

자궁경부 상피암종에서 Fragile Histidine Triad(FHIT) 유전자 산물의 발현에 대한 면역조직화학적 연구

성균관대학교 의과대학 강북 삼성병원 산부인과, 순천향대학교 의과대학 병리학교실*
이상준 · 김창진*

=Abstract=

Expression of Fragile Histidine Triad (FHIT) Gene Product in the Uterine Cervical Carcinoma

Sang-Joon Lee, M.D., Chang-Jin Kim,* M.D.

Sungkyunkwan University, School of Medicine, Kangbuk Samsung Hospital, Department of Obstetrics and
Gynecology, Soonchunhyang University, College of Medicine, Department of Pathology*

To investigate the involvement of expression of the Fragile Histidine Triad(FHIT) gene product in the process of carcinogenesis and progression in cervical carcinoma, we examined its expression by immunohistochemical method in 15 cervical invasive carcinomas, 10 low grade cervical intraepithelial neoplasias(CINs) and 30 high grade CINs(CINII and III). We detected expression of FHIT gene product in 4 of 15(27%) of invasive carcinomas, 3 of 10(30%) low grade CIN and 7 of 30(23%) of high grade CIN, while we detected expression of FHIT gene product in 28 of 45(62%) normal and metaplastic epithelium near the tumor. These data indicate that loss of expression of FHIT gene product has some role in the early tumorigenesis of uterine cervical carcinoma, but not the consequence of the pregression of the tumor

Key Words: FHIT, Immunohistochemistry, Cervical carcinoma

I. 서론

자궁경부암은 우리나라의 여성 악성종양중 발생 빈도가 수위를 차지하는 종양으로 이 종양의 발생 기전에 대하여 아직도 명확히 밝혀진 바 없는 실정이다. 현재까지 알려진 바에 의하면 암억제유전자인 p53나 retinoblastoma(Rb)의 변이에 의하여 정상적인 암억제기능을 나타내지 못하는 단백질 생성되거나 혹은 종양유발 인체유두종바이러스(human papillomavirus)의 E6와 E7단백이 암억제유전자 단백질과 결합하여 이들의 암억제 기능을 방해함으로써 자궁경부암이 발생하는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 그러나 자궁경부암 조직에서의 p53나 Rb 유전자의 변이

는 다른 장기의 종양에 비하여 매우 드물기 때문에 이들 유전자의 변이가 자궁경부암 발생과 밀접한 관련이 있다고 보기 어렵다.³⁾ 더욱이 인체유두종바이러스의 감염만으로 자궁경부암이 발생하는 것 같지 않다.

정상세포가 악성세포로 전화되는 과정에는 정상세포의 분열시 연약한(fragile) 부위에 있는 암억제기능의 유전자가 염색체가 끊어짐으로 소실되거나 translocation(전좌)되고 이에 따라 암억제 기능이 동시에 소실되어 암이 발생하는 것으로 알려졌다.^{4,5)} 특히 염색체 3p의 소실은 폐암^{6,7)} 발생과 밀접한 관계가 있고 또한 폐암의 전구병변인 기관지 상피이형성(dysplasia)⁸⁾ 과도 관련 있는 것으로 보아 염색체 3p부위에 암발생과 연관있는 유전자가 있는 것

으로 알려졌다.⁹⁻¹²⁾ 3p의 소실과 암발생과의 관계에 대한 많은 연구에서 3p14.2부위에 암억제 유전자가 존재한다는 사실이 밝혀졌고,¹³⁻¹⁵⁾ 1996년 Ohta 등¹⁶⁾은 3p14.2에 존재하는 암억제의 기능을 갖는 유전자인 fragile histidine triad (FHIT) 유전자를 발견하였다. 이에 따라 이 유전자의 이상은 폐,¹⁷⁾ 대장 및 식도,¹⁶⁾ 유방,¹⁸⁾ 두경부,¹⁹⁾ 위장,¹⁶⁾ 자궁경부,²⁰⁾ 및 췌장²¹⁾ 등의 암종발생과 밀접한 관련이 있음이 연구되었다.

