

文章编号:1004 - 616X(2002)03 - 0154 - 05

论著 ·

FHIT 和 p53 在胃癌中的表达及其意义

王萍¹, 张庆², 刘德纯¹, 姚敏¹, 李涤臣¹, 鲁令传²

(1. 蚌埠医学院病理学教研室, 安徽 蚌埠 233003; 2. 蚌埠医学院附属医院肿瘤外科, 安徽 蚌埠 233004)

【摘要】目的: 探讨脆性组氨酸三联体(FHIT)基因和p53基因在胃癌中的表达及其与临床病理因素的关系。方法: 采用免疫组化SP法检测78例胃癌组织中FHIT和p53的表达。结果: FHIT和p53在胃癌中表达率分别为43.6%和52.6%。FHIT蛋白的丢失在胃癌中占56.4%,两者与胃癌的组织类型、浸润深度、临床分期和淋巴结转移状况无关($P > 0.05$)。结论: 胃癌组织中FHIT蛋白的丢失是频发事件, FHIT可能是胃癌发生中重要的候选抑癌基因; 测定FHIT和p53的表达, 可用于高危人群的筛选。

【关键词】胃癌; 脆性组氨酸三联体基因; p53基因

中图分类号: R735.2 文献标识码: A

FHIT AND P53 GENE EXPRESSION IN HUMAN GASTRIC CARCINOMA

WANG Ping¹, ZHANG Qing², LIU De-chun¹, et al.

(Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu 233003, China; Department of oncology surgery, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

【Abstract】 Purpose : To investigate the expression of fragile histidine triad(FHIT) and p53 in gastric carcinoma (GC) and their relationship to clinicopathological factors. **Methods :** Seventy-eight cases of GC were studied using immunohistochemical technique. **Results :** The positive rates of FHIT and p53 gene expression were 43.6 % and 52.6 % respectively. No correlation was found between the FHIT and p53 expression and their clinicopathological factors such as histological type, lymph node metastasis and staging. **Conclusion :** Loss of FHIT expression is a frequent event in GC and FHIT gene may be one of the important candidate tumor suppressor gene in carcinogenesis of GC; Detection of FHIT and p53 expression in biopsy specimens might be useful in screening of high-risk population.

的反义寡核苷酸能以序列特异性方式抑制 hTR 的表达,从而抑制了端粒酶活性,诱导了细胞分化,也证明了 hTR 是反义治疗的非常好的靶基因,反义核酸有望成为极有发展前途的癌症治疗新药物。目前反义核酸用于临床治疗尚处于早期试验阶段,反义技术在肿瘤防治中的应用有待更深入的研究。

参考文献:

- 1 Rhyu MS. Telomeres, telomerase and immortality J. *J Natl Cancer Inst*, 1995, 87(12):844~894.
- 2 Greider CW, Blackburn EH. Atelimeric sequence in the RNA of human telomerase J. *Cell*, 1985, 43:405~413.
- 3 Lundblad V, Wright WE. Telomeres and telomerase: A simple picture becomes complex J. *Cell*, 1996, 87(1):369~375.
- 4 杜辉,辛晓燕,王健. hTERT 基因反义核酸对 8910 卵巢癌细胞端粒酶活性的影响 J. *第四军医大学学报*, 2000, 21(3):366~368.
- 5 Feng J, Funk WD, Wang SS et al. The RNA Component of Human Telomerase. *Science*, 1995, 269(5228):1236~1241.

