

자궁내막증과 progesterone receptor gene polymorphism (PROGINS)과의 연관성에 관한 연구

인제대학교 의과대학 산부인과학교실

김윤진 · 노지현 · 고재환 · 김용봉

A study on association of progesterone receptor gene polymorphism (PROGINS) with Endometriosis

Yun Jin Kim, M.D., Ji Hyun Noh, M.D.
Jae Whoan Koh, M.D. and Yong Bong Kim, M.D.

Department of Obstetrics & Gynecology College of Medicine, Inje university, Paik Hospital, Seoul, Korea

Purpose : Endometriosis is a steroid dependent disease with a particular genetic background but the location of possible genomic aberrations are still poorly clarified. This study was designed to investigate the associations between the polymorphism of the progesterone receptor gene (PROGINS) and endometriosis.

Methods : 100 women with surgically diagnosed and histologically confirmed endometriosis were enrolled as a patient population and a total of 110 female control subjects undergoing health examination were enrolled as control population. DNA extraction and polymerase chain reaction (PCR) were used to genotype women for the presence of the PROGINS polymorphism in peripheral blood samples. The χ^2 -test was used to compare genotype distributions between endometriosis and controls.

Results : T1/T2 heterozygote was found to be one patient in each group, and the rest of the subjects were all T1/T1 homozygotes. There was no difference in the genotype distribution between the endometriosis group and the control group.

Conclusion : These results suggest that the progesterone receptor gene PROGINS is not associated with the risk for endometriosis.

Key Words : PROGINS, Progesterone receptor, Polymorphism

서 론

자궁내막증은 자궁내막 조직이 자궁 외에 존재하는 것을 특징으로 하는 스테로이드 의존성 질환으로 병인에 대한 정확한 설은 없지만 현재까지 월경시 생리혈 역류에 의한 착상 설이 가장 널리 인정받고 있으며, 그 외에 면역학적, 유전적,

호르몬에 의한 복합적 상호 작용에 의해 발생 할 것으로 추측된다¹⁾.

자궁내막증은 직계 가족(first degree relative)의 4-7%에서 발생하는 질환으로²⁾ 유전적 요인에 대한 연구가 진행되고 있으며 galactose-1-phosphate uridyl transferase^{3,4)}, Phase I과 II detoxification^{5,6)}, 스테로이드 수용체⁷⁾ 그리고 염증성 사이토카인이나 유착성 물질(adhesion molecule)⁸⁾을 나타내는 유전자와 연관될 것으로 생각되나 어느 특정 유전자와의 연관성을 밝히지는 못한 상태로 다유전자 또는 다인

책임저자: 김용봉, 서울특별시 중구 저동 2가
서울 백병원 산부인과
Tel : 02)2270-0052, Fax : 02)2270-0055
E-mail : kimyb2@unitel.co.kr.

자성 유전 방식(polygenic or multifactorial inheritance)이 작용 할 것으로 추정된다.

프로게스테론은 자궁내막증의 주요 병인인자 자궁 내막 증식을 일으키는 에스트로겐에 대한 길항 작용을 나타내는 호르몬으로 프로게스테론 수용체 isoform A (PR-A), 프로게스테론 수용체 isoform B (PR-B)에 의해 작용하며 이 두 수용체 비율 변화 및 변형이 에스트로겐 작용을 강화하여 자궁내막증을 일으키는 것으로 생각된다. Wieser 등⁹⁾은 자궁내막증에 이환된 여성과 정상 여성에 있어서 프로게스테론 수용체 유전자의 인트론 G에 존재하는 306-염기쌍의 PV/HS-1 Alu 아족 삽입 다형성(PROGINS)에 유의한 차이가 있음을 증명하였고, 2003년 Vigano 등⁸⁾은 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) 유전자의 다형성에 있어서 중증의 자궁내막증과 대조군 사이에 역시 유의한 차이가 있음을 보고하였다.

본 연구는 수술적으로 자궁내막증을 진단받은 100명과 건강 검진을 시행받은 일반 대조군 여성 110명에 있어서 자궁내막증의 병인으로 거론되는 PROGINS 다형성이 존재하는지를 알아봄으로서 자궁내막증과의 연관성 여부를 확인하고자 고안되었다.

대상 및 방법

1. 대 상

2003년 7월부터 2004년 6월까지 산부인과에 입원하여 시험적 개복술, 골반경 수술, 복식 전자궁적출술이나 내시경하 질식 전자궁적출술(laparoscopy-assisted vaginal hysterectomy, LAVH)을 시행 받은 환자로써 병리조직 검사 상 자궁내막증이 확진된 환자 100명을 연구대상으로 하였고, 건강대조군은 건강검진센터에 내원한 건강 검진자 110명의 여성을 대상으로 하였다. 모든 자궁내막증 환자는 수술시 American Fertility Society¹⁰⁾에서 제시한 기준에 의거하여 병기를 설정하였고 자궁내막증의 소견이 발견되어도 병리조직 검사 상 자궁내막증이 확인되지 않는 환자는 제외하였는데 모든 환자들이 3병기 또는 4병기에 해당되었다. 자궁내막증 환자의 평균 연령은 33.1±6.1세였으며 대조군은 35±12세이었다.

