

## • 基础研究 •

人 *TERT* 基因启动子区生物信息学分析\*夏得淳, 雷子贤, 赵娟, 李婷婷, 赵娟, 康晓静<sup>△</sup>

832000 新疆 石河子, 石河子大学 医学院(夏得淳); 830001 乌鲁木齐, 新疆维吾尔自治区人民医院 皮肤性病科(雷子贤、赵娟、李婷婷、赵娟、康晓静)

[摘要] 目的: 探讨人端粒酶逆转录酶基因启动子区的序列特征、转录因子及其结合位点。方法: 从 NCBI 数据库中获取人 *TERT* 基因组序列及其启动子序列; 利用 EMBOSS 6.6.0、CpG finder 1.0 和 MethPrimer 1.0 软件预测启动子区 CpG 岛的位置; 利用 Patch 1.0 和 PROMO 3.0.2 软件预测可与 *TERT* 基因结合的潜在转录因子及结合位点。结果: *TERT* 基因定位于 5p15.33, 基因序列全长共 41 881 bp, 其启动子位于 *TERT* 基因 5' 端上游 2 500 bp 处, 全长 2 043 bp。 *TERT* 基因启动子区可能存在 2 个 CpG 岛和 118 个转录因子。结论: 通过生物信息学软件对 *hTERT* 基因启动子进行预测分析, 可提高对 *hTERT* 基因启动子的研究效率, 以便更加深入了解 *hTERT* 基因的调控机制及其生物学功能。

[关键词] 人 *TERT* 基因; 启动子; CpG 岛; 转录因子

[中图分类号] Q527; Q754 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.03.003

引文格式: Xia DC, Lei ZX, Zhao J, et al. Bioinformatic analysis of human *TERT* gene promoter region [J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(3): 215-223. [夏得淳, 雷子贤, 赵娟, 等. 人 *TERT* 基因启动子区生物信息学分析[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(3): 215-223.]

Bioinformatic Analysis of Human *TERT* Gene Promoter Region

Xia Dechun, Lei Zixian, Zhao Juan, Li Tingting, Zhao Juan, Kang Xiaojing

Medical College, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China (Xia Dechun); Department of Dermatology and Sexually Transmitted Diseases, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China (Lei Zixian, Zhao Juan, Li Tingting, Zhao Juan, Kang Xiaojing)

Corresponding author: Kang Xiaojing, E-mail: drkangxj666@163.com

This study was supported by Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, China (NO. 2016D01C101).

[Abstract] **Objective:** To investigate sequence characteristics, transcription factors and binding sites of human telomerase reverse transcriptase (*TERT*) gene promoter region. **Methods:** The sequence of human *TERT* gene and its promoter sequence were obtained from National Center for Biotechnology Information. The position of CpG island in the promoter region was predicted by EMBOSS 6.6.0, CpG finder 1.0 and MethPrimer 1.0. Potential transcription factors binding to *TERT* and their binding sites were predicted by Patch 1.0 and PROMO 3.0.2. **Results:** The sequence of the *TERT* gene was located at 5p15.33, and the full length of the sequence was 41,881 bp. The promoter was located in the 2,500 bp upstream of the 5' end of the *TERT* gene, and the full length of it was 2,043 bp. There might be two CpG islands and 118 transcription factors in the promoter region of the *TERT* gene. **Conclusion:** Predictive analysis of human *TERT* gene promoter by bioinformatics software can improve the efficiency in studying human *TERT* gene promoter, so as to understand regulatory mechanisms and biological functions of human *TERT* gene.

[Key words] Human *TERT* gene; Promoter region; CpG island; Transcription factor

[收稿日期] 2019-11-11 [修回日期] 2020-03-08

[基金项目] \*新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号:2016D01C101)

[通讯作者] <sup>△</sup>康晓静, E-mail: drkangxj666@163.com

端粒酶是一种由催化亚基、端粒酶逆转录酶 (telomerase reverse transcriptase, *TERT*) 和 RNA 组分

(telomerase RNA component, TERC)组成的核糖核蛋白复合物,通过维持端粒稳态和染色体完整性而发挥作用。*TERT* 基因编码端粒酶的限速催化亚单位,可维持基因组的完整性。除了生殖干细胞和造血干细胞外,人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, *hTERT*)基因在人体正常细胞中不表达,但在肿瘤组织中高表达<sup>[1]</sup>。有研究表明,*hTERT* 基因参与多种肿瘤的进展,在 80% ~ 90% 的恶性肿瘤中均可检测上调的 *hTERT* 基因,其启动子区突变与肿瘤的增殖和侵袭也有密切的联系<sup>[2]</sup>。除调控端粒酶转录活性之外,*TERT* 基因也可通过与 P65、 $\beta$ -catenin 等转录因子相互作用等方式调控除端粒酶之外的其他相关基因的表达,并可调控核转录因子(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路和 canonical Wnt/ $\beta$ -catenin pathway 通路中的某些基因转录程序<sup>[3]</sup>。然而目前对于 *hTERT* 基因自身的转录调控机制尚未完全清楚,进一步研究其转录调控机制可为 *hTERT* 基因在肿瘤发生、发展中的作用提供思路。本研究利用生物信息学分析的方法,使用不同的生物信息学软件对 *hTERT* 基因序列及其启动子区进行分析,预测 *hTERT* 基因启动子区 CpG 岛的位置以及转录因子结合位点,旨在为 *hTERT* 基因的转录调控机制及其生物学功能的探索提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 *hTERT* 基因组及其启动子区序列

