

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2002.01.02

# 人肺癌中 FHIT 基因表达的临床病理生理意义及与预后的关系研究

王允 周清华 张尚福 成娘 刘伦旭 李潞 伍仁 车国卫 秦建军

**【摘要】** 目的 研究 FHIT 基因表达与人肺癌临床病理生理特征和预后的关系,探讨 FHIT 基因在人肺癌发生、发展过程中的可能作用。方法 应用免疫组化法检测了 166 例肺癌组织标本及其癌旁肺组织和 37 例肺良性病变组织中 FHIT 基因的表达水平。结果 肺癌组织中 FHIT 基因表达阳性率(63.03% ±26.41%)显著低于癌旁组织(83.74% ±17.46%),而癌旁组织又显著低于肺良性病变组织(92.98% ±5.56%) ( $P < 0.01$ );肺癌组织中 FHIT 基因表达水平降低与肺癌组织学类型、细胞分化程度、患者 P-TNM 分期、淋巴结转移程度存在相关性( $P < 0.05$ );吸烟组肺癌患者的肺癌组织中 FHIT 基因表达阳性率(55.14% ±27.55%)明显低于非吸烟组(71.93% ±22.05%) ( $P < 0.01$ );FHIT 基因低表达组肺癌患者的术后长期生存率显著低于高表达组( $P < 0.05$ )。结论 FHIT 基因的表达下降可能与肺癌的发生、发展过程有关。吸烟是导致肺癌患者 FHIT 基因表达下降的重要原因之一。

**【关键词】** 肺肿瘤 FHIT 基因 免疫组化

**【中图分类号】** R734.2;Q753

**Reduction of FHIT gene expression in primary lung cancer** WANG Yun, ZHOU Qinghua, ZHANG Shangfu, CHENG Liang, LIU Lunxu, LI Lu, WU Zhu, CHE Guowei, QIN Jianjun. Department of Thoracocardiac Surgery, West China Hospital, Sichuan University (Former The First University Hospital, West China University of Medical Sciences), Chengdu, Sichuan 610041, P. R. China

**【Abstract】 Objective** To investigate the role of FHIT (fragile histidine triad) gene in oncogenesis and progression of human lung cancer. **Methods** The expression of FHIT gene was detected in 166 lung cancer samples and 37 benign pulmonary lesion tissues as control by immunohistochemistry. **Results** The positive rate of FHIT expression in lung cancer tissues was 63.03% ±26.41%, which was significantly lower than that in tissues adjacent to cancer (83.74% ±17.46%) ( $P < 0.01$ ), and both positive rates in cancer tissues and tissues adjacent to cancer were significantly lower than that in benign lesion tissues (92.98% ±5.56%) ( $P < 0.01$ ). The expression level of FHIT gene was closely related to histological classification, cancer cell differentiation, P-TNM stages and lymph node involvement in lung cancer patients ( $P < 0.05$ ). The positive rate of FHIT expression in smoking lung cancer patients was remarkably lower than that in non-smoking ones (55.14% ±27.55% vs 71.93% ±22.05%,  $P < 0.01$ ). The postoperative survival time in patients with high FHIT expression was significantly longer than those with low expression ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Reduction of FHIT gene expression might be associated with the oncogenesis and progression of human lung cancer; Smoking may be one of the important reasons of reduction of FHIT gene expression in lung cancer patients.

**【Key words】** Lung neoplasms FHIT gene Immunohistochemistry

This work was supported by grants from the National Natural Sciences Foundation of China (to ZHOU Qinghua) (No. 39870299) and a grant from the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (to ZHOU Qinghua) (No. 9849).

