

端看生死，粒小功高

投稿類別：生物類

篇名：端看生死，粒小功高

作者：

吳詩培。國立蘭陽女中。高二 2 班

鄒家宜。國立蘭陽女中。高二 2 班

莊浣玉。國立蘭陽女中。高二 2 班

指導老師：林如錦

壹●前言

在 2009 年中研院開放參觀時，學校為促進我們對研究領域的認識，安排我們參觀中研院。在參觀過程中，我們看到中研院原分所張大釗教授實驗室，進行端粒與端粒酶於癌症相關的研究，這引起我們莫大的興趣，更有趣的是，端粒的長短與端粒酶的表現在老化與癌症的研究中有著一刃兩面的關係。

在回來與生物老師討論後，她跟我們說我們三年級會提到，但其實介紹得也不多，而癌症和老化與我們息息相關，尤其癌症在我國死亡率名列前茅，但關於端粒酶這樣指標性的研究我們知道卻不多，這樣真的很可惜！雖然我們對這樣的主題很有興趣，但目前身為高中生我們，還沒有能力在這方面作研究，因此我們希望在這個階段能先對端粒與端粒酶作有系統的介紹，進而讓更多人認識它們而作研究，為人類在癌症與老化的研究上盡一份心，待我們有能力時再繼續研究下去！

本篇除了詳細介紹端粒與端粒酶的發現背景和結構外，更介紹目前以端粒和端粒酶為指標發展抗癌和抗老化的研究，希望藉此讓更多人認識端粒與端粒酶。

貳●正文

一、端粒與端粒酶的發現背景

（一）端粒與端粒酶的研究起源

端粒與端粒酶的研究早在 1930 年代就開始了，當時對遺傳學極有研究的赫爾曼·約瑟夫·穆勒(Hermann Joseph Muller)和芭芭拉·麥克林托克(Barbara McClintock)便已經發現染色體末端有種特殊構造，似乎具有保護染色體的功能，他們發現為防止染色體的融合和崩潰，果蠅的染色體擁有特殊的端點。穆勒以希臘文的「尾端」及「部份」結合為端粒(telomeros)。雖然當時他們已經知道端粒對染色體的重要性但對其機制仍然不了解。

（二）端粒序列的破解及進一步的發現

到了 1978 年，一個研究單細胞原生動物的遺傳學家伊麗莎白·布萊克本(Elizabeth Blackburn)發現了端粒的構造。當時他在研究四膜蟲的染色體時，發現染色體的端粒是由一段重複的序列「TTGGGG」所組成。(圖 1)後來在 1980 年的會議上，傑克·索斯塔克(Jack Szostak)被布萊克本的研究所吸引，兩人開始展開合作，他們把從四膜蟲純化出的端粒序列「CCCCAA」放在線狀質體的末端，再將這樣的質體放進酵母菌中，竟然發現這些端粒序列能夠保護線狀質體的完整，他們驚奇的發現端粒序列竟然能跨物種間的作用，這說明了這樣的保護機制由來已久，後來科學家也證明了在大部份的動植物染色體末端都有不同組成的端粒序列的

端看生死，粒小功高

存在，但哺乳類動物皆為「TTAGGG」的組成。(圖2)

