

①

## FHIT 在喉癌中的研究进展

滕圣敏<sup>1</sup>, 颜波<sup>2</sup> 综述 张式暖<sup>1</sup> 审校

(1. 潍坊医学院病理科, 潍坊 261042; 2. 潍坊医学院附属医院内科, 潍坊 261031)

**[摘要]** 脆性组氨酸三联体基因(fragile histidine triad, FHIT)是位于3p14.2上的抑癌基因,它可以通过水解Ap3A、改变线粒体跨膜电位及增强微管蛋白聚合来诱导细胞凋亡。FHIT的改变包括纯合性缺失、微卫星不稳定(MSI)、杂合性缺失(LOH)及启动子甲基化在喉鳞状细胞癌中有非常重要的作用。FHIT基因可能成为喉鳞状细胞癌的基因治疗靶点。

**[关键词]** FHIT; 喉癌; 抑癌基因

**[中图分类号]** R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2007)02-0116-03

## Progress of FHIT in laryngeal squamous cell carcinoma

TENG Sheng-min<sup>1</sup>, YAN Bo<sup>2</sup>, ZHANG Shi-nuan<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology, Weifang Medical College, Weifang 261042;

2. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261031, China)

**[Abstract]** Fragile histidine triad (FHIT) gene, a tumor suppressor gene which locates at 3p14.2, induces apoptosis by hydrolization of Ap3A and change of mitochondrial potential. The changes of FHIT, which include homozygous deletion, microsatellite instability(MSI), loss of heterozygosity (LOH) and methylation of FHIT gene promoter, play an important role in the pathogenesis of laryngeal squamous cell carcinoma(LSCC). FHIT gene may be the new target of gene therapy for LSCC.

**[Key words]** FHIT; LSCC; tumor suppressor gene

[Int J Pathol Clin Med, 2007,27(2):0116-03]

抑癌基因在肿瘤的发生、发展、侵袭和转移中起重要作用。脆性组氨酸三联体(FHIT)基因是一种抑癌基因,在多步骤、多因素的肿瘤发生过程中, FHIT的失表达是一种普遍存在的现象,它的改变可发生在多种恶性肿瘤的不同阶段<sup>[1]</sup>。FHIT基因在许多肿瘤中都有异常表达,与喉癌的关系也相当密切。

### 1 FHIT的结构和功能

**1.1 结构** Ohta等<sup>[2]</sup>于1996年首先利用定位克隆技术及外显子捕获法发现了抑癌基因FHIT,其位于3p14.2,编码由147个氨基酸组成的蛋白质。FHIT基因含有10个外显子,其中第1~4,10个外显子只转录不翻译,第5~9外显子为编码区,长350bp。外显子5带有ORF蛋氨酸起始密码子,外显子

8包含编码HIT的结构区。在其脆性区域的端粒侧有很多Alu重复序列和(TAA)15重复结构,且几乎所有外显子都以AG序列结尾,是常见的基因剪切受体位点<sup>[2]</sup>。

**1.2 功能** 抑癌基因FHIT编码的FHIT蛋白与ApnA的不对称水解酶相似,能将底物Ap3A水解成ATP和AMP,而Ap3A是ATP的类似物,能抑制蛋白激酶的活性,如果FHIT表达下降,Ap3A的水平升高,可激活细胞生长信号途径,阻断细胞生长抑制途径和凋亡途径,导致肿瘤的发生<sup>[3]</sup>。

FHIT蛋白实现细胞凋亡功能是通过改变线粒体跨膜电位Delta Psi(m)和增加CytC释放出线粒体来完成的<sup>[4]</sup>。Servignani等<sup>[5]</sup>发现经FHIT转染的癌细胞均出现凋亡且出现caspase-2的活化,而

①收稿日期:2006-11-23 修回日期:2006-12-23

作者简介:滕圣敏(1981-),女,山东肥城人,硕士研究生,主要从事肿瘤病理的研究。

caspase-2 是维持线粒体通透性、CytC 释放和凋亡所必需的。

Chaudhuri 等<sup>[6]</sup> 研究发现,野生型和突变型(H96N)FHIT 蛋白(无水解活性但有抑癌活性)对微管蛋白有较强的结合力,均能大大增强微管相关蛋白的聚核作用,但不能直接引起微管聚集或聚核反应,通过限制微管动力学行为或干扰微管分散而阻止细胞有丝分裂,抑制细胞过度增殖,从而发挥抑癌功能。而且 FHIT 与微管的作用与 FHIT 的 Ap3A 水解酶功能没有关系。另外,有学者认为 FHIT 可与其底物结合产生复合物,此复合物可能是一种信号物质,其抑癌作用可能比水解作用更重要。

