

胃癌和胃癌前病变组织 FHIT 基因的杂合性丢失

刘平, 游思洪, 张小勇, 张道富, 丁小健

刘平, 游思洪, 南京医科大学第一附属医院肿瘤科 江苏省南京市 210029
张小勇, 张道富, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029
丁小健, 南京医科大学第一附属医院中心实验室 江苏省南京市 210029
刘平, 男, 1955-10-28 生, 江苏省如皋市人, 汉族, 1985 年南京医科大学硕士, 主任医师, 副教授, 主要从事消化系统恶性肿瘤防治的临床研究。
江苏省医学重点人才 135 工程资助项目, No. 52-2001
通讯作者: 刘平, 210029, 江苏省南京市广州路 300 号, 南京医科大学第一附属医院肿瘤科。liupinga@yahoo.com
电话: 025-83718836-6415 传真: 025-83724440
收稿日期: 2005-01-28 接受日期: 2005-02-26

Heterozygosity loss of fragile histidine triad gene in gastric cancer and precancerous lesions

Ping Liu, Si-Hong You, Xiao-Yong Zhang, Dao-Fu Zhang, Xiao-Jian Ding

Ping Liu, Si-Hong You, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Xiao-Yong Zhang, Dao-Fu Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Xiao-Jian Ding, Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by "135 project" for outstanding person in medicine of Jiangsu Province, No. 52-2001
Correspondence to: Dr. Ping Liu, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. liupinga@yahoo.com
Received: 2005-01-28 Accepted: 2005-02-26

Abstract

AIM: To detect the loss of heterozygosity (LOH) of fragile histidine triad (FHIT) gene in gastric cancer and precancerous lesions (dysplasia and intestinal metaplasia), and to analyze its role in the carcinogenesis of gastric cancer.

METHODS: The LOH at microsatellites loci D3S1234 and D3S1300 of FHIT gene were measured in samples of gastric cancer ($n = 42$), dysplasia ($n = 44$), intestinal metaplasia ($n = 51$) and their corresponding normal tissues by (polymerase chain reaction) PCR.

RESULTS: The rates of LOH at D3S1234 locus were 32.4% (11/34), 28.6% (10/35) and 10% (4/40) in gastric cancer, dysplasia and intestinal metaplasia respectively, and the ones at D3S1300 locus were 33.3% (12/36), 32.4% (11/34) and 7.7% (3/39) respectively. The LOH rates at D3S1234 and D3S1300 loci in gastric cancer and atypical hyperplasia were higher than that of intestinal metaplasia ($P < 0.05$,

$P < 0.01$ for D3S1234 and D3S1300 respectively). No significant difference of LOH rate was found between gastric cancer and dysplasia.

CONCLUSION: The loss of heterozygosity of FHIT gene may be an early event in the tumorigenesis of gastric cancer.

Key Words: Stomach neoplasms; Gastric cancer; Precancerous lesion; Fragile histidine triad; Loss of heterozygosity

Liu P, You SH, Zhang XY, Zhang DF, Ding XJ. Heterozygosity loss of fragile histidine triad gene in gastric cancer and precancerous lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(10):1190-1193

摘要

目的: 检测脆性组氨酸三联体基因在胃癌和胃癌前病变(肠上皮化生、不典型增生)中的杂合性丢失(LOH), 分析 LOH 在胃癌发生中的作用。

方法: 用 PCR 的方法检测胃癌 42 例, 不典型增生 44 例, 肠上皮化生组织 51 例和自身正常对照组织中 FHIT 基因多态性位点 D3S1234, D3S1300 的 LOH。

结果: 胃癌组、不典型增生组、肠上皮化生组在 D3S1234 位点的 LOH 发生率分别为 32.4%(11/34), 28.6%(10/35), 10%(4/40); 在 D3S1300 位点的 LOH 发生率分别为 33.3%(12/36), 32.4%(11/34), 7.7%(3/39)。胃癌组、不典型增生组在 D3S1234 和 D3S1300 位点的 LOH 发生率显著高于肠上皮化生组。胃癌组和不典型增生组之间在 D3S1234, D3S1300 位点的 LOH 发生率均无统计学差异。