本研究受国家自然科学基金(39870299)、高等学校博士点基金(9849)资助

作者单位:610041 成都,四川大学华西医院(原华西医科大学附属第一医院)胸心外科(王允、周清华、刘伦旭、李潞、伍仁、车国卫、秦建军),病理科(张尚福、成娘)

FHIT(fragile histidine triad)基因是 1996 年 Ohta 等发现的拟定的抑癌基因(candidate tumor suppressor gene)<sup>[1]</sup>,研究各种肿瘤组织中 FHIT 基因结构和功能改变及其与肿瘤发生、发展的关系是近年来分子肿瘤学研究的热点之一;由于直到最近才有商品化的抗

FHIT 抗体出售,所以有关肿瘤组织中大样本量 FHIT 蛋白表达的研究国内外均少见。本试验应用免疫组化方法检测了 166 例肺癌患者肿瘤组织及癌旁肺组织中 FHIT 基因表达水平,并以 37 例同期手术的肺良性疾病肺组织作为对照,研究 FHIT 基因表达与肺癌临床病理生理特征和预后的关系。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 166 例肺癌标本及 37 例肺良性疾病标本均取自华西医科大学附属第一医院胸外科 1991 年 1 月~1995 年 4 月间部分接受手术治疗的患者,全部经术后病理学确诊。肺癌患者中,鳞癌 64 例,腺癌 68 例,鳞腺癌 29 例,小细胞癌 5 例;未分化或低分化癌 53 例,中分化癌 72 例,高分化癌 15 例;根据 UICC 1997 年修订的肺癌分期标准: 期 32 例, 期 32 例, 期 87 例, 期 15 例;N<sub>0</sub> 56 例, N<sub>1</sub> 23 例, N<sub>2</sub> 82 例, N<sub>3</sub> 5 例;男性 132 例,女性 34 例;年龄 30~80 岁,平均 55.61 岁;有吸烟史者 88 例,无吸烟史者 78 例。肺良性疾病组包括支气管扩张症 19 例,炎性假瘤 3 例,肺结核瘤 12 例,肺囊肿 3 例;其中男性 28 例,女性 9 例;年龄 13~66 岁,平均 44.73 岁。

**1.2 病例随访** 以门诊、电话、随访信形式对 166 例试验组患者进行随访,随访时间 5~10 年,有随访结果的有 134 例,失访 32 例。134 例病例中,死亡人数(直接死于肺癌的患者)为 95 例,截尾人数(失访、死于其它原因或持续存活至本研究结束时)为 39 例,中位生存期是 42 个月。

**1.3 试剂** 抗 FHIT 多克隆抗体为美国 ZYMED 公司产品;免疫组化试剂盒中生物素化羊抗兔抗体(二抗)及酶-链亲和素复合物(三抗)为丹麦 DAKO 公司产品。

**1.4 方法** 免疫组化采用链菌素亲生物素蛋白-过氧化酶连接法(labeled streptavidin biotin method, LSAB)。抗原修复采用微波修复法,一抗稀释度为 1/150。

**1.5 结果判定** FHIT 基因表达产物定位于胞浆,故 FHIT 基因表达阳性者细胞胞浆显示棕黄色颗粒。每张切片在 400 倍显微镜下选定 10 个视野,每个视野计数 100 个细胞,共计 1 000 个细胞,计算出每张切片上的阳性表达百分数。

**1.6 统计学处理** 采用 *t* 检验、*F* 检验、Kaplan-Meier 生存曲线分析、对数秩检验,在华西医大统计教研室采用 SPSS 9.0 及 EGRET 0.03 统计软件进行统计分析。

## 2 结果

**2.1 肺癌组织与癌旁肺组织、肺良性疾病肺组织中 FHIT 基因表达率的比较** 肺癌组织中 FHIT 基因表达阳性百分率为 63.03% ± 26.41%,癌旁肺组织为 83.74% ± 17.46%,良性病变肺组织为 92.98% ± 5.56%(图 1、2)。经 *F* 检验三组间有非常显著性差异(*P* < 0.01);两两比较:各组之间亦有显著性差异(*P* < 0.05)。

