

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00785

Werner 综合征小鼠模型在早衰与肿瘤研究中的应用

贾舒婷, 杨世华, 罗瑛

昆明理工大学生命科学与技术学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650224

摘要: Werner 综合征(Werner syndrome, WS)是一种罕见的人类常染色体隐性遗传疾病, 一直以来该病作为研究人类早衰综合征的典型病例而受到关注。Werner 蛋白(WRN)是 Werner 综合征中突变的核蛋白, 最近的生化及遗传学研究证明 WRN 在 DNA 复制、DNA 损伤修复以及端粒的维持方面起着重要的作用。文章综述了 Werner 综合征的分子遗传学机理及端粒和 WRN 在 Werner 综合征发病中的重要作用。通过双敲除 *Wrn* 与端粒酶基因建立的小鼠模型忠实地再现了人类 Werner 综合征, 这种 Werner 综合征小鼠模型因其同时具有早衰与肿瘤表型而在研究人类肿瘤及衰老的相关性中起到的独特作用。

关键词: Werner 综合征; 基因敲除小鼠模型; 早衰; 端粒; 肿瘤

Utilization of Werner syndrome mouse model in studying premature aging and tumor

JIA Shu-Ting, YANG Shi-Hua, LUO Ying

Laboratory of Molecular Genetics of Aging and Tumor, Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China

Abstract: Werner syndrome (WS) is a rare autosomal recessive genetic disease in human. It is considered as a good model disease in studying human premature syndrome. Werner protein (WRN) is a nuclear protein mutated in WS. Recent biochemical and genetic studies indicated that WRN plays important roles in DNA replication, DNA repair, and telomere maintenance. Here, we reviewed the molecular genetics of WS and the importance of telomere and WRN in the development of WS. Knocking out both telomerase and *Wrn* genes in mouse faithfully manifests human WS. The mouse model provides a unique genetic platform to explore the crosstalk of premature aging and tumor.

Keywords: Werner syndrome; gene knock-out mouse; premature aging; telomere; tumor

1 端粒, 衰老与 Werner 综合征

一般认为, 大多数从组织中分离出的正常细胞, 在体外培养基中经过有限的传代次数后, 都将最终走向衰老(或凋亡)。目前关于细胞衰老机制的假说有很多, 如: 基因程序衰老假说、自由基假说、基因损伤的积累效应假说、端粒 - 端粒酶假说等。其中, 端

粒 - 端粒酶假说是近几年来细胞衰老机制方面研究的热点之一, 虽然关于端粒动力学和人类衰老之间尚未建立确切联系, 但是越来越多的证据表明过快的端粒消耗(Telomere erosion)直接促进了后天获得的和先天遗传的退行性疾病以及一些早衰综合征的发病进程^[1]。

端粒(Telomere), 是由染色体末端DNA和一些

收稿日期: 2008-09-19; 修回日期: 2009-04-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30771194)资助

作者简介: 贾舒婷(1983-), 女, 博士研究生, 研究方向: 衰老与肿瘤分子遗传学。Tel: 0871-3801956; E-mail: lilith-jia@hotmail.com

通讯作者: 罗瑛(1970-), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 分子遗传学。Tel: 0871-3801956; E-mail: luoyingabc@yahoo.com

相关蛋白共同组成的位于真核细胞染色体末端的复合体,其功能是维持染色体的结构和功能稳定,保护染色体免受核酸酶降解,防止染色体间末端融合或重排^[2],以及防止染色体末端被识别为DNA损伤等。端粒酶(Telomerase)是一种能够催化延长端粒末端的核糖核蛋白(Ribonucleoprotein, RNP)^[3],其全酶由一条模板RNA,即端粒酶RNA组分(Telomerase RNA component, Terc)和一个蛋白组分,即端粒反转录酶(Telomerase reverse transcriptase, Tert)组成。Terc的作用是作为合成端粒重复序列的模板,Tert则是一种逆转录酶催化亚基^[4]。在体内缺乏端粒酶的情况下,细胞连续分裂将使端粒不断缩短,而这种端粒的缩短最终将激活衰老应激的分子通路(如p53的应激通路),导致细胞越过Hayflick界限^[5]从而进入复制型衰老,或称为进入了死亡阶段 1(Mortality stage 1, M1)^[6]。

