

M/S : médecine sciences



Téломérase, élixir de jeunesse des cellules humaines? Telomerase and the replicative life span of human lymphocytes

Nathalie Rufer and Markus Nabholz

Volume 19, Number 3, mars 2003

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/006471ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (print)
1958-5381 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Rufer, N. & Nabholz, M. (2003). Téломérase, élixir de jeunesse des cellules humaines? *M/S : médecine sciences*, 19(3), 345–350.

Article abstract

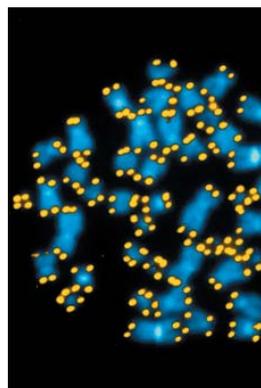
Telomeres are specialized structures at the end of eukaryotic chromosomes that in vertebrates contain hundreds to thousands of tandem repeats of the sequence TTAGGG. In most human somatic cells, telomeres shorten with each cell division, eventually triggering an irreversible arrest of proliferation called cellular senescence. These observations have led to a model in which telomere length reflects the mitotic history of somatic cells. Further support for this hypothesis has come from the discovery of telomerase, a unique reverse transcriptase ribonucleoprotein that has the ability to extend 3' end of telomeres.

In fibroblasts, senescence is induced by telomere attrition and depends on p53 and pRb pathways triggered by one or a few critically short telomeres. Previous studies have shown that the replicative life span of various primary human cells can be prolonged by transduction of the telomerase reverse transcriptase (*hTERT*) gene. The *hTERT* expressing cells proliferate indefinitely, without undergoing any changes associated with transformation to malignancy. Rapid progress has been made towards the goal of using tumor-specific cytolytic CD8⁺ T lymphocytes for the immunotherapy of cancer. These cells can be expanded *in vitro* and, in principle, could be used for adoptive immunotherapy. One of the major problems that remains to be solved is the finite life span of normal human T lymphocytes. In an attempt to overcome this barrier three groups have introduced *hTERT* cDNA into human T lymphocytes and monitored its effect on their life span. In two of these studies, *hTERT* significantly extended the replicative life span of CD8⁺ T clones, whereas this was not the case in the third study using bulk T lymphocytes. Possible explanations for these discordant results are that better growth conditions avoided culture-induced stress in the study with clones, or that clones had undergone alterations leading, for example, to the inactivation of the pRb pathway during their derivation.

> Les télomères sont des structures spécialisées qui protègent les extrémités des chromosomes chez les eucaryotes. L'existence de ces structures a été démontrée il y a soixante ans déjà par des études classiques de cytogénétique. Un nouvel essor dans la recherche sur les télomères a eu lieu dans les années 1980, grâce à l'élucidation de la nature moléculaire des télomères. La découverte et la caractérisation de l'enzyme télomérase, une nouvelle ADN polymérase, en sera le principal fer de lance. Actuellement, une des nouvelles fonctions attribuées aux télomères est leur implication, comme horloge biologique, dans le vieillissement des cellules. De plus, la longueur des télomères et la télomérase jouent un rôle dans des phénomènes biologiques aussi variés que le vieillissement des organismes, mais aussi la reproduction, le cancer ou les réponses immunes contre une infection. Dans cette synthèse seront retracés le rôle potentiel des télomères dans la sénescence des cellules somatiques humaines, ainsi que la fonction de la télomérase dans l'immortalisation de ces cellules après l'introduction du gène de la sous-unité catalytique de la télomérase. En conclusion, les perspectives de l'utilisation d'un tel outil en immunothérapie seront évoquées. <

Télomérase, élixir de jeunesse des cellules humaines ?