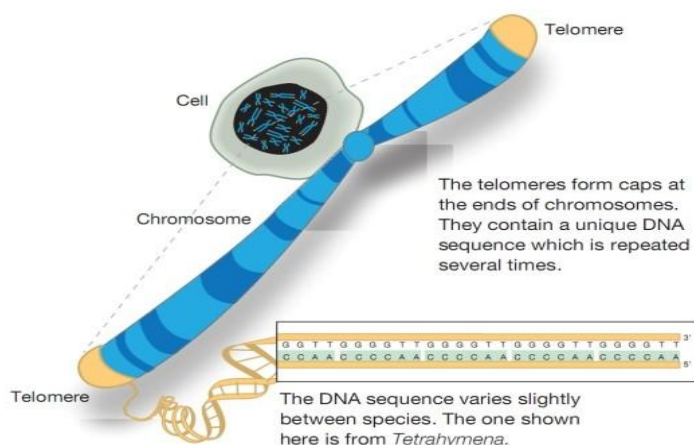


圖 1：所謂端粒即為染色體末端的 DNA 序列。

布萊克本比喻端粒就類似鞋帶最末端扣環，可以避免鞋帶最末端發生磨損（諾貝爾官方網站）

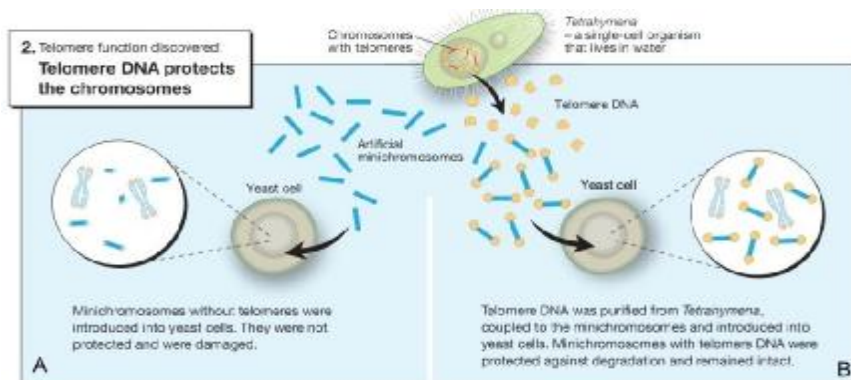


圖 2：以人工合成的線狀質體及由四膜蟲純化出的端粒序列進行實驗。(A) 外來的質體易被當成侵略性物質，而在酵母菌中被分解；(B) 帶有端粒的線狀質體可維持完整而不被分解。(諾貝爾官方網站)

(三) 端粒酶的發現

布萊克本與索斯塔克由四膜蟲的觀察中發現，雖然端粒的長度會隨著細胞分裂而縮短，但是細胞似乎用了一種特殊的方法，使端粒維持在一定的長度。當時有兩種模式假說，第一個模式，利用已知的 DNA 重組，能讓鄰近相同的重複序列進行類似基因轉化的錯位，而使端粒延長；但當時布萊克本較傾向假設有某未知的酵素，能使端粒延長。

在 1984 年初時卡羅·格雷德 (Carol W. Greider) 當時是布萊克本的研究生，他們仔細地進行一連串結合四膜蟲萃取物與端粒的實驗，直到同年聖誕節當天，格雷德在混合著四膜蟲端粒 (TTGGGG) 與萃取蛋白質的電泳實驗中，發現端粒的長度的確被延長了！這證明了他們所假設可合成端粒的酵素確實存在！他們一再檢

端看生死，粒小功高

查自己的實驗後，重複證實他們的確發現了新的酵素，而這樣的酵素能延長端粒，因此在 1985 年正式發表於 *Cell*，並於 1987 年正式命名為「端粒酶」



圖 3：2009 年三位諾貝爾生醫獎得主（諾貝爾官方網站）

二、瞭解端粒和端粒酶與其在人體的重要性

（一）、端粒與端粒酶結構

1、端粒

端粒位於染色體末端，以一段DNA重複序列 5'-TTAGGG-3' 所構成，其全長約為 15 Kb，而在3'端的尾端有一小段約150-200鹼基的單股序列。（圖5）科學家推測這個單股序列可經由四個G-鹼基的Hoogsteen氫鍵形成一個環狀的G-四方面（G-quartet），數個G-四方面經 π - π 作用、堆疊以五碳糖作為骨架可以組成穩定的四股結構（G-quadruplex）。然而人類的染色體端粒是否有G-四股結構，直到2003年都還沒有得到直接證實。

我國中研院原分所張大釗教授實驗室在2003年以其研發出高靈敏度的螢光探針分子，再結合90年代初期所研發的單分子影像光譜之理念，經由共軛聚焦影像光譜統計之結果，首次證實人類染色體端粒有G-四股結構之存在。（圖6）

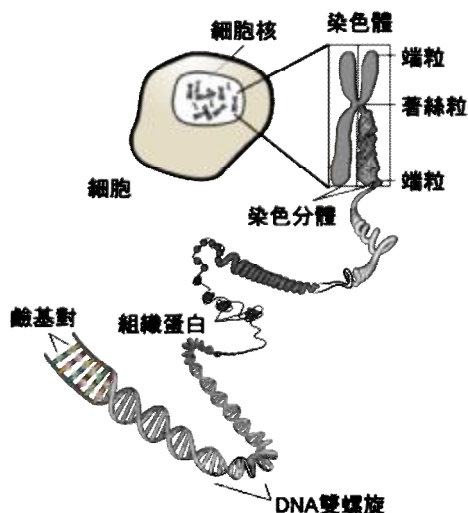


圖5：端粒結構(維基百科)

