



异柠檬酸脱氢酶1 R132H 突变型胶质细胞瘤 及其维持端粒的代偿机制*

闫思翔 李逸凡 李 瑶 李奕璇 李香秀 仝津恺 贾舒婷** 旦菊花**

(昆明理工大学基础医学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500)

摘要 异柠檬酸脱氢酶1 (isocitrate dehydrogenase 1, IDH1) R132H 是 II-III 级胶质瘤和少突胶质细胞瘤中最常见的突变基因。绝大多数 IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞瘤并没有通过端粒酶的激活 (在端粒酶逆转录酶 TERT 的介导下以 RNA 为模板延伸端粒长度) 作为其端粒维持机制, 而是通过一种依赖于同源重组 (homologous recombination, HR) 的代偿机制来维持端粒长度, 该机制被称为端粒延长替代 (alternative lengthening of telomere, ALT), 目前关于 ALT 形成的机制尚不完全清楚。最近的研究表明, 端粒 Shelterin 复合物组分 RAP1 和非同源 DNA 末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 修复因子 XRCC1 的表达在 IDH1^{R132H} 突变的胶质细胞瘤中均一致下调, 导致端粒功能障碍并促进 HR。同时, IDH1^{R132H} 突变通过下调去甲基化酶 KDM4B 的活性水平, 与 α 地中海贫血伴智力低下综合征 X 连锁 (alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked, ATRX) 基因缺失协同作用促进 ALT 途径。基于这些研究, 本文就突变 IDH1^{R132H} 的表达如何引发端粒功能障碍并改变端粒处的 DNA 修复途径偏好, 进而与 ATRX 丢失协同作用促进 ALT 发生的机制进行综述。为临床靶向治疗 IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞瘤提供参考。

关键词 胶质瘤, 异柠檬酸脱氢酶1 R132H, 端粒延长替代

中图分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0044

端粒是位于真核生物染色体末端的结构, 由 DNA 重复序列 TTAGGG 和 Shelterin 蛋白复合物 (Shelterin 复合体是端粒结合蛋白的核心成分, 主要由 6 个核心蛋白质组成, 包括端粒结合因子 (telomere repeat-binding factor, TRF) 1、TRF2、端粒保护蛋白 1 (protection of telomeres 1, POT1)、TRF1 相互作用核蛋白 2 (TRF1-interacting nuclear protein 2, TIN2)、阻遏物/激活物蛋白 1 (repressor/activator protein 1, RAP1)、端粒结合蛋白 POT1 相互作用蛋白 1 (telomere-binding protein POT1-interacting protein 1, TPP1)) 组成, 保护线性染色体末端不被识别为 DNA 损伤, 维持基因组的稳定性^[1]。端粒在每次细胞分裂过程中都会缩短, 当端粒缩短到一定程度时, Shelterin 就会解离并暴露出端粒末端, 从而激活 DNA 双链断裂 (DNA double strand breaks, DSBs) 修复途径, 导致端粒损伤和复制性衰老^[2]。大多数肿瘤以端粒酶的激活作为其端粒维持机制, 绕过

复制性衰老。然而, 大约有 10%~15% 的肿瘤不会激活端粒酶逆转录酶 (telomerase reverse transcriptase, TERT), 而是通过一种依赖于同源重组 (homologous recombination, HR) 的端粒延长替代 (alternative lengthening of telomere, ALT) 机制来维持端粒长度, 逃避细胞死亡^[3]。该机制的表型特征包括: ALT 相关的早幼粒细胞白血病蛋白小体 (ALT associated promyelocytic leukemia protein bodies, APBs); 染色体外端粒 DNA 片段, 如 C 环和 T 环; 端粒姐妹染色单体交换 (telomeric sister chromatid exchange, T-SCE) 等^[4]。近年研

* 昆明理工大学课外学术科技创新基金 (2022ZK109) 和昆明理工大学与云南省第一人民医院联合资助自然科学基金 (KUST-KH2022009Y) 资助项目。

** 通讯联系人。

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

旦菊花 Tel: 15812038761, E-mail: danjuhua@kust.edu.cn

收稿日期: 2024-02-02, 接受日期: 2024-05-24

究发现, Shelterin 组分在 ALT 机制中具有重要作用。TRF1、TRF2 和 RAP1 与端粒的结合会减弱 ALT 的激活, 而 ALT 端粒的维持则需要 TRF1 和 TRF2^[5]。目前关于 ALT 形成的机制尚不完全清楚, 有许多研究发现, ALT 与 α 地中海贫血伴智力低下综合征 X 连锁 (alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked, ATRX) 基因和异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase 1, IDH1) 突变有关^[6]。

