

端粒维持在神经母细胞瘤发病机制中的研究进展

王振华, 李万富*

新疆医科大学第一附属医院小儿普外科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年1月9日; 录用日期: 2023年2月3日; 发布日期: 2023年2月13日

摘要

端粒被广泛认为是细胞的“有丝分裂钟”，并作为生物衰老的标志而存在。保持端粒长度高于临界阈值是恶性肿瘤细胞永生的关键，也是成人和儿童癌症发生的关键因素。最新研究显示神经母细胞瘤中端粒的维持(TMM)，无论是由端粒酶或ALT激活，都是神经母细胞瘤(NB)高危疾病的决定性标志。本文对端粒异常在神经母细胞瘤发病机制中的作用进行总结，为神经母细胞瘤疾病的临床诊治提供新的研究方向。

关键词

神经母细胞瘤, 端粒, 端粒酶, 发病机制, 端粒维持

Research Progress of Telomere Maintenance in the Pathogenesis of Neuroblastoma

Zhenhua Wang, Wanfu Li*

Department of Pediatric General Surgery, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Jan. 9th, 2023; accepted: Feb. 3rd, 2023; published: Feb. 13th, 2023

Abstract

Telomeres are widely regarded as the “mitotic clock” of the cell and serve as markers of biological aging. Keeping telomere length above the critical threshold is the key to the immortalization of malignant tumor cells and a key factor in the development of cancer in adults and children. Recent studies have shown that telomere maintenance in neuroblastoma, whether activated by telome-

*通讯作者。

rase or ALT, is a definitive marker of neuroblastoma risk disease. This article summarizes the role of telomere abnormalities in the pathogenesis of neuroblastoma and provides a new research direction for the clinical diagnosis and treatment of neuroblastoma disease.

Keywords

Neuroblastoma, Telomeres, Telomerase, Pathogenesis, Telomere Maintenance

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

神经母细胞瘤(NB)是儿童时期最常见的颅外实体肿瘤,占儿童恶性肿瘤发病率的6%~10%,但其所导致的病死率却高达15% [1]。NB起源于神经嵴细胞,可以在交感神经系统的任何部位发生[2],大多数病例发生在儿童的腹部,尤其是肾上腺[3]。其他常见的肿瘤形成部位是脊柱、胸部等交感神经节处。神经母细胞瘤的临床表现呈现多样,从侵袭性疾病(通常伴有治疗抵抗)到低风险疾病(在一部分患者中没有治疗干预而完全自发消退)均有分布[4]。NB的病因至今未明,近些年随着基因学与分子生物学的不断发展,对NB的遗传变异机制有了更深层次的认识,特别是在预后较差的HRNB中[5],发现了端粒异常与患儿的生存状况有显著的关联,本文就NB发病机制中端粒异常的研究进展作简要综述。

2. 端粒与端粒酶

端粒是位于真核细胞线状染色体末端的小段DNA-蛋白质复合体。对于哺乳动物而言,端粒的存在可以维持染色体末端稳定,端粒的长度会随着细胞分裂次数的增加而不断缩短,一般来说,细胞每分裂一次,端粒缩短30 bp~200 bp,当其缩短到2 kb~4 kb的特定临界值时,细胞将会进入静默期或者启动凋亡机制[6]。这种与细胞衰老相关的端粒缩短,被认为是一种阻止细胞不受控生长的保护机制,可以防止人类和其他哺乳动物癌症的发生[7]。因此端粒被认为是普遍的抗癌靶点,端粒的维持(telomere-maintenance mechanism, TMM)对于癌细胞的无限式增长至关重要。

端粒酶是一种核糖核蛋白,它作为延长端粒的主要复合体,其功能通过多种转录、转录后和翻译后机制精细调节,达到促进端粒延伸的目的[8]。端粒酶存在于生殖细胞以及干细胞中,并可在许多癌细胞中高度表达,正常人体细胞表现出非常低或检测不到的端粒酶活性。癌细胞可以通过重新激活端粒酶,稳定、延长端粒末端从而达到永生[9],据统计,具有端粒酶活性[10],它是癌症中最常见的突变之一。此外,在家族性和散发性癌症中也发现了端粒保护复合物或庇护蛋白成分的突变[11]。2009年诺贝尔生理学或医学奖授予给伊丽莎白·布莱克本等3位科学家,以表彰他们发现了“端粒和端粒酶保护染色体的机制”[12]。随后学术界对于端粒的研究越来越多,不仅在癌症中,近期发现在婴儿期到成年期的整个年龄段的各项疾病中,都观察到了极短和极长的端粒[13]。

短端粒表型与大多数的临床疾病有关,例如心血管疾病、心力衰竭、糖尿病、T细胞免疫缺陷风险的增加、精神分裂症、抑郁症、老年痴呆症等[14]。这些与短端粒相关的疾病表明长端粒可能会赋予人类健康和长寿的优势,但许多的证据表明这种观点可能过于牵强。过长的端粒会增加罹患多种癌症的风险[15],成人中以黑色素瘤、神经胶质瘤和慢性淋巴细胞白血病为典型代表。与大多数成人癌症不同是,许

多儿童肿瘤的发生与其生活方式或环境因素没有显著的关联[16], 却与其先天的遗传因素密不可分。在端粒生物学方面, 神经母细胞瘤的研究走在了其他儿童癌症的前列[17]。

TMM 主要通过两种主要机制实现: ① 诱导端粒酶。② 端粒替代延长机制(ALT) [18]。前者主要通过催化逆转录酶(TERT)复制 RNA 模板成分(TEC)来延伸 G 链。除了自我更新组织中的高度增殖细胞外, 正常组织中的大多数细胞基本上不存在 TERT 表达[19]。端粒酶的上调主要是由于 TERT 转录的上调, 这可以通过多种机制来实现, 包括 TERT 启动子的点突变[20], TERT 基因重排[21], TERT 基因扩增[22], MYC 的过度表达, 或 MYC 基因扩增[23]。端粒酶激活在肿瘤发生中的重要性已经被几个 TERT 转基因小鼠模型所证实, 在这些模型中, 结构性端粒酶表达导致自发性肿瘤发生率的增加[24]。此外, 端粒酶还具有许多影响端粒稳态、信号转导、细胞能量学和基因表达转录调控的非端粒功能[25]。新的证据表明, TERT 和 TEC 都通过调节 tRNAs 和 tRNA 衍生物, 以及激活或稳定多种与癌症相关的过程, 如 Wnt-、Myc-和 NF-kappa-B 信号通路, 在肿瘤发生中发挥非端粒作用[26]。Jae-Il Park 等人发现端粒酶作为 β -连环蛋白转录复合物的辅因子, 调节 Wnt/ β -连环素信号传导[27]。Cheryl M. Koh 等人进一步确定 TERT 是癌症中 MYC 稳定性的调节器。TERT 稳定染色质上的 MYC 水平, 有助于其靶基因的激活或抑制[26]。而 Arkasubhra Ghosh 等人发现端粒酶通过与 NF- κ Bp65 亚单位结合并招募到 NF- κ B 启动子子集, 直接调节 NF- κ B 依赖性基因表达, 这些启动子是炎症和癌症进展的关键细胞因子[28]。据统计, 超过 50 个反式作用的原癌基因和其他因子能够直接与 TERT 翻译起始点上游 3.5 kb 至下游 150 kb 之间的基因组区域相互作用, 从而形成参与控制 TERT 表达的复杂调控网络[29]。如, 与髓母细胞瘤和神经母细胞瘤等侵袭性儿童癌症相关的 MYC 家族的转录因子(c-MYC 和 MYCN)与 TERT 启动子结合并激活, 导致 MYC 和 MYCN 扩增的肿瘤的 TERT mRNA 水平高[30]。

在缺乏端粒酶的癌细胞中, 端粒的维持是由 ALT 实现的, ALT 在 10%~15% 的人类肿瘤中可以检测到。这是一种不需要端粒酶的、依赖于同源重组介导的、邻近端粒的侵袭来进行模板 DNA 合成, 其方式非常类似于断裂诱导的复制[8]。它既包括 RAD52 依赖的途径, 也包括 RAD52 非依赖的途径。丙氨酸氨基转移酶的 TE 激活机制仍不清楚, 但已确定了几个易感因素。已有研究表明, 在许多不同的恶性肿瘤中, ATRX、DAXX (死亡结构相关蛋白)和组蛋白变体 H3.3 的基因突变与 ALT 激活有关。在一项早期研究中, 绝大多数 ALT 细胞系被证明是 ATRX 缺陷。然而, 最近对细胞系和肿瘤样本的大规模分析发现, 相当一部分 ALT 阳性样本没有 ATRX 突变。ATRX 和 DAXX 都与染色质重塑有关, 并被认为通过调节端粒染色体来抑制 ALT 的激活。端粒染色体的变化被认为增加了可及性和端粒复制压力, 如果持续下去, 最终将触发异常重组[31]。

3. 神经母细胞瘤与端粒

大多数国家和国际组织(儿科肿瘤学和血液学学会 GPOH、国际儿科肿瘤学学会欧洲神经母细胞瘤组 SIOPEN、儿童肿瘤学组 COG)使用的是临床神经母细胞瘤风险分层系统, 以及国际神经母细胞病风险组 (INRG)分期系统, 主要根据 INSS 分期、年龄和 MYCN 状态将神经母细胞瘤划分为低风险、中风险和高风险[32], 低风险神经母细胞瘤患者通常表现为自发消退, 而高风险患者(HRNB)虽然经过了化疗、手术、放疗、免疫治疗、靶向治疗等多模式的积极治疗, 仍有约 50% 的儿童死于该病[33]。端粒维持机制(TMM)的激活是 HRNB 的标志, 近期, 几项大规模的平行测序研究发现, MYCN、端粒酶逆转录酶和 α -地中海贫血、智力低下综合征 X-连锁(ATRX)异常是 HRNB 的常见和相互排斥的驱动因素[34]。由于这三个频繁的基因组改变汇聚到激活端粒维持机制(TMM), 端粒和 TMM 已成为 HRNB 预后不良的关键属性和指标, 端粒长度越长预后越差[17]。针对于如何提高高风险组儿童的生存率, 将是近期以及未来较长一段时间国内外专家学者研究的热点领域。

在大约 20% 的原发性神经母细胞瘤和 40% 的 HRNB 中, MYCN 基因组的扩增与患者的不良预后密切相关。然而, 由于 MYCN 的扩增仅发生在 40% 的 HRNB 中, 端粒异常和其他表观遗传改变可能在该疾病亚型的其余 60% 中发挥重要作用。除了 MYCN 扩增外, 在 HRNB 中还检测到其他节段性染色体畸变, 包括 1p 缺失、11q 缺失和 17q 增加。分别在二分之一和三分之一的 NB 病例中观察到染色体 17q 的增加和染色体 1p 的丢失, 并且与患者的不良预后相关[35]。在大约三分之一的 NB 肿瘤中也观察到 11q 的丢失, 并且是预后不良的标志。在 NB 中, 端粒通常由端粒酶激活维持, 这会导致 MYCN 扩增(MYCN 转录激活 TERT 基因)、TERT 重排或 TERT 启动子中的体细胞突变[23]。在 ATRX 失活和 ATRX 野生型 ALT 激活的神经母细胞瘤中, 都检测到端粒延长, 这与非 MYCN 扩增的神经母细胞瘤预后不良有关[36]。

最近的全基因组和外显子组测序研究表明, 约 25% 的高危神经母细胞瘤的 TERT 基因座附近存在结构重排, 约 10% 的高危神经母细胞瘤的染色质重塑基因 ATRX 存在大规模结构变异(SV) [37]。在神经母细胞瘤中发现的这四种最常见的基因组改变中, 有三种是基于激活端粒维持机制(TMM)。MYCN 扩增或 TERT 重排的肿瘤通过诱导 TERT mRNA 激活端粒酶表达, 而 ATRX 的缺失与 ALT 表型有关。MYCN 的基因组扩增、TERT 基因组重排和 ATRX 的丢失几乎总是互斥的事件, 表明这些机制途径之间存在功能冗余。端粒维持越来越被认为是高危神经母细胞瘤的关键。然而, 已经描述了具有高端粒含量(TC)的神经母细胞瘤细胞系, 并且由于缺少 TMM(称为越来越短的端粒(EST)表型)而持续缩短端粒, 并且对原发性患者肿瘤的分析表明 EST 占高风险患者肿瘤的 10% 以上[18]。在 HRNB 中, RAS 和 P53 通路的突变更有利于 TMM 的激活, 但在 TMM 阴性的低风险 NB 中将失去它们的作用。端粒酶阳性的神经母细胞瘤主要诊断于 18 个月以上的儿童, 具有快速生长和高度侵袭性的临床特征。相比之下, ALT 阳性的 NB 肿瘤主要影响青少年和年轻成人患者, 其特点是慢性起病但稳步发展, 两者的预后皆不良[38]。

为什么与其他癌症相比, HRNB 与端粒维持有如此强烈的联系? 到目前为止的研究表明, 有这样几种的可能性: 首先, 与其他癌症相比, 许多 NB 肿瘤表现出端粒修剪的证据[39], 这是一种由干细胞和生殖细胞利用的快速端粒缩短途径, 在高端粒酶活性的情况下实现端粒的动态平衡[40]。其次, 新出现的证据表明, HRNB 肿瘤具有高水平的 DNA 损伤, 并表现出与氧化性 DNA 损伤一致的突变特征[21]。如果 HRNB 不能激活 TMM, 并且不能对抗端粒缩短机制, 那么神经母细胞瘤自发消退的可能性会更大。这一命题与低风险组的病程以及这些肿瘤中缺乏 TMM 是一致的。

总之, 这些研究表明, 端粒维持机制的激活本质上决定了神经母细胞瘤的生物学行为, 从而为这种恶性肿瘤的临床表型提供了分类的基础[17]。以前的治疗尝试的主要局限性是关于端粒酶全酶的超微结构分辨的信息不足, 以及对 ALT 的确切机制缺乏了解。2020 年跨大西洋神经母细胞瘤 NDDS (新药开发战略) 倡议中所指出的, 目前没有与端粒维持特别相关的药物(例如, 靶向端粒酶、ALT、TERT 或 ATRX 的药物)正在进行临床试验[41], 靶向端粒酶治疗癌细胞时对正常组织和细胞的毒性不可忽略。但在近期, 靶向端粒的化合物颇具前景的临床前数据开始出现, 这些药物的进一步开发显然是值得的[42]。近两年来国内外学者陆续在确定端粒酶激活和 ALT 在儿童癌症中的患病率和临床相关性方面取得了一些进展, 初步提出了几种治疗方法及预想, 如核苷类似物、寡核苷酸、小分子抑制剂、G-四链稳定剂、免疫治疗、基因治疗、影响端粒或端粒酶相关蛋白的分子、微生物来源的药物和许多其他方法, 以通过靶向端粒酶来达到抑制癌细胞的生长作用[43]。

4. 总结

TMM 在癌症发展中起着至关重要的作用, 是抗癌治疗中新兴的“靶点”。神经母细胞瘤作为严重威胁儿童健康的恶性肿瘤, 与 TMM 有着比其他肿瘤更紧密的联系。针对 NB 的端粒靶向疗法和已经开发的研究 NB 端粒的工具, 可以为在其他儿童癌症中开展类似研究提供范例和方向。端粒生物学已经涉及

到人类的大部分疾病过程, 如生殖、衰老、癌症、心血管疾病、各种遗传综合征, 甚至精神健康疾病中[44]。未来对于深入研究端粒机制, 不仅造福于神经母细胞瘤等癌症患者, 也将助力于人类健康生活乃至破译长寿密码, 前景广阔。

参考文献

- [1] 朱呈光, 贺湘玲, 汤止戈, 等. 44 例儿童神经母细胞瘤临床分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(11): 1193-1197.
- [2] Chung, C., Boterberg, T., Lucas, J., *et al.* (2021) Neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer*, **68**, e28473. <https://doi.org/10.1002/pbc.28473>
- [3] Brodeur, G.M. (2003) Neuroblastoma: Biological Insights into a Clinical Enigma. *Nature Reviews Cancer*, **3**, 203-216. <https://doi.org/10.1038/nrc1014>
- [4] Matthay, K.K., Maris, J.M., Schleiermacher, G., *et al.* (2016) Neuroblastoma. *Nature Reviews Disease Primers*, **2**, 16078. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.78>
- [5] 鲁冬芳, 陈希, 舒强. 高危神经母细胞瘤分子遗传学特征研究进展[J]. 中华小儿外科杂志, 2021, 42(1): 81-7.
- [6] 韩森, 马旭, 方健. 端粒与端粒酶研究在肺癌中的临床应用前景与挑战[J]. 中国肺癌杂志, 2021, 24(1): 25-30.
- [7] Shay, J.W. and Wright, W.E. (2019) Telomeres and Telomerase: Three Decades of Progress. *Nature Reviews Genetics*, **20**, 299-309. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0099-1>
- [8] Robinson, N.J. and Schieman, W.P. (2022) Telomerase in Cancer: Function, Regulation, and Clinical Translation. *Cancers (Basel)*, **14**, 201. <https://doi.org/10.3390/cancers14030808>
- [9] Dogan, F. and Forsyth, N.R. (2021) Telomerase Regulation: A Role for Epigenetics. *Cancers (Basel)*, **13**, 1213. <https://doi.org/10.3390/cancers13061213>
- [10] Kim, N.W., Piatyszek, M.A., Prowse, K.R., *et al.* (1994) Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer. *Science*, **266**, 2011-2015. <https://doi.org/10.1126/science.7605428>
- [11] Bejarano, L., Bosso, G., Louzame, J., *et al.* (2019) Multiple Cancer Pathways Regulate Telomere Protection. *EMBO Molecular Medicine*, **11**, e10292. <https://doi.org/10.15252/emmm.201910292>
- [12] Varela, E. and Blasco, M.A. (2009) Nobel Prize in Physiology or Medicine: Telomeres and Telomerase. *Oncogene*, **29**, 1561-1565. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.15>
- [13] Smith, L., Luchini, C., Demurtas, J., *et al.* (2019) Telomere Length and Health Outcomes: An Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-Analyses of Observational Studies. *Ageing Research Reviews*, **51**, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.02.003>
- [14] Hägg, S., Zhan, Y., Karlsson, R., *et al.* (2017) Short Telomere Length Is Associated with Impaired Cognitive Performance in European Ancestry Cohorts. *Translational Psychiatry*, **7**, e1100. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.73>
- [15] Haycock, P.C., Burgess, S., Nounu, A., *et al.* (2017) Association between Telomere Length and Risk of Cancer and Non-Neoplastic Diseases: A Mendelian Randomization Study. *JAMA Oncology*, **3**, 636-651. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.5945>
- [16] Zachek, C.M., Miller, M.D., Hsu, C., *et al.* (2015) Children's Cancer and Environmental Exposures: Professional Attitudes and Practices. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, **37**, 491-497. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000000416>
- [17] Ackermann, S., Cartolano, M., Hero, B., *et al.* (2018) A Mechanistic Classification of Clinical Phenotypes in Neuroblastoma. *Science*, **362**, 1165-1170. <https://doi.org/10.1126/science.aat6768>
- [18] Dagg, R.A., Pickett, H.A., Neumann, A.A., *et al.* (2017) Extensive Proliferation of Human Cancer Cells with Ever-Shorter Telomeres. *Cell Reports*, **19**, 2544-2556. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.05.087>
- [19] Lin, S.Y. and Elledge, S.J. (2003) Multiple Tumor Suppressor Pathways Negatively Regulate Telomerase. *Cell*, **113**, 881-889. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00430-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00430-6)
- [20] Bell, R.J., Rube, H.T., Xavier-Magalhães, A., *et al.* (2016) Understanding TERT Promoter Mutations: A Common Path to Immortality. *Molecular Cancer Research*, **14**, 315-323. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-16-0003>
- [21] Brady, S.W., Liu, Y., Ma, X., *et al.* (2020) Pan-Neuroblastoma Analysis Reveals Age- and Signature-Associated Driver Alterations. *Nature Communications*, **11**, 5183. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18987-4>
- [22] Kang, J.U., Koo, S.H., Kwon, K.C., *et al.* (2008) Gain at Chromosomal Region 5p15.33, Containing TERT, Is the Most Frequent Genetic Event in Early Stages of Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **182**, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2007.12.004>
- [23] Peifer, M., Hertwig, F., Roels, F., *et al.* (2015) Telomerase Activation by Genomic Rearrangements in High-Risk

- Neuroblastoma. *Nature*, **526**, 700-704. <https://doi.org/10.1038/nature14980>
- [24] Martínez, P. and Blasco, M.A. (2011) Telomeric and Extra-Telomeric Roles for Telomerase and the Telomere-Binding Proteins. *Nature Reviews Cancer*, **11**, 161-176. <https://doi.org/10.1038/nrc3025>
- [25] Saretzki, G. (2014) Extra-Telomeric Functions of Human Telomerase: Cancer, Mitochondria and Oxidative Stress. *Current Pharmaceutical Design*, **20**, 6386-6403. <https://doi.org/10.2174/1381612820666140630095606>
- [26] Koh, C.M., Khattar, E., Leow, S.C., *et al.* (2015) Telomerase Regulates MYC-Driven Oncogenesis Independent of Its Reverse Transcriptase Activity. *Journal of Clinical Investigation*, **125**, 2109-2122. <https://doi.org/10.1172/JCI79134>
- [27] Park, J.I., Venteicher, A.S., Hong, J.Y., *et al.* (2009) Telomerase Modulates Wnt Signalling by Association with Target Gene Chromatin. *Nature*, **460**, 66-72. <https://doi.org/10.1038/nature08137>
- [28] Ghosh, A., Saginc, G., Leow, S.C., *et al.* (2012) Telomerase Directly Regulates NF- κ B-Dependent Transcription. *Nature Cell Biology*, **14**, 1270-1281. <https://doi.org/10.1038/ncb2621>
- [29] Khattar, E. and Tergaonkar, V. (2017) Transcriptional Regulation of Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) by MYC. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **5**, 1. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00001>
- [30] Schaub, F.X., Dhankani, V., Berger, A.C., *et al.* (2018) Pan-Cancer Alterations of the MYC Oncogene and Its Proximal Network across the Cancer Genome Atlas. *Cell Systems*, **6**, 282-300.e2.
- [31] Yu, E.Y., Cheung, N.V. and Lue, N.F. (2022) Connecting Telomere Maintenance and Regulation to the Developmental Origin and Differentiation States of Neuroblastoma Tumor Cells. *Journal of Hematology & Oncology*, **15**, 117. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01337-w>
- [32] Hartlieb, S.A., Sieverling, L., Nadler-Holly, M., *et al.* (2021) Alternative Lengthening of Telomeres in Childhood Neuroblastoma from Genome to Proteome. *Nature Communications*, **12**, 1269. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21247-8>
- [33] Meeser, A., Bartenhagen, C., Werr, L., *et al.* (2022) Reliable Assessment of Telomere Maintenance Mechanisms in Neuroblastoma. *Cell & Bioscience*, **12**, 160. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00896-2>
- [34] Zeineldin, M., Federico, S., Chen, X., *et al.* (2020) MYCN Amplification and ATRX Mutations Are Incompatible in Neuroblastoma. *Nature Communications*, **11**, 913. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14682-6>
- [35] Nakagawara, A., Li, Y., Izumi, H., *et al.* (2018) Neuroblastoma. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, **48**, 214-241. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyx176>
- [36] Ackermann, S. and Fischer, M. (2019) Telomere Maintenance in Pediatric Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 5836. <https://doi.org/10.3390/ijms20235836>
- [37] Koneru, B., Lopez, G., Farooqi, A., *et al.* (2020) Telomere Maintenance Mechanisms Define Clinical Outcome in High-Risk Neuroblastoma. *Cancer Research*, **80**, 2663-2675. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-3068>
- [38] Cheung, N.K., Zhang, J., Lu, C., *et al.* (2012) Association of Age at Diagnosis and Genetic Mutations in Patients with Neuroblastoma. *JAMA*, **307**, 1062-1071. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.228>
- [39] Yu, E.Y., Cheung, I.Y., Feng, Y., *et al.* (2019) Telomere Trimming and DNA Damage as Signatures of High Risk Neuroblastoma. *Neoplasia*, **21**, 689-701. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2019.04.002>
- [40] Rivera, T., Haggblom, C., Cosconati, S., *et al.* (2017) A Balance between Elongation and Trimming Regulates Telomere Stability in Stem Cells. *Nature Structural & Molecular Biology*, **24**, 30-39. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3335>
- [41] Moreno, L., Barone, G., Dubois, S.G., *et al.* (2020) Accelerating Drug Development for Neuroblastoma: Summary of the Second Neuroblastoma Drug Development Strategy forum from Innovative Therapies for Children with Cancer and International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma. *European Journal of Cancer*, **136**, 52-68. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.05.010>
- [42] Roderwieser, A., Sand, F., Walter, E., *et al.* (2019) Telomerase Is a Prognostic Marker of Poor Outcome and a Therapeutic Target in Neuroblastoma. *JCO Precision Oncology*, **3**, 1-20. <https://doi.org/10.1200/PO.19.00072>
- [43] Gomez, D.L., Armando, R.G., Cerrudo, C.S., *et al.* (2016) Telomerase as a Cancer Target. Development of New Molecules. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **16**, 2432-2440. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160212122425>
- [44] Wade, M., Fox, N.A., Zeanah, C.H., *et al.* (2020) Telomere Length and Psychopathology: Specificity and Direction of Effects within the Bucharest Early Intervention Project. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, **59**, 140-148.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2019.02.013>