

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.013

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.013

## 多囊卵巢综合征CITED2基因表达变化的临床意义

杨建梅, 米合来铁里瓦迪

(新疆维吾尔自治区人民医院北院妇产科, 乌鲁木齐 830054)

**[摘要]** 目的: 探讨多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)与CITED2基因表达变化的相关性。方法: 收集新疆维吾尔自治区人民医院北院2014年5月至2016年12月收治的PCOS患者114例, 另取新疆维吾尔自治区人民医院北院正常月经周期的健康育龄期女性80例作为对照组。使用电化学发光法测定卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteotropic hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)及雌二醇(estradiol, E2)水平。稳态模型测定胰岛素分泌指数(homeostasis model assessment  $\beta$ , HOMA- $\beta$ )和胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR)。荧光定量PCR检测CITED2基因表达。结果: PCOS患者CITED2基因的 $2^{-\Delta Ct}$ 值为 $0.146 \pm 0.032$ , 对照组为 $0.097 \pm 0.022$ , 两组间差异具有统计学意义( $t=3.135$ ,  $P=0.032$ )。CITED2基因表达与PCOS患者FSH呈负相关( $r=-0.216$ ,  $P=0.041$ ), 与LH( $r=0.382$ ,  $P=0.022$ ), T( $r=0.394$ ,  $P=0.016$ ), E2( $r=0.375$ ,  $P=0.026$ ), HOMA- $\beta$ ( $r=0.351$ ,  $P=0.031$ )和HOMA-IR( $r=0.326$ ,  $P=0.033$ )呈正相关。结论: PCOS患者CITED2基因高表达, 这可能是PCOS患者性激素紊乱和胰岛素抵抗的主要影响因素。

**[关键词]** 多囊卵巢综合征; CITED2基因; 荧光定量PCR

## Clinical significance of CITED2 gene expression in patients with polycystic ovary syndrome

YANG Jianmei, Mihelaitieliwadi

(Department of Obstetrics and Gynecology, People's Hospital of Urumqi Autonomous Region, Urumqi 830054, China)

**Abstract** **Objective:** To analyze the correlation between polycystic ovary syndrome (PCOS) and the change of CITED2 gene expression. **Methods:** A total of 114 PCOS patients in People's Hospital of Urumqi Autonomous Region were collected in this study, 80 healthy reproductive aged women with normal menstrual cycle were selected as the control group. The expression of follicle-stimulating hormone (FSH), luteotropic hormone (LH), testosterone (T), and estradiol (E2) was detected by electrochemiluminescence. Homeostasis model assessment  $\beta$  (HOMA- $\beta$ ) and homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) were determined by the steady state model. CITED2 gene expression was detected by qRT-PCR. **Results:** The  $2^{-\Delta Ct}$  value of CITED2 gene in PCOS patients was  $0.146 \pm 0.032$ , and in the control group was  $0.097 \pm 0.022$ . There was significant difference between the two groups ( $t=3.135$ ,  $P=0.032$ ). The expression of CITED2 gene was negatively correlated with FSH ( $r=-0.216$ ,

收稿日期 (Date of reception): 2017-06-19

通信作者 (Corresponding author): 杨建梅, Email: fupan1985@163.com

$P=0.041$ ) in patients with PCOS, and positively correlated with LH ( $r=0.382, P=0.022$ ), T ( $r=0.394, P=0.016$ ), E2 ( $r=0.375, P=0.026$ ), HOMA- $\beta$  ( $r=0.351, P=0.031$ ) and HOMA-IR ( $r=0.326, P=0.033$ ). **Conclusion:** CITED2 gene is highly expressed in patients with PCOS, which may be the main influencing factor of sex hormone disorder and insulin resistance.

