

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)03-0279-05

外源性 *FHIT* 基因对多柔比星诱导胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响

薛淑芳¹, 许洪伟^{1*}, 张春清¹, 郝菁华¹, 秦成勇¹, 王潍博²(1. 山东大学山东省立医院 消化内科, 济南 250021; 2. 山东省立医院 化疗科, 济南 250021)

[摘 要] **目的:** 将脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, *FHIT*)基因导入该基因表达缺失的人胃癌细胞株 MGC-803, 探讨 *FHIT* 基因表达对多柔比星诱导胃癌细胞凋亡的影响。**方法:** 将载有人外源性 *FHIT* 基因的真核表达质粒 pRcCMV-*FHIT* 用脂质体介导转入 *FHIT* 表达缺失的胃癌细胞 MGC-803, 筛选阳性克隆, 同时以空载体 pRcCMV 转染的胃癌细胞及胃癌细胞株作为对照; 以多柔比星作用于 3 组细胞, 用 MTT 法测定细胞增殖的抑制率, 倒置显微镜下观察细胞形态变化, 用丫啶橙荧光染色与流式细胞术检测多柔比星处理前后各组胃癌细胞的凋亡率, 流式细胞术检测细胞周期的变化。**结果:** 通过流式细胞术检测, 经多柔比星处理后, 转染 *FHIT* 基因的 MGC-803 细胞凋亡水平(40.66%)与空质粒转染细胞(13.94%)及胃癌细胞(15.81%)相比明显增高, 存在显著性差异($P < 0.01$), *FHIT* 基因与多柔比星有轻度的协同促凋亡作用($P < 0.05$); 同时 *FHIT* 基因转染后的胃癌细胞生长周期出现了明显的 G_0/G_1 期阻滞(74.43% vs 56.30%、52.30%); 丫啶橙染色亦见转染 *FHIT* 基因的胃癌细胞凋亡数明显增多, 且细胞的增殖抑制率存在浓度和时间依赖性。**结论:** 外源性 *FHIT* 基因表达与多柔比星协同促进胃癌 MGC-803 细胞凋亡, *FHIT* 基因可提高胃癌细胞对多柔比星的敏感性。

[关键词] 胃癌; 脆性组氨酸三联体基因; 多柔比星; 基因转染; 细胞凋亡

[中图分类号] R730.54

[文献标志码] A

Influence of exogenous fragile histidine triad gene on Doxorubicin-induced apoptosis of gastric cancer cell MGC-803

XUE Shu-fang¹, XU Hong-wei^{1*}, ZHANG Chun-qing¹, HAO Jing-hua¹, QIN Cheng-yong¹, WANG Wei-bo²(1. Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Jinan 250021, China; 2. Department of Chemotherapy, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Jinan 250021, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of exogenous fragile histidine triad (*FHIT*) gene on Doxorubicin-induced apoptosis of gastric cancer cell MGC - 803. **Methods:** Recombinant plasmid pRcCMV-*FHIT* was transfected into gastric cancer cell line MGC-803 with the help of liposome and the positive clones were selected. MGC-803 cells transfected with empty pRcCMV and untransfected MGC-803 cells were taken as control and blank. After treatment with doxorubicin, the inhibition rate of the cells in 3 group was determined by MTT assay. The morphological changes of cancer cells were observed under inverted microscope and cell apoptosis was analyzed by acridine orange fluorescence staining method and flow cytometry (FCM). Cell cycle was analyzed by FCM. **Results:** Stable expression of *FHIT* protein was obtained in transfected MGC-803 cells. FCM showed that, after treatment with doxorubicin, the apoptosis cells were significantly higher in *FHIT*-transfected MGC-803 cells than those in control cells and blank cells (40.66% vs 13.94% and 15.81% , $P < 0.01$). There was a slight synergistic effect of *FHIT* gene and doxorubicin in inducing apoptosis ($P < 0.05$). We also found that cells had a G_0/G_1 phase arrest in *FHIT*-transfected cells, significantly higher than those in control cells and blank cells (74.43% vs 56.30% and 52.30%). Acridine orange staining showed obvious apoptosis of cells after transfected with *FHIT*; the inhibition of cells was in a concentration- and time-dependent manner. **Conclusion:** Doxorubicin and *FHIT* gene can synergistically induce apoptosis of gastric cancer cell line MGC-803. *FHIT* gene might increase the sensitivity of gastric cancer cells to doxorubicin.