*hTERT* 基因 Gene ID 为 7015,定位于 5 号染色体短臂(5p15.33),基因全长 41 881 bp。*hTERT* 基因启动子区 genbank 编码: AF098956.1,长度为 2 043 bp。

### 1.2 数据库和程序

美国国立生物信息中心数据库(National Center for Biotechnology Information, NCBI): (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)。CpG 岛预测软件: EMBOSS 6.6.0 (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/>), CpG finder 1.0 (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=cpgfinder&group=programs&subgroup=promoter>), MethPrimer 1.0 (<http://www.urogene.org/methprimer/>)。转录因子结合位点预测软件: Patch 1.0 (<http://gene-regulation.com/cgi-bin/pub/programs/patch/bin/patch.cgi>), PROMO 3.0.2 (<http://alggen.lsi.upc.es/>)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 *hTERT* 基因序列及其启动子序列的获取

在 NCBI 数据库中检索 *hTERT* 基因,得到其基因 ID 为 7015,采用 FASTA 格式对基因序列信息进行储存。在 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/?term> 数据库中检索 *hTERT* 基因及其启动子序列,得到 *hTERT* 基因 mRNA 序列的登录号为 NM\_198253.2,启动子区序列 genbank 号为: AF098956.1,长度共 2 043 bp,采用 FASTA 格式对启动子区序列信息进行储存。

1.3.2 *hTERT* 基因启动子区 CpG 岛分析 将获得的 *hTERT* 基因启动子区序列分别上传至 EMBOSS 6.6.0, CpG finder 1.0, MethPrimer 1.0 三个在线预测软件中,按照默认条件(CpG 岛最短长度 200 bp, GC 含量最低为 50%,最小观测值为 0.6 等)进行预测分析。

1.3.3 *hTERT* 基因启动子区转录因子结合位点预测 登录 gene-regulation 网站后,将 *hTERT* 启动子序列上传至 Patch 1.0 预测软件,设置参数为 set of site 选择 vertebrates, Lower score boundary 设置为 90,其余按默认设置进行检索。PROMO 3.0.2 在线软件参数设置:“Selectspecies”中均选择为“Only human factors”,“SearchSites”中“Maximum matrix dissimilarity rate”设为 5%,将 *TERT* 启动子序列上传并进行预测。

## 2 结果

### 2.1 *hTERT* 基因及其启动子特征

*hTERT* 基因在 genbank 中的登录号为 NC\_000005.10,基因组序列全长为 41 881 bp(chromosome 5: 1253167.. 1295047),由 15 个内含子和 16 个外显子组成。其转录的 mRNA 全长 4 018 bp,编码 1 132 个氨基酸组成。*hTERT* 基因启动子区 GC 含量较高,无 TATA 盒和 CAAT 盒,启动子区序列全长 2 043 bp(chromosome 5: 1294667.. 1296709),其核心启动子区位于翻译起始位点上游 330 bp 至第二外显子 37 bp 内。

### 2.2 *hTERT* 基因 CpG 岛预测

2.2.1 EMBOSS 预测结果 使用 EMBOSS 6.6.0 在线预测软件对启动子区序列进行预测,预测条件设定为观察值/预期值 > 0.60, (G + C)% > 50.00%,长度 > 200 bp。结果共发现两个 CpG 岛,第一个位于 974 ~ 1 223 bp 之间,长度为 250 bp;第二个位于 1 242 ~ 1 987 bp 之间,长度为 746 bp(图 1)。

2.2.2 CpG finder 预测结果 按照上述预测标准使用 CpG finder 1.0 在线预测软件对 *TERT* 基因启

动子序列进行预测,共发现一个 CpG 岛,位于 1 353 ~ 1 965bp 之间, CpG 岛的 (G + C) = 79.3%, 观察值/预期值 = 0.854, 长度为 613 bp(图 2)。