근자에 FHIT 유전자의 이상 전사(abnormal transcription)와 암 발생과에 대한 연구가 각광을 받게 되었으나 자궁경부암 발생과의 관계에 대한 연구는 미진한 편이고 특히 FHIT 유전자 단백 발현에 대한 면역조직화학적 연구는 매우 드물며 국내에서는 아직 이에 대한 연구 보고가 없는 실정이다. 이에 연구자는 FHIT 유전자 단백(Fhit) 발현과 자궁경부암 발생과의 관계를 알기 위하여 15예의 침윤성 암과 40예의 상피내종양(CIN)을 대상으로 면역조직화학적 방법으로 연구하였다.

II. 연구 대상 및 방법

자궁경부의 생검이나 자궁절제술로 얻은 조직을 병리조직학적으로 검사하여 상피내종양으로 진단된 40예 및 침윤암으로 진단된 15예를 대상으로 하였다. 연령 분포는 24-63세로 평균 51세 이었다.

정상 대조군은 암병소부위에서 3cm 이상 떨어진 정상조직 혹은 암병소가 없는 정상 자궁경부조직 45예를 대상으로 하였다.

떼어낸 조직을 10% buffered formalin에 8시간-14시간 고정 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하였고, 이에서 4-6 μ m의 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색과 면역조직화학적 염색을 하였다.

15예의 침윤성 암종 각질화형(keratinizing type), 대형세포 비각질화형(large cell nonkeratinizing type), 중간세포형(intermediate cell type) 및 소세포형(small cell type) 이 각각 3, 5, 5, 및 2예 이었다.

Fhit 단백질의 면역조직화학적 염색을 위한 항체는 다클론 항체(polyclonal antibody)로서 Zymed(California, USA) 제품을 사용 하였다. 염색은, paraffin 절편을 xylene에 탈 파라핀 후 graded ethanol로 함수 과정을 거쳐 0.01M citrate buffer(pH 6.0)에 넣고 micro-

wave로 700W에서 15분간 끓여 항원을 노출 시켰다. 그 후 내인성 peroxidase를 차단하기 위하여 methanol(0.3% hydrogen peroxide)용액에 실온에서 30분간 처리 하였다. 그 후 비 특이적 결합을 차단하기 위하여 10% 정상 goat 혈청과 30분간 실온에서 반응 시켰다. 일차 항원을 10% BSA(bovine serum albumin)의 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)에 희석하여(1:1000) 실온에서 40분간 반응 시켰다. 그 후 PBS로 3회 수세 후 다시 이에 biotin이 부착된 항 goat 면역 글로불린을 실온에서 30분간 반응 시켰다. 그 후 다시 PBS로 3회 수세 후 peroxidase가 부착된 streptavidin에 30분간 실온에서 반응 시켰다. 그 후 다시 PBS로 수세 후 0.005% 3'-diaminobenzidine(DAB)로 발색 후 흐르는 물로 수세 하였고 그 후 hematoxylin으로 대조염색을 하였다. 음성 대조군은 일차항체대신 PBS를 사용하여 같은 과정을 거쳤다. 양성대조군은 신장조직을 사용하여 신 세포관 세포에 발현된 Fhit 단백을 양성 대조군으로 하였다.

면역조직화학적 염색상 양성반응은 음성대조군과 비교하여 세포질에 갈색 반응을 양성반응으로 판독하였고, 조직학적 유형간의 통계적 검정은 Mann-Whitney U test로 시행하여 $p < 0.005$ 를 통계적 의미 있는 것으로 하였다.

III. 결 과

정상 자궁경부 상피세포중 주로 기저세포층과 방기저세포층 세포의 세포질에 양성 반응을 보였으며(Fig. 1), 편평상피화생 세포에도 강한 양성 반응을 보였다(Fig. 2). 또한 CIN에서의 양성반응은 세포질에 균일적으로 발현 되었으며(Fig. 3), 이러한 발현은 CIN 단계를 지나 침윤성 암으로 진행됨에 따라 소실되는 경향을 보였다(Fig. 4). 정상 상피세포와 CIN 및 침윤성 암과의 Fhit 단백질 발현은 정상에서는 62%에서 양성, 38%에서 음성인 반면, 40예의 CIN에서는 25%에서 양성 및 75%에서 음성이므로 정상에서는 양성율이 높은 반면, CIN에서는 음성율이 높아($p < 0.005$) CIN에서 Fhit 단백질 발현이 정상에 비하여 낮았다. 이러한 결과로 보아 Fhit 단백질의 발현감소는 자궁경부 상피내종양 발생과 밀접한 관련이 있

