

①

FHIT 基因与肝癌的关系研究进展

车爱文 综述 康凯夫 审校

(佛山市顺德区第一人民医院病理科, 广东 佛山 528300)

[摘要] 脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT) 基因位于染色体 3p14.2 区, 属于组氨酸三联体(His-tidine triad, HIT) 基因家族, 是第 1 个将脆性位点和肿瘤联系起来的抑癌基因。它可能主要通过诱导细胞凋亡而发挥抑癌作用。肝癌中存在 FHIT 基因高甲基化、转录异常、FHIT 蛋白表达下降。FHIT 基因的改变与肝癌的演进、侵袭性、复发率和生存率等多项临床病理指标有关。FHIT 基因的改变在肝细胞癌中是早期频发的事件, 可以成为肝癌患者预后一种新的分子指标。

[关键词] 肝肿瘤; 脆性组氨酸三联体基因; 抑癌基因

[中图分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2007)02-0112-04

Relationship between FHIT gene and liver cancer

CHE Ai-wen, KANG Kai-fu

(Department of Pathology, First People's Hospital of Shunde in Foshan, Foshan Guangdong 528300, China)

[Abstract] Fragile histidine triad (FHIT) gene lies in the chromosome 3p14.2 and belongs to HIT gene family. It is the first anti-oncogene which associates the fragility site with tumor. It can suppress tumor probably by inducing cell apoptosis. There exist hypermethylation, abnormal transcription of FHIT gene and down-regulation expression of FHIT protein in liver cancer. The alternations of FHIT gene correlate with several clinic pathological indicators such as progression, invasion, relapse rate, and survival rate of liver cancer. The alternation of FHIT gene is an early and frequent event of liver cancer, and FHIT gene as a new molecular indicator of liver cancer can monitor the prognosis of liver cancer patients.

[Key words] liver neoplasm; fragile histidine triad gene; tumor suppressor gene

[Int J Pathol Clin Med, 2007, 27(2):0112-04]

功能基因组学和蛋白质组学是当今生命科学的热点与前沿。随着研究的深入, 越来越多的基因、蛋白质被人们所认识, 位于染色体 3p14.2 区的脆性三联组氨酸(fragile histidine triad, FHIT) 基因便是其中之一。虽然 FHIT 基因与原发肝癌(简称肝癌)的关系在国内外研究正处于起步阶段, 但 FHIT 的结构、功能及其与肝癌的关系越来越引起人们的关注。

1 FHIT 基因的发现

1970 年代末, 人们发现家族性肾透明细胞癌与

t(3;8) 染色体易位有关。以后, 人们又在肺癌、胃癌、食管癌、乳腺癌等多种肿瘤组织中观察到 3 号染色体短臂存在高频率缺失, 提示染色体 3p 上可能存在抑癌基因。1996 年, Ohta 等^[1]首次用外显子捕获法在 3p14.2 上确定了这个新的基因, 该基因编码的蛋白质与具有组氨酸三联体结构(histidine triad, HIT) 蛋白高度同源, 又因为该基因跨越脆性位点, 故命名为脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)。

①收稿日期: 2006-12-02 修回日期: 2007-01-28

作者简介: 车爱文(1979-), 女, 江西抚州人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤病理的研究。

2 FHIT基因结构与功能

FHIT基因定位于染色体3p14.2,全长约500 kb,其cDNA全长1 095 bp,转录产物约为1.1 kb的mRNA。共有10个外显子,其中5~9外显子跨越t(3;8)易位断裂点和脆性区域FRA3B,在多种癌细胞系中这个基因组区会出现纯合性缺失。FHIT基因的开放阅读框(open reading frame, ORF)位于外显子5~9,编码由147个氨基酸残基组成的分子量为16 800的蛋白质。在其ORF中,外显子5含有蛋氨酸起始密码子ATG,外显子6亦含有蛋氨酸密码子,在外显子5缺失的情况下仍可以用外显子6中的蛋氨酸密码子翻译出不完全的FHIT蛋白。起始的3个外显子和外显子10只能转录而不能翻译。外显子8能编码特异性氨基酸三聚体(HIT)结构域。

