

- of dermatomyositis. *Arthritis Rheum*, 1995, 38 (1): 123-128.
- 28 Xue Y, Wong J, Moreno GT, et al. NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell*, 1998, 2(6): 851-861.
- 29 Horn PJ, Carruthers LM, Logie C, et al. Phosphorylation of linker

histones regulates ATP-dependent chromatin remodeling enzymes. *Nat Struct Biol*, 2002, 9(4): 263-267.

(收稿日期: 2005-04-01)

·放射生物学·

脆性组氨酸三联体基因研究进展

秦阳华 韩玲

【摘要】 恶性转化是复杂的、渐变的过程, 涉及许多遗传改变, 包括抑癌基因失活、癌基因激活和其他调节基因功能改变。脆性组氨酸三联体(FHIT)基因是一个新发现的抑癌基因, 过去近 10 年的研究表明其和许多肿瘤有密切的关系。本文综述了近几年分子生物学有关 FHIT 基因研究的最新进展, 并侧重描述了其和辐射致癌的关系。

【关键词】 基因, 脆性组氨酸三联体; 基因, 肿瘤抑制; 辐射效应

【中图分类号】 Q 344+.13 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)01-0047-03

Fragile histidine triad gene and tumor

QIN Yang-hua, HAN Ling

(Department of Radiation Medicine, Navy Medicine Faculty, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】 Malignant transformation is a complex multistep process involving numerous genetic changes, which include loss of tumor suppressor gene function, oncogene activation and alteration of modifier genes. During the past decade, evidence has accumulated in support that FHIT, as a new tumor suppressor gene, plays a roll in many tumors. In this review, described the recent findings in the molecular biology of FHIT, with particular focus on its relationship with radiation carcinogenesis.

【Key words】 Gene, fragile histidine triad; Gene, tumor suppressor; Radiation effects

脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)基因是 1996 年 Ohta 等^[1]用差异分析探针和外显子捕获法在染色体 3p¹⁴² 区域新发现的抑癌基因, 全长约 1Mb。其 cDNA 长 1095bp, 由 10 个外显子组成, 其 5' 端含有一段长约 350 bp 的非编码区, 包含外显子 1~3; 外显子 5~9 组成一长约 500 bp 的开放性阅读框架, 编码一个由 147 个氨基酸组成的相对分子质量为 16.8×10³ 的蛋白质。

1 FHIT 基因的作用

经过科学家近 10 年研究发现, FHIT 基因在调控细胞周期、诱导细胞凋亡等方面起重要作用。

1.1 调控细胞周期

研究表明, 利用腺病毒载体将外源性 FHIT 基因导入 FHIT 纯合性缺失的肿瘤细胞后, 细胞出现 G₀/G₁ 期阻滞并伴有细胞周期蛋白的表达改变。Sard 等^[2]研究发现, 肺癌细胞株 H460 导入外源性 FHIT 后, p53 蛋白表达水平保持不变而 p21 蛋白表达水平上升; 而 Gopalakrishnan 等^[3]研究却发现, 胰腺癌细胞株 Panc-1 导入外源性 FHIT 后, cyclin D3 蛋白和 cdc2 蛋白表达增加, 而 cyclin A 蛋白、cyclin B 蛋白、cdk2 蛋白、增殖细胞核抗原、P21 蛋白、P36 蛋白表达没有明显变化。

1.2 诱导细胞凋亡

Sard 等^[2]研究发现, 肺癌细胞株 H460 导入外源性 FHIT 基因后采用原位缺口末端标记法检测细

作者单位: 200433 上海, 第二军医大学海医系放射医学教研室
通讯作者: 韩玲 (E-mail: linghan8888@yahoo.com.cn)

胞凋亡,发现转染 FHIT 组有高频率凋亡诱导的 DNA 链断裂,流式细胞仪分析显示凋亡发生率从对照组的 15% 上升到 44%~47%。Gopalakrishnan 等^[9]研究发现,胰腺癌细胞株 Panc-1 导入外源性 FHIT 基因后凋亡相关蛋白如 Bad、Bak、Bcl-xS 表达增加。

1.3 FHIT 蛋白水解酶活性

二腺苷三磷酸(diadenosine triphosphate, Ap3A)是 ATP 类似物,其水平升高后,通过增强生长信号转导、阻断增殖抑制途径或凋亡通路导致肿瘤的产生。FHIT 蛋白是二核苷多聚磷酸的水解酶,其水解 Ap3A 的催化活性最高。在 Mg^{2+} 存在时, FHIT 蛋白可催化 Ap3A 水解,生成 ADP 和 AMP。反应分两步:第一步 Mg^{2+} 、Ap3A 和 FHIT 蛋白 96 位组氨酸反应生成 FHIT-AMP 中间产物并释放 $MgADP$; 第二步 FHIT-AMP 水解为 FHIT 蛋白和 $AMP^{[4]}$ 。发生突变的 FHIT 蛋白缺乏水解酶活性,但其仍可和 Ap3A 结合抑制肿瘤的形成。

