

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2002.05.07

# 肺癌中脆性三联组氨酸Fhit 蛋白表达缺失的临床病理分析

赵坡 吕亚莉 钟梅 陈乐真

**【摘要】** 目的 探讨肺癌中脆性三联组氨酸(FHIT)基因产物 Fhit 蛋白的表达状况及其与临床病理特征的关系。方法 采用兔抗人 Fhit 蛋白抗体和枸橼酸-微波-SP 免疫组化方法检测 92 例福尔马林固定、石蜡包埋的肺癌标本(非小细胞肺癌 NSCLC 52 例、小细胞肺癌 SCLC 40 例)中 Fhit 蛋白表达状况,分析其与组织学分级与分类、淋巴结转移的关系。结果 癌组织 Fhit 蛋白表达缺失率为 62.0%(57/92),而正常肺组织仅为 4.3%(4/92),其差异有显著性( $P=0.000$ )。NSCLC 癌组织 Fhit 蛋白表达强度较正常肺组织高者有 4 例(7.7%),较正常组织低者 28 例(53.8%),其中 24 例为阴性(46.2%);与正常组织基本相等者 20 例(38.5%)。Fhit 蛋白缺失者在组织学分级中的分布为 I 级癌 25.0%(2/8),II 级癌 42.3%(11/26),III 级癌 83.3%(15/18),I ~ II 级癌(38.2%,13/34)与 III 级癌组间比较,差异有显著性( $P=0.003$ )。Fhit 蛋白缺失者在伴淋巴结转移病例中的分布为 70.8%(17/24),而在未伴淋巴结转移病例中为 39.3%(11/28),其差异有显著性( $P=0.029$ )。Fhit 蛋白缺失者在组织学分类中的分布为鳞癌 68.6%(24/35),腺癌 23.5%(4/17),其差异有显著性( $P=0.003$ )。SCLC 癌组织 Fhit 蛋白表达缺失者有 33 例(82.5%),与正常肺组织基本相等者 7 例(17.5%)。结论 Fhit 蛋白表达状况可能与 NSCLC 组织学分级和类型、淋巴结转移以及 SCLC 的发生和演化有关,提示 Fhit 表达降低可能对肺癌的演化和进展具有重要作用,并有望成为新的预后指标。

**【关键词】** 肺肿瘤 Fhit 免疫组化

**【中图分类号】** R734.2

**Clinicopathological analysis of loss of fragile histidine triad expression in lung cancer** ZHAO Po, LU Yali, ZHONG Mei, CHEN Lezhen. Department of Pathology, Chinese General Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100853, P. R. China

**【Abstract】 Objective** To investigate the relationship between expression of fragile histidine triad gene protein, Fhit, and clinicopathological characteristics of human lung cancer. **Methods** Fhit protein expression was detected in 92 cases of formalin-fixed, paraffin-embedded human lung cancer by citrate-microwave-SP immunohistochemical method, of which 52 were non-small cell cancer (NSCLC) and 40 small cell cancer (SCLC). Its relationship to histological grade, lymph node metastasis and histological classification were analysed. **Results** The loss of Fhit protein expression were found in 62.0% (57/92) and 4.3% (4/92) of cancer tissue and normal lung tissue, respectively and there was a significant difference in the expression of Fhit protein between cancer and normal tissue ( $P=0.000$ ). 53.8% (28/52) of the cases of NSCLC showed a marked loss or absence of Fhit expression, 46.2% (24/52) of cases were negative, 7.7% (4/52) showed a higher expression and 38.5% (20/52) equal to the level of Fhit expression compared with the matched normal tissues. The loss of Fhit expression was closely related to histological grade ( $P=0.003$ ), to lymph node metastasis ( $P=0.029$ ), and to histological classification of the cases ( $P=0.003$ ). There was a significant difference between grade I + II (38.2%; 13/34) and grade III cancer (83.3%; 15/18), between cancers with lymph node metastasis (70.8%; 17/24) and those without (39.3%; 11/28), and between squamous cell carcinoma (68.6%; 24/35) and adenocarcinoma (23.5%; 4/17). The loss of Fhit protein expression was found in 33 of 40 cases of SCLC (82.5%) and the remainder 7 cases (17.5%) showed the same quantity of expression of Fhit, compared with the normal bronchial mucosa. **Conclusion** The expression of Fhit protein may be associated with the decreasing differentiation, lymph node metastasis and histological classification in NSCLC, and be corresponding to the occurrence and evolution of SCLC. These results suggest that the decreased Fhit expression plays an important role in the development and progression of the tumor, and thus may become a new prognostic marker in human lung cancer.