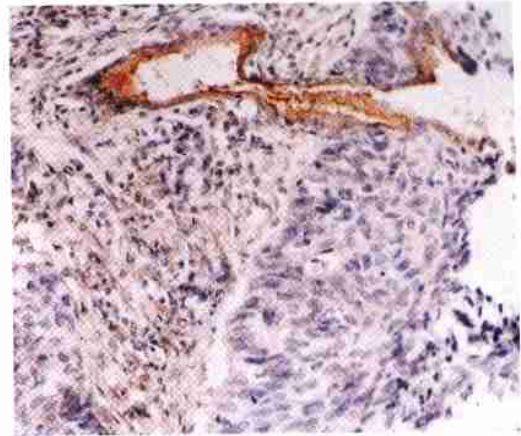


图 1 肺鳞癌组织中 FHIT 基因低表达,而其癌旁肺组织中高表达(LSAB 法 ×352)

Fig 1 The expression of FHIT gene in squamous cell carcinoma was much lower than that in the tissues adjacent to cancer(LSAB method ×352)

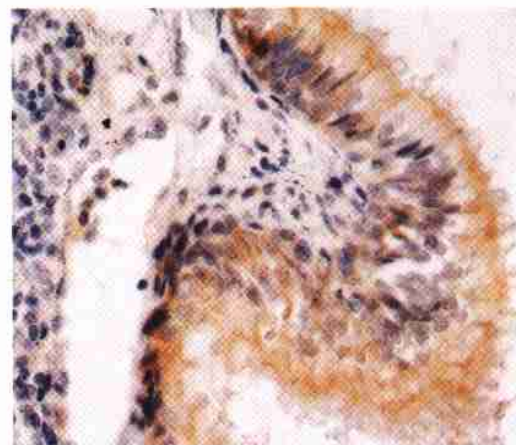


图 2 FHIT 基因在肺良性疾病组织中高表达(LSAB 法 ×352)

Fig 2 The high expression of FHIT gene in benign lesion tissues(LSAB method ×352)

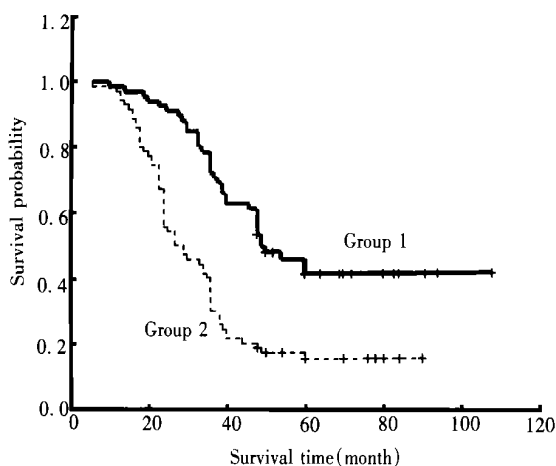
**2.2 肺癌中 FHIT 基因表达与患者临床病理生理特征的关系** 肺癌组织中 FHIT 基因表达水平与肺癌组织学类型、细胞分化程度、P-TNM 分期、淋巴结转移状态及患者吸烟与否则有密切关系(*P* < 0.05);而与患者的性别、年龄无明显关系(*P* > 0.05)(表 1)。

**2.3 肺癌中 FHIT 基因表达水平与患者术后生存率的关系** 按肺癌组织中 FHIT 表达阳性率是否 70%, 将患者分为 FHIT 高表达组和 FHIT 低表达组, 进行 Kaplan-Meier 生存曲线分析和对数秩检验, 结果发现 FHIT 高表达组术后生存时间显著高于低表达组 ( $P < 0.05$ ) (图 3)。

