

端粒缩短与骨髓衰竭性疾病的研究进展

高小燕, 刘述川*

(哈尔滨医科大学附属第一医院 血液内科, 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:端粒缩短是骨髓衰竭性疾病的重要发病机制,以端粒为诊疗靶点可能成为骨髓衰竭性疾病的研究新方向。端粒缩短与临床常见的获得性骨髓衰竭性疾病,包括再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征和免疫相关性全血细胞减少症,以及部分先天性骨髓衰竭性疾病,包括先天性角化不良和范科尼贫血有关。

关键词:端粒缩短;基因突变;骨髓衰竭性疾病;再生障碍性贫血;骨髓增生异常综合征

中图分类号:R551.3 文献标志码:A

Research advance on telomere shortening and bone marrow failure diseases

GAO Xiao-yan, LIU Shu-chuan*

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract: Telomere shortening is an important pathogenesis of bone marrow failure diseases. As a therapeutic target, telomere may become a new research direction for bone marrow failure diseases. Telomere shortening is related to clinical acquired bone marrow failure diseases, including aplastic anemia, myelodysplastic syndrome and immune mechanism related pancytopenia. The relation between telomere shortening and some inherited bone marrow failure diseases, including dyskeratosis congenita, fanconi anemia is also referred.

Key words: telomere shortening; genetic mutations; bone marrow failure diseases; aplastic anemia; myelodysplastic syndrome

端粒(telomere)是线性染色体末端串联重复的DNA序列,在体细胞分裂的过程中逐渐缩短^[1]。端粒相关蛋白包裹在端粒表面,通过形成T环,防止DNA损伤反应激活,招募端粒酶复合物并调节其活性,以维持端粒长度的稳定。端粒缩短与多种疾病有关,包括早衰综合征、特发性肺纤维化、肝硬化和骨髓衰竭(bone marrow failure, BMF)性疾病^[2]。BMF是一类起源于造血干/祖细胞质量异常的骨髓造血功能不良性疾病,以骨髓组织增生低下,外周血一系或多系减少为特征,以贫血、感染及出血为主要临床表现。BMF是多种病因、发病机制所致的复杂血液症候群,

哈尔滨医科大学附属第一医院对BMF患者进行研究证实免疫异常介导的造血干细胞损伤是其重要的致病机制,且部分BMF患者的端粒长度显著缩短,这可能与免疫抑制治疗无效有关。本文总结了目前端粒生物学异常与BMF的最新研究进展并加以讨论。

1 端粒与端粒的维持

端粒由串联重复的核苷酸序列(TTAGGG)和相关蛋白组成,长约5~20 kb。在细胞增殖、分裂和衰老的过程中,由于DNA聚合酶的不完全复制,端粒不断地缩短^[3]。端粒的结构和功能是由端粒酶和端

粒蛋白复合物(shelterin)共同维持的。端粒酶由端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)、端粒酶RNA(telomerase RNA component, TERC)和端粒酶相关蛋白组成。TERT以TERC为模板在染色体3'末端添加“TTAGGG”序列,使端粒修复延长。Shelterin是包裹在端粒表面,由6种亚基(TRF1、TRF2、POT1、RAP1、TIN2和TPP1)组成的重要蛋白复合物,在帮助端粒成帽、调控端粒长度及维持端粒功能等方面发挥重要作用。

端粒的功能是维持染色体末端的完整性^[4],避免染色体末端融合和降解。在缺乏端粒重建程序的情况下,每次细胞复制会丢失约50 bp的端粒重复。当端粒变得非常短,达到一个临界长度(2~4 kb)时,细胞会触发一系列保护反应:通过招募双链DNA损伤标志物如磷酸化组蛋白H2AX和DNA损伤检验点,以及激活P53^[5],上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂P21,将细胞周期阻断于G₁期^[6],最终导致细胞增殖受阻和凋亡。如果细胞在端粒极短时继续存活,则会引起端粒结构和功能紊乱,导致基因组不稳定,增加疾病的发生风险。

2 端粒与再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)

