

# 조기분만과 Cytochrome P450 1A2 유전자 다형성과의 연관성

가톨릭대학교 의과대학 산부인과학교실

정주희·고현선·김연희·김동주·양동은·박인양·김사진·김수평·신종철

## Association of polymorphism in the cytochrome P450 (CYP)1A2 gene with preterm delivery

Joo Hee Jung, M.S., Hyun Sun Ko, M.D., Yeon Hee Kim, M.D., Dong Joo Kim, M.D.,  
Dong Eun Yang, M.S., In Yang Park, M.D., Sa Jin Kim, M.D.,  
Soo Pyung Kim, M.D., Jong Chul Shin, M.D.

Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine, Catholic University of Korea, Seoul, Korea

**Objective:** To elucidate whether polymorphism of cytochrome 450 (CYP) 1A2 is associated with preterm delivery caused by preterm labor and preterm premature rupture of membrane (PPROM) in Korean pregnant women.

**Methods:** From August 2002 to October 2003, we recruited 89 pregnant women who delivered before 37 weeks in gestation. In 89 cases, there were 63 cases with preterm labor and 26 cases with PPRM. 264 pregnant women who delivered after 37 weeks in gestation served as controls. Maternal blood was collected and genomic DNA was extracted from peripheral blood and the relevant genomic region was amplified using polymerase chain reaction (PCR). PCR products were digested with the restriction enzyme, *Apa* I. Data was analyzed by 2-tailed unpaired t test,  $\chi^2$  test, odds ratio with 95% confidence interval using SPSS 10.0.

**Results:** In the control group, the proportions of CYP1A2\*A/CYP1A2\*A, CYP1A2\*A/CYP1A2\*C, and CYP1A2\*C/CYP1A2\*C were 51%, 43%, and 6%, respectively. The carrier rate of CYP1A2\*C was significantly higher in preterm labor group than in the control group (65% vs. 49%,  $p=0.015$ ). The carrier rate of CYP1A2\*C was significantly higher in preterm premature rupture of membrane (PPROM) group than in the control group (69% vs. 49%,  $p=0.047$ ). The allelic frequency of CYP1A2\*C was significantly higher in preterm labor group than in the control group (0.38 vs. 0.275,  $p=0.013$ ). However, the allelic frequency of CYP1A2\*C was not significantly higher in PPRM group than in the control group (0.4 vs. 0.275,  $p=0.45$ ).

**Conclusion:** These results suggest that CYP1A2\*C may highly be associated with preterm labor and partly be associated with preterm premature rupture of membrane.

**Key words:** CYP1A2, Polymorphism, Preterm delivery, Preterm labor, Preterm premature rupture of membrane

## 서론

조기분만은 전체분만의 약 10% 정도를 차지하고 있

으며, 신생아 사망률 및 이환율의 70% 이상을 차지하고 있어서 주산기 분야에서 해결해야 할 중요한 분야이다.<sup>1</sup> 자궁내 감염이 조기분만의 중요한 원인 중에 하나라는 사실은 알려져 있지만 아직도 대부분의 경우에는 그 원 인이나 병태생리가 잘 밝혀져 있지 않다. 최근에는 조기 분만의 원인 및 발생기전을 연구하는데 있어서 유전학

접수일 : 2005. 10. 18.  
주관책임자 : 신종철  
E-mail: jeshin@catholic.ac.kr

적 관점에서 접근하는 경향이 새롭게 대두되었으며, 유전성과 환경적인 요인이 상호간에 영향을 미치는 형태의 심한 이질성 (heterogeneous) 양상을 보인다.<sup>2</sup>