Werner综合征(Werner syndrome, WS)是一种罕见的具有许多早老特征的人类常染色体隐性遗传病^[7],患者通常表现为明显的提早衰老,即在青春期以前通常表型正常,但当处于青春时期他们不能表现出快速成长,继而出现早老性脱发、白发,秃头症,皮肤硬化症,动脉硬化,缺血性心脏病,骨质疏松,白内障,Ⅱ型糖尿病以及性腺机能减退等症状^[8,9]。Werner综合征于1904年被德国科学家Otto Werner首次报道,之后便作为研究早老综合征发病机制的重要模型而受到广泛关注。WS患者寿命平均在40至50岁之间,往往是由于动脉硬化或肿瘤导致的死亡^[10]。从WS病人体内分离的细胞在体外同样表现出非常低的增殖潜能,即细胞只能分裂很少的代数^[11,12]。且在WS细胞中观察到包括染色体重排、染色体移位、缺失等的基因组不稳定现象^[13]。

进一步的研究发现,WS是由于WRN基因突变引起的。WRN基因编码的WRN蛋白为DNA解旋酶RecQ家族的成员^[14-16]。此外,人类RecQ解旋酶基因家族的成员还包括Blm和Rts,此两种基因发生突变可分别导致Bloom综合征(Bloom's syndrome, BS)^[17],以及Rothmund-Thomson综合征(Rothmund-Thomson syndromes, RTS)^[18]。RecQ家族基因突变往往会导致肿瘤易感性,另外,WS患者还表现出明显的提早衰老的症状。RecQ解旋酶家族的功能主要是参与到DNA重组,复制及修复中去。而WRN就具备以上3种功

能^[19-21],比如,在DNA复制阶段,WRN可以通过并拢DNA重新启动停滞的复制叉,从而解除DNA的复制停滞反应^[22],且有实验证明,在经历了DNA损伤或复制停滞之后的细胞中,WRN的缺失将会大大降低复制叉延伸的速度^[23]。如果没有WRN的存在,这些结构异常的DNA将由染色体重组及缺失相关机制降解,从而将进一步导致复制叉的崩解以及整个染色体组的不稳定。与许多RecQ解旋酶家族的蛋白一样,WRN蛋白在其中央有一个高度保守的解旋酶结构域,而在接近N端,有一个核酸外切酶结构域^[24]。已有研究证实WRN具有N末端3' 5'外切酶活性^[25]。此外,WRN还具有ATP酶活性,3' 5'解旋酶活性以及一个核定位信号^[26]。

对WRN蛋白功能的研究表明,WRN在维持端粒的结构和功能方面起着重要作用。WRN与端粒重复序列结合因子TRF1、TRF2(Telomere repeat binding factor)等与端粒长度维持相关的蛋白相互作用,以维持端粒的功能^[27]。Opresko等^[28]通过一系列的实验发现,端粒单链DNA结合蛋白POT1 (Protection of telomeres 1 homolog)可以强有力地促进WRN展开长的端粒叉状双链和D环结构。POT1可与WRN协同处理端粒末端的DNA结构,从而保护端粒在展开时的3'端尾巴。WRN还是端粒复制过程中必需的调控蛋白,实验中发现,细胞在缺少WRN的时候一些姐妹染色单体上的端粒会丢失,且只有端粒在复制时的滞后链合成会受到影响,而WRN的解旋酶活性可以防止这种端粒的丢失,并且,端粒丢失的现象还可以因引入端粒酶活性而消除。所以,Crabbe等^[29]认为WRN对于富含鸟嘌呤(G)的端粒DNA的有效复制是必要的,且可以避免端粒的功能异常以及随之发生的基因组不稳定。另一方面,研究发现,连续传代的WS成纤维细胞的端粒快速缩短,细胞提早衰老;而过量表达端粒酶可缓解WS成纤维细胞的提早衰老^[30]。这提示了端粒酶的活性及正常端粒功能的维持对WS的早衰表型发生有重要的作用。

2 WS小鼠模型的构建

目前,通常利用由Capecchi、Evans和Smithies等建立的,被称为基因敲除的技术获得基因敲除小鼠以构建人类综合征模型,从而研究特定基因在发育、生理和病理过程中的作用。但是,有意思的是,