**Keywords** polycystic ovary syndrome; CITED2 gene; qRT-PCR

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种神经内分泌与糖代谢异常并存的多系统失调性疾病,患者表现为雄激素过高、卵巢多囊样改变以及胰岛素抵抗<sup>[1]</sup>。其发病机制不清,呈现不同程度的家族聚集及遗传现象,目前已发现多个基因的异常表达与PCOS的易感性密切相关<sup>[2]</sup>。CBP/p300反式作用因子(CBP/p300 interacting transactivator with ED-rich tail 2, CITED2)是参与胚胎发育的重要基因<sup>[3]</sup>,Combes等<sup>[4]</sup>的研究发现CITED2基因突变鼠的卵巢不发育。本文探讨PCOS患者CITED2基因表达的变化,为PCOS的病因学研究提供重要的基础数据。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

收集新疆维吾尔自治区人民医院北院2014年5月至2016年12月收治的PCOS患者114例,诊断参照2011年中华医学会妇科内分泌学组制定的《中国PCOS诊断标准》<sup>[5]</sup>。排除对象:先天性肾上腺增生、库欣综合征、雄激素分泌性肿瘤、甲状腺功能异常、高催乳素等激素异常性疾病。另取新疆维吾尔自治区人民医院北院正常月经周期的健康育龄期女性80例作为对照组。本文所有操作均符合新疆维吾尔自治区人民医院北院伦理委员会的要求,患者均知晓本研究并签署知情同意书。

### 1.2 临床观察指标

月经正常者,于月经第3~5天,抽取空腹静脉血,闭经者于超声检查无优势卵泡或黄体酮撤药性出血的第3天,抽取空腹静脉血。电化学发光法测定卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteotropic hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)及雌二醇(estradiol, E2)水平,稳态模型测定胰岛素分泌指数(homeostasis model assessment  $\beta$ , HOMA- $\beta$ )和胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment-insulin resistance,

HOMA-IR)。检测试剂盒购自美国Roche公司。

### 1.3 CITED2 基因表达的检测

抽取的空腹静脉血,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存等待检验。解冻后PBS缓冲液洗涤红细胞碎片,加入1 mL TRIzol(美国Fermentas公司),按照试剂盒说明书操作提取标本总RNA,反转录试剂盒(北京天根生物科技有限公司)反转录出cDNA第一条链,上海金斯瑞公司设计和合成CITED2基因引物,引物序列为5'-GAACGGCTCGGAATTTGCTC-3'(上游)和5'-GCCATTTCCAGTCCTCCG-3'(下游)。上海生物工程公司生产SYBR Green荧光定量-PCR试剂盒检测CITED2基因相对表达量,GAPDH设为内参基因,用 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 表示。循环条件:95  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,然后进行95  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 62  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 30个PCR循环,最后72  $^{\circ}\text{C}$  5 min。

### 1.4 统计学处理

应用SPSS16.0统计软件处理数据, $t$ 检验分析计量资料, $\chi^2$ 检验分析计数资料,SPSS Pearson分析各指标间的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组一般临床资料比较

两组年龄和月经初潮年龄差异无统计学意义( $P>0.05$ );PCOS组BMI, LH, T, E2, HOMA- $\beta$ 和HOMA-IR水平显著高于对照组,FSH水平显著低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ,表1)。

### 2.2 PCOS 患者和对照组 CITED2 基因表达的比较

PCOS患者CITED2基因的 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 值为 $0.146\pm 0.032$ ,对照组CITED2基因的 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 值为 $0.097\pm 0.022$ ,PCOS组CITED2基因的 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 值是对照组的1.51倍,两组间差异具有统计学意义( $t=3.135, P=0.032$ )。说明PCOS患者CITED2基因的表达显著高于对照组。