收稿日期:2001-11-05; 修订日期:2002-01-28

基金项目:安徽省教委高校优秀青年教师基金资助(编号2000jq138)

作者简介:王萍(1966-),女,江苏濉宁人,讲师,硕士,研究方向:肿瘤病理。

【Key words】 Gastric carcinoma; fragile histidine triad; p53

胃癌的发生、发展涉及多种原癌基因的激活和抑癌基因的失活。自1996年Ohta等¹于染色体3P14.2上克隆出脆性组氨酸三联体 (fragile histidine triad, FHIT) 基因以来,许多学者对多种肿瘤的FHIT基因进行了不同程度的研究,发现在绝大多数肿瘤中经常存在FHIT基因的异常,认为FHIT基因是一重要的肿瘤候选抑癌基因。p53基因是目前研究较活跃的重要的抑癌基因,大多数肿瘤的发生与p53基因异常有关。我们应用免疫组化SP法,对78例人胃癌组织中FHIT和p53的表达进行研究,探讨它们在胃癌发生发展中的意义及其与临床病理表现和预后的关系。

1 材料与与方法

1.1 材料 1998~2000年蚌埠医学院附属医院胃癌手术切除标本78例,其中男59例,女19例,平均年龄56岁(29~76岁)。按UICC新TNM分期,其中期7例,期16例,期42例,期13例。组织学分类按组织结构、细胞形态和分化程度,分为乳头状、管状腺癌25例,低分化腺癌33例,粘液腺癌8例,印戒细胞癌9例及不典型类癌3例。在78例标本中,有相应癌旁组织者65例,其中26例可观察到癌旁粘膜肠上皮化生,21例可观察到癌旁不典型增生。同时收集萎缩性胃炎伴不典型增生的胃粘膜活检标本20例。

1.2 方法 所有标本均经10%福尔马林固定,常规石蜡包埋,4 μ m切片,除作常规HE染色外,余作免疫组化染色。采用免疫组化SP法,除作微波抗原修复,其他按常规进行。FHIT多克隆抗体为Santacruz公司产品,购自北京中山生物工程公司,抗体工作浓度为1:100。p53单克隆抗体DO-7(即用型)购自福州迈新公司。S-P试剂盒为美国MAXIM公司产品,购自福州迈新公司。正常胃粘膜上皮细胞和间质细胞分别作为FHIT表达的自身阳性和阴性对照,用已知p53阳性胃癌切片作p53表达阳性对照。

1.3 结果判断 FHIT以细胞质中呈现棕黄色颗粒为阳性。正常胃粘膜上皮细胞作参照物,相同程度阳性者为(+++),中等程度阳性者为(++),弱阳性为(+),完全无表达者为(-)。p53表达结果判定标准:以细胞核染色呈棕黄色颗粒为阳性,阳性细胞数<5%为(-),5%~25%为(+),25%~50%为

