 *TERC*(3q26.2)、*TERT*(5p15.33)、*OBFC1*(10q24.3)、*NAF1*(4q32.2)、*RTEL1*(20q13.3)、*ACYP2*(2p16.2)、*ZNF208*(19p12)、*CTCI*(17p13.1)、*ZNF676*(19p12),其中最显著的相关基因座是位于3q26上的*TERC*基因,其与*TERT*、*NAF1*、*OBFC1*、*RTEL1*均是与端粒生物学有关的基因,如表1所示^[20,21]。2020年, Demanelis等^[22]通过基因型组织表达项目系统地研究了人体内各组织中端粒长度随衰老的变化及其可能的作用,研究显示,与欧洲血统个体相比,非洲血统个体在许多组织类型中具有更长的端粒长度,表明受精卵首先从生殖细胞遗传端粒长度,通过有丝分裂传递给子细胞,最终传递给更多的成体组织细胞,因此端粒长度的差异主要来源于生殖细胞。

此外,在该项研究中还显示,端粒长度的相关变异还会影响局部基因的表达。9个已知的端粒相关基因座通过调控已知的参与端粒维持的基因以及在端粒维持中起作用的基因的表达影响人体组织中的端粒长度^[22]。但端粒长度的遗传是与父亲还是与母亲的端粒长度更为密切相关,目前尚有争议。最初的研究显示,父亲对端粒长度的影响更大,但最近一项针对19 000名受试者的研究发现,母亲-子女的端粒长度相关性明显高于父亲-子女的相关性^[20]。

2.2 非遗传因素

除了遗传因素外,端粒长度也受各种内源性和外源性因素的影响。内源性因素包括末端复制问题、氧化应激、炎症和遗传组成等,其中氧化应激是端粒缩短最重要的原因之一^[4]。由于端粒富

表1 端粒长度相关的基因座

基因	位置	SNP	生物学功能	参考文献
<i>TERC</i>	3q26.2	rs1317082 rs10936601 rs12696304 rs16847897 rs10936599 rs3772190	<i>TERC</i> 编码基因,广泛分布于胚胎组织中,包括未分化的神经上皮组织和间质组织, <i>TERC</i> 作为端粒DNA合成的模板,可维持端粒稳定并影响端粒长度	[20,21,23]
<i>TERT</i>	5p15.33	rs7726159 rs2736100 rs2736108 rs7705526 rs2853669	<i>TERT</i> 编码基因,调节端粒酶的形成和亚细胞定位,参与维持端粒长度。 <i>TERT</i> 基因表达水平显著影响细胞和组织中的端粒酶活性, <i>TERT</i> 基因多态性涉及多种肿瘤的发病机制	[20,21,23]
<i>OBFC1</i>	10q24.3	rs2487999 rs9420907 rs4387287 rs9419958	含寡核苷酸/寡糖结合折叠域蛋白1(OBFC1)编码基因,OBFC1是CST复合物(CTC1-STN1-TEN1)的组成部分之一,参与端粒复制和加帽,保护端粒不被降解,维持端粒长度并参与DNA代谢	[20,21,24]
<i>NAF1</i>	4q32.2	rs7675998	核组装因子1(NAF1)编码基因,NAF1是H/ACA盒snoRNA组装所需的蛋白,可促使成熟核糖体蛋白颗粒生成,影响端粒酶的合成和活性	[20,21,23]
<i>RTEL1</i>	20q13.3	rs755017	<i>RTEL1</i> 基因编码DNA解旋酶,影响端粒的延伸和稳定性,并在DNA复制过程中保护端粒结构	[20,21,23]
<i>ACYP2</i>	2p16.2	rs11125529	<i>ACYP2</i> 基因编码酰基磷酸酶,水解多种膜蛋白,调节糖酵解、丙酮酸代谢和细胞凋亡,并影响端粒长度。 <i>ACYP2</i> 多态性与较短的端粒长度有关	[21,23]
<i>ZNF208</i>	19p12	rs8105767	<i>ZNF208</i> 基因通过结合下游基因调控基因转录,维持端粒长度,已证明其与端粒缩短和冠心病有关	[21,25]
<i>ZNF676</i>	19p12	rs412658	染色体19p12是最近发现的与白细胞端粒长度变异相关的基因座,包括 <i>ZNF676</i> , <i>ZNF676</i> 可能通过与端粒DNA序列或G-四链体结合调节端粒长度	[21,26]
<i>CTC1</i>	17p13.1	rs3027234	保守端粒维持成分1(CTC1)编码基因,CTC1也是CST复合物成员重要成分,参与维持端粒DNA的稳定性	[21,26]

