



## 依赖于端粒延长替代机制的胶质瘤 临床前模型及应用现状\*

全津恺<sup>1)</sup> 闫思翔<sup>1)</sup> 张艳多<sup>1)</sup> 侯凯龙<sup>1)</sup> 张 科<sup>1)</sup> 张昊楠<sup>1)</sup> 常 顺<sup>2)\*\*</sup> 贾舒婷<sup>1)\*\*</sup>

(<sup>1)</sup> 昆明理工大学医学院衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500; <sup>2)</sup> 云南省第一人民医院神经外科, 昆明 650032)

**摘要** 胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 主要起源于神经胶质细胞。由于胶质瘤具有高度侵袭性的特点, 其死亡率在各种癌症中名列前茅。因此, 新的治疗方法和新的药物开发对于胶质瘤的治疗意义十分重大。在大约30%的胶质瘤中, 端粒的维持并不是通过端粒酶的激活延长的, 而是通过端粒延长替代机制 (ALT) 来维持和延长端粒。然而, 由于目前对于ALT胶质瘤细胞系以及临床前的ALT胶质瘤模型的研究还比较匮乏, 从而制约了ALT胶质瘤的机制研究。因此, 本篇综述在此探讨了目前发现的ALT胶质瘤细胞系及ALT胶质瘤动物模型, 以及这些模型在临床前研究中发挥的作用和最新的进展。

**关键词** 胶质瘤, 端粒延长替代机制, 临床前模型

**中图分类号** Q71

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0033

胶质瘤主要起源于神经胶质细胞, 有部分来源于神经干细胞, 是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 发病率约占中枢神经系统恶性肿瘤的80%, 恶性胶质瘤5年死亡率仅次于肺癌和胰腺癌<sup>[1]</sup>。2021年WHO中枢神经系统肿瘤分类中根据不同组织的表型及基因型将中枢神经系统分为1、2、3、4级, 其中1、2级属于低级别胶质瘤, 3、4级属于高级别胶质瘤, 不同胶质瘤的正确分级和分类不仅取决于他们的组织学特征, 还取决于分子特征, 如一些基因 (*IDH1*、*ATRX*、*TP53*、*CDK2A*、*BRAF*、*FGFR1* 和 *PDGFRA*) 的改变和甲基化特征<sup>[2]</sup>。高级别胶质瘤生长较快、浸润性强且预后较差, 3级胶质瘤的中位总生存期 (overall survival, OS) 约为3年, 而4级胶质瘤, 尤其是胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM), 仅为15个月, 且只有0.05%~4.7%的患者在诊断后存活5年<sup>[3]</sup>。目前胶质瘤的治疗手段还比较单一, 仍然是手术切除后辅以放化疗的综合治疗, 尽管这些治疗手段可以一定程度上改善胶质瘤患者的生存时间和生存质量, 但其OS时间仍然很短。事实上, 胶质瘤患者的低生存率部分归咎于胶质瘤细胞侵袭性生长以及与周围

正常脑组织交错, 因而手术难以完全切除, 同时由于其异常的生物学特性, 对放疗和化疗的耐受, 导致术后放化疗失败, 而且经常以同级别或高级别复发。因此, 新的治疗方法和新的治疗药物的开发对于胶质瘤的治疗十分必要。

端粒长度的维持对于肿瘤细胞的生存起着至关重要的作用, 大多数肿瘤细胞会通过激活端粒酶活性延长端粒长度<sup>[4-5]</sup>。端粒酶是一种逆转录酶, 以其自身RNA作为模板在DNA前导链的3'端添加端粒序列使端粒延长<sup>[6-8]</sup>。然而, 大约10%~15%的人类肿瘤并不是通过激活端粒酶去维持或延长端粒长度, 而是通过端粒延长替代机制 (alternative lengthening of telomeres, ALT) 去延长端粒<sup>[9-10]</sup>。目前对ALT机制的了解仍不明确, 人们普遍认为ALT是依赖于端粒序列特异性的同源重组

