

文章编号:1005-6947(2005)04-0294-03

· 综述 ·

FHIT 基因与乳腺癌

王甜甜 综述 马榕 审校

(山东大学齐鲁医院 普通外科, 山东 济南 250012)

摘要:抑癌基因 FHIT 位于染色体 3p14.2 区,其内包含染色体脆弱位点 FRA3B。乳腺癌中 FHIT 基因突变以缺失和易位为主,二次打击学说能较完善地解释其失活机制。乳腺癌 FHIT 基因转录异常,FHIT 蛋白表达下降。FHIT 基因的改变影响乳腺癌的多项临床病理指标及预后。据此以为,FHIT 基因改变对乳腺癌的发生发展有重要影响,有可能成为乳腺癌判断预后新的指标。

关键词:乳腺肿瘤/病理学;抑癌基因;FHIT

中图分类号:R737.9;R730.23.13

文献标识码:A

在基因水平上明确乳腺癌的发生发展并寻求治疗手段,是近年来的研究热点。肿瘤的发生是包括抑癌基因失活与癌基因激活的多步骤过程。Martinez 等的研究证实,位于 3p14.2 区的抑癌基因的失活在多种恶性肿瘤(包括乳腺癌)的发生中起重要作用^[1]。脆性三联组氨酸基因(fragile histidine triade, FHIT)位于染色体 3p14.2 区,是一种新的候选抑癌基因。本文就该基因在乳腺癌中的改变及其与乳腺癌临床病理特征的关系作一综述。

1 抑癌基因 FHIT

1996 年, Ohta 等^[2]以外显子捕获法(exon trapping experiment)在 3p14.2 区定位了一个基因,该基因编码的蛋白质属于三联组氨酸(histidine triad, HIT)家族,且易于断裂,故命名为 FHIT。FHIT 基因全长 500kb,转录产物为 1.1kb 的 mRNA,表达产物为含 147 个氨基酸残基的蛋白。FHIT 由 10 个外显子构成,其中外显子 5-9 编码蛋白,外显子 5 含有起始的蛋

酸密码,外显子 8 则含有编码 HIT 的密码。FHIT 在所有正常组织中均有低水平的表达,其蛋白质功能可能为调控细胞周期、诱导细胞凋亡、降解促使细胞增殖的二腺苷三磷酸(AP3A)^[2,3]。

染色体脆弱位点 FRA3B 位于 FHIT 基因中,其序列的多项特征均显示与 DNA 复制相关^[4]。当组织器官暴露于致癌因素时,DNA 复制受到干扰,致使 FRA3B 位点断裂,FHIT 基因转录异常,表达缺失。组织中 AP3A 大量积累,刺激细胞异常增殖,导致细胞癌变。有学者^[5]在 4 株不同的 FHIT 缺失肿瘤细胞系中转染人 FHITcDNA,然后将转染细胞接种裸鼠,结果示 FHIT 的表达导致成瘤能力丧失。Dumon 等^[6]证明 FHIT 基因敲除鼠增加了散发性肿瘤的患病率。Fong 等^[7]以 FHIT 腺病毒基因治疗逆转了诱发的 FHIT + / - 鼠的胃肿瘤。以上研究均验证了 FHIT 的抑癌作用。

2 乳腺癌中的 FHIT 基因突变

分子遗传学将基因的突变分为点突变、易位、缺失、移位等类型。目前研究显示,乳腺癌中 FHIT 基因的改变以缺失与易位为主,其中又以杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH)最为常见。已在不同类型的乳腺癌及良性乳腺疾病中进行了 FHIT 基因缺失的检

测。Maitra 等^[8]报道原发性乳腺癌中 3p14.2 区的缺失率为 45% (20/45),癌前病变中为 11% (5/47)。乳腺癌细胞系中亦观察到 FHIT 基因缺失^[9]。Huiping 等^[10]比较了小叶性乳腺癌及导管性乳腺癌中 FHIT 基因的 LOH,发现小叶性乳腺癌中 FHIT 的 LOH 发生的频率低于导管性乳腺癌,但 FHIT 基因改变致蛋白缺失对小叶癌发生的影响却大于导管癌。对散发性及家族性乳腺癌 FHIT 基因的分析表明,家族性乳腺癌发生 FHIT 异常的频率高于散发性乳腺癌^[11]。Kollias 等^[12]用检测双侧乳腺癌中的 LOH 以寻找左右一致的缺失基因,结果显示 12.9% 的双侧乳腺癌左右侧均发生 FHIT 缺失;提示该基因缺失可能在双侧乳腺癌的发生中发挥重要作用。Panagopoulos 等^[13]以逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)与 PCR 方法检测有乳腺癌家族史的良性增殖性乳腺疾病标本,结果显示 FHIT 蛋白缺失或表达明显下降。