[Key words] gastric cancer; fragile histidine triad gene; doxorubicin; gene transfection; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(3): 279-283]

[基金项目] 山东省自然科学基金资助项目(No. 2004ZX05). Supported by Shandong Provincial Natural Science Foundation of China(2004ZX05)

[作者简介] 薛淑芳(1980-), 女, 河北省武安市人, 硕士生, 主要从事胃癌防治方面的研究。E-mail: xuezi1128@163.com

* Corresponding author. E-mail: xu_hong_wei@ sina. com

脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, *FHIT*)基因是定位于染色体 3p14.2 的一个候选抑癌基因。研究^[1-2]证实, *FHIT* 基因的异常在胃癌发生、发展中起到重要作用, 但通过基因转染的方法对 *FHIT* 基因与胃癌化疗药物敏感性关系的研究较少。多柔比星是肿瘤化疗的代表性药物, 对一些肿瘤细胞具有诱导凋亡作用^[3,4]。但胃癌细胞对单用多柔比星的敏感性较差, 且易出现耐药现象。本研究将 *FHIT* 基因转入本身不表达 *FHIT* 蛋白的胃癌 MGC-803 细胞, 随后用多柔比星处理, 观察外源性 *FHIT* 蛋白与多柔比星是否可协同促进 MGC-803 细胞的凋亡, 从而改变胃癌细胞对多柔比星的敏感性, 为基因治疗与化疗联合治疗胃癌提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

真核表达质粒 pRcCMV-*FHIT* (含 *FHIT* 5~9 外显子, 全长 440 bp) 及作为对照的空质粒 pRcCMV 由美国 Thomas Jefferson 大学的 Huebner 惠赠, 均含 neo 抗性基因。人胃癌细胞株 MGC-803 (存在 *FHIT* 基因的限制性重排, *FHIT* 蛋白表达缺失^[5]) 购自山东省医学科学院。脂质体 FuGENE6 转染试剂盒购自 Roch 公司, 兔抗人 *FHIT* 多克隆抗体、羊抗兔 IgG 均购自北京中杉金桥公司, 多柔比星 (doxorubicin, 商品名为阿霉素) 购自法玛西亚普强有限公司, Annexin V FITC Kit 凋亡检测试剂盒购自晶美生物公司, 细胞周期检测试剂盒 Coulter DNA Prep Reagents Kit 购自 Beckman Coulter 公司, G418 与 MTT 均购自 Sigma 公司。

1.2 真核表达质粒 pRcCMV-*FHIT* 和 pRcCMV 的扩增和鉴定

用真核表达质粒 pRcCMV-*FHIT* 和 pRcCMV 转化大肠杆菌 DH5 α , AMP 抗性 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 常规筛选, 随机挑取阳性克隆进行菌液扩增, 取含 pRcCMV-*FHIT* 质粒的菌液送上海生工公司测序鉴定。

1.3 质粒的抽提

碱裂解法提取两种质粒并经 PEG 8000 纯化。

1.4 细胞培养、基因转染及转染细胞的筛选

将 1.3×10^5 的 MGC-803 细胞接种于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液的 6 孔板中, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 及饱和湿度条件下培养 24 h, 待细胞生长密度接近 60%~80% 时, 按脂质体试剂盒说明进行基因转染。质粒 pRcCMV-*FHIT* 和 pRcCMV 转染的 MGC-803 细胞分别命名并分组为 MGC-pRcCMV-*FHIT* (实验组) 和 MGC-pRcCMV (对照组), 亲本细胞

MGC-803 细胞作为未转染 (空白组) 对照。转染细胞于转染 48 h 后用 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 G418 进行筛选, 培养 1 周后 G418 浓度降至 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 维持。

