

肺增生病变 FHIT 基因微卫星不稳定和杂合性丢失的研究

张鋆歆^{袁申} 洪璐^{第一军医大学病理学教研室}^{广东 广州 510515}

摘要 目的 检测 FHIT 基因在肺癌支气管上皮增生病变和肺炎支气管上皮增生病变是否存在差异。试图确定发生真正癌变的癌前病变与肺癌前病变的风险性预测提供实验依据。方法 采用聚合酶链反应银染技术结合二核苷酸(CA)n 重复序列出现多态性评价杂合性丢失。LOH 和微卫星不稳定分析 82 例肺癌增生病变和 57 例肺炎增生病变的 FHIT 基因微卫星位点的 LOH 和 MI 现象。结果 联合检测微卫星位点 D3S1234、D3S1300、D3S1481 和 D3S1313 的 FHIT 基因阳性率 LOH 和 MI 总发生率在肺癌组的各级增生病变均明显大于肺炎组的相应各级增生病变，有显著性差异 ($P < 0.01$)。肺癌组基底细胞增生鳞状上皮化生中 - 中度不典型增生 FHIT 阳性率分别为 33%(4/12) 和 4%(7/13)，0% (7/10)；肺炎组相应增生病变分别为 7%(1/14) 和 2%(2/16)。在肺癌组 4 个位点的 FHIT 阳性率比较分别为 41%(34/82)、37%(30/82)、38%(31/82)、34%(28/82)，无显著性差异 ($P > 0.05$)。4 个微卫星位点在肺癌增生组的 LOH 发生率均明显大于 MI 发生率 ($P < 0.01$)。结论 FHIT 基因的 LOH 现象普遍存在于癌旁支气管上皮各级增生病变中，明显高于肺炎支气管上皮增生病变，表明肺癌前病变确实存在差异。据此结果为 FHIT 基因作为判断真正癌前病变的检测指标提供了实验依据。

关键词 增生病变、脆弱性组氨酸三联体、杂合性丢失、微卫星不稳定

中图分类号 R734.2 文献标识码 A 文章编号 1000-2588(2003)04-0313-05

Microsatellite instability and loss of heterozygosity of fragile histidine triad gene in lung hyperplastic lesions

ZHANG Jun-xin, SHEN Hong

Department of Pathology, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To ascertain whether there is any difference in the hyperplastic lesions in the bronchial endothelia between patients with lung cancer and those with pneumonia, so as to find reliable molecular marker for early diagnosis of "genuine" preneoplastic lesions. Methods With PCR-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis and silver-staining, 82 specimens of bronchial hyperplastic lesions obtained from patients with squamous cell carcinoma (SCC) and 57 matched epithelial lesion specimens obtained from patients with pneumonia were examined for loss of heterozygosity (LOH) and microsatellite instability (MI) of fragile histidine triad (FHIT) gene. Results Allelic losses of FHIT were common in hyperplastic lesions from patients with SCC, and the frequencies of LOH and MI of the 4 microsatellite sites, D3S1234, D3S1300, D3S1481, and D3S1313 were significantly higher in hyperplastic lesions from SCC patients than in those from pneumonia patients ($P < 0.01$). The frequencies of LOH and MI of FHIT gene in cancerous and noncancerous squamous metaplasia were 54% (7/13) and 12% (2/16) respectively, and were 70% (7/10) and 18% (2/8) respectively in cancerous and noncancerous mild to moderately dysplastic lesions. No significant difference was observed between the frequencies of D3S1234, D3S1300, D3S1481, and D3S1313 in cancerous hyperplastic lesions, which were 41% (34/82), 37% (30/82), 38% (31/82), 34% (28/82), respectively ($P > 0.05$). Conclusion Hyperplastic lesions showed higher frequency of LOH at the 4 microsatellite sites than MI ($P < 0.01$). The fact that LOH of FHIT is prevalent in hyperplastic lesions in SCC patients but rare in pneumonia patients indicates the significant difference between cancerous and noncancerous hyperplastic lesions. LOH of FHIT may be an early event in the development of squamous cell carcinoma in the lungs and crucial in the early stage of carcinogenesis, validating the use of FHIT as a molecular marker to identify "genuine" preneoplastic lesions.