结论: FHIT 基因的 LOH 可能是胃癌形成过程中的早期事件, 在胃癌发生发展过程可能发挥了一定的作用。

关键词: 胃肿瘤; 胃癌; 癌前病变; 脆性组氨酸三联体; 杂合性丢失

刘平, 游思洪, 张小勇, 张道富, 丁小健. 胃癌和胃癌前病变组织 FHIT 基因的杂合性丢失. *世界华人消化杂志* 2005;13(10):1190-1193
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1190.asp>

0 引言

胃癌的发病机制至今仍未完全明确。人们一直致力于研究胃癌的基因改变, 试图在基因水平阐明胃癌的发病机制, 探索基因的异常改变用于高危人群筛

查、早期诊断的可能性。近年脆性组氨酸三联体 (fragile histidine triad, FHIT) 抑癌基因引起人们的重视, 我们检测了胃癌、胃癌前病变 (胃黏膜肠上皮化生、不典型增生) 患者 FHIT 基因的杂合性丢失 (loss of heterozygosity, LOH), 并对其意义进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌 42 例来自南京医科大学第一附属医院胃镜室 2002-10/2003-03 采集的胃镜活检标本, 男 28 例, 女 14 例, 年龄 38-82 (平均 60.0) 岁, 另取距离肿瘤边缘 5 cm 以上的正常胃黏膜作为自身对照; 胃癌的新鲜组织在胃镜下取活检后, 立即投入液氮中冷冻, 然后置于 -80℃ 冰箱中保存备用。胃黏膜不典型增生 44 例, 男 28 例, 女 16 例, 年龄 16-75 (平均 56.9) 岁; 胃黏膜肠上皮化生 51 例, 男 27 例, 女 24 例, 年龄 34-70 (平均 54.1) 岁。肠化生和不典型增生组织均来自南京医科大学第一附属医院病理科保存的石蜡包埋标本, 包括病变组织和作为自身对照的正常胃黏膜。切取厚 20 μm 的切片, 置于 1.5 mL 的 Eppendorf 管中保存备用。引物由上海博亚生物技术有限公司合成, MBI Fermentas 生产的 Taq DNA 聚合酶购自晶美生物工程有限公司, dNTPs 购自南京生兴生物技术有限公司, PCR 仪为 MJ Research 的 PTC-200, 凝胶成像系统为 UVP 公司的产品。检测 FHIT 基因的多态性位点 D3S1300, D3S1234, 引物序列见表 1, 参考文献 [1-2] 设计, 由上海博亚生物技术有限公司合成。

表1 引物序列表

引物对名称	引物对序列	目的片段	退火温度
D3S1300	F: 5' -AGCTCACATTCTAGTCAGCCT-3' ¹ R: 3' -GTAGACCCCTTAACCG-5' ¹ F: 5' -ACAAAGGAACGTCATGTGGTAGG-3' ² R: 3' -CCGTAAGGTGCTTCTTATTGTGCG-5' ²	≈ 155 bp	57℃
D3S1234	F: 5' -CCTGTGAGACAAAGCAAGAC-3' R: 3' -AATCGGGACACGGATTACAG-5'	≈ 111 bp	57℃

¹ 为巢式 PCR 的外侧引物对; ² 为巢式 PCR 的内侧引物对。

1.2 方法 新鲜组织用常规的酚-氯仿法提取 DNA; 蜡块切片经二甲苯脱蜡, 无水酒精置换出二甲苯, 蛋白酶 K 消化 (55℃ 3 h 或 37℃ 过夜), 然后如同新鲜组织一样用酚-氯仿法提取 DNA。提取的 DNA 溶解于 pH 8.0 的 TE 缓冲液中, 用 6 g/L 的琼脂糖电泳鉴定样品中的 DNA, 紫外分光光度计测定样品的 A_{260} , A_{280} , 计算样品 DNA 含量及纯度。PCR 反应体系为 1 × PCR 缓冲液 (无 $MgCl_2$)、2.5 mmol/L $MgCl_2$ 、200 μmol/L dNTPs、