Fig 1. Normal stratified squamous epithelium shows strong positive reaction for Fhit in the basal and parabasal cells(Peroxidase, ABC)

Fig 3. CINIII shows decreased Fhit expression (Peroxidase, ABC)

Fig 2. Squamous metaplastic cells show strong positive reaction for Fhit(Peroxidase, ABC)

Fig 4. Invasive squamous cell carcinoma shows negative reaction for Fhit(Peroxidase, ABC)

는 것으로 생각 된다. 또한 정상과 침윤성 암을 비교할 때 침윤성암에서의 음성율은 73%로 정상조직에서의 38%에 비하여 통계적으로 유의성 있는 차이를 보였다($p < 0.005$). 그러나 CIN과 침윤성암과 비교할 때 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한결과는 Fhit단백의 발현은 자궁경부암의 발생초기에 관여하는 것으로 생각된다. 한편 침윤성 암에서 각 조직학적 양상에 따른 Fhit단백 발현의 차이는 관찰되지 않았다.(Table 1)

전자, 및 이 유전자들을 조절하는 다른 유전자들의 여러번에 걸친 단계적인 이상에 의하여 발생한다. 이들 유전자들은 염색체의 특정 부위에 존재하며 세포분열시 소실되거나 전좌되어 이상을 초래한다. 염색체가 세포분열시 끊어져 소실되거나 전좌되는 연약한 부위는 상이한 염색체에 다양하게 분포되어 있으나 이들 중 3p부위의 소실은 다양한 종양에서 관찰되고 있어 이 부위에 암 발생을 억제하는 역할을 하는 유전자가 존재하는 것으로 알려졌다.⁵⁻¹²⁾

IV 고찰

암은 일종의 유전 질환으로 암유전자, 암 억제유

1996년 Ohta 등¹⁶⁾은 3p14.2에 존재하는 암억제의 기능을 갖는 유전자인 fragile histidine triad (FHIT) 유전자를 발견하였다. 그후 이 유전자의 이상은 폐,¹⁷⁾ 대장 및 식도,¹⁶⁾ 유방,¹⁸⁾ 두경부,¹⁹⁾ 위장,¹⁶⁾ 자궁경부,²⁰⁾ 및 췌장²¹⁾ 등의 암종발생과 밀접한 관련이 있

Table 1. Expression of Phit in CIN and Invasive Carcinoma

(No.)	Fhit Reactivity		Fhit Negative(%)
	Positive(No.)	Negative(No.)	
Normal(45)	28	17	38
CIN I(10)	3	7	70 (p <0.005)
CINII(13)	4	9	69
CINIII(17)	3	14	82
Invasive Ca.(15)	4	11	73 (p <0.005)
Kerat. type (3)	1	2	67
LC-Nonkeratin. type(5)	2	3	60
Intermediate type(5)	1	4	80
small cell type(2)	0	2	100

Ca.: carcinoma Kerat.: keratinizing No.: Numbers LC-Nonkeratin.: large cell nonkeratinizing

음이 발표되었다.

1-2 Mb크기의 FHIT유전자는 10개의 exon으로 이루어져 있으며 이들중 exon 5-9의 5개의 exon이 1.1kb의 비교적 작은 mRNA를 만들고, 이 mRNA는 16.8Kd의 단백을 만든다. 염색체중 가장 연약하여 세포분열시 결손, 전좌 혹은 재배열(rearrangement)가 빈번히 일어나는 FRA3B가 3p14.2부위 내에 있음이 발견되었고¹⁶⁾ FHIT유전자 부위가 여러 환경적 독성인자들에 의하여 유전자의 결손, 전좌 혹은 재배열이 됨에 따라 종양이 발생될 수 있다.