Key words: hyperplastic lesions, lung; fragile histidine triad gene; loss of heterozygosity; microsatellite instability

到目前为止肺癌前病变与肺癌的关系越来越复杂，究竟哪些癌前病变会发展为浸润癌，哪些是发生

收稿日期 2002-07-16

基金项目 广东省卫生厅“五个一”科教兴医工程重点项目 深圳卫[1996]186号

Key Project for Promoting Healthcare through Science and Education sponsored by Guangdong Provincial Health Bureau

作者简介 张鋆歆 970-女，陕西西安人，第一军医大学在读博士生，主治医师，电话 20-61648227

真正癌变的癌前病变，大量肺癌前病变分子水平方面的研究表明，癌前病变存在多基因的损伤，其中抑癌基因的失活在肺癌发生的早期阶段所起的作用尤为突出。近年来发现 p53、B 基因和 p16 基因外肿瘤候选抑制基因脆弱性组氨酸三联体（fragile histidine triad, FHIT）跨越位于 3p14.2 区域的 FRA3B 脆性位点。¹ 目前已知在肺癌前病变发生过程中，FHIT 基因及其产物的改变是临床所能检测到的最早频率最

高的基因事件在癌变发生中的作用是否可以作为早期肺癌的检测指标之一。是否可以作为分子标记物来确定发生真正癌变的癌前病变有待进一步研究。因此本实验采用 PCR- 杂合性丢失 loss of heterozygosity, LOH 染色技术检测癌性增生病变和非癌增生病变的 FHIT 的 LOH 现象。

1 材料与方法

1.1 临床标本

所用标本来自山西省肿瘤医院和第一军医大学南方医院病理科 1999 年 1 月 ~2001 年 11 月手术切除的肺大体标本包括鳞状细胞癌 230 例和炎性切除标本主要包括肺炎性假瘤、肺结核、支气管扩张症等 130 例。将 360 例 1260 个蜡块进行切片 HE 染色后在显微镜下观察寻找各级增生病变，分别为正常支气管上皮基底细胞增生、鳞状上皮化生、轻 - 中度不典型增生、重度不典型增生 - 原位癌。

将筛选出的病变分为 2 大组：癌旁增生病变组（癌组）和非癌增生病变组（非癌组）。形态学分组由 2 名病理专家阅片。

1.2 组织切片 DNA 的制备

对各级增生病变和癌组织进行微切割，即在 Narishige 拉制器上将直径 0.5mm 空心玻璃管拉制成用于切割和吸取组织细胞的玻璃针。在 Olympus 显微镜下对不封片 7 滤厚的石蜡切片寻找病变组织。用切割玻璃针将病变组织与周围组织分割开，再用吸取针吸取组织。采用配制的 DNA 裂解液，消化 3 h 后，煮沸 8~10 min，灭活蛋白酶 K，离心取上清，加酚氯仿抽提，无水乙醇沉淀 DNA，室温干燥，加 50 滤 TE 溶液，经紫外分光光度计 260 nm 定量后，-20℃ 储存备用。

1.3 引物设计及合成

引物序列由 GenBank 提供，由上海博亚生物技术有限公司合成。

表 1 PCR 中引物的序列

Tab.1 Sequences of the primers used in PCR

Locus	Primer sequence	Product size(bp)	Annealing temperature(℃)
p1(D3S1234)	5'-CCTGTGAGACAAAGCAAGAC-3'	99-100	60
	5'-GACATTAGGCACAGGGCTAA-3'		
p2(D3S1300)	5'-GCCAATTCCCCAGATG-3'	237	56
	5'-AGCTCACATTCTAGTCAGCCT-3'		
P3(D3S1481)	5'-GATGCATATTGTTAGTCC-3'	92	54
	5'-ATTATAACCTCTTGTAAC-3'		
P4(D3S1313)	5'-CTTGACCCAATTGCAAC-3' 5'-CTTCAACAGGGAACTAGGG3-3'	205	54

