

## 二甲双胍对糖尿病相关肿瘤的作用

顾俊菲 综述 叶山东 审校

**摘要** 糖尿病(DM)患者胰腺癌、乳腺癌、肝癌、结直肠癌等的发病率和死亡率显著高于非DM患者。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)合成通路是肿瘤细胞蛋白合成的关键途径,二甲双胍直接下调该通路,减少细胞生理性能量消耗,遏制蛋白合成。DM患者长期处于前炎症状态,细胞氧化还原功能受损,诱发易感细胞癌变。二甲双胍可磷酸化腺苷活化蛋白激酶(AMPK),下调肿瘤坏死因子及核转录因子水平,通过修复线粒体功能和抑制活性氧簇生成,改善氧化应激和炎症状态,对肿瘤的发生发展产生积极的影响。

**关键词** 二甲双胍;糖尿病;肿瘤

**中图分类号** R 587

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2014)04-0557-04

研究<sup>[1]</sup>显示,在接受降糖药物治疗的2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者中,二甲双胍组较磺脲类组和胰岛素组罹患肿瘤风险降低,二甲双胍剂量越大,肿瘤发生风险越小。研究<sup>[2]</sup>显示二甲双胍主要在激活腺苷活化蛋白激酶(AMPK)基础上,对糖尿病(DM)患者肿瘤的发生具有抑制作用,但确切的机制尚不十分明确。该研究重点就二甲双胍降低DM患者肿瘤发生及其机制简要综述。

### 1 DM相关肿瘤

近年来流行病学研究<sup>[3]</sup>证实,DM,尤其是T2DM与一些恶性肿瘤如胰腺癌、肝癌、结直肠癌、乳腺和子宫内膜癌等的发病密切相关。Ben et al<sup>[4]</sup>对近期35个队列研究进行分析,结果显示DM患者胰腺癌的发病风险是非DM患者的2倍。Pierce et al<sup>[5]</sup>发现DM的37个高危等位基因中有2个与患胰腺癌的风险呈正相关(FTOs8050136,  $OR = 1.12$ , 95%  $CI = 1.02 \sim 1.23$ ; MTNR1Brs1387153  $OR = 1.11$ , 95%  $CI = 1.00 \sim 1.23$ ),一个升糖的等位基因

与PC呈正相关(MADD rs11039149,  $OR = 1.14$ , 95%  $CI = 1.03 \sim 1.27$ )。Peairs et al<sup>[6]</sup>系统回顾分析显示DM患者乳腺癌死亡率高于非DM患者,并认为DM是乳腺癌的危险因素之一。Lipscombe et al<sup>[7]</sup>也在临床观察到合并DM的女性乳腺癌患者其早期生存率明显降低。此外,Mitri et al<sup>[8]</sup>在大型前瞻性队列研究中发现DM患者非霍奇金淋巴瘤发病率缓慢增加,认为与DM患者中性粒细胞受损和体液免疫异常有关。

DM本身增加患者肿瘤发生的机制现多认为与血清胰岛素水平缓慢升高,发挥促有丝分裂作用有关。胰岛素不仅可通过调控血管内皮生长因子增加肿瘤的血供而促进肿瘤生长,还可通过激活胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)促进有丝分裂和肿瘤发生。尽管T1DM发病较早,但T2DM固有的高胰岛素血症可导致2型比1型DM患者罹患癌症的风险更高。胰岛素抵抗及其导致的高胰岛素血症可直接通过胰岛素受体或间接通过增加胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、类固醇激素、炎症反应等,干扰体内脂肪平衡发挥促癌作用。此外,持续高血糖和T2DM的肥胖也是重要的患癌诱因。