Man 等^[14]以一系列微卫星标记法检测非粉刺性导管原位癌及 I 期侵袭性小叶性乳腺癌中等位基因的缺失,发现 FHIT 在 d3s1300 位点呈高频缺失。多项以微卫星标记法分析乳腺癌中等位基因缺失的实验均显示 FHIT 基因中最常缺失的微卫星标记为 d3s1300^[8,14]。d3s1300 位于 FHIT 内

收稿日期:2004-07-29;

修订日期:2004-12-22。

作者简介:王甜甜(1981-),女,山东济宁人,山东大学齐鲁医院硕士研究生,主要从事乳腺疾病方面的研究。

通讯作者:王甜甜 E-mail: catkiss1981@163.com。

含子中,是 FHIT 基因中 5 个微卫星标记之一。有理由相信,d3s1300 将成为重要的检测 FHIT 基因异常的分子标记。

荧光原位杂交法检测乳腺癌细胞系中的基因易位,确定了 9 个明确的易位靶点。克隆分析乳腺癌 MZ-02 细胞株中的 t(3;20)(p14;p11),发现该易位的靶点正是 FHIT 基因。该易位突变与 FHIT 外显子 5 纯合子缺失、FHIT 功能丧失及融合转录同时存在^[15]。

3 乳腺癌中 FHIT 基因失活的机制

经典理论认为,基因组的稳定性由高度保守的错误修复序列如 hMSH2 等维护;当这些序列发生突变时,将导致抑癌基因失活,肿瘤发生。但是,现已有学者称乳腺癌中 hMSH2 丢失与 FHIT 位点突变或 FHIT 蛋白丢失无关^[16]。目前解释乳腺癌中 FHIT 基因失活机制的较为完善的理论为二次打击学说,即 FHIT 基因的一个等位基因缺失而另一个因异常甲基化失活,两事件同时发生导致两等位基因失活且完全丧失功能。Yang 等^[17]分析 46 例散发性侵袭性导管癌中 FHIT 基因的变化,发现所有同时发生 LOH 与超甲基化的标本均显示 FHIT 蛋白表达完全缺失;此外,LOH 与超甲基化呈显著正相关。该实验为二次打击学说提供了有力证据。免疫染色示增强子区域 CpG 段的甲基化与乳腺癌 FHIT 表达缺失显著相关,亦证实 FHIT 甲基化在乳腺癌中极为常见,是该基因失活的重要机制^[18]。对于 FHIT 基因失活的另一可能解释是,BRCA2 基因突变诱使基因失活。Bergthorsson 等^[19]报道乳腺癌中 3p14 区突变率在有 BRCA2 突变者中为 44%~88%,无 BRCA2 突变者中仅为 25%~43%。Santos 等^[20]的研究显示,乳腺癌患者 FHIT 基因与 BRCA2 基因 LOH 发生频率类似。Ingvarsson 等^[21]报道 BRCA2 突变的散发性乳腺癌中 FHIT 基因 LOH 增高,表达降低。提示 BRCA2 基因的突