\* 云南省科技厅科技计划 (202101AY070001-235, 202201AS070074) 和云南省“兴滇英才”(YN-WRQNBj-2019-240) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

贾舒婷 Tel: 13577116928, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

常顺 Tel: 0871-63638544, E-mail: 771611474@qq.com

收稿日期: 2023-02-06, 接受日期: 2023-04-27

(homologous recombination, HR) 机制延长端粒<sup>[11]</sup>。已有研究表明, ALT途径的激活通常与几种典型的表型有关, 包括高度异质性的端粒长度, 端粒姐妹染色单体交换 (telomere sister chromatid exchange, T-SCE), 丰富的染色体外端粒重复序列 (extrachromosomal telomeric repeats, ECTRs) 以及出现 ALT 途径相关的早幼粒细胞白血病小体 (ALT-associated PML bodies, APBs)<sup>[10]</sup>。在很多类型的肿瘤中, 都可以观察到 ALT 的存在, 其中骨肉瘤和胶质瘤中 ALT 的发生率相比于其他癌症类型更高。尤其在胶质瘤中, ALT 的发生率约占

30%, 其中弥漫型星形胶质瘤 ALT 发生率为 55%, 少突星形细胞瘤 ALT 发生率为 60%, 间变性星形细胞瘤 ALT 的发生率更是高达 65%<sup>[12]</sup>。越来越多的研究发现, ALT 胶质瘤的发生和维持与某些基因的功能异常有关, 如: *IDH1* 突变、*ATRX* 缺失、*p53* 突变等, 提示这些基因可以成为 ALT 胶质瘤治疗的靶点<sup>[13-14]</sup> (图 1)。而最近的一些关于 ALT 胶质瘤靶向治疗的研究通过体内或体外的实验证明了这些靶点的有效性。因此本文通过综述 ALT 胶质瘤的细胞及动物模型的研究进展, 为靶向 ALT 胶质瘤的研究提供可以参考资料。

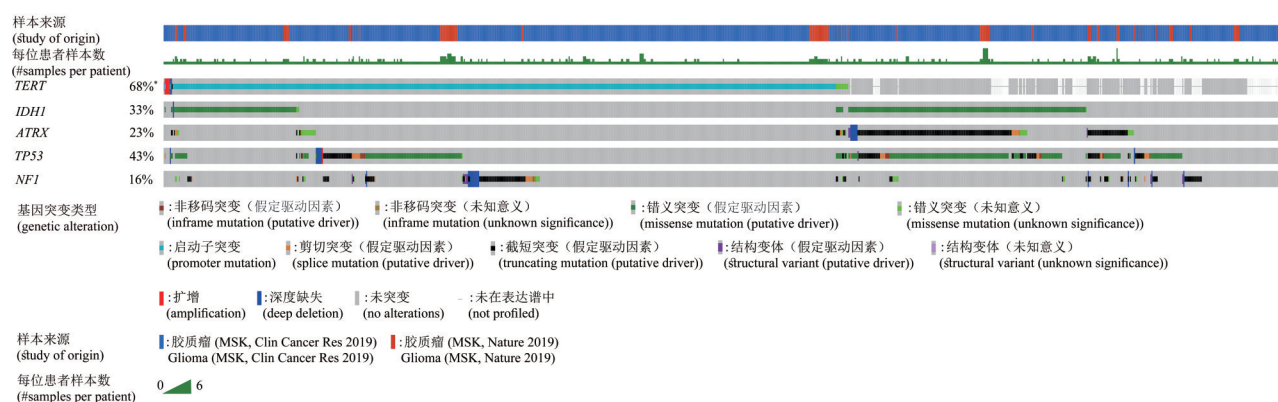


Fig. 1 *ATRX* mutation was highly correlated with *IDH1* mutation and was more common in gliomas without telomerase reverse transcriptase ( *TERT* ) activation