Taq DNA 聚合酶 1U、0.6 μmol/L 引物、DNA 模板 200 ng, 加灭菌三蒸水至终体积 50 μL。扩增 D3S1234 位点的反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 45 s, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 40 个循环, 最后一个循环在 72℃ 延伸 7 min。扩增 D3S1300 位点采用巢式 PCR 的方法, 外侧反应的反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 45 s, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 30 个循环, 最后一个循环在 72℃ 延伸 7 min; 内侧反应的反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 57℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 45 s, 共 30 个循环, 最后一个循环在 72℃ 延伸 5 min。PCR 反应结束后, 取出反应管, 置 4℃ 冰箱保存备用。取 5 × 上样缓冲液 1.5 μL 加 PCR 产物 6 μL, 选用浓缩胶 50 g/L、分离胶 80 g/L 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 鉴定 PCR 扩增产物, 银染, 染色结束后, 凝胶置于两层干胶膜中, 于 37℃ 烘箱中烘烤过夜, 干胶用凝胶成像系统扫描, 所获得的凝胶图像用 Gel-Pro Analyzer 4.0 凝胶分析软件进行分析。当患者为某一多态性位点的杂合子时, 相应正常对照组织的 PCR 扩增产物在聚丙烯酰胺凝胶电泳图上表现为两条等位基因条带, 可用于杂合性丢失 (LOH) 分析, 若父方与母方等位基因条带无明显区分 (纯合子), 则为无多态信息, 不进行 LOH 分析; 杂合性丢失的判定: 与对照相比较, 杂合性条带缺失或光密度减少一半以上; 微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI) 的判定: 条带数目增加或电泳迁移率改变, 因为 MSI 影响 LOH 的判断, 故对于某一多态性位点, 如果出现 MSI, 则被排除在 LOH 的分析之外 [3-5]。

统计学处理 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

FHIT 基因的多态性位点 D3S1234, D3S1300 均能扩增出 PCR 产物, 其目的片段的大小与理论值相符。胃癌组、不典型增生组和肠上皮化生组在 D3S1234 位点的杂合性比率分别为 81.0% (34/42), 79.5% (35/44), 78.4% (40/51), 各组之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 胃癌组、不典型增生组和肠上皮化生组在 D3S1300 位点的杂合性比率分别为 85.7% (36/42), 77.3% (34/44), 76.5% (39/51), 各

表2 不同胃组织在 D3S1234 和 D3S1300 位点 LOH 发生率

组织	D3S1234	D3S1300
胃癌	11/34 (32.4%) ^a	12/36 (33.3%) ^b
不典型增生	10/35 (28.6%) ^a	11/34 (32.4%) ^b
肠上皮化生	4/40 (10.0%)	3/39 (7.7%)

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 肠上皮化生。

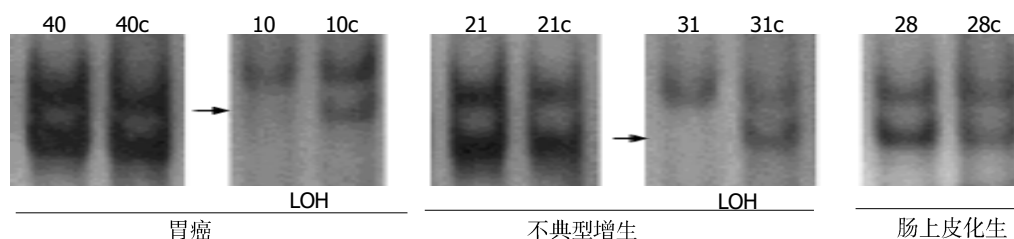


图1 胃癌、不典型增生、肠上皮化生 D3S1234 位点的典型电泳图。数字代表标本号，“c”代表各个标本的自身对照箭头所指处为等位基因条带杂合性丢失(LOH)。

组之间的差异亦无统计学意义($P>0.05$)。但 LOH 发生率的差异具有统计学显著性(表 2)。

胃癌组、不典型增生组在 D3S1234 位点的 LOH 发生率显著高于肠上皮化生组($P<0.05$)，二者在 D3S1300 位点的 LOH 发生率显著高于肠上皮化生组($P<0.01$)。胃癌组和不典型增生组之间在 D3S1234, D3S1300 位点的 LOH 发生率均无统计学差异。典型电泳图见图 1, 2。