含鸟嘌呤, 鸟嘌呤三联体GGG对氧化修饰高度敏感, 因此端粒被认为是氧化攻击的首选靶标。在轻度氧化应激的条件下, 单链断裂优先积累在端粒上, 引起复制叉停止和染色体末端复制不完全, 导致端粒缩短^[20,27]。

在人类中, 外源性因素也会影响端粒长度的稳态。有研究显示, 吸烟、酗酒、高脂饮食、肥胖、久坐、缺乏运动等会引发氧化应激和组织炎症, 加快端粒缩短的速度^[28]。此外, 端粒缩短速度与心理压力也有关, 与健康个体相比, 抑郁症患者、双相情感障碍患者、认知障碍患者、受虐者的端粒更短^[28]。与此相反, 生活方式和饮食的改善有可能减缓端粒的缩短, 例如全面的生活方式干预, 包括低脂饮食、植物性饮食、适度运动、压力管理(瑜伽、冥想)和社会支持, 坚持3个月会增加外周血单核细胞的端粒酶活性, 坚持5年以上会提高端粒长度^[29]。目前已发现人类端粒长度的主要决定因素见表2。

3 概述端粒长度与衰老和疾病的关系

3.1 端粒长度与衰老

端粒长度反映了从出生到死亡的整个生命过程, 大量横断面研究已充分证明端粒长度与年龄成反比, 并与衰老相关。2021年, Huang等^[30]对4 053名>50岁的成年人随访10年的纵向队列研究也表明, 端粒长度随年龄增长出现显著下降, 且个体内的纵向下降幅度远大于个体间的横向下降幅度, 表明生物年龄对端粒缩短的影响可能大于其他影响因素的总和。2020年, Demanelis等^[22]采用Luminex方法测量了952名供体(已故)超过25种组织类型的相对端粒长度, 结果显示, 在大多数组织中端粒长度与年龄呈负相关, 但是在不同组织类型中端粒长度存在差异, 其中全血中最短, 睾丸中最长, 端粒长度在各组织间普遍呈正相关, 全血端粒长度可代表大部分组织的端粒长度, 端粒长度主要归因于年龄、组织类型及供体的差异。此外, 女性端粒缩短速率低于男性, 这主要是由端粒磨损率的差异造成的, 该差异归因于男女激素水平、生活方式、体型、XY染色体端粒动力学等因素^[30-33]。关于端粒磨损率研究还表明, 新生儿端粒缩短速度最为显著, 成年人早期出现下降, 在老

年人中进一步下降, 这与新陈代谢率有关^[34]。

由于端粒长度是细胞衰老、身体状况、氧化应激的潜在标志, 且白细胞端粒长度与无病生活的年数呈正相关, 这表明白细胞端粒长度具有作为健康衰老生物标志物的潜力^[33]。有研究表明, 极短端粒不被任何DNA修复机制修复, 却能触发持续DNA损伤反应, 端粒功能丧失主要发生在端粒严重缩短的染色体上, 触发端粒功能丧失的是临界短端粒, 而不是平均端粒长度^[38,39]。最近, 测量最短端粒百分比的端粒分析方法也被引入了人类端粒学研究, 揭示了最短端粒频率与认知障碍甚至Ⅱ型双相情感障碍之间的关联^[40]。因此, 最短端粒丰度更有希望成为衰老的生物标志物。