ATRX 是染色质重塑复合体的核心成分, 参与了细胞周期依赖性磷酸化, 调节其核基与染色质的结合, 并参与有丝分裂的间期基因调节和染色体分离, 因此 ATRX 对于保持基因组的稳定性至关重要^[7]。ATRX 在许多类型的胶质瘤细胞中突变率都高于 50%。如, ATRX 基因突变在 II-III 级星形细胞瘤中约占 71%, 少突星形细胞瘤中约占 68%, 继发性胶质母细胞瘤中约占 57%^[8]。已有研究证明, ATRX 与组蛋白 H3K9 三甲基化位点相关, 它可以将 H3.3 组蛋白整合到染色体端粒区域, 促进端粒 H3.3 沉积, 从而抑制端粒 HR^[7]。因此, ATRX 的功能丧失突变似乎会促进端粒以 HR 的方式完成交替延长, 从而促进 ALT 发生。

IDH 基因参与三羧酸循环中的异柠檬酸代谢, IDH 突变会导致酶活性的改变, 促使代谢途径发生异常, 从而影响细胞的增殖和生存。据报道, 在 80%~90% 的 II 级、III 级胶质瘤和继发性成人胶质细胞瘤中检测到了 IDH1 突变, IDH1 突变最常导致其蛋白质产物的第 132 位精氨酸残基 (R132) 被取代, 该氨基酸位于酶的活性位点, 发生突变会产生一种新的酶促反应: 将 α 酮戊二酸 (α -KG) 转化为 2-羟基戊二酸 (2-HG)^[9]。2-HG 通过竞争性抑制 α -KG 依赖性双加氧酶, 影响 DNA 甲基化、组蛋白甲基化修饰、细胞能量代谢等机制促进肿瘤发生^[10]。最近的研究发现, IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞瘤伴有 ATRX、TP53 频繁突变, 呈现 ALT 表型。值得注意的是, 在低级星形细胞瘤中, IDH1^{R132H} 突变、ATRX 突变和 ALT 发生之间的重复率高达 100%, 这表明 IDH1^{R132H} 突变可能以某种方式与 ATRX 缺失协同作用, 有效解决 TERT 阴性表达细胞的端粒功能障碍^[11]。已经有实验证明, 在 IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞中, 敲低 ATRX 能够激活 ALT 通路^[12]。另外, Ferreira 等^[13] 的实验发现, IDH1^{R132H} 在胶质瘤细胞中过度表达会直接抑制 ATRX 表达, 从而导致 ALT, 但是具体机制尚不

清楚。

总之, 关于 IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞瘤的端粒维持代偿机制目前的研究非常有限。目前的研究认为, IDH1^{R132H} 突变可以抑制端粒 Shelterin 蛋白复合物组分 RAP1 和 DNA 损伤修复蛋白——X 射线交错互补修复蛋白 1 (X-ray repair cross complementing 1, XRCC1) 的表达, RAP1 沉默可导致端粒功能障碍, 而 XRCC1 沉默抑制非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 机制, 使细胞通过激活同源重组和 ALT 来维持增殖^[6]。同时, IDH1^{R132H} 突变导致 2-HG 积累使去甲基化酶 KDM4B 失活, 组蛋白 H3K9me3 维持三甲基化水平, 与 HP1 α 结合使端粒异染色质化, 促进 APBs 等 ALT 特征性表型的形成, 与 ATRX 突变协同作用促进胶质细胞瘤中的 ALT 途径 (图 1)。