(++),75%为(+++)。

1.4 统计学处理 计数资料用²检验,等级资料用秩和检验。

2 结果

2.1 FHIT在不同胃粘膜病变的表达 正常胃粘膜上皮细胞均呈强阳性(图1),以壁细胞更显著。65例癌旁胃粘膜组织中,26例肠化胃粘膜(图2)、21例不典型增生及20例胃粘膜活检不典型增生的胃粘膜上皮细胞亦呈阳性,无FHIT蛋白丢失。

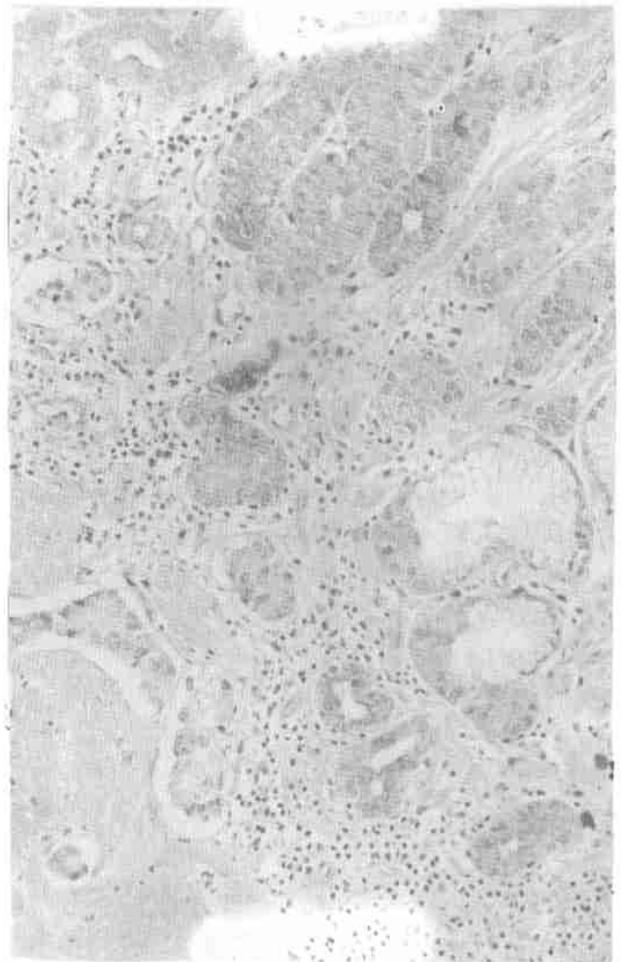


图1. 胃差分化腺癌标本。正常胃腺体表达FHIT蛋白,胃癌细胞FHIT丢失。图右上角为正常胃粘膜上皮,左下角几团癌细胞FHIT阴性。S-P法 $\times 100$

Figure 1. Poorly-differentiated gastric adenocarcinoma. FHIT protein was positive in the normal gastric glands (upper right corner) and negative carcinomatous cells (lower left corner). S-P method $\times 100$

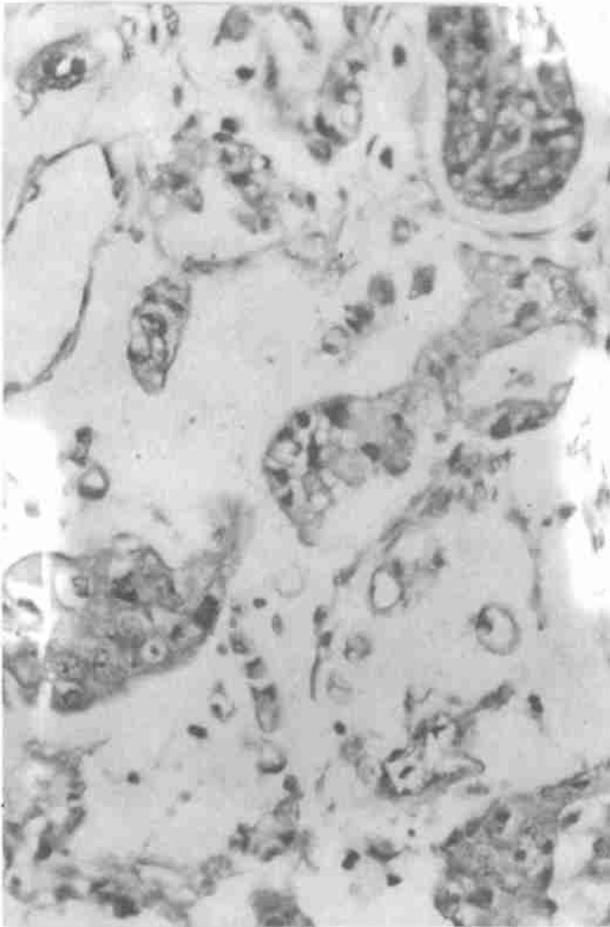


图2. 胃管状腺癌的癌旁组织。肠上皮化生的胃粘膜上皮细胞 FHT 蛋白表达阳性

Figure 2. Paracancerous tissue of gastric tubular adenocarcinoma with intestinal metaplasia of the epithelium, which was positive for FHT. S-P, ×200