FHIT基因作为一个候选抑癌基因,其抑癌作用可能通过与微管的相互作用而发挥肿瘤抑制剂活性^[2],也可能通过诱导凋亡和参与细胞周期阻滞而抑制肿瘤细胞的增殖^[3]。Semba等^[4]发现在肺癌细胞系中野生型FHIT能通过使PI3K-Akt-survivin信号通路失活引起细胞凋亡。Roz等^[5]研究认为FHIT诱导细胞凋亡机制是FADD(fas-associated death domain)依赖的,caspase-8介导的,不依赖线粒体通透性改变的过程。Askari等^[6]发现,FHIT诱导细胞凋亡的机制依赖于线粒体内膜结构的改变、细胞色素C外流出线粒体。另外FHIT蛋白是一种典型的ApnA水解酶,FHIT可能主要通过使ApnA水解为ATP和AMP来参与调节体内ApnA的量,而ApnA是参与细胞内增殖和凋亡信号转导的重要因子。由此Brenner等^[7]提出FHIT-ApnA复合物信号转导模型假说。Trapasso等^[8]认为FHIT诱导癌细胞凋亡主要与酶解复合物活性有关,而与酶的水解活性无关。可见,FHIT基因可能通过多种途径诱导细胞凋亡而抑制肿瘤细胞的增殖,但FHIT基因抑制肿瘤形成的机制还不十分清楚,有待进一步研究。

3 FHIT基因与肝癌

3.1 FHIT基因甲基化与肝癌 DNA甲基化是基因精确调控机制之一,其导致基因表达的变化是肿瘤形成的重要原因,主要包括基因组低甲基化导致的癌基因过度扩增和基因启动子区CpG岛高甲基化导致的抑癌基因的“沉寂”。Sun等^[9]用甲基化特

异性PCR(MSP)技术研究发现,在71.1%(32/45)的肝细胞癌(human hepatocellular carcinoma, HCC)组织和3/4 HCC细胞系中存在FHIT基因启动子甲基化,远高于正常肝组织的14.3%(2/14),提示FHIT基因启动子的甲基化可能是其基因失活而导致肿瘤发生的重要原因。同时也发现FHIT基因在64.4%的癌旁组织(29/45)中也发生了甲基化,与其在癌组织中的甲基化率无统计学差异,但仍高于正常肝组织,提示FHIT基因的甲基化在原发性肝细胞癌的发生中是一个早期事件,对其进行检测可能成为早期诊断肝癌的手段;而且肝细胞癌中FHIT基因的甲基化率要比FHIT基因失活率高,说明FHIT基因的失活可能非启动子甲基化单一因素作用所致,这与Knudson的关于肿瘤发生的“二次打击学说”是一致的。

Sun等^[9]研究发现FHIT基因甲基化组的1年无瘤生存率明显低于非甲基化组,提示FHIT基因甲基化可能作为预测HCC患者预后的一个良好指标。但由于所选用的病例术后时间仍然较短,其更长期的生存率等指标与FHIT基因甲基化的关系还有待进一步观察。

3.2 肝癌中FHIT基因转录与表达异常 研究发现消化系统及呼吸系统肿瘤中FHIT基因cDNA序列存在多种缺失突变^[1,14]。外显子5的缺失使基因无起始蛋氨酸密码子而无法翻译FHIT蛋白,而外显子8的缺失使翻译出的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。肝癌中FHIT转录异常亦以外显子丢失最为常见。Schlott等^[10]发现,70% HCC中RT-PCR产物有FHIT外显子的缺失。Tsujiuchi等^[11]用RT-PCR方法研究发现在23例HCC中有18例出现了纯合子的丢失,其中外显子9(52.0%)缺失率最高,外显子7缺失率最低(4.3%),1个外显子丢失有10例,2个外显子丢失有8例,3个外显子丢失有1例。Yuan等^[12]对反转录PCR产物进行测序显示,34例肝癌中有10例出现FHIT基因内含子5的等位基因缺失,未见外显子2~9的缺失或点突变。Yu等^[13]用RT-PCR和SSCP法发现在24例HCC中有11例出现FHIT异常转录本,而在相对应的癌旁组织中只有2例出现FHIT异常转录本。Chen等^[14]用微卫星多态性分析和反转录PCR法发现,66.7%(12/18)的

肝癌组织,62.5% (5/8)的肝癌细胞系,44.4% (8/18)的癌旁肝组织的 FHIT 基因条带异常减弱,序列分析显示其 FHIT 基因缺乏3个以上外显子,而在3例正常肝组织中未见异常。提示肝癌及其癌旁组织均可发生较高频率的 FHIT 基因转录异常。而且还发现,FHIT 的异常转录产物不只限于肿瘤细胞中,还存在于正常的肝细胞中,并且无 FHIT 基因中多态性位点(D3S1300 和 D3S1312)的杂合性缺失。

