

# 广东汉族妇女 CYP1A1 基因 Msp 多态性与子宫内膜异位症的关系

彭冬先<sup>1</sup> 袁媛利<sup>1</sup> 袁立文<sup>2</sup> 袁芳<sup>1</sup> 袁敬明<sup>3</sup> 第一军医大学珠江医院<sup>1</sup> 妇产科袁中心实验室袁药剂科袁广东广州 510282 冤

**摘要**目的 探讨广东汉族妇女解毒酶细胞色素 P4501A1(CYP1A1)基因 Msp 玉多态性与子宫内膜异位症(内异症)的遗传易感性的关系遥方法 用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术袁检测 76 例经腹腔镜或手术证实为内异症的患者(内异症组)和 80 例非内异症的妇科手术患者(对照组)CYP1A1 基因 3' 端限制性内切酶 Msp 玉位点的 3 种基因型(m1m1尧m1m2尧m2m2)的分布频率并加以分析袁组检测对象均为广东籍汉族妇女遥结果 CYP1A1 基因 Msp 玉位点基因型 m2m2 在内异症组和对照组中各占 19.7%和 12.5%袁基因型 m1m1 在 2 组中分别占 30.3%和 42.5%袁基因型 m1m2 在 2 组中分别占 50.0%和 45.0%袁各基因型在 2 组中所占比例无显著性差异(P>0.05)且 m1尧m2 等位基因频率 2 组间比较亦无显著性差异(P>0.05)遥结论 解毒酶 CYP1A1 基因 Msp 玉多态性的单独存在可能与广东籍汉族妇女内异症的易感性无关遥

**关键词** 子宫内膜异位症 细胞色素 P4501A1 基因多态性 易感性

中图分类号 院 711.71; R394.2 文献标识码 院 文章编号 院 000-2588 院 002 冤 9-0814-03

## Susceptibility to endometriosis in women of Han Nationality in Guangdong Province associated with Msp 玉 polymorphisms of cytochrome P450 1A1 gene

PENGDong-xian<sup>1</sup>, HEYuan-li<sup>1</sup>, QIU Li-wen<sup>2</sup>, YANGFang<sup>1</sup>, LINJing-ming<sup>3</sup>

Department of Obstetrics and Gynecology<sup>1</sup>, Central Laboratory<sup>2</sup>, Department of Pharmaceutics<sup>3</sup>, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China

**Abstract:** Objective To assess the possible association of the Msp 玉 polymorphisms of cytochrome P4501A1 (CYP1A1) gene with the susceptibility to endometriosis in women of Han Nationality in Guangdong Province. Methods Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was employed to analyze the 3 genotypes m1m1, m1m2 and m2m2 in 3'-flanking region of CYP1A1 in 76 patients with endometriosis and 80 healthy controls. Results The frequencies of genotypes m1m1, m1m2 and m2m2 were 30.3%, 50.0% and 19.7% in patients with endometriosis while 42.5%, 45.0% and 12.5% in the controls, respectively, showing no statistically significant difference in the frequencies of the three genotypes between the 2 groups. The frequencies of two alleles were of no significant difference between the patients and controls, either. Conclusion Msp 玉 polymorphisms of cytochrome P4501A1 in itself might not be associated with the susceptibility to endometriosis in women of Han Nationality in Guangdong Province.

**Key words:** endometriosis; cytochrome P4501A1; gene polymorphism; susceptibility

子宫内膜异位症(内异症)是育龄妇女的一种多发病袁发病机制尚不明确遥已有的研究表明内异症可能是由多位点基因和环境因素相互作用导致的一种遗传性疾病遥近年来发现内异症与环境毒素特别是二恶英的暴露存在明显相关性遥细胞色素 P450 1A1 渊cytochrome P450 1A1 袁CYP1A1 冤是活化二恶英等环境毒素的主要酶类袁其表达受基因的控制和环境因素的诱导袁其本底表达和诱导表达水平均有显著的个体差异遥酶代谢能力的差异是由基因多态性决定的遥推测 CYP1A1 基因多态性可能是影响内异症

