

Fhit 基因异常表达在原发性喉癌中的意义

The Significance of Abnormal *Fhit* Gene Expression in Primary Laryngocarcinoma

陈晓云^{1,3}/孔维佳¹/谭映霞²/

CHEN Xiao-yun^{1,3}, KONG Wei-jia¹, TAN Ying-xia²,

李贺³/方渭清³

LI He³, FANG Wei-qing³

(1. 同济医学院协和医院耳鼻咽喉科, 湖北武汉 430030; 2. 温州医学院第一附属医院医科所, 浙江温州 325011; 3. 温州医学院第一附属医院耳鼻咽喉科, 浙江温州 325000)

(1. E.N.T Department of Tongji Medical College, Wuhan 430030 Hubei, China; 2. Medical Institute of the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325011, Zhejiang, China; 3. The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

【摘要】背景与目的: 研究原发性喉癌组织中的 *Fhit* 基因的失活情况, 并在 RNA 水平揭示 *Fhit* 基因失活与喉癌生物学行为之间的联系, 及环境因素对 *Fhit* 基因影响。材料与方法: 采用 RT-PCR 技术检测 29 例喉癌组织 *Fhit* 表达情况, 并对异常表达进行测序。比较喉癌组织和非癌组织, 及不同临床病理分级间的 *Fhit* 异常表达, 同时观察环境因素(包括吸烟、饮酒)对 *Fhit* 表达的影响。结果: 29 例喉癌组织中 22 例 *Fhit* 异常表达, 其中 4 例 *Fhit* 基因未表达, 18 例转录本异常。喉癌组织和非癌组织中 *Fhit* 异常表达率差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 各临床病理分级之间的 *Fhit* 异常表达情况差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 吸烟组和非吸烟组 *Fhit* 异常差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: *Fhit* 基因异常表达在喉癌中频繁发生。*Fhit* 基因改变可能作用于喉癌的发生过程, 并不随肿瘤发展而进一步增强。过度吸烟可能通过改变 *Fhit* 基因的结构从而诱导喉肿瘤的形成。

【关键词】喉癌; *Fhit* 基因

中图分类号: R730.43

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2006)04-0284-05

【ABSTRACT】 BACKGROUND & AIM: To investigate the inactivation of *Fhit* gene in primary laryngocarcinoma, to discover the association of *Fhit* gene inactivation and the biological behavior of laryngocarcinoma, and the influence of environmental factors on *Fhit* gene. MATERIAL AND METHODS: RT-PCR was used to determine *Fhit* gene expression in the laryngocarcinoma tissue and peripheral cancer tissue of 29 patients. If abnormal expression of *Fhit* gene was found, further sequencing was performed. We prepared the different profiles of *Fhit* gene expression in cancer tissue and non-cancer tissue, and in various clinical stages of laryngocarcinoma. Furthermore, we studied the effects of environmental factors (e.g. smoking and alcohol intake) on *Fhit* gene expression. RESULTS: Abnormal expression of *Fhit* gene was found in 22/29 cases. Among these, 4 did not express *Fhit* gene, and 18 had abnormal transcription of *Fhit* gene. There was a significant difference of abnormal *Fhit* expression between laryngocarcinoma tissue and non-laryngocarcinoma tissue ($P < 0.01$). However, the abnormal expression of *Fhit* gene did not show significant difference during the different clinical stages of laryngocarcinoma ($P > 0.05$). Between the smoking and non-smoking patients, abnormal expression of *Fhit* showed significant difference ($P < 0.05$). CONCLUSION: Abnormal expression of *Fhit* gene was a common event in laryngocarcinoma. Abnormal *Fhit* gene expression might be associated with oncogenesis of laryngocarcinoma, but did not worsen further with disease progression. Excessive smoking might result in structural change of the *Fhit* gene, and induce the occurrence of tumor.