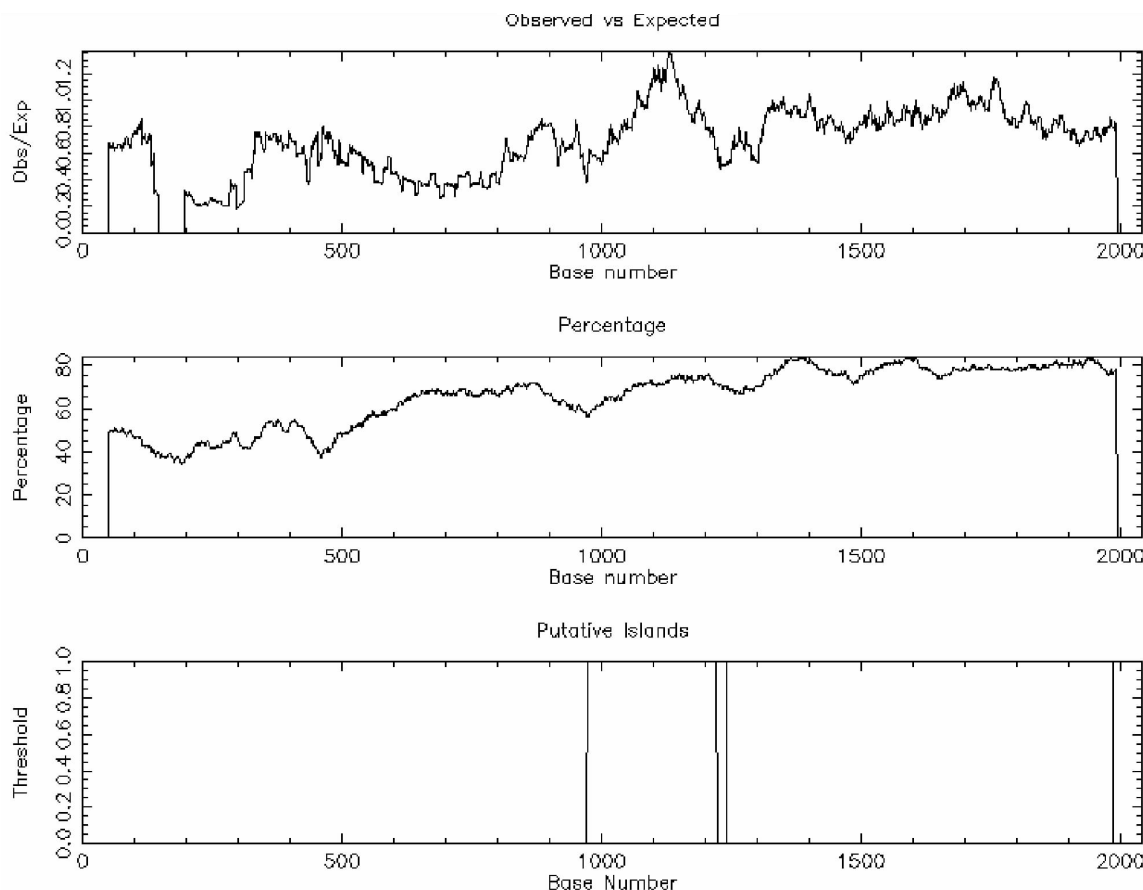


图 1 EMBOSS 6.6.0 软件预测的甲基化 CpG 岛图谱  
Figure 1. Methylated-CpG Islands Predicted by EMBOSS 6.6.0

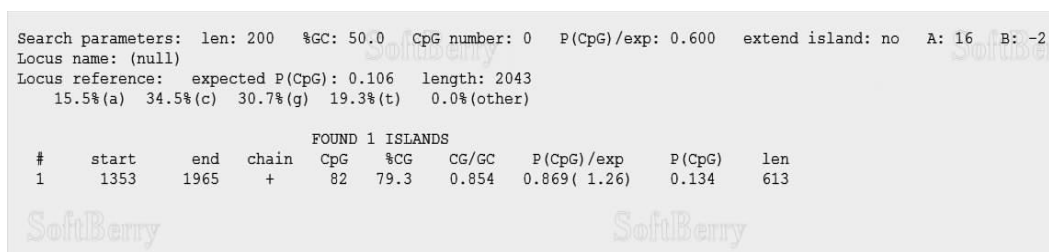


图 2 CpG finder 1.0 软件预测的甲基化 CpG 岛图谱  
Figure 2. Methylated-CpG Islands Predicted by CpG Finder 1.0

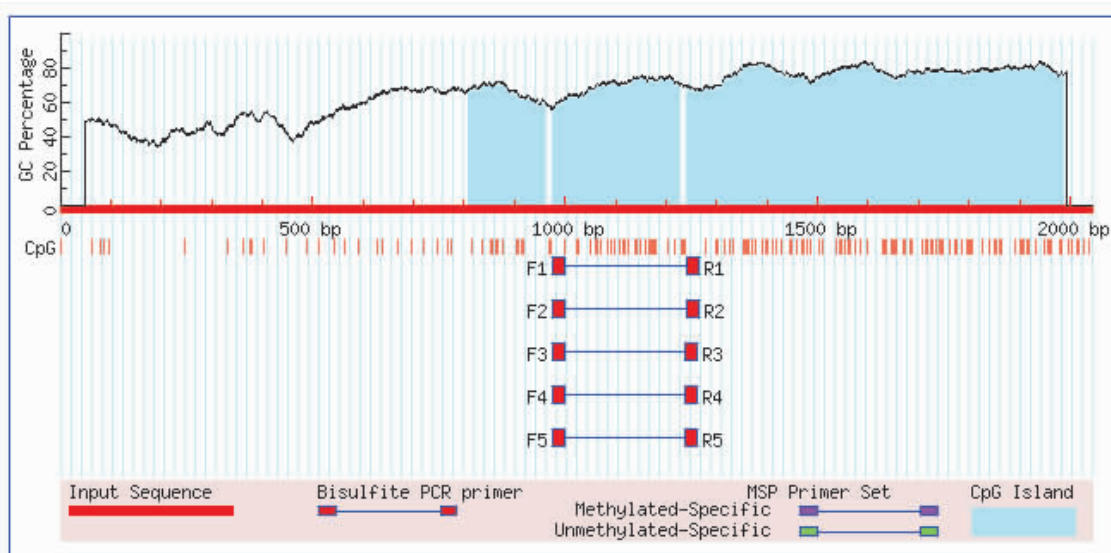
2.2.3 MethPrimer 预测结果 使用 MethPrimer 1.0 在线预测软件在默认条件下进行检索,结果共发现 3 个 CpG 岛,第一个位于 807 ~ 959 bp 之间,长度为 153 bp,第二个位于 974 ~ 1 223 bp 之间,长度为 250 bp;第三个位于 1 242 ~ 1 987 bp 之间,长度为 746 bp(图 3)。因 CpG 岛的片段长度一般大于 200 bp,故结果中长度为 153 bp 的 CpG 岛不被纳入。