图1 对不同胶质瘤患者的基因分析, *ATRX*突变和*IDH1*突变高度相关且常见于端粒酶逆转录酶没有激活的胶质瘤患者

## 1 ALT胶质瘤细胞系模型研究进展

ALT 胶质瘤的细胞系模型的建立对于移植瘤模型或者胶质瘤靶点以及药物筛选都有着十分重要的作用。目前已经有多篇报道描述了 ALT 胶质瘤细胞系的建立过程以及通过这些细胞系模型进行后续的药物筛选或者做一些移植瘤模型 (表 1)。

由于 ALT 胶质瘤的发生率较低且体外培养较困难, 直到 2015 年, Jeitany 等<sup>[15]</sup>首次从 ALT 胶质瘤中分离出 TG20 细胞。他们证明了 TG20 具有胶质瘤干细胞的所有特征, 包括神经干细胞标志物的表达, 在 NOD-SCID-IL2Rc (NSG) 小鼠和裸鼠模型体内均可以产生脑内肿瘤, 且 ALT 表型稳定。TG20 细胞以及用其构建的小鼠模型是一种有效的 ALT 胶质母细胞瘤的临床前模型, 对开发针对 ALT 机制的抗癌策略起着十分积极的作用。作者进一步通过该模型证明了 G4 体稳定剂 360B 是治疗 ALT 肿瘤的潜在药物。此外 Jeitany 等<sup>[16]</sup>以 TG20 为模型

开展了 ALT 相关机制的研究, 发现 P300/CBP 相关因子 (PCAF) 的下调使 ALT 细胞的 T-SCE 的频率降低, 而与 PCAF 同源的赖氨酸乙酰转移酶 GCN5 (general control non-derepressible 5) 的下调则会使 ALT 细胞的 T-SCE 频率升高, 提示 GCN5 和 PCAF 在调控 ALT 细胞端粒重组中相反的作用。他们还进一步证明了组蛋白乙酰转移酶抑制剂漆树酸 (anacardic acid, AA) 会抑制 ALT 细胞中 APBs 和 T-SCE 的水平, 促进 ALT 细胞死亡。而且与端粒酶阳性肿瘤细胞相比, AA 特异性地使人 ALT 肿瘤细胞对辐射敏感, 这可能是由于 AA 降低了 ALT 细胞的活性导致的, 提示赖氨酸乙酰转移酶可能是 ALT 胶质瘤治疗的新靶点<sup>[17]</sup>。

随着对 ALT 机制研究的不断深入, 目前已有研究揭示了 ALT 胶质瘤的产生与一些基因的突变有关, 如: *ATRX* 缺失、*IDH1* 突变、*p53* 突变等<sup>[14]</sup>。因此, 许多实验室通过在胶质瘤细胞系中敲除这些基因得到了具有 ALT 表型的胶质瘤细胞系, 并通过

这些细胞系进行了一些靶向药物筛选的工作。

Brosnan-Cashman 团队<sup>[13]</sup>和 Li 团队<sup>[18]</sup>分别于 2018 年和 2019 年通过在胶质瘤细胞系中对 ATRX 基因进行基因敲除, 成功在胶质瘤细胞系中诱导出 ALT 表型。其中, Brosnan-Cashman 等<sup>[13]</sup>分别在 4 个端粒酶阳性人胶质瘤细胞系 Mogg-UVW、SF188、U-251 和 UW479 中进行了 ATRX 基因敲除。其中 U-251 和 UW479 显示出 ALT 阳性细胞的多种特征, 包括超亮的端粒 DNA 信号、ALT 相关的 PML 小体和 C 环。然而, Mogg-UVW 和 SF188 细胞系在对 ATRX 基因进行基因敲除后没有出现 ALT 表型, 提示除了 ATRX 缺失外, 其他基因组或表观遗传学事件对于肿瘤细胞中 ALT 机制的诱导也是必要的。同样, Li 等<sup>[18]</sup>通过 CRISPR/Cas9 在端粒酶阳性的人脑星形胶质母细胞瘤细胞 U87 中对 ATRX 基因进行基因敲除后也诱导出了 ALT 的表型。进一步的机制研究表明, ATRX 和 DAXX 的基因敲除造成了端粒处的损伤及复制压力, 进一步促进了 ALT 表型的出现, 表现为 APBs 和 C 环的水平上升, 激活了 ALT 相关的 DNA 修复。但是, 这种 ATRX 和 DAXX 的缺失引起的 ALT 相关的 DNA 修复并不会迅速出现, 在作者的研究中提示, ATRX 的缺失导致 H3.3 组蛋白无法正常沉积于端粒上, 造成了端粒处的复制压力, 而 U87 细胞本身的端粒酶活性并不足以克服 ATRX 缺失相关的端粒功能障碍, 表现出了生长活性降低的现象, 迫使 ATRX 缺陷细胞在生长过程中不得不采用基于同源重组的 ALT 途径作为替代的端粒维持机制。对这些新的 ALT 胶质瘤细胞系进行研究和实验, 将进一步加深对 ALT 分子机制的理解, 有助于为 ALT 阳性肿瘤