【KEY WORDS】 laryngeal neoplasms; *Fhit* gene

收稿日期: 2005-06-21; 修订日期: 2005-12-26

基金项目: 温州市科技局科研项目(No. Y2003A032)

作者简介: 陈晓云(1969-), 女, 浙江省苍南人, 副主任医师, 硕士研究生, 研究方向: 头颈部肿瘤和鼻内镜技术。Tel: 86-577-88069329, E-mail: chenxiaoyun2816@sina.com

喉癌是头颈部常见恶性肿瘤,约占全身恶性肿瘤的 5.7%~7.6%^[1],而且有明显增长趋势。虽然近年手术方法不断改进,手术技巧不断完善,但喉癌的致死率仍居高不下,5 年生存率较低。了解喉癌的生物行为,明确喉癌的分子生物学的改变,早期诊断喉癌是临床耳鼻喉科医生努力的方向之一。

抑癌基因失活是喉癌发生的主要机制。*Fhit* (Fragile histidine triad, *Fhit*) 基因是 1996 年由 Ohta 等^[2]克隆的一个假定抑癌基因,包含脆性位点 FRA3B,具有编码组氨酸三联体功能,定位于染色体 3p14.2 区,在多种人类肿瘤组织中 *Fhit* 基因呈现高频率纯合性缺失和异常转录,而且它常常是环境致癌的靶位点^[3]。本文着重研究原发性喉癌组织中的 *Fhit* 基因失活情况,并在 RNA 水平揭示 *Fhit* 基因的失活与喉癌生物行为之间的联系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

随机选择 2002-09~2004-09 在温州医学院附属第一医院耳鼻喉科接受手术治疗喉癌患者共计 29 例,男:女为 27:2,中位年龄为 58 岁,29 例术后均病理证实为鳞状上皮癌,TNM 分级如表 1 所示。每例患者各取二处标本,即瘤体组织和癌旁组织(距肿瘤 1.0 或 1.0 cm 以上),另随机选取声带息肉 8 例,喉炎性组织 5 例。采集病人吸烟和饮酒资料。每年吸烟支数 > 900 支为吸烟组,每年饮白酒量 > 2 400 ml 为饮酒组。

1.2 实验方法

1.2.1 逆转录 PCR (Reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR) 经抽提、沉淀、洗涤后获取 RNA,每一标本经紫外分光仪测 OD 值,将每个标本的 RNA 浓度调整为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 260/280 > 1.8。RT-PCR 的反应体系为 40 μl ,包括 4 \times dNTP 4 μl ,随机引物 2 μl (500 ng), 5 \times Buffer 8 μl , 40 U/ μl RNAout 1.0 μl , 1 mmol/L DTT 2 μl , RNA 7 μl ,加 DEPC 水至 39 μl , 65 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,冰浴 3 min,加 200 U M-MLV 1 μl , 37 $^{\circ}\text{C}$ 若无人 1 h, 70 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 灭活逆转录酶,降温至 4 $^{\circ}\text{C}$ 后, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

PCR (Polymerase Chain reaction) 扩增: 根据文献^[2],设计 β -actin 引物和 *Fhit* 基因引物, β -actin 的产物长度为 500 bp, *Fhit* 的产物长度为 695 bp。

第一轮 PCR: 10 \times buffer 2 μl , 25 mmol/L MgCl_2 1.5 μl , 4 \times dNTP 2 μl , cDNA 2 μl , Taq 酶 1.0 units, 引物 5U2、3D2 各 20 pmol/L, 补水至 20 μl 。扩增条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min \rightarrow 95 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 30 个循环 \rightarrow 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。第二轮 PCR: 将第 1 轮扩增产物稀

释 20 倍后,取 2 μl 进行第 2 轮 PCR 扩增,除引物 5U1、3D1 各 20 pmol/L 外,扩增体系,条件和循环数均同第一轮。

测序分析: 用上游引物 5U1 和荧光素标记的 dNTP 扩增纯化后的 cDNA。取 2.5 μg 标记的扩增产物在 ABI PRISM TM310 Genetic Analyzer 进行自动测序,并将 *Fhit* 基因序列输入该测序仪,与测序结果比较。

1.2.2 免疫组化法检测 *Fhit* 蛋白

本文对 29 例喉癌标本同时进行免疫组化法检测蛋白。

1.2.2.1 试剂 FHIT 多克隆抗体 (美国 ZYMED 公司); SP 试剂盒 (美国 ZYMED 公司); DAB (北京中山公司); 余试剂为国产分析纯。

1.2.2.2 方法 每例标本连续切片 5 张 (0.4 μm), 经二甲苯脱蜡、梯度酒精、抗原修复、滴加 FHIT 多克隆抗体 (1:100), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 二抗处理后滴加辣根酶标记酶卵白素恒温箱孵育 30 min, DAB 显色、染色后胶封片,显微镜下观察结果。每次染色均设空白对照 (PBS 液代替一抗), 用已知阳性组织切片作阳性对照。