1.4 促进微管组装

Chaudhuri 等^[5]报道, FHIT 可能通过影响微管组装来发挥其抑制肿瘤作用,并且野生型和无水解酶活性的突变体无明显差别,提示和其 Ap3A 水解酶活性无关。Galmarini 等^[6]在研究 p53 缺失引起的以微管为靶位化疗药抵抗中发现伴有 FHIT 表达量的相应改变。

2 FHIT 基因的失活形式

大量的研究表明,约 70% 的人类肿瘤中都存在 FHIT 基因的改变,如:肺癌、乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌等,基因改变的形式包括等位基因缺失、异常转录本、5'端启动子区域的 CpG 岛发生异常甲基化等。

2.1 等位基因缺失

Lee 等^[7]用 5 个微卫星标志物(D3S1289, D3S2408, D3S1766, D3S1312, D3S1600)检测 58 例原发性非小细胞肺癌,87.7% 的样品一个以上标志部位出现杂合子缺失(loss of heterozygosity, LOH); 90.9% (10/11) 的鳞状细胞癌出现 D3S1766 缺失,有很好的组织学相关性;研究还发现, FHIT 基因 LOH 与 P53 蛋白高表达具有良好的相关性。Song 等^[8]用三个微卫星标志物(D3S1234, D3S1300, D3S1481)检测了 20 例肺结核患者和 20 例有肺结核病史的肺癌患者的激

光切割组织样本,有 1~36 年肺结核病史的 6 个病例 40% (12/30) 的肥大和不典型增生样本中存在 FHIT 基因 LOH, 结核病史小于 1 年者未检测出 LOH (0/70); 而肿瘤样本 85% 存在 FHIT 基因 LOH。

2.2 异常转录本

应用逆转录 PCR 技术,在许多肿瘤组织和细胞株中检测到异常的 FHIT 转录本。Tzao 等^[9]检测了 129 例非小细胞肺癌组织样本,20% 存在异常转录本,缺失主要是外显子 4~8。Lee 等^[10]用巢式逆转录 PCR 检测 6 个胃癌细胞株,发现存在各种异常转录的 mRNA,包括外显子缺失、插入部分内含子序列等。

2.3 5' CpG 岛发生异常甲基化

启动子区域 5' CpG 岛发生异常甲基化会引起基因沉默。Tzao 等^[9]研究发现,31% 样本存在 CpG 岛发生异常甲基化,并且经常与异常转录本同时存在。Dhillon 等^[11]应用甲基化特异性 PCR 和逆转录 PCR 检测 25 例卵巢粒层细胞瘤,28% (7/25) 检测出 5' CpG 岛发生异常甲基化。

3 FHIT 基因和肿瘤的发生及治疗的关系

3.1 FHIT 基因和肿瘤的发生

Fujishita 等^[12]观察 FHIT 基因剔除小鼠的自发肿瘤发生率:饲养 12~20 个月后, $FHIT^{+/-}$ 、 $FHIT^{-/-}$ 和 $FHIT^{+/+}$ 小鼠自发肿瘤发生率分别为 60%、77% 和 30%。Kitahashi 等^[13]一次给予雄性大鼠 70mg/kg N-nitrosobis (2-oxopropyl)-amine (BOP) 诱发肝内胆管细胞癌,用缺乏维生素 B 和含有 L-甲硫氨酸、DL-乙硫氨酸和 20mg/kg BOP 的复合饲料加强致癌作用,10 周后通过逆转录 PCR 证实 28.6% (4/14) 存在 FHIT 基因表达缺失。Lubet 等^[14]给予雄性 B6D2F1 小鼠 4-羟基丁基(丁基)亚硝胺诱发小鼠膀胱尿道肿瘤,每周两次,每次 7.5mg,共 12 周,饲养 32 周后,32% 的小鼠可触及肿瘤生长,免疫组化证实肿瘤组织 FHIT 基因低表达而正常组织高表达。Zanesi 等^[15]成功制成 $FHIT^{+/-}$ 、 $FHIT^{-/-}$ 小鼠模型,胃肠道给予 N-亚硝基甲基氨基甲苯一次致癌,喂养 29 周后, $FHIT^{-/-}$ 组 89.5%、 $FHIT^{+/-}$ 组 78.3%、 $FHIT^{+/+}$ 组 7.7% 发生各种肿瘤。

3.2 FHIT 基因和辐射

Dano 等^[16]研究发现,在吸入氡气所致的大鼠肺癌中频繁地发生 FHIT 基因缺失,其缺失的类型同

人肺癌和腺瘤中发生的 FHIT 基因缺失类型相似,提示 FHIT 基因可能参与辐射致癌的过程。我室利用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射 BALB/c 小鼠诱发白血病制成辐射致癌动物模型,在照射后早、中、晚期均检测出异常 FHIT 转录本和表达缺失^[17]。SV40 永生化的支气管上皮细胞 BEAS-2B 细胞和 BALB/c 小鼠接受 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射(剂量率 0.49Gy/min,照射 0.5Gy)后 24h 就可以检测出异常转录本,传代及继续培养可以稳定检测出异常转录本^[18]。可见, FHIT 基因参与了辐射诱导的肿瘤形成过程。

