

[35] 卢华君,赵忠艳. 儿童 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏症 1 例[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(4): 354-355.

[36] 张彦良,曾娟,单志伟,等. $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏症 1 例并文献复习[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2011, 20(12): 1147-1148.

[37] 杨莹,刘艳,黄志华. $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏症合并胆道闭锁 1 例报告及文献复习[J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(8): 610-613.

[38] HSU P I, CHEN C H, HSIEH C S, et al. Alpha 1-antitrypsin precursor in gastric juice is a novel biomarker for gastric cancer and ulcer[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(3): 876-883.

[39] HSU P I, CHEN C H, HSIAO M, et al. Diagnosis of gastric malignancy using gastric juice $\alpha 1$ -antitrypsin[J].

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(2): 405-411.

[40] TAHARA E, ITO H, TANIYAMA K, et al. Alpha 1-antitrypsin, $\alpha 1$ -antichymotrypsin, and alpha 2-macroglobulin in human gastric carcinomas: a retrospective immunohistochemical study[J]. Human Pathol, 1984, 15(10): 957-964.

[41] ZELVYTE I, SJOGREN H O, JANCIAUSKIENE S. Effects of native and cleaved forms of 1-antitrypsin on ME 1477 tumor cell functional activity[J]. Cancer Detect Prev, 2002, 26(4): 256-265.

(收稿日期: 2018-01-13 修回日期: 2018-03-23)

• 综 述 •

端粒酶逆转录酶对神经系统疾病调控的研究进展*

李 爽 综述, 赵 娜[△] 审校

(华北理工大学实验动物中心, 河北唐山 063210)

摘 要: 端粒酶逆转录酶(TERT)作为端粒酶的核心组分之一,具有逆转录酶活性,调节端粒酶活性。同时,研究发现 TERT 具有神经保护效应,如在老年痴呆、脑缺血缺氧损伤、脑肿瘤等疾病中发挥调节作用。本文通过对 TERT 在神经系统疾病中的研究进展进行总结,旨在为深入研究 TERT 神经保护作用提供依据,便于寻找治疗神经系统疾病的新靶点。

关键词: 端粒酶逆转录酶; 老年痴呆; 脑缺血缺氧; 胶质瘤

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2018. 11. 022

中图法分类号: R-1; R392. 2

文章编号: 1673-4130(2018)11-1360-04

文献标识码: A

端粒酶作为一种反转录酶,能够添加 5' TTA GG G3' 重复序列到端粒末端,维持端粒长度,在癌症、细胞老化以及细胞损伤修复中发挥重要作用。端粒酶由端粒酶逆转录酶(TERT)、RNA 模板和其他相关蛋白组成,其活性成分 TERT 除了在端粒酶系统中发挥传统的功能外,还在神经元细胞中具有重要作用^[1]。近期研究表明, TERT 对细胞和脑损伤的动物模型具有神经保护效应。同时, TERT 参与神经元线粒体的活性氧减少和 DNA 保护过程^[2]。因此,探讨神经系统疾病中 TERT 的调控机制有助于深入了解神经系统疾病的发病机制,并为寻找潜在的神经治疗靶点提供参考。本文就 TERT 在几种重要神经系统疾病的调节机制的最新研究进展作一综述。

1 阿尔茨海默病

阿尔茨海默病又称老年痴呆,作为一种中枢神经系统退行性疾病,特征为老年斑、淀粉样蛋白(A β)沉积、tau 蛋白磷酸化导致的神经纤维缠结^[3]。目前全球超过 3 500 万人口深受其害^[1],其发病率随年龄的