AA是临床最常见的BMF,大约1/3的AA患者对免疫抑制治疗缺乏反应,这些患者的端粒明显缩短,且端粒缩短的程度与疾病的严重程度呈正相关。端粒越短的患者病程越长、越易复发、总体生存率越低,患上晚期和恶性克隆性并发症的风险越高。正常造血干细胞表达端粒酶以维持自我更新和分化,AA患者的端粒酶活性减低,与外周血血红蛋白水平和淋巴细胞百分率呈显著正相关性,端粒酶基因突变者更显著,这是由于基因突变导致单倍剂量不足所致。AA患者端粒酶活性较健康人增高,且病程越长,端粒酶活性越高,产生机理为造血压力、机体代偿性调节和造血负反馈。AA患者免疫功能异常,T淋巴细胞功能亢进,分泌大量造血负调控因子抑制骨髓造血干细胞的功能,为了代偿衰竭的造血功能,骨髓干细胞增殖分裂加速导致端粒磨损,继发引起端粒酶活性增强以弥补端粒的缺失。

约9%的AA患者存在端粒酶复合体基因如TERT和TERC的反复突变^[7],1%~2%的AA患者存在端粒

伸长解旋酶1调节因子(regulator of telomere elongation helicase 1, RTEL1)的双等位基因突变,端粒结合蛋白TRF1、TRF2的基因突变在AA中也偶有报道。部分携带TERT/TERC突变基因,存在端粒缩短、血液学改变(如轻度贫血、血小板或粒细胞减少)和骨髓发育不良等异常的个体,在病毒感染、毒物接触和氧化损伤的影响下,较正常人更容易发展成AA^[8],端粒酶基因突变是发生骨髓衰竭并最终导致AA的重要遗传致病因素。端粒缩短的AA患者数量远多于端粒相关基因突变的患者数量,因而存在其他致病因素如免疫异常等,引起造血干细胞数量大量减少,造血干细胞增殖分裂加速导致端粒缩短。重型AA患者CD8⁺T淋巴细胞端粒长度明显缩短,且表达凋亡因子、TNF- α 和 γ 干扰素等造血负调控因子明显增高^[9],免疫异常可协同端粒缩短共同导致AA的发生。

目前AA的主要治疗方案是异基因造血干细胞移植和免疫抑制治疗。端粒缩短的AA患者在造血干细胞移植后,发生肺损伤和肝损伤等并发症明显增加,预后极差。在异基因造血干细胞移植前,减低短端粒患者的预处理剂量,或者选择端粒较长的造血干细胞移植供者,可以提高重型AA患者移植后生存率^[10-11]。端粒酶基因突变的AA患者免疫抑制治疗反应率低,治疗后复发率高,但对雄激素治疗反应良好。在口服达那唑治疗的前瞻性实验中,AA患者的端粒长度增加,出现造血反应^[12]。这与雄激素在体内芳香化转化为雌激素,通过雌激素受体途径激活造血细胞中的端粒酶,上调TERT的表达,增强端粒酶活性有关^[13]。雄激素还可以直接增加促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)的产生,或作用于EPO受体引起血液学反应。在AA小鼠模型中,导入携带TERT基因的病毒载体,小鼠端粒酶活性明显增加,小鼠存活率显著提高,以端粒酶为靶点的基因治疗有望成为AA治疗的新目标^[14]。

3 端粒与骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)

MDS是一种髓样肿瘤,其发生发展亦与端粒密切相关。MDS患者端粒长度显著缩短,常出现于血液学异常之前,是MDS最早的特征之一。MDS患者端粒缩短与骨髓造血干细胞病态造血、细胞更新增加导致的端粒磨损存在一定关系。MDS患者端

粒缩短还与 *TERC*、*TERT*、*RTEL1* 和 *TINF2* 等端粒酶基因突变,以及 *shelterin* 基因表达异常有关。MDS 患者端粒长度在不同研究组间呈现较大差异,与 MDS 异质性有关。越晚期的亚型,端粒长度越短。当端粒长度小于 3.81 kb 时患者存活率明显降低,端粒长度对 MDS 的疾病预后具有高度预测作用^[15]。端粒长度较短还与复杂核型、国际预后积分系统(international prognostic scoring system, IPSS)评分高、依赖输血、骨髓原始细胞比例高以及罹患恶性血液病的风险增加等有关。

端粒悬突是位于端粒末端并折回形成的环形(T-loop)结构,对形成染色体末端帽状结构和维持染色体的稳定性至关重要,正常情况下不随年龄增长而缩短。MDS 患者端粒悬突明显缩短,且与 IPSS 评分高显著相关^[16]。高危组端粒悬突较低危组明显缩短,悬突较短的患者预后较差,端粒悬突长度是影响其预后的独立因素。关于 MDS 患者端粒酶活性的研究结果差异较大,可能与不同的测量方法、骨髓和外周血细胞成分复杂以及 MDS 的异质性有关。MDS 的端粒酶活性总体保持在正常或轻中度升高水平,随着病情进展端粒酶活性增强,是疾病进展期的标志。