### 2 二甲双胍与肿瘤的关系

**2.1 动物实验** Anisimov et al<sup>[9]</sup>使转基因小鼠的乳腺特异性表达肿瘤蛋白HER2/NEU,该蛋白可导致局灶性乳腺癌并向肺部转移,实验组小鼠饲喂二甲双胍后与对照组相比乳腺癌发生延迟,肿块尺寸缩小且寿命延长,与这一作用相伴随的是明显的血糖水平降低和缓和的胰岛素水平下降。Huang et al<sup>[10]</sup>对敲除了抑癌基因PTEN的小鼠喂饲二甲双胍300 mg/(kg·d),发现其肿瘤发生延迟,而在缺乏肿瘤抑制基因APC的小鼠中,二甲双胍可有效抑制结肠息肉的生长。Memmott et al<sup>[11]</sup>喂饲小鼠二甲双胍使其血药浓度达到2.7~10.3  $\mu\text{mol/L}$ ,发现致癌物4-甲基亚硝胺-1- $\beta$ -吡啶基-1-丁酮(NNK)诱导的肺癌发生率降低了53%,腹腔注射二甲双胍则降低了72%。除抑制自发性和致癌物诱导的肿瘤外,二甲双胍对异体移植的肿瘤也可发挥抑制作用。

2013-09-29 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:11040606M161);安徽高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2011A157)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院内分泌科,合肥 230001

作者简介:顾俊菲,女,硕士研究生;

叶山东,男,教授,主任医师,博士生导师, E-mail: ysd196406@163.com

Phoenix et al<sup>[1]</sup> 将高糖高胰岛素环境培养的肿瘤细胞植入小鼠体内后,给予高于临床剂量 40 倍的二甲双胍,有效降低了小鼠体内肿瘤的生长速度。

**2.2 临床研究** 英国前瞻性 DM 研究<sup>[2]</sup> (UKPDS) 结果显示,与饮食控制组相比,二甲双胍组随访 10 年后肿瘤发生风险降低 29%。Evans et al<sup>[3]</sup> 于 2005 年对 12 000 例 DM 患者进行队列研究,首次报道了服用二甲双胍的 DM 患者癌症发病率低于服用其他抗 DM 药物治疗(如磺酰脲类和胰岛素)的患者,且发现癌症发病率的降低与二甲双胍服用时间和剂量存在相关性。近期 Decensi et al<sup>[4]</sup> 荟萃分析发现 DM 中使用二甲双胍成人剂量 1 500 ~ 2 250 mg/d,可使癌症发病率及死亡率降低 31%。继 Memmott et al<sup>[5]</sup> 报道称二甲双胍可减少烟草致癌物引起的肺癌发生后,又有临床研究<sup>[6]</sup> 显示二甲双胍可改善肺癌的预后。Mazzone et al<sup>[6]</sup> 发现接受胰岛素或噻唑烷二酮类药物联合治疗肺癌合并 DM 患者转移癌的发生率为 42%,高于服用二甲双胍的患者转移率 20%。Jiralspong et al<sup>[7]</sup> 临床报道服用二甲双胍的 DM 患者合并乳腺癌的病理完全缓解率(pathological complete response rates, pCR) 为 24%,高于未使用二甲双胍的 DM 患者(8%),也高于未服用二甲双胍的非 DM 患者(16%),表明二甲双胍可能改善 DM 患者乳腺癌的预后。同时, Campagnoli et al<sup>[8]</sup> 通过随机对照试验证明,对于非 DM 乳腺癌患者,二甲双胍可通过降低血胰岛素和睾酮水平,改善乳腺癌的预后。Skinner et al<sup>[9]</sup> 近期报道了 235 例非 DM 食管腺癌患者,同步放化疗前服用二甲双胍组的 pCR 为 34.5%,高于未服用二甲双胍组 pCR 19.6%。Higurashi et al<sup>[10]</sup> 在一项多中心随机对照双盲试验中发现,二甲双胍有效抑制非 DM 患者中结直肠隐窝病灶(colorectal aberrant crypt foci, ACF)的形成,ACF 作为结直肠癌的有效标志物,对结直肠肿瘤的发生发展有重要的生物学意义。