在 $Wrn^{-/-}$ 小鼠构建实验中, $Wrn^{-/-}$ 小鼠并不表现出早老症状, 而从后几代的 $Wrn^{-/-}$ 小鼠中分离出的胚胎纤维原细胞在经体外培养后表现出较低的存活率, 较高的突变率, 以及与野生型小鼠的胚胎干细胞相比, 其对拓扑异构酶抑制物(如: 喜树碱)更加敏感等^[31, 32]。这一现象提示了, $Wrn^{-/-}$ 小鼠中由于 Wrn 基因缺失所导致的早老症状与小鼠的繁殖代数有关, 而通过对人类和小鼠在端粒结构及端粒酶调控方面的相似性及差异性的分析, 也提示我们, 端粒的结构以及端粒酶的活性与 $Wrn^{-/-}$ 的表型具有相关性。尽管人类和小鼠的端粒 DNA 序列、端粒结构以及端粒蛋白极其相似, 但是仍然有许多不同之处。实验用小鼠(*Mus musculus*)的端粒长度范围为 40~80 kb, 而人类的端粒重复序列长度平均仅为 10~15 kb^[33~35]。且在小鼠不同组织和培养的细胞中端粒酶活性都呈现稳定的可检测水平, 而在人类细胞中, 除了部分生殖细胞、白细胞以及组织干细胞表现出端粒酶活性外, 其他体细胞的端粒酶活性均为低水平表达, 不足以维持端粒长度^[36~40]。

由上可以推测, $Wrn^{-/-}$ 小鼠不表现出早老症状的原因可能是由于小鼠细胞内有其他代偿性的解旋酶活性, 或者虽然 $Wrn^{-/-}$ 小鼠的 Wrn 基因被敲除, 但是由于其体内有较长的端粒结构以及持续表达的端粒酶活性, 使得其基于端粒的复制型衰老的表型在正常的衰老过程中不能得以表现。许多的实验证明后者的假设是正确的: 研究发现, 从早老症患者体内分离出的细胞常常表现出频发的端粒融合以及功能异常并且在培养基上的继代培养会呈现早老性衰老^[41]。并且这些衰老的细胞可以通过增强 hTERT (Human TERT) 的表达以及端粒的维持进行恢复^[30]。

同样发现, 在 $mTerc$ (Mouse *Terc*) $^{-/-}Wrn^{-/-}$ 小鼠的第四代之后, 开始出现 WS 症状, 这是因为小鼠体内在没有端粒酶活性的情况下其端粒在经过几代之后变短, 从而使基于端粒的复制型衰老的表型得以表现^[1]。

实验中发现, 端粒酶敲除小鼠($mTerc^{-/-}$)有繁殖能力且在前几代中没有显著的异常表型。随着其繁殖代数的增加, 端粒酶敲除小鼠的端粒长度逐渐缩短。当繁殖到第六代小鼠时, 生长缺陷在包括生殖道、造血细胞前体、以及淋巴细胞等多发性增生组织中表现出来^[42]。此外, 较晚几代的小鼠还表现出一系列的衰老表型, 包括秃头症、白发、应激反应减弱以及寿命缩短等^[43]。但是许多与人类衰老相关的表型如骨质疏松、白内障以及 2 型糖尿病等, 端粒酶缺失小鼠却没有表现出来^[10]。

2004 年, Chang 等^[44]以及 Du 等^[45]分别独立的成功构建了 Wrn 缺陷以及端粒功能异常的端粒酶缺失小鼠模型 $mTerc^{-/-}Wrn^{-/-}$ 。第四至第六代的端粒功能异常 $mTerc^{-/-}Wrn^{-/-}$ 小鼠显示出许多 WS 患者的临床症状(表 1), 如提前发作的伤口愈合功能减退、伴有骨折的骨质疏松、性腺机能减退、白内障、2 型糖尿病以及早老性死亡, 这可能是由于 Wrn 的缺失以及端粒功能异常协同作用, 加速了端粒的缩短, 导致染色体末端融合的增加以及染色体的非交互移位 (Nonreciprocal translocations, NTRs) 等染色体不稳定现象, 加剧如骨肉瘤等的间叶细胞癌的生成, 最终导致个体表现出早老症状。

