

胃癌 Fhit 蛋白表达缺失的临床病理意义

赵 坡, 刘 武, 吕亚莉

赵坡, 刘武, 吕亚莉, 中国人民解放军总医院病理科 北京市 100853
赵坡, 男, 1957-06-24 生, 四川省成都市人, 汉族. 1984 年第三军医大学学士, 1990 年第三军医大学硕士, 1993 年华西医科大学博士, 1995 年军事医学科学院博士后, 1997 年英国帝国癌症研究基金会 St Mark's 研究所研究员, 1998 年英国 Aberdeen 大学生物医学系研究员. 现任教授、主任医师, 主要从事肿瘤的病理诊断和研究, 发表论文 60 篇.

项目负责人: 赵坡, 100853, 北京市复兴路 28 号, 中国人民解放军总医院病理科. zhaopo@plagh.com.cn

电话: 010-66937954 传真: 010-68181689

收稿日期: 2003-10-09 接受日期: 2003-11-13

Loss of fragile histidine triad protein expression and its clinicopathological significance in gastric cancer

Po Zhao, Wu Liu, Ya-Li Lu

Po Zhao, Wu Liu, Yali Lu, Department of Pathology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Correspondence to: Po Zhao, Department of Pathology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China. zhaopo@plagh.com.cn

Received: 2003-10-09 Accepted: 2003-11-13

Abstract

AIM: To investigate the expression of fragile histidine triad protein, Fhit and the possible relationship between its expression and clinicopathological indices in gastric carcinoma.

METHODS: Fhit protein expression was detected in 76 cases of gastric carcinoma, 58 dysplasia and 10 normal mucosae by immunohistochemical method to analyse its relationship to histological grade, clinical stage, metastatic status and prognosis.

RESULTS: The loss of Fhit protein expression was detected in 48/76 (63.2%) cases of cancer tissue, 36/58 (62.1%) cases of adjacent dysplastic tissue and 0/10 cases of normal gastric mucosa. There was a significant difference in the expression of Fhit protein between cancer or adjacent dysplastic tissue and normal gastric mucosa ($P = 0.000$). It was also showed that loss of Fhit protein expression was found first in 35.7% (10/28) of grade I-II, and in 79.2% (38/48) of grade III ($P = 0.000$); second in 43.8% (14/32) of stage I-II, whereas in 77.3% (34/44) of stage III-IV ($P = 0.004$); and last in 36.4% (8/22) of tumors without metastasis but in 74.1% (40/54) of those with metastasis ($P = 0.003$). The significant difference in the loss of expression of Fhit was found between cancers on different histological grade, clinical stage and metastatic status, respectively. Follow-up data showed that there was a significant difference in median survival time between carcinomas with loss of Fhit (33 months) and those without (71 months) (Log rank = 20.78; $P = 0.000$).

CONCLUSION: Fhit protein is an important tumor suppressor protein. Loss of Fhit protein expression may be associated

with carcinogenesis, invasion, metastasis and prognosis in the gastric carcinoma.

Zhao P, Liu W, Lu YL. Loss of fragile histidine triad protein expression and its clinicopathological significance in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(3):516-519

摘要

目的: 探讨 76 例胃癌 Fhit 蛋白表达与临床病理的关系.

方法: 采用免疫组化方法, 检测 76 例胃癌、58 例紧邻癌旁的异常增生和 10 例正常胃黏膜的 Fhit 表达并分析其与组织学分级、临床分期以及预后的关系.

结果: 癌组织 Fhit 表达缺失为 48/76 例(63.2%), 紧邻癌旁的异常增生黏膜缺失为 36/58 例(62.1%), 而正常胃黏膜为 0/10, 相差有非常显著性($P = 0.000$) Fhit 蛋白缺失癌在癌组织学分级中的分布为 I - II 级癌 35.7% (10/28), III 级癌 79.2% (38/48), 相差有非常显著性($P = 0.000$). Fhit 蛋白缺失癌在临床分期中的分布为 I ~ II 期癌为 43.8% (14/32), III - IV 期癌 77.3% (34/44), 相差有非常显著性($P = 0.004$). Fhit 蛋白缺失癌在转移状况组的分布为转移癌 74.1% (40/54), 未转移癌为 36.4% (8/22), 相差有非常显著性($P = 0.003$). 随访资料显示 Fhit 蛋白缺失癌的中位生存时间为 33 mo, 而 Fhit 蛋白表达癌者为 71 mo, 相差有非常显著性(Log rank=20.78; $P = 0.000$).