1 IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞瘤中 Shelterin 相关蛋白表达下调对 ALT 的影响

1.1 RAP1 沉默引发端粒功能障碍激活 ALT

有研究发现, 在 IDH1^{R132H} 突变型胶质细胞瘤中 Shelterin 相关蛋白 RAP1、TRF1、TRF2 的表达均下调, 并且相关实验也证明, IDH1^{R132H} 在胶质瘤中过表达可以显著下调 RAP1, 但具体机制不明^[5-6]。Mukherjee 等^[6] 研究发现, IDH1^{R132H} 突变能抑制 RAP1 的表达, 进而导致 ATRX 缺陷细胞的端粒功能障碍和端粒功能障碍诱导病灶 (telomere dysfunction-induced foci, TIF) (TIF 是端粒处的损伤信号, 是持续端粒功能障碍的标志) 的出现, 同时 RAP1 的缺失会增加细胞中 T-SCE 的水平^[14]。据报道, 持续的端粒功能障碍和 DNA 损伤可能为变异断裂诱导的复制 (break induced replication, BIR) 介导的 ALT 端粒延长提供了底物^[15-16], 说明 IDH1^{R132H} 突变可能通过下调 RAP1 与 ATRX 缺失协同作用导致端粒功能障碍从而引发 ALT。已有研究证明, RAP1 可抑制含端粒重复序列的 RNA (telomeric repeat-containing RNA, TERRA) (由端粒 DNA 重复序列转录而来) 转录以下调 ALT 端粒处的 DNA 复制压力和端粒 DNA 损伤, 从而抑制 ALT 端粒的合成^[17]。同样, 在 ALT 细胞中, 端粒特异性 RNaseH1 核酸酶的敲低会触发 TERRA 积累, 从而导致复制压力增加。而 RNaseH1 的过表达则会减弱 ALT 端粒的重组能力, 从而导致端粒损耗^[18]。这表明, RAP1 可以通过控制 TERRA 表达来调节复制压力水平进而调控 ALT 活性。总之,

态如何, *XRCC1* 基因都持续下调, 说明 *XRCC1* 的下调与 *ATR* 缺失无关, 而是与 *IDH1*^{R132H} 突变有关, Mukherjee 等^[6] 研究证明了 *IDH1*^{R132H} 突变可以抑制 *XRCC1* 的表达, 这可能与突变 *IDH1* 驱动的大规模 CpG 岛甲基化和基因沉默有关, 但是具体机制尚不清楚。有报道, *XRCC1* 参与替代非同源末端连接 (alternative non-homologous end joining, A-NHEJ) 机制, A-NHEJ 通常通过 DNA 损伤关键蛋白 (meiotic recombination 11, MRE11) 和羧基端结合蛋白 (C-terminal binding protein, CtBP) 对 DNA 双链断裂末端进行有限的切除产生单链悬出末端, 随后通过 DNA 聚合酶 (PolQ) 进行间隙填充合成, 再通过 *XRCC1* 搭建支架, 通过招募 DNA 连接酶 1 或 3 进行连接^[24]。由于 A-NHEJ 与 HR 修复途径可以竞争性地修复 DSBs 经核酸外切酶处理后产生单链悬出末端, 因此当 *IDH1*^{R132H} 突变抑制 *XRCC1* 表达时, 端粒处的 A-NHEJ 途径被抑制而 HR 被激活, 从而进一步促进依赖 HR 的 ALT 发生。

3 *IDH1*^{R132H} 突变影响组蛋白甲基化水平促进 ALT 发生

3.1 *IDH1* 突变导致 2-HG 累积

IDH1 基因的错义突变导致其蛋白质产物第 132 位的一个带强正电荷的精氨酸残基 (R) 被低极性氨基酸如组氨酸 (H)、赖氨酸 (K) 或半胱氨酸 (C) 取代, 其中 R132H 突变体由于阻碍了 *IDH1* 与异柠檬酸的 α 羧基和 β 羧基位点形成氢键, 其对异柠檬酸的亲和力降低最明显, 也最常见于胶质瘤中^[25]。尽管 *IDH1* 突变的胶质瘤通常预后较好, 但是大多数合并 *IDH1* 突变的低级别胶质瘤, 会在初始治疗后复发转化为高级别胶质瘤^[26]。突变后的 *IDH1* 对异柠檬酸和 NADP⁺ 的亲和力下降, 而对 α -KG 和 NADPH 的亲和力增加, 因此突变的 *IDH1*^{R132H} 以 NADPH 依赖的方式, 催化 α -KG 加氢, 生成 2-HG^[27]。2-HG 与 α -KG 结构相似, 因此 2-HG 累积可以通过竞争性抑制 α -KG 依赖性双加氧酶, 如组蛋白去甲基化酶和 DNA 甲基胞嘧啶双加氧酶的 10-11 易位甲基胞嘧啶双加氧酶 (ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase, TET) 家族, 改变组蛋白和 DNA 甲基化水平来促进肿瘤发生^[10]。