表 1 人类 WS 及不同小鼠模型症状对比

表型	人类 WS	小鼠模型		
		$Wrn^{-/-}$	G4-6 $mTerc^{-/-}Wrn^{+/+}$	G4-6 $mTerc^{-/-}Wrn^{-/-}$
骨质疏松	+	-	-	+
白内障	+	-	-	+
2 型糖尿病	+	-	-	+
皮肤缺损	+	-	+	+
性腺机能减退	+	-	+	+
动脉硬化	+	-	-	-
基因组不稳定	+	-	+	+
间叶细胞瘤	+	+	+	+

“+”表示有症状,“-”表示没有症状,G代表小鼠代数。

3 WS 小鼠模型对衰老及癌症研究的重要意义

实验中, *Wrn*、*mTerc*双基因敲除小鼠的后几代表型包括了大多数人类WS的临床特征,这为我们提供了了解WRN的功能以及WS发病机理的一个可靠的模型。目前,已有研究者利用*Wrn*基因敲除小鼠模型通过投喂致糖尿病的食物,成功诱发了II型糖尿病的典型症状,证明了WRN的缺失会削弱体内葡萄糖平衡和脂肪代谢,从而构建了一个研究代谢条件与衰老相互关系的模型^[46]。

此外,目前对于人类端粒的减少和应激反应(尤其是衰老带来的压力)之间的关系至今还没有确立,*mTerc*^{-/-}模型小鼠为我们提供了一个探究“衰老”这一生物现象以及端粒如何调节这一现象的模式系统。

端粒酶的缺失仅仅使个体导致如皮肤、肠、骨髓等增生组织发生退型性变化。而*mTerc*^{-/-}*Wrn*^{-/-}双敲除小鼠的后几代中则表现出诸如白发、脱发、骨质疏松、糖尿病、白内障等与临床上WS患者相同的症状^[44,45]。可以看出,WS的表型是在端粒缩短的基础上才得以表现的。在*mTerc*^{-/-}*Wrn*^{-/-}双敲除小鼠中,*Wrn*的缺失以及端粒的缩短的共同作用解释了为什么在不同的动物中早老症的表型会不同,以及为什么这些表型有时会呈现随着代数的增加而逐步表现出来的现象。这一结果奠定了小鼠模型在*Wrn*功能研究中的地位,同时也强调了端粒是WRN在体内功能的重要背景。

Blander等^[47]报道了WRN解旋酶结合在*p53*的羧基端,且在WS纤维母细胞中*p53*调控的细胞凋亡反应减弱,而过量表达野生型WRN蛋白可以缓解这种现象。这表明在WS患者中观察到的肿瘤高发现象可能由于体内染色体的不稳定以及WRN与*p53*的相互作用致使在WRN突变的情况下破坏了*p53*调控的细胞凋亡途径,使得异常细胞积累并最终导致肿瘤的发生^[10]。*p53*作为一个重要的抑癌基因处于许多已知的DNA损伤信号途径的中枢位置。已经有实验表明,将*p53*缺陷型小鼠与后几代的*mTerc*^{-/-}小鼠杂交,其后代几乎没有细胞生长停滞现象以及(或者)细胞

凋亡反应,并且所有与端粒功能异常有关的机体衰老现象都有所改善^[48]。然而这种基因型的小鼠表现出较高的癌症发病率。可以猜想,当在*mTerc*^{-/-}*Wrn*^{-/-}双敲除小鼠中再敲除*p53*基因后,由于*p53*基因的缺失,此时所有组织中的基因组不稳定现象不被*p53*依赖的检查点所识别,从而使得机体避免了过早老化。而*mTerc*^{-/-}*Wrn*^{-/-}双敲除小鼠模型将为我们提供了一个探明癌症相关基因的异常是否会协同作用从而加剧基因组不稳定性,继而导致早老症状的最佳模型。毫无疑问,这一模型的建立将为实验和临床上对于人类癌症发病机理及衰老的研究提供一个快捷、有效、安全的方法。