3.3 FHIT 基因和肿瘤预防、治疗

FHIT 基因抑制肿瘤的活性使利用腺病毒载体或腺病毒相关载体导入外源性 FHIT 基因来预防和治疗肿瘤成为可能。Dumon 等^[19]利用腺病毒载体和腺病毒相关载体将外源性 FHIT 基因导入 FHIT^(+/-)的小鼠中,可以明显降低 N-亚硝基甲基氨基甲苯诱导肿瘤的发生率,提示 FHIT 基因可以有效预防肿瘤发生。Ishii 等^[20]研究表明,外源性 FHIT 基因导入不仅可以有效预防而且可以逆转已经产生的肿瘤。

综上所述, FHIT 基因是新发现的抑癌基因,利用基因剔除技术和腺病毒载体或腺病毒相关载体等技术对其进行研究,发现其在生理、病例情况下都发挥巨大的作用。然而,其上下游调控基因和作用方式还不是很清楚,有待进一步研究。

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.
- Sard L, Accornero P, Tomielli S, et al. The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(15): 8489-8492.
- Gopalakrishnan VK, Banerjee AG, Vishwanatha JK, et al. Effect of FHIT gene replacement on growth, cell cycle and apoptosis in pancreatic cancer cells. *Pancreatology*, 2003, 3(4): 293-302.
- Huang K, Arabshahi A, Wei Y, et al. The mechanism of action of the fragile histidine triad, FHIT: isolation of a covalent adenylyl enzyme and chemical rescue of H96G-FHIT. *Biochemistry*, 2004, 43(23): 7637-7642.
- Chaudhuri AR, Khan IA, Prasad V, et al. The tumor suppressor protein FHIT. A novel interaction with tubulin. *J Biol Chem*, 1999, 274(34): 24378-24382.

- Galmardini CM, Kamath K, Vanier-Viorneri A, et al. Drug resistance associated with loss of p53 involves extensive alterations in microtubule composition and dynamics. *Br J Cancer*, 2003, 88(11): 1793-1799.
- Lee YC, Wu CT, Shih JY, 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. *Br J Cancer*. 2004, 90(12): 2378-2383.
- Song LY, Yan WS, Deng M, et al. Aberrations in the fragile histidine triad (FHIT) Gene may be involved in lung carcinogenesis in patients with chronic pulmonary tuberculosis. *Tumor Biol*, 2004, 25(5-6): 270-275.
- Tzao C, Tsai HY, Chen JT, et al. 5' CpG island hypermethylation and aberrant transcript splicing both contribute to the inactivation of the FHIT gene in resected non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*, 2004, 40(14): 2175-2183.
- Lee SH, Kim HY, Kim TJ et al. Aberrant splicing of FHIT transcripts in human gastric cancer cell lines. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 2002, 112(1-4): 39-49.
- Dhillon VS, Shahid M, Husain SA. CpG methylation of the FHIT, FANCF, cyclin-D2, BRCA2 and RUNX3 genes in Granulosa cell tumors (GCTs) of ovarian origin. *Mol Cancer*, 2004, 3(1): 33.
- Fujishita T, Doi Y, Sonoshita M, et al. Development of spontaneous tumours and intestinal lesions in FHIT gene knockout mice. *Br J Cancer*, 2004, 91(8): 1571-1574.
- Kitahashi T, Tsujiuchi T, Satoh K, et al. Aberrant transcription of FHIT gene in intrahepatic cholangiocellular carcinomas induced by N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine in hamsters. *Exp Toxicol Pathol*, 2004, 56(3): 153-157.
- Lubet RA, Huebner K, Fong LY, et al. 4-Hydroxybutyl (butyl) nitrosamine-induced urinary bladder cancers in mice: characterization of FHIT and survivin expression and chemopreventive effects of indomethacin. *Carcinogenesis*, 2005, 26(3): 571-578.
- Zanesi N, Fidanza V, Fong LY, et al. The tumor spectrum in FHIT-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(18): 10250-10255.
- Dano L, Guilly MN, Muleris M, et al. CGH analysis of radon-induced rat lung tumors indicates similarities with human lung cancers. *Genes Chromosomes Cancer*, 2000, 29(1): 1-8.
- 林亚华, 潘真, 韩玲, 等. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射对脆性组氨酸三联体基因表达的影响. *第二军医大学学报*, 2004, 24(7): 738-741.
- 熊杰, 韩玲, 高伟, 等. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射对人脆性组氨酸基因表达的影响. *第二军医大学学报*, 2005, 26(5): 471-475.
- Dumon KR, Ishii H, Fong LY, et al. FHIT gene therapy prevents tumor development in FHIT-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(18): 3346-3351.
- Ishii H, Zanesi N, Vecchione A, et al. Regression of upper gastric cancer in mice by FHIT gene delivery. *FASEB J*, 2003, 17(12): 1768-1770.