### 3 二甲双胍降低肿瘤发生的机制

**3.1 胰岛素依赖性作用** 高胰岛素血症与肥胖和胰岛素抵抗(IR)有关<sup>[11]</sup>。在饮食诱导的高胰岛素血症动物模型试验中,Algire et al<sup>[12]</sup> 将二甲双胍阻碍肿瘤生长归因于降低循环胰岛素水平。由于高胰岛素血症与 IGF-1 升高有关,二甲双胍降低胰岛素和 IGF-1 水平可能部分解释该作用。Kalaany et al<sup>[13]</sup> 最近的一项研究验证了这一假设,该研究通过限制大鼠能量摄入,降低循环胰岛素和 IGF-1 水平,

减少了癌症发病率。T2DM 患者中高胰岛素水平可通过激活乳腺癌中高表达的胰岛素受体 A( insulin receptor-A, IR-A) 促进肿瘤生长。IR 位于一系列促增殖信号通路如磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 [phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) /protein kinase B( Akt) /the mammalian target of Rapamycin( mTOR) , PI3K/Akt/mTOR] 的上游。IGF1R 可与 IR-A 交联,绑定胰岛素刺激乳腺癌细胞增殖。二甲双胍降低胰岛素水平,减少配体与 IR-A/IGF1R 的绑定,抑制肿瘤,改善乳腺癌预后<sup>[14]</sup>。此外,二甲双胍可通过抑制肝糖异生和促进肌肉对糖的摄取,降低血糖和胰岛素水平,间接抑制肿瘤生长<sup>[15]</sup>。

### 3.2 胰岛素非依赖性作用

**3.2.1 抑制 mTOR 蛋白合成通路** 抑制蛋白合成可能是二甲双胍直接抑制癌细胞增殖的主要机制<sup>[16]</sup>。蛋白合成是细胞主要的能量消耗过程之一,也是 AMPK 的主要靶点。二甲双胍激活 AMPK,使磷酸化的结节性硬化抑癌基因(TSC2)抑制下游 mTOR 信号通路。mTOR 主要通过调节 mRNA 翻译过程中的关键酶磷酸化,促进蛋白合成。二甲双胍对乳腺癌细胞的生长抑制作用与抑制 mTOR 通路相关。但最近的实验<sup>[17]</sup> 证明小鼠纤维母细胞(MEFs)中的 AMPK 可在缺失 TSC2 的情况下直接抑制 mTOR。肿瘤抑制基因 LKB1 是 AMPK 上游的直接激活信号,对二甲双胍敏感。敲除了 LKB1 的细胞其 AMPK 活性降低且 mTOR 通路有所上调。Huang et al<sup>[18]</sup> 分离出缺乏 LKB1 的人乳腺癌细胞、宫颈癌细胞、小鼠胚胎干细胞,发现二甲双胍的抑制增生作用均无效。Kalender et al<sup>[19]</sup> 发现,在敲除了 AMPK 和 TSC2 的细胞中,二甲双胍可通过抑制重排活化基因鸟苷三磷酸酶(Rag GTPases)下调 mTOR,提示二甲双胍对 mTOR 蛋白合成通路的抑制作用可独立于 AMPK 和 TSC2 之外。

**3.2.2 改善代谢适应和能量平衡** 肿瘤的生长需要大量 ATP 供给,对缺氧和能量不足等的代谢适应对维持癌细胞生存至关重要。活化的抑癌基因 p53 可使 MEFs 在能量缺乏的状况下延长存活时间。Buzzai et al<sup>[20]</sup> 发现二甲双胍可选择性损伤 p53 缺陷的结肠肿瘤细胞,从而减少肿瘤发生。双胍类有修复线粒体产 ATP 的功能,导致 LKB1/AMPK 信号通路激活,该通路作为调节细胞能量平衡的核心,可下调生理性能量消耗如蛋白和脂肪酸的合成。此外,二甲双胍可通过 AMPK 下调脂肪酸合酶 FAS,该酶