Nathalie Rufer, Markus Nabholz



N. Rufer:
NCCR Molecular Oncology.
M. Nabholz:
Laboratoire de Biologie
des Lymphocytes,
Institut Suisse de Recherche
Expérimentale sur le Cancer
(ISREC),
155, chemin des Boveresses,
1066 Epalinges, Suisse.
nathalie.rufer@isrec.unil.ch

somes. Cette incapacité engendre, à chaque division cellulaire, une perte de 50 à 200 nucléotides. La télomérase, une ribonucléoprotéine aux propriétés uniques, prévient la perte d'éléments TTAGGG par l'ajout de séquences télomériques aux extrémités 3'. Cette enzyme contient deux composants majeurs indissociables de son activité. Le premier est la sous-unité catalytique ou transcriptase inverse de la télomérase (hTERT, *human telomerase reverse transcriptase*). Le second est un ARN (TERC, *telomerase RNA component*), dont une partie de la séquence est complémentaire à TTAGGG et sert de matrice pour la synthèse *de novo* de séquences télomériques. Si la plupart des cellules somatiques humaines expriment constitutivement la matrice ARN, TERC, ce n'est pas le cas de la sous-unité catalytique hTERT. Par conséquent, l'activité de la télomérase dans la cellule dépend de la présence ou de l'absence de hTERT (revue dans [2]).

La sénescence cellulaire

L'une des différences fondamentales entre les cellules normales, dites aussi primaires, et les cellules tumo-

Chez tous les eucaryotes, les télomères sont composés de centaines, voire de milliers d'éléments nucléotidiques répétitifs placés en tandem dans la région terminale de chaque chromosome (*Figure 1*). Chez l'homme et les autres vertébrés, l'unité fondamentale de ces éléments est la séquence TTAGGG. Des protéines sont associées aux télomères, formant ainsi les structures qui protègent les extrémités chromosomiques (revue dans [1]). La machinerie responsable de la répllication semi-conservative des gènes eucaryotes est incapable de compléter la répllication des extrémités des chromo-

rales est la capacité de prolifération *in vitro* de ces dernières. En effet, les cellules tumorales peuvent proliférer indéfiniment et sont donc décrites comme immortelles. À l'inverse, les cellules primaires ont une durée de vie limitée, c'est-à-dire qu'en culture elles ne se divisent que durant une période de temps restreinte et subissent un arrêt irréversible dans la phase G1 du cycle cellulaire, appelé sénescence cellulaire. Un lien direct entre le vieillissement des cellules, ou sénescence, et le nombre de divisions cellulaires a été suggéré dans les années 1960 par L. Hayflick [3]: « La durée de vie totale d'une cellule se calcule à partir du nombre de générations de cellules engendrées par division cellulaire ». Typiquement, des fibroblastes humains prolifèrent en culture durant 40 à 60 générations avant d'entrer en sénescence. Cela signifie qu'il existe au sein de chaque cellule une ou plusieurs horloges biologiques qui « décompte » le nombre de divisions cellulaires. Les études des dix dernières années montrent que l'âge de la cellule peut être mesuré par la perte de l'ADN télomérique localisé aux extrémités chromosomiques ([4], revue dans [5]).

L'horloge télomérique

Chez l'homme, les télomères contiennent entre 5000 et 12000 paires de bases (pb) d'éléments répétitifs TTAGGG. Dans les fibroblastes humains mis en culture, la taille des télomères diminue de 50 à 200 pb à chaque division puisque, dans la plupart des cellules humaines différenciées, la télomérase est absente (Figure 2). La sénescence cellulaire, chez les fibroblastes, est provoquée par l'usure progressive des télomères et dépend des cascades de signalisation réglées par les répresseurs tumoraux p53 et pRb (protéine de susceptibilité du rétinoblastome). En effet, l'activation de ces répresseurs est déclenchée lorsque le raccourcissement de certains télomères atteint un seuil critique. Ce stade, également appelé limite de Hayflick [3] ou phase M1, n'est cependant pas associé à la mort cellulaire, car les fibroblastes humains sénescents restent en vie même s'ils ne se