的治疗开拓新的抗癌疗法。

之后, 有研究人员在 ATRX 基因敲除或突变的基础上进一步将其他与 ALT 胶质瘤高度相关的基因, 如 IDH1 和 p53 同时突变, 成功在胶质瘤细胞系中诱导出 ALT 的表型, 进一步锁定了诱导 ALT 胶质瘤发生的必需基因。Mukherjee 等<sup>[14]</sup>为了证明 IDH1 突变和 ATRX 丢失可能以某种方式协同作用, 有效地解决端粒酶逆转录酶 (telomerase reverse transcriptase, TERT) 缺陷细胞的端粒功能障碍, 并促进胶质瘤的形成。他们通过在 TERT 阴性的人星形胶质细胞中引入病毒蛋白 E6 和 E7, 使其 p53 和 pRB 功能丧失, 然后通过 CRISPR 系统对 ATRX 进行基因敲除后过表达 IDH1 突变体, 以此成功的诱导出了 ALT 表型。利用这个系统, 作者发现 IDH1 突变会介导 RAP1 下调, RAP1 作为端粒保护蛋白之一, 已经被证明会抑制 HR 的发生<sup>[19]</sup>, 其下调促进了功能失调的端粒处启动 DNA 损伤反应。同时 IDH1 突变也下调了 XRCC1 的表达, XRCC1 是 aNHEJ 途径的关键组成部分<sup>[20]</sup>。因此, 突变的 IDH1 介导的 RAP1 和 XRCC1 的下调会导致细胞不通过 aNHEJ 途径修复功能失调的端粒, 而是更依赖于 HR 等途径, 从而促进 ALT 的发生<sup>[14]</sup>。这些发现有利于对 ALT 胶质瘤的发生有进一步的认识, 同时对 ALT 胶质瘤的治疗也有很重要的指导意义。

综上所述, 以上实验室通过肿瘤原代细胞培养或基因编辑的方法, 成功建立了一些 ALT 胶质瘤细胞系临床前模型, 一定程度上反应了 ALT 胶质瘤的生理和病理情况。ALT 胶质瘤细胞系临床前模型的建立为临床前针对 ALT 胶质瘤的药物和新疗法的开发具有十分重要的作用。

Table 1 ALT glioma cell line  
表1 ALT胶质瘤细胞系

| 胶质瘤类型                  | 细胞系            | ALT表型              | 基因突变                                 | 移植瘤模型             | 参考文献 |
|------------------------|----------------|--------------------|--------------------------------------|-------------------|------|
| 原代培养的<br>ALT胶质瘤<br>细胞系 | 胶质母细胞瘤<br>TG20 | T-SCE, T环          | —                                    | NSG小鼠、裸鼠、<br>原位移植 | [15] |
| 胶质瘤                    | MGG119         | APBs, T-SCE,<br>C环 | 端粒酶阴性, IDH1 R132H突变、<br>ATRX突变、p53突变 | 免疫缺陷的小鼠、<br>原位移植  | [21] |
| 星形胶质瘤                  | 人星形胶质细胞        | APBs, T-SCE,<br>C环 | TERT阴性                               | —                 | [14] |
| 胶质母细胞瘤                 | JHH-NF1-GBM1   | C环                 | NF1缺陷, ATRX突变                        | 裸鼠、原位移植           | [22] |
| 星形细胞瘤                  | SF10602        | APBs, T-SCE,<br>C环 | 端粒酶阴性, IDH1 R132H突变、<br>ATRX突变、p53突变 | —                 | [14] |