1.5 Western blotting 检测外源性 *FHIT* 蛋白的表达

用含 G418 培养液筛选 35 d 获稳定克隆生长的细胞用 PBS 清洗 2 遍后, 加细胞裂解液 5 min, 刮取细胞裂解液于 Ep 管, 4 $^{\circ}\text{C}$ 72 000 $\times g$ 离心 20 min。取上清加入 1/5 体积上样缓冲液, 60 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 min。上样后进行 15% SDS-PAGE 分离, 然后电转移至硝酸纤维素膜上。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 液封闭 1 h, 洗膜后加入 1:100 的兔抗人 *FHIT* 多克隆抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床过夜。再次洗膜, 用 1:3 000 的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体室温 1 h, 充分洗膜后按 ECL 说明书进行显色、曝光、显影、定影。

1.6 MTT 法测定多柔比星对胃癌细胞增殖的抑制

取新鲜培养液, 将多柔比星分别配制成终质量浓度为 0.1、0.5、1.0、5.0、10 mg/L 的溶液。接种 3 组细胞, 24 h 后向各孔加入相应的药物, 总体积为 200 μl , 继续培养 24、48、72 h。加入 5 mg/ml 的 MTT, 每孔 20 μl , 孵育 4 h 后弃上清, 向每孔中加入 200 μl 10% SDS, 37 $^{\circ}\text{C}$ 保温过夜。在波长 570 nm 下测 *D* 值。计算多柔比星对细胞的增殖抑制率, 抑制率 (%) = (1 - 实验孔 *D* 值/对照孔 *D* 值) \times 100%。实验重复 3 次。

1.7 倒置显微镜观察细胞形态的变化

转染外源性 *FHIT* 基因及多柔比星作用前后, 倒置显微镜下观察并比较细胞形态的异同。

1.8 γ 吡啶橙染色法检测 *FHIT* 转染细胞的凋亡

用 0.5 mg/L 多柔比星处理 48 h 后, 收集细胞, PBS 洗 2 遍, 加 PBS 重悬细胞制成 $1 \times 10^7/\text{L}$ 细胞悬液, 取 95 μl 的细胞悬液, 加 5 μl 的 γ 吡啶橙储存液混匀, 吸 1 滴混合液点在洁净玻片上, 用盖玻片直接封片, 在荧光显微镜下计数 200 个细胞, 观察其中橙色细胞 (凋亡细胞) 数, 计算 3 复管平均值。

1.9 流式细胞术检测细胞凋亡及细胞周期

向实验组、对照组、空白组细胞中分别加入终质量浓度为 0.5 mg/L 的多柔比星, 并取不用多柔比星处理的上述 3 组细胞同时进行测定。培养 48 h 后收集细胞, 用 Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒, FACS 定量分析凋亡活性。另取部分 3 组细胞悬液, 用试剂盒 Coulter DNA Prep Reagents Kit 进行细胞标记, 流式细胞术测细胞周期。

1.10 统计学处理

应用 SPSS13.0 软件分析。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 3 组实验数据间的比较使用 *F* 检验。

2 结果

2.1 Western blotting 检测 *FHIT* 转染细胞 *FHIT* 蛋白的表达

将转染 *FHIT* 基因的细胞裂解后进行 Western blotting, 可检测到相对分子量约为 17 000 的蛋白质, 提示外源性 *FHIT* 基因已整合入胃癌细胞株 MGC-803 并开始蛋白表达。而同一实验中, 对照组及空白组均未见明显条带出现(图 1)。

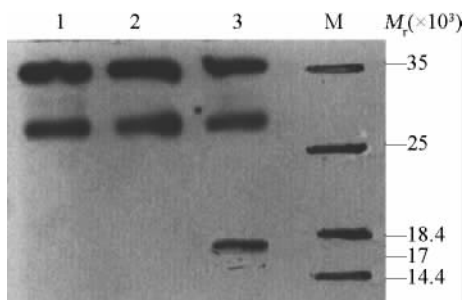


图 1 Western blotting 检测各组细胞 *FHIT* 蛋白的表达

Fig. 1 Expression of *FHIT* protein in different groups by Western blotting

1: MGC-803 (blank group); 2: MGC-pRcCMV (control group); 3: MGC-pRcCMV-FHIT (experimental group); M: Marker