**表 1** 人肺癌中 FHIT 表达与临床病理生理特征的关系

**Tab 1** The relationship between FHIT expression and clinicopathologic characteristics in lung cancer patients

Items	FHIT expression rate (%)	P value
Histology		< 0.01
Squamous cell carcinoma	42.42 ± 21.92	
Adenocarcinoma	79.42 ± 19.24	
Adenosquamous cell carcinoma	71.32 ± 17.45	
Small cell lung cancer	55.67 ± 30.69	
Cell differentiation		< 0.01
Non + poor	47.72 ± 24.71	
Moderate	68.04 ± 25.25	
Well	78.84 ± 24.34	
P-TNM stages		< 0.05
+	68.63 ± 25.16	
+	59.51 ± 26.69	
Lymph node metastasis		< 0.05
N0	68.93 ± 25.90	
N1 ~ 3	60.02 ± 26.28	
Sex		> 0.05
Male	61.06 ± 26.80	
Female	70.66 ± 23.70	
Age		> 0.05
< 55	58.89 ± 29.02	
55	66.12 ± 23.97	
Smoking history		< 0.01
With	55.14 ± 27.55	
Without	71.93 ± 22.05	



**图 3** FHIT 高表达组 (组 1) 和低表达组 (组 2) 的 Kaplan-Meier 生存曲线

**Fig 3** Kaplan-Meier survival curves of patients with high (Group 1) and low (Group 2) expression of FHIT gene

### 3 讨论

FHIT 基因是 1996 年 Ohta 等<sup>[1]</sup> 用外显子捕获法 (exon trapping) 确定并克隆出来的人类基因。由于该基因位于染色体 3p14.2 区域脆性部位 FRA3B, 其 cDNA 推算出来的蛋白质与具有三价组氨酸结构域的 HIT 蛋白质高度同源, 因此定名为 FHIT (fragile histidine triad) 基因。FHIT cDNA 全长约 1.1 kb, 具有 10 个外显子, 开放阅读框架 (open reading frame, ORF) 起于外显子 5, 止于外显子 9; 大量研究<sup>[2-4]</sup> 发现在肿瘤细胞中广泛存在着高频率的外显子 5 ~ 8 的缺失和等位基因缺失。

本研究观察到肺癌组织中 FHIT 基因表达水平显著低于癌旁肺组织和肺良性病变肺组织; 而在肺癌组织中, FHIT 在鳞癌和小细胞肺癌中的表达水平显著低于其它组织类型肺癌, 这种现象与文献报道结果一致<sup>[3-5]</sup>。本研究结果从蛋白水平进一步证实了 FHIT 基因表达异常与肺癌, 尤其是鳞癌和小细胞肺癌的发生、发展有密切关系。

现有的研究表明: FHIT 基因表达缺失和等位基因异常可能是肺癌发生学中的早期分子事件和烟草致癌的靶基因<sup>[3,4,6]</sup>。Sozzi 等<sup>[6]</sup> 在肺癌前病变中发现 FHIT 表达下降, 为这一假说提供了试验依据。周清华和陈军等<sup>[3,4]</sup> 报道早期肺癌组织中存在 FHIT 基因转录表达异常、外显子缺失、微卫星缺失和等位基因异常, 并提出了 FHIT 基因微卫星缺失是肺癌中的早期分子事件的假说。本研究发现, 肺癌组织和肺癌旁肺组织中 FHIT 基因表达水平均显著低于正常肺组织。由于在肿瘤形成之前部分肺组织中发生了 FHIT 基因缺失或功能障碍, 则构成了这些肺组织发生肺癌的分子基础。此外, 本研究还发现非吸烟组肺癌患者肿瘤组织中 FHIT 蛋白表达阳性率显著高于吸烟组, 而 Sozzi 等<sup>[7]</sup> 也发现吸烟与 FHIT mRNA 外显子缺失存在显著相关, 这些研究结果提示吸烟可能是导致 FHIT 基因转录缺失的重要原因之一。