续表1

| 胶质瘤类型          |          | 细胞系         | ALT表型       | 基因突变                                             | 移植瘤模型        | 参考文献 |
|----------------|----------|-------------|-------------|--------------------------------------------------|--------------|------|
| 胶质母细胞瘤         |          | JHH-GBM14   | APBs, 端粒异质性 | <i>p53</i> 未突变, <i>ATRX</i> 未突变, <i>DAXY</i> 未突变 | 免疫缺陷小鼠, 原位移植 | [23] |
| 现有胶质瘤<br>细胞系改造 | 星形胶质母细胞瘤 | U87诱导为ALT   | APBs, C环    | <i>ATRX</i> 基因敲除, 端粒酶阳性                          | —            | [18] |
|                | 星形胶质细胞瘤  | U251诱导为ALT  | APBs, C环    | <i>ATRX</i> 基因敲除, 端粒酶阳性,<br><i>p53</i> R273H突变   | —            | [13] |
|                | 高级别胶质瘤   | UW479诱导为ALT | APBs, C环    | <i>ATRX</i> 基因敲除, 端粒酶阳性,<br><i>p53</i> R158L突变   | —            | [13] |

## 2 ALT胶质瘤小鼠临床前模型研究进展

尽管体外的细胞模型研究提供了许多显著的益处,但它们具有一个主要的缺点,即无法模拟药物如何与复杂器官中存在的所有分子相互作用。而体内研究能够解决体外研究的局限性,它能够证明药物对个体的影响,可以更好地体现出药物在机体中和器官或者其他体内途径的相互作用,从而改善药物在临床使用前安全性、毒性和功效的测试。这有助于研究者对于人类疾病靶向药物的研发。在胶质瘤的临床前抗肿瘤治疗效果的研究中,使用的主要是动物异种移植瘤模型。

然而在近十年的研究过程中,才逐渐出现了ALT相关的胶质瘤小鼠模型,目前主要的方法是将临床上获得的病人来源的ALT胶质瘤细胞系或者将现有的胶质瘤细胞系诱导为ALT细胞后,通过原位或异位的方法注射到SCID小鼠或裸鼠体内,从而建立异种移植模型用于临床前靶向药物作用研究。Jeitany等<sup>[15]</sup>为了证明TG20细胞具有胶质瘤干细胞的所有特征,在NOD-SCID-IL2Rc (NSG)小鼠和裸鼠模型中用TG20细胞在脑内进行了原位移植,成功在动物模型中形成了可以连续移植的脑肿瘤。并且进一步在动物模型水平上验证G4体稳定剂360B对ALT胶质瘤的抑制作用。2014年Wakimoto等<sup>[24]</sup>将20例来自临床的IDH1突变的胶质瘤切除的肿瘤标本植入免疫力低下的小鼠脑内,成瘤后进行体外培养,获得了一些细胞系,这些细胞系在组织学上都与亲本肿瘤表型十分相似。其中MGG119在体外培养后成为了可以稳定传代的细胞系。虽然Wakimoto等当时并没有讨论关于MGG119是否是ALT胶质瘤,但在后续其他研究中,对MGG119进行了关于ALT表型的检测,确定了这株细胞具有ALT细胞系的特征<sup>[14]</sup>。除了*ATRX*、*IDH1*等基因和ALT的发生高度相关,其他

一些基因,比如*NF1*和*ALT*的发生同样关系密切。最近发现,在*NF1*相关肿瘤尤其是星形细胞肿瘤,ALT发生的机率比较大,且常常伴随着*ATRX*突变和*NF1*突变<sup>[25-26]</sup>。Yuan等<sup>[22]</sup>在2022年,利用患者来源的*NF1*缺陷和*ATRX*突变的ALT神经胶质母细胞瘤细胞在裸鼠上的异种移植模型,证明了ATRi (ATR inhibitor)具有特异性抑制*NF1*缺陷细胞的能力ALT细胞系的能力。