3.2 端粒长度与端粒生物学疾病

端粒生物学疾病(telomere biology disorders, TBDs)又被称为短端粒综合征, 是由短而功能失调的端粒所引起的一系列疾病, 临床表现包括原发性免疫缺陷和骨髓衰竭, 如先天性角化不良(dyskeratosis congenita, DC)、特发性肺纤维化、再生障碍性贫血和Hoyeraal-Hreidarsson综合征等^[40]。TBDs的典型特征是端粒长度低于正常人群的最低百分位, 主要由端粒酶和其他端粒维持基因突变所致。迄今为止, 在TBDs患者中共发现了11个突变基因, 包括*TERT*、*TERC*、*DKC1*、*TINF2*、*TPPI*、*RETL1*、*CTC1*、*NOPI0*、*NHP2*、*TCAB1*、*PARN*。这些基因突变通过多种机制导致端粒缩短和功能障碍, 例如端粒酶活性降低、端粒酶转运和募集受损、端粒复制不完全、端粒环不稳定等, 如表3所示^[41]。

DC是一种典型的TBDs疾病, 以皮肤色素沉着异常、指甲营养不良、口腔白斑为特点, 可发展为骨髓再生障碍或肿瘤等多系统疾病。该类疾病在遗传上具有异质性, 目前已确定了3种遗传形式: X连锁隐性遗传、常染色体显性遗传和常染色体隐性遗传, 主要涉及多个编码基因^[42]。*DKC1*是第一个被鉴定出的DC致病基因, 是导致该疾病X连锁隐性遗传的主要基因; 常染色体显性DC是由端粒酶核心成分*TERC*和*TERT*杂合突变引起的; 而常染色体隐性DC通过*NOPI0*、*NHP2*和*TERT*突变介导的^[42]。此外, 在一些DC患者中还发现了“shelterin”蛋白复合体组成部分Tin2蛋白编码基

表2 人类端粒长度的主要决定因素

决定因素	一般结论	参考文献
遗传	关于双胞胎的研究发现，端粒长度具有高度遗传性，并通过连锁分析和全基因组关联分析鉴定了多个与端粒长度相关的特定基因座	[20]
性别	与男性相比，成年女性拥有更长的端粒长度，主要因为男女激素水平、生活方式、体型、XY染色体端粒动力学等方面存在差异	[30-33]
年龄	大量横断面研究和纵向队列研究均证明端粒长度随着年龄增长而逐渐缩短	[30]
疾病	端粒缩短可促进端粒生物学疾病、老化相关疾病、癌症的发生发展，反过来这些疾病又会加快端粒的缩短	[34]
压力	压力与外周血单核细胞较高的氧化应激、较低的端粒酶活性和较短的端粒长度显著相关，与低压力女性相比，压力最高的女性端粒平均缩短至少10年	[34]
运动	端粒长度与运动呈正相关，运动员端粒长度长于非运动员	[34]
久坐	一项研究结果表明，运动较少的女性，较长的久坐时间可能与较短的端粒长度有关	[35]
肥胖	端粒的长度与身体质量指数相关，过量的脂肪组织诱发慢性和全身性炎症，导致端粒缩短	[34]
吸烟	与不吸烟者相比，吸烟者(含曾经吸烟者)的端粒长度更短，端粒长度与每年吸烟量呈反比	[34]
酒精	酗酒者端粒长度明显低于不饮酒者，端粒长度与每天的酒精摄入量呈反比	[34]
睡眠	一项最新研究表明，慢性失眠患者具有较短的端粒长度，端粒长度缩短会独立影响睡眠质量	[36]
营养物质	研究显示，抗氧化剂和富含抗氧化剂的植物性食品有助于维持端粒长度，例如蔬菜、水果、维生素和ω-3鱼油等，坚持地中海饮食对端粒长度有益。而精制谷物、加工肉类及含糖饮料与端粒较短有关	[37]

因*TINF2*杂合突变，*TINF2*突变主要是从头突变^[42]。DC患者端粒酶活性明显降低，导致端粒异常缩短，并与其他骨髓衰竭综合征具有重叠的特征，如再生障碍性贫血和骨髓增生异常综合征。因此该类疾病绝大多数患者缺乏可识别的明显临床特征，且没有明显的家族史，容易受到DNA损伤试剂和其他细胞毒性治疗的致命伤害，因此在临床上需要分子诊断工具来尽早识别^[43,44]。目前用于诊断TBDs的2个主要方法包括端粒长度分析和端粒维持相关基因检测，端粒长度分析主要采用流式荧光原位杂交方法，该方法已经通过了美国《临床实验室改进法案修正案》的认证，常用于辅助诊断DC患者^[45]。