表1 两组一般临床资料的比较

Table 1 Comparison of general clinical data between the two groups

临床指标	PCOS组(n=114)	对照组(n=80)	t	P
年龄/岁	26.14 ± 4.31	26.23 ± 4.54	0.513	0.536
月经初潮年龄/岁	14.36 ± 2.12	14.27 ± 2.18	0.527	0.524
BMI/(kg·m <sup>-2</sup> )	23.51 ± 3.24	21.16 ± 2.45	2.843	0.042
FSH/(U·L <sup>-1</sup> )	5.26 ± 1.25	8.13 ± 2.33	3.216	0.026
LH/(U·L <sup>-1</sup> )	14.72 ± 3.12	6.59 ± 1.72	7.162	<0.001
T/(nmol·L <sup>-1</sup> )	3.54 ± 0.76	1.23 ± 0.31	7.834	<0.001
E2/(pmol·L <sup>-1</sup> )	194.52 ± 63.73	146.84 ± 42.32	3.015	0.038
HOMA-β/(mmol·L <sup>-1</sup> )	2.37 ± 0.56	1.14 ± 0.32	7.562	<0.001
HOMA-IR/(mmol·L <sup>-1</sup> )	6.24 ± 1.18	3.84 ± 0.72	6.173	<0.001

### 2.3 PCOS患者CITED2基因表达与性激素和胰岛素抵抗指标的相关性分析

CITED2基因表达与PCOS患者FSH呈负相关( $r=-0.216$ ,  $P=0.041$ ), 与LH( $r=0.382$ ,  $P=0.022$ ), T( $r=0.394$ ,  $P=0.016$ ), E2( $r=0.375$ ,  $P=0.026$ ), HOMA-β( $r=0.351$ ,  $P=0.031$ )和HOMA-IR( $r=0.326$ ,  $P=0.033$ )呈正相关。

## 3 讨论

PCOS在育龄期女性发病率为5%~10%, 激素的异常导致机体出现高雄激素血症和胰岛素抵抗, 临床表现为多毛、痤疮、持续没有排卵等特点<sup>[6]</sup>。本研究的一般临床资料分析也显示PCOS患者和对照健康女性LH, T, E2, HOMA-β和HOMA-IR水平差异存在统计学意义。PCOS患者持续无排卵, FSH水平减低, 子宫内膜缺乏孕激素作用, 长期处于高雌激素状态下, 内膜过度增生, 显著增加子宫内膜癌的风险, 可见PCOS也是一个需要积极防治的疾病<sup>[7]</sup>。对CITED2最先的研究发现其与新生儿的各种心脏畸形密切相关, 近期的研究发现CITED2在卵巢和睾丸组织的发育中也起同样重要的作用, 在CITED2基因缺失的雌鼠身上可以观察到决定女性性腺发育特定基因Rspodin和Wnt4的表达延迟, 阻碍着雌鼠卵巢的发育<sup>[4-8]</sup>。本研究使用定量PCR激素检测PCOS患者CITED2基因的表达情况, 结果发现PCOS患者CITED2基因的 $2^{-\Delta Ct}$ 值显著高于对照组, 说明PCOS患者

CITED2基因表达显著高于对照组。Fang等<sup>[9]</sup>的研究也观察到PCOS不孕症患者卵丘细胞中CITED2蛋白表达升高, 并与IVF患者的胚胎质量和妊娠结局相关, 从另一方面证实本研究的结果。Fang等<sup>[9]</sup>的进一步蛋白检测发现PCOS不孕症患者外周血具有高的CITED2表达, 外周血CITED2表达水平与卵丘细胞中CITED2的表达水平成正相关。本研究通过血液检测就可以获得PCOS患者CITED2基因表达情况, 具有检测标本来源简单, 便于临床的动态检测监控。

相关性分析显示CITED2基因表达与FSH呈负相关, LH, T, E2, HOMA-β和HOMA-IR呈正相关。作为一个转录因子CITED2基因可以调控多种基因的表达, CITED2基因表达与FSH, LH, T, E2性激素指标密切相关, PCOS患者的性激素代谢紊乱可能受到CITED2基因的调控, 具体的机制还有待进一步的研究阐明。PCOS也是一种内分泌代谢疾病, 腰围增加和胰岛素抵抗是PCOS的常见表型, 本研究也观察到PCOS患者BMI指数显著高于对照组, CITED2基因表达与胰岛素抵抗指标HOMA-β和HOMA-IR呈正相关, 提示CITED2基因异常可能也参与胰岛素敏感性的调节。Jia等<sup>[10]</sup>的研究也观察到靶向CITED2基因可以纠正肥胖患者的胰岛素抵抗。对本研究的结果提供侧面的支持。