divisent plus. La limite de Hayflick peut cependant être franchie en bloquant la fonction des protéines p53 et pRb par l'introduction, dans les cellules, des protéines T du virus transformant SV40. Les fibroblastes poursuivent alors leur activité répliquative jusqu'au stade prénommé « crise », ou phase M2. Cette phase est marquée par l'instabilité extrême des chromosomes à la suite d'une perte massive des télomères et, en conséquence, par la mort cellulaire. Parmi les fibroblastes qui ont dépassé le stade M1, de très rares variants cellulaires peuvent survivre à la phase M2 et devenir immortels. Dans la majorité de ces cas, les cellules stabilisent la longueur de leurs télomères par la réactivation de la télomérase (Figure 2) [6, 7]. En résumé, le modèle de l'horloge télomérique propose une relation de cause à effet entre, d'une part, la perte progressive de télomères et le vieillissement des cellules et, d'autre part, l'activation de la télomérase et l'immortalité cellulaire. Cette hypothèse sera validée par les expériences dans lesquelles le gène codant pour la sous-unité catalytique hTERT a été introduit dans diverses cellules somatiques humaines (fibroblastes, kératinocytes et lymphocytes T, par exemple).

La seconde jeunesse des fibroblastes et des kératinocytes humains

L'expression de la sous-unité catalytique hTERT dans les fibroblastes humains, qui en sont habituellement dépourvus, instaure l'activité de la télomérase, permet-

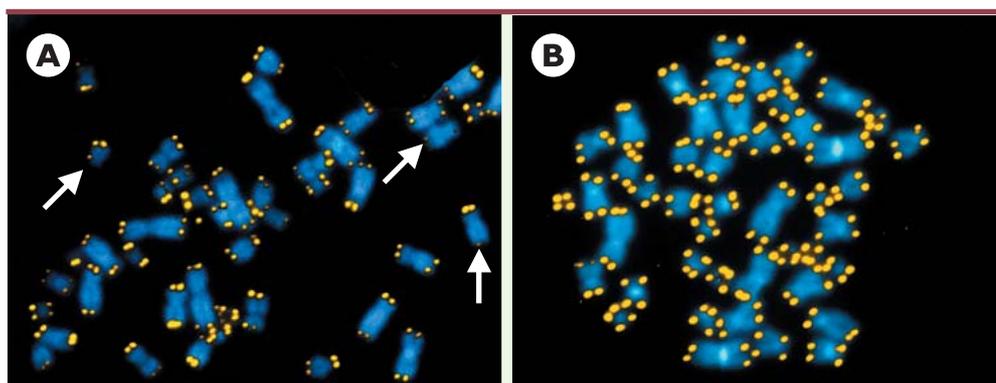


Figure 1. Les télomères sont formés de séquences répétitives TTAGGG localisées aux extrémités des chromosomes. Les longueurs de ces séquences peuvent être quantifiées par hybridation *in situ* de chromosomes en métaphase (ou Q-FISH [23]). Les sondes PNA (peptide nucleic acid) utilisées sont complémentaires aux séquences TTAGGG et marquées par le fluorochrome Cy-3 (points jaunes). Les chromosomes sont, quant à eux, visualisés par DAPI (en bleu). La longueur des télomères est proportionnelle à l'intensité du signal fluorescent. Des chromosomes en métaphase provenant de lymphocytes T humains surexprimant (B) ou non (A) la sous-unité catalytique hTERT ont ainsi été analysés. Des télomères extrêmement courts sont observés sur les chromosomes des lymphocytes T pré-sénescents ne contenant pas le gène *hTERT* (A). En revanche, la fluorescence des télomères est homogène et intense sur les chromosomes provenant de lymphocytes surexprimant *hTERT* (B). Ces expériences montrent que l'introduction de la télomérase dans des clones de lymphocytes T permet l'élongation des télomères les plus courts [19].

tant ainsi de maintenir la taille des télomères, voire de rallonger les séquences télomériques (Figure 2). Les fibroblastes ont alors un allongement de leur durée de vie et sont capables d'être maintenus en culture durant plus de 300 générations! Ces cellules apparaissent indiscernables des « jeunes » cellules et ne montrent aucun signe d'anomalie chromosomique [8] ni d'aberration des points de contrôle du cycle cellulaire (revue dans [7]). Ces observations permettent de conclure que l'expression ectopique de la télomérase dans les cellules normales somatiques, telles que les fibroblastes, prévient leur sénescence. Ces expériences fournissent les preuves d'un lien direct et causal entre le raccourcissement des télomères et la sénescence cellulaire.