**【Key words】** Lung neoplasms Fhit Immunohistochemistry

作者单位:100853 北京 解放军总医院病理科

中国肺癌杂志  
www.lungca.org

脆性三联组氨酸(fragile histidine triad, FHIT)基因最近在国外成功分离并定位于染色体 3p14.2<sup>[1]</sup>。

FHIT 基因不仅横跨家族性肾细胞癌的易位断点 (3:8)(p14.2;q24),同时也见于大多数人类的共同脆性位点 FRA3B<sup>[2]</sup>。研究发现 FHIT 基因结构及表达的异常见于多种类型的肿瘤细胞株和原发瘤组织,包括肺癌<sup>[3-5]</sup>、乳腺癌<sup>[6]</sup>、头颈部癌<sup>[7]</sup>、食道癌<sup>[8]</sup>、胃癌<sup>[9]</sup>、胰腺癌<sup>[10]</sup>、肾癌<sup>[11]</sup>、宫颈癌<sup>[12]</sup>和结直肠癌<sup>[13-15]</sup>等。本研究探讨了肺癌中 FHIT 基因产物 Fhit 蛋白的表达状况及其与临床病理指标的关系,现报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 样本** 92 例原发肺癌组织取自我院 1999 年 12 月至 2000 年 7 月外科手术切除、常规福尔马林固定、石蜡包埋标本,按组织学类型 (1)非小细胞肺癌 (NSCLC) 52 例,其中鳞癌 35 例,腺癌 17 例;有淋巴结转移者为 24 例 (16 例鳞癌,8 例腺癌),无淋巴结转移者 28 例;按组织学分级,Ⅰ级癌 8 例,Ⅱ级癌 26 例,Ⅲ级癌 18 例。(2)小细胞肺癌 (SCLC) 40 例。均以癌旁正常肺组织作为自身正常对照。

**1.2 免疫组织化学分析** 切片脱蜡至水,在 3%过氧化氢-甲醇中浸泡 10 min 以灭活内源性过氧化氢酶,采用枸橼酸-微波-SP 法在 10 mmol/L 枸橼酸 (pH6.0) 中煮沸 5 min,保温 10 min,10% 羊血清封闭 15 min。兔抗人 Fhit (Zymed, 购自北京中山公司) 抗体稀释度为 1:200 4℃过夜;免疫组化染色均按 SP 药盒 (Zymed) 试剂及方法进行。

**1.3 判断标准** 参考文献 15 的方法并略加改进,观察 Fhit 蛋白的分布、阳性强度和阳性率。先按染色强度打分 0 分为无色,1 分为浅黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色,染色强度需与背景着色相对比;再按阳性细胞所占百分比打分:0 分为阴性,1 分为阳性细胞 ≤ 10%,2 分为 11%~50%,3 分为 51%~75%,4 分为 > 75%,染色强度与阳性细胞百分比的乘积 ≥ 2 分为免疫反应阳性 (+)。比较癌组织与自身正常肺组织染色反应,并加用光镜下粗选定阳性比例大的 2 个视野,在 40×物镜下,选择参考面积 3 967 μm<sup>2</sup>,用图像分析仪进行阳性细胞百分比测定及阳性细胞平均吸光度,以确定 Fhit 蛋白表达状况。

**1.4 统计方法** 采用 Fisher's exact 确切概率法(双侧)检验判断 Fhit 表达与各病理指标的相互关系, P < 0.05 为有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 肺癌组织及正常肺组织的 Fhit 表达** Fhit 蛋白主要表达于正常肺组织支气管、肺泡上皮组织和癌组

织上皮细胞的胞质,以及一些间质细胞如淋巴细胞、浆细胞和巨噬细胞的胞核及胞质。肺癌组织 Fhit 蛋白表达缺失率为 62.0%(57/92),正常肺组织为 4.3%(4/92),二者比较差异显著 (P = 0.000)。本组 52 例 NSCLC 正常与肿瘤配对标本中,癌组织 Fhit 表达强度较正常肺组织高者有 4 例 (7.7%) 较正常组织低者有 28 例 (53.8%) 其中 24 例为阴性 (46.2%);与正常组织基本相等者有 20 例 (38.5%) (图 1、2)。40 例 SCLC 癌组织中 Fhit 蛋白表达缺失者有 33 例 (82.5%),较正常肺组织基本相等者 7 例 (17.5%)。Fhit 蛋白缺失癌组织中 Fhit 染色阳性细胞数量及强度较其正常肺组织明显减少及降低。