结论: Fhit 蛋白为一种重要的抑癌蛋白, 其表达缺失状况可能与胃癌的发生、侵犯、转移以及患者的预后相关.

赵坡, 刘武, 吕亚莉. 胃癌 Fhit 蛋白表达缺失的临床病理意义. 世界华人消化杂志 2004;12(3):516-519

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/516.asp>

0 引言

脆性三联组氨酸基因(fragile histidine triad, FHIT)是最接近 p53、p16 基因之后在国外成功分离并定位于染色体 3p14.2^[1-2] 的重要抑癌基因. FHIT 基因不仅横跨家族性肾细胞癌的易位断点 t (3:8)(p14.2;q24), 同时也见于大多数人类的共同脆性位点 FRA3B. FHIT 基因结构及表达的异常见于多种常见类型的癌组织^[3-32], 胃癌中 FHIT 基因或表达的异常国外已有少量研究^[13-14, 25, 30]. 胃癌为我国常见肿瘤, 其基因研究也不少^[33-52], 但目前尚罕见中国胃癌中 FHIT 基因蛋白(Fhit)原位表达的研究, 亦未见有随访资料的分析报道. 我们报告 76 例胃

癌 Fhit 表达状况及其与临床病理指标的可能关系。

1 材料和方法

1.1 材料 我院 1996-2000 年存档并有随访资料的胃癌手术标本 76 例, 组织学 I 级 22 例, II 级 6 例, III 级 48 例; 临床 I 期 20 例, II 期 12 例, III 期 38 例, IV 期 6 例; 手术时已出现淋巴结转移 54 例, 无淋巴结转移 22 例。紧邻癌旁的异常增生黏膜 58 例作为自身对照, 正常胃黏膜 10 例为正常对照。

1.2 方法 切片脱蜡至水, 在 30 ml/L 过氧化氢 - 甲醇中浸泡 10 min 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(pH 6.0)中煮沸 5 min, 保温 10 min, 100 ml/L 羊血清封闭。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)说明书进行。参考文献[11, 22, 24]方法观察 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; 再按阳性细胞所占百分比打分: 0 分为阳性细胞小于 5%, 1 分为大于 5-25%, 2 分为大于 25-50%, 3 分为大于 50-75%, 4 分为大于 75%, 染色强度与阳性细胞百分比的乘积 9-12 分为强阳性(++), 5-8 分为弱阳性(+), 0-4 分为阴性(-)来确定 Fhit 蛋白表达状况。

统计学处理 采用 SPSS 10.0 软件, 以 Fisher's 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; 以 Kaplan-Meier 法 Log rank 检验作单因素生存分析, $P < 0.05$ 为相差有显著性意义。

2 结果

2.1 胃癌组织 Fhit 表达 Fhit 蛋白主要表达于癌旁正常或紧邻癌旁的异常增生黏膜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(图 1A)。Fhit 蛋白表达缺失的分布为癌组织 48/76 例(63.2%, 图 1B), 癌旁黏膜 36/58 例(62.1%), 正常胃黏膜 0/10。癌组织或癌旁异常增生与正常胃黏膜比较, 相差有非常显著性($P = 0.000$)。癌组织与癌旁异常增生比较, 相差无显著性($P = 1.000$)。

2.2 Fhit 蛋白表达与癌生物学行为的关系 本组 76 例胃癌标本中, Fhit 缺失癌在癌组织学分级中的分布为 I - II 级癌 35.7% (10/28), III 级癌 79.2% (38/48), 组间比较, 相差有非常显著性($P = 0.000$)。Fhit 缺失癌在临床分期中的分布为 I - II 期癌 43.8% (14/32), III - IV 期癌 77.3% (34/44), 组间比较, 相差有非常显著性($P = 0.004$)。Fhit 缺失癌在转移癌中的分布为 74.1% (40/54), 在未转移癌中的分布为 36.4% (8/22), 组间比较, 相差有非常显著性($P = 0.003$)。本组随访资料(图 2)显示 Fhit 缺失癌的中位生存时间(Median survival)为 33 mo, 而 Fhit 表达癌者则为 71 mo, 二者比较相差非常显著(Log rank=20.78; $P = 0.000$)。