Dans les kératinocytes, contrairement aux résultats obtenus dans les fibroblastes, la surexpression de hTERT seule ne suffit pas à immortaliser ces cellules (revue dans [9]): l'inactivation de la cascade de signalisation pRb par l'expression d'oncogènes viraux, tels que la protéine E7 du virus humain du papillome, est également requise. Une analyse plus approfondie montre toutefois que les kératinocytes ne peuvent être maintenus aisément en culture durant plus de 20 générations sans la

présence de cellules nourricières. Dans des conditions adéquates (en présence de cellules nourricières), les kératinocytes peuvent être immortalisés par l'adjonction de la télomérase sans passer par l'inactivation de la cascade de signalisation pRb [9]. Ainsi, le stress imposé par une culture *in vitro* peut influencer le devenir d'une expérience et ces paramètres doivent donc être pris en compte lorsque l'on veut cerner précisément l'impact des télomères sur le vieillissement des cellules *in vitro*.

La durée de vie des lymphocytes T humains

Lors d'une réponse immunitaire primaire, seuls les lymphocytes dont le récepteur de cellule T (TCR) reconnaît spécifiquement l'un des peptides provenant d'un pathogène (par exemple un virus ou une bactérie) répondent. Ces lymphocytes T appelés naïfs subissent alors une multiplication clonale, qui leur permettra dans un second temps d'éliminer les cellules infectées et de devenir des cellules dites mémoires (revue dans [10]). Cette multiplication devrait, en principe, s'accompagner de pertes télomériques progressives. Ainsi, diverses études montrent que la longueur des télomères des lymphocytes T