3 讨论

胃癌在我国发病率和死亡率很高，其治疗效果和远期生存率与诊断确立时的临床分期相关，早期胃癌有相当一部分可以治愈，但进展期后，这种可能性很小。多年来，人们一直在寻找与胃癌发生相关的基因异常，研究了许多与胃癌相关的癌基因^[6-10]、抑癌基因^[11-15]、凋亡调节基因^[16-19]、微卫星不稳定性^[5, 20-22]等，但目前真正能用于临床实践者很少。脆性组氨酸三联体 FHIT 基因是肿瘤抑制基因，FHIT⁻ 缺陷小鼠(FHIT^{+/-}，和 $-/-$)对肿瘤的易感性增高，更易于发生各种肿瘤^[23-25]。FHIT 蛋白可能通过与微管的相互作用而发挥他的肿瘤抑制剂活性^[26]，也能诱导细胞凋亡和细胞周期改变，出现 G₀/G₁ 停滞^[27]。如果抑癌基因的一对等位基因中的一条已经失活，那么另一条只要再经过一次突变、失活，就可以导致该抑癌基因失活，促使肿瘤发生^[28]。FHIT 基因内部或附近的多态性位点很多，而 D3S1234 和 D3S1300 位于该基因内含子 5 之内^[29]，检测这两个位点常被研究者用于 FHIT 基因杂合性丢失的研究，在胃癌中可见到 FHIT 基因的改变，包括纯合性缺失(homozygous deletion)、杂合性丢失(LOH)等^[30-34]。对于 FHIT 基因改变的方式、频

度、在胃癌发生中的作用、以及与临床病理参数的关系，各家的报道不尽相同。Gemma *et al*^[30]分析了 40 例原发性胃癌 FHIT 基因的等位基因缺失(allelic deletion)，结果 D3S1234 位点为 7/24 (29.2%)，D3S1300 位点为 8/29 (27.6%)；而 Tamura *et al*^[32]在 23 例原发性胃癌中只发现 2/16 (13%) 的病例在 D3S1300 显示杂合性丢失。我们的研究显示，42 例胃癌在 D3S1234 位点的 LOH 发生率为 32.4% (11/34)，在 D3S1300 位点的 LOH 发生率为 33.3% (12/36)，与 Gemma *et al* 的结果相仿，而与 Tamura *et al* 的结果有一定差异。这些差异一方面可能与不同研究者采用的研究方法差异有关，另一方面也可能反映了所研究人群的不同遗传背景的差异。

胃癌的形成是按照“肠上皮化生→不典型增生→胃癌”的过程演进的，肠上皮化生不一定发展到胃癌，但不典型增生，特别是重度不典型增生很可能进展到胃癌。我们研究显示，胃癌组与不典型增生组在 D3S1234 位点和 D3S1300 位点的 LOH 发生率均高于肠上皮化生组，而胃癌组与不典型增生组之间在 D3S1234 位点和 D3S1300 位点的 LOH 发生率则无统计学差异。提示早在不典型增生的时候部分患者 FHIT 基因已发生 LOH，该基因的 LOH 可能是胃癌形成过程中的早期事件。本研究首次报道了不典型增生和肠上皮化生组织在 D3S1234 和 D3S1300 位点的 LOH 的发生情况(国内外尚未见相关报道)，但检测这两个位点的 LOH 能否用于胃癌高危人群的筛查以及胃癌的早期诊断，尚需要深入研究。另外，LOH 只是使得一对等位基因中的一条失活，那么在肿瘤发生的过程中另一条是如何失活的？FHIT 基因启动子区的高甲基化可

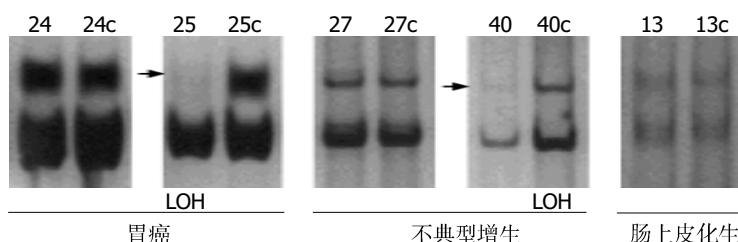


图2 胃癌、不典型增生、肠上皮化生 D3S1300 位点的典型电泳图。数字代表标本号，“c”代表各个标本的自身对照箭头所指处为等位基因条带杂合性丢失(LOH)。

能是调节该基因表达的机制^[35],但在胃癌中尚未见这方面的报道,有必要在这方面进行研究.