遗传易感性的因素之一遥由此袁我们采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)的方法袁研究内异症患者和非内异症妇女 CYP1A1 基因 Msp 玉多态性袁以探讨 CYP1A1 基因多态性与内异症易感性之间的关系遥

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究对象

内异症患者 76 例袁为 2000 年 2 月~2001 年 12 月在第一军医大学珠江医院尧南方医院尧中山大学第二附属医院经剖腹或腹腔镜手术后病理证实的住院患者袁年龄 21~45 岁袁按美国生育协会修正标准(rAFS)分期袁早期 19 例袁中期 17 例袁晚期 22 例袁对照组为同期因为异位妊娠袁要求绝育及输

收稿日期 院 002-05-13

基金项目 院 广东省医学科研基金 院 200239 冤 院 广州市科技攻关项目 院 002J1-C0021 冤

作者简介 院 彭冬先 院 1969 年 9 月 袁男 袁湖南长沙人 袁 1993 年毕业于第一军医大学 袁在读硕士研究生 袁主治医师 袁并师 袁电话 院 20-61642663 袁-mail 院 pdx@fimmu.com

卵管吻合术在珠江医院行盆腔内手术而术中未发现  
有子宫内膜异位病灶者 80 例表其中异位妊娠 62 例尧  
要求绝育 16 例尧输卵管吻合术后 2 例袁年龄 23~41  
岁袁遗传病家族史遥2 组均为无血缘关系的广东籍  
汉族妇女袁年龄尧职业等分布均衡袁且均在原籍稳定  
居住 3 代以上遥

1.2 方法

1.2.1 标本收集 2 组人群中均在清晨抽取空腹外周  
静脉全血 3ml袁柠檬酸钠抗凝袁80 益保存待测遥

1.2.2 基因组 DNA 的制备 用改良的盐析法<sup>[10]</sup>提取  
基因组 DNA遥采用核酸蛋白质测定仪 德国 Eppen-  
dorf 公司产品测定 DNA 纯度(D<sub>260</sub>/D<sub>280</sub>>1.8)和浓度遥

1.2.3 PCR 反应 用 PCR-RFLP 技术袁根据文献<sup>[10]</sup>暂  
设计引物袁其序列为上游 5'-CAGTGAAGAGGTG-  
TAGCCGCT-3'袁下游 5'-TAGGAGTCTTGTCTCAT-  
GCCT-3'遥PCR 反应条件院反应总体积 50 滋袁含有  
200 滋mol/L dNTP袁种引物各 0.4 滋mol/L袁基因组  
DNA 0.4 滋袁UTaqDNA 聚合酶 (Promega 公司产  
品)遥在 PCR 仪 灞安天隆科技有限公司 DTC-3C 型冤  
上扩增遥扩增参数院7 益预变性 7min袁然后 95 益 50  
s袁0 益复性 50s袁2 益延伸 1min袁0 个循环后 72 益  
延伸 10min遥其 PCR 产物为 340bp 的 DNA 片段遥取  
10 滋PCR 产物袁加 10UMsp 玉限制性内切酶(大连  
宝生物工程公司产品)袁7 益水浴 4 h遥酶切产物经  
1.8%琼脂糖凝胶 (含 0.5 滋/ml 溴化乙锭) 电泳 60  
min袁电压 50V袁在紫外反射透射仪上观察结果遥

1.2.4 CYP1A1 Msp玉多态性分析 扩增产物经酶切  
后分为 3 种基因型院设有 Msp玉切割位点的等位基因  
m1 的纯合子基因型 m1m1渊野生型冤袁可见 340 bp 1  
个片段院有 Msp玉切割位点的等位基因 m2 的纯合子  
基因型 m2m2渊突变型冤袁可见 200 bp尧40 bp 2 个片  
段院m1 和 m2 的杂合子基因型 m1m2渊杂合型冤袁可见  
340bp尧00bp尧40bp 3 个片段遥