2. 방 법

1) DNA 추출

모든 연구 대상자들로부터 혈액을 EDTA 튜브에 채취한 후 QIAGEN System (QIAmp DNA Blood Midi kit; QIAGEN, Hilden, Germany)을 이용하여 genomic DNA를 추출하였고 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 정량한 후 분석이 이루어질 때까지 4°C에 보관하였다.

2) Progesterone receptor 유전자 형별검사

Progesterone receptor의 유전자 형별검사는 Lancaster 등¹¹⁾이 기술한 대로 PCR-SSP (Sequence specific primer) 방법으로 시행하였다(Fig. 1). Progesterone receptor의 특이적인 유전자 fragment를 forward primer 5'-GGC AGA AAG CAA AAT AAA AAG A-3', reverse primer 5'-AAA GTA TTT TCT TGC TAA ATG TC-3'를 이용하여 증폭하였다. PCR 조건은 95°C에서 1분간 denaturation 시행 후, 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초씩 30 cycle을 시행하고, 72°C에서 5분간 extension시켰다. 이러한 PCR을 시행하면 progesterone receptor의 T1 대립유전자(wild type 대립유전자)는 149 bp의 PCR 증폭산물을 보이게 되고, T2 대립유전자(변이형)은 455 bp의 증폭산물을 생성한다. 그리고 1.5% agarose gel에서 전기영동을 시행하여 ethidium bromide로 염색한 후 UV illumination 하에서 증폭 산물을 관찰

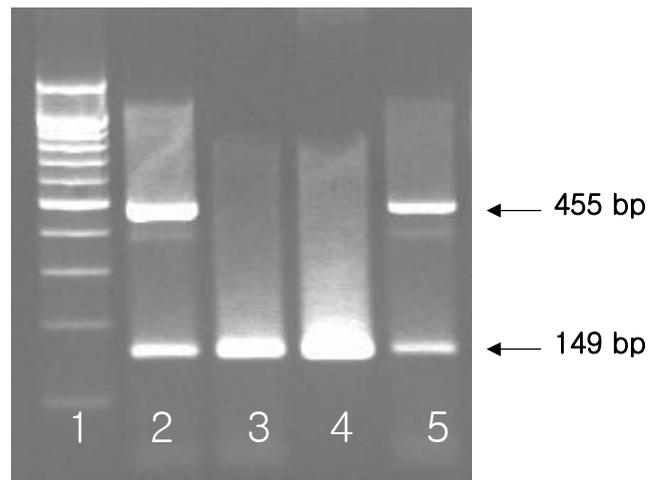


Fig. 1. Analysis of the PROGINS 306-base pair intron G insertion polymorphism of the progesterone receptor gene by PCR strategy. The wild-type allele (T1) is represented by the 149 bp band while the mutant allele (T2) is represented by the 455 bp band. The molecular weight marker (100 bp) is shown in the left part of the gel. Lanes 2 and 5 show the heterozygous mutant patterns and lanes 3 and 4 show the homozygous wild-type patterns.

Table 1. Genotypes and Allele Frequencies of the Progesterone Receptor Polymorphism PROGINS in Patients with Endometriosis and Controls

PROGINS status	Endometriosis (n=100)		Controls (n=110)		
	N	%	N	%	
Alleles	T2	1	0.5	1	0.5
	T1	199	99.5	219	99.5
Genotypes	T2/T2	0	0	0	0
	T2/T1	1	1.0	1	0.9
	T1/T1	99	99.0	109	99.1

하였다.

3) 유전자형 분석 및 통계 분석

자궁내막증군과 대조군에 있어서 특정 유전자 다형성의 빈도를 χ^2 검정을 통하여 비교 분석하여 유의수준 0.05 미만을 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

자궁내막증군과 대조군에서 PROGINS 다형성 분석은 각각 1명에서만 T1/T2 이형접합자로 확인이 되었고 나머지 개체에서는 모두 T1/T1 동형접합자임이 확인되었다(Table 1).

고 찰

자궁내막증은 에스트로겐 의존성 질환으로 양성 질환임에도 불구하고 자궁 외에 자궁 내막 조직의 부적절한 증식을 야기하는 악성 질환의 특징을 지니고 있다. 자궁내막증 병변에서 *c-fos*, *s-erbB-1/-2* 그리고 *ras* 등과 같은 일부 oncogene이 과도하게 발현되는 것이 증명되었고¹²⁾, 이는 자궁내막증 여성에게 유방암, 난소암, hematopoietic cancer 등이 증가하는 것과 연관된다고 할 수 있겠다¹³⁾.