한편, 인간 게놈의 DNA서열이 밝혀지는 가운데 많은 유전자가 다형성양상을 보인다. 유전자 형태의 이런 차이는 유전자 전사속도나 생성되는 단백질의 양 및 활성에 영향을 미치는 경우가 있으며, 따라서 다형유전자의 특정부분을 소유함에 따라 질병의 발생이나 경중이 결정되기도 한다. 인간은 생식이나 주산기 예후에 악영향을 끼치는 다양한 독성물질 (toxicant)들에 노출되어 있다.<sup>3,4</sup> 그러나 독성물질에 노출된 임신부인 경우에 주산기예후가 항상 불량한 것은 아닌데, 이것은 독성물질이 인체에서의 해독과정에 관여하는 유전자의 다형성에 의해 조절될 수 있다고 추정된다.<sup>5</sup> Cytochrome P450 1A2 (이하 CYP1A2)는 인체의 간에서 해독과정에 관여하는 물질로서 다양한 대사물을 만들고 DNA와 결합하여 돌연변이를 일으켜 천식, 직장암 등과 관련이 있다는 사실이 알려져 왔다.<sup>6,7</sup>

이에 연구자는 CYP1A2 유전자의 단일염기 다형성이 조기분만에 관여하는지에 대해서 알아보기 위해 본 연구를 수행하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 검체 수집 및 보관

검체의 수집은 2002년 8월부터 2003년 10월까지 내원한 산모 중 37주 이상의 정상산모 264예를 정상임신군으로 하였고, 37주 미만에 분만한 조기진통 (preterm labor) 환자 63예 및 조기양막파수 (preterm premature rupture of membranes) 환자 26예를 각각 조기진통군 및 조기파수군으로 하였다. 모든 혈액을 EDTA 시험관에 채취하여 1.5 mL 원심분리관에 옮긴 후 -20°C 냉동고에 DNA 추출을 위하여 보관하였다. 한편, 다태임신, 태아기형, 질출혈, 고혈압, 당뇨, 천식 및 다른 심각한 모체 질환을 동반한 경우는 대상에서 제외하였다.

### 2. Genomic DNA의 추출

산모의 혈액 200  $\mu$ l를 Proteinase K를 처리 후 AccuPrep<sup>®</sup> genomic DNA extraction kit (Bionneer, Korea)를 사용하여 유전체 DNA를 추출하였다. DNA의 농도는 spectrophotometer를 사용하여 그 OD값을 측정하였고 1% Agarose gel 전기영동을 실시하여 그 상태를 확인한 후 PCR 반응을 수행하기 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

### 3. CYP1A2의 PCR (polymerase chain reaction) 반응

PCR을 수행하기 위해 CYP1A2는 Intron 1 부위에서 primer를 제작하였다 (5'-CAACCTGCGCAATCTCAAGCAC-3' and 5'-AGAAGCTCTGTGGCCGAGAAGG-3'). CYP1A2는 94°C에서 5분간 변성 후 94°C 40초, 62°C 40초, 72°C 40초로 35주기를 수행하고 마지막으로 72°C에서 5분간 반응시켰다. 각각의 PCR산물의 크기는 1.2% agarose gel 전기영동을 수행하여 확인한 결과 918 bp였다.

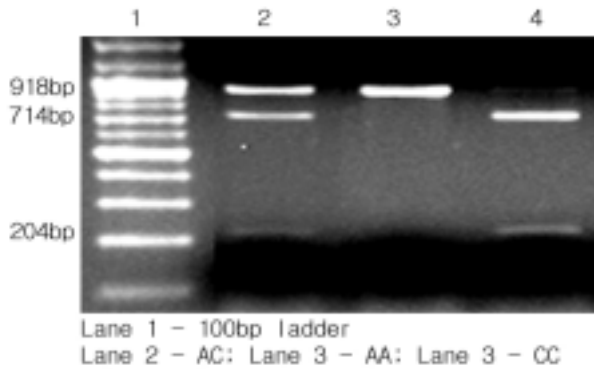
### 4. RFLP (restriction fragment length polymorphism)의 수행

PCR 반응산물의 특정한 부위에서의 유전자형을 보기 위하여 CYP1A2는 *ApaI* (1 U/20  $\mu$ L; NEB, UK) 제한 효소를 사용하여 25°C에서 6시간 반응시킨 결과 714, 204 bp의 단편으로 나누어지는 AA, AC, CC형의 3가지 유전자형을 볼 수 있었다 (Fig. 1).