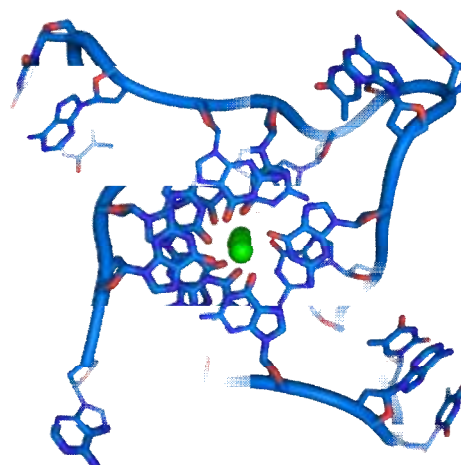


圖6：四股結構 (維基百科)

2、端粒酶

端粒酶是一種核糖核蛋白 (ribonucleoprotein)，包含一段與端粒序列互補的 RNA 與蛋白質所組成，其 RNA 序列正是「CCCCAA」，可作為端粒複製時的模板，而蛋白質的部份則具反轉錄酶的酵素活性。

- (1) 人類端粒酶核糖核酸模板(human telomerase RNA)：簡稱 hTR，具有 451 個核苷酸，主要當作複製模板，會以其中 11 個 base pair 5'-CUAACCCUAAC-3'和端粒 (TTAGGG)_n 的重複序列配對，因此每次只有一組的重複序列可以延長，一直持續到最後序列為 GGTTAG。
- (2) 人類端粒酶反轉錄酶(human telomerase reverse-transcriptase)：簡稱 hTERT，位於第 5 對染色體。人類與酵母菌及纖毛蟲的端粒酶催化次單位有很多序列非常相似，而且 hTERT 的基因表現與端粒酶活性有密切關係，此外 Lingner 從釀酒酵母菌將 EST2 移除實驗，結果發現會導致端粒序列縮短並使細胞有衰老的現象。亦指出此次單元可能與延長端粒序列有關。

另外，細胞中表現一些端粒酶連結相關蛋白(telomerase-associated protein,TEP1)，雖然對於端粒酶活性不是不可或缺的因素，但卻是調控端粒酶活性、生成的必要因子。早期是在單細胞纖毛蟲發現的，其分子量分別是 80 和 95 kDa (P80 & P95)。P80 主要功能與 hTR 鍵結和端粒酶有相互關連性，P95 主要是鍵結在端粒序列上，可能與穩定端粒酶結構有關。

端看生死，粒小功高

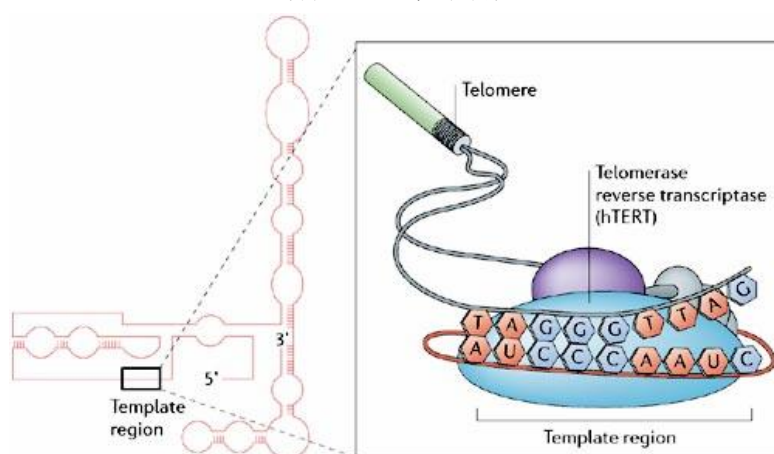


圖 7：端粒酶的結構

左圖：hTR，右圖：端粒酶複製端粒，藍色—hTERT，紫色—TEP1。
(Shay, 2006)