3.2 2-HG 累积抑制 KDM4B 去甲基化酶活性

2006 年, Tsukada 等^[28] 发现了一组名为赖氨

酸特异性脱甲基酶 ((K)-specific demethylases, KDMs) 的组蛋白去甲基化酶, 其通过与 α -KG 和细胞代谢物协同作用, 对组蛋白上的赖氨酸残基去甲基化。不同的 KDMs 对不同的组蛋白赖氨酸残基去甲基化, 如 KDM5 家族去除组蛋白 H3 第四位赖氨酸 (H3K4) 的甲基化、KDM4 家族去除甲基化组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸 (H3K9) 的甲基化、KDM6 家族去除甲基化组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸 (H3K27) 的甲基化^[29]。如前所述, 在 *IDH1* 突变细胞中 2-HG 水平的增高可以竞争性抑制多种 α -KG 依赖性组蛋白去甲基化酶, 其中就包含了 KDM4^[30]。在一些研究报告中提示, *IDH1*^{R132H} 突变的胶质瘤中有些组蛋白甲基化标记增加: H3K4、H3K9、H3K27 和 H3K79^[31]。在 KDM4 家族中, 相较于 KDM4A 和 KDM4C, KDM4B 在端粒的富集程度较高, 对异染色质形成的调节作用较强, 是调控端粒附近组蛋白甲基化最重要的脱甲基酶^[32]。因此, *IDH1*^{R132H} 突变导致的 2-HG 积累主要通过抑制 KDM4B 去甲基化酶的活性, 改变端粒处的 H3K9 组蛋白甲基化水平进而影响 ALT。

3.3 KDM4B 下调导致 H3K9me3 积累影响端粒处异染色质水平促进 ALT

端粒是异染色质富集区, 异染色质的维持需要组蛋白 H3K9 保持三甲基化, KDM4B 去甲基化酶活性被抑制后, 组蛋白 H3 的第 9 位赖氨酸残基上发生三甲基化修饰 (H3K9me3)。H3K9me3 可以和异染色质蛋白 HP1 α 结合增加端粒处异染色质程度^[33]。目前, 越来越多的研究证明, ALT 机制的启动与端粒处异染色质化转变有关。Gauchier 等^[34] 研究显示, H3K9me3 水平升高后, 端粒的异染色质化募集了大量拓扑异构酶 III α 、BLM 解旋酶和 RMI1 等 ALT 相关的重组因子, 并且出现了 APBs、C 环、T 环、T-SCE 等 ALT 特征性表型。这表明异染色质可以刺激转录和重组, 推动了 ALT 促进因子的募集和端粒上独特 ALT 特征的出现。另外, 有研究表明, APBs 含有端粒染色质, 而端粒染色质本质上就是异染色质, HP1 α 直接参与了 APBs 的形成^[35]。

ALT 的发生虽然需要端粒维持异染色质化, 但是高度浓缩的异染色质反而会阻止重组 (HR), 抑制 ALT 途径的活性^[34]。2021 年, Udugam 等^[36] 研究发现, *ATR* 缺失会破坏端粒的异染色质环境, 降低端粒处异染色质的程度, 避免了高度富集的异染色质对 ALT 活性的抑制。因此, 单独的 *IDH1*^{R132H}

突变所导致的端粒高浓度异染色质环境不能激活ALT途径, 还需要与ATRX突变协同作用, 使异染色质水平降低并维持在一定水平, 才能促进ALT发生。

综上所述, IDH1^{R132H}突变通过产生2-HG竞争性抑制 α -KG依赖性组蛋白去甲基化酶KDM4B的活性, 维持H3k9me3的三甲基化水平, 与HP1 α 结合使端粒异染色质化, 在ATRX失活突变的协同作用下, 推动ALT相关促进因子募集和APBs等特征性表型的出现。

4 IDH1^{R132H}突变抑制TET活性导致DNA高甲基化促进ALT发生

TET是一类重要的DNA去甲基化酶, 通过将CpG岛5-甲基胞嘧啶(5-methyl cytosine, 5-mC)氧化, 作为碱基切除修复的前体被切除, 替换为未甲基化的胞嘧啶, 完成CpG岛胞嘧啶的脱甲基化^[25]。TET完成上述一系列的催化依赖于其核心催化结构域, 该结构域中有与 α -KG结合的残基^[37]。而2-HG与 α -KG结构相似, 可竞争性地占用TET的核心催化结构域, 导致TET的活性被阻断^[38], 使得DNA去甲基化被抑制, 产生CpG岛高甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP)^[25, 38]。有研究提出, hTERT启动子和ALT相关基因或启动子由共同阻遏蛋白调节, 其激活与否主要取决于其启动子或基因的甲基化状态^[39]。在Kumakura等^[40]的研究中, 所有ALT细胞系均具有hTERT CpG岛的完全甲基化, 提示ALT机制的产生与一定水平的CIMP有关。