4 参考文献

- Gramantieri L, Chieco P, Di Tomaso M, Masi L, Piscaglia F, Brillanti S, Gaiani S, Valgimigli M, Mazziotti A, Bolondi L. Aberrant fragile histidine triad gene transcripts in primary hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:3468-3475
- 周清华, 陈军, 覃扬, 孙芝琳, 刘伦旭, 孙泽芳, 车国卫, 李潞, 秦建军, 官友陵. 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;4:10-14
- 徐先发, 李立, 张建军, 高燕宁, 张瑞华, 唐平章, 程书钧. 喉癌三号染色体短臂(3p)抑癌基因微卫星多态位点的杂合性缺失检测. *耳鼻咽喉-头颈外科* 2002;9:231-235
- 彭志海, 凌云, 柏邵春, 唐华美, 周崇治, 裴国强, 刘万清, Xie KP, 贺林. 散发性结肠癌 3 号染色体等位基因杂合缺失. *中华医学杂志* 2001;81:336-339
- 张道富, 刘平, 张小勇, 黄霞月, 杜青. 胃癌中转化生长因子- β RII、胰岛素样生长因子-1IR、Bax 基因突变与微卫星不稳定性相关性研究. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2004;24:340-343
- Konturek PC, Konturek SJ, Pierzchalski P, Bielanski W, Duda A, Marlicz K, Starzynska T, Hahn EG. Cancerogenesis in *Helicobacter pylori* infected stomach-role of growth factors, apoptosis and cyclooxygenases. *Med Sci Monit* 2001;7:1092-1107
- Oliveira C, Seruca R, Seixas M, Sobrinho-Simoes M. The clinicopathological features of gastric carcinomas with microsatellite instability may be mediated by mutations of different "target genes": a study of the TGF β 2, IGFII R, and BAX genes. *Am J Pathol* 1998;153:1211-1219
- Inoue T, Kataoka H, Goto K, Nagaike K, Igami K, Naka D, Kitamura N, Miyazawa K. Activation of c-Met (hepatocyte growth factor receptor) in human gastric cancer tissue. *Cancer Sci* 2004;95:803-808
- Zhang GX, Gu YH, Zhao ZQ, Xu SF, Zhang HJ, Wang HD, Hao B. Coordinate increase of telomerase activity and c-Myc expression in *Helicobacter pylori*-associated gastric diseases. *World J Gastroenterol* 2004;10:1759-1762
- Scartozzi M, Galizia E, Freddari F, Berardi R, Cellerino R, Cascinu S. Molecular biology of sporadic gastric cancer: prognostic indicators and novel therapeutic approaches. *Cancer Treat Rev* 2004;30:451-459
- Graziano F, Cascinu S, Staccioli MP, Catalano V, Rossi MC, Baldelli AM, Giordani P, Mureto P, Catalano G. Potential role and chronology of abnormal expression of the Deleted in Colon Cancer (DCC) and the p53 proteins in the development of gastric cancer. *BMC Cancer* 2001;1:9
- Huiping C, Kristjansdottir S, Jonasson JG, Magnusson J, Egilsson V, Ingvarsson S. Alterations of E-cadherin and beta-catenin in gastric cancer. *BMC Cancer* 2001;1:16
- Tycko B. Epigenetic gene silencing in cancer. *J Clin Invest* 2000;105:401-407
- Mattar R, Nonogaki S, Silva C, Alves V, Gama-Rodrigues JJ. P53 and Rb tumor suppressor gene alterations in gastric cancer. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 2004;59:172-180
- Yang L, Kuang LG, Zheng HC, Li JY, Wu DY, Zhang SM, Xin Y. PTEN encoding product: a marker for tumorigenesis and progression of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:35-39
- Byun DS, Cho K, Ryu BK, Lee MG, Kang MJ, Kim HR, Chi SG. Hypermethylation of XIAP-associated factor 1, a putative tumor suppressor gene from the 17p13. 2 locus, in human gastric adenocarcinomas. *Cancer Res* 2003;63:7068-7075
- van der Woude CJ, Kleibeuker JH, Tiebosch AT, Homan M, Beuving A, Jansen PL, Moshage H. Diffuse and intestinal type gastric carcinomas differ in their expression of apoptosis related proteins. *J Clin Pathol* 2003;56:699-702