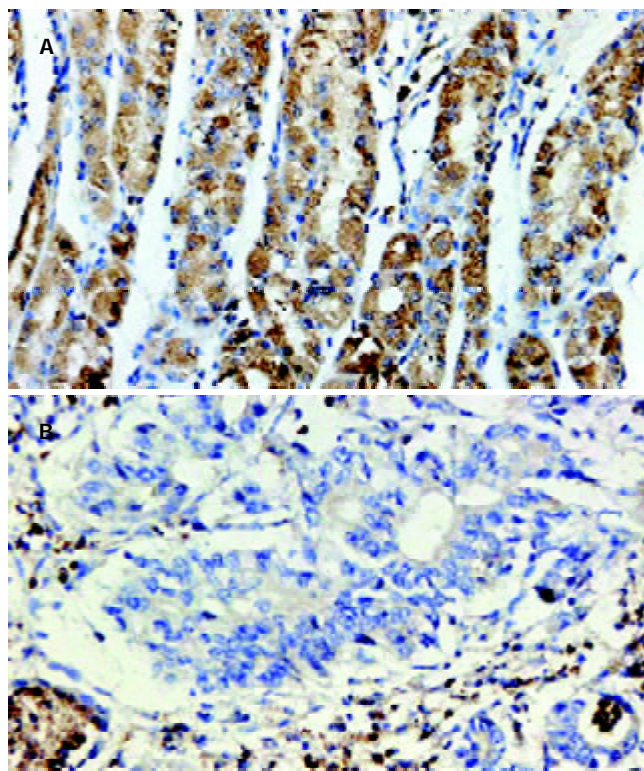


图 1 胃癌 Fhit 蛋白表达结果(SP × 200)。A: 胃正常黏膜组织的腺上皮细胞阳性; B: 胃癌细胞阴性。

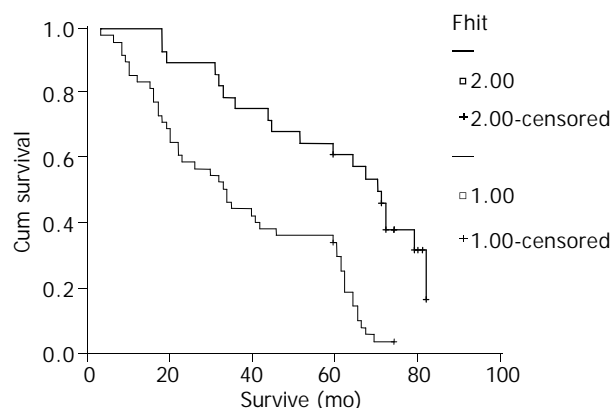


图 2 Fhit 蛋白表达状况的生存曲线。

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 表达存在频繁地降低或丢失, 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^[1-2]。Fhit 蛋白抑制肿瘤的机制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 蛋白具有去除 mRNA 帽类似物的作用, 影响重要基因 mRNA 的翻译; (3) Fhit-Ap3A 底物复合物作用。Fhit 蛋白还可与其底物 Ap3A 结合通过 Fhit-底物复合物产生抑癌作用, 其抑癌作用可能比其水解酶作用更重要。国外^[13-14, 25, 30]发现 Fhit 蛋白表达降低或丢失在胃癌发生和

