

谷胱甘肽 S- 转移酶 M1 基因缺失与子宫内膜异位症易感性的关系

彭冬先¹ 袁媛利¹ 袁立文² 袁芳¹ 袁林敬明³ 第一军医大学珠江医院¹ 妇产科袁中心实验室袁药剂科袁² 广东广州 510282 袁

摘要目的 探讨谷胱甘肽 S- 转移酶 M1(GSTM1)基因遗传缺失与子宫内膜异位症易感性的关系遥方法 采用 PCR 技术对 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(对照组的 GSTM1 基因型进行检测遥两组均为广东籍汉族妇女遥结果 GSTM1 空白基因型频率在内异症组和对照组中分别为 65.8%和 46.3%袁差异具有显著性(字=6.03袁P=0.014)遥GSTM1 空白基因型的个体患内异症的风险是 GSTM1 非空白基因型个体的 2.24 倍遥R=2.24袁95%CI=1.17~4.27袁结论 GSTM1 基因缺失可能是广东汉族妇女内异症发病的危险性因素之一遥

关键词 子宫内膜异位症 谷胱甘肽 S- 转移酶 M1 基因多态性 易感性

中图分类号 711.71;R394.2 文献标识码 文章编号 000-2588(2003)05-0458-02

Association between glutathione S-transferase M1 gene deletion and genetic susceptibility to endometriosis

PENG Dong-xian¹, HE Yuan-li¹, QIU Li-wen², YANG Fang¹, LIN Jing-ming³

Department of Obstetrics and Gynecology¹, Central Laboratory², Department of Pharmaceutics³, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China

Abstract: Objective To evaluate the possible association of the glutathione S-transferase M1 (GSTM1) gene polymorphism with the susceptibility to endometriosis in women of Han nationality in Guangdong Province. Methods Polymerase chain reaction was used to identify the GSTM1 genotypes in 76 patients with endometriosis and 80 controls (surgical patients for gynecological problems other than endometriosis). Results The frequencies of the GSTM1 null genotypes in patients with endometriosis and controls were 65.8% and 46.3%, respectively, showing a significant difference between the endometriotic cohort and the control group (字=6.03, P<0.05). Individuals with GSTM1 null genotype were exposed to risks for endometriosis 2.24 times that of subjects without these genotypes. R=2.24, 95% CI=1.17-4.27. Conclusion GSTM1 gene deletion might be a risk factor for endometriosis in women of Han nationality who are native residents in Guangdong Province.

Key words: endometriosis; glutathione S-transferase M1; gene polymorphism; susceptibility

近年来随着对环境毒素在子宫内膜异位症发病机制中的作用的深入研究,解毒酶在内异症发病中充当的角色也越来越受到重视。国外学者研究发现内异症遗传易感性与环境毒素域相解毒酶谷胱甘肽 S- 转移酶 M1 (glutathione S-transferase M1, GSTM1) 基因多态性相关。GSTM1 基因多态性具有明显的地区及种族差异。本研究应用聚合酶链反应 PCR 技术对广东汉族内异症患者和非内异症妇女 GSTM1 基因型进行检测,探讨 GSTM1 基因多态性与广东汉族妇女内异症易感性的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

内异症患者 76 例表为 2000 年 2 月~2001 年 12 月在第一军医大学珠江医院、南方医院、中山大学附属第二医院经剖腹或腹腔镜手术后病理证实为内异症的住院患者。年龄 21~45 岁。按美国生育协会修正标准(rAFS)分期:早期 19 例,中期 17 例,晚期 22 例,抑郁期 18 例。对照组为同期因为异位妊娠要求绝育及输卵管吻合术等在我院行盆腔内手术而术中未发现子宫内膜异位病灶的患者 80 例。其中异位妊娠 62 例,要求绝育 16 例,输卵管吻合术后 2 例。年龄 23~41 岁。无遗传病家族史。两组均为无血缘关系的广东籍汉族妇女。年龄、职业等分布均衡,且均在原籍稳定居住 3 代以上。