增加而增高,成为仅次于心脑血管疾病和癌症的高发性疾病。

端粒酶在哺乳动物大脑中扮演相当重要的角色,并参与阿尔茨海默病的病理过程。研究发现,在氧化应激的情况下, TERT 从细胞核移向线粒体,以减少活性氧类(ROS)水平、DNA 损伤以及凋亡^[4]。在阿尔茨海默病患者(Braak 5 期)脑部海马区和氧化应激的神经元线粒体中, TERT 广泛存在,提示 TERT 通过定位于线粒体发挥神经保护作用。体外实验表明,相对于野生型鼠神经元,病理性 Tau 诱导的 TERT^{-/-}鼠神经元的 ROS 和氧化损伤水平都出现了增强。表达 TERT 的海马神经元无法检测到病理性 Tau,同样,表达高水平病理性 Tau 的神经元也无法检测到 TERT 的表达,表明 TERT 能够阻止病理性 Tau 在神经元的聚集^[1]。胚胎鼠海马神经元经 A β 处理并抑制 TERT 表达,细胞死亡增加,氧化应激水平上升,线粒体功能出现紊乱。相反, TERT 的过表达能提高 A β 处理细胞的抗凋亡能力^[5]。研究证实 TERT 在阿

* 基金项目:河北省 2017 年医学科学研究重点课题计划(20170891);华北理工大学 2015 年博士科研启动基金项目(28762399)。

[△] 通信作者, E-mail: zhaona0581@163. com。

本文引用格式:李爽,赵娜. 端粒酶逆转录酶对神经系统疾病调控的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(11): 1360-1363.

尔茨海默病模型中的神经保护作用, 以及其通过减少氧化产物、提高线粒体功能削弱病理性 Tau 的损伤。因此, 可以通过恢复 TERT 表达水平来阻止老年性神经退化, 而端粒酶激活剂的出现为神经退行性疾病的防治提供了新的方法。此外, $A\beta$ ($A\beta_{1-40}$ 和 $A\beta_{1-42}$) 聚集体能够抑制端粒酶活性, 深入研究发现 $A\beta$ 低聚物通过与端粒 DNA 和端粒酶 RNA 形成的 DNA-RNA 杂合体结合抑制端粒酶介导的端粒延伸^[6]。以上结果表明, $A\beta$ 寡聚物可能是潜在的端粒酶抑制剂。TERT 在阿尔茨海默病中的作用研究较少, 其机制研究仍有待深入, 但上述研究已初步表明 TERT 的重要作用, 同时也为阿尔茨海默病的治疗提供新的方向。

2 脑缺血缺氧性疾病

在成年脑组织中, TERT 表达很低甚至无法检测到表达, 但在脑缺血损伤模型中, TERT 被诱导表达。ZHANG 等^[7]在脑卒中永久性中动脉阻塞 (pMCAO) 模型中发现, TERT^{-/-} 鼠神经损伤更为严重, 梗死灶也相对较大, 且更易受到氧化应激影响, 表现为过氧化物增加, 谷胱甘肽水平降低。同时发现 TERT^{-/-} 鼠血脑屏障相关蛋白 Occludin、ZO-1 表达水平明显下调, 导致血脑屏障功能紊乱。更为重要的是, pMCAO 模型中 TERT 的缺失导致炎症因子的增加, 如肿瘤坏死因子 (TNF)- α , 白细胞介素 (IL)-1 β 和血管细胞黏附分子 (VCAM)-1。由于 TERT 缺失导致的血脑屏障紊乱、炎症反应和氧化应激改变与神经损伤、梗死灶体积增加具有相关性, 提示 TERT^{-/-} 鼠对缺血所致脑损伤的易感性更高, 表明 TERT 在缺血性脑卒中中对保护脑部具有重要作用。研究表明, TERT 的抗凋亡效应依赖于线粒体, 其潜在机制包括激活 Bcl-2 家族的促凋亡因子 Bax 的表达^[8]。在新生大鼠缺氧-缺血 (HI) 脑损伤模型中, 损伤后的 12 h 和 24 h, TERT 表达量出现了上调。抑制 TERT 表达诱导凋亡产生, 伴随着凋亡相关蛋白 caspase-3 的上调^[9], 提示 TERT 可能通过抑制 caspase-3 的活化发挥抗凋亡作用, 但具体机制仍需深入研究。同时, 在新生大鼠 HI 模型中, 孟鲁司特可能通过上调 TERT 和 Bcl-2 表达水平发挥保护效应^[10]。体外培养的神经元细胞经过 3 h 缺氧和缺葡萄糖 (OGD) 处理模拟 HI 损伤, 发现抑制 TERT 能显著促进 caspase-3 的表达和神经细胞的凋亡。同时, TERT 抑制导致 Bcl-2/Bax 表达概率降低, ROS 产物增加, 线粒体膜电位下降^[11]。数据表明, 在 OGD 模型中, TERT 可能通过调节 Bcl-2/Bax 表达, 减少 ROS 产生以及增加线粒体膜电位的方式发挥抗凋亡的机制。此外, KANG 等^[12]研究也发现, 过表达 TERT 的转基因鼠更能抵抗缺血造成的脑损伤, 拮抗 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 诱导的兴奋性毒性和氧化应激损伤均明显下降, 说明防止 NMDA 介导的神经毒性是 TERT 发挥神经保护作用的另一机制。