1.2.2.3 结果判断 制定染色判定标准: a. 按细胞显色有无及深浅记分: 0 分为细胞无显色; 1 分为浅黄色; 2 分为棕黄色; 3 分为棕褐色。b. 按显色细胞的比例记分: 0 分为显色细胞 < 10%; 1 分为 10%~30% 细胞显色; 2 分为 31%~60% 细胞显色; 3 分为 > 60% 的细胞显色。每例积分 = a \times b。按积分高低分为: 阴性 (-), 积分为 0~2 分; 阳性 (+), 积分 > 3 分。

1.3 统计学方法 统计学处理采用 SPSS 10.0 软件包的 chi-square 检验。

2 结果

2.1 mRNA 表达情况

图 1 为 β -actin 的 PCR 产物电泳图, 图 2 为部分喉癌以及远癌组织的 *Fhit* 基因 PCR 产物的电泳图。表 1、表 2 显示, 29 例喉癌中 4 例无 *Fhit* 基因表达, 18 例 *Fhit* 转录本异常, 测序结果显示: 4 例为仅有外显子 5 缺失, 1 例在外显子 4 和外显子 5 之间插入一个 62 bp 的小片段, 2 例同时有外显子 5 和外显子 8 缺失, 3 例为外显子 5、6、7 缺失, 4 例为外显子 6、7、8 缺失, 4 例为外显子 8 缺失, 未发现点突变的存在。42 例非喉癌组织 (包括 29 例癌旁组织, 8 例声带息肉, 5 例喉炎性病变) 除 1 例声带息肉和 1 例切缘表现转录本异常外, 其余 40 例均表达正常大小的 *Fhit* 基因片段。较之喉癌和非喉癌组织的 *Fhit* 基因异常表达, 二者之间差异有统计学意义。

2.2 *Fhit* 蛋白检测结果



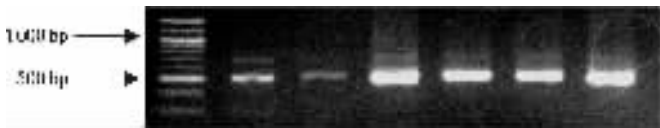
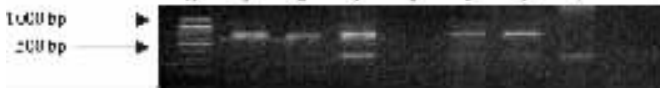
图 1 β -actin 产物电泳图Figure 1 Expression of the β -actin gene

图 2 喉癌组织的 Fhit 产物电泳图

Figure 2 Expression of the *Fhit* gene in laryngocarcinoma by RT-PCR analysis. M: DNA marker; Lane 1, 2: normal transcript 695 bp; Lane 3, 5, 6, 7: Aberrant transcripts; Lane 4: the *Fhit* gene isn't determined

表 1 29例喉癌患者临床病理资料及实验结果

Table 1 The clinicopathologic characteristics and the result of RT-PCR of *Fhit* and immunohistochemistry

Number	S/A	Stage	<i>Fhit</i> Transcripts	Missing exon/insert	<i>Fhit</i> Protein
1	+/-	T ₁ N ₀ M ₀	N		+
2	+/-	T ₂ N ₀ M ₀	At	Exon5	-
3	-/-	T ₁ N ₀ M ₀	At	Exon5、6、7	-
4	+/-	T ₂ N ₀ M ₀	At	Exon8	-
5	+/-	T ₁ N ₀ M ₀	N		+
6	+/+	T ₂ N ₀ M ₀	At	Exon8	+
7	-/-	T ₂ N ₀ M ₀	At	Exon6、7、8	-
8	-/-	T ₁ N ₁ M ₀	ND		-
9	+/-	T ₂ N ₁ M ₀	At	Exon5、6、7	-
10	+/+	T ₃ N ₀ M ₀	N		-
11	-/-	T ₂ N ₁ M ₀	At	Exon6、7、8	-
12	+/+	T ₃ N ₀ M ₀	At	Exon5、6、7	-
13	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	N		+
14	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	At	Exon5	-
15	+/-	T ₃ N ₁ M ₀	ND		-
16	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	At	Exon6、7、8	-
17	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	At	Exon8	+
18	+/-	T ₂ N ₂ M ₀	N		-
19	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	At	Exon5	-
20	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	At	Exon8	-
21	+/+	T ₃ N ₁ M ₀	At	Exon6、7、8	-
22	+/+	T ₄ N ₁ M ₀	N		+
23	+/-	T ₄ N ₁ M ₀	ND		-
24	+/+	T ₃ N ₁ M ₁	At	Exon6、7、8	-
25	-/+	T ₃ N ₁ M ₁	At	Exon5、8	-
26	+/+	T ₃ N ₁ M ₁	N		-
27	+/+	T ₄ N ₁ M ₁	ND		-
28	+/+	T ₄ N ₁ M ₁	At	Exon5、8	-
29	+/+	T ₃ N ₁ M ₁	At	62bp insertion at the exon4、5	-