FHIT유전자 산물인 Fhit단백은 효모(yeast)에서 발견된 histidine triad와 구조적으로 동일하다. 효모의 histidine triad는 diadenosine asymmetrical hydrolase기능이 있어 AP₄A를 분해하여 adenosine triphosphate과 adenosine monophosphate으로 나눈다.¹⁶⁾ 사람에서 발견된 Phit단백 역시 AP₃A asymmetrical hydrolase기능이 있어 AP₃A를 분해하여 adenosine 5'-diphosphate과 AMP로 나눈다. 따라서 이 유전자는 염색체의 연약한 부위(fragile)에 있으며 효모에서와 같은 histidine triad 단백을 만들기 때문에 FHIT라 명명하였다.¹⁶⁾ FHIT mRNA발현은 대부분의 모든 조직에서 관찰되나, 특히 FHIT mRNA와 단백질의 과 발현은 주로 상피세포에서 관찰되고 있다.¹⁶⁾ 종양세포와 정상세포에서의 FHIT전사물(transcript)을 비교해 볼 때 이 유전자의 이상이 폐,¹⁷⁾ 대장 및 식도,¹⁶⁾ 유방,¹⁸⁾ 두경부,¹⁹⁾ 위장,¹⁶⁾ 자궁경부,²⁰⁾ 및 췌장²¹⁾ 등의 다양한 종양에서 관찰되고 있다. 이들 이상

은 주로 cDNA상의 exon의 결손이며, 이러한 mRNA의 exon 결손은 FHIT유전자 결손과 관련이 있고, 따라서 Fhit단백의 비정상적인 발현은 mRNA 전사 과정에서 온 것이 아니라 FHIT유전자 자체의 결함에 의한 것으로 알려졌다.²²⁻²⁴⁾ 그러나 이러한 연구 결과들에 반하여 FHIT유전자의 이상이 암 발생과 관련이 없다는 연구 보고도 발표되었다. Muller 등²⁵⁾은 자궁경부암의 세포주(cell line)와 조직을 대상으로 한 연구에서 95%의 조직과 82%의 세포주에서 wild-type의 전사물을 확인하여 FHIT유전자의 암억제기능에 대한 이의를 제기하였다. 또한 Chu²⁶⁾ 등은 조사한 대다수의 자궁경부암에서 FHIT mRNA 전사물이 정상인 것으로 보아 자궁경부암 발생에 FHIT유전자가 직접적으로 관여하는 것이 아니고 FHIT유전자 가까이에 있는 다른 미지의 유전자가 관여할 것이라 하였다.

유전자(DNA)의 역할은 mRNA의 생성 과정을 거쳐 세포 생명현상에 필요한 단백을 만들어내는 것이다. 따라서 정상적 기능을 갖지 못하는 비정상 단백질은 유전자의 변이나 mRNA생성과정중 전사 이상(aberrant transcript)에 의하여 만들어 질 수 있다. 그러나 Druck 등²²⁾은 FHIT유전자와 mRNA 전사 과정 모두 정상인 경우에도 Fhit단백의 감소 혹은 발현이 안되는 경우가 있기 때문에 암 발생과정에서 FHIT유전자의 역할을 알기 위하여서는 종양 조직에서 Fhit단백의 발현을 Western blot과 면역조직화학적 방법으로 확인 하는 것이 중요하다고 하였다.

이에 본 연구에서는 자궁경부 상피암종에서 Fhit 단백질의 발현을 면역조직화학적 방법으로 검사하여 자궁경부 편평세포암 발생과 Fhit 단백질 발현과의 관계를 보았다.

본 연구에서는 정상 상피세포에서의 Fhit 단백질 발현은 62%인 반면 비 발현은 38%로 발현율이 다소 높은 경향을 보였는데 이 결과는 대부분의 연구자들의 보고에서^{27,31)} 거의 모든 정상세포에서는 FHIT 전사 이상이 관찰되지 않았고, 면역조직화학적 염색결과에서도 이러한 사실이 증명되었다는 결과와 다른 결과이었는데 이러한 결과의 차이는 사용한 Fhit 단백질에 대한 항체가 상이하기 때문인 것으로 생각된다.