5 总结与展望

本文综述了IDH1^{R132H}突变型胶质细胞瘤的ALT机制。突变IDH1似乎至少在3个关键方面促成了胶质瘤细胞中ALT的产生。首先, IDH1^{R132H}突变介导RAP1下调导致端粒功能障碍, 对ALT的激活具有重要意义^[5]。其次, 突变IDH1通过下调XRCC1以此改变端粒损伤修复途径的偏好性, 抑制端粒处的A-NHEJ途径使细胞更加依赖HR途径促进ALT发生^[6]。最后, IDH1^{R132H}突变会积累大量的2-HG代谢产物, 此代谢产物具有竞争性抑制去甲基化酶KDM4B活性使H3k9me3积累, 促进HP1 α 募集导致端粒异染色质化, 在与ATRX缺失的协同作用下促进ALT^[36]。

虽然以上内容初步证明了IDH1^{R132H}突变型胶质

细胞瘤通过ALT作为其主要的端粒维持机制, 但是胶质瘤中ALT途径的激活是多基因相互协调的结果, 仍然有许多机制尚不明确, 例如IDH1^{R132H}突变参与下调RAP1和XRCC1的具体机制是什么? 值得关注的是, 在最新的一项研究中指出, 另一种去甲基化酶KDM2A也可以维持ALT的活性, 然而该去甲基化酶是否与IDH1^{R132H}突变有关还有待进一步的研究^[41]。

上述内容不仅对理解IDH1^{R132H}突变型胶质细胞瘤的ALT机制有意义, 而且对ALT肿瘤的治疗也有意义。IDH1抑制剂或靶向药物对ALT胶质瘤理论上应当有很好的治疗效果。目前已有临床前研究的靶向IDH1的药物包括: AG-221、AG-120、AG-881、Ivosidenib等, 这几种IDH1/IDH2抑制剂在IDH1^{R132H}突变型胶质细胞瘤治疗领域很有前景^[42]。另外, 已经证明PARP可以特异性结合ALT端粒, 并参与稳定TRF2防止致死性端粒融合^[14]。Philip等^[43]评估了PARP抑制剂Olaparib单独使用以及与替莫唑胺(TMZ)联合使用对ALT胶质瘤的细胞毒性, 取得了较好的效果。总之, 研究胶质瘤细胞中突变型IDH1^{R132H}调控ALT的形成机制, 可以为临床治疗胶质瘤提供新的靶点和治疗思路。

参 考 文 献

- [1] de Lange T. Shelterin-mediated telomere protection. *Annu Rev Genet*, 2018, **52**: 223-247
- [2] 朱先玉, 李江辉, 毛萃苏. 端粒DNA损伤修复机制及其意义. *西南医科大学学报*, 2023, **46**(1): 87-92
Zhu X Y, Li J H, Mao P S. *J Southwest Med Univ*, 2023, **46**(1): 87-92
- [3] Yang S Y, Chang E Y C, Lim J, *et al*. G-quadruplexes mark alternative lengthening of telomeres. *NAR Cancer*, 2021, **3**(3): zcab031
- [4] Hou K, Yu Y, Li D, *et al*. Alternative lengthening of telomeres and mediated telomere synthesis. *Cancers (Basel)*, 2022, **14**(9): 2194
- [5] Zhang Y, Hou K, Tong J, *et al*. The altered functions of shelterin components in ALT cells. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(23): 16830
- [6] 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
- [7] Clatterbuck Soper S F, Meltzer P S. ATRX/DAXX: guarding the genome against the hazards of ALT. *Genes (Basel)*, 2023, **14**(4): 790
- [8] 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
- [9] Miller J J, Shih H A, Andronesi O C, *et al*. Isocitrate