2.2 MTT 法测定多柔比星对 3 组细胞增殖的抑制

多柔比星对 3 组胃癌细胞主要表现为抑制其增殖, 该抑制作用呈剂量依赖性。多柔比星作用 48 h 后, 在同一药物浓度下, 实验组细胞增殖抑制率明显高于对照组和空白组 ($P < 0.05$) (图 2)。在相同浓度作用下, 3 组细胞增殖抑制率呈时间依赖性。由图 3 中可以看出, 药物作用 24 ~ 48 h 这一时间段内, 细胞增殖抑制率的增长幅度较 48 ~ 72 h 更明显。在同一时间下, 实验组细胞的增殖抑制率也均明显高于另外两组细胞 ($P < 0.05$)。

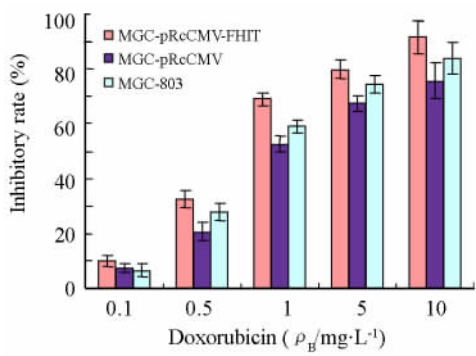


图 2 不同浓度多柔比星(48 h)对各组细胞增殖的抑制率

Fig. 2 Inhibitory rates of 3 groups by different concentrations of doxorubicin (at 48 h)

2.3 多柔比星致各组细胞形态的改变

多柔比星作用前, 空白组、对照组及实验组细胞生长旺盛, 形态规则, 以梭形、多边形贴壁伸展生长于培养瓶中。多柔比星作用后, 各处理组细胞数目减少, 部分细胞体积缩小、细胞皱缩、圆形细胞比例增多, 折光增强、漂浮细胞增多。凋亡细胞膜完整, 可有突起, 其中实验组细胞形态变化最为显著。

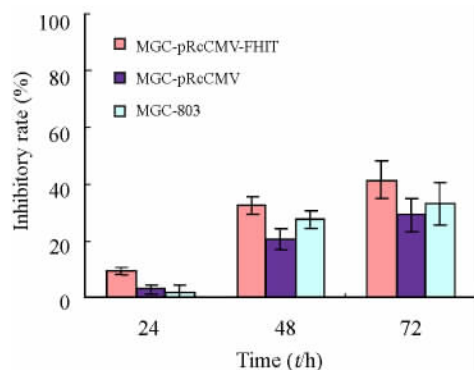


图 3 多柔比星(0.5 mg/L)作用不同时间对各组细胞增殖的抑制率

Fig. 3 Inhibition rates of 3 groups by doxorubicin (0.5 mg/L) after different time periods

2.4 丫啶橙染色法检测多柔比星对 *FHIT* 转染细胞凋亡的影响

丫啶橙染色中橙色代表凋亡细胞, 红色代表坏死细胞, 绿色代表活细胞。结果显示, 实验组中主要为橙色细胞, 而对照组、空白组及未经多柔比星处理的实验组橙色细胞数量明显偏少(表 1)。

表 1 丫啶橙染色法检测多柔比星对 *FHIT* 转染细胞凋亡的影响

Tab. 1 Effects of doxorubicin on apoptosis of *FHIT* transfected cells by acridine orange staining ($\bar{x} \pm s, \%$)

Doxorubicin ($\rho_B/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	MGC-803	MGC-pRcCMV	MGC-pRcCMV-FHIT
0	3.000 ±	4.167 ±	16.333 ±
	1.323	0.764	1.041**
0.5	13.833 ±	12.333 ±	36.667 ±
	2.021	2.754	3.753**