1.2 研究方法

1.2.1 标本收集 从上述两组人群中每人抽取外周静脉全血 3 ml,柠檬酸钠抗凝,80 益保存待测。

1.2.2 基因组 DNA 的制备 用改良的盐析法提取基

收稿日期 002-11-05

基金项目 广东省医学科研基金 20023999 广州市科技计划项目 002J1-C0021

Supported by Medical Science Foundation of Guangdong Province (A20023999) and Program of Sci-tech Development Plans of Guangzhou Municipality (2002J1-C0021)

作者简介 彭冬先,男,湖南长沙县人,1993 年毕业于第一军医大学,现为在读硕士研究生,主治医师,电话 20-85142663, E-mail: pdx@fimmu.com

基因组 DNA 采用核酸蛋白质测定仪德国 Eppendorf 公司产品测定 DNA 纯度(D₂₆₀/D₂₈₀ > 1.8)和浓度

1.2.3 PCR 反应 根据文献咱设计 GSTM1 基因引物其序列为上游 5'-CTGCCCTACTTGATTGATGG G-3'下游 5'-CTGGATTGTAGCAGATCATGC-3'扩增片段长度 219bp 进行 PCR 扩增时以白蛋白基因为内参照所用引物序列上游 5'-GCCCTCTG CTAACAAGTCCTAC-3'下游为 5'-GCCCTAAAA GAAAATCGCCATC-3'扩增白蛋白基因的 PCR 产物为 350bp GSTM1 和白蛋白基因的 2 对引物同在 1 个反应管作 PCR 反应条件反应总体积 50 μl 含有 200 μmol/L dNTP GSTM1 基因及白蛋白基因上游引物各 0.4 μmol/L 基因组 DNA 0.4 μg U Taq DNA 聚合酶 (Promega 公司产品)在 PCR 仪西安天隆科技有限公司 DTC-3C 型上扩增扩增参数 94℃ 预变性 5 min 然后 94℃ 30 s 60℃ 复性 50 s 72℃ 延伸 4.5 min 5 个循环后 72℃ 延伸 7 min

1.2.4 结果判断 取 10 μl PCR 产物经 1.8% 琼脂糖凝胶(含 0.5 μg/ml 溴化乙锭)电泳 60 min 电压 50 V 在紫外反射透射仪上观察结果若扩增的 PCR 产物无 219bp 条带显示 350bp 条带则为 GSTM1 基因缺失纯合子(GSTM1/0/0)若同时显示 219bp 及 350 bp 条带则为 GSTM1 基因纯合子(GSTM1+/+)或缺失杂合子(GSTM1+/0)

1.3 统计学方法

用直接计数法计算各组基因型频率分布两组之间基因型频率比较用 字检验 比值比(OR)及 95% 可信区间 5% CI 表示相对危险度 数据均用 SPSS10.0 软件进行统计分析

2 结果

GSTM1 基因及内参照白蛋白基因 PCR 产物电泳结果见图 1 GSTM1 各等位基因型在病例和对照组中的频率分布见表 1 两组基因型频率比较具有显著性差异 $\chi^2=6.03 P=0.014$ 子宫内膜异位症病例组 GSTM1 基因缺失纯合子基因型频率明显高于对照组 若以 GSTM1+(+/+或/0)基因型个体的 OR 值为 1 GSTM1 基因纯合缺失个体 的 OR 值为 2.24 5% CI 为 1.17~4.27

3 讨论

GSTM1 基因属于 GST 超基因家族 是重要的域相解毒代谢酶 GSTM1 可代谢二噁英 苯并芘等环境毒素 使其失活 GSTM1 基因的缺失率在不同的人群和种族中不同 正常人群 GSTM1 空白基因型频率波动在 29%~66% GSTM1 基因缺陷型不能产生有