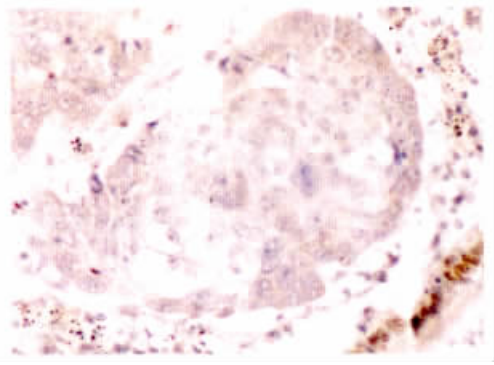


图 1 肺鳞癌组织 Fhit 蛋白表达结果  
肺鳞癌组织癌细胞 Fhit 蛋白表达明显低于邻近细支气管上皮细胞 (SP × 200)

Fig 1 The result of Fhit protein expression in squamous cell carcinoma  
Fhit protein expression was markedly reduced in the cancer cells of squamous carcinoma compared with the adjacent bronchial epithelial cells (SP × 200)

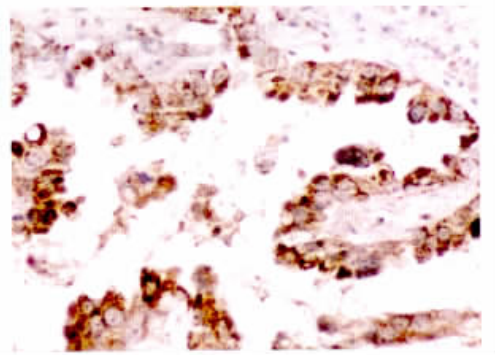


图 2 肺腺癌组织 Fhit 蛋白表达结果  
肺腺癌组织癌细胞 Fhit 蛋白表达强阳性 (SP × 200)

Fig 2 The result of Fhit protein expression in alveolar carcinoma  
Fhit protein was strongly expressed in the cancer cells of alveolar carcinoma (SP × 200)

**2.2 Fhit 蛋白缺失与癌组织学分级、转移的关系** 本组 52 例 NSCLC 标本中, Fhit 蛋白缺失者在癌组织学分

级中的分布为 I 级癌 25.0% (2/8), II 级癌 42.3% (11/26), III 级癌 83.3% (15/18), I ~ II 级癌 (38.2%, 13/34) 与 III 级癌组间比较, 其差异有显著性 ( $P = 0.003$ ) (表 1)。Fhit 蛋白缺失者在伴淋巴结转移病例中的分布为 70.8% (17/24), 而在未伴淋巴结转移病例中为 39.3% (11/28), 差异有显著性 ( $P = 0.029$ ) (表 1)。本组淋巴结转移病灶中癌组织 Fhit 表达缺失率为 83.3% (20/24)。

表 1 NSCLC Fhit 蛋白表达与临床病理特征的关系

Tab 1 The relationship between the expression of Fhit protein and clinicopathological characteristics of NSCLC

Characteristics	Fhit protein expression		P value
	No change	Loss	
Histological grade			0.003
I	6	2	
II	15	11	
III	3	15	
Metastatic status			0.029
Metastasis	7	17	
Non-metastasis	17	11	
Histological classification			0.003
Squamous cell carcinoma	11	24	
Adenocarcinoma	13	4	

2.3 Fhit 蛋白缺失与癌组织学类型关系 本组 52 例 NSCLC 标本中, Fhit 蛋白缺失者在鳞癌中的分布为 68.6% (24/35), 在腺癌中为 23.5% (4/17), 两组间差异有显著性 ( $P = 0.003$ ) (表 1)。