2006年,Agrelo等^[49]报道了在人类癌细胞中观察到由于WRN基因启动子CpG岛高度甲基化的转录沉默使得WRN功能丧失,WRN的这种表观遗传学上的失活导致WRN相关的外切酶活性降低致使染色体不稳定性加剧和由拓扑异构酶抑制剂诱导的细胞凋亡的发生,这些现象可以通过DNA-脱甲基剂或重新加入WRN得到恢复。进一步的研究发现,WRN的这种高度甲基化使得癌细胞对于拓扑异构酶抑制剂和DNA损伤试剂更加敏感,从而Agrelo等认为WRN甲基化导致的WRN蛋白表达水平下降与肿瘤的发生是直接相关的,因而推测WRN是一个抑癌基因。然而,在前述提到的两个实验室独立构建的*Wrn*基因单敲除小鼠模型中,均未观察到*Wrn*基因敲除导致的肿瘤发生。因而,*Wrn*是否是一个抑癌基因还有待于进一步的研究,*Wrn*^{-/-}小鼠、*p53*^{-/-}小鼠等遗传背景清楚的模型将对这一问题的探明起到至关重要的作用。

综上所述,Werner综合征小鼠模型不仅对Werner综合征发病机理的进一步阐明发挥着重要作用,同时,在Werner综合征小鼠模型中既观察到早老症状,又表现为肿瘤易感,这将为研究衰老和肿瘤的辩证关系提供了一个非常重要的研究模型。

参考文献(References):

- [1] Chang S. Modeling aging and cancer in the telomerase knockout mouse. *Mutat Res*, 2005, 576(1-2): 39-53.
- [2] Zakian VA. Telomeres: beginning to understand the end. *Science*, 1995, 270(5242): 1601-1607. [DOI](#)