是脂肪酸从头合成的关键酶,在分离出的人结肠癌细胞、前列腺癌细胞中高度表达,与恶性表型相关<sup>[2]</sup>。

**3.2.3 减轻氧化应激** Gebiogu et al<sup>[23]</sup>认为DM患者代谢异常,加重体内氧化应激和前炎症状态,细胞氧化还原能力受损,可诱发易感细胞癌变。另一可能机制为DM患者线粒体功能紊乱,DNA修复供能不足,同时高水平活性氧簇(ROS)通过直接氧化或干扰DNA修复来破坏细胞DNA,也可通过与蛋白质、脂质等反应干扰细胞自平衡,促进癌变过程<sup>[24]</sup>。二甲双胍可修复线粒体功能,抑制ROS、糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)等的生成,改善细胞氧化应激。

**3.2.4 抑制炎症反应** 慢性炎症与肿瘤发生密切相关。DM患者脂肪组织产生与胰岛素抵抗相关的前炎症因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等升高,在乳腺癌、结肠癌等的发生发展中可能起到重要的调节作用。TNF- $\alpha$ 激活核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ , NF- $\kappa$ B)通路,生成大量抗凋亡分子、趋化因子受体(chemokine receptor, CXCR)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)等,通过影响肿瘤微环境中的炎症细胞和细胞基质,促进肿瘤细胞增殖、迁移和血管生成。Huang et al<sup>[6]</sup>在人脐静脉内皮细胞试验中证明二甲双胍可抑制TNF- $\alpha$ 诱导的活化NF- $\kappa$ B,减轻炎症反应,该作用与AMPK磷酸化有关。此外,二甲双胍可直接下调NF- $\kappa$ B,抑制下游炎症反应。

### 参考文献

- [1] Loubière C, Dirat B, Tanti J F, et al. New perspectives for metformin in cancer therapy [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2013, 74(2): 130–6.
- [2] Decensi A, Puntoni M, Goodwin P, et al. Metformin and cancer risk in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2010, 3(11): 1451–61.
- [3] Ben Q, Xu M, Ning X, et al. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(13): 1928–37.
- [4] Pierce B L, Austin M A, Ahsan H. Association study of type 2 diabetes genetic susceptibility variants and risk of pancreatic cancer: an analysis of PanScan-I data [J]. *Cancer Causes Control*, 2011, 22(6): 877–83.
- [5] Peairs K S, Barone B B, Snyder C F, et al. Diabetes mellitus and breast cancer outcomes: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(1): 40–6.
- [6] Lipscombe L L, Goodwin P J, Zinman B, et al. The impact of diabetes on survival following breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 109(2): 389–95.
- [7] Mitri J, Castillo J, Pittas A G. Diabetes and risk of Non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis of observational studies [J]. *Diabetes Care*, 2008, 31(12): 2391–7.
- [8] Anisimov V N, Berstein L M, Egormin P A, et al. Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neutransgenic mice [J]. *Exp Gerontol*, 2005, 40(8–9): 685–93.
- [9] Huang X, Wullschlegel S, Shpiro N, et al. Important role of the LKB1-AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice [J]. *Biochem J*, 2008, 412(2): 211–21.
- [10] Memmott R M, Mercado J R, Maier C R, et al. Metformin prevents tobacco arcinogen-induced lung tumorigenesis [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2010, 3(9): 1066–76.
- [11] Phoenix K N, Vumbaca F, Fox M M, et al. Dietary energy availability affects primary and metastatic breast cancer and metformin efficacy [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 123(2): 333–44.
- [12] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) [J]. *Lancet*, 1998, 352(9131): 854–65.
- [13] Evans J M, Donnelly L A, Emslie-Smith A M, et al. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients [J]. *BMJ*, 2005, 330(7503): 1304–5.
- [14] Mazzone P J, Rai H, Beukemann M, et al. The effect of metformin and thiazolidinedione use on lung cancer in diabetics [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 410.
- [15] Jiralerspong S, Palla S L, Giordano S H, et al. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(20): 3297–302.
- [16] Campagnoli C, Pisanisi P, Abbà C, et al. Effect of different doses of metformin on serum testosterone and insulin in non-diabetic women with breast cancer: a randomized study [J]. *Clin Breast Cancer*, 2012, 12(3): 175–82.
- [17] Skinner H D, McCurdy M R, Echeverria A E, et al. Metformin use and improved response to therapy in esophageal adenocarcinoma [J]. *Acta Oncol*, 2013, 52(5): 1002–9.
- [18] Higurashi T, Takahashi H, Endo H, et al. Metformin efficacy and safety for colorectal polyps: a double-blind randomized controlled trial [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 118.
- [19] Goodwin P J, Pritchard K I, Ennis M, et al. Insulin-lowering effects of metformin in women with early breast cancer [J]. *Clin Breast Cancer*, 2008, 8(6): 501–5.
- [20] Algire C, Amrein L, Bazile M, et al. Diet and tumor LKB1 expression interact to determine sensitivity to anti-neoplastic effects of metformin *in vivo* [J]. *Oncogene*, 2011, 30(10): 1174–82.
- [21] Kalaany N Y, Sabatini D M. Tumours with PI3K activation are resistant to dietary restriction [J]. *Nature*, 2009, 458(7239): 725–31.
- [22] Mulligan A M, O'Malley F P, Ennis M, et al. Insulin receptor is