MDS 似乎处于骨髓衰竭向白血病转化的中间阶段,端粒生物学的异常可能促进细胞异常复制和恶性肿瘤的发生。端粒功能失调是核重构的早期事件,通过破坏高度有序的核秩序,促进可能导致癌症的基因组不稳定性事件的发生。小鼠模型的研究表明,端粒功能障碍引起的 DNA 损伤类型,如 *SF3B1* 和 *DNMT3A*,与典型 MDS 的基因损害一致,可以导致髓样前体细胞异常分化^[17]。端粒功能障碍还可能导致一个细胞谱系增殖(基因组不稳定的细胞获得增殖优势),并导致另一个细胞谱系凋亡(基因组不稳定导致细胞死亡)^[18]。端粒功能紊乱可以阻碍粒细胞谱系成熟,而粒细胞谱系对凋亡具有较强的抵抗能力,从而在原始细胞水平维持细胞谱系,这种选择性凋亡最终导致原始细胞的增多和恶性克隆事件的发生。因此,端粒及其功能障碍是 MDS 向急性髓系白血病转化的重要高危因素。

4 端粒与免疫相关性全血细胞减少症(im-muno-related pancytopenia, IRP)

IRP 是近十余年从 BMF 中分离出一类新的疾

病体系,以外周血全血细胞减少、骨髓中存在造血细胞自身抗体、骨髓单个核细胞 Coombs 实验阳性和对肾上腺皮质激素治疗反应良好为特征^[19]。IRP 初治患者外周血总 T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞端粒长度均明显缩短,其中 B 淋巴细胞端粒缩短最为显著。IRP 患者端粒缩短与疾病严重程度明显相关,端粒越短的患者其外周血白细胞计数越低、对肾上腺皮质激素等治疗反应越差,临床表现积分越高。外周血淋巴细胞各亚群端粒长度缩短可能与 IRP 患者以体液免疫功能紊乱为主的免疫机制调节异常有关,端粒长度检测可能成为 IRP 诊断、治疗及预后评估的新指标。

5 端粒与先天性角化不良

先天性角化不良(dyskeratosis congenita, DC)是人类首个发现的由端粒异常所致的疾病。它是由编码端粒酶或 *shelterin* 相关基因突变所致,以端粒早期大量缩短、骨髓衰竭为特征,以儿童时期的黏膜异常(趾指甲角化不良,口腔黏膜白斑,前胸及颈部广泛网状色素沉着)和 AA 为典型临床表现^[20]。性联遗传的 DC 是由 *DKC1* 基因突变引起,约占典型 DC 病例的 25%。其他导致 DC 的基因异常包括:*TERC*、*TERT*、*TINF2*、*NOP10*、*NHP2*、*TCAB* 和 *C16ORF57* 等。这些端粒酶及相关基因突变,加速造血干细胞端粒的磨损,致使造血干细胞生命周期缩短、凋亡增加,从而储备减少并逐渐耗竭^[21]。

范科尼贫血(fanconi anemia, FA)是以骨髓衰竭、先天畸形、易患肿瘤以及对 DNA 链间交联剂敏感为特征的 DNA 修复障碍性疾病。FA 患者外周血白细胞端粒丢失、断裂,染色体端到端融合增多,端粒 DNA 修复缺陷和氧化应激反应受损。FA 端粒缩短与器官畸形的发生、疾病进展为 AA 的可能性以及骨髓衰竭的程度直接相关,与 MDS 和恶性肿瘤发病的年龄呈负相关。但在目前已经发现的 19 个与 FA 相关的基因突变中,尚无端粒酶 *TERT* 和 *TERC* 有关的基因突变,FA 端粒缩短可能是造血压力倍增、染色体断裂增加、自由基过度形成、细胞增殖调节异常、凋亡受阻以及疾病治疗的结果。

6 问题与展望

随着端粒领域研究的不断深入,端粒缩短成为

BMF 重要的发病机制。临床上对 BMF 患者进行端粒长度、端粒酶活性及相关基因检测,有助于了解患者的病情进展、选择合适的治疗方式,以及对疾病预后做出更加准确的判断。显著缩短的端粒常预示疾病进展,预后不良。进一步探索端粒及其相关蛋白