3 脑肿瘤

TERT 启动子突变在中枢神经系统肿瘤普遍存在, 多发生在胶质母细胞瘤和少突神经胶质瘤, 以及部分成神经管细胞瘤^[13]。对 799 例中国癌症患者的 TERT 启动子突变情况进行调查发现, TERT 启动子突变率在神经肿瘤明显增高, 胶质母细胞瘤为 83.9%, 少突神经胶质瘤为 70.0%, 髓母细胞瘤为 33.3%。在成人神经胶质瘤中, TERT 启动子突变与 TERT mRNA 表达及端粒酶活性上调高度相关^[14]。GENG 等^[15]通过 Meta 统计分析证实, TERT 突变与神经胶质瘤患者的不良预后具有相关性, 并可能导致患者的生存时间缩短。胶质母细胞瘤成年患者中, TERT 启动子突变频率显著增高, 同时伴随着端粒酶活性以及 TKT 和 Nrf2 水平出现上调。进一步研究发现, 在神经胶质瘤细胞中, 抑制 TERT 表达能降低 Nrf2 表达水平, Nrf2 过表达上调 TERT 的表达。Nrf2-TERT 调节磷酸戊糖通路, 进而通过影响细胞的生存、氧化还原内稳态和新陈代谢促进神经胶质瘤的发展进程^[16-17]。AHMAD 等^[18]发现 TERT 与 Zeste 基因增强子 (EZH2) 共同调节胶质瘤的脂代谢和 DNA 损伤。在 TERT 启动子突变的胶质瘤中, EZH2 表达上调。抑制 TERT 表达后, EZH2 表达也下调, 同时出现脂肪酶下调, 脂肪酸积累减少, ATM 磷酸化水平增加。反之, 小干扰 RNA (siRNA) 干扰 EZH2 表达也能引起 TERT 和脂肪酶表达下调。在异种移植胶质瘤小鼠模型中, 抑制 TERT 同样能减少脂肪堆积, 提高 ATM 的表达。该研究揭示 TERT 在神经母细胞瘤的又一非经典作用, 调节脂代谢和 DNA 损伤反应。此外, 端粒酶抑制剂 Imetelstat 能显著减小人神经母细胞瘤小鼠原位模型的肿瘤体积, 同时提高肿瘤对放射性治疗的反应性^[19]。该结果肯定了 Imetelstat 联合放射治疗 GBM 的临床价值。

TERT 在大多数神经母细胞瘤中呈现过表达, 但是研究证实 TERT 启动子突变频率在神经母细胞瘤中较低, 其与神经母细胞瘤发病机制没有直接关联^[20]。SAHM 等^[21]对 252 位脑膜瘤患者 TERT 启动子突变情况进行调查, 发现突变率高达 6.4%, 并且突变率与恶化程度及复发率成正比。因此, 建议将 TERT 启动子状态作为脑膜瘤分级的参考标准。