演化中具有重要作用. 本研究与国外作者的结果比较, 胃癌组织 Fhit 蛋白表达缺失率为 63.2% (48/76), 证实了国外(62.9%)的发现. 本组结果中紧邻癌旁的异常增生黏膜 Fhit 蛋白表达缺失率为 62.1%, 提示 Fhit 蛋白表达缺失与胃黏膜上皮细胞的癌变有关; 本结果中 Fhit 蛋白缺失癌在各临床分期组中的分布有非常显著性差异 ($P=0.004$) 并多见于伴有转移的胃癌 ($P=0.003$); 随访资料中 Fhit 蛋白缺失癌的中位生存时间明显低于 Fhit 蛋白表达癌 (Log rank=20.78; $P=0.000$), 提示 Fhit 蛋白表达减少与癌组织侵袭、转移以及预后相关, 亦与国外的结果一致^[13-14, 25, 30]. 本结果提示 Fhit 蛋白为一种与胃癌发生和侵犯转移相关的重要抑癌蛋白. Fhit 蛋白用免疫组化方法易于检测, 可能成为一种新的分子指标监测临床患者预后.

4 参考文献

- Huebner K, Croce CM. Cancer and the FRA3B/FHIT fragile locus: it's a HIT. *Br J Cancer* 2003;88:1501-1506
- Pekarsky Y, Zaneni N, Palamarchuk A, Huebner K, Croce CM. FHIT: from gene discovery to cancer treatment and prevention. *Lancet Oncol* 2002;3:748-754
- Ginestier C, Bardou VJ, Popovici C, Charafe-Jauffret E, Bertucci F, Geneix J, Adelaide J, Chaffanet M, Hassoun J, Viens P, Jacquemier J, Birnbaum D. Loss of FHIT protein expression is a marker of adverse evolution in good prognosis localized breast cancer. *Int J Cancer* 2003;107:854-862
- Koda M, Yashima K, Kawaguchi K, Andachi H, Hosoda A, Shiota G, Ito H, Murawaki Y. Expression of Fhit, Mlh1, and P53 protein in human gallbladder carcinoma. *Cancer Lett* 2003;199:131-138
- Yura Y, Mandai M, Konishi I, Hamid AA, Tsuruta Y, Kusakari T, Fujii S. Loss of Fhit protein expression in high-grade and advanced stage endometrial carcinomas. *Anticancer Res* 2003;23:2837-2843
- Huang LW, Chao SL, Chen TJ. Reduced Fhit expression in cervical carcinoma: correlation with tumor progression and poor prognosis. *Gynecol Oncol* 2003;90:331-337
- Gopalakrishnan VK, Banerjee AG, Vishwanatha JK. Effect of FHIT gene replacement on growth, cell cycle and apoptosis in pancreatic cancer cells. *Pancreatol* 2003;3:293-302
- Koch E, Fiedler W, Tannapfel A, Ballhausen WG. Alteration of the fragile histidine triad gene in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:907-913
- Chang YL, Wu CT, Shih JY, Lee YC. Roles of Fhit and p53 in Taiwanese surgically treated non-small-cell lung cancers. *Br J Cancer* 2003;89:320-326
- Machida S, Ohwada M, Saga Y, Suzuki M. Abnormal fragile histidine triad expression in advanced cervical cancer and evaluation of its utility as a prognostic factor. *Oncology* 2003;65:89-93
- Zhao P, Song X, Nin YY, Lu YL, Li XH. Loss of fragile histidine triad protein in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:1216-1219
- Takizawa S, Nakagawa S, Nakagawa K, Yasugi T, Fujii T, Kugu K, Yano T, Yoshikawa H, Taketani Y. Abnormal Fhit expression is an independent poor prognostic factor for cervical cancer. *Br J Cancer* 2003;88:1213-1216
- Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim WH. Tumour suppressor gene expression correlates with gastric cancer prognosis. *J Pathol* 2003;200:39-46
- Rocco A, Schandl L, Chen J, Wang H, Tulassay Z, McNamara D, Malfertheiner P, Ebert MP. Loss of FHIT protein expression correlates with disease progression and poor differentiation in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003;129:84-88
- Baykal C, Ayhan A, Al A, Yuce K, Ayhan A. No relationship is indicated between FHIT expression and clinicopathologic prognostic parameters in early stage cervical carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2003;13:192-196
- Sevignani C, Calin GA, Cesari R, Sarti M, Ishii H, Yendamuri S, Vecchione A, Trapasso F, Croce CM. Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in breast cancer cell lines. *Cancer Res* 2003;63:1183-1187