S, smoking; A, alcohol ND, not determined; N, normal; At, aberrant transcript tumor stage grouping and Lymph node were classified according to "The 1997 International Union Against Cancer Criteria".

表 2 喉癌组织和非癌组织中 Fhit 表达异常的比较

Table 2 Comparison of abnormal expression of *Fhit* between cancer tissue and non-cancer tissue

	Aberrant or not expression	Normal expression	P value
Cancer	22	7	0.000
Non-cancer	2	40	

结果如图 3 所示。29 例喉癌中 6 例 Fhit 蛋白阳性, 23 例 Fhit 蛋白阴性。如表 3 所示, 7 例 Fhit 正常表达中 4 例 Fhit 蛋白阳性, 22 例 Fhit 异常表达中 20 例 Fhit 蛋白阴性, 其中 4 例无表达的病例, Fhit 蛋白为阴性, 说明 Fhit 的表达状态与 Fhit 蛋白表达相关。

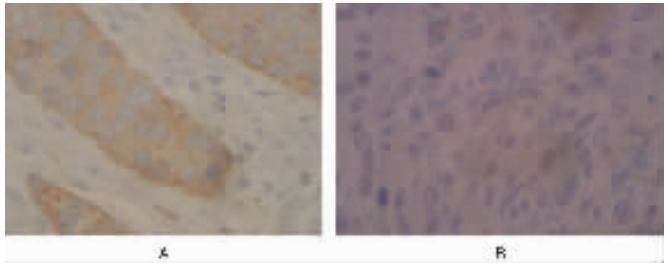
图 3 代表性的 Fhit 蛋白免疫组化图。A: Fhit 蛋白阳性, 喉鳞状细胞癌巢, 胞浆呈棕黄色; B: Fhit 蛋白阴性, 正常喉细胞, 胞浆内未见棕黄色颗粒 ($\times 400$)Figure 3 Representative staining of fragile histidine triad (Fhit) protein. A: Fhit protein is homogeneously positive in laryngocarcinoma; B: Fhit protein is negative in laryngeal cell (original magnification $\times 400$)

表 3 Fhit 蛋白活性与 mRNA 状况之间联系

Table 3 The relationship between *Fhit* protein activity and mRNA express

mRNA express	Fhit activity		P value
	Positive	Negative	
Normal	4	3	$R_s = 0.508$
Aberrant or no	2	20	$P = 0.005$

The *Fhit* immunohistochemical evaluation was performed according to our criteria.

2.3 嗜好烟酒对 Fhit 表达的影响

如表 4 所示, 分别以年吸烟量超过 900 支, 年饮酒量超过 2 400 ml 为标准。本文 24 例强烈嗜烟酒中 19 例 Fhit 表达异常, 5 例不嗜烟酒者中仅 3 例 Fhit 表达异常, 二者之间差异有统计学意义, 而 17 例嗜酒者中 14 例 Fhit 基因异常, 12 例不嗜酒者中 Fhit 表达达 8 例, 提示饮酒与 Fhit 异常无关。

表 4 吸烟、饮酒对喉癌中 Fhit 异常表达的影响

Table 4 Smoking, alcohol intake, and *Fhit* express

Group	Aberrant or not determined	Normal transcript	P value
Heavy smoking	19	5	0.036
Light or no smoking	3	2	
Heavy alcohol	14	3	0.595
Light or no alcohol	8	4	

The grade of smoking is classified by the Brinkman index: heavy, ≥ 900 and light, < 900 per year. The grade of alcohol drinking is classified by alcohol index: heavy, $\geq 2 400$ ml and light, $< 2 300$ per year.