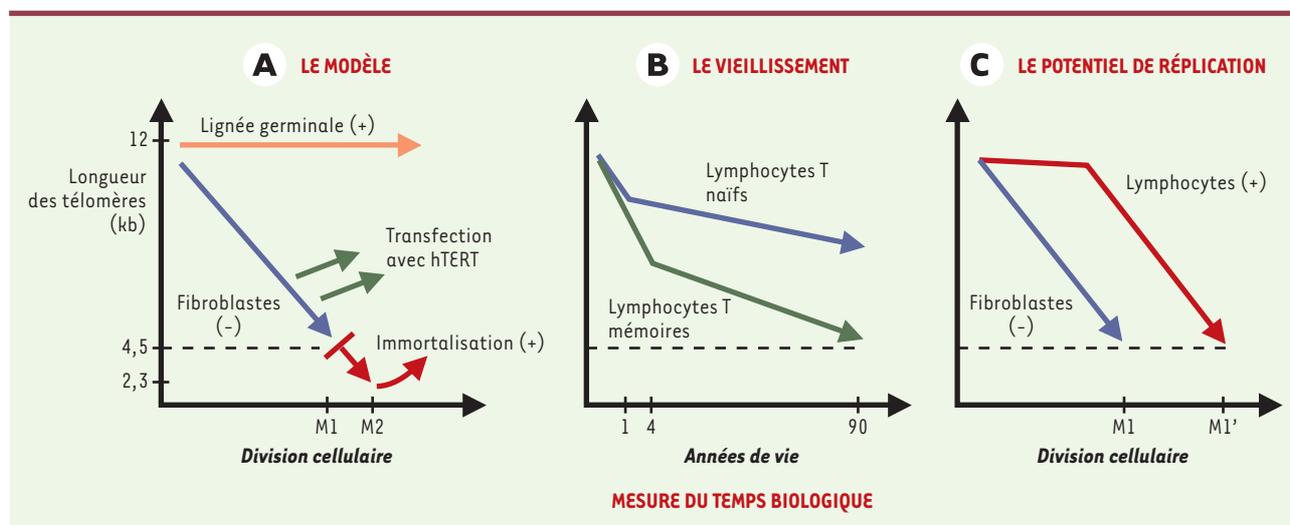


Figure 2. Les télomères comme horloge mitotique. **A.** La télomérase est active (+) dans les lignées germinales et maintient constante la longueur des télomères. En revanche, les tissus somatiques inactivent la télomérase (-), ce qui engendre un raccourcissement progressif de leurs télomères jusqu'à l'arrêt de réplique ou sénescence en M1 (flèche bleue). Les oncoprotéines telles que l'antigène grand T du virus SV40 peuvent neutraliser les protéines p53 et pRb, responsables de l'arrêt au point de contrôle M1, et permettent aux cellules de poursuivre leur prolifération jusqu'au stade M2 ou « crise ». De rares clones malins échappent à ce stade en exprimant la télomérase (+, flèche rouge). L'introduction de la sous-unité catalytique hTERT dans les cellules somatiques permet une élévation des télomères et l'immortalisation des cellules (flèche verte). **B.** Au cours du vieillissement, les lymphocytes T naïfs et les lymphocytes T mémoires subissent une perte progressive des télomères. La perte la plus importante se produit durant les quatre premières années de la vie. Le raccourcissement des télomères dans les cellules naïves reflète le vieillissement des cellules souches hématopoïétiques au cours de la vie. Les télomères les plus courts sont retrouvés dans les lymphocytes T mémoires d'individus octogénaires [13]. **C.** Dans les lymphocytes, la présence de la télomérase (+) pourrait apporter un mécanisme de compensation partiel en réponse à la perte des télomères [20]. Cependant, les télomères raccourcissent progressivement, même dans les lymphocytes, et leur sénescence peut être observée dans des cultures *in vitro* [19, 20]. D'après ce modèle, la limite de Hayflick dans les lymphocytes (M1') surviendrait après un nombre de divisions cellulaires supérieur à celui des fibroblastes (M1).

naïfs est supérieure à celle des lymphocytes T mémoires (revue dans [11]). De même, il serait possible qu'une déplétion accélérée des télomères, due à des rencontres répétées avec un même pathogène, amène les cellules T spécifiques au stade M1 et limite ainsi leur réponse immune. Selon cette hypothèse, le potentiel de réplication serait un paramètre crucial pour les lymphocytes T mémoires. Dès lors, l'analyse de la longueur des télomères dans les lymphocytes permet une estimation du potentiel de réplication de ces cellules, ainsi que de leur durée de vie dans un organisme [11].

La perte progressive des télomères avec le vieillissement

De nombreuses études ont démontré que la longueur des télomères présents dans les lymphocytes humains se raccourcit progressivement en fonction de l'âge des individus analysés (revue dans [12]). Les télomères les plus courts sont retrouvés chez les octogénaires (4 000 à 6 000 pb), tandis que, chez les nouveau-nés, la longueur des télomères oscille entre 8 000 à 12 000 pb (Figure 2). Lors de la première année qui suit la naissance, nous avons pu montrer une perte accélérée des télomères dans les cellules du sang périphérique telles que les granulocytes et les lymphocytes T naïfs [13]. Une des interprétations de ces résultats serait que les cellules-précurseurs, c'est-à-dire les cellules souches hématopoïétiques qui produisent directement les granulocytes et les lymphocytes T naïfs, ont un nombre de divisions cellulaires accru au cours de la première année de la vie. Par la suite et durant plus de 80 ans, la perte des télomères devient plus graduelle, mais reste néanmoins élevée (Figure 2). Un déclin rapide des télomères a également été observé dans les lymphocytes T mémoires durant les quatre premières années de vie. Cette perte reflèterait la réplication active des lymphocytes mémoires lors de réponses immunes après infection et/ou vaccination. Ces cellules obtiennent d'ailleurs la palme d'or en matière de télomères courts, avec des valeurs proches de 4 000 pb seulement chez les individus âgés de plus de 80 ans. De plus, les lymphocytes mémoires s'accumulent au cours de la vie et reflètent l'histoire des infections répétitives dues aux pathogènes que nous hébergeons. De nombreuses questions restent ouvertes à ce stade de la discussion: la sénescence existe-t-elle dans les lymphocytes T mémoires *in vivo* et, dans ce cas, pourrait-elle les empêcher de se diviser lors d'une réponse immunitaire? Cette sénescence toucherait-elle plus particulièrement les cellules des individus âgés et/ou de ceux souffrant d'infections chroniques (le VIH par exemple)? Quels sont les mécanismes bio-

logiques gouvernant la sénescence des lymphocytes? Sont-ils les mêmes que ceux impliqués dans la sénescence des fibroblastes?