- an independent predictor of a favorable outcome in early stage breast cancer [1]. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 106(1): 39–47.
- [23] Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview [1]. *Clin Sci (Lond)*, 2012, 122(6): 253–70.
- [24] Gwinn D M, Shackelford D B, Egan D F, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint [1]. *Mol Cell*, 2008, 30(2): 214–26.
- [25] Huang X, Wullschlegel S, Shpiro N, et al. Important role of the LKB1–AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice [1]. *Biochem J*, 2008, 412(2): 211–21.
- [26] Kalender A, Selvaraj A, Kim S Y, et al. Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner [1]. *Cell Metab*, 2010, 11(5): 390–401.
- [27] Buzzai M, Jones R G, Amaravadi R K, et al. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth [1]. *Cancer Res*, 2007, 67(14): 6745–52.
- [28] Cebioglu M, Schild H H, Golubnitschaja O. Diabetes mellitus as a risk factor for cancer: stress or viral etiology? [1]. *Infect Disord Drug Targets*, 2008, 8(2): 76–87.
- [29] Mantovani A. Cancer: Inflaming metastasis [1]. *Nature*, 2009, 457(7225): 36–7.
- [30] Huang N L, Chiang S H, Hsueh C H, et al. Metformin inhibits TNF- $\alpha$ -induced IkappaB kinase phosphorylation, IkappaB- $\alpha$  degradation and IL-6 production in endothelial cells through PI3K-dependent AMPK phosphorylation [1]. *Int J Cardiol*, 2009, 134(2): 169–75.
- (上接第 556 页)
- [12] Devereux T R, Horikawa I, Anna C H, et al. DNA methylation analysis of the promoter region of the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene [1]. *Cancer Res*, 1999, 59(24): 6087–90.
- [13] Guilleret I, Yan P, Grange F, et al. Hypermethylation of the human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene correlates with telomerase activity [1]. *Int J Cancer*, 2002, 101(4): 335–41.
- [14] De Wilde J, Kooter J M, Overmeer R M, et al. hTERT promoter activity and CpG methylation in HPV-induced carcinogenesis [1]. *BMC Cancer*, 2010, 10(1): 271.
- [15] Renaud S, Loukinov D, Abdullaev Z, et al. Dual role of DNA methylation inside and outside of CTCF-binding regions in the transcriptional regulation of the telomerase hTERT gene [1]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(4): 1245–56.
- [16] Choi J H, Min N Y, Park J, et al. TSA-induced DNMT1 down-regulation represses hTERT expression *via* recruiting CTCF into demethylated core promoter region of hTERT in HCT116 [1]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 449–54.
- [17] Zinn R L, Pruitt K, Eguchi S, et al. hTERT is expressed in cancer cell lines despite promoter DNA methylation by preservation of unmethylated DNA and active chromatin around the transcription start site [1]. *Cancer Res*, 2007, 67(1): 194–201.
- [18] Choi K C, Jung M G, Lee Y H, et al. Epigallocatechin-3-gallate, a histone acetyltransferase inhibitor, inhibits EBV-induced B lymphocyte transformation *via* suppression of RelA acetylation [1]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 583–92.