** $P < 0.01$ vs MGC-803 or MGC-pRcCMV

2.5 流式细胞术检测多柔比星对 *FHIT* 转染细胞凋亡的影响

用质量浓度为 0.5 mg/L 的多柔比星处理各组

细胞 48 h 后, 实验组细胞凋亡率为(40. 660 ± 3. 787)%, 明显高于对照组的(13. 937 ± 4. 835)% 及空白组的(15. 807 ± 1. 936)%, 差异有统计学意义($P < 0.01$, 表 2)。以多柔比星处理前、后的实验组和对照组细胞凋亡率做析因分析, 外源性 *FHIT* 与多柔比星对促进 MGC-803 细胞凋亡存在协同作用($F = 8.51$, $P < 0.05$)。处理前后, 对照组凋亡率与空白组相比均无明显差异($P > 0.05$)。

表 2 流式细胞术检测多柔比星致 *FHIT* 转染后细胞的凋亡
Tab. 2 Effects of doxorubicin on apoptosis of *FHIT* transfected cells as determined by FCM($\bar{x} \pm s$, %)

Doxorubicin (ρ_B /mg · L ⁻¹)	MGC-803	MGC-pRcCMV	MGC-pRcCMV- <i>FHIT</i>
0	3. 377 ± 1. 292	4. 413 ± 0. 936	19. 587 ± 2. 903**
	15. 807 ± 1. 936	13. 937 ± 4. 835	40. 660 ± 3. 787**

** $P < 0.01$ vs MGC-803 or MGC-pRcCMV

2.6 FCM 检测 *FHIT* 转染后细胞周期的变化

通过流式细胞术检测, 实验组 DNA 合成前期(G_0/G_1)细胞比例(74. 433 ± 4. 405)% 明显高于对照组(56. 300 ± 4. 491)% 及空白组(52. 300 ± 0. 625)%, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。合成期(S)细胞比例明显少于对照组及空白组($P < 0.05$) (表 3)。

表 3 外源性 *FHIT* 基因转染对 MGC-803 细胞周期的影响

Tab. 3 Effects of exogenous *FHIT* gene on cell cycle of MGC-803 cells($\bar{x} \pm s$, %)

Groups	G_0/G_1	S	G_2/M
MGC-803	52. 300 ± 0. 625	36. 467 ± 4. 250	12. 233 ± 4. 852
	56. 300 ± 4. 491	31. 100 ± 4. 716	12. 600 ± 8. 665
MGC-pRcCMV- <i>FHIT</i>	74. 433 ± 4. 405**	20. 267 ± 5. 460*	5. 267 ± 1. 893**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs MGC-803 group or MGC-pRcCMV group at same phase

3 讨论

FHIT 基因是 1996 年 Ohta 等^[6]在研究某家族

性肾细胞癌染色体异位时发现的, 并克隆了相应的 cDNA, 被认为是候选的抑癌基因。*FHIT* 与 *p53*、*Rb*、*p16* 等抑癌基因一样, 在多种癌的发生、发展过程中起重要作用^[7-8]。Fujishita 等^[9]证实, *FHIT* 敲除鼠可在淋巴组织、肝、子宫、睾丸、胃、小肠等多处发生肿瘤, 认为 *FHIT* 在抑制肿瘤生长中起重要作用。

随着 *FHIT* 异常与胃癌的相关性逐步明确, 已有学者开始研究针对 *FHIT* 异常的实验性治疗方法在胃癌治疗中的意义与价值。本实验用脂质体将外源性 *FHIT* 导入 *FHIT* 蛋白表达缺失的人胃癌细胞株 MGC-803 中, 通过 G418 筛选, Western blotting 证实该转染细胞有外源性 *FHIT* 蛋白表达, 表明 *FHIT* 转染成功。为研究 *FHIT* 与多柔比星在诱导胃癌 MGC-803 细胞凋亡及细胞周期阻滞中的作用奠定了基础。