3.3 端粒长度与衰老相关疾病

目前端粒长度的轻度缺乏也被认为是多种衰老相关疾病的危险因素，包括心血管疾病、糖尿病、神经退行性疾病、肥胖、骨质疏松、风湿性关节炎等^[46]。2020年，Demanelis等^[22]使用基因组组织表达项目捐赠者的病史数据，检查了常见的衰老相关的慢性病与组织端粒长度之间的关系，研究显示，慢性疾病与组织较短端粒长度具有一

定的相关性，且2型糖尿病与胰腺、冠状动脉较短端粒长度相关。此外，免疫系统对端粒缩短高度敏感，因为其能力严格依赖于细胞更新和T、B细胞群的克隆扩增，因此在衰老期间获得性免疫系统容易发生缺陷^[47]。在细胞水平上，与衰老相关的免疫缺陷最显著的特征之一是老年人T细胞多样性急剧丧失，尤其是在70岁以后，naïve T细胞多样性急剧下降，CD4⁺ T细胞的下降>10倍，而CD8⁺ T细胞的下降>100倍^[48]。有研究表明，该现象是由于T细胞端粒逐渐磨损达到“Hayflick”极限造成的，因此端粒磨损是导致免疫功能随年龄整体下降的原因之一^[48]。也有证据表明，这种表型还在慢性病毒感染中出现，慢性病毒(如HIV、HBV、HPV等)持久的抗原刺激导致T细胞衰竭，将有利于端粒磨损，平均而言，外周血单核细胞端粒DNA每年损失约50 bp，而在接受抗逆转录病毒治疗的HIV患者，端粒DNA每年损失高达250 bp，进一步将端粒长度、T细胞耗竭和免疫衰老联系起来^[49]。同时，白细胞短端粒也与许多免疫相关疾病有关，如一些常见的自身免疫综合征患者，包括类风湿关节炎和糖尿病(1型和2型)，与年龄

表3 端粒生物学疾病相关基因

基因(蛋白)	遗传方式	相关疾病	疾病相关突变的影响	参考文献
<i>TERT</i> (TERT)	常染色体显性/隐性遗传	先天性角化不良、特发性肺纤维化、肝病、再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征、急性白血病等	降低端粒酶活性、端粒酶持续合成及招募能力受损	[40,41]
<i>TERC</i> (TERC)	常染色体显性遗传	先天性角化不良、特发性肺纤维化、肝病、再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征、急性白血病等	降低端粒酶活性	[40,41]
<i>DKC1</i> (dyskerin)	X连锁隐性遗传、从头突变	先天性角化不良、Hoyeraal-Hreidarsson综合征	降低TERC稳定性及端粒酶活性	[40,41]
<i>TINF2</i> (Tin2)	常染色体显性遗传 (主要是从头突变)	先天性角化不良、Hoyeraal-Hreidarsson综合征、特发性肺纤维化、Revesz综合征	减少端粒酶向端粒的募集, 促进端粒缩短	[40,41]
<i>TPP1</i> (TPP1)	常染色体显性/隐性遗传	再生障碍性贫血、先天性角化不良	减少端粒酶向端粒的募集	[40,41]
<i>RTEL1</i> (RTEL1)	常染色体隐性遗传	Hoyeraal-Hreidarsson综合征	损害T-loop稳定性, 导致T-loop切除	[40,41]
<i>CTC1</i> (CTC1)	常染色体隐性遗传	Coatsplus综合征、先天性角化不良	损害双链端粒复制	[40,41]
<i>NOPI0</i> (NOPI0)	常染色体隐性遗传	先天性角化不良	降低TERC稳定性及端粒酶活性	[40,41]
<i>NHP2</i> (NHP2)	常染色体隐性遗传	先天性角化不良	降低TERC稳定性及端粒酶活性	[40,41]
<i>TCAB1</i> (TCAB1)	常染色体隐性遗传	先天性角化不良	端粒酶转运及向端粒募集受损	[40,41]
<i>PARN</i> (PARN)	常染色体隐性遗传	Hoyeraal-Hreidarsson综合征	改变端粒生物学基因转录本	[40,41]