作用机制和端粒酶的未知调控途径,研制以端粒为靶点的临床新药具有重要的临床意义,不仅可以帮助延长 BMF 患者端粒长度、改善病情和预后,还有助于改善早衰综合征、肺纤维化、肝硬化等端粒相关疾病患者的治疗效果。

参考文献:

- [1] Shay JW. Telomeres and aging[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2018, 52: 1-7.
- [2] Martinez P, Blasco MA. Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216: 875-887.
- [3] Allegra A, Innao V, Penna G, *et al.* Telomerase and telomere biology in hematological diseases: A new therapeutic target[J]. *Leukemia Res*, 2017, 56: 60-74.
- [4] Maciejowski J, Lange TD. Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability[J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2017, 18: 175-186.
- [5] Roake CM, Artandi SE. Control of cellular aging, tissue function, and cancer by p53 downstream of telomeres[J]. *CSH Perspect Med*, 2017, 7. doi:10.1101/cshperspect.a026088.
- [6] Hrgovic I, Doll M, Kleemann J, *et al.* The histone deacetylase inhibitor trichostatin a decreases lymphangiogenesis by inducing apoptosis and cell cycle arrest via p21-dependent pathways [J]. *BMC cancer*, 2016, 16: 763. doi:10.1186/s12885-016-2807-Y.
- [7] Shires K, Xu LK, Rust A. Development of a multiplex assay to detect TERC and TERT mutations associated with immunosuppression therapy failure in Aplastic Anaemia patients[J]. *Int J Lab Hematol*, 2019, 41: e27-e31.
- [8] Shallis RM, Ahmad R, Zeidan AM. Aplastic anemia: etiology, molecular pathogenesis, and emerging concepts [J]. *Eur J Haematol*, 2018, 101: 711-720.
- [9] Wang C, Zhang T, Wang Y, *et al.* The shortening telomere length of T lymphocytes maybe associated with hyperfunction in severe aplastic anemia [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 1015-1021.
- [10] Gadalla SM, Wang T, Dagnall C, *et al.* Effect of recipient age and stem cell source on the association between donor telomere length and survival after allogeneic unrelated hematopoietic cell transplantation for severe aplastic anemia[J]. *Biol Blood Marrow Tr*, 2016, 22: 2276-2282.
- [11] Gadalla SM, Wang T, Haagenson M, *et al.* Association between donor leukocyte telomere length and survival after unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation for severe aplastic anemia[J]. *JAMA*, 2015, 313: 594-602.
- [12] Townsley DM, Dumitriu B, Liu D, *et al.* Danazol treatment for telomere diseases [J]. *New Engl J Med*, 2016, 374: 1922-1931.
- [13] Raval A, Behbehani GK, Thomas D, *et al.* Reversibility of defective hematopoiesis caused by telomere shortening in telomerase knockout mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10. doi:10.1371/journal.pone.0131722.
- [14] Bar C, Povedano JM, Serrano R, *et al.* Telomerase gene therapy rescues telomere length, bone marrow aplasia, and survival in mice with aplastic anemia [J]. *Blood*, 2016, 127: 1770-1779.
- [15] Williams J, Heppel NH, Britt-Compton B, *et al.* Telomere length is an independent prognostic marker in MDS but not in de novo AML [J]. *Brit J Haematol*, 2017, 178: 240-249.
- [16] Melguizo-Sanchis D, Xu Y, Taheem D, *et al.* iPSC modeling of severe aplastic anemia reveals impaired differentiation and telomere shortening in blood progenitors [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 128. doi:10.1038/s41419-017-0141-1.
- [17] Colla S, Ong DST, Ogoti Y, *et al.* Telomere dysfunction drives aberrant hematopoietic differentiation and myelodysplastic syndrome [J]. *Cancer Cell*, 2015, 27: 644-657.
- [18] Gadjji M, Pozzo AR. From cellular morphology to molecular and epigenetic anomalies of myelodysplastic syndromes [J]. *Gene Chromosome Canc*, 2019, 58: 474-483.
- [19] Shao Y, Qi X, Fu R, *et al.* Demonstration of IgG subclass (IgG1 and IgG3) in immuno-related hemocytopenia [J]. *Clin Lab*, 2018, 64: 1041-1048.
- [20] Stoopler ET, Shanti RM. Dyskeratosis Congenita [C]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94: 1668-1669.
- [21] Killick SB, Bown N, Cavenagh J, *et al.* Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia [J]. *Brit J Haematol*, 2016, 172: 187-207.