L'expression endogène de la télomérase dans les lymphocytes humains

Dès les années 1990, la présence d'une faible activité de l'enzyme télomérase a été décrite dans les lymphocytes isolés d'individus sains [14]. Dans les lymphocytes T, durant leur développement dans le thymus ou après leur stimulation *in vitro* par divers mitogènes, une activité élevée de la télomérase a été mise en évidence (revue dans [15]). Jusqu'alors, le modèle de l'horloge mitotique (Figure 2) stipulait que la télomérase n'était présente que dans les cellules germinales et les clones malins et donc absente des cellules somatiques. Ce dogme fut revu et corrigé lorsqu'il est devenu évident que la télomérase était également présente dans les cellules immunes et les cellules souches hématopoïétiques. Quel est le rôle de la télomérase dans les lymphocytes? Comment se fait la régulation de l'expression de cette enzyme dans les cellules? Dans l'état actuel de la recherche, nous sommes loin d'avoir répondu à ces questions. Un des modèles serait que l'expression somatique de la télomérase dans les lymphocytes soit primordiale pour les fonctions immunes. Ainsi, Maini *et al.* ont décrit que, dans les lymphocytes T activés lors d'une mononucléose infectieuse par le virus d'Epstein-Barr (EBV), l'activité de la télomérase est élevée [16]. Cette activité pourrait préserver les télomères lors d'une expansion cellulaire importante des lymphocytes, comme c'est le cas après une stimulation antigénique à EBV (Figure 2). Les lymphocytes, à l'instar des cellules tumorales, seraient donc dotés d'un mécanisme permettant de prolonger leur durée de vie et leur potentiel de réplication, véritables garants de leurs fonctions immunitaires. Toutefois, lorsque les lymphocytes T humains en culture sont stimulés de manière répétitive, une diminution progressive de l'activité de la télomérase est observée [17]. Ces résultats expliquent que les lymphocytes perdent progressivement les télomères et atteignent la limite de Hayflick (Figure 2). Ainsi, comme les fibroblastes, les lymphocytes ont une durée de vie qui est limitée par un nombre défini de divisions cellulaires (revue dans [18]) et des clones T sénescents, avec des télomères extrêmement courts, sont observés après quelques mois de culture cellulaire *in vitro* (Figure 1) [19]. L'activité de la télomérase permettrait la prolongation du potentiel réplicatif des lymphocytes T humains, mais non leur immortalisation. Il est évident que la régulation de l'activité de la télomérase doit être contrôlée de façon



rigoureuse au sein des lymphocytes, par des mécanismes qu'il reste à élucider (revue dans [15]).

Controverses dans l'immortalisation des lymphocytes T humains

Une des approches pour répondre à cette problématique serait de surexprimer la télomérase dans les lymphocytes humains et d'observer son effet sur la durée de vie des cellules. Trois études indépendantes ont récemment décrit l'introduction de hTERT et sa surexpression dans des lymphocytes T humains par l'emploi de vecteurs rétroviraux [19-21]. Deux types de cellules T ont été utilisées: des populations polyclonales de lymphocytes T CD8⁺ et des clones de cellules T, dérivés d'une seule cellule à partir de populations polyclonales. Comme dans le modèle des kératinocytes (revue dans [9]), les conclusions de ces trois analyses aboutissent à une controverse. Ainsi, une de ces publications montre que l'expression ectopique de hTERT stabilise la longueur des télomères, mais n'est pas suffisante pour immortaliser des cultures polyclonales de lymphocytes T [20]. En revanche, en utilisant des clones de cellules T, les deux autres études réussissent à prolonger significativement la durée de vie des lymphocytes tout en conservant un caryotype et un phénotype cellulaire normal (Figure 1) [19, 21]. Une des explications serait que les conditions de culture (pour les populations polyclonales) soient inadéquates et induisent un stress non lié à la sénescence des cellules. Dans ce cas, l'introduction de hTERT ne suffit pas à immortaliser les cellules. Une autre explication serait la survenue, à l'insu des expérimentateurs, d'un événement additionnel, comme l'inactivation de certaines cascades de signalisation (pRb par exemple), qui aurait permis la prolifération des cellules (clones T) dans des conditions sub-optimales. Les vecteurs rétroviraux utilisés lors de ces études sont dérivés du virus des leucémies murines Moloney (MMLV) et n'infectent pas efficacement (< 10 %) les lymphocytes T humains. De nouvelles approches comme l'utilisation d'un vecteur d'origine lentiviral (adapté du VIH) sont actuellement développées pour mieux comprendre les divergences des résultats décrits auparavant [19-21]. Ainsi, l'emploi d'un vecteur lentiviral permettra une meilleure efficacité d'infection, mais également l'expression d'un gène artificiel (dans notre cas, hTERT) dans une large fraction des populations polyclonales, tout en évitant une sélection par le clonage. Enfin, de meilleures conditions de culture devront être trouvées pour pouvoir analyser le « vrai » phénomène de sénescence des lymphocytes, c'est-à-dire celui uniquement réglé par la longueur des télomères.