虽然异种移植为颅内肿瘤的研究提供了许多优点:重复性好,生长速度标准化,死亡时间和肿瘤定位方便。然而,由于用于植入的人工、侵入性手术方法以及准确复制人类胶质瘤的组织学特征的能力有限,这些模型具有花费的时间较长,成本较高,移植成功率不确定,很难完整的复制患者数据等局限性<sup>[27]</sup>。而转基因自发脑胶质瘤动物模型的出现一定程度上解决了上述的问题。近几年来,虽然还没有成功构建自发ALT胶质瘤动物模型报道,然而通过在动物水平上进行与ALT相关的基因的编辑,一些动物模型表现出较高水平的胶质瘤形成几率,提示该模型具有自发形成ALT胶质瘤的潜能。

在2016年,Koschmann等<sup>[28]</sup>通过睡美人转座酶系统(Sleeping Beauty(SB)Transposase System)建立了*ATRX*基因缺陷小鼠,这种小鼠会在出生一定时间后出现自发的胶质瘤,揭示了*ATRX*缺失对胶质瘤肿瘤增殖的影响。这种小鼠模型可以很大程度地模拟人体自发形成肿瘤的过程,这一成果也为深入了解*ATRX*突变在人脑胶质瘤中的作用提供了依据。有研究已经提示了*NF1*与ALT星形细胞肿瘤发生高度相关,而2021年,Pan等<sup>[29]</sup>使用的由神经纤维瘤病1肿瘤抑制基因(*NF1*)<sup>5</sup>突变驱动的视神经胶质瘤(optic pathway gliomas, OPG)的小鼠模型,证明了刺激视神经活动会促进视神经胶质瘤的生长,以及通过光剥夺减少视觉体验可以防止

肿瘤的形成和维持。这种 *NF1* 基因敲除的小鼠模型表现出胶质瘤高发的特性, 虽然还没有 *NF1* 小鼠确实是自发 ALT 肿瘤模型报道, 但他有望成为一种新型的自发 ALT 肿瘤小鼠模型。

### 3 总结与展望

由于 ALT 的发生机制目前还不明确, 因此靶向 ALT 肿瘤药物的研究较少。而在这些研究中, 有相当一部分研究都是通过上述的 ALT 胶质瘤细胞模型或动物移植瘤模型完成的。如前文中提到的 G4 体稳定剂 360B 以及组蛋白乙酰转移酶抑制剂 AA 都是基于 TG20 细胞模型发现的具有靶向 ALT 活性的药物。而 ATR 抑制剂 VE-822、AZD6738 和 VE-821 以及 PARP 抑制剂 Olaparib、Talazoparib、Niraparib 等都被证明在 ALT 胶质瘤或者 ALT 胶质瘤小鼠模型体内具有较好的杀伤作用<sup>[22, 30-31]</sup>。虽然目前 ALT 胶质瘤的临床前模型较少, 但是已经建立的这些 ALT 细胞模型和小鼠模型已经在药物筛选等方面发挥了重要作用, 尤其是原代培养的胶质瘤细胞系, 能很好地反映胶质瘤在体内的生长状态, 获得的数据也更加准确真实。ALT 胶质瘤动物模型能更好地反映人类肿瘤的遗传、形态和免疫学特征。本实验室近几年通过 ALT 相关机制的研究, 也有望在自发 ALT 胶质瘤小鼠模型的建立上取得突破。这些胶质瘤小鼠模型的建立将为更详细的研究胶质瘤的发生过程和更准确地评估治疗的安全性及有效性提供了有利的条件。