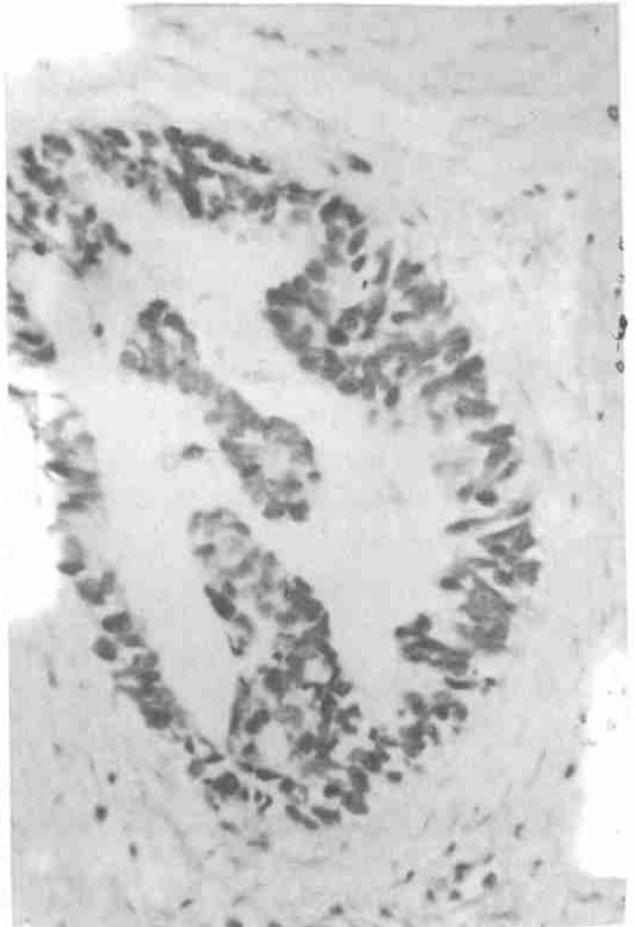


图3. 胃粘液腺癌标本。腺癌细胞 FHT 阳性

Figure 3. Mucinous gastric adenocarcinoma FHT positive for the cells of carcinoma. S-P, ×400

2.2 FHT 在胃癌组织中的表达 78 例胃癌组织中,阳性反应者 34 例 (43.6%) (图 3), 44 例 (56.4%) 无阳性表达 (图 1), FHT 蛋白的丢失率占乳头状-管状腺癌的 44% (11/25), 低分化腺癌的 57.6% (19/33), 印戒细胞癌的 66.7% (6/9), 粘液癌的 75% (6/8)。FHT 蛋白在 1 例粘膜内癌中丢失, 8 例浸润至肌层者中 4 例丢失, 59 例浸润至浆膜层者中 34 例丢失, 10 例浸润至浆膜外者中 5 例丢失。有淋巴结转移的 53 例中 33 例丢失 FHT 蛋白, 淋巴结阴性的 25 例中 11 例丢失。、期 23 例中 10 例, 、期 55 例中 34 例丢失了 FHT 蛋白, 统计学上差异均无显著意义 ($P > 0.05$)。总之, FHT 蛋白的表达与胃癌的组织学类型 (见表 1)、浸润深度 (见表 2)、淋巴结转移 (见表 3)、TNM 分期 (见表 4) 及大小部位 (数据未列出) 无相关性。

表 1. 胃癌组织中 FHT 和 p53 基因表达状况及与组织类型之间相互关系

Table 1. Correlation between FHT and p53 and histological types of gastric carcinoma

Histological type	n	FHT+	Hc	p value	p53+	Hc	p value
papillary-tubular adenocarcinoma	25	14			17		
low differentiation adenocarcinoma	33	14			17		
signet-ring cell carcinoma	9	3	3.18	>0.05	3	4.85	>0.05
mucinous adenocarcinoma	8	2			3		
atypical carcinoid	3	1			1		

rank sum test (Kruskal-Wallis method)

表 2. 胃癌组织中 FHT 和 p53 基因表达状况及与浸润深度之间关系

depth of tumor invasion	n	FHT+	Hc	p value	p53+	Hc	p value
mucosa, submucosa	1	0			0		
tunica muscularis	8	4	1.09	>0.05	6	4.50	>0.05
serosa	59	25			28		
extral serosa	10	5			7		

rank sum test (Kruskal-Wallis method)

表3. 胃癌组织中 FHIT 和 p53 基因表达状况及与淋巴结转移之间关系

Table 3. Correlation of FHIT and p53 and lymph node metastasis

lymph node metastasis	n	FHIT + ²	P value	p53 + ²	P value
positive	53	20		28	
negative	25	14	2.30 >0.05	13	0.0047 >0.05 *