多柔比星是常用抗癌药物之一, 具有强烈的细胞毒作用, 其机制为多柔比星分子嵌入 DNA 而抑制核酸合成, 可上调肿瘤细胞 Fas 的表达并能增加肿瘤细胞对 Fas 抗体的敏感性, 增加肿瘤细胞凋亡率^[10]。但由于不良反应、耐药性等问题限制了其应用。

本实验用多柔比星处理含外源性 *FHIT* 的 MGC-803 细胞, MTT 法发现, 多柔比星对 3 组胃癌细胞均有抑制增殖的作用, 抑制作用呈剂量和时间依赖性; 但在同一药物浓度下, 转染 *FHIT* 的胃癌细胞(实验组)增殖抑制率明显高于对照组和空白组。药物作用时间较短时, 凋亡的细胞相对较少, 此时凋亡细胞仍贴壁, 肿瘤细胞的吞噬现象较不活跃; 药物作用时间较长时, 凋亡细胞明显增多, 相对健康的肿瘤细胞减少, 肿瘤细胞增殖明显受到抑制, 凋亡细胞贴壁能力逐渐消失, 进一步继发肿瘤细胞变性、坏死。从凋亡细胞膜结构改变这方面, 通过流式细胞术分析也证实, 实验组细胞凋亡率显著高于对照组和空白组, 提示 *FHIT* 转染可显著促进胃癌细胞的凋亡; 多柔比星处理后的实验组细胞凋亡率亦显著高于未经处理的实验组细胞, 表明 *FHIT* 与多柔比星的联合治疗效果明显优于单独多柔比星或单独 *FHIT* 基因治疗效果。究竟两者可能呈简单相加抑或协同作用? 本研究进一步以多柔比星处理前、后的实验组和对照组细胞凋亡率做析因分析, 发现 *FHIT* 可增强胃癌细胞对多柔比星的敏感性。Kim 等^[11]发现, *FHIT* 蛋白的重新表达可增强化疗药物紫杉醇(paclitaxel)的促凋亡作用, 研究认为 *FHIT* 介导的凋亡可能与 Bcl-2-caspase 信号转导通路及 MDM2 等有关^[8,11], 与本研究结果相似。Ottey 等^[12]

分析了暴露于丝裂霉素 C 和短波紫外线的小鼠正常肾脏细胞及人类胃癌细胞株 MKN74,发现无论正常细胞还是癌细胞,*FHIT* 表达丢失使细胞对化疗药和射线的抵抗性增强。

细胞周期是一个复杂而有序并受严格调控的过程,细胞周期调控机制的失活,同样会导致细胞凋亡失控,变异的 DNA 可不经修复直接进入细胞周期,为突变的积累、肿瘤的形成创造契机。

FCM 分析发现,*FHIT* 基因转染组 G_0/G_1 期比例显著增加,S 期比例下降,细胞阻滞于 G_1/S 期检测点,提示 *FHIT* 主要通过诱导凋亡和细胞周期阻滞而抑制肿瘤细胞的增殖。本研究结果提示,这两种治疗方法的联合可能从抑制 DNA 合成及启动凋亡信号转导通路等不同途径促进肿瘤细胞凋亡,为基因治疗与化疗联合治疗提供了实验依据。

另外亦有研究^[13]发现,*FHIT* 蛋白的表达可以导致非小细胞肺癌 NCI-H460 对多柔比星的敏感性降低,与本研究结果不同。但不同的肿瘤细胞系对于多柔比星的反应也有差异,这也是一个重要的因素。鉴于一些同环境致癌因素密切接触的器官,如肺^[14-15]、膀胱^[16]、宫颈^[17]、消化道^[18-19]等,易于通过 *FHIT* 基因脆性位点的缺失或异常发生癌变,所以研究胃癌细胞中 *FHIT* 的异常对阐明胃癌的发生发展具有重要意义。而本身即具有致癌作用的一些化疗药物,对 *FHIT* 表达或缺失的胃癌细胞究竟更敏感或更耐药,国内外鲜见报道。因此,胃癌化疗的原发性耐药与 *FHIT* 基因表达或缺失是否相关及其具体机制还需进一步研究。

[参 考 文 献]

[1] Kawaguchi K, Yashima K, Koda M, *et al.* Fhit expression in human gastric adenomas and intramucosal carcinomas: correlation with Mlh1 expression and gastric phenotype [J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(3): 672-677.