프로게스테론 수용체는 염색체 11q22-23 부위에 존재하는데¹⁴⁾, 이는 종양 억제 유전자(tumor suppressor gene)의 위치 뿐 아니라 자궁내막증이 있는 여성에서 이형성(heterozygosity)의 소실 위치와 부합한다¹⁵⁾. 프로게스테론은 프로게스테론 수용체 유전자에서 생성된 프로게스테론 수용체 isoform A와 B에 결합하여 작용하는데¹⁶⁾, 프로게스테론 수용체-A는 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체-B의 활성화를 억제시키는 반면 프로게스테론 수용체-B는 직접

적으로 프로게스테론 표적 유전자(progesterone target gene)에 강력한 활성 인자로 작용 한다¹⁷⁾. 프로게스테론 수용체-A와 프로게스테론 수용체-B는 자궁내막증 조직에서 비정상적인 발현을 보이는데¹⁸⁻²⁰⁾, 이는 프로게스테론 수용체가 염색체 이형성 소실 부위인 11번에 위치하기 때문에 프로게스테론 수용체 유전자의 다형성 부위의 변이로 인하여 자궁내막증이 발생한다고 할 수 있겠다.

PROGINS 다형성은 프로게스테론 수용체 유전자의 인트론 G에 존재하는 306-염기 쌍의 PV/HS-1 Alu 아중 삽입 다형성으로서 PROGINS와 관련된 프로게스테론 수용체 isoform A의 안정성 강화가 전사 작용을 활발히 함으로써 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체 isoform B의 부적절한 조절이 종양의 위험을 증가시키고, 유방암 및 난소암과 연관성이 있는 것으로 보고된 바 있다^{21, 22)}.

Wisser 등은 자궁내막증 환자에서 PROGINS 다형성과의 연관성을 증명하였고⁹⁾, Lattuada 등도 자궁내막증 환자에서 T2 유전자의 빈도가 증가되어, 자궁내막증과의 연관성을 증명한 점으로²³⁾ 변이된 프로게스테론 수용체 isoform A가 에스트로겐 수용체와 프로게스테론 수용체-B의 활성화를 억제시키지 못함으로써 에스트로겐 과다 활성화가 자궁내막증을 일으킬 것으로 생각된다.

본 연구는 자궁내막증 환자에서 PROGINS 다형성과의 연관성을 알고자 시행되었다. 연구 결과 환자군과 대조군을 합한 모든 실험군에서 1명을 제외한 전 개체가 T1/T1의 동형접합자임이 확인되었고 이는 코카시안과 달리 본 연구에 참여한 실험군이 단일 민족이므로 거의 동일한 유전자형을 가졌기 때문인 것으로 생각된다. 다만 다양한 인종으로 이루어진 서구인에서 증명된 PROGINS 다형성이 본 연구에서 보이지 않은 점은 PROGINS 다형성과 자궁내막증과의 연관성에는 인종 또는 민족적인 배경 역시 매우 중요하다는 점을 생각해 볼 수 있었다. 이번 연구에서 유의한 연관성을 밝히지는 못했지만 특정 질환의 유전적 연관성을 규명하는 연구는 각각의 인종이나 민족적 특징이 중요하다는 것을 알 수 있었고 좀 더 다양한 인종에서 대규모의 연구가 필요하다고 할 수 있겠다. 향후 자궁내막증 환자를 대상으로 더 다양한 인종과 큰 규모의 연구가 자궁내막증의 병인을 밝히는데 필요할 것으로 생각된다.

한글요약

목 적: 자궁내막증은 유전적 연관성이 명확히 규명되지 않은 에스트로겐 의존성 질환이다. 그 연관성에 대하여 명확히 밝혀진 것은 없으나 일부 유전적 연구 결과들을 살펴보면 자궁내막증이 프로게스테론 수용체 유전자의 특정 다형성 부위와 연관되어 있음을 알 수 있다. 본 연구는 프로게스테론 수용체 유전자의 다형성(PROGINS)을 분석하여 자궁내막증 환자와 대조군에 차이가 있는지를 알고자 고안되었다.

방 법: 수술 및 병리조직 소견에서 자궁내막증을 확진 받은 100명의 환자와 건강검진을 시행 받은 일반 인구군 110명을 대상으로 하였다. 대상 환자들의 말초 혈액에서 DNA를 추출한 후 프로게스테론 수용체의 유전자 다형성 검사를 PCR-SSP (Sequence specific primer)방법으로 시행하였고 자궁내막증 환자군과 건강대조군에 있어서 특정 유전자 다형성의 빈도에 차이가 있는지 χ^2 검정을 통하여 통계 분석하였다.