상피내 종양에서의 Fhit 단백질 발현은 CIN의 저등급에서는 발현율이 30%, 비발현율이 70%로 비발현율이 통계적으로 유의성있게 증가 하였다. 그러나 등급의 차이에 따른 비 발현율의 차이는 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 Yoshino 등,²⁸⁾ Segawa 등,²⁹⁾ Greenspan 등³⁰⁾ 및 Hendricks 등³¹⁾의 연구 결과와 유사한 것이다.

침윤성 암에서는 발현율이 27%, 비 발현율이 73%로 역시 통계적으로 유의한 차이를 보였으나 조직학적 유형에 따른 차이는 관찰되지 않았다. 그러나 2예의 소세포 암종은 모두 Fhit 항체에 음성 반응을 보여 100%의 비 발현을 보였는데 이러한 결과는 Segawa 등²⁹⁾의 연구에서 소세포암에서 FHIT 전사 이상이 흔히 관찰된다는 보고와 일치하는 것이나 본 연구에서 소세포암의 예가 2예로 수가 적기 때문에 이에 대하여서는 향후 좀더 많은 예를 대상으로 한 연구가 이루어져야 할 것이다.

FHIT 유전자와 같은 염색체 내의 연관한 유전자 부위는 여러 가지 환경적 유해물질에 의하여 쉽게 영향을 받을 수 있다. FHIT 유전자의 이상은 폐장, 두경부 및 환경적 요인에 의하여 생기기 쉬운 intestinal type(장형)의 위암 등에서 높은 율로 관찰되기 때문에 FHIT 유전자의 이상은 흡연이나 음주 등에 의하여 유도 될 수 있다. Sozzi 등^{32,33)}은 폐암 조직을 대상으로 흡연자와 비흡연자에서의 FHIT 유전자 차이를 연구한 논문에서 흡연자에서 비흡연자에 비하여 매우 높은 율의 FHIT 유전자 이상을 관찰하여 과 흡연하는 사람에서 FHIT 유전자의 이상 유무 검사가 폐암 발생 위험을 알려줄 수 있는 방법이 될 수도

있다고 하였다.

자궁경부 편평세포암 발생의 위험인자로 흡연과 음주 등의 유해인자가 거론되고 있는데, 향후 FHIT 단백질의 발현 양상은 과 흡연자에 있어서 자궁경부암 발생 위험도를 예측할 수 있는 예측인자로도 활용 될 수 있을 것으로 기대 된다.

자궁경부암 발생과 HPV 감염과 밀접한 연관이 있는 것으로 알려 졌는데 HPV 감염과 FHIT 유전자 발현과의 관계에서 Wike 등³⁴⁾은 강력한 종양발생 기능이 있는 HPV 16 형의 유전자가 FRA3B 연관한 부위 근처에 삽입되는 것을 발견하였고, HPV 16 이 삽입되는 FRA3B 부위는 FHIT 유전자의 exon 4-5 사이의 부위로 HPV 16이 삽입되는 과정에 FHIT 유전자에 영향을 주어 FHIT 유전자 발현에 이상을 초래 함으로 암이 유발 될 수 있다고 하였다. Su 등²⁷⁾은 16예의 자궁경부암 중 13예(81%)와, 7예의 정상조직 중 4예(57%)에서 비정상적인 FHIT 유전자 전사물을 관찰하였고 이들에게서 HPV 감염을 관련지어 볼때 이러한 비정상적 mRNA 전사와 HPV와는 관련이 없다고 하였다. 또한 Segawa 등²⁹⁾은 FHIT 유전자의 이상과 HPV 감염과의 관계에서 FHIT 전사 이상을 보인 80%에서 HPV E6-7 발현이 억제된 결과로 보아 자궁경부 편평세포암 발생시 FHIT 전사 이상이 있는 예에서는 HPV 감염이 발견되지 않아 HPV 감염과 FHIT 전사 이상과는 특이한 관련이 없다고 하였다.

FHIT 유전자의 이상에 의한 암 발생은 자궁경부, 자궁내막 및 난소 등의 장기예 따라 상이하다. Hendricks 등³¹⁾은 난소, 자궁내막 및 자궁경부암 세포주를 대상으로 한 연구에서 FHIT 전사 이상은 자궁경부암 세포주에서 다수 관찰되고 난소와 자궁내막암 세포주에서는 FHIT 전사 이상이 없다고 하였다.