## 2 FHIT 与喉癌

Yuge 等<sup>[7]</sup> 应用免疫组织化学测定 36 例喉癌活检标本和 70 例喉癌癌前病变活检标本,发现 42% 的喉癌标本中 FHIT 表达降低,23% 的癌前病变标本表达降低,说明 FHIT 的下调表达在喉癌早期发生中起重要作用。Fu 等<sup>[8]</sup> 用序列测定和微卫星分析方法对喉癌细胞系 Hep-2 和 80 例原发性喉癌进行 FHIT 的检测,结果发现在 Hep-2 细胞系和 70% 的原发性喉癌中都出现 FHIT 基因的转录异常。此外,Wu 等<sup>[9]</sup> 在研究下咽部肿瘤的生物行为与 FHIT 的表达的关系时发现 FHIT 在喉癌的转移中同样起非常重要的作用,提示 FHIT 有可能作为一个新的喉癌预后指标。

喉癌中 FHIT 的改变主要包括纯合性缺失、微卫星不稳定(MSI)、杂合性缺失(LOH)及启动子甲基化。

纯合性缺失主要是 FHIT 第 5,8 外显子的缺失,引起 FHIT 蛋白产物缺失或功能降低,从而失去其抑癌功能,导致肿瘤的发生。其中 FHIT 的第 5 外显子缺失将导致开放阅读框完整性的丢失,从而无法翻译 FHIT mRNA。第 8 外显子缺失使翻译出的 FHIT 蛋白缺乏对其功能有重要作用的 HIT,从而无法行使 FHIT 蛋白的功能。YIN 等<sup>[10]</sup> 在 41 例正常喉黏膜中均成功扩增出 FHIT 基因第 5 和 8 外显子,无 1 例发生纯合性缺失,然而在喉鳞状细胞癌(LSCC)中,第 5 和 8 外显子纯合性缺失率分别为 26.8% 和 29.3%,两组差异有统计学意义。表明第 5,8 外显子的缺失可能引起 FHIT 基因抑癌功能丧失,其参与了喉鳞状细胞癌的发生。此外还发现第 5,8 外显子的缺失率与肿瘤的 TNM 分期和淋巴结转移呈正相关,第 8 外显子的缺失率还随肿瘤病理分级的增高

而增高。

微卫星不稳定性(MSI)是指肿瘤基因组特定的微卫星位点与其对应的非肿瘤基因组相比,因基因的缺失或插入而造成的结构性等位基因的大小发生改变。Yin 等<sup>[11]</sup> 在测定喉癌 FHIT 的 D3S1234 和 D3S1300 的 MSI 时发现,在早期喉癌病例中,其 MSI 发生率为 39.1%。Gao 等<sup>[12]</sup> 用显微切割-多聚酶链反应-单链长度多态性分析-银染的方法进行 MSI 的检测,发现 MSI 的发生与年龄、性别、吸烟史、肿瘤部位、肿瘤分化、TNM 分期无关,但与肿瘤复发有关。

杂合性丢失(LOH)是指来自父方或母方的等位基因丢失,如果某一肿瘤在某染色体上同一位点频发杂合性丢失,那么丢失的部位往往存在着抑癌基因。近来研究表明,微卫星不稳定和杂合性丢失参与肿瘤的发生,是肿瘤发生的一种新的重要机制<sup>[13]</sup>。Pavelic 等<sup>[14]</sup> 测定头颈部鳞状细胞癌组织中的 FHIT 基因的 D3S4103 和 D3S1300 的 LOH 中发现,该位点 LOH 阳性患者平均生存期为 30.86 月,而 LOH 阴性者为 64.04 月,提示 FHIT 基因的 LOH 可用来评价头颈部鳞状细胞癌的预后。Yin 等<sup>[11]</sup> 还发现,在喉鳞状细胞癌不同病理分级中,随着分级的增高,LOH 发生率明显下降,同时在淋巴结转移组和非转移组,以及有无复发的病例中,LOH 发生率也有明显差异,因此 FHIT 基因的 LOH 可以反映喉鳞状细胞癌的恶性程度,可能用于肿瘤的早期诊断及预后判定。

在喉鳞状细胞癌中,FHIT 基因启动子甲基化与蛋白表达有明显的相关性,可能是导致 FHIT 蛋白不表达的重要机制之一<sup>[15]</sup>。甲基化可能导致基因转录抑制,引起基因表达异常,最终导致基因组不稳定而引发肿瘤。因此通过甲基化分析,可以进一步了解 FHIT 基因的功能状态及其基因沉默的可能机制,为研究和开发去甲基化药物治疗肿瘤和增强药物的敏感性提供重要依据<sup>[15]</sup>。

## 3 FHIT 基因与吸烟

长期以来认为吸烟是喉声门型癌重要而特殊的致病因素。临床统计显示大多数喉肿瘤患者有长期吸烟史。纸烟燃烧时产生的苯丙芘、尼古丁等 3 000 多种化学物质,绝大部分具有致癌性<sup>[16]</sup>。脆性位点是染色体的裂隙或不连续的间断区,是许多致癌物和致突变物作用的靶点。Wu 等<sup>[17]</sup> 对 66 例喉声门型癌进行研究时发现吸烟组喉鳞状细胞癌组织 FHIT 蛋白表达(24.5%)比非吸烟组(58.8%)明显