- Noguchi T, Takeno S, Kimura Y, Uchida Y, Daa T, Yokoyama S, Gabbert HE, Mueller W. FHIT expression and hypermethylation in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med* 2003;11:441-447
- Fouts RL, Sandusky GE, Zhang S, Eckert GJ, Koch MO, Ulbright TM, Eble JN, Cheng L. Down-regulation of fragile histidine triad expression in prostate carcinoma. *Cancer* 2003;97:1447-1452
- Sukosd F, Kuroda N, Beothe T, Kaur AP, Kovacs G. Deletion of chromosome 3p14. 2-p25 involving the VHL and FHIT genes in conventional renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:455-457
- Petursdottir TE, Hafsteinsdottir SH, Jonasson JG, Moller PH, Thorsteinsdottir U, Huiping C, Egilsson V, Ingvarsson S. Loss of heterozygosity at the FHIT gene in different solid human tumours and its association with survival in colorectal cancer patients. *Anticancer Res* 2002;22:3205-3212
- Mineta H, Miura K, Takebayashi S, Misawa K, Ueda Y, Suzuki I, Ito M, Wennerberg J. Low expression of fragile histidine triad gene correlates with high proliferation in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2003;39:56-63
- Zhao P, Li XY, Chen LZ. Loss of fragile histidine triad expression and metastasis in breast cancer. *Ai Zheng* 2002;21:668-670
- Pekarsky Y, Palamarchuk A, Huebner K, Croce CM. FHIT as tumor suppressor: mechanisms and therapeutic opportunities. *Cancer Biol Ther* 2002;1:232-236
- Zhao P, Lu Y, Hu Y, Zhong M, Li Z, Li X. Loss of fragile histidine triad expression in colorectal carcinoma. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2002;31:124-127
- Chang YT, Wu MS, Chang CJ, Huang PH, Hsu SM, Lin JT. Preferential loss of Fhit expression in signet-ring cell and Krukenberg subtypes of gastric cancer. *Lab Invest* 2002;82:1201-1218
- Petursdottir TE, Hafsteinsdottir SH, Jonasson JG, Moller PH, Thorsteinsdottir U, Huiping C, Egilsson V, Ingvarsson S. Loss of heterozygosity at the FHIT gene in different solid human tumours and its association with survival in colorectal cancer patients. *Anticancer Res* 2002;22:3205-3212
- Mady HH, Melhem MF. FHIT protein expression and its relation to apoptosis, tumor histologic grade and prognosis in colorectal adenocarcinoma: an immunohistochemical and image analysis study. *Clin Exp Metastasis* 2002;19:351-358
- Pavelic K, Krizanac S, Cacev T, Hadzija MP, Radosevic S, Crnic I, Levanat S, Kapitanovic S. Aberration of FHIT gene is associated with increased tumor proliferation and decreased apoptosis-clinical evidence in lung and head and neck carcinomas. *Mol Med* 2001;7:442-453
- Mori M, Mimori K, Masuda T, Yoshinaga K, Yamashita K, Matsuyama A, Inoue H. Absence of Msh2 protein expression is associated with alteration in the FHIT locus and Fhit protein expression in colorectal carcinoma. *Cancer Res* 2001;61:7379-7382
- Caselli M, Marchisio M, Gaudio M, Saragoni L, Lanza G, Alvisi V, Bertagnolo V, Concu M, Capitani S, Caramelli E. Fhit protein expression in human gastric cancer and related precancerous lesions. *Oncol Rep* 2001;8:1233-1237
- Kitamura A, Yashima K, Okamoto E, Andachi H, Hosoda A, Kishimoto Y, Shiota G, Ito H, Kaibara N, Kawasaki H. Reduced Fhit expression occurs in the early stage of esophageal tumorigenesis: no correlation with p53 expression and apoptosis. *Oncology* 2001;61:205-211