综合以上三种预测软件分析,在相同的预测标准下,EMBOSS 与 MethPrimer 的结果较为相似,预测出的部分 CpG 岛位置相同,而 CpG finder 虽然只预

测出了一个 CpG 岛,但此 CpG 岛所在的位置与其他两种软件所预测的基本一致。

### 2.3 hTERT 基因转录因子及结合位点预测

2.3.1 Patch 程序预测结果 利用 Patch 1.0 程序搜索 TRANSFAC 数据库,共获得 1 769 个转录因子结合位点(包括小鼠和人类),经筛选后共得到 911 个人类的转录因子结合位点,手工汇总去重后共得到 95 个转录因子,主要包括 AP-1、AP-2、CTCF、FOR1、GATA-1、P58、PXR-1、RAR-alpha1、Sp1、TCF-1A、TCF-4 等(表 1)。



Sequence Name:  
 Sequence Length: 2043

CpG island prediction results  
 (Criteria used: Island size > 100, GC Percent > 50.0, Obs/Exp > 0.6)  
 3 CpG island(s) were found in your sequence

	Size	(Start - End)
Island 1	153 bp	(807 - 959)
Island 2	250 bp	(974 - 1223)
Island 3	746 bp	(1242 - 1987)

图3 MethPrimer 1.0 软件预测的甲基化 CpG 岛图谱  
 Figure 3. Methylated CpG Islands Predicted by MethPrimer 1.0

表1 Patch 1.0 预测的 95 个转录因子  
 Table 1. 95 Transcription Factors Predicted by Patch 1.0

95 transcription factors predicted by Patch 1.0
AML1, AML1a, AML1c, AP-1, mAP-2, AP-2alphaA, AP-4, ARP-1
CAR, c-Ets-1, c-Ets-2, c-Fos, c-Jun, c-Myb, c-Myc, CNBP, CPI, CREB, Crx, CTCF
E12, E2F, E2F + p107, E2F-1, ER-alpha, EZF-2
FOR1, FOR2, FXR
gammaCAC1, GATA-1, GR, GR-alpha
H4TF-1, H4TF-2, HIF-1, HiNF-A, HiNF-C, HNF-1, HNF-1A, HNF-1B, HNF-3alpha, HNF-3B, hnRNP K, Hp55, Hp65
ISGF-3, LEF-1, LF-A1, LUN-1, LXR-alpha
Max, MAZ, Meis-2a, Meis-2b, MTF-1, MZF-1
NF-1/L, NFAT-1, NF-ATp, NF-E, NF-E3, NIP
P58, Pax-2, Pax-5, Pax-8, Pbx-1a, Pbx-1b, PEA3, POU1F1a, PPUR, PXR-1
RAR-alpha1, RXR-alpha
SMAD-3, SMAD-4, Sp1, Sp2, Sp3, Sp4, SRY
T3R, TBP, TCF-1A, TCF-4, TCF-4E, TFIID, TR2-11
USF1, USF2
VDR
WT1
YY1
ZFX

2.3.2 PROMO 预测结果 PROMO 3.0.2 在线软件使用 TRANSFAC 数据库 8.3 版构建特定的结合位点权重矩阵,共预测出 302 个转录因子结合位点,表 2 PROMO 3.0.2 软件预测的 48 个转录因子

手工筛选后共得到 48 个转录因子(表 2)。与 Patch 1.0 程序预测结果汇总并去重后,共得到 118 个转录因子,结果如表 3 所示。

Table 2. 48 Transcription Factors Predicted by PROMO 3.0.2

Name	Matrix	Width	Name	Matrix	Width
RXR-alpha	[ T01345 ]	7	TCF-4E	[ T02878 ]	7
YY1	[ T00915 ]	4	GR	[ T05076 ]	7
GATA-1	[ T00306 ]	6	c-Jun	[ T00133 ]	7
C/EBPbeta	[ T00581 ]	4	E2F-1	[ T01542 ]	8
GR-beta	[ T01920 ]	5	EBF	[ T05427 ]	11
XBP-1	[ T00902 ]	6	GCF	[ T00320 ]	9
AP-2alphaA	[ T00035 ]	6	c-Myc	[ T00140 ]	6
STAT4	[ T01577 ]	6	USF1	[ T00874 ]	10
c-Ets-1	[ T00112 ]	7	ENKTF-1	[ T00255 ]	8
TFIID	[ T00820 ]	7	T3R-beta1	[ T00851 ]	9
HNF-3alpha	[ T02512 ]	8	Ik-1	[ T02702 ]	13
C/EBPalph	[ T00105 ]	7	MAZ	[ T00490 ]	13
FOXP3	[ T04280 ]	6	Elk-1	[ T00250 ]	9
HNF-1A	[ T00368 ]	8	HIF-1	[ T01609 ]	9
NF-1	[ T00539 ]	8	PPAR-alpha ; RXR-alpha	[ T05221 ]	11
NF-AT2	[ T01945 ]	10	NF-kappaB1	[ T00593 ]	11
NF-AT1	[ T01948 ]	10	c-Ets-2	[ T00113 ]	9
Sp1	[ T00759 ]	10	RAR-beta	[ T00721 ]	10
p53	[ T00671 ]	7	PRB	[ T00696 ]	7
Pax-5	[ T00070 ]	7	PRA	[ T01661 ]	7
GR-alpha	[ T00337 ]	5	c-Myb	[ T00137 ]	8
TFII-I	[ T00824 ]	6	HNF-1C	[ T01951 ]	9
NF-AT1	[ T00550 ]	9	HNF-1B	[ T01950 ]	9
ER-alpha	[ T00261 ]	5	TCF-4	[ T02918 ]	10