결 과: 자궁내막증군과 대조군에서 각각 1명에서만 PROGINS 다형성 양상이 T1/T2 이형접합자로 확인이 되었고 나머지 개체에서는 모두 T1/T1 동형접합자임이 확인되었다.

결 론: 자궁내막증과 프로게스테론 수용체의 유전자 다형성(PROGINS)간의 연관성은 밝혀지지 않았으나 대규모의 연구 및 다른 유전자의 연구가 자궁내막증의 병인을 규명하는데 유용할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Bergqvist IA. Hormonal regulation of endometriosis and the rationales and effects of gonadotropin-releasing hormone agonist treatment: a review. *Hum Reprod* 1995;10:446-2.
- Simpson JL, Bischoff FZ, Kamat A, Buster JE, Carson SA. Genetics of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003;1:21-40.
- Cramer DW, Hornstein MD, Ng WG, Barbieri RL. Endometriosis associated with the N314D mutation of galactose-1-phosphate uridyl transferase (GALT). *Mol Hum Reprod* 1996;2:149-52.
- Morland SJ, Jiang X, Hitchcock A, Thomas EJ, Campbell IG. Mutation of galactose-1-phosphate uridyl transferase and its association with ovarian cancer and endometriosis. *International J of Cancer* 1998;77:825-7.
- Hadfield RM, Manek S, Weeks DE, Mardon HJ, Barlow DH, Kennedy SH 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;7:1073-8.
- Nakago S, Hadfield RM, Zondervan KT, Mardon H, Manek S, Weeks DE et al. Association between endometriosis and N-acetyl transferase 2-polymorphism in a UK population. *Mol Hum Reprod* 2001;7:1079-83.
- Georgiou I, Syrrou M, Bouba I, Dalkalitsis N, Paschopoulos M, Navrozoglou I, et al. Association of estrogen receptor gene polymorphisms with endometriosis. *Fertil Steril* 1999;72:164-6.
- Vigano P, Infantino M, Lattuada D, Lauletta R, Ponti E, Somigliana E, et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphisms in endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2003;9:47-52.
- Wieser F, Schneeberger C, Tong D, Tempfer C, Huber JC, Wenzl R. PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;77:309-12.
- ASRM (1997) Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertility and Sterility*, 67, 817-21.
- Lancaster JM, Berchuck A, Carney ME, Wiseman R, Taylor JA. Progesterone receptor gene polymorphism and risk for breast and ovarian cancer. *Br J Cancer* 1995;71:341-5.
- Bergqvist A, Borg A, Ljungberg O. Protooncogenes in endometriotic and endometrial tissue. *Ann N Y Acad Sci* 1991;626:276-83.
- Brinton LA, Gridley G, Persson I, Baron J, Bergqvist A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:572-9.
- Rousseau-Merck MF, Misrahi M, Loosfelt H, Milgrom E, Berger R. Localization of the human progesterone receptor gene to chromosome 11q22-q23. *Hum Genet* 1987;77:280-2.
- Jiang X, Hitchcock A, Bryan EJ, Watson RH, Englefield P, Thomas EJ, et al. Microsatellite analysis of endometriosis reveals loss of heterozygosity at candidate ovarian tumor suppressor gene loci. *Cancer Res* 1996;56:3534-9.
- Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, et al. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J* 1990;9:1603-14.
- Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonnell DP. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. *Mol Endocrinol* 1993;7:1244-55.
- Misao R, Iwagaki S, Fujimoto J, Sun W, Tamaya T. Dominant expression of progesterone receptor form B mRNA in ovarian endometriosis. *Horm Res* 1999;52:30-4.
- Misao R, Sun WS, Iwagaki S, Fujimoto J, Tamaya T.

- Identification of various exon-deleted progesterone receptor mRNAs in human endometrium and ovarian endometriosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252:302-6.
- 20) Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2897-902.
- 21) McKenna NJ, Kieback DG, Carney DN, Fanning M, McLinden J, Headon DR. A germline TaqI restriction fragment length polymorphism in the progesterone receptor gene in ovarian carcinoma. *Br J Cancer* 1995;71:451-5.
- 22) Tong D, Fabjani G, Heinze G, Obermair A, Leodolter S, Zellinger R. Analysis of the human progesterone receptor gene polymorphism PROGINS in Austrian ovarian carcinoma patients. *Internat J Cancer* 2001;95:394-97.
- 23) Lattuada D, Somigliana E, Vigano P, Candiani M, Pardi G, Di Blasio AM. Genetics of endometriosis: a role for the progesterone receptor gene polymorphism PROGINS? *Clin Endocrinol* 2004;61:190-4.