1.4 PCR 扩增

反应容积为 50 μl，含模板 DNA 1 μl，aqDAN 聚合酶缓冲液 5 μl，5 mmol/L MgCl₂，5 mmol/L dNTPs，0.5 pmol 上游引物及 TaqDAN 聚合酶 1 U。反应条件：94℃ 30 s，40 个循环，每循环 94℃ 30 s，50℃ 1 min，72℃ 1 min，最后 72℃ 7 min。

1.5 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳

配制 12% 的变性聚丙烯酰胺凝胶，1% 的丙烯酰胺，0.5% 过硫酸胺，1% TEMED，8 mmol/L 尿素，加双蒸水，灌胶并插好梳子，待胶凝固后，加入 1% BE 1000 ml 于上下两电泳槽里，用 1% BE 冲洗加样孔，样品点样，0.5 μl PCR 产物加等体积的变性上样液，20 V 电压下进行电泳，待指示剂迁移到合适的位置停止电泳。

1.6 染色及结果判断

银染参照文献，将凝胶置于固定液中，摇动 30 min，取出固定液，加入双蒸水漂洗 5 min，然后用新鲜配制的硝酸银染色液染色 30 min，漂洗后。

加入显色液直到条带清楚为止。结果判断：同一个体的正常肺组织或淋巴结比较，若某一等位基因的主要条带消失或相对密度减少 50% 以上，则可判断为 LOH 阳性；如果肿瘤组织中出现正常对照没有的带型，则称为微卫星不稳定 microsatellite instability，MI。

1.7 统计学处理

应用 SPSS 10.0 软件进行字检验。

2 结果

2.1 分级结果

癌性增生病变组分为 6 个级别：正常上皮、基底细胞增生、鳞状上皮化生、轻度 - 中度不典型增生、重度不典型增生 - 原位癌、浸润性鳞状细胞癌。非癌增生病变组分为 4 个级别：正常上皮、基底细胞增生、鳞状上皮化生、轻度 - 中度不典型增生。