### 3 讨论

在正常情况下, Fhit 存在于大多数正常组织中。国外发现多种肿瘤组织中 Fhit 蛋白表达存在频繁地降低或缺失, 并发现与 FHIT 基因转录及缺失有关, 故提示 FHIT 基因为多种肿瘤的候选抑制基因<sup>[1, 4~7, 10~12, 15]</sup>。FHIT 基因蛋白 Fhit 是三联组氨酸蛋白家族成员, 其抑制肿瘤的作用机理至今尚未搞清, 可能与以下方面有关 (1) 具有 Ap3A 水解酶的作用。Ap3A 为 ATP 类似物, 能以底物方式提供磷酸基团从而提高蛋白激酶的活性。因此 Fhit 表达下降时 Ap3A 水平升高可增强生长信号传导途径, 阻断抑制途径或凋亡通道导致肿瘤的发生和发展 (2) mRNA 脱帽功能。Fhit 蛋白能作用于 mRNA 帽类似物, 影响重要基因 mRNA 的翻译 (3) Fhit-底物复合物作用。Fhit 蛋白还可与其底物结合通过 Fhit-底物复合物产生抑癌作用, 这种 Fhit-底物复合物可能是一种信号物质, 其抑

癌作用可能比其水解酶作用更重要。

FHIT 基因功能的改变主要与其蛋白的表达量相关, 而似乎与基因的结构改变无关, 因其突变的蛋白仍然有抑癌作用, 故应用免疫组化方法检测 Fhit 蛋白的原位表达被认为简便实用<sup>[1]</sup>。Sozzi 等<sup>[4]</sup>发现 Fhit 表达降低或缺失在 NSCLC 发生和演化中具有重要作用。本组资料中肺癌组织 Fhit 蛋白表达缺失率为 62.0%, 正常肺组织表达缺失率为 4.3%, 二者比较差异有显著性 ( $P = 0.000$ )。由于本组资料主要采用癌组织与自身正常肺组织比较来确定癌组织中 Fhit 表达是否降低, 结果显示 NSCLC 癌组织 Fhit 蛋白缺失率为 53.8% 肺鳞癌为 68.6%, 腺癌为 23.5%, 虽略低于 Sozzi 等<sup>[4]</sup>的结果 (分别为 73%、87%、57%), 但仍提示 Fhit 蛋白缺失在 NSCLC 特别是在鳞癌 ( $P = 0.003$ ) 的发生和演化过程中可能具有重要的作用。此外, 癌组织 Fhit 蛋白缺失率在组织学分级组中的分布有显著性差异 ( $P = 0.003$ ) 提示 Fhit 蛋白表达减少与癌组织分化程度具有一定的相关关系。本研究结果显示 Fhit 蛋白缺失者在伴淋巴结转移病例中的分布为 70.8%, 而在未伴淋巴结转移病例中仅为 39.3%, 两组差异有显著性 ( $P = 0.029$ ), 同时淋巴结转移病灶中癌组织 Fhit 表达缺失率为 83.3% (20/24), 均提示 Fhit 蛋白表达缺失与 NSCLC 的侵犯和转移生物学行为相关, 与国外在结直肠癌的研究<sup>[15]</sup>一致。本组中有 4 例 (7.7%) 癌组织 Fhit 蛋白表达强度较正常肺组织高, 其原因可能为正常 FHIT 基因对癌变细胞增生反应信号的反馈性表达升高, 有待于进一步探讨。

另外, 本研究结果表明 SCLC 中 Fhit 蛋白表达缺失率为 82.5%, 亦与国外的研究结果相似<sup>[1]</sup>, 进一步提示 Fhit 可能为一重要的肿瘤抑制基因蛋白, 在肺癌的发生和演化中起着重要的作用。由于 Fhit 蛋白用免疫组化方法易于检测, 因此可能成为一种新的预后分子指标, 用于临床监测患者预后。

### 参 考 文 献

- 1 Croce CM, Sozzi G, Huebner K. Role of FHIT in human cancer. *J Clin Oncol*, 1999, 17(5): 1618-1625.
- 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. *Cell*, 1996, 84(4): 587-597.
- 3 Burke L, Khan MA, Freeman AN, et al. Allelic deletion analysis of the FHIT gene predicts poor survival in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*, 1998, 58(12): 2533-2536.

4 陈军,周清华,覃扬,等.人非小细胞肺癌中 FHIT 基因转录本异常的研究.中国肺癌杂志,2000,3(4):245-249.

5 Sozzi G, Pastorino U, Moiraghi L, et al. Loss of FHIT function in lung cancer and preinvasive bronchial lesions. *Cancer Res*,1998,58(22):5032-5037.

6 Campiglio M, Pekarsky Y, Menard S, et al. FHIT loss of function in human primary breast cancer correlates with advanced stage of the disease. *Cancer Res*,1999,59(16):3866-3869.

7 Kisielewski AE, Xiao GH, Liu SC, et al. Analysis of the FHIT gene and its product in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Oncogene*,1998,17(1):83-91.