### 5. 통계분석

정상산모군과 조기진통군 및 조기양막파수군 사이의 임상적 특징은 ANOVA (analysis of variances)을 이용하였고, 사후 분석으로 여러 가지를 실시하였다. 정상산모군과 조기진통군 혹은 조기양막파수군 사이에 유전자형과 대립유전자의 빈도는 chi-square test ( $=\chi^2$ )를 통한 교차비 (odds ratios; OR)를 구하여 비교하였다. 통계 분석은 spss 10.0통계 프로그램을 사용하였으며 p값이 0.05 미만인

경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.



**Fig. 1.** Electrophoresis of the digested polymerase chain reaction (PCR) products showing individuals heterozygous for the CYP1A2 *Apa* I polymorphism (lane 2), without the polymorphism (lane 3), and heterozygous for the polymorphism (lane 4). Lane 1 indicates marker DNA.

## 결 과

### 1. 임상적 특성

정상임신군과 조기진통군 및 조기파수군 사이에 연령 및 임신력은 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 분만 시 임신주수는 정상임신군이 39.5주, 조기진통군이 34.1주, 조기파수군이 33.1주로서 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ( $p < 0.001$ ). 또한 분만시 신생아의 몸무게도 정상

임신군이  $3.4 \pm 0.4$  kg, 조기진통군이  $2.3 \pm 0.6$  kg, 조기파수군이  $2.1 \pm 0.6$  kg으로서 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ( $p < 0.0001$ )(Table 1).

### 2. Genotype CYP1A2\*C의 운반율 (carrier rate)

CYP1A2\*C 운반율은 CYP1A2\*A/CYP1A2\*C와 CYP1A2\*C/CYP1A2\*C 유전자형을 합한 비율을 의미하며, 조기진통군의 CYP1A2\*C 운반율은 65% (63예 중 41예)로서 정상임신군의 49% (264예 중 129예)보다 통계적으로 유의하게 높았다 ( $p = 0.015$ , odds ratio 2.065, 95% 신뢰구간 1.14-4.73). 한편, 조기파수군의 CYP1A2\*C 운반율도 69% (26예 중 18예)로서 정상임신군보다 통계적으로 유의하게 높았다 ( $p = 0.047$ , odds ratio 2.380, 95% 신뢰구간 0.99-5.77)(Table 2).

### 3. CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도

CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도는 조기진통군이 0.38 (48/126)로서 정상임신군의 0.275 (145/383)보다 통계적으로 유의하게 높았다 ( $p = 0.013$ , odds ratio 1.699, 95% 신뢰구간 1.12-2.58). 반면에, 조기파수군의 경우에는 CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도가 0.4 (21/52)이지만 정상임신군에 비해 유의하게 높지는 않았다 ( $p = 0.45$ , odds ratio 1.822, 95% 신뢰구간 1.01-3.30)(Table 3).

**Table 1.** Demographic characteristics and clinical outcome of index pregnancies

	Normal (n=264)	Preterm labor (n=63)	Preterm premature rupture of membrane (n=26)	<i>p</i> value
Age (yr)	30.4±6.6	28.7±7.0	29.6±6.4	NS
Gravidity	2.4±1.6	2.8±2.1	3.3±2.4	NS
GA (weeks)	39.5±1.1	34.1±2.5	33.1±3.2	<.001
BW (kg)	3.4±0.4	2.3±0.6	2.1±0.6	<.0001

GA: gestational age at delivery, BW: birth weight, NS: not significant  
Values are mean±SD

**Table 2.** Genotypes for CYP1A2 alleles gene among two study groups and normal control group

Genotypes	Normal (n=264)		Preterm labor (n=63)		Preterm premature rupture of membrane (n=26)	
	N	%	N	%	N	%
A/A	135	51	22	35	8	31
A/C	113	43	34	54	15	58
C/C	16	6	7	11	3	11
Significance*			$p=0.015$		$p=0.047$	
Odds ratio			2.065		2.380	
95% CI			1.14-4.73		0.99-5.77	

CI: Confidence interval

\* Study group versus control group by  $\chi^2$  test**Table 3.** Allelic frequencies of CYP1A2 alleles among two study groups and normal pregnancy group