1.3 统计学方法

用直接计数法计算各组等位基因和基因型频率  
分布遥遗传平衡吻合度 字检验群体基因型频率分布  
是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律遥组之间等位基  
因和基因型频率比较用 字检验袁用比值比(OR)表示  
相对危险度遥数据均用 SPSS10.0 统计软件处理遥

2 结果

2.1 CYP1A1 基因扩增产物 Msp玉酶切电泳结果

按照设计引物扩增出 340bp 长度的 PCR 产物袁尧  
Msp玉酶切尧电泳后得到不同基因型电泳图谱渊图 1冤

2.2 内异症患者组与对照组 CYP1A1 两种等位基因的  
频率分布比较

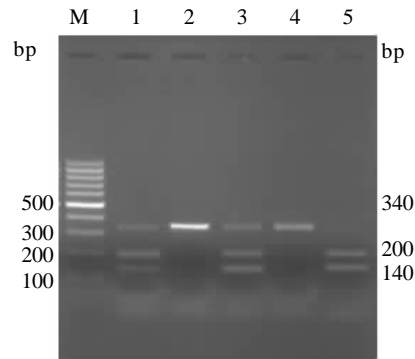


图 1 CYP1A1 基因扩增产物 Msp玉酶切电泳结果  
Fig.1 Electrophoresis of CYP1A1 PCR product digested  
with restriction endonuclease Msp玉  
M:100bpDNA ladder marker;Lanes 1,3:Genotepem1m2;Lanes 2,  
4:Genotepem1m1;Lane 5:Genotepem2m2

两种等位基因 m1 尧m2 在内异症患者组和对照组  
分布的差异无显著性(P>0.05袁表 1)遥

表 1 内异症病例组与对照组 CYP1A1 基因 Msp玉多态  
位点等位基因频率的比较

Tab.1 Comparison of CYP1A1 allele frequency  
between patients with endometriosis and controls

Group	AllelesNo.	Frequencyofalleles	
		Allelem1	Allelem2
Endometriosis	152	84(55.3%)	68(44.7%)
Control	160	104(65.0%)	56(35.0%)

字= 3.086; P=0.079;OR(oddsratio)=1.503

2.3 内异症患者组与对照组 CYP1A1 基因 Msp玉多  
态位点基因型频率的比较

CYP1A1 基因 Msp玉多态位点各基因型的分布  
频率在内异症患者组和对照组中分别为院基因型  
m1m1 为 30.3%和 42.5%尧基因型 m1m2 为 50.0%和  
45.0%尧基因型 m2m2 为 19.7%和 12.5%袁组间各基  
因型分布的差异无显著性(P>0.05袁表 2)遥经吻合度检  
验袁内异症患者组和对照组中 CYP1A1 基因 Msp玉  
多态位点各基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡  
定律遥

表 2 内异症病例组与对照组 CYP1A1 基因 Msp玉多态  
位点基因型频率的比较

Tab.2 Comparison of CYP1A1 genotypes between  
patients and controls

Group	Numberofcases	Genotypes		
		m1m1	m1m2	m2m2
Endometriosis	76	23(30.3%)	38(50.0%)	15(19.7%)
Control	80	34(42.5%)	36(45.0%)	10(12.5%)
OR			1.560	2.217

字=3.076; P=0.215

3 讨论

近年来随着对环境毒素在内异症发病机制中的作用研究的深入,解毒酶在内异症发病中所起的作用也越来越受到重视。Baranova 等<sup>[1]</sup>研究发现内异症遗传易感性与环境毒素相解毒酶谷胱苷肽 S-转移酶 M1(GSTM1)和 N-乙酰转移酶 2(NAT2)基因多态性相关。Yoshida 等<sup>[2]</sup>发现 CYP1A1 是细胞色素 P450 家族中的重要一员,其本底表达和诱导表达水平均有显著的个体差异。Nakachi 等<sup>[3]</sup>研究发现 CYP1A1 基因 3' 端非编码区 MspI 多态位点突变基因型 m2m2 的个体酶活性显著增高,携带高诱导活性的突变基因的个体患吸烟相关性肿瘤的危险性可能增加。