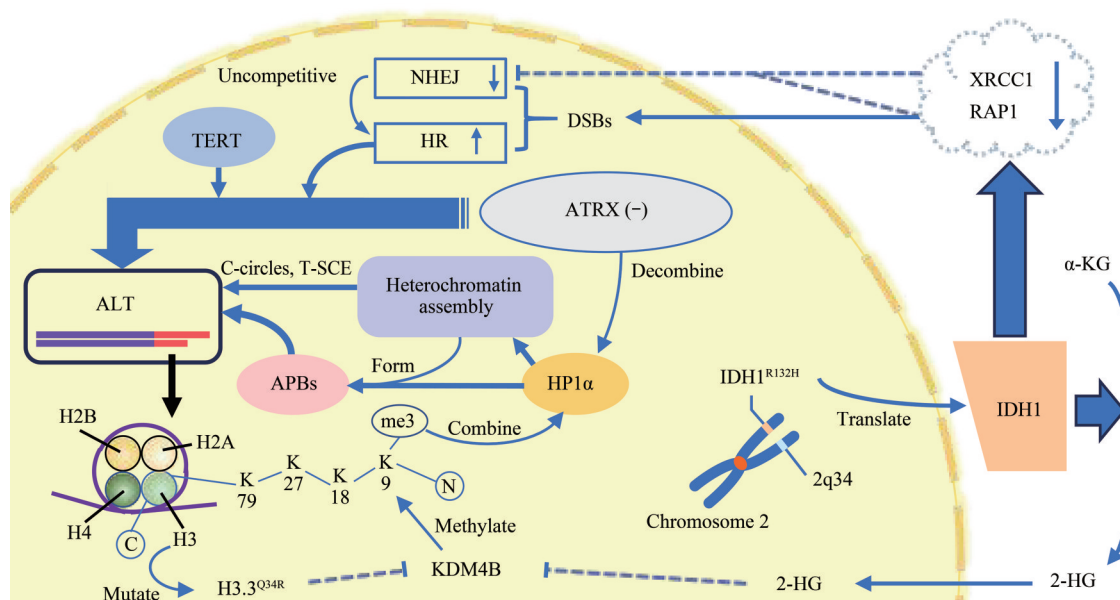
- dehydrogenase-mutant glioma: evolving clinical and therapeutic implications. *Cancer*, 2017, **123**(23): 4535-4546
- [10] Xu W, Yang H, Liu Y, *et al.* Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*, 2011, **19**(1): 17-30
- [11] Ceccarelli M, Barthel F P, Malta T M, *et al.* Molecular profiling reveals biologically discrete subsets and pathways of progression in diffuse glioma. *Cell*, 2016, **164**(3): 550-563
- [12] Ohba S, Kuwahara K, Yamada S, *et al.* Correlation between IDH, ATRX, and TERT promoter mutations in glioma. *Brain Tumor Pathol*, 2020, **37**(2): 33-40
- [13] Ferreira M S V, Sørensen M D, Pusch S, *et al.* Alternative lengthening of telomeres is the major telomere maintenance mechanism in astrocytoma with isocitrate dehydrogenase 1 mutation. *J Neuro Oncol*, 2020, **147**(1): 1-14
- [14] Mukherjee J, Pandita A, Kamalakar C, *et al.* RETRACTED: a subset of PARP inhibitors induces lethal telomere fusion in ALT-dependent tumor cells. *Sci Transl Med*, 2021, **13**(592): eabc7211
- [15] Silva B, Arora R, Bione S, *et al.* TERRA transcription destabilizes telomere integrity to initiate break-induced replication in human ALT cells. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 3760
- [16] Zhang J M, Genois M M, Ouyang J, *et al.* Alternative lengthening of telomeres is a self-perpetuating process in ALT-associated PML bodies. *Mol Cell*, 2021, **81**(5): 1027-1042.e4
- [17] Hu Y, Bennett H W, Liu N, *et al.* RNA-DNA hybrids support recombination-based telomere maintenance in fission yeast. *Genetics*, 2019, **213**(2): 431-447
- [18] Arora R, Lee Y, Wischnewski H, *et al.* RNaseH1 regulates TERRA-telomeric DNA hybrids and telomere maintenance in ALT tumour cells. *Nat Commun*, 2014, **5**: 5220
- [19] Okamoto K, Bartocci C, Ouzounov I, *et al.* A two-step mechanism for TRF2-mediated chromosome-end protection. *Nature*, 2013, **494**: 502-505
- [20] Griffith J D, Comeau L, Rosenfield S, *et al.* Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*, 1999, **97**(4): 503-514
- [21] Ribes-Zamora A, Indiviglio S M, Mihalek I, *et al.* TRF2 interaction with ku heterotetramerization interface gives insight into c-NHEJ prevention at human telomeres. *Cell Rep*, 2013, **5**(1): 194-206
- [22] Demin A A, Hirota K, Tsuda M, *et al.* XRCC1 prevents toxic PARP1 trapping during DNA base excision repair. *Mol Cell*, 2021, **81**(14): 3018-3030.e5
- [23] Mei P J, Bai J, Miao F A, *et al.* Relationship between expression of XRCC1 and tumor proliferation, migration, invasion, and angiogenesis in glioma. *Investig N Drugs*, 2019, **37**(4): 646-657
- [24] Caracciolo D, Riillo C, Di Martino M T, *et al.* Alternative non-homologous end-joining: error-prone DNA repair as cancer's Achilles' heel. *Cancers (Basel)*, 2021, **13**(6): 1392
- [25] Han S, Liu Y, Cai S J, *et al.* IDH mutation in glioma: molecular mechanisms and potential therapeutic targets. *Br J Cancer*, 2020, **122**: 1580-1589