Perspectives en immunothérapie

Actuellement, l'expansion *in vitro* de lymphocytes T humains est déjà utilisée à des fins thérapeutiques. En effet, des cellules T spécifiques sont produites *in vitro* pour être transférées chez un patient-receveur comme thérapie adoptive contre certaines infections virales (cytomégalovirus, EBV) ou des cibles tumorales (mélanomes) (revue dans [22]). La production à grande échelle de ces lymphocytes reste cependant limitée par la durée de vie restreinte de ces cellules et donc par la survenue de la sénescence. La surexpression de la télomérase dans les lymphocytes T spécifiques représenterait un moyen élégant de contourner la limite de Hayflick et de produire à l'infini le « vaccin cellulaire » pour traiter les infections ou les tumeurs malignes. Néanmoins, une analyse approfondie de l'activation de la cascade de signalisation pRb ainsi que de la définition de conditions de cultures adéquates sont nécessaires pour l'emploi de hTERT dans l'immortalisation des lymphocytes T humains.

Enfin, n'oublions pas que le rôle biologique de la sénescence cellulaire est de réduire la probabilité de la transformation de cellules tumorales à partir de cellules normales. Dès lors, le passage de la sénescence cellulaire à un état immortel pourrait représenter une barrière cruciale que la plupart des tumeurs se doivent de franchir pour évoluer. Les avancées faites sur le modèle des fibroblastes et d'autres types cellulaires nous indiquent que l'introduction de hTERT en soi ne transforme pas les cellules, mais le chemin à parcourir avant l'utilisation d'un tel outil en immunothérapie nécessite une compréhension plus complète du rôle de la télomérase dans l'immortalisation. ♦

REMERCIEMENTS

Nous remercions chaleureusement Catherine Barbey, Anne-Lyse Ducrest et Patrick Reichenbach pour leurs commentaires critiques, ainsi que Pascale Baer pour sa relecture du manuscrit.