CYP1A1 基因多态与内异症易感性的关系,近期已有报道。Hadfield 等<sup>[4]</sup>报道美国白种人 CYP1A1 基因多态性与内异症遗传易感性无明显关系。但 Arvanitis 等<sup>[5]</sup>研究发现 CYP1A1 基因多态合并 GSTM1 的缺陷,可使患内异症的危险度明显增加。目前未见东方人群中两者相关性研究的报道。本研究的结果显示, CYP1A1 基因的 MspI 多态位点的基因型分布和等位基因频率在广东汉族妇女内异症病人和对照组之间均无显著差异。提示这个位点的多态性与广东汉族妇女内异症的遗传易感性可能无关。但是这并不能排除 CYP1A1 基因在内异症发病中的作用。研究发现 CYP1A1 转录水平在内异症异位子宫内膜中表达明显增强<sup>[6]</sup>,说明其可能在内异症发生及发展中起着重要作用。

分析 CYP1A1 基因 MspI 多态性与广东汉族妇女内异症的遗传易感性无关,可能有以下几方面原因。由于机体解毒系统本身复杂性的存在,单一解毒酶活性的改变并不能完全影响外源性物质在体内的全部代谢过程。酶的活性并不完全取决于基因结构,基因转录调控和底物对酶的诱导活性都将对其产生一定的影响。人种和地域(环境因素)的差异,对基因型的分布会产生一定的影响。抽样本身存在的偏差和样本量的大小都会对研究的结果产生影响。我们的结果从另一个侧面说明了内异症的遗传异质性及其病因的复杂性。因此我们尚需加大样本观察,并在此基础上进行内异症家系的 CYP1A1 基因多态性的调查研究。同时联合检测相关基因多态性,以提高个体内异症易感性的预测水平,便于筛查内异症高

危人群,从而加强内异症的早期预防。

参考文献

1 Kennedy S. Is there a genetic basis to endometriosis? *Semin Reprod Endocrinol*, 1997, 15(3):309-11.

2 Rier SE, Martin DC, Bowman RE, et al. Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol*, 1993, 21(4): 433-41.

3 Koninckx PR, Braet P, Kennedy SH, et al. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod*, 1994, 9(6):1001-2.

4 Kiyohara C, Nakanishi Y, Inutsuka S, et al. The relationship between CYP1A1 arylhydrocarbon hydroxylase activity and lung cancer in a Japanese population. *Pharmacogenetics*, 1998, 8(4):315-23.

5 Saarikoski ST, Husgafvel-Pursiainen K, Hirvonen A, et al. Localization of CYP1A1 mRNA in human lung by in situ hybridization: comparison with immunohistochemical findings. *Int J Cancer*, 1998, 77(1):33-9.

6 Hadfield RM, Manek S, Weeks DE, et al. Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(11):1073-8.

7 Arvanitis DA, Goumenou AG, Matalliotakis IM, et al. Low-penetrance genes are associated with increased susceptibility to endometriosis. *Fertil Steril*, 2001, 76(6):1202-6.

8 American Fertility Society. Revised American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril*, 1985, 43(3):351-2.

9 Miller SA, Dykes DD, Polesky HF, et al. A simple salting-out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988, 16(3):1215-8.

10 Hayashi SI, Watanabe J, Nakachi K, et al. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450 1A1 gene. *Biochem*, 1991, 110(3):407-11.

11 Baranova H, Yarmolinskaya S, Schwed N, et al. Polymorphic effects of GSTM1 and NAT2 detoxification system genes: susceptibility to endometriosis and feasible predictive test for treatment efficiency response in endometriosis patients. *Cancer Detect Prev*, 1999, 23(2):180-1.

12 Nakachi K, Hayashi SI, Kawajiri K, et al. Association of cigarette smoking and CYP1A1 polymorphisms with adenocarcinoma of the lung by grades of differentiation. *Carcinogenesis*, 1995, 16(9): 2209-13.

13 Bulun SE, Zeitoun KM, Kilic G. Expression of dioxin-related transactivating factors and target genes in human eutopic endometrial and endometriotic tissues. *Am J Obstet Gynecol*, 2000, 182(4): 767-75.