表 3 Patch 1.0 和 PROMO 3.0.2 软件预测结果汇总

Table 3. Results Predicted by Patch 1.0 and PROMO 3.0.2

118 transcription factors
AML1, AML1a, AML1c, AP-1, AP-2, AP-2alphaA, AP-4, ARP-1
C/EBPalph, C/EBPbeta, CAR, c-Ets-1, c-Ets-2, c-Fos, c-Jun, c-Myb, c-Myc, CNBP, CP1, CREB, Crx, CTCF
E12, E2F, E2F + p107, E2F-1, EBF, Elk-1, ENKTF-1, ER-alpha, EZF-2
FOR1, FOR2, FOXP3, FXR
gammaCAC1, GATA-1, GCF, GR, GR-alpha, GR-beta
H4TF-1, H4TF-2, HIF-1, H1NF-A, H1NF-C, HNF-1, HNF-1A, HNF-1B, HNF-1C, HNF-3alpha, HNF-3B, hnRNP K, Hp55, Hp65
IK-1, ISGF-3
LEF-1, LF-A1, LUN-1, LXR-alpha
Max, MAZ, Meis-2a, Meis-2b, MTF-1, MZF-1
NF-1, NF-1/L, NFAT-1, NF-AT1, NF-AT2, NF-ATp, NF-E, NF-E3, NF-kappaB1, NIP

(Continued from previous page)

**118 transcription factors**

P53, p58, Pax-2, Pax-5, Pax-8, Pbx-1a, Pbx-1b, PEA3, POU1F1a, PPAR-alpha;RXR-alpha, PPUR, PRA, PRB, PXR-1

RAR-alpha1, RXR-alpha, RAR-beta

SMAD-3, SMAD-4, Sp1, Sp2, Sp3, Sp4, SRY, STAT4

T3R, T3R-beta1, TBP, TCF-1A, TCF-4, TCF-4E, TFIIID, TFII-I, TR2-11

USF1, USF2

VDR

WT1

XBP-1

YY1

ZFX

**3 讨论**

*hTERT* 基因定位于 5 号染色体短臂 (5p15.33), 在约 90% 以上的肿瘤中均可检测到 *hTERT* 基因的表达, 其表达增加可恢复端粒酶的活性, 并可通过基因组重排、启动子突变以及其他表观遗传学机制维持端粒长度, 从而调控细胞的衰老和肿瘤的发生<sup>[4-5]</sup>。已有研究证实, *hTERT* 基因的表达可参与乳腺癌<sup>[6]</sup>、肺癌<sup>[7]</sup>、甲状腺癌<sup>[8]</sup> 以及黑素瘤<sup>[9]</sup> 等肿瘤的发生, 并且 *hTERT* 基因启动子的突变均与这些肿瘤的发生、发展及预后密切相关。

启动子一般位于转录起始位点上游, 能够指导 RNA 聚合酶 II 募集和转录起始, 是调控基因表达的重要组成部分, 对基因启动子的鉴定及相关研究, 对基因的转录调控具有重要意义。有研究者在黑素瘤中发现了非编码 *TERT* 基因启动子突变, 这些突变是 *TERT* 基因核心启动子 chr5:1295228 (C228T) 和 chr5:1295250 (C250T) 处反复发生的 C > T 突变, 从而导致新的 ETS 转录因子结合位点的发生, 这些突变同时导致 *TERT* 基因表达成倍增加<sup>[10]</sup>。C228T 和 C250T 处反复出现的突变表明, *hTERT* 基因启动子突变可能是黑素瘤和其他类型肿瘤发生的早期遗传事件。对 *hTERT* 基因启动子区域进行初步预测, 可更好的为基因转录调控机制提供理论依据。近年来, 随着生物信息学的迅猛发展, 多种应用于生物信息分析的软件和方法日渐成熟, 通过生物信息学预测启动子相关信息和分析启动子序列及其调控元件, 可以为启动子深入研究奠定基础, 也可为后续的实验提供理论依据。

DNA 甲基化是胞嘧啶的一种表观遗传修饰, 哺乳动物 DNA 甲基化主要出现在 CpG 二核苷酸的胞嘧啶残基上。正常细胞中 DNA 甲基化可维持染色

质结构的稳定性, 并且在基因的表达、胚胎发育、细胞的增殖及衰老等生物学进程的调控中起到重要作用。而在肿瘤细胞中, DNA 甲基化的异常变化则可导致基因表达谱的改变, 往往表现为抑癌基因 CpG 岛区域高甲基化、微小 RNA (miRNA)、肿瘤抗原以及内源性逆转录病毒等表达缺失, 使抑癌基因的表达减少, 最终可导致肿瘤发生<sup>[11-12]</sup>。