2.4 不同临床病理分级对 Fhit 的影响

分别按肿瘤的临床分级, 细胞的分化, 以及是否伴有淋巴结转移, 统计各组 Fhit 基因的异常表达率, 如表 5 所示, 各组 Fhit 基因的异常表达与肿瘤的分级, 细胞的分化以及淋巴结的转移状况无关。

表 5 不同临床病理分级的喉癌 *Fhit* 表达情况

Table 5 *Fhit* expression profile in different clinicopathologic grade

	Aberrant or not determined	Normal transcript	<i>P</i> value
Stage I	5	2	0.945
II	4	1	
III	8	3	
IV	5	1	
Histologic grade Poorly	10	3	0.825
Moderately	7	3	
well	5	1	
Lymph node status N_0	7	4	0.375
N_1	15	3	

3 讨 论

3.1 喉癌中存在着 *Fhit* 基因的表达异常

Fhit 基因定位于 3p14.2 区, 是组氨酸三联体基因家族成员之一, 若细胞内缺乏功能性 *Fhit* 蛋白, 导致 Ap3A 或类似物的堆积, 刺激 DNA 聚合酶活性, 促进细胞恶性生长形成肿瘤^[3]。实验发现 *Fhit* 基因高效重组并稳定表达后, 本身 *Fhit* 基因缺失的胃癌^[4]、肺癌^[5]、头颈部鳞癌^[6]细胞株均可不同程度地表达 *Fhit* 蛋白, 同时抑制细胞的生长, 诱导细胞凋亡, 改变细胞的周期, 使细胞停留在 S 期。因而认为 *Fhit* 基因具有抑癌作用。

Ohta 等^[2] 和 Sozzi 等^[7] 相继报道在消化道肿瘤、肺癌, Mineta 等^[8] 报道头颈部鳞癌, Campiglio 等^[9] 报道乳腺癌中发现 *Fhit* 基因的表达异常, 主要以外显子缺失为主, 而点突变罕见。富伟能等^[10] 应用 RT-PCR 技术检测 11 例喉癌标本, 发现 72.7% 转录本存在缺失, 经测序证实为外显子缺失, 而且缺失起始部位恰好是外显子的拼接处。

我们采用 RT-PCR 技术检测 29 例喉癌标本中 *Fhit* 的转录本异常情况, 发现 22 例喉癌存在 *Fhit* 基因的表达异常, 其中 4 例 *Fhit* 基因未表达, 18 例的转录本异常, 即 700 bp 处出现目的基因片段, 同时伴有小片段产生。相应的癌旁组织或正常组织中仅 2 例发现 *Fhit* 转录本的异常。说明 *Fhit* 基因异常表达在喉癌中频繁发生。对于转录本异常的样本, 经测序发现 18 例转录本异常中, 外显子 5 缺失者总计 9 例, 外显子 8 缺失者总计 10 例, 而外显子 1~4 缺失者未被发现。我们认为喉癌中 *Fhit* 基因的异常主要集中在编码区外显子的缺失或核苷酸片段的插入, 外显子 5 和 8 是两大热发地点, 因为前者的存在决定 *Fhit* 蛋白的正常翻译, 包含翻译起始的密码子, 它的缺失或插入导致开放阅读框 (ORF) 的缺如或后移, 无法正常启动合成 *Fhit* 蛋白, 而外显子 8 包含了高度保守区 (HIT), 该区产物是 Ap3A 水解酶活性关键。外显子 8 的缺失可引起 Ap3A 的积蓄, 促进肿瘤发生。

本实验同时采用免疫组化技术对 29 例喉癌组织检测 *Fhit* 蛋白活性, 发现 29 例喉癌中 6 例 *Fhit* 蛋白阳性, 23 例 *Fhit* 蛋白阴性, 7 例 *Fhit* 正常表达者中 4 例 *Fhit* 蛋白阳性, 22 例 *Fhit* 异常表达中 20 例 *Fhit* 蛋白阴性, 其中 4 例无表达的病例, *Fhit* 蛋白为阴性, 经相关分析, 存在统计学意义, 说明 *Fhit* 基因表达状态与 *Fhit* 蛋白活性相关。

