Ⅲ酶切位点有关，当*Nla*Ⅲ酶切cDNA时可在不同的位点进行酶切，以致产生不同的代表同一基因的表达标签，这种现象不影响LongSAGE标签库的构建，且由于单条转录本只能产生单个LongSAGE标签，因此不对标签量所代表的基因表达丰度产生影响。本研究表明，对LongSAGE库中拷贝数超过35拷贝的36个表达标签进行检索，发现有9个不能找到与之匹配基因的表达标签，对这些新的表达标签的进一步研究有可能发现新的基因。

参考文献：

[1] CALDERONE R A, FONZI W A. Virulence factors of Candida albicans[J]. Trends Microbiol, 2001, 9(7): 327-335.
[2] LO H J, KOHLER J R, DIDOMENICO B, *et al*. Nonfilamentous C. albicans mutants are avirulent[J]. Cell, 1997, 90(5): 939-949.
[3] MITCHELL A P. Dimorphism and virulence in Candida albicans[J]. Curr Opin Microbiol, 1998, 1(6): 687-692.
[4] 周村建，郝飞，王鲁，等. 白念珠菌菌丝的诱导培养[J]. 第三军医大学学报，2004，26(9)：832-833.
[5] VELCULESCU V E, ZHANG L, VOGELSTEIN B, *et al*. Serial analysis of gene expression[J]. Science, 1995, 270(5235): 484-487.
[6] CHEN J, SUN M, LEE S, *et al*. Identifying novel transcripts and novel genes in the human genome by using novel SAGE tags[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(19): 12257-12262.
[7] SAHA S, SPARKS A B, RAGO C, *et al*. Using the transcriptome to annotate the genome[J]. Nat Biotechnol, 2002, 20(5): 508-512.
[8] CHEN J J, ROWLEY J D, WANG S M. Generation of longer cDNA fragments from serial analysis of gene expression tags for gene identification[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(1): 349-353.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2006)13-1387-01

个案与短篇

下咽癌组织中FHIT基因表达的研究

陈锦屏 （郑州市第五人民医院耳鼻咽喉科，郑州 450003）

脆性组氨酸三联体(FHIT)基因是1996年由Ohta等[1]克隆的一个位于3p14.2区域的候选抑癌基因。研究表明，FHIT在人类许多肿瘤组织或细胞系中呈现高频率的异常，与肿瘤的发生发展有关[2]。本研究采用免疫组化法，检测FHIT在下咽癌组织中蛋白的表达，并就其与临床病理指标的可能关系进行了研究。

1 材料与方法

1.1 临床资料

39例下咽癌标本选自我院耳鼻咽喉科2003年4月至2004年10月手术切除并经病理证实的组织标本，均为鳞状细胞癌，术前未行任何化疗、放疗。其中男性27例，女性12例，年龄37~79岁，中位年龄54岁。梨状窝癌13例，环状软骨后癌11例，咽后壁癌15例。临床分期：Ⅰ期5例，Ⅱ期9例，Ⅲ期17例，Ⅳ期8例。其中颈部淋巴结转移27例，无淋巴结转移12例。按组织学分级为：高分化9例，中分化11例，低分化19例；另取癌旁2 cm外经病理证实的正常下咽部上皮组织作为正常对照。

1.2 免疫组织化学

组织切片分别进行HE染色和免疫组化S-P法染色。兔抗人FHIT多克隆抗体及S-P试剂盒购自北京中山生物技术有限公司，免疫组化染色步骤按试剂盒说明进行。用PBS代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断标准

参考文献[3]，观察FHIT蛋白的分布，阳性强度和阳性率。先按染色强度评分：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评分：0分为阴性，1分为阳性细胞≤10%，2分为11%~50%，3分为51%~75%，4分为>75%，染色强度与阳性细胞百分比的乘积≥2分为免疫反应阳性(+)。余为阴性(-)。

1.4 统计学处理

采用SPSS 10.0统计软件包进行统计分析。计数资料的比较采用χ^2检验及Fisher精确概率法，相关分析采用Spearman相关分析。

2 结果

2.1 FHIT在下咽癌组织和癌旁正常下咽组织中的表达

FHIT特异性着色主要位于细胞质内，部分细胞核也有表达。下咽癌组织中FHIT呈点片状或区域性分布，且多为弱阳性表达(83.3%，15/18)，阳性表达率为46.2%(18/39)；正常咽上皮组织中均见FHIT阳性表达，呈弥漫性分布，且多为强阳性表达(71.4%，10/14)，阳性表达率为100%(14/14)；组间差异有显著性($\chi^2=27.459$，$P<0.05$)。

2.2 FHIT蛋白表达和下咽癌临床病理特征的关系

39例下咽癌组织中，FHIT阳性表达率在组织学分级中为：高/中分化鳞癌55.0%(11/20)，低分化鳞癌36.8%(7/19)，差异有显著性($P<0.05$)。淋巴结转移组FHIT蛋白阳性率为40.7%(11/27)，无淋巴结转移组为58.3%(7/12)，差异有显著性($P<0.05$)。根据临床病理分期，Ⅰ+Ⅱ期组与Ⅲ+Ⅳ期组之间FHIT蛋白阳性表达率分别为57.1%和40.0%差异有统计学意义($P<0.05$)，见表1。