Chi-square test

表4. 胃癌组织中 FHIT 和 p53 基因表达状况及与临床分期之间关系

Table 4. Correlation of FHIT and p53 and stage

stage	n	FHIT +	Hc	P value	P53 +	Hc	P value
A	1	0			0		
B	6	2			4		
	16	11			7		
A	13	5	6.22	>0.05	8	3.10	>0.05
B	29	10			14		
	13	6			8		

rank sum test (Kruskal-Wallis method)

2.3 p53 在不同胃粘膜病变中的表达 癌旁正常胃粘膜上皮细胞均呈阴性反应,21 例癌旁不典型增生组织中,1 例呈阳性反应,20 例胃粘膜活检为不典型增生者,1 例阳性。26 例肠化生的癌旁组织中,均为阴性反应。

2.4 p53 在胃癌组织中的表达 78 例胃癌组织中呈阳性反应者 41 例(图 4),阳性率为 52.6%,41 例 p53 阳性胃癌组织中高中分化者为 17 例,低分化腺癌 17 例,印戒细胞癌 3 例,粘液癌 3 例,不典型类癌 1 例。浸润至肌层、浆膜层、浆膜外者分别为 6、28、7 例,有淋巴结转移者 28 例,无淋巴结转移者 13 例。

、期患者 11 例,、期 30 例。p53 蛋白表达与肿瘤大小部位(数据未列出)、组织学类型(表 1)、浸润深度(表 2)、淋巴结转移(表 3)和临床分期(表 4)差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.5 胃癌中 FHIT 和 p53 表达的关系 两者均阴性者 24 例,两者均阳性者 21 例,两种蛋白表达之间无相关性($P > 0.05$) (见表 5)。

表5. 胃癌中 FHIT 和 p53 基因表达之间的关系

Table 5. Correlation of FHIT and p53 expression

	FHIT +	FHIT -	total
p53 +	21	20	41
p53 -	13	24	37
total	34	44	78

Chi-square test $\chi^2 = 2.05$ $P > 0.05$

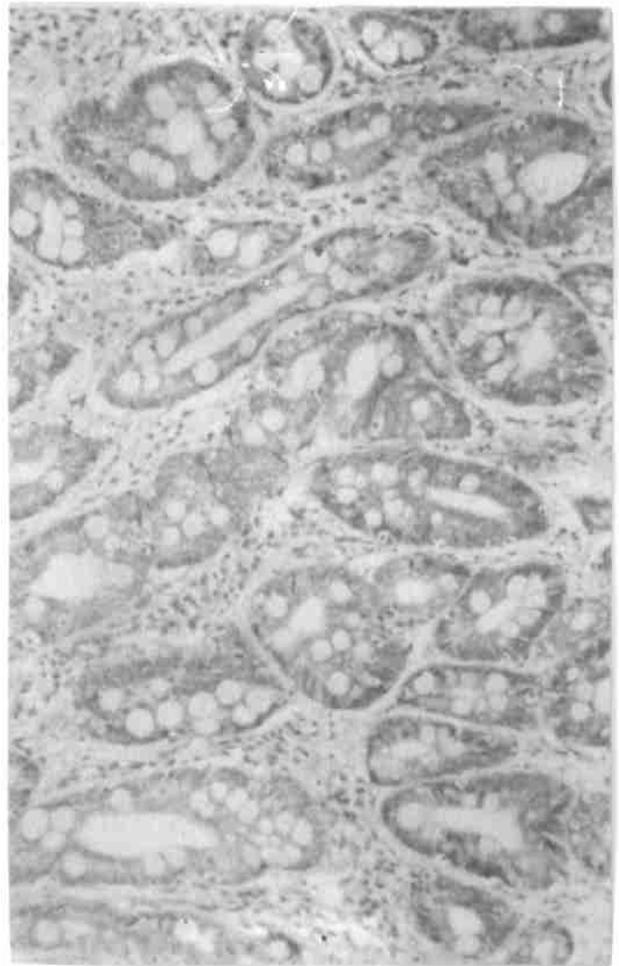


图4. 胃腺癌标本。腺癌细胞蛋白表达阳性

Figure 4. Gastric adenocarcinoma. p53 protein was positive in the nuclei of carcinomatous cells. S-P, $\times 400$