匹配的健康对照相比, 白细胞的端粒长度显著缩短^[50]。

目前主要采用2种方法研究血细胞端粒长度与老化相关疾病的关系。第1种是观察性研究方法, 该方法采用横断面或纵向队列研究直接检测患者端粒长度, 并将其与年龄性别相匹配的健康人群进行比较, 第2种是孟德尔随机化方法, 即基于个体基因组采用端粒长度相关的遗传变异来指示疾病风险的易感性^[51]。目前端粒长度与疾病之间的关系存在很多不确定性, 甚至不同的研究之间显示出相互矛盾的结果。例如, 一些研究表明, 糖尿病与端粒长度之间存在显著关联, 且端粒长度与2型糖尿病风险呈负相关, 端粒长度每增加1 kb, 糖尿病风险降低6%^[52]。在一项包括5 575例糖尿病患者(1型和2型)和6 349例非糖尿病患者的队列分析中, 2种类型糖尿病患者的端粒长度都较短, 端粒长度受地区、年龄、糖尿病类型、BMI和性别的影

响^[53]。但是在一项对绝经后妇女白细胞端粒长度和2型糖尿病风险的前瞻性研究中, 没有观察到两者之间在统计学上存在显著差异, 可能是由于该研究样本量不足, 且影响端粒长度的混杂因素如年龄、性别、种族、其他疾病等多因素导致的^[34,54]。因此, 端粒与疾病关系的研究需要精心设计, 并调整重要的混杂因素, 否则很难从数据中得出可靠的结论。

3.4 端粒长度与癌症

根据《癌症基因组图谱》数据, 对31种不同类型癌症的18 340份癌性材料进行分析, 结果显示, 端粒酶呈阳性的肿瘤端粒比邻近正常组织的端粒短, 而ALT阳性的肿瘤端粒长度不均一^[55]。端粒酶的核心成分TERC和TERT, 是端粒酶激活的主要决定因素, 尤其是催化亚基TERT, 在绝大多数正常细胞中*TERT*基因在转录水平保持沉默^[56]。致癌因素破坏了TERT抑制因子和激活因子之间的

平衡,并诱导 *TERT* 基因突变或表观遗传改变,从而导致 *TERT* 基因转录激活,此外,这些致癌因素还能促进 mRNA 的异常剪接、非编码 RNAs 的失调和磷酸化或泛素化,导致 *TERT* 表达在转录后或翻译后水平上被进一步放大,最终在转化的细胞中端粒酶被激活,但端粒酶活性水平仅足以维持大多数癌细胞中最短的端粒,因此端粒酶阳性细胞端粒特征是短且稳定^[57]。在极少数情况下,ALT 途径可能被激活,导致细胞端粒长度较长、较短或不变,ALT 途径活化仅占人类所有肿瘤的 5%,但是在间充质和神经上皮起源的恶性肿瘤中,如各种肉瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、甲状腺髓样癌等,ALT 途径发生频率高达 50%,甚至更高^[8]。

在慢性淋巴细胞白血病中,端粒维持和功能改变不仅与肿瘤发生有关,端粒长度还是一个独立的预后因素,短端粒与不良预后有关^[58]。2010 年, Lin 等^[59]通过高分辨率的单链端粒长度分析发现,在慢性淋巴细胞性白血病进展过程中端粒缩短和端粒融合频率事件增加,在端粒较短的患者中,伴随端粒功能障碍的是大规模的基因组重排,且主要集中在端粒区域,而在端粒较长的患者中未观察到此现象。有研究结果显示,在慢性淋巴细胞白血病患者中,端粒“shelterin”六蛋白复合体组成成分表达发生了紊乱,且在约 3.5% 的患者中, *Pot1* 基因发生了突变,该突变与复杂的核型相关,并且是慢性淋巴白血病患者总生存率的独立预后因素^[58]。此外,端粒较短的慢性淋巴细胞白血病患者端粒酶表达和活性较高, *TERT* 激活和“shelterin”六蛋白复合体解除可能对慢性淋巴白血病患者细胞存活和增殖所需的最小端粒长度至关重要^[58]。同时,端粒长度与基因组畸变相关性分析表明,慢性淋巴白血病患者短端粒与不良预后、17p 缺失和 11q 缺失显著相关^[58]。