4 其他

NIU 等^[22]证实了在大鼠的脊髓运动神经元 (SMNs)、脑源性神经营养因子 (BDNF)/TrkB 及其下游信号通路 PI3K/AKT 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)/细胞外调节蛋白激酶 (ERK1/2) 参与了 TERT 表达和端粒酶活性的调节。BDNF 活化 PI3K/AKT 和 MAPK/ERK1/2 通路及其下游转录因子核因子 (NF)- κ B、Myc 和 Sp1, 转录因子的激活促进 TERT 的表达以及端粒酶活性的上调。同时发现 TERT 通过调节 Bcl-2、Bax、p53 和线粒体膜电位发挥

抗凋亡作用。上述研究结果表明,在 SMNs 中, BDNF 及其下游信号通路介导了 TERT 的抗凋亡作用。在肌萎缩性脊髓侧索硬化(ALS)患者中,研究发现 ALS 患者人端粒酶逆转录酶(hTERT)表达水平显著降低,与 p53 mRNA 或 p21 表达呈负相关,并且端粒酶活性的降低导致 ALS 患者白细胞端粒长度的缩短^[23]。同样,在超氧化物歧化酶 1(SOD1)转基因小鼠中, TERT 表达和端粒酶活性的上调延迟了 ALS 的发病和进展,并保护了脊髓运动神经元^[24]。但是 TERT 在 ALS 中的作用机制尚不明确。

TERT 作为端粒酶的重要组成部分,对多种损伤具有保护作用。但是 TERT 在人类中枢神经系统的作用尚不明确,其可能与神经退行性疾病的发病机制有关。在人神经系统肿瘤中, TERT 启动子的突变成为研究的热点。目前,大多数研究使用动物细胞模型研究 TERT 的脑功能,可能使用人脑细胞建立模型能更好地阐述 TERT 在人脑部的功能。此外,鉴定 TERT 的互作蛋白有助于更深入地了解 TERT 的神经保护机制。寻找新的复合物来增强脑组织中 TERT 表达和端粒酶活性,可能是治疗急性和慢性神经退行性疾病的潜在手段。