3 讨论

FHIT 基因位于 3p14.2^{1,2}, 是组氨酸三联体(histidine triad, HIT) 基因家族成员之一,全长 500 kb 以上,包含 FRA3B 脆性位点、与家族性胃癌发生有关的染色体易位(3;8)断裂点。FHIT 基因由 10 个外显子组成,其中,外显子 5~9 为编码区,编码 16.8 KD 的 FHIT 蛋白,其编码的蛋白类似于二腺苷嘌呤 5'5''²P¹,P⁴(AP4A) 不对称水解酶,参与 DNA 修复和细胞周期调控³,FHIT 基因的失活存在于多种人类肿瘤中,它的异常与肿瘤发生发展密切相关,是第一个将染色体脆性位点和肿瘤相联系的抑癌基因。FHIT 蛋白被认为是重要抑制蛋白⁵。研究显示在胃、肾、子宫颈、胰腺和乳腺癌中存在 FHIT 蛋白的丢失或减少。

自 Ohta 等对消化道肿瘤的研究显示 FHIT 基因异常以来,国外学者开始关注胃癌组织中的 FHIT 基

因的突变、杂合性缺失 (LOH)⁴ 及蛋白表达的缺失⁴。并研究 FHIT 基因及蛋白的缺失与胃癌预后、进展及临床病理特征的相关性。Baffa 等^{4,5} 发现, 67% 胃腺癌组织中有 FHIT 蛋白的丢失, 且基因丢失与蛋白表达异常是相一致的。Lee 等⁷ 实验结果表明, FHIT 蛋白丢失率达 62.9%, 且与肿瘤大小、部位、分级、临床分期等临床病理因素无相关性。本研究结果 FHIT 蛋白丢失率为 56.4%, 与 Lee 他们结果相似。Capuzzi⁵ 等在 55 例胃腺癌的研究表明, 49% 的病例显示 FHIT 蛋白完全丢失, 胃癌中 FHIT 的缺失与 Lauren 分类、肿瘤浸润、核分级 (nuclear grade) 无关, 而与分级、分期、生存期相关, 分级愈高、分期愈晚, FHIT 丢失率愈大。FHIT 表达阴性患者存活时间明显低于 FHIT 阳性患者。本研究结果与其不同。

p53 参与正常体细胞周期的调控, 限制细胞分裂, 在 DNA 修复和细胞凋亡过程中发挥作用。突变型 p53 则具有抑制癌细胞凋亡和促进癌细胞增殖作用。本文同时应用 p53 单克隆抗体, 对 78 例人胃癌组织的 p53 进行免疫组化分析, 结果发现 41 例 (52.6%) 呈阳性反映, 且与临床病理因素无相关性。p53 在胃癌中表达阳性率, 各家报道不一, 多数学者认为, p53 表达与临床、病理及预后无相关性⁶。

因此, 胃癌, 尤其是早期胃癌, FHIT 基因缺失和 p53 蛋白的过度表达及其与临床病理、预后的关系的阐明, 仍须进行大样本更进一步的研究。

由于在正常、肠上皮化生及不典型增生的胃粘膜中, FHIT 蛋白均能正常表达, p53 仅在个别不典型增生的腺体内表达。而在胃癌组织中, FHIT 蛋白缺失

率为 56.4%, p53 蛋白阳性率可达 52.6%, 因此, 我们认为: FHIT 和 p53 基因异常是胃癌发生的早期事件, FHIT 基因缺失可能晚于 p53 基因异常; 二者异常均在胃癌的发生、发展中起重要作用, 胃癌发生是多基因异常协同作用的结果。本实验结果同时显示 78 例胃癌标本中, p53 和/或 FHIT 阳性者达 54 例, 占 69.2%, 其测定可用于高危人群筛选。