- [26] Choi S, Yu Y, Grimmer M R, *et al.* Temozolomide-associated hypermutation in gliomas. *Neuro Oncol*, 2018, **20**(10): 1300-1309
- [27] Dang L, White D W, Gross S, *et al.* Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*, 2010, **465**(7300): 966
- [28] Tsukada Y I, Fang J, Erdjument-Bromage H, *et al.* Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins. *Nature*, 2006, **439**: 811-816
- [29] Voon H P J, Udugama M, Lin W, *et al.* Inhibition of a K9/K36 demethylase by an H3.3 point mutation found in paediatric glioblastoma. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 3142
- [30] Reiter-Brennan C, Semmler L, Klein A. The effects of 2-hydroxyglutarate on the tumorigenesis of gliomas. *Contemp Oncol: Pozn*, 2018, **22**(4): 215-222
- [31] Renata H. Exploration of iron- and α -ketoglutarate-dependent dioxygenases as practical biocatalysts in natural product synthesis. *Synlett*, 2021, **32**(8): 775-784
- [32] Pedersen M T, Kooistra S M, Radziszewska A, *et al.* Continual removal of H3K9 promoter methylation by Jmjd2 demethylases is vital for ESC self-renewal and early development. *EMBO J*, 2016, **35**(14): 1550-1564
- [33] Nozawa R S, Nagao K, Masuda H T, *et al.* Human POGZ modulates dissociation of HP1 α from mitotic chromosome arms through Aurora B activation. *Nat Cell Biol*, 2010, **12**(7): 719-727
- [34] Gauchier M, Kan S, Barral A, *et al.* SETDB1-dependent heterochromatin stimulates alternative lengthening of telomeres. *Sci Adv*, 2019, **5**(5): eaav3673
- [35] Jiang W Q, Zhong Z H, Nguyen A, *et al.* Induction of alternative lengthening of telomeres-associated PML bodies by p53/p21 requires HP1 proteins. *J Cell Biol*, 2009, **185**(5): 797-810
- [36] Udugama M, Hii L, Garvie A, *et al.* Mutations inhibiting KDM4B drive ALT activation in ATRX-mutated glioblastomas. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 2584
- [37] Kohli R M, Zhang Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature*, 2013, **502**: 472-479
- [38] Gerecke C, Schumacher F, Berndzen A, *et al.* Vitamin C in combination with inhibition of mutant IDH1 synergistically activates TET enzymes and epigenetically modulates gene silencing in colon cancer cells. *Epigenetics*, 2020, **15**(3): 307-322
- [39] Perrem K, Bryan T M, Englezou A, *et al.* Repression of an alternative mechanism for lengthening of telomeres in somatic cell hybrids. *Oncogene*, 1999, **18**(22): 3383-3390
- [40] Kumakura S, Tsutsui T W, Yagisawa J, *et al.* Reversible conversion of immortal human cells from telomerase-positive to telomerase-negative cells. *Cancer Res*, 2005, **65**(7): 2778-2786
- [41] Li F, Wang Y, Hwang I, *et al.* Histone demethylase KDM2A is a selective vulnerability of cancers relying on alternative telomere maintenance. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 1756
- [42] Karpel-Massler G, Nguyen T T T, Shang E, *et al.* Novel IDH1-targeted glioma therapies. *CNS Drugs*, 2019, **33**(12): 1155-1166
- [43] Philip B, Yu D X, Silvis M R, *et al.* Mutant IDH1 promotes glioma formation *in vivo*. *Cell Rep*, 2018, **23**(5): 1553-1564