正常情况下, DNA 高甲基常常导致转录抑制和基因表达降低, 低甲基化时则会导致基因表达的增加。然而有研究者发现, 在某些肿瘤组织中, 如黑素瘤<sup>[13]</sup>、口腔鳞癌<sup>[14]</sup>、肝癌<sup>[15]</sup> 和胃癌<sup>[16]</sup> 中, *hTERT* 基因的表达水平增高, 且伴随着 *hTERT* 基因启动子区高甲基化水平, 且 *hTERT* 基因启动子区甲基化程度与肿瘤的侵袭程度和更差的预后有关。这种 CpG 岛高甲基化对应基因高表达, 低甲基化对应基因低表达的现象也是近年来的研究热点之一。对 *hTERT* 基因启动子区域 CpG 岛进行预测分析可为后续的相关性研究提供一定理论依据。本研究利用 EMBOSS 6.6.0、CpG finder 1.0 以及 MethPrimer 1.0 三种不同预测软件对 *hTERT* 基因启动子区 CpG 岛进行分析, EMBOSS 6.6.0 软件和 MethPrimer 1.0 在线软件预测出的结果较为相似, 且两种软件的预测结果中均包含有 CpG finder 1.0 软件所分析出的 CpG 岛位点, 故综合三种预测软件的结果, *hTERT* 基因启动子区域共含有两个 CpG 岛, 分别位于 974 ~ 1 223 bp 和 1 242 ~ 1 987 bp 之间。Horikawa 等研究者在 1999 年使用 GRAIL 预测软件得到 *hTERT* 基因启动子 CpG 岛位点位于 857 ~ 1 995 bp 之间, 与本次实验所预测出的 CpG 位点基本相符<sup>[17]</sup>。但由于生物信息学技术的不断更新, 以及各种生物数据库资料的不断完善, CpG 岛预测软件得到的结果会更加精确。并且, 使用 Methprimer 预测软件预测 CpG

岛的同时还可以针对每一个 CpG 岛设计用于亚硫酸氢盐 DNA 甲基化分析的 PCR 引物,可为表观遗传学方面的研究提供高效、便捷的技术手段<sup>[18]</sup>。

转录因子(transcription factors, TF)是基因调控网络的关键组成部分,可通过特异性结合启动子和其他基因调控区以调控基因表达。每个转录因子通常识别一组相似的 DNA 序列,这些序列可以使用位置权重矩阵等模型表示为结合位点模序,了解转录因子结合位点模序的特征是掌握转录因子调控功能的重要步骤<sup>[19]</sup>。转录因子结合位点长度一般为 5~20 bp,随着生物实验验证的转录因子结合位点的不断积累,近几年出现了多个收集转录因子结合位点的数据库,如 JASPAR、HOCOMOCO、TRANSFAC 等数据库<sup>[19]</sup>。TRANSFAC 数据库收录了有关真核生物的转录因子,转录因子序列及其与真核生物 DNA 的结合位点等信息。Patch 1.0 软件是在 TRANSFAC 数据库中基于模式匹配的方式在一段序列中发现与模体匹配的位置,并为每一个位置进行赋分以评估匹配的质量<sup>[20]</sup>。但由于在使用 Patch 1.0 软件预测时虽然将物种的筛选条件设置为哺乳动物,检索后再次经人工筛选出物种为人类的转录因子,但其预测结果的假阳性仍相对较高。而 PROMO 3.0.2 软件可从指定的物种或物种组的 DNA 序列中识别潜在的转录因子结合位点,并且在预测时可直接将物种选择人类作为预测条件,在一定程度上能够降低结果的假阳性率<sup>[21]</sup>。本实验使用 Patch 1.0 程序和 PROMO 3.0.2 程序对 *hTERT* 基因启动子区序列在 TRANSFAC 数据库中进行比对预测,经汇总去重后共得到 118 个转录因子结合位点。其中多个转录因子结合位点已被相关研究者证实为在肿瘤发病机制、治疗及预后中具有重要作用<sup>[22]</sup>。如 Song 等<sup>[23]</sup>发现,转录因子 AP-4 可以激活 canonical Wnt/ $\beta$ -catenin pathway 信号通路及其下游信号靶点,从而增加肝癌细胞的成瘤能力。而转录因子 AP-1 则在某些自身免疫性疾病及恶性肿瘤中均有重要调节作用<sup>[24]</sup>。转录因子 c-Myc 的表达与喉鳞状细胞癌术后肿瘤复查率呈正相关<sup>[25]</sup>。并且本次预测结果中的多个转录因子结合位点已有相关研究证实可以参与调控 *hTERT* 基因的表达,如 AP-1、c-Myc、CTCF、HIF-1、SP-1、VDR、WT1 等(表 4)但由于 *hTERT* 基因调控机制较为复杂,其中部分转录因子结合位点只在 *hTERT* 基因调控网络中的一小环节中发挥作用,并且另有一部分参与调控 *hTERT* 基因表达的转录因子结合位点目前尚未发现。由于目前

应用软件只能分析数据库中已知的转录因子结合位点,而对于目的基因启动子区域新的或尚未发现的转录因子结合位点无法预测,故此方法具有一定局限性。生物信息学软件所得到的结果只能为后续研究提供理论依据,但结果的准确性仍需进行实验加以证实。

表 4 预测结果中已被报道的转录因子

Table 4. Transcription Factors Reported in Predicted Results

Transcription factor	Activator/repressor	Reference
AP-1	Both	[26]
c-Myc	Both	[27]
CTCF	Repressor	[28]
E2F	Repressor	[29]
E2F-1	Repressor	[29]
c-Ets-1/ c-Ets-2	Both	[30]
HIF-1	Activator	[31]
hnRNP K	Activator	[32]
MAZ	Repressor	[33]
NFAT-1	Activator	[34]
NF- $\kappa$ B	Activator	[35]
NIP	Repressor	[36]
P53	Repressor	[37]
Pax-5	Activator	[38]
Pax-8	Activator	[39]
SP1	Both	[40]
SP3	Repressor	[40]
USF1/ USF2	Both	[41]
VDR	Repressor	[42]
WT1	Repressor	[43]
YY1	Repressor	[44]