TIRÉS À PART

N. Rufer

RÉFÉRENCES

- Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell* 2001; 106: 661-73.
- Bryan TM, Cech TR. Telomerase and the maintenance of chromosome ends. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 318-24.
- Hayflick L, Moorhead PS. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 585-621.
- Harley CB, Vaziri H, Counter CM, Allsopp RC. The telomere hypothesis of cellular aging. *Exp Gerontol* 1992; 27: 375-82.
- Chiu CP, Harley CB. Replicative senescence and cell immortality: the role of telomeres and telomerase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214: 99-106.
- Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011-5.
- Holt SE, Shay JW. Role of telomerase in cellular proliferation and cancer. *J Cell Physiol* 1999; 180: 10-8.
- Jiang XR, Jimenez G, Chang E, et al. Telomerase expression in human somatic cells does not induce changes associated with a transformed phenotype. *Nat Genet* 1999; 21: 111-4.
- Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 98-103.
- Cerottini JC, MacDonald HR. The cellular basis of T-cell memory. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 77-89.
- Brummendorf TH, Lansdorp PM, Rufer N. Telomere length dynamic in normal and malignant hematopoiesis. *J Anti-Aging Med* 2000; 3: 395-407.
- Weng NP, Hathcock KS, Hodes RJ. Regulation of telomere length and telomerase in T and B cells: a mechanism for maintaining replicative potential. *Immunity* 1998; 9: 151-7.
- Rufer N, Brummendorf TH, Kolvraa S, et al. Telomere fluorescence measurements in granulocytes and T lymphocytes subsets point to a high turnover of hematopoietic stem cells and memory T cells in early childhood. *J Exp Med* 1999; 2: 157-67.
- Broccoli D, Young JW, de Lange T. Telomerase activity in normal and malignant hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9082-6.
- Weng NP. Regulation of telomerase expression in human lymphocytes. *Springer Semin Immunopathol* 2002; 24: 23-33.
- Maini MK, Soares MV, Zilch CF, Akbar AN, Beverley PC. Virus-induced CD8+ T cell clonal expansion is associated with telomerase up-regulation and telomere length preservation: a mechanism for rescue from replicative senescence. *J Immunol* 1999; 162: 4521-6.
- Weng NP, Palmer LD, Levine BL, Lane HC, June CH, Hodes RJ. Tales of tails: regulation of telomere length and telomerase activity during lymphocyte development, differentiation, activation, and aging. *Immunol Rev* 1997; 160: 43-54.
- Effros RB, Pawelec G. Replicative senescence of T cells: does the Hayflick limit lead to immune exhaustion? *Immunol Today* 1997; 18: 450-4.
- Rufer N, Migliaccio M, Antonchuk J, Humphries RK, Roosnek E, Lansdorp PM. Transfer of the human telomerase reverse transcriptase (TERT) gene into T lymphocytes results in extension of replicative potential. *Blood* 2001; 98: 597-603.
- Migliaccio M, Amacker M, Just T, et al. Ectopic human telomerase catalytic subunit expression maintains telomere length but is not sufficient for CD8+ T lymphocyte immortalization. *J Immunol* 2000; 165: 4978-84.
- Hooijberg E, Ruizendaal JJ, Snijders PJF, Kueter EWM, Walboomers JMM, Spits H. Immortalization of human CD8+ T cell clones by ectopic expression of telomerase reverse transcriptase. *J Immunol* 2000; 165: 4239-45.
- Rosenberg SA. Progress in human tumour immunology and immunotherapy. *Nature* 2001; 411: 380-4.
- Lansdorp PM, Verwoerd NP, Vanderijke FM, et al. Heterogeneity in telomere length of human chromosomes. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 685-91.

SUMMARY

Telomerase and the replicative life span of human lymphocytes

Telomeres are specialized structures at the end of eukaryotic chromosomes that in vertebrates contain hundreds to thousands of tandem repeats of the sequence TTAGGG. In most human somatic cells, telomeres shorten with each cell division, eventually triggering an irreversible arrest of proliferation called cellular senescence. These observations have led to a model in which telomere length reflects the mitotic history of somatic cells. Further support for this hypothesis has come from the discovery of telomerase, a unique reverse transcriptase ribonucleoprotein that has the ability to extend 3' end of telomeres. In fibroblasts, senescence is induced by telomere attrition and depends on p53 and pRb pathways triggered by one or a few critically short telomeres. Previous studies have shown that the replicative life span of various primary human cells can be prolonged by transduction of the telomerase reverse transcriptase (*hTERT*) gene. The *hTERT* expressing cells proliferate indefinitely, without undergoing any changes associated with transformation to malignancy. Rapid progress has been made towards the goal of using tumor-specific cytolytic CD8⁺ T lymphocytes for the immunotherapy of cancer. These cells can be expanded *in vitro* and, in principle, could be used for adoptive immunotherapy. One of the major problems that remains to be solved is the finite life span of normal human T lymphocytes. In an attempt to overcome this barrier three groups have introduced *hTERT* cDNA into human T lymphocytes and monitored its effect on their life span. In two of these studies, *hTERT* significantly extended the replicative life span of CD8⁺ T clones, whereas this was not the case in the third study using bulk T lymphocytes. Possible explanations for these discordant results are that better growth conditions avoided culture-induced stress in the study with clones, or that clones had undergone alterations leading, for example, to the inactivation of the pRb pathway during their derivation. ♦