- [3] Morin GB. The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell*, 1989, 59(3): 521–529. [\[DOI\]](#)
- [4] Greider CW. Telomere length regulation. *Annu Rev Biochem*, 1996, 65: 337–365. [\[DOI\]](#)
- [5] Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*, 1961, 25: 585–621. [\[DOI\]](#)
- [6] Wright WE, Shay JW. The two-stage mechanism controlling cellular senescence and immortalization. *Exp Gerontol*, 1992, 27(4): 383–389. [\[DOI\]](#)
- [7] Thannhauser SJ. Werner's syndrome (progeria of the adult) and Rothmund's syndrome: Two types of closely related hereditary atrophic dermatosis with juvenile cataracts and endocrine features. A critical study with five new cases. *Ann Int Med*, 1945, 23: 559–625.
- [8] Epstein CJ, Martin GM, Schultz AL, Motulsky AG. Werner's syndrome a review of its symptomatology, natural history, pathologic features, genetics and relationship to the natural aging process. *Medicine (Baltimore)*, 1966, 45(3): 177–221.
- [9] Martin GM, Oshima J. Lessons from human progeroid syndromes. *Nature*, 2000, 408(6809): 263–266. [\[DOI\]](#)
- [10] Chang S. A mouse model of Werner Syndrome: what can it tell us about aging and cancer? *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(5): 991–999. [\[DOI\]](#)
- [11] Martin GM, Sprague CA, Epstein CJ. Replicative life-span of cultivated human cells. Effects of donor's age, tissue, and genotype. *Lab Invest*, 1970, 23(1): 86–92.
- [12] Marciniak RA, Lombard DB, Johnson FB, Guarente L. Nucleolar localization of the Werner syndrome protein in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(12): 6887–6892. [\[DOI\]](#)
- [13] Salk D, Au K, Hoehn H, Martin GM. Cytogenetics of Werner's syndrome cultured skin fibroblasts: variegated translocation mosaicism. *Cytogenet Cell Genet*, 1981, 30(2): 92–107. [\[DOI\]](#)
- [14] Gray MD, Shen JC, Kamath-Loeb AS, Blank A, Sopher BL, Martin GM, Oshima J, Loeb LA. The Werner syndrome protein is a DNA helicase. *Nat Genet*, 1997, 17(1): 100–103. [\[DOI\]](#)
- [15] Suzuki N, Shimamoto A, Imamura O, Kuromitsu J, Kitao S, Goto M, Furuichi Y. DNA helicase activity in Werner's syndrome gene product synthesized in a baculovirus system. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(15): 2973–2978. [\[DOI\]](#)
- [16] Yu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, Hisama F, Alisch R, Matthews S, Nakura J, Miki T, Ouais S, Martin GM, Mulligan J, Schellenberg GD. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science*, 1996, 272(5259): 258–262. [\[DOI\]](#)
- [17] Ellis NA, Groden J, Ye TZ, Straughen J, Lennon DJ, Ciocchi S, Proytcheva M, German J. The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell*, 1995, 83(4): 655–666. [\[DOI\]](#)
- [18] Lindor NM, Furuichi Y, Kitao S, Shimamoto A, Arndt C, Jalal S. Rothmund-Thomson syndrome due to RECQ4 helicase mutations: report and clinical and molecular comparisons with Bloom syndrome and Werner syndrome. *Am J Med Genet*, 2000, 90(3): 223–228. [\[DOI\]](#)
- [19] Ogburn CE, Oshima J, Poot M, Chen R, Hunt KE, Gollahon KA, Rabinovitch PS, Martin GM. An apoptosis-inducing genotoxin differentiates heterozygotic carriers for Werner helicase mutations from wild-type and homozygous mutants. *Hum Genet*, 1997, 101(2): 121–125. [\[DOI\]](#)
- [20] Yamagata K, Kato J, Shimamoto A, Goto M, Furuichi Y, Ikeda H. Bloom's and Werner's syndrome genes suppress hyperrecombination in yeast *sgs1* mutant: implication for genomic instability in human diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(15): 8733–8738. [\[DOI\]](#)
- [21] Yan H, Chen CY, Kobayashi R, Newport J. Replication focus-forming activity 1 and the Werner syndrome gene product. *Nat Genet*, 1998, 19(4): 375–378.
- [22] Rodriguez-Lopez AM, Jackson DA, Iborra F, Cox LS. Asymmetry of DNA replication fork progression in Werner's syndrome. *Aging Cell*, 2002, 1(1): 30–39. [\[DOI\]](#)
- [23] Sidorova JM, Li N, Folch A, Monnat RJ, Jr. The RecQ helicase WRN is required for normal replication fork progression after DNA damage or replication fork arrest. *Cell Cycle*, 2008, 7(6): 796–807.
- [24] Bachrati CZ, Hickson ID. RecQ helicases: suppressors of tumorigenesis and premature aging. *Biochem J*, 2003, 374(Pt 3): 577–606. [\[DOI\]](#)
- [25] Huang S, Li B, Gray MD, Oshima J, Mian IS, Campisi J. The premature ageing syndrome protein, WRN, is a 3'–5' exonuclease. *Nat Genet*, 1998, 20(2): 114–116. [\[DOI\]](#)
- [26] Opresko PL, Cheng WH, von Kobbe C, Harrigan JA, Bohr VA. Werner syndrome and the function of the Werner protein; what they can teach us about the molecular aging process. *Carcinogenesis*, 2003, 24(5): 791–802. [\[DOI\]](#)
- [27] Li B, Jog SP, Reddy S, Comai L. WRN controls formation of extrachromosomal telomeric circles and is required for TRF2DeltaB-mediated telomere shortening. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(6): 1892–1904. [\[DOI\]](#)
- [28] Opresko PL, Mason PA, Podell ER, Lei M, Hickson ID, Cech TR, Bohr VA. POT1 stimulates RecQ helicases