### 参 考 文 献

- [1] Xu S C, Tang L, Li X Z, *et al.* Immunotherapy for glioma: current management and future application. *Cancer Lett*, 2020, **476**: 1-12
- [2] Louis D N, Perry A, Wesseling P, *et al.* The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro Oncol*, 2021, **23**(8): 1231-1251
- [3] Ostrom Q T, Bauchet L, Davis F G, *et al.* The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro Oncol*, 2014, **16**(7): 896-913
- [4] Artandi S E, Depinho R A. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis*, 2010, **31**(1): 9-18
- [5] 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
- [6] Carvalho V S, Gomes W R, Calado R T. Recent advances in understanding telomere diseases. *Fac Rev*, 2022, **11**: 31
- [7] He Y, Feigon J. Telomerase structural biology comes of age. *Curr Opin Struc Biol*, 2022, **76**: 102446
- [8] O'sullivan R J, Almouzni G. Assembly of telomeric chromatin to create ALTerative endings. *Trends Cell Biol*, 2014, **24**(11): 675-685
- [9] Acharya S, Kaul Z, Gocha A S, *et al.* Association of BLM and BRCA1 during telomere maintenance in ALT cells. *PLoS One*, 2014, **9**(8): e103819
- [10] Hou K, Yu Y, Li D, *et al.* Alternative lengthening of telomeres and mediated telomere synthesis. *Cancers*, 2022, **14**(9): 2194
- [11] Episkopou H, Draskovic I, Van Beneden A, *et al.* Alternative lengthening of telomeres is characterized by reduced compaction of telomeric chromatin. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(7): 4391-4405
- [12] Mackenzie D Jr, Watters A K, To J T, *et al.* ALT positivity in human cancers: prevalence and clinical insights. *Cancers*, 2021, **13**(10): 2384
- [13] Brosnan-Cashman J A, Yuan M, Graham M K, *et al.* ATRX loss induces multiple hallmarks of the alternative lengthening of telomeres (ALT) phenotype in human glioma cell lines in a cell line-specific manner. *PLoS One*, 2018, **13**(9): e0204159
- [14] Mukherjee J, Johannessen T C, Ohba S, *et al.* Mutant IDH1 cooperates with ATRX loss to drive the alternative lengthening of telomere phenotype in glioma. *Cancer Res*, 2018, **78**(11): 2966-2977
- [15] Jeitany M, Pineda J R, Liu Q, *et al.* A preclinical mouse model of glioma with an alternative mechanism of telomere maintenance (ALT). *Int J Cancer*, 2015, **136**(7): 1546-1558
- [16] Jeitany M, Bakhos-Douaihy D, Silvestre D C, *et al.* Opposite effects of GCN5 and PCAF knockdowns on the alternative mechanism of telomere maintenance. *Oncotarget*, 2017, **8**(16): 26269-26280
- [17] Bakhos-Douaihy D, Desmaze C, Jeitany M, *et al.* ALT cancer cells are specifically sensitive to lysine acetyl transferase inhibition. *Oncotarget*, 2019, **10**(7): 773-784
- [18] Li F, Deng Z, Zhang L, *et al.* ATRX loss induces telomere dysfunction and necessitates induction of alternative lengthening of telomeres during human cell immortalization. *EMBO J*, 2019, **38**(19): e96659
- [19] Sfeir A, Kabir S, Van Overbeek M, *et al.* Loss of Rap1 induces telomere recombination in the absence of NHEJ or a DNA damage signal. *Science*, 2010, **327**(5973): 1657-1661
- [20] Audebert M, Salles B, Calsou P. Involvement of poly(ADP-ribose) polymerase-1 and XRCC1/DNA ligase III in an alternative route for DNA double-strand breaks rejoining. *J Biol Chem*, 2004, **279**(53): 55117-55126
- [21] Spino M, Kurz S C, Chiriboga L, *et al.* Cell surface notch ligand DLL3 is a therapeutic target in isocitrate dehydrogenase-mutant glioma. *Clin Cancer Res*, 2019, **25**(4): 1261-1271
- [22] Yuan M, Eberhart C G, Pratilas C A, *et al.* Therapeutic vulnerability to ATR inhibition in concurrent NF1 and ATRX-deficient/ALT-positive high-grade solid tumors. *Cancers*, 2022, **14**(12): 3015
- [23] Heaphy C M, Schreck K C, Raabe E, *et al.* A glioblastoma