V. 결론

FHIT 유전자는 염색체의 3p14.2에 존재하며, 인체의 다양한 종양에서 이 유전자의 mRNA의 이상 전사물이 자주 관찰된다. 또한 이 유전자 부위는 연관하기 때문에 여러 환경적 유해 인자들에 의하여 세포분열시 결손, 전좌 및 재배열등의 이상이 흔히 발생하고 이러한 결과로 암종이 생길 수 있다.

근자에 FHIT 유전자의 이상 전사(abnormal trans-

cription)와 암 발생과에 대한 연구가 각광을 받게 되었으나 자궁경부암 발생과의 관계에 대한 연구는 미진한 편이고 특히 FHIT유전자 단백질 발현에 대한 면역조직화학적 연구는 매우 드물며 국내에서는 아직 이에 대한 연구 보고가 없는 실정이다. 이에 연구자는 FHIT유전자 단백질(FHIT) 발현과 자궁경부암 발생과의 관계를 알기 위하여 15예의 침윤성 암과 40예의 상피내종양(CIN)을 대상으로 면역조직화학적 방법으로 연구하여 다음의 결과를 얻었다.

즉 정상 상피세포와 CIN 및 침윤성 암과의 Fhit 단백질 발현은 정상에서는 62%에서 양성, 38%에서 음성인 반면, 40예의 CIN에서는 25%에서 양성 및 75%에서 음성으로 정상에서는 양성율이 높은 반면, CIN에서는 음성율이 높아($p < 0.005$) CIN에서 Fhit 단백질 발현이 정상에 비하여 낮았다. 이러한 결과로 보아 Fhit단백의 발현감소는 자궁경부 상피암종 발생과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각 된다. 또한 정상과 침윤성 암을 비교할 때 침윤성암에서의 음성율은 73%로 정상조직에서의 38%에 비하여 통계적으로 유의성 있는 차이를 보였다($p < 0.005$). 그러나 CIN과 침윤성암과 비교할 때 큰 차이를 보이지 않았다. 한편 침윤성 암에서 각 조직학적 양상에 따른 Fhit단백 발현의 차이는 관찰되지 않았다.

이러한 결과는 Fhit단백의 발현은 자궁경부암의 발생초기에 관여 하는 것으로 생각된다.

-참고문헌-

- Munger K, Werness BA, Dyson N et al: Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J* 1989; 8:4099-105.
- Werness BA, Levine AJ, Howley PM: Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990; 248:76-9.
- Choo KB, Chong KY: Absence of mutations in the p53 and the retinoblastoma susceptibility genes in primary cervical carcinomas. *Virology* 1993; 193:1042-6.
- Yunis JJ, Soreng AL: Constitutive fragile sites and cancer. *Science* 1984; 226:1199-204.
- Yunis JJ, Soreng AL, Bowe AE: Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogens. *Oncogene* 1987; 1:59-69.
- Naylor SL, Johnson BE, Minna JD et al: Loss of heterozygosity of chromosome 3p markers in small cell lung cancer. *Nature* 1987; 329:451-4.
- Rabbitts P, Doughlass J, Daly M et al: Frequency and extent of allelic loss in the short arm of chromosome 3 in non small cell lung cancer. *Genes Chromosom Cancer* 1989; 9:95-105.
- Hibi K, Kakahashi T, Yamakawa K et al: Three distinct regions involved in 3p deletion in human lung cancer. *Oncogene* 1992; 7:445-9.
- Maestro R, Gasparotto D, Vukosavljevic T et al: Three discrete regions of deletion at 3p in head and neck cancers. *Cancer Res* 1993; 53:5775-9.
- Ogawa O, Kakehi Y, Ogawa K et al: Allelic loss at chromosome 3p characterizes clear cell phenotype of renal vcell carcinoma. *Cancer Res* 1991; 51:949-53.
- Ishwad CS, Forrell RE, Rossie KN et al: Loss of heterozygosity of the short arm of chromosomes 3 and 9 in oral cancer. *Int J Cancer* 1996; 69:1-4.
- Lothe RA, Rossa SD, Stenwig AE et al: Loss of 3p or 11p alleles is associated with testicular cancer tumors. *Genomics* 1989; 5:134-8.
- Kastury K, Baffa R, Druck T et al: Potential gastrointestinal tumor suppressor locus at the 3p14.2 FRA3B site identified by homozygous deletions in tumor cell lines. *Cancer Res* 1996; 56:978-83.
- Boldog FL, Waggoner B, Glover TW et al: Integrated YAC contig containing the 3p14.2 hereditary renal carcinoma 3;8 translocation breakpoint and the fragile site FRA3B. *Genes Chrom Cancer* 1994; 11:216-21.
- Buchhagen DL, Qiu L, Etkind P: Homozygous deletion, rearrangement and hypermethylation implicate chromosome region 3p14.3-3p21.3 in sporadic breast-cancer development. *Int J Cancer* 1994; 57:473-9.
- Ohta M, Inoue H, Coticelli MG et al: The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal cell carcinoma associated translocation breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell* 1996; 84:587-97.
- Sozzi G, Veronese ML, Negrini M et al: The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 1996; 85: 17-26.
- Negrini M, Monaco Ca, Vorechovsky I et al: The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in breast carcinomas. *VCancer Res* 1996; 56:3173-9.
- Virgilio L, Shuster M, Gollins SM et al: FHIT gene alterations in head and neck squamous cell carcinomas. *Proc natl Acad Sci USA* 1996; 93:9770-5.
- Greenspan DL, Connolly DC, Wu R et al: Loss of FHIT expression in cervical carcinoma cell lines and