（下转1392页）

作者简介：陈锦屏(1967-)，女，陕西省汉中市人，主治医师，主要从事耳鼻咽喉肿瘤方面的研究。电话：(0371)63858247

收稿日期：2005-09-29；修回日期：2006-03-21

程中，其染色体的不稳定性逐渐增高。

研究表明，发生于体外细胞的癌变过程中的细胞遗传学改变与体内细胞癌变历程中发生的染色体异常非常接近。因此，使用哺乳动物细胞体外培养系统研究染色体不稳定性与恶性转化的关系，分析诱导细胞的染色体核型将有助于了解机体细胞癌变过程中所发生的细胞遗传学改变。据报道，肿瘤细胞染色体数目变化复杂，最常见的染色体数目异常是非整倍体和多倍体。而肺癌患者癌细胞染色体数目变异主要为超二倍体和亚四倍体，染色体数目以48，75，单体(45)，三体(47)，38-200等最为典型[6]。因此，超二倍体、多倍体比例增加是细胞恶性转化的标志之一。这种染色体众数(model number)由二倍体向近二倍体、非整倍体、多倍体转化的趋势，代表着细胞增殖失控、核分裂加速，染色体复制过程错误率升高，核浆分裂失衡等增生细胞的特性。

上述结果表明诱导细胞染色体畸变率显著增加，提示细胞对各种DNA损伤修复能力逐渐降低或产生了不可逆缺陷。这一结果显示，在致癌物质长期存在时，支气管上皮细胞系染色体不稳定逐渐增加，更容易发生各类畸变并向恶性化方向转化，最终导致肿瘤发生。有研究表明[7]细胞染色体畸变率与肺癌临床分期密切相关，染色体畸变分析可望作为临床肺癌诊断及分期判断的一项有意义的辅助检查手段。

参考文献：

[1] 蒋幼凡，薛亚梅. ras P21和PCNA在非小细胞肺癌中的表达[J]. 重庆医学，2001，30(5)：438.

[2] TEIXEIRA-DA-COSTA L，LENGAUER C. Exploring and exploiting instability[J]. Cancer Biol Ther，2002，1(3)：212－225.

[3] MASUDA A，TAKAHASHI T. Chromosome instability in human lung cancers：possible underlying mechanisms and potential consequences in the pathogenesis[J]. Oncogene，2002，21(45)：6884－6897.

[4] 司徒镇强，吴军正. 细胞培养[M]//西安：世界图书出版社西安分公司，1996：138，186－187，127.

[5] 刘权章. 人类染色体方法学[M]//北京：人民卫生出版社，1992：272.

[6] 张世良，王立东. 肿瘤分子细胞遗传学[M]//郑州：郑州大学出版社，2002：184.

[7] 熊玮，黄桂君，钱桂生，等. 肺癌染色体畸变分析[J]. 重庆医学，2002，31(9)：776－777.

(编辑 陈聪连)

(上接1387页)

表1 FHIT与下咽癌临床病理特征的关系

临床特征	例数	FHIT +	FHIT −	χ^2	P
分化程度					
中/高分化	20	11	9	5.156	0.022
低分化	19	7	12		
淋巴结转移					
有	27	11	16	4.728	0.037
无	12	7	5		
临床病理分期					
Ⅰ+Ⅱ期	14	8	6	5.640	0.019
Ⅲ+Ⅳ期	25	10	15		

3 讨论

研究表明，在许多肿瘤组织中，FHIT基因呈现多发性，广泛性的纯合性或杂合性缺失，提示此基因的异常可能和肿瘤的发生有关，即为多种肿瘤的候选抑制基因。本研究显示，下咽癌组中FHIT阳性表达率显著低于正常咽上皮组，差异有显著性。Pavelic等[4]研究发现，在大部分头颈部鳞癌中，FHIT基因的表达均发生异常，并伴有$p21^{waf1}$表达的下调或缺失。FHIT蛋白表达下调或缺失可能是下咽癌发生的早期事件，FHIT蛋白在下咽癌组织中表达的降低，使得抑制正常咽上皮细胞恶性转化的能力降低，细胞发生癌变、增殖能力增强，导致肿瘤的发生。采用咽上皮活检结合免疫组化技术检测FHIT蛋白表达可作为监测下咽癌发生的辅助手段之一。

本实验证实，FHIT蛋白表达与下咽癌组织分化程度密切相关，组织分化程度高，恶性程度低，其蛋白高表达，提示FHIT在诱导肿瘤分化过程中起重要作用。本研究表明FHIT蛋白表达与下咽癌的临床分期及淋巴结转移相关，随临床分期增加、淋巴结的转移，FHIT蛋白阳性表达率逐渐降低。提示FHIT在肿瘤的发展浸润转移过程中起重要作用。Roz等[5]发现，外源性FHIT基因表达对肿瘤细胞株的恶性表型具有一定的逆转作用。随着对FHIT基因的进一步研究，必将为肿瘤的基因治疗提供一个广阔的前景。

总之，我们的研究发现，FHIT表达与下咽癌的发生、发展有关，其为下咽癌的早期诊断、判断预后提供新的参考。

关键词：下咽肿瘤；免疫组织化学；脆性组氨酸三联体基因
中图法分类号：R739.63 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] OHTA M，INOUE，COTTICELLI M G，*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.

[2] XIAO Y P，HAN C B，MAO X Y，*et al*. Relationship between abnormality of FHIT gene and EBV infection in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol，2005，11(21)：3212－3216.

[3] HAO X P，WILLIS J E，PRETLOW T G，*et al*. Loss of fragile histidine triad expression in colorectal carcinomas and premalignant lesions[J]. Cancer Res，2000，60(1)：18－21.

[4] PAVELIC K，KRIZANAC S，CACEV T，*et al*. Aberration of FHIT gene is associated with increased tumor proliferation and decreased apoptosis-clinical evidence in lung and head and neck carcinomas[J]. Mol Med，2001，7(7)：442－453.

[5] ROZ L，GRAMEGNA M，ISHII H，*et al*. Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines[J]. Proc Natl Acad Sci U S A，2002，99(6)：3615－3620.

(编辑 陈聪连)