此外, 本研究比较了肺癌组织中 FHIT 基因表达与肺癌患者的临床病理生理特征之间关系, 发现随着临床肿瘤的进展, FHIT 蛋白表达水平呈现递减的趋势; 同时应用 Kaplan-Meier 生存曲线分析, 发现 FHIT 蛋白高表达组患者的长期生存率显著高于低表达组, 以上结果与 Burke 等<sup>[8]</sup> 提出的 FHIT 基因转录缺失是肺癌患者预后不良的危险因素相一致, 表明 FHIT 蛋白在人肺癌组织中的表达特征具有抑癌基因表达蛋白的特点, 可能与肺癌进展的某些调控机制有关。

综上所述,本研究结果提示 FHIT 基因可能参与了肺癌的发生、发展过程,长期大量吸烟可能是导致 FHIT 基因表达下降的重要原因之一,检测肺癌组织中 FHIT 蛋白表达水平有助于监测患者预后,指导术后多学科综合治疗。

### 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. *Cell*, 1996, 84(4): 587-597.
- Shridhar R, Shridhar V, Wang X, et al. Frequent breakpoints in the 3p14.2 fragile site, FRA3B, in pancreatic tumors. *Cancer Res*, 1996, 56(19): 4347-4350.
- 周清华,陈军,覃杨,等.人非小细胞肺癌中 FHIT 等位基因缺失和突变的研究. *中国肺癌杂志*, 2001, 4(1): 10-14.

- 陈军,周清华,覃杨,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.
- Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, et al. The FHIT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell*, 1996, 85(1): 17-26.
- Sozzi G, Pastorino U, Mbiraghi L, et al. Loss of FHIT function in lung cancer and preinvasive bronchial lesions. *Cancer Res*, 1998, 58(22): 5032-5037.
- Sozzi G, Sard L, De Gregorio L, et al. Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. *Cancer Res*, 1997, 57(11): 2121-2123.
- Burke L, Khan MA, Freedman 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.

(收稿:2001-07-03 修回:2001-08-10)

(本文编辑 张世雯)

## 会议消息

### 第八届全国肺癌学术会议征文通知

根据中国抗癌协会肺癌专业委员会决定,第八届全国肺癌学术大会定于 2002 年 6 月初,在广州市举行。本次大会的主题是:“21 世纪肺癌研究的挑战与机遇”。大会已被列入中国科协学术活动 I 类会议。现将有关征文事项通知如下。

一、大会主题:(1)肺癌高危人群的筛选、预警和监测;(2)肺癌早期诊断的分子生物学研究;(3)早期肺癌治疗的争议与共识;(4)局部晚期肺癌治疗的争议与共识;(5)晚期肺癌治疗的争议与共识;(6)肺癌靶向治疗——信号传导与肺癌;(7)晚期肺癌生活质量与治疗方案选择;(8)肺癌治疗决策——重点评价指标及循证医学;(9)肺癌预后的分子预测;(10)人类基因组计划与临床肿瘤学;(11)肺癌相关疫苗;(12)其它。

#### 二、论文要求:

(1) 论文必须未在国内外公开发表过;

(2) 全文在 5000 字以内,附加 500 字的摘要(目的、方法、结果、结论);

(3) 提交论文方式:一律交软盘,最好用 E-mail 形式提交。软盘寄至:

510630 广州石牌岗顶中山医科大学附属三院内肺癌研究中心 李瑞娜 收

电话/传真:020-85510765

E-mail:director\_public.guangzhou.gd.cn

软盘编辑软件用 word。软盘上请注明论文题目、作者姓名、单位地址及联系电话。

(4) 本次大会由学术委员会评审参会论文,论文入选方成为大会正式代表,参加大会交流者均可获论文证书,论文或论文摘要编入论文汇编。本学术大会属国家继续教育系列,并授予继续教育学分证书。同时欢迎无论文者到会学习交流,也可授予国家级继续教育学分证书。(5) 论文截稿日期:2002 年 2 月 28 日(以邮戳或电脑日期为准)。

中国抗癌协会肺癌专业委员会

2001 年 7 月