降低。提示苯丙芘、尼古丁等致癌物可以通过诱发 FHIT 断裂和缺失,导致 FHIT 发生改变,从而引起细胞的增殖失控而形成肿瘤。

#### 4 问题与展望

FHIT 的缺失与喉癌的发生、发展及转移密切相关。在基因治疗方面,Pichiorri 等<sup>[18]</sup>将腺病毒介导的 FHIT 基因转导进入白血病细胞系,结果显示细胞的生长受抑制,表明腺病毒介导的 FHIT 基因表达可抑制白血病细胞的生长。Ishii 等<sup>[19]</sup>研究发现恢复 FHIT 蛋白的表达使测试的 50% 的肿瘤细胞系中的细胞生长受抑制,给 FHIT 失表达的小鼠进行 FHIT 基因转导后,能阻止和逆转致癌物质引发的肿瘤发展。Andriani 等<sup>[20]</sup>给 FHIT 阴性的非小细胞肺癌细胞系 NCI-H460 转染 FHIT 后,顺铂使肿瘤细胞系中凋亡细胞的数目是未转染 FHIT 的细胞系的 2 倍,说明 FHIT 可以增加顺铂的抗肿瘤敏感性。这些实验为喉癌基因治疗提供了依据。

#### 参 考 文 献

- [1] Bavi P, Jehan Z, Atizado V, et al. Prevalence of fragile histidine triad expression in tumors from Saudi Arabia: a tissue microarray analysis [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15 (9): 1708-1718.
- [2] Ohta M, Inoue H, Coticelli M G, 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] Barnes L D, Garrison P N, Siprashili Z, et al. Fhit a putative tumor suppressor in humans, is a dinucleotide 5',5"-pp, p3-triphosphate hydrolase [J]. *Biochemistry*, 1996, 35 (36): 11529-11535.
- [4] Askari M D, Vo-Dinh T. Implication of mitochondrial involvement in apoptotic activity of fragile histidine triad gene: application of synchronous luminescence spectroscopy [J]. *Biopolymers*, 2004, 73 (4): 510-523.
- [5] Sevignani C, Calin G A, Cesafi R, et al. Restoration of fragile histidine trim (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in breast cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (6): 1183-1187.
- [6] Chaudhuri A R, Khan I A, Prasad V, et al. The tumor suppressor protein Fhit. A novel interaction with tubulin [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274 (34): 24378-24382.
- [7] Yuge T, Nibu K, Kondok K, et al. Loss of FHIT expression in squamous cell carcinoma and premalignant lesions of the larynx [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2005, 114 (2): 127-131.
- [8] Fu W, Wu D, Zhang X. FHIT gene is abnormal in laryngeal carcinoma [J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 1999, 21 (6): 436-438.
- [9] Wu H, Luan X, Zhou W, et al. The relationship between expression of FHIT and biological behaviors of hypopharyngeal carcinoma [J]. *Lin Chuang Er Bi Hou Ke Za Zhi*, 2006, 20 (6): 249-250.
- [10] Yin D, Dong M, Liu G, et al. Homozygous Deletion and Mutation of Exon5 and Exon8 of FHIT gene in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma [J]. *Fudan Univ J Med Sci*, 2005, 32 (4): 392-393.
- [11] Yin D T, Dong M M. Microsatellite instability and loss of heterozygosity of fragile histidine triad gene in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2005, 40 (1): 45-48.
- [12] Gao H, Huang Z, Han D, et al. Microsatellite instability and abnormal mismatch repair in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2006, 13 (2): 130-135.
- [13] Petursdottir T E, Hafsteinsdottir S H, Jonasson J G, et al. Loss of heterozygosity at the FHIT gene in different solid human tumours and its association with survival in colorectal cancer patient [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22 (6A): 3205-3212.
- [14] Pavelic K, Krizanac S, Cacev T, et al. Aberration of FHIT gene is associated with increased tumour proliferation and decreased apoptosis-clinical evidence in lung and head neck carcinomas [J]. *Mol Med*, 2001, 7 (7): 442-453.
- [15] Yin D, Dong M. Methylation of promoter and expression of FHIT gene in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*, 2005, 19 (6): 253-258.
- [16] Wynder E L, Graham E A. Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma [J]. *Bull World Health Organ*, 2005, 8 (3): 146-153.
- [17] Wu H, Luan X, Huang J, et al. The expression of FHIT protein in glottic squamous cell carcinoma and its relation to smoking [J]. *Chinarch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005, 12 (5): 275-277.
- [18] Pichiorri F, Trapasso F, Palumbo T, et al. Preclinical assessment of FHIT gene replacement therapy in human leukemia using a chimeric adenovirus, Ad5/F35 [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12 (11 Pt 1): 3494-3501.
- [19] Ishii H, Vecchione A, Fong LY, et al. Cancer prevention and therapy in a preclinical mouse model: impact of FHIT viruses [J]. *Curr Gene Ther*, 2004, 4 (1): 53-63.
- [20] Andriani F, Perego P, Carenni N, et al. Increased sensitivity to cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines after FHIT gene transfer [J]. *Neoplasia*, 2006, 8 (1): 9-17.