3.2 *Fhit* 基因的表达异常是喉癌的早期生物学行为

Fhit 基因异常与肿瘤的进展和预后之间的关系, 一直是国内外众多学者争论的要点之一。Sozzi 等^[7] 认为肺非小细胞鳞癌中, *Fhit* 蛋白的阴性率高, 但 *Fhit* 蛋白的表达与肿瘤的临床病理分级无直接联系, 而 Shimeda 等^[11] 则认为 *Fhit* 基因的异常表达与食道癌的进展明显相关, *Fhit* 基因表达减少或不表达者, 有预后不良倾向, 作者同时进行食道癌预后的多因素相关分析, 发现 *Fhit* 基因异常表达并非决定预后的独立性因素。Pareli 等^[12] 对 66 例 TNM 分级为 III 级的头颈部鳞癌进行长达 130 月的随访, 比较 *Fhit* 基因表达异常和正常组的中位生存时间, 发现后者的生存时间明显延长。

我们按照喉癌的 TNM 分级, 肿瘤的细胞分化, 淋巴转移情况进行分组分别统计 *Fhit* 基因的异常表达情况, 发现临床分期 I、II 和 II、IV 之间 *Fhit* 基因异常表达率并无区别, N_0 和 N_1 组 *Fhit* 基因异常表达亦无差异, 说明随着肿瘤的深化, 淋巴结的转移, *Fhit* 基因异常表达并没有进一步增强。*Fhit* 基因异常表达程度并非与肿瘤的生物学的恶性程度成比例。本文还观察不同病理分化肿瘤间的 *Fhit* 基因的异常情况, *Fhit* 基因异常表达程度在中、高分化喉癌和低分化喉癌并无区别。结合 Sozzi 等^[7] 所报告的 *Fhit* 基因的 LOH 在 25 例肺癌原位癌中的出现率为 100%, 而在不典型增生中 LOH 的出现率为 85%。我们认为 *Fhit* 基因异常在肿瘤发生的时候存在并发挥作用, 但并不随肿瘤的发展而进一步增强, *Fhit* 基因的改变可能是喉癌发生的早期分子事件。

本实验还提示 *Fhit* 的异常转录本不是喉癌组织所特有的, 在 42 例非癌组织中有 1 例切缘和 1 例声带息肉组织表现为 *Fhit* 的转录本异常, 该 2 例组织均经 2 次以上常规病理检查完全排除肿瘤的可能, 而且该 2 患者有一惊人相似的生活习性, 该 2 例患者都强烈地嗜好吸烟, > 7 200 支/年。其中该例切缘的 *Fhit* 转录本异常情况与原发肿瘤一致, 均表现为外显子 5、6、7 的缺失, 该患者接受垂直半喉切除术后随访 6 个月出现残喉肿瘤复发, 所以当时的手术切缘可能已出现常规病理检查无法发现的微灶转移, *Fhit* 基因的表达已发生改变。从另一角度说明



Fhit 基因改变是早期分子事件。就该患者而言,较之病理检查, *Fhit* 基因转录本的检测提前 6 个月发现肿瘤的存在,所以 *Fhit* 基因的检测可能较常规病理检查更敏感,可作为早期诊断喉癌的指标之一。尤其在明确手术切缘微灶转移的监测中有更重要的意义。

3.3 *Fhit* 基因是环境致癌源的靶位点

不少研究表明 *Fhit* 基因的正常表达和致癌源所致的损伤有关,比如肺癌、食道癌的吸烟程度与 *Fhit* 的异常表达有关^[7,11], Sozzi 研究了吸烟和 *Fhit* 异常之间的关系,结果表明,51 例嗜烟的肺癌患者中 41 例(80%)存在至少一个位点的 LOH,而非吸烟者中只有 22% 出现,差异具有统计学意义,提示 *Fhit* 基因可能是烟雾致癌作用的靶标。但头颈部鳞癌的研究却未发现这种相关性^[13]。Pateromichelakis 等^[14]发现口腔鳞癌 *Fhit* 的两个微卫星标记物的杂合子缺失与吸烟无关。