Alleles	Normal (n=528)		Preterm labor (n=126)		Preterm premature rupture of membrane (n=52)	
	N	%	N	%	N	%
A	383	72.5	78	62	31	60
C	145	27.5	48	38	21	40
Significance*			$p=0.013$		$p=0.045$	
Odds ratio			1.699		1.822	
95% CI			1.12-1.58		1.01-3.30	

CI: confidence interval

\* Study group versus control group by  $\chi^2$  test

## 고 찰

조기분만의 발생율은 7-12%로 주산기 이환율과 사망률의 70%를 차지하고 있다.<sup>8</sup> 지난 20여년간 신생아치료는 비약적인 발전을 했으나 조기분만은 감소되지 않고 있다. 조기분만에 대한 많은 연구를 통해서 자궁내 감염이 중요한 원인 중에 하나라는 사실이 밝혀졌으나, 자궁내 감염을 예방하여 조기진통을 감소시키는 연구는 효과를 보지 못하였다.<sup>9</sup> 그밖에도 조기분만을 예방하는 시

도는 많이 있었지만 성공하지 못한 이유는 조기분만의 원인 및 병태생리를 잘 알지 못하기 때문이다. 따라서 조기분만에 대한 연구는 기존의 역학적 접근이나 위험인자를 알아내는 수준과는 다른 차원에서의 접근이 필요하다.<sup>10</sup>

최근에 조기분만의 원인 및 발생기전을 연구하는데 있어서 유전학적 관점에서 접근하는 경향이 새롭게 대두되었다. 이런 연구의 근거로는 첫째, 조기분만의 가장 높은 위험인자가 조기분만의 과거력이다. Bakketeig 등

(1981)<sup>11</sup>과 Ekwo 등 (1992)<sup>12</sup>에 의하면 조기분만의 과거력이 있는 경우에는 다음 임신에서 조기분만할 가능성이 15-80% 정도이며, 조기분만의 회수가 증가할수록 위험도는 더 증가한다고 보고하였다. 둘째, 종족간의 조기분만의 경향이 다르다. Goldenberg 등 (1996)의 보고에 의하면 흑인여성은 백인여성에 비해서 조기분만의 위험성이 약 2배라고 하였다.<sup>13</sup> 셋째, 세대간 (intergeneration)간에 조기분만의 경향이 전달된다는 것이다.<sup>14</sup> 즉, 조기분만으로 태어난 산모는 조기분만할 가능성이 더 높다는 것이다. 조기분만은 유전성과 환경적인 요인이 상호간에 영향을 미치는 형태의 심한 불균질성 (heterogeneous) 양상을 보인다.<sup>2</sup> 인간은 생식이나 주산기 예후에 악영향을 끼치는 다양한 독성물질 (toxicant)들에 노출되어 있다.<sup>3,4</sup> 그러나 임신부가 독성물질에 노출되었다고 항상 주산기 예후가 불량하지는 않다. 이렇게 개인에 따라서 다른 양상을 보이는 것은 독성물질이 인체에서의 해독과정에 관여하는 유전자의 변이에 의해 조절될 수 있다고 추정된다.<sup>5</sup> 즉, 독성물질에 대한 유전자 수준에서의 감수성이 다를 수 있다는 것이다. 한편, CYP1A2는 인체의 간에서 해독과정에 관여하는 cytochrome의 일종으로서 다양한 대사물을 만들 뿐 아니라 DNA와 결합하여 돌연변이를 일으켜 여러 질환들의 발생과 관련이 있다는 사실이 알려져 왔다.<sup>15,16</sup> 그러나 조기분만에서의 독성물질과 관련하여 유전자 수준에서 발표된 연구는 아직 전혀 없다. 이에 본 저자는 한국여성에서의 CYP1A2의 유전자 다형성빈도를 알아보고 조기분만과의 연관성을 확인하기 위하여 본 연구를 시행하였다.

