

# 脆性组氨酸三联体基因及 p53 基因在肺癌组织中的表达及意义

虞新兰<sup>1</sup>, 白 明<sup>2</sup>

Expression of Fragile Histidine Triay Gene(FHIT) and p53 in Lung Carcinoma and Its Significance

TUO Xin-lan<sup>1</sup>, BAI Ming<sup>2</sup>

1. School of Medicine and Life Sciene, Jiangnan University, Wuhan 430022, China; 2. Xiehe Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology

**Abstract :Objective** To investigate the expression of FHIT gene in lung carcinoma and its relationship with differentiation degree and histological types and the expression of p53 gene. **Methods** The expressions of FHIT and p53 were detected by immunohistochemistry method and tissue microarray technique in the specimens of 110 lung carcinoma and 25 benign lung lesions. **Results** Abnormal expression rate of FHIT was 16 % in benign lung lesions, 85.5 % in lung carcinoma, the difference was very significant between them ( $P < 0.01$ ); when the differentiation degree was different, the difference of FHIT expression in the lung carcinoma was very significant ( $P < 0.01$ ), and FHIT expression was positive correlation with differentiation degree ( $r = 0.608$ ,  $P < 0.01$ ); when the histological types were different, the difference of FHIT expression in the lung carcinoma was not statistical significance ( $P > 0.05$ ); comparing the negative expression group with the positive one of p53, the difference of FHIT expression in the lung carcinoma was not statistical significance ( $P > 0.05$ ); in lung carcinoma abnormal expression rate of p53 was 53.6 %, abnormal expression rate of FHIT was 85.4 %, the difference was statistical significance ( $P < 0.01$ ); the rate of union detection was 93.6 %. **Conclusion** FHIT protein may become the molecular maker of earlier period diagnosing of lung carcinoma, and the union detection of FHIT, p53 protein will help to improve the detection rate; FHIT protein influences direction of differentiation of the lung carcinoma cell, and this will offer new thinking for the development of clinical tumour drug.

**Key words** : Lung carcinoma; Fragile histidine triad gene(FHIT); p53

**摘 要**:目的 探讨脆性组氨酸三联体基因(FHIT)在肺癌组织中的表达及其与肺癌分化程度、组织学分类、p53 表达的关系。方法 利用组织芯片,运用免疫组织化学技术,对 110 例肺癌及 25 例良性病变的肺组织标本分别进行 FHIT、p53 蛋白检测。结果 良性病变肺组织 FHIT 异常表达率为 16 %,而肺癌组织中 FHIT 异常表达率为 85.5 %。肺癌组织与良性病变肺组织相比,差异有极显著性 ( $P < 0.01$ );分化程度不同肺癌组织, FHIT 表达差异有极显著性 ( $P < 0.01$ ),且 FHIT 基因表达与肺癌组织分化程度正相关 ( $P < 0.01$ );组织学分类不同的肺癌组织, FHIT 基因表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); p53 阴性表达组和阳性表达组, FHIT 的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); p53 异常表达率为 53.6 %, FHIT 异常表达率为 85.4 %,两者比较差异有极显著性 ( $P < 0.01$ )。p53 异常表达与 FHIT 异常表达共同检出率为 93.6 %。结论 FHIT 蛋白可能成为肺癌早期诊断的更有效分子标记物, p53 蛋白与 FHIT 蛋白的联合检测有助于提高肺癌的检出率; FHIT 蛋白影响肺肿瘤细胞的分化方向,为临床药物开发提供新思路。

**关键词**: 肺癌; 脆性组氨酸三联体基因(FHIT); p53

中图分类号: R734.202 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2007)01-0109-03

## 0 引言

FHIT 基因是一种候选肿瘤抑制基因,容易在

外界环境致癌因素作用下发生变异,从而导致肿瘤形成。因此,探讨 FHIT 基因与肺癌的关系,可能为肺癌发生机制的研究找到一个突破点。

本研究运用免疫组织化学技术及组织微阵列技术,检测了 110 例肺癌及 25 例良性病变的肺组织标本中 FHIT、p53 的表达情况,以探讨其与肺癌的发

收稿日期: 2006-02-28; 修回日期: 2006-10-13

作者单位: 1. 430056 武汉, 江汉大学医学与生命科学学院; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院

作者简介: 虞新兰(1969-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事肺癌临床治疗与研究

生、发展及生物学行为的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

收集北京友谊医院手术切除肺癌标本 110 例,良性病变肺组织 25 例。全部肺癌病例术前未经化疗及放疗处理,由有经验的病理医生根据 WHO 肺和胸膜组织学分型第 3 版 1999 年标准进行 HE 病理切片复查,其中鳞状细胞癌 40 例,腺癌 58 例,其他癌 12 例;高分化癌 53 例,中分化癌 31 例,低分化癌 26 例。所有组织均经 10 %福尔马林固定,石蜡包埋,由北京友谊医院病理科构建组织芯片 3 个:52 点、60 点、26 点,其中每组芯片均以正常肾组织作为定位标记,芯片直径 6mm,片厚 4μm(图略)。