2.2 癌性增生病变组和非癌增生病变组

FHIT 基因 D3S1234、D3S1300、D3S1481 和 D3S1313 微卫星位点的 LOH 和 MI 结果。

2.2.1 两组的 Fhit 基因微卫星位点 LOH 和 MI 图谱

1尧 为同一病例袁尧 为同一病例袁尧 为同一病例袁

7条为同一病例，共0条分别为同一病例，其中1条为同

DEPARTMENT OF DEFENSE INTELLIGENCE INFORMATION SYSTEMS

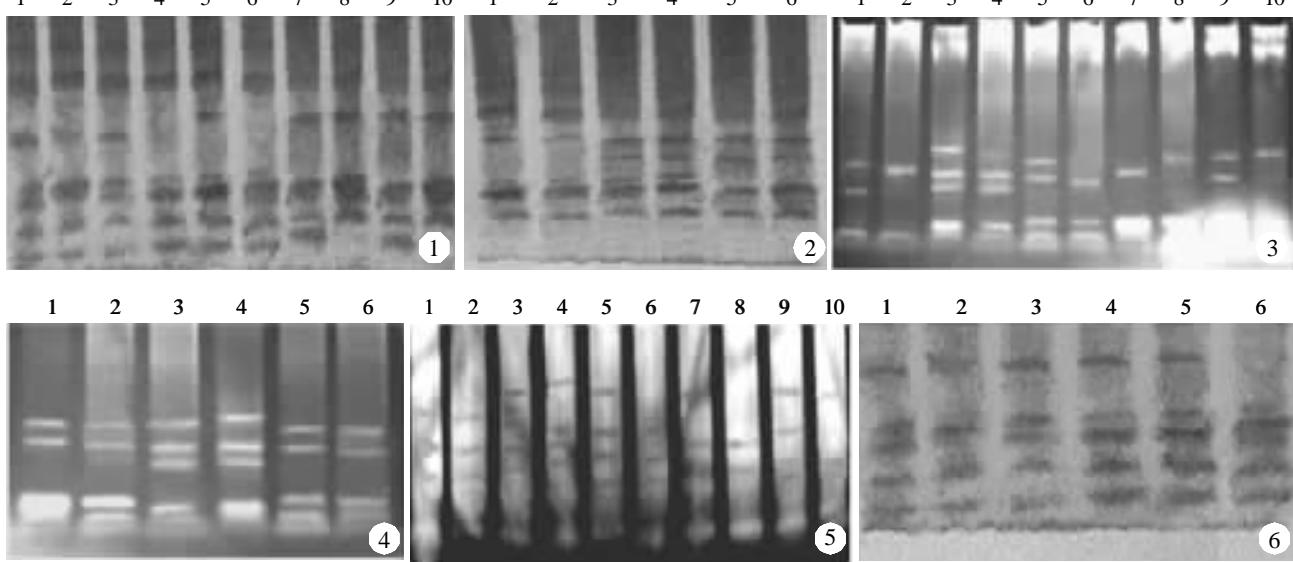


图 1 癌性增生组 D3S1234 位点图谱

Fig.1 Electrophoresis of D3S1234 in cancerous hyperplastic lesions in the lung Lanes4,6,8,10:LOH(+)

图2 非癌增生组 D3S1234 位点图谱

Fig.2 Electrophoresis of D3S1234 in non-cancerous hyperplastic lesions in the lung Lanes 1-6:LOH(-)

图 3 癌性增生组 D3S1300 位点图谱

Fig.3 Electrophoresis of D3S1300 in cancerous hyperplastic lesions in the lung Lanes 2,4,6,10: LOH(+); Lane 8: MI(+) (continued)

图 4 非癌增生组 D3S1300 位点图谱

Fig.4 Electrophoresis of D3S1300 in non-cancerous hyperplastic lesions in the lung Lanes 1-6: LOH(-)

图 5 癌性增生组 D3S1481 位点图谱

Lane4:MI(+);Lanes6,8,10:LOH(+)

图 6 非癌增生组 D3S1481 位点图谱

2.2.2 癌性增生组 FHIT 基因 LOH 和 MI 发生率 微卫星位点 D3S1234>D3S1300>D3S1481>D3S1313 在癌性增生组的 LOH 发生率均明显大于 MI 发生率，分别为 32% (26/82)>10% (8/82)>8% (22/282)>0% (7/82)。

28%(23/82)>10%(8/82)>9(24/82)>5(4/82) 4 个位点联合检测的 LOH 发生率为 52%(43/82) 明显大于 MI 发生率 22%(18/82)(P<0.01) 结果见表 2

表 2 癌性增生病变组 FHIT 基因 LOH 和 MI 发生率(%)

Tab.2 Frequency of LOH and ML of EHT gene in patients with cancerous hyperplastic lesions in the lung.

Group	n	P1		P2		P3		P4		P1/P2/P3/P4	
		LOH	MI	LOH	MI	LOH	MI	LOH	MI	LOH	MI
玉	16	6(2)	0	0	6(1)	0	6(1)	0	0	6(2)	6(2)
域	12	17(2)	17(2)	25(3)	0	17(2)	8(1)	17(2)	0	25(3)	17(2)
芋	13	23(3)	8(1)	23(3)	8(1)	38(5)	8(1)	23(3)	8(1)	54(7)	23(3)
郁	10	50(5)	10(1)	20(2)	10(2)	50(5)	10(1)	40(4)	0	70(7)	20(2)
吁	11	55(6)	9(1)	27(3)	18(2)	36(4)	18(2)	27(3)	9(1)	73(8)	27(3)
	20	40(8)	15(3)	60(12)	10(2)	35(7)	10(2)	60(12)	10(2)	80(16)	30(6)
TotalNo	82	32(26)	10(8)	28(23)	9(7)	28(23)	10(8)	29(24)	5(4)	52(43)	22(18)
LOH:MI		P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.01	

Figures in the brackets are total number of positive samples; P1-4: Frequencies of D3S1234, D3S1300, D3S1481, and D3S1313 respectively; EHIT: Fragile histidine triad.