- Yang LQ, Fang DC, Wang RQ, Yang SM. Effect of NF-kappaB, survivin, Bcl-2 and Caspase3 on apoptosis of gastric cancer cells induced by tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand. *World J Gastroenterol* 2004;10:22-25
- Kania J, Konturek SJ, Marlicz K, Hahn EG, Konturek PC. Expression of survivin and caspase-3 in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2003;48:266-271
- Perez RO, Jacob CE, D'Ottaviano FL, Alvarenga C, Ribeiro AS, Ribeiro Jr U, Bresciani CJ, Zilberstein B, Krieger JE, Habr-Gama A, Gama-Rodrigues JJ. Microsatellite instability in solitary and sporadic gastric cancer. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 2004;59:279-285
- Palli D, Russo A, Ottini L, Masala G, Saieva C, Amorosi A, Cama A, D'Amico C, Falchetti M, Palmirotta R, Decarli A, Costantini RM, Fraumeni JF Jr. Red meat, family history, and increased risk of gastric cancer with microsatellite instability. *Cancer Res* 2001;61:5415-5419
- 刘平, 张小勇, 邵耘, 赵志泉. 胃黏膜异型增生组织中微卫星不稳定性的检测及其意义的探讨. *世界华人消化杂志* 2004;12:512-515
- Zanesi N, Fidanza V, Fong LY, Mancini R, Druck T, Valtieri M, Rudiger T, McCue PA, Croce CM, Huebner K. The tumor spectrum in FHIT-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10250-10255
- Fong LY, Fidanza V, Zanesi N, Lock LF, Siracusa LD, Mancini R, Siprashvili Z, Ottey M, Martin SE, Druck T, McCue PA, Croce CM, Huebner K. Muir-Torre-like syndrome in Fhit-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:4742-4747
- Ishii H, Zanesi N, Vecchione A, Trapasso F, Yendamuri S, Sarti M, Baffa R, During MJ, Huebner K, Fong LY, Croce CM. Regression of upper gastric cancer in mice by FHIT gene delivery. *FASEB J* 2003;17:1768-1770
- Chaudhuri AR, Khan IA, Prasad V, Robinson AK, Luduena RF, Barnes LD. The tumor suppressor protein Fhit. A novel interaction with tubulin. *J Biol Chem* 1999;274:24378-24382
- Sard L, Accornero P, Torielli S, Delia D, Bunone G, Campiglio M, Colombo MP, Gramegna M, Croce CM, Pierotti MA, Sozzi G. The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:8489-8492
- Knudson AG. Antioncogenes and human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10914-10921
- Ohta M, Inoue H, Coticelli MG, Kastury K, Baffa R, Palazzo J, Siprashvili Z, Mori M, McCue P, Druck T, Croce CM, Huebner K. 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;84:587-597
- Gemma A, Hagiwara K, Ke Y, Burke LM, Khan MA, Nagashima M, Bennett WP, Harris CC. FHIT mutations in human primary gastric cancer. *Cancer Res* 1997;57:1435-1437
- Lee SH, Kim WH, Kim HK, Woo KM, Nam HS, Kim HS, Kim JG, Cho MH. Altered expression of the fragile histidine triad gene in primary gastric adenocarcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284:850-855
- Tamura G, Sakata K, Nishizuka S, Maesawa C, Suzuki Y, Iwaya T, Terashima M, Saito K, Satodate R. Analysis of the fragile histidine triad gene in primary gastric carcinomas and gastric carcinoma cell lines. *Genes Chromosomes Cancer* 1997;20:98-102
- Baffa R, Veronese ML, Santoro R, Mandes B, Palazzo JP, Rugge M, Santoro E, Croce CM, Huebner K. Loss of FHIT expression in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4708-4714
- Noguchi T, Muller W, Wirtz HC, Willers R, Gabbert HE. FHIT gene in gastric cancer: association with tumour progression and prognosis. *J Pathol* 1999;188:378-381
- 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