参考文献

- [1] SPILSBURY A, MIWA S, ATTEMS J, et al. The role of telomerase protein TERT in Alzheimer's disease and tau-related pathology in vitro [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(4):1659-1674.
- [2] GONZALEZ-GIRALDO Y, FORERO D A, ECHEVERRIA V, et al. Neuroprotective effects of the catalytic subunit of telomerase: a potential therapeutic target in the central nervous system[J]. *Ageing Res Rev*, 2016, 28: 37-45.
- [3] SPILMAN P R, CORSET V, GOROSTIZA O A, et al. Netrin-1 interrupts amyloid-beta amplification, increases sA beta PP alpha in vitro and in vivo, and improves cognition in a mouse model of alzheimer's disease [J]. *J Alzheim Dis*, 2016, 52(1):223-242.
- [4] SINGHAPOL C, PAL D, CZAPIEWSKI R, et al. Mitochondrial telomerase protects cancer cells from nuclear DNA damage and apoptosis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e52989.
- [5] ZHU H, FU W M, MATTSON M P. The catalytic subunit of telomerase protects neurons against amyloid beta-peptide-induced apoptosis[J]. *J Neurochem*, 2000, 75(1): 117-124.
- [6] WANG J S, ZHAO C Q, ZHAO A D, et al. New in sights in amyloid beta interactions with human telomerase[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(3): 1213-1219.
- [7] ZHANG B, CHEN L, SWARTZ K R, et al. Deficiency of telomerase activity aggravates the Blood-Brain barrier disruption and neuroinflammatory responses in a model of experimental stroke[J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(13): 2859-2868.
- [8] MASSARD C, ZERMATI Y, PAULEAU A L, et al. hTERT: a novel endogenous inhibitor of the mitochondrial cell death pathway[J]. *Oncogene*, 2006, 25(33): 4505-4514.
- [9] ZHAO F Y, QU Y, XIONG T, et al. The neuroprotective role of TERT via an antiapoptotic mechanism in neonatal rats after hypoxia-ischemia brain injury[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 515(1): 39-43.
- [10] LIU J L, ZHAO X H, ZHANG D L, et al. Effect of montelukast on the expression of interleukin-18, telomerase reverse transcriptase, and Bcl-2 in the brain tissue of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(3): 8901-8908.
- [11] LI J, QU Y, CHEN D, et al. The neuroprotective role and mechanisms of TERT in neurons with oxygen-glucose deprivation[J]. *Neuroscience*, 2013, 252(16): 346-358.
- [12] KANG H J, CHOI Y S, HONG S B, et al. Ectopic expression of the catalytic subunit of telomerase protects against brain injury resulting from ischemia and NMDA-induced neurotoxicity[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(6): 1280-1287.
- [13] REITMAN Z J, PIROZZI C J, YAN HAI. Promoting a new brain tumor mutation: TERT promoter mutations in CNS tumors [J]. *Acta Neuropathol*, 2013, 126(6): 789-792.
- [14] HUANG D S, WANG Z H, HE X J, et al. Recurrent TERT promoter mutations identified in a large-scale study of multiple tumour types are associated with increased TERT expression and telomerase activation[J]. *Eur J Cancer*, 2015, 51(8): 969-976.
- [15] GENG P L, ZHAO X X, OU J J, et al. TERT genetic mutations as prognostic marker in glioma[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(5): 3665-3669.
- [16] KILLELA P J, REITMAN Z J, JIAO Y C, et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(15): 6021-6026.
- [17] AHMAD F, DIXIT D, SHARMA V, et al. Nrf2-driven TERT regulates pentose phosphate pathway in glioblastoma[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e2213.
- [18] AHMAD F, PATRICK S, SHEIKH T, et al. TERT-EZH2 network regulates lipid metabolism and DNA damage responses in glioblastoma [J]. *J Neurochem*, 2017, 143(6): 671-683.
- [19] FERRANDON S, MALLEVAL C, EL HAMDANI B A, et al. Telomerase inhibition improves tumor response to radiotherapy in a murine orthotopic model of human glioblastoma[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 134.
- [20] LINDNER S, BACHMANN H S, ODESKY A, et al. Absence of telomerase reverse transcriptase promoter mutations in neuroblastoma[J]. *Biomed Rep*, 2015, 3(4): 443-446.

- [21] SAHM F, SCHRIMPF D, OLAR A, et al. TERT promoter mutations and risk of recurrence in meningioma[J]. J Natl Cancer Inst, 2015, 108(5). doi: 10.1093/jnci/djv377.
- [22] NIU C C, YIP H K. Neuroprotective signaling mechanisms of telomerase are regulated by brain-derived neurotrophic factor in rat spinal cord motor neurons[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2011, 70(7): 634-652.
- [23] DE FELICE B, ANNUNZIATA A, FIORENTINO G A,

et al. Telomerase expression in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients[J]. J Hum Genet, 2014, 59(10): 555-561.

- [24] EITAN E, TICHON A, GAZIT A, et al. Novel telomerase-increasing compound in mouse brain delays the onset of amyotrophic lateral sclerosis[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(4): 313-329.