2.2.3 两组 FHIT 基因的 LOH 和 MI 总发生率 联合检测微卫星位点 D3S1234、D3S1300、D3S1481 和 D3S1313 的 FHIT 基因阳性率和 MI 总发生率。癌性组的各级增生病变均明显大于非癌性组的相应各级增生病变，有显著性差异 $P < 0.01$ 。在癌性增生病变组中，个位

点的 FHIT 阳性率比较袁分别为 41% (33/82) 和 7% (30/82)， $P < 0.01$ 。袁无显著性差异 $P > 0.05$ 。另外癌性增生组玉、芋级病变 FHIT 阳性率比较玉、域、芋袁存在显著性差异 $P < 0.01$ 。袁郁~遇级病变比较无显著性差异 $P > 0.05$ 。结果见表 3。

表 3 癌性增生病变组和非癌性增生病变组的 FHIT 基因阳性率(LOH 和 MI 总发生率)

Tab.3 Comparison of LOH and MI frequency of FHIT gene between patients with cancerous and non-cancerous hyperplastic lesions in the lung

Group	n		P1		P2		P3		P4		P1+P2+P3+P4		P1/P2/P3/P4		P1/P2/P3/P4	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
玉	16	16	6(2)	0	6(1)	0	6(1)	0	0	0	0	0	19(3)	0	P<0.01	
域	12	14	33(4)	7(1)	25(3)	7(1)	25(3)	0	17(2)	0	25(2)	0	33(4)	7(1)	P<0.01	
芋	13	16	31(4)	12(2)	31(4)	12(2)	46(6)	6(1)	31(4)	6(1)	8(1)	6(1)	54(7) [#]	12(2)	P<0.01	
郁	10	11	60(6)	18(2)	30(3)	9(1)	60(6)	9(1)	40(4)	0	20(2)	0	70(7)	18(2)	P<0.01	
吁	11		55(6)		45(5)		55(6)		36(4)		18(2)		81(9)			
	20		55(11)		70(14)		45(9)		70(14)		20(4)		85(17)			
TotalNo	82		40(33)		37(30)		38(31)		34(28)*							

* $P > 0.05$ vs frequency of LOH and MI at the 4 loci, p1, p2, p3, p4 (FHIT) in cancerous lesions; [#] $P < 0.01$ vs frequency of LOH and MI (FHIT) in cancerous lesions of grades 玉、域 and 芋; * $P > 0.05$ vs frequency of LOH and MI (FHIT) in cancerous lesions of grades 郁、吁 and 遇

3 讨论

临床资料表明袁在肺癌前病变只有 11% 的中度不典型增生和 9%~46% 的重度不典型增生和原位癌向浸润癌发展。病理形态学确定的癌前病变存在差异。那么究竟哪些是发生真正癌变的癌前病变呢？凭借常规病理诊断和 DNA 倍体测定是无法区分的。迄今为止袁有关肺癌前病变分子水平方面的研究报道主要集中在 3 号染色体 3p21 和 p25 及 p14.2 区域。其中 FHIT 基因的改变是目前已知在肺癌前病变发生最早频率最高的基因事件。Ohta 等于 1996 年通过定位克隆的方法分离鉴定袁 FHIT 基因是一种候选抑癌基因袁位于人染色体 3p14.2 位点。该基因在多种肿瘤组织和细胞系如消化道癌、胃癌、乳癌、头颈癌和肺癌中都广泛地存在同源缺失。由于该基因的广泛性表达及其在肿瘤中普遍高频缺失袁推断 FHIT 的缺失或功能丧失与肿瘤的发生和发展存在某种必然的联系。也有研究对它在肿瘤中的作用提出一些质疑袁认为 FHIT 的改变是非肿瘤特异性的。总之袁目前对 FHIT 基因是否为一抑癌基因仍有一些争议。因此我们收集手术切除的肺大体标本袁分为鳞状细胞癌切除标本和炎性切除标本 2 组袁分别寻找各级增生病变。在此分组设计的基础上袁确定 FHIT 基因在 2 组增生病变中是否存在差异。袁试图为临床病理诊断真正癌变的癌前病变提供对癌前病变风险性进行预测袁提供 FHIT 能否作为分子标记物的可靠实验依据。