1.2 主要试剂及方法

兔抗人 FHIT 多克隆抗体购于北京中山生物技术有限公司,美国 ZYMED 公司产品;鼠抗人 p53 单克隆抗体及 SP 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司,均为美国 NEOMARKERS 公司产品。操作步骤按试剂盒说明书进行。以磷酸缓冲液代替一抗作阴性对照,抗原修复采用高压修复。

1.3 结果判定

FHIT 蛋白主要表达于正常肺组织支气管末端粘膜上皮细胞、型肺泡上皮细胞及部分肺癌细胞的胞质及部分细胞核内。此外,部分上皮组织周围细胞如淋巴细胞和组织细胞的细胞核及胞质中可呈现阳性表达,呈棕黄色颗粒,见图 1。参照 Hao 等<sup>[1]</sup>的方法观察 FHIT 蛋白阳性强度和阳性率。先按染色强度打分:无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;再按阳性细胞所占百分比打分:阳性细胞 < 5 %为 0 分,5 %~25 %为 1 分,25 %~50 %为 2 分,50 %~75 %为 3 分,> 75 %为 4 分;染色强度与阳性细胞百分比的乘积获取一个分值范围:0~12。9~12 分为强阳性(++),5~8 分为阳性(+),0~4 分为弱阳性(+/-),不表达(-)。定义肺癌组织 FHIT 蛋白免疫组化染色强阳性为正常表达,其余视为 FHIT 基因表达下降或缺失,即异常表达。

p53 蛋白定位于细胞核,呈现弥漫或散在粗细不一的棕黄色颗粒,见图 2。根据 Kim 等<sup>[2]</sup>的方法规定无染色或表达细胞百分数 < 30 %为阴性,表达细胞百分数 ≥ 30 %为阳性。肺癌组织 p53 阴性为正常表达,阳性为异常表达。

1.4 统计学处理

全部数据经 SPSS 11.5 统计学软件包处理,采

用 R × C 行乘列表<sup>2</sup>检验及计数资料的相关分析法,判定标准以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

2 结果

2.1 FHIT 基因蛋白在肺癌及良性病变肺组织表达情况

2.1.1 肺癌组织中 FHIT 基因异常表达率显著高于良性病变肺组织 ( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 肺癌组织与良性病变肺组织 FHIT 基因表达的相关性

组织	例数 (n)	检出(n)		异常表达率
		正常表达	异常表达	
良性	25	21	4	16.0 %
肺癌	110	16	94	85.5 %

注:  $\chi^2 = 49.390, P < 0.01$

2.1.2 不同分化程度的肺癌组织, FHIT 基因表达差异有极显著性 ( $P < 0.01$ ),且 FHIT 基因表达与肺癌组织分化程度正相关 ( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 肺癌组织 FHIT 基因表达与肺癌分化程度的相关性

分化	例数 (n)	FHIT (%)			
		-	+/-	+	++
低	26	16(61.5)	5(19.2)	4(15.4)	1(3.8)
中	31	1(3.2)	13(41.9)	12(38.7)	5(16.1)
高	53	2(3.8)	10(18.9)	31(58.5)	10(18.9)

注:  $\chi^2 = 53.764, P < 0.01; r = 0.608, P < 0.01$

2.1.3 组织学分类不同的肺癌组织, FHIT 的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 FHIT 基因表达与肺癌组织学分类的相关性

分类	例数 (n)	FHIT (%)			
		-	+/-	+	++
鳞癌	40	8(20.0)	12(30.0)	17(42.5)	3(7.5)
腺癌	58	6(10.3)	15(25.9)	27(46.6)	10(17.2)
其他癌	12	5(41.7)	1(8.3)	3(25.0)	3(25.0)

注:  $\chi^2 = 11.267, P > 0.05$

2.2 FHIT 基因与 p53 基因在肺癌中的表达关系

2.2.1 p53 阴性表达组与 p53 阳性表达组中, FHIT 基因的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 4。

2.2.2 p53 异常表达与 FHIT 异常表达差异有极显著性 ( $P < 0.01$ ),共同检出率为 93.6 %,见表 5。

表 4 FHIT、p53 在肺癌中表达的相关性

p53	例数 (n)	FHIT			
		-	+/-	+	++
-	51	8(15.7)	16(31.4)	20(39.2)	7(13.7)
+	59	11(18.6)	12(20.3)	27(45.8)	9(15.3)