参考文献:

- 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.
- Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, *et al.* The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancer *J. Cell*, 1996, 85(1):17~26.
- Barnes LD, Garrison PN, Siprashvili Z, *et al.* FHIT, a putative tumor suppressor in humans, is a dinucleoside 5', 5''²P1, P3-triphosphate hydrolase *J. Biochemistry*, 1996, 35(36):111529~111535.
- Baffa R, Veronese ML, Santoro R, *et al.* Loss of FHIT expression in gastric carcinoma *J. Cancer Res*, 1998, 58(20):4708~4714.
- Capuzzi D, Santoro E, Hauck WW, *et al.* Fhit expression in gastric adenocarcinoma: correlation with disease stage and survival *J. Cancer*, 2000, 88(1):24~34.
- Kaye PV, Radebold K, Isaacs S, *et al.* Expression of p53 and p21 waf1/cip1 in gastric carcinoma: lack of inter-relationship or correlation with prognosis *J. Eur J Surg Oncol*, 2000, 26(1):39~43.
- Lee SH, Kim WH, Kim HK, *et al.* Altered expression of the fragile histidine triad gene in primary gastric adenocarcinomas *J. Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284(3):850~855.

体内旁分泌的乙型肝炎病毒 X 蛋白 (HBx) 对肝细胞增殖的抑制作用: HBx 相关疾病发生的机制

J. Guilherme Tralhao, *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99:6991~6996.

瞿晓渊摘译 胡以平校 (第二军医大学细胞生物学教研室, 上海 200433)

目前对乙型肝炎病毒 X 蛋白 (HBx) 在乙型肝炎病毒感染引起的相关疾病中的作用仍不清楚。HBx 具有多向性的生物学功能, 人们对其体内的真正作用仍有争议, 作者利用表达 HBx 的 *HBx-LacZ* 转基因小鼠、*LacZ* 转基因小鼠和重度联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficient, SCID) 小鼠, 通过部分肝切除和肝细胞移植方法, 体内研究 HBx 在肝细胞增殖和生存中的作用。他们发现, 部分切除 *HBx-LacZ* 和 *LacZ* 转基因小鼠肝脏后, 表达 HBx 蛋白的 *HBx-LacZ* 转基因小鼠的肝脏重量减轻 23%, 表明 HBx 蛋白可抑制部分肝切除后肝细胞的再生。接着他们从 *HBx-LacZ* 和 *LacZ* 转基因小鼠肝脏中分离出肝细胞, 将其移植给部分肝切除的 SCID 受体小鼠, 结果发现, 移植少量的表达 HBx 蛋白的 *HBx-LacZ* 转基因小鼠肝细胞就可抑制部分肝切除的 SCID 受体小鼠肝细胞再生。以上结果表明, HBx 蛋白对表达和不表达 HBx 蛋白的肝细胞都有作用, 他们推测, *HBx-LacZ* 转基因小鼠的血清可能具有表达 HBx 蛋白的 *HBx-LacZ* 转基因小鼠肝细胞的作用, 因此他们将表达或不表达 HBx 蛋白的 *HBx-LacZ* 转基因小鼠血清注射给部分肝切除的 SCID 小鼠, 结果发现, 注射表达 HBx 蛋白转基因小鼠血清的 SCID 小鼠与注射无 HBx 蛋白血清的 SCID 小鼠相比, 前者部分肝切除后 8 天肝脏重量减轻 17%。表明血清中的 HBx 蛋白具有抑制肝细胞再生的能力。最后作者在体外用原代培养表达 HBx 蛋白肝细胞的上清液原代培养大鼠肝细胞, 结果大鼠肝细胞的 DNA 合成被抑制。总之, 作者认为 HBx 在肝细胞增殖中具有旁分泌抑制因子的作用, 他们推测 HBV 可能 (至少部分) 通过旁分泌的途径在肿瘤发生中发挥作用。