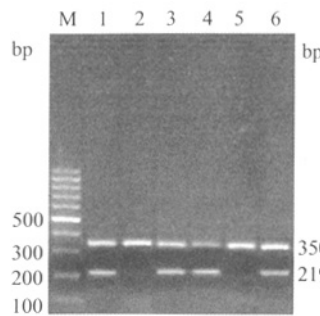


图 1 GSTM1 基因及内参照白蛋白基因 PCR 产物电泳结果

Fig.1 Electrophoresis result of the PCR product of GSTM1 and albumin gene (as internal control) M:100bp DNA ladder marker; Lanes 1,3,4,6: Genotype GSTM1+/+or GSTM1+/0; Lanes 2,5: Genotype GSTM1 0/0

表 1 GSTM1 基因型在内异症组 and 对照组中的分布 Tab.1 Distribution of GSTM1 genotypes in endometriosis patient group and the control group

Group	n	Genotypes	
		GSTM1+(+/+or+/0)	GSTM1-(0/0)
Endometriosis	76	26(34.2%)*	50(65.8%)*
Control	80	43(53.7%)	37(46.3%)

*P<0.05 vs control

活性的酶蛋白 使机体对环境毒素的解毒能力下降 大量研究发现 GSTM1 基因多态性与环境毒素暴露相关的肿瘤易感性有关

目前认为内异症可能是遗传易患性和环境因素相互作用所致 近年发现内异症与环境毒素特别是二噁英的暴露存在明显相关性 GSTM1 作为二噁英等环境毒素重要的域相解毒代谢酶 其基因多态性与内异症易感性的关系受到重视 Baranova 等 研究发现高加索人群中内异症患者的 GSTM1 空白基因型频率显著高于对照组 GSTM1 基因缺陷型个体能明显增加内异症的发病风险 GSTM1 基因多态性分布具有明显的种族及地区差异 最近 Hadfield 等 报道美国白种人 GSTM1 基因多态与内异症遗传易感性无明显关系 本研究的结果显示 GSTM1 空白基因型频率在广东汉族妇女内异症病人和对照组之间有显著差异 内异症患者的 GSTM1 空白基因型频率显著高于对照组 GSTM1 空白基因型的个体患内异症的风险是 GSTM1 非空白基因型个体的 2.24 倍 由此提示 GSTM1 基因缺陷可能是广东汉族妇女内异症的遗传易感因素之一 内异症是一种多因素致病的疾病 由于本研究例数尚少 同时研究对象缺乏环境毒素暴露的详细资料 因此有待扩大样本及选择健康对照进行研究 同时详细研究基因缺陷和环境毒素暴

RA 的治疗原则有学者认可采用 MTX 治疗 AS 时剂量以小剂量为好(7.5~15.0mg) 本试验证明了不同剂量 MTX 与 MLX 联合治疗 AS 总有效率及各项临床指标的好转除 SR 除外均不存在显著差异故 MLX 与 MTX 联合治疗 AS 以 MTX 以小剂量为宜

本试验中两组不良反应发生率 MTX 低剂量组为 50.0% MTX 高剂量组为 88.9% 但经检验不存在显著差异这是否与病例数较少有关有待进一步观察不良反应多发生于 1 月内其中以 10~30d 最常见共 17 例占发生不良反应总人数的 77.3% 患者主要临床表现为骨髓抑制白细胞减少及肝功能损害通过减少 MTX 剂量及口服叶酸后症状可缓解 2 例患者均能坚持治疗 3 月以上均未出现肾功能损害说明 MLX 作为一种具有选择性 COX-2 抑制特性的 NSAID 对 MTX 的药物代谢影响不大不会增加 MTX 的肾毒性作用国外有学者用 MTX 与 MLX 联合治疗 12 例 RA 发现 MLX 不影响 MTX 在人体内的血药浓度血浆蛋白结合率及肾小球滤过率短期内不增加 MTX 的肾毒性

综上所述 MTX 与 MLX 联合应用治疗 AS 疗效良好其疗效与 MTX 剂量不存在相关性但因不良反应发生率较高 MTX 以小剂量为宜在短时间 MLX 不增加 MTX 的毒性作用

参考文献

张 哲 Khan MA. Ankylosing spondylitis: clinical feature 张 哲 In: Klippel

JH, Dieppe PA, eds. Rheumatology 张 哲 London: Mosby Press, 1998. 16-7.