综上所述,本研究首先从 NCBI Genbank 数据库中获取 *hTERT* 基因及其启动子区序列,然后使用多个生物信息学软件对 *hTERT* 基因启动子区 CpG 岛的位置,以及转录因子及其结合位点进行预测分析,可为进一步构建 *hTERT* 基因启动子表达载体和检测启动子活性提供理论基础,并可为 *hTERT* 基因在肿瘤等相关疾病发病过程中的机制提供一定思路。

**作者声明:** 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

**学术不端:** 本文在初审、返修及出版前均通过中

国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

**同行评议:**经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

**利益冲突:**所有作者均声明不存在利益冲突。

**文章版权:**本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

#### [参考文献]

- [1] Colebatch AJ, Dobrovic A, Cooper WA. Tert gene: Its function and dysregulation in cancer[J]. J Clin Pathol, 2019, 72(4): 281-284.
- [2] Pestana A, Vinagre J, Sobrinho-simões M, et al. Tert biology and function in cancer: Beyond immortalisation[J]. J Mol Endocrinol, 2017, 58(2): 129-146.
- [3] Zhou JZ, Ding DQ, Wang M, et al. Telomerase reverse transcriptase in the regulation of gene expression[J]. Bmb Rep, 2014, 47(1): 8-14.
- [4] Gaspar TB, Sù A, Lopes JM, et al. Telomere maintenance mechanisms in cancer[J]. Genes (Basel), 2018, 9(5): 241.
- [5] Leão R, Apolônio JD, Lee D, et al. Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: Clinical impacts in cancer[J]. J Biomed Sci, 2018, 25(1): 22.
- [6] Shimoi T, Yoshida M, Kitamura Y, et al. Tert promoter hotspot mutations in breast cancer[J]. Breast Cancer, 2018, 25(3): 292-296.
- [7] Jung SJ, Kim DS, Park WJ, et al. Mutation of the tert promoter leads to poor prognosis of patients with non-small cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2017, 14(2): 1609-1614.
- [8] Vuong HG, Altibi AMA, Duong UNP, et al. Prognostic implication of braf and tert promoter mutation combination in papillary thyroid carcinoma - a meta-analysis[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2017, 87(5): 411-417.
- [9] Nagore E, Heidenreich B, Rachakonda S, et al. Tert promoter mutations in melanoma survival[J]. Int J Cancer, 2016, 139(1): 75-84.
- [10] Huang FW, Hodis E, Xu MJ, et al. Highly recurrent tert promoter mutations in human melanoma[J]. Science, 2013, 339(6122): 957-959.
- [11] Bogdanović O, Lister R. DNA methylation and the preservation of cell identity[J]. Curr Opin Genet Dev, 2017, 46: 9-14.
- [12] Liang G, Weisenberger DJ. DNA methylation aberrancies as a guide for surveillance and treatment of human cancers[J]. Epigenetics, 2017, 12(6): 416-432.
- [13] Xu HX, Wang WJ, Zhao J, et al. Aberrant htert promoter methylation predicts prognosis in Chinese patients with acral and mucosal melanoma: A consort-compliant article [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(43): e17578.
- [14] Haraguchi K, Yada N, Sato S, et al. The methylation status and expression of human telomerase reverse transcriptase is significantly high in oral carcinogenesis[J]. APMIS, 2017, 125(9): 797-807.
- [15] Zhang H, Weng XL, Ye JY. Promoter hypermethylation of tert is associated with hepatocellular carcinoma in the han Chinese population[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2015, 39(5): 600-609.
- [16] Wu YX, Li GC, Dong H, et al. Telomerase reverse transcriptase methylation predicts lymph node metastasis and prognosis in patients with gastric cancer[J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 279-286.
- [17] Horikawa I, Cable PL, Afshari JC, et al. Cloning and characterization of the promoter region of human telomerase reverse transcriptase gene[J]. Cancer Res, 1999, 59(4): 826-830.
- [18] Li LC, Dahiya R. Methprimer: Designing primers for methylation pcrs[J]. Bioinformatics, 2002, 18(11): 1427-1431.
- [19] Inukai S, Kock KH, Bulyk ML. Transcription factor - DNA binding: Beyond binding site motifs [J]. Curr Opin Genet Dev, 2017, 43: 110-119.
- [20] Levitsky VG, Kulakovskiy IV, Ershov NI, et al. Application of experimentally verified transcription factor binding sites models for computational analysis of chip-seq data [J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 80.
- [21] Domeènec F, Romà R, Mario H, et al. Identification of patterns in biological sequences at the algggen server: Promo and malgen [J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31(13): 3651-3653.
- [22] Lambert M, Jambon S, Depauw S, et al. Targeting Transcription Factors for Cancer Treatment [J]. Molecules, 2018, 23(6): 1479.
- [23] Song JW, Chan X, Jiang LL, et al. Transcription factor Ap-4 promotes tumorigenic capability and activates the wnt/ $\beta$ -catenin pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Theranostics, 2018, 8(13): 3571-3583.
- [24] Tropsteinberg S, Azar Y. Ap-1 expression and its clinical relevance in immune disorders and cancer[J]. Am J Med Sci, 2017, 353(5): 474-483.
- [25] 鲁海珍, 尹英爱, 吕宁. 喉鳞状细胞癌及癌前病变 R0 切除术后复发危险因素研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(7): 580-587.
- [26] Takakura M, Kyo S, Inoue M, et al. Function of Ap-1 in transcription of the telomerase reverse transcriptase gene (tert) in human and mouse Cells[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(18): 8037-8043.
- [27] Zhao YJ, Cheng D, Wang SW, et al. Dual roles of c-myc in the Regulation of Htert Gene[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(16): 10385-10398.
- [28] Renaud S, Loukinov D, Bosman FT, et al. Ctf binds the proximal exonic region of htert and inhibits its transcription[J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33(21): 6850-6860.
- [29] Won J, Yim J, Kim TK. Opposing regulatory roles of E2f in human telomerase reverse transcriptase (htert) gene expression in human tumor and normal somatic Cells[J]. Faseb J, 2002, 16(14): 1943-1945.
- [30] Dwyer JM, Liu JP. Ets2 transcription factor, telomerase activity and breast cancer[J]. Clinical Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(1): 83-87.