(二) 端粒與端粒酶的功能

(1) 端粒在人體上的功能

端粒的主要功能是負責保護染色體末端，避免染色體不穩定與結構異常，並促進染色體末端的完整複製以防止遺傳訊息喪失，減緩末端複製問題所造成的短缺，且可與一般的 DNA 斷裂所產生的末端區分，防止核苷酸的降解、重組、染色體缺失、染色體末端的融合。

(2) 端粒酶在人體上的功能

一般真核生物的染色體 DNA 呈線狀，當 DNA 複製時，DNA 合成酶只能從 5' 往 3' 的方向合成，且需一段 RNA 引子先黏附在親代染色體 DNA 上當合成 DNA 的前導，因此造成兩股 DNA 的複製方式不同。DNA 在複製時會先打開雙股螺旋，形成複製叉，依著 DNA 合成酶的複製方向，分為連續的領先股和不連續的滯留股，領先股可完整複製到末端，但滯留股則因為 DNA 合成酶離開了原本佔據的位置，而留下一段空隙使子代股的 5' 端無法填滿而產生「末端複製問題」(圖 8)，因此，細胞在每次分裂時其染色體端粒都會減少，但對於發育中的胚胎細胞和我們的生殖細胞，卻不會因此受到損害，這也就是端粒酶的功勞了，端粒酶可維持真核細胞的端粒 DNA 長度，進而維持染色體 DNA 的穩定性以進行正常基因表現。因此，端粒酶酵素在分裂頻繁的細胞中活躍，例如胚胎細胞、幹細胞、生殖細胞，不過在正常的成熟細胞中端粒酶的活性卻幾乎徹底被抑制，若當基因突變，終止了停止細胞分裂的訊息，而使端粒大量流失縮短，使染色體變得不穩定，而端粒酶也被活化來穩定此時極短的端粒序列，便成為我們熟知的「腫瘤」了。

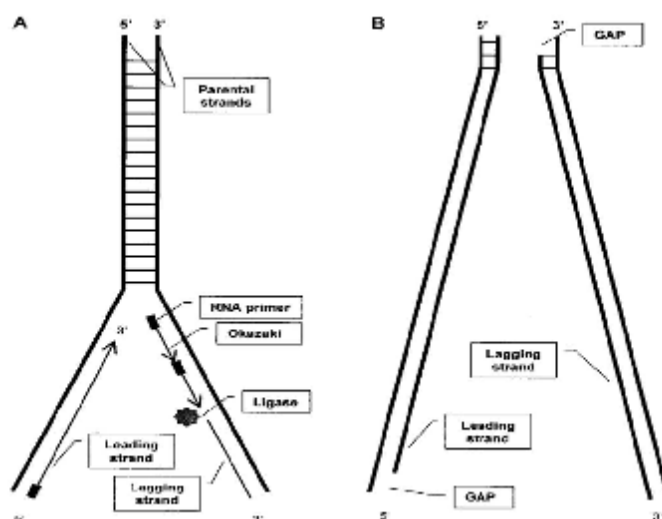


圖 8：末端複製問題 (end replication problem)。 (Harley *et al.*, 1994)

- (A) DNA 在複製時打開雙股螺旋，形成複製叉，再分為領先股(leading strand)和滯留股(lagging strand)
- (B) 領先股可完整複製到末端，但滯留股則因為 DNA 合成酶離開了原本佔據的位置，而留下空隙

一、端粒與端粒酶於老化上的研究

抗老化是現代非常重要的研究之一，人類一直在追尋如何抗老化而延長壽命，而端粒與端粒酶的發現，便成爲一個重要的指標，在前面我們已知道若端粒耗損變短，細胞便會老化死亡，而端粒酶能維持端粒長度，使細胞不會因爲端粒過短而死亡（圖 9），因此如果端粒酶的濃度變高，端粒的長度將可以維持，將老化的速度延緩，但是，如果端粒酶濃度太高將會使細胞永無止盡的複製，有可能導致癌症的產生，這正是必須尋到的答案。