- primary tumors. *Cancer Res* 1997; 37: 4692-8.
21. Simon B, Bartsch D, Barth P et al: Frequent abnormalities of the putative tumor suppressor gene FHIT at 3p14.2 in pancreatic carcinoma cell lines. *Cancer Res* 1998; 58:1583-7.
22. Druck T, Hadaczek P, Fu TB et al: Structure and expression of the human FHIT gene in normal and tumor cells. *Cancer Res* 1997; 57:504-12.
23. Inoue H, Ishii H, Alder H et al: Sequence of the FRA3B common fragile region: Implications for the mechanisms of FHIT deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:14585-9.
24. Baffa R, Veronese ML, Santoro R et al: Loss of FHIT expression in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58: 4708-14.
25. Muller CY, O'Bolye JD, Fong KM et al: Abnormalities of fragile histidine triad genomic and complementary DNAs in cervical cancer: association with human papillomavirus type. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 433-9.
26. Chu TY, Shen CY, Chiou TS et al: HPV-associated cervical cancers show frequent allelic loss at 3p14 but no apparent aberration of FHIT mRNA. *Int J Cancer* 1998; 75:199-204.
27. Su TH, Wang JC, Tseng HH et al: Analysis of FHIT transcripts in cervical and endometrial cancers. *Int J Cancer* 1998; 76: 216-22.
28. Yoshino K, Enomoto T, Nakamura T et al: Aberrant FHIT transcripts in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Int J Cancer* 1998; 76:176-81.
29. Segawa T, Sasagawa T, Yamazaki H et al: Fragile histidine triad transcription abnormalities and human papillomavirus E6-E7 mRNA expression in the development of cervical carcinoma.
30. Greenspan DL, Connolly DC, Wu R et al: Loss of FHIT expression in cervical carcinoma cell lines and primary tumors. *Cancer Res* 1997; 57:4692-8.
31. Hendricks DT, Taylor R, Reed M et al: FHIT gene expression in human ovarian, endometrial, and cervical cancer cell lines. *Cancer Res* 1997; 57:2112-5.
32. Sozzi G, Veronese ML, Negrini M et al: The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancers. *Cell* 1996; 85:17-26.
33. Sozzi G, Sard L, De Gregorio L et al: Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. *Cancer Res* 1997; 57:2121-3.
34. Wilke CM, Hall BK, Godge A et al: FRA3B extends over a broad region and contains a spontaneous HPV16 integration site: Direct evidence for the coincidence of viral integration sites and fragile sites. *Hum Mol Genet* 1996; 5:187-95.