IDH1^{R132H} Mutant Glioma and Its Compensatory Mechanisms for Maintaining Telomeres*

YAN Si-Xiang, LI Yi-Fan, LI Yao, LI Yi-Xuan, LI Xiang-Xiu, TONG Jin-Kai,
JIA Shu-Ting**, DAN Ju-Hua**

(Laboratory of Molecular Genetics of Aging and Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Graphical abstract



Abstract Isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) R132H is the most common mutated gene in grade II-III gliomas and oligodendrogliomas. Instead of activating telomerase (a reverse transcriptase which using RNA as a template to extend telomere length), the majority of IDH1^{R132H} mutant glioma maintain telomere length through an alternative mechanism that relies on homologous recombination (HR), which is known as alternative lengthening of telomere (ALT). The phenotype of ALT mechanism include: ALT associated promyelocytic leukemia protein (PML) bodies (APBs); extrachromosomal telomeric DNA repeats such as C- and T-loops; telomeric sister chromatid exchange (T-SCE), *etc.* The mechanism of ALT activation is not fully understood. Recent studies have shown that mutation IDH1 contributes to ALT phenotype in glioma cells in at least three key ways. Firstly, the

* This work was supported by grants from Kunming University of Science and Technology Extracurricular Academic and Technological Innovation Foundation (2022ZK109) and Joint Funds of the Science Foundation of Kunming University of Science and Technology and The First People Hospital of Yunnan Province (KUST-KH2022009Y)

** Corresponding author.

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

DAN Ju-Hua. Tel: 86-15812038761, E-mail: danjuhua@kust.edu.cn

Received: February 2, 2024 Accepted: May 24, 2024

IDH1^{R132H} mutation mediates RAP1 down-regulation leading to telomere dysfunction, thus ensuring persistent endogenous telomeric DNA damage, which is important for ALT activation. Spontaneous DNA damage at telomeres may provide a substrate for mutation break-induced replication (BIR)-mediated ALT telomere lengthening, and it has been demonstrated that RAP1 inhibits telomeric repeat-containing RNA, transcribed from telomeric DNA repeat sequences (TERRA) transcription to down-regulate ALT telomere DNA replication stress and telomeric DNA damage, thereby inhibiting ALT telomere synthesis. Similarly, in ALT cells, knockdown of telomere-specific RNaseH1 nuclease triggers TERRA accumulation, which leads to increased replication pressure. Overexpression of RNaseH1, on the other hand, attenuates the recombination capacity of ALT telomeres, leading to telomere depletion, suggesting that RAP1 can regulate the level of replication pressure and thus ALT activity by controlling TERRA expression. Secondly, the IDH1^{R132H} also alters the preference of the telomere damage repair pathway by down-regulating XRCC1, which inhibits the alternative non-homologous end joining (A-NHEJ) pathway at telomeres and alters cellular preference for the HR pathway to promote ALT. Finally, the IDH1^{R132H} has a decreased affinity for isocitric acid and NADP⁺ and an increased affinity for α ketoglutarate (α -KG) and NADPH, so that the mutant IDH1^{R132H} catalyzes the hydrogenation of α -KG to produce 2-hydroxyglutarate (2-HG) in a NADPH-dependent manner. Because 2-HG is structurally similar to α -KG, which maintains the trimethylation level of H3k9me3 by competitively inhibiting the activity of the α -KG-dependent histone demethylase KDM4B, and recruits heterochromatin protein HP1 α to heterochromatinize telomeres, and promote ALT phenotypes in cooperation with the inactivating of ATRX. In addition, it has been shown that APBs contain telomeric chromatin, which is essentially heterochromatin, and HP1 α is directly involved in the formation of APBs. Based on these studies, this article reviews the mechanism of IDH1^{R132H} mediated telomere dysfunction and the preference of DNA repair pathway at telomeres in cooperate with ATRX loss to promote ALT, which may provide references for clinical targeted therapy of IDH1^{R132H} mutant glioma.

Key words glioma, IDH1^{R132H}, alterative lengthening of telomere (ALT)

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0044