张 哲 汤建平. 柳氮磺胺吡啶联合甲氨喋呤治疗强直性脊柱炎的临床分析 张 哲 颈腰痛杂志, 1999, 20(3): 189-90.

Tang JP. Clinical efficacy analysis on the treatment of ankylosing spondylitis with sulfasalazine plus methotrexate 张 哲 Cervicodynia Lumpodynia, 1999, 20(3): 189-90.

张 哲 唐福林. 风湿免疫科医师手册 张 哲 北京: 中国协和医科大学出版社, 2001. 156-9.

张 哲 韩星海, 戴生明, 方利平. 美洛昔康治疗类风湿性关节炎和骨关节炎的临床研究 张 哲 中国新药杂志, 2001, 10(7): 527-30.

Han XH, Dai SM, Fang LP. The efficacy and safety of meloxicam treatment of rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) 张 哲 Chin J New Drugs, 2001, 10(7): 527-30.

张 哲 龙 焜. 临床药物手册 张 哲 北京: 金盾出版社, 1992. 173-4.

张 哲 Kremer JM, Alarcon GS, Lightfoot RW, et al. Methotrexate for rheumatoid arthritis. Suggested guidelines for monitoring liver toxicity. American College of Rheumatology 张 哲 Arthritis Rheum, 1994, 37(3): 316-28.

张 哲 Kraus A, Alarcon-Segovia D. Low dose MTX and NSAID induced "mild" renal insufficiency and severe neutropenia 张 哲 Rheumatol, 1991, 18(8): 1274-6.

张 哲 Frenia ML, Long KS. Methotrexate and nonsteroidal anti-inflammatory drug interactions 张 哲 Ann Pharmacother, 1992, 26(2): 234-7.

张 哲 张 晓, 潘云峰, 汤美安. 单用甲氨喋呤与甲氨喋呤并柳氮磺胺吡啶治疗强直性脊柱炎的疗效观察 张 哲 中华医学杂志 (Chin Med J), 1999, 4(79): 278-80.

张 哲 Hubner G, Sander O, Degner FL, et al. Lack of pharmacokinetic interaction of meloxicam with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis 张 哲 Rheumatol, 1997, 24(5): 845-51.

张 哲 接 459 页

露的交互作用对内异症发病的影响从而明确 GSTM1 基因多态性与内异症的关系

参考文献

张 哲 彭冬先, 何援利, 丘立文, 等. 广东汉族妇女 CYP1A1 基因 MspI 多态性与子宫内膜异位症的关系 张 哲 第一军医大学学报, 2002, 22(9): 814-6.

Peng DX, He YL, Qiu LW, et al. Susceptibility to endometriosis in women of Han Nationality in Guangdong Province associated with MspI polymorphisms of cytochrome P4501A1 gene 张 哲 J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(9): 814-6.

张 哲 Baranova H, Bothorishvili R, Canis M, et al. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a French population 张 哲 Mol Hum Reprod, 1997, 3(9): 775-80.

张 哲 Baranova H, Canis M, Ivashchenko T, et al. Possible involvement of arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferase M1 and T1 genes in the development of endometriosis 张 哲 Mol Hum Reprod,

1999, 5(7): 636-41.

张 哲 Norppa H. Cytogenetic markers of susceptibility: influence of polymorphic carcinogen-metabolizing enzymes 张 哲 Environ Health Perspect, 1997, 105(Suppl 4): 829-35.

张 哲 Chen CL, Lin Q, Relling MV. Simultaneous characterization of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms by polymerase chain reaction in American whites and blacks 张 哲 Pharmacogenetics, 1996(2): 187-97.

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

张 哲 Birnbaum LS, Cummings AM. Dioxins and endometriosis: a plausible hypothesis 张 哲 Environ Health Perspect, 2002, 110(1): 15-21.

张 哲 Rier SE. The potential role of exposure to environmental toxicants in the pathophysiology of endometriosis 张 哲 Ann NY Acad Sci, 2002, 955: 201-12.

张 哲 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 张 哲 Mol Hum Reprod, 2001, 7(11): 1073-8.