- neurosphere line with alternative lengthening of telomeres. *Acta Neuropathol*, 2013, **126**(4): 607-608
- [24] Wakimoto H, Tanaka S, Curry W T, *et al.* Targetable signaling pathway mutations are associated with malignant phenotype in IDH-mutant gliomas. *Clin Cancer Res*, 2014, **20**(11): 2898-2909
- [25] Reinhardt A, Stichel D, Schrimpf D, *et al.* Anaplastic astrocytoma with piloid features, a novel molecular class of IDH wildtype glioma with recurrent MAPK pathway, CDKN2A/B and ATRX alterations. *Acta Neuropathol*, 2018, **136**(2): 273-291
- [26] Rodriguez F J, Brosnan-Cashman J A, Allen S J, *et al.* Alternative lengthening of telomeres, ATRX loss and H3-K27M mutations in histologically defined pilocytic astrocytoma with anaplasia. *Brain Pathol*, 2019, **29**(1): 126-140
- [27] Kim K M, Shim J K, Chang J H, *et al.* Failure of a patient-derived xenograft for brain tumor model prepared by implantation of tissue fragments. *Cancer Cell Int*, 2016, **16**(2016): 43
- [28] Koschmann C, Calinescu A A, Nunez F J, *et al.* ATRX loss promotes tumor growth and impairs nonhomologous end joining DNA repair in glioma. *Sci Transl Med*, 2016, **8**(328): 328ra328
- [29] Pan Y, Hysinger J D, Barron T, *et al.* NF1 mutation drives neuronal activity-dependent initiation of optic glioma. *Nature*, 2021, **594**(7862): 277-282
- [30] Flynn R L, Cox K E, Jeitany M, *et al.* Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors. *Science*, 2015, **347**(6219): 273-277
- [31] Mukherjee J, Pandita A, Kamalakar C, *et al.* A subset of PARP inhibitors induces lethal telomere fusion in ALT-dependent tumor cells. *Sci Transl Med*, 2021, **13**(592): eabc7211

## The Preclinical Models of Glioma Dependent on Alternative Lengthening of Telomeres (ALT) and Current Applications\*

TONG Jin-Kai<sup>1)</sup>, YAN Si-Xiang<sup>1)</sup>, ZHANG Yan-Duo<sup>1)</sup>, HOU Kai-Long<sup>1)</sup>, ZHANG Ke<sup>1)</sup>,  
ZHANG Hao-Nan<sup>1)</sup>, CHANG Shun<sup>2)\*\*</sup>, JIA Shu-Ting<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup>Laboratory of Molecular Genetic of Aging & Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

<sup>2)</sup>Neurosurgery Department, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

**Abstract** Glioma is the most common malignancy of the central nervous system, originating mainly from glial cells. Because of its highly aggressive nature, glioma has one of the highest rates of death among all types of cancer. Therefore, it is very important to develop new therapeutic approaches and drugs for glioma treatment. Instead of activate the telomerase, approximately 30% of glioma use alternative lengthening of telomere (ALT) to maintain telomere length. The mechanism of ALT development is poorly understood, however, some genetic mutations have been reported to induce the development of ALT glioma, such as *ATRX*, *IDH1*, *p53*, etc. The lack of ALT glioma cell lines and preclinical ALT glioma models has limited the mechanistic studies of ALT glioma. Therefore, this review listed ALT glioma cell lines that derived from primary culture or gene editing in the last decade, as well as the xenografted animal models established by ALT glioma cell lines, and discussed the role and significance these cell and animal models play in preclinical studies.

**Key words** glioma, alternative lengthening of telomere, preclinical model

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0033

---

\* This work was supported by grants from Yunnan Fundamental Research Project (202101AY070001-235, 202201AS070074) and the Yunnan "Xing Dian Ying Cai" Project (YNWRQNBj-2019-240).

\*\* Corresponding author.

JIA Shu-Ting. Tel: 86-13577116928, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

CHANG Shun. Tel: 86-871-63638544, E-mail: 771611474@qq.com

Received: February 6, 2023 Accepted: April 27, 2023