- WRN and BLM to unwind telomeric DNA substrates. *J Biol Chem*, 2005, 280(37): 32069–32080. [\[DOI\]](#)
- [29] Crabbe L, Verdun RE, Haggbloom CI, Karlseder J. Defective telomere lagging strand synthesis in cells lacking WRN helicase activity. *Science*, 2004, 306(5703): 1951–1953. [\[DOI\]](#)
- [30] Wyllie FS, Jones CJ, Skinner JW, Haughton MF, Wallis C, Wynford-Thomas D, Faragher RG, Kipling D. Telomerase prevents the accelerated cell ageing of Werner syndrome fibroblasts. *Nat Genet*, 2000, 24(1): 16–17. [\[DOI\]](#)
- [31] Lebel M, Leder P. A deletion within the murine Werner syndrome helicase induces sensitivity to inhibitors of topoisomerase and loss of cellular proliferative capacity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(22): 13097–13102. [\[DOI\]](#)
- [32] Lombard DB, Beard C, Johnson B, Marciniak RA, Dausman J, Bronson R, Buhlmann JE, Lipman R, Curry R, Sharpe A, Jaenisch R, Guarente L. Mutations in the WRN gene in mice accelerate mortality in a p53-null background. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(9): 3286–3291. [\[DOI\]](#)
- [33] Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature*, 1990, 346(6287): 866–868. [\[DOI\]](#)
- [34] Blasco MA, Lee HW, Hande MP, Samper E, Lansdorp PM, DePinho RA, Greider CW. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*, 1997, 91(1): 25–34. [\[DOI\]](#)
- [35] Zijlmans JM, Martens UM, Poon SS, Raap AK, Tanke HJ, Ward RK, Lansdorp PM. Telomeres in the mouse have large inter-chromosomal variations in the number of T2AG3 repeats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(14): 7423–7428. [\[DOI\]](#)
- [36] Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev Genet*, 1996, 18(2): 173–179. [\[DOI\]](#)
- [37] Newbold RF. Genetic control of telomerase and replicative senescence in human and rodent cells. *Ciba Found Symp*, 1997, 211: 177–189.
- [38] Weng NP, Granger L, Hodes RJ. Telomere lengthening and telomerase activation during human B cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(20): 10827–10832. [\[DOI\]](#)
- [39] Masutomi K, Yu EY, Khurts S, Ben-Porath I, Currier JL, Metz GB, Brooks MW, Kaneko S, Murakami S, DeCaprio JA, Weinberg RA, Stewart SA, Hahn WC. Telomerase maintains telomere structure in normal human cells. *Cell*, 2003, 114(2): 241–253. [\[DOI\]](#)
- [40] Harley CB, Kim NW, Prowse KR, Weinrich SL, Hirsch KS, West MD, Bacchetti S, Hirte HW, Counter CM, Greider CW, et al. Telomerase, cell immortality, and cancer. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol*, 1994, 59: 307–315.
- [41] Tahara H, Tokutake Y, Maeda S, Kataoka H, Watanabe T, Satoh M, Matsumoto T, Sugawara M, Ide T, Goto M, Furuchi Y, Sugimoto M. Abnormal telomere dynamics of B-lymphoblastoid cell strains from Werner's syndrome patients transformed by Epstein-Barr virus. *Oncogene*, 1997, 15(16): 1911–1920. [\[DOI\]](#)
- [42] Lee HW, Blasco MA, Gottlieb GJ, Horner JW, 2nd, Greider CW, DePinho RA. Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs. *Nature*, 1998, 392(6676): 569–574. [\[DOI\]](#)
- [43] Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C, DePinho RA. Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell*, 1999, 96(5): 701–712. [\[DOI\]](#)
- [44] Chang S, Multani AS, Cabrera NG, Naylor ML, Laud P, Lombard D, Pathak S, Guarente L, DePinho RA. Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet*, 2004, 36(8): 877–882. [\[DOI\]](#)
- [45] Du X, Shen J, Kugan N, Furth EE, Lombard DB, Cheung C, Pak S, Luo G, Pignolo RJ, DePinho RA, Guarente L, Johnson FB. Telomere shortening exposes functions for the mouse Werner and Bloom syndrome genes. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(19): 8437–8446. [\[DOI\]](#)
- [46] Moore G, Knoblaugh S, Gollahon K, Rabinovitch P, Ladiges W. Hyperinsulinemia and insulin resistance in Wrn null mice fed a diabetogenic diet. *Mech Ageing Dev*, 2008, 129(4): 201–206. [\[DOI\]](#)
- [47] Blander G, Zalle N, Leal JF, Bar-Or RL, Yu CE, Oren M. The Werner syndrome protein contributes to induction of p53 by DNA damage. *FASEB J*, 2000, 14(14): 2138–2140.
- [48] Chin L, Artandi SE, Shen Q, Tam A, Lee SL, Gottlieb GJ, Greider CW, DePinho RA. p53 deficiency rescues the adverse effects of telomere loss and cooperates with telomere dysfunction to accelerate carcinogenesis. *Cell*, 1999, 97(4): 527–538. [\[DOI\]](#)
- [49] Agrelo R, Cheng WH, Setien F, Ropero S, Espada J, Fraga MF, Herranz M, Paz MF, Sanchez-Cespedes M, Artiga MJ, Guerrero I, Castells A, von Kobbe C, Bohr VA, Esteller M. Epigenetic inactivation of the premature aging Werner syndrome gene in human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(23): 8822–8827. [\[DOI\]](#)