- 32 Deng YF, Tian F, Lu YD, Chen ZC, Xie DH, Yang XM, Shao XY. Mutation and abnormal expression of the fragile histidine triad gene in nasopharyngeal carcinoma. *Laryngoscope* 2001; 111:1589-1592
- 33 金顺花, 朴熙绪, 金海峰, 朴凤顺, 许强. P27kipl、CyclinE 和 CyclinA 在胃癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2003;11: 1804-1806
- 34 孙利平, 李岩, 张宁, 姜乃佳, 付伟, 薛一雪. MDM2 基因扩增和蛋白表达与胃癌相关性的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:1800-1801
- 35 李宏武, 单吉贤. HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤. 世界华人消化杂志 2003;11:1749-1751
- 36 张翠萍, 田字彬, 赵清喜, 武军, 梁永信. 胃癌组织 CD44v9 和 MMP-2 基因的表达. 世界华人消化杂志 2003;11:1531-1534
- 37 徐采朴, 周永宁, 陈渝. alpha-连接素表达与胃癌生物学行为的关系. 世界华人消化杂志 2003;11:1275-1278
- 38 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东瑛, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉. 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义. 世界华人消化杂志 2003;11:1294-1296
- 39 李俊美, 罗和生, 姚宏昌. 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达. 世界华人消化杂志 2003;11:1302-1305
- 40 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆. GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联. 世界华人消化杂志 2003;11:1306-1309
- 41 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌. 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系. 世界华人消化杂志 2003; 11:1310-1313
- 42 叶梅, 刘君炎, 邓长生. 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联. 世界华人消化杂志 2003;11:1314-1317
- 43 伍银桥, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬缔, 祝庆孚. 胃癌前病变演变过程中凋亡相关蛋白和 PCNA 的表达意义. 世界华人消化杂志 2003; 11:1219-1222
- 44 朱亚青, 尹浩然, 朱正纲, 刘炳亚, 张奕, 陈雪华, 于颖彦, 林言箴. 胃癌 SMAD4/DPC4 杂合性丢失的研究. 世界华人消化杂志 2003; 11:522-525
- 45 潘传敬, 刘宽宇. 胃癌增生凋亡与调节基因的表达. 世界华人消化杂志 2003;11:526-530
- 46 褚传莲, 李延青, 张燕, 李文婕, 赵宪邨. 细胞外信号调节激酶在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2003;11:481-482
- 47 任群, 王振宁, 罗阳, 敖杨, 鲁冲, 姜莉, 徐惠绵, 张学. 胃癌中 18 号染色体的杂合性丢失研究. 世界华人消化杂志 2003;11:310-313
- 48 房殿春. 基因不稳在胃癌发生中的作用. 世界华人消化杂志 2003; 11:1-5
- 49 郝冬梅, 孙秀菊, 郑志红, 贺光, 马鸣超, 徐惠绵, 王梅先, 孙开来. 胃癌癌前病变相关基因的筛查及表达研究. 世界华人消化杂志 2003;11:6-9
- 50 孙秀菊, 孙开来, 付浩, 王舒宝, 陈峻青. 胃癌细胞 nm23H1 基因表达与体内外侵袭力的关系. 世界华人消化杂志 2003;11:10-13
- 51 尹芳, 时永全, 陈彩平, 乔泰东, 陈宝军, 苗继延, 樊代明. 胃癌耐药相关抗体 MGr1 筛选文库获得的基因 MGr1-Ag1 在胃癌组织中表达的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:18-21
- 52 周永宁, 徐采朴, 房殿春. CpG 岛甲基化与胃肠道肿瘤. 世界华人消化杂志 2003;11:65-71

World Journal of Gastroenterology 2005 年将改为周刊

《World Journal of Gastroenterology, WJG》是我国消化病学领域中惟一以全英文发表原创性论文的国际性学术期刊. WJG 创刊于 1995 年, 原名《China National Journal of New Gastroenterology》, 1998 年更名为 WJG, 由世界胃肠病学杂志社出版. WJG 国际标准刊号 ISSN 1007-9327, 国内统一刊号 CN 14-1219/R, 月刊, 大 16 开, 256 页, 邮发代号 82-261, 北京报刊发行局发行. 为适应我国消化病学专业基础与临床研究的快速发展, 以及日益增多的国际科技交流的需要, 从 2005 年开始, WJG 将由半月刊改为周刊, 大 16 开, 160 页, 每月 7、14、21、28 日出版.