- [31] Nishi H, Nakada T, Kyo S, et al. Hypoxia-inducible factor 1 mediates upregulation of telomerase (htert) [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(13):6076-6083.
- [32] Kang X, Chen W, Kim RH, et al. Regulation of the htert promoter activity by msh2, the hrmp5 K and D, and grhl2 in human oral squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2009, 28(4):565-574.
- [33] Xu M, Katzenellenbogen RA, Grandori C, et al. An unbiased in vivo screen reveals multiple transcription factors that control Hpv E6-regulated htert in keratinocytes [J]. *Virology*, 2013, 446(1-2):17-24.
- [34] Chebel A, Rouault JP, Urbanowicz I, et al. Transcriptional activation of htert, the human telomerase reverse transcriptase, by nuclear factor of activated T cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(51):35725-35734.
- [35] Deeb D, Gao XH, Liu YB, et al. Inhibition of htert/telomerase contributes to the antitumor activity of pristimerin in pancreatic ductal adenocarcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1):518-524.
- [36] Wang JS, Chen Y, Ren JS, et al. G-quadruplex binding enantiomers show chiral selective interactions with human telomere [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(6):3792-3802.
- [37] Chen RJ, Wu PH, Ho CT, et al. P53-dependent downregulation of htert protein expression and telomerase activity induces senescence in lung cancer cells as a result of pterostilbene treatment [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8):e2985.
- [38] Bougel S, Renaud S, Braunschweig R, et al. Pax5 activates the transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene in B cells [J]. *J Pathol*, 2010, 220(1):87-96.
- [39] Chen YJ, Campbell HG, Wiles AK, et al. Pax8 regulates telomerase reverse transcriptase and telomerase rna component in glioma [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14):5724-5732.
- [40] Cheng D, Zhao YJ, Wang SW, et al. Human telomerase reverse transcriptase (htert) transcription requires sp1/sp3 binding to the promoter and a permissive chromatin environment [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(50):30193-30203.
- [41] Chang JTT, Yang HT, Wang TCV, et al. Upstream stimulatory factor (usf) as a transcriptional suppressor of human telomerase reverse transcriptase (htert) in oral cancer cells [J]. *Mol Carcino*, 2005, 44(3):183-192.
- [42] Ikeda N, Uemura H, Ishiguro H, et al. Combination treatment with  $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D3 and 9-cis-retinoic acid directly inhibits human telomerase reverse transcriptase transcription in prostate cancer cells [J]. *Mo Cancer Ther*, 2003, 2(8):739-746.
- [43] Oh S, Song Y, Yim J, et al. The wilms' tumor 1 tumor suppressor gene represses transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(52):37473-37478.
- [44] Feng X, Xu XD, Xiao XS, et al. Nmi inhibits cancer stem cell traits by downregulating htert in breast cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5):e2783.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 《肿瘤预防与治疗》文章荐读:肿瘤内科治疗的现状与未来

随着居民平均寿命的延长、体检意识的增强、检测水平的提高及生活环境、饮食习惯等因素的改变,恶性肿瘤已经成为全球最为常见的死亡率较高的疾病之一。据统计,2012 年全球恶性肿瘤新诊断及死亡病例分别为 1810 万和 960 万。近年来中国恶性肿瘤的发病率及死亡率也呈逐年上升趋势,据 2018 年中国肿瘤登记年报显示,2014 年我国有恶性肿瘤新发病例 380.4 万,死亡病例 229.6 万。

肿瘤内科治疗作为延长癌症患者生存期、改善患者生活质量的治疗手段之一,是从 20 世纪初期发展起来的。随着医学的不断发展,在肿瘤内科学的基础上,目前已衍生出多种治疗方式,如化学药物治疗、内分泌治疗、分子靶向治疗、免疫基因治疗等。不同的时代对肿瘤内科治疗的想法不尽相同,其在综合治疗中的作用、地位也不一样。在早期的临床实践中肿瘤内科治疗主要采取化学药物治疗,但随着分子生物学技术的进步及快速发展,肿瘤的分子靶向治疗、免疫治疗已成为当前肿瘤内科治疗的热点,化学药物治疗作为中晚期癌症患者治疗的基石地位受到较大挑战。该文作者结合个人对肿瘤内科治疗的经验从肿瘤化疗、分子靶向治疗、免疫治疗三个方面进行评述,以为肿瘤内科的从业人员提供参考。

阅读该文请登录本刊网站 [www.zlyfzl.cn](http://www.zlyfzl.cn) 或点击推荐文章链接:[http://125.71.214.100:801/Jwk\\_zlyf/CN/abstract/abstract297.shtml](http://125.71.214.100:801/Jwk_zlyf/CN/abstract/abstract297.shtml) 查看。