[2] Capuzzi D, Santoro E, Hauck WW, *et al.* Fhit expression in gastric adenocarcinoma: correlation with disease stage and survival [J]. *Cancer*, 2000, 88(1): 24-34.

[3] Lee TK, Lau TC, Ng IO. Doxorubicin-induced apoptosis and chemosensitivity in hepatoma cell lines[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2002, 49(1): 78-86.

[4] Oktem G, Karabulut B, Selvi N, *et al.* Differential effects of doxorubicin and docetaxel on nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in MCF-7 human breast cancer cells[J]. *Oncol Res*, 2004, 14(7-8): 381-386.

[5] Baffa R, Veronese ML, Santoro R, *et al.* Loss of *FHIT* expression

in gastric carcinoma[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(20): 4708-4714.

- [6] Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, *et al.* The *FHIT* gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated ((3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers[J]. *Cell*, 1996, 84(4): 587-597.
- [7] Zhao P, Liu W, Lu YL. Clinicopathological significance of *FHIT* protein expression in gastric adenocarcinoma patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(36): 5735-5738.
- [8] Nishizaki M, Sasaki J, Fang B, *et al.* Synergistic tumor suppression by coexpression of *FHIT* and p53 coincides with *FHIT*-mediated MDM2 inactivation and p53 stabilization in human non-small cell lung cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(16): 5745-5752.
- [9] Fujishita T, Doi Y, Sonoshita M, *et al.* Development of spontaneous tumours and intestinal lesions in *Fhit* gene knockout mice[J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(8): 1571-1574.
- [10] 郑世营, 张晓霄, 赵 军, 等. 阿霉素上调肿瘤细胞 Fas 基因表达并诱导凋亡的实验研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22(2): 219-221.
- [11] Kim CH, Yoo JS, Lee CT, *et al.* *FHIT* protein enhances paclitaxel-induced apoptosis in lung cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(7): 1692-1698.
- [12] Ottey M, Han SY, Druck T, *et al.* *Fhit*-deficient normal and cancer cells are mitomycin C and UVC resistant[J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(9): 1669-1677.
- [13] Andriani F, Perego P, Carenini N, *et al.* Increased sensitivity to cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines after *FHIT* gene transfer[J]. *Neoplasia*, 2006, 8(1): 9-17.
- [14] Wali A, Srinivasan R, Shabnam MS, *et al.* Loss of fragile histidine triad gene expression in advanced lung cancer is consequent to allelic loss at 3p14 locus and promoter methylation[J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(2): 93-99.
- [15] Rohr UP, Rehfeld N, Geddert H, *et al.* Prognostic relevance of fragile histidine triad protein in patients with small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1): 180-185.
- [16] Vecchione A, Sevigiani C, Giarnieri E, *et al.* Inactivation of the *FHIT* gene favors bladder cancer development[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(22): 7607-7612.
- [17] Lea JS, Ashfaq R, Muneer S, *et al.* Understanding the mechanisms of *FHIT* inactivation in cervical for biomarker development [J]. *J Soc Gynecol Investig*, 2004, 11(5): 329-337.
- [18] 刘复兴, 黄晓平, 赵春霞, 等. 食管鳞癌 *FHIT* 基因等位缺失及其表达下调[J]. *癌症*, 2004, 23(9): 992-998.
- [19] Sarli L, Bottarelli L, Azzoni C, *et al.* Abnormal *Fhit* protein expression and high frequency of microsatellite instability in sporadic colorectal cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10): 1581-1588.

[收稿日期] 2007 - 01 - 17

[修回日期] 2007 - 04 - 30

[本文编辑] 郁晓路