우선 정상 임신군에서 CYP1A2 유전자형의 분포를 알아본 결과, CYP1A2\*A/CYP1A2\*A가 51%이었으며 CYP1A2\*A/CYP1A2\*C는 43%, 그리고 CYP1A2\*C/CYP1A2\*C는 6%이었다. 본 연구의 이러한 결과는 유전자 같은 염기서열 부위를 이용하여 연구한 Goodman 등 (2001)<sup>16</sup>의 발표와 거의 비슷한 분포도를 보이고 있어서 인종 간의 분포도의 차이는 없을 것으로 추정되었다. 다음으로 CYP1A2\*C가 포함된 유전자형의 운반율을 알아본 결과, 조기진통군의 CYP1A2\*C 운반율은 65%로서 정상임신군의 CYP1A2\*C 운반율 49%보다 통계적으로 유

의하게 높았다. 한편, 조기파수군의 CYP1A2\*C 운반율은 69%로서 정상임신군의 CYP1A2\*C 운반율보다 통계적으로 유의하게 높았다. 마지막으로 CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도를 알아본 결과, CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도는 조기진통군이 0.38로서 정상임신군의 CYP1A2\*C 대립유전자 빈도 0.275보다 통계적으로 유의하게 높았다. 그러나, 조기파수군의 경우에는 CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도가 0.4로서 조기진통군의 대립유전자 빈도보다 높은 것처럼 보이지만 정상임신군의 CYP1A2\*C 대립유전자 빈도에 비해 유의하게 높지는 않았다. 이런 결과가 나온 이유로는 조기파수군의 대상수 (26예)가 조기진통군의 대상수 (63예)보다 적었기 때문이다. 본 연구와 같은 유전학적 역학연구는 연구대상의 규모가 클수록 같은 결과치라도 더 의미 있게 나올 가능성이 높고, 자료의 신뢰도도 높아진다. 이에 비해 본 연구는 아직 연구대상군의 규모가 작다는 기본적인 한계를 가지고 있다. 그러나 지금까지 조기진통이나 조기파수로 인한 조기분만을 대상으로 하여 해독과정에 관여하는 물질을 유전학적 역학연구에 적용하여 보고한 논문이 아직 없는 실정에서 CYP1A2의 조기분만과의 연관성이 있다는 연구결과는 상당히 고무적이며, 향후 대상군의 규모를 확대하여 조사하면 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 앞으로의 조사에서 CYP1A2\*C 대립유전자가 조기분만에 연관성이 있다는 사실이 확인되면 조기진통의 진단방법을 개발하는데 유용할 것으로 사료되며 나아가 조기진통의 예방에도 크게 기여할 것으로 기대된다.

## 참고문헌

1. Rush RW, Keirse MJ, Howat P, Baum JD, Anderson AB, Turnbull AC. Contribution of preterm delivery to perinatal mortality. Br Med J 1976; 2: 965-8.
2. Wang X, Zuckerman B, Kaufman G, Wise P, Hill M, Niu T, et al. Molecular epidemiology of preterm delivery: methodology and challenges. Paediatr Perinat Epidemiol 2001; 15 Suppl 2: 63-77.
3. Savitz DA, Whelan EA, Kleckner RC. Effect of parent's occupational exposures on risk of stillbirth, preterm delivery, and small-for-gestational age infants. Am J Epidemiol 1989; 129: 1201-18.
4. Lindbohm ML. Effects of parental exposure to solvents on pregnancy outcome. J Occupat Environ Med 1995; 37: 908-14.