注:  $\chi^2 = 1.765, P > 0.05$

表 5 FHIT、p53 异常表达差异性比较

基因	例数 (n)	检出	
		正常表达	异常表达
p53	110	51 (46.4 %)	59 (53.6 %)
FHIT	110	16 (14.6 %)	94 (85.4 %)

注:  $\chi^2 = 26.290, P < 0.01$

3 讨论

FHIT 基因是一种易脆基因,容易受外界环境因素影响而导致变异。研究表明,FHIT 变异常发生在与外界环境相通的组织中,如胃、结肠、宫颈及肺等<sup>[3]</sup>。FHIT 基因在染色体上占据约 1Mb 大小的位置,cDNA 全长 1095bp,由 10 个外显子组成,编码区长 500bp<sup>[4]</sup>。

关于肺癌组织中 FHIT 基因变异的研究较多。Sozzi 等<sup>[5]</sup>研究报道约有 80 %的小细胞肺癌和 40 %的非小细胞肺癌中存在 FHIT 异常转录,90 %的肺癌中存在杂合性缺失(LOH)。本研究利用组织芯片对 110 例肺癌标本及 25 例良性病变肺组织进行 FHIT 蛋白免疫组织化学检测,发现肺癌组织与良性病变肺组织相比,FHIT 基因表达差异有极显著性( $P < 0.01$ ),与 Sozzi 等研究的 FHIT 基因变异具有一致性。本研究结果提示正常组织 FHIT 基因高表达,肿瘤组织 FHIT 基因低表达,说明 FHIT 基因可能参与肺癌的形成过程。

关于 FHIT 基因表达与肺癌组织分化程度的关系目前报道不一致。本研究结果显示,肺癌组织中分化程度不同,FHIT 在肺癌中的表达差异有极显著性( $P < 0.01$ ),且 FHIT 基因表达与肺癌组织分化程度正相关,FHIT 表达越多,肺癌组织分化程度越高,提示了细胞恶性转化与 FHIT 功能丢失的关系。因此,临床药物研究如果能够开发 FHIT 蛋白导入肿瘤组织中,那么则可能促进肿瘤表型的逆转,从而达到治愈肿瘤的目的。

Tomizawa 等<sup>[6]</sup>研究表明不同组织类型肺癌中 FHIT 蛋白降低的百分率不同。本研究表明肺癌组织学分类不同时,FHIT 基因表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与 Tomizawa 等研究不一致。因此,关于 FHIT 基因表达与肺癌组织学分类关系有待进一步研究。

p53 基因的变异及其在人类肿瘤中的抑瘤效应的研究较为透彻,而且突变型的 p53 蛋白易于通过免疫组织化学检测。因此,突变型 p53 蛋白的检测成为了临床肿瘤诊断的重要标志。本研究发现 FHIT 在肺癌组织中异常表达率明显高于 p53 异常

表达率( $P < 0.01$ ),这与 Lee 等<sup>[7]</sup>的研究一致。而比较 p53 阴性表达组和阳性表达组,FHIT 的表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。因此,研究提示:在肺癌组织中,FHIT 蛋白缺失与 p53 蛋白异常不存在关联,FHIT 是一个独立表达指标,FHIT 失活可能是独立于 p53 之外的生物学通道,这与研究一致,同时,本研究发现 p53 异常表达率为 53.6 %,FHIT 异常表达率为 85.4 %,说明 FHIT 异常表达比 p53 异常表达更为常见。因此,在肺癌的诊断中,FHIT 蛋白可能成为比 p53 蛋白更有效的分子标记物。此外,p53 异常表达与 FHIT 异常表达共同检出率为 93.6 %,说明联合基因表达蛋白检测可以提高肿瘤的检出率。

综上所述,本课题研究结果表明 FHIT 蛋白表达在肺癌中存在降低或缺丢,且与肺癌组织分化程度密切相关,并且 FHIT 表达与 p53 表达无相关性。提示 FHIT 蛋白可能为一重要的肿瘤抑制蛋白,在肺癌的发生和演化中起着重要的作用。FHIT 蛋白用免疫组织化学方法易于检测,因此可能成为继 p53 蛋白之后的一种新的更有效的用于临床肺癌诊断的标记物。

(本文图见插图)

参考文献:

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

[2] Kim YW, Lee S, Park J H, et al. An immunohistochemical study of the expression of p53 protein in colon cancer[J]. J Korean Med Sci, 1995, 10(3): 176-182.

[3] Kim JS, Kim H, Shim YM, et al. Aberrant methylation of the FHIT gene in chronic smokers with early stage squamous cell carcinoma of the lung[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(11): 2165-2171.