(收稿日期: 2018-01-14 修回日期: 2018-03-24)

• 综述 •

血小板功能检测及其临床应用*

程秀丽 综述, 张 颺[△] 审校

(天津市神经外科研究所天津市脑血管病和神经变性重点实验室/天津市环湖医院医学检验科, 天津 300350)

摘要: 随着人们生活水平的提高及人口老龄化的出现, 心脑血管疾病已成为危害人类健康的第一杀手, 其病理基础是动脉硬化及其继发的血栓形成和栓塞, 血小板在血栓形成过程中发挥了重要作用。因此, 抗血小板治疗是该类疾病一级和二级预防的重要措施。然而不同患者对同等剂量抗血小板药物治疗的反应性存在差异, 在规范用药基础上, 仍有患者出现心血管不良事件, 即抗血小板药物抵抗现象。因此, 对抗血小板药物的效应进行个体化预测具有重要意义。临床上已有多种手段可以监测血小板功能, 那么血小板功能实验预测心血管病人血栓与出血风险的能力如何? 能否依据血小板功能实验来调整药物剂量或更换抗血小板药物? 本文简要概述血小板功能及检测方法, 并结合最新研究进展重点关注血小板功能检测在临床中的应用, 为临床合理使用抗血小板药物进行个体化治疗提供一定的参考。

关键词: 抗血小板药物; 阿司匹林/氯吡格雷抵抗; 血小板功能检测; 临床应用

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.11.023

中图法分类号: R446.11

文章编号: 1673-4130(2018)11-1363-05

文献标识码: A

心脑血管疾病已成为危害人类健康的第一杀手, 其病理基础是动脉硬化及其继发的血栓形成和栓塞, 血小板在血栓形成过程中发挥了重要作用。抗血小板治疗是该类疾病一级和二级预防的重要措施。然而不同患者对同等剂量抗血小板药物治疗的反应性存在差异, 因此, 对抗血小板药物的效应进行个体化预测具有重要意义。临床上已有多种手段可以监测血小板功能, 本文简要综述血小板功能、检测方法及应用。

1 血小板功能及抗血小板药物

血小板是骨髓巨核细胞裂解脱落下来的小块细胞质, 参与凝血与止血过程。正常情况下血小板以静息状态存在于血循环中。当血管损伤暴露血管内皮下胶原后激活血小板, 使血小板聚集黏附到血管壁。凝血因子与血小板膜上受体结合后, 通过第二信使引起血小板的黏附、聚集和释放反应。血小板释放颗粒中各种与凝血有关的因子, 增强和扩大凝血作用。血小板的功能实现依赖于其表面的各种受体, 包

括与胶原结合的糖蛋白 GPVI 和整合素 $\alpha 2\beta 1$ 、与血管性血友病因子(vWF)结合的 GP I b-IX-V、与聚集作用有关的糖蛋白 GP II b/III a、凝血酶的受体糖蛋白 PAR/GP I b/GP V、激活相关的 PAR/P2Y₁₂/5-HT_{2A}/TP 等。因此, 针对各种受体的拮抗剂或抗体能够抑制血小板聚集, 成为抗血小板药物作用的靶点。

目前, 美国食品药品监督管理局(FDA)批准的抗血小板药物见表 1。阿司匹林和氯吡格雷在预防和治疗心血管疾病方面, 仍是广泛应用的常规药。尽管长期服用常规剂量, 仍有部分患者血小板活性得不到很好的抑制, 此现象称为“阿司匹林抵抗”或“氯吡格雷抵抗”。导致阿司匹林抵抗的原因可能包括患者依从性差, 环氧酶基因多态性, 同时服用某些非甾体抗炎药(NASID)如布洛芬、萘普生等。近期有研究表明, 药理学上的阿司匹林抵抗是非常罕见的, 所谓“抵抗”是由于肠溶制剂吸收减少或释放延迟造成的^[1]。但这个“假抵抗”结论来源于健康人的调查研究, 针对心

* 基金项目: 天津市卫生行业重点攻关项目(16KG161)

[△] 通信作者, E-mail: zhangbiao0902@aliyun.com。

本文引用格式: 程秀丽, 张颺. 血小板功能检测及其临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(11): 1363-1367.