总体而言,端粒长度是慢性淋巴细胞性白血病的有力预测和预后指标,并优于已建立和最近发现的基因组生物标志物^[60]。由于不同类型的癌症有不同的表型,端粒长度对其驱动影响不同,导致端粒长度的预后潜力不同,甚至端粒长度与癌症的关联研究有时会得出相反的结果,建议谨慎对待^[60]。

4 总结与展望

自从 1939 年端粒被发现以来,对端粒生物学的认识一直在突飞猛进地发展,但是该领域又存在巨大的不确定性,因为端粒代谢是一个非常动态的过程,受遗传和环境因素的控制,且非常个体化。首先,每个人出生时的端粒长度不同,范围也很宽(8~15 kb)。其次,端粒平均每年缩短 20~50 个核苷酸,因此其并不容易被评估,不同的端粒检测方法也会给出不同的结果。最后,端粒缩短是疾病发生发展的原因还是结果,还是两者皆有,尚不清楚。

因此,端粒长度能否成为评估健康状况的良好生物标志物,首先需要更好地了解端粒是如何代谢的及如何可靠地评估端粒长度。最短端粒在衰老和疾病发生发展过程中重要性的提出,明确了在未来流行病学研究中,不仅要确定平均端粒长度,还要确定单个端粒长度的纵向变化及短端粒的丰度变化。在这方面,可以分析最短端粒的检测方法,例如单链端粒长度分析、定量荧光原位杂交技术、端粒最短长度分析等,尤其是最新报道的端粒长度分子梳分析、单个端粒绝对长度快速分析、端粒分析技术,其既能准确分析所有端粒长度分布的详细图谱,又能观察到端粒的动态变化,对于将端粒缩短作为人类衰老的生物标志物至关重要^[61]。

参考文献

- [1] Liu J, Wang L, Wang Z, et al. Roles of telomere biology in cell senescence, replicative and chronological ageing. *Cells*, 2019, 8(1): 54-63
- [2] Olovnikov AM. A theory of marginotomy. *J Theor Biol*, 1973, 41(1): 181-190
- [3] Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(18): 6622-6626
- [4] Martínez P, Blasco MA. Heart-breaking telomeres. *Circ Res*, 2018, 123(7): 787-802
- [5] Smith EM, Pendlebury DF, Nandakumar J. Structural biology of telomeres and telomerase. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(1): 61-79
- [6] Chen Y. The structural biology of the shelterin complex. *Biol Chem*, 2019, 400(4): 457-466