[4] 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[J]. Cell, 1996, 84(4): 587-597.

[5] Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, et al. The FHIT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer[J]. Cell, 1996, 85(1): 17-26.

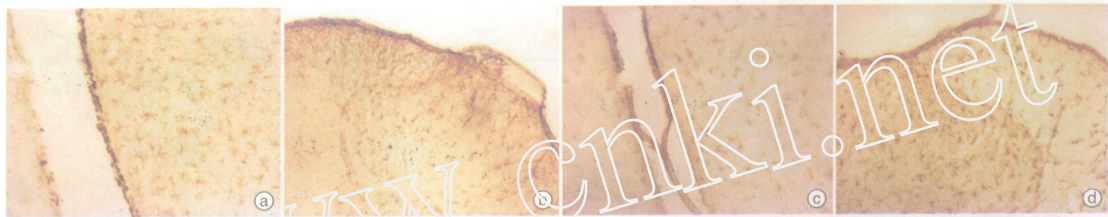
[6] Tomizawa Y, Nakajima T, Kohno T, et al. Clinicopathological significance of Fhit protein expression in stage I non-small cell lung carcinoma[J]. Cancer Res, 1998, 58(23): 5478-5483.

[7] Lee YC, Wu CT, Shih J Y, et al. Frequent allelic deletion at the FHIT locus associated with p53 overexpression in squamous cell carcinoma subtype of Taiwanese non-small-cell lung cancers[J]. Br J Cancer, 2004, 90(12): 2378-2383.

[编辑:刘红武]

长春新碱致神经病理性疼痛模型中胶质细胞及IL-1 $\beta$ 、GDNF表达的变化

(正文见 93 页)



a. GFAP 在中央导水管周围灰质中的表达      b. GFAP 在脊髓背角中的表达  
c. OX-42 在中央导水管周围灰质中的表达      d. OX-42 在脊髓背角中的表达  
图 2 给药组胶质细胞在中央导水管周围灰质及脊髓背角中的活化 (DAB  $\times 100$ )

应用自制组织芯片研究抑癌基因 PTEN 在口腔鳞癌中的表达

(正文见 100 页)

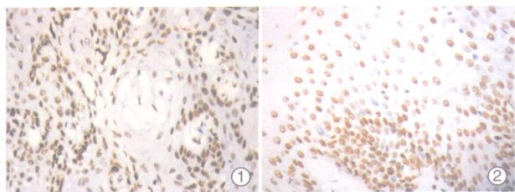


图 1 PTEN 在口腔鳞癌中的表达 (SP  $\times 200$ )  
图 2 PTEN 在正常口腔粘膜中的表达 (SP  $\times 200$ )

脆性组氨酸三联体基因及 p53 基因在肺癌组织中的表达及意义

(正文见 109 页)

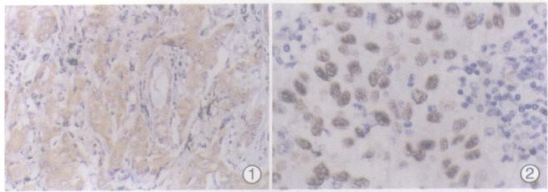


图 1 FHIT 在肺癌组织中的表达 (SP  $\times 400$ )  
图 2 p53 在肺癌组织中的表达 (SP  $\times 400$ )

CD105、COX-2 和 VEGF 在结直肠癌中的表达及其与血管新生的关系

(正文见 125 页)

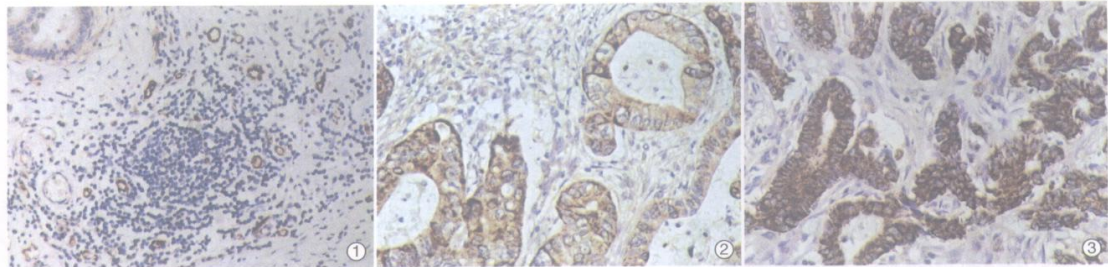


图 1 CD105 在结直肠癌微血管中的表达 (SP  $\times 100$ )      图 2 COX-2 在结直肠癌中的表达 (SP  $\times 200$ )  
图 3 VEGF 在结直肠癌中的表达 (SP  $\times 200$ )