8 Tanaka H, Shimada Y, Hamada H, et al. Methylation of the 5' CpG island of the FHIT gene is closely associated with transcriptional inactivation in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Res*,1998,58(15):3429-3434.

9 Gemma A, Hagiwara K, Ke Y, et al. FHIT mutations in human primary gastric cancer. *Cancer Res*,1997,57(8):1435-1437.

10 Sorio C, Baron A, Orlandini S, et al. The FHIT gene is expressed in pan-

creatic ductular cells and is altered in pancreatic cancers. *Cancer Res*,1999,59(6):1308-1314.

11 Xiao GH, Jin F, Klein-Szanto AJP, et al. The FHIT gene product is highly expressed in the cytoplasm of renal tubular epithelium and is down-regulated in kidney cancers. *Am J Pathol*,1997,151(6):1541-1547.

12 Birrer MJ, Hendrics D, Farley J, et al. Abnormal Fhit expression in malignant and premalignant lesions of the cervix. *Cancer Res*,1999,59(20):5270-5274.

13 Kastury K, Baffa R, Druck T, et al. Potential gastrointestinal tumor suppressor locus at the 3p14.2 FRA3B site identified by homozygous deletions in tumor cell lines. *Cancer Res*,1996,56(4):978-983.

14 Thiagalingam S, Lisitsyn NA, Hamaguchi M, et al. Evaluation of the FHIT gene in colorectal cancers. *Cancer Res*,1996,56(13):2936-2939.

15 Hao XP, Willis JE, Pretlow TG, et al. Loss of fragile histidine triad expression in colorectal carcinomas and premalignant lesions. *Cancer Res*,2000,60(1):18-21.

(收稿 2001-05-10 修回 2002-02-10)  
(本文编辑 张世雯)

· 启事 ·

《中国肺癌杂志》征订启事

《中国肺癌杂志》——我国第一本国内外公开发行的肿瘤专病杂志创刊于 1997 年,国内刊号为 CN 51-1597/R,国际刊号为 ISSN 1009-3419。《中国肺癌杂志》由中国科学技术协会主管,中国抗癌协会、中国防痨协会主办。中国工程院院士、我国著名肺癌专家、中国医学科学院肿瘤医院孙燕教授担任本刊主编,另有来自美国、丹麦、意大利和日本的多位国际著名肺癌专家,以及国内的 70 多位从事肺癌基础研究和临床防治工作的知名专家担任副主编和编委。

坚持四项基本原则,执行国家卫生工作方针和政策,遵守国家法规,提高我国肺癌基础研究和临床研究水平,提供学习交流和学术争鸣的园地,促进国际学术交流,推动我国肺癌防治工作的发展,为繁荣我国的医疗卫生事业,造福于人类健康作贡献为我刊的办刊宗旨。本着面向基础、面向临床、面向世界、面向未来的原则,及时报道国内外肺癌研究领域的最新成果、最新动态、最新发展趋势,以及我国广大医务工作者在肺癌防治工作中的新经验和新技术,为我国肺癌基础研究和肺癌临床工作架设一座桥梁,促进我国肺癌基础研究工作者和临床工作者之间的学术交流,推动我国肺癌基础研究和临床防治工作的共同发展,为肺癌基础研究成果尽早在临床上应用和加强国际间的学术交流作出积极的贡献。

《中国肺癌杂志》现为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊,《中国科学引文数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国学术期刊文摘》来源期刊,EMBASE、美国化学文摘社收录期刊,为国家和肿瘤学核心期刊。为便于国际交流,刊用稿件的摘要和图表均采用中英文对译。本刊开设的主要栏目有报道肺癌防治研究的最新成果,基础与临床以及边缘学科等领域的论著、综述、述评、讲座、临床经验、病理(例)报告、新技术、新理论、短篇报道、继续教育和各类消息等。《中国肺癌杂志》为双月刊,全铜版彩色印刷,国际标准开本(大 16 开),80 页,双月 20 日正式出版,国内邮发代号为 62-95,每册定价 10.00 元。欢迎全国各级医院、医科院校、医学研究机构中从事肺癌基础与临床研究的医务人员、研究人员,以及相关专业的临床医生、医学生、实习生、研究生和医药管理人员等踊跃投稿和订阅本刊。

通信地址 四川省成都市国学巷 37 号四川大学华西医院《中国肺癌杂志》编辑部。  
邮政编码 610041。