喉癌的发生过程中,吸烟、饮酒、HPV 感染是明确的致癌源。喉癌中环境致癌因素如何致癌,而 *Fhit* 是否是致癌源的作用位点呢?喉癌中 *Fhit* 的改变和哪些致癌源相关呢?本文按吸烟量 ≥ 900 支/年,饮酒量(白酒) ≥ 2400 ml/年为标准进行分组,分别比较吸烟组、非吸烟组间和饮酒、非饮酒组间 *Fhit* 异常表达情况。发现吸烟组的 *Fhit* 转录本异常率明显高于非吸烟组,而饮酒、非饮酒组之间 *Fhit* 异常率无明显差异。证实 *Fhit* 基因的表达异常与过度吸烟有关,与组织过度暴露在香烟烟雾的致癌环境有关。而过度吸烟可能通过改变 *Fhit* 基因的结构,从而诱导肿瘤的形成。当然我们需要进一步累计非吸烟、非饮酒组的样本数,可能才更有说服力。本文中非癌组织大部分表现为 *Fhit* 转录本正常,除外有 2 例组织(包括 1 例切缘,1 例声带息肉)表现为 *Fhit* 转录本异常。有趣的是该 2 例患者都强烈地嗜好吸烟,每年吸烟量多于 7200 支。就该例声带息肉而言,说明长期接触香烟烟雾,虽然未明确致癌,但已导致 *Fhit* 基因的改变,有必要长期随访,以明确癌变的时机,进而证实 *Fhit* 是香烟烟雾的致癌的候选分子靶。香烟烟雾含有众多的多环芳香烃,近年的研究表明它能诱导多种基因的突变和表达异常。

参考文献:

- [1] 田勇泉,孙爱华.耳鼻咽喉-头颈外科学[M].北京:人民卫生出版社,2004.216-220.
- [2] Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, et al. The *FHIT* gene,

spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3:8)breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers[J]. *Cell*, 1996, 84(4): 587-597.

- [3] Pekarsky Y, Zanesi N, Palamarchuk A, et al. FHIT: from gene discovery to cancer treatment and prevention[J]. *The Lancet Oncology*, 2002, 3(12): 748-754.
- [4] Siprashvili Z, Zzi G, Barnes LD, et al. Replacement of *Fhit* in cancer cells suppresses tumorigenicity[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1997, 94(25): 13 771-13 776.
- [5] Sard L, Accornero P, Tornelli S, et al. The tumor-suppressor gene *Fhit* is involved in the regulation of apoptosis and in cell control[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1999, 96(15): 8 489-8 492.
- [6] Ji L, Fang Bl, Yen N. Induction of apoptosis and inhibition of tumorigenicity and tumor growth by adenovirus vector-mediated fragile histidine triad gene over-expression[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(14): 3 333-3 339.
- [7] Sozzi G, Tornelli S, Taliabue E, et al. Absence of *Fhit* protein in primary lung tumor and cell lines with FHIT gene abnormalities[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(23): 5 207-5 212.
- [8] Mineta H, Miura K, Takebayashi S, et al. Low expression of fragile histidine triad gene correlates with high proliferation in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oral Oncology*, 2002, 39(1): 56-63.
- [9] Campiglio M, Pekarsky Y, Menard S, et al. FHIT loss of function in human primary breast cancer correlates with advanced stage of the disease[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(16): 3 866-3 869.
- [10] 富伟能, 张学, 郑姝颖, 等. *FHIT* 基因在喉癌中的缺失[J]. 中华医学遗传学杂志, 1997, 14(5): 274-277.
- [11] Shimada Y, Sato F, Watanabe G, et al. Loss of fragile histidine triad gene expression is associated with progression of esophageal squamous cell carcinoma, but not with the patient prognosis and smoking history[J]. *American Cancer Society*, 2000, 89(1): 5-11.
- [12] Pavelic K, Krizanac S, Cacev T, et al. Aberration of FHIT gene is associated with increased tumor proliferation and decreased apoptosis-clinical evidence in lung and head and neck carcinomas[J]. *Molecular Medicine*, 2001, (7): 442-453.
- [13] Gotte K, Handaczek P, Coy JF, et al. FHIT expression is absent in a subset of primary head and neck cancer[J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(2A): 1 057-1 060.
- [14] Pateromichelakis S, Lee G, Langdon JD, et al. The FHIT gene in oral squamous cell carcinoma: allelic imbalance is frequent but cDNA aberrations are uncommon[J]. *Oral Oncol*, 2000, 36(2): 180-188.