迄今为止的研究表明袁肿瘤中 FHIT 基因罕见点突变袁主要表现为一个或数个外显子缺失。袁本实验采用的微卫星位点 D3S1234、D3S1300、D3S1481 和

D3S1313 位于外显子 4~6 之间袁是该基因频发缺失的集中位点。袁我们的结果显示 4 个微卫星位点在各级增生病变以 LOH 现象为主袁 MI 的发生率较低。袁表明 LOH 是肺癌前病变 FHIT 基因功能失活的主要方式。袁各级增生病变的 4 个微卫星位点的 LOH 和 MI 总发生率袁 FHIT 阳性率袁均明显高于相对应的炎性各级增生病变袁有显著性差异 $P < 0.01$ 。袁 4 个微卫星位点的 FHIT 阳性率间比较无明显差别 $P > 0.05$ 。袁但联合应用 4 个微卫星位点检测出的阳性率袁比单个位点的阳性率有明显提高袁其中癌旁基底细胞增生病变的 FHIT 阳性率为 33% (4/12)。袁鳞状上皮化生为 54% (7/13)。袁 - 中度不典型增生为 70% (7/10)。袁相比之下对应的炎性各级增生病变的发生率分别为 7% (1/14)、2% (2/16) 和 18% (2/8)。袁明显低于癌性各级增生病变袁表明临床病理诊断病变程度相同的癌前病变是不相同的袁肺癌前病变确实存在差异。袁 Kohno 等通过研究肺鳞状细胞癌和肺腺癌旁的不典型增生病变发现袁具有染色体 3p 和 p53 的杂合性缺失和 p53 基因突变是恶性转化前所具有的普遍特征。袁因此他们设想具有这些基因改变的不典型增生病变可被认为是真正的癌前病变。袁大量的研究表明肺癌前病变存在多基因的损伤袁变过程是多步骤、多因素综合作用的结果袁不是单个基因而是 2~3 个以上基因相互协同作用的结果。袁因此我们通过分析 FHIT 基因 LOH 和 MI 总发生率在 2 组增生病变中的差异袁判断 FHIT 是肺癌发生过程中的关键基因之一。袁同时也为临床的早期诊断袁确定真正癌变的癌前病变提供了实验依据。袁但是将 FHIT 基因作为理想的检测指标应用于临床病

理诊断袁还需要扩大临床例数检测袁炎性增生组的阳性和阴性病例进行长期的随访观察遥

在癌性组的各级增生病变中袁从正常的支气管上皮基底细胞增生到鳞状上皮化生到轻 - 中度不典型增生病变 4 个微卫星位点的 FHT 基因阳性检出率逐渐增高 <0.01 而轻 - 中度不典型增生与重度 - 原位癌和鳞癌 3 组比较无显著性差异 >0.05 表明 FHT 基因的改变与肺癌发生的早期阶段密切相关遥鳞状细胞癌 FHT 基因阳性检出率为 85% 袁有关文献报道的发生率相近⁵我们在癌旁的 16 例正常支气管上皮检测到 2 例发生 D3S1234 位点 LOH 袁例同时出现 D3S1300 和 D3S1481 位点 MI 现象遥癌旁基底细胞增生病变的 LOH 和 MI 总检出率为 33% (4/12) 遥而 16 例炎性组正常支气管上皮没有发生任何位点的丢失现象袁 4 例炎性组基底细胞增生病变只 1 例发生 D3S1234 和 D3S1300 位点的 LOH 遥 Ozzi 等发现鳞状上皮化生病变中 Fhit 蛋白水平略低于正常上皮 3% vs 100% 袁认为肺癌前期的 Fhit 蛋白丢失与 p53 蛋白过度表达相比袁是发生频率更高和更早的独立事件⁶本研究在癌旁正常支气管上皮和基底细胞增生病变中检测到 FHT 基因 LOH 袁比有关报道 FHT 基因表达产物异常出现的时相还早袁由此我们认为病理常规诊断的癌前病变已经不能满足肺癌的早期临床诊断的实际需要遥形态结构貌似正常的支气管上皮和基底细胞增生却发生了 FHT 基因的丢失现象袁不能排除癌前病变的可能遥以往有关实验也曾报道⁷袁不是所有发生浸润性鳞状细胞癌的病例都经过不典型增生等形态学改变袁可以从形态正常的上皮直接发展为浸润癌遥因此对形态正常的 FHT 基因阳性病例进行随访观察显得尤为重要遥