综上所述, 本研究观察到PCOS患者CITED2基因高表达, 这可能是PCOS患者性激素紊乱和胰岛素抵抗的主要影响因素, 为从基因水平认识PCOS的发病机制提供一个新思路。

## 参考文献

1. Jiang Y, Li C, Chen L, et al. Potential role of retinoids in ovarian physiology and pathogenesis of polycystic ovary syndrome[J]. Clin Chim Acta, 2017, 469(1): 87-93.
2. 曹华斌, 涂灵. 维生素D受体基因多态性与多囊卵巢综合征的相关性研究[J]. 实用临床医学, 2016, 17(2): 40-42.  
CAO Huabin, TU Ling. Association between vitamin D receptor gene polymorphism and polycystic ovary syndrome[J]. Practical Clinical Medicine, 2016, 17(2): 40-42.
3. 刘山, 吴晓云, 罗漫, 等. 孕期酒精暴露与CITED2基因CpG岛甲基化关系的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(7): 669-674.  
LIU Shan, WU Xiaoyun, LUO Man, et al. Relationship between CpG islands methylation of CITED2 and prenatal alcohol exposure[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2016, 41(7): 669-674.
4. Combes AN, Spiller CM, Harley VR, et al. Gonadal defects in Cited2-mutant mice indicate a role for SF1 in both testis and ovary differentiation[J]. Int J Dev Biol, 2010, 54(4): 683-689.
5. 崔琳琳, 陈子江. 多囊卵巢综合征诊断标准和诊疗指南介绍[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2011, 30(5): 405-408.  
CUI Linlin, CHEN Zijiang. Diagnosis criteria and guidelines for the diagnosis and treatment of PCOS[J]. Journal of International Reproductive Health/Family Planning, 2011, 30(5): 405-408.
6. 梁秀文, 季新梅, 马娟. 多囊卵巢综合征患者外周血单个核细胞中 RPS 26及 PPAR $\gamma$ 基因的表达[J]. 中国计划生育和妇产科, 2017, 9(1): 55-58.  
LIANG Xiuwen, JI Xinmei, MA Juan. Expression of RPS 26 and PPAR $\gamma$  gene in peripheral blood mononuclear cells of patients with polycystic ovary syndrome[J]. Chinese Journal of Family Planning & Gynecotokology, 2017, 9(1): 55-58.
7. 沈亚, 丁家怡, 徐丽, 等. 基于定量聚合酶链式反应技术的多囊卵巢综合征与促卵泡激素的受体基因多态性的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(20): 21-26.  
SHEN Ya, DING Jiayi, XU Li, et al. Association analysis of follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphisms with polycystic ovarian syndrome[J]. China Journal of Modern Medicine, 2016, 26(20): 21-26.
8. Qin Y, Jiao X, Simpson JL, et al. Genetics of primary ovarian insufficiency: new developments and opportunities[J]. Hum Reprod Update, 2015, 21(6): 787-808.
9. Fang Y, Shang W, Wei DL, et al. Cited2 protein level in cumulus cells is a biomarker for human embryo quality and pregnancy outcome in one in vitro fertilization cycle[J]. Fertil Steril, 2016, 105(5): 1351-1359.
10. Jia G, Sowers JR. Targeting CITED2 for angiogenesis in obesity and insulin resistance[J]. Diabetes, 2016, 65(12): 3535-3536.

本文引用: 杨建梅, 米合来铁里瓦迪. 多囊卵巢综合征CITED2基因表达变化的临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(9): 1846-1849. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.013

**Cite this article as:** YANG Jianmei, Mihelaitieliwadi. Clinical significance of CITED2 gene expression in patients with polycystic ovary syndrome[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(9): 1846-1849. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.013