变致 FHIT 基因 LOH 频率增高,这可能与 BRCA2 点双链断裂的错误修复有关。

4 乳腺癌中 FHIT 基因转录与表达的异常

研究发现消化系统及呼吸系统肿瘤中 FHIT 基因 cDNA 序列存在多种缺失突变,外显子 5 和外显子 8 为缺失的热点。外显子 5 的缺失使基因因无起始蛋氨酸密码而无法翻译 FHIT 蛋白,而外显子 8 的缺失使翻译出的蛋白缺乏对其功能有重要作用的 HIT,从而无法行使 FHIT 蛋白的功能。乳腺癌中 FHIT 转录异常亦以外显子丢失最为常见。Ahmadian 等^[22]报道,9%(3/32)的乳癌细胞系发现 FHIT 外显子 4(2 例)与外显子 5(1 例)的纯合子丢失;97%(31/32)的乳腺癌细胞系发现外显子 8 的丢失;另外,对有乳腺癌家族史者的外显子 8 突变的检测发现了外显子 8 上游 13bp 处的一个内含子缺失位点。Kowara 等^[23]报道,40.5%(32/79)的乳腺癌中 FHIT 转录异常;异常转录与组织病理学分级有关,小叶癌缺失率高于导管癌。Ginestier 等^[24]对 452 例乳腺癌组织标本采用微阵列免疫组织化学法检测 FHIT 蛋白的表达,发现 66.7%(298/452)的病例表达异常,并可明确分为三个的等级:145 例与正常一致,220 例中度表达和 78 例缺失。FHIT 蛋白的表达量与乳腺肿瘤进展呈负相关,即上皮>增生>不典型增生>原位癌>浸润性肿瘤^[25]。Huiping 等^[26]的研究显示,乳腺癌中 FHIT 蛋白的缺失与 FHIT 基因的 LOH 显著相关,认为是 FHIT 基因缺失导致 FHIT 蛋白失表达。Guler 等^[27]用免疫组织化学方法联合检测侵袭性乳腺癌中 FHIT 蛋白与 WWOX 蛋白(染色体脆性位点候选抑癌基因)的表达,结果显示二者表达缺失显著相关,提示染色体脆性位点的基因对 DNA 损伤的敏感性导致其蛋白表达下降。

5 FHIT 改变与乳腺癌临床病理学指标的关系

Ingvarsson 等^[28]对 239 例乳腺癌中 FHIT 基因的 LOH 与临床病理学因素的相关性进行分析后指出指出,FHIT 的 LOH 与雌、孕激素受体阴性,高 S 期,降低生存率以及染色体 6q,7q,8p,9p,11p,11q,13q,16q,17p,17q,18q 和 20q 的 LOH 有关。原发乳腺癌 FHIT 异常转录与年龄、肿瘤大小,雌、孕激素受体状态,局部转移,组织学分级,乳腺癌家族史,患者生活状况如吸烟或酒精摄入无关,但与淋巴结转移显著相关^[23]。

高鹏等^[29]用免疫组织化学方法检测 166 例侵袭性乳腺癌中 FHIT 基因的表达,结果显示其表达与组织学分级、雌激素受体阴性、p53 过表达、肿瘤增殖活性负相关。乳腺癌 COX 比例风险模型多因素分析显示淋巴结转移和 FHIT 失表达可降低患者生存率,与癌基因 c-erbB2 过表达对患者预后的影响相似。赵坡等^[30]的研究表明,乳腺浸润性导管癌 FHIT 蛋白表达与导管内癌比较差异有显著性,乳腺癌伴淋巴结转移组 FHIT 蛋白表达率与未伴淋巴结转移组比较差异有显著性;提示 FHIT 蛋白表达与乳腺癌的侵袭、转移相关。FHIT 基因异常、FHIT 蛋白低表达均与乳腺癌进展相关;FHIT 的表达与乳腺癌患者无病生存率及其他多项临床病理指标显著相关;FHIT 蛋白用免疫组织化学方法易于检测。因此认为,FHIT 蛋白可能成为乳腺癌一种新的分子指标用于临床监测乳腺癌患者预后。

参考文献:

- [1] Martinez A, Walker RA, Shaw JA, et al. Chromosome 3p allele loss in early invasive breast cancer: detailed mapping and association with clinicopathological features [J]. Mol Pathol, 2001, 54(5): 300-306.
- [2] 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.
- [3] Barnes LD, Garrison PN, Siprashvili Z, *et al.* Fhit, a putative tumor suppressor in humans, is a dinucleoside 5', 5'''-P1, P3-triphosphate hydrolase [J]. *Biochemistry*, 1996, 35(36):11529-11535.
 - [4] Paradee W, Mullins C, He Z, *et al.* Precise localization of aphidicolin-induced breakpoints on the short arm of human chromosome 3 [J]. *Genomics*, 1995, 27(2):358-361.
 - [5] Siprashvili Z, Sozzi G, Barnes LD, *et al.* Replacement of Fhit in cancer cells suppresses tumorigenicity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(25):13771-13776.
 - [6] Dumon KR, Ishii H, Fong LY, *et al.* FHIT gene therapy prevents tumor development in Fhit-deficient mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(6):3346-3351.
 - [7] Fong LY, Fidanza V, Zanesi N, *et al.* Muir-Torre-like syndrome in Fhit-deficient mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(9):4742-4747.
 - [8] Maitra A, Wistuba II, Washington C, *et al.* High-resolution chromosome 3p allelotyping of breast carcinomas and precursor lesions demonstrates frequent loss of heterozygosity and a discontinuous pattern of allele loss [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(1):119-130.
 - [9] Negrini M, Monaco C, Vorchovsky I, *et al.* The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in breast carcinomas [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(14):3173-3179.
 - [10] Huiping C, Jonasson JG, Agnarsson BA, *et al.* Analysis of the fragile histidine triad (FHIT) gene in lobular breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2000, 36(12):1552-1557.
 - [11] Berghthorsson JT, Johannsdottir J, Jonasdottir A, *et al.* Chromosome imbalance at the 3p14 region in human breast tumours: high frequency in patients with inherited predisposition due to BRCA2 [J]. *Eur J Cancer*, 1998, 34(1):142-147.
 - [12] Kollias J, Man S, Marafie M, *et al.* Loss of heterozygosity in bilateral breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2000, 64(3):241-251.
 - [13] Panagopoulos I, Pandis N, Thelin S, *et al.* The FHIT and PTPRG genes are deleted in benign proliferative breast disease associated with familial breast cancer and cytogenetic rearrangements of chromosome band 3p14 [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(21):4871-4875.
 - [14] Man S, Ellis IO, Sibbering M, *et al.* High levels of allele loss at the FHIT and ATM genes in non-comedo ductal carcinoma in situ and grade I tubular invasive breast cancers [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(23):5484-5489.
 - [15] Popovici C, Basset C, Bertucci F, *et al.* Reciprocal translocations in breast tumor cell lines: cloning of a t(3;20) that targets the FHIT gene [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 35(3):204-218.
 - [16] Yang Q, Nakamura Y, Nakamura M, *et al.* Loss of Msh2 is not associated with FHIT deletion in breast carcinomas [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(5):2591-2595.
 - [17] Yang Q, Nakamura M, Nakamura Y, *et al.* Two-hit inactivation of FHIT by loss of heterozygosity and hypermethylation in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(9):2890-2893.
 - [18] Zochbauer-Muller S, Fong KM, *et al.* 5' CpG island methylation of the FHIT gene is correlated with loss of gene expression in lung and breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(9):3581-3585.
 - [19] Berghthorsson JT, Johannsdottir J, Jonasdottir A, *et al.* Chromosome imbalance at the 3p14 region in human breast tumours: high frequency in patients with inherited predisposition due to BRCA2 [J]. *Eur J Cancer*, 1998, 34(1):142-147.
 - [20] Santos SC, Cavalli LR, Cavalli IJ, *et al.* Loss of heterozygosity of the BRCA1 and FHIT genes in patients with sporadic breast cancer from Southern Brazil [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(4):374-377.
 - [21] Ingvarsson S, Agnarsson BA, Sigbjornsdottir BI, *et al.* Reduced Fhit expression in sporadic and BRCA2-linked breast carcinomas [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(11):2682-2689.
 - [22] Ahmadian M, Wistuba II, Fong KM, *et al.* Analysis of the FHIT gene and FRA3B region in sporadic breast cancer, preneoplastic lesions, and familial breast cancer probands [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(17):3664-3668.
 - [23] Kowara R, Golebiowski F, Chrzan P, *et al.* Abnormal FHIT gene transcript and c-myc and c-erbB2 amplification in breast cancer [J]. *Acta Biochim Pol*, 2002, 49(2):341-350.
 - [24] Ginstier C, Bardou VJ, Popovici C, *et al.* Loss of FHIT protein expression is a marker of adverse evolution in good prognosis localized breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2003, 107(5):854-862.
 - [25] Gatalica Z, Lele SM, Rampy BA, *et al.* The expression of Fhit protein is related inversely to disease progression on inpatients with breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2000, 88(6):1378-1383.
 - [26] Huiping C, Jonasson JG, Agnarsson BA, *et al.* Analysis of the fragile histidine triad (FHIT) gene in lobular breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2000, 36(12):1552-1557.
 - [27] Guler G, Uner A, Guler N, *et al.* The fragile genes FHIT and WWOX are inactivated coordinately in invasive breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2004, 100(8):1605-1614.
 - [28] Ingvarsson S, Sigbjornsdottir BI, Huiping C, *et al.* Alterations of the FHIT gene in breast cancer: association with tumor progression and patient survival [J]. *Cancer Detect Prev*, 2001, 25(3):292-298.
 - [29] 高鹏, 周庚寅, 魏军民, 等. 乳腺癌 c-erbB2 过表达与生存率、内分泌治疗效果和预后的关系 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(10):735-738.
 - [30] 赵坡, 李晓瑛, 陈乐真, 等. 乳腺癌中 FHIT 蛋白的低表达与转移的关系 [J]. *癌症*, 2002, 21(6):668-670.