但比起長生不老的目標，許多科學家更致力於的是治療及防止疾病的產生，而人類也有許多疾病是因爲重要細胞的老化，如：心肌細胞及腦神經細胞，這些細胞對人體來說是非常重要的，但他們在人類出生之後便不再分裂了，而阿茲海默症、巴金森症...等，這類的腦神經疾病，都是因爲腦神經細胞的老化而產生，因此也有科學家希望藉由端粒與端粒酶的特性，能延緩此類重要細胞的老化，雖然目前並沒有具體的成果，但這樣的研究都將是指日可待的貢獻。

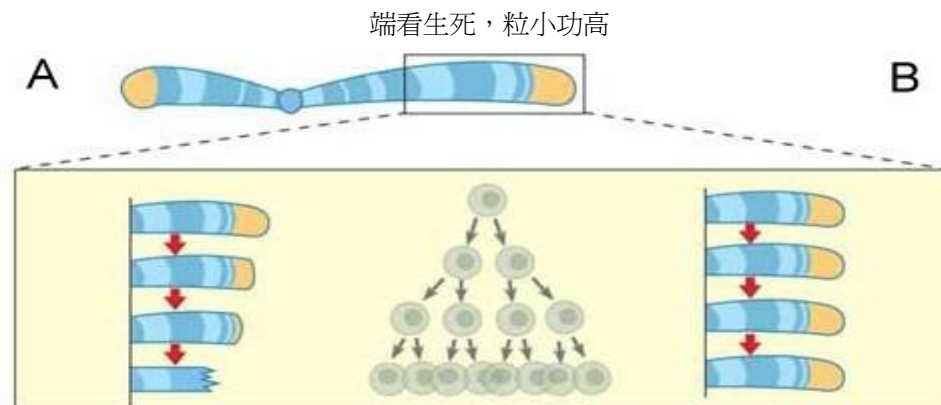


圖 9：(A) 若沒有端粒酶的存在，隨著細胞分裂，染色體會逐漸縮短，一旦端粒的部分消耗殆盡，會造成染色體不穩定，最終導致細胞衰老、死亡。(B) 有端粒酶的存在則可維持端粒的長度，即使隨著細胞分裂，染色體依舊穩定（諾貝爾官方網站）

四、端粒與端粒酶於癌症上的研究

因為端粒酶在癌症細胞上的普遍表現量大，因此提供了一個治療癌症的重要方向及分辨的指標，而目前以端粒酶與端粒為治療方向的主要有五種，大部分由端粒酶下手，藉由影響端粒酶以達到抑制癌症細胞的效果，只有一種是以穩定端粒結構，而使細胞不會受端粒酶影響而無限增值。（圖 10）

（一）端粒酶抑制劑

這是最直接且常見的研究方法，他們設計類似端粒的小分子，使端粒酶與其小分子結合，或是直接與端粒結合的小分子，這樣便可阻止端粒與端粒酶的結合。

例如 GRN163L，這是目前臨床上針對端粒酶的專一抑制劑，此小分子會和端粒中 RNA 部份（hTR）結合，使端粒酶無法和端粒進行延長，最終造成端粒縮短，進而使癌細胞死亡，目前臨床主要運用在血癌、骨髓癌、實體細胞腫瘤和非小細胞肺癌。

（二）抑制端粒酶的表現或生長

這個方法是強調瞭解端粒酶的生成機制，以抑制端粒酶的表現，希望在轉錄、轉譯後修飾、蛋白質折疊或運輸過程中找到方法，直接抑制癌細胞產生具有功能的端粒酶，目前已有許多針對端粒酶活性設計的疫苗在臨床實驗中，雖然這個設計想法看似完美，但目前仍需累積大量臨床數據，才能達到單用或結合其它抗癌藥物形成複方的最佳化療程。

（三）免疫治療法

藉由刺激免疫反應，使人體中的免疫細胞去攻擊帶有端粒酶活性的癌細胞，

此種方法，目前也有許多正在研究中的藥物，例如：

我國國立陽明大學生物藥學研究所，便有以靈芝去作為免疫治療的刺激藥物，其原因是利用靈芝的抗癌作用是增強有機體的免疫作用，靈芝成分中的多醣肽，能提高有機體非特異性的免疫功能，得以增強有機體細胞和有機體液的免疫功能，進而促使細胞免疫因子的產生，產生抑制腫瘤的效果。靈芝的成分並非直接毒殺細胞，但是卻可以透過增強機體抗腫瘤免疫力，間接抑制腫瘤生長或誘導腫瘤細胞凋亡，靈芝的多醣肽就有抗癌細胞的活性，就由提高白血球數量，進而促進免疫細胞增殖，增強噬細胞吞噬作用，增強 T 細胞的活性，同時能激活人體淋巴細胞產生大量刺激因子，促進免疫球蛋白形成，使機體免疫調控能力稱強，進而破壞癌細胞端粒酶的活性，使癌細胞分裂凋亡。