Yuan 等^[12]发现肝癌细胞系 FHIT 表达异常或不表达。Northern 印迹检测显示14个肝癌细胞系中有9个出现 FHIT 基因表达下调。Western 印迹检测显示4个出现 FHIT mRNA 下调的肝癌细胞系均不表达 FHIT 蛋白。免疫组织化学染色显示50% (5/10)的肝癌组织可见 FHIT 蛋白表达。Nan 等^[15]在发现47例肝癌组织中,28例(59.6%) FHIT 蛋白表达明显下调或缺失($P=0.001$)。Ⅲ-Ⅳ期的肝癌组织(70.6%)较Ⅰ-Ⅱ期的肝癌组织(30.8%)多见($P=0.013$);伴有肝外转移者(86.7%)较无转移者(46.9%)多见($P=0.010$)。分级高的肝癌组织和 FHIT 蛋白阳性者其凋亡率高于早期癌组织和 FHIT 蛋白阴性者。肝癌细胞的增殖能力与 FHIT 蛋白表达和癌细胞的侵袭性相关。进一步研究证实47位肝癌患者的生存期与肿瘤的 TNM 分级、FHIT 蛋白表达、是否转移有关,同时存在癌细胞的凋亡-增殖平衡异常,提示 FHIT 基因在肝癌发生中起重要作用。

FHIT 基因异常与环境致癌物有关。相比中国人,美国人暴露于环境致癌物的危险性要小得多。Kannangai 等^[16]研究发现,美国肝癌患者的肝癌组织中既保留有正常的 FHIT mRNA 转录本,也存在大量被截短后的异常转录本;这些异常转录本在肝癌组织中通常呈现过度表达。美国肝癌患者中 FHIT 蛋白的表达缺失较少见,表明地域特征在其中发挥了一定作用。

目前认为 FHIT 异常转录是早期复发率高的 HCC 患者预后不良的一种可靠标记。Gramantieri 等^[17]用反转录 PCR 法研究发现46.4% (13/28)的肝癌组织中可检测到异常的 FHIT 转录本,其中10例发生在肿瘤组织,1例在肿瘤及其癌旁组织均有异常,只有2例发生在非肿瘤组织;10例正常肝组织中均未见 FHIT 基因异常;有异常 FHIT 转录本的

肝癌患者具有明显较高的复发率和明显较短的复发周期。Zhao 等^[18]检测了83例原发性肝癌及其配对癌旁组织和10例正常肝组织中的 FHIT 蛋白表达情况,发现 FHIT 蛋白在所有正常肝组织和癌旁组织中呈强表达,但在50例(65.0%)肝癌中表达显著下调或缺失;FHIT 蛋白表达下调的肝癌组织呈现出低分化、更高的组织学分级($P=0.219$)和临床分期($P<0.001$)以及更大的癌块体积($P=0.017$);推测 FHIT 的失活出现于肝癌的早期和晚期,与肝癌的发生、演进和侵袭性相关。因此,检测 FHIT 蛋白的表达状况对于肝癌的诊断和预后判断具有重要意义。梁汤等^[19]用免疫组织化学法检测 FHIT 蛋白在 HCC 中的表达情况,发现在癌组织中 FHIT 蛋白丢失率明显低于癌旁非肿瘤组织和正常肝组织,FHIT 蛋白的丢失率与临床分期、肿瘤大小、有无包膜、是否合并门静脉癌栓关系密切,而与是否合并肝硬化、HBsAg 表达阳性无关;表明 FHIT 蛋白的异常表达可能参与了肿瘤的转移,与肿瘤的发生与演化有一定的关系。HCC 病程发展越到晚期,FHIT 蛋白改变越显著。