- [19] Meeran S M, Ahmed A, Tollefsbol T O. Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy [1]. *Clin Epigenetics*, 2010, 1(3–4): 101–16.
- [20] Meeran S M, Patel S N, Tollefsbol T O. Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines [1]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11457.
- [21] Mao B, Zhao G, Lv X, et al. Sirt1 deacetylates c-Myc and promotes c-Myc/Max association [1]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(11): 1573–81.
- [22] Kyo S, Takakura M, Fujiwara T, et al. Understanding and exploiting hTERT promoter regulation for diagnosis and treatment of human cancers [1]. *Cancer Sci*, 2008, 99(8): 1528–38.
- [23] Atkinson S P, Hoare S F, Glasspool R M, et al. Lack of telomerase gene expression in alternative lengthening of telomere cells is associated with chromatin remodeling of the hTR and hTERT gene promoters [1]. *Cancer Res*, 2005, 65(17): 7585–90.
- [24] Liu C, Fang X, Ge Z, et al. The telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene is a direct target of the histone methyltransferase SMYD3 [1]. *Cancer Res*, 2007, 67(6): 2626–31.
- [25] Ge Z, Li W, Wang N, et al. Chromatin remodeling: recruitment of histone demethylase RBP2 by Mad1 for transcriptional repression of a Myc target gene, telomerase reverse transcriptase [1]. *FASEB J*, 2010, 24(2): 579–86.
- [26] Mitomo S, Maesawa C, Ogasawara S, et al. Downregulation of miR-138 is associated with overexpression of human telomerase reverse transcriptase protein in human anaplastic thyroid carcinoma cell lines [1]. *Cancer Sci*, 2008, 99(2): 280–6.
- [27] Miura N, Sato R, Tsukamoto T, et al. A noncoding RNA gene on chromosome 10p15.3 may function upstream of hTERT [1]. *BMC Mol Biol*, 2009, 10(1): 5.
- [28] Wang Y Y, Sun G, Luo H, et al. MiR-21 modulates hTERT through a STAT3-dependent manner on glioblastoma cell growth [1]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(9): 722–8.
- [29] Reig-Viader R, Briño-Enríquez M A, Khouriauli L, et al. Telomeric repeat-containing RNA and telomerase in human fetal oocytes [1]. *Hum Reprod*, 2013, 28(2): 414–22.
- [30] Ng L J, Cropley J E, Pickett H A, et al. Telomerase activity is associated with an increase in DNA methylation at the proximal subtelomere and a reduction in telomeric transcription [1]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(4): 1152–9.
- [31] Redon S, Reichenbach P, Lingner J. The non-coding RNA TERCRA is a natural ligand and direct inhibitor of human telomerase [1]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(17): 5797–806.
- [32] Widschwendter A, Müller H M, Hubalek M M, et al. Methylation status and expression of human telomerase reverse transcriptase in ovarian and cervical cancer [1]. *Gynecol Oncol*, 2004, 93(2): 407–16.