(四) TERT 啟動子引發的自殺反應

hTERT 是決定端粒酶活性的限速因子，與端粒酶活性呈正相關，正常體細胞中不含 **hTERT**，只有造血細胞、生殖細胞及腫瘤細胞中含有 **hTERT**，因此將 **hTERT** 啟動子結合一段會啟動細胞死亡的基因序列，並放入癌細胞中，就會有機會在癌症細胞中啟動死亡機制，且不會傷害沒有端粒酶的正常細胞。

(五) 穩定端粒結構：研發影響端粒結構的藥物

在先前介紹端粒結構時，說到原本科學家猜測端粒有四股結構的存在，但在過去並沒有確定的證據，直到前幾年才被證實四股結構確實存在於端粒中，雖然四股結構在其中是極少數的，但端粒酶無法以四股結構作序列延長端粒，因此穩定端粒中的四股結構，不使其打開成單股的序列讓端粒酶延長端粒，而此癌症細胞最後就會因端粒過短而死亡，便減緩癌症細胞的增生，而這個以端粒為對象的方法便成為抑制癌症細胞增生的新方向。

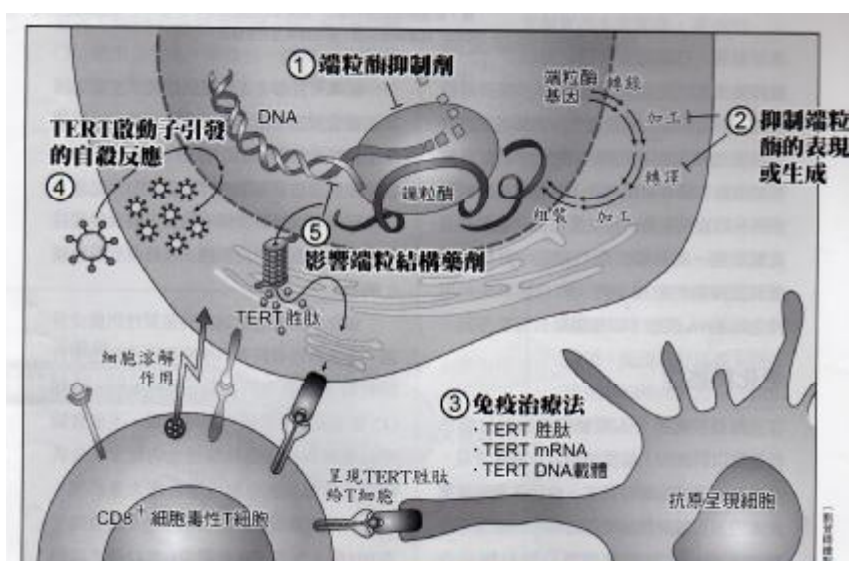


圖10：目前五種經由端粒與端粒酶抗癌的新方向（科學月刊）

參●結論

- 一、 端粒在人體的染色體上真的是非常重要的角色，如果沒有端粒的保護，將無法保持染色體的穩定性，也會造成染色體尾端的融合，因此無法將完整複製遺傳基因，導致我們身體組織的細胞在每一次分裂所產生的細胞，無法有完整的功能，也將導致人體運作不正常。
- 二、 端粒酶在人體中就像古時候煉丹時追求的長生不老藥，人們都想追求長生不老，如果有端粒酶在細胞上來看，似乎能達到此功效，但卻有可能像古時候的煉丹會因重金屬過多而中毒身亡，而端粒酶過多卻有可能導致細胞轉變為癌細胞，這樣矛盾的關係如果有機會達到制衡，將有機會增加人類的壽命。
- 三、 端粒與端粒酶的關係非常微妙也難以掌握，如果適當的有端粒酶的加入即可延緩老化，但如果端粒酶在不適當時機與端粒結合就可能導致癌症細胞的產生，但這其中也會涉及基因影響，而人類目前已有發現癌症基因及老化基因，因此若能將其交互作用的關係研究透徹，相信能在此方面前進更大一步。
- 四、 目前有許多新興的抗癌方向，是以端粒酶在癌症細胞的表現大於一般體細胞為指標，希望能藉由抑制端粒酶而達到治療癌症的效果，雖然目前都還未普遍用於臨床治療，但已有很好的成果，相信不久的未來能研究出更完備的治療方式，用於癌症治療。
- 五、 目前複製科技的盛行，人類已可複製許多動物，1997年，由英國六歲母綿羊的乳腺上皮細胞所複製出的首隻複製哺乳動物---「桃莉」，這不僅震撼了全球；亦是生物科技領域的一項重大突破。但桃莉的壽命卻不及正常綿羊的一半，因此我們合理推測桃莉繼承了六歲母綿羊的端粒長度。如果我們能再減緩供核細胞端粒縮短的長度，或是適當延長端粒長度，甚至是在一開始選擇供核細胞體時就選擇端粒較長的供核細胞，則有可能使複製動物壽命與正常動物的平均壽命相符，便可能使複製技術更上一層。