5. Hirvonen A. Genetic factors in individual responses to environmental exposures. *J Occupat Environm Med* 1995; 37: 37-43.
6. Obase Y, Shimoda T, Kawano T, Saeki S, Tomari SY, Mitsuta-Izaki K, Matsuse H, Kinoshita M, Kohno S. Polymorphisms in the CYP1A2 gene and theophylline metabolism in patients with asthma. *Clin Pharmacol Ther.* 2003; 73: 468-74.
7. Sachse C, Bhambra U, Smith G, Lightfoot TJ, Barrett JH, Scollay J, et al. Colorectal Cancer Study Group. Polymorphisms in the cytochrome P450 CYP1A2 gene (CYP1A2) in colorectal cancer patients and controls: allele frequencies, linkage disequilibrium and influence on caffeine metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55: 68-76.
8. Dizon-Townson DS. Preterm labour and delivery: a genetic predisposition. *Pediat Perinat Epidemiol* 2001; 15(suppl.2): 57-62.
9. Carey JC, Klebanoff MA, Hauth JC, Hillier SL, Thom EA, Ernest JM, et al. Metronidazole to prevent preterm delivery in pregnant women with asymptomatic bacterial vaginosis. *N Eng J Med* 2000; 342: 534-40.
10. Mercer BM, Goldenberg RL, Das A, Moawad AH, Iams JD, Meis PJ, et al. The preterm prediction study: A clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1885-93.
11. Bakketeig LS, Hoffman HJ. Epidemiology of preterm birth: result from a longitudinal study of births in Norway. In Elder LS Hendricks CH, Editors, *preterm labor*. London/Boston: Butterworth, 1981; 17-46.
12. Ekwo EE, Cosselink CA, Moawad A. Unfavorable outcome in penultimate pregnancy and premature rupture of membrane in successive pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992; 80: 166-72.
13. Goldenberg RL, Cliver SP, Mulvihill FX, Hickey CA, Hoffman HJ, Klerman LV, et al. Medical, psychosocial and behavioral risk factors do not explain the increased risk for low birth weight among black women. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1317-24.
14. Porter TF, Fraser AM, Hunter CY, Ward RH, Varner MW. The risk of preterm birth across generations. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 63-7.
15. Chong SA, Tan EC, Tan CH, Mythily. smoking and tardive dyskinesia: lack of involvement of the CYP1A2 gene. *J Psychiatry Neurosci* 2003; 28: 185-9.
16. Goodman MT, McDuffie K, Kolonel LN, Terada K, Donlon TA, Wilkens LR, et al. Case-control study of ovarian cancer and polymorphisms in genes involved in Catecholestrogen Formation and Metabolism. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 209-16.

---

「국문초록」

조기분만은 신생아 사망 및 이환의 가장 중요한 원인이지만 아직 원인이나 병태생리가 잘 밝혀져 있지 않다. 최근에 조기분만의 원인 및 발생기전을 유전학적 관점에서 접근하는 경향이 있다. 독성물질을 해독하는 과정에 관여하는 물질의 유전자 변이에 따라 주산기 예후가 달라질 수 있다.

이에 연구자는 인체의 간에서 해독과정에 관여하는 물질인 CYP1A2가 조기분만과 연관성이 있는 지 알아보기 위해 조기진통과 조기파수에 의해 조기분만한 임신부를 대상으로 CYP1A2 유전자 다형성의 분포를 조사하여 정상임신군과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정상임신군에서 CYP1A2\*A/CYP1A2\*A는 51%, CYP1A2\*A/CYP1A2\*C는 43%, 그리고 CYP1A2\*C/CYP1A2\*C는 6%이었다.
2. 조기진통군의 CYP1A2\*C 운반율은 정상임신군의 CYP1A2\*C 운반율보다 유의하게 높았다 (65% vs. 49%,  $p=0.015$ ).
3. 조기파수군의 CYP1A2\*C 운반율은 정상임신군의 CYP1A2\*C 운반율보다 유의하게 높았다 (69% vs. 49%,  $p=0.047$ ).
4. CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도는 조기진통군이 정상임신군의 CYP1A2\*C 대립유전자 빈도보다 통계적으로 유의하게 높았다 (0.38 vs. 0.275,  $p=0.013$ ).
5. 조기파수군의 CYP1A2\*C의 대립유전자 빈도는 정상임신군의 CYP1A2\*C 대립유전자 빈도에 비해 유의하게 높지 않았다 (0.4 vs. 0.275,  $p=0.45$ ).

결론적으로, 대립유전자 CYP1A2\*C는 조기진통과는 연관성이 매우 높고, 조기파수와도 연관성이 있을 것으로 사료된다.

**중심단어 :** CYP1A2, 다형성, 조기분만, 조기진통, 조기파수

---