4 结语

FHIT 基因的表达缺失对肝癌的发生、发展和临床预后起重要的作用,检测 FHIT 蛋白的表达状况有助于肝癌的早期诊断。肝癌的 FHIT 基因甲基化率明显高于相对应的正常组织,提示用 MSP 法检测 FHIT 基因的甲基化可以作为肝癌诊断、治疗、预防的有价值的指标。去甲基化试剂5-氮脱氧胞苷可以使甲基化的 FHIT 基因逆转,使失活的 FHIT 基因的 mRNA 及蛋白质重新表达^[20-21],这个发现为肝癌的治疗提供了一个新的思路。但目前存在的主要问题是 FHIT 基因抑癌作用的分子机制还不十分清楚及肝癌与 FHIT 基因的5'启动子区域 CpG 岛的甲基化的关系未得到进一步深入研究。随着分子生物学技术的进步,这些问题将逐渐得到阐明,这将在基因水平上为肝癌的预防和治疗提供一个新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Ohta M, Inoue H, Coticelli W 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):587-596.
- [2] 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.
- [3] Ishii H, Dumon K R, Vecchione A, et al. Effect of adenoviral transduction of the fragile histidine triad gene into esophageal cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2001,61(4):1578-1584.
- [4] Semba S, Trapasso F, Fabbri M, et al. Fhit modulation of the Akt-survivin pathway in lung cancer cells: Fhit-tyrosine 114 (Y114) is essential[J]. *Oncogene*, 2006,25(20):2860-2872.
- [5] Roz L, Andriani F, Ferreira C G, et al. The apoptotic pathway triggered by the FHIT protein in lung cancer cell lines is not affected by Bcl-2 or Bcl-X(L) overexpression[J]. *Oncogene*, 2004,23(56):9102-9110.
- [6] 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.
- [7] Brenner C, Bieganski P, Pace H C, et al. The histidine triad superfamily of nucleotide-binding proteins[J]. *Cellular Phys*, 1999,181(2):179-185.
- [8] Trapasso F, Krakowiak A, Cesari R, et al. Designed FHIT alleles establish that Fhit induced apoptosis in cancer cells is limited by substrate binding[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100(4):1592-1597.
- [9] Sun Y, Geng XP, Zhu XP, et al. Clinicopathological significance of aberrant methylation of the fragile histidine triad gene in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 2006,44(9):609-612.
- [10] Schlott T, Ahrens K, Ruschenburg I, et al. Different gene expression of MDM2, GAGE21, 22 and FHIT in hepatocellular carcinoma and focal nodular hyperplasia[J]. *Br J Cancer*, 1999,80(122):73-78.
- [11] Tsujiuchi T, Sasaki Y, Oka Y, et al. Alterations of the fragile histidine triad gene in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2005,20(1):87-94.
- [12] Yuan B Z, Keck-Waggoner C, Zimonjic D B, et al. Alterations of the FHIT gene in human hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2000,60(4):1049-1053.
- [13] Yu Y C, Sun F Y, Li Z, et al. Relationship between aberrant FHIT transcripts and hepatocellular carcinoma[J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2003,11(9):550-551.
- [14] Chen Y J, Chen P H, Chang J G, et al. Aberrant FHIT transcripts in hepatocellular carcinomas[J]. *Br J Cancer*, 1998,77(3):417-420.
- [15] Nan K J, Ruan Z P, Jing Z, et al. Expression of fragile histidine triad in primary hepatocellular carcinoma and its relation with cell proliferation and apoptosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2005,11(2):228-231.
- [16] Kannangai R, Sahin F, Adegbola O, et al. FHIT mRNA and protein expression in hepatocellular carcinoma[J]. *Mod pathol*, 2004,17(6):653-659.
- [17] Gramantieri L, Chieco P, Di Tomasc M, et al. Aberrant fragile histidine triad gene transcripts in primary hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis[J]. *Clin Cancer Res*, 1999,5(11):3468-3475.
- [18] Zhao P, Song X, Nin Y Y, et al. Loss of fragile histidine triad protein in human hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2003,9(6):1216-1219.
- [19] 梁法汤,张子彦,梁法禹. FHIT蛋白在原发性肝癌中的表达及意义[J]. *传染病信息*, 2005,18:68-69.
- LIANG Fa-tang, ZHANG Zhi-yan, LIANG Fa-yu. Expression and significance of FHIT protein in primary hepatocellular carcinoma[J]. *Infect Dis Info*, 2005,18(Suppl):68-69.
- [20] Zochbauer Muller S, Fong K M, Maitra A, et al. 5' CpG island methylation of the FHIT gene is correlated with loss of gene expression in lung and breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2001,61(9):3581-3585.
- [21] Dhillon V S, Shahid M, Husain S A. CpG methylation of the FHIT, FANCF, cyclin-D2, BRCA2 and RUNX3 genes in Granulosa cell tumors(GCTs) of ovarian origin[J]. *Mol Cancer*, 2004,3(1):33-41.