- 六、 在科學月刊中有寫到：「癌細胞的端粒長度通常比正常細胞短」我們覺得這個現象很值得探討，端粒必須夠短才能導致基因不穩定而產生突變，在突變的基因中，有些基因可以抑制細胞死亡的過程，再配合端粒酶的活化，即可產生跳脫死亡的癌細胞，生存下去。如果我們能使在有可能使端粒發生突變的長度區域，加速端粒的縮短，使端粒酶來不及延長端粒，則有機會殺死腫瘤，但是這個機制是否對於正常細胞的具有殺傷力，也是必須仔細探討的問題。
- 七、 我們找了許多關於老化的資料，我們發現有許多以中藥為研究題材的主題，而中藥又是普遍能抗老及防癌的，在目前曾經做過的實驗中，以天麻、當歸、何首烏有較好的效果，在其中更是以當歸的效果最好，實驗中發現當歸經由和酒精作用之

後的效果有明顯的增加，就目前而言我們是期待能夠以當歸來製成抗癌藥物，其主要的的原因在於價錢相較其他藥材(例如靈芝)低廉，取得也較為方便.所以我們可以以當歸為主要的材料作為抗癌的藥物，為未來的癌症醫療帶來一絲的希望，也期望透過較易取得的材料，來降低研發成本，這將有助於社會上較低層階級民眾的治療。

或許真的可以從這幾類的中藥材中提煉出真正可以達到抗老化的物質，又或許可以透過抗老化的過程中同時提高人體的免疫機能，這也許能夠讓我們更接近長生不老的境界。

- 八、端粒與端粒酶和我們身體息息相關，但研究卻還未完全的透澈，因此非常有展望性及未來的可能性值得我們去探討。但以台灣來說，以其為研究對象的著實不多，完整的介紹資料也只是寥寥可數，因此希望能使大家更認識端粒與端粒酶，使其奧秘早日釐清。

肆●引註資料

- 一、張大釗、康繼之（2009）。科學月刊，480，920
- 二、張大釗。中研院週報，1184
- 三、林佳怡。探討當歸純化物 *n-Butylidenephthalide* 對人類非小細胞肺癌抗癌機轉之研究。
- 四、陳佳茹。探討紫外線對癌細胞端粒損傷之修護及hTERT之表現。
- 五、蔡勝發。中藥靈芝抗老化及抗癌作用之研究
- 六、張天鈞。生命的時鐘之迷，當代醫學月刊，375，2
- 七、羅伯特·溫博格（2008）。細胞反叛。天下遠見出版社
- 八、Kilian *et al.*, 1997; Meyerson *et al.*, 1997
- 九、Blasco, 2005; de Lange, 2002
- 十、Broccoli *et al.*, 1995; Chiu *et al.*, 1996
- 十一、諾貝爾官方網站
- 十二、維基百科全書
- 十三、行政院農業委員會網站

最後要感謝中研院原分所暨基因體研究中心的張大釗教授及康繼之學姐以及宜蘭大學生物技術研究所陳怡伶老師的協助及提供的資料