- [7] Okamoto K, Seimiya H. Revisiting telomere shortening in cancer. *Cells*, 2019, 8(2): 107-123
- [8] De Vitis M, Berardinelli F, Sgura A. Telomere length maintenance in cancer: at the crossroad between telomerase and alternative lengthening of telomeres (ALT). *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 606-620
- [9] Veverka P, Janovi T, Hofr C. Quantitative biology of human shelterin and telomerase: searching for the weakest point. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3186-3198
- [10] Wang Y, Suac L, Feigon J. Structural biology of telomerase. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11(12): a032383
- [11] Tomita K. How long does telomerase extend telomeres? Regulation of telomerase release and telomere length homeostasis *Curr Genet*, 2018, 64(6): 1177-1181
- [12] Parks JW, Stone MD. Single-molecule studies of telomeres and telomerase. *Annu Rev Biophys*, 2017, 46(1): 357-377
- [13] MacKenzie DJ, Watters AK, To JT, et al. ALT positivity in human cancers: prevalence and clinical insights. *Cancers*, 2021, 13(10): 2384-2415
- [14] Zhao S, Wang F, Liu L. Alternative lengthening of telomeres (ALT) in tumors and pluripotent stem cells. *Genes*, 2019, 10(12): 1030-1043
- [15] Wang C, Zhao L, Lu S. Role of TERRA in the regulation of telomere length. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(3): 316-323
- [16] Cusanelli E, Chartrand P. Telomeric repeat-containing RNA TERRA: a noncoding RNA connecting telomere biology to genome integrity. *Front Genet*, 2015, 6: 143-151
- [17] Bettin N, Oss Pegorar C, Cusanelli E. The emerging roles of TERRA in telomere maintenance and genome stability. *Cells*, 2019, 8(3): 246-263
- [18] Graf M, Bonetti D, Lockhart A, et al. Telomere length determines TERRA and R-Loop regulation through the cell cycle. *Cell*, 2017, 170(1): 72-85.e14
- [19] Silva B, Arora R, Bione S, et al. TERRA transcription destabilizes telomere integrity to initiate break-induced replication in human ALT cells. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3760-3771
- [20] Pooley KA, Bojesen SE, Weischer M, et al. A genome-wide association scan (GWAS) for mean telomere length within the COGS project: identified loci show little association with hormone-related cancer risk. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(24): 5056-5064
- [21] Srinivas N, Rachakonda S, Kumar R. Telomeres and telomere length: a general overview. *Cancers*, 2020, 12(3): 558-587
- [22] Demanelis K, Jasmine F, Chen LS, et al. Determinants of telomere length across human tissues. *Science*, 2020, 369(6509): eaaz6876
- [23] Huang P, Li R, Shen L, et al. Single nucleotide polymorphisms in telomere length-related genes are associated with hepatocellular carcinoma risk in the Chinese Han population. *Ther Adv Med Oncol*, 2020, 12: 175883592093302
- [24] Levy D, Neuhausen SL, Hunt SC, et al. Genome-wide association identifies OBFC1 as a locus involved in human leukocyte telomere biology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(20): 9293-9298
- [25] Song Y, Yan M, Li J, et al. Association between TNIP1, MPHOSPH6 and ZNF208 genetic polymorphisms and the coronary artery disease risk in Chinese Han population. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 77233-77240
- [26] Mangino M, Hwang SJ, Spector TD, et al. Genome-wide meta-analysis points to CTC1 and ZNF676 as genes regulating telomere homeostasis in humans. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(24): 5385-5394
- [27] Victorelli S, Passos JF. Telomeres and cell senescence-size matters not. *EBioMedicine*, 2017, 21: 14-20
- [28] Bär C, Blasco MA. Telomeres and telomerase as therapeutic targets to prevent and treat age-related diseases. *F1000Research*, 2016, 5: 89
- [29] Samuel P, Tsapekos M, de Pedro N, et al. Ergothioneine mitigates telomere shortening under oxidative stress conditions. *J Dietary Supplements*, 2020, 7: 1-14
- [30] Huang Z, Liu C, Ruan Y, et al. Dynamics of leukocyte telomere length in adults aged 50 and older: a longitudinal population-based cohort study. *GeroScience*, 2021, 43(2): 645-654
- [31] Lapham K, Kvale MN, Lin J, et al. Automated assay of telomere length measurement and informatics for 100 000 subjects in the genetic epidemiology research on adult health and aging (GERA) Cohort. *Genetics*, 2015, 200(4): 1061-1072
- [32] Willeit P, Willeit J, Brandstatter A, et al. Cellular aging reflected by leukocyte telomere length predicts advanced atherosclerosis and cardiovascular disease risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(8): 1649-1656
- [33] Lulkiewicz M, Bajsert J, Kopczynski P, et al. Telomere length: how the length makes a difference. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(9): 7181-7188
- [34] Turner K, Vasu V, Griffin D. Telomere biology and human phenotype. *Cells*, 2019, 8(1): 73-91
- [35] Shadyab AH, Macera CA, Shaffer RA, et al. Associations of accelerometer-measured and self-reported sedentary time with leukocyte telomere length in older women. *Am J Epidemiol*, 2017, 185(3): 172
- [36] Ren CY, Liu PP, Li J, et al. Changes in telomere length and serum neurofilament light chain levels in female patients with chronic insomnia disorder. *J Clin Sleep Med*, 2021. doi: 10.5664/jcsm.9574

- [37] Freitas-Simoes TM, Ros E, Sala-Vila A. Nutrients, foods, dietary patterns and telomere length: Update of epidemiological studies and randomized trials. *Metabolism*, 2016, 65(4): 406-415
- [38] Vera E, Blasco MA. Beyond average: potential for measurement of short telomeres. *Aging*, 2012, 4(6): 379-392
- [39] Hemann MT, Strong MA, Hao LY, et al. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell*, 2001, 107(1): 67-77
- [40] Martínez P, Blasco MA. Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies. *J Cell Biol*, 2017, 216(4): 875-887
- [41] Bertuch AA. The molecular genetics of the telomere biology disorders. *RNA Biol*, 2016, 13(8): 696-706
- [42] Walne AJ, Vulliamy T, Beswick R, et al. TINF2 mutations result in very short telomeres: analysis of a large cohort of patients with dyskeratosis congenita and related bone marrow failure syndromes. *Blood*, 2008, 112(9): 3594-3600
- [43] Niewisch MR, Savage SA. An update on the biology and management of dyskeratosis congenita and related telomere biology disorders. *Expert Rev Hematol*, 2019, 12(12): 1037-1052
- [44] Alder JK, Hanumanthu VS, Strong MA, et al. Diagnostic utility of telomere length testing in a hospital-based setting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(10): E2358-E2365
- [45] Ferrer A, Mangaonkar AA, Stroik S, et al. Functional validation of TERT and TERC variants of uncertain significance in patients with short telomere syndromes. *Blood Cancer J*, 2020, 10(11): 120-124
- [46] Kahl VFS, Allen JAM, Nelson CB, et al. Telomere length measurement by molecular combing. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 493-507
- [47] Hasegawa J, Yagi T. Real-time emulation of neural images in the outer retinal circuit. *J Physiol Sci*, 2008, 58(7): 507-514
- [48] Gill Z, Nieuwoudt M, Ndifon W. The Hayflick limit and age-related adaptive immune deficiency. *Gerontology*, 2018, 64(2): 135-139
- [49] Bellon M, Nicot C. Telomere dynamics in immune senescence and exhaustion triggered by chronic viral infection. *Viruses*, 2017, 9(10): 289-311
- [50] Weng NP. Telomeres and immune competency. *Curr Opin Immunol*, 2012, 24(4): 470-475
- [51] Fasching CL. Telomere length measurement as a clinical biomarker of aging and disease. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2018, 55(7): 443-465
- [52] Cheng F, Carroll L, Joglekar MV, et al. Diabetes, metabolic disease, and telomere length. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9(2): 117-126
- [53] Wang J, Dong X, Cao L, et al. Association between telomere length and diabetes mellitus: a meta-analysis. *J Int Med Res*, 2016, 44(6): 1156-1173
- [54] You NY, Chen BH, Song Y, et al. A prospective study of leukocyte telomere length and risk of type 2 diabetes in postmenopausal women. *Diabetes*, 2012, 61(11): 2998-3004
- [55] Barthel FP, Wei W, Tang M, et al. Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types. *Nat Genet*, 2017, 49(3): 349-357
- [56] Shay JW, Wright WE. Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(5): 299-309
- [57] Yuan X, Dai M, Xu D. Telomere-related markers for cancer. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20(6): 410-432
- [58] Jebaraj BMC, Stilgenbauer S. Telomere dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. *Front Oncol*, 2021, 10: 612665-612675
- [59] Lin TT, Letsolo BT, Jones RE, et al. Telomere dysfunction and fusion during the progression of chronic lymphocytic leukemia: evidence for a telomere crisis. *Blood*, 2010, 116(11): 1899-1907
- [60] Cleal K, Norris K, Baird D. Telomere length dynamics and the evolution of cancer genome architecture. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 482-498
- [61] 白玉杰, 张晓娟, 吴东颖. 端粒长度分析的研究现状及其应用前景. *中国生物化学与分子生物学报*, 2021, 37(10): 1290-1296