参考文献院

- 咱暂 Sozzi G, Pastorino U, Moiraghi L, et al. Loss of FHT function in lung cancer and preinvasive bronchial lesions. *Cancer Res*, 1998, 58:5032-7.
- 咱暂 Wistuba II, Behrens C, Virmani AK, et al. High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allel loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res*,

- 2000, 60(7):1949-60.
- 咱暂 谷志远. 现代医学分子生物学. 北京: 军医出版社, 1998. 445-50.
- 咱暂 Li M, Schoenberg MP, Scicchitano M, et al. Molecular detection of primary bladder cancer by microsatellite analysis. *Science*, 1996, 271(2):659-62.
- 咱暂 Yen HC, Cairns P, Schoenberg MP, et al. Novel suppressor loci on chromosome 14q in primary bladder cancer. *Cancer Res*, 1995, 55(15):3246-49.
- 咱暂 Venmans BJ, van Boxem TJ, Smit EF, et al. Outcome of bronchial carcinoma in situ. *Chest*, 2000, 117(6):1572-6.
- 咱暂 Uematsu K, Yoshimura A, Gemma A, et al. Aberrations in the fragile histidine triad (FHT) gene in idiopathic pulmonary fibrosis. *Cancer Res*, 2001, 61(23):8527-33.
- 咱暂 Ohta M, Inoue H, Cottrell MG, et al. The FHT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated (3; 8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancer. *Cell*, 1996, 84:587-92.
- 咱暂 Tokuchi Y, Kobayashi Y, Hayashi S, et al. Abnormal FHT transcripts found in both lung cancer and normal lung tissue. *Genes Chromosomes Cancer*, 1999, 24(2):105-11.
- 咱0暂 Croce CM, Sozzi G, Humbner K. Role of FHT in human cancer. *J Clin Oncol*, 1999, 17(5):1618-24.
- 咱1暂 Nelson HH, Wiencke JK, Gunn L, et al. Chromosome 3p14 alterations in lung cancer: evidence that FHT exon deletion is a target of tobacco carcinogens and asbestos. *Cancer Res*, 1998, 58(9): 1804-7.
- 咱2暂 Corbin S, Neilly ME, Espinosa R, et al. Identification of unstable sequences within the common fragile site at 3p14.2: implications for the mechanism of deletions within fragile histidine triad gene/common fragile site at 3p14.2 in tumors. *Cancer Res*, 2002, 62 (12):3477-84.
- 咱3暂 Garinis GA, Gorgoulis VG, Mariatos G, et al. Association of allelic loss at the FHT locus and p53 alterations with tumour kinetics and chromosomal instability in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs). *Pathol*, 2001, 193(1):55-65.
- 咱4暂 Kohno C. How many tumor suppressor genes are involved in human lung carcinogenesis? *Carcinogenesis*, 1999, 20(8):1403-10.
- 咱5暂 Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, et al. The FHT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell*, 1996, 85(1):17-26.
- 咱6暂 Fong KM, Biesterveld EJ, Virmani A, et al. FHT and FRA3B 3p14.2 allele loss are common in lung cancer and preneoplastic bronchial lesions and are associated with cancer-related FHT cDNA splicing aberrations. *Cancer Res